



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

FLORÊNCIO SOUSA GOUVEIA JÚNIOR

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO COMO
POTENCIAIS AGENTES NO TRATAMENTO DE DOENÇAS
CARDIOVASCULARES

FORTALEZA

2023

FLORENCIO SOUSA GOUVEIA JÚNIOR

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO COMO POTENCIAIS
AGENTES NO TRATAMENTO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES

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

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

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

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- G739d Gouveia Júnior, Florêncio Sousa.
Desenvolvimento De Novos Complexos De Rutênio Como Potenciais Agentes No Tratamento De Doenças Cardiovasculares / Florêncio Sousa Gouveia Júnior. – 2023.
166 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.
Coorientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa.
1. rutênio. 2. óxido nítrico. 3. nitroxil. 4. vasodilatação. 5. sulfeto de hidrogênio. I. Título.
CDD 540
-

FLORÊNCIO SOUSA GOUVEIA JÚNIOR

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO COMO POTENCIAIS
AGENTES NO TRATAMENTO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES

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

Aprovada em: 10/02/2023.

BANCA EXAMINADORA

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

Profª. Dra. Alda Karine Medeiros Holanda
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profª. Dra. Roberta Jeane Bezerra Jorge
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Severino Alves Júnior
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Maurício Lanznaster
Universidade Federal Fluminense (UFF)

Aos meus pais, Florêncio e Fátima.

Ao professor Jackson Sousa (*in memoriam*)

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.

À 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 acadêmica e pelo apoio durante essa longa jornada da pós-graduação.

Ao Dr. David Wink, por me receber em seu laboratório e possibilitar a realização do Doutorado Sanduíche em Frederick.

À Dra. Lisa Ridnour, por todo o auxílio na pesquisa, mas também pelo seu esforço em ajudar um rapaz latino-americano distante de casa.

Aos membros do *Biological Chemistry Laboratory* pelo auxílio e disponibilidade no uso da central analítica.

À toda equipe do *Cancer Inflammation Program* do *National Cancer Institute in Frederick* pelo apoio e auxílio.

À Dra. Greyce Luri Sasahara pela parceria, amizade e companheirismo de mais de uma década.

Aos companheiros de laboratório Allandeiverson, Lucas, Monilson, Mayara, Suesley, Josiane, Edinilton, Catherine, Carlos Daniel, Amanda, Dieric, Marcos, Wellinson, Auridéia, Wallyson, Samuel, Ricardo, Gilmara, Ana Cláudia, Marta, Juliana.

Aos professores do Laboratório de Química Bioinorgânica da UFC.

À professora Dávila Zampieri pelas análises de espectrometria de massas.

Ao CENAUREMN – UFC pela disponibilidade de uso dos espectrômetros de Ressonância Magnética Nuclear.

Ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) e à equipe do Laboratório Nacional de Luz Sincrotron pela disponibilidade para realização dos experimentos de Absorção de raios X

Ao professor Javier Elena e à equipe do Laboratório de Cristalografia (LabCres) do

Departamento de Física da UFC pelos ensaios de determinação de estrutura cristalográfica em monocristais.

Ao Danilo Galvão, à professora Roberta Jeane e à toda equipe do LAFAVET pelos ensaios de vasodilatação.

Ao CENAPAD – UFC e CENAPAD – SP pelos recursos computacionais utilizados.

À 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.

“Imagination will often carry us to worlds that never were. But without it, we go nowhere. Skepticism enables us to distinguish fancy from fact, to test our speculations. The Cosmos is rich beyond measure – in elegant facts, in exquisite interrelationships, in the subtle machinery of awe.” (Carl Sagan, 1980).

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 as doenças cardiovasculares. 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, cardiomoduladora, anti-hipertensiva, por exemplo). Diante disso, esse trabalho tem por objetivo sintetizar novos complexos de fórmula geral *cis*-[Ru^{II}(phen)₂L₁L₂]ⁿ⁺, onde phen=1,10-fenantrolina, L₁=2-metilimidazol (2MIM) ou etilenotioúrea (ETU), L₂=Cl⁻, NO⁺ ou [N(O)SO₃]⁻. A caracterização foi realizada através de técnicas espectroscópicas (espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica e espectroscopia de absorção de raios X), espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear de ¹H, difração de raios X e voltametria cíclica, sustentando as estruturas propostas. Os nitrosilo-complexos e os compostos contendo nitrosil-sulfito foram então estudados quanto a sua capacidade de liberação de óxido nítrico (NO⁰) sob diferentes condições. O acompanhamento espectroscópico durante irradiação de luz azul (λ_{max}=460 nm) evidenciou a liberação controlada de NO⁰, proporcional ao tempo de exposição à luz. Os complexos também se mostraram capazes de doar óxido nítrico quando reduzidos por L-glutationa. Nessa condição, houve evidência também de liberação de nitroxil (HNO) para os nitrosilo-complexos, sustentada por ensaios com as sondas mioglobina e cPTIO. Titulação espectrofotométrica mostrou que os compostos *cis*-[Ru(NO)(phen)₂(2MIM)]³⁺ e *cis*-[Ru(NO)(phen)₂(ETU)]³⁺ apresentam pH de conversão nitrosil/nitro iguais a 5,66 e 6,53, respectivamente. A capacidade capturadora de radical superóxido foi avaliada e demonstrou que tanto os nitrosilo como os nitrosil-sulfito complexos podem funcionar como antioxidantes. Simulações de *docking* molecular foram executados a fim de avaliar a possibilidade de interação dos complexos com DNA e proteínas transportadoras (albumina sérica humana e apo-transferrina). Os resultados obtidos sugerem a ocorrência de interações fracas e moderadas, indicando baixas tendências a citotoxicidade e a ligações estáveis com proteínas. Experimentos para determinação de coeficiente de partição (logP) sugerem que todos os complexos são fracamente hidrofílicos. Testou-se ainda a atividade anticâncer dos complexos frente a três linhagens tumorais e verificou-se que os compostos apresentam pouca toxicidade, além de uma modesta seletividade para células de tumor mamário. Ensaios de reatividade vascular evidenciaram a capacidade de todos os complexos em promover vasodilatação, sendo a espécie *cis*-[Ru(NO)(phen)₂(2MIM)]³⁺ aquela a apresentar os melhores

resultados com valor de EC_{50} da ordem de 214 nmol L^{-1} . Em seguida, avaliou-se a capacidade dos complexos contendo o ligante tioamínico ETU em atuar como doadores de sulfeto de hidrogênio (H_2S). Experimentos com eletrodo seletivo para H_2S evidenciaram a formação de sulfeto quando os complexos reagem com tióis. Esse resultado foi corroborado pelo experimento de redução da sonda resazurina acompanhado por espectroscopia de emissão fluorescente. Análises de espectrometria de massas sugerem a formação de persulfetos durante a redução desses complexos com L-glutathione. Por fim, avaliou-se a atividade vasodilatadora desses complexos na presença de um capturador de H_2S , sendo observada supressão parcial do relaxamento vascular. Isso evidenciou a participação do H_2S na capacidade vasorelaxante desses compostos.

Palavras-chave: rutênio; óxido nítrico; nitroxil; vasodilatação; sulfeto de hidrogênio.

ABSTRACT

In recent decades, ruthenium(II) complexes have been the subject of intense research for presenting great pharmacological potential for the treatment of several pathologies, among them cardiovascular diseases. Additionally, coordination compounds containing imidazole derivatives and NO_x-type ligands have also shown to be promising systems due to their versatility and broad spectrum of therapeutic applications (anticancer, bactericidal, antihypertensive, for example). Therefore, this work aims to synthesize new complexes of the general formula $cis-[Ru^{II}(phen)_2L_1L_2]^{n+}$, where phen=1,10-phenanthroline, L₁=2-methylimidazole (2MIM) or ethylenethiourea (ETU), L₂=Cl⁻, NO⁺ or [N(O)SO₃]⁻. The characterization was performed using spectroscopic techniques (vibrational spectroscopy in the infrared range, electronic spectroscopy and X ray absorption spectroscopy), mass spectrometry, ¹H nuclear magnetic resonance, X ray diffraction and cyclic voltammetry, supporting the proposed structures. The nitrosyl complexes and compounds containing nitrosyl-sulfite were then studied for their ability to release nitric oxide (NO⁰) under different conditions. The spectroscopic monitoring during irradiation with blue light (λ_{max} = 460 nm) showed controlled release of NO⁰, proportional to the time of exposure to light. The complexes have also been shown to be able to donate nitric oxide when reduced by l-glutathione. In this condition, there was also evidence of nitroxyl (HNO) release by the nitrosyl complexes, sustained by assays using the probes myoglobin and cPTIO. Spectrophotometric titration showed that the compounds $cis-[Ru(NO)(phen)_2(2MIM)]^{3+}$ and $cis-[Ru(NO)(phen)_2(ETU)]^{3+}$ have a pH of nitrosyl/nitro conversion equal to 5.66 and 6.53, respectively. The radical scavenger capabilities were evaluated and it was demonstrated both nitrosyl and nitrosyl-sulfite complexes can work as antioxidant compounds. Molecular docking simulations were executed in order to evaluate the possibility of interaction between the complexes and DNA or transport proteins (human serum albumin and apo-transferrin). The results suggest the existence of weak and moderate interactions, indicating low tendencies to cytotoxicity and to stable bonding with proteins. Experiments for partition coefficient determination (logP) suggested that all complexes are slightly hydrophilic. The anti-cancer activity of the complexes was tested against three tumor cell lines and it was found that the compounds have little toxicity, in addition to a modest selectivity for breast tumor cells. Vascular reactivity assays evidenced that all complexes can promote vasodilation, where the compound $cis-[Ru(NO)(phen)_2(2MIM)]^{3+}$ presented the best results, with EC₅₀ values around 214 nmol L⁻¹. On the next moment, the capability of the complexes containing the thioamide ligand ETU work as a hydrogen sulfide (H₂S) donor was

evaluated. Experiments with a H₂S selective electrode evidenced the formation of sulfide in solution when the complexes react with thiols. That result was corroborated with the resazurin probe reduction experiment followed by fluorescent emission spectroscopy. Mass spectroscopy analyses suggested the formation of persulfides during the reduction with l-glutathione. Finally, the vasodilation activity of those complexes was evaluated in the presence of a H₂S scavenger, where a partial suppression of the vascular relaxing could be observed. That evidenced the participation of H₂S in the vasorelaxant activity of those compounds.

Keywords: ruthenium; nitric oxide; nitroxyl; vasodilation; hydrogen sulfide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Variação da prevalência de hipertensão arterial entre adultos na faixa etária entre 30 a 79 anos no Brasil, no período entre 1990 e 2019 para homens, mulheres e ambos os sexos. A linha central representa as porcentagens com intervalo de confiança de 95%, enquanto as linhas laterais representam os limiares superiores e inferiores das incertezas nessas estimativas.....	29
Figura 2	– Reação de síntese do óxido nítrico a partir do aminoácido L-arginina, catalisada pela enzima NOS.....	31
Figura 3	– Esquema representativo da síntese do óxido nítrico pelas células endoteliais e sua difusão para os seus alvos fisiológicos.....	32
Figura 4	– Exemplos de doadores de H ₂ S naturais e sintéticos. A – sulfetos inorgânicos; B – ditiotionas; C – Fosforoditionatos; D – sulfetos orgânicos naturais; E – acil pertióis; F – ditioperoxianidridos; G – polisulfetos; H – S-aroiltiooximas; I – ariltioamidas.....	36
Figura 5	– Estruturas e códigos de identificação para os compostos sintetizados nesse trabalho.....	39
Figura 6	– Espectros de UV-vis para os complexos FOR0211A e FOR0211B, nas concentrações de 29 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtidos em acetonitrila.....	54
Figura 7	– Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0211A.	55
Figura 8	– Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0211B.....	55
Figura 9	– Espectros de massas para os complexos FOR0211A (superior) e FOR0211B (inferior).....	57
Figura 10	– Espectros de ¹ H-RMN para os complexos FOR0211A (superior) e FOR0211B (inferior) obtidos em acetona – d ₆	58

Figura 11 – Diagrama ORTEP para o complexo FOR0211A com identificação de átomos selecionados em probabilidade de elipsóides de 50%.....	60
Figura 12 – Diagrama ORTEP para o complexo FOR0211B com identificação de átomos selecionados em probabilidade de elipsóides de 50%.....	62
Figura 13 – Espectro de UV-vis para o nitrito-complexo FOR0611A, na concentração de 22 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtido em acetonitrila.....	64
Figura 14 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0611A.....	65
Figura 15 – Espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo FOR0611A em pastilha de KBr.....	66
Figura 16 – Espectro de ^1H -RMN para o complexo FOR0611A obtido em acetona – d_6	66
Figura 17 – Espectro de massas para o complexo FOR0611A.....	67
Figura 18 – Espectros de UV-vis para os complexos FOR0911A e FOR0911B, nas concentrações de 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtidos em acetonitrila.....	68
Figura 19 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0911A.....	68
Figura 20 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0911B.....	69
Figura 21 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior) em pastilha de KBr.....	70
Figura 22 – Voltamogramas cíclicos para os complexos FOR0911A e FOR0911B obtidos em solução de NaTFA 0,1 mol L^{-1} pH=3,0. $V=100 \text{ mV.s}^{-1}$	71
Figura 23 – Espectros de ^1H -RMN para os complexos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior) obtidos em acetona – d_6	73
Figura 24 – Espectros de massas para os complexos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior).....	74

Figura 25 – Espectros de UV-vis para os complexos NS011A e NS211A, nas concentrações de 39 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtidos em acetonitrila.....	75
Figura 26 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo NS011A.....	76
Figura 27 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo NS211A.....	76
Figura 28 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos NS011A (superior) e NS211A (inferior) em pastilha de KBr.....	78
Figura 29 – Voltamogramas cíclicos (3 segmentos) para os complexos NS011A (superior) e NS211A (inferior) obtidos em solução de NaTFA 0,1 mol L^{-1} pH=7,4. V=100 mV.s^{-1}	79
Figura 30 – Espectros de massas para os complexos NS011A (superior) e NS211B (inferior).....	80
Figura 31 – Espectros de ^1H -RMN para os complexos NS011A (superior) e NS211A (inferior) obtidos em acetona – d_6	81
Figura 32 – Espectros normalizados de XAS obtidos em fase sólida no modo transmissão para os complexos FOR0211A, FOR0611A e FOR0911A.....	83
Figura 33 – Espectros normalizados de XAS obtidos em fase sólida no modo transmissão para os complexos FOR0211B, e FOR0911B.....	84
Figura 34 – Espectros normalizados de XAS obtidos em fase sólida no modo transmissão para os complexos NS011A e NS211A.....	84
Figura 35 – Espectros experimentais (—) e teóricos (—) de EXAFS no espaço R para os complexos FOR0211A, FOR0611A e FOR0911A. <i>Inset</i> : espectros correspondes plotados no espaço K.....	86
Figura 36 – Espectros experimentais (—) e teóricos (—) de EXAFS no espaço R para os complexos FOR0211B e FOR0911B. <i>Inset</i> : espectros correspondes plotados no espaço K.....	86

Figura 37 – Espectros experimentais (—) e teóricos (—) de EXAFS no espaço R para os complexos NS011A e NS211A. <i>Inset</i> : espectros correspondentes plotados no espaço K.....	87
Figura 38 – Variação de absorbância durante titulação espectrofotométrica do complexo FOR0911A (esquerda) e gráfico de pH versus absorbância para essa titulação (direita).....	89
Figura 39 – Variação de absorbância durante titulação espectrofotométrica do complexo FOR0911B (esquerda) e gráfico de pH versus absorbância para essa titulação (direita).....	90
Figura 40 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para experimentos de irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm) para os compostos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior) em pastilha de KBr.....	92
Figura 41 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto FOR0911A com luz azul (NaTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH=3,0). Destacam-se os espectros antes da irradiação (—), após 30 min de irradiação (—) e após 80 min de irradiação (—). <i>Inset</i> : variação da absorção em 265 nm ao longo do período de irradiação.....	93
Figura 42 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto FOR0911B com luz azul (NaTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH=3,0). Destacam-se os espectros antes da irradiação (—) e após 80 min de irradiação (—). <i>Inset</i> : variação da absorção em 266 e 381 nm ao longo do período de irradiação.....	94
Figura 43 – Gráfico de detecção de NO para os compostos FOR0911A e FOR0911B (solução HTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH 3) sob irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm, 20 W) em diferentes períodos de tempo (à esquerda); e correlação entre tempo de irradiação e área de sinal (à direita).....	95
Figura 44 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto FOR0911A com luz azul em acetonitrila. Destacam-se os espectros antes da irradiação (—), após 30 min de irradiação (—) e após 120 min de irradiação (—). <i>Inset</i> : variações das absorbâncias em 265 e 400 nm ao longo do período de irradiação.....	96

Figura 45 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto FOR0911B com luz azul em acetonitrila. Destacam-se os espectros antes da irradiação (—) e após 120 min de irradiação (—). <i>Inset</i> : variações das absorbâncias em 262 e 396 nm ao longo do período de irradiação.....	97
Figura 46 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para experimentos de irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm) para os compostos NS011A (superior) e NS211A (inferior) em pastilha de KBr.....	98
Figura 47 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para experimentos de irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm) para os compostos $^{15}\text{NS011A}$ (superior) e $^{15}\text{NS211A}$ (inferior) em pastilha de KBr.....	100
Figura 48 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto NS011A com luz azul em acetonitrila. Destacam-se os espectros antes da irradiação (—), após 10 s de irradiação (—) e após 180 min de irradiação (—). <i>Inset</i> : variações das absorbâncias em 283 e 427 nm ao longo do período de irradiação.....	101
Figura 49 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto NS211A com luz azul em acetonitrila. Destacam-se os espectros antes da irradiação (—), após 10 s de irradiação (—) e após 120 min de irradiação (—). <i>Inset</i> : variações das absorbâncias em 262 e 422 nm ao longo do período de irradiação.....	102
Figura 50 – Gráfico de detecção de NO para o composto NS011A (DPBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,4) sob irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm, 20 W) em diferentes períodos de tempo (à esquerda); e correlação entre tempo de irradiação e área de sinal (à direita).....	103
Figura 51 – Gráfico de detecção de NO para o composto NS211A (DPBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,4) sob irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm, 20 W) em diferentes períodos de tempo (à esquerda); e correlação entre tempo de irradiação e área de sinal (à direita).....	103
Figura 52 – Reações de cPTIO com NO e HNO e seus respectivos produtos.....	105
Figura 53 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$; [GSH]= 1,2 mmol L ⁻¹ ; [met-Mb]= 6,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$	106

Figura 54 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 μmol L ⁻¹ ; [GSH]= 1,2 mmol L ⁻¹ ; [met-Mb]= 6,5 μmol L ⁻¹	107
Figura 55 – Acompanhamento da reação dos complexos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior) com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorbância pelo tempo a 560 nm. [Ru]= 100 μmol L ⁻¹ ; [GSH]= 280 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]= 160 μmol L ⁻¹	108
Figura 56 – Detecção de NO durante a reação entre 100 nmol de FOR0911A e 2 μmol de GSH em solução DPBS 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,4 na ausência (—) e na presença (—) de 100 μmol de hexacianoferrato(III).....	109
Figura 57 – Detecção de NO durante a reação entre 100 nmol de FOR0911B e 2 μmol de GSH em solução DPBS 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,4 na ausência (—) e na presença (—) de 100 μmol de hexacianoferrato(III).....	110
Figura 58 – Acompanhamento da reação do complexo NS011A com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 μmol L ⁻¹ ; [GSH]= 1,2 mmol L ⁻¹ ; [met-Mb]= 6,5 μmol L ⁻¹	111
Figura 59 – Acompanhamento da reação do complexo NS211A com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 μmol L ⁻¹ ; [GSH]= 1,2 mmol L ⁻¹ ; [met-Mb]= 6,5 μmol L ⁻¹	111
Figura 60 – Acompanhamento da reação dos complexos NS011A com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorbância pelo tempo a 560 nm. [Ru]=100 μmol L ⁻¹ ; [GSH]=280 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]=160 μmol L ⁻¹ ...	112
Figura 61 – Acompanhamento da reação dos complexos NS211A com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorbância pelo tempo a 560 nm. [Ru]=100 μmol L ⁻¹ ; [GSH]=280 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]=160 μmol L ⁻¹ ...	113
Figura 62 – Detecção de NO durante a reação entre 100 nmol de NS011A (superior) ou NS211A (inferior) e 2 μmol de GSH em solução DPBS 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,4.....	114
Figura 63 – Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para a reação entre citocromo c (13 μmol L ⁻¹) e a mistura hipoxantina/xantina oxidase em PBS	

pH 7,4 acompanhada por 60 minutos. <i>Inset</i> : acompanhamento cinético da absorção em 550 nm.....	116
Figura 64 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo FOR0911A com ânion superóxido.....	116
Figura 65 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo FOR0911B com ânion superóxido.....	117
Figura 66 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo NS011A com ânion superóxido.....	118
Figura 67 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo NS211A com ânion superóxido.....	118
Figura 68 – A) Cromatograma líquido obtido para a análise de uma solução padrão de tirosina ($5 \mu\text{mol L}^{-1}$); B) Espectro de massas obtido para o pico em 2,298 min do cromatograma A, coerente com a razão massa/carga do fragmento $[\text{Tyr} + \text{H}]^+$	120
Figura 69 – A) Cromatograma líquido obtido para a análise de uma solução padrão de 3-nitrotirosina ($5 \mu\text{mol L}^{-1}$); B) Espectro de massas obtido para o pico em 5,929 min do cromatograma A, coerente com a razão massa/carga do fragmento $[\text{Tyr-NO}_2 + \text{H}]^+$	121
Figura 70 – A) Cromatograma líquido obtido para a análise da mistura reacional contendo o complexo FOR0911A, hipoxantina, xantina oxidase e tirosina; B) Espectro de massas obtido para o pico em 4,388 min do cromatograma A, coerente com a razão massa/carga do fragmento $[\text{Phe} + \text{H}]^+$	122
Figura 71 – Representações gráficas das interações dos complexos FOR0211A, FOR0211B, FOR0611A, FOR0911A, FOR0911B, NS011A e NS211A com a estrutura de bDNA (PDB 4JD8), obtidas por <i>docking</i> molecular.....	126
Figura 72 – Representações gráficas das interações dos complexos FOR0211A, FOR0211B, FOR0611A, FOR0911A, FOR0911B, NS011A e NS211A com a estrutura da albumina sérica humana (PDB 1BM0), obtidas por <i>docking</i> molecular.....	128

Figura 73 – Curvas de relaxamento vascular para titulação com os complexos FOR0211A, FOR0611A e FOR0911A.....	132
Figura 74 – Curvas de relaxamento vascular para titulação com os complexos FOR0211B e FOR0911B.....	133
Figura 75 – Curvas de relaxamento vascular para titulação com os complexos NS011A e NS211A.....	134
Figura 76 – Acompanhamento da reação do complexo FOR0211B com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$; [GSH]= 1,2 mmol L^{-1} ; [met-Mb]= 6,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$	135
Figura 77 – Espectros de fluorescência para a redução da Resazurina sob diferentes estímulos geradores de H_2S	136
Figura 78 – Cronoamperograma para a reação entre os complexos FOR0211B (superior) e FOR0911B (inferior) com L-glutamina.....	137
Figura 79 – Espectros de massas obtidos para os produtos da reação entre FOR0911B e GSH.....	139
Figura 80 – Curvas de relaxamento vascular para titulação com os complexos FOR0211B e FOR0911B na ausência e na presença de ABSN_3	141

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Atribuições e valores de absorvidade molar em acetonitrila para os cloro-complexos FOR0211A e FOR0211B.....	56
Tabela 2	– Dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o complexo FOR0211A.....	61
Tabela 3	– Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para a estrutura cristalográfica do composto FOR0211A.....	61
Tabela 4	– Dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o complexo FOR0211B.....	63
Tabela 5	– Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para a estrutura cristalográfica do composto FOR0211B.....	63
Tabela 6	– Frequências selecionadas e atribuições para as bandas encontradas no espectro vibracional para o complexo FOR0611A em pastilha de KBr.....	65
Tabela 7	– Atribuições e valores de absorvidade molar em acetonitrila para os cloro-complexos FOR0911A e FOR0911B.....	69
Tabela 8	– Atribuições e valores de absorvidade molar em acetonitrila para os cloro-complexos NS011A e NS211A.....	77
Tabela 9	– Vibrações selecionadas (cm ⁻¹) para os complexos NS011A e NS211A.....	78
Tabela 10	– Valores de E ₀ para as análises de XANES dos complexos sob estudo.....	85
Tabela 11	– Distâncias de ligação e parâmetros de refinamento para espectros de EXAFS.....	88
Tabela 12	– Valores de constante de equilíbrio (K) e pH para reação de interconversão NO ⁺ /NO ₂ ⁻ , 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(NO)(phen) ₂ (L)] ⁿ⁺ e <i>cis</i> -[Ru(NO)(bpy) ₂ (L)] ⁿ⁺	91
Tabela 13	– Valores de EC ₅₀ , constante de reação aparente (k) e efeito máximo para as reações entre os complexos sintetizados e o ânion superóxido.....	119

Tabela 14 – Parâmetros relacionados a hidrofobicidade para os compostos sintetizados: número de átomos com potencial doador e aceptor para formação de ligação de hidrogênio e valores de logP.....	123
Tabela 15 – Valores de energia livre, ΔG (kcal mol ⁻¹), e lista de aminoácidos envolvidos nas interações entre os complexos e receptores, determinados por <i>docking</i> molecular.....	125
Tabela 16 – Valores de IC ₅₀ (μmol L ⁻¹) para os ensaios de viabilidade celular.....	131
Tabela 17 – Valores de EC ₅₀ e relaxamento máximo (E _{max}) para o efeito vasodilatador dos compostos sintetizados e padrões.....	134
Tabela 18 – Atribuições dos fragmentos identificados como produtos da reação entre o complexo FOR0911B e GSH.....	140
Tabela 19 – Valores de EC ₅₀ e relaxamento máximo (E _{max}) para o efeito vasodilatador dos compostos FOR0211B e FOR0911B na ausência e na presença de ABSN ₃	141

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-MIM	2-metilimidazol
ABSN ₃	4-(acetoamido)-benzeno-1-sulfonil azida
ATf	Apo-transferrina humana
bpy	2,2'-bipiridina
bDNA	DNA de dupla hélice
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-imidazolidinetiona)
G4DNA	DNA G-quadruplex
GSH	L-glutationa reduzida
HOMO	<i>Highest occupied molecular orbital</i> (Orbital molecular ocupado de maior energia)
HRESI-MS	<i>High resolution electrospray ionization mass spectrometry</i>
HSA	<i>Human Serum Albumin</i> (Albumina Sérica Humana)
HTFA	Ácido trifluoroacético
IC ₅₀	Concentração da droga requerida para inibição de 50% do crescimento
IL	Transição intraligante
ImN	Imidazol
i.p.	intraperitoneal

IV	Infravermelho
kcal	kilocaloria
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)
min	Minuto
MLCT	<i>Metal-ligand charge-transfer</i> (Transferência de carga metal-ligante)
MTS	<i>(3-[4,5,dimethylthiazol-2-yl]-5-[3-carboxymethoxy-phenyl]-2-[4-sulfophenyl]-2H-tetrazolium</i>
nA	Nanoampere
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)
phen	1,10-fenantrolina
PKG	<i>Protein kinase G</i> (Proteína quinase G)
pK _{NO}	pH de interconversão NO ⁺ /NO ₂ ⁻
RMN	Ressonância magnética nuclear
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Espécies Reativas de Oxigênio)
sGC	<i>Soluble guanylate cyclase</i> (Guanilato ciclase solúvel)
SNP	<i>Sodium Nitroprusside</i> (nitroprussiato de sódio)
TD-DFT	<i>Time-dependent density functional theory</i> (Teoria do funcional de

densidade dependente do tempo)

TU Tiouréia

UV Ultravioleta

W Watt

XAS *X-ray Absorption Spectroscopy* (Espectroscopia de Absorção de Raios-X)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	27
1.1	Doenças Cardiovasculares.....	27
1.2	Hipertensão arterial crônica.....	28
1.3	Óxido nítrico.....	30
1.4	Sulfeto de Hidrogênio.....	34
1.5	Compostos de coordenação como fármacos e pró-fármacos.....	36
2	JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	38
3	METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	40
3.1	Atmosfera inerte.....	40
3.2	Água e solventes orgânicos.....	40
3.3	Reagentes	40
3.4	Óxido nítrico (NO).....	40
3.5	Equipamentos e Instrumentação.....	41
3.5.1	<i>Espectrometria de massas.....</i>	<i>41</i>
3.5.2	<i>Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho.....</i>	<i>41</i>
3.5.3	<i>Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do Ultravioleta e Visível...</i>	<i>41</i>
3.5.4	<i>Medidas eletroquímicas.....</i>	<i>42</i>
3.5.5	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear</i>	<i>42</i>
3.5.6	<i>Espectroscopia de absorção de raios-X.....</i>	<i>42</i>
3.5.7	<i>Difração de Raios-X de monocristal.....</i>	<i>43</i>
3.5.8	<i>Espectroscopia de Emissão Fluorescente.....</i>	<i>43</i>
3.5.9	<i>Deteção Quimioluminescente de Óxido Nítrico.....</i>	<i>43</i>
3.5.10	<i>Sensor amperométrico seletivo para H₂S.....</i>	<i>44</i>
3.5.11	<i>Procedimentos sintéticos em reator micro-ondas.....</i>	<i>44</i>
3.6	Ensaio de reatividade associada a NO_x.....	44
3.6.1	<i>Determinação da constante de equilíbrio.....</i>	<i>44</i>
3.6.2	<i>Acompanhamento espectroscópico sob irradiação com luz azul.....</i>	<i>45</i>
3.6.3	<i>Ensaio espectrofotométrico para detecção de NO/HNO.....</i>	<i>45</i>
3.7	Cálculos quântico-mecânicos.....	45
3.8	Simulações de <i>docking</i> molecular.....	46
3.9	Atividade antioxidante.....	46

3.10	Determinação de coeficiente de partição (logP).....	47
3.11	Viabilidade celular.....	48
3.12	Ensaio de Reatividade Vascular.....	48
3.13	Procedimentos Sintéticos por Rotas Convencionais.....	49
3.13.1	cis-[RuCl ₂ (phen) ₂].....	49
3.13.2	cis-[RuCl(phen) ₂ (2MIM)](PF ₆).....	49
3.13.3	cis-[Ru(NO ₂)(phen) ₂ (2MIM)](PF ₆).....	49
3.13.4	cis-[Ru(NO)(phen) ₂ (2MIM)](PF ₆) ₃	50
3.13.5	cis-[RuCl(phen) ₂ (ETU)](PF ₆).....	50
3.13.6	cis-[Ru(NO)(phen) ₂ (ETU)](PF ₆) ₃	51
3.13.7	cis-[Ru(NOSO ₃)(bpy) ₂ (2MIM)]PF ₆	51
3.13.8	cis-[Ru(NOSO ₃)(phen) ₂ (2MIM)]PF ₆	51
3.14	Procedimentos Sintéticos em Reator Micro-ondas.....	51
3.14.1	cis-[RuCl ₂ (phen) ₂].....	52
3.14.2	cis-[RuCl(phen) ₂ (2MIM)](PF ₆).....	52
3.14.3	cis-[Ru(NO ₂)(phen) ₂ (2MIM)](PF ₆).....	52
3.14.4	cis-[RuCl(phen) ₂ (ETU)](PF ₆).....	53
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.1	Cloro-complexos.....	54
4.2	Nitrito-complexos.....	64
4.3	Nitrosilo-complexos.....	67
4.4	Nitrosil-sulfito complexos.....	74
4.5	Dados de Espectroscopia de Absorção de Raios-X (XAS).....	82
4.6	Determinação da constante de equilíbrio de interconversão nitrosil/nitro... ..	89
4.7	Estudo fotoquímico qualitativo para nitrosilo complexos.....	91
4.8	Estudo fotoquímico qualitativo para complexos com nitrosil-sulfito.....	97
4.9	Estudo de reatividade com L-glutationa.....	104
4.9.1	Nitrosilo-complexos.....	105
4.9.2	Nitrosil-sulfito.....	110
4.10	Reatividade com radicais de interesse biológico.....	115
4.11	Coeficiente de partição n-octanol/água (LogP).....	122
4.12	Simulações de <i>Docking</i> molecular.....	124
4.13	Ensaio de Viabilidade Celular.....	130

4.14	Ensaaios de reatividade vascular.....	131
4.15	Ensaaios de Detecção de H ₂ S.....	135
5	CONCLUSÕES.....	142
	REFERÊNCIAS.....	144
	APÊNDICE A – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0211A....	154
	APÊNDICE B – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0211B....	155
	APÊNDICE C – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0611A...	156
	APÊNDICE D – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0911A.....	157
	APÊNDICE E – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0911B....	158
	APÊNDICE F – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO NS011A.....	159
	APÊNDICE G – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO NS211A.....	160
	APÊNDICE H – CONFORMAÇÕES MAIS ESTÁVEIS PARA SIMULAÇÕES DE <i>DOCKING</i> MOLECULAR ENTRE O RECEPTOR G4DNA E COMPLEXOS DE RUTÊNIO.....	161
	APÊNDICE I – CONFORMAÇÕES MAIS ESTÁVEIS PARA SIMULAÇÕES DE <i>DOCKING</i> MOLECULAR ENTRE O RECEPTOR ATf E COMPLEXOS DE RUTÊNIO.....	164

1 INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos permitiram ao homem prosperar nas condições mais adversas. No que diz respeito à tecnologia para fins medicinais e aplicação em saúde isso se torna ainda mais evidente. O surgimento da farmacoterapia racional, baseada nos fundamentos seculares de Hipócrates e Paracelsus, e aprimorada pelos conceitos modernos estabelecidos por Pasteur e Ehrlich resultaram em alguns dos avanços mais significativos do século XX. O desenvolvimento de drogas antimicrobianas, de anti-inflamatórios esteroidais e não-esteroidais e de antineoplásicos resultou não somente no aumento na expectativa de vida, mas também em mudanças comportamentais significativas. O uso de medicamentos se tornou acessível a tal ponto que algumas dessas substâncias tornaram-se parte da rotina e fala-se até mesmo em “fármacos de estilo de vida”.

Entretanto, há uma faceta dessa realidade pouco conhecida fora do meio médico e acadêmico. As facilidades criadas pelo avanço tecnológico combinadas a uma falsa certeza de que não há mais doenças intratáveis levaram a sociedade a uma série de mudanças comportamentais. Tais mudanças hoje se refletem em um novo perfil epidemiológico, diferente do que poderia ser imaginado a algumas décadas. Enquanto se estabelece um (necessário) debate sobre como evitar a próxima pandemia de doenças infectocontagiosas, a população mundial padece, tanto em países ricos como pobres, de males que se desenvolvem de forma silenciosa e que muitas vezes poderiam ser tratáveis quando diagnosticados no tempo correto. É preciso falar sobre doenças cardiovasculares e seus riscos à saúde em nível global.

1.1 Doenças Cardiovasculares

O conjunto de enfermidades que afeta o coração e os vasos sanguíneos, e consequentemente perturba a hemodinâmica regular, é genericamente denominado de doenças cardiovasculares (DCVs).¹ Tais condições abrangem desde as anomalias anatômicas desses órgãos e tecidos (por exemplo, as valvulopatias) até as síndromes decorrentes de problemas metabólicos crônicos, como a aterosclerose.² Enquanto aquelas são patologias congênitas que acompanharão o indivíduo por toda sua vida se não forem corrigidas cirurgicamente, as demais se desenvolvem, geralmente, após os 40 anos em decorrência dos hábitos e estilo de vida do indivíduo. Contudo, fatores genéticos também exercem importância considerável no surgimento desse tipo de morbidade.³

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), doenças cardiovasculares

são a principal causa de morbi-mortalidade a nível mundial, independente do sexo.⁴ As estimativas atuais são de que 17,9 milhões de vidas são perdidas anualmente em decorrência de DCVs, o que representa 32% de todas as mortes ocorridas em todo o mundo.⁵ Apesar de sua prevalência ser maior em indivíduos idosos, existe uma tendência de aumento do número de pessoas jovens portadoras (sintomáticas ou não) dessas enfermidades. Hipertensão arterial e aterosclerose são duas das condições mais prevalentes nas populações. Dados recentes indicam também que 1/3 dos óbitos causados por DCVs ocorrem em indivíduos com menos de 70 anos e que as principais causas de morte são a doença cardíaca isquêmica e o acidente vascular cerebral.⁵ Comportamento similar tem sido observado também no Brasil, conforme informações disponíveis no sistema DATASUS.⁶ De forma igualmente preocupante, verificou-se que houve aumento da mortalidade decorrente de DCVs nos últimos anos em todas as faixas etárias.⁷

Em adição a isso, a recente epidemia do vírus SARS-Cov-2 se mostrou um desafio para a saúde pública a nível mundial pela dificuldade em combater um vírus de alto poder de contágio. Os estudos dos perfis dos pacientes brasileiros internados que evoluíram para casos graves e óbitos mostraram que a presença de algumas comorbidades específicas são fatores de risco independentemente da idade.⁸ Enquanto a hipertensão arterial se apresentou como uma das condições mais comuns nos internados, a diabetes e doenças cardíacas crônicas foram aquelas mais associadas a mortes.^{9, 10}

1.2 Hipertensão arterial crônica

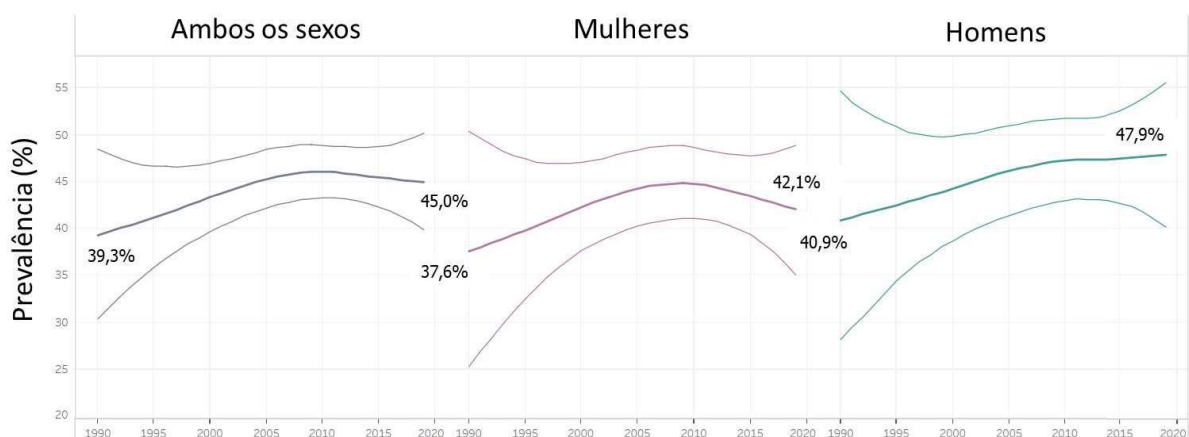
A Escola Americana de Cardiologia (*American College of Cardiology*, ACC), define que há quadro de hipertensão arterial quando a pressão sistólica é igual ou superior a 130 mmHg.¹¹ Ainda que algumas associações médicas discordem em relação ao valor de pressão sanguínea que caracterize a doença (a OMS, por exemplo, estabelece valores de 140 mmHg para pressão sistólica e 90 mmHg para pressão diastólica¹²), o consenso quanto aos riscos à saúde decorrentes dessa condição são absolutos. Uma vez diagnosticada, deve-se iniciar o tratamento de imediato, o qual consiste tanto de mudanças de rotina e hábitos alimentares como também da utilização de fármacos diuréticos visando controle da volemia (volume total de sangue).^{13, 14} Não havendo resposta do paciente a essas intervenções, outras classes de medicamentos podem ser utilizadas como os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) e os inibidores de fosfodiesterase. A incapacidade em controlar a pressão arterial em médio e longo prazo pode levar à cronificação do problema, elevando o risco de acidentes

vasculares, os quais, quando ocorrem em órgãos com maior fluxo hemodinâmico, são potencialmente letais.¹¹

Dados da Organização Mundial da Saúde indicam que há uma tendência crescente de aumento da prevalência de casos de hipertensão arterial em todos os países, sendo o principal fator de risco prevenível para doenças cardiovasculares.¹² As estimativas atuais indicam que cerca de 1,3 bilhão de pessoas em idade adulta tem alguma alteração de pressão arterial e que cerca de 46% desse total vivem sem o conhecimento dessa condição.¹⁵ Em razão disso, vários desses pacientes só terão um diagnóstico correto após um evento grave decorrente de picos pressóricos, os quais podem gerar danos irreversíveis ou até serem fatais. Por essas características, a hipertensão arterial é considerada uma “assassina silenciosa”.

No Brasil, observou-se nas últimas décadas uma tendência similar ao aumento da prevalência da hipertensão arterial, apesar de que menos intensa quando comparado aos países de alta renda.¹⁵ Conforme pode ser observado na figura 1, há indícios de um comportamento de estabilização para o percentual de casos entre a população feminina, enquanto essa tendência parece menos perceptível para o sexo masculino. Fatores comportamentais e culturais justificam esse comportamento, mas tal achado não torna a situação epidemiológica menos preocupante.

Figura 1 – Variação da prevalência de hipertensão arterial entre adultos na faixa etária entre 30 a 79 anos no Brasil, no período entre 1990 e 2019 para homens, mulheres e ambos os sexos. A linha central representa as porcentagens com intervalo de confiança de 95%, enquanto as linhas laterais representam os limiares superiores e inferiores das incertezas nessas estimativas.



Fonte: adaptado de WHO/PAHO¹⁶

A elevação da pressão arterial está diretamente associada a hábitos do indivíduo que dizem respeito tanto a alimentação, consumo de álcool/tabaco, sedentarismo e exposição a

situações de estresse. Tais fatores interferem fortemente com os mecanismos endógenos de controle da tensão na parede dos vasos. Em vista disso, a abordagem inicial de tratamento visa reestabelecer condições viáveis para que o próprio organismo realize a regulação adequada dos níveis pressóricos.^{13, 14}

As estratégias essenciais utilizadas pelo organismo na manutenção do estado normotenso consistem no controle do volume de fluido sanguíneo e do tônus da musculatura de veias e artérias.¹⁷ Essa última, particularmente, dá-se através de mecanismos sofisticados que incluem desde a estimulação pelo sistema nervoso autônomo como também sinalização envolvendo moléculas de baixo peso molecular.¹⁸ Os óxidos de nitrogênio têm se mostrado especialmente interessantes nesse aspecto pela sua relevância em tais processos.

1.3 Óxido nítrico

O óxido nítrico é uma das menores moléculas inorgânicas conhecidas. Na natureza, apresenta-se como um gás incolor (P.E.=-151,7 °C) e termodinamicamente instável, sendo decomposto a nitrogênio e oxigênio gasoso quando em elevadas temperaturas. Nas condições normais de temperatura e pressão (0 °C e 1,0 atm), apresenta baixa solubilidade em meio aquoso (aproximadamente 2,0 mmol L⁻¹). Devido ao seu caráter lipofílico, o NO mostra maior solubilidade em solventes apolares, sendo de 6 a 8 vezes maior em relação à água.¹⁹ 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 Espectroscopia Paramagnética Eletrônica (EPR, *electron paramagnetic resonance*) à temperatura ambiente, uma vez que sofre dimerização.²⁰

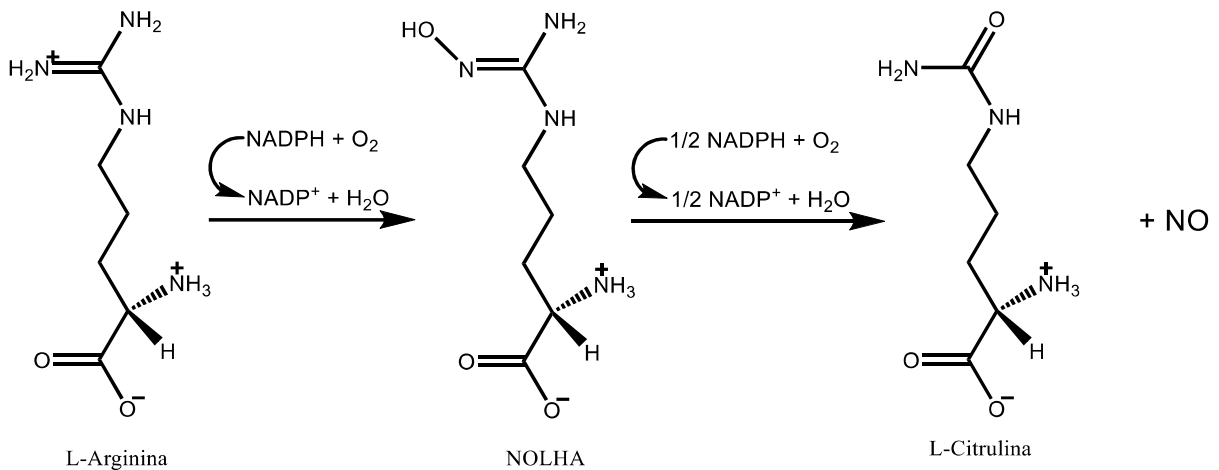
Até meados da década de 1970, o NO era conhecido somente como uma espécie inorgânica instável, a qual havia sido identificada como um perigoso poluente atmosférico, sendo um dos responsáveis pelo *smog* fotoquímico.¹⁹ Contudo, esse panorama mudou quando os trabalhos de Ignarro, Furchgott e Murad levaram 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 (1998), o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia aos 3 pesquisadores e revolucionou o entendimento dos mecanismos de sinalização endógena envolvendo pequenas moléculas inorgânicas.²¹

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.^{19, 22}

Na 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, sendo catalisada por uma classe de enzimas denominada Óxido Nítrico Sintase (NOS). Essa reação é apresentada no esquema disposto na figura 2. Existem três isoformas conhecidas de NOS: endotelial (eNOS), que regula a pressão sanguínea; induzida (iNOS), presente nos macrófagos e neutrófilos e contribui para a explosão oxidativa (*oxidative burst*); neuronal (nNOS), que produz NO na fenda sináptica, participando da transmissão do impulso nervoso.^{19, 22, 23} 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.²⁴

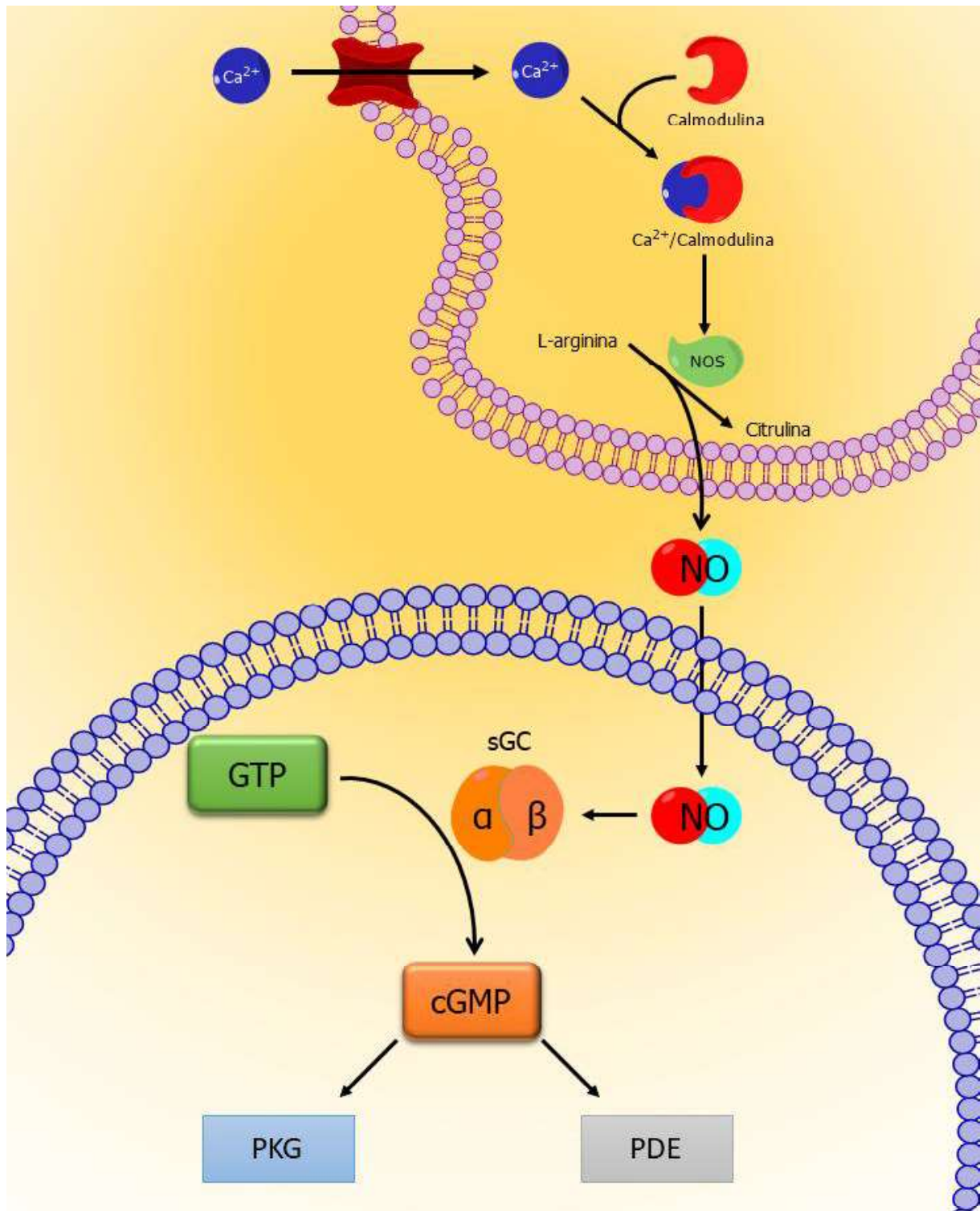
Figura 2 – Reação de síntese do óxido nítrico a partir do aminoácido L-arginina, catalisada pela enzima NOS.



Fonte: adaptado de referência 20

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.^{22,25} Além disso, essa proteína é parte essencial do principal mecanismo fisiológico de regulação da pressão arterial, através do controle do tônus da musculatura dos vasos sanguíneos (figura 3). A resposta autônoma tem início com o estímulo parassimpático através de uma descarga de acetilcolina no endotélio. A despolarização provoca

Figura 3 – Esquema representativo da síntese do óxido nítrico pelas células endoteliais e sua difusão para os seus alvos fisiológicos



Legenda: cGMP: guanosina monofosfato cíclico; GTP: guanosina trifosfato; PKG: proteína quinase G; PDE: fosfodiesterase; sGC: guanilato ciclase solúvel

Fonte: adaptado de referência 26

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.²⁶ Dessa forma, o óxido nítrico atua como um eficiente sinalizador no processo do controle da pressão arterial. Em razão disso, NO gasoso é utilizado na prática clínica para tratamento farmacológico da hipertensão.²⁷ Por exemplo, durante as primeiras ondas do surto de pneumonia viral associado ao SARS-CoV-2, equipamentos compactos para geração/administração de óxido nítrico foram aplicados no cuidado de pacientes que desenvolvem hipertensão pulmonar juntamente à síndrome decorrente do COVID-19.²⁸

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,^{29, 30} 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,^{29, 31} 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.³² 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.^{30, 32}

Na última década, verificou-se que outros óxidos de nitrogênio além do NO também têm relevância fisiológica e farmacológica. O nitroxil (HNO/NO⁻) produto da redução monoeletrônica do óxido nítrico, possui funções metabólicas específicas nos organismos de mamíferos e essas diferem daquelas encontradas para o NO⁰.³³ Além de ser capaz de inibir enzimas cujo sítio ativo contem grupos tiólicos, o HNO atua como um poderoso agente anti-angiogênico, através da desestabilização do Fator de Hipóxia Induzível (HIF), podendo funcionar, portanto, como inibidor de metástase.³⁴ Uma vez que o aumento da expressão de HIF está também associada ao desenvolvimento de aterosclerose,³⁵ o nitroxil pode atuar como um inibidor do desenvolvimento de DCVs. Apresenta ainda forte caráter antioxidante e mostra-se capaz de causar vasodilatação por rotas farmacológicas distintas daquelas verificadas para o óxido nítrico. Além disso, demonstra capacidade de aumentar a contratilidade cardíaca, mesmo

em órgãos em falência, sem elevar a taxa de batimentos.^{34,36} Tais propriedades tornam o nitroxil e os compostos doadores de HNO em potenciais candidatos a drogas para o tratamento de doenças cardiovasculares.

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. O fármaco nitroprussiato de sódio, um complexo de pentacianoferrato com ligante nitrosil, por exemplo, libera NO eficientemente, mas é consideravelmente tóxico e instável.³⁷ Alternativas terapêuticas que permitam explorar as propriedades medicinais do NO eficientemente são, portanto, uma necessidade urgente.

1.4 Sulfeto de Hidrogênio

O sulfeto de hidrogênio apresenta-se como um gás incolor nas condições normais de temperatura e pressão, é inflamável e de odor pungente, geralmente descrito como “cheiro de ovo podre”. Em solução aquosa, apresenta baixa solubilidade (entre 80 e 100 mmol L⁻¹), caráter levemente ácido (pK_a = 6,9) e existe em equilíbrio com os íons HS⁻ e S²⁻, podendo ser oxidado pelo ar atmosférico a vários óxidos de enxofre.³⁸ Durante muito tempo foi considerado somente como um produto tóxico da decomposição da matéria orgânica e da clivagem ácida de sulfetos inorgânicos, podendo ser fatal para humanos em concentrações da ordem de 500 ppm. Estudos toxicológicos envolvendo H₂S demonstraram que essa espécie atua como inibidor de enzimas críticas tais como a anidrase carbônica, a Na⁺/K⁺ ATPase, a monoamino oxidase e a citocromo c oxidase.^{39, 40}

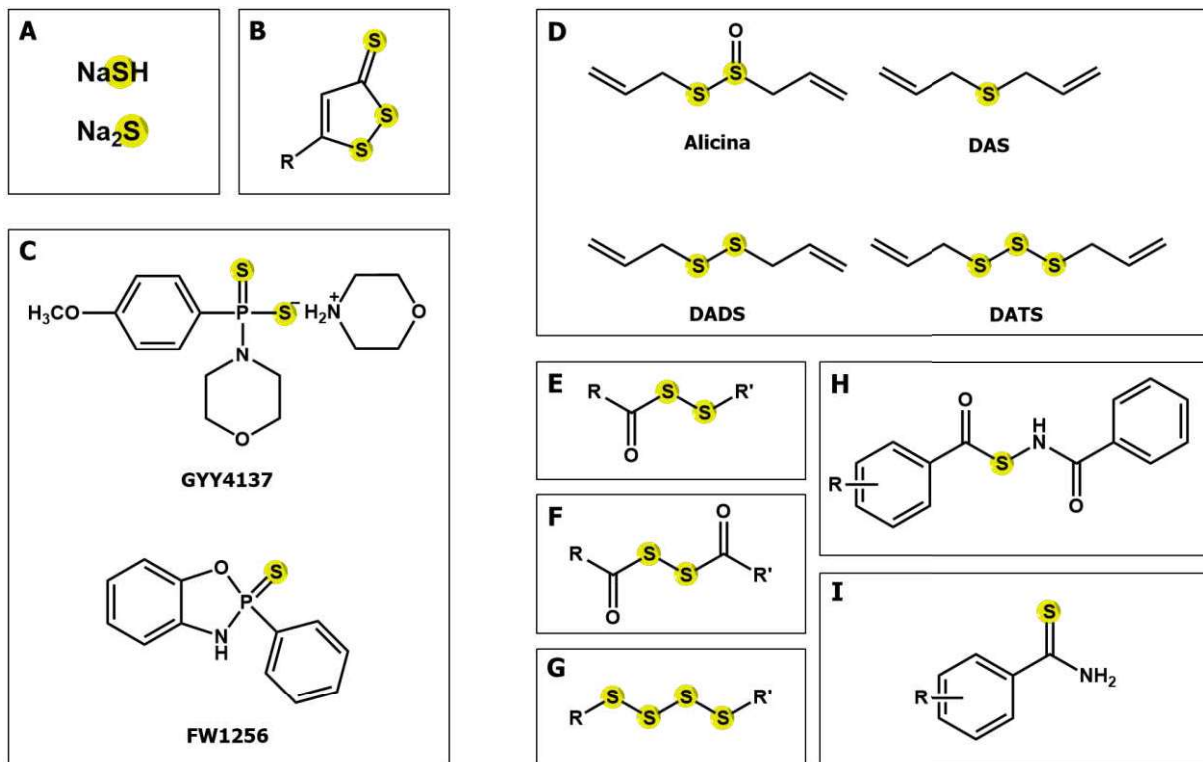
Esse panorama foi radicalmente alterado quando em 1996 os pesquisadores Abe e Kimura demonstraram os mecanismos envolvidos na produção endógena de H₂S e seu efeito como sinalizador celular de efeito neuromodulatório.⁴¹ Curiosamente, evidenciou-se que essa espécie apresentava algumas características similares ao óxido nítrico e ao monóxido de carbono nos tecidos, sendo produzidas de forma regulada, capazes de permear livremente pelas membranas e agindo sobre alvos moleculares específicos com ação sinalizadora definida. Essas propriedades caracterizaram esses três compostos como gasotransmissores.⁴² Estudos subsequentes evidenciaram o papel do H₂S em outras vias de sinalização celular, envolvendo sistema nervoso central, cardiovascular, renal, reprodutivo e digestivo.^{38, 43}

Sulfeto de hidrogênio pode ser produzido no organismo de mamíferos tanto por vias

enzimáticas quanto não-enzimáticas. Quatro vias enzimáticas bem caracterizadas capazes de catalisar reações cujo H_2S é um dos produtos são: cistationina β -sintase (CBS), cistationina γ -liase (CSE), 3-mercaptopiruvato sulfotransferase (3MST) acoplada a cisteína aminotransferase (CAT) e 3MST acoplada a d-aminoácido oxidase (DAO).⁴⁴ CBS e CSE são enzimas presentes no citosol e utilizam homocisteína e cisteína como substrato para produção de sulfeto. Enquanto a primeira é majoritariamente expressa no cérebro, fígado e rins, a segunda pode ser encontrada na musculatura lisa vascular e não-vascular, mas também no tecido hepático.⁴⁵ Por sua vez, 3MST é um enzima mitocondrial que usa 3-mercaptopiruvato (3MP) como substrato para produção de H_2S . 3MP pode ser produzido pela CAT a partir da l-cisteína ou pela DAO utilizando d-cisteína. No que diz respeito a vias não-enzimáticas associadas a formação de sulfetos, acredita-se que a redução de persulfetos ou polisulfetos por NADH ou NAD(P)H pode levar a formação de H_2S e outros metabólitos.⁴⁶ Há evidências ainda de que a oxidação de cisteína na presença de íons Fe^{3+} e vitamina B6 podem atuar como fonte de H_2S .⁴⁷

Diante desse quadro e considerando o amplo potencial terapêutico que se apresentava para esse composto, o sulfeto de hidrogênio foi prontamente testado em diversos modelos para avaliação dos seus efeitos farmacológicos. Desses ensaios foram obtidas evidências de ação anti-inflamatória, vasorelaxante, antioxidante, citoprotetora, entre outras,^{43, 45} estabelecendo a pesquisa por doadores de H_2S para uso medicinal como um relevante campo de estudo. Algumas classes de compostos com essa característica já foram identificados e são apresentados na figura 4 abaixo. Os sais inorgânicos de sulfeto (figura 4A) são as fontes de H_2S mais comumente usadas em estudos, mas não são viáveis para uso terapêutico, além de serem substâncias sujeitas a controle especial por poderem ser usadas na fabricação de explosivos. Ditioltionas (figura 4B) são compostos protótipo capazes de liberar H_2S quando hidrolisados. Sua síntese é razoavelmente simples e suas propriedades podem ser controladas pela mudança do substituinte R. Fosforoditionatos (figura 4C), por sua vez, são compostos que assim como ditioltionas hidrolisam liberando sulfeto de hidrogênio. Essas moléculas já foram testadas em modelos de células tumorais, nos quais a espécie FW1256 apresentou resultados promissores frente a culturas de tumor mamário.⁴⁸ Sulfetos orgânicos naturais como a alicina e o Sulfeto de Dialila, DAS, (figura 4D) são encontrados no alho e diferente de outras classes de doadores de H_2S , esses precisam ser reduzidos por um tiol, como cisteína ou glutathiona (GSH), para iniciar a liberação do gasotransmissor. Esses compostos serviram como base para a síntese de outras classes de doadores dependentes da reação com tióis/tiolatos para promover a liberação de sulfeto (figura E-G).

Figura 4 – Exemplos de doadores de H_2S naturais e sintéticos. A – sulfetos inorgânicos; B – ditioltionas; C – Fosforoditionatos; D – sulfetos orgânicos naturais; E – acil pertióis; F – ditioperoxianidridos; G – polisulfetos; H – S-aroiltiooximas; I – ariltioamidas.



Legenda: DAS: sulfeto de dialila; DADS: dissulfeto de dialila; DATS: trissulfeto de dialila.

Fonte: elaborado pelo autor.

1.5 Compostos de coordenação como fármacos e pró-fármacos.

Medicamentos baseados em compostos de coordenação tem sido extensivamente pesquisados nos últimos anos como estratégia para o tratamento tanto de patologias infecciosas como de doenças não-transmissíveis.⁴⁹⁻⁵³ No caso da terapia contra o câncer, as metalodrogas trouxeram uma significativa contribuição para o arsenal terapêutico com o desenvolvimento dos complexos de platina, dentre os quais a cisplatina, a carboplatina, a oxaliplatina e a satraplatina.⁵⁴ Tais substâncias apresentaram grande sucesso no tratamento de tumores de testículo, ovário, pescoço e cabeça,⁵⁵ 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,⁵⁴⁻⁵⁷ redirecionaram as pesquisas para a busca de novas drogas baseadas em outros metais, como ouro, titânio, vanádio, ósmio, cobre, entre outros.⁵⁸⁻⁶⁰ Além destes, metalofármacos contendo rutênio tem se mostrado bastante promissores nessa e em outras aplicações.

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.⁶¹ 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.^{61, 62}

Atualmente, dois complexos de rutênio (NKP1339 e TLD1433) estão sob estudos de fase clínica a fim de atestar sua eficácia e segurança como drogas anticâncer.⁶³ Esses compostos evidenciam o potencial no desenvolvimento de drogas baseadas nesse metal, bem como a possibilidade de alcançar modulação fina das propriedades desejadas para complexos de coordenação através da escolha apropriada dos ligantes. Em vista disso, compostos de rutênio também têm sido desenvolvidos e estudados a fim de funcionar como doadores de óxido nítrico. A combinação do potencial farmacológico dos complexos metálicos com as propriedades terapêuticas do NO são perspectivas promissoras as quais esse trabalho deseja explorar.

2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

A busca por novas alternativas terapêuticas para o tratamento de doenças de elevada importância epidemiológica vem conduzindo os pesquisadores na área de química inorgânica medicinal ao estudo dos complexos de coordenação. A considerável versatilidade desses sistemas químicos permite a obtenção de extensas bibliotecas de compostos com estruturas inovadoras e múltiplas aplicações. Nesse sentido, ao combinar a ação farmacológica de íons metálicos com a de espécies sinalizadoras, 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 patologias.

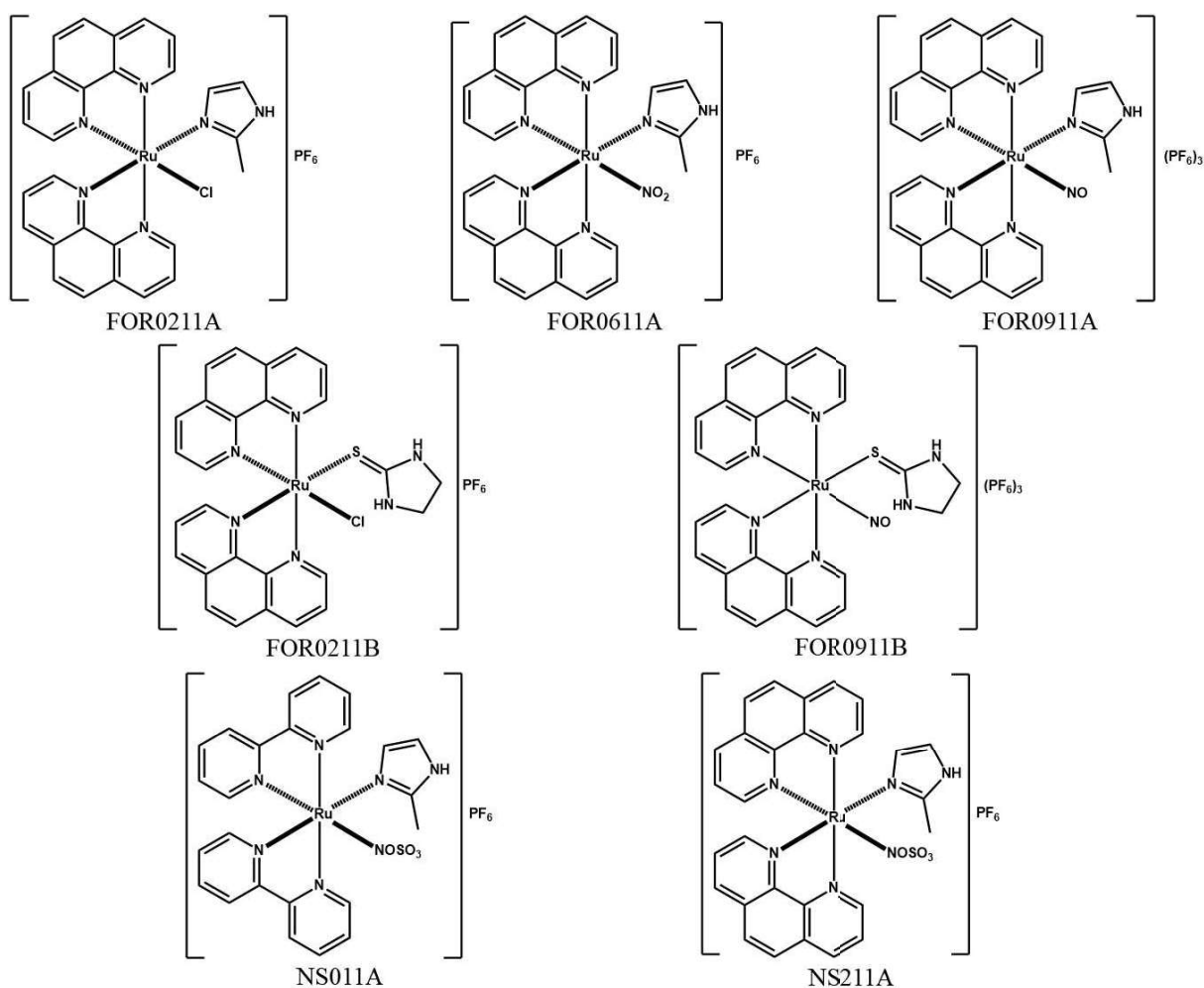
Esse trabalho é parte de uma linha de pesquisa em desenvolvimento no grupo de Bioinorgânica da UFC, que busca sintetizar compostos de coordenação baseados em rutênio, contendo o ligante nitrosil, capazes de interagir majoritariamente com a isoforma solúvel da enzima guanilato ciclase (sGC) e que tenham 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*-bisfenantrolina de rutênio(II), o qual apresenta considerável estabilidade redox, propriedades fotofísicas desejáveis para aplicação terapêutica e já tem sido utilizado com sucesso na síntese de potenciais candidatos a metalofármacos (Figura 5). A fim de potencializar 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(phen)₂(L)NO]ⁿ⁺, onde: phen = 1,10-fenantrolina; L=2-metilimidazol (2MIM) ou etilenotioureia (ETU);
- Sintetizar complexos do tipo *cis*-[Ru(L-L)₂(2MIM)(NOSO₃)]ⁿ⁺, onde L-L = 2,2'-bipiridina ou 1,10-fenantrolina
- 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, espectrometria de massas, difração de raios X espectroscopia de absorção de raios X 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 o potencial antioxidante dos compostos sintetizados como capturadores (*scavengers*) de radicais livres;
- Avaliar propriedades de interesse farmacocinético para esses compostos por métodos experimentais e *in silico*;
- Determinar o potencial farmacológico dos complexos como agentes antitumorais e anti-hipertensivos.

Figura 5 – Estruturas e códigos de identificação para os compostos sintetizados nesse trabalho.



Fonte: elaborado pelo autor

3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1 Atmosfera inerte

Nos procedimentos 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 MΩ cm a 25 °C) tratada usando o equipamento Direct-Q 3 UV Water Purification System (Millipore).

Metanol, etanol, N,N-dimetilformamida (DMF) 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

$\text{RuCl}_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ (99%), de procedência Precious Metals Online. 2,2'-bipiridina (99%), 2-(4-Carboxifenil)-4,4,5,5-tetrametilimidazolina-1-oxil-3-oxido sal de potássio (cPTIO, 98%), 2-metilimidazol (98%), 2-imidazolidinotona (98%), 1,10-fenantrolina (98%), NaNO_2 (99%), L-glutationa reduzida ($\geq 98\%$), NaH_2PO_4 (99%), Na_2HPO_4 (99%), $\text{NaHS} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (98%), NH_4PF_6 (99%), resazurina (97%) procedência Sigma-Aldrich. KBr grau espectroscópico, LiCl (98%) fornecidos por VETEC. H_2SO_4 (98%), NaOH (97%), NaNO_2 (98%) procedência Synth. Solução Tampão DPBS 10x fornecido por Santa Cruz Biotechnology. Solução de HTFA PA procedência TEDIA. 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 solução de ácido sulfúrico 1,0 mol L⁻¹, descrita segundo o equilíbrio (equação 1) abaixo. 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

Espectros de massas foram obtidos em um espectrômetro Agilent G1956B LCMS acoplado a um sistema cromatográfico 1100 Series HPLC (LC-MSD) operando no modo positivo ESI(+)-MS e usando uma faixa de razão massa-carga (m/z) de 100 a 1000 Dalton. As análises foram realizadas no Centro de Espectrometria de Massas do Laboratório de Química Biológica (National Cancer Institute, Frederick, USA).

Além disso, dados de massa de alta resolução foram obtidos em equipamento Q-ToF-MS mass spectrometer (6550 iFunnel, Agilent Technologies) 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 $\mu\text{L min}^{-1}$. Os dados foram registrados 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 na região do 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 nos espectrômetros AVANCE DPX 300 e 500 Bruker, operando a 300 e 500 MHz, respectivamente. As medidas foram realizadas em solução de acetona ou DMSO deuterados, conforme a necessidade.

3.5.6 Espectroscopia de absorção de raios X

Medidas de espectroscopia de absorção de raios X (*X-ray absorption spectroscopy*, XAS) na banda K do rutênio foram realizadas na linha de luz XDS do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS/CNPEM). A energia incidente foi selecionada por um monocromador duplo cristal de Si (311) e um espelho de focagem toroidal. A radiação incidente foi calibrada usando uma folha de rutênio metálico atribuindo o valor máximo da primeira derivada da banda K desse elemento ao valor de 22117 eV.

A medida da borda K de todos os complexos foi realizada em estado sólido. As amostras foram maceradas e o pó obtido prensado em discos de 13 mm de diâmetro com 1 mm de espessura. Fita aderente (Kapton) foi utilizada para aderir os discos ao porta amostras. Todos os espectros foram obtidos a temperatura ambiente, no modo transmissão com três câmaras de

ionização preenchidas com uma mistura de nitrogênio e argônio. Cálculo das médias, remoção do sinal de fundo e normalização dos espectros foram realizados usando o *software* Athena.⁶⁴

Análise dos dados de EXAFS foram realizadas usando o *software* Artemis,⁶⁴ seguindo procedimento descrito para estruturas similares.⁶⁵ Funções de fase e amplitude foram calculados usando o código FEFF6 usando as estruturas obtidas via otimização computacional (DFT) como base. Os ajustes (*fits*) foram realizados no espaço k na janela de 2,0-14,0 Å⁻¹ acompanhada de um intervalo de 1,2 a 4 Å no espaço R .

3.5.7 Difração de Raios X de monocristal

Os dados de difração foram coletados num Difrátometro Bruker D8 Kappa, equipado com um detector PHOTON II CPAD, uma fonte CuK α INCOATEC I μ S 3.0 microfocus ($\lambda = 1.54178$ Å), e *software* controlador APEX 3. As medidas foram realizadas a 150 K utilizando criostato Cryostream 800 da Oxford Cryosystems. Redução dos dados e refinamento da célula global foram feitos usando o pacote Bruker SAINT e as intensidades foram corrigidas usando SADABS. A estrutura foi resolvida e refinada utilizando SHELXT⁶⁶ e SHELXL⁶⁷ implementados no *software* OLEX2⁶⁸. Todos os átomos (exceto hidrogênios) foram refinados anisotropicamente. Os programas MERCURY⁶⁹ e ORTEP-3⁷⁰ foram utilizados na preparação do CIF e ilustrações.

3.5.8 Espectroscopia de Emissão Fluorescente

Os experimentos de espectroscopia de emissão estacionária foram realizados utilizando Fluorímetro Estacionário QM-40 (PTI) operando com o *software* PTI-Felix 32. As medidas foram realizadas em solução, com o auxílio de cubetas de quartzo de caminho ótico igual a 1,0 cm. A abertura de fendas de excitação e emissão foram ajustadas conforme a necessidade.

3.5.9 Detecção Quimioluminescente de Óxido Nítrico

O sistema Sievers Nitric Oxide Analyzer (NOA) modelo 280i (GE Analytical Instruments, EUA) foi utilizado para a quantificação do óxido nítrico. O equipamento foi calibrado usando quantidades crescentes de NO gerado in situ pela reação de NaNO₂ com NaI em meio ácido. Para as medições das amostras, um volume adequado de tampão PBS pH 7,4

contendo ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA, 50 μM) e L-glutathiona reduzida foram colocados na câmara de reação do equipamento e aspergidos com argônio. Em seguida, uma solução de DMSO:água (1:9) do complexo foi injetada na câmara de reação e a liberação de NO foi registrada. Alternativamente, utilizou-se uma lâmpada LED RGB (20 W) para medidas de fotoliberação, na ausência de L-glutathiona. Para detecção indireta de HNO, uma alíquota de hexacianoferrato de potássio aquoso em excesso foi injetada com a solução do complexo. A quantidade total de óxido nítrico liberado foi determinada integrando a área sob a curva e aplicando uma curva de calibração. As experiências foram realizadas em triplicata.

3.5.10 Sensor amperométrico seletivo para H₂S

A capacidade geradora de H₂S dos complexos foi avaliada por detecção amperométrica, utilizando um Analisador de Radicais Livres multicanal TBR 4100 (WPI) por meio de um eletrodo seletivo para sulfeto de hidrogênio. As medidas foram realizadas em tampão DTPA 50 μM , na presença e ausência de L-glutathiona como agente redutor.

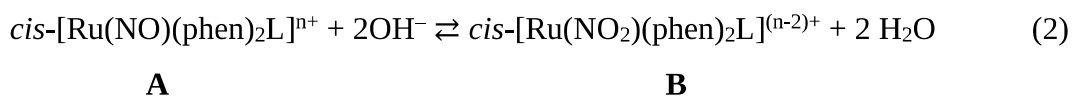
3.5.11 Procedimentos sintéticos em reator micro-ondas

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.

3.6 Ensaios de reatividade associada a NO_x

3.6.1 Determinação da constante de equilíbrio

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



Foi acompanhada espectrofotometricamente, através de metodologia descrita na literatura.⁷¹ 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 irradiação com luz azul

Soluções dos complexos na concentração de 80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram preparadas utilizando solução de HTFA 0,1 mol L^{-1} , pH=3,0, ou acetonitrila conforme a necessidade. Essas foram acondicionadas em célula de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm, a qual foi irradiada utilizando uma lâmpada LED azul (λ_{max} =460 nm), com potência de 20 W. As soluções foram irradiadas em intervalos progressivos totalizando 240 minutos de exposição à luz.

De forma análoga, amostras sólidas dos complexos diluídas em KBr foram irradiadas com a mesma fonte de luz e analisadas por espectroscopia vibracional na região do infravermelho.

3.6.3 Ensaios espectrofotométricos 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) como sondas. 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.

3.7 Cálculos quanto-mecânicos

Cálculos computacionais foram realizados no Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho da Universidade Federal do Ceará (CENAPAD-UFC). Utilizou-se os softwares GaussView 5.0⁷² para geração dos inputs e o Gaussian09⁷³ para execução dos cálculos em máquinas disponíveis em um ambiente BullX B500 equipado com processadores Intel X5650. A otimização das geometrias dos complexos foi realizada utilizando Teoria do Funcional de Densidade (DFT), por meio do funcional híbrido B3LYP (restrito).⁷⁴⁻⁷⁶

Usou-se como conjunto de bases LANL2DZ^{77, 78} para descrição do átomo de rutênio e 6-311G(d)⁷⁹ 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),⁸⁰ nas quais foram utilizadas água ou acetonitrila como solventes.

3.8 Simulações de *docking* molecular

Cálculos de *docking* molecular foram realizados frente a diferentes alvos de interesse biológico, os quais são: albumina sérica humana, apo-Transferrina human, DNA dupla hélice e DNA G-quadruplex. As estruturas dessas biomoléculas foram obtidas do *Protein Data Bank* (PDB),⁸¹ sendo designadas pelos identificadores 1BM0, 2HAV, 4JD8 e 6NRL, 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 1.5.6,⁸² de acordo com procedimento já descrito.⁸³ 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 4.2,⁸² seguindo protocolo previamente validado.^{83, 84} 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 1.8.⁸⁵

3.9 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante dos complexos foi avaliada frente ao radical superóxido utilizando metodologia descrita na literatura.⁸⁶ O ânion superóxido foi gerado enzimaticamente pela reação entre hipoxantina e a proteína xantina oxidase. Solução de fosfato de sódio (pH=7,4; $\mu=0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foi utilizada como tampão. Manteve-se a temperatura constante a 25 °C e a produção de ácido úrico ($\lambda_{\text{max}}=290 \text{ nm}$, $\epsilon = 9183 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) foi monitorada como controle positivo da reação.⁸⁷ A detecção do radical foi realizada utilizando-se citocromo c ($\lambda_{\text{max}}=550$

nm, $\epsilon = 21.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) como sonda.⁸⁸

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.⁸⁶

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

Onde: %Cap: porcentagem de captação do radical $((Abs_{controle} - Abs_{reação})/Abs_{controle})$; C_{cit-c} : concentração de citocromo c; C_{RuNO} : concentração de complexo; k_1 : 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.

3.10 Determinação de coeficiente de partição (logP)

Os valores de coeficiente de partição (log P) para os complexos sintetizados foram determinadas pelo método “shake-flask”, utilizando-se n-octanol e água. Uma alíquota de 1 mL da solução de partição (complexo em água) é transferida para uma cubeta de quartzo para que seja lida e registrada a absorbância inicial da solução para a partição. Posteriormente, 1 mL da solução de partição (fase aquosa) foi transferido para um béquer e 1 mL de n-octanol previamente saturado com água é adicionado. Em seguida, a solução é submetida a agitação magnética por 24 horas. Após esse período, a solução é transferida para tubos de eppendorf e submetidos a centrifugação (5 minutos) para separar totalmente as duas fases. Posteriormente, uma alíquota de 1 mL da fase aquosa é transferida para uma cubeta de quartzo, de caminho óptico de 1 cm, e realizada a leitura da absorbância final em comprimento de onda apropriado. Os procedimentos foram realizados em temperatura de 25°C e o logP foi calculado através da equação abaixo.

$$\log P = \log \frac{[Ru]_{octanol}}{[Ru]_{água}} \quad (5)$$

Onde $[Ru]_{octanol}$ é a concentração do composto em 1-octanol e $[Ru]_{água}$ é a concentração do composto na fase aquosa. A concentração em fase orgânica foi obtida de maneira indireta, através da determinação da absorção inicial e final, ou seja, antes e depois da

partição do complexo. Para a quantificação da concentração em fase aquosa foi realizado curvas de calibração para cada um dos complexos. As medidas foram realizadas em duplicata.

3.11 Viabilidade celular

A determinação do potencial citotóxico foi realizada no Laboratório Integrado de Biomoléculas da UFC, através do método do MTS. Foram utilizadas as linhagens MCF-7 (adenocarcinoma de mama), LNCaP clone FGC (carcinoma da próstata metastático), A549 (carcinoma de pulmão humano) e NCTC929 (fibroblastos murinos), ambas obtidas da ATCC® (American Type Culture Collection, EUA, através do Banco de células do Rio de Janeiro (BCRJ). Após a tripsinização, as células ($2 \times 10^4/200 \mu\text{L}/\text{poço}$) foram incubadas em placas de poliestireno de fundo chato (96 poços), mantidas por 24 horas em estufa a 37°C , 95% de umidade e 5% de CO_2 . Posteriormente, o meio foi retirado e adicionou-se $200 \mu\text{L}$ de meio suplementado contendo os compostos de rutênio nas concentrações de 50; 25; 12,5; 6,2; 3,1; 1,6 e 0,8. Após, 48 horas o meio foi retirado e substituído por $100 \mu\text{L}$ de meio não suplementado no qual adicionou-se $20 \mu\text{L}$ da solução de sal tetrazolium MTS (CellTiter 96® Aqueous MTS Reagent Powder, Promega, WI, USA) de acordo com recomendações do fabricante.

A densidade ótica foi mensurada em um leitor de microplacas (SpectraMax i3 Multi-Mode Microplate Reader) com comprimento de onda de 490 nm. Foram realizados três ensaios de viabilidade independentes e em triplicata. A viabilidade celular foi calculada pela equação abaixo:

$$\text{Viabilidade celular (\%)} = [(\text{Abs}_{490\text{nm}}\text{-amostra})/(\text{Abs}_{490\text{nm}}\text{-controle})] \times 100\% \quad (6)$$

3.12 Ensaios de 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 nutritiva 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 $3 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes preparações de aorta de ratos ($n = 6$, cada).

3.13 Procedimentos Sintéticos por Rotas Convencionais

3.13.1 *cis*-[RuCl₂(phen)₂]

O complexo foi sintetizado conforme procedimento descrito na literatura.⁸⁹

3.13.2 *cis*-[RuCl(phen)₂(2MIM)](PF₆)

200 mg (0,376 mmol) do complexo *cis*-[RuCl₂(phen)₂] e 62,4 mg (0,76 mmol) do ligante 2-metilimidazol foram dissolvidos em 30 mL de etanol anidro em balão de fundo redondo conectado a condensador. O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 8 h. A solução foi resfriada, 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: 55%. HRESI-MS: [M – PF₆]⁺ teórico 579,0632 Da (C₂₈H₂₂N₆ClRu⁺); experimental 579,0630 Da. Análise Elementar: Teórico (C₂₈H₂₂F₆N₆ClPRu): C, 46,45; H, 3,06; N, 11,61%. Experimental: C, 48,62; H, 3,11; N, 11,49%.

3.13.3 *cis*-[Ru(NO₂)(phen)₂(2MIM)](PF₆)

200 mg (0,376 mmol) do complexo *cis*-[RuCl₂(phen)₂] e 31,2 mg (0,38 mmol) do ligante 2-metilimidazol foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50%. O

sistema foi acondicionado no reator micro-ondas conectado a condensador. O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 2 h. Em seguida, foram adicionados 26,3 mg (0,38 mmol) de NaNO_2 e submeteu-se a solução novamente a refluxo por 4 h. 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: 65%. HRESI-MS: $[\text{M} - \text{PF}_6]^+$ teórico 590,0878 Da ($\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_7\text{O}_2\text{Ru}^+$); experimental 590,0879 Da. Análise Elementar: Teórico ($\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}_2\text{PRu}$): C, 45,78; H, 3,02; N, 13,35%. Experimental: C, 44,03; H, 2,97; N, 12,86%.

3.13.4 *cis*-[Ru(NO)(phen)₂(2MIM)](PF₆)₃

150 mg (0,204 mmol) do complexo *cis*-[Ru(NO₂)(phen)₂(2MIM)] foram dissolvidos em 30 mL de metanol previamente desaerada com argônio. Essa solução foi acidificada pela adição lenta de 150 μL de ácido hexafluorofosfórico (HPF_6). O sistema foi mantido sob atmosfera inerte e ao abrigo da luz durante 2 h. Após esse período, o precipitado foi coletado por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 52%. ESI-MS: $[\text{M} + \text{H} - 3\text{PF}_6]^+$ teórico 575,100 Da ($\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_7\text{ORu}^+$); experimental 575,007 Da. Análise Elementar: Teórico ($\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{F}_{18}\text{N}_7\text{OP}_3\text{Ru}$): C, 33,35; H, 2,20; N, 9,72%. Experimental: C, 32,01; H, 2,00; N, 11,37%.

3.13.5 *cis*-[RuCl(phen)₂(ETU)](PF₆)

200 mg (0,376 mmol) do complexo *cis*-[RuCl₂(phen)₂] e 44,8 mg (0,4 mmol) do ligante etilenotioureia foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50%. O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 4 h. A solução foi resfriada, 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: 58%. HRESI-MS: $[\text{M} - \text{PF}_6]^+$ teórico 599,0353 Da ($\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{ClN}_6\text{RuS}^+$); experimental 599,0345 Da. Análise Elementar: Teórico ($\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{ClF}_6\text{N}_6\text{PRuS}$): C, 43,58; H, 2,98; N, 11,30%. Experimental: C, 42,12; H, 2,79; N, 10,88%.

3.13.6 *cis-[Ru(NO)(phen)₂(ETU)](PF₆)₃*

150 mg (0,202 mmol) do complexo *cis*-[RuCl(phen)₂(ETU)]PF₆ foram dissolvidos em metanol previamente deaerado com argônio. 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%. ESI-MS: [M – 2H – 3PF₆]⁺ teórico 592,049 Da (C₂₇H₂₀N₇ORuS⁺); experimental 592,022 Da. Análise Elementar: Teórico (C₂₇H₂₀F₁₈N₇OP₃RuS): C, 31,59; H, 1,96; N, 9,55%. Experimental: C, 29,83; H, 1,89; N, 8,95%.

3.13.7 *cis-[Ru(NOSO₃)(bpy)₂(2MIM)]PF₆*

150 mg (0,156 mmol) do complexo *cis*-[Ru(NO)(bpy)₂(2MIM)](PF₆)₃ (preparado conforme descrito por Gouveia Jr.⁹⁰) foram dissolvidos em 10 mL de solução hidroetanólica a 50%, previamente deaerada com argônio. Após completa solubilização do material de partida foram adicionados 20 mg (0,16 mmol) de sulfito de sódio anidro. O sistema foi mantido sob agitação e atmosfera de argônio por 2 horas. Após esse período o volume da solução foi reduzido à metade em rotaevaporador e o sólido obtido foi recolhido por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 32%. ESI-MS: [M – PF₆]⁺ teórico 606,0492 Da (C₂₄H₂₂N₇O₄RuS⁺); experimental 606,0494 Da. Análise Elementar: Teórico (C₂₄H₂₂F₆N₇O₄PRuS): C, 38,41; H, 2,95; N, 13,06%. Experimental: C, 35,96; H, 2,96; N, 12,45%.

3.13.8 *cis-[Ru(NOSO₃)(phen)₂(2MIM)]PF₆*

A síntese seguiu procedimento similar ao do item 3.9.6, partindo-se do complexo *cis*-[Ru(NO)(phen)₂(2MIM)](PF₆)₃ e utilizando 19 mg (0,15 mmol) de sulfito de sódio. Rendimento: 35%. ESI-MS: [M – PF₆]⁺ teórico 654,0497 Da (C₂₄H₂₂N₇O₄RuS⁺); experimental 654,0495 Da. Análise Elementar: Teórico (C₂₈H₂₂F₆N₇O₄PRuS): C, 42,11; H, 2,78; N, 12,28%. Experimental: C, 40,79; H, 2,81; N, 11,87%.

3.14 Procedimentos Sintéticos em Reator Micro-ondas

3.14.1 *cis-[RuCl₂(phen)₂]*

O complexo precursor foi sintetizado adaptando o procedimento descrito na literatura.⁸⁹ 1,0 g do composto RuCl₃.xH₂O (3,82 mmol) foi dissolvido em 20 mL de N,N-dimetilformamida (DMF) em balão de fundo redondo compatível com sistema micro-ondas e condensador vertical, e submetido a um ciclo de irradiação com rampa de potência partindo de 50 W até 100 W no tempo de 5 minutos (10 W min⁻¹), sob agitação magnética e em modo aberto (*open-vessel mode*). Adicionou-se 1,38 g do ligante 1,10-fenantrolina (7,65 mmol) juntamente com 1,62 g de LiCl (38,2 mmol) e submeteu-se a mistura (em balão conectado a condensador) a novo ciclo de irradiação com rampa de potência partindo de 100 W até 250 W em 10 minutos (15 W min⁻¹) e mantendo-se a potência de 250 W por 50 minutos, sob agitação magnética e em modo aberto (*open-vessel mode*). Após resfriamento do sistema, o produto foi precipitado pela adição de 200 mL de acetona gelada e mantido em geladeira por 12 horas. A suspensão obtida foi filtrada em funil de água porosa, lavada com 1 L de água destilada e mantida em dessecador sob pressão reduzida. Rendimento: 61%. Caracterizações apresentaram resultados compatíveis com os dados reportados.

3.14.2 *cis-[RuCl(phen)₂(2MIM)](PF₆)*

200 mg (0,376 mmol) do complexo *cis*-[RuCl₂(phen)₂] e 31,2 mg (0,38 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 foram adicionados 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: 62%.

3.14.3 *cis-[Ru(NO₂)(phen)₂(2MIM)](PF₆)*

200 mg (0,376 mmol) do complexo *cis*-[RuCl₂(phen)₂] e 31,2 mg (0,38 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 26,3 mg (0,38

mmol) de NaNO_2 e submeteu-se a solução a outro de ciclo de 30 minutos a 200 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: 53%.

3.14.4 *cis*-[RuCl(phen)₂(ETU)](PF₆)

200 mg (0,376 mmol) do complexo *cis*-[RuCl₂(phen)₂] e 44,8 mg (0,4 mmol) do ligante etilenotioureia foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50%. A solução foi submetida a irradiação em reator micro-ondas na potência de 200 W, sob agitação magnética durante 30 minutos. Após resfriar o sistema, a solução 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: 62%.

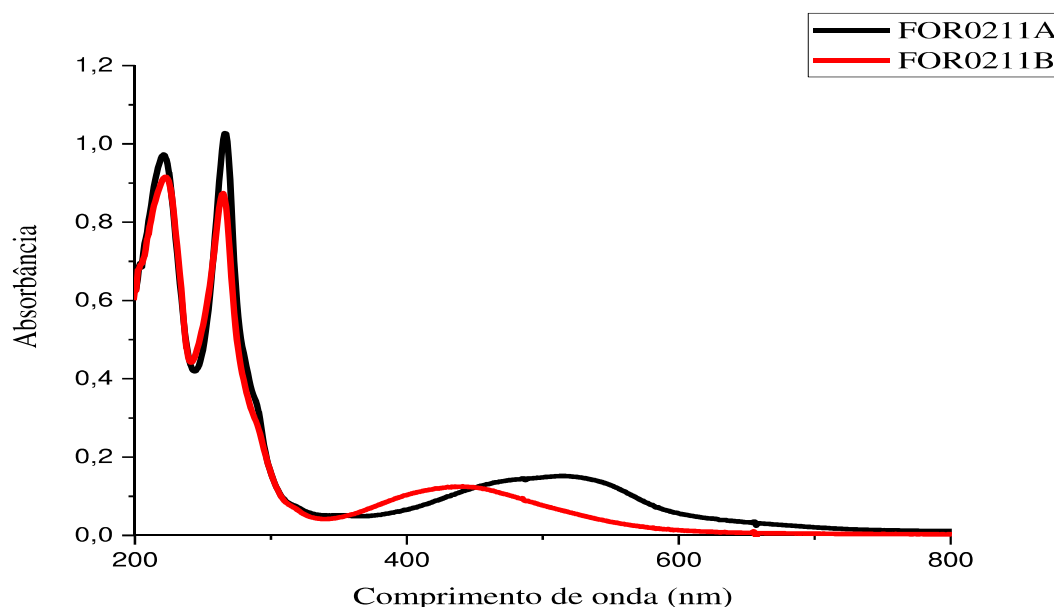
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Cloro-complexos

Os cloro-complexos sintetizados nesse trabalho, utilizados como precursores para os respectivos nitrosilo-complexos de interesse, foram obtidos através de adaptação de rotas sintéticas convencionais, as quais foram otimizadas para uso de reator micro-ondas. Essa estratégia permite a obtenção desses compostos com melhores rendimentos e maior pureza analítica, além de reduzir consideravelmente o tempo necessário para o seu preparo. A caracterização dessas espécies é descrita nessa seção.

Espectros eletrônicos na região do ultravioleta e visível (UV-vis) foram obtidos em acetonitrila para ambos os complexos. Conforme pode ser observado na Figura 6, bandas de absorção características para espécies do sistema *cis*-[RuCl(phen)₂(L)]⁺ puderam ser identificadas e atribuídas.^{91,92}

Figura 6 – Espectros de UV-vis para os complexos FOR0211A e FOR0211B, nas concentrações de 29 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtidos em acetonitrila.

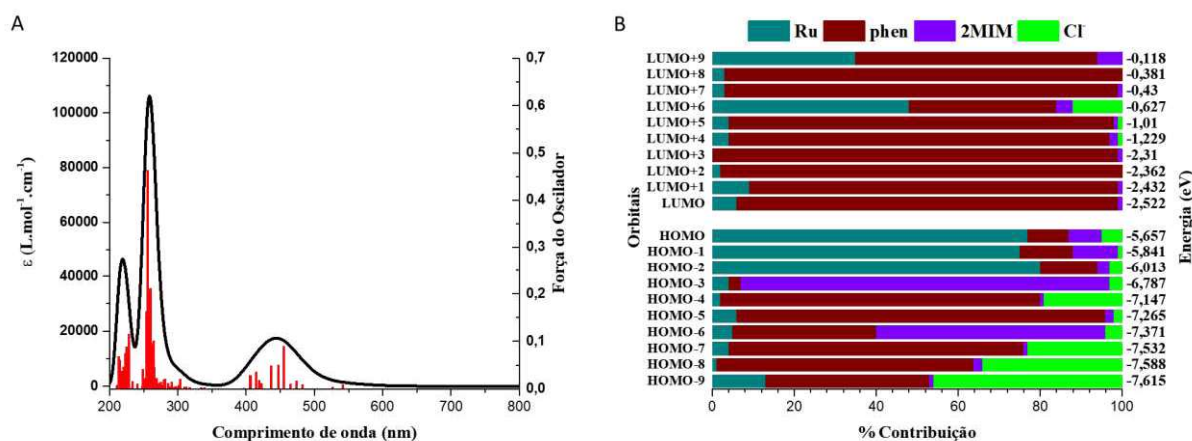


Fonte: o autor

Observa-se que há grande similaridade entre o perfil espectral de ambos os compostos na região abaixo de 350 nm, onde foram identificadas bandas de caráter intraligante referente a transições eletrônicas envolvendo orbitais π e π^* dos ligantes fenantrolínicos.

Destaca-se que as bandas em torno de 260 nm também possui contribuições de transições com caráter de transferência de carga metal para ligante (*metal-to-ligand charge transfer*, MLCT). Já na região da radiação visível, verifica-se a existência de bandas largas referentes a transições do tipo MLCT. Essas atribuições foram possíveis pelo uso de simulações computacionais através da Teoria do Funcional de Densidade dependente do Tempo (TD-DFT, *Time-dependent Density Function Theory*) e os dados obtidos, juntamente com os valores de máximo de absorção e absorvidade molar são apresentados nas Figuras 7 e 8 e na Tabela 1.

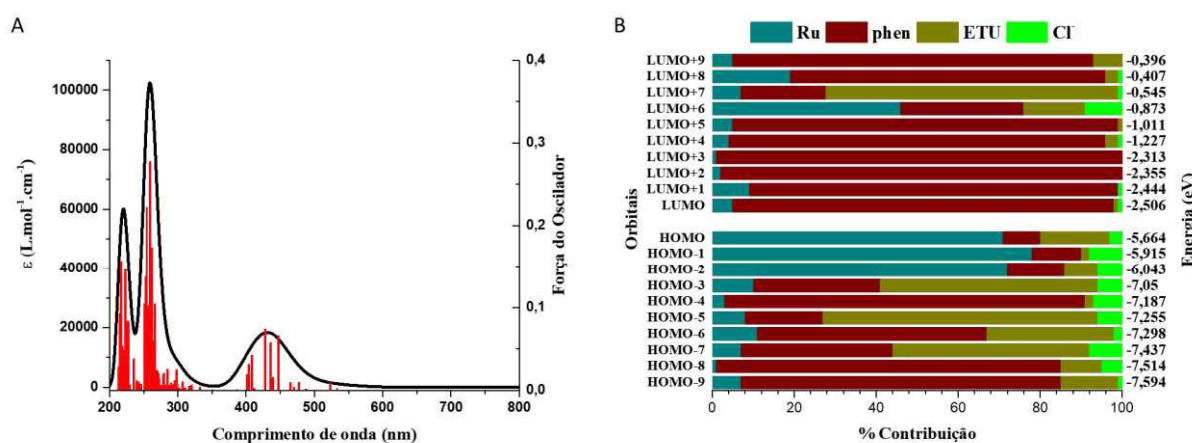
Figura 7 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0211A.



Legenda: Ru – rutênio; phen – fenantrolina; 2MIM: 2-metilimidazol.

Fonte: elaborado pelo autor

Figura 8 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0211B.



Legenda: Ru – rutênio; phen – fenantrolina; ETU: etilenotiuréia.

Fonte: elaborado pelo autor

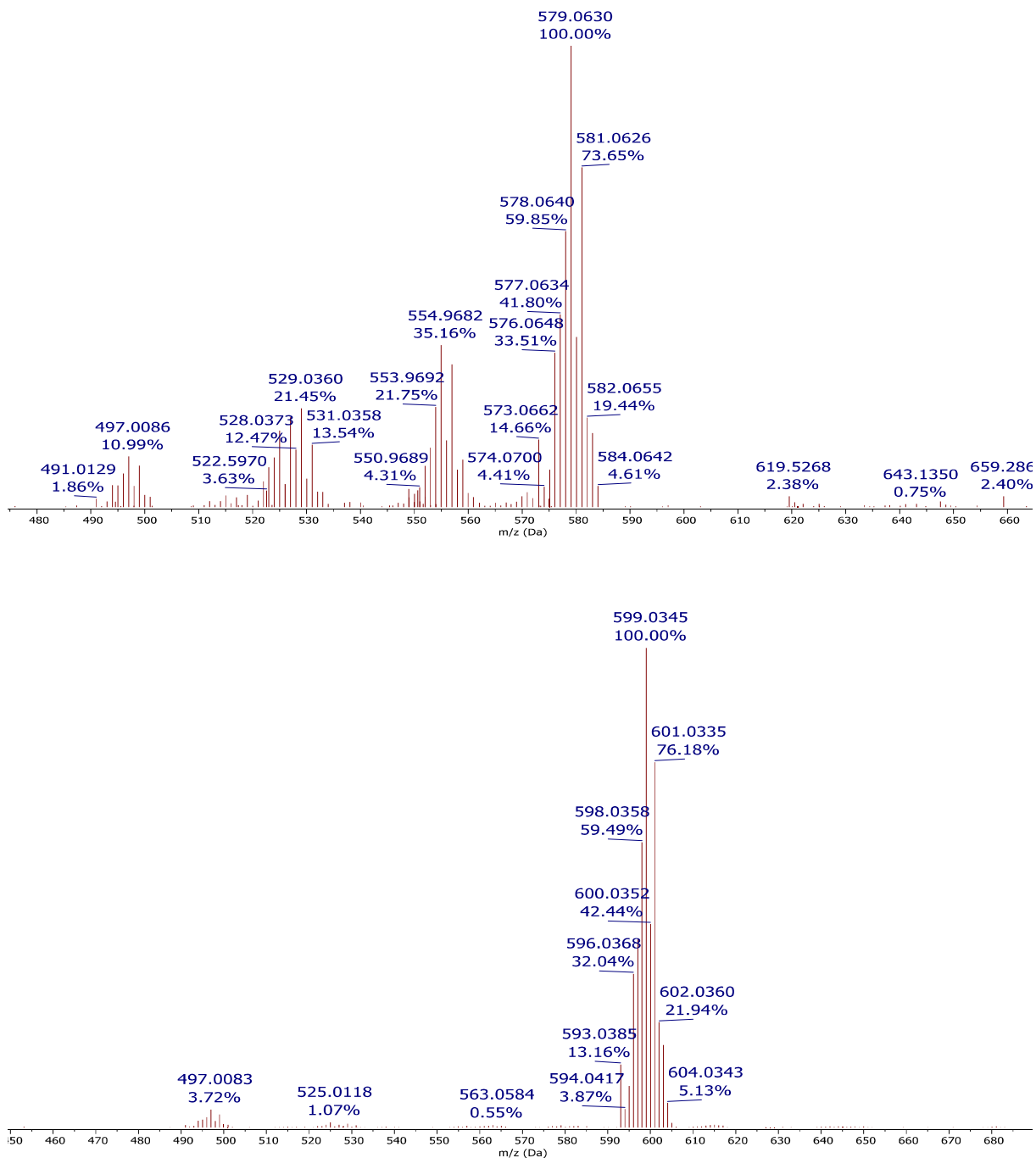
Tabela 1 – Atribuições e valores de absortividade molar em acetonitrila para os cloro-complexos FOR0211A e FOR0211B.

Complexos	λ_{\max} (exp)	Atribuição	Transições (FO)	$\log \epsilon$ (exp)
FOR0211A	221	IL	H-4 \rightarrow L+4 (0,115)	4,57
			H-5 \rightarrow L+4 (0,089)	
	267	IL+MLCT	H-5 \rightarrow L+7 (0,463)	4,60
			H-7 \rightarrow L+3 (0,211)	
	514	MLCT	H-1 \rightarrow L+2 (0,051)	3,80
			H-2 \rightarrow LUMO (0,090)	
			HOMO \rightarrow LUMO (0,0093)	
FOR0211B	222	IL	H-8 \rightarrow L+4 (0,156)	4,66
			H-6 \rightarrow L+4 (0,146)	
	264	IL+MLCT	H-2 \rightarrow L+9 (0,137)	4,62
			H-9 \rightarrow LUMO (0,278)	
	441	MLCT	H-1 \rightarrow L+3 (0,074)	3,77
			H-1 \rightarrow L+2 (0,058)	

Legenda: ϵ =absortividade molar ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$); IL=transição intraligante; MLCT=transferência de carga ligante para ligante; MLCT=transferência de carga metal para ligante; FO=Força do Oscilador
 Fonte: o autor.

Espectros de massas de alta resolução foram obtidos no modo positivo (HR-ESI-MS(+)) para os cloro-complexos sintetizados são apresentados na Figura 9. Para o complexo FOR0211A, a análise dos dados permitiu identificar sinal com razão massa/carga (m/z) igual a 579,0630 Da, o qual corresponde ao fragmento monovalente $[\text{M} - \text{PF}_6]^+$ (massa teórica=579,0632 Da). Essa informação corrobora com a estrutura proposta, evidenciando a presença dos ligantes desejados na esfera de coordenação. De forma análoga, observou-se sinal com valor de m/z igual a 599,0345 Da para o espectro do composto FOR0211B. Novamente, o pico pode ser atribuído ao fragmento do tipo $[\text{M} - \text{PF}_6]^+$ (massa teórica=579,0353 Da), confirmando a ligação dos grupos orgânicos de interesse ao centro metálico, bem como a permanência de um dos ligante cloreto.

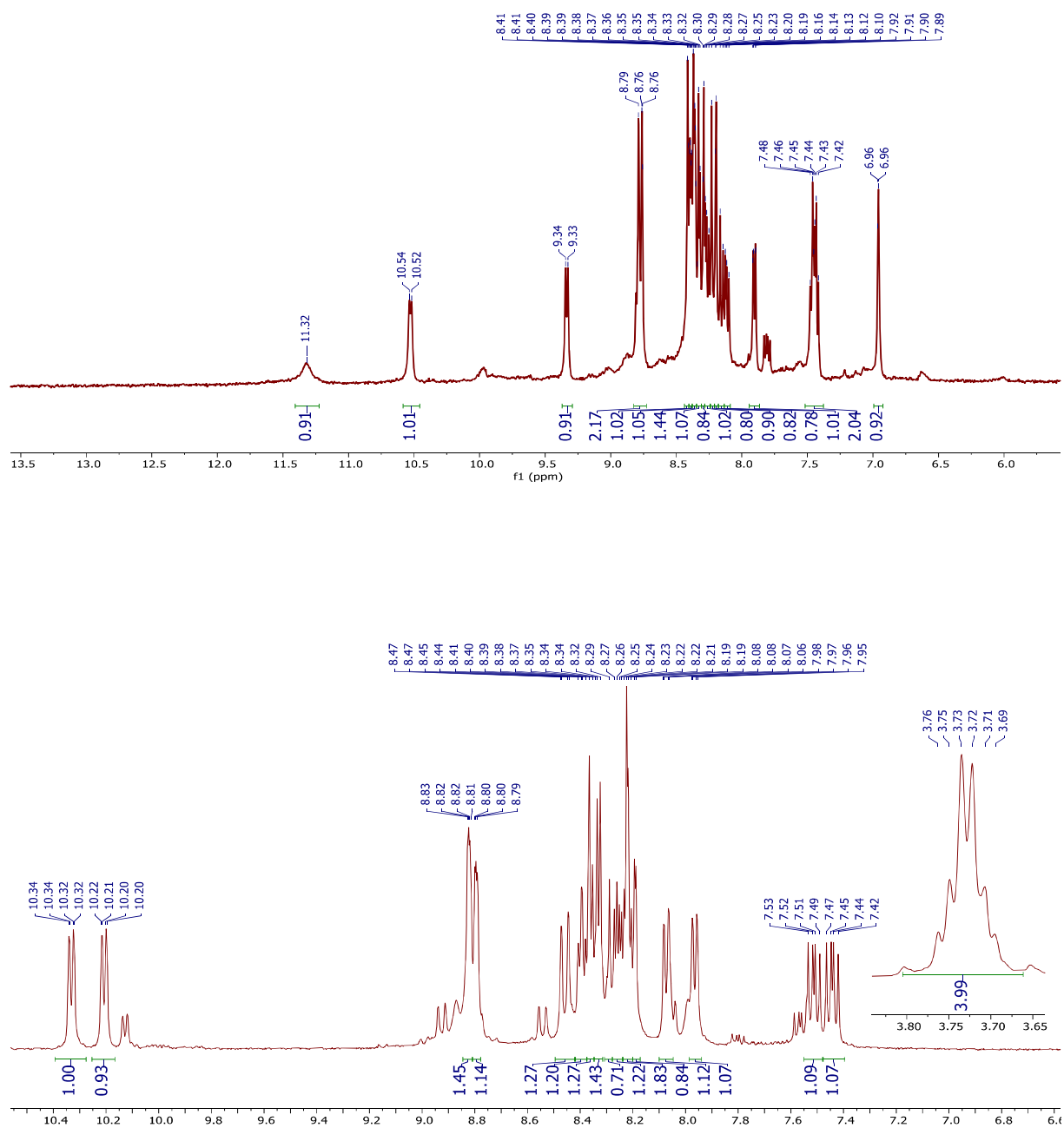
Figura 9 – Espectros de massas para os complexos FOR0211A (superior) e FOR0211B (inferior).



Fonte: elaborado pelo autor

Espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H -RMN) foram obtidos em acetona deuterada para ambos os compostos e estão apresentados na Figura 10. Espectros de correlação bidimensional (COSY) são apresentados nos apêndices A e B.

Figura 10 – Espectros de ^1H -RMN para os complexos FOR0211A (superior) e FOR0211B (inferior) obtidos em acetona – d_6 .



Fonte: elaborado pelo autor

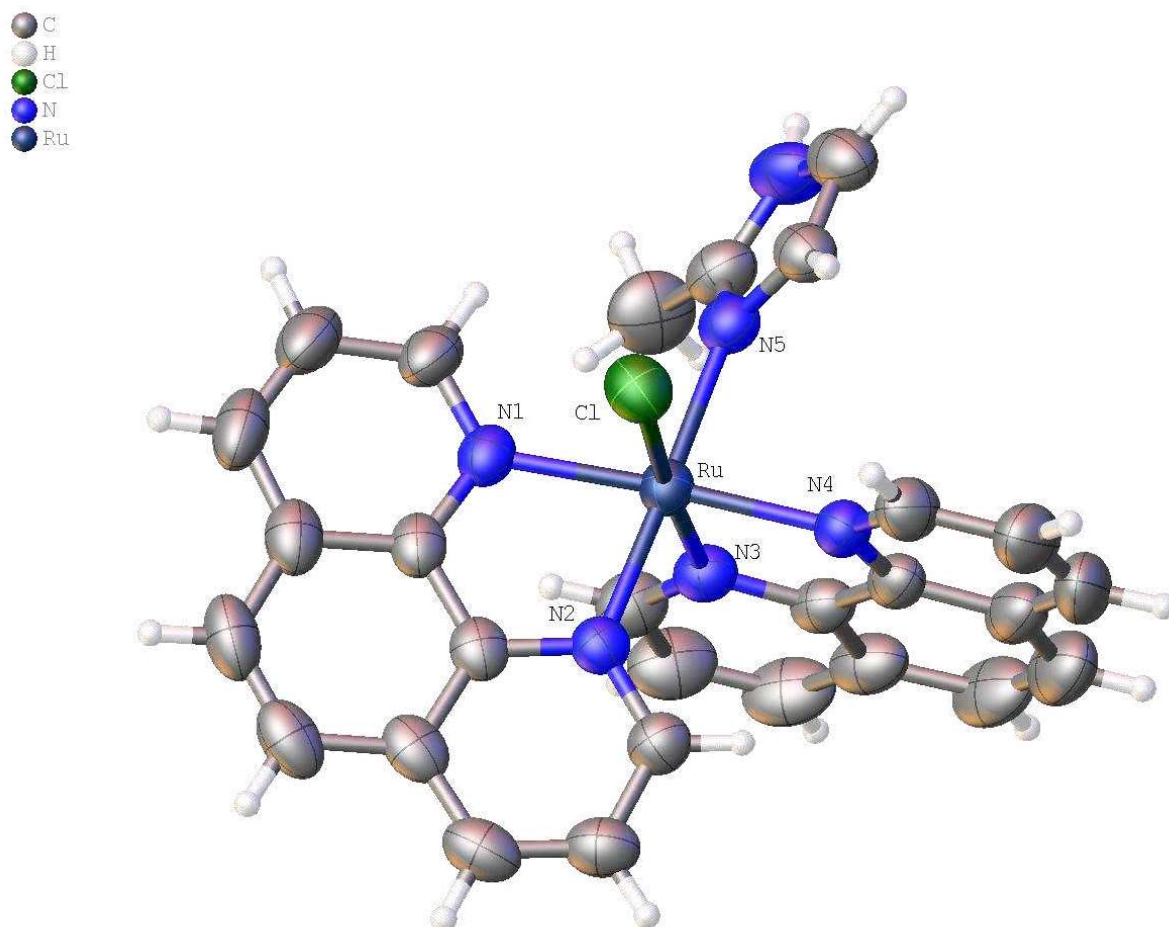
Para o espectro do complexo FOR0211A foram observados sinais referentes a 19 hidrogênios correspondentes às duas unidades de fenantrolinas e ao ligante 2-metilimidazol coordenados ao átomo metálico. Esse dado sugere que o composto retenha a configuração *cis* após a substituição de um dos cloretos pelo ligante imidazólico, visto que não há equivalência

magnética entre os hidrogênios fenantrolínicos, o que seria esperado para uma conformação do tipo *trans*. Além disso, convém destacar que os sinais aromáticos referentes ao grupo 2MIM foram identificados nos deslocamentos químicos de 6,96 e 8,23 ppm, evidenciando a quebra da simetria presente no ligante livre. Tal observação é coerente com a proposta de coordenação dessa espécie via átomo de nitrogênio, de forma similar a outros complexos que carregam ligantes derivados de imidazol.

O espectro de ^1H -RMN para o complexo FOR0211B, por sua vez, apresentou sinais correspondentes aos 16 hidrogênios aromáticos dos grupos fenantrolínicos. Os sinais referentes aos 4 hidrogênios alifáticos do ligante etilenotiouréia foram identificados em 3.72 ppm. De forma análoga ao observado para a espécie FOR0211A, o perfil espectral sugere a existência de uma estrutura assimétrica com configuração dos ligantes em *cis*. Tendência similar já foi observada para outros compostos de coordenação baseados em rutênio(II) contendo tioamidas.⁹²

Cristais foram obtidos para os cloro-compostos sintetizados a partir da evaporação lenta de soluções metanólicas saturadas dos respectivos complexos. A figura 11 apresenta o diagrama ORTEP para o complexo FOR0211A, destacando-se os átomos de interesse na vizinhança do centro metálico. O contra-íon hexafluorofosfato foi propositalmente omitido pra fins de clareza. Os dados de refinamento cristalográfico, por sua vez, são apresentados na tabela 2, ao passo que as informações estruturais são apresentadas na tabela 3. Como pode ser observado, confirma-se a estrutura octaédrica distorcida proposta onde todos os ligantes N-heterocíclicos estão coordenados via átomo de nitrogênio. Comprimentos de ligação para as distâncias entre o átomo de rutênio e seus vizinhos imediatos apresentam valores compatíveis com aqueles reportados em outros trabalhos para complexos similares, tais como a distância de 2.4269 Å entre os átomos de rutênio e cloro e a distância média de 2,05 Å entre o centro metálico e os átomos de nitrogênio dos grupos 1,10-fenantrolina. Nota-se que a distância Ru-N para o ligante 2-metilimidazol é um pouco maior, da ordem de 2,121 Å, conforme esperado para ligantes heterocíclicos monodentados.

Figura 11 – Diagrama ORTEP para o complexo FOR0211A com identificação de átomos selecionados em probabilidade de elipsóides de 50%



Fonte: elaborado pelo autor

Tabela 2 – Dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o complexo FOR0211A.

Fórmula Empírica	C ₂₈ H ₂₂ ClF ₆ N ₆ PRu
Massa molecular	724.00
Temperatura (K)	274.0
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c
a/Å	11.2213(2)
b/Å	26.6070(4)
c/Å	9.9264(2)
$\alpha/^\circ$	90
$\beta/^\circ$	105.7430(10)
$\gamma/^\circ$	90
Volume/Å ³	2852.50(9)
Z	4
Densidade calculada (g/cm ³)	1.686
Coeficiente de absorção(mm ⁻¹)	6.475
F(000)	1448.0
Dimensões do cristal (mm ³)	0.214 × 0.164 × 0.056
Reflexões coletadas	36766
Reflexões independentes	5236 [R _{int} = 0.0468, R _{sigma} = 0.0275]
Qualidade do fit (F ²)	1.036
Índices R finais [I>=2 σ (I)]	R ₁ = 0.0331, wR ₂ = 0.0870
Índices R finais [todos os dados]	R ₁ = 0.0411, wR ₂ = 0.0954

Fonte: elaborado pelo autor

Tabela 3 – Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para a estrutura cristalográfica do composto FOR0211A.

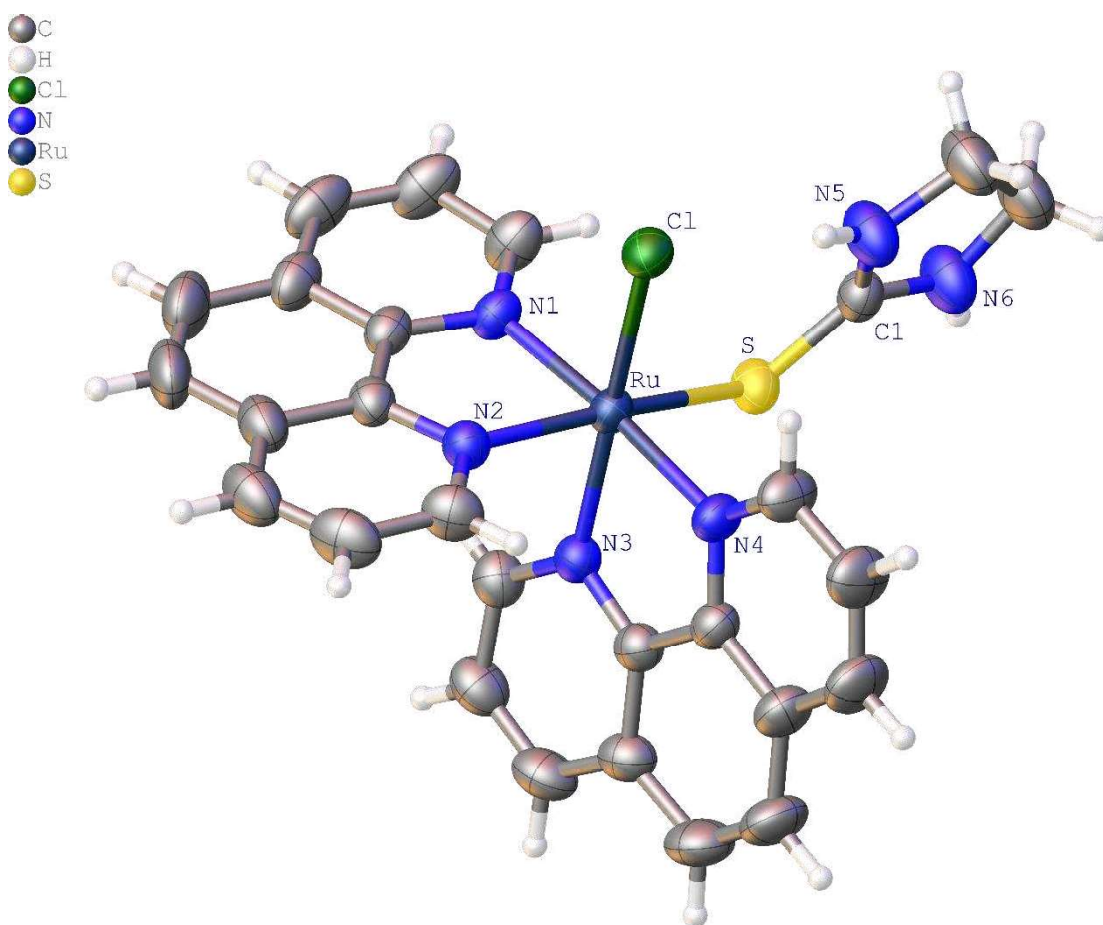
Comprimento de ligação			Ângulo de ligação			
Átomo	Átomo	Comprimento (Å)	Átomo	Átomo	Átomo	Ângulo (°)
Ru	Cl	2.4269(8)	N1	Ru	Cl	83.35(8)
Ru	N1	2.070(3)	N1	Ru	N5	97.93(11)
Ru	N2	2.045(3)	N4	Ru	N5	86.44(11)
Ru	N3	2.034(3)	N5	Ru	Cl	88.27(8)
Ru	N4	2.063(3)	N5	Ru	N3	91.53(11)
Ru	N5	2.121(3)	N2	Ru	N3	87.25(10)

Fonte: elaborado pelo autor

A figura 12 apresenta o diagrama ORTEP para o complexo FOR0211B obtido pela difração do monocristal (dados cristalográficos e de refinamento descritos na tabela 4) com os

contra-íons omitidos para fim de clareza. Observa-se estrutura muito similar àquela obtida para o complexo FOR0211A, sendo o principal diferencial a coordenação do ligante etilenotiouréia pelo átomo de enxofre, com comprimento de ligação da ordem de 2,40 Å (tabela 5). Observa-se também que a ligação S-C do referido ligante apresenta distância de cerca de 1,69 Å, análogo aos achados reportados por outros autores⁹³ e bastante próximo ao valor de comprimento do ligante livre.⁹⁴ Esse achado sugere que, mesmo após a coordenação ao centro metálico, o ligante ETU retém majoritariamente características estruturais de tioamida, com a ligação entre os átomos de carbono e enxofre apresentando um caráter de dupla ligação. A ressonância eletrônica envolvendo os átomos de nitrogênio e carbono a qual é esperada em grupamentos tioamídicos também se faz notável pelas distâncias C-N encurtadas nesse ligante.

Figura 12 – Diagrama ORTEP para o complexo FOR0211B com identificação de átomos selecionados em probabilidade de elipsóides de 50%



Fonte: elaborado pelo autor

Tabela 4 – Dados cristalográficos e de refinamento estrutural para o complexo FOR0211B.

Fórmula Empírica	C ₂₇ H ₂₂ ClF ₆ N ₆ PRuS
Massa molecular	743.05
Temperatura (K)	300
Sistema Cristalino	monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /n
a/Å	8.4270(3)
b/Å	20.2113(6)
c/Å	16.6070(4)
$\alpha/^\circ$	90
$\beta/^\circ$	92.7680(10)
$\gamma/^\circ$	90
Volume/Å ³	2825.21(15)
Z	4
Densidade calculada (g/cm ³)	1.747
Coefficiente de absorção(mm ⁻¹)	0.851
F(000)	1484.0
Dimensões do cristal (mm ³)	0.304 × 0.176 × 0.072
Reflexões coletadas	89359
Reflexões independentes	8634 [R _{int} = 0.0717, R _{sigma} = 0.0343]
Qualidade do fit (F ²)	1.101
Índices R finais [I>=2 σ (I)]	R ₁ = 0.0468, wR ₂ = 0.1151
Índices R finais [todos os dados]	R ₁ = 0.0730, wR ₂ = 0.1360

Fonte: elaborado pelo autor

Tabela 5 – Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para a estrutura cristalográfica do composto FOR0211B.

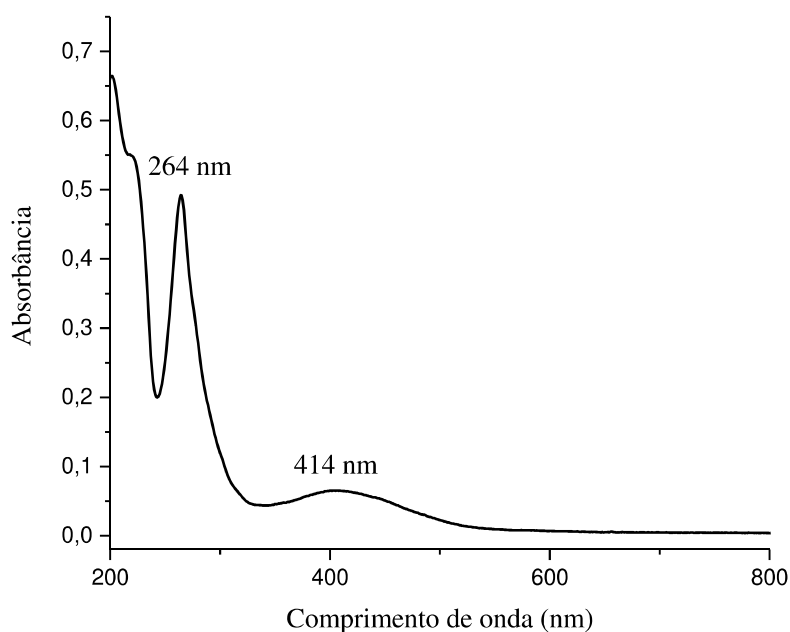
Comprimento de ligação			Ângulo de ligação			
Átomo	Átomo	Comprimento (Å)	Átomo	Átomo	Átomo	Ângulo (°)
Ru	Cl	2.4509(9)	N1	Ru	Cl	90.03(8)
Ru	N1	2.073(3)	N1	Ru	S	92.80(8)
Ru	N2	2.062(3)	N4	Ru	S	89.31(9)
Ru	N3	2.047(3)	N2	Ru	Cl	89.29(8)
Ru	N4	2.064(3)	S	Ru	N3	85.01(8)
Ru	S	2.4084(9)	N2	Ru	N3	84.84(11)
S	Cl	1.698(4)	S	Ru	Cl	101.85(3)
Cl	N5	1.317(5)	Ru	S	Cl	117.08(12)
Cl	N6	1.335(5)	N5	Cl	N6	109.9(3)

Fonte: elaborado pelo autor

4.2 Nitrito-complexos

A reação do cloro-complexo FOR0211A com nitrito de sódio em meio hidroetanólico permite a substituição do íon cloreto pelo ligante nitrito e a obtenção do complexo FOR0611A. O espectro eletrônico de absorção na região do UV-Vis é apresentado na figura 13 abaixo. Verifica-se uma considerável semelhança entre o espectro obtido e aquele encontrado para seu respectivo precursor, com algumas diferenças pontuais. Dentre elas, destaca-se o deslocamento hipsocrômico da larga banda MLCT para 414 nm. Tal efeito é atribuído ao forte efeito π -aceptor do ligante nitrito que contribui para a maior estabilização dos orbitais envolvidos nessa transição.

Figura 13 - Espectro de UV-vis para o nitrito-complexo FOR0611A, na concentração de 22 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtido em acetonitrila.

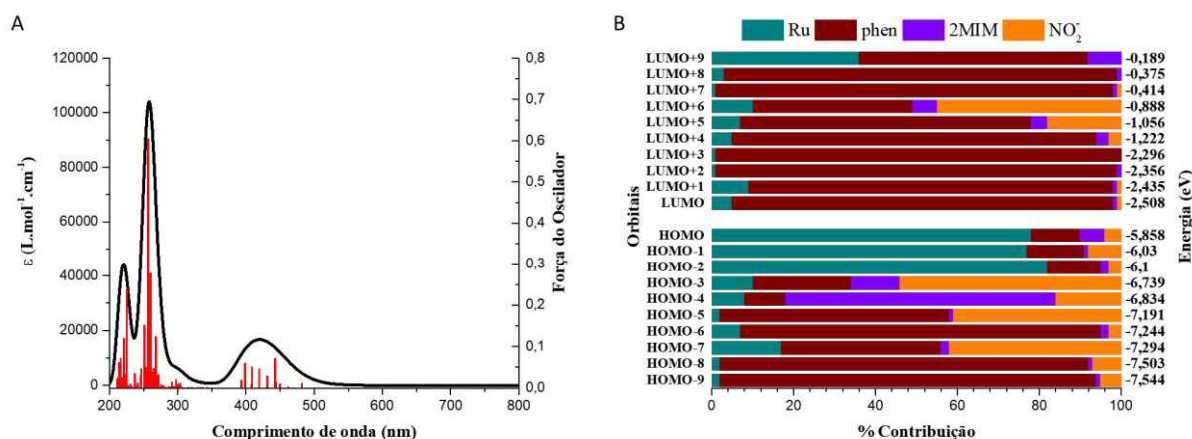


Fonte: elaborado pelo autor.

Os achados desse ensaio foram comparados com os resultados das simulações computacionais usando a abordagem de TD-DFT. Conforme apresentado na figura 14 - A, verifica-se grande semelhança entre os espectros experimental e teórico, evidenciando o sucesso da simulação realizada. As transições encontradas, por sua vez, têm em sua maioria

caráter de transições de transferência de carga metal para ligante na região da luz visível e de caráter intraligante na região de maior energia do espectro (UV).

Figura 14 - Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0611A.



Fonte: elaborado pelo autor

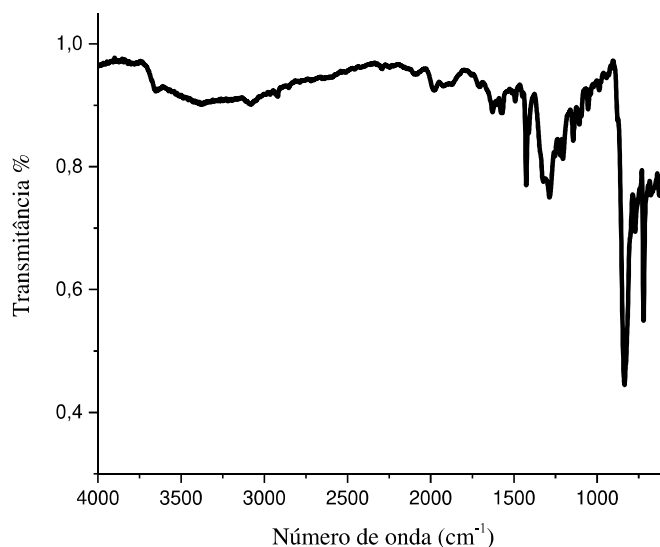
O espectro vibracional na região do infravermelho obtido em pastilha de KBr é apresentado na figura 15 abaixo e as atribuições de frequências selecionadas estão listadas na tabela 6. Observa-se a presença de bandas características, dentre as quais destacam-se os sinais para as frequências de estiramento simétrico e assimétrico da ligação N-O do grupo nitrito em 1285 e 1324 cm^{-1} , respectivamente. Esses e outros achados corroboram com a estrutura proposta para o complexo.

Tabela 6 – Frequências selecionadas e atribuições para as bandas encontradas no espectro vibracional para o complexo FOR0611A em pastilha de KBr.

Número de onda (cm^{-1})	Modos Vibracionais
3370	$\nu(\text{N-H})$
3090	$\nu(\text{C-H})$
1628	$\delta(\text{N-H})$
1324	$\nu(\text{N-O})_{\text{ass}}$
1285	$\nu(\text{N-O})_{\text{sym}}$
834	$\nu(\text{P-F})$

Fonte: elaborado pelo autor.

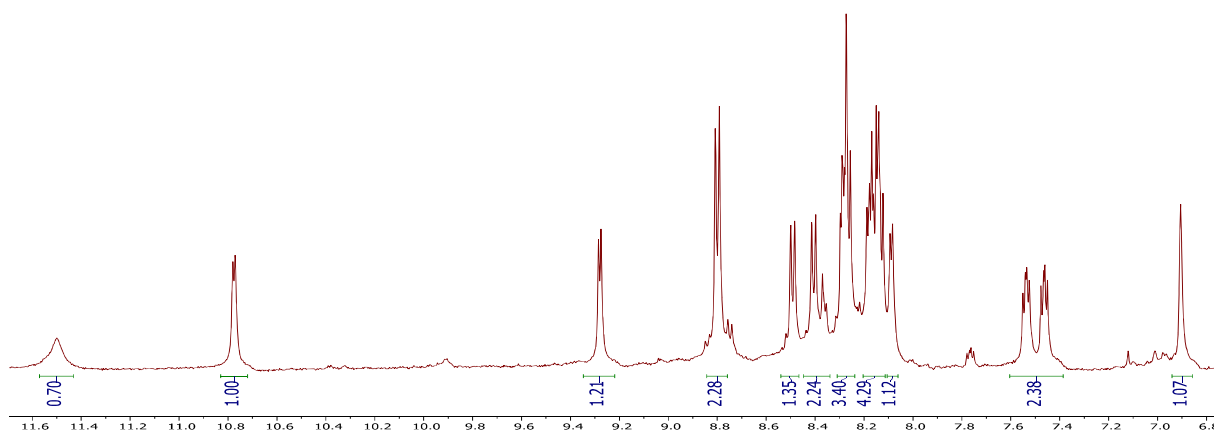
Figura 15 - Espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo FOR0611A em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

Espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H e COSY foram obtidos em acetona deuterada, sendo apresentados na figura 16 e apêndice C, respectivamente. Sinais compatíveis com os hidrogênios aromáticos para a estrutura proposta puderam ser identificados. Destaca-se a identificação dos sinais em 11,5 e 6,9 ppm atribuídos ao hidrogênio imínico (NH) e aromático (CH) do ligante 2-metilimidazol, respectivamente. O número de sinais e respectivas integrações corroboram com a estrutura proposta para o complexo.

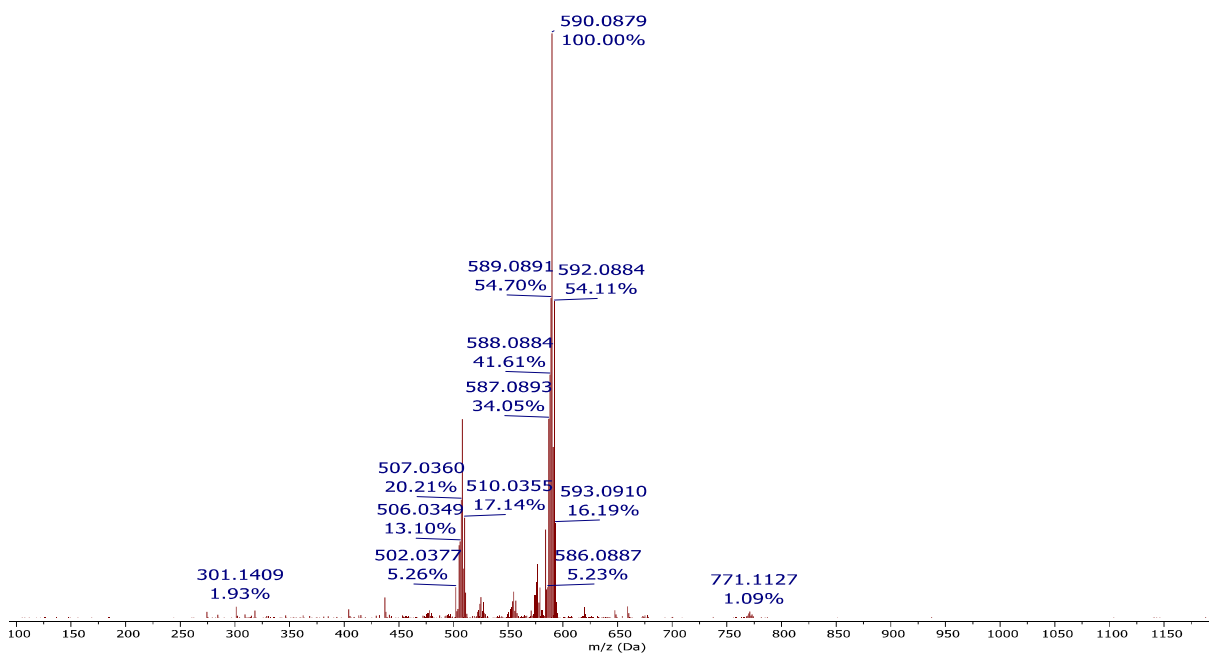
Figura 16 - Espectro de ^1H -RMN para o complexo FOR0611A obtido em acetona – d_6 .



Fonte: elaborado pelo autor

Espectro de massas também foi obtido para o complexo FOR0611A, e o resultado da análise é apresentado na figura 17 abaixo. O sinal com razão massa/carga de 590,0879 Da é compatível com o íon $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{phen})_2(2\text{MIM})]^+$, de m/z teórico correspondente a 590,0878 Da. Tem-se assim, uma evidência expressiva para a formação da estrutura proposta.

Figura 17 – Espectro de massas para o complexo FOR0611A.



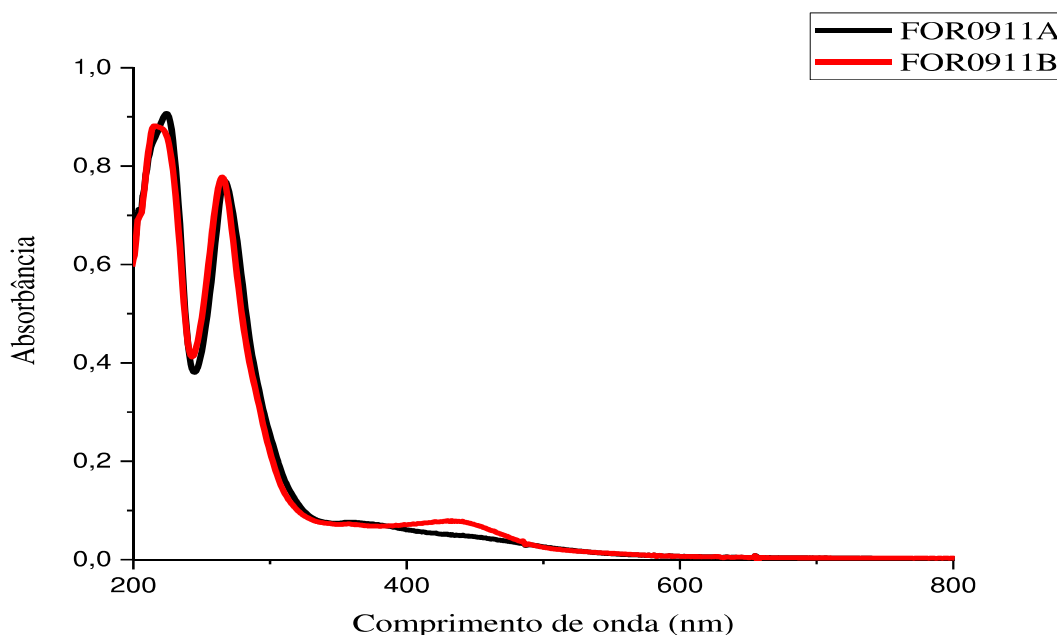
Fonte: elaborado pelo autor.

4.3 Nitrosilo-complexos

A substituição dos cloretos por grupos nitrosila (NO^+) foi realizada de formas distintas para os complexos FOR0211A e FOR0211B. Para o primeiro, substituiu-se o ânion Cl^- por nitrito e acidificou-se o meio com HPF_6 , resultando no complexo FOR0911A. O composto FOR0911B, por sua vez, foi obtido após submeter o respectivo cloro-complexo precursor a atmosfera de óxido nítrico por 3 h.

Espectros de absorção eletrônica foram obtidos para ambos os complexos em acetonitrila, apresentados na Figura 18. Observam-se perfis espectrais consideravelmente mais pobres que aqueles observados para os respectivos precursores. Isso pode ser justificado pela coordenação do grupo nitrosil, o qual, devido sua forte capacidade π -aceptora, estabiliza fortemente os orbitais envolvidos nas transições eletrônicas de menor energia. Isso resulta no deslocamento das bandas para a região do azul e UV, assim como já foi observado para espécies similares.^{92, 95}

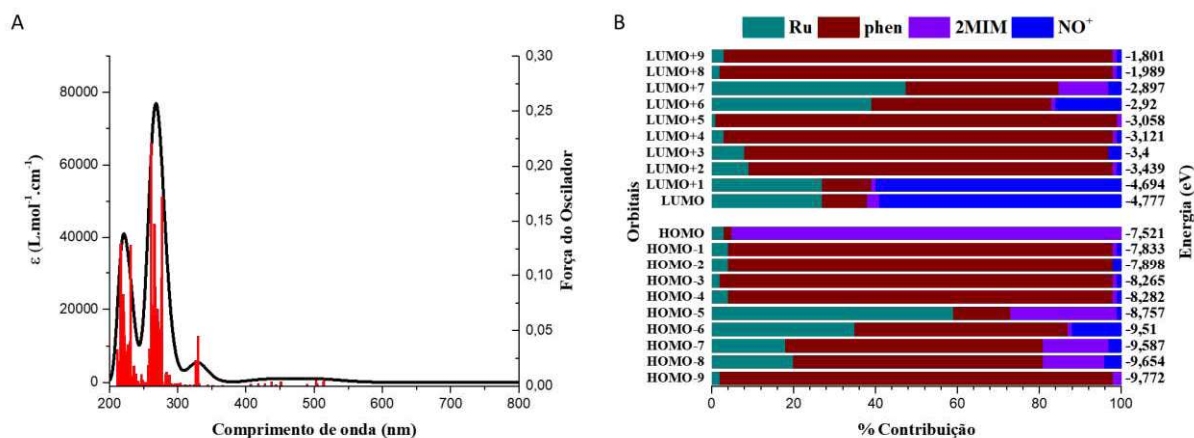
Figura 18 – Espectros de UV-vis para os complexos FOR0911A e FOR0911B, nas concentrações de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $20 \mu\text{mol L}^{-1}$, obtidos em acetonitrila.



Fonte: o autor

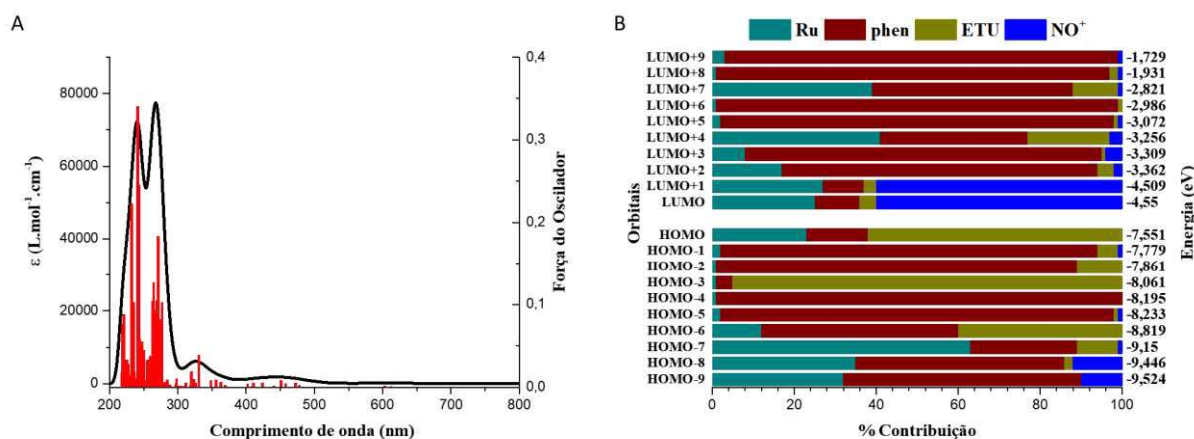
De forma análoga ao que foi feito para os cloro-complexos, realizou-se a atribuição das bandas observadas nos espectros para os nitrosilo-complexos com o auxílio dos dados de TD-DFT. Os espectros teóricos e diagramas de orbitais são apresentados nas figuras 19 e 20 abaixo e as atribuições são apresentadas na tabela 7.

Figura 19 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0911A.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 20 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo FOR0911B.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 7 – Atribuições e valores de absortividade molar em acetonitrila para os cloro-complexos FOR0911A e FOR0911B.

Complexos	λ_{max} (exp)	Atribuição	Transições (FO)	$\log \epsilon$ (exp)
FOR0911A	225	IL	H-9 \rightarrow L+2 (0,130)	4,48
			H-1 \rightarrow L+8 (0,128)	
	267	IL	H-4 \rightarrow L+6 (0,221)	4,37
			H-3 \rightarrow L+5 (0,147)	
	359	IL	H-1 \rightarrow L+3 (0,023)	3,25
FOR0911B	447	MLCT+LLCT	H-1 \rightarrow L+2 (0,045)	3,11
			H-5 \rightarrow L+1 (0,004)	
	215	IL	H-4 \rightarrow LUMO (0,004)	4,64
			H-2 \rightarrow L+9 (0,076)	
			H-1 \rightarrow L+8 (0,222)	
	265	IL	H-6 \rightarrow L+5 (0,246)	4,55
			H-6 \rightarrow L+2 (0,104)	
	357	IL+MLCT	H-1 \rightarrow L+2 (0,039)	3,46
			H-7 \rightarrow L+1 (0,009)	
	433	LLCT	HOMO \rightarrow L+4 (0,006)	3,48
			H-2 \rightarrow LUMO (0,005)	

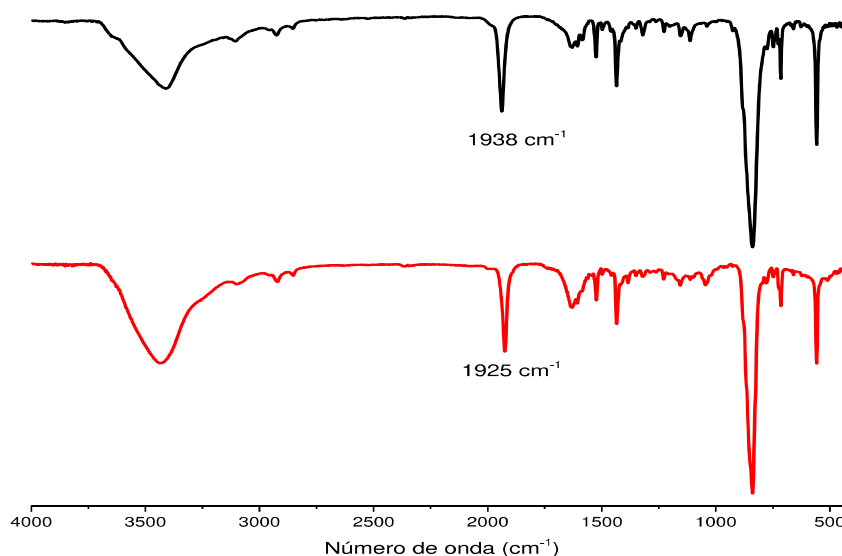
Legenda: ϵ =absortividade molar ($\text{mol}^{-1}.\text{L}.\text{cm}^{-1}$); IL=transição intraligante; LLCT=transferência de carga ligante para ligante; MLCT=transferência de carga metal para ligante; FO=Força do Oscilador

Fonte: elaborado pelo autor.

Novamente, as bandas de absorção na região do UV são majoritariamente de caráter intraligante associadas aos grupos fenantrolínicos, nas quais se observa elevados valores de absortividade molar. Esse achado é característico para esse tipo de transição eletrônica em poliaromáticos dessa natureza.⁹⁶ e não sofre grande influência dos demais ligantes na esfera de coordenação do metal. Em contrapartida, as bandas na região do visível são associadas a transferências de carga envolvendo os orbitais do centro metálico e dos ligantes (MLCTs) ou de um ligante para outro (LLCTs).

A Figura 21 apresenta os espectros vibracionais na região do infravermelho obtidos para os complexos FOR0911A e FOR0911B obtidos em pastilha de KBr.

Figura 21 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior) em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

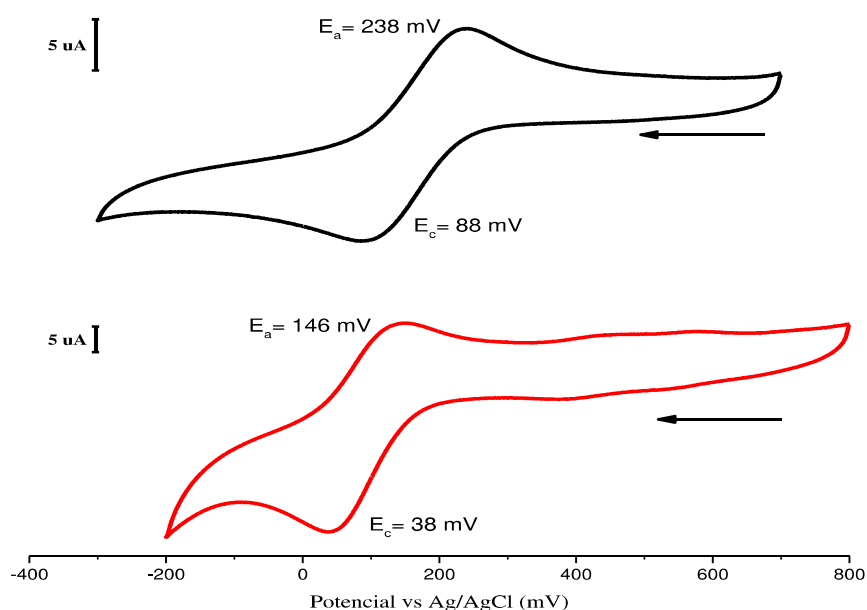
Observa-se que há grande similaridade entre os dois perfis espectrais, o que é esperado dada a semelhança estrutural entre os produtos. Uma análise mais cuidadosa desses gráficos revela, contudo, diferenças sutis entre eles. Destacam-se as bandas em 1938 e 1925 cm^{-1} referentes às frequências de estiramento da ligação $\text{N}\equiv\text{O}$ do grupo nitrosil para os compostos FOR0911A e FOR0911B, respectivamente. Sabe-se que o grupo $-\text{NO}$ pode ligar-se ao centro metálico em diferentes geometrias e que essas condições estão relacionadas a mudanças espectrais características, especialmente no espectro vibracional.^{95, 97} No caso de complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO})(\text{N-N})]^{\text{n}+}$, onde N-N corresponde a um ligante polipiridínico, valores de frequência de estiramento para o ligante $-\text{NO}$ superiores a 1890 cm^{-1} correspondem

ao ligante nitrosil, coordenado via átomo de nitrogênio em geometria linear (ou com ângulo de ligação muito próximo a 180°).^{95, 98} Assim, pode-se afirmar que os dois complexos analisados possuem grupos nitrosilo coordenado com essas características, sendo designados pela notação de Enemark-Feltham como $\{\text{Ru-NO}\}^6$.

Além disso, a diferença nos valores de frequência observada, pode ser justificada pelo caráter π -aceptor maior do ligante 2-metilimidazol comparado ao grupo etilenotiuréia. Isso faz com que haja menor densidade eletrônica sobre o metal, resultando em menor retrodoação para o grupamento nitrosil. A densidade eletrônica diminuída sobre esse ligante resulta em maiores frequências observadas no espectro vibracional.

A Figura 22 apresenta os voltamogramas cíclicos para eletrodo de carbono vítreo na presença dos complexos FOR0911A e FOR0911B em solução de NaTFA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH=3,0.

Figura 22 – Voltamogramas cíclicos para os complexos FOR0911A e FOR0911B obtidos em solução de NaTFA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH=3,0. $V=100 \text{ mV.s}^{-1}$.



Fonte: elaborado pelo autor.

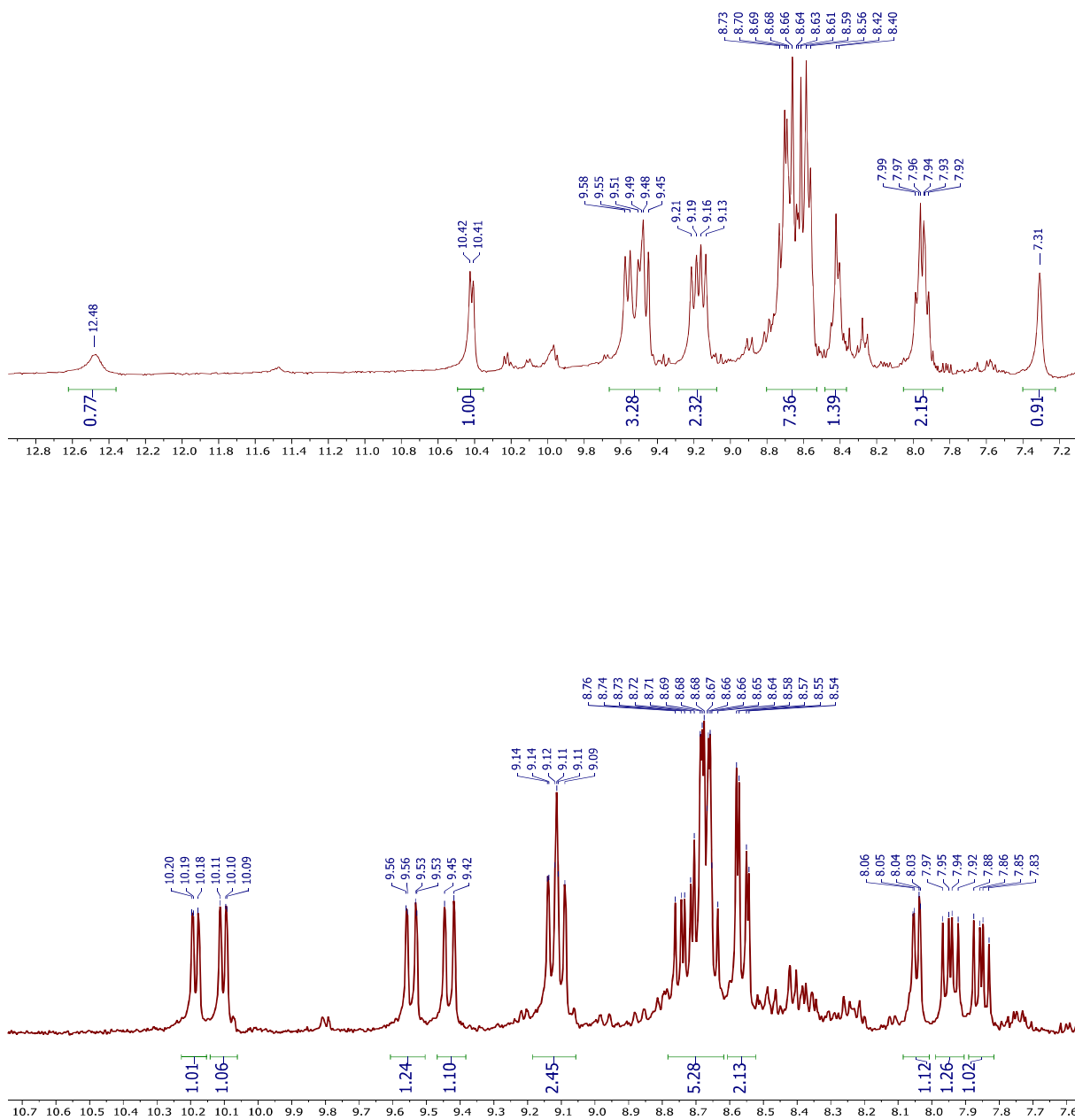
Para cada análise, verifica-se a ocorrência de um par majoritário de processos com valores de $E_{1/2}$ iguais a 163 e 92 mV, respectivamente, atribuídos ao par redox NO^+/NO^0 . O processo referente a oxidação do complexo centrada no metal ($\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$) não foi observado na janela de potencial selecionada (-200 a 800 mV), visto que a presença de nitrosil na esfera de coordenação provoca considerável estabilização dos orbitais moleculares com contribuição do

rutênio.⁹⁷ A diferença nos valores de potencial de meia onda observada para o par redox NO^+/NO^0 nos complexos analisados, também pode ser explicada em função da diferença de energia e densidade eletrônica sobre os ligantes. Tal como observado para os espectros vibracionais, o caráter π -aceptor mais pronunciado para o 2-metilimidazol resulta em menor retrodoação de densidade eletrônica do centro metálico para o ligante nitrosil. Isso, por sua vez, reflete em um valor maior de potencial observado para o processo NO^+/NO^0 para a espécie FOR0911A. Consequentemente, o complexo FOR0911B apresenta menor valor de potencial para o processo, devido suas propriedades π -aceptoras menos intensas.

Espectros de ^1H -RMN e COSY para os nitrosilo-complexos obtidos em acetona deuterada são apresentados na Figura 23 e apêndices D e E. Para o complexo FOR0911A, observa-se a presença de sinais relativos a 19 hidrogênios, sendo 18 aromáticos (16 hidrogênios fenantrolínicos e 2 imidazólicos) e um deles (sinal em 12,48 ppm) correspondente a amina do ligante 2-metilimidazol. Os hidrogênios do grupo metila não foram observados, sendo estes, provavelmente encobertos pelo pico do solvente residual (ao redor de 2,1 ppm). Nota-se que a reação de substituição do grupo cloreto pelo nitrosil teve como efeito majoritário a desproteção dos núcleos de hidrogênio, visto que a maior parte dos sinais sofre variação para valores mais elevados de deslocamento químico. Esse efeito é justificado pela capacidade do ligante NO^+ em retirar densidade eletrônica e já foi descrito em outros complexos do tipo *cis*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{phen})_2(\text{L})]^{3+}$.⁹² Além disso, o perfil espectroscópico sugere a manutenção da conformação *cis*.

No que diz respeito ao composto FOR0911B, foram observados sinais compatíveis com a presença de 16 hidrogênios aromáticos relativos aos dois grupos *o*-fenantrolina. Similarmente à tendência observada para o complexo FOR0911A, verifica-se que a coordenação do ligante nitrosil desloca os sinais para valores maiores, quando comparados ao respectivo precursor, juntamente com a retenção de configuração *cis*.

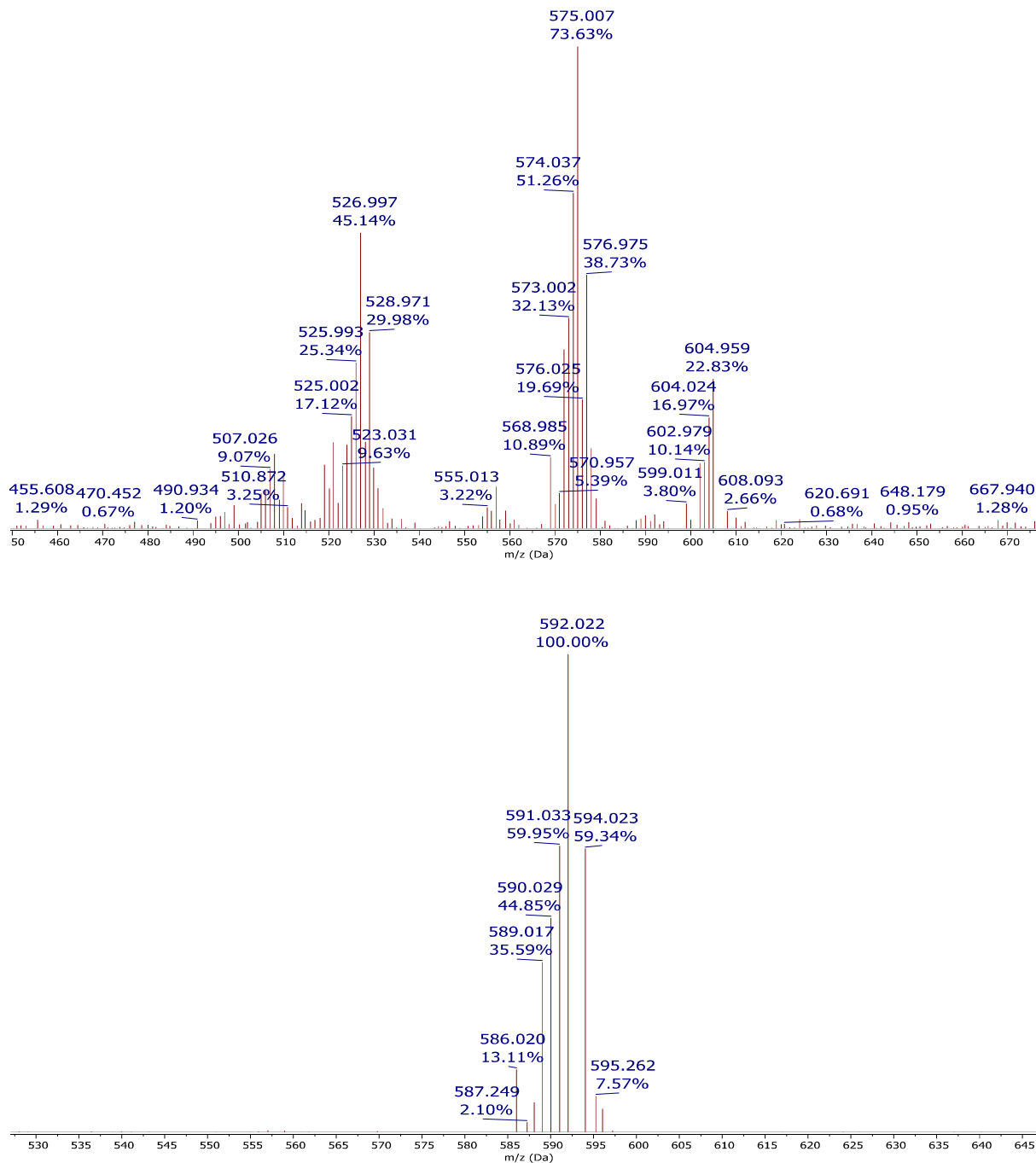
Figura 23 – Espectros de ^1H -RMN para os complexos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior) obtidos em acetona – d_6 .



Fonte: elaborado pelo autor.

A Figura 24 apresenta os espectros de massas obtidos para os complexos. Os valores de m/z obtidos para os fragmentos nos dois espectros concorda com as estruturas propostas.

Figura 24 – Espectros de massas para os complexos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior).



Fonte: elaborado pelo autor.

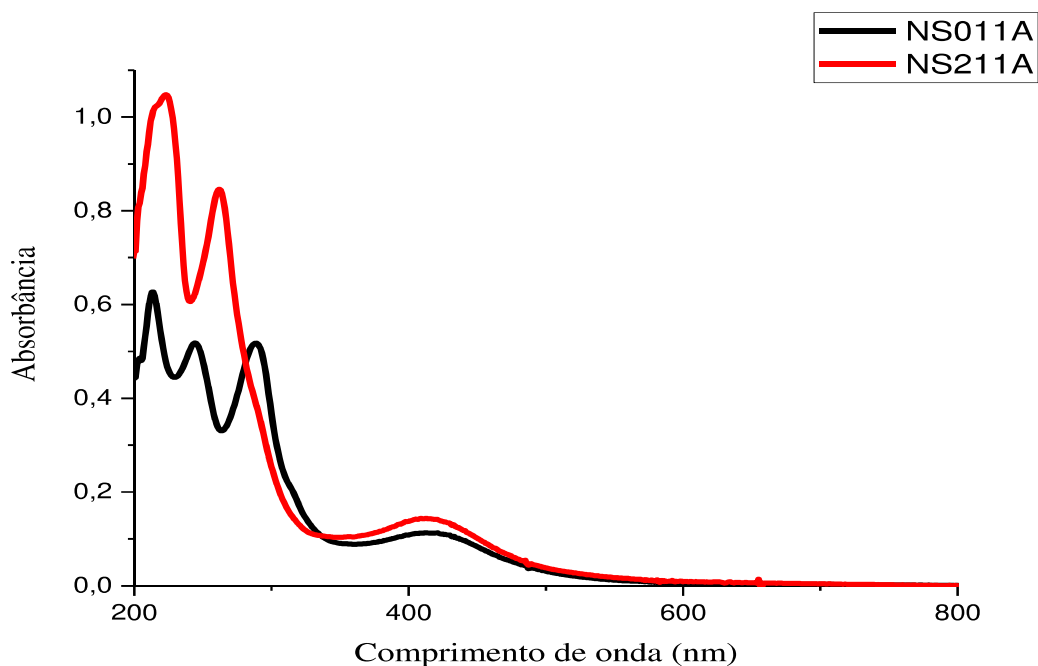
4.4 Nitrosil-sulfito complexos

Complexos contendo o grupo nitrosil-sulfito foram sintetizados através da reação de Boedeker,⁹⁹ a qual consiste da reação química entre um nitrosilo-complexo e um sal de

sulfito. Tais estruturas foram caracterizadas utilizando as mesmas técnicas espectroscópicas e eletroquímicas empregadas anteriormente.

A Figura 25 apresenta os espectros eletrônicos na região do UV-vis para os complexos NS011A e NS211A. O perfil de bandas absorção diferente em relação aos respectivos nitrosilo-complexos precursores sugere que, de fato, a adição do grupo sulfito levou à formação de novos compostos com características eletrônicas distintas. A característica que mais se destaca dentre essas mudanças espectrais é a presença de uma da banda em torno de 410 nm para ambos os íons-complexos. Apesar das limitações relativas a literatura disponível sobre nitrosil-sulfitos, esse achado é uma característica recorrente desse tipo de complexo, conforme destacado por Bottomley e colaboradores.¹⁰⁰

Figura 25 – Espectros de UV-vis para os complexos NS011A e NS211A, nas concentrações de 39 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, obtidos em acetonitrila.

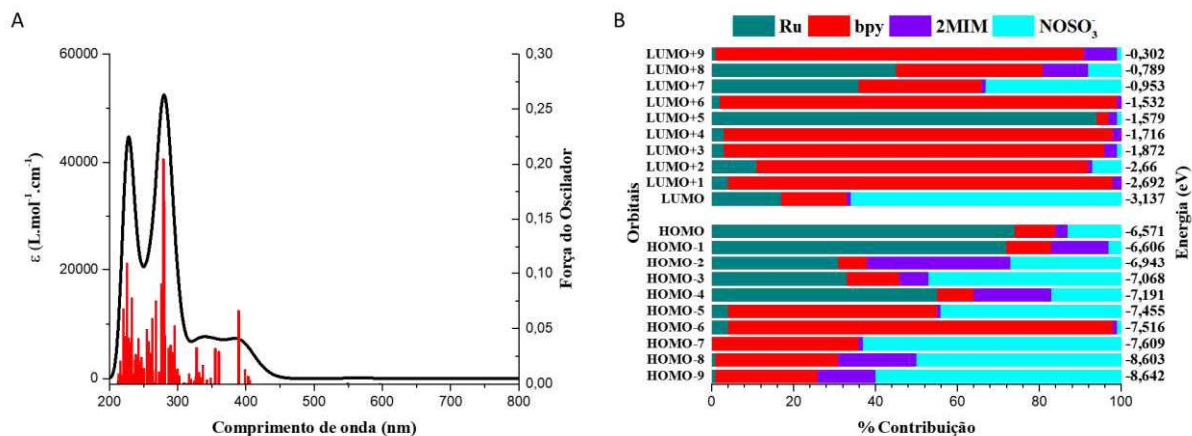


Fonte: elaborado pelo autor.

Foram executadas simulações computacionais de TD-DFT para ambos os complexos e os dados estão apresentados nas figuras 26 e 27 juntamente com a tabela 8. De acordo com esses resultados, a banda larga observada acima de 400 nm nos dois espectros foi atribuída a transferência de carga metal para ligante (MLCT), envolvendo o centro metálico e o grupamento N(O)SO_3 . As bandas de maior energia, por sua vez, possuem contribuições majoritárias de transições intraligantes relativas as bipyridinas e fenantrolinas dos complexos

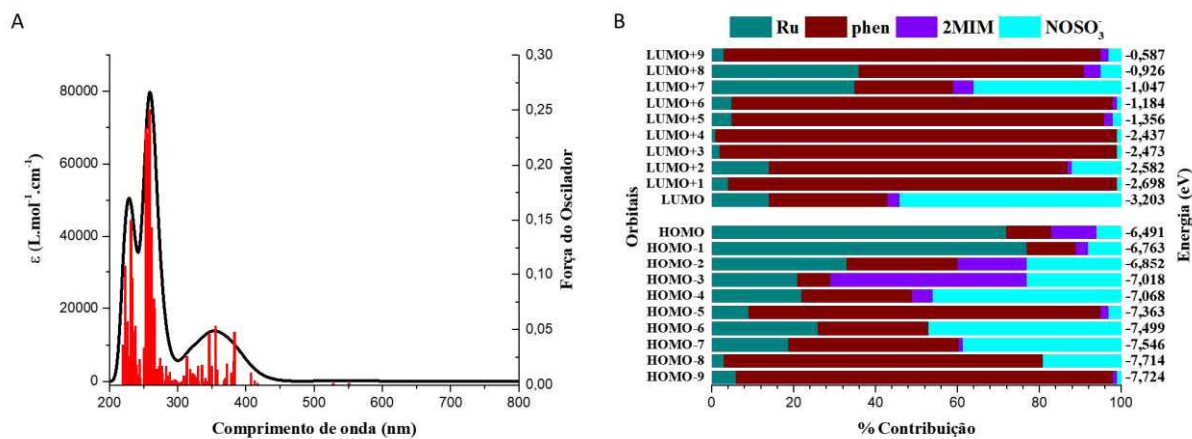
NS011A e NS211A, respectivamente. Contudo, ressalta-se que essas bandas também possuem um componente LLCT ou ainda MLCT.

Figura 26 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo NS011A.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 27 – Espectro de absorção na região do UV-vis simulado por TD-DFT em acetonitrila (A) e diagrama de orbitais moleculares (B) para o complexo NS211A.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 8 – Atribuições e valores de absorptividade molar em acetonitrila para os cloro-complexos NS011A e NS211A.

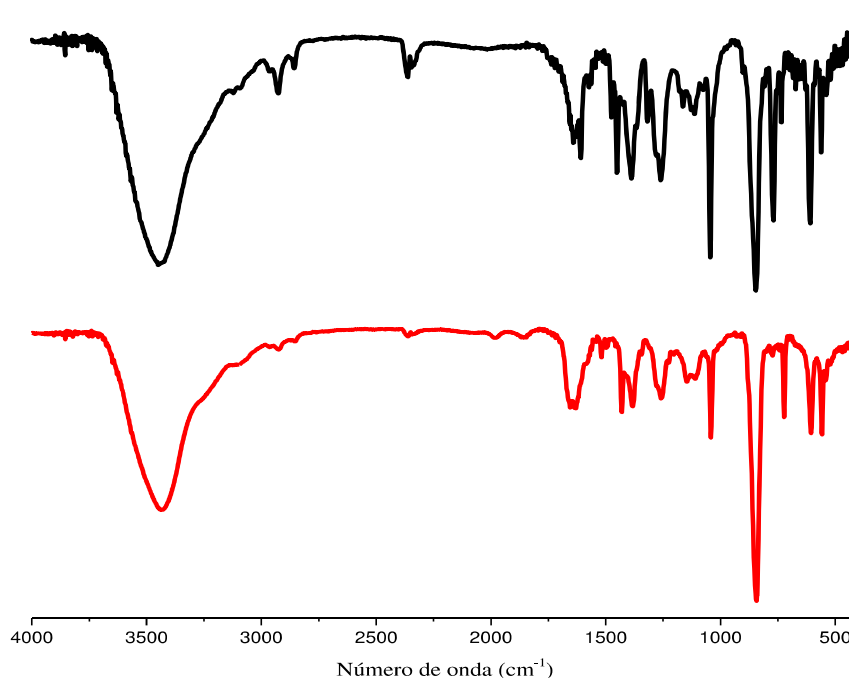
Complexos	λ_{max} (exp)	Atribuição	Transições (FO)	$\log \epsilon$ (exp)
NS011A	213	IL	H-1 \rightarrow L+9 (0,017)	4,11
			H-6 \rightarrow L+6 (0,042)	
	244	IL+MLCT	H-6 \rightarrow L+1 (0,205)	3,94
			HOMO \rightarrow L+6 (0,166)	
	289	IL+MLCT	H-5 \rightarrow L+2 (0,053)	4,06
			H-1 \rightarrow L+4 (0,014)	
NS211A	415	MLCT	H-1 \rightarrow L+1 (0,066)	3,42
			H-2 \rightarrow LUMO (0,013)	
	216	IL	H-5 \rightarrow L+7 (0,026)	4,65
			H-6 \rightarrow L+7 (0,011)	
	223	LLCT	H-3 \rightarrow L+6 (0,024)	4,69
			H-4 \rightarrow L+6 (0,048)	
	262	IL+MLCT	H-1 \rightarrow L+6 (0,251)	4,57
			H-9 \rightarrow L+4 (0,2287)	
	412	MLCT	HOMO \rightarrow L+3 (0,019)	3,80
			H-2 \rightarrow LUMO (0,011)	

Legenda: ϵ =absortividade molar ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$); IL=transição intraligante; LLCT=transferência de carga ligante para ligante; MLCT=transferência de carga metal para ligante; FO=Força do Oscilador
 Fonte: elaborado pelo autor.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos NS011A e NS211A são apresentados na Figura 28. Observa-se que ambos os complexos têm perfil espectroscópico bastante similar, apresentando bandas com valores muito próximos. Isso é justificado pela semelhança estrutural das espécies em estudo. Quando comparados aos espectros dos respectivos precursores, nota-se que houve desaparecimento da banda ao redor de 1940 cm^{-1} , característica do estiramento $\text{N}\equiv\text{O}$ do grupo nitrosil. Essa observação é consistente com a formação do ligante $\text{N}(\text{O})\text{SO}_3$, no qual o átomo de enxofre liga-se ao de nitrogênio pela doação de um par eletrônico que passa a ocupar orbitais moleculares anti-ligantes. Isso enfraquece a ligação N-O, deslocando o valor do estiramento para valores menores de número de onda. Conforme pode ser observado na Tabela 9, os valores encontrados para a vibração $\nu(\text{N-O})$ nesses complexos foi da ordem de 1380 cm^{-1} , similares aos reportados em trabalhos de outros autores^{100, 101} e sugerindo que essa ligação é vibracionalmente similar a

encontrada para o nitroxil (NO^-) coordenado. Além disso, as vibrações referentes as ligações S-O do grupo sulfito também foram identificadas nas regiões esperadas, juntamente com os sinais das ligações P-F do contra-íon hexafluorofosfato.

Figura 28 - Espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos NS011A (superior) e NS211A (inferior) em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

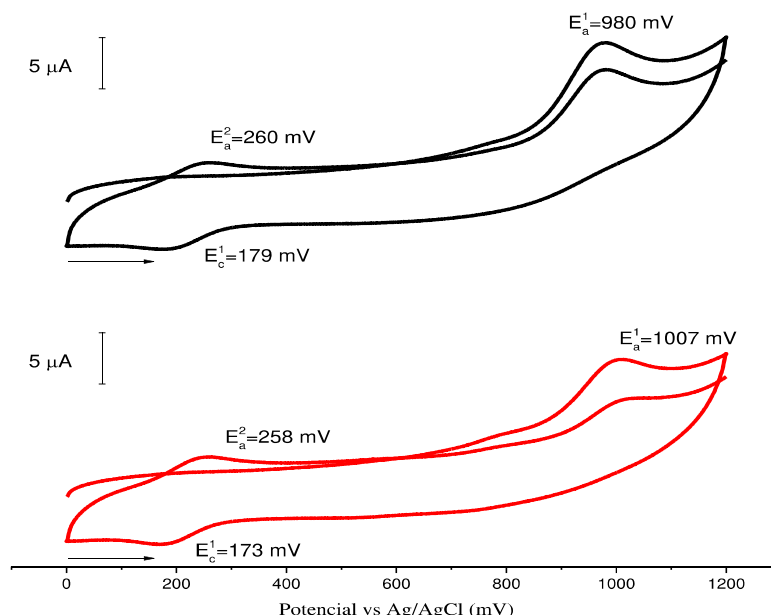
Tabela 9 – Vibrações selecionadas (cm^{-1}) para os complexos NS011A e NS211A.

Vibração	Complexos	
	NS011A	NS211A
$\nu(\text{N-O})$	1382	1380
$\nu_{\text{ass}}(\text{S-O})$	1278	1281
$\nu_{\text{sim}}(\text{S-O})$	1257	1255
$\nu_{\text{sim}}(\text{S-O})$	1041	1040
$\nu(\text{P-F})$	844	843

Fonte: elaborado pelo autor.

Voltamogramas cíclicos foram obtidos para os complexos em solução aquosa com pH ajustado para 7,4 e são apresentados na Figura 29.

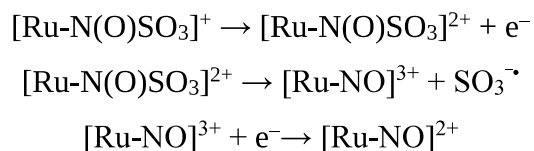
Figura 29 – Voltamogramas cíclicos (3 segmentos) para os complexos NS011A (superior) e NS211A (inferior) obtidos em solução de NaTFA 0,1 mol L⁻¹ pH=7,4. V=100 mV.s⁻¹.



Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se que, para ambos os compostos, durante a primeira varredura no sentido anódico, tem-se um processo oxidativo irreversível em potencial próximo a 1000 mV. Nos ciclos seguintes, observa-se o surgimento de um par redox com potencial de meia-onda em torno de 220 mV, o qual é compatível com o processo NO⁺/NO⁰.

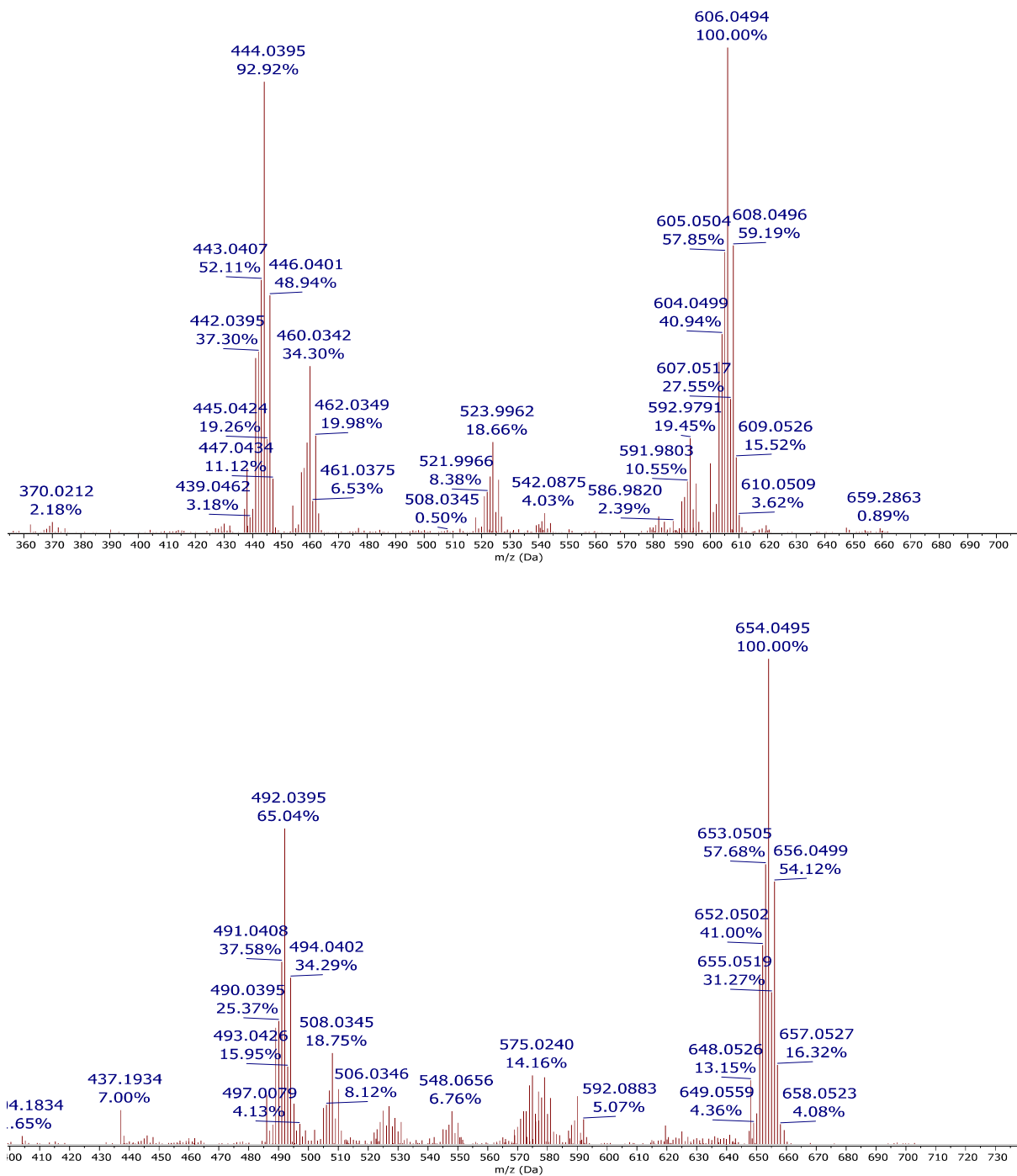
Baseado nisso, é possível inferir que o primeiro processo oxidativo é centrado no grupo nitrosil-sulfito e resulta na formação do respectivo nitrosilo-complexo, o qual é reduzido na varredura catódica seguinte. Tem-se, portanto, um fenômeno eletroquímico-químico-eletroquímico (EQE) o qual pode ser descrito pelas equações abaixo:



Espectros de massas de alta resolução no modo positivo foram obtidos para os dois compostos e são apresentados na Figura 30. Observam-se que para ambos os complexos foi possível identificar sinais com razão massa/carga equivalentes a fragmentos monocarregados

compatíveis com as estruturas propostas. No caso, encontrou-se fragmento com m/z igual a 606,0494 Da (Valor teórico=606,0497 Da) para a amostra NS011A e 654,0494 Da (Valor teórico=654,0497 Da) para a amostra NS211A.

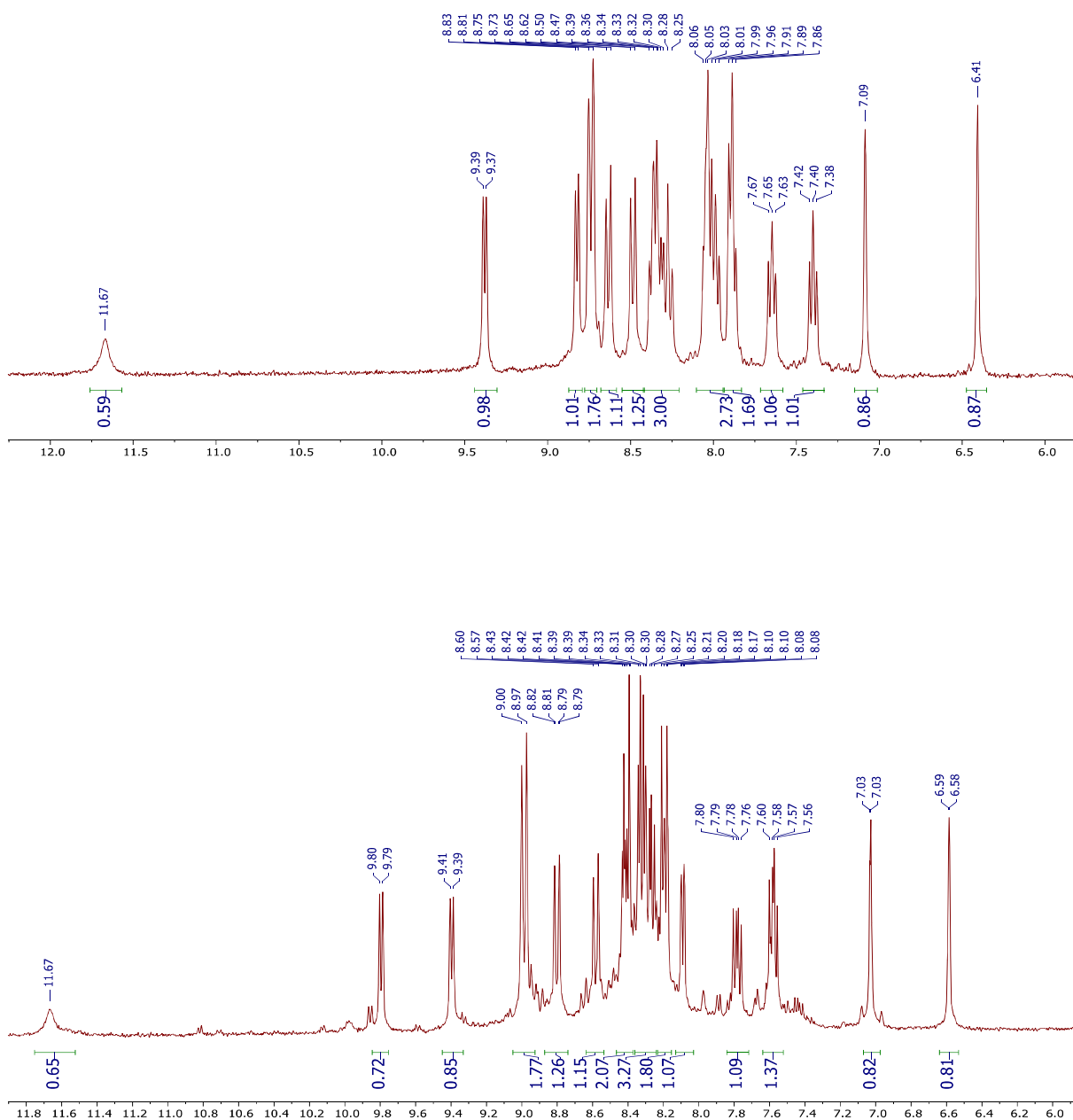
Figura 30 – Espectros de massas para os complexos NS011A (superior) e NS211B (inferior).



Fonte: elaborado pelo autor.

A Figura 31 e os apêndices F e G apresentam os espectros de ^1H -RMN e COSY obtidos em acetona deuterada para os complexos NS011A e NS211A.

Figura 31 – Espectros de ^1H -RMN para os complexos NS011A (superior) e NS211A (inferior) obtidos em acetona – d_6 .



Fonte: elaborado pelo autor.

Comparando-se aos dados espectroscópicos dos respectivos precursores, observa-se que a maioria dos hidrogênios experimenta algum grau de proteção magnética. Esse efeito é decorrente da menor capacidade π -aceptora do grupo nitrosil-sulfito se comparado ao ligante NO^+ . Tal como verificado para os demais complexos aqui descritos, pode-se afirmar pelo número de sinais e suas integrais que as espécies retiveram a configuração *cis* após a reação, bem como todos os ligantes desejados se mantiveram coordenados ao centro metálico.

4.5 Dados de Espectroscopia de Absorção de Raios X (XAS)

A espectroscopia de absorção de raios X compreende um conjunto de técnicas que tem como princípio fundamental a medida da absorção quantizada e diferencial de radiação de alta energia pelos elementos químicos e a detecção dos seus efeitos sobre a matéria. Tais técnicas tem múltiplas aplicações e são utilizadas com sucesso em pesquisas envolvendo desde o estudo das propriedades eletrônicas de materiais, até a obtenção de imagens de alta resolução a nível nanométrico.¹⁰²

A caracterização estrutural de compostos de coordenação também compreende uma das aplicações de XAS. Uma vez que os elétrons do cerne dos metais de transição absorvem radiação de alta energia em regiões do espectro diferente dos elementos mais leves é possível ter uma técnica com especificidade elementar e bastante sensível. Além disso, os elétrons das camadas mais internas da eletrosfera (geralmente denominadas “bordas”) são sensíveis a estado de oxidação, geometria, ligação entre outras características que tornam esse tipo de abordagem bastante atrativa para estudos de caracterização.

Dentre as abordagens possíveis em XAS, duas delas são especialmente úteis para a caracterização de compostos: a Absorção de raios X da estrutura próxima a borda (*X-ray Absorption Near Edge Structure*, XANES) e a Absorção de raios X estendida de estrutura fina (*Extended X-ray Absorption Fine Edge Structure*, EXAFS). Essas abordagens analisam as diferentes regiões do espectro de absorção e permitem extrair informações qualitativas e quantitativas acerca das estruturas sob estudo.

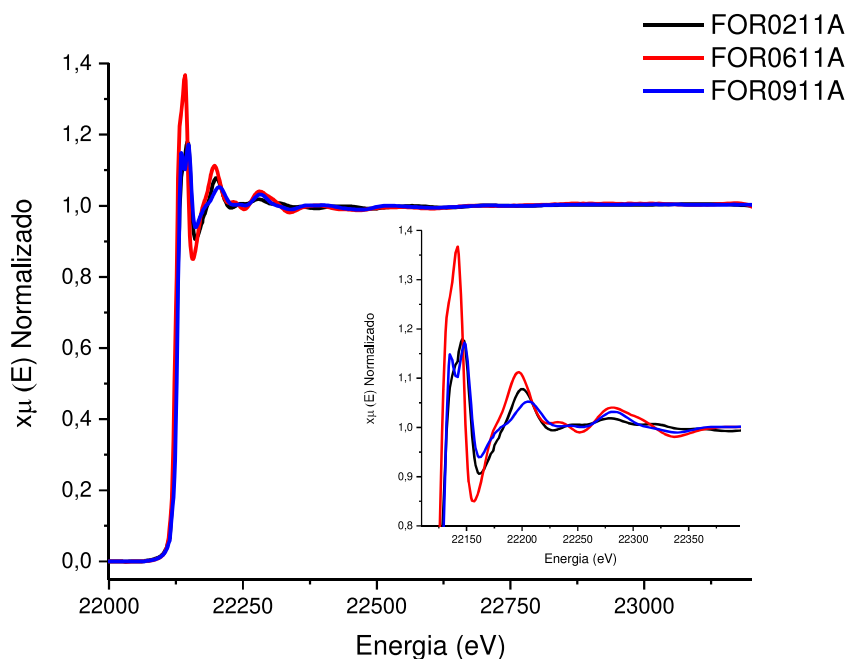
Nesse trabalho, todos os compostos foram submetidos a análise de XAS baseada na banda K do rutênio como átomo absorvedor (valor de referência igual a 22,117 keV). Os experimentos foram realizados na linha XDR do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), conforme detalhado na seção experimental.

As Figuras 32 a 34 apresentam os espectros normalizados de XAS obtidos no estado sólido com detecção por transmitância. Em todas as análises observa-se a ausência de

fenômenos absorptivos na região de pré-borda (porção do espectro anterior ao “salto” de absorção). Esse achado é característico de complexos de Ru(II) hexacoordenados e, portanto, concorda com as propostas estruturais desejadas.¹⁰³

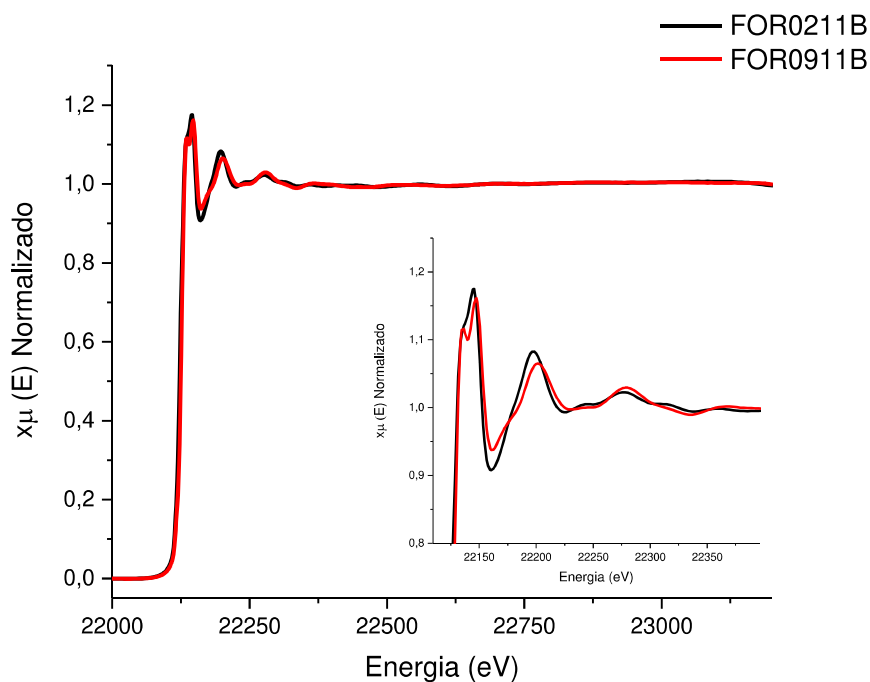
As análises de XANES, por sua vez, evidenciaram que todos os complexos apresentaram valores de limiar de absorção (E_0) na região característica para rutênio no estado de oxidação 2+ (22120 a 22130 eV). Essa variável pode ser usada para mensurar os efeitos da substituição de ligantes sobre as propriedades eletrônicas do elemento metálico absorvedor e seus valores são apresentados na Tabela 10. Verifica-se que os cloro-complexos apresentaram os valores mais baixos para a série de compostos em estudo, juntamente com o complexo precursor *cis*-[RuCl₂(phen)₂]. Curiosamente, o complexo FOR0211B mostrou valor inferior ao do precursor, evidenciando a capacidade doadora de densidade eletrônica oferecida pelo ligante etilenotioúria. Os nitrosilo-complexos, por sua vez, apresentaram valores mais elevados de E_0 , em coerência com o forte caráter π -acceptor do grupo NO⁺, e seu consequente efeito de estabilização. Por fim, os compostos NS011A e NS211A mostraram limiar de absorção mais baixos que seus análogos do tipo Ru-NO⁺. Tal como verificado por outras técnicas, a ligação do sulfito atenua o efeito retirador de densidade eletrônica do nitrosil, refletindo diretamente no valor de E_0 observado.

Figura 32 – Espectros normalizados de XAS obtidos em fase sólida no modo transmissão para os complexos FOR0211A, FOR0611A e FOR0911A.



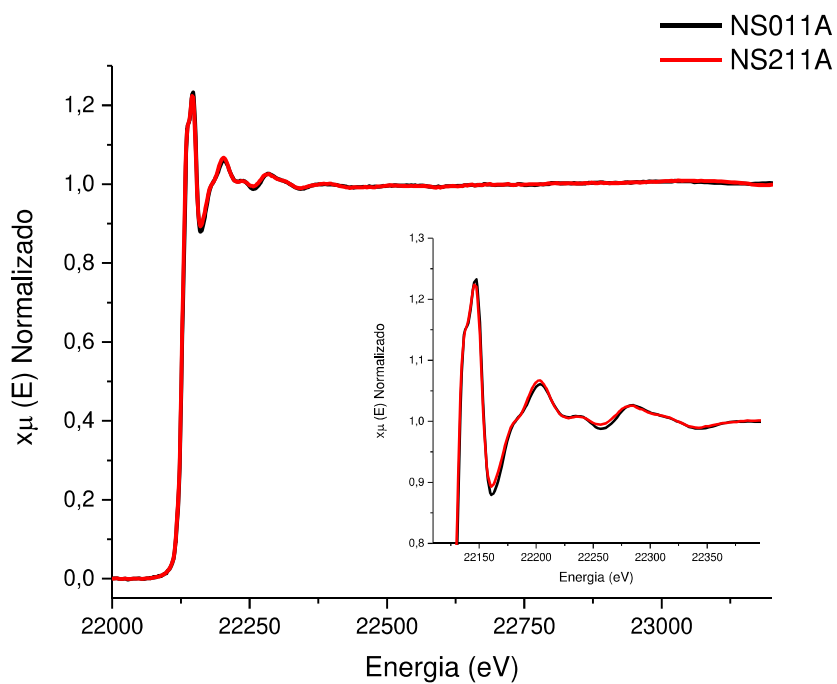
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 33 – Espectros normalizados de XAS obtidos em fase sólida no modo transmissão para os complexos FOR0211B, e FOR0911B.



Fonte: elaborado pelo autor

Figura 34 – Espectros normalizados de XAS obtidos em fase sólida no modo transmissão para os complexos NS011A e NS211A.



Fonte: elaborado pelo autor

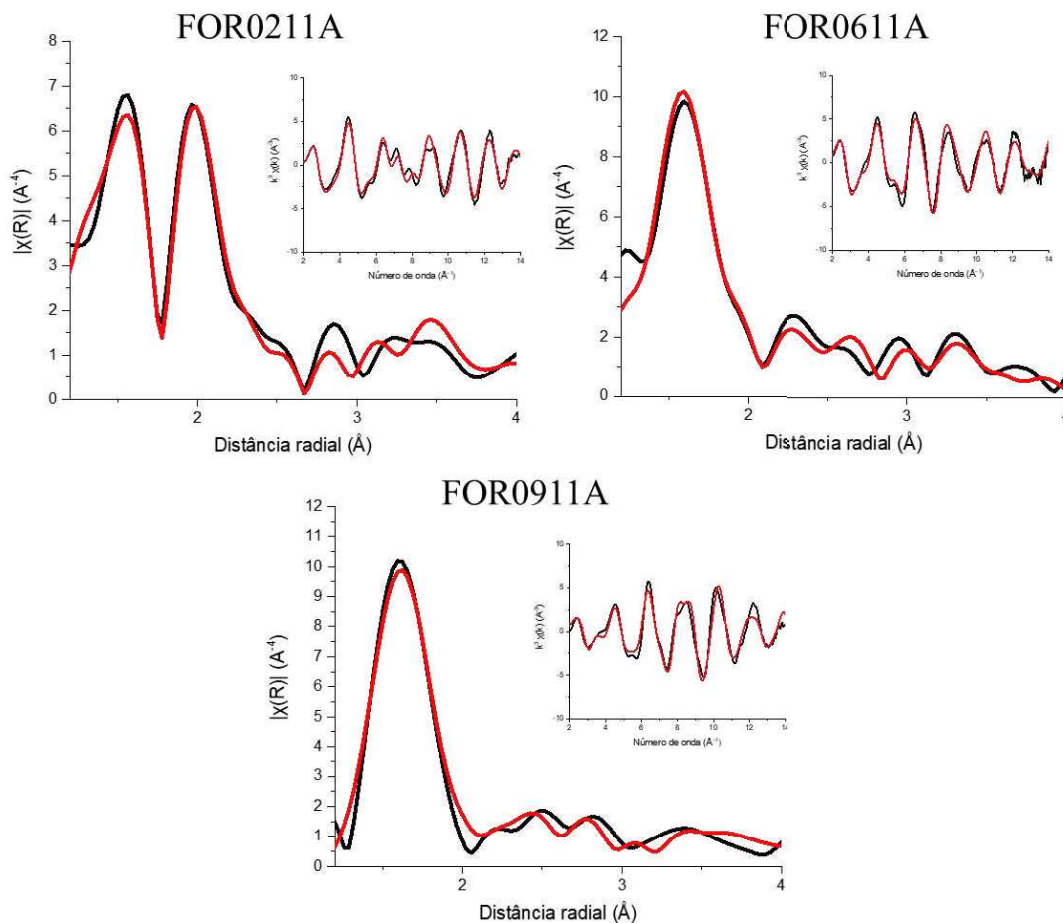
Tabela 10 – Valores de E_0 para as análises de XANES dos complexos sob estudo.

Complexo	E_0 (eV)	Complexo	E_0 (eV)
FOR0211A	22123,9	NS011A	22125,8
FOR0211B	22122,3	NS211A	22125,7
FOR0611A	22123,7	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	22123,7
FOR0911A	22126,9	<i>cis</i> -[Ru(NO)(bpy) ₂ (2MIM)](PF ₆) ₃	22127,5
FOR0911B	22126,2		

Fonte: elaborado pelo autor.

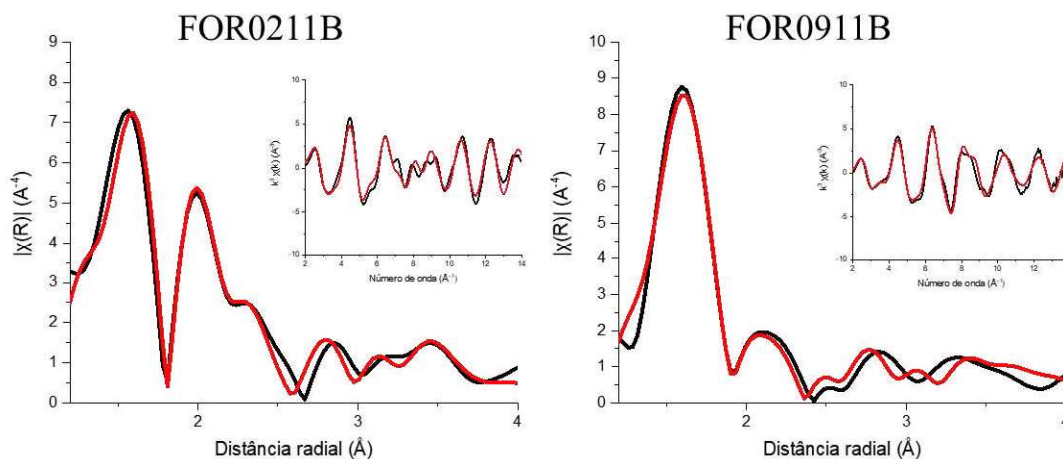
Dados de EXAFS foram tratados através do código FEFF 6 implementado no *software* Artemis, usando as estruturas otimizadas por meio de simulações computacionais previamente realizadas como referências. As Figuras 35 a 37 apresentam os espectros de EXAFS no espaço R acompanhados de seus respectivos ajustes. Os *insets* mostram os mesmos espectros no espaço K. Para todas as análises, foi possível obter boas correlações (fator R médio $\leq 0,05$) entre os dados experimentais e teóricos, evidenciando a qualidade dos ajustes. Verificase para todos os espectros a existência de 6 átomos espalhadores na 1^a camada adjacente (*1st shell*) do elemento absorvedor (Ru), o que é consistente com a proposta de sistemas hexacoordenados. Além disso, a presença de pelo menos quatro átomos de nitrogênio foi constatada em todas as análises (sinal intenso ao redor de 1,6 Å), os quais são relativos aos ligantes polipiridínicos bidentados (2,2'-bipiridina no complexo NS011A e 1,10-fenantrolina nas demais amostras).

Figura 35 – Espectros experimentais (—) e teóricos (—) de EXAFS no espaço R para os complexos FOR0211A, FOR0611A e FOR0911A. *Inset*: espectros correspondentes plotados no espaço K.



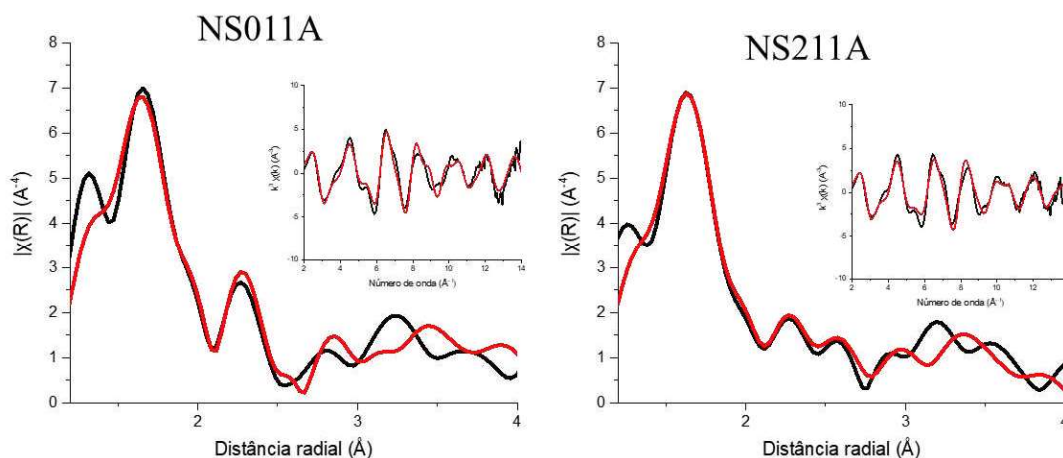
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 36 – Espectros experimentais (—) e teóricos (—) de EXAFS no espaço R para os complexos FOR0211B e FOR0911B. *Inset*: espectros correspondentes plotados no espaço K.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 37 – Espectros experimentais (—) e teóricos (—) de EXAFS no espaço R para os complexos NS011A e NS211A. *Inset*: espectros correspondentes plotados no espaço K.



Fonte: elaborado pelo autor.

A partir da correlação entre os resultados experimentais e os dados teóricos foi possível realizar a análise quantitativa dos espectros de EXAFS, fornecendo informações estruturais relevantes sobre os complexos estudados. A Tabela 11 apresenta os dados de distância de ligação (R) obtidos e outros parâmetros relacionados aos refinamentos. Verifica-se para todos os complexos que a distância média da ligação Ru-N_{phen} foi da ordem de $2,10 \pm 0,2$ Å, em concordância com os dados cristalográficos reportados para complexos similares.^{104, 105} No caso dos complexos do tipo *cis*-[RuCl(phen)₂(L)]⁺, pode-se observar valores de R similares para o parâmetro Ru-Cl, mas distâncias distintas entre o metal e os ligantes L. Isso é coerente com a proposta estrutural de que o ligante 2-metilimidazol coordena via átomo de nitrogênio, enquanto o grupo etilenotioréia liga-se via átomo de enxofre, sendo o valor de $2,69$ Å compatível para a distância Ru-S.

No que diz respeito aos nitrosilo-complexos, encontrou-se distâncias de ligação Ru-N_{NO} da ordem de $1,7$ Å, as quais estão em boa concordância com outras espécies do tipo Ru^{II}-NO⁺.¹⁰⁶ Além disso, esse resultado corrobora com as evidências observadas por espectroscopia vibracional e voltametria cíclica.

Por fim, para os compostos do tipo Ru-N(O)SO₃, verificou-se aumento da distância Ru-N após a ligação do sulfito, com valor médio da ordem de 2 Å. O aumento da densidade eletrônica sobre o átomo de nitrogênio justifica o maior distanciamento em relação ao metal. Além disso, a distância entre os átomos de rutênio e enxofre também sugere que seria esse elemento a se ligar ao nitrosil, conforme esperado.

Tabela 11 – Distâncias de ligação e parâmetros de refinamento para espectros de EXAFS.

Variável	FOR0211A			FOR0611A			FOR0911A		
	N.C.	R (Å)	$\sigma^2 \cdot 10^{-3}$	N.C.	R (Å)	$\sigma^2 \cdot 10^{-3}$	N.C.	R (Å)	$\sigma^2 \cdot 10^{-3}$
Ru-N _{phen}	4	2,03	5,41	4	2,105	4,12	4	2,08	1,98
Ru-N _{2MIM}	1	2,11	5,41	1	2,174	2,07	1	2,11	1,98
Ru-Cl/NO ₂ ⁻ /NO ⁺	1	2,42	1,06	1	2,065	2,07	1	1,76	1,74
S0 ²		1,16			1,14			0,92	
ΔE (eV)		-1,22			-1,07			1,88	
Fator-R (%)		1,47			2,99			1,77	

Variável	FOR0211B			FOR0911B		
	N.C.	R (Å)	$\sigma^2 \cdot 10^{-3}$	N.C.	R (Å)	$\sigma^2 \cdot 10^{-3}$
Ru-N _{phen}	4	2,07	4,75	4	2,08	2,12
Ru-S _{ETU}	1	2,69	12,48	1	2,36	3,50
Ru-Cl/NO ⁺	1	2,41	1,94	1	1,73	8,67
S0 ²		1,20			0,98	
ΔE (eV)		1,18			0,62	
Fator-R (%)		1,40			1,35	

Variável	NS011A			NS211A		
	N.C.	R (Å)	$\sigma^2 \cdot 10^{-3}$	N.C.	R (Å)	$\sigma^2 \cdot 10^{-3}$
Ru-N _{bpy/phen}	4	2,18	1,29	4	2,16	2,91
Ru-N _{2MIM}	1	2,14	1,29	1	2,09	1,49
Ru-N _{N(O)SO3}	1	1,95	1,33	1	2,05	8,53
Ru-S _{N(O)SO3}	1	3,15	8,58	1	3,56	38,8
S0 ²		1,06			1,09	
ΔE (eV)		0,61			-0,40	
Fator-R (%)		2,49			2,14	

Legenda: N.C.=número de coordenação; R=distância de ligação; σ^2 =fator de Debye-Waller; S0²=variação de amplitude; ΔE =deslocamento de energia.

Fonte: elaborado pelo autor.

4.6 Determinação da constante de equilíbrio de interconversão nitrosil/nitro

Os estudos de interconversão nitrosil/nitro para os complexos FOR0911A e FOR0911B foram realizados através de titulação espectrofotométrica, acompanhando-se a variação das absorvâncias nos comprimentos de onda de 405 e 440 nm, respectivamente. Os valores de constante de equilíbrio foram calculados conforme descrito por Sauaia.⁹⁷

Para o complexo FOR0911A, verificou-se que a curva de pH (Figura 38) 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 2,80. Para a interconversão nitrosil/nitro, calculou-se o valor de pH como sendo 5,66 e o valor da constante de equilíbrio resultou em $4,79 \times 10^{16}$. Esses achados são coerentes com os valores encontrados para os complexos análogos *cis*-[Ru(NO)(phen)₂(ImN)]³⁺ e *cis*-[Ru(NO)(phen)₂(2MIM)]³⁺ já descritos na literatura. As equações que descrevem esses equilíbrios estão expostas abaixo.

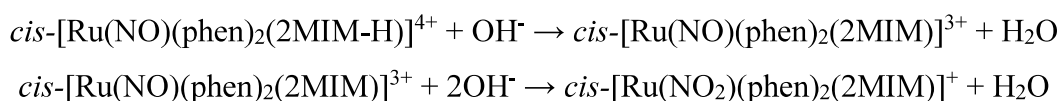
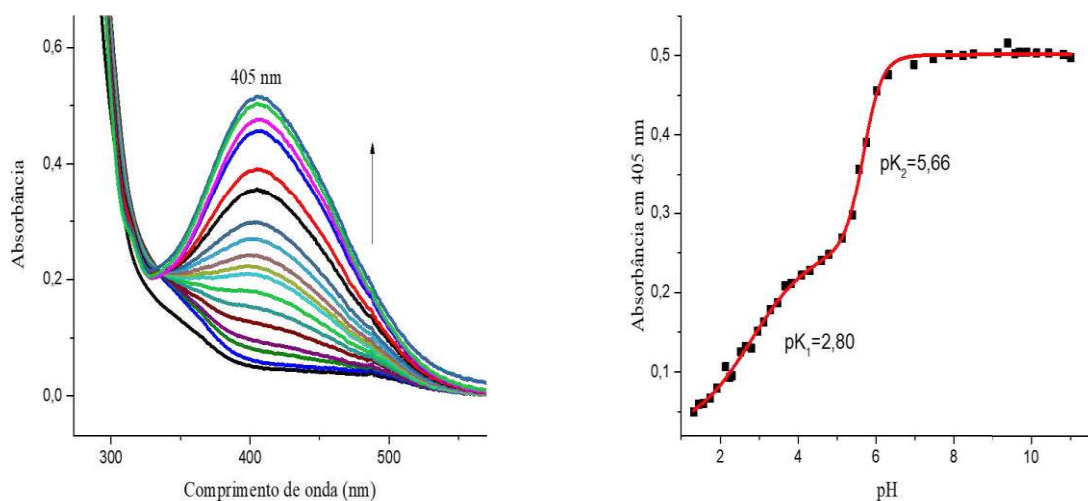


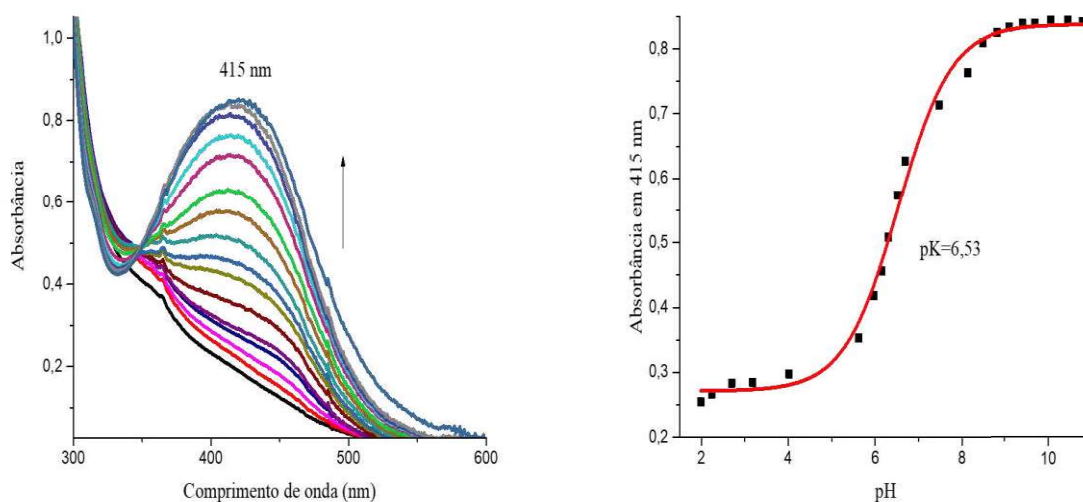
Figura 38 - Variação de absorvância durante titulação espectrofotométrica do complexo FOR0911A (esquerda) e gráfico de pH versus absorvância para essa titulação (direita).



Fonte: elaborado pelo autor.

O complexo FOR0911B, por sua vez, apresentou uma única reação ácido-base ao ser titulado com base (Figura 39), a qual foi atribuída à interconversão $\text{NO}^+/\text{NO}_2^-$, sendo encontrado valor de pH igual a 6,53. O valor da constante de equilíbrio para a reação foi de $8,71 \times 10^{14}$.

Figura 39 - Variação de absorbância durante titulação espectrofotométrica do complexo FOR0911B (esquerda) e gráfico de pH versus absorbância para essa titulação (direita).



Fonte: o autor.

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^- .¹⁰⁷ Isso resulta em valores de pK mais baixos para a interconversão nitrosil/nitrito.

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 12 apresenta os valores de constante calculados para uma série de complexos de fórmula geral *cis*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{phen})_2(\text{L})]^{n+}$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{bpy})_2(\text{L})]^{n+}$ 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 $\text{N}\equiv\text{O}^+$. 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.^{86, 97}

Tabela 12 – Valores de constante de equilíbrio (K) e pH para reação de interconversão $\text{NO}^+/\text{NO}_2^-$, frequência de estiramento da ligação $\text{N}\equiv\text{O}^+$, e $E_{1/2}$ vs Ag/AgCl para o processo NO^+/NO^0 coordenado, para sistemas $\text{cis}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{phen})_2(\text{L})]^{n+}$ e $\text{cis}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{bpy})_2(\text{L})]^{n+}$.

Complexo	$\nu(\text{NO}^+)$ (cm^{-1})	$E_{1/2}$ vs Ag/AgCl	K	pH
$\text{cis}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{bpy})_2(2\text{MIM})]^{3+}$	1940	254 mV	$4,57 \times 10^{16}$	5,65
$\text{cis}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{bpy})_2(\text{ETU})]^{3+}$	1930	75 mV	$2,75 \times 10^{15}$	6,28
$\text{cis}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{phen})_2(\text{TU})]^{3+}$	1932	130 mV	$1,00 \times 10^{12}$	8,0
$\text{cis}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{phen})_2(\text{TBZ})]^{3+}$	1926	120 mV	$1,00 \times 10^{15}$	6,5
$\text{cis}-[\text{Ru}(\text{SO}_3)(\text{NO})(\text{bpy})_2]^+$	1911	-140 mV	$1,74 \times 10^7$	10,38
$\text{cis}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{phen})_2(2\text{MIM})]^{3+}$	1938	163 mV	$4,79 \times 10^{16}$	5,66
$\text{cis}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{phen})_2(\text{ETU})]^{3+}$	1925	92 mV	$8,71 \times 10^{14}$	6,53

Legenda: 2MIM=2-metilimidazol; ETU=etilenotioréia; TBZ=tiobenzamida; TU=tiouréia.

Fonte: o autor e referências^{90, 92, 108}

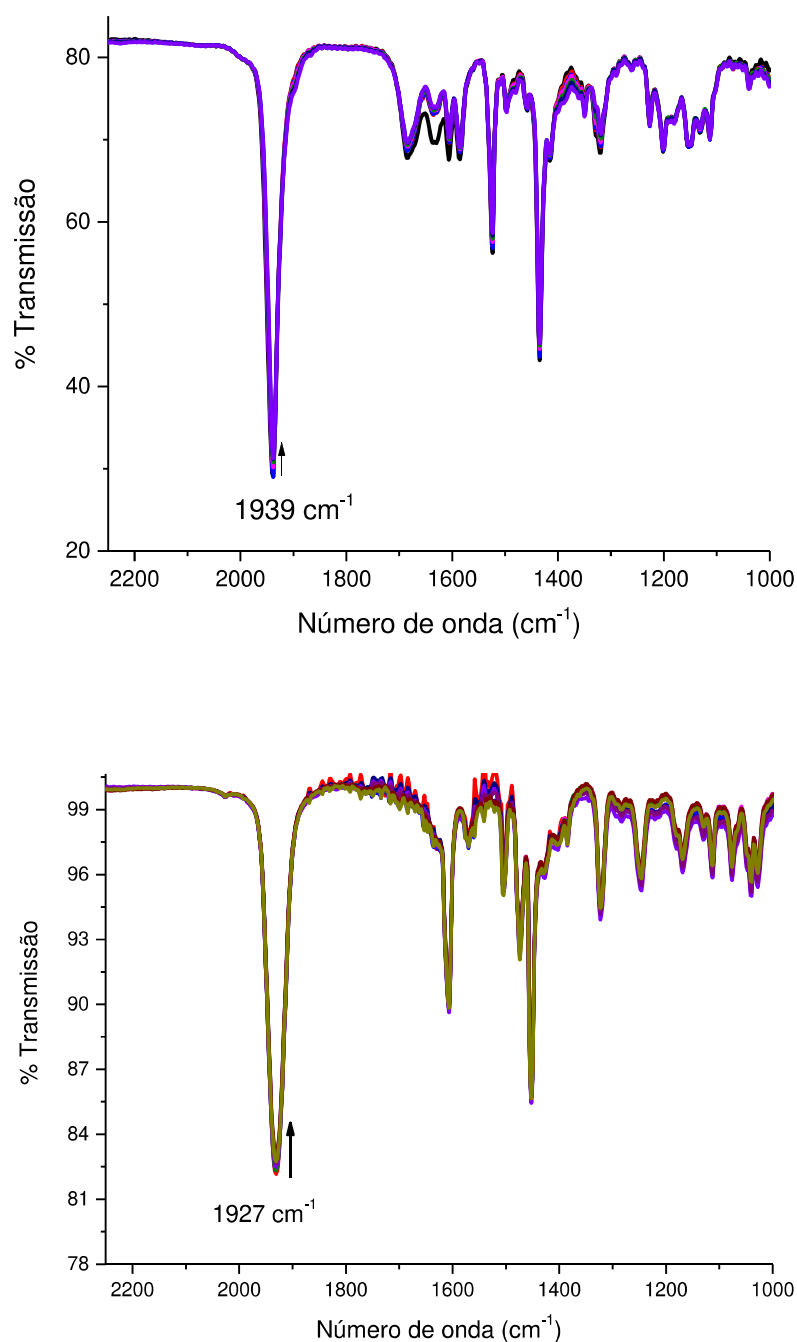
4.7 Estudo fotoquímico qualitativo para nitrosilo complexos

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 labilização de óxido nítrico com posterior substituição por molécula do solvente.^{101, 109, 110} No intuito de estudar esse tipo de reatividade, os nitrosilo complexos sintetizados foram submetidos a irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm) e acompanharam-se mudanças em seus perfis espectroscópicos ao longo de intervalos de tempo definidos.

Inicialmente, realizou-se o experimento de irradiação para os compostos FOR0911A e FOR0911B no estado sólido, diluídos em pastilha de KBr, com acompanhamento das mudanças estruturais via espectroscopia vibracional na região do infravermelho. A figura

40 apresenta as respectivas alterações espectrais centradas na banda referente ao estiramento da ligação N-O do grupo nitrosil para um ensaio com tempo de irradiação total de 360 minutos. Não são observados indícios que sugiram labilização de NO^0 ou outras mudanças estruturais.

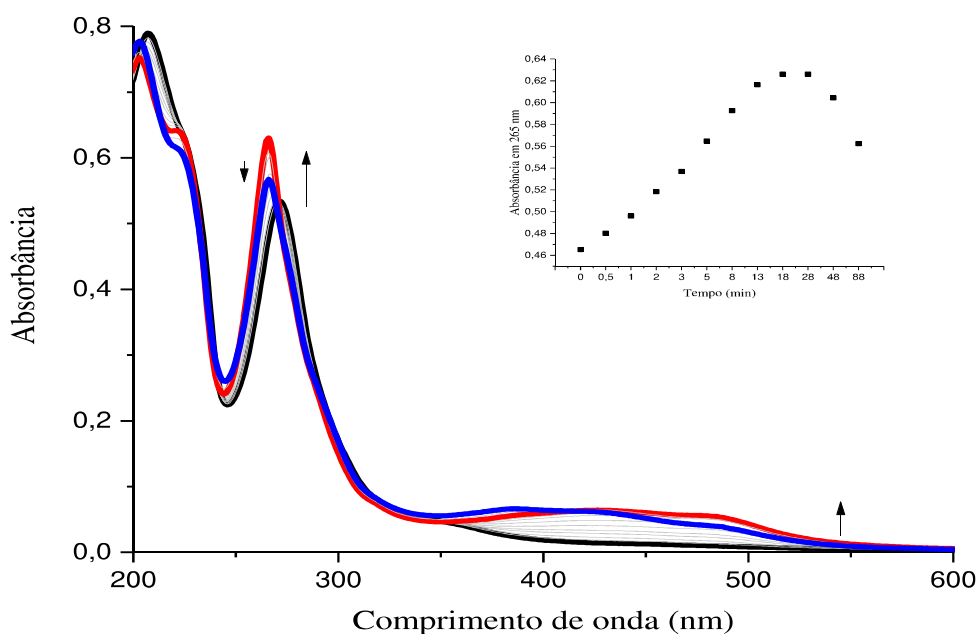
Figura 40 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para experimentos de irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm) para os compostos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior) em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor

Diante desses resultados, avaliou-se o comportamento dos complexos quando irradiados em solução. A Figura 41 apresenta as mudanças do perfil espectral decorrente da irradiação para o composto FOR0911A.

Figura 41 - Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto FOR0911A com luz azul (NaTFA 0,1 mol L⁻¹, pH=3,0). Destacam-se os espectros antes da irradiação (—), após 30 min de irradiação (—) e após 80 min de irradiação (—). *Inset*: variação da absorção em 265 nm ao longo do período de irradiação.

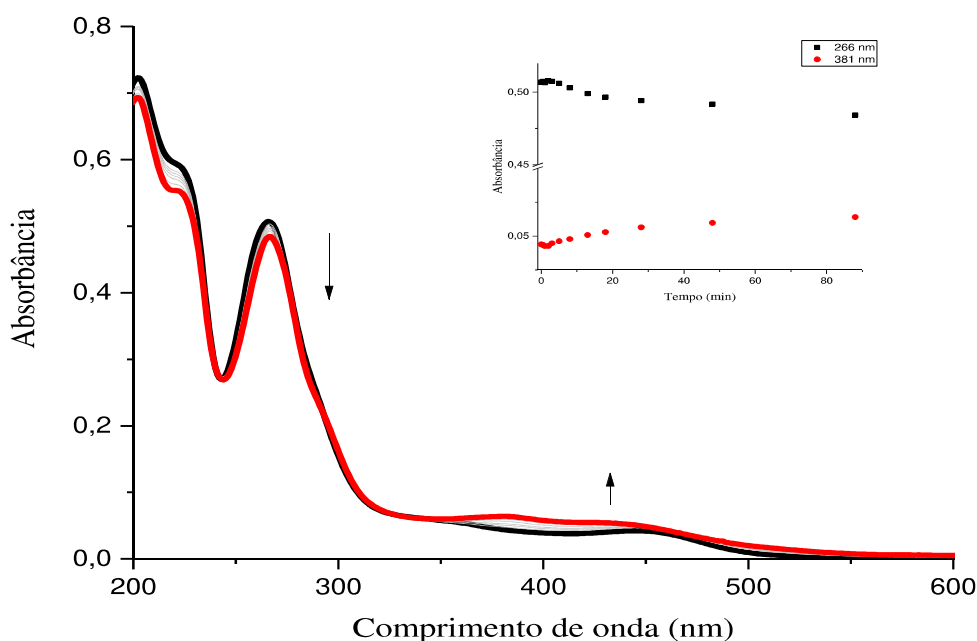


Fonte: elaborado pelo autor.

Observam-se diversas alterações que incluem o surgimento de bandas largas em 425 e 480 nm, as quais foram atribuídas a transições MLCT do tipo $\pi^*(\text{phen}) \leftarrow d\pi(\text{Ru})$ e o deslocamento com aumento de intensidade da banda em 272 nm para 266 nm, atribuída a transição intraligante do tipo $\pi^* \leftarrow \pi(\text{bpy})$. Verifica-se que durante os primeiros 30 minutos de irradiação, há a visualização de pontos isobésticos em 271 e 355 nm, sugerindo a ocorrência de uma única reação fotoquímica, a qual corresponderia a labilização do grupo nitrosil como NO^0 . Após esse período, nota-se deslocamento de bandas e distanciamento em relação aos isobéticos, provavelmente em função de reações laterais envolvendo a labilização do ligante 2-metilimidazol.

O complexo FOR0911B, por sua vez, apresentou alterações mais discretas em seu perfil espectroscópico ao ser irradiado com luz azul (figura 42).

Figura 42 - Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto FOR0911B com luz azul (NaTFA 0,1 mol L⁻¹, pH=3,0). Destacam-se os espectros antes da irradiação (—) e após 80 min de irradiação (—). *Inset*: variação da absorção em 266 e 381 nm ao longo do período de irradiação.



Fonte: elaborado pelo autor.

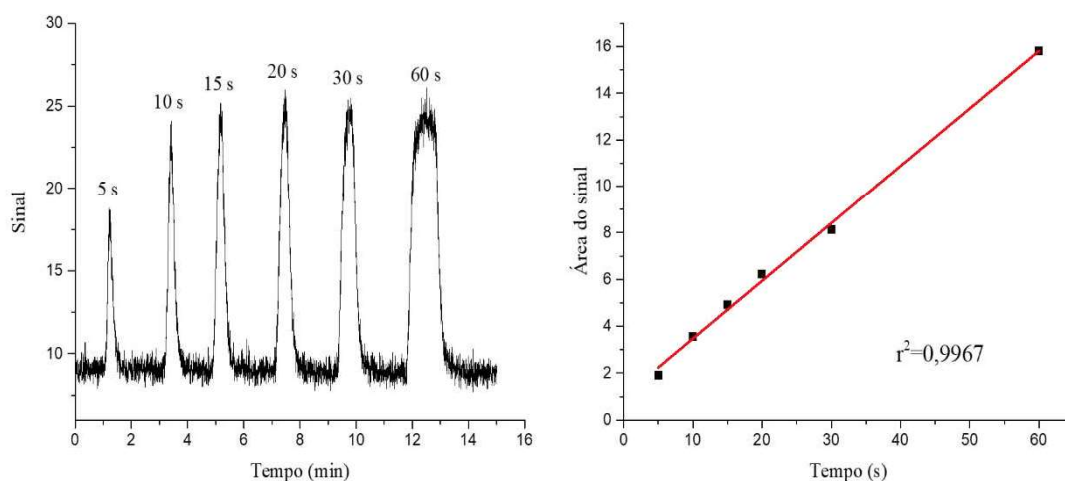
Ao longo da irradiação, surgem duas bandas de absorção em 381 e 443 nm, as quais foram atribuídas a transições MLCT do tipo $\pi^*(bpy) \leftarrow d\pi(Ru)$, além de haver sutil redução da banda em 266 nm, atribuída a transição do ligante bipyridina do tipo $\pi^* \leftarrow \pi$. Apesar de que não foram observadas grandes alterações espectrais durante a irradiação do composto, verificou-se que o perfil pós-irradiação tem considerável similaridade com o do precursor FOR0211B. Esse achado corrobora com a hipótese de que a irradiação foi capaz de promover a redução do composto, juntamente com a saída do ligante nitrosil como NO⁰ e a subsequente coordenação de uma molécula de solvente. Essa proposta foi avaliada nos experimentos seguintes.

Utilizando um sensor quimioluminescente, avaliou-se a liberação de óxido nítrico dos complexos FOR0911A e FOR0911B em condições análogas aos dos ensaios espectroscópicos. Os resultados são apresentados na Figura 43. Verifica-se que ao irradiar o

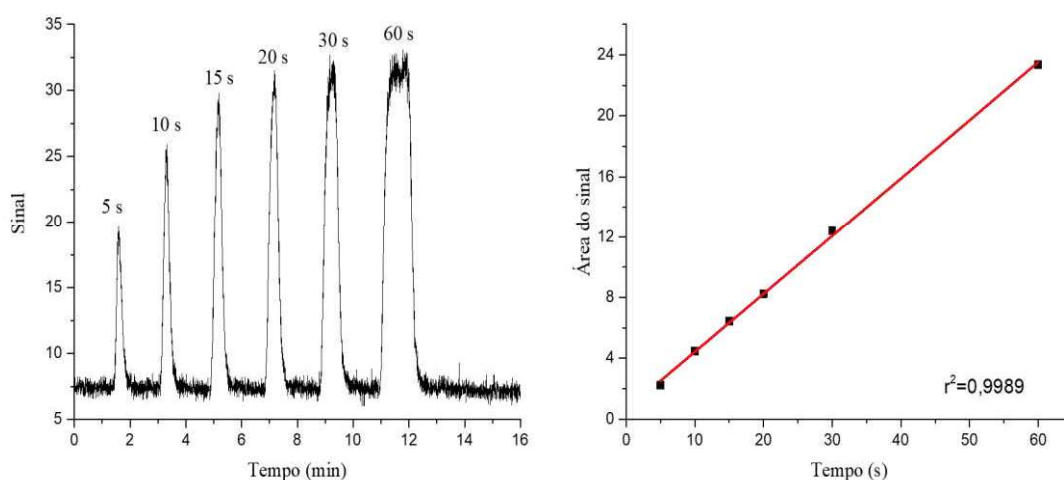
composto por intervalos curtos (entre 5 e 60 s) ocorre liberação de quantidades proporcionais de óxido nítrico, sugerindo que tais compostos são potenciais plataformas para liberação controlada de NO. Nota-se ainda que, de acordo com os valores de áreas dos sinais, a amostra FOR0911B aparenta liberar cerca de 50% a mais de NO que o FOR0911A, quando irradiadas durante o mesmo tempo. Investigações adicionais, utilizando sondas seletivas para detecção de óxido nítrico, estão sendo realizadas para confirmar esse achado.

Figura 43 – Gráfico de detecção de NO para os compostos FOR0911A e FOR0911B (solução HTFA 0,1 mol L⁻¹, pH 3) sob irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm, 20 W) em diferentes períodos de tempo (à esquerda); e correlação entre tempo de irradiação e área de sinal (à direita).

FOR0911A



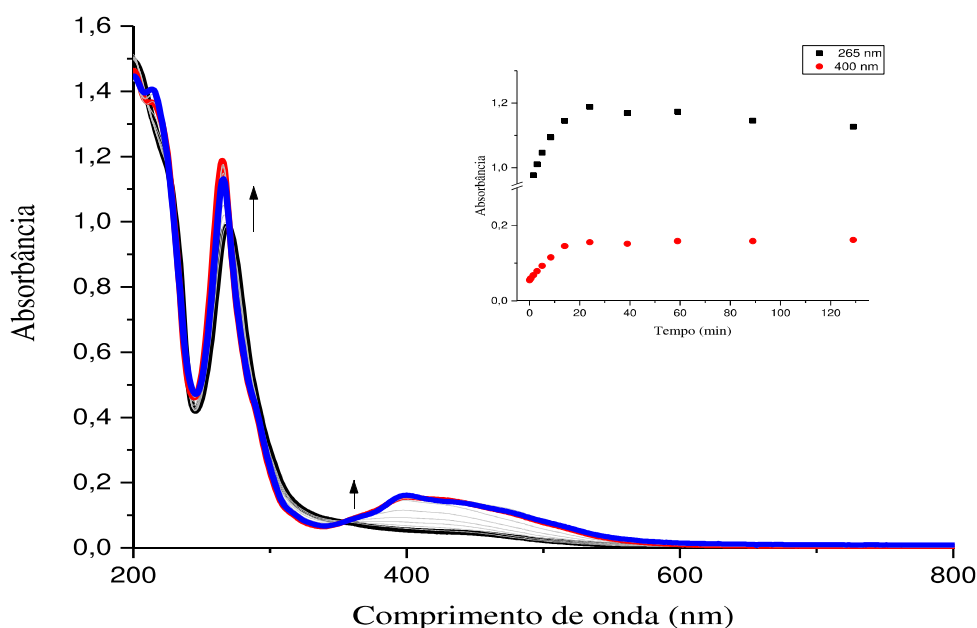
FOR0911B



Fonte: elaborado pelo autor.

Conforme foi mostrado na seção anterior, a concentração de íons H^+ no meio exerce considerável influência sobre os equilíbrios reacionais envolvendo nitrosilo-complexos. A fim de excluir a interferência do pH nesse estudo, optou-se por realizar o acompanhamento espectrofotométrico para irradiação dos compostos FOR0911A e FOR0911B também em acetonitrila. Os gráficos com os perfis espectrais são apresentados nas Figuras 44 e 45, respectivamente.

Figura 44 - Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto FOR0911A com luz azul em acetonitrila. Destacam-se os espectros antes da irradiação (—), após 30 min de irradiação (—) e após 120 min de irradiação (—). *Inset*: variações das absorbâncias em 265 e 400 nm ao longo do período de irradiação.

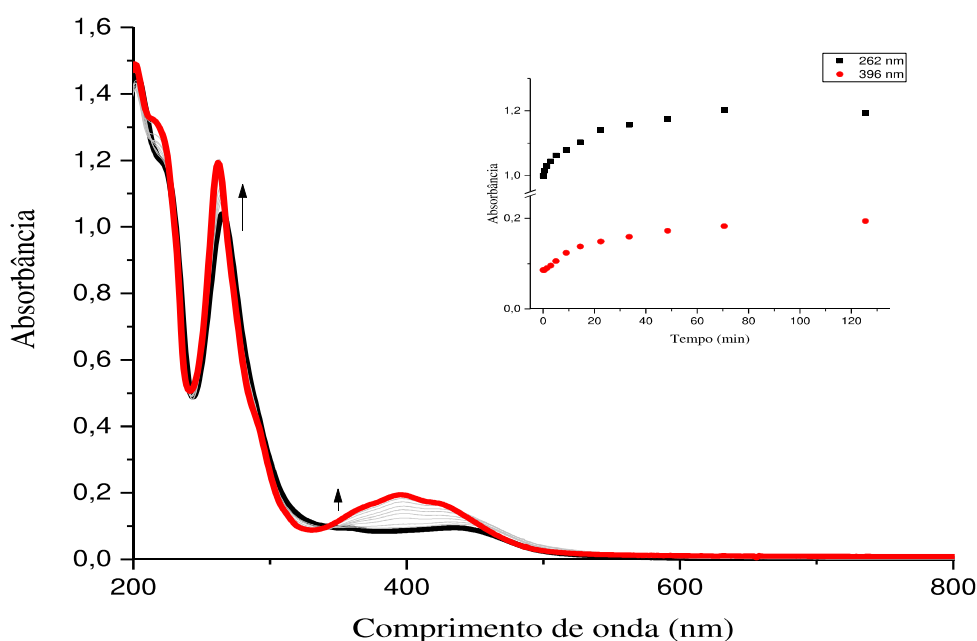


Fonte: elaborado pelo autor.

No caso do complexo FOR0911A, verifica-se que a irradiação provoca mudanças consideráveis no espectro com aumento banda em 267 nm e seu deslocamento para 265 nm, juntamente com o surgimento de bandas largas em 400 e 452 nm. Tal como observado no acompanhamento em meio aquoso, nota-se que as alterações mais perceptíveis se dão nos primeiros 30 minutos de irradiação (com surgimento de ponto isobéstico em 270 nm) e que a continuidade desse procedimento leva a sutis deslocamentos dos espectros, provavelmente decorrentes de reações laterais. Assim, considera-se que há fotolabilização do grupo nitrosil sob

a forma de NO^0 , com formação da espécie $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{phen})_2(2\text{MIM})(\text{acetonitrila})]^{2+}$ e que esse complexo pode sofrer uma segunda substituição formando o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{acetonitrila})_2]^{2+}$. O complexo FOR0911B, por sua vez, aparenta ser mais fotoreativo em meio orgânico, visto que a irradiação a 460 nm leva ao surgimento de bandas em 375, 396 e 426 nm. Assim como para o FOR0911A, atribui-se as variações espectrais à labilização do nitrosil e sua liberação como óxido nítrico.

Figura 45 - Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto FOR0911B com luz azul em acetonitrila. Destacam-se os espectros antes da irradiação (—) e após 120 min de irradiação (—). *Inset*: variações das absorbâncias em 262 e 396 nm ao longo do período de irradiação.



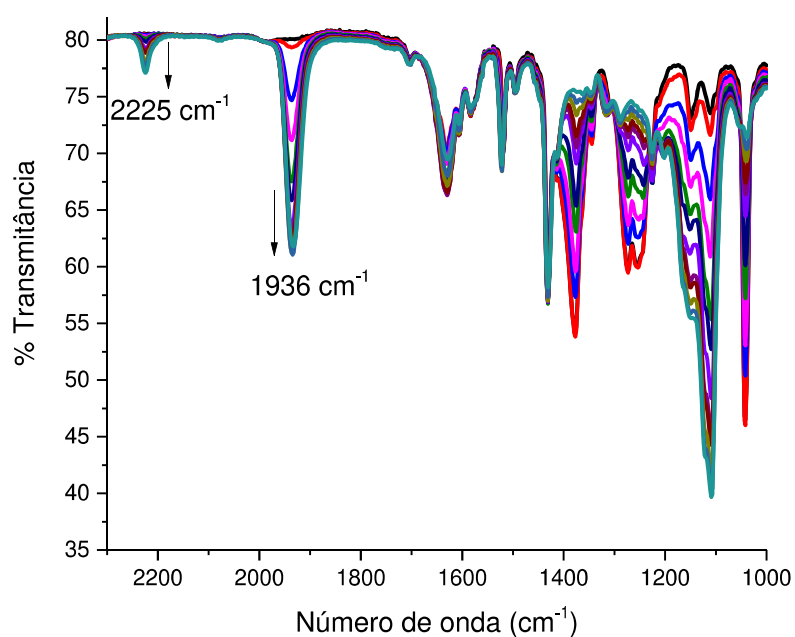
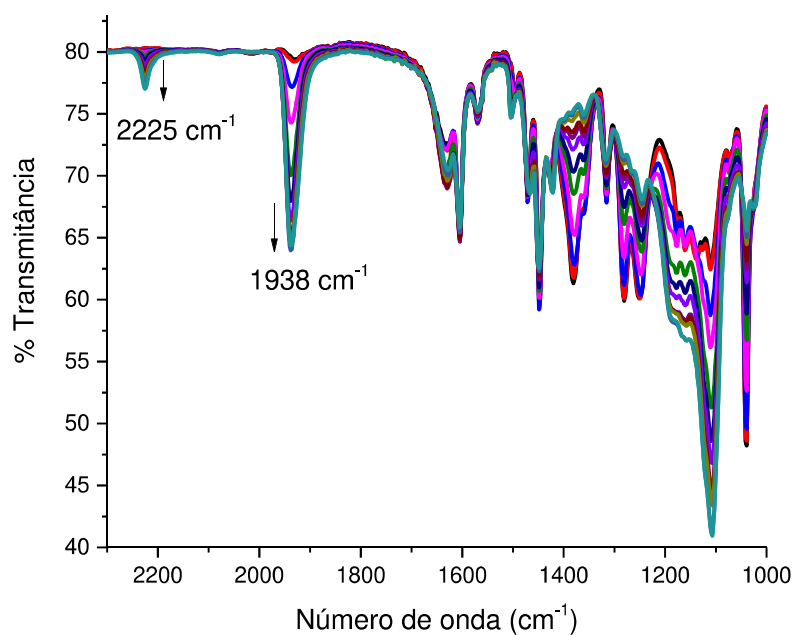
Fonte: elaborado pelo autor.

4.8 Estudo fotoquímico qualitativo para complexos com nitrosil-sulfito

Similarmente ao que foi realizado para os nitrosilo-complexos, avaliou-se a fotoreatividade dos compostos NS011A e NS211A. Inicialmente, estudou-se o comportamento desses complexos quando submetidos a irradiação com luz azul no estado sólido. Diferente do que ocorre com os nitrosilo complexos, os análogos de nitrosil-sulfito, mesmo na ausência de solventes, sofrem reação quando submetidos a fotólise com luz visível. Conforme a Figura 46, observa-se que períodos seguidos de fotoirradiação provocam diminuição das bandas

associadas às vibrações do grupo N(O)SO_3 com proporcional aumento da banda atribuída ao estiramento N-O.

Figura 46 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para experimentos de irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm) para os compostos NS011A (superior) e NS211A (inferior) em pastilha de KBr.



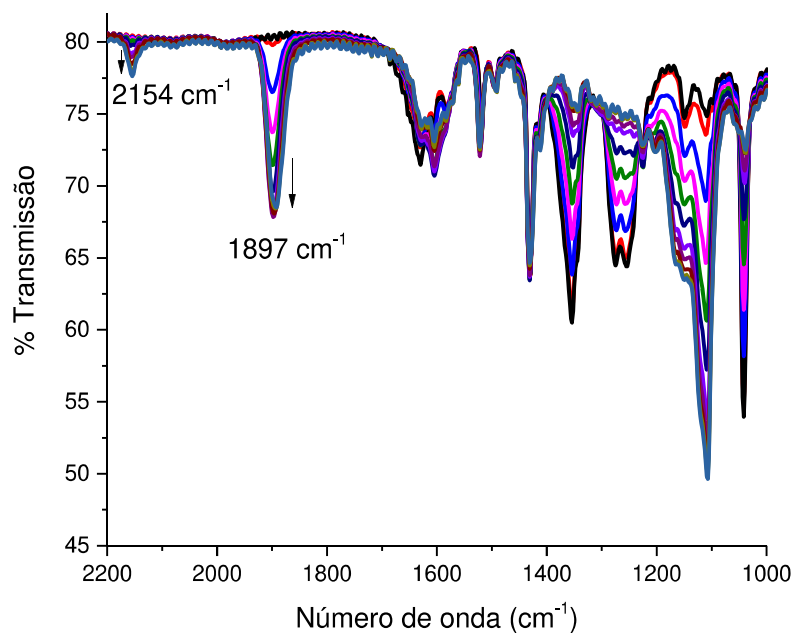
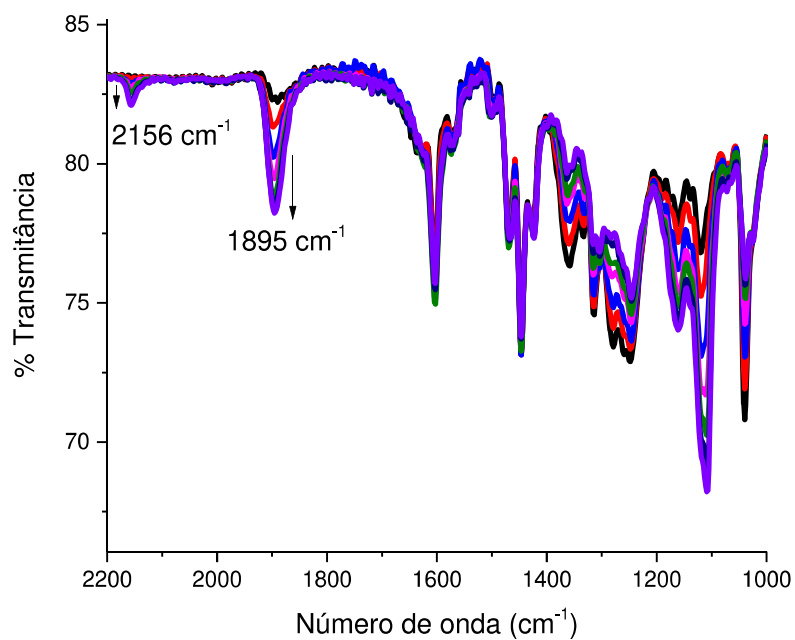
Fonte: elaborado pelo autor

Diante disso, é possível crer que ocorre quebra do grupo nitrosil-sulfito, levando a formação do respectivo nitrosilo-complexo original. Não fica claro se essa reação restaura o ânion sulfito, ou se esse íon sofre alguma reação redox concomitante a fotólise. Contudo, o surgimento de uma banda intensa em torno de 1100 cm^{-1} sugere a formação de íons sulfato, os quais, podem ser formados por fotoxidação. O comportamento observado é comum aos complexos NS011A e NS211A. Curiosamente, em ambas as situações, há o surgimento de uma banda pouco intensa em 2225 cm^{-1} , a qual não teria uma atribuição clara. Sendo essa uma região do espectro vibracional mais característica de ligações $\text{N}=\text{N}$, tem-se como possibilidade a formação de uma espécie contendo nitrogênio, o qual poderia advir do grupamento nitrosil-sulfito. Para testar essa hipótese, realizou-se a marcação dos dois compostos com ^{15}N , uma vez que o produto da fotólise constituído por isótopo de maior massa deverá apresentar valores de número de onda cerca de 45 cm^{-1} menores. Assim, foram obtidos os compostos $^{15}\text{NS011A}$ e $^{15}\text{NS211A}$ utilizando o reagente $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ na etapa reacional correspondente a coordenação do ligante nitrito.

Uma vez obtidos e caracterizados, os compostos marcados $^{15}\text{NS011A}$ e $^{15}\text{NS211A}$ foram submetidos ao experimento de fotólise em estado sólido em condições idênticas ao experimento anterior. Os resultados são apresentados na figura 47 abaixo.

Verifica-se que em ambos os experimentos houve deslocamento dos valores de número de onda referentes as vibrações envolvendo os grupos nitrosil e nitrosil-sulfito, conforme o esperado. Nota-se ainda que a banda localizada em 2225 cm^{-1} também sofreu deslocamento para direita, indicando que essa espécie está relacionada aos ligantes associados a óxidos de nitrogênio. Em busca nas bases de dados espectroscópicos disponíveis, verificou-se que essa região do espectro vibracional é compatível com o gás óxido nitroso (N_2O), o qual pode ser formado pela redução do óxido nítrico. Entretanto, esse gás livre apresenta um sinal na forma de dubleto, diferente do que foi observado no experimento em questão. Lehnert e colaboradores¹¹¹ observaram que o complexo $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{N}_2\text{O})]^{2+}$ apresenta em seu espectro vibracional banda em 2238 cm^{-1} atribuída ao estiramento $\text{N}-\text{N}$ do ligante N_2O coordenado. Assim, diante das evidências de oxidação do sulfito e redução do grupo nitrosil, propõe-se que a fotólise tem como produtos o nitrosilo complexo e o respectivo derivado *cis*- $[\text{Ru}(\text{X}-\text{X})_2(2\text{MIM})(\text{N}_2\text{O})]^{2+}$, onde $\text{X}-\text{X}$ corresponde a diimina.

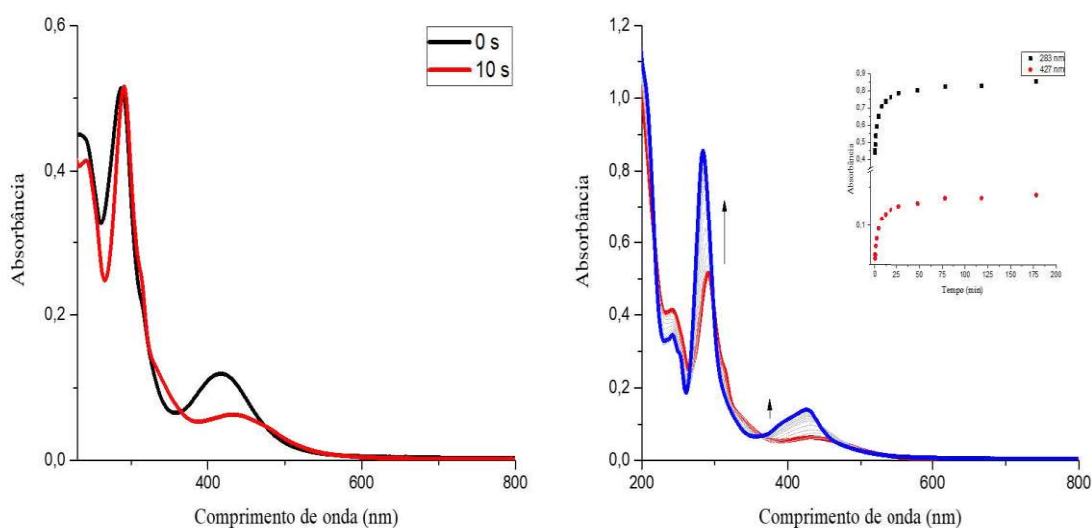
Figura 47 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para experimentos de irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm) para os compostos $^{15}\text{NS011A}$ (superior) e $^{15}\text{NS211A}$ (inferior) em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor

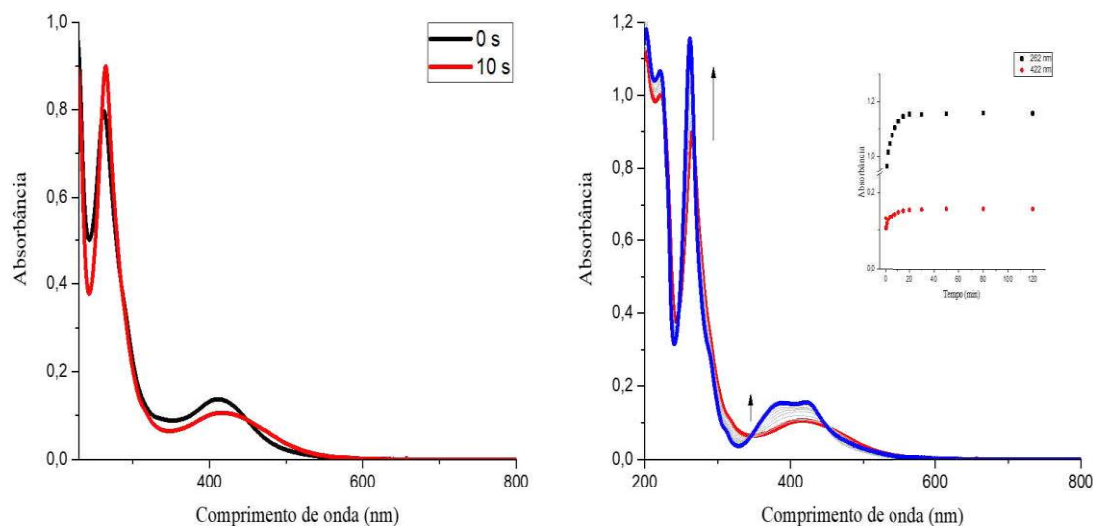
No segundo momento, estudou-se o efeito da irradiação dos complexos na presença de solvente. Devido à baixa estabilidade dos complexos em meio ácido,^{100, 101} avaliou-se a fotoreatividade desses compostos somente em acetonitrila. Os espectros obtidos durante o acompanhamento das reações de fotólise são apresentados nas Figuras 48 e 49. Para ambos, verificou-se que os primeiros 10 segundos de irradiação provoca uma abrupta mudança no perfil espectroscópico dessas espécies com diminuição das bandas na região do visível. Alterações semelhantes foram observadas por Roveda e colaboradores¹⁰¹ quando estudaram a fotoreatividade do complexo *trans*-[Ru(N(O)SO₃)(NH₃)₄(isn)]⁺, onde isn=isonicotinamida quando irradiado com luz ultravioleta ($\lambda=355$ nm). Nesse caso, o espectro do produto após alguns minutos de irradiação foi idêntico ao respectivo nitrosilo complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)]³⁺. Isso sugere que ocorre a labilização fotoquímica do grupo sulfito sob a forma de sulfito radicalar (posteriormente identificado por ressonância paramagnética eletrônica).

Figura 48 - Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto NS011A com luz azul em acetonitrila. Destacam-se os espectros antes da irradiação (—), após 10 s de irradiação (—) e após 180 min de irradiação (—). *Inset*: variações das absorbâncias em 283 e 427 nm ao longo do período de irradiação.



Fonte: elaborado pelo autor

Figura 49 - Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto NS211A com luz azul em acetonitrila. Destacam-se os espectros antes da irradiação (—), após 10 s de irradiação (—) e após 120 min de irradiação (—). *Inset*: variações das absorbâncias em 262 e 422 nm ao longo do período de irradiação

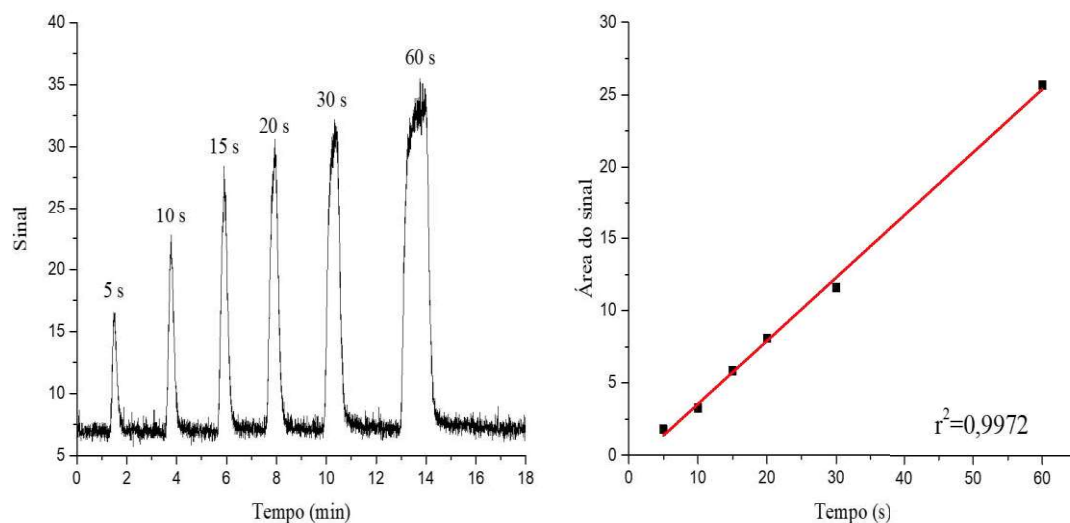


Fonte: elaborado pelo autor

Contudo, a análise dos espectros obtidos para a irradiação dos compostos NS011A e NS211A evidencia que o produto formado inicialmente difere dos nitrosilo-complexos precursores. Além disso, como pode ser observado nos espectros das Figuras 44 e 49, o produto formado após 10 s de irradiação não é idêntico aos complexos FOR0911A, logo os produtos finais para irradiação desse composto e NS211A são espectroscopicamente diferentes. Assim, é possível assumir que a fotoreatividade de compostos polipiridínicos de rutênio com ligantes nitrosil-sulfito segue mecanismos distintos daqueles identificados para tetraaminas de rutênio.

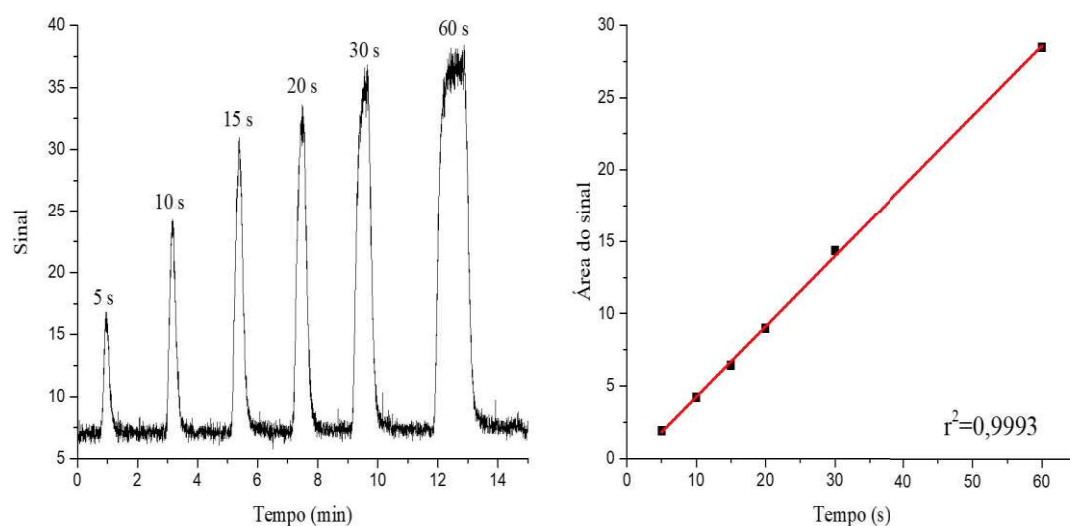
A fim de avaliar se a irradiação dos complexos contendo o grupo N(O)SO_3 libera óxido nítrico, utilizou-se o sensor quimioluminescente de NO de forma similar ao que foi feito para os compostos FOR0911A e FOR0911B. Os resultados desses experimentos são apresentados nas Figuras 50 e 51. Observa-se não somente que a irradiação da solução desses complexos com luz azul leva a formação de NO, como também que essa liberação se dá em quantidades proporcionais ao tempo de irradiação. Dessa forma, confirma-se que de fato há labilização do grupo nitrosil-sulfito quando as espécies NS011A e NS211A são expostas à luz visível. Experimentos adicionais são ainda necessários para confirmar quais outras espécies são geradas nessa reação bem como os mecanismos envolvidos.

Figura 50 – Gráfico de detecção de NO para o composto NS011A (DPBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4) sob irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm, 20 W) em diferentes períodos de tempo (à esquerda); e correlação entre tempo de irradiação e área de sinal (à direita).



Fonte: elaborado pelo autor

Figura 51 – Gráfico de detecção de NO para o composto NS211A (DPBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4) sob irradiação com luz azul ($\lambda=460$ nm, 20 W) em diferentes períodos de tempo (à esquerda); e correlação entre tempo de irradiação e área de sinal (à direita).

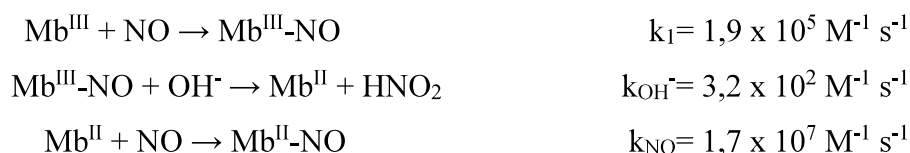


Fonte: elaborado pelo autor

4.9 Estudo de reatividade com L-glutationa

Nitrosilo-complexos são capazes de reagir com redutores de diferentes naturezas levando a formação de óxido nítrico. Dentre esses redutores, o tripeptídeo L-glutationa (GSH) é especialmente interessante, visto que se encontra em alta concentração no citoplasma de células saudáveis e pode, portanto, atuar como estímulo para liberação de NO a partir de nitrosilo-compostos metálicos.¹¹² Além disso, trabalhos recentes demonstraram que complexos do tipo *cis*-[Ru(NO)(bpy)₂(L)]⁺³⁺, quando reagem com GSH, podem funcionar como liberadores de nitroxil (HNO/NO⁻).¹¹³ Sabe-se que tanto NO como HNO são sinalizadores moleculares de grande importância na fisiopatologia e farmacologia de doenças cardiovasculares, como hipertensão e aterosclerose.^{34, 36} Assim, é relevante o estudo dos produtos de reação entre os nitrosilo-complexos sintetizados e L-glutationa a fim de avaliar o potencial desses compostos em atuar como pro-drogas.

Mioglobina (Fe³⁺) tem sido recorrentemente utilizada na detecção de óxido nítrico e nitroxil, assim como outras hemoproteínas. A priori, a reação entre a mioglobina oxidada (metMb) com NO ou HNO produz perfis espectrais distintos, mas cuja diferenciação é baseada em achados sutis. Em ambos os casos, ocorre alterações relativas à banda Soret e às bandas Q do espectro da hemoproteína. Contudo, a reação de Mb (Fe³⁺) com NO envolve mais de uma etapa e ocorre de acordo com as equações abaixo:



Por sua vez, a reação Mb (Fe³⁺) com HNO segue uma única etapa, a qual ocorre cerca de 1000 vezes mais rápido que a reação com NO:



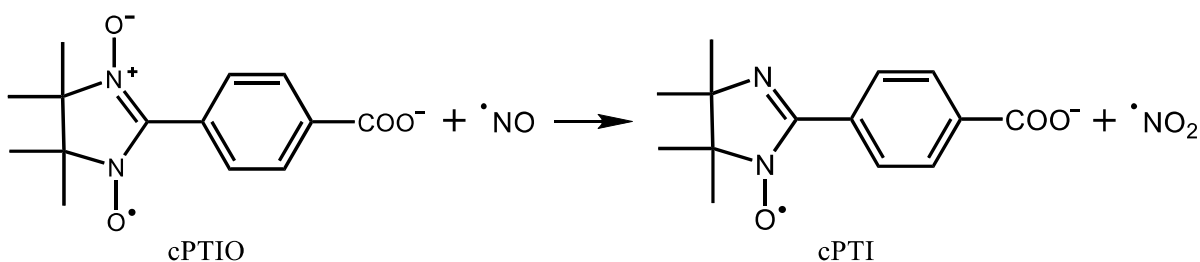
Dessa forma, o perfil cinético pode fornecer informações que permitam distinguir a espécie envolvida na redução do grupo heme da proteína.

O sal 2-(4-Carboxifenil)-4,4,5,5- tetrametilimidazol-1-oxil-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. Contudo, seu uso apresenta limitações,

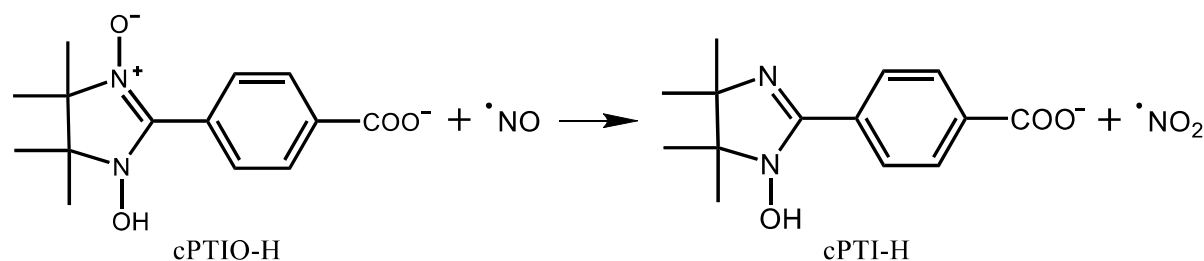
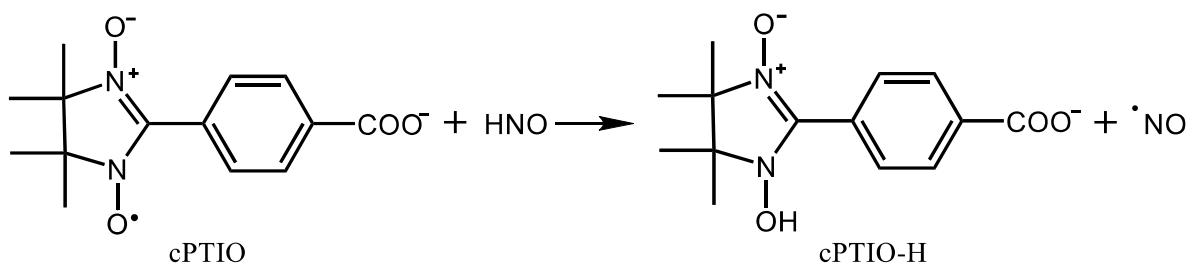
tais como a reatividade com outros radicais e com outros óxidos de nitrogênio diferentes do NO. Nesse sentido, o cPTIO mostrou-se capaz também de reagir com nitroxil (HNO) apresentando perfil espectroscópico distinto, permitindo assim diferenciá-lo da reação com NO. Essas diferenças estão apresentadas na Figura 52.

Figura 52 – Reações de cPTIO com NO e HNO e seus respectivos produtos.

REAÇÃO COM ÓXIDO NÍTRICO:



REAÇÃO COM NITROXIL:



Fonte: o autor.

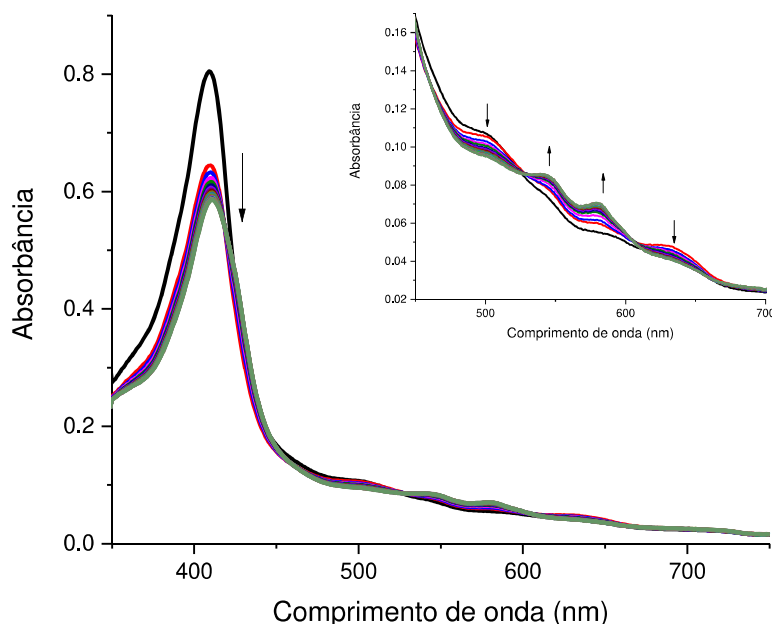
Observa-se que na reação com óxido nítrico o composto cPTIO, o qual apresenta uma banda de absorção característica em 560 nm, é convertido em cPTI, que não apresenta absorção em 560 nm, mas sim em 440 nm. Em contraste, o cPTIO reage com HNO em duas etapas gerando cPTI-H o qual não apresenta banda de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

4.9.1 Nitrosilo-complexos

Inicialmente, avaliou-se a capacidade de liberação de NO/HNO a partir dos

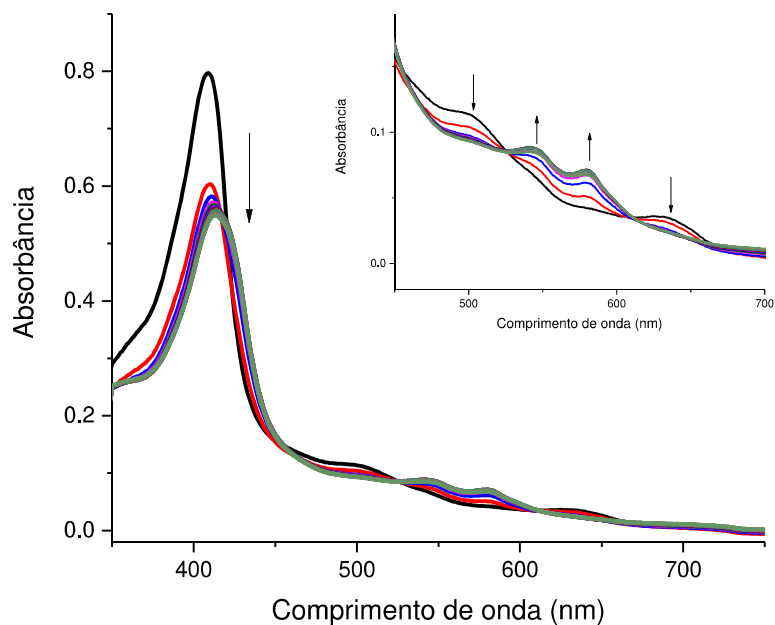
nitrosilo-complexos na presença do redutor biológico glutationa através do uso da mioglobina (Fe^{3+}) como sonda. Os espectros referentes as mudanças no perfil das bandas de absorção, para os complexos FOR0911A e FOR0911B são apresentados abaixo (figuras 53 e 54). Observa-se, para ambos os ensaios que os produtos da reação de redução causam diminuição e deslocamento da banda Soret (409 para 413 nm) acompanhado de mudanças nas bandas Q (diminuição das bandas em 502 e 635 nm e aumento das bandas em 545 e 580 nm). Tais alterações são sugestivas da redução do grupo prostético da hemeproteína, com provável coordenação de ligante ao centro metálico de Fe^{2+} . Ainda que não seja completamente compatível com a coordenação de NO (seria esperado deslocamento da banda Soret para 421 nm), pode-se supor que há a formação de outras espécies além de NO/HNO capazes de competir pelo centro de coordenação da protoporfirina. Essa proposta é discutida em detalhe em seções posteriores desse trabalho.

Figura 53 – Acompanhamento da reação do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{phen})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ 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

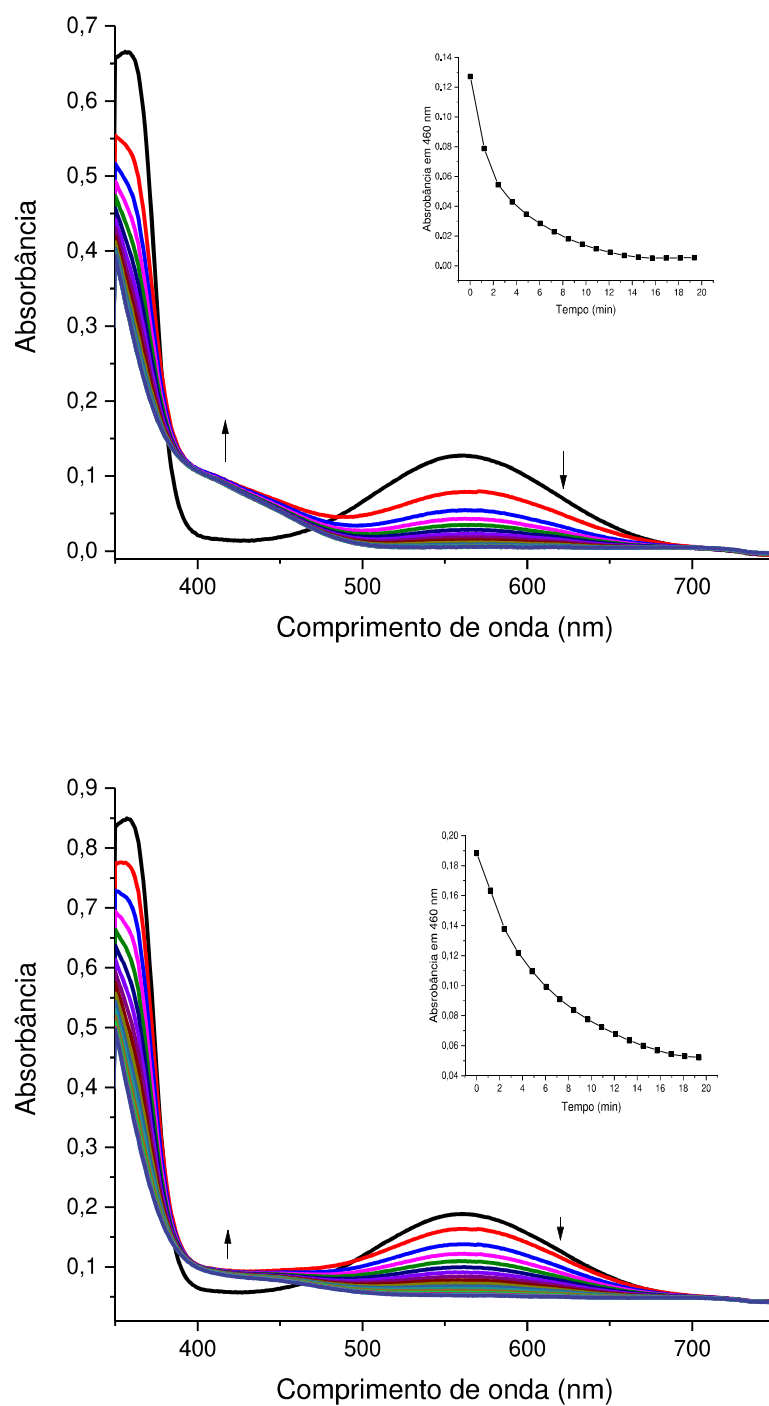
Figura 54 – Acompanhamento da reação do complexo *cis*-[Ru(phen)₂(ETU)(NO)]³⁺ com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 μmol L⁻¹; [GSH]= 1,2 mmol L⁻¹; [met-Mb]= 6,5 μmol L⁻¹.



Fonte: elaborado pelo autor

Visto que os primeiros ensaios não forneceram evidências conclusivas sobre formação de óxido nítrico, os complexos FOR0911A e FOR0911B também tiveram sua capacidade de liberação de óxidos de nitrogênio avaliada usando cPTIO e os espectros de absorção eletrônica são apresentados na figura 55. Como pode ser observado, a adição de complexo e GSH provoca rápidas modificações no perfil espectroscópico da sonda consistentes com a presença de óxido nítrico. Assim, pode-se inferir que a redução dos nitrosilo-complexos com esse tiol leva a labilização do grupo nitrosil da forma de NO⁰. Deve-se ressaltar, contudo, que a detecção dessa espécie como produto reacional não exclui uma possível formação concomitante de HNO, ainda que em menor proporção. Essa hipótese foi avaliada através do experimento utilizando o detector seletivo quimioluminescente de NO.

Figura 55 - Acompanhamento da reação dos complexos FOR0911A (superior) e FOR0911B (inferior) com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo a 560 nm. $[Ru] = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[GSH] = 280 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[cPTIO] = 160 \mu\text{mol L}^{-1}$

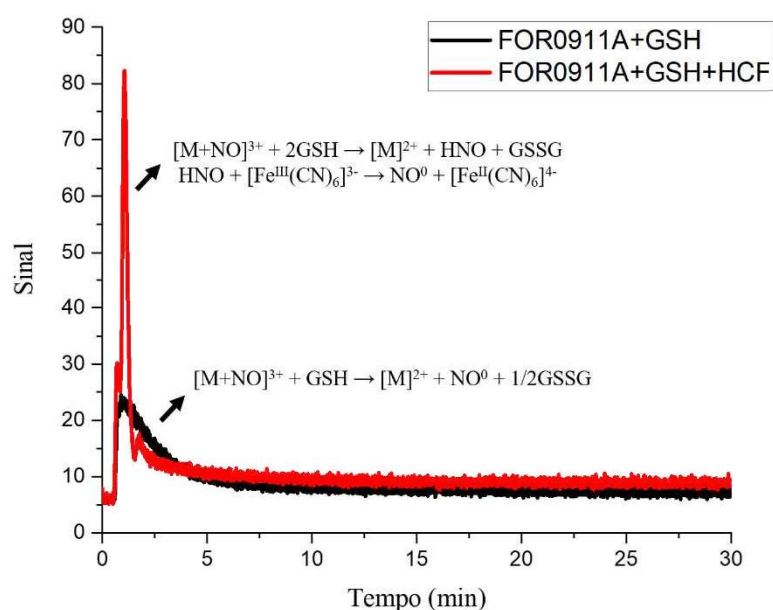


Fonte: elaborado pelo autor

As Figuras 56 e 57 apresentam os resultados referentes à detecção de óxido nítrico liberado durante a reação entre as espécies FOR0911A e FOR0911B com GSH, respectivamente. Verifica-se para ambos os complexos que, na presença do redutor, ocorre liberação de óxido nítrico, confirmando a tendência observada em trabalhos posteriores.

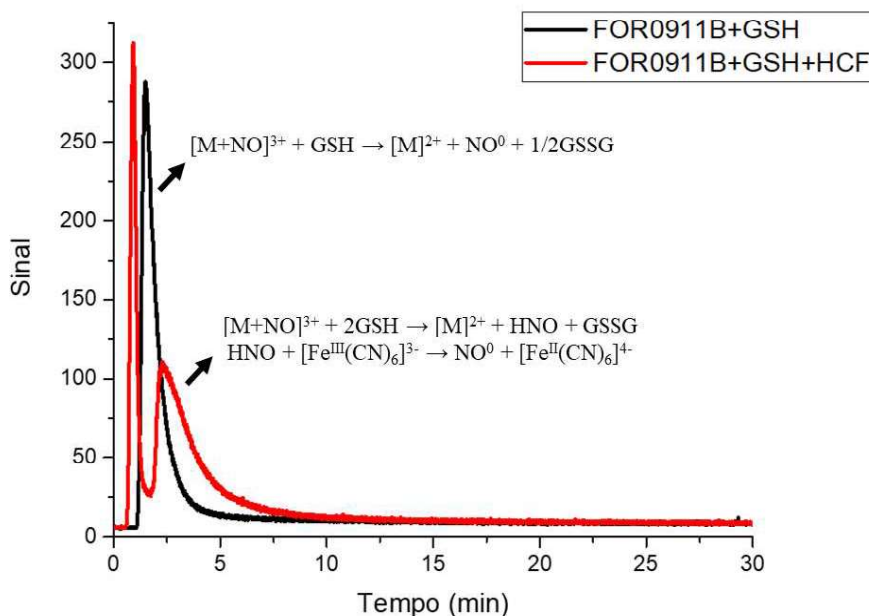
Contudo, visto que o sensor em questão é seletivo para NO, o mesmo não é capaz de detectar nitroxil caso esse esteja sendo formado. Assim, adicionou-se hexacianoferrato(III) em excesso a fim de oxidar HNO a óxido nítrico. Observa-se nas curvas referentes a adição do oxidante que a quantidade de NO detectada é consideravelmente maior, sugerindo que de fato há nitroxil formado no meio. Em conjunto, portanto, esses experimentos evidenciam a formação de NO e HNO a partir dos complexos na presença de GSH e revelando uma potencial aplicabilidade como pro-fármacos.

Figura 56 – Detecção de NO durante a reação entre 100 nmol de FOR0911A e 2 µmol de GSH em solução DPBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 na ausência (—) e na presença (—) de 100 µmol de hexacianoferrato(III).



Fonte: elaborado pelo autor

Figura 57 – Detecção de NO durante a reação entre 100 nmol de FOR0911B e 2 μmol de GSH em solução DPBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 na ausência (—) e na presença (—) de 100 μmol de hexacianoferrato(III).

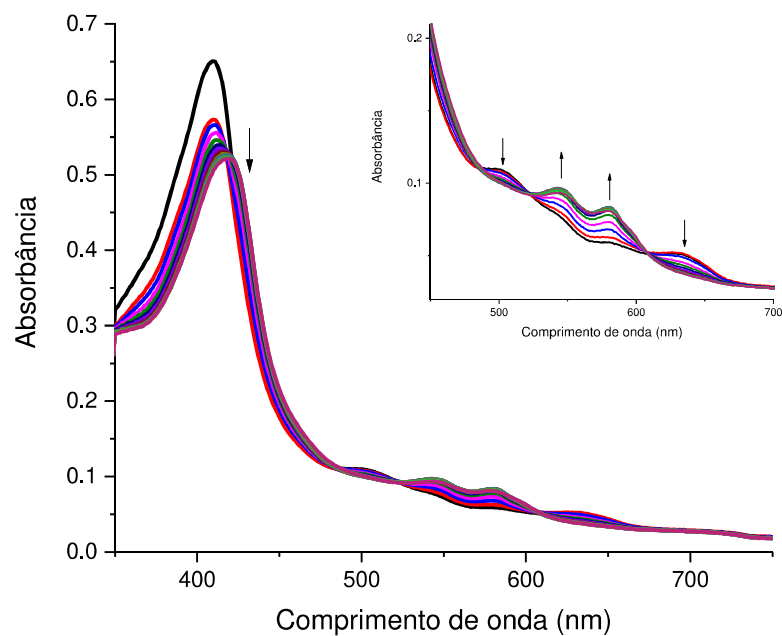


Fonte: elaborado pelo autor

4.9.2 Nitrosil-sulfito

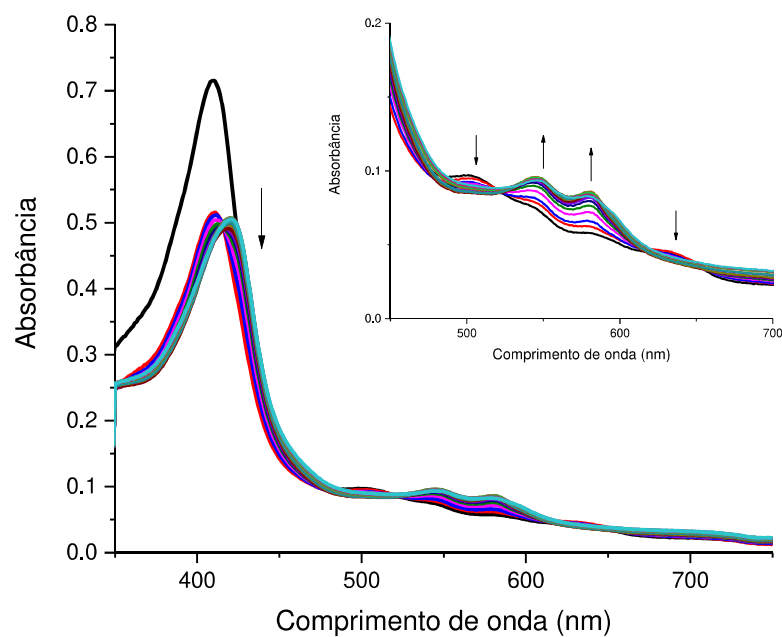
De forma análoga aos experimentos realizados com os complexos FOR0911A e FOR0911B, ensaios de detecção de NO e HNO foram conduzidos para os compostos NS011A e NS211A. Novamente, a primeira sonda utilizada foi a hemoproteína mioglobina (Fe³⁺), sendo observado (figuras 58 e 59), através do acompanhamento dos espectros de absorção na região do UV/vis, um perfil reacional mais compatível com a nitrosilação redutiva da proteína. Tal conclusão se deve ao deslocamento da banda Soret para 420 nm, acompanhado das modificações esperadas para as bandas Q. Assim, tem-se uma evidência mais coerente para a liberação de NO ou HNO pela reação desses complexos na presença de GSH.

Figura 58 – Acompanhamento da reação do complexo NS011A com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. $[Ru] = 120 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[GSH] = 1,2 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{met-Mb}] = 6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: elaborado pelo autor

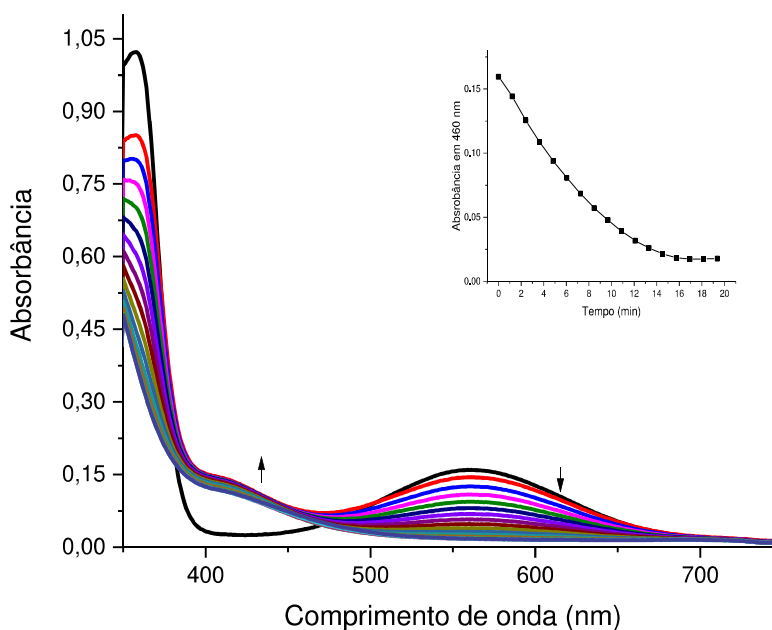
Figura 59 – Acompanhamento da reação do complexo NS211A com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. $[Ru] = 120 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[GSH] = 1,2 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{met-Mb}] = 6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: elaborado pelo autor

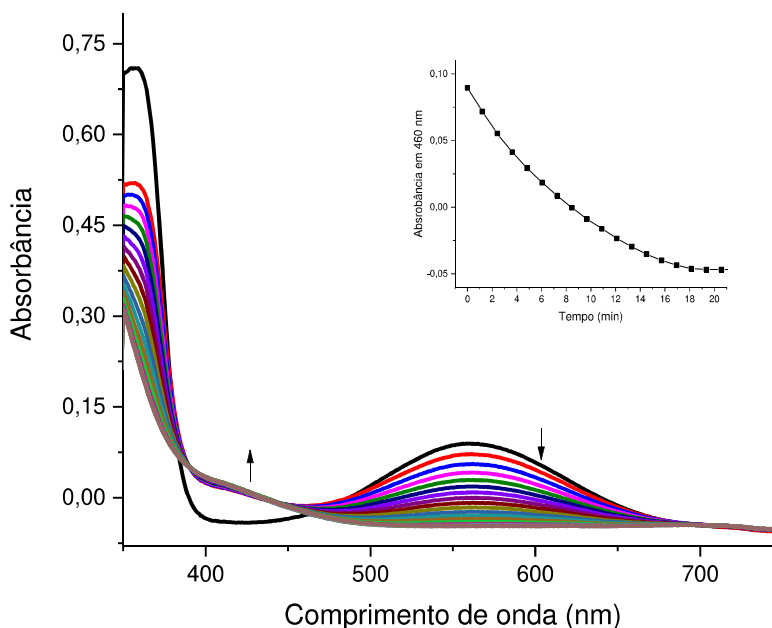
Nas figuras 60 e 61 abaixo, observa-se que a adição de L-glutathione provoca mudanças muito mais sutis no perfil espectral do cPTIO, resultando em alterações que, ao final de um período reacional prolongado, sugerem a obtenção de cPTI-H como produto (supressão das bandas em 440 e 560 nm). Isso seria indicativo, portanto, da reação com HNO obtido pela redução do complexo pelo GSH. Novamente, o ensaio com essa sonda não permite distinguir com acurácia se há liberação isoladamente ou majoritária de nitroxil ou óxido nítrico. Salienta-se ainda que o decaimento das bandas de absorção da sonda ocorre de forma gradual e bem definida, podendo-se supor que a reação de redução dos complexos de nitrosil-sulfito ocorre de maneira análoga. Contudo, estudos mecanísticos mais detalhados se fazem necessários para compreender plenamente as etapas envolvidas nesse fenômeno.

Figura 60 - Acompanhamento da reação dos complexos NS011A com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo a 560 nm. [Ru]= 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$; [GSH]= 280 $\mu\text{mol L}^{-1}$; [cPTIO]= 160 $\mu\text{mol L}^{-1}$



Fonte: elaborado pelo autor

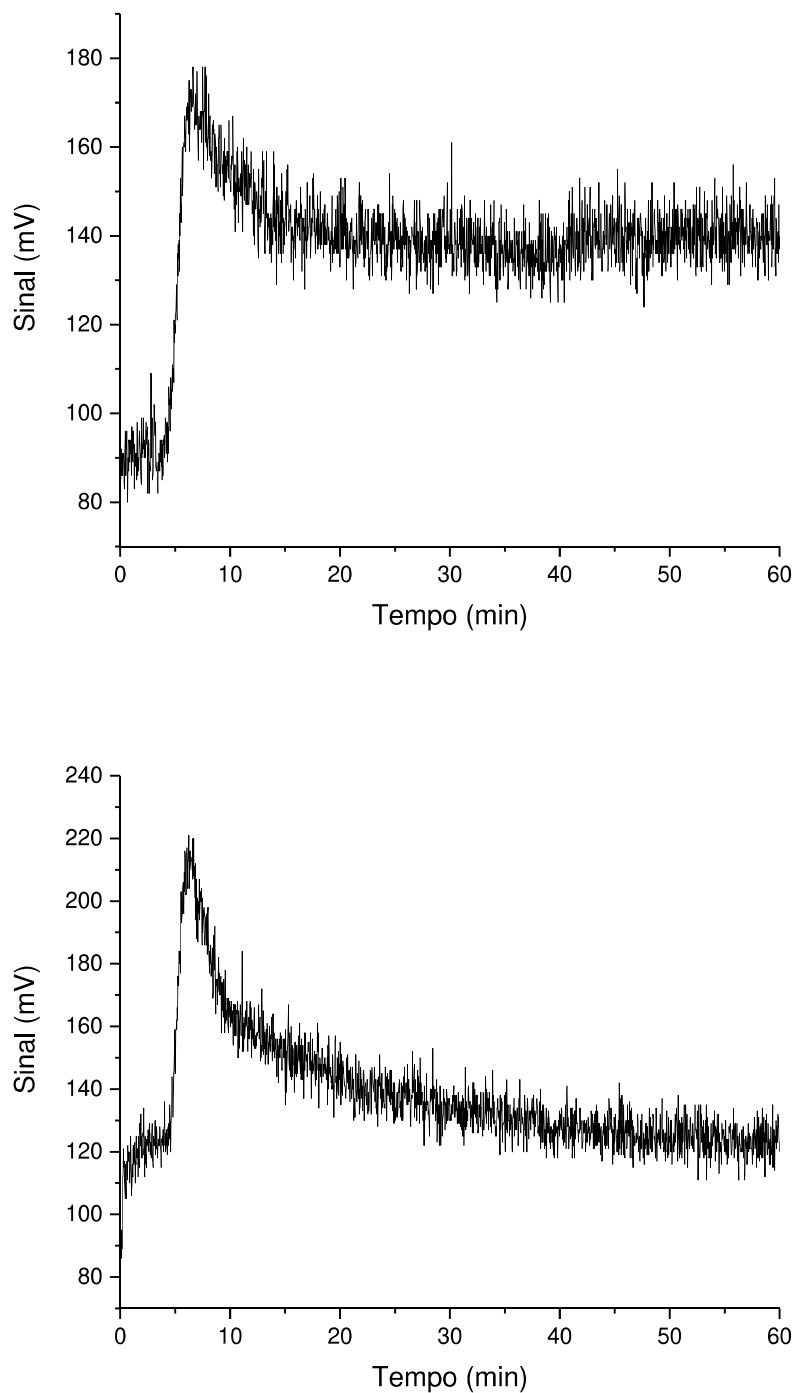
Figura 61 - Acompanhamento da reação dos complexos NS211A com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo a 560 nm. $[Ru] = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[GSH] = 280 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[cPTIO] = 160 \mu\text{mol L}^{-1}$



Fonte: elaborado pelo autor

Com o intuito de confirmar se de fato ocorre liberação lenta de NO/HNO a partir da reação entre L-glutathione e os complexos de nitrosil-sulfito, foram realizados ensaios de detecção de óxido nítrico por meio do detector quimioluminescente de NO. Conforme pode ser observado pelos gráficos abaixo (Figura 62), verifica-se que há resposta do detector para as reações realizadas, indicando a doação de óxido nítrico a partir dos complexos. Contudo, vê-se que após o início da liberação, há um rápido aumento de sinal seguido de um decréscimo lento, sugerindo um perfil de doação de NO mais controlado e menos abrupto que aquele observado para os nitrosilo complexos, conforme observado na seção anterior. Essa capacidade pode ser especialmente interessante para aplicações onde uma liberação sustentada de óxido nítrico seja desejável para a manutenção de um efeito terapêutico, por exemplo. Estudos cinéticos são necessários para a devida validação dessa proposta.

Figura 62 – Detecção de NO durante a reação entre 100 nmol de NS011A (superior) ou NS211A (inferior) e 2 μmol de GSH em solução DPBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4.



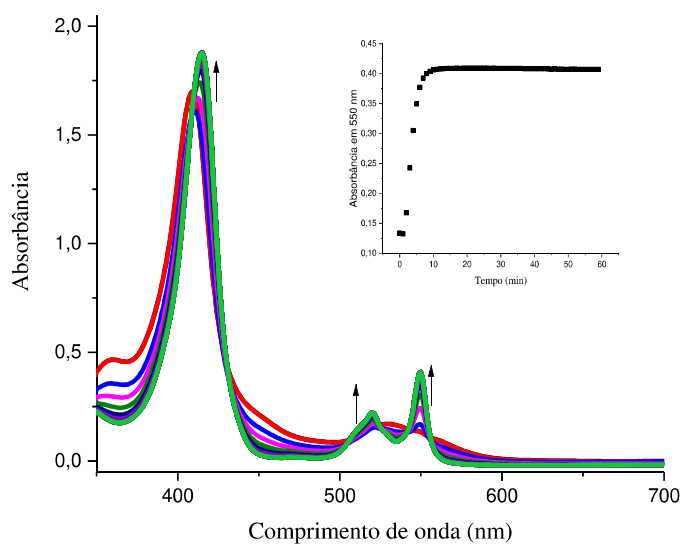
Fonte: elaborado pelo autor

4.10 Reatividade com radicais de interesse biológico

Radicais livres são espécies químicas altamente reativas, uma vez que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados em sua estrutura, e que são capazes de promover alterações e danos a macromoléculas biológicas, tal como o DNA, podendo levar ao surgimento e agravamento de patologias. O superóxido, o radical hidroxila, o peróxido nitrito e o próprio óxido nítrico são exemplos de radicais que podem estar associados a processos deletérios no organismo, mas também fisiológicos, dependendo da sua concentração, bem como distribuição espacial e temporal. Em condições normais nas células e tecidos, essas espécies estão sujeitas a um controle próprio onde elas coexistem com substâncias ditas “antioxidantes”, capazes de suprimir o excesso de radicais existentes no meio biológico. É do desequilíbrio entre espécies pró e antioxidantes que surge uma condição denominada Estresse Oxidativo. Essa condição é especialmente relevante, visto que está diretamente relacionada às complicações mais graves em casos de infarto/isquemia, por exemplo. Isto ocorre, pois as espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas na falta de circulação adequada provocam danos teciduais antes e após a reperusão.¹⁰⁸ Uma vez que foi identificado que nitrosilo complexos podem apresentar potencial farmacológico como antioxidantes,^{86, 114} é de grande interesse o estudo da reatividade desse tipo de composto com espécies radicalares.

No intuito de avaliar a reatividade dos complexos com radicais de interesse biológico, utilizou-se como modelo para esse fim o acompanhamento espectroscópico da redução do citocromo c e o sistema xantina oxidase/hipoxantina para a geração do radical superóxido. A figura 63 abaixo apresenta os espectros, bem como a curva cinética para esse processo. Através desse modelo, a atividade capturadora de radicais (*scavenging*) é observada pelo bloqueio da reação redutiva da proteína, expresso pela supressão da banda de absorção em 550 nm.

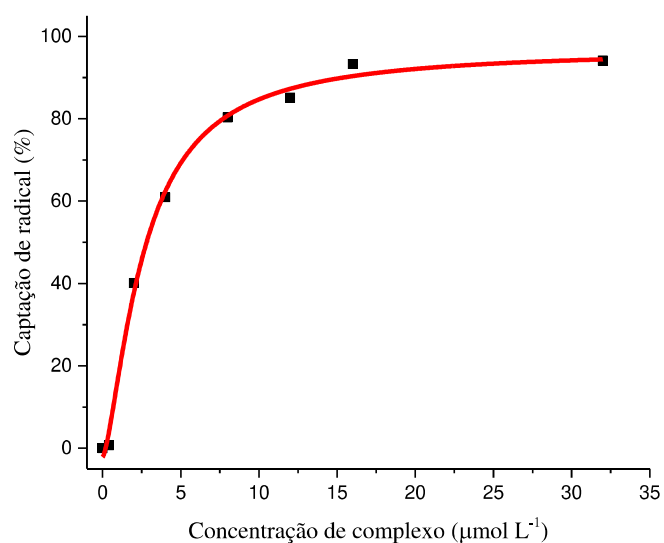
Figura 63 – Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para a reação entre citocromo c ($13 \mu\text{mol L}^{-1}$) e a mistura hipoxantina/xantina oxidase em PBS pH 7,4 acompanhada por 60 minutos. *Inset*: acompanhamento cinético da absorção em 550 nm.



Fonte: elaborado pelo autor

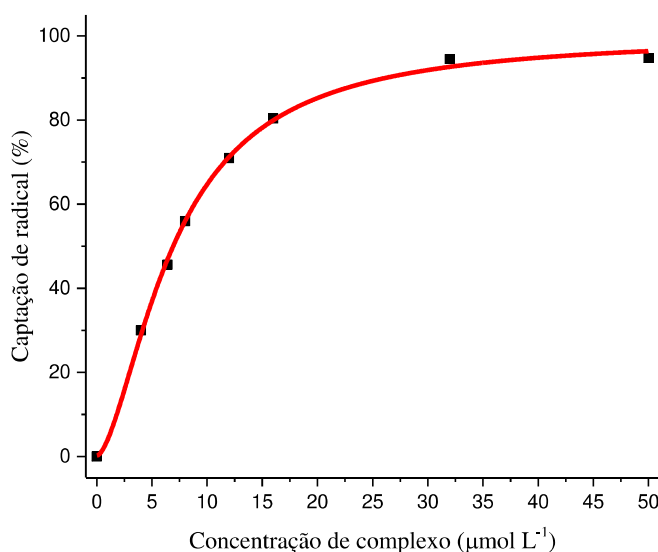
Os resultados dos ensaios de reatividade com radical superóxido para os nitrosilo-complexos FOR0911A e FOR0911B são apresentados nas figuras 64 e 65 abaixo.

Figura 64 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo FOR0911A com ânion superóxido.



Fonte: elaborado pelo autor.

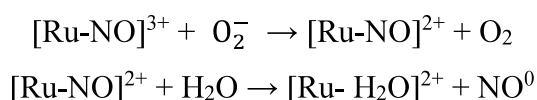
Figura 65 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo FOR0911B com ânion superóxido.



Fonte: elaborado pelo autor.

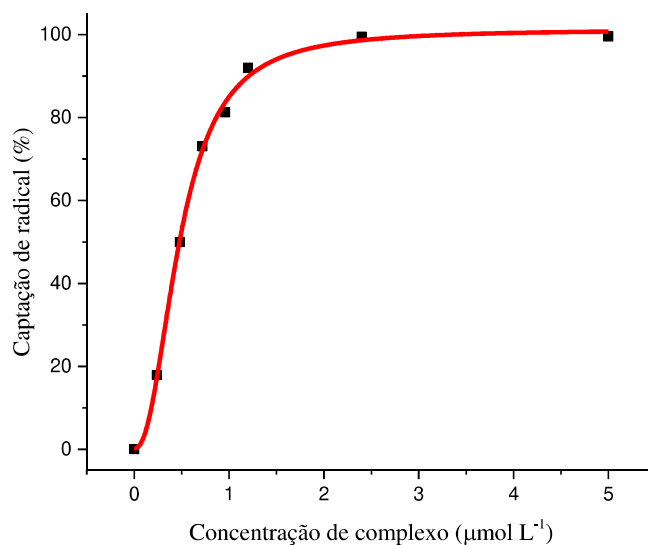
Observa-se uma relação direta de proporcionalidade entre as concentrações de nitrosilo-complexo e atividade antioxidante, evidenciando a capacidade dos compostos testados em capturar o radical em estudo. A partir desses resultados foi determinada a concentração necessária para se ter 50% de inibição e calculou-se a constante de velocidade da reação, através da equação 4. Os valores de IC₅₀ encontrados foram de 2,6 e 6,9 μmol L⁻¹, enquanto as constantes foram da ordem de 6,59 x 10⁶ e 2,49 x 10⁶ 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 ($\approx 10^9$ L mol⁻¹ s⁻¹),¹¹⁵ verificou-se que há coerência com resultados já relatados em trabalhos de outros grupos.⁸⁶

Considerando os dados encontrados nesse estudo e os resultados já descritos para sistema similares,⁸⁶ propõe-se que a reação entre os nitrosilo complexos e o radical O₂⁻ segue as equações descritas abaixo.



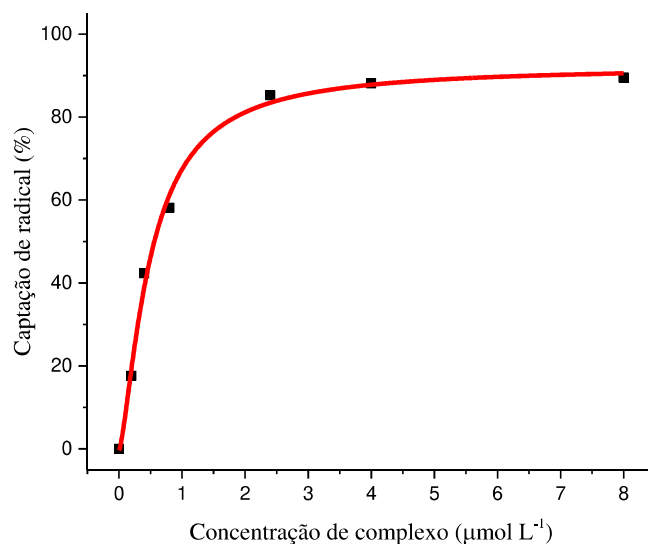
De forma análoga, os mesmos experimentos foram realizados para os complexos do tipo nitrosil-sulfito. Os resultados para esses ensaios são apresentados nas figuras 66 e 67 abaixo.

Figura 66 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo NS011A com ânion superóxido.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 67 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo NS211A com ânion superóxido.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tal como foi verificado para os nitrosilo-complexos, observou-se que concentrações crescentes dos compostos levaram a maior captura do radical. Entretanto, nota-se que os valores de IC_{50} obtidos para NS011A e NS211A são, respectivamente, da ordem de 0,48 e 0,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$, evidenciando uma capacidade antioxidante muito superior àquela observada para espécies do tipo $[\text{Ru-NO}]^{3+}$. Acredita-se que esse notável potencial de captura

de radicais deve-se a presença do grupo sulfito, o qual é um íon de reconhecida capacidade antioxidante, recorrentemente utilizado como conservante em bebidas e alimentos.^{116, 117}

Assim, determinou-se também as constantes aparentes de reação com valores da ordem de $3,6 \times 10^7$ e $3,5 \times 10^7 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente.

Valores de IC_{50} e constante aparente de reação também foram determinados para os cloro-complexos precursores, não sendo observado efeito relevante para essas espécies nesse modelo em estudo. Assim, os dados encontrados para esse conjunto de experimentos estão resumidos na tabela 13 abaixo. Comparando-se os resultados obtidos com aqueles reportados para outros nitrosilo-complexos de rutênio, fica evidente que os complexos sintetizados nesse trabalho apresentaram ação como capturadores de radicais sensivelmente maior. Não somente isso, mas o efeito significativo dos compostos do tipo nitrosil-sulfito também se apresenta como um achado promissor para o planejamento de novas espécies com potencial farmacológico no tratamento de doenças associadas ao estresse oxidativo, incluindo DCVs.

Tabela 13 – Valores de EC_{50} , constante de reação aparente (k) e efeito máximo para as reações entre os complexos sintetizados e o ânion superóxido

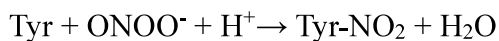
Complexo	EC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$k \times 10^6$ ($\text{L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	Efeito Máximo (%)	Ref.
FOR0211A	>50	N.D.	N.D.	-
FOR0211B	>50	N.D.	N.D.	-
FOR0611A	>50	N.D.	N.D.	-
FOR0911A	2,62	6,59	94,10	-
FOR0911B	6,94	2,49	96,70	-
NS011A	0,48	36,0	99,16	-
NS211B	0,50	34,6	90,35	-
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (NO)(2MIM)] ³⁺	10,8	1,6	-	90
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (NO)(ETU)] ³⁺	48,2	3,6	-	90
<i>trans</i> -[Ru(NH ₃) ₄ (NO)P(OEt ₃)] ³⁺	-	5,8	-	86
<i>trans</i> -[Ru(NH ₃) ₄ (NO)IMN] ³⁺	-	0,13	-	86

Legenda: 2MIM=2-metilimidazol; ETU=etilenotriuréia; P(OEt₃)=trietilfosfito; IMN=imidazol; N.D.=não determinado.

Fonte: elaborado pelo autor.

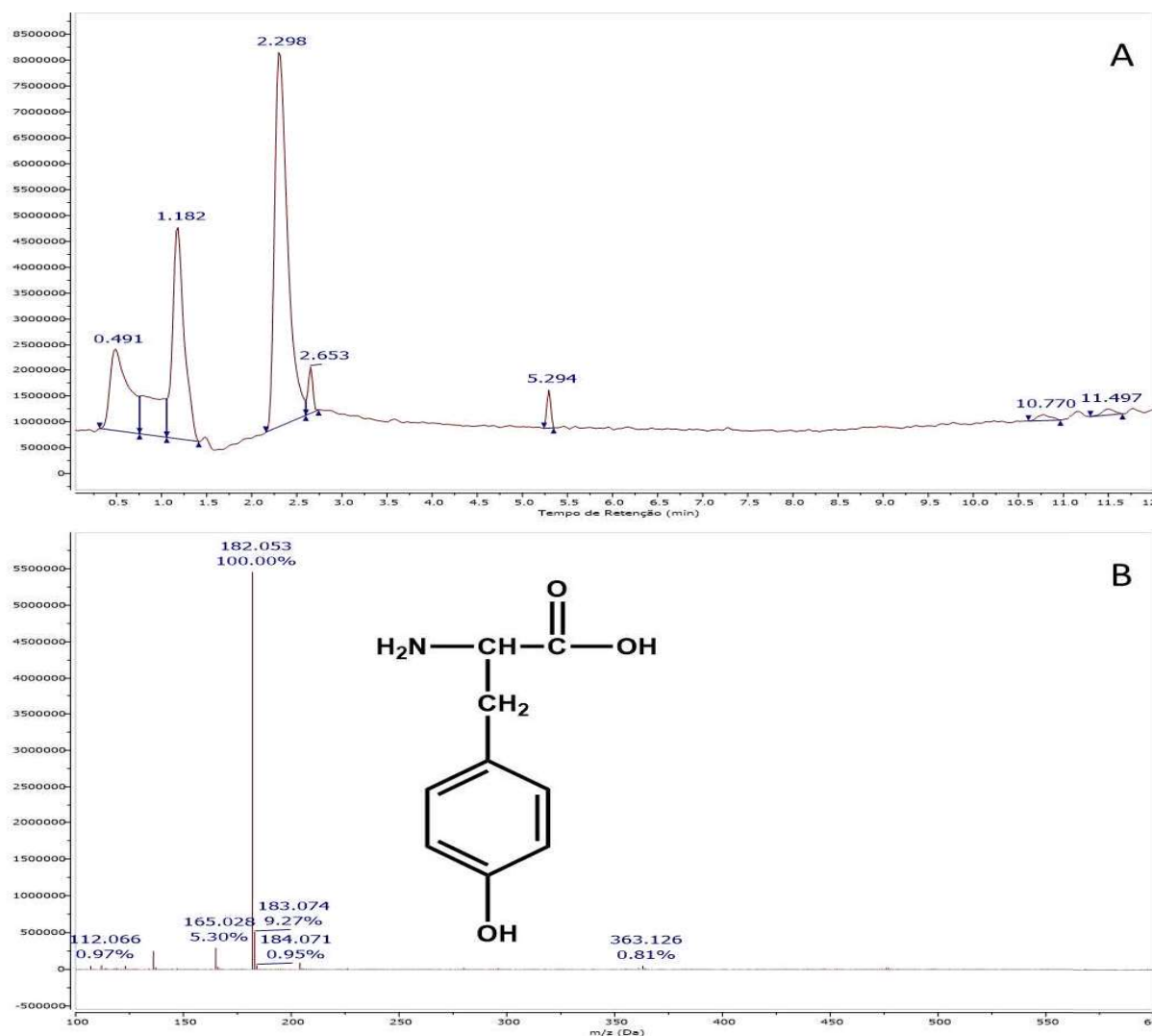
É importante ainda considerar que, uma vez que os complexos em estudo podem funcionar como fonte de óxido nítrico, estas espécies poderiam favorecer a formação de peroxinitrito quando na presença de superóxido. Sabe-se que uma fonte comum de peroxinitrito em meio biológico é a reação entre NO^0 e o ânion superóxido, sendo o radical resultante muito mais reativo e danoso para as estruturas celulares.¹¹⁸ Considerando isso, avaliou-se a formação

de ONOO^- utilizando o aminoácido tirosina como sonda, o qual reage com o peroxinitrito, formando 3-nitrotirosina conforme a reação abaixo:¹¹⁹



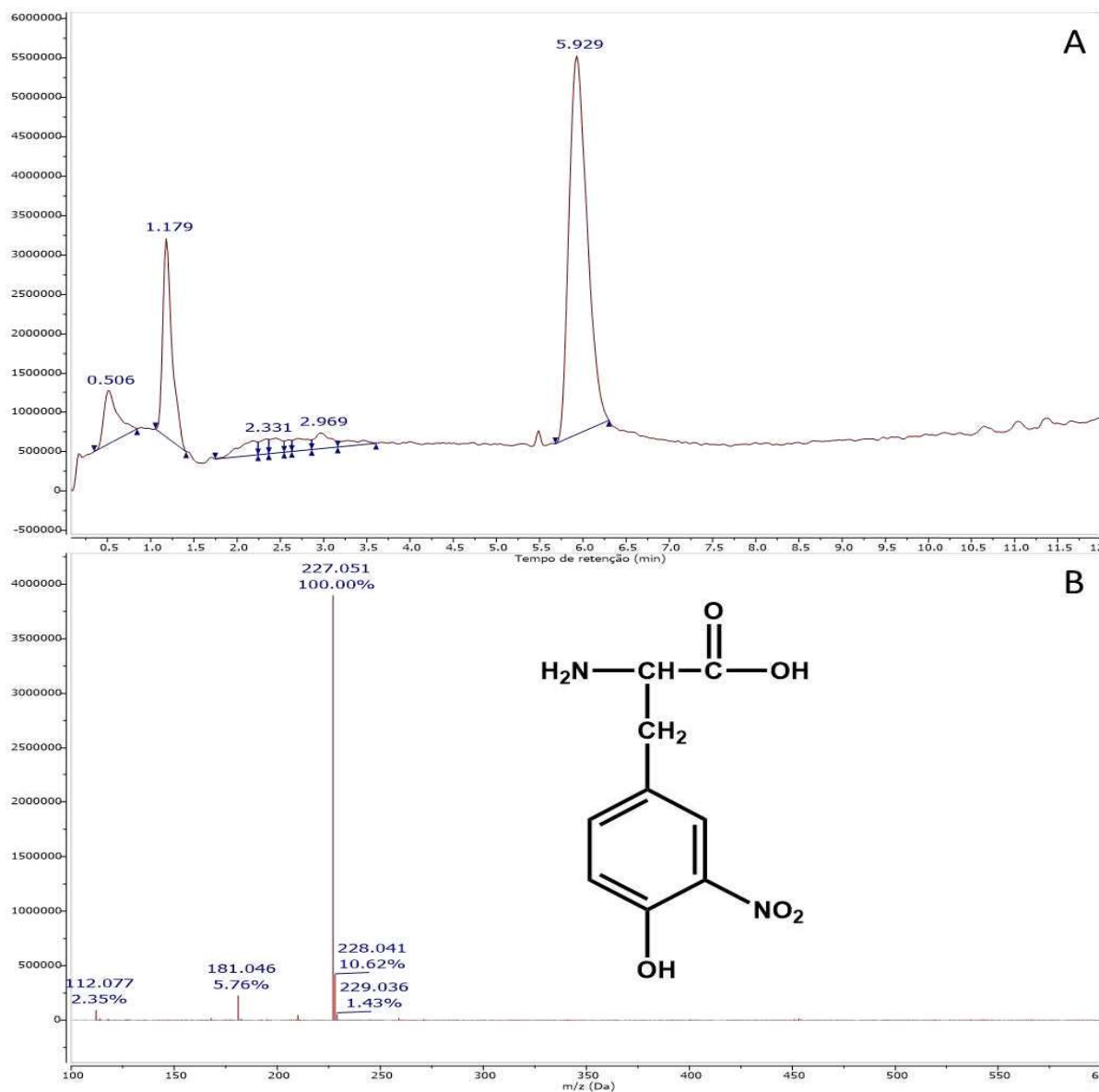
As reações envolvendo os complexos doadores de óxido nítrico na presença de superóxido e da sonda tirosina foram acompanhadas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas (CLAE-EM). Os cromatogramas e espectros de massas para os padrões de tirosina e 3-nitrotirosina são apresentados nas figuras 68 e 69 abaixo:

Figura 68 – A) Cromatograma líquido obtido para a análise de uma solução padrão de tirosina ($5 \mu\text{mol L}^{-1}$); B) Espectro de massas obtido para o pico em 2,298 min do cromatograma A, coerente com a razão massa/carga do fragmento $[\text{Tyr} + \text{H}]^+$.



Fonte: elaborado pelo autor

Figura 69 – A) Cromatograma líquido obtido para a análise de uma solução padrão de 3-nitrotirosina ($5 \mu\text{mol L}^{-1}$); B) Espectro de massas obtido para o pico em 5,929 min do cromatograma A, coerente com a razão massa/carga do fragmento $[\text{Tyr-NO}_2 + \text{H}]^+$.

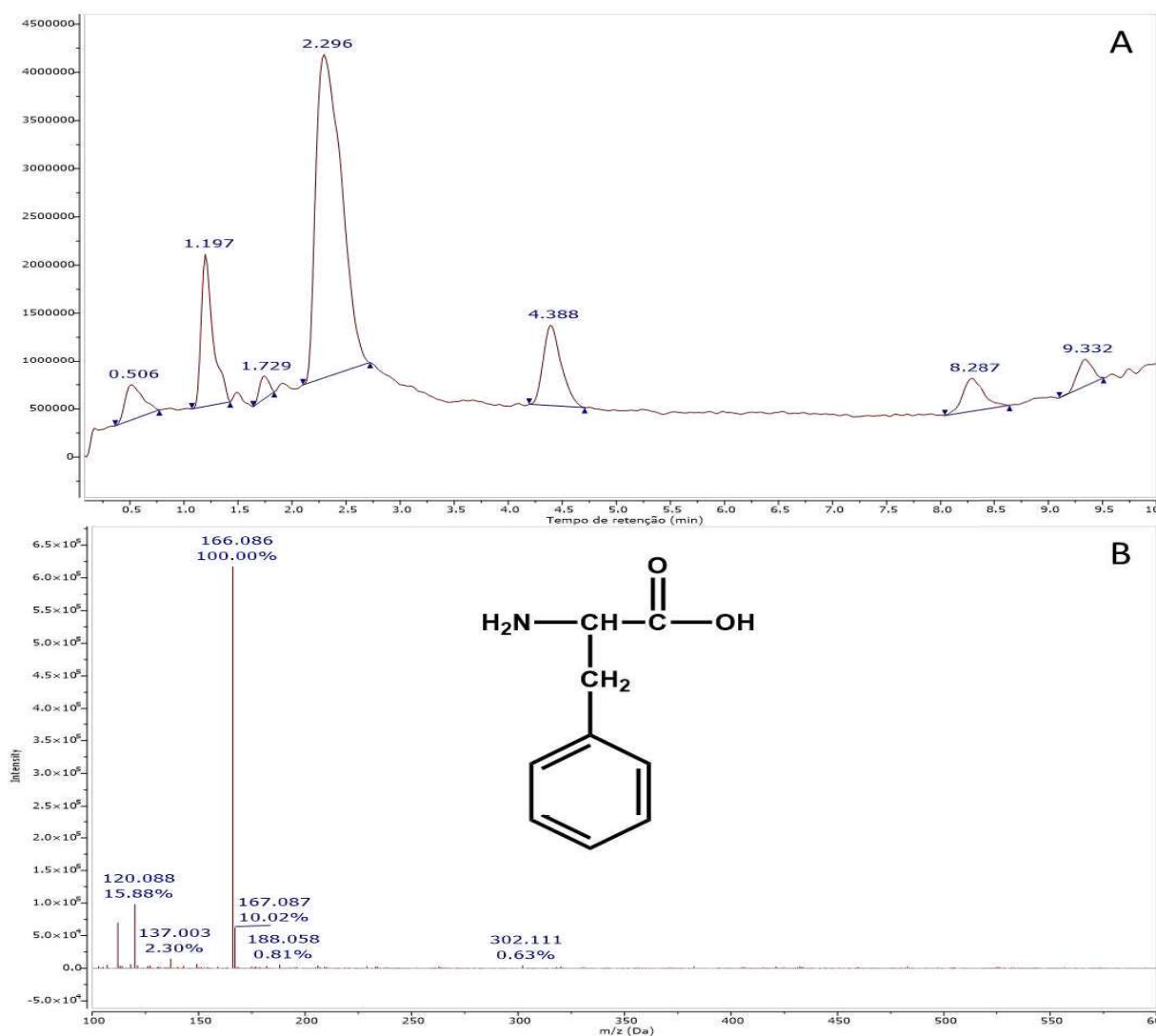


Fonte: elaborado pelo autor

Cromatogramas foram obtidos para as reações com todos os complexos liberadores de óxido nítrico, mas em nenhuma das análises foi encontrada evidência da formação de 3-nitrotirosina. A figura 70, referente a reação para o complexo FOR0911A, exemplifica os espectros obtidos. Esses resultados sugerem, portanto, que a reação entre os nitrosilo- e nitrosil-sulfito complexos com o ânion superóxido não levaria a formação de peroxinitrito, nas condições avaliadas. Contudo, é pertinente notar que o surgimento de um pico no cromatograma em 4,388 min, com padrão de fragmentação compatível com o aminoácido fenilalanina (m/z

teórico = 166,087 $[\text{Phe} + \text{H}]^+$, sugere a possibilidade de ocorrência de reações redox centradas em complexos de rutênio ainda não devidamente exploradas.

Figura 70 – A) Cromatograma líquido obtido para a análise da mistura reacional contendo o complexo FOR0911A, hipoxantina, xantina oxidase e tirosina; B) Espectro de massas obtido para o pico em 4,388 min do cromatograma A, coerente com a razão massa/carga do fragmento $[\text{Phe} + \text{H}]^+$.



Fonte: elaborado pelo autor.

4.11 Coeficiente de partição n-octanol/água (LogP)

Tão importante quanto a capacidade de produzir efeito farmacológico independentemente da via de ação, o estudo das propriedades farmacocinéticas é uma fase de grande relevância durante o desenvolvimento de compostos com potencial terapêutico.

Sabendo-se que as etapas de absorção e distribuição de xenobióticos são críticas quando se deseja efeito farmacológico, e essas referidas etapas são fortemente influenciadas pelo grau de interação desses compostos de interesse com as membranas biológicas, é fundamental dispor de modelos experimentais que permitam medir e avaliar tais propriedades. A determinação do coeficiente de partição n-octanol/água, usualmente indicada como logP, mostra-se como uma proposta viável nesse sentido, tanto pela sua simplicidade de execução, como por fornecer informações relevantes no que diz respeito a lipofilicidade das espécies avaliadas.

Diante disso, determinou-se os valores de coeficiente de partição para a série de compostos sintetizados e os resultados são apresentados na Tabela 14. Observa-se que os complexos, em sua maioria, são levemente hidrofílicos, com valores de logP negativos e somente dois deles apresentaram valores positivos (lipofílicos), ainda que pouco pronunciados. Esses dados sugerem que, ainda que todas essas espécies sejam iônicas e apresentam átomos que possam participar em interações do tipo ligação de hidrogênio, suas polaridades são contrabalanceadas pelo lipofilicidade dos grupos aromáticos dos ligantes presentes na esfera de coordenação. Apesar das Regras de Lipinski determinarem valores de logP ideais na faixa entre 1 e 3 para compostos farmacologicamente ativos, é extensa a lista de exemplos de fármacos em uso que violam essas diretrizes. Assim, tais resultados não são determinantes do insucesso da proposta aqui apresentada, sendo necessária uma avaliação mais abrangente e envolvendo outros parâmetros de interesse farmacocinético.

Tabela 14 – Parâmetros relacionados a hidrofobicidade para os compostos sintetizados: número de átomos com potencial doador e aceptor para formação de ligação de hidrogênio e valores de logP.

Composto	Átomos doadores (Lig. de H)	Átomos aceptores (Lig. de H)	LogP
FOR0211A	1	6	-0,307
FOR0611A	1	9	-0,545
FOR0911A	1	8	0,249
FOR0211B	2	6	0,013
FOR0911B	2	8	-0,084
NS011A	1	11	-0,153
NS211A	1	11	-0,429

Fonte: elaborado pelo autor

4.12 Simulações de Docking molecular

Simulações computacionais envolvendo a análise de alvos de ancoragem (*docking*) se baseiam na determinação do posicionamento, conformação e energia de ligação relacionados à interação entre uma espécie química pequena (ligante) e uma macromolécula (receptor).¹²⁰ Esse tipo de estudo tem sido bastante utilizado para orientar o desenvolvimento racional de novas moléculas biologicamente ativas, auxiliar na determinação de alvos terapêuticos de fármacos cujo mecanismo de ação não é plenamente conhecido ou mesmo fornecer informações quanto a aspectos dos possíveis efeitos tóxicos.¹²¹⁻¹²³ Em química de coordenação, o *docking* molecular apresenta-se como uma estratégia valiosa para guiar a síntese de novos compostos com ação farmacológica específica sobre alvos constituídos de macromoléculas.¹²⁴⁻¹²⁷ Pode também ser utilizada para a obtenção de informações a respeito de características farmacocinéticas, uma vez que proteínas de transporte participam ativamente dos processos de absorção, distribuição e excreção de xenobióticos.

Nesse sentido, selecionou-se quatro alvos de interesse a fim de serem submetidos a simulações com os complexos, sendo dois deles proteicos e associados a transporte de fármacos (apo-transferrina e albumina sérica humana) e duas sequências de nucleotídeos (DNA nas conformações dupla-hélice e G-quadruplex). Assim, foram determinadas as posições e conformações mais estáveis, bem como as energias envolvidas na estabilização dessas estruturas. Para os alvos proteicos, foi possível também quais grupos estão envolvidos nas interações de maior importância para a ancoragem. Os valores de energia livre estão elencados na Tabela 15, abaixo. Observando-se os resultados obtidos, percebe-se que não há grandes discrepâncias entre os valores de energia livre, sugerindo que todos os compostos interagem de forma similar com seus respectivos alvos.

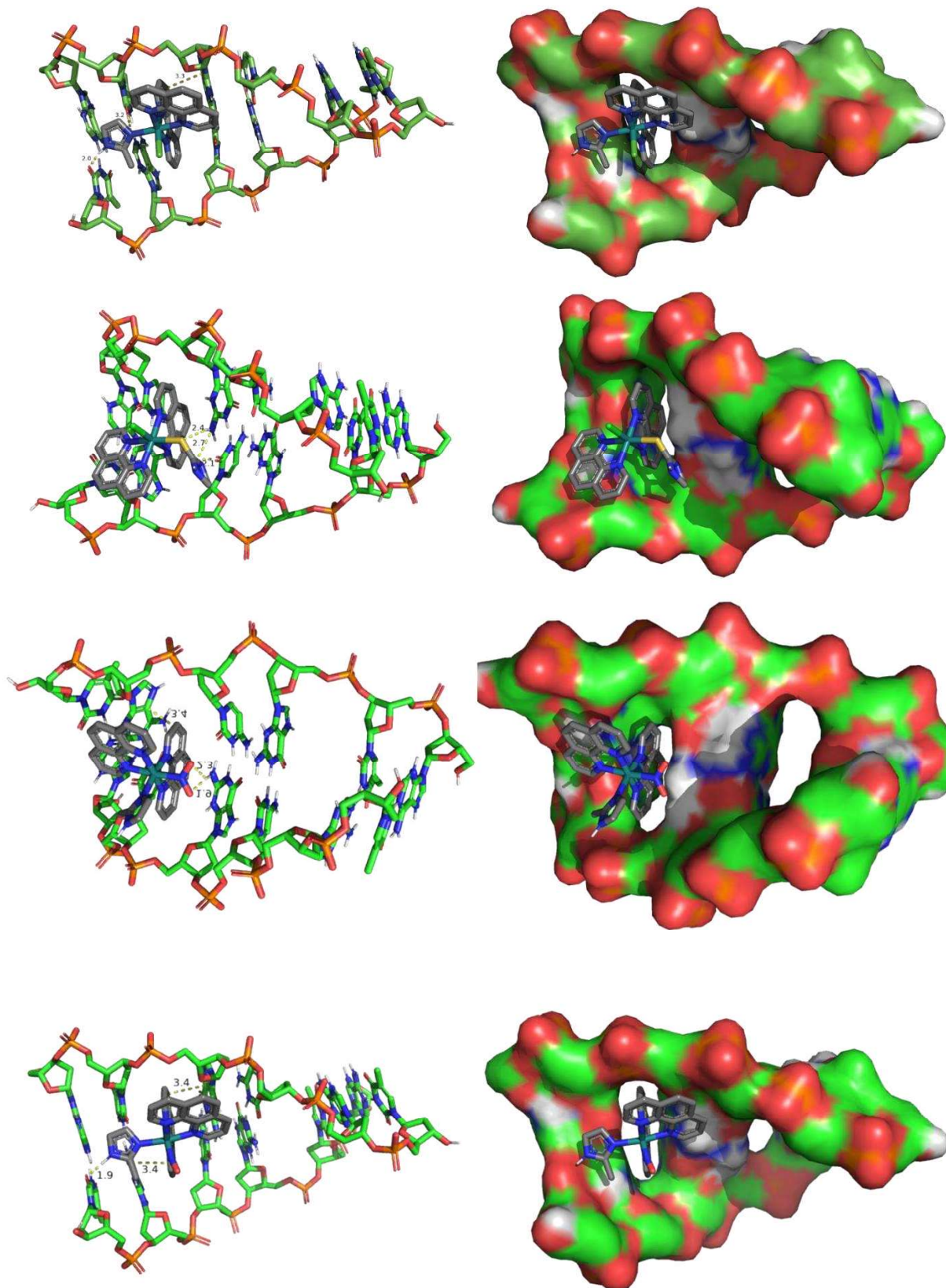
Tabela 15 – Valores de energia livre, ΔG (kcal mol⁻¹), e lista de aminoácidos envolvidos nas interações entre os complexos e receptores, determinados por *docking* molecular

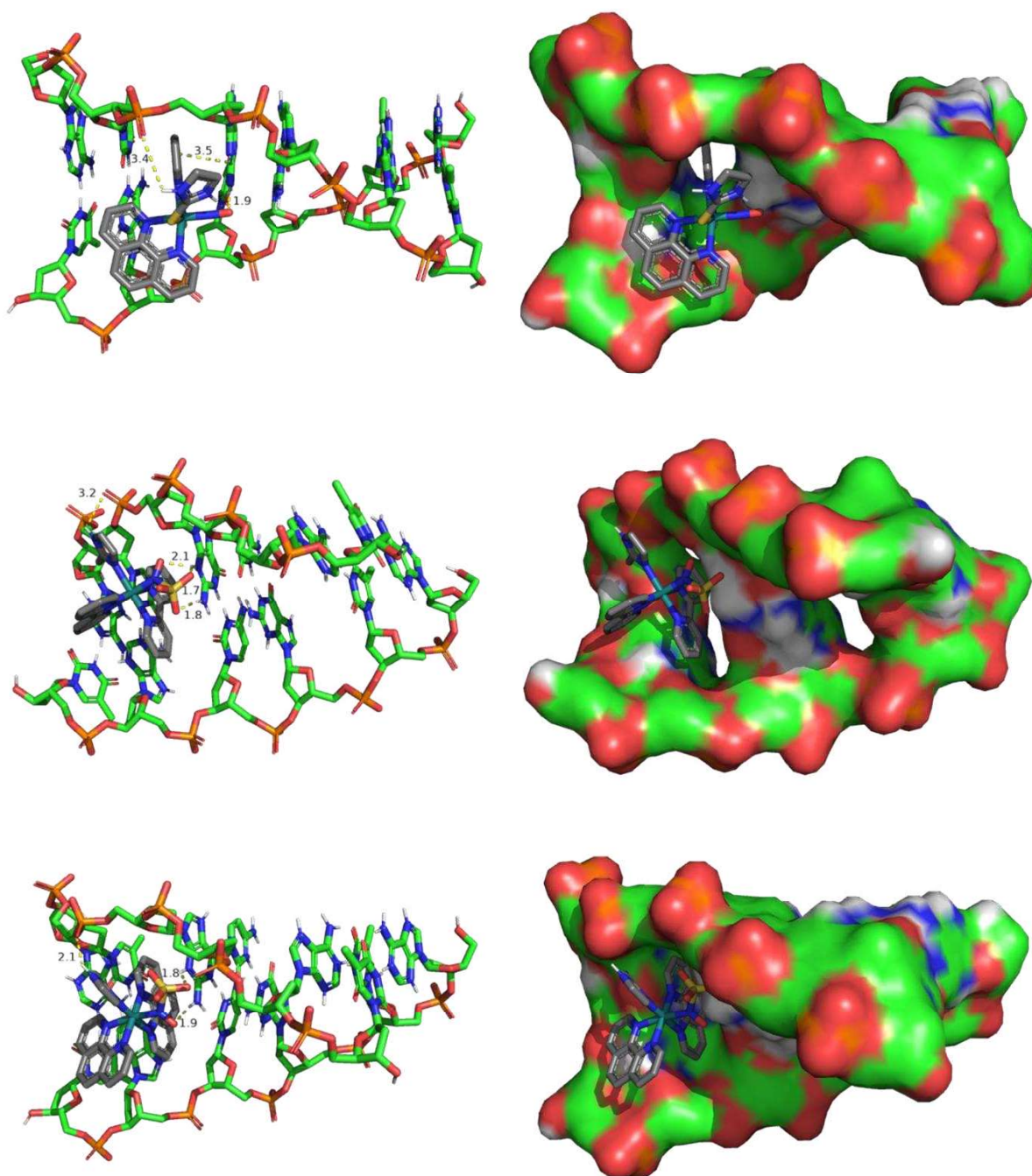
Complexos	Receptores					
	bDNA	G4-DNA	HSA		aTf	
	(ΔG)	(ΔG)	ΔG	Interações	ΔG	Interações
FOR0211A	-9,31	-9,47	-7,54	LYS274 GLU297	-8,53	HIS242 GLN245 GLU318
FOR0211B	-8,96	-9,77	-7,72	LYS274 GLU294 GLU297	-8,31	ASP240 GLY403
FOR0611A	-8,88	-8,61	-9,33	LYS195 ARG218 GLU292	-8,10	HIS242 GLN245 GLU318
FOR0911A	-8,66	-8,88	-7,49	LYS195 ARG222 VAL293	-8,45	HIS242 GLN245 GLU318
FOR0911B	-9,11	-9,65	-7,91	LYS195 VAL293	-8,54	ASP240 HIS242 GLU318
NS011A	-7,53	-7,41	-8,98	LYS195 ARG222 VAL293	-8,66	LYS340 ARG590 ASP592 LYS593
NS211B	-9,20	-8,05	-9,34	LYS195 ARG218 ARG222 CYS448	-8,81	LYS340 LYS343 LYS593

Fonte: elaborado pelo autor

Para as simulações envolvendo bDNA (Figura 71), percebe-se que todos os complexos são capazes de se inserir parcialmente entre os sulcos das dupla-hélices de forma análoga a um comportamento de intercalação. Um dos ligantes fenantrolínicos, ou bipyridínico no caso do composto NS011A, encaixa-se entre dois pares de bases em uma configuração característica para o favorecimento de interações do tipo empilhamento π - π (*pi stacking*). Ao mesmo tempo, os ligantes monodentados interagem com as cadeias de fosfato ou ainda com outras bases nitrogenadas, garantindo estabilização adicional. Considerando essa série de compostos, observou-se maior estabilização para o complexo FOR0211A, com valor de ΔG da ordem de -9,3 kcal mol⁻¹.

Figura 71 – Representações gráficas das interações dos complexos FOR0211A, FOR0211B, FOR0611A, FOR0911A, FOR0911B, NS011A e NS211A com a estrutura de bDNA (PDB 4JD8), obtidas por *docking* molecular.





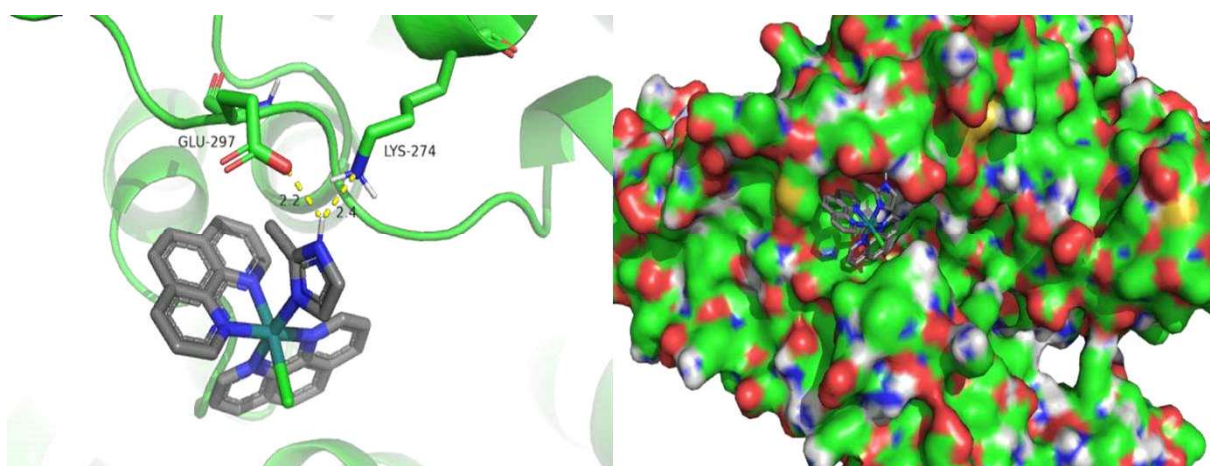
Fonte: elaborado pelo autor.

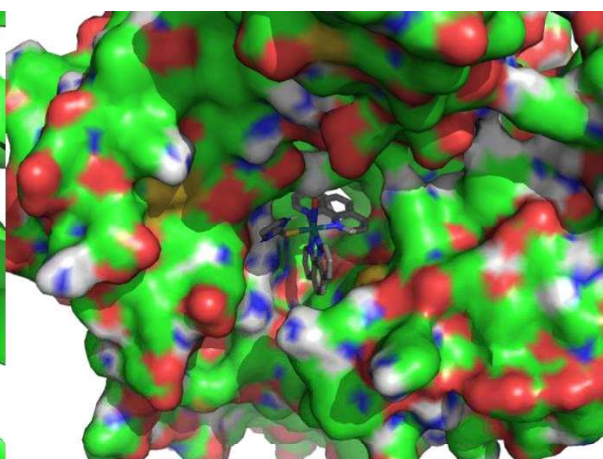
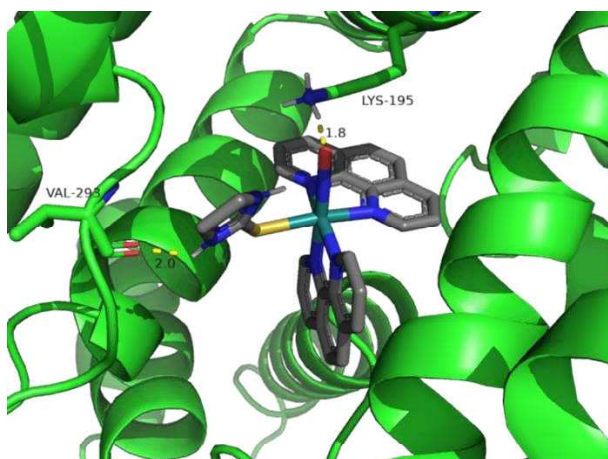
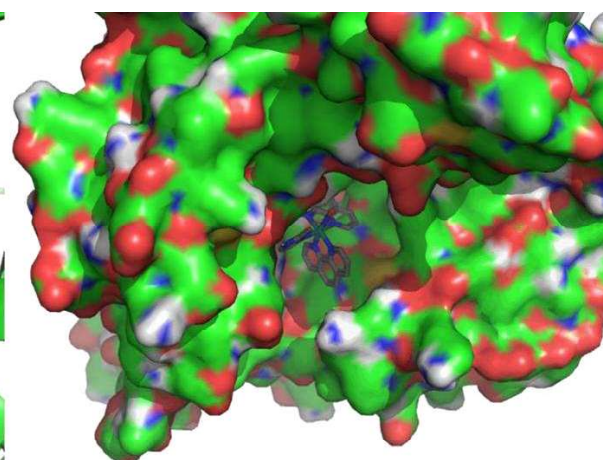
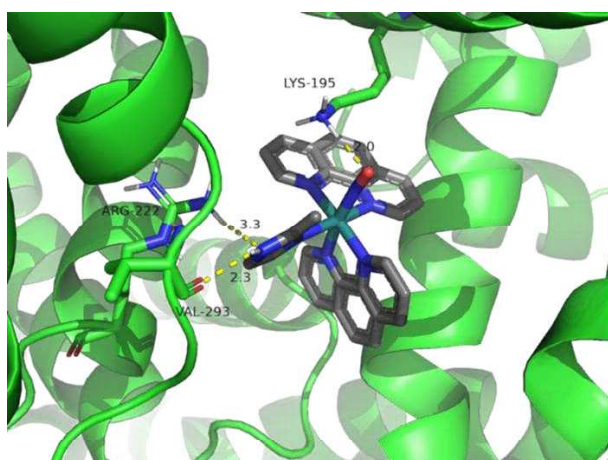
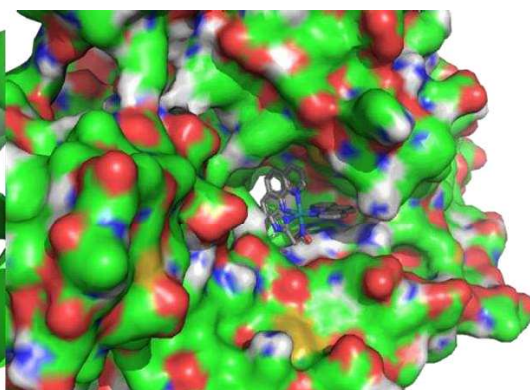
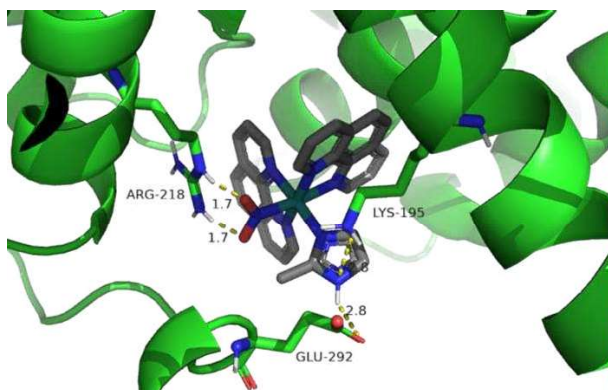
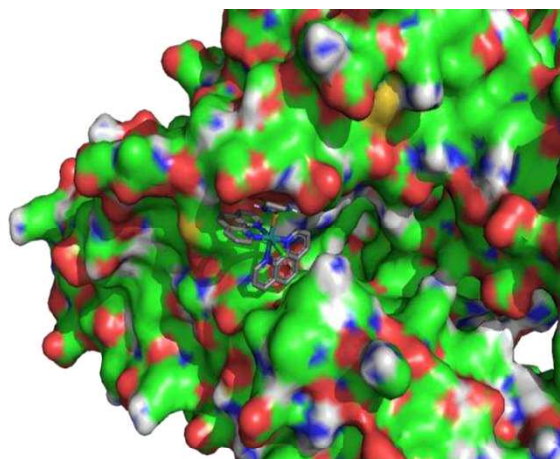
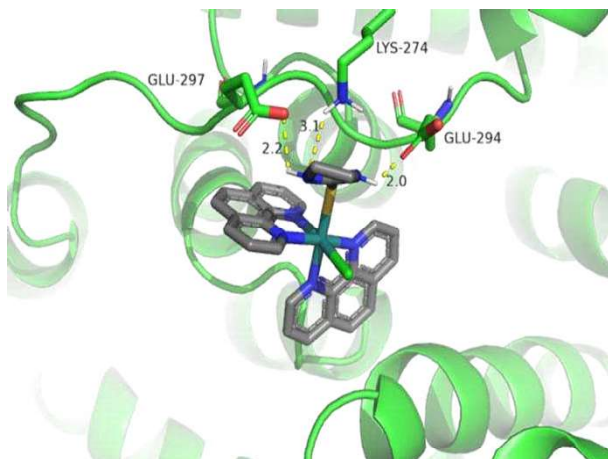
No que diz respeito às simulações envolvendo o DNA G-quadruplex como receptor, observa-se uma tendência análoga aquela observada para o DNA dupla-hélice. Contudo, a estrutura tridimensional peculiar e característica do G4-DNA, permite interações que não seriam possíveis para o bDNA. Isso pode ser observado nas ilustrações do apêndice H. Considerando-se esses dois conjuntos de simulações, pode-se inferir que a molécula de DNA nas duas conformações estudadas, provavelmente não seria um alvo majoritário para ligação

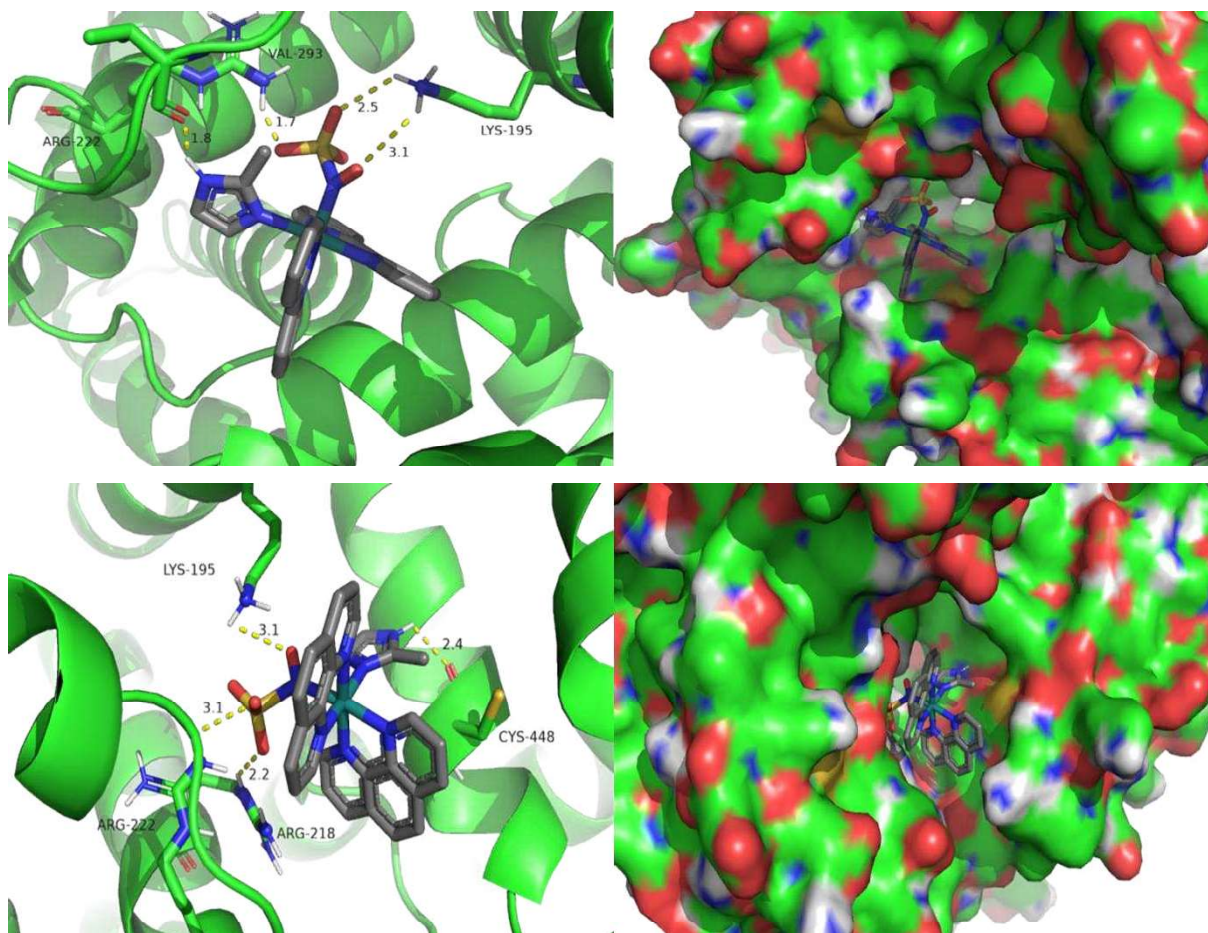
dos complexos, visto que somente interações fracas e moderadas ocorrem entre as espécies ligantes e receptoras selecionadas. Portanto, um efeito citotóxico não seria esperado, considerando somente a interação direta com o material genético. Tal característica é um aspecto desejável no desenvolvimento de qualquer droga que não seja de efeito antineoplásico.

Em relação aos alvos proteicos, albumina sérica humana e apo-transferrina, observa-se que o complexo NS211A apresenta os maiores valores de estabilização para interações nos sítios selecionados, com valores de energia livre da ordem de -9,3 e -8,8 kcal mol⁻¹. Como pode ser observado na figura 72 e no apêndice I, a presença do grupo sulfito permite a formação de múltiplas interações do tipo dipolo-dipolo com os grupamentos polares dos aminoácidos da cadeia peptídica. Somando-se a isso, interações hidrofóbicas propiciadas pelos ligantes aromáticos garantem uma estabilização adicional. Novamente, os valores de ΔG e as interações intermoleculares encontradas não evidenciam a formação de um complexo composto-proteína altamente estável. Considerando que as proteínas em questão atuam como carreadoras de xenobióticos, sendo importantes nos processos de distribuição e excreção, a capacidade de se ligar de forma moderada a esses alvos é uma característica desejável para os compostos em estudo.

Figura 72 – Representações gráficas das interações dos complexos FOR0211A, FOR0211B, FOR0611A, FOR0911A, FOR0911B, NS011A e NS211A com a estrutura da albumina sérica humana (PDB 1BM0), obtidas por *docking* molecular.







Fonte: elaborado pelo autor

Deve-se ressaltar que mesmo sendo capaz de fornecer dados consistentes de interação entre moléculas pequenas (ligantes) e macromoléculas de interesse (receptores), a estratégia de *docking* molecular utilizada não deve ser considerada isoladamente para conclusões a respeito de propriedades farmacológicas e farmacocinéticas. A interação entre ligante e receptor muitas vezes promove mudanças conformacionais em ambas as espécies, mas o protocolo utilizado para as simulações feitas nesse trabalho considera somente alterações conformacionais nos ligantes. O elevado custo computacional necessário para executar cálculos de *docking* semi-rígido ou mesmo estudos de dinâmica molecular, inviabilizou o uso dessas estratégias. Essas considerações, contudo, não invalidam os resultados obtidos e reportados.

4.13 Ensaios de Viabilidade Celular

Considerando a promissora atividade liberadora de NO e HNO evidenciada pelos ensaios anteriores, e o potencial uso desses complexos como pro-drogas no tratamento de DCVs, julgou-se importante avaliar o efeito citotóxico dos compostos em estudo. Os ensaios de

viabilidade celular para os nitrosilo-complexos e seus respectivos precursores foram realizados em colaboração com o Laboratório Integrado de Biomoléculas (LIBS) da UFC, através de metodologia baseada na medida da capacidade redutiva mitocondrial usando MTS.

Os compostos foram testados em quatro linhagens celulares, as quais incluem três linhagens cancerígenas humanas (A549, MCF7 e LNCAP) e uma linhagem saudável murina (CL929). Os resultados foram expressos em concentração inibitória para 50% de efeito (IC_{50}) e são apresentados na Tabela 16. Verifica-se que todos os complexos foram poucos tóxicos e exibiram uma modesta seletividade para a linhagem cancerígena de mama (MCF7). Para esse tipo celular, o precursor FOR0211A apresentou o melhor valor de IC_{50} para a série testada, sendo da ordem de $17 \mu\text{mol L}^{-1}$. Considerando que a aplicação desejada para essas substâncias não diz respeito a efeito anticancerígeno, os resultados obtidos são favoráveis à proposta apresentada.

Tabela 16 – Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) para os ensaios de viabilidade celular.

	FOR0211A	FOR0211B	FOR0611A	FOR0911A	FOR0911B	NS011A	NS211A
A549	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
MCF7	17,3	33,6	21,2	24,8	23,8	-	-
LNCAP	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
CL929	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50

Fonte: elaborado pelo autor

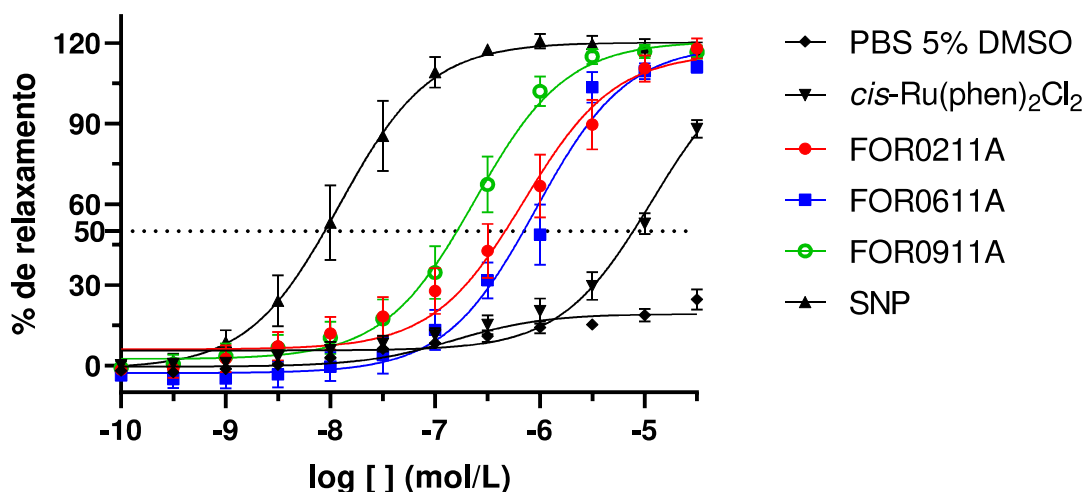
4.14 Ensaios de reatividade vascular

A fim de avaliar a potencial farmacológico dos compostos sintetizados no tratamento de doenças cardiovasculares, avaliou-se a capacidade dessas substâncias em promover relaxamento vascular utilizando o modelo de anel de aorta de camundongo isolado previamente contraídas com fenilefrina. Os gráficos abaixo (figuras 44 a 46) apresentam as curvas de porcentagem de relaxamento por concentração de complexo adicionada para os complexos contendo grupos nitrosil, nitrosil-sulfito, bem como seus respectivos precursores e soluções padrão de interesse.

Observa-se na figura 73 as curvas referentes às titulações com alguns dos compostos contendo o ligante 2-metilimidazol. Verifica-se que o cloro-complexo *cis*-[Ru(phen)₂(2MIM)Cl]⁺ (FOR0211A), já é capaz de provocar relaxamento característico da musculatura lisa do vaso, com valor de EC_{50} da ordem de 478 nmol L^{-1} , demonstrando ser

cerca de 16 vezes mais eficiente que o precursor *cis*-Ru(phen)₂Cl₂ (EC₅₀= 7941 nmol L⁻¹). A substituição do cloreto por nitrito, entretanto, não produziu diferenças apreciáveis na sua atividade vasodilatadora, diferente do que já foi observado para compostos polipiridínicos similares.^{110, 128} Já a conversão a nitrosil, por sua vez, acentuou a atividade vasodilatadora, reduzindo a concentração efetiva média para 158 nmol L⁻¹, patamar similar ao de outros compostos de Ru (2+) testados utilizando o mesmo modelo experimental,⁹² mas ainda inferior à droga padrão nitroprussiato de sódio, SNP (EC₅₀= 10 nmol L⁻¹).

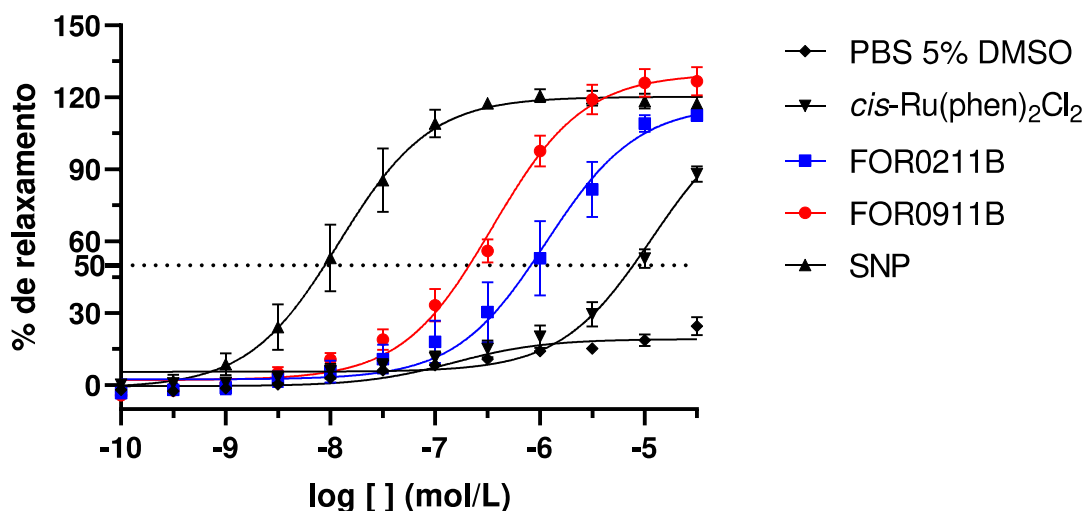
Figura 73 – Curvas de relaxamento vascular para titulação com os complexos FOR0211A e FOR0911A.



Fonte: elaborado pelo autor

De forma similar, a figura 74 apresenta os resultados obtidos para o mesmo experimento utilizando os complexos FOR0211B e FOR0911B. Conforme o esperado, o nitrosilo complexo exibiu menores valores de EC₅₀ do que seu análogo contendo cloreto como ligante (851 nmol L⁻¹ contra 214 nmol L⁻¹). Tais achados concordam com os experimentos da seção 4.9, onde evidenciou-se a capacidade de doação de óxido nítrico por essa espécie em meio redutor, mas consideravelmente distante da eficiência mostrada pelo SNP.

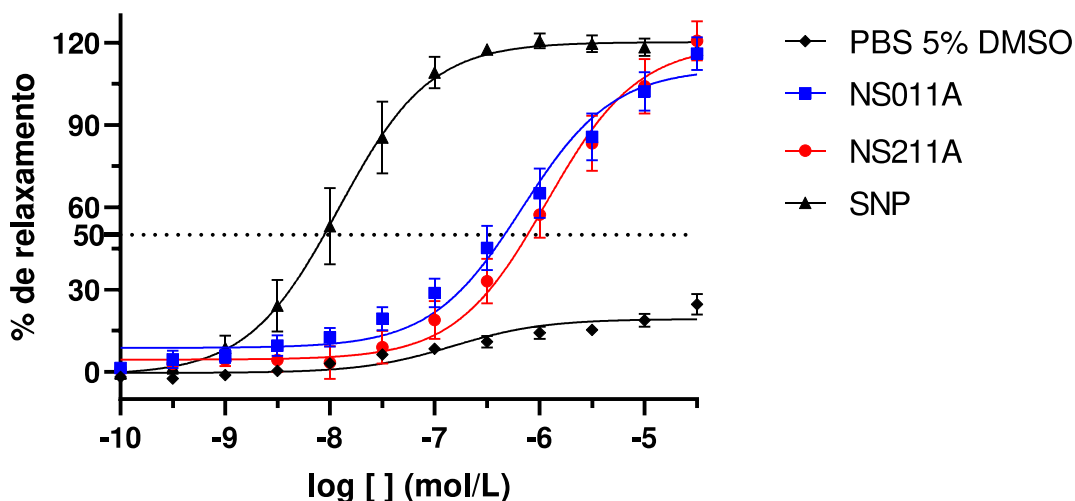
Figura 74 – Curvas de relaxamento vascular para titulação com os complexos FOR0211B e FOR0911B.



Fonte: elaborado pelo autor

A figura 75 compara as curvas de relaxamento para os nitrosil-sulfito complexos sintetizados. É facilmente perceptível que ambos os compostos apresentaram efeitos muito similares no modelo testado, com valores de EC_{50} da ordem de 500 nmol L^{-1} e 800 nmol L^{-1} , para os complexos NS011A e NS211A, respectivamente. Esses resultados sugerem que a presença do grupo nitrosil-sulfito reduz a capacidade vasodilatadora dos complexos, provavelmente por dificultar o ataque de espécies redutoras a esse ligante e não favorecendo a doação de NO a partir do complexo. Comparando-se outros parâmetros medidos nesse ensaio (Tabela 17), o grupo NOSO_3 parece inviabilizar a liberação de NO de forma satisfatória. Contudo, essa propriedade particular desses compostos poderia ser útil na doação de óxido nítrico fotoestimulada em meio biológico, visto que ao evitar o ataque dos redutores presentes no meio celular, permitiria uma liberação mais controlada de NO. A testagem dessa hipótese é perspectiva desse trabalho.

Figura 75 – Curvas de relaxamento vascular para titulação com os complexos NS011A e NS211A.



Fonte: elaborado pelo autor

Tabela 17 – Valores de EC_{50} e relaxamento máximo (E_{max}) para o efeito vasodilatador dos compostos sintetizados e padrões.

	EC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		E_{max}	
	Média	IC95	Média \pm erro	IC95
FOR0211A	0,478	[0,206 – 0,800]	116,26 \pm 5,33	[105,44 - 128,08]
FOR0611A	0,728	[0,436 - 1,115]	119,29 \pm 4,80	[110,03 - 129,08]
FOR0911A	0,158	[0,073 - 0,233]	120,68 \pm 3,46	[113,91 - 127,64]
FOR0211B	0,851	[0,363 - 1,572]	116,83 \pm 6,43	[104,19 - 130,89]
FOR0911B	0,214	[0,120 - 0,363]	129,88 \pm 3,10	[123,72 - 136,21]
NS011A	0,465	[0,310 – 0,916]	110,59 \pm 4,41	[101,50 - 120,47]
NS211A	0,774	[0,422 - 1,493]	119,46 \pm 5,61	[108,27 - 131,85]
SNP	0,010	[0,008 - 0,018]	120,26 \pm 2,83	[114,65 - 125,93]
<i>cis</i> -Ru(phen) ₂ Cl ₂	7,941	[3,103 - 15,925]	116,32 \pm 10,04	[97,96 - 144,27]
PBS DMSO 5%	-	-	19,21 \pm 1,16	[16,65 - 22,17]

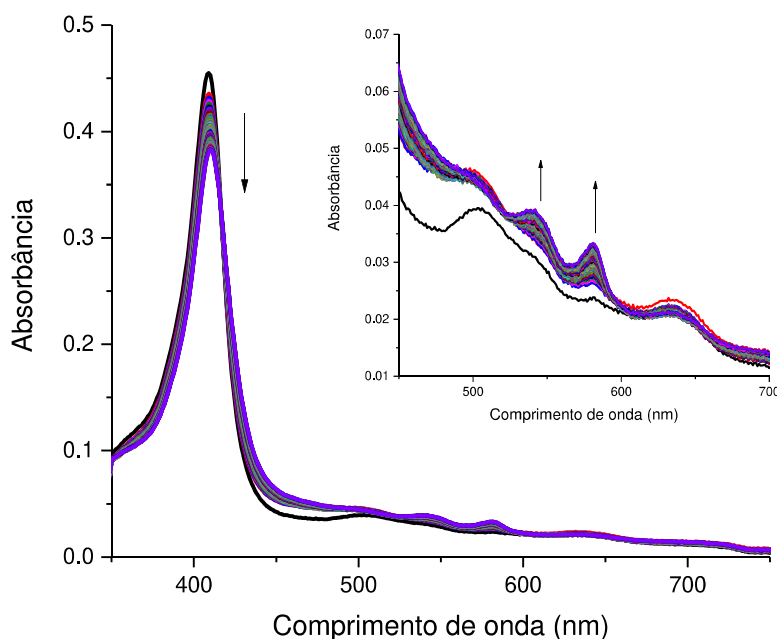
Legenda: IC95: Intervalo de confiança no nível 95%.

Fonte: elaborado pelo autor

4.15 Ensaios de Detecção de H₂S

O estudo dos mecanismos de ação envolvidos no efeito vasodilatador dos nitrosilo complexos desenvolvidos no Grupo de Bioinorgânica da Universidade Federal do Ceará tem mostrado recorrentemente que a liberação de óxidos de nitrogênio, somente, não é capaz de explicar de forma satisfatória o efeito farmacológico dessas espécies. Combinado a isso, observou-se nesse trabalho que nem sempre a resposta das sondas e sensores utilizados é plenamente compatível com a geração de NO/HNO, durante a redução com GSH, ou outras substâncias derivadas de óxidos de nitrogênio. Tal fenômeno foi especialmente notável no ensaio com mioglobina. Essas observações permitiram que hipóteses fossem levantadas acerca da possibilidade de formação de outras espécies reativas com capacidade de atuarem como mediadores fisiológicos. Tendo isso em mente e buscando informações adicionais, estudou-se as reações entre os cloro-complexos FOR0211A e FOR0211B na presença de glutathione. Os espectros referentes a esse ensaio para o último composto são apresentados a seguir (figura 76).

Figura 76 – Acompanhamento da reação do complexo FOR0211B com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$; [GSH]= 1,2 mmol L^{-1} ; [met-Mb]= 6,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$

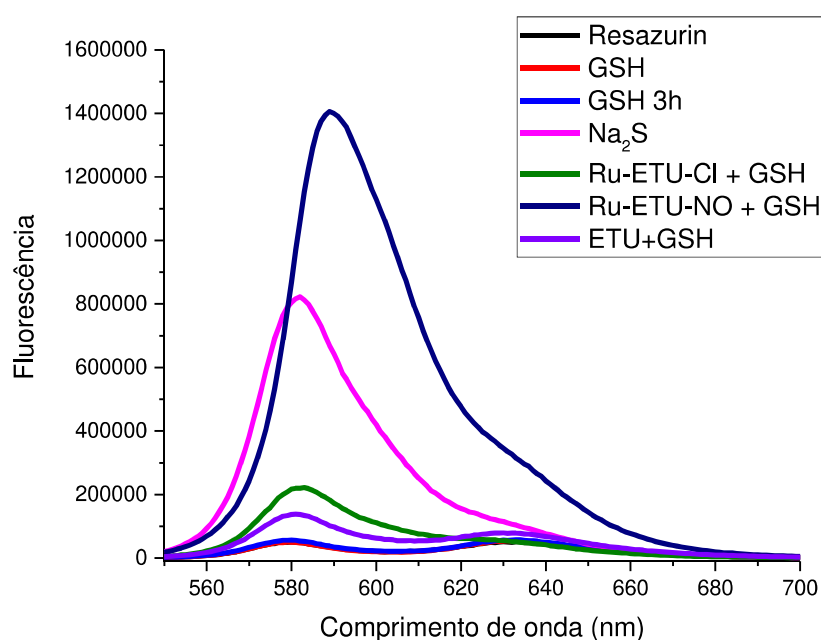


Fonte: elaborado pelo autor

Conforme discutido anteriormente, os achados nesse experimento sugerem a redução da hemeproteína e, visto que não há fonte de óxido de nitrogênio, não se considera a possibilidade de nitrosilação redutiva. Ao mesmo tempo, o ligante etilenotiouréia presente no complexo, tratando-se de uma tioamida, podendo funcionar como fonte de H_2S , quando na presença de tióis. Sabendo-se da reatividade notável dos íons sulfeto e da sua capacidade de atuar como mediador fisiológico, decidiu-se por investigar com maior afinco a possibilidade de formação de sulfetos na redução com GSH.

A resazurina é um composto não-fluorescente usualmente utilizado como sonda para determinação de viabilidade celular, uma vez que, ao ser reduzido por componentes do metabolismo energético da célula, é convertido a resorufina, a qual é fortemente fluorescente. Tem sido reportado que entre os mediadores inorgânicos encontrados no meio intracelular, somente o H_2S pode promover a conversão da resazurina, evidenciando que essa espécie seria capaz de funcionar na detecção de sulfeto quando na ausência de outros redutores fortes. Sabendo-se disso, utilizou-se a formação de resorufina como medida para capacidade doadora de H_2S . Conforme pode ser observado no gráfico abaixo (figura 77), fica evidente que o doador de ácido sulfídrico, Na_2S tem efeito sobre o espectro de fluorescência da resazurina, provocando aumento da emissão.

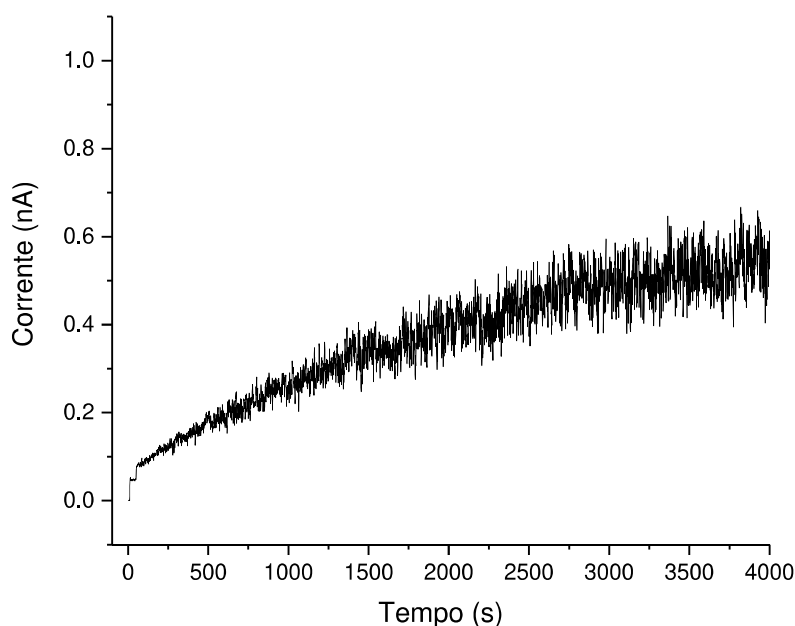
Figura 77 – Espectros de fluorescência para a redução da Resazurina sob diferentes estímulos geradores de H_2S .

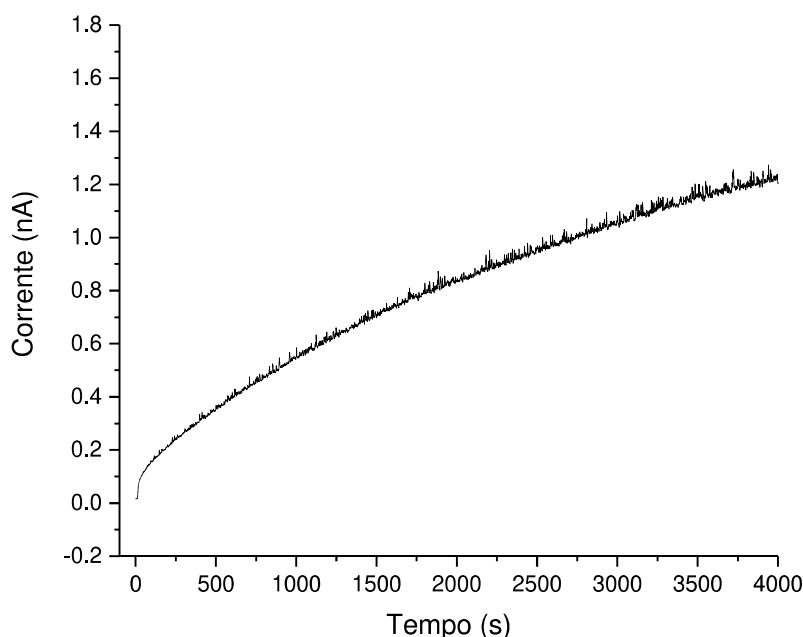


Em contrapartida, a glutathiona não tem efeito sobre a sonda mesmo com incubação prolongada. Já quando se realiza a incubação dos complexos juntamente com GSH na presença da sonda há aumento da fluorescência, sendo o efeito do nitrosilo complexo muito mais pronunciado que aquele observado para o cloro complexo. Comparando-se ainda ao efeito do ligante livre, verifica-se um efeito bem menos pronunciado sobre o aumento da fluorescência. Baseando-se nesses espectros, é possível concluir que os compostos de coordenação seriam capazes de potencializar a liberação de H_2S a partir dos ligantes, onde possivelmente o centro metálico teria um efeito catalítico.

Em seguida, procedeu-se ensaio com os complexos FOR0211B e FOR0911B utilizando-se um sensor amperométrico seletivo de H_2S . Observa-se pelas figuras abaixo (figura 78) que a adição de complexo juntamente com glutathiona promove aumento de sinal do sensor, evidenciando a formação de íons sulfeto. Como fica também evidente, a formação de H_2S para a reação com o nitrosilo complexo produz um sinal mais intenso, sugerindo que há maior quantidade desse analito sendo formada. Tal observação implicaria na participação de NO ou alguma espécie derivada deste, na formação de sulfeto. Também deve-se considerar que há a possibilidade de formação de persulfetos (R-S-S-R) e polipersulfetos ($\text{R-(S-S)}_n\text{-R}$), os quais poderiam ser gerados e funcionar como precursores de H_2S .

Figura 78 – Cronoamperograma para a reação entre os complexos FOR0211B (superior) e FOR0911B (inferior) com L-glutathiona.

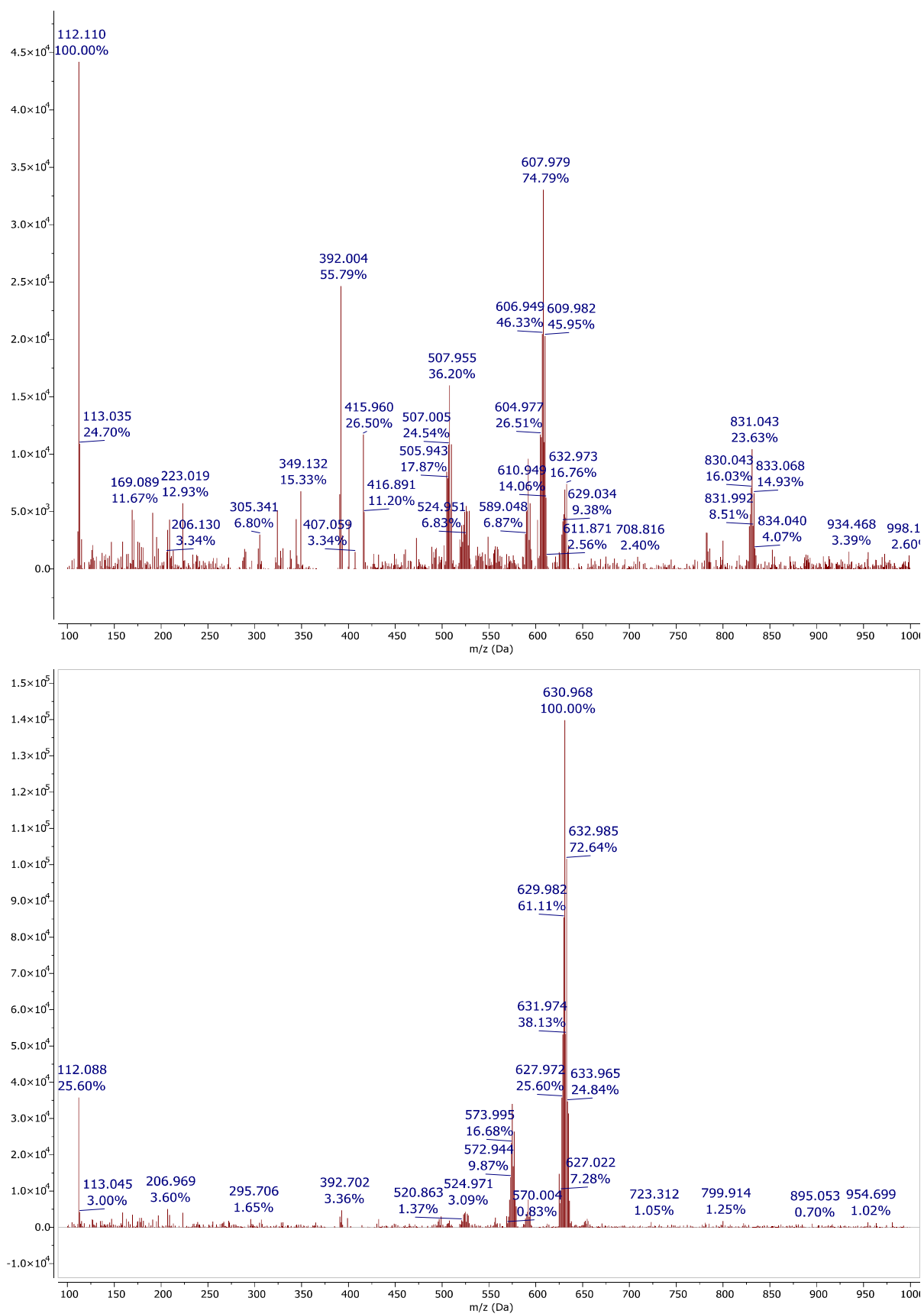




Fonte: elaborado pelo autor

Na tentativa de se avaliar o provável mecanismo reacional associado a essas reações, bem como verificar a possibilidade de envolvimento de persulfetos e polipersulfetos durante a redução com glutathione, utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas. A reação dos complexos com redutores leva a formação de algumas dezenas de sinais no cromatograma (não apresentado), evidenciando a complexidade do sistema em estudo. Para a reação com o complexo FOR0211B, nenhum padrão de fragmentação de interesse para a elucidação do mecanismo pode ser identificado. Em contrapartida, para a reação com o composto FOR0911B, alguns fragmentos pertinentes para a proposta em estudo foram encontrados. Conforme a figura e a tabela abaixo, os fragmentos foram visualizados nos espectros selecionados (figura 79). O sinal com razão massa/carga (m/z) igual a 831,043 Da (m/z teórico de 831,096 Da) é compatível com o fragmento $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{NO})(\text{GSS})]^+$, onde GSS corresponde a glutathione persulfeto (Tabela 18). Similarmente, o fragmento de m/z 630,968 Da (m/z teórico de 630,957 Da) mostra-se coerente com a espécie $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{H}_3\text{CCN})(\text{SSSS})]^+$, onde SSSS corresponde a um polisulfeto. Desses achados, pode-se inferir que há formação de (poli)persulfetos, estando essas espécies polissulfuradas associadas ao centro metálico do complexo. Não fica claro ainda se, uma vez formadas, esses persulfetos são capazes de funcionar como fonte de H_2S .

Figura 79 – Espectros de massas obtidos para os produtos da reação entre FOR0911B e GSH.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 18 – Atribuições dos fragmentos identificados como produtos da reação entre o complexo FOR0911B e GSH.

Massa experimental (Da)	Massa Teórica (Da)	Atribuição
507,955	508,035	[Ru(phen) ₂ (NO ₂)] ⁺
607,979	608,044	[Ru(phen) ₂ (ETU) (NO ₂)] ⁺
831,043	831,096	[Ru(phen) ₂ (NO)(GSS)] ⁺
630,968	630,957	[Ru(phen) ₂ (H ₃ CCN)(SSSS)] ⁺

Fonte: elaborado pelo autor

Diante da evidência de formação de H₂S e outras espécies sulfuradas em condições controladas, buscou-se avaliar a formação de tais compostos em meio celular. Para isso, utilizou-se o mesmo modelo de reatividade vascular descrito anteriormente, mas realizando o pré-tratamento dos segmentos de aorta com o *scavenger* 4-(acetoamido)-benzeno-1-sulfonil azida (ABSN₃). Conforme tem sido reportado recentemente,¹²⁹ sulfonil azidas podem funcionar como eficientes capturadores de H₂S, inclusive apresentando potencial para serem utilizados como antídoto em casos de intoxicação por doadores de ácido sulfídrico.¹³⁰ Dessa forma, realizou-se experimento de medida da capacidade relaxante dos complexos na ausência e na presença do ABSN₃ aferindo-se a tensão sobre anéis de aorta de camundongo. Conforme pode ser visualizado na Figura 80 e pelos dados da Tabela 19, a presença do *scavenger* diminui os valores de E_{max} e CE₅₀ para a atividade vasodilatadora de ambos os complexos. Por esses dados, fica evidente que o ABSN₃ é capaz de diminuir o relaxamento vascular provocado pelos complexos, sendo o efeito supressor mais expressivo para o nitrosilo complexo FOR0911B. Tal efeito é atribuído à captura do H₂S gerado, levando a inibição de uma das vias pela qual esses compostos causam diminuição do tônus vascular. Ainda que esses resultados sugiram que o efeito causado pelo sulfeto não seja majoritário nessa resposta sob estudo, o fato de que essas espécies causam vasodilatação por múltiplas vias é especialmente interessante para o desenvolvimento de novas moléculas inorgânicas para o tratamento de hipertensão, incluindo uma rota farmacológica ainda pouco explorada.

Figura 80 - Curvas de relaxamento vascular para titulação com os complexos FOR0211B e FOR0911B na ausência e na presença de ABSN₃.

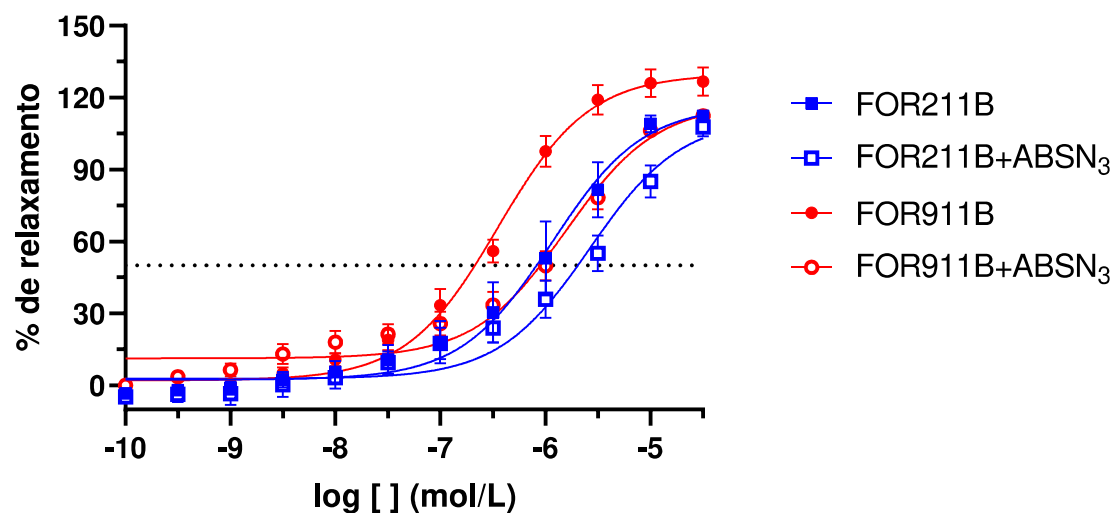


Tabela 19 - Valores de EC₅₀ e relaxamento máximo (E_{max}) para o efeito vasodilatador dos compostos FOR0211B e FOR0911B na ausência e na presença de ABSN₃.

	E _{max} (%)		EC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	
	Média ± EPM	IC95	Média	IC95
FOR211B	116,83 ± 6,43	[104,19 - 130,89]	1,151	[0,663 - 1,972]
FOR911B	129,88 ± 3,10	[123,72 - 136,21]	0,354	[0,270 - 0,463]
FOR211B + ABSN₃	111,50 ± 6,68	[97,79 - 127,95]	2,641	[1,495 - 4,599]
FOR911B + ABSN₃	117,64 ± 4,31	[109,04 - 126,99]	1,561	[1,071 - 2,258]

Fonte: elaborado pelo autor

5 CONCLUSÕES

Considerando as evidências experimentais expostas, foram sintetizados e caracterizados seis novos complexos de rutênio (II) contendo 1,10-fenantrolina ou 2,2'-bipiridina e os derivados imidazólicos 2-metilimidazol e etilenotiouréia como ligantes auxiliares. Técnicas espectroscópicas e eletroquímicas forneceram evidências que corroboram com as estruturas propostas para os compostos, além de demonstrar a viabilidade e reprodutibilidade da rota sintética escolhida. Técnicas baseadas na utilização de raios X forneceram informações sobre a configuração absoluta desses complexos, seja na forma de monocristal ou de sólido amorfo. O conjunto de caracterizações foram suportados também por cálculos de DFT.

Dentre os seis complexos sintetizados, dois deles apresentaram o grupo nitrosil como ligante, o que os torna candidatos a liberadores de óxido nítrico. Avaliou-se o pH de interconversão NO^+/NO_2 , mas nenhum dos complexos mostrou se manter 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 fotoquímica de NO^0 , através de irradiação com luz azul e redução com GSH. Para ambos os estudos, encontraram-se evidências pertinentes que sugerem a liberação de óxido nítrico. Ainda sobre a redução com L-glutathione há evidência pertinente da formação de nitroxil, evidenciando a versatilidade desses compostos ao funcionarem como doadores de espécies farmacologicamente ativas com funções terapêuticas distintas.

Dois novos complexos com grupo nitrosil-sulfito também foram obtidos com sucesso. Visto que tais compostos ainda são poucos estudados, esse trabalho traz uma valiosa contribuição acerca das propriedades desses compostos. Estudos preliminares sugerem que tais espécies também são promissoras plataformas para fotoliberação de óxido nítrico. Ensaio de atividade capturadora de radicais revelaram que essa classe de compostos apresenta atividade antioxidante superior àquela reportada para outros compostos de coordenação. Encontraram-se, portanto, características desejáveis em potenciais fármacos para o tratamento de condições cardiovasculares complexas como a aterosclerose e a isquemia, na qual a ação vasorelaxante e o combate ao estresse oxidativo são necessários.

Ensaio para a detecção de H_2S foram realizados e foram encontradas evidências contundentes da formação desse gasotransmissor na presença de tióis. Apesar de não ser possível precisar o mecanismo reacional envolvido, nem qual o papel desempenhado pelo centro metálico nesse processo, foi possível demonstrar que o sulfeto e seus derivados

contribuem para o efeito vasodilatador promovido pelos complexos contendo o ligante tioamida. Ressalta-se que esse é o primeiro trabalho a reportar a participação do H_2S no efeito vasodilatador de complexos polipiridínicos de rutênio contendo ou não nitrosil. Logo, esse trabalho abre a perspectiva de estudos mais aprofundados acerca desse assunto.

Em conjunto, os resultados obtidos para a caracterização dos compostos sustentam a obtenção dos complexos com as estruturas desejadas e os ensaios de reatividade evidenciam suas características como potenciais metalofármacos para o tratamento de doenças cardiovasculares.

REFERÊNCIAS

- 1 STEWART, J.; MANMATHAN, G.; WILKINSON, P. Primary prevention of cardiovascular disease: A review of contemporary guidance and literature. **JRSM Cardiovasc Dis**, [s.l.], v. 6, p. 1-9, 2017.
- 2 RADER, D. J.; DAUGHERTY, A. Translating molecular discoveries into new therapies for atherosclerosis. **Nature**, [s.l.], v. 451, n. 7181, p. 904-913, 2008.
- 3 BRUNEAU, B. G. The developmental genetics of congenital heart disease. **Nature**, [s.l.], v. 451, n. 7181, p. 943-948, 2008.
- 4 KAPTOGE, S., *et al.* World Health Organization cardiovascular disease risk charts: revised models to estimate risk in 21 global regions. **The Lancet Global Health**, [s.l.], v. 7, n. 10, p. e1332-e1345, 2019.
- 5 WHO. **Cardiovascular diseases**. Genebra, 2022. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_1. Acesso em: 01 dezembro 2022.
- 6 DATASUS. **MORBIDADE HOSPITALAR DO SUS - POR LOCAL DE INTERNAÇÃO - BRASIL**. Brasil, 2019. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>. Acesso em: 20 fevereiro 2020.
- 7 STEVENS, B., *et al.* The Economic Burden of Heart Conditions in Brazil. **Arq Bras Cardiol**, [s.l.], v. 111, n. 1, p. 29-36, 2018.
- 8 DE SOUZA, W. M., *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of the COVID-19 epidemic in Brazil. **Nat Hum Behav**, [s.l.], v. 4, n. 8, p. 856-865, 2020.
- 9 PACHIEGA, J., *et al.* Chronic heart diseases as the most prevalent comorbidities among deaths by COVID-19 in Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, [s.l.], v. 62, p. e45, 2020.
- 10 DE SOUZA, F. S. H., *et al.* On the analysis of mortality risk factors for hospitalized COVID-19 patients: A data-driven study using the major Brazilian database. **PLoS One**, [s.l.], v. 16, n. 3, p. e0248580, 2021.
- 11 CHOPRA, H. K.; RAM, C. V. S. Recent Guidelines for Hypertension. **Circ Res**, [s.l.], v. 124, n. 7, p. 984-986, 2019.
- 12 MILLS, K. T.; STEFANESCU, A.; HE, J. The global epidemiology of hypertension. **Nat Rev Nephrol**, [s.l.], v. 16, n. 4, p. 223-237, 2020.
- 13 MALACHIAS, M. V. B., *et al.* 7th Brazilian Guideline of Arterial Hypertension: Chapter 6 - Non-pharmacological treatment. **Arq Bras Cardiol**, [s.l.], v. 107, n. 3 Suppl 3, p. 30-34, 2016.

- 14 MALACHIAS, M. V. B., *et al.* 7th Brazilian Guideline of Arterial Hypertension: Chapter 7 - Pharmacological Treatment. **Arq Bras Cardiol**, [s.l.], v. 107, n. 3 Suppl 3, p. 35-43, 2016.
- 15 WHO. **Hypertension**. Genebra, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. Acesso em: 01 dezembro 2022.
- 16 WHO/PAHO. **Hypertension**. Genebra, 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/en/enlace/hypertension>. Acesso em: 01 dezembro 2022.
- 17 HERMANN, M.; FLAMMER, A.; LUSCHER, T. F. Nitric oxide in hypertension. **J Clin Hypertens (Greenwich)**, [s.l.], v. 8, n. 12 Suppl 4, p. 17-29, 2006.
- 18 CAMPBELL, R., *et al.* Contribution of nitric oxide to the blood pressure and arterial responses to exercise in humans. **J Hum Hypertens**, [s.l.], v. 25, n. 4, p. 262-270, 2011.
- 19 BUTLER, A. R.; NICHOLSON, R. **Life, Death and Nitric Oxide**. Cambridge: RSC, 2003.
- 20 HUGHES, M. N. Chemistry of Nitric Oxide and Related Species. **Methods in Enzymology**, [s.l.], v. 436, p. 3-19, 2008.
- 21 TOLEDO JR, J. C.; AUGUSTO, O. Connecting the chemical and biological properties of nitric oxide. **Chem Res Toxicol**, [s.l.], v. 25, n. 5, p. 975-989, 2012.
- 22 IGNARRO, L. J. **Nitric Oxide: Biology and Pathobiology**. San Diego: Elsevier Science, 2009.
- 23 PRYOR, W. A., *et al.* Free radical biology and medicine: it's a gas, man! **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, [s.l.], v. 291, n. 3, p. 491-511, 2006.
- 24 LEI, J., *et al.* Nitric oxide, a protective molecule in the cardiovascular system. **Nitric Oxide**, [s.l.], v. 35, p. 175-185, 2013.
- 25 MARTIN, E., *et al.* Soluble Guanylyl Cyclase: The Nitric Oxide Receptor. **Methods in Enzymology**, [s.l.], v. 396, p. 478-492, 2005.
- 26 BRUNTON, L.; CHABNER, B.; KNOLLMAN, B. **Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics** 12. ed. New York: McGraw-Hill Education, 2011.
- 27 CHESTER, A. H.; YACOUN, M. H.; MONCADA, S. Nitric oxide and pulmonary arterial hypertension. **Glob Cardiol Sci Pract**, [s.l.], v. 2017, n. 2, p. 14, 2017.
- 28 CNN. **Nos EUA, paciente com infecção por COVID-19 é tratado com dispositivo brasileiro**. São Paulo, 2020 Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/2020/03/25/nos-eua-paciente-com-infeccao-por-covid-19-e-tratado-com-dispositivo-brasileiro>. Acesso em: 01 dezembro 2022.
- 29 LALA, P. K.; CHAKRABORTY, C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour

- progression. **The Lancet Oncology**, [s.l.], v. 2, n. 3, p. 149-156, 2001.
- 30 HOFSETH, L. Nitric oxide in cancer and chemoprevention. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.l.], v. 34, n. 8, p. 955-968, 2003.
 - 31 LO FARO, M. L., *et al.* Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. **Nitric Oxide**, [s.l.], v. 41, p. 38-47, 2014.
 - 32 CHENG, H., *et al.* Nitric oxide in cancer metastasis. **Cancer Lett**, [s.l.], v. 353, n. 1, p. 1-7, 2014.
 - 33 SHOMAN, M. E.; ALY, O. M. Nitroxyl (HNO): A Reduced Form of Nitric Oxide with Distinct Chemical, Pharmacological, and Therapeutic Properties. **Oxid Med Cell Longev**, [s.l.], v. 2016, p. 4867124, 2016.
 - 34 BIANCO, C. L., *et al.* The chemical biology of HNO signaling. **Arch Biochem Biophys**, [s.l.], v. 617, p. 129-136, 2017.
 - 35 JAIN, T., *et al.* Hypoxia inducible factor as a therapeutic target for atherosclerosis. **Pharmacol Ther**, [s.l.], v. 183, p. 22-33, 2018.
 - 36 LIN, E. Q., *et al.* Nitroxyl (HNO) stimulates soluble guanylyl cyclase to suppress cardiomyocyte hypertrophy and superoxide generation. **PLoS One**, [s.l.], v. 7, n. 4, p. e34892, 2012.
 - 37 HOTTINGER, D. G., *et al.* Sodium nitroprusside in 2014: A clinical concepts review. **J Anaesthesiol Clin Pharmacol**, [s.l.], v. 30, n. 4, p. 462-471, 2014.
 - 38 CAO, X., *et al.* A Review of Hydrogen Sulfide Synthesis, Metabolism, and Measurement: Is Modulation of Hydrogen Sulfide a Novel Therapeutic for Cancer? **Antioxid Redox Signal**, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 1-38, 2019.
 - 39 REIFFENSTEIN, R. J.; HULBERT, W. C.; ROTH, S. H. Toxicology of hydrogen sulfide. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, [s.l.], v. 32, p. 109-134, 1992.
 - 40 WARENYCIA, M. W., *et al.* Monoamine oxidase inhibition as a sequel of hydrogen sulfide intoxication: increases in brain catecholamine and 5-hydroxytryptamine levels. **Arch Toxicol**, [s.l.], v. 63, n. 2, p. 131-136, 1989.
 - 41 ABE, K.; KIMURA, H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. **J Neurosci**, [s.l.], v. 16, n. 3, p. 1066-1071, 1996.
 - 42 WANG, R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? **FASEB J**, [s.l.], v. 16, n. 13, p. 1792-1798, 2002.
 - 43 MAGLI, E., *et al.* H(2)S Donors and Their Use in Medicinal Chemistry. **Biomolecules**, [s.l.], v. 11, n. 12, 2021.
 - 44 FILIPOVIC, M. R., *et al.* Chemical Biology of H(2)S Signaling through Persulfidation. **Chem Rev**, [s.l.], v. 118, n. 3, p. 1253-1337, 2018.

- 45 SZABO, C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. **Nat Rev Drug Discov**, [s.l.], v. 6, n. 11, p. 917-935, 2007.
- 46 SEARCY, D. G.; LEE, S. H. Sulfur reduction by human erythrocytes. **The Journal of Experimental Zoology**, [s.l.], v. 282, n. 3, p. 310-322, 1998.
- 47 YANG, J., *et al.* Non-enzymatic hydrogen sulfide production from cysteine in blood is catalyzed by iron and vitamin B(6). **Commun Biol**, [s.l.], v. 2, p. 194, 2019.
- 48 FENG, W., *et al.* Discovery of New H₂S Releasing Phosphordithioates and 2,3-Dihydro-2-phenyl-2-sulfanylenebenzo[d][1,3,2]oxazaphospholes with Improved Antiproliferative Activity. **J Med Chem**, [s.l.], v. 58, n. 16, p. 6456-6480, 2015.
- 49 BARBOSA, M. I., *et al.* Antiparasitic activities of novel ruthenium/lapachol complexes. **J Inorg Biochem**, [s.l.], v. 136, p. 33-39, 2014.
- 50 BASTOS, T. M., *et al.* Nitro/nitrosyl-ruthenium complexes are potent and selective anti-Trypanosoma cruzi agents causing autophagy and necrotic parasite death. **Antimicrob Agents Chemother**, [s.l.], v. 58, n. 10, p. 6044-6055, 2014.
- 51 DOS SANTOS, E. R., *et al.* New ruthenium(II)/phosphines/diimines complexes: Promising antitumor (human breast cancer) and Mycobacterium tuberculosis fighting agents. **Polyhedron**, [s.l.], v. 51, p. 292-297, 2013.
- 52 LIMA, A. P., *et al.* Cytotoxicity and apoptotic mechanism of ruthenium(II) amino acid complexes in sarcoma-180 tumor cells. **PLoS One**, [s.l.], v. 9, n. 10, p. 1-11, 2014.
- 53 PEREIRA, F. C., *et al.* 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**, [s.l.], v. 149, p. 91-101, 2015.
- 54 GELASCO, A.; LIPPARD, S. J. **Anticancer Activity of Cisplatin and Related Complexes**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 1999.
- 55 BARTHI, S. K.; SINGH, S. K. Recent developments in the field of anticancer metallopharmaceuticals. **International Journal of PharmTech Research**, [s.l.], v. 1, n. 4, p. 1406-1420, 2009.
- 56 HARTMANN, J. T.; LIPP, H.-P. Toxicity of platinum compounds. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 4, n. 6, p. 889-901, 2003.
- 57 MARKMAN, M. Toxicities of the platinum antineoplastic agents. **Expert Opinion on Drug Safety**, [s.l.], v. 2, n. 6, p. 597-607, 2003.
- 58 KEPPLER, B. K., *et al.* **New Ruthenium Complexes for the Treatment of Cancer**. Berlin: Springer 1989.

- 59 KOSTOVA, I. Ruthenium Complexes as Anticancer Agents. **Current Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 13, n. 9, p. 1085-1107, 2006.
- 60 KOSTOVA, I. Titanium and vanadium complexes as anticancer agents. **Anticancer Agents Med Chem**, [s.l.], v. 9, n. 8, p. 827-842, 2009.
- 61 CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coordination Chemistry Reviews**, [s.l.], v. 232, n. 1, p. 69-93, 2002.
- 62 CRAVER, E., *et al.* Tris-ruthenium(II)/copper(II) multimetallic porphyrin: Synthesis, characterization, DNA binding and supercoiled DNA photocleavage studies. **Inorganica Chimica Acta**, [s.l.], v. 363, n. 2, p. 453-456, 2010.
- 63 COVERDALE, J.; LAROIYA-MCCARRON, T.; ROMERO-CANELÓN, I. Designing Ruthenium Anticancer Drugs: What Have We Learnt from the Key Drug Candidates? **Inorganics**, [s.l.], v. 7, n. 3, 2019.
- 64 RAVEL, B.; NEWVILLE, M. ATHENA, ARTEMIS, HEPHAESTUS: data analysis for X-ray absorption spectroscopy using IFEFFIT. **J Synchrotron Radiat**, [s.l.], v. 12, n. Pt 4, p. 537-541, 2005.
- 65 SALASSA, L., *et al.* EXAFS, DFT, Light-Induced Nucleobase Binding, and Cytotoxicity of the Photoactive Complex cis-[Ru(bpy)₂(CO)Cl]⁺. **Organometallics**, [s.l.], v. 29, n. 24, p. 6703-6710, 2010.
- 66 SHELDRICK, G. M. SHELXT - integrated space-group and crystal-structure determination. **Acta Crystallogr A Found Adv**, [s.l.], v. 71, n. Pt 1, p. 3-8, 2015.
- 67 SHELDRICK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallogr A**, [s.l.], v. 64, n. Pt 1, p. 112-122, 2008.
- 68 DOLOMANOV, O. V., *et al.* OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. **Journal of Applied Crystallography**, [s.l.], v. 42, n. 2, p. 339-341, 2009.
- 69 MACRAE, C. F., *et al.* Mercury: visualization and analysis of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, [s.l.], v. 39, n. 3, p. 453-457, 2006.
- 70 FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). **Journal of Applied Crystallography**, [s.l.], v. 30, n. 5, p. 565-565, 1997.
- 71 LOPES, L. G. F., *et al.* The trans-labilization of nitric oxide in RuII complexes by C-bound imidazoles. **Inorganica Chimica Acta**, [s.l.], v. 312, n. 1-2, p. 15-22, 2001.
- 72 GAUSSIAN INC. **GaussView, Version 5**. Shawnee Mission, 2009. 1 CD.
- 73 GAUSSIAN INC. **Gaussian 09**. Wallingford, 2009. 1 CD.
- 74 LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy

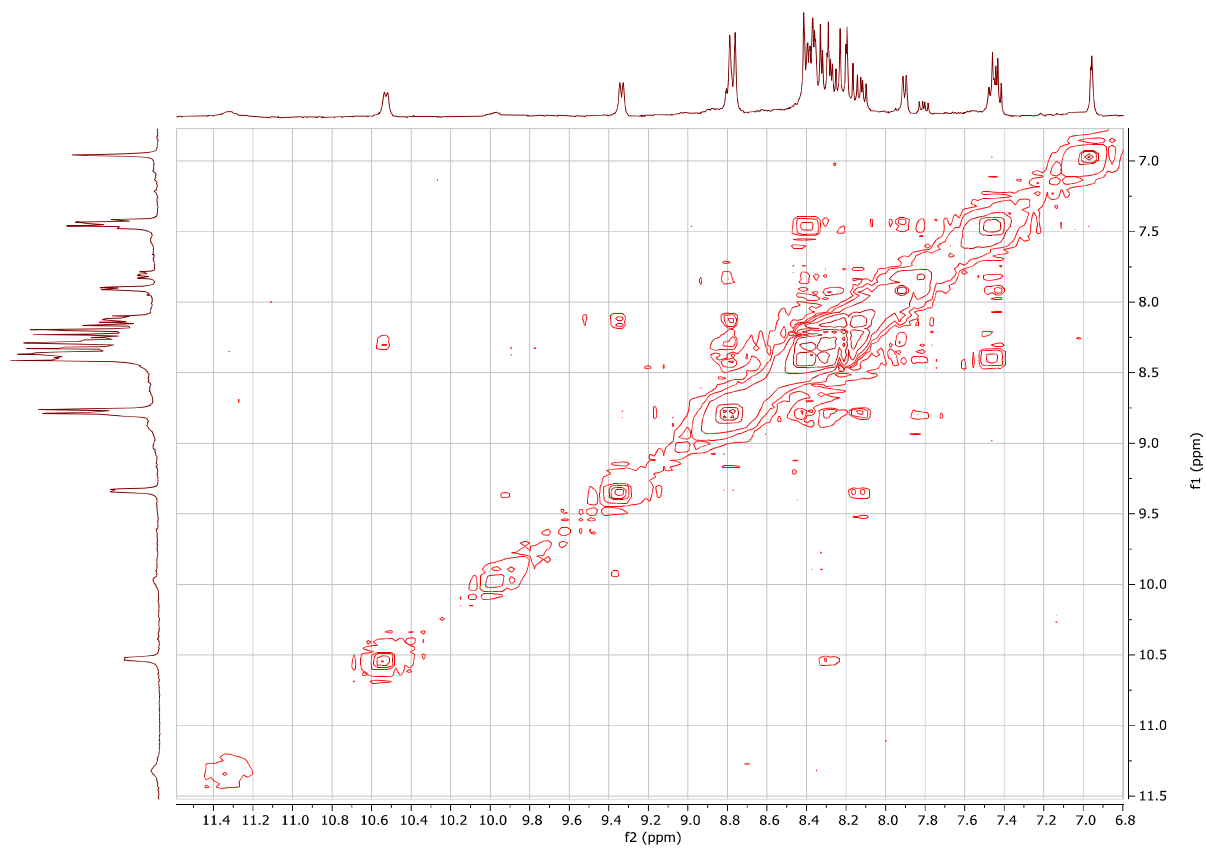
- formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 785-789, 1988.
- 75 BECKE, A. D. Density - functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, [s.l.], v. 98, n. 7, p. 5648-5652, 1993.
 - 76 STEPHENS, P. J., *et al.* Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, [s.l.], v. 98, n. 45, p. 11623-11627, 1994.
 - 77 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**, [s.l.], v. 82, n. 1, p. 299-310, 1985.
 - 78 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**, [s.l.], v. 82, n. 1, p. 284-298, 1985.
 - 79 FRENKING, G.; KOCH, W. A Møller–Plesset study of the electron affinities of the diatomic hydrides XH (X=Li, B, Be, C, N, O). **The Journal of Chemical Physics**, [s.l.], v. 84, n. 6, p. 3224-3229, 1986.
 - 80 MENNUCCI, B.; CANCÈS, 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**, [s.l.], v. 101, n. 49, p. 10506-10517, 1997.
 - 81 BERMAN, H. M., *et al.* The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Res**, [s.l.], v. 28, n. 1, p. 235-242, 2000.
 - 82 MORRIS, G. M., *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **J Comput Chem**, [s.l.], v. 30, n. 16, p. 2785-2791, 2009.
 - 83 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**, [s.l.], v. 18, n. 4, p. 3760-3778, 2013.
 - 84 SPENCE, P.; FIELDEN, J.; WALLER, Z. A. E. Beyond Solvent Exclusion: i-Motif Detecting Capability and an Alternative DNA Light-Switching Mechanism in a Ruthenium(II) Polypyridyl Complex. **J Am Chem Soc**, [s.l.], v. 142, n. 32, p. 13856-13866, 2020.
 - 85 SCHRÖDINGER, LLC. **The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8**. New York, 2015. 1 CD.
 - 86 METZKER, G.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D. W. Reaction of ruthenium nitrosyl complexes with superoxide. **Polyhedron**, [s.l.], v. 50, n. 1, p. 328-332, 2013.
 - 87 ESPEY, M. G., *et al.* Focusing of nitric oxide mediated nitrosation and oxidative

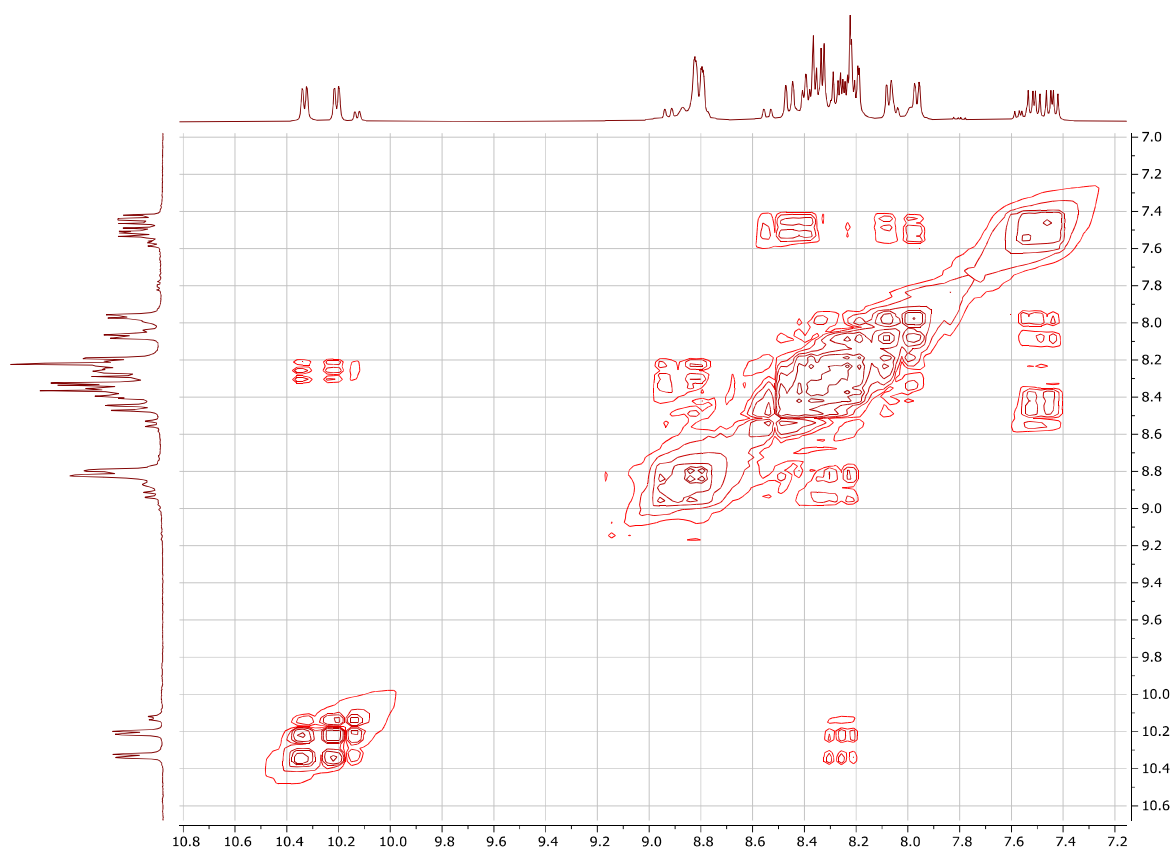
- nitrosylation as a consequence of reaction with superoxide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, [s.l.], v. 99, n. 17, p. 11127-11132, 2002.
- 88 MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **J Biol Chem**, [s.l.], v. 244, n. 22, p. 6049-6055, 1969.
 - 89 SULLIVAN, B. P.; SALMON, D. J.; MEYER, T. J. Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium. **Inorganic Chemistry**, [s.l.], v. 17, n. 12, p. 3334-3341, 1978.
 - 90 GOUVEIA JR, F. S. **NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO CONTENDO DERIVADOS IMIDAZÓLICOS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017
 - 91 CÂNDIDO, M. C. L., *et al.* 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**, [s.l.], v. 26, p. 1824-1830, 2015.
 - 92 SILVA, C. D. S., *et al.* Thiocarbonyl-bound metallonitrosyl complexes with visible-light induced DNA cleavage and promising vasodilation activity. **J Inorg Biochem**, [s.l.], v. 182, p. 83-91, 2018.
 - 93 HOLT, E. M.; HOLT, S. L.; WATSON, K. J. Crystal, molecular, and electronic structure of bisacetatobis(ethylenethiourea)cobalt(II). **Journal of the American Chemical Society**, [s.l.], v. 92, n. 9, p. 2721-2724, 2002.
 - 94 MAK, T. C. W.; JASIM, K. S.; CHIEH, C. Spectroscopic and structural studies of some bisdithiocarbamates and cyclic thiones. **Canadian Journal of Chemistry**, [s.l.], v. 62, n. 4, p. 808-813, 1984.
 - 95 LEWANDOWSKA, H., **Spectroscopic Characterization of Nitrosyl Complexes**, in **Nitrosyl Complexes in Inorganic Chemistry, Biochemistry and Medicine I**, D.M.P. Mingos, Editor. 2014, Springer Berlin Heidelberg. p. 115-165.
 - 96 ACCORSI, G., *et al.* 1,10-phenanthrolines: versatile building blocks for luminescent molecules, materials and metal complexes. **Chem Soc Rev**, [s.l.], v. 38, n. 6, p. 1690-1700, 2009.
 - 97 SAUAIA, M. G.; SILVA, R. S. The reactivity of nitrosyl ruthenium complexes containing polypyridyl ligands. **Transition Metal Chemistry**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 254-259, 2003.
 - 98 NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry**. Hoboken: Wiley, 2009.
 - 99 MOSER, W.; CHALMERS, R. A.; FOGG, A. G. The boedeker reaction—I. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, [s.l.], v. 27, n. 4, p. 831-840, 1965.

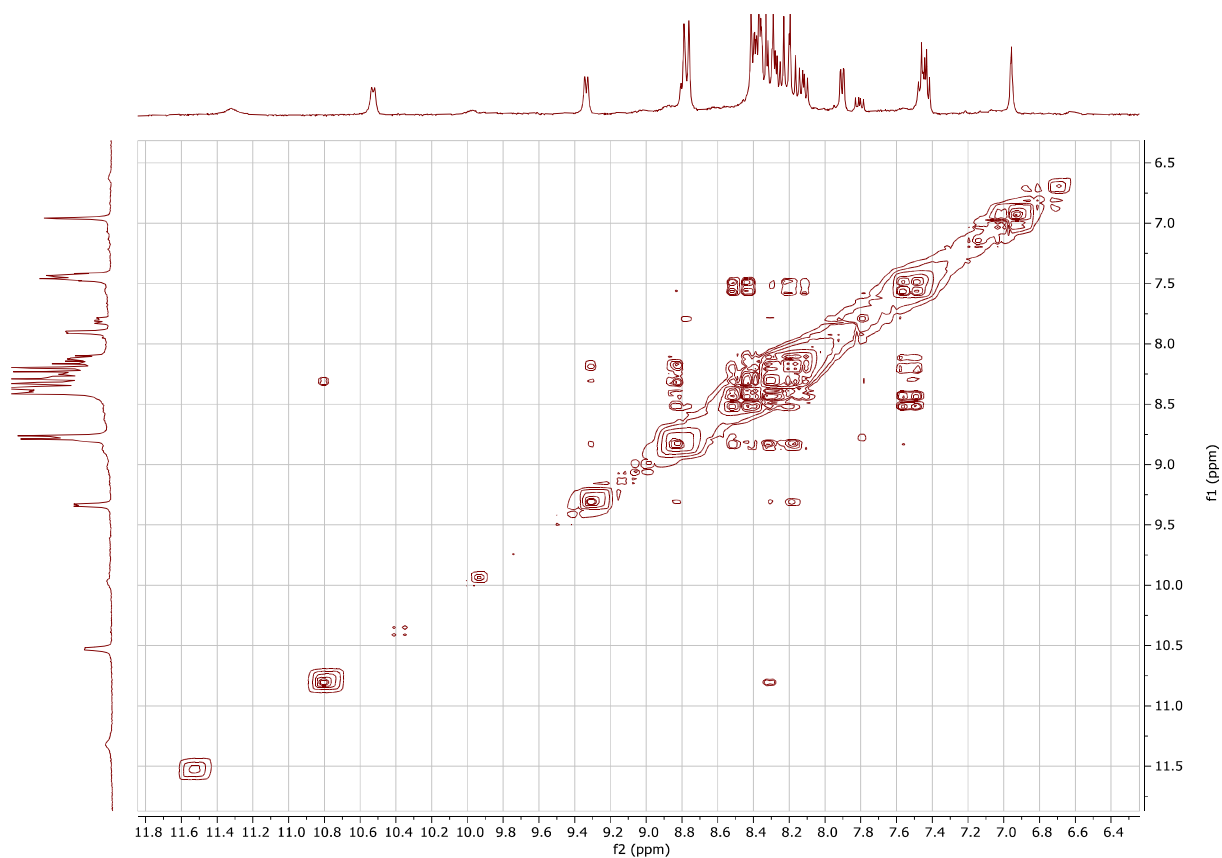
- 100 BOTTOMLEY, F., *et al.* Electrophilic behaviour of nitrosyls: the Boedeker reaction, the reactions of sulphite with nitrosyls, and the crystal and molecular structure of cis-bis(2,2'-bipyridine)chloro(nitrosylsulphito)ruthenium. **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, [s.l.], n. 11, p. 2465-2472, 1983.
- 101 ROVEDA, A. C., Jr., *et al.* Light-activated generation of nitric oxide (NO) and sulfite anion radicals (SO₃⁻) from a ruthenium(ii) nitrosylsulphito complex. **Dalton Trans**, [s.l.], v. 48, n. 29, p. 10812-10823, 2019.
- 102 GARINO, C., *et al.* Determination of the electronic and structural configuration of coordination compounds by synchrotron-radiation techniques. **Coordination Chemistry Reviews**, [s.l.], v. 277-278, p. 130-186, 2014.
- 103 BUČINSKÝ, L., *et al.* On the Electronic Structure of mer,trans-[RuCl₃(1H-indazole)₂(NO)], a Hypothetical Metabolite of the Antitumor Drug Candidate KP1019: An Experimental and DFT Study. **European Journal of Inorganic Chemistry**, [s.l.], v. 2013, n. 14, p. 2505-2519, 2013.
- 104 SOUSA, A. P., *et al.* Antimicrobial activity of cis-[Ru(bpy)₂(L)(L')]⁺ complexes, where L = 4-(4-chlorobenzoyl)pyridine or 4-(benzoyl)pyridine and L' = Cl⁻ or CO. **Polyhedron**, [s.l.], v. 144, p. 88-94, 2018.
- 105 DE SOUSA, A. P., *et al.* A new water-soluble ruthenium(II) carbonyl complex: cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)(CO)]. **Polyhedron**, [s.l.], v. 167, p. 111-118, 2019.
- 106 ORLOWSKA, E., *et al.* NO Releasing and Anticancer Properties of Octahedral Ruthenium-Nitrosyl Complexes with Equatorial 1 H-Indazole Ligands. **Inorg Chem**, [s.l.], v. 57, n. 17, p. 10702-10717, 2018.
- 107 RONCAROLI, F., *et al.* Kinetic, Mechanistic, and DFT Study of the Electrophilic Reactions of Nitrosyl Complexes with Hydroxide. **Inorganic Chemistry**, [s.l.], v. 41, n. 22, p. 5760-5769, 2002.
- 108 CAMPELO, M. W., *et al.* Preconditioning with a novel metallopharmaceutical NO donor in anesthetized rats subjected to brain ischemia/reperfusion. **Neurochem Res**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 749-758, 2012.
- 109 DURHAM, B., *et al.* Synthetic applications of photosubstitution reactions of poly(pyridyl) complexes of ruthenium(II). **Inorganic Chemistry**, [s.l.], v. 19, n. 4, p. 860-865, 1980.
- 110 LIMA, R. G., *et al.* Controlled nitric oxide photo-release from nitro ruthenium complexes: The vasodilator response produced by UV light irradiation. **Inorganica Chimica Acta**, [s.l.], v. 358, n. 9, p. 2643-2650, 2005.
- 111 PAULAT, F., *et al.* Spectroscopic properties and electronic structure of pentammineruthenium(II) dinitrogen oxide and corresponding nitrosyl complexes: binding mode of N(2)O and reactivity. **Inorg Chem**, [s.l.], v. 43, n. 22, p. 6979-6994, 2004.

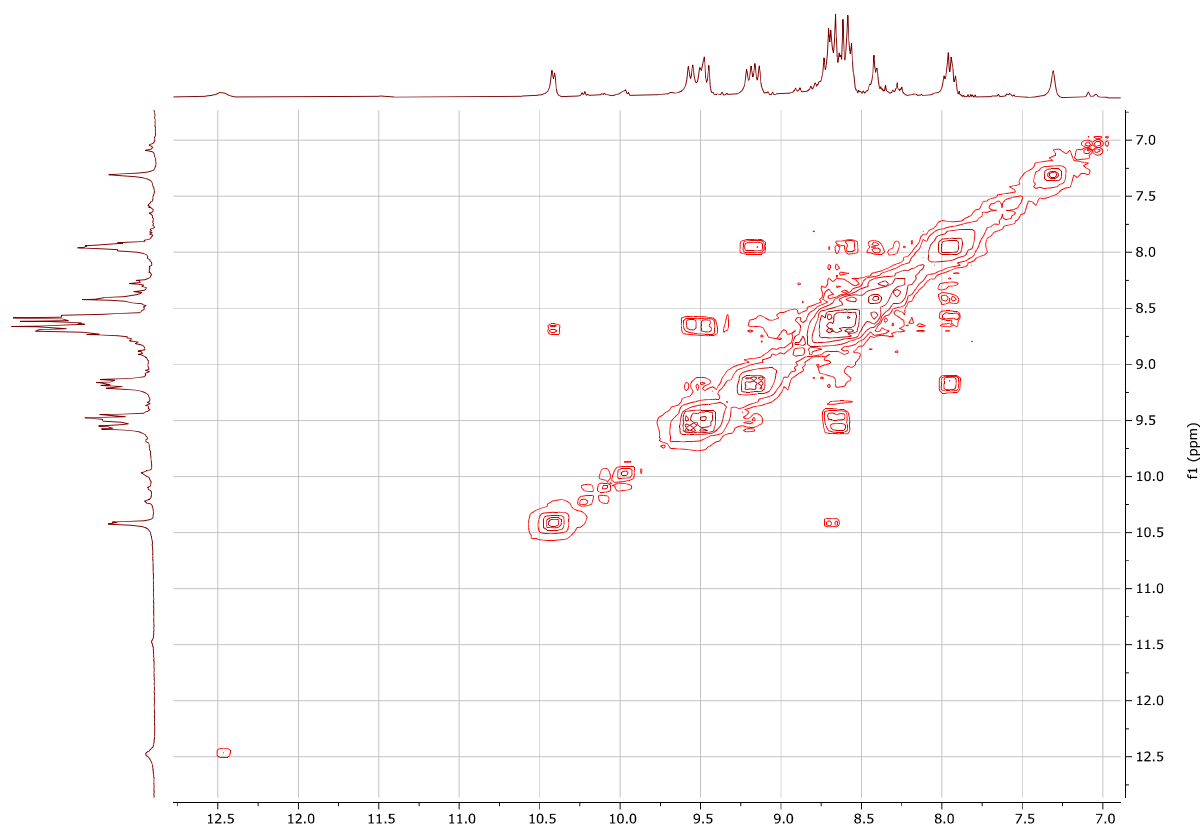
- 112 SILVA, F. O., *et al.* Mechanism and biological implications of the NO release of cis-[Ru(bpy)₂L(NO)](n⁺) complexes: a key role of physiological thiols. **J Inorg Biochem**, [s.l.], v. 105, n. 5, p. 624-629, 2011.
- 113 SILVA SOUSA, E. H., *et al.* Thiol-Activated HNO Release from a Ruthenium Antiangiogenesis Complex and HIF-1alpha Inhibition for Cancer Therapy. **ACS Chem Biol**, [s.l.], v. 11, n. 7, p. 2057-2065, 2016.
- 114 METZKER, G., *et al.* Reaction of ruthenium(II) complexes with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) and hydroxyl radicals. **Canadian Journal of Chemistry**, [s.l.], v. 92, n. 8, p. 788-793, 2014.
- 115 HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Oxford University Press, 2015.
- 116 GUIDO, L. F. Sulfites in beer: reviewing regulation, analysis and role. **Scientia Agricola**, [s.l.], v. 73, n. 2, p. 189-197, 2016.
- 117 BELLES, M., *et al.* Sulfite-free lamb burger meat: antimicrobial and antioxidant properties of green tea and carvacrol. **J Sci Food Agric**, [s.l.], v. 99, n. 1, p. 464-472, 2019.
- 118 BARTESAGHI, S.; RADI, R. Fundamentals on the biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. **Redox Biol**, [s.l.], v. 14, p. 618-625, 2018.
- 119 PÉREZ DE LA LASTRA, J. M., *et al.* The Nitration of Proteins, Lipids and DNA by Peroxynitrite Derivatives-Chemistry Involved and Biological Relevance. **Stresses**, [s.l.], v. 2, n. 1, p. 53-64, 2022.
- 120 KITCHEN, D. B., *et al.* Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nat Rev Drug Discov**, [s.l.], v. 3, n. 11, p. 935-949, 2004.
- 121 YURIEV, E.; RAMSLAND, P. A. Latest developments in molecular docking: 2010-2011 in review. **J Mol Recognit**, [s.l.], v. 26, n. 5, p. 215-239, 2013.
- 122 MA, D.-L.; CHAN, D. S.-H.; LEUNG, C.-H. Molecular docking for virtual screening of natural product databases. **Chem. Sci.**, [s.l.], v. 2, n. 9, p. 1656-1665, 2011.
- 123 CHEN, Y.; SHOICHET, B. K. Molecular docking and ligand specificity in fragment-based inhibitor discovery. **Nat Chem Biol**, [s.l.], v. 5, n. 5, p. 358-364, 2009.
- 124 USHAIAH, B., *et al.* Synthesis, characterization, antibacterial, DNA binding and cleavage studies of mixed ligand Cu(II), Co(II) complexes. **J Fluoresc**, [s.l.], v. 24, n. 6, p. 1687-1699, 2014.
- 125 SHARMA, V.; SHARMA, P. C.; KUMAR, V. In Silico Molecular Docking Analysis of Natural Pyridoacridines as Anticancer Agents. **Advances in Chemistry**, [s.l.], v. 2016, p. 1-9, 2016.

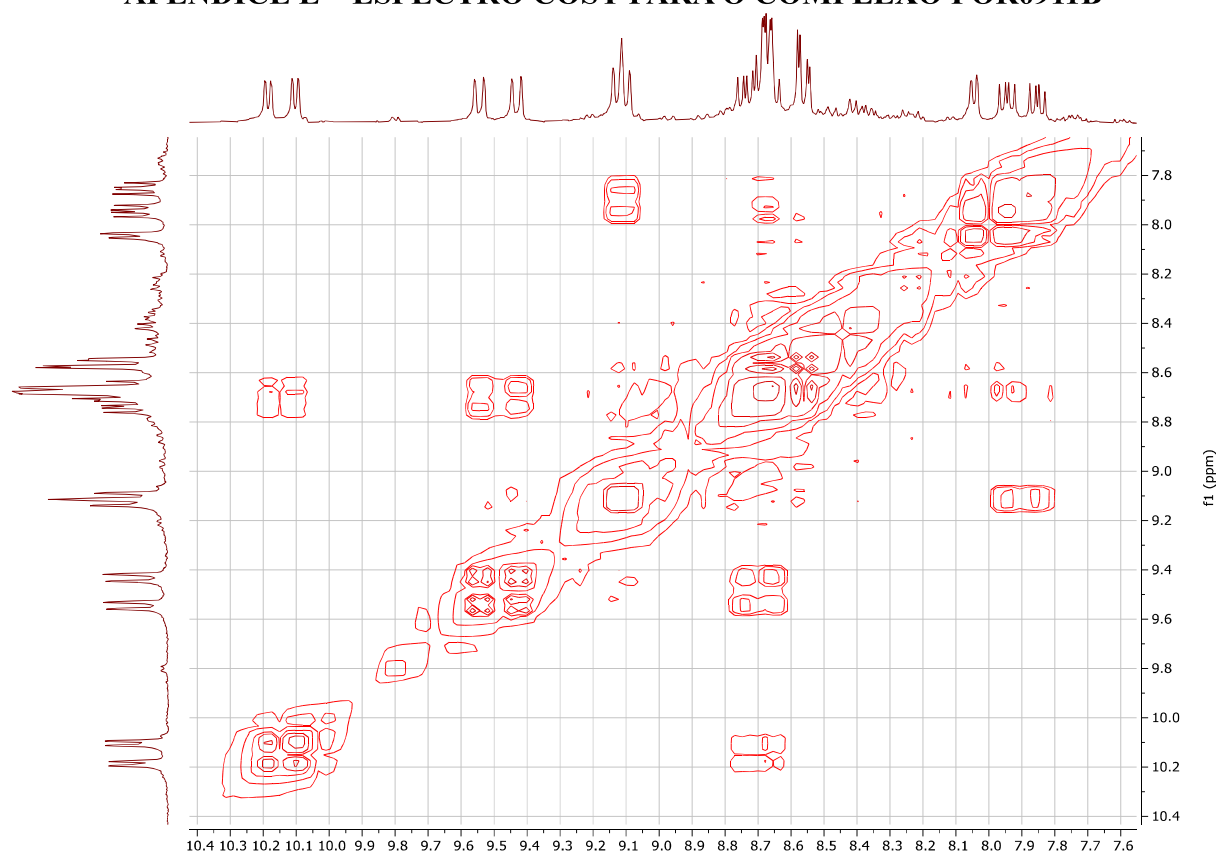
- 126 GUPTA, R. K., *et al.* DNA/protein binding, molecular docking, and in vitro anticancer activity of some thioether-dipyrrinato complexes. **Inorg Chem**, [s.l.], v. 52, n. 24, p. 13984-13996, 2013.
- 127 NAYAB, P. S., *et al.* Evaluation of DNA Binding, Radicals Scavenging and Antimicrobial Studies of Newly Synthesized N-Substituted Naphthalimides: Spectroscopic and Molecular Docking Investigations. **J Fluoresc**, [s.l.], v. 25, n. 6, p. 1905-1920, 2015.
- 128 PEREIRA ADE, C., *et al.* Ruthenium-nitrite complex as pro-drug releases NO in a tissue and enzyme-dependent way. **Nitric Oxide**, [s.l.], v. 24, n. 4, p. 192-198, 2011.
- 129 YANG, C. T., *et al.* Data-Driven Identification of Hydrogen Sulfide Scavengers. **Angew Chem Int Ed Engl**, [s.l.], v. 58, n. 32, p. 10898-10902, 2019.
- 130 MIYAZAKI, Y., *et al.* A Sulfonyl Azide-Based Sulfide Scavenger Rescues Mice from Lethal Hydrogen Sulfide Intoxication. **Toxicol Sci**, [s.l.], v. 183, n. 2, p. 393-403, 2021.

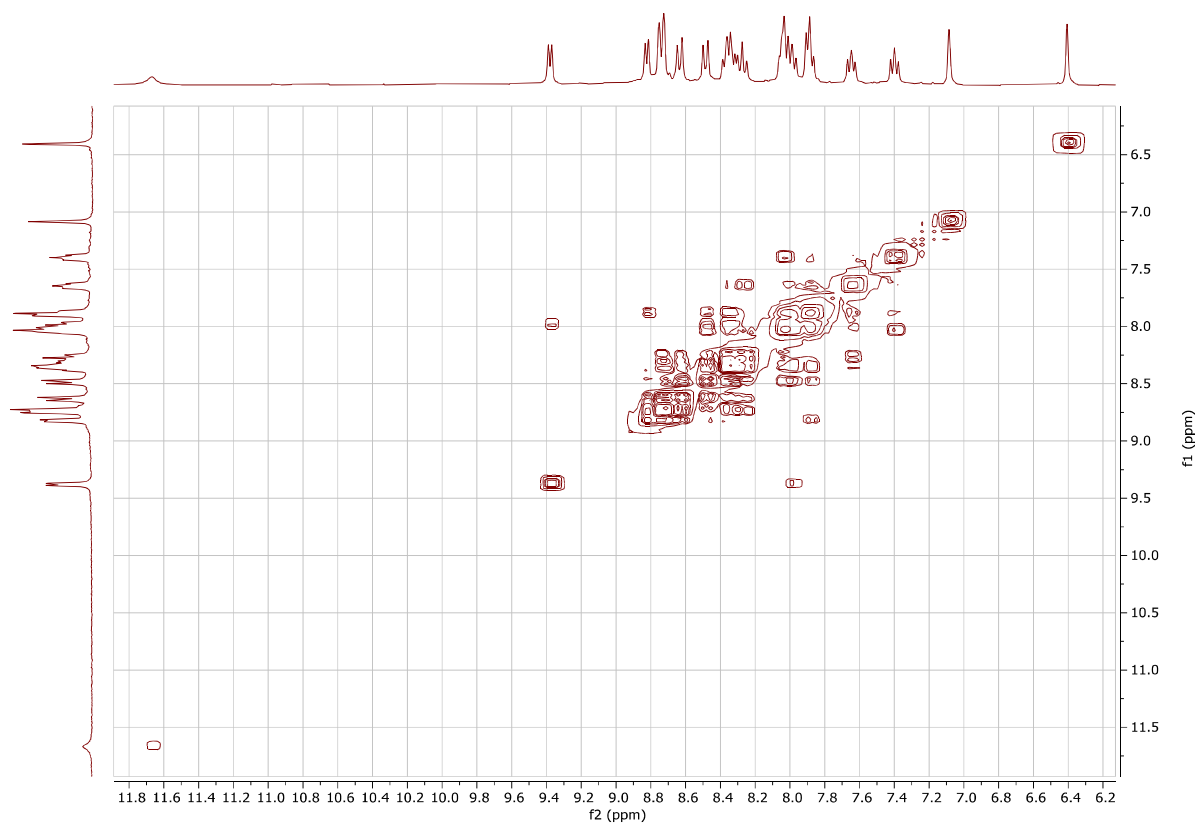
APÊNDICE A – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0211A

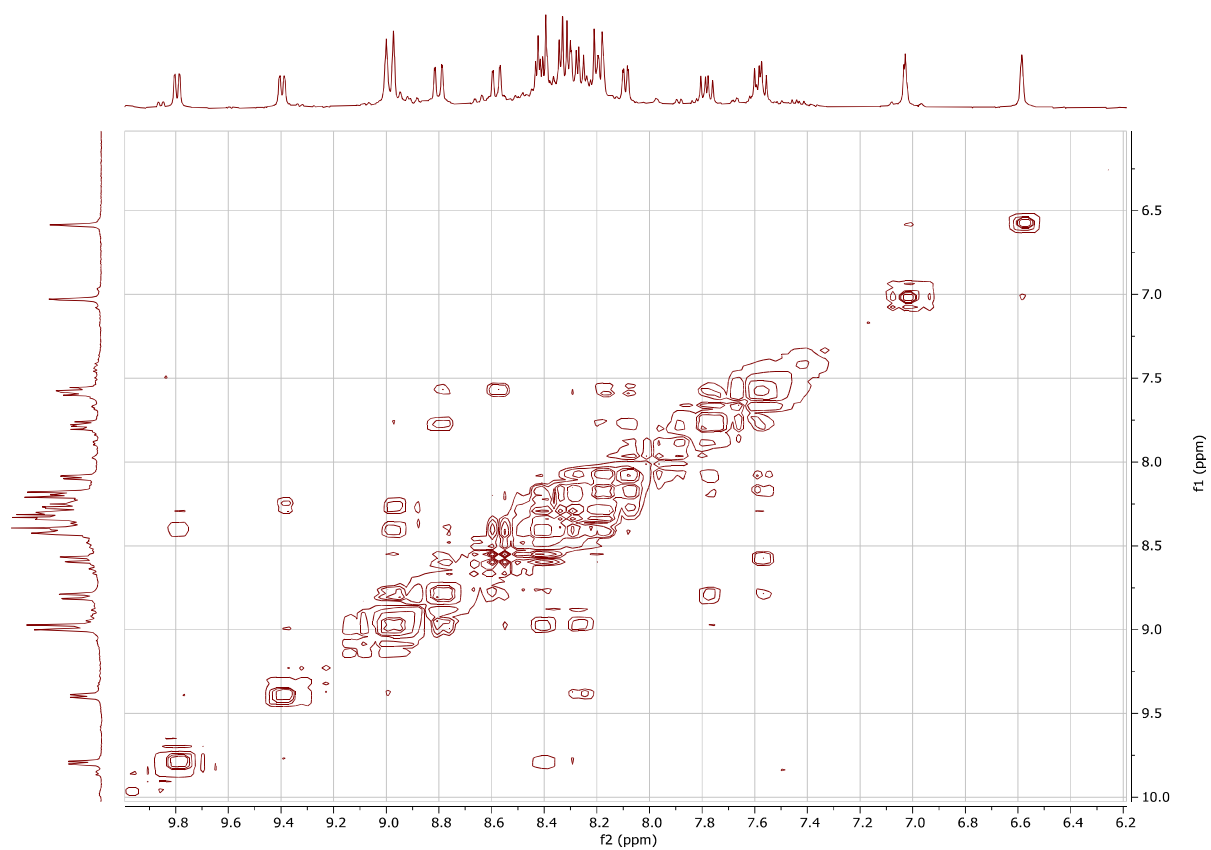
APÊNDICE B – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0211B

APÊNDICE C – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0611A

APÊNDICE D – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0911A

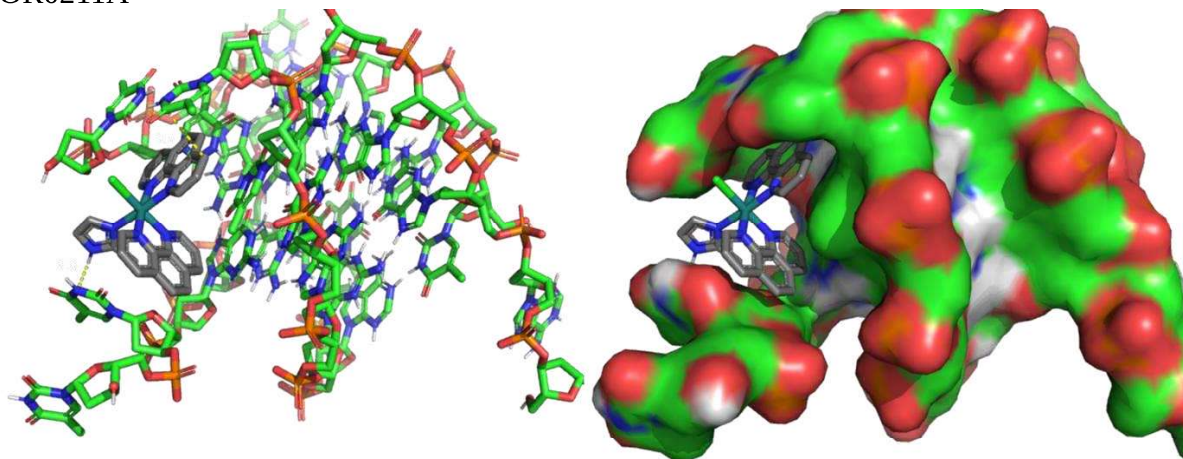
APÊNDICE E – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO FOR0911B

APÊNDICE F – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO NS011A

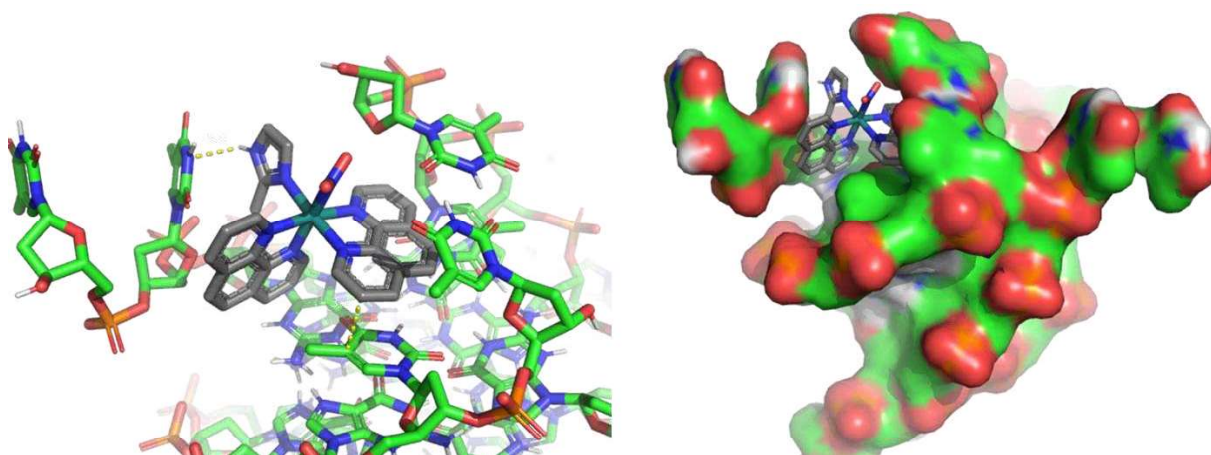
APÊNDICE G – ESPECTRO COSY PARA O COMPLEXO NS211A

**APÊNDICE H – CONFORMAÇÕES MAIS ESTÁVEIS PARA SIMULAÇÕES DE
DOCKING MOLECULAR ENTRE O RECEPTOR G4DNA E COMPLEXOS DE
RUTÊNIO**

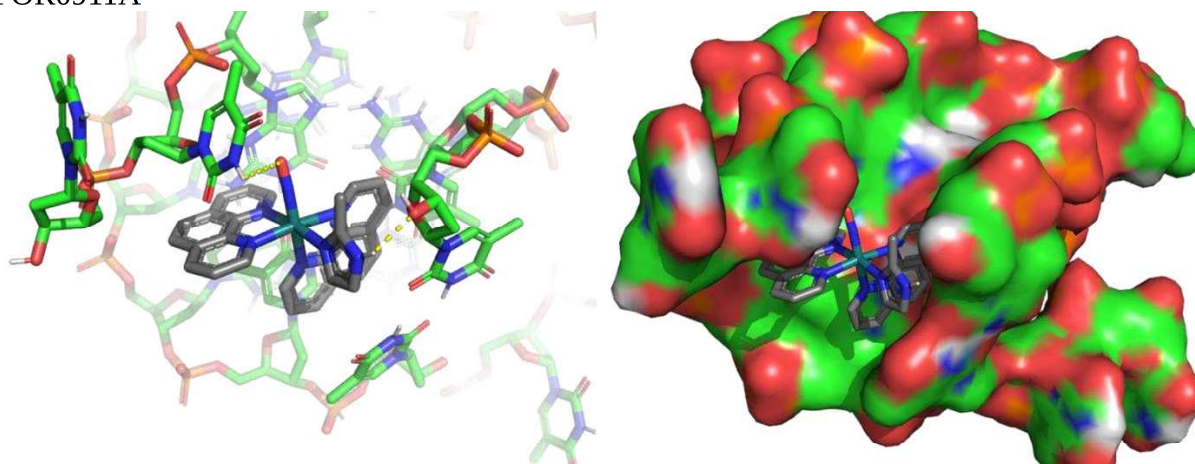
FOR0211A



FOR0611A

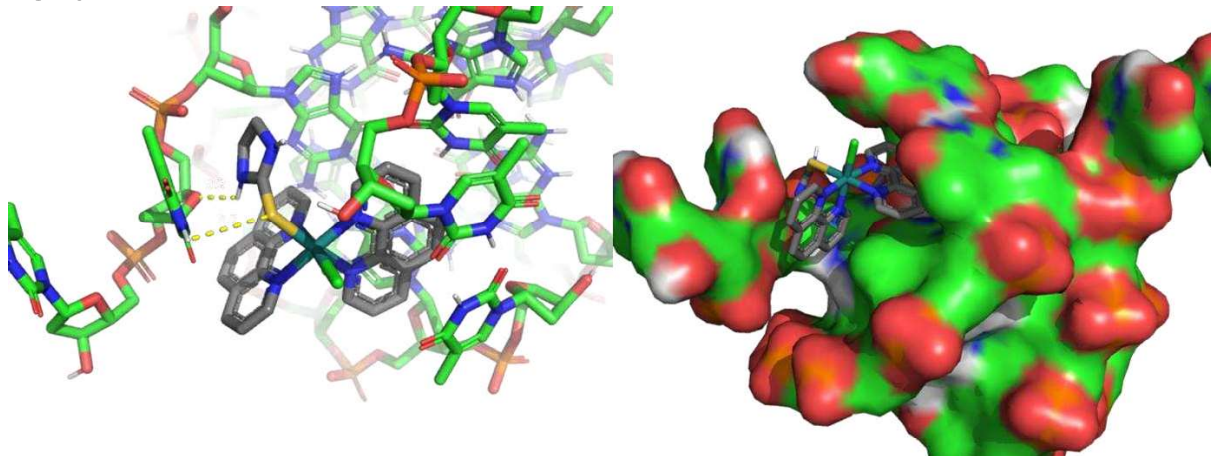


FOR0911A

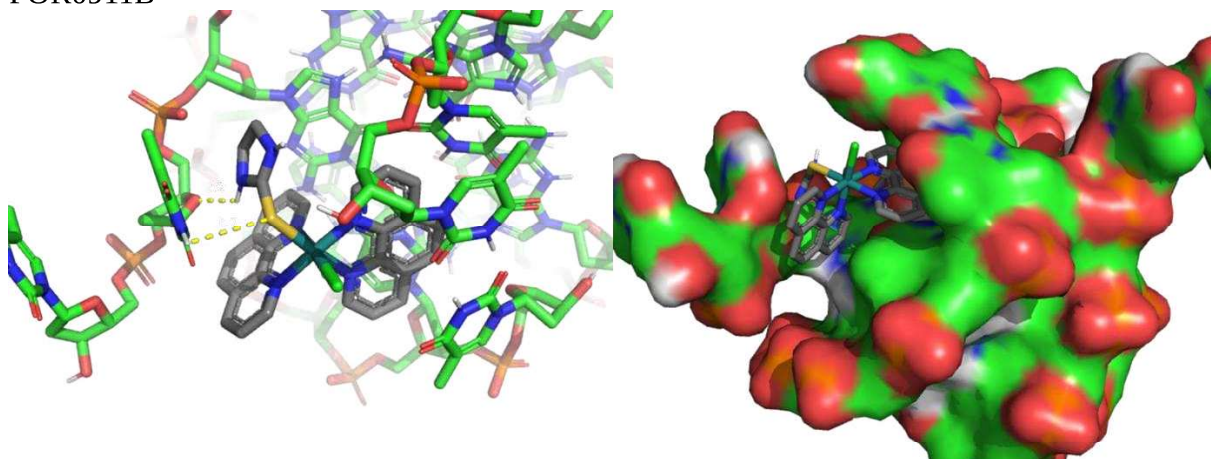


**APÊNDICE H – CONFORMAÇÕES MAIS ESTÁVEIS PARA SIMULAÇÕES DE
DOCKING MOLECULAR ENTRE O RECEPTOR G4DNA E COMPLEXOS DE
RUTÊNIO (CONTINUAÇÃO)**

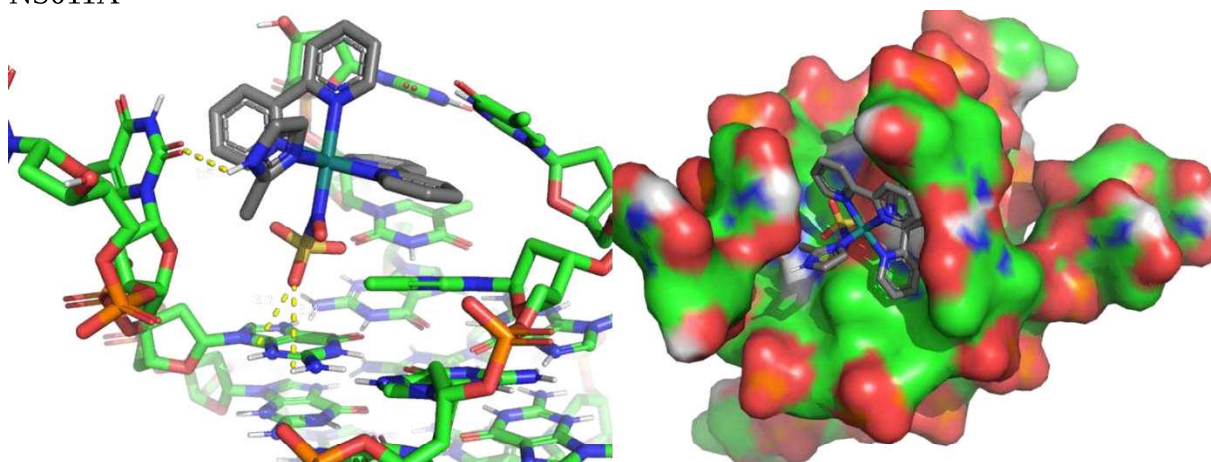
FOR0211B



FOR0911B

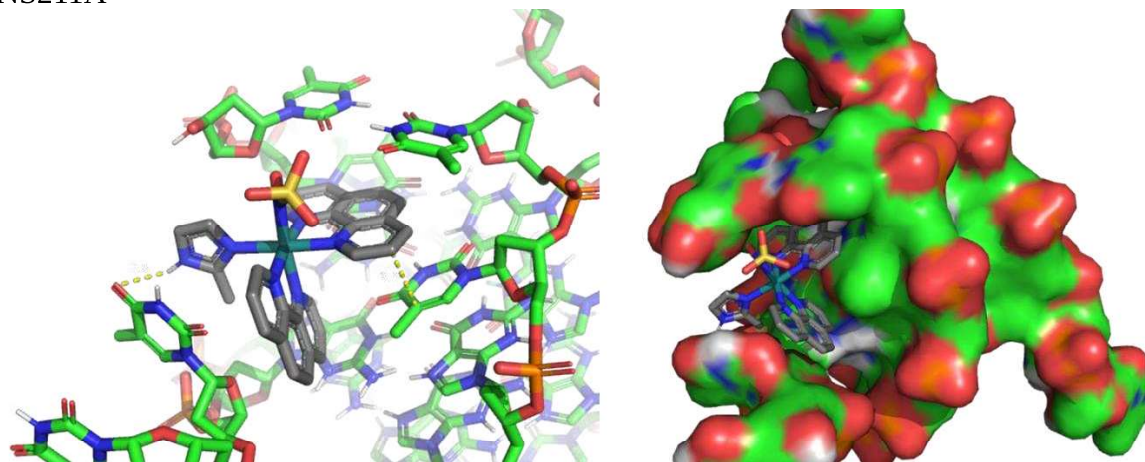


NS011A



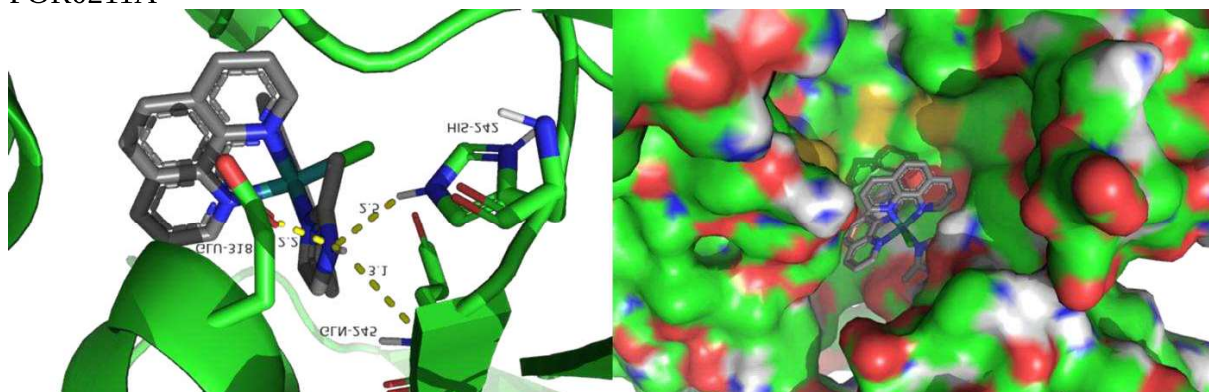
**APÊNDICE H – CONFORMAÇÕES MAIS ESTÁVEIS PARA SIMULAÇÕES DE
DOCKING MOLECULAR ENTRE O RECEPTOR G4DNA E COMPLEXOS DE
RUTÊNIO (CONTINUAÇÃO)**

NS211A

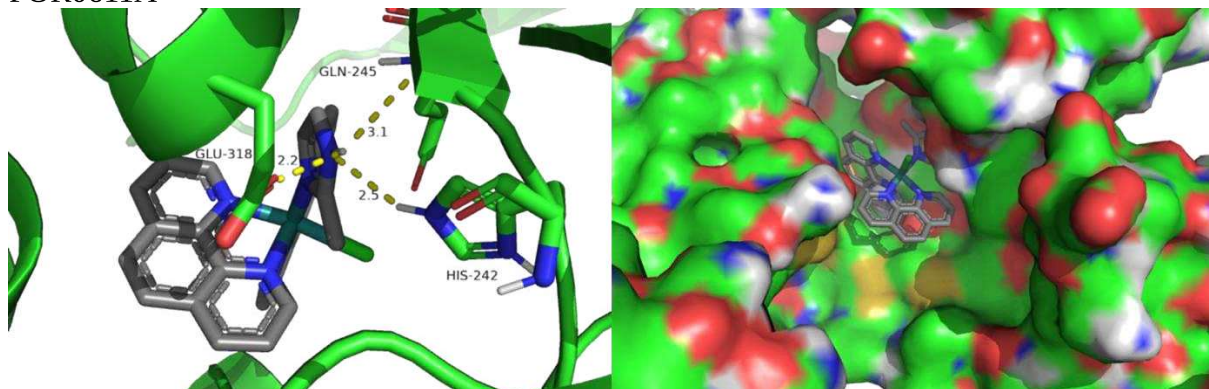


**APÊNDICE I – CONFORMAÇÕES MAIS ESTÁVEIS PARA SIMULAÇÕES DE
DOCKING MOLECULAR ENTRE O RECEPTOR ATf E COMPLEXOS DE
RUTÊNIO**

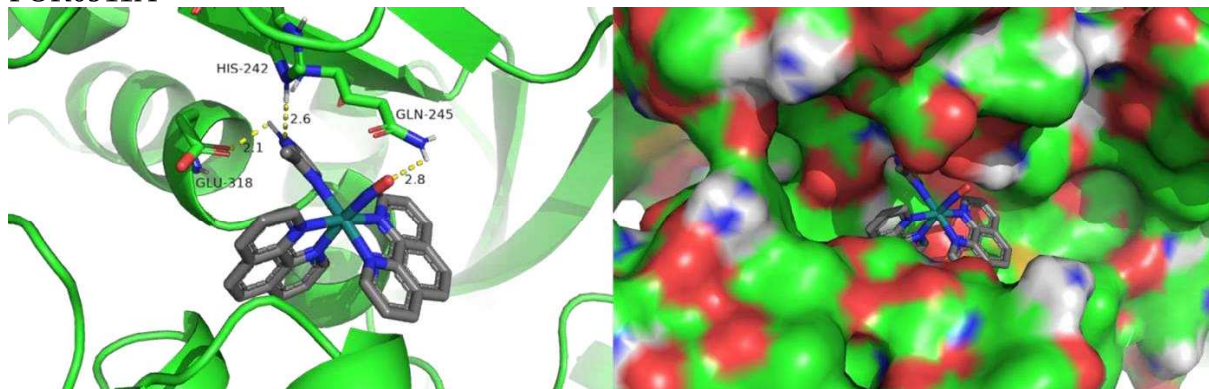
FOR0211A



FOR0611A

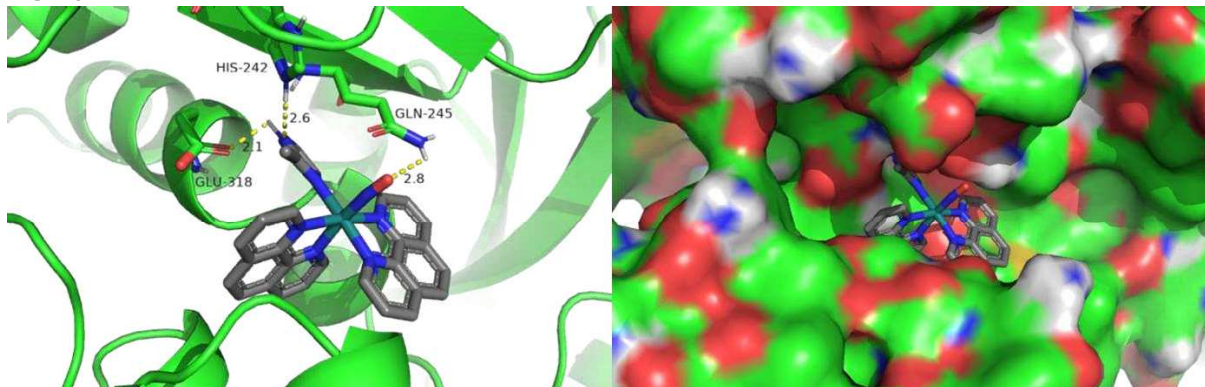


FOR0911A

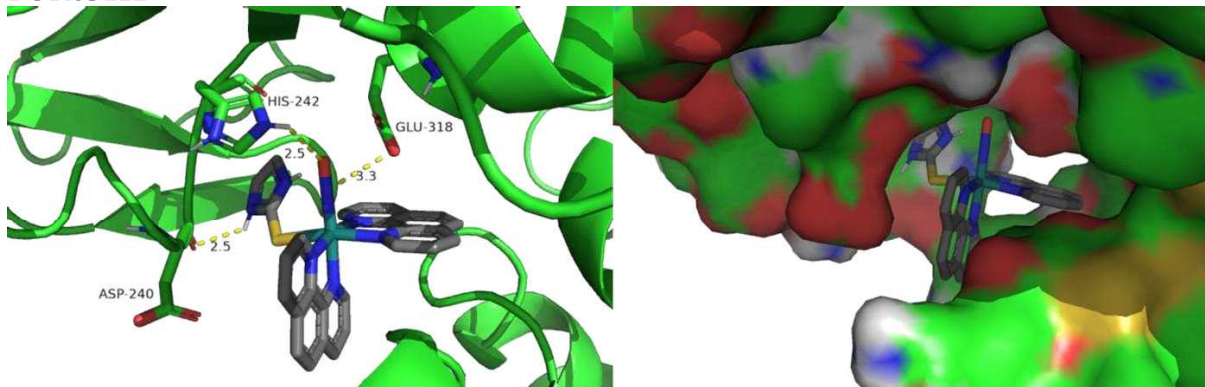


**APÊNDICE I – CONFORMAÇÕES MAIS ESTÁVEIS PARA SIMULAÇÕES DE
DOCKING MOLECULAR ENTRE O RECEPTOR ATf E COMPLEXOS DE
RUTÊNIO (CONTINUAÇÃO)**

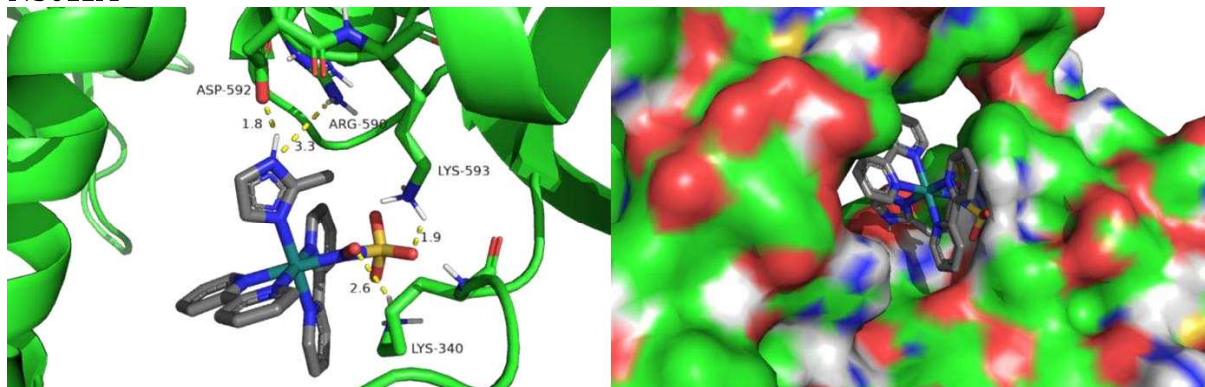
FOR0211B



FOR0911B



NS011A



**APÊNDICE I – CONFORMAÇÕES MAIS ESTÁVEIS PARA SIMULAÇÕES DE
DOCKING MOLECULAR ENTRE O RECEPTOR ATf E COMPLEXOS DE
RUTÊNIO (CONTINUAÇÃO)**

NS211A

