



Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Reatividade química e fotoquímica de complexos nitrosilos de rutênio do tipo $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{n+}$

Renata Galvão de Lima

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das
exigências para a obtenção do título de Doutor em
Ciências, Área: **Química**

RIBEIRÃO PRETO - SP
2006



Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Reatividade química e fotoquímica de complexos nitrosilos de rutênio do tipo $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{n+}$

Renata Galvão de Lima
Orientada

Prof. Dr. Roberto Santana da Silva
Orientador

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das
exigências para a obtenção do título de Doutor em
Ciências, Área: **Química**

RIBEIRÃO PRETO – SP
2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca Central do Campus Administrativo
de Ribeirão Preto / USP.

de Lima, Renata Galvão

Reatividade química e fotoquímica de complexos
nitrosilos de rutênio do tipo $[\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO}]^{n+}$
259 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto / USP - Depto
de Química.

Orientador: Silva, Roberto Santana da

1. Complexos de rutênio. 2. Ligantes nitrosilos.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Folha de Aprovação

Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de Renata Galvão de Lima,
apresentada ao Departamento de Química, da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de

Ribeirão Preto, ___/___/___.

Comissão Julgadora:

(Nome/Instituição)

(Nome/Instituição)

(Nome/Instituição)

(Nome/Instituição)

(Nome/Instituição)

Agradeço,

a Deus, pela oportunidade de viver intensamente todos os momentos da minha vida e aprender a tirar desses momentos um a só certeza, o amor.

*Dedico este trabalho aos meus pais, Delson e Fátima, ao amor da minha vida,
minha sobrinha Gabriela e aos meus avós José Bento e Angélica, pelo
incentivo, compreensão, dedicação e acima de tudo pelo amor e carinho por
mim.*

*Tudo que eu sou e tenho, eu devo a vocês. Espero poder estar sempre fazendo
muito mais por nós.*

Quero também dedicar este trabalho ao meu "Chefe", o Prof. Dr. Roberto Santana da Silva.

O "Chefe" é um exemplo de pesquisador, de humildade, de amizade, de solidariedade e de conselheiro.

Como orientador, conseguir formar não um grupo, mas uma família que pesquisa.

Eu só tenho que agradecer o privilégio de ter convivido com ele esses 6 anos.

"Chefe" muito obrigada por você ter acreditado em mim !!!!!

Agradecimentos

Aos amigos do Laboratório de Química Analítica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas:

Luisinho, Perpétua (Per), Solange e Rosana, pelo apoio técnico e companherismo.

Aos professores Tadao, Luiz Fernando, Pierina, Rose, Zequi e Sofia.

A turma do CROEC Carmecita, Analú, Fernando, Anderson e Igor.

As minhas amigas, companheiras de trabalho e irmãs de coração Marília e Fabiana. Obrigada por nunca concordarem comigo (rs). Isso só fez com que nossa amizade torna-se mais sincera e consolidada.

Ao Mario, um exemplo de hombridade e amizade. Esse "meu garoto" tem futuro!!!. Ao Wagnão.

A Prof. Dr. Zênis Novais da Rocha (UFBA), a minha mocréia preferida. Obrigada pelo incentivo, conselhos, receptividade e carinho ao me receber na Bahia.

As minhas amigas de hoje e sempre, as doutoras Fabiana (Sertão) e Eliana.

A Vanessa (Sheila) pela receptividade na adaptação no laboratório Vanessa (Pir) pelos papos e festinhas.

A Flávia (mãe da Bibi), meu irmão André e aos meus primos Rafael, Rodrigo e Ingrid.

As iniciações científicas, Angélica, Ana Rita, Gisele e Roberta.

A Profa. Dra. Renata Fonseca Vianna Lopez do Laboratório de Farmacotécnica da FCFRP-USP e as mestrandas Thais e Dany.

A Profa. Dra. Lusiane M. Bendhack do Laboratório de Farmacologia da FCFRP-USP, a doutora Daniella Bonaventura e a aluna Camila.

A Profa. Dra. Enilza M. Spreafico do Laboratório de Biologia Celular da FMRP-USP e a mestranda Paula.

Ao Prof. Dr. Antonio Cláudio Tedesco do Laboratório de Fotobiologia da FFCLRP-USP e as alunas Geane, Andreza e Alessandra.

Ao Prof. Dr. Iuri M. Pepe do Laboratório de Física da UFBA.

As Profa. (s) Dra. (s) Nádia José Mamede, Soraiá Teixeira Brandão, Maria Luisa Correia da UFBA e aos alunos da UFBA

Ao Prof. Dr. Elia Tfouni do Laboratório de Inorgânica da FFCLRP-USP e os doutorandos Fábio Doro, Fábio Watanabe, Yve e Anderson.

Ao doutorando Álvaro Cunha da FFCLRP-USP, pela ajuda no entendimento dos cálculos teóricos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química da FFCLRP-USP.

As funcionárias da seção de Pós-Graduação da FFCLRP.

A Capes pelo apoio financeiro.

E finalmente agradeço a todos que colaboraram direta ou indiretamente na execução desse trabalho.

SUMÁRIO

Índice de Esquemas

Índice de Figuras

Índice de Tabelas

Lista de Abreviaturas

RESUMO

ABSTRAT

1. Introdução.....	1
1.1. Propriedades físico-químicas do óxido nítrico	3
1.2. Complexos Metálicos na Medicina.....	9
1.3. Complexos nitrosilos de rutênio.....	13
1.4. Complexos contendo ligação Ru-NO ₂ como fonte geradora de NO	16
1.5. Aspectos Gerais da Química de Complexos de Rutênio-Dioxoleno	19
1.6. Fotoquímica	22
1.6.1. Leis da Fotoquímica.....	23
1.6.2. Fotoquímica de Compostos de Coordenação	24
1.7. Terapia Fotodinâmica de tecidos neoplásicos	33
1.8. Liberação Controlada de Fármacos	37
1.8.1. Microemulsões	37
1.8.2. Matrizes Sólidas	38
2-Objetivos.....	41
3-Justificativa.....	43
4. Materiais e Métodos	44
4.1. Gás Argônio	46
4.2. Medidas de pH	46
4.3. Análise Elementar.....	46
4.4. Espectroscopia na região do infravermelho	47
4.5. Espectroscopia na região do ultravioleta-visível	47
4.6. Preparação de Soluções Tampões.....	47
4.7. Espectrofluorometria.....	48
4.8. Voltametria cíclica e de pulso diferencial	48

4.9. Espectroeletróquímica	49
4.10. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	50
4.11. Experimentos Fotoquímicos	51
4.11.1. Medida da intensidade de luz incidente (I_s).....	51
4.11.2. Actinometria com ferrioxalato de potássio (RABEK, 1982)	52
4.11.3. Actinometria com sal de Reinecke (PAVANIN, 1988; RABEK, 1982)	54
4.12. Determinação amperométrica do NO liberado	56
4.12.1. Calibração do NOmeter.....	57
4.13. Irradiação dos complexos	60
4.14. Cálculo do rendimento quântico (ϕ_{NO})	61
4.15. Estudo dos estados excitados tripletes	62
4.16. Síntese dos compostos de rutênio	63
4.16.1. (RuCl ₃ (terpy)) (SULLIVAN et al., 1980)	64
4.16.2. (RuCl(bpy)(terpy))Cl (TAKEUCHI et al., 1984)	64
4.16.3. (Ru(bpy)(terpy)NO)(PF ₆) ₃ (MURPHY et al., 1986)	64
4.16.4. (RuCl(bdqj-COOH)(terpy))Cl.....	65
4.16.5. Purificação do (RuCl(bdqj-COOH)(terpy))Cl.....	65
4.16.6. (Ru(terpy)(bdqj-COOH)NO)(PF ₆) ₃	66
4.16.7. (Ru(terpy)(bdcat-COOH)NO)(PF ₆) ₃	66
4.16.8. (RuCl(terpy)(2-pySH) ₂)PF ₆	66
4.16.9. (Ru(terpy)(pySH) ₂ NO)(PF ₆) ₃	67
4.16.10. (RuCl ₃ NO)	67
4.16.11. (RuCl ₂ (terpy)NO)Cl.....	68
4.16.12. Síntese do complexo fotossensibilizador (Ru(NH ₃) ₅ (pz))(PF ₆) ₂	68
4.17. Ensaio Farmacotécnicos	68
4.17.1. Preparação de microemulsão.....	69
4.17.2. Estudo de liberação	69
4.18. Preparação dos Filmes Sol Gel e Silicone	70
4.18.1. Medidas de Difração de Raio-x.....	71
4.18.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	71
4.18.3. Espectros Eletrônicos no Estado Sólido	71
4.19. Liberação de NO a partir dos sistemas de liberação <i>in vitro</i>	72

4.20. Análise Indireta de Íons Cloreto por Espectrometria de Absorção Atômica ..	72
4.21. Ensaios Farmacológicos	73
4.22. Cultura de Célula	75
4.22.1. Linhagens de Células	75
4.22.2. Análise da viabilidade celular pelo ensaio do MTT	75
4.22.3. Análise do Conteúdo de DNA por Citometria de Fluxo.....	76
4.23. Imobilização Eletrodo de Ouro	76
4.24. Cálculo Teórico para os complexos $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$, L = bpy e bdcacat-COOH.....	77
5. Resultados e Discussão	78
5.1. Sínteses.....	78
5.2. Caracterização dos Complexos de Rutênio	79
5.2.1. Espectroscopia na região do Infravermelho	79
5.2.1.1. Complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)(PF_6)_3$	80
5.2.1.2. Complexos $(Ru(terpy)(L)NO)(PF_6)_3$ L = bdcacat-COOH e bdqi-COOH.....	82
5.2.1.3. Complexo $(Ru(terpy)(2-pySH)_2NO)(PF_6)_3$	85
5.3. Espectroscopia na região do UV-visível	90
5.3.1. Complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$	92
5.3.2. Complexo $(RuCl_2(terpy)NO)^+$	94
5.3.4. Complexos $(Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ e $(Ru(bdcacat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$	97
5.4. Estudo Eletroquímico. Voltametria cíclica e de pulso diferencial	101
5.4.1. Voltametria cíclica e de pulso diferencial em meio aquoso.....	101
5.4.1.1. Complexos $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$ L = bdcacat-COOH e bdqi-COOH	102
5.4.1.2. Complexo $(Ru(terpy)(2-pySH)_2NO)^{3+}$	118
5.5. Estudos Fotoquímicos	123
5.5.1. Fotoquímica dos complexos $(Ru(terpy)(L)NO)(PF_6)_3$, L = Cl ⁻ , bpy, bdcacat-COOH e bdqi-COOH com irradiação em 355 nm.....	124
5.5.1.2. Complexo $(RuCl_2(terpy)NO)^+$	124
5.5.1.3. Complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$	129
5.5.1.4. Complexos $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$ L = bdcacat-COOH e bdqi-COOH	135
5.5.1.5. Complexo $(Ru(NO_2)(bpy)(terpy))^+$	142

5.5.2. Rendimento quântico da liberação de NO (ϕ_{NO}) em 355 nm dos complexos de rutênio	147
5.5.3. Estudo Fotoquímico para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ sob irradiação em 532 nm.	148
5.6. Fotossensibilização	151
5.7. Estudo Fotofísicos no Estado Excitado para os Complexo $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$ (L=bpy e bdcac-COOH)	162
5.8.Reatividade Cinética dos Complexos $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$ L = bpy e bdqi-COOH	174
6. Sistemas de Liberação para os Complexos Nitrosilos de Rutênio.....	179
6.1. Estudo de Eletroatividade do complexo $(Ru(terpy)(2-pySH)_2NO)^{3+}$ imobilizado em eletrodo de ouro	179
6.2 Desenvolvimento de Filmes Sol-Gel e Silicone Encapsulados com Complexos Nitrosilos de Rutênio	183
6.3. Estudo Farmacotécnico para o Complexo Nitro Rutênio $(Ru(NO_2)(bpy)(terpy))^+$	197
7. Estudos Biológicos	201
7.1. Estudo de vasodilatação em aorta de rato para os complexos nitrosilos de rutênio	201
7.2. Resultados Preliminares do Efeito do Óxido Nítrico em Cultura de Células Neoplásicas.....	206
8. Resultados dos Cálculos Teóricos para os complexos $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$, onde L= bpy e bdcac-COOH.....	211
9. Considerações Finais	216
10. Referências Bibliográficas	217
11. Apêndice.....	254
11.1. Artigos publicados em periódicos indexados	254
11.2. Artigos publicados em periódicos indexados, relacionados à química de complexos nitrosilos de rutênio	256

Índice de Esquemas

Esquema 1. Etapas de reações de oxidação do NO formando ERONs (IGNARRO, 2000).	8
Esquema 2. Reação de conversão de nitrosil em nitrito coordenado ao metal rutênio.	16
Esquema 3. reação fotoquímica para o anion nitrito.	16
Esquema 4. mecanismos fotoquímicos para os complexos de nitrito.	18
Esquema 5. mecanismo de fotoisomerização para o complexo $(\text{Co}(\text{NH}_3)_5(\text{NO}_2))^{2+}$	18
Esquema 6. Mecanismo fotoquímico para o complexo $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO}_2)\text{P}(\text{OEt}))$ irradiado em 355 nm.....	19
Esquema 7. Processos de fotoreatividade para complexos Ru(II)-polipiridínicos. ...	31
Esquema 8. Mecanismo de fotosubstituição para complexos do tipo $(\text{Ru}(\text{terpy})\text{L}_3)^{2+}$ (SUEN et al., 1989).	31
Esquema 9. Mecanismo fotoquímico para liberação do ligante nitrosil.	32
Esquema 10. Geração de EROs pelo mecanismo do tipo I.	35
Esquema 11. Rota sintética para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO}^+)(\text{PF}_6)_n$	63
Esquema 12. formas tautoméricas para o ligante 2-mercaptopiridina.	85
Esquema 13. Processo eletroquímico global para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$, L = bdcat-COOH e bdqi-COOH.	102
Esquema 14. Provável mecanismo eletroquímico para o complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^+$ em meio aquoso.	117
Esquema 15. Mecanismo eletroquímico para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ L = bdcat-COOH (A) e bdqi-COOH (B) em meio aquoso.	118
Esquema 16. Mecanismo eletroquímico para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em meio aquoso.	122
Esquema 17. Provável mecanismo fotoquímico para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ sob irradiação em 355 nm.	129

Esquema 18. Mecanismo fotoquímico do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm (de LIMA et al., 2005b).....	134
Esquema 19. Reatividade fotoquímica do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm.	139
Esquema 20. Mecanismo fotoquímico do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm.	142
Esquema 21. Mecanismo fotoquímico para <i>trans</i> - $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO}_2)\text{P}(\text{OEt})_3)(\text{PF}_6)$ com $\lambda_{\text{irr}} = 355 \text{ nm}$ (CARLOS et al., 2004b).....	145
Esquema 22. Reações fotoquímicas geradas pela irradiação em 355 nm da espécie $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ (de LIMA et al., 2005a).....	147
Esquema 23. Provável mecanismo fotoquímico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 532 nm.	151
Esquema 24. Esquema fotoquímico da mistura $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$	162
Esquema 25. Diagrama de energia simplificado para o mecanismo fotoquímico do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm. a: irradiação em 355 nm; b: decaimento radiativo de fosforescência; c: cruzamento intersistemas, d: decaimento térmico.	173
Esquema 26: Provável mecanismo fotoquímico para os complexos $\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO}^{3+}$ encapsulados em membranas sol-gel e silicone sob irradiação do ultravioleta e visível.	196

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema simplificado da biossíntese de óxido nítrico (BUTTLER, 1995),.....	2
Figura 2. Diagrama qualitativo e simplificado de orbitais moleculares do óxido nítrico.....	4
Figura 3. Esquema dos orbitais moleculares envolvidos na ligação de um metal com o ligante nitrosil.....	6
Figura 4. Estados de oxidação de ligantes dioxoleno (EBADI & LEVER, 1999).	20
Figura 5. Diagrama de Jablonsky. $h\nu$ = absorção, k_{ic} = decaimento não radiativo, k_f = decaimento radiativo (fluorescência), k_{rs} = reação fotoquímica a partir do estado singlete excitado, k_{isc} = conversão intersistema, k_p = decaimento radiativo (fosforescência) e k_{rt} = reação fotoquímica a partir do estado triplete excitado. .	24
Figura 6. Diagrama simplificado de orbitais moleculares para representar os tipos de transições eletrônicas em complexos octaédricos. As linhas tracejadas ligam o orbital molecular ao orbital atômico que melhor o caracteriza (BALZANI & CARASSITE, 1970). (*) esse orbital pode ser ligante, não ligante ou antiligante, segundo o composto formado.....	25
Figura 7. Fórmula estrutural dos complexos de rutênio e dos ligantes piridínicos estudados.....	42
Figura 8. Ilustração dos parâmetros de um voltamograma cíclico completo.....	49
Figura 9. Esquema da cela espectroeletróquímica.	50
Figura 10. Aparato montado em capela para geração de óxido nítrico gasoso. .	58
Figura 11. Resposta amperométrica do NOmeter para tampões com mesma concentração de NO, porém diferentes pHs. a) pH = 2,03, b) pH = 4,50 e c) pH = 7,40.	60
Figura 12. Célula de difusão tipo Franz utilizada nos estudos de liberação dos complexos de rutênio <i>in vitro</i>	70
Figura 13. Esquema de detecção à vácuo de NO.....	72
Figura 14. Cuba utilizada para o estudo farmacológico com aortas de ratos.....	74

Figura 15. Intervalos típicos de frequência de estiramento na região do infravermelho para complexos metálicos nitrosilos.	80
Figura 16. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr do complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)(PF ₆) ₃	81
Figura 17. Espectro na região do infravermelho em expansão na região de 2000-1900 cm ⁻¹ em emulsão de nujol, do complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)(PF ₆) ₃	81
Figura 18. Espectro na região do infravermelho em expansão na região de 2000-1900 cm ⁻¹ em acetonitrila do complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)(PF ₆) ₃	82
Figura 19. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr, do complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)(PF ₆) ₃	83
Figura 20. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr, do complexo (Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)(PF ₆) ₃	83
Figura 21. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr, do ligante livre 2-mercaptopiridina.	86
Figura 22. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr, dos complexos (RuCl(terpy)(2-pySH) ₂)PF ₆ (A) e (Ru(terpy)(2-pySH) ₂ NO)(PF ₆) ₃ (B).	87
Figura 23. Influência da posição do ligante L na energia de estiramento do ligante nitrosil. a) posição <i>trans</i> e b) posição <i>cis</i>	89
Figura 24. Diagrama simplificado de orbitais moleculares e transições eletrônicas para compostos do tipo (Ru(terpy)(L)(NO)) ⁿ⁺	90
Figura 25. Espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺ em HCl 0,1 mol, L ⁻¹ (complexo)= 3,0x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ . Espectros obtidos por deconvolução de Lorentz: azul-escuro, violeta, laranja, amarelo, rosa e azul-claro.	93
Figura 26. Espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo (Ru(NO ₂)(bpy)(terpy)) ⁺ em meio aquoso (complexo) = 2,96 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	94
Figura 27. Espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo (RuCl ₂ (terpy)NO) ⁺ em HCl 0,1 mol L ⁻¹ . (complexo)= 3,0x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	95
Figura 28. Espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo (RuCl ₃ (terpy)) em acetonitrila. (complexo)= 4,50 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	96

Figura 29. Espectro UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em HCl $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. $(\text{complexo}) = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Espectros obtidos por deconvolução de Lorentz : espectro laranja, rosa, azul-claro e azul-escuro.	98
Figura 30. Espectro de absorção na região UV-visível do complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{+}$ em meio aquoso. $(\text{complexo}) = 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	99
Figura 31. Espectro de absorção na região UV-visível do complexo $(\text{RuCl}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy}))^{+}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $(\text{complexo}) = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Espectros obtidos por deconvolução de Lorentz: espectro verde, azul-claro e azul-escuro.	100
Figura 32. Diagrama de energia simplificado para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ $\text{L} = \text{Cl}^{-}$, bpy e bdqi-COOH.	101
Figura 33. Voltamograma cíclico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$. Eletrólito de suporte: NaBF_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $(\text{complexo})=1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}	103
Figura 34. Voltamogramas cíclicos para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$. Eletrólito de suporte: NaBF_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $(\text{complexo})=1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: $200, 100, 50$ e 20 mV s^{-1}	104
Figura 35. Gráfico de I_{pc} vs $v^{1/2}$ do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$. Coeficiente de correlação da reta: $0,998$	105
Figura 36. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$, sob eletrólise a potencial controlado em $-0,30 \text{ V}$ vs Ag/AgCl	106
Figura 37. Espectros na região do UV-visível em função do tempo para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$ após eletrólise em $-0,30 \text{ V}$ vs Ag/AgCl . Tempos de análise: $0; 2; 4; 6; 10; 20$ minutos. ...	107
Figura 38. Espectros na região do UV-visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$. Espectro inicial (preto), espectro durante eletrólise em potencial $-0,3 \text{ V}$ vs Ag/AgCl (vermelho), espectro após 1 hora do final da eletrólise (verde) e espectro do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ (rosa).	108

- Figura 39.** Voltamogramas cíclicos para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: $NaBF_4$ 0,1 mol L^{-1} . (complexo)= 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 200, 100, 50 e 20 $mV s^{-1}$. ..109
- Figura 40.** Espectros na região do UV-visível para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Espectro inicial (preto), espectro durante eletrólise em potencial - 0,8 V vs Ag/AgCl. Tempos: 2 min (vermelho), 12 min (verde) e 30 min (azul).110
- Figura 41.** Espectros na região do UV-visível para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Espectro inicial (preto), espectro durante eletrólise em potencial 0,00 V vs Ag/AgCl. Tempos: 10 min (vermelho), 20 min (verde) e 40 min (azul).110
- Figura 42.** Voltamograma cíclico para o complexo $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: $NaBF_4$ 0,1 mol L^{-1} . (complexo)= 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 100 $mV s^{-1}$111
- Figura 43.** Espectros na região do UV-visível em função do tempo para o complexo $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 após aplicação de potencial de - 0,30 V vs Ag/AgCl. Tempos de análise: 0; 2; 4; 6; 10; 20 minutos.112
- Figura 44.** Espectros na região do UV-visível em função do tempo para o complexo $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Espectro inicial (preto), após eletrólise em - 0,30 V vs Ag/AgCl (vermelho), após cessada eletrólise: 45 minutos (verde) e 2 horas (azul).113
- Figura 45.** Cronoamperograma para o complexo $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03, sob eletrólise em - 0,30 V vs Ag/AgCl.114
- Figura 46.** Voltamogramas cíclicos para o complexo $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: $NaBF_4$ 0,1 mol L^{-1} . (complexo)= 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 100 $mV s^{-1}$115
- Figura 47.** Voltamogramas de pulso diferencial, em solução tampão pH= 2,03, para o complexo $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ durante eletrólise a potencial controla em - 1,00 V vs Ag/AgCl. Tempo: 0s (vermelho), 60s (preto), 180s (verde) e 780s(azul). Voltamograma de pulso diferencial para o complexo $(RuCl(bdqj-COOH)(terpy))^+$ (rosa).116

Figura 48. Voltamograma cíclico para o complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy}))^+$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: NaBF_4 0,1 mol L^{-1} . (complexo)= 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}	117
Figura 49. Voltamograma cíclico para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: NaBF_4 0,1 mol L^{-1} . (complexo)= 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 20, 50, 100 e 200 mV s^{-1}	119
Figura 50. Espectros na região do UV-visível em função do tempo para o complexo $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 após aplicação de potencial de - 0,25 V vs Ag/AgCl. Tempos de análise: 0; 5; 10; 15 e 20 minutos.....	120
Figura 51. Espectro eletrônico qualitativo na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2)^{2+}$ em HCl 0,1 mol L^{-1}	121
Figura 52. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. (Potencial de eletrólise - 0,25 V vs Ag/AgCl.	122
Figura 53. Espectros na região UV-visível para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}) em solução tampão pH = 2,03 irradiado em 355 nm.	125
Figura 54. Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}) em solução tampão pH = 2,03 irradiado em 355 nm.....	125
Figura 55. Espectros qualitativos na região do UV-visível para o complexo $(\text{RuCl}_3(\text{terpy}))$ (preto) em acetonitrila e $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ (vermelho) em HCl 0,1 mol L^{-1}	127
Figura 56. Curva padrão para quantificação de íons prata por absorção atômica. (Equação da reta: $y=A + Bx$, onde $A= 6,26 \times 10^{-4}$ e $B= 0,04236$ $R=0,99995$).....	128
Figura 57. Diagrama de energia simplificado para o complexo $(\text{Ru}(\text{Cl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$	129
Figura 58. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})(\text{NO}))^{3+}$, em solução tampão trifluoracético, pH = 2,03, após cada irradiação de energia de 15 mJ pulso^{-1} em 355 nm. Tempos de irradiação: 0 s, 1 s, 4 s, 9 s, 19 s, 24 s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}	130

Figura 59: Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão pH = 2,03 irradiado em 355 nm.....	130
Figura 60. Espectros qualitativos na região do UV-visível da espécie $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ (vermelho) e de sua oxidação a potencial controlado + 0,80 V vs Ag/AgCl, originando a espécie $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$ (preto). (complexo) = $4,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	132
Figura 61. Cromatogramas obtidos: A) $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ antes de irradiar em 355 nm, B) $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$, C) $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$ e D) $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})(\text{terpy})(\text{NO})^{3+}$ após de irradiar em 355 nm.	133
Figura 62. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, em solução tampão acetato pH = 4,50, após cada irradiação de energia de 15 mJ pulso^{-1} em 355 nm. Tempos de irradiação: 0s, 1s, 4s, 9s, 1 s e 24s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	135
Figura 63. Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão acetato pH = 4,50 e irradiado em 355 nm.....	136
Figura 64. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, em solução tampão acetato pH = 4,50, após cada irradiação de energia de 15 mJ pulso^{-1} em 355 nm. Tempos de irradiação: 0s, 1s, 4s, 9s, 19s e 24s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	137
Figura 65. Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão acetato pH = 4,50 irradiado em 355 nm.....	137
Figura 66. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$, em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$	138
Figura 67. Espectros de absorção na região do visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (preto), em solução tampão acetato pH = 4,50, após irradiação em 355 nm em atmosfera de argônio (vermelho e verde).	140
Figura 68. Espectros de absorção na região do visível do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ (preto), em solução tampão acetato pH = 4,50, em presença de oxigênio.....	141

Figura 69. Espectros de absorção na região do visível do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$, em solução tampão fosfato, pH = 7,40. (complexo) = $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.	143
Figura 70. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$, em solução tampão fosfato, pH = 7,40, após cada irradiação de energia de 15 mJ pulso^{-1} em 355 nm. Tempos de irradiação: 0 s, 1 s, 4 s, 9 s, 19 s, 24 s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.	144
Figura 71. cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em tampão fosfato pH = 7,40 irradiado em 355 nm.	144
Figura 72. Cromatogramas obtidos dos íons: A) $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ depois de irradiar em 355 nm, B) $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ antes de irradiar em 355 nm, C) $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ e D) sal NaNO_2 .	146
Figura 73. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, em solução tampão acetato, pH = 4,50, após cada irradiação de energia de 10 mJ pulso^{-1} em 532 nm. Tempos de irradiação: 0s, 1s, 4s, 9s, 19s e 24s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.	149
Figura 74. Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão acetato pH = 4,50 irradiado em 532 nm.	150
Figura 75. Representações das unidades doadoras e receptoras para transferência eletrônica de esfera interna (A) e externa (B).	152
Figura 76. Estrutura do complexo fotoeletrossensibilizador $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pirazina}))^{2+}$.	153
Figura 77. Espectro na região do UV-visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzH}))^{3+}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.	154
Figura 78. Cronoamperograma da mistura 1:2 dos complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ sob irradiação em 532 nm.	155
Figura 79. Voltamograma de pulso diferencial para o complexo $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ em solução tampão pH=2,03. Eletrólito de suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.	156
Figura 80. Voltamograma de pulso diferencial para os complexos $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ (vermelho) e $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (preto) em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.	157

Figura 81. Espectros na região do UV-visível da mistura (2:1) ((Ru(bpy)(terpy)NO ⁺) ³⁺ e (Ru(NH ₃) ₅ (pz-H)) ³⁺) em solução tampão pH=2,03 e irradiado em 532 nm. (complexos)=2,5 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ . Espectro inicial (azul-escuro) e espectros com pulsos de 5 s cada.	158
Figura 82. Cronoamperograma da mistura (1:2) ((Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺ e (Ru(NH ₃) ₅ (pz-H)) ³⁺) em solução tampão pH=2,03 e irradiado em 532 nm. (complexos)=2,5 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ . Cada pulso de 10 s cada.....	159
Figura 83. Diagrama ilustrativo de energia livre (ΔG°) em função da coordenada de reação (Q) para o sistema, simétrico (doador = receptor) e isoergônico ($\Delta G^\circ = 0$); Nos diagramas, ΔG^* é a energia livre de ativação da reação (ROCHA & TOMA, 2002).	161
Figura 84. Espectro de absorção do transiente obtido após fotólise por pulso de laser em 355 nm do complexo (Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺ em solução tampão pH=2,03 e 25 °C (4,05 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹), mostrando a absorção dos tripletes em 430 e 550 nm.	164
Figura 85. espectro de absorção do transiente obtido após fotólise por pulso de laser em 355 nm do complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO) ³⁺ em solução tampão pH = 2,03 a 25 °C (2,67 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹), mostrando a absorção dos tripletes em 470 e 560 nm.....	165
Figura 86. Simulação da curva de decaimento de emissão resolvida no tempo para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺ em 430 nm (excitação 355 nm).....	166
Figura 87. Simulação da curva de decaimento de emissão resolvida no tempo para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺ em 560 nm (excitação 355 nm).....	167
Figura 88. Simulação da curva de decaimento de emissão resolvida no tempo para o complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO) ³⁺ em 470 nm (excitação 355 nm).	168
Figura 89. Simulação da curva de decaimento de emissão resolvida no tempo para o complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO) ³⁺ em 560 nm (excitação 355 nm).	168
Figura 90. Espectro de absorção na região do UV-visível (A) e espectro de emissão para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺ em solução tampão pH=2,03 e temperatura ambiente. Excitação em 290 nm (B), 355 nm (C) e 480 nm (D).....	170

Figura 91. Espectros de absorção para o complexo $(Ru(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$ em solução tampão pH = 2,03 à temperatura ambiente (A). Espectro de emissão para o complexo $(Ru(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$ (B) após excitação em 355 nm.....	171
Figura 92. Espectros de absorção para o complexo $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 à temperatura ambiente (A). Espectro de emissão para o complexo $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ (B) após excitação em 355 nm.	172
Figura 93. Curva cinética de absorbância vs tempo para a formação do complexo $(Ru(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$ em 470 nm em pH = 2,03 a $25,0 \pm 0,1$ °C.....	175
Figura 94. Gráfico de $\ln(it-it+r)$ vs tempo para formação do complexo $(Ru(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$	176
Figura 95. Cronoamperograma para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ sob eletrólise a potencial controle em $-0,30$ V vs Ag/AgCl pH = 2,03 a $25,0 \pm 0,1$ °C.	177
Figura 96. Gráfico de $\ln(it-it+r)$ vs tempo para saída de NO^0 do complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$	178
Figura 97. Modelo de adsorção do complexo $(Ru(terpy)(2-pySH)_2NO)^{3+}$ em superfície de ouro.	179
Figura 98. Voltamogramas cíclicos, em KCl 0,1 mol. L ⁻¹ , para o eletrodo imerso em solução do complexo $(Ru(terpy)(2-pySH)_2NO)^{3+}$ verde 2 horas, preto 17 horas e vermelho 48 h. área eletrodo 0,007 cm ²	180
Figura 99. Voltamogramas de pulso diferencial, em KCl 0,1 mol.L ⁻¹ , para o eletrodo de ouro imobilizado com complexo $(Ru(terpy)(2-pySH)_2NO)^{3+}$. Os voltamogramas foram obtidos após eletrólise em $-0,20$ V vs Ag/AgCl.....	182
Figura 100. Foto do filme de silicone encapsulado com o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$	184
Figura 101. Espectros de raios-X para os filmes do tipo sol-gel sem complexo (A) e encapsulado com complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ (B).	184
Figura 102: MEV para as membranas dos complexos $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ sol-gel (a e d) e $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ silicone (b e c)	185
Figura 103. Espectros de absorção na região do UV-visível para alíquotas de HCl 0,1 mol L ⁻¹ mergulhada com filme sol-gel encapsulado com complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$	186

Figura 104. Espectro eletrônico UV-visível do filme sol-gel sem complexo (preto) e encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (vermelho) (A). Espectro eletrônico UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (B)....	187
Figura 105. Espectro eletrônico UV-visível do filme sol-gel sem complexo (preto) e encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (vermelho) (A). Espectro eletrônico UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (B).	188
Figura 106. Voltamograma de pulso diferencial para o filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em eletrodo de pasta de carbono.	190
Figura 107. Cronoamperograma para o filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e irradiado em 355 nm.	192
Figura 108. Cronoamperograma para o filme silicone encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e irradiado em 532 nm.....	192
Figura 109. Espectros na região do infravermelho para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em pastilha de KBr antes e depois da irradiação (cerca de 2 horas) em 355 nm.....	193
Figura 110. Cronoamperograma para o filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e irradiado em 355 nm sem meio aquoso.	194
Figura 111. Cronoamperograma para o filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e irradiado em 355 nm em solução tampão fosfato pH = 7,40.	195
Figura 112. Espectros de absorção UV-visível do filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm.....	196
Figura 113. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ encapsulado em membrana sol-gel sem (preto) e dentro (vermelho) da membrana de diálise e irradiados em 355 nm.....	197
Figura 114. Perfil de liberação do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ a partir da microemulsão.	199
Figura 115. perfil de estabilidade do complexo $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ no interior da microemulsão (de LIMA te al., 2005a).	200

Figura 116. Cronoamperograma para o complexo $(Ru^{II}(NO_2)(bpy)(terpy))^+$ incorporado à microemulsão e irradiado em 355 nm. Detecção de NO pelo sistema à vácuo.	201
Figura 117. Tempo de relaxamento para o complexo $(Ru(NO_2)(bpy)(terpy))^{2+}$ (Δ , $n=6$). Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas com 60 mmol L^{-1} KCl e $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ do complexo foi adicionado e irradiado em 355 nm. Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais (de LIMA et al., 2005a).	202
Figura 118. Tempo de relaxamento para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$. Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas noradrenalina (\bullet) $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, fenilefrina (\circ) $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e prostaglandina (\square) $3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ do complexo foi adicionado. Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais (de LIMA et al., 2005b).....	203
Figure 119. Tempo de relaxamento para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ (\bullet) $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ sem (\square) e com (\bullet) irradiação na região do visível. Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas com fenilefrina $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais (de LIMA et al., 2005b).....	204
Figure 120. Tempo de relaxamento para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ (\bullet) $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e NPS (\diamond) $0,3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ sob irradiação em 532 nm. Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas com fenilefrina $0,1 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$. Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais (de LIMA et al., 2005b).....	205
Figure 121. Tempo de relaxamento para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ encapsulado na membrana sol-gel (\square) e controle sem complexo (\bullet). Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas com fenilefrina 100 nmol L^{-1} . Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais.	206
Figure 122. viabilidade celular do complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ frente as linhagens de célula WM 278 e WM 1617 . Tempo de incubação 48 h.	208
Figure 123. Citometria de Fluxo do complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em linhagens de células WM 1552, 278 e 1617	210
Figure 124. Estruturas para os complexos $(Ru(bpy)(terpy)(NO)^{3+}$ (A) e $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ (B).....	212
Figure 125. Representação dos orbitais HOMO para os complexos $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ (A) e $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ (B).	214

Figura 126. Representação dos orbitais LUMO para os complexos (Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺ (A) e (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO) ³⁺ (B).	215
--	-----

Índice de Tabelas

Tabela 1. Comparação entre o comprimento de ligação, energia vibracional na região do infravermelho e potencial redox das espécies NO ⁺ , NO ⁰ e NO ⁻	7
Tabela 2. Teor e procedência dos reagentes utilizados durante as sínteses e a caracterização dos complexos.	44
Tabela 3. Energia vibracional do NO ⁺ dos complexos nitrosilos de rutênio abordados neste trabalho.	88
Tabela 4. Resultados de análises de espectros na região UV-visível para os complexos (Ru(terpy)(L)NO) ³⁺ em solução aquosa.	92
Tabela 5. Parâmetros eletroquímicos, em solução tampão pH = 2,03, para o complexo (Ru(terpy)(bdqi-COOH)NO) ³⁺ , referente ao processo redox NO ⁺ /NO ⁰	104
Tabela 6. Resultados de análises de espectros na região UV-visível para os complexos (Ru(terpy)(L)NO) ³⁺ em solução aquosa.	123
Tabela 7. Valores de ϕ_{NO} em 355 nm para os complexos de rutênio.	147
Tabela 8. Valores de σ ($\mu C cm^{-2}$) e Γ ($mol cm^{-2}$) calculados para o processo redox NO ⁺ /NO ⁰ ($E_{pc} = - 0,20 V$ vs Ag/AgCl) do complexo (Ru(terpy)(2-pySH) ₂ NO) ³⁺ em LiClO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ . Área do eletrodo: 0,007 cm ²	181
Tabela 9: Dados eletroquímicos centrados no ligante nitrosil para os complexos (Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺ em filmes sólidos e em solução aquosa.	191
Tabela 10. Quantidade de (Ru ^{II} (NO ₂)(bpy)(terpy)) ⁺ liberada a partir da microemulsão.	198

Lista de Abreviaturas

ϵ	Coefficiente de absorvidade molar ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)
ϕ	Rendimento quântico (mol einstein^{-1})
σ	Carga consumida
Γ	Quantidade de material eletroativo
λ	Comprimento de onda (nm)
$\nu(\text{NO})$	Freqüência da banda de estiramento da ligação N—O na região do infravermelho (cm^{-1})
ΔG	Variação da energia livre de Gibbs
ΔH	Variação da entalpia
ΔS	Variação da entropia
ΔDO	Densidade óptica
bdqi-COOH	Benzoquinonadilimina
bdcat-COOH	Benzoquinonadiamina
bpy	2,2'-bipiridina
2-pySH	2-mercaptopiridina
cGMP	Guanosina monofosfato cíclica
CNTP	Condições normais de temperatura e pressão
$E_{1/2}$	Potencial de meia onda
E_L	Parâmetro de Lever

E_{pa}	Potencial de oxidação
E_{pc}	Potencial de redução
EPH	Eletrodo padrão de hidrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERONs	Espécies reativas de óxido de nitrogênio
E_{sp}	Potencial de reversão
FRED	Fator de relaxamento do endotélio dependente
GTP	Guanosina trifosfato
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IL	Intraligante
I_{pa}	Corrente máxima de oxidação
I_{pc}	Corrente máxima de redução
I_{sp}	Corrente de inversão
K	Constante de equilíbrio
k_{NO}	Constante de dissociação do NO
k_e	Constante de transferência eletrônica
L	Ligante genérico
L-hist	L-histidina
M	Metal
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Microemulsão O/A	Microemulsão óleo em água
Microemulsão A/O	Microemulsão água em óleo
NADP	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato em sua forma reduzida
NOR	Noradrenalina

NOS	Óxido nítrico sintase
NOS _e	Óxido nítrico sintase endotelial
NOS _i	Óxido nítrico sintase induzível
NOS _n	Óxido nítrico sintase neural
NPS	Nitroprussiato de sódio
pz	Pirazina
PDMS	Polidimetilsiloxano
Phe	Fenilefrina
PGF _{2α}	Prostaglandina
sh	ombro
T	Temperatura
TEOS	tetraetoxisilano
TBAH	Hexafluorofosfato de tetrabutílamônio
TCML	Transferência de carga metal ligante
TFD	Terapia fotodinâmica
terpy	2,2':6'',2''-terpiridina
v	Velocidade de varredura em voltametria (mV s ⁻¹)
vs	Versus

RESUMO

O óxido nítrico (NO) é um mensageiro biológico que tem vital importância em muitos processos fisiológicos, tais como o controle cardiovascular, a sinalização neural e a defesa contra microorganismos e tumores. Sua natureza radicalar lhe confere grande reatividade e versatilidade e torna um desafio o entendimento de sua bioquímica. A molécula de NO reage rapidamente com alguns metais de transição e forma compostos estáveis denominados complexos nitrosilos, os quais podem ser utilizados como fonte geradora de óxido nítrico. A liberação do óxido nítrico em complexos nitrosilos pode ser causada por redução química, eletroquímica e/ou fotoquímica.

No presente trabalho de doutorado, foram sintetizados os complexos do tipo $(Ru^{II}(terpy)(L)NO)^{n+}$ onde o ligante terpy = 2,2':6',2"-terpiridina e L = cloreto (Cl⁻), 2,2'-bipiridina (bpy), benzoquinonadiimina (bdqi-COOH) e benzoquinonadiamina (bdcat-COOH).

Os compostos foram isolados e caracterizados por análise elementar, por espectroscopia (UV-visível, infravermelho e fluorescência) por HPLC, por técnicas eletroquímicas (voltametria cíclica e de pulso diferencial) e por espectroeletróquímica.

A espectroscopia na região do infravermelho possibilitou a caracterização dos complexos nitrosilos de rutênio quanto ao fragmento $\{Ru^{II}-NO^+\}$ com bandas de estiramento na região de 1850 – 1960 cm^{-1} dependendo do co-ligante L. Esta técnica também permitiu a caracterização do estado de oxidação para o complexo com co-ligante L = bdqi-COOH (C=N) em 1700 cm^{-1} e bdqcat-COOH (C-N) em 1280 cm^{-1} .

Os espectros na região do UV-visível dos compostos apresentam bandas intensas na região do ultravioleta que foram caracterizados como $\pi \rightarrow \pi^*$, cujas transições são principalmente centradas em orbitais dos ligantes insaturados. Observam-se bandas na região de 350-380 nm,

atribuídas à transferência de carga metal-ligante (TCML) devido a transição $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{NO})$.

Para o complexo coordenado ao ligante bdqi-COOH foi possível observar uma banda TCML na região do visível (510 nm) atribuída a transição $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{bdqi-COOH})$.

Os experimentos eletroquímicos evidenciaram dois processos centrados no ligante nitrosil: NO^+/NO^0 e NO^0/NO^- . As variações dos potenciais redox encontrados para o ligante nitrosil variaram conforme o efeito indutivo de cada co-ligante L.

Os complexos foram irradiados em um sistema laser Nd:YAG de "flash-fotólise" na região do ultravioleta e visível em 355 nm e 532 nm, respectivamente. Durante a irradiação mediu-se *in situ* a liberação de óxido nítrico utilizando um eletrodo sensor de NO (NOMeter) e verificou-se a mudança espectroscópica da solução na região do UV-visível. Os dados obtidos pelo NOMeter serviram de base para os cálculos dos rendimentos quânticos de liberação de NO (ϕ_{NO}).

Para todas as espécies, ϕ_{NO} foram determinados sob irradiação em 355 nm e a liberação do NO neste comprimento de onda foi caracterizado por diferentes mecanismos fotoquímicos. O mecanismo fotoquímico para liberação de NO pelo complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ frente ao estímulo luminoso em 532 nm envolve a transferência eletrônica fotoinduzida intramolecular.

Estudos biológicos mostraram que o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ pode ser considerado um promissor fármaco, já que sua ação como vasodilatador foi semelhante ao nitroprussiato de sódio (NPS) e a sua capacidade citotóxica diminuiu cerca de 74 % da viabilidade celular de linhagens de células metastáticas.

ABSTRACT

Nitric oxide (NO) is a biological messenger. It has been implicated in many physiological processes, including cardiovascular control, neuronal signaling, and defence against microorganism and tumors. Its radicalar nature gives it great reactivity and versatility, and makes the knowledge of its biochemistry a challeng. The NO molecule reacts fast with some transition metal resulting stable compounds named nitrosyl complexes that can be used as nitric oxide producers. For such use, it is necessary a good understanding of the physical-chemical behavior of these complexes.

In the present work, the following complexes were synthesized: $(Ru^{II}(terpy)(L)NO)^{n+}$ where terpy = 2,2':6',2'' - terpyridine and L = chloride (Cl⁻), 2,2'-bipiridine (bpy), benzoquinonediimine (bdqi-COOH) e benzoquinonediamine (bdcat-COOH).

The compounds were isolated and characterized by elementary analysis, by spectroscopy (UV-visible, infrared, and fluorescence), HPLC, electrochemical techniques (cyclic and differential pulse voltammetry) and spectroelectrochemistry.

Infrared spectroscopy has show band at 1850 cm⁻¹– 1960 cm⁻¹ region attributed, to ν_{NO} stretching. The oxidation state for benzoquinone ligands were also characterized by this technique and shows band at 1700 cm⁻¹ and 1280 cm⁻¹, for L = bdqi-COOH and bdcat-COOH species, respectively.

UV-visible spectra have displayed bands in the ultraviolet region originated by $\pi \rightarrow \pi^*$ transition of the unsatured ligands and bands in 350 - 380 nm region characterized as MLTC due $d_{\pi}(Ru^{II}) \rightarrow \pi^*(NO^+)$ transition. The $(Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ spectrum has also shown the MLTC band in 510 nm due the $d_{\pi}(Ru^{II}) \rightarrow \pi^*(bdqi-COOH)$ transition.

Electrochemical experiments have revealed two processes in the nitrosyl ligand: NO^+/NO^0 e NO^0/NO^- . The different nitrosyl redox potential depends on the inductive effects of ligand L.

The complexes were irradiated in a Nd:YAG laser flash photolysis apparatus at ultraviolet (355 nm) and visible (532 nm) irradiation. During the irradiation the NO liberation was measured *in situ* by amperometry, and the solution spectral change was verified by UV-visible spectroscopy. The amperometric detection was done by a NO sensor electrode (NOmeter), which data were the base to calculate the quantum yields of NO liberation (ϕ_{NO}).

For all complexes, ϕ_{NO} were determined in 355 nm light irradiation. The photochemical pathway at 355 nm light irradiation was described as a different photochemical mechanism. The photochemical mechanism for NO releasing by $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ complex under 532 nm light irradiation involves an intramolecular photoinduced electron transfer.

Biological studies showed that $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ complex can be considered a promising drug. Their vasodilatation action is similar to sodium nitroprusside (SNP) and cytotoxic action diminishes 74 % for cellular viability for metastatic cell.

1. Introdução

O óxido nítrico (NO) é uma molécula de interesse químico e biológico, que tem nos últimos anos estimulado a comunidade científica, principalmente por suas funções bioquímicas e possíveis aplicações terapêuticas (STAMLER et al., 1992; SIMPLICIO et al., 2002; TRIMMER et al., 2004; FUKUTO et al., 2005).

A molécula de NO é a menor molécula classificada como mensageiro biológico. Nessa função, não depende de transportadores específicos nem de canais de passagem intracelulares. A molécula de NO difunde-se livremente pela célula com a mesma facilidade em meio hidrofílico e em meio lipofílico. Sua ação fisiológica depende mais de suas propriedades físico-químicas do que de sua conformação espacial (FELDMAN et al., 1993).

Há décadas atrás, o que se conhecia sobre o óxido nítrico era sua ocorrência nos subprodutos da queima de combustíveis fósseis, sua contribuição para a chuva ácida e para a destruição da camada de ozônio. Sabia-se, também, que em processos industriais, a formação do óxido nítrico era uma etapa importante durante a oxidação da amônia em ácido nítrico (FELDMAN et al., 1993).

Em 1981, Green e colaboradores, pesquisando a toxicologia de nitroaminas, demonstraram que óxidos de nitrogênio eram produzidos em quantidade significantes pelo metabolismo de mamíferos e que sua concentração aumentava em condições inflamatórias (GREEN et al., 1981). Assim, durante a década de 1980, algumas descobertas sobre a bioquímica do NO mudaram o conceito que se tinha sobre esta molécula. Como fruto destas investigações foi possível perceber que embora seja uma das mais simples moléculas, o óxido nítrico está envolvido em muitos processos fisiológicos que incluem neurotransmissão, controle da pressão sanguínea, coagulação do sangue e participação na capacidade do

sistema imunológico de destruir células tumorais e parasitas intracelulares (TRAYLOR & SHARMA, 1992; QUEIROZ & BATISTA, 1999).

Talvez a área de pesquisa sobre a bioquímica do NO que mais se desenvolveu esteja relacionada com sua ação vasodilatadora. Em 1987, constatou-se ser o NO o fator de relaxamento endotélio dependente (FRED). Nas células endoteliais, o NO é produzido pela isoforma constitutiva da Óxido Nítrico Sintase Endotelial (NOSe). Simplificadamente, esta enzima produz NO e o aminoácido L-citrulina a partir do aminoácido L-arginina e de oxigênio (O₂) (Figura 1). Este processo envolve a transferência de 5 elétrons e a conversão de NADPH em NADP (SNYDER et al., 1992; BUTLER, 1995).

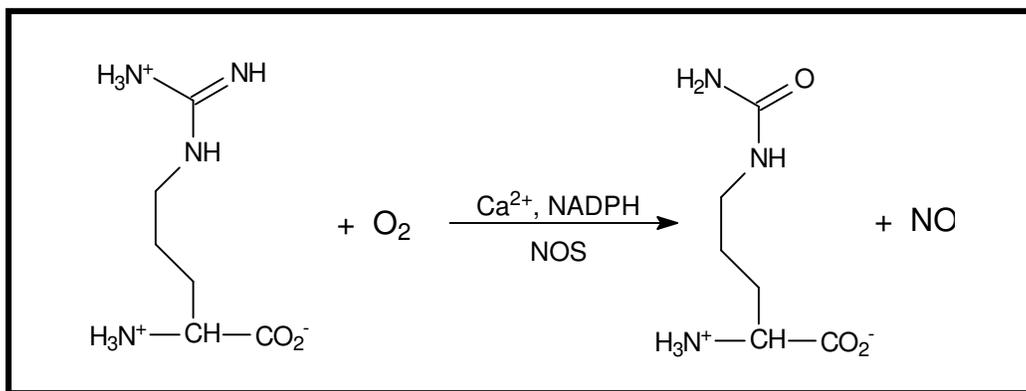


Figura 1. Esquema simplificado da biossíntese de óxido nítrico (BUTTLER, 1995).

No meio celular, mesmo em concentrações menores que 5 μmol L⁻¹, o NO reage com o íon metálico de ferro(III), presente na enzima guanilato ciclase, ativando-a. Esta enzima produz um segundo mensageiro biológico, a guanosina monofosfato cíclica, que é responsável por desencadear uma série de processos fisiológicos, inclusive o relaxamento da musculatura lisa das artérias (BUTLER, 1995).

A NOSe é uma enzima que faz parte das células endoteliais e produz NO constantemente e em baixa quantidade. As células do sistema nervosas têm outra isoforma desta enzima, a Óxido Nítrico Sintase

Neural (NOS_n), que também gera NO pelo mesmo mecanismo. A concentração intracelular de NO deve ser baixa para que não ocorram reações paralelas como a oxidação do NO. Esta reação gera espécies radicalares altamente reativas que podem desnaturar macromoléculas. A concentração intracelular de NO é controlada pelo consumo mitocondrial e por “scavengers”, como a oxihemoglobina (WINK, et al., 1996).

Apesar dos numerosos estudos sobre a ação do óxido nítrico no organismo, há muitas questões de natureza química a serem respondidas. Como já foi mencionada, a atuação do óxido nítrico está mais relacionada com as suas propriedades físico-químicas do que com a sua conformação espacial. Portanto, é necessário que se tenha um bom conhecimento das propriedades químicas da molécula de NO, para que desta forma possa se entender a ação fisiológica desta molécula.

1.1. Propriedades físico-químicas do óxido nítrico

O óxido nítrico é uma molécula paramagnética sendo, nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), um gás incolor e termodinamicamente instável quando comparado aos gases N₂ e O₂ (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992). Sua solubilidade em meio aquoso é $2,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (MORI & BERTOTTI, 2000). Em sistemas biológicos sua velocidade média de difusão é cerca de $50 \mu\text{m s}^{-1}$ (WINK et al., 1996).

O comprimento de ligação dessa molécula é 1,15 Å, valor intermediário entre o comprimento de uma dupla ligação (1,18 Å) e de uma tripla (1,06 Å) (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992). A ordem de ligação da molécula de NO corresponde a 2,5, pois essa molécula possui um elétron desemparelhado no orbital pi antiligante (π^*), como mostra o diagrama de orbitais moleculares, representado na Figura 2.

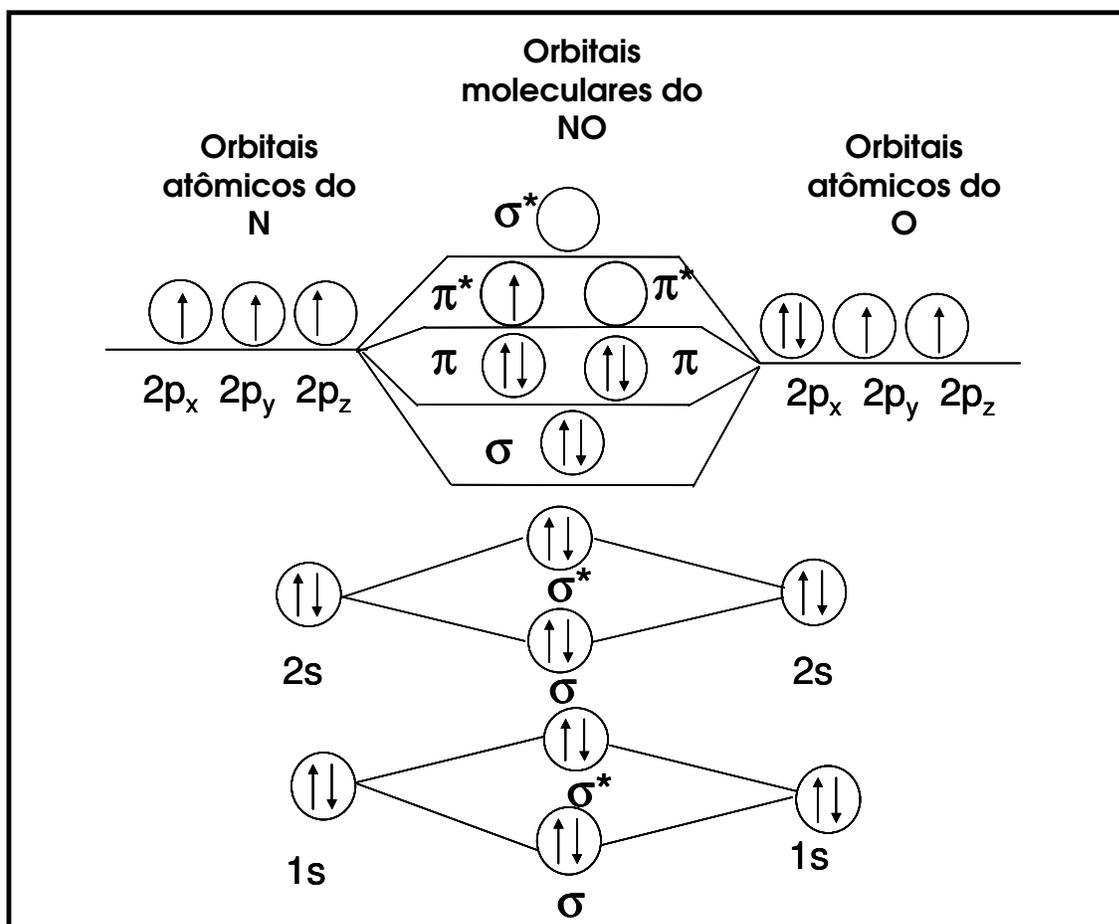


Figura 2. Diagrama qualitativo e simplificado de orbitais moleculares do óxido nítrico.

Com base na configuração eletrônica, surge a questão sobre o motivo pelo qual os elétrons desemparelhados de duas moléculas de NO não se combinam, à temperatura ambiente, para formar o dímero N_2O_2 . A formação de dímero ocorre, porém em condições especiais: é necessário que o NO esteja no estado sólido sob temperatura de nitrogênio líquido. Nas condições normais de temperatura e pressão, a dimerização não é termodinamicamente favorável. O dímero $O=N-N=O$ possui uma ordem de ligação igual a 5,0, que é a mesma para duas moléculas de NO. A energia envolvida (ΔH) neste processo foi determinada experimentalmente e corresponde à cerca de $-2,6 \text{ kcal mol}^{-1}$. A entropia (ΔS) diminui, pois uma molécula é mais ordenada que duas, sendo que a 1

atm e 300 K, o termo $-T\Delta S$ é $+4,3 \text{ kcal mol}^{-1}$. Assim, a energia livre de Gibbs ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$) é positiva, ou seja, a reação não ocorre espontaneamente nessas condições (BECKMAN, 1996). Em baixas temperaturas o termo $-T\Delta S$ é minimizado e a energia livre passa a ser negativa, tornando a reação espontânea.

O óxido nítrico não reage de imediato com moléculas orgânicas apesar da sua natureza radicalar. A maioria das moléculas orgânicas no estado fundamental possui orbitais com um par de elétrons de spins opostos. A reação com o NO faria com que essas moléculas ficassem com um elétron desemparelhado, formando um radical orgânico intermediário de alta energia. Estas reações requerem uma alta energia de ativação e são bastante lentas. Porém, o NO reage rapidamente com radicais orgânicos que já possuam um elétron desemparelhado (BECKMAN, 1996).

Com alguns metais de transição, o óxido nítrico tende a reagir rapidamente, por exemplo, a constante de velocidade do NO com diferentes proteínas heme encontram-se no intervalo de 10^2 a $10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (FORD & LORKOVIC, 2002).

A ligação entre o metal e a molécula de óxido nítrico é estável porque existe uma doação de densidade eletrônica dos orbitais tipo σ do NO para o metal. Em alguns casos e dependendo do íon metálico, além da ligação σ , há uma doação de densidade eletrônica dos orbitais d do metal para o orbital π^* do NO ($d_{\pi}(M) \rightarrow \pi^*(NO)$), constituindo-se em uma retro-doação (Figura 3).

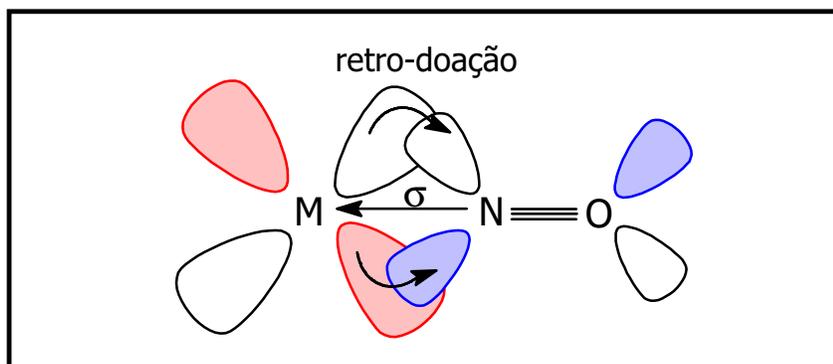


Figura 3. Esquema dos orbitais moleculares envolvidos na ligação de um metal com o ligante nitrosil.

A princípio, a molécula de NO pode ligar-se ao metal (M) tanto pelo átomo de nitrogênio como pelo átomo de oxigênio, originando as formas nitrosil ou isonitrosil, respectivamente. A forma nitrosil é a mais comum, sendo que a forma isonitrosil deve ocorrer com metais do bloco "s", como Li e Na (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992).

Complexos nitrosilos são normalmente caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho através da banda de estiramento do NO $\nu(\text{NO})$. Essa energia vibracional é influenciada pela intensidade da retro-doação que quanto maior, menor é a força de ligação do NO. De acordo com Richter-Addo e Legzdins (1992) existem vários fatores que afetam a intensidade da retro-doação, como o efeito eletrônico dos ligantes e a estrutura do complexo (efeito estérico). Os valores da energia vibracional para o óxido nítrico em seus três possíveis estado de oxidação estão relacionados na Tabela 1.

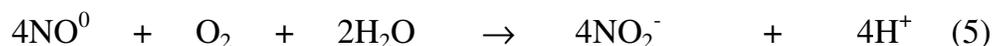
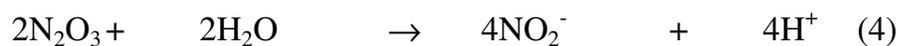
Tabela 1. Comparação entre o comprimento de ligação, energia vibracional na região do infravermelho e potencial redox das espécies NO⁺, NO⁰ e NO⁻.

	NO ⁺	NO ⁰	NO ⁻
Distância N–O (Å)	1,06	1,15	1,26
v(NO) (cm ⁻¹)	2377	1875	1470
Potencial vs EPH (V)	+1,21 ^a	—	+0,39 ^b

a) NO^{0/+}, b) NO^{0/-}.(KOPPENOL, 1996)

Atribui-se a riqueza da bioquímica do óxido nítrico à diversidade de suas espécies, ou seja, a espécie NO⁺ (íon nitrosônio), que é formada pela retirada do elétron desemparelhado no orbital π^* (FUKUTO et al., 2005), e a espécie NO⁻ (ânion nitróxido), que é formada pela adição de um elétron ao orbital π^* . Os potenciais em que ocorrem a oxidação e redução do óxido nítrico, em solução aquosa podem ser observados na Tabela 1. O ânion nitróxido é isoeletrônico ao gás oxigênio (O₂) e, como ele, pode existir no estado singlete, de maior energia ou no estado triplete, de menor energia. O íon nitrosônio é isoeletrônico ao monóxido de carbono (CO) e reage com a água e outros nucleófilos.

Embora seja esperado que o produto direto da oxidação do óxido nítrico seja o íon nitrosônio, pode ocorrer formação de várias espécies reativas de óxido de nitrogênio (ERONs), como mostram as reações representadas no esquema 1. O oxigênio molecular possui dois elétrons desemparelhados e reage com NO produzindo NO₂ (reações 1 e 2). Este poderia reagir com outra molécula de NO e formar N₂O₃ (reação 3). Essa espécie é termodinamicamente instável e é convertida pela água em nitrito (reação 4) (IGNARRO, 2000).



Esquema 1. Etapas de reações de oxidação do NO formando ERONs (IGNARRO, 2000).

De acordo com Ignarro (2000), dados experimentais mostraram que a reação global (reação 5) representada no esquema 1 é de terceira ordem, mesmo em concentrações de $\mu\text{mol L}^{-1}$ de NO. A velocidade de reação pode ser expressa pela equação $\frac{d[\text{NO}]}{dt} = k[\text{NO}]^2 [\text{O}_2]$, onde $k = 8 \times 10^6 \text{ mol}^{-2} \text{ L}^2 \text{ s}^{-1}$. Portanto, a degradação do NO em meio aquoso e aeróbico não é linearmente dependente da sua concentração.

Um dos aspectos mais intrigantes desta reação é que sua constante de velocidade (k) é pouco dependente do solvente, do pH e da temperatura, quando esta se encontra entre 20 °C e 37 °C. Assim, em ambiente fisiológico, conforme o NO é produzido e difundido no meio intracelular, sua concentração diminui e conseqüentemente há uma queda na formação de ERONs, aumentando assim o tempo necessário para que ele seja degradado. Isto colabora para que o NO exerça suas funções e minimize a interferência fornecida pela reação com o oxigênio. Por outro lado, quando ocorre uma superprodução de NO, a reação é acelerada exponencialmente, acarretando maior formação de ERONs (WINK et al., 1996).

Baseado nos fatos de que a deficiência de NO pode acarretar várias disfunções e de que em altas doses o NO tem ação antitumoral, nos parece de grande interesse em terapia clínica, a obtenção de compostos

que sirvam como fonte de NO ou mesmo de espécies capazes de remover excesso de NO.

Dentre estes compostos, os complexos metálicos são *sui generis*, pois o óxido nítrico reage com alguns metais, produzindo compostos estáveis. Tais compostos são, porém, susceptíveis à ação de certos estímulos químico (FORD et al., 1993), eletroquímico (RAVEH et al., 1997) e fotoquímico (FORD et al., 1998; TOGNILOLO et al., 2001; BORDINI et al., 2002; SAUAIA et al., 2003b,c; OLIVEIRA et al., 2004, SAUAIA et al., 2005; de LIMA et al., 2005a,b) que promovem a liberação de NO.

1.2. Complexos Metálicos na Medicina

A história nos conta que metais preciosos vem sendo utilizados há mais de 3500 anos no tratamento de certas doenças. O ouro, por exemplo, já tinha seu valor terapêutico na Arábia e na China. Ferro, zinco, cobre e bismuto foram usados em práticas médicas desde a antiguidade à idade média (ABRAMS & MURRER, 1993). Porém, o mecanismo de ação de certos metais no organismo ainda continua obscuro na maioria dos casos, principalmente naqueles relacionados a metais de transição.

Embora se tenha conhecimento da importância dos complexos metálicos no organismo o seu uso em medicina tem recebido pouca atenção, quando comparados aos compostos orgânicos. Aparentemente de todos os metais de transição que compõem a tabela periódica somente aqueles que tem como características atuarem em células tumorais, é que recebem maiores considerações (SCHWIETERT & McCUE, 1999).

Talvez uma maneira viável na síntese destes novos compostos de interesse farmacológico seja a inserção de uma biomolécula na esfera de coordenação do íon metálico.

Os complexos metálicos podem ser classificados como substâncias endógenas (como metaloproteínas) ou exógenas. Os complexos metálicos exógenos são administrados ao organismo de modo controlado, como em casos de produtos farmacêuticos (droga) ou de forma não controlada, como pelas vias aéreas (poluentes) (STOCHEL et al., 1998; CAMERON & BAIRD, 2001).

A atividade farmacológica de um complexo metálico depende do tipo de metal, do tipo de ligante ou da interação entre ambos. Dois fatores, estabilidade termodinâmica máxima e o alto grau de seletividade, são importantes para modelagem de complexos metálicos ou ligantes na aplicação médica. A atividade farmacológica de um complexo metálico deve-se à interação entre os íons metálicos exógenos e os ligantes naturais presentes no organismo. Estes ligantes naturais possuem funções de armazenamento, transporte e regulação de atividades dos íons metálicos endógenos que são necessários para vários propósitos metabólicos (STOCHEL et al., 1998).

De maneira geral as drogas inorgânicas possuem etapas de absorção da droga pelo organismo baseada no caminho reacional: hidrólise da droga → ligação em sítio proteico → transporte através da membrana → interação com o alvo molecular. Um dos pontos chave neste processo é o transporte dos metais através da membrana celular. Acredita-se que isto ocorra através de uma interação específica entre o metal e a proteína, o que favorece a incorporação do metal pela célula. Embora o desenvolvimento e o estudo de metalo-drogas não seja uma área tão difundida, na medicina existem vários casos de compostos metálicos com comprovada ação farmacológica. Isto mostra a potencialidade desta área na química em geral (COMBA, 1999).

A modelagem molecular de complexos metálicos para fins terapêuticos envolve o delineamento das etapas de absorção da droga

pelo organismo (SCHWIETER & McCUE, 1999). Isso possibilitou a aplicação de uma série de compostos em que geralmente o metal está associado a substâncias orgânicas, tais como certos suplementos minerais de cromo, manganês, ferro, cobalto, níquel, cobre e molibdênio (GUO & SADLER, 2000; ABRAMS & MURRER, 1993; SADLER, 1991). Como aplicação farmacológica, entre outros exemplos, pode-se citar os compostos de platina, utilizados no tratamento de câncer, assim como os compostos de ouro no tratamento de artrite reumatóide e os compostos de prata usados como agentes antimicrobianos (ALLARDYCE & DYSON, 2001; BAKHTIAR & OCHIAI, 1999; BERNERS-PRICE & SADLER, 1996).

Metalo-drogas, cujo centro metálico é o rutênio, possuem boa aplicação clínica, principalmente por ser baixa a toxicidade do metal (ALLARDYCE & DYSON, 2001). Isto se deve, em parte, à semelhança das propriedades físico-químicas deste íon metálico com o do íon ferro. O organismo consegue proteger-se dos efeitos causados por um excesso de ferro através do aumento da produção de proteínas captadoras de ferro, como a transferrina e a albumina. Alguns autores acreditam que o mecanismo de proteção contra a toxicidade do rutênio seria o mesmo (ALLARDYCE & DYSON, 2001).

Lembrando que a toxicidade do metal também está relacionada com o seu estado de oxidação, pode-se afirmar que um outro fator da baixa toxicidade do rutênio é sua habilidade de atingir vários estados de oxidação (II, III e IV) em meio fisiológico. Provavelmente, isto ocorra devido às reações redox causadas pela enzima citocromo oxidase, ou pela glutadiona ou pelo ascorbato (ALLARDYCE & DYSON, 2001).

Complexos metálicos de rutênio podem ter aplicações como imunossupressor (BAILEY et al., 1983; BASTOS et al., 1998), como antibiótico (SANCHEZ-DELGADO et al., 1996; NAVARRO et al., 1997), anticancerígeno (SAVA et al., 1995), antifúngico (de LIMA et al., 2003), intercalador de DNA

(ABUFARAQ & REEDIJK, 1995; STEMP et al., 2000) e como agente anti-HIV (MISHRA et al., 2001).

Dentre os estudos de aplicação de complexos metálicos como metalodrogas, os trabalhos de maior destaque nos últimos anos estão relacionados ao estudo de complexos metálicos como liberadores de óxido nítrico (McCLEVERTY, 2004).

Alguns complexos de nitrosil com aplicação médica são conhecidos desde o século XIX e muitos deles continuam sendo utilizados (SZCZEPURA & TAKEUCHI, 1990). O nitroprussiato de sódio, $\text{Na}_2(\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (NPS)—vasodilatador útil no controle da pressão arterial, especialmente em casos de emergência — é um exemplo de complexo metálico que carrega um ligante ativo (ligante nitrosil) (STOCHEL et al., 1998; MONCADA et al., 1991).

O uso destes compostos encontra, às vezes, limitação devido às reações secundárias àquela de interesse. No caso dos compostos nitrosilos, a reação desejada é a liberação de óxido nítrico, e o nitroprussiato de sódio, por exemplo, pode liberar CN^- (cianeto), como reação secundária indesejada.

Neste caso, passou-se a estudar algumas alternativas para o controle da liberação seletiva de NO a partir de compostos de coordenação que são viáveis clinicamente, tais como a indução luminosa (terapia fotodinâmica) e a redução química ou eletroquímica do NO coordenado. Essas técnicas têm como base a baixa afinidade observada entre o ligante NO^0 e alguns íons metálicos. Isso mostra que o estímulo fotoquímico ou eletroquímico pode viabilizar diferentes processos bioquímicos relacionados ao NO (STOCHEL et al., 1998).

As características de complexos nitrosilo de rutênio e a vasta literatura a eles referente (SEDDON & SEDDON, 1984; AU & WONG, 1997) tornam esses compostos propícios para a busca de novas substâncias que funcionem como agentes liberadores de NO.

1.3. Complexos nitrosilos de rutênio

A habilidade de compostos de coordenação de atuarem como provedores de óxido nítrico, tem despertado grande interesse no estudo de suas propriedades. Os mecanismos de formação e dissociação do NO pelos complexos depende principalmente dos tipos de co-ligantes que completam a estrutura do complexo. Este controle de reatividade é de vital importância para utilização dos mesmos em alvos biológicos específicos.

Buscando conhecer estas propriedades, muitos cientistas desenvolveram e estudaram uma série de compostos nitrosilo de rutênio, tais como complexos do tipo $(Ru(L)Cl_n(NO))$, onde L são ligantes fosfínicos, estudados por Batista e colaboradores (LOPES et al., 2005; VON POELHSITZ et al., 2005; BATISTA et al., 1997; BATISTA et al., 2001) e complexos do tipo *trans*- $(Ru(NH_3)_4L(NO))(BF_4)_3$, onde L é imidazol, L-histidina, piridina e nicotinamida, amplamente investigados por Franco e colaboradores (GORELSKY et al., 2000; TOLEDO et al., 2005; BORGES et al., 1998).

Com o intuito de minimizar reações paralelas à liberação de NO, Tfouni e colaboradores dedicaram-se ao desenvolvimento e estudo de complexos com ligantes macrociclos, do tipo *trans*- $(RuCl(cyclam)(NO))^{2+}$, onde cyclam é 1, 4, 8, 11-tetraazaciclotetradecano (LANG et al., 2000; McGARVEY et al., 2000), e *trans*- $(RuCl(imcyclen)(NO))^{2+}$ (FERREIRA et al., 2004). Os macrociclos conferem aos compostos de coordenação diferentes propriedades e, devido a sua inércia, compostos deste tipo podem ser de grande interesse para o desenvolvimento de substâncias que possam apresentar atividade biológica (SILVA & TFOUNI, 1992; SILVA et al., 1992; CHI et al., 1985).

A redução química e a eletroquímica são exemplos de como conseguir liberação de óxido nítrico a partir de um estímulo específico, pois, em muitos complexos, o ligante nitrosil perde a sua afinidade pelo

metal ao ser reduzido a NO⁰. Fundamentados nisto, alguns pesquisadores estudaram a ação biológica de vários tipos de complexos nitrosilo de rutênio aquo-solúveis, (WIERASZKO et al., 2001; SMITH & DASGUPTA, 2001; MARCONDES et al., 2002; BONAVENTURA et al., 2004; ZANICHELLI et al., 2004; TFOUNI et al., 2005; KARIDI et al., 2005).

Outra estratégia é utilizar compostos que sejam termicamente estáveis e fotoquimicamente ativos, ou seja, liberam NO quando submetidos a algum tipo de indução fotoquímica (CARLOS et al., 2004a; FORD & LAVERMAN, 2005). Visando esta perspectiva, Flitney e colaboradores (1996) estudaram uma classe especial de complexos metálicos, clusters do tipo (Fe₄S₄(NO)₄) e (Fe₄S₃(NO)₇)⁻. Os experimentos fotoquímicos, conduzidos com irradiação em 457,9 e 514,5 nm, mostraram que o mecanismo de liberação de NO depende da presença de oxigênio no meio. Utilizando essa classe de compostos o grupo do professor P. C. Ford conduziu outros estudos relevantes (FORD & WECKSLER, 2005; WECKSLER et al., 2005; BOURASSA et al., 1997; KUDO et al., 1997).

Em decorrência, muitos complexos metálicos tiveram seu comportamento fotoquímico investigado. Os compostos do tipo (RuCl₃NO) e K₂(RuCl₅NO) liberam NO quando expostos à luz ultravioleta (UV). O rendimento quântico para estes complexos de rutênio sob irradiação na região de 300 a 350 nm varia de 0,06 a 0,012 mol einstein⁻¹ (CARTER et al., 1997). Compostos do tipo *trans*-(Ru(NH₃)₄(L)(NO))³⁺ foram sintetizados, caracterizados (BORGES et al., 1998) e submetidos a ensaios farmacológicos como vasodilatadores (CARLOS et al., 2004a,b; TFOUNI et al., 2005).

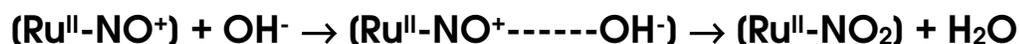
Ford e colaboradores sintetizaram e estudaram compostos do tipo (Ru(P)(ONO)(NO)), onde P é um anel porfirínico (FORD et al., 1998) e mais recentemente compostos do tipo (RuCl(salen)(NO)), onde o ligante salen é um derivado do diânion N, N'-bis(salicilidina)etilenodiamina (WORKS et al., 2001; WORKS & FORD, 2000).

Ainda visando a reatividade fotoquímica de complexos nitrosilos de rutênio, o nosso grupo (TOGNILO et al, 2001, SAUAIA et al, 2003b,c; 2005; OLIVEIRA et al, 2004; de LIMA et al, 2005a,b) vem estudando complexos do tipo *cis*-(Ru(bpy)₂(L)(NO))(PF₆)₂, onde bpy é 2, 2'-bipiridina e L=Cl⁻, py, 4-pic e 4-acpy e *trans*-(RuCl(macrociclo)NO)²⁺. Esses trabalhos mostraram que a liberação de NO em meio aquoso ocorre principalmente quando submetidos à irradiação com laser em 355 nm.

Visando obter a liberação de NO por irradiação na região do visível Sauaia e colaboradores (2003b; 2005) relataram a síntese e a reatividade fotoquímica de complexos nitrosilos de rutênio do tipo (Ru(NH₃)₅(pz)Ru(bpy)₂NO)(PF₆)₅ onde pz = pirazina e (Ru(bpy)₂(py)NO⁰)(PF₆)₂. Ambos os complexos são solúveis em meio aquoso e foram irradiados em 532 nm. Os valores obtidos de ϕ_{NO} foram 0,025 e 0,15 mol einstein⁻¹, respectivamente.

Recentemente, Zanichelli e colaboradores (2004) realizaram em ratos um estudo de biodistribuição do metal rutênio após a administração intravenosa do complexo (Ru^{II}(edta)NO)⁻. Foi observado que a concentração máxima do metal no fígado, rins e plasma sanguíneo foi alcançada na primeira hora após a injeção, enquanto que na urina a concentração máxima demorou duas horas para ser atingida. Após oito horas, não foram mais encontrados traços do metal nos órgãos, na urina e no plasma sanguíneo. Estes estudos também mostraram que não foram observadas mortes para doses entre 0,3 e 9,0 × 10⁻⁵ mol kg⁻¹.

Um dos problemas da aplicação de complexos nitrosilos de rutênio em meio fisiológico, se diz respeito à reatividade do ligante nitrosil envolvendo o ataque nucleofílico da espécie hidroxila junto ao grupo nitrosil (Esquema 2) (GODWIN & MEYER, 1971).



Esquema 2. Reação de conversão de nitrosil em nitrito coordenado ao metal rutênio.

A princípio, isso poderia limitar o uso de complexos deste tipo em terapia clínica, haja visto a inacessibilidade na formação de óxido nítrico (NO⁰) coordenado. De fato isto ocorre, porém o nitro complexo formado pode ser usado como fonte de NO.

Para viabilizar a utilização destes complexos como metalo-drogas, é preciso conhecer mais sobre seu comportamento químico e seu mecanismo de ação em sistemas biológicos. O efeito de co-ligantes nas espécies contendo o fragmento (RuL₅NO), o acoplamento eletrônico entre os orbitais do metal e do ligante e o controle da reatividade do ligante nitrosil coordenado são alguns aspectos que intrigam e direcionam os estudos de pesquisadores.

1.4. Complexos contendo ligação Ru-NO₂ como fonte geradora de NO

Uma importante fonte de óxido nítrico (NO) é a decomposição fotoquímica do ânion nitrito (NO₂⁻) (RESZKA, et al., 1996). Baseado em resultados de "flash-fotólise", Treinin e Hayon (1975) postularam o primeiro mecanismo fotoquímico envolvendo a absorção de luz ultravioleta (200 nm - 400 nm) pelo ânion nitrito. A reação produz radicais livres NO (óxido nítrico) e O₂^{*-} (ânion superóxido). Sendo que em pH < 12 a espécie radicalar O₂^{*-} é protonada formando outro radical OH* (radical hidróxido) (Esquema 3) (MACK & BOLTON, 1999).



Esquema 3. reação fotoquímica para o anion nitrito.

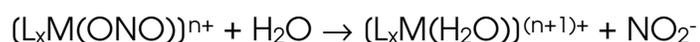
Tendo em vista a eficiente produção fotoquímica de NO pelo ânion nitrito em meio aquoso, os pesquisadores começaram a estudar a

fotorreatividade de complexos metálicos contendo o ligante nitrito. Suslick e Watson (1991) foram um dos primeiros pesquisadores a estudar a fotorreatividade do ânion nitrito na esfera de coordenação de íons metálicos. Neste trabalho foi estudado o complexo (Mn^{III}(TPP)(ONO)) (onde TPP= tetrafenilporfirina) em meio de benzeno. Suslick e Watson propuseram que durante a fotólise do complexo (Mn^{III}(TPP)(ONO)) ocorre a fotolabilização do NO₂⁻ e formação do complexo (Mn^{III}(TPP)(solvente)).

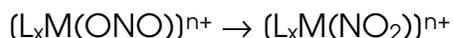
Logo em seguida, Hoshino et al., (1992) estudou um complexo semelhante ao de Suslick, sendo no lugar do íon manganês o íon crômio (Cr^{III}(TPP)(ONO)). Eles demonstraram que a fotorreatividade do complexo resultou na labilização do NO e formação de um oxo-complexo do tipo Cr^{IV}=O. Este mecanismo fotoquímico foi sugerido por Hoshino tendo em vista a grande oxofilicidade do centro metálico Cr(III).

De maneira geral, como resumido por De Leo e Ford (2000), as reações fotoquímicas que envolvem complexos de nitrito (M-ONO nitrito e M-NO₂ nitro) podem ser descritos em quatro diferentes mecanismos (Esquema 4).

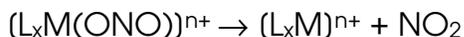
1-Fotoaquação



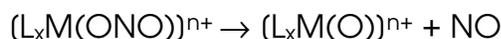
2-Fotoisomerização



3-Fotorredução

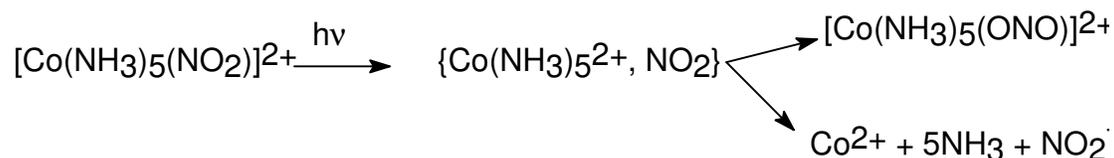


4-Fotodecomposição



Esquema 4. mecanismos fotoquímicos para os complexos de nitrito.

A fotoaquação ocorre normalmente em complexos metálicos com baixa energia do campo ligante (FORD et al., 1983). Já a fotoisomerização como descrito para o complexo $(Co(NH_3)_5(NO_2))^{2+}$ (DE LEO & FORD, 2000), leva a uma competição reacional entre o NO_2^- fotolabilizado e o radical complexo formado ($\{Co(NH_3)_5^{2+}, NO_2\}$) devido a excitação da banda TCML (Esquema 5).



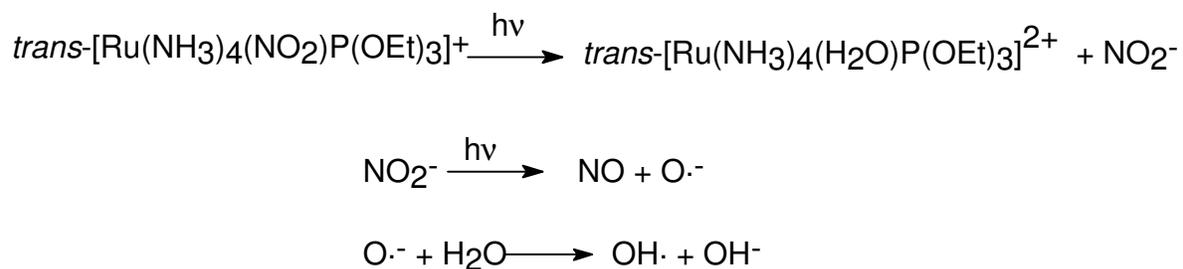
Esquema 5. mecanismo de fotoisomerização para o complexo $(Co(NH_3)_5(NO_2))^{2+}$.

A fotorredução é resultado da clivagem da ligação do oxigênio com o metal e é o mecanismo mais comum em complexo com nitrito coordenado. A quebra da ligação ocorre devido à redução do centro metálico.

Finalmente, a fotodecomposição sugerida inicialmente por Hoshino, onde há a fotolabilização do NO e formação do oxo-complexo $(L_xM(O))^{n+}$, se deve à cisão homolítica da ligação do oxigênio do ligante nitrito coordenado e conseqüente oxidação do centro metálico.

Em recente trabalho publicado por Carlos et al., (2004b), foi sugerido um novo mecanismo de fotolabilização de NO a partir dos complexos de rutênio nitrito. Conforme já descrito acima, um dos mecanismos proposto

para os complexos de nitrito seria a fotoaquação. Neste caso, os pesquisadores descreveram o mecanismo fotoquímico para o complexo (Ru(NH₃)₄(NO₂)P(OEt)) irradiado em 355 nm, como aquele em que inicialmente ocorre reação de fotoaquação e posterior liberação de NO a partir da excitação fotoquímica do ânion nitrito (Esquema 6).



Esquema 6. Mecanismo fotoquímico para o complexo (Ru(NH₃)₄(NO₂)P(OEt)) irradiado em 355 nm.

A grande vantagem de se trabalhar com a fotoquímica de nitro complexos de rutênio se deve a sua estabilidade em pH fisiológico. Uma vez que alguns complexos nitrosilo de rutênio apresenta reação de ataque nucleofílico pela hidroxila formando a espécie nitrito (Esquema 2).

Considerando as alternativas para o controle da liberação seletiva de NO a partir de compostos de coordenação, o entendimento da influência dos co-ligantes que fazem parte do complexo é importante no que tange a reatividade do ligante ativo NO.

1.5. Aspectos Gerais da Química de Complexos de Rutênio-Dioxoleno

Os dioxolenos estão presentes em grande escala na natureza e atuam em uma variedade de funções nos organismos vivos, como no transporte de elétrons na respiração celular (PATAI, 1987). Embora se conheça a importância dos derivados catecólicos no organismo, pouco se sabe sobre o seu mecanismo de ação. Uma das possibilidades é a

formação de complexos metálicos envolvidos na transferência de elétrons em sistemas biológicos.

Assim, o interesse no papel biológico e a múltipla função eletrônica desses componentes estimularam as pesquisas com respeito as propriedades físicas e o comportamento químico dos ligantes dioxolenos coordenados a metais de transição (PIERPONT & BUCHANAM, 1981; HARTL et al., 1992; LEVER et al., 1993).

Dentro da classe dos dioxolenos encontram-se os ligantes dihidroxobenzenos (O.O), aminofenóis (NH.O) e diaminobenzenos (NH.NH) (EBADI & LEVER, 1999). Os complexos com estes ligantes podem existir em estados de oxidação para o íon metálico Ru(III) e Ru(II) e em três estados de oxidação para os ligantes dioxolenos (o-quinona, o-semiquinona (sp-radical) e catecol) (Figura 4).

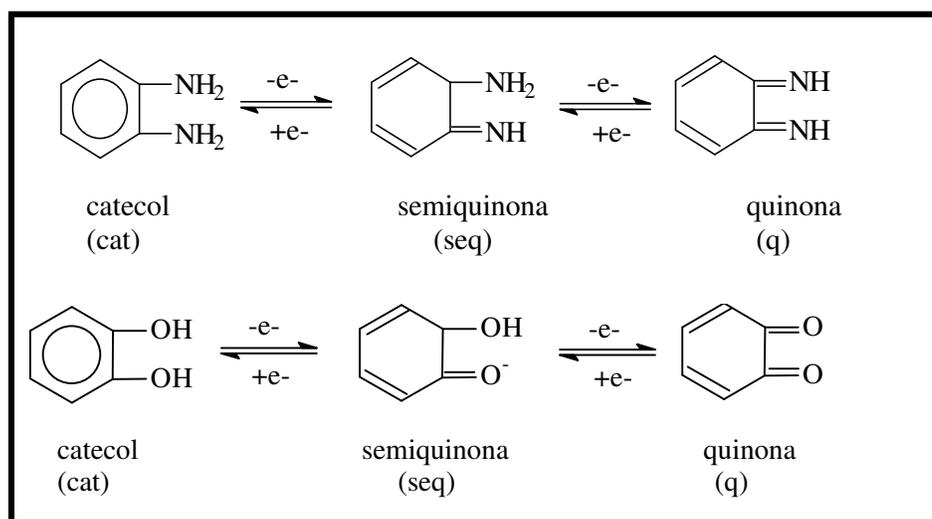


Figura 4. Estados de oxidação de ligantes dioxoleno (EBADI & LEVER, 1999).

Os ligantes dioxolenos (diânions catecolatos e seus produtos de oxidação) são tipicamente ligantes “non-innocent” (ou ligantes com atividade redox) e suas propriedades são modificadas sob coordenação a metais de transição. Conseqüentemente o comportamento eletroquímico

desses complexos ainda necessita de melhor caracterização, principalmente no que tange ao efeito dos co-ligantes nas propriedades destes dioxolenos coordenados (DELEARIE et al., 1987).

Os estudos relativos aos complexos dioxolenos tiveram como objetivo primário, pelo ponto de vista químico, utilizar estes compostos como dispositivo eletrônico (WHITTLE et al., 1995; WARD, 1996; BARTHARAM et al., 1998; SHUKLA et al., 1999). Tal propósito é baseado na possibilidade de se construir um sistema binário e mimetizar componentes eletrônicos utilizados em computadores. Em sistemas polinucleares, por exemplo, a alteração no estado de oxidação de um dos sítios eletroquimicamente ativos provocaria transferência eletrônica vetorial de um lado para o outro do complexo.

Considerando-se as várias formas que este ligante pode assumir, haveria vários processos redox ocorrendo numa mesma molécula, o que provavelmente significaria multiplicar as funções deste tipo de dispositivo. Isto é influenciado pela distância entre os sítios redox, conformação molecular e acoplamento eletrônico.

Um outro aspecto bastante interessante desses ligantes é a distribuição de carga e a mistura entre orbitais dos íons metálicos e do ligante na forma quinonóidica. Este é um tema presente em vários artigos científicos que mostram que as proximidades dos orbitais de fronteira do metal e do ligante podem propiciar diferentes estruturas em função da temperatura (LEVER, 1993; DELMEDICO, 1994; BOHLE, 1994; WHITTLE et al., 1995; KURIKARA et al., 1998). A distribuição eletrônica depende do grau de recobrimento dos orbitais do metal e do ligante, o qual é função das energias e simetrias dos orbitais do ligante e do metal (PIERPONT & BUCHANAN, 1981; MASUI et al., 1993).

Os ligantes dioxolenos são ligantes bidentados e coordenam-se a metais de transição através dos dois átomos de oxigênio ou nitrogênio vicinais. A estabilidade, a função biológica e a complexidade

eletroquímica desses compostos servem de impulso para novas descobertas, tanto na ação farmacológica quanto na síntese de espécies supramoleculares, componentes moleculares ("building blocks"), como estratégia em obter materiais avançados (SHUKLA, 1999; SHUKLA & DAS, 2000; de LIMA et al., 2003; de LIMA et al., 2004).

O interesse nos catecóis e seus produtos de oxidação (semiquinona e quinona) como ligantes consiste na geração de cadeia redox, na caracterização estrutural, nos efeitos magnéticos, na identificação dos efeitos aos níveis de oxidação e na comparação com sistemas catecólicos biológicos (BUCHANAN, 1986; CASS & PIERPONT, 1986). As diferentes características de interação entre os orbitais do metal e dos ligantes dioxolenos, garantem aos complexos bandas de transferência de carga do tipo TCML relativo a transições TCML $d_{\pi}Ru^{II} \rightarrow \pi^*(\text{quinona})$ na região de 500 nm, como se vê para os complexos $(Ru(NH_3)_4(\text{quinona}))^{2+}$ e $(Ru(bpy)_2(\text{quinona}))^{2+}$ (METCALFE & LEVER, 1997).

A variação na densidade eletrônica do íon metálico Ru(II), quando coordenado a ligantes do tipo dioxoleno, pode propiciar um melhor entendimento sobre o efeito ocasionado na reatividade de complexos nitrosilos. Isso nos impulsionou a sintetizar e estudar sistemas do tipo $(Ru(\text{dioxoleno})NO^+)^{n+}$. Além disso, a possibilidade de que espécies como estas possam ser de interesse clínico, dado ao caráter de biomolécula do ligante derivado catecólico, nos levou a abordar e descrever o efeito ocasionado por irradiação luminosa (fotoquímica) em sua reatividade.

1.6. Fotoquímica

Os processos fotoquímicos naturais como a fotossíntese, o principal representante de sistemas otimizados na conversão de energia luminosa para energia química, motivaram a pesquisa de sistemas químicos que

mimetizam com tal eficiência o processo de transferência de elétrons e/ou energia (WILLNER et al., 1998).

Uma área da ciência que contribui com o desenvolvimento desses novos sistemas é a química de coordenação. Isto se deve principalmente pelas análises espectroscópicas destes compostos no estado excitado (BALZANI et al., 1998). A habilidade dos íons metálicos em interagir facilmente a ligantes funcionalizados (unidades foto ou eletroativas) possibilita um melhor entendimento teórico dos estados excitados em diferentes sistemas além de aplicações práticas desses complexos como materiais luminescentes e fotocatalíticos (FULLER et al., 2003).

1.6.1. Leis da Fotoquímica

Uma substância no estado fundamental (S_0) ao absorver um fóton de energia nas regiões do visível ou ultravioleta e excitada ao primeiro estado singlete (S_1). No estado excitado singlete a molécula pode retornar ao estado fundamental dissipando energia na forma química (reação 7) ou fisicamente (reação 8 e 9) (PORTER, 1983).



Os processos fotoquímicos e fotofísicos podem ser melhor representados em um esquema denominado diagrama de Jablonsky (Figura 5). Uma substância no estado fundamental (S_0), quando excitada ao primeiro estado singlete (S_1) geralmente segue quatro caminhos de desativação: (1) decaimento não radiativo; (2) reação química originando uma outra espécie no estado fundamental; (3) emissão de fluorescência,

ou (4) cruzamento intersistema para o mais baixo estado tripleto (T_1). O estado tripleto gerado (T_1) pode voltar ao estado fundamental também por decaimento não radiativo, ou emitir fosforescência, ou ter reação química com formação de outra espécie no estado fundamental (DEMAS, 1983; KALYANASUNDARAM, 1992).

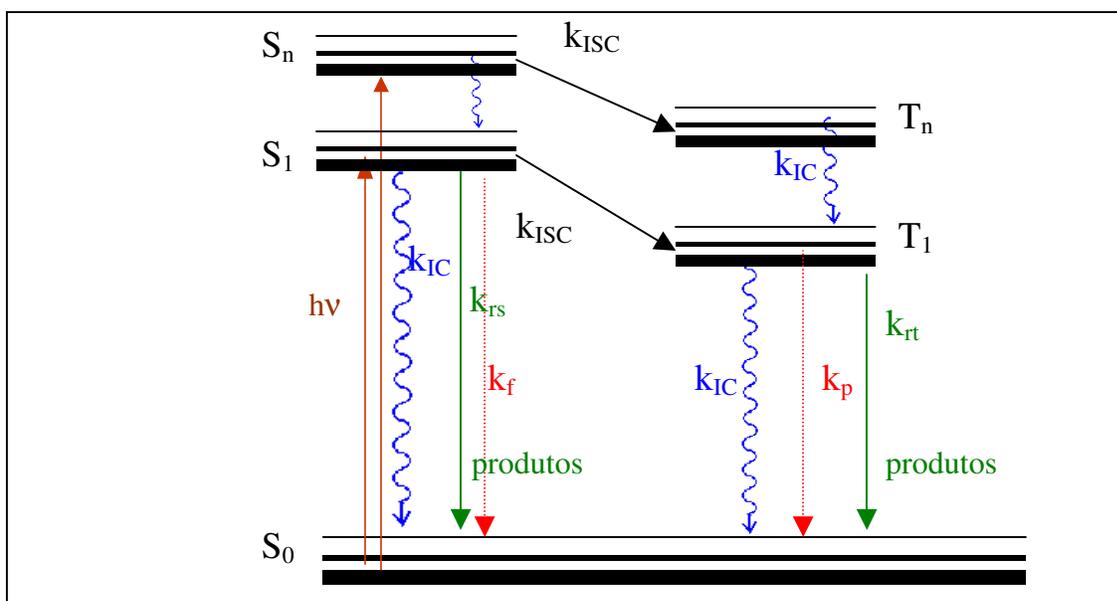


Figura 5. Diagrama de Jablonsky. $h\nu$ = absorção, k_{ic} = decaimento não radiativo, k_f = decaimento radiativo (fluorescência), k_{rs} = reação fotoquímica a partir do estado singlete excitado, k_{isc} = conversão intersistema, k_p = decaimento radiativo (fosforescência) e k_{rt} = reação fotoquímica a partir do estado tripleto excitado.

O rendimento quântico (ϕ) (Equação 1) determina a eficiência de um processo primário fotoquímico ou fotofísico e depende do comprimento de onda de excitação (λ_{irr}) (RABEK, 1982).

$$\phi = \frac{\text{número de moléculas envolvidas em um processo (mol)}}{\text{número de fótons absorvidos (einstein)}} \quad (1)$$

1.6.2. Fotoquímica de Compostos de Coordenação

O comportamento fotoquímico de compostos de coordenação está relacionado às possíveis transições eletrônicas entre os orbitais localizados

no metal e nos ligantes. Assim, torna-se imprescindível destacar a natureza destas transições (CROSBY, 1983; DEMAS, 1983; PORTER, 1983).

Os espectros na região do UV-visível de complexos de rutênio(II) com ligantes insaturados coordenados, apresentam geralmente, bandas atribuídas a transições de transferência de carga metal-ligante (TCML), transferência de carga ligante-metal (TCLM), intra ligante (IL) e campo ligante (CL). Logo, a incidência de irradiação de energia correspondente a cada uma destas transições pode conduzir a diferentes reações e propriedades fotoquímicas (LINDSAY et al., 1993). A Figura 6 ilustra, de forma simplificada, o diagrama de orbitais moleculares de um complexo de rutênio (II) e suas possíveis transições eletrônicas.

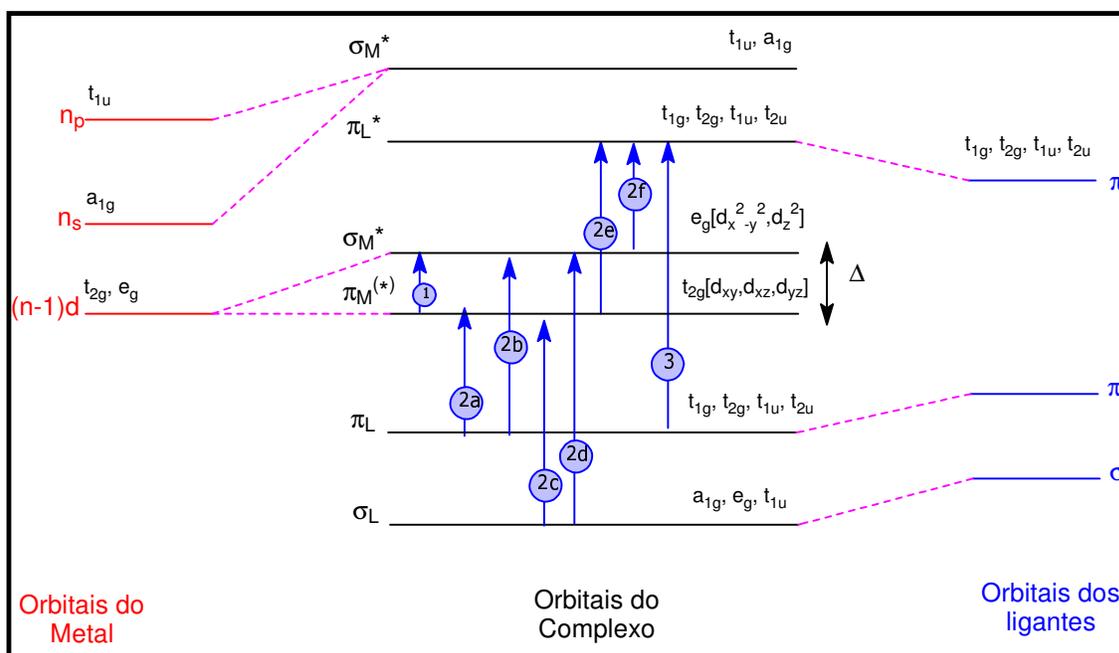


Figura 6. Diagrama simplificado de orbitais moleculares para representar os tipos de transições eletrônicas em complexos octaédricos. As linhas tracejadas ligam o orbital molecular ao orbital atômico que melhor o caracteriza (BALZANI & CARASSITE, 1970). (*) esse orbital pode ser ligante, não ligante ou antiligante, segundo o composto formado.

- (1): transição de campo ligante (CL) - é observada entre níveis energéticos localizados no metal. As bandas são originadas pelo

desdobramento das energias dos orbitais d (transições $d \rightarrow d$), que num campo octaédrico podem ser designados por t_{2g} e e_g .

- (2a, 2b, 2c, 2d): transição de transferência de carga ou elétron do ligante para o metal (TCLM) – esse tipo de transferência é comum acontecer com íons metálicos com maior estado de oxidação, como por exemplo Ru^{III} . Essa transição origina bandas observadas na região do ultravioleta e do visível.
- (2e, 2f): transição de transferência de carga ou elétron do metal para o ligante (TCML) - caracteriza-se por uma ligação π verificada nos compostos de rutênio com ligantes insaturados. Essas bandas possuem coeficiente de máxima absorvidade molar (ϵ) da ordem de $10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e normalmente localiza-se na região do visível. A ocorrência dessas bandas depende da existência de orbitais de simetria adequada no metal e no ligante, com energias pouco diferentes e grau de recobrimento diferente de zero. Uma vez que os elétrons de valência do íon metálico se encontram em orbitais de simetria π e considerando que os orbitais desocupados dos ligantes de menor energia também possuam simetria π , a transição mais provável é, portanto, $d_{\pi}(M) \rightarrow \pi^*(L)$.
- (3): transição interna do ligante (IL) - é semelhante às transições observadas nos ligantes insaturados não coordenados. Por exemplo, os ligantes aromáticos N-heterocíclicos, não coordenados, geralmente apresentam, na região do ultravioleta próximo e médio, bandas de transição eletrônica atribuídas a $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$. As transições envolvendo os elétrons livres (n) ocorrem em regiões de maior comprimento de onda e são de alta intensidade. As transições envolvendo os elétrons π são bastante intensas e semelhantes às observadas para os hidrocarbonetos aromáticos correspondentes.

As fotorreações de compostos de coordenação podem ocorrer por diferentes caminhos: fotossustituição, transferência de elétron e transferência de energia (ADAMSON & FILEISCHAWER, 1975). Frequentemente observa-se que processos de fotossustituição são induzidos pela irradiação na banda d-d (banda de campo ligante (CL)) e reações fotoredox são promovidas pela excitação de banda de transferência de carga (bandas de transferência de carga metal-ligante (TCML) ou ligante-metal (TCLM)); além destes, processos de transferência de elétrons também são observados entre diferentes ligantes num mesmo complexo (CHAISSON et al., 1972).

Complexos polipiridínicos possuem um longo histórico. Seus estudos foram iniciados por Blau (1888), que notou a formação de uma substância com alta intensidade de cor ao reagir sais de Fe(II) com ligante 2,2'-bipiridina (bpy). A partir daí vários compostos contendo ligantes polipiridínicos foram sintetizados e suas propriedades químicas e fotoquímicas descritas (ADAMSON & FILEISCHAWER, 1975; DURHAM et al., 1980; JÚRIS & BALZANI, 1988; TOMA et al., 2000). A razão pela qual a fotoquímica desta classe de compostos é amplamente estudada está relacionada às características observadas nos complexos tipo Ru(II)-polipiridinas, que podem ser resumidas como: maior tempo de vida no estado excitado; fácil transferência de elétrons e energia no estado excitado, facilidade na química sintética de sistemas diméricos, oligômeros e "quencher" intramolecular (CASPAR & MEYER, 1983).

Uma série de resultados espectroscópicos e estudos teóricos de complexos de rutênio e ósmio com ligantes polipiridínicos mostraram que os espectros de absorção são preferencialmente caracterizados pela absorção da banda de transferência de carga metal-ligante de caráter singlete, enquanto que os espectros de emissão ocorrem em estado de

caráter triplete devido o acoplamento spin órbita dos estados excitados (WAYNE & WAYNE, 1996).

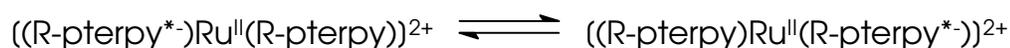
Os orbitais d-d para os complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$, podem ser populados por ativação térmica como consequência do decaimento do estado excitado. Uma vez formado este apresenta rápido decaimento para o estado fundamental. A existência de um baixo estado d-d (LUMO) faz com que aumente o tempo de vida da espécie no estado excitado (ALLEN et al., 1984).

Como exemplo, os complexos do tipo $(\text{Ru}(\text{bpy-R})_3)^{2+}$ utilizados como agentes redox no estado excitado em ambientes micro-heterogêneos e também como fotointermediadores na conversão de energia solar (JONES et al., 1989). Um dos fatores que possibilita esta aplicação é o tempo de vida no estado excitado cerca de $0,85 \mu\text{s}$ em CH_3CN , $0,62 \mu\text{s}$ em H_2O à temperatura ambiente e $5,2 \mu\text{s}$ em MeOH/EtOH à 77 K o que facilita o processo de transferência de carga metal-ligante. Já o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})_2)^{2+}$ tem um tempo de vida maior que o tris-bpy, a 77K o tempo obtido foi de $11 \mu\text{s}$ em MeOH/EtOH , mas um tempo de vida curto a temperatura ambiente (250 ps , H_2O) (KIRCHHOFF et al., 1985).

Alguns pesquisadores observaram o processo redox de fotooxidação do íon $(\text{Ru}(\text{bpy})_3)^{2+}$ na presença de oxigênio, enquanto outros estudaram as reações de transferência de elétrons intermolecular com oxidantes inorgânicos e orgânicos em solução. Durante e Ford (1975) relataram a ocorrência da transferência de elétrons em solução aquosa como resultado da irradiação na banda de TCML de uma espécie binuclear de Ru(II)-Cu(II) com formação de Ru(III) e Cu(I) e posterior regeneração do complexo. A facilidade com que o estado excitado apresenta processos fotorredox, para estes compostos de Ru(II) , foi explorada na catálise de reações de fotodecomposição de água em hidrogênio.

Dentre as vantagens da utilização de complexos polipiridínicos como fotossensibilizadores em sistemas fotoquímicos, o tempo de vida é um fator que dificulta sua aplicação. Geralmente, a velocidade desses processos aumenta com o decréscimo da energia de "gap" entre os estados excitado e fundamental. Isto significa que complexos que absorvem baixa energia (em comprimentos de onda na região do visível e infravermelho próximo) resultam em estados excitados com curto tempo de vida, o que torna limitado sua aplicação em reações fotoquímicas (CASPAR & MEYER, 1983).

O tema relacionado a deslocalização eletrônica de complexos polipiridínicos ainda é controversia quando se compara os complexos $(Ru(bpy)_3)^{2+}$ e $(Ru(terpy)_2)^{2+}$. Acredita-se que para o primeiro caso o elétron no estado excitado esteja localizado em um ligante bipyridina e no segundo caso o elétron excitado está deslocalizado sobre os dois ligantes terpiridínicos (BOYDE et al., 1990; TREADWAY et al., 1996). No trabalho relatado por Amoyal et al. (1991) foram feitos estudos experimentais e teóricos com relação às propriedades espectroscópicas e fotofísicas de para-substituído fenilterpiridina (p $terpy$) em complexos do tipo $(M-II, d^6)(R-pterpy)_2^{2+}$, onde $M=Fe, Ru$ ou Os e $R=H, CH_3, OH, OCH_3$ ou Cl . Estes sistemas foram discutidos em relação à localização versus deslocalização do elétron promovido ao estado excitado. Para os sistemas em questão, o estado excitado pode ser interpretado como sendo:



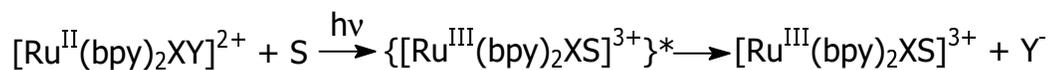
Uma das soluções sugeridas por Boyde (1990), foi a construção de complexos do tipo $(Ru(dmb)_3)^{2+}$ ($dmb= 4,4'$ -dimetil-2,2'-bipyridina) e $(Ru(bbpe)_3)^{2+}$ ($bbpe= trans$ -1,2-bis(4 metil-2,2'-bipyridil-4-yl)-eteno), onde os ligantes dmb e bpy são caracterizados por sua alta deslocalização π^* ,

acarretando um considerável aumento no tempo de vida dos complexos no estado excitado (TREDWAY et al., 1996).

No trabalho relatado por Hecker (1991), verificou-se a influência de substituintes aril nas propriedades fotoquímicas e fotofísicas de complexos de Ru(II) e Cu(I) com ligantes poliaminas. Para complexos com Cu(I), o substituinte aril inibiu o "quenching" induzido pelo solvente que ocorre via formação do "exciplex" e alteração no tempo de vida do estado excitado. Diferentemente, a introdução de substituintes fenil na posição 6,6'- do ligante terpiridina reduziu drasticamente o tempo de vida do complexo de rutênio no estado excitado.

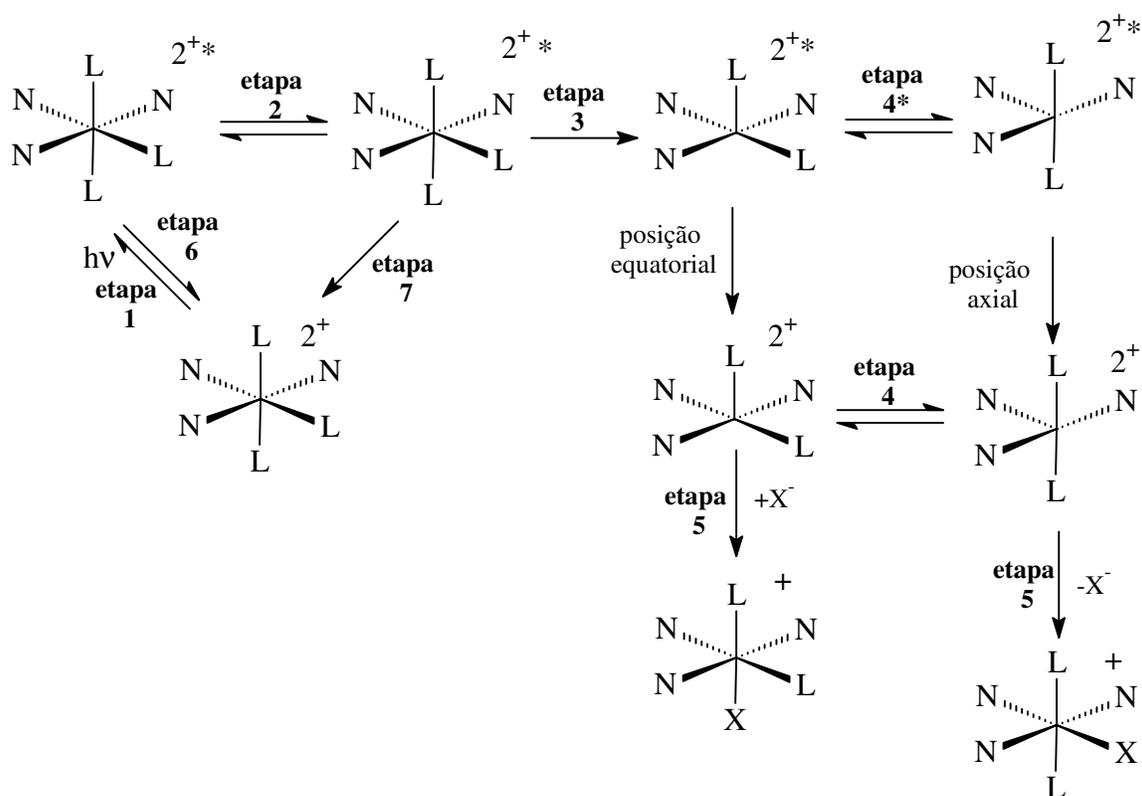
Uma outra maneira de aumentar o tempo de vida no estado excitado para complexos de rutênio-polipiridínicos é o encapsulamento desses complexos em supergaiolas, baseadas em zeólitas. No trabalho de Maruszeuski e Kncaid (1995), foi mostrado que o complexo $(Ru(bpy)_2(daf))^{2+}$ (daf = diazofluoreno) em solução exibe uma fraca intensidade de luminescência e com tempo de vida no estado excitado menor que 10 ns à temperatura ambiente. Quando encapsulado em zeólitas, o resultado é um aumento na intensidade de emissão luminescente e no tempo de vida no estado excitado à temperatura ambiente.

Os processos envolvendo a irradiação da banda TCML para os complexos de rutênio(II) com ligantes polipiridínicos tipo $(Ru(bpy)_2XY)^{2+}$ em que X e Y são ligantes monodentados iônicos, envolvem geralmente a perda de um ligante monodentado e coordenação por exemplo de uma molécula de solvente (**S**). Esta fotorreatividade se deve principalmente a população de orbitais moleculares caracterizados tipicamente como sendo do íon metálico, em processo relacionado à desativação térmica, como descrito no Esquema 7.



Esquema 7. Processos de fotorreatividade para complexos Ru(II)-polipiridínicos.

Semelhante observação foi feita para compostos tridentados ((Ru(terpy)L₃)ⁿ⁺), porém neste caso o mecanismo foi descrito de uma forma mais elaborada, considerando-se a saída do ligante monodentado L em (Ru(terpy)L₃)ⁿ⁺ (Esquema 8) (SUEN et al., 1989).



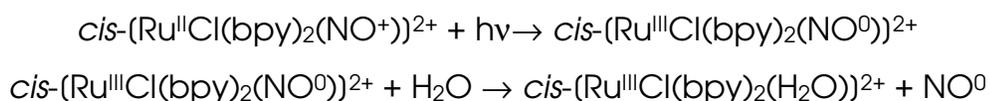
Esquema 8. Mecanismo de fotossubstituição para complexos do tipo (Ru(terpy)L₃)²⁺ (SUEN et al., 1989).

A excitação na região da banda TCML guia uma transferência de elétrons do estado excitado contendo terpy*⁻ (etapa 1). Durante o decaimento não radiativo do estado excitado pode haver população dos orbitais de características predominante do metal (orbitais d-d) (etapa 2)

promovendo fotolabilização do ligante L (etapa 3). As etapas 6 e 7 descrevem os processos de relaxação não radiativa para o estado fundamental e para os orbitais dos estados excitados, respectivamente. A perda de um ligante L (etapa 3), a partir da posição axial ou equatorial guia a um intermediário reativo pentacoordenado ainda no estado excitado (etapa 4*) ou no estado fundamental (etapa 4). A captura do ligante (etapa 5) guia a um produto final. O resultado depende da ocorrência de rearranjos e a captura do ligante pelo intermediário pentacoordenado (SUEN et al., 1989).

Os complexos nitrosilos de rutênio com co-ligantes piridínicos, começaram a ser estudados por Meyer e colaboradores desde o início da década de setenta (GODWIN & MEYER, 1971a; GODWIN & MEYER, 1971b; CALLAHAN & MEYER, 1977). Alguns autores mostraram, por exemplo, que a reatividade do grupamento nitrosil depende das características de co-ligantes como 2, 2'-bipiridina e piridina (OOYAMA et al, 1995).

Nos trabalhos descritos por Togniolo et al., (2001) e Saucia et al., (2003c) para a série de complexos nitrosilos de rutênio *cis*-(Ru(bpy)₂(L)NO)³⁺, foi verificado que o provável caminho fotoquímico para liberação do NO, relaciona-se com a irradiação da banda TCML tipo d_πRu(II)→π*(NO⁺) e consequente foto-labilização do ligante nitrosil, como descrito no Esquema 9.



Esquema 9. Mecanismo fotoquímico para liberação do ligante nitrosil.

Como mencionado no item 1.6, os complexos nitrosilos de rutênio podem ser utilizados como agentes liberadores de óxido nítrico mediante estímulo fotoquímico. O comprimento de onda, a intensidade e o local da

irradiação podem ser ajustados no controle da liberação fotoquímica do NO em determinados alvos biológicos específicos. Dado às características biológicas do NO e a sua atividade antitumoral, compostos nitrosilos de rutênio podem viabilizar a terapia clínica baseado no efeito da irradiação luminosa como a Terapia Fotodinâmica (TFD).

1.7. Terapia Fotodinâmica de tecidos neoplásicos

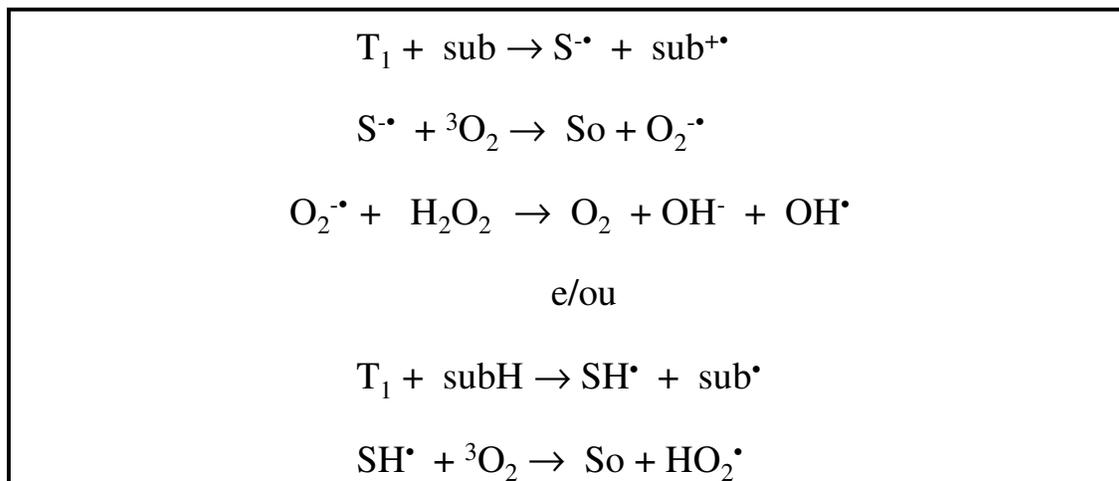
A Terapia Fotodinâmica (TFD) é um tratamento médico que emprega uma combinação de luz e fármaco a fim de obter um efeito citotóxico ou um efeito modificador no câncer ou em qualquer outro tecido indesejável. Isso se deve ao modo de ação duplo-seletivo: uma droga fotossensibilizadora e de toxicidade insignificante é introduzida dentro do corpo e acumulada preferencialmente em células que estão se dividindo rapidamente. Quando a droga atinge uma razão apropriada de acúmulo em tecidos lesados versus tecido saudável, uma luz na faixa de 600 a 850 nm é incidida sobre o tecido lesado. A luz ativa a droga e suscita sua ação tóxica. A quantidade de luz necessária deve ser grande o suficiente para causar a resposta desejada no tecido, mas pequena o suficiente para poupar os tecidos vizinhos saudáveis (e inevitavelmente iluminados) de danos extensivos. Estes estudos científicos envolveram vários grupos de pesquisa, principalmente o de Dougherty e colaboradores (DOUGHERTY et al., 1978; DOUGHERTY, 1984; DOUGHERTY, 1995).

A incorporação do agente sensibilizador (fotoativo) em membranas biológicas parece ser fortemente favorecida quando se utiliza veículos adequados como sistemas carregadores de drogas. Inúmeros fotossensibilizadores tais como o fotofrin, porfirinas reduzidas, hematoporfirinas e benzoporfirinas, encontram-se atualmente sob investigação acadêmica e clínica como agentes ativos na TFD.

Após absorção da luz por substratos e/ou corantes exógenos

presentes nos tecidos celulares, na presença de oxigênio, os fotossensibilizadores sofrem vários processos fotofísicos e induzem a produção de espécies reativas de oxigênio ($^1\text{O}_2$, $\text{O}_2^{\bullet-}$, $^{\bullet}\text{OH}$, H_2O_2) denominadas como EROs. Estas espécies danificam macromoléculas como lipídeos, proteínas e DNAs, e desencadeiam a morte de tais tecidos por necrose ou apoptose celular. Existem dois mecanismos de formação de EROs (SRINIVASAN, et. al, 1978; GOTTFRIED, 1988; MULAZZANI, et. al, 1991):

- Fotossensibilização do tipo I (Esquema 10) – ocorre quando o fotossensibilizador no estado T_1 é oxidado ou reduzido e realiza reação redox com diferentes materiais biológicos (sub). Devido ao fato de poucas moléculas biológicas apresentarem facilidade de fotorredução (como quinonas e citoquinas), geralmente o que se reduz a ânion radical é o fotossensibilizador, o qual acarreta a oxidação do substrato biológico ($\text{sub}^{\bullet+}$). A espécie reduzida ($S^{\bullet-}$) pode transferir um elétron ao oxigênio molecular presente no meio, formando o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) que gera outras espécies reativas de oxigênio como o radical hidroxil (OH^{\bullet}). O fotossensibilizador no estado triplete (T_1) também pode abstrair um próton de um substrato biológico (subH) e transferí-lo ao oxigênio molecular, formando o radical hidroperóxil (HO_2^{\bullet}).



Esquema 10. Geração de EROs pelo mecanismo do tipo I.

- Fotossensibilização do tipo II - esse caminho envolve a transferência de energia do fotossensibilizador no estado triplete (T_1) para o oxigênio molecular com formação de oxigênio singlete (1O_2), que é uma espécie extremamente reativa e rapidamente danifica os mais variados materiais biológicos eletrofílicos, como lipídeos insaturados, proteínas, ácidos nucleicos etc.

A TFD é utilizada no tratamento de neoplasias em diferentes partes do corpo, tais como sistema gastrointestinal, sistema nervoso central, cabeça, pescoço, esôfago e pulmões. A grande eficácia da TFD é no tratamento de câncer de pele pela facilidade de exposição desse órgão à luz (DE ROSA & BENTLEY, 2000).

Com o intuito de minimizar os possíveis efeitos indesejados dos agentes fotossensibilizadores na TFD muitas pesquisas estão sendo realizadas no sentido de incorporar essas espécies em sistemas de liberação controlada, como ciclodextrinas, lipossomos, nanopartículas e microemulsões, o que constitui a terceira geração de fotossensibilizadores utilizados na TFD (DeROSA & CRUTCHLEY, 2002; ROTTA et al., 2003; TEDESCO et

al., 2003). Tais sistemas aumentam o tempo de circulação do fármaco dentro do organismo e favorecem sua incorporação em membranas biológicas. Além disso, no caso de lipossomos, certas modificações na constituição de sua dupla camada lipídica podem acarretar maior especificidade para com células tumorais (WOHRLE et al., 1998).

Embora 80% do estudo da TFD em diferentes centros de pesquisa, seja baseado na utilização do oxigênio singlete como espécie reativa (DE ROSA & CRUTCHLYEY, 2002). A hipóxia das neoplasias de grande porte constitui-se a maior barreira quanto ao sucesso da TFD como terapia efetiva na fase clínica. Com isso, há uma constante procura por outras espécies úteis, como radicais livres derivados dos fotossensibilizadores utilizados, bem como outras espécies radicalares independentes do oxigênio. Uma possibilidade é utilizar compostos, como os complexos nitrosilo de rutênio, que tenham a propriedade de liberar NO quando estimulados fotoquimicamente. O NO além de possuir natureza radicalar, reage com o ânion superóxido (O_2^-) presente no meio e forma o peroxinitrito ($ONOO^-$) que é uma espécie altamente reativa e faz parte de uma classe de substâncias denominadas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs) (HEROLD & KOPPENOL, 2005; IGNARRO, 2000).

Estudos das ações do NO em preparações biológicas são dificultadas pela sua alta reatividade, curta meia vida e por incertezas sobre a cinética e extensão da liberação de NO a partir de doadores de NO termicamente instáveis como o nitroprussiato de sódio. Problemas associados com o retardo difusional podem ser solucionados pela "flash" fotólise. Nesse método, precursores inativos biologicamente são equilibrados dentro da preparação, antes da rápida liberação do ligante ativo perto do sítio de ação por um breve pulso de luz.

Uma das estratégias é utilizar um precursor que tenha uma reatividade térmica relativamente baixa, mas seja fotoquimicamente ativo

para gerar NO quando sujeito a uma excitação eletrônica. A idéia de utilizar compostos fotossensíveis capazes de liberar NO fotoinduzidamente abre um enorme campo de ação dentro da TFD e de outras terapias convencionais. A síntese e a caracterização destes compostos, estudos fotoquímicos e fotofísicos, seguidas de estudos em meios biológicos permitirão um entrosamento entre a fotoquímica clássica, a fotobiologia e na fotomedicina.

Uma maneira viável para o uso de veículos na administração destes compostos é sua incorporação em sistemas carregadores de drogas, como ciclodextrinas, lipossomos, emulsões e microemulsões. Tais sistemas aumentam o tempo de circulação do fármaco dentro do organismo e favorecem sua incorporação em membranas biológicas.

1.8. Liberação Controlada de Fármacos

Um dos empecilhos para o uso de complexos nitrosilos de rutênio como agentes liberadores de NO está relacionado à estabilidade dos compostos em pH fisiológico e também ao efeito ocasionado por substâncias redutoras que possam agir na liberação de NO. Assim o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármaco que oferecem estabilidade aos complexos tipo $Ru^{II} \rightarrow NO^+$ são de interesse para o estudo farmacológico. Tais sistemas podem ser imprescindíveis para o sucesso terapêutico de novas espécies químicas. Uma possibilidade é o microemulsão (DAVIS et al., 1998) e matrizes sólidas (HARDWICK et al., 2001; ROBBINS et al., 2004; NABLO et al., 2005a,b).

1.8.1. Microemulsões

As microemulsões (ME) são como reservatórios, nos quais a fase interna constitui um microambiente com agregados esféricos e com diâmetro na ordem de 100 Å (LANGEVIN, 1988), com propriedades

particulares, podendo ligar ou associar moléculas com diferentes polaridades (DE OLIVEIRA et al., 1997).

ME são, de forma geral, definidas como sistemas termodinamicamente estáveis, isotrópicos e transparentes, de dois líquidos imiscíveis (usualmente água e óleo) estabilizados por um filme de compostos tensoativos, localizados na interface óleo/água (DE OLIVEIRA et al., 2004).

A formação da microemulsão geralmente envolve a combinação de três a cinco componentes, tais como tensoativo, fase aquosa, fase oleosa e quando necessário, o co-tensoativo, sendo que a orientação para os sistemas O/A ou A/O é dependente das propriedades físico-químicas do tensoativo, traduzidas principalmente pelo seu equilíbrio hidrófilo/lipófilo (DE OLIVEIRA et al., 1997). A principal característica do sistema é formar espontaneamente a fase interna por homogeneização suave dos componentes da fórmula. Sua estabilidade termodinâmica oferece vantagens sobre as dispersões instáveis, tais como as suspensões e emulsões, podendo ser utilizada por muito mais tempo (DALMORA & DE OLIVEIRA, 1999).

Enquanto que as emulsões são estabilizadas por agentes emulsivos comuns (tensoativo), as microemulsões geralmente são adicionadas de um co-tensoativos, cuja função é diminuir a tensão interfacial para valores abaixo dos limites proporcionados pelo emulsivo comum.

Além disso, devido às dimensões reduzidas da fase interna das microemulsões, as gotículas possuem alto valor de coeficiente de difusão, se comparada às emulsões.

1.8.2. Matrizes Sólidas

Durante os procedimentos clínicos de implantes biomédicos, próteses ortopédicas e catéteres intravasculares ocorrem problemas do

tipo deposição de proteínas, adesão plaquetária, indução de trombose e infecções bacterianas devido à formação de biofilmes por fungos e bactérias durante procedimentos clínicos (NABLO et al., 2005b).

Visando solucionar esses problemas, as estratégias usadas pelos pesquisadores consiste em construir aparatos médicos a partir de materiais biocompatíveis. Dentre os materiais biocompatíveis encontram-se polímeros do tipo sol-gel, silicone e poliuretano.

Em trabalhos recentes, substâncias doadoras de NO como diazodiolato e nitrosoglutatona foram incorporados em materiais poliméricos biocompatíveis do tipo sol-gel para liberação de NO. Estas matrizes reduziram a adesão plaquetária (RADOMSKI et al., 1992), restenose (YOON et al., 2002), vasoespamos (GABIKIAN et al., 2002) e redução de adesão bacteriana (NABLO et al., 2001).

A tecnologia sol-gel prevê um excelente caminho na obtenção de filmes transparentes e mecanicamente estáveis. Trata-se de um material poroso que garante a característica de xerogel, além da sua preparação ser baseada em reagentes organosilano em solução (MARSZEWSKI et al., 2001).

No entanto, os benefícios no uso de materiais liberadores de NO em aparatos médicos implica na liberação de óxido nítrico em tecidos sadios.

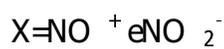
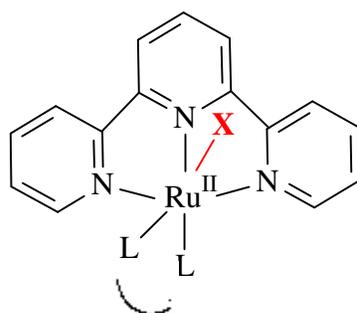
Com base na exposição prolongada e elevada concentração de NO estar associada a choque séptico (McMICKING et al., 1995), carcinogênese (WINK et al., 1998) e danos ao DNA (BURNEY et al., 1999) relataram o estudo de citotoxicidade desses materiais em culturas de células de fibroblastos (L929). Os resultados mostraram que o efeito citotóxico dos filmes dependia do tipo de aminosilano que constituía o material sol-gel. Neste caso foi proposto pelo grupo, a utilização de uma camada de PU (poliuretano) sobre o filme sol-gel a fim de diminuir o efeito citotóxico.

A solução encontrada para diminuir o efeito citotóxico desses materiais, controlar a velocidade e duração do NO a partir de materiais sol-gel é aumentar a porcentagem de polímeros como silicone e poliuretano (NABLO et al., 2005).

2-Objetivos

Tendo em vista a importância fisiológica do óxido nítrico (NO) e na potencialidade de complexos de rutênio como pró-droga, idealizamos os objetivos deste Doutorado:

- Sintetizar e caracterizar por técnicas espectroscópicas e eletroquímicas compostos nitrosilos de rutênio do tipo $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO}^+)(\text{PF}_6)_3$ e $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO}_2)(\text{PF}_6)$ onde L = Cl⁻ (cloreto), bpy (2,2'-bipiridina), bdqi-COOH (benzoquinonadiimina), bdcac-COOH (benzoquinonadiamina) e 2-pySH (2-mercaptopiridina) (Figura 7);
- Estudar a reatividade fotoquímica dos complexos sob irradiação no ultravioleta (355 nm) e visível (532 nm) quanto à labilização do NO;
- Desenvolver sistemas de liberação controlada como: microemulsão, matrizes sólidas do tipo sol-gel e silicone e eletrodo de ouro imobilizado.
- Avaliar comportamento farmacotécnico e farmacológico dessas espécies como agentes doadores de NO.



L	2,2'-bipiridina(bpy)	
	benzoquinonadiimina(bdqj -COOH)	
	benzoquinonadiamina(bdcat -COOH)	
	2-mercaptopiridina (2-pySH)	
	cloreto	Cl ⁻

Figura 7. Fórmula estrutural dos complexos de rutênio e dos ligantes piridínicos estudados.

3-Justificativa

O óxido nítrico (NO) é uma importante molécula mediadora de importantes processos biológicos. As propriedades físico-químicas do óxido nítrico governam suas atividades fisiológicas e sua falta no organismo pode acarretar graves danos. Assim, o uso terapêutico de compostos geradores de NO é bastante promissor. Dentre estes compostos, os complexos nitrosilos de rutênio parece ser *sui generis*, pois o óxido nítrico reage facilmente com rutênio, produzindo compostos estáveis e susceptíveis à ação de certos estímulos químicos, eletroquímicos e fotoquímicos que promovem sua liberação.

Neste trabalho sugerimos a síntese de complexos nitrosilos de rutênio utilizando o fragmento $(\text{Ru}(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ devido à estabilidade estrutural e características foto- e eletroativas do ligante terpiridina. Os co-ligantes Cl^- , bpy, bdqi-COOH, bdcac-COOH e 2-pySH permitem modular o grau de interação e reatividade entre a ligação $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{NO}^+$, além de direcionar a melhor forma de propor a liberação de NO pelos complexos.

Visando a estabilidade desses complexos em ambiente biológico, estudos fotoquímicos e redutimétricos em solução e em sistemas de liberação (microemulsão e matrizes sol-gel e silicone) foram conduzidos.

4. Materiais e Métodos

A Tabela 2 resume a procedência e o teor dos reagentes e solventes utilizados para os procedimentos experimentais.

Tabela 2. Teor e procedência dos reagentes utilizados durante as sínteses e a caracterização dos complexos.

Reagentes	Teor (%)	Procedência
2, 2'-bipiridina	99,0	Aldrich Chemicals
3,5-ácido dimainobenzóico	98,0	Aldrich Chemicals
2,2':6',2''-terpiridina	98,0	Aldrich Chemicals
Acetonitrila	99,9	Mallinckrodt
Ácido acético	99,7	Synth
Ácido clorídrico	36,5~38,0	Quimex
Ácido fosfórico	85,0	Merck
Ácido fosfórico	85,0	Merck
Ácido hexafluorofosfórico	98,0	Aldrich Chemicals
Ácido nítrico	65,0	Merck
Ácido trifluoroacético	98,0	Merck
Brometo de potássio	98,0	Aldrich Chemicals
Cloreto de hexaaminrutênio(III)	95,0	Aldrich Chemicals
Cloreto de potássio	98,0	Nuclear
Cloreto de sódio	98,0	Nuclear
Cloreto de lítio	99,0	Aldrich Chemicals
Cloreto de rutênio(III)	99,9	Aldrich Chemicals

Cloreto de tetrabutilamônio	98,0	Aldrich Chemicals
Diclorometano	99,0	Merck
di-n-butilestanho-dilaurato	95,0	Aldrich Chemicals
Dihidrogenofosfato de sódio	99,5	Merck
Etanol	99,8	Vetec
Éter etílico	99,0	Merck
Ferrioxilato de potássio	98,0	Aldrich Chemicals
1,10-fenantrolina	-	Synth
Hexafluorofosfato de amônio	95,0	Aldrich Chemicals
Hidrazina	25,0	Vetec
Hidróxido de amônio	98,0	Synth
Hidróxido de sódio	97,0	Synth
Hidróxido de potássio	97,0	Synth
2-mercaptopiridina	99,0	Aldrich Chemicals
Metanol	99,5	Merck
Monohidrogenofosfato de sódio	99,5	Merck
Nitrato de potássio	98,0	Merck
Nitrito de sódio	99,0	Merck
Pirazina	99,0	Aldrich Chemicals
Polidimetilsiloxano	99,0	Dow Corning
Pirocatecol	99,0	Mallinckrodt
Resina Catiônica	-	Merck

Sal de Reinecke	98,0	Aldrich Chemicals
Sílica Gel 60	-	Merck
Tetrafluoroborato de sódio	98,0	BDH Chemicals
Tetrafluoroborato de tetrabutilamônio	99,0	Aldrich Chemicals
Tetraetoxisilano	98,0	Fluka
Trietilanoamina	85,0	Synth
Zinco	99,0	Synth

4.1. Gás Argônio

O gás argônio utilizado foi borbulhado em uma solução de crômio (II), contida em um frasco lavador, para retenção de traços de oxigênio eventualmente presentes no encanamento. As soluções de Cr(II) são obtidas por redução do correspondente sal de Cr(III) por amálgama de zinco.

A troca de cor azul {Cr(II)} para verde {Cr(III)} indica a presença de oxigênio. A solução redutora é mantida em contato permanente com zinco amalgamado para sua constante regeneração. Em seguida o argônio passa por um frasco lavador contendo água destilada para lavagem e saturação do gás com vapor d'água.

4.2. Medidas de pH

As medidas de pH foram realizadas utilizando-se o pHmetro Digimed modelo DM-20.

4.3. Análise Elementar

Os resultados de análise elementar dos complexos foram obtidos pelo Sr. Paulo Roberto Lambertucci em um aparelho Elemental Analyzers

CE Instruments Carlo Erba modelo 1110 CHNS-O, situado no Departamento de Química Universidade Federal de São Carlos.

4.4. Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos com Espectrofotômetro FTIR Nicolet modelo Protege 460. As amostras foram feitas no estado sólido utilizando pastilha de brometo de potássio (KBr) e em filmes de nujol.

4.5. Espectroscopia na região do ultravioleta-visível

A caracterização por espectroscopia na região UV-visível dos complexos foi realizada em um espectrofotômetro UV-visível-NIR Hitachi modelo U-3501. Quantidades estabelecidas dos compostos foram dissolvidas em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e submetidas à varredura espectrofotométrica de 800 nm a 200 nm, utilizando uma cubeta de quartzo de 1,000 cm de caminho óptico. Os máximos de absorção foram determinados diretamente nos espectros obtidos e utilizados para calcular o coeficiente de absorvidade molar (ϵ).

4.6. Preparação de Soluções Tampões

Foram utilizadas as seguintes soluções tampões para os experimentos eletroquímicos e fotoquímicos:

-NaCF₃COO/CF₃COOH ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH=2,03;

-NaCH₃COO/CH₃COOH ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) pH=4,50;

-Na₂HPO₄ ($8,4 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) e NaH₂PO₄ ($6,7 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) pH=7,40. A este tampão foram adicionados, cloreto de sódio ($0,137 \text{ mol L}^{-1}$) e cloreto de potássio ($2,7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) para uma maior proximidade com o meio

biológico. A força iônica calculada para este tampão é de $0,14 \text{ mol L}^{-1}$ (MORITA, 1968).

4.7. Espectrofluorometria

As medidas de emissão e excitação foram efetuadas usando um espectrofotômetro de fluorescência Hitachi modelo F-4500, utilizando celas de quartzo de $1,000 \text{ cm}$ de caminho óptico. As soluções dos complexos foram feitas em tampão $\text{pH} = 2,03$ à temperatura cerca de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e submetidas à varredura espectrofotometricamente de 800 nm a 200 nm .

4.8. Voltametria cíclica e de pulso diferencial

Medidas de voltametria cíclica e de pulso diferencial foram realizadas utilizando um potenciostato/galvanostato AUTOLAB[®], modelo PGSTAT 30.

Para experimentos eletroquímicos realizados em meio aquoso utilizou-se solução tampão contendo cloreto de potássio (KCl) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte. O eletrodo de trabalho foi de carbono vítreo, o eletrodo auxiliar foi de platina e o eletrodo de referência foi de Ag/AgCl .

Para um processo reversível, os potenciais e as correntes de picos anódico e catódico (E_{pa} , E_{pc} , I_{pa} , I_{pc}), o potencial de meia onda de um processo redox ($E_{1/2}$) e o potencial e a corrente de inversão de varredura (E_{sp} , I_{sp}) foram obtidos conforme a Figura 8.

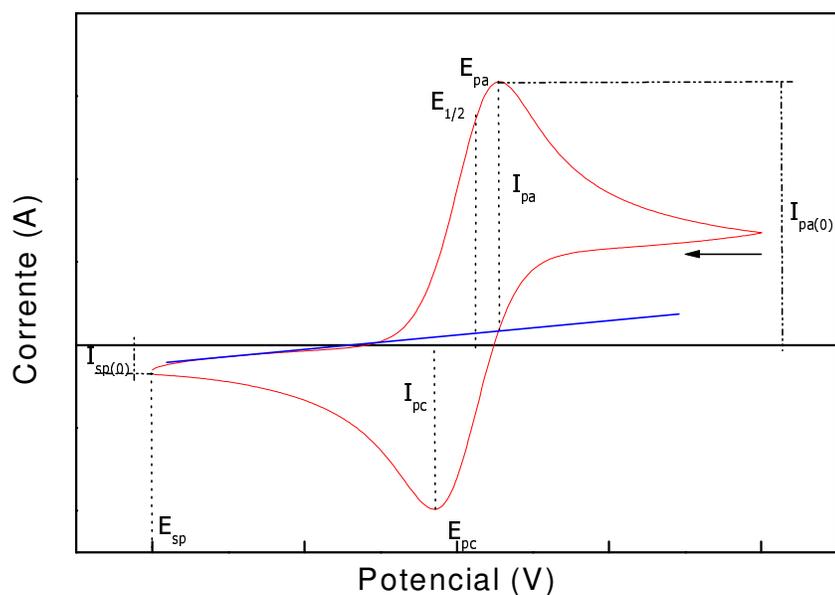


Figura 8. Ilustração dos parâmetros de um voltamograma cíclico completo.

Se o sistema não exibir linha de base catódica definida na redução (ou anódica na oxidação), utiliza-se o método empírico de Nicholson e Shain (1965) que determina a razão I_{pa}/I_{pc} pela Equação 1.

$$\frac{I_{pa}}{I_{pc}} = \frac{I_{pa(0)}}{I_{pc}} + 0,485 \times \left(\frac{I_{sp(0)}}{I_{pc}} \right) + 0,086 \quad (1)$$

4.9. Espectroeletróquímica

A cela espectroeletróquímica é composta de um recipiente de quartzo de 0,500 mm de caminho óptico, com gargalo e provida de tampa de teflon. Como eletrodo de trabalho utilizou-se uma folha de ouro transparente, como eletrodo auxiliar e de referência utilizou-se um fio de platina e Ag/AgCl respectivamente, conforme está representado na Figura 9.

O sistema foi mantido em atmosfera de argônio e acoplado a um

potenciostato/galvanostato AUTOLAB[®], modelo PGSTAT 30, juntamente com o espectrofotômetro UV-visível-infravermelho próximo Hitachi modelo U-3501. Durante a eletrólise, em potencial controlado, foram obtidos os espectros de absorção em tempos selecionados, à temperatura de 25 °C.

As medidas espectroeletróquímicas foram efetuadas em tampão pH=2,03 e para promover força iônica constante, utilizou-se KCl na concentração 0,1 mol L⁻¹.

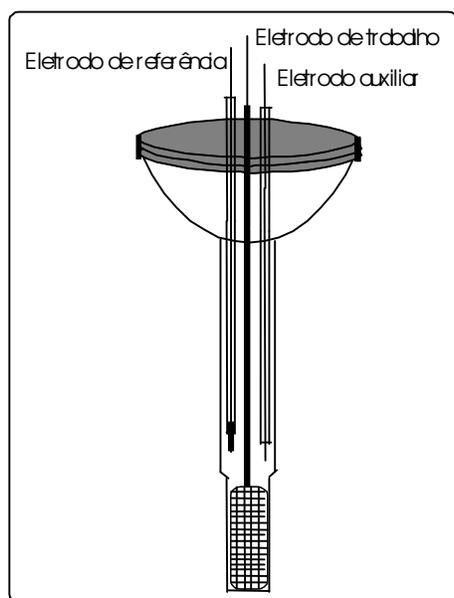


Figura 9. Esquema da cela espectroeletróquímica.

4.10. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A cromatografia foi realizada em um equipamento da Shimadzu, com bomba LC-10AD, um injetor Rheodyne modelo 7125, com amostrador de 20 µL e detector de fotodiodo, modelo SPD-M10A. Utilizou-se coluna CLC-ODS (250 × 4,6 mm d.i.), constituída por partículas de 5 µm às quais está ligada uma cadeia octadecil.

A eluição da fase móvel foi isocrática e o fluxo foi mantido em 1,0 mL min⁻¹. As amostras foram dissolvidas na própria fase móvel e injetadas em volumes de 25 µL.

Para as análises envolvendo os complexos nitrosilos foi utilizada a fase móvel composta da mistura 70:30 do tampão 0,1 % de ácido trifluoroacético (TFA) e ajustado com NaOH até pH = 2,03 (70 %) e metanol (30 %). A análise para o complexo de nitrito foi utilizada a fase móvel 70:30 do tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH=7,40 (70 %) e etanol (30 %).

4.11. Experimentos Fotoquímicos

Utilizou-se como fonte de irradiação um sistema laser Nd:YAG da Continuum, modelo SURELITE I-10. Para os compostos estudados utilizaram-se pulsos do terceiro (355 nm) e do segundo (532 nm) harmônico.

A uma distância de 10 cm da fenda do laser foi posicionado um suporte para celas termostatizáveis com agitação magnética (Hellmam CUV-O-Stir). A intensidade de luz foi determinada antes e após o conjunto de pulsos através de um "Power Meter" (Field Master da Coherent) utilizando-se uma cabeça de detecção LM-30V, posicionada a 5 cm a partir do suporte para celas.

Para os estudos fotoquímicos, as soluções tampões possuíam concentração 0,1 mol L⁻¹ de NaBF₄ para manter a força iônica constante.

4.11.1. Medida da intensidade de luz incidente (I_s)

A intensidade de luz incidente é calculada pelo número de fótons emitidos pela fonte de luz por segundo e foi medida pelo "Power Meter" durante os experimentos. Contudo, quando foi necessária a aquisição de dados mais precisos, para o cálculo de rendimento quântico, esta foi determinada por actinometria. A determinação da intensidade da luz incidente foi realizada com os actinômetros ferrioxalato de potássio e sal de Reinecke, para comprimentos de onda de irradiação de 355nm e 532nm, respectivamente. As actinometrias foram realizadas antes e após cada experimento de fotólise.

4.11.2. Actinometria com ferrioxalato de potássio (RABEK, 1982)

Foram preparadas as seguintes soluções:

- solução A: ferrioxalato de potássio $\{K_3(Fe(C_2O_4)_3) \cdot 3H_2O\}$ $6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$: preparada pela diluição de 0,147 g do sal em 5 mL de ácido sulfúrico 1 mol L^{-1} e diluído a um volume final de 50 mL.
- solução B: preparada pela mistura de 60 mL de acetato de sódio 1 mol L^{-1} e 36 mL de ácido sulfúrico 1 mol L^{-1} e diluído a um volume final de 100 mL (pH = 1,0).
- solução C: 1, 10-fenantrolina 0,10 %.

Para realizar a actinometria, somente luz vermelha foi mantida acesa. Foram transferidos, respectivamente, 3,0 mL (V_1) e 2,0 mL da solução A para uma cubeta de fluorescência e para um balão volumétrico de 5,0 mL (solução controle).

A solução na cubeta foi irradiada durante um determinado tempo (t), em 355 nm (10 Hz, 15 mJ pulso⁻¹). Desta solução irradiada foram transferidos 2 mL (V_2) para um balão volumétrico de 5 mL (V_3). A este balão, assim como ao balão da solução controle, foram adicionados 1 mL da solução B e 0,4 mL da solução C. Os volumes dos balões foram completados com água. As soluções foram agitadas e deixadas no escuro por 1 hora.

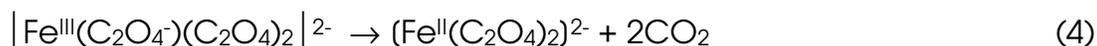
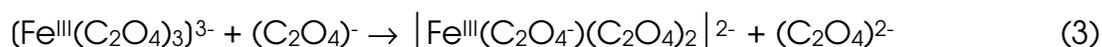
Mediu-se a absorbância da solução controle no comprimento de onda de irradiação (355 nm) e em 510 nm. A absorbância da solução irradiada foi medida em 510 nm.

Esse procedimento foi repetido para quatro diferentes tempos de irradiação (t): 5s, 10s, 15s e 20s.

- Cálculo de I_s utilizando ferrioxalato de potássio

O ferrioxalato de potássio quando irradiado, principalmente na faixa

de 253 nm a 577 nm, reage as conforme as seguintes equações (SIMA & MAKÁNOVÁ, 1997; DEMAS & BOWMAN, 1981, RABEK, 1982):



O produto $(\text{Fe}^{\text{II}}(\text{C}_2\text{O}_4)_2)^{2-}$ não absorve luz e os íons $\text{Fe}(\text{II})$ formam um complexo vermelho com a 1,10-fenantrolina. Essa formação pode ser acompanhada por espectrofotometria na região do UV-visível, pois esse complexo tem coeficiente de absorvidade molar (ϵ) de $1,11 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ em 510 nm. Dessa forma, a intensidade de luz incidente é calculada pela Equação 5.

$$I_s \times t = \frac{n_{\text{Fe}}}{\phi_{\text{Fe}} \times (1 - 10^{-\text{abs}})} \quad (5)$$

ϕ_{Fe} = rendimento quântico de formação de $\text{Fe}(\text{II})$ (1,22 em 355 nm);

t = tempos de irradiação (5s, 10s, 15s e 20s);

abs = absorvância da solução controle no comprimento de onda de excitação (355 nm).

n_{Fe} = número de íons $\text{Fe}(\text{II})$ formado na solução actinômetro.

O número de íons $\text{Fe}(\text{II})$ formado na solução actinômetro é determinado pela Equação 6.

$$n_{\text{Fe}} = \frac{6,02 \times 10^{20} \times \text{abs}(510\text{nm}) \times V_1 \times V_3}{\epsilon \times V_2 \times l} \quad (6)$$

abs (510 nm) = absorvância em 510 nm da solução irradiada;

V_1 = volume da solução A irradiada (3 mL);

V_2 = volume da alíquota tomada para análise (2 mL);

V_3 = volume final para o qual a alíquota foi diluída (5 mL);

l = comprimento da cela espectrofotométrica (1,000 cm);

ϵ = valor do coeficiente de absorvidade molar do complexo de Fe(II) com 1,10-fenantrolina em 510 nm ($1,11 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$).

Os valores de ($I_s \times t$) calculados foram colocados em um gráfico em função do tempo de irradiação t (5s, 10s, 15s e 20s). A inclinação da reta obtida foi o valor de I_s utilizado para calcular os rendimentos quânticos. Esse procedimento faz com que a influência da variação de energia da rede elétrica do laboratório seja minimizada.

4.11.3. Actinometria com sal de Reinecke (PAVANIN, 1988; RABEK, 1982)

O sal de Reinecke é comprado na forma amoniacal $(\text{NH}_4)\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{NCS})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Para obter a forma de potássio, dissolveu-se o sal em água destilada a 36 °C sob agitação constante. Essa solução foi filtrada a quente e, ao filtrado, adicionou-se nitrato de potássio (KNO_3). A solução foi resfriada em banho de gelo por 10 min, aproximadamente. O precipitado formado foi coletado por filtração e lavado com várias porções de água gelada e etanol. O sólido foi seco sob vácuo. Esse procedimento foi realizado sob luz vermelha.

Prepararam-se as seguintes soluções:

- solução A: sal de Reinecke $\{\text{KCr}(\text{NH}_3)_2(\text{NCS})_4\}$ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, preparada pela dissolução de 0,055 g do sal em 25 mL de água destilada. Essa solução ficou protegida da luz e sob agitação por 1 hora.
- solução B: nitrato férrico $\{\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}\}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, preparada pela dissolução de 10 g do sal em 7,55 mL de ácido perclórico 70% e

diluído com água destilada até um volume de 250 mL.

Para realizar a actinometria, somente luz vermelha foi mantida acesa. Foram transferidos 3 mL (V_1) de solução A para uma cubeta de fluorescência e 2 mL para um balão volumétrico de 25 mL (solução controle).

A solução na cubeta foi irradiada durante um determinado tempo (t), em 532 nm (10 Hz, 15 mJ pulso⁻¹). Desta solução irradiada foram transferidos 2 mL (V_2) para um balão volumétrico de 25,0 mL (V_3). O volume do balão, assim como o volume do balão da solução controle, foi completado com a solução B. As soluções foram agitadas e deixadas no escuro por 1 hora.

Mediu-se a absorbância da solução controle no comprimento de onda de irradiação (530 nm) e em 450 nm. A absorbância da solução irradiada foi medida em 450 nm.

Este procedimento foi repetido para quatro diferentes tempos de irradiação (t): 5s, 10s, 15s e 20s.

- Cálculo de I_s utilizando sal de Reinecke

O sal $K(\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{NCS})_4)$ quando irradiado, principalmente no intervalo de 316 nm a 750 nm, ocorrem as seguintes reações:



A formação da espécie $(\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})_5)^{2+}$ ocorre devido à coordenação do íon NCS^- ao $\text{Fe}(\text{III})$ e pode ser acompanhada por espectrofotometria na região do UV-visível, pois esse complexo tem um coeficiente de absorvidade molar (ϵ) de $4,21 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ em 450 nm. Dessa forma, o termo $(I_s \times t)$ é calculado pela Equação 8.

$$I_s \times t = \frac{n_{\text{NCS}^-}}{\phi_{\text{NCS}^-} \times (1 - 10^{-\text{abs}})} \quad (8)$$

ϕ_{NCS^-} = rendimento quântico de formação de NCS^- (0,28 em 532 nm);

t = tempos de irradiação (5s, 10s, 15s e 20s);

abs = absorvância da solução controle no comprimento de onda de excitação (532 nm).

n_{NCS^-} = número de íons NCS^- formado na solução actinômetro.

O número de íons NCS^- formados na solução actinômetro é determinado pela Equação 9.

$$n_{\text{Fe}} = \frac{6,02 \times 10^{20} \times \text{abs}(450\text{nm}) \times V_1 \times V_3}{\epsilon \times V_2 \times l} \quad (9)$$

abs (450 nm) = absorvância em 450 nm da solução irradiada;

V_1 = volume da solução A irradiada (3 mL);

V_2 = volume da alíquota tomada para análise (2 mL);

V_3 = volume final para o qual a alíquota foi diluída (25 mL);

l = comprimento da cela espectrofotométrica (1,000 cm);

ϵ = valor do coeficiente de absorvância molar do complexo $[\text{Fe}(\text{NCS})(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ em 450 nm ($4,21 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$).

Os valores de ($I_s \times t$) calculados foram colocados em um gráfico em função do tempo de irradiação t (5s, 10s, 15s e 20s). A inclinação da reta obtida foi o valor de I_s utilizado para calcular os rendimentos quânticos.

4.12. Determinação amperométrica do NO liberado

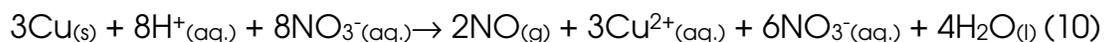
A liberação fotoinduzida de NO gasoso foi detectada diretamente por um sensor amperométrico ISO-NOP, desenvolvido pela World Precision Instruments (NOmeter). Este sensor é formado por um eletrodo envolto por

uma membrana semipermeável, tem sensibilidade na faixa de 1 nmol L⁻¹ a 20 μmol L⁻¹, com tempo de resposta relativamente curto, compatível com o sistema pulsado de irradiação proposto.

O sinal do NOmeter foi obtido em um sistema de detecção CR-7 da Shimadzu e transferido para um microcomputador pelo programa DUO.18 v 1.1. Esse sensor foi calibrado segundo o item 4.12.1.

4.12.1. Calibração do NOmeter

A calibração do NOmeter foi realizada através de uma solução aquosa padrão de NO gasoso (KUDO et al, 1997). Em uma quantidade de 10 mL de tampão borbulhou-se argônio por 30 min a fim de remover todo o oxigênio presente no meio. O gás NO foi gerado por uma solução de ácido nítrico 50%, na qual mergulharam-se pedaços de cobre metálico (Cu⁰) (Equação 10). Antes de borbulhar a solução padrão, o gás passou por uma solução de KOH, para remover possíveis traços de NO₂ presentes na mistura gasosa. Esse aparato foi construído em uma capela (Figura 10).



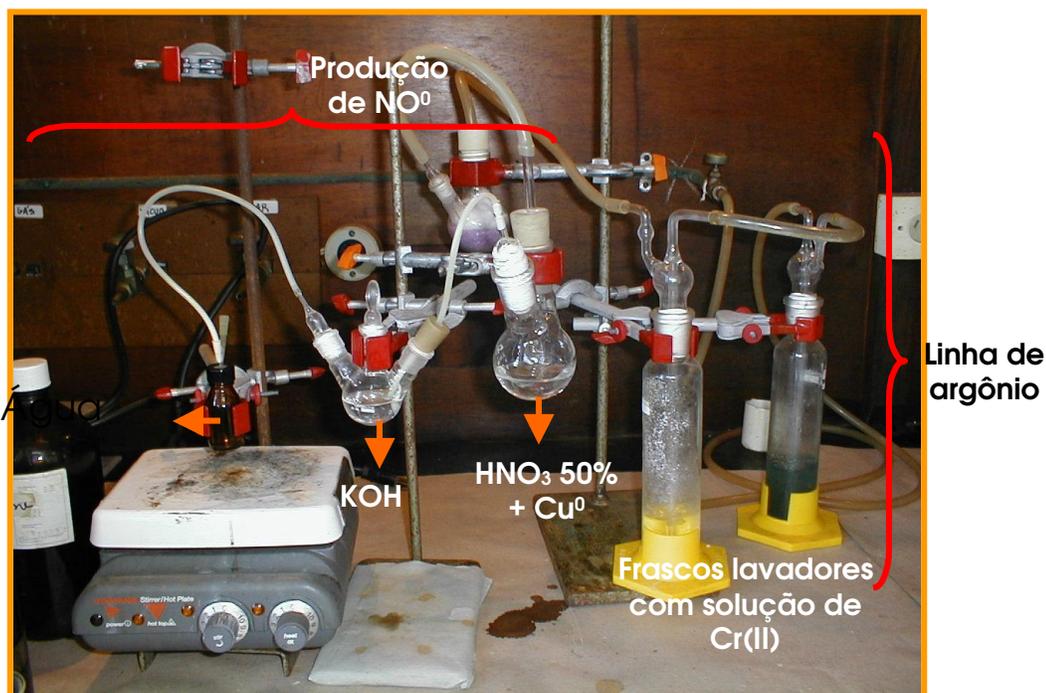


Figura 10. Aparato montado em capela para geração de óxido nítrico gasoso.

O óxido nítrico gasoso foi borbulhado por 1 hora. Tempo suficiente para saturar a solução aquosa. A concentração da solução aquosa de NO foi determinada por titulometria conforme Mori e Bertotti (2000) para o qual encontrou-se um valor $2,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Assim, a partir dessa solução padrão de concentração conhecida de NO gasoso, calibrou-se o aparelho. Acoplou-se o NOmeter em 10 mL de tampão, após borbulhar argônio por 30 min ajustou-se o aparelho no zero. Este tampão deve apresentar o mesmo pH do tampão que será utilizado para dissolver o composto no momento da fotólise. A seguir gerou-se uma concentração conhecida de NO na solução pela adição de um volume específico da solução padrão de NO. Após alguns segundos, quando o valor da corrente de NO na solução permaneceu constante, adicionou-se uma nova quantidade da mesma solução padrão. O aumento observado de corrente mostrou-se proporcional à concentração de NO.

Com relação à utilização do NOmeter, alguns cuidados devem ser considerados, pois a membrana do eletrodo tem um certo tempo de vida e deve ser trocada periodicamente. Para cada membrana é necessária uma nova calibração. É importante que a calibração seja feita no mesmo pH em que será realizado o experimento de fotólise. A resposta amperométrica do eletrodo depende da concentração hidrogeniônica do meio. Realizou-se um experimento em que um volume conhecido de solução aquosa saturada com NO gasoso foi adicionado a 10 mL de tampão e registrou-se a corrente obtida pelo NOmeter. A Figura 11 mostra a resposta do eletrodo em três diferentes tampões com concentrações iguais de NO. Esta variação está intrinsecamente relacionada com a membrana seletiva.

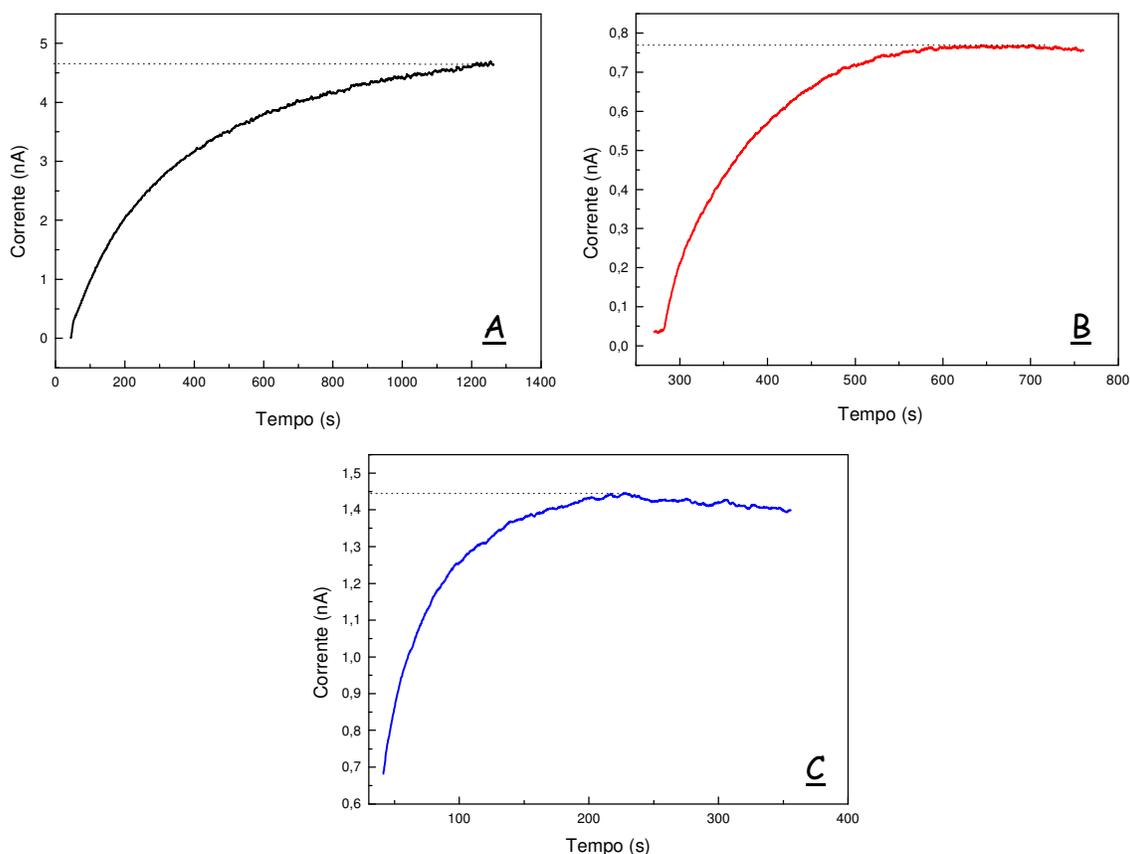


Figura 11. Resposta amperométrica do NOmeter para tampões com mesma concentração de NO, porém diferentes pHs. a) pH = 2,03, b) pH = 4,50 e c) pH = 7,40.

4.13. Irradiação dos complexos

Foram realizados dois tipos diferentes de experimentos de fotólise: um com acompanhamento da variação espectroscópica na região UV-visível e outro com registro amperométrico *in situ* da liberação de NO gasoso (NOmeter). Para os dois tipos, os experimentos foram realizados em triplicata.

A fotólise com acompanhamento da variação do espectro na região do UV-visível foi realizada segundo o protocolo:

Apagou-se a luz do laboratório e somente luz vermelha foi mantida acesa. Prepararam-se as amostras dos complexos em solução tampão, com concentrações próximas a $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Foi realizado um espectro

UV-visível inicial, antes da irradiação. A seguir a amostra foi irradiada durante um certo tempo e foi realizado um novo espectro na região do UV-visível. Esse procedimento foi repetido até que não mais houvesse variação no espectro da amostra.

A fotólise com acompanhamento *in situ* da liberação de NO gasoso foi realizada pelo acoplamento do NOmeter na cubeta a ser irradiada. A amostra foi preparada da maneira descrita anteriormente.

4.14. Cálculo do rendimento quântico (ϕ_{NO})

Para cada pico do cronoamperograma foi calculado um valor de concentração de NO liberado. Com o valor da intensidade da luz incidente (I_s) calculada por actinometria, calculou-se pela Equação 11 o rendimento quântico ϕ_t para cada irradiação. Esses valores foram plotados em um gráfico em função do tempo. O valor extrapolado para tempo zero por regressão linear foi admitido como sendo o do rendimento quântico de liberação de NO (ϕ_{NO}). Isso foi feito com o intuito de minimizar o efeito de fotólises secundárias. Ou seja, a partir de um certo tempo de irradiação pode ocorrer fotodegradação dos produtos, e o rendimento quântico calculado passa a não corresponder à reação de interesse.

$$\phi_t = \frac{n_L}{I_s \times t \times (1 - 10^{-abs})} \quad (11)$$

n_L = número de moles de NO liberados pela reação fotoquímica;

I_s = intensidade da luz incidente;

t = tempo de fotólise (s);

$1 - 10^{-abs}$ = quantidade de luz absorvida pela amostra, onde *abs* é o valor da absorbância da amostra no comprimento de onda de irradiação.

4.15. Estudo dos estados excitados tripletes

Foram feitas determinações dos espectros de absorção e dos decaimentos de tempo de vida do transiente dos complexos (Ru(terpy)(L)NO)ⁿ⁺ (L=bpy e bdcac-COOH) em solução tampão pH = 2,03 e temperatura ambiente (T ≈ 25 °C).

Nos estudos para a obtenção do espectro de absorção e dos decaimentos dos transientes dos complexos (Ru(terpy)(L)NO⁺), os estados excitados triplete foram gerados por fotólise por pulso de laser. Os experimentos foram realizados utilizando-se como fonte de excitação o terceiro harmônico (355 nm) do laser Nd-YAG. As soluções dos complexos foram preparadas em tampões pH = 2,03 na concentração necessária para que a absorvância da solução em 355 nm fosse da ordem de 0,3 .

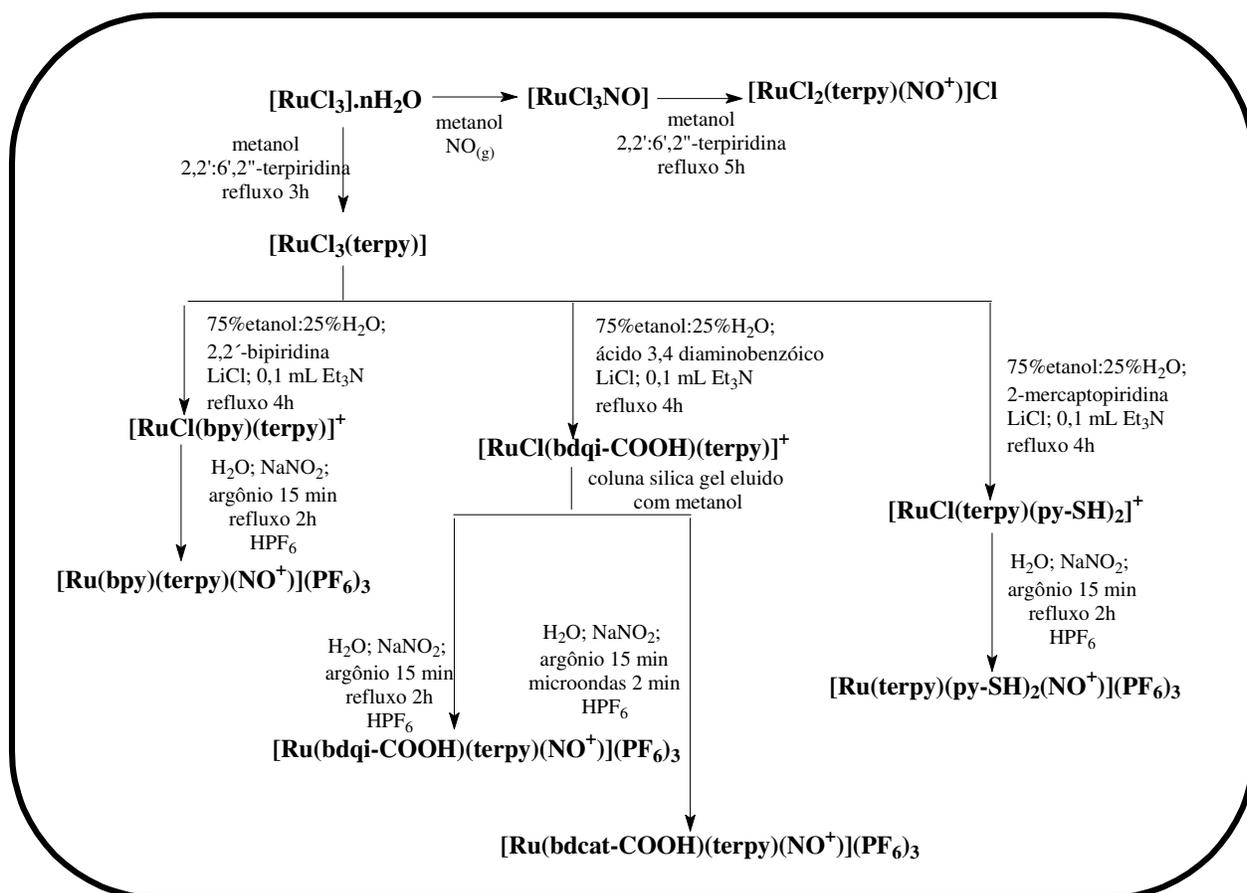
Os espectros de absorção dos transientes para os complexos foram registrados, ponto a ponto, em intervalos de 10 nm na faixa de 250 a 700 nm, sendo que uma média de três (03) disparos do laser foi registrado para a excitação da amostra em cada comprimento de onda. O espectro de absorção do transiente obtido pela fotólise por pulso de laser não fornece um valor absoluto para a absorvância: obtém-se a diferença da absorção entre o precursor e o transiente formado. Assim, o espectro de absorção do transiente é dependente da concentração do precursor na região onde este absorve e um valor negativo para a absorvância corresponde à formação de um intermediário com uma absorvância menor do que a do precursor, ou seja, o desaparecimento do produto de partida.

Nas experiências cinéticas utilizadas para determinar o tempo de vida dos transientes formados, os comprimentos de onda adequados para a observação das espécies de interesse foram selecionados. Os comprimentos de onda utilizados para a monitoramento da absorção foram 430 e 550 nm para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺ e 470 e 560 nm para o complexo (Ru(bdq-COOH)(terpy)NO)³⁺. Estes $\lambda_{M\acute{A}X}$ referem-se aos

comprimentos de ondas de máxima absorção no estado excitado para os complexos estudados. A janela de tempo utilizada nestes experimentos foi de 2 μ s. Como resposta do sistema de laser computadorizado, obteve-se um gráfico da variação da densidade óptica em função do tempo, bem como a curva teórica que melhor simulava o decaimento observado.

4.16. Síntese dos compostos de rutênio

A rota sintética dos compostos nitrosilos de rutênio do tipo $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO}^+)(\text{PF}_6)_n$ em que L é um derivado piridínico, está representada no Esquema 11.



Esquema 11. Rota sintética para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO}^+)(\text{PF}_6)_n$.

Após obtenção dos complexos, foram feitos estudos de análise elementar para carbono, nitrogênio e hidrogênio. Os resultados foram

bastante satisfatórios e foi possível inferir que a fórmula proposta é coerente com a descrição molecular obtida para os complexos abordados nesse trabalho.

4.16.1. (RuCl₃(terpy)) (SULLIVAN et al., 1980)

Em um balão de 50 mL adicionou-se 0,326 g de cloreto de rutênio (RuCl₃. nH₂O) (1,57 mmol) e 0,291 g do ligante terpiridina (1,25 mmol) dissolvido em metanol. Após 3 horas de refluxo (T = 65 °C), a solução permaneceu por 1 hora à temperatura ambiente. Obteve-se o precipitado por filtração, o qual foi lavado com 5 mL de éter etílico e seco à vácuo. Rendimento 74,3%.

4.16.2. (RuCl(bpy)(terpy))Cl (TAKEUCHI et al., 1984)

Em um balão de 50 mL contendo 75 % de etanol e 25 % água (40mL), adicionou-se 0,200 g de (RuCl₃(terpy)) (0,54 mmol), 0,071 g de 2,2'-bipiridina (bpy) (0,54 mmol) e 0,020 g de cloreto de lítio (LiCl) e 0,1 mL de trietilanoamina (Et₃N). Acoplou-se um condensador ao balão que foi submetido a aquecimento por banho de glicerina. A solução atingiu o refluxo a uma temperatura de 80 °C e permitiu-se a reação por um tempo de 4 horas. Ao término do tempo de reação, desligou-se o aquecimento e a solução foi rotoevaporada até cerca de 10 mL de solução e permaneceu sob refrigeração durante 24 horas. Posteriormente a solução foi filtrada e o precipitado foi lavado com 5 mL de acetona e 5 mL de éter etílico. Rendimento 57,0%.

4.16.3. (Ru(bpy)(terpy)NO)(PF₆)₃ (MURPHY et al., 1986)

Suspendeu-se em 30 mL de água uma massa de 0,087 g do complexo (RuCl(bpy)(terpy))Cl (0,15 mmol) e borbulhou-se argônio durante

15 minutos. Em seguida adicionou-se 0,040 g de NaNO_2 (0,58 mmol). Este sistema permaneceu em refluxo durante 2 hora e em seguida adicionou-se 1 mL de HPF_6 , levando-se posteriormente à refrigeração por 48 horas. A solução foi filtrada e o precipitado lavado com 10 mL de éter etílico. Rendimento 86,4%. Infravermelho: $\nu(\text{NO})_{\text{acetonitrila}}$ literatura = 1952 cm^{-1} (PIPES & MEYER, 1984); $\nu(\text{NO})_{\text{acetonitrila}}$ experimental = 1945 cm^{-1} . $E_{1/2}(\text{NO}^+/\text{NO}^0)$ meio aquoso literatura = + 0,40 V vs Ag/AgCl (MURPHY et al., 1986) e experimental = + 0,50 V vs Ag/AgCl.

4.16.4. $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))\text{Cl}$

Em um balão de 50 mL contendo 75 % de etanol e 25 % água (40mL), adicionou-se 0,178 g de $(\text{RuCl}_3(\text{terpy}))$ (0,40 mmol), 0,017 g de ácido 3,4-diaminabenzóico (bdqi-COOH) (0,40 mmol) e 20 mg de cloreto de lítio (LiCl) e 0,1 mL de trietilanoamina (Et_3N). Acoplou-se um condensador ao balão que foi submetido a aquecimento por banho de glicerina. A solução atingiu o refluxo a uma temperatura de $80 \text{ }^\circ\text{C}$, a qual permaneceu por um tempo de 4 horas. Ao término do tempo de reação, desligou-se o aquecimento e a solução foi rotoevaporada até cerca de 10 mL. Posteriormente adicionou-se 100 mL acetona e deixou-se sob refrigeração durante 24 horas. O precipitado obtido foi filtrado e o sólido lavado com 10 mL de éter etílico. Rendimento 84,0%

4.16.5. Purificação do $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))\text{Cl}$

O complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))\text{Cl}$ foi purificado em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) e eluído com metanol. A solução vermelha eluída foi rotoevaporada até securo e o precipitado seco à vácuo. Rendimento 19,6%.

4.16.6. (Ru(terpy)(bdqi-COOH)NO)(PF₆)₃

Suspendeu-se em 30 mL de água uma massa de 0,038 g do complexo (RuCl(bdqj-COOH)(terpy))Cl (0,053 mmol), borbulhou-se argônio durante 15 minutos e adicionou-se 0,018 g de NaNO₂ (0,27 mmol). Este sistema permaneceu em refluxo durante 2 hora e em seguida adicionou-se 1 mL de HPF₆ e refrigeração por 48 horas. O precipitado obtido foi filtrado e o sólido lavado com 10 mL de éter etílico. Rendimento 87,8%. Análise Elementar: Teórico: C: 27,82%; N: 8,85% e H: 1,79%. Experimental: C: 27,90%; N: 8,99% e H: 1,99%.

4.16.7. (Ru(terpy)(bdcat-COOH)NO)(PF₆)₃

Dissolveu-se 0,023 g do precursor (Ru Cl(bdqj-COOH)(terpy))Cl (0,032 mmol) em 50 mL de água. A solução foi desaerada por 15 minutos sob argônio e em seguida adicionou-se 0,012 g de NaNO₂ (0,17 mmol). A mistura foi levada ao microondas com potência 30 watts em aquecimentos de 20 segundos até completar 2 minutos de reação. Na solução ainda quente foram adicionados 2 mL de HPF₆, em seguida a solução permaneceu sob refrigeração por 24 h. O precipitado obtido foi filtrado e o sólido lavado com 10 mL de éter etílico. Rendimento 75,0 % Análise Elementar: Teórico: C: 27,76%; N: 8,83% e H: 2,00%. Experimental: C: 27,51%; N: 8,82% e H: 2,00%.

4.16.8. (RuCl(terpy)(2-pySH)₂)PF₆

Dissolveram-se 0,100 g do ligante 2-mercaptopyridina (2-pySH) (0,9 mmol) em 40 mL de uma mistura água 25 % mais etanol 75 %. A esta solução foi adicionado 0,02 g de LiCl e 0,1 mL de trietilenoamina (Et₃N). Após 5 minutos de agitação, foi adicionada a mistura 0,200 g de (RuCl₃(terpy)) (0,45 mmol). A solução permaneceu em refluxo por 4 horas.

Ao término do tempo de refluxo, a solução foi filtrada a quente e ao filtrado adicionado cerca de 1 g de NH_4PF_6 . Após 24 h de refrigeração foi obtido por filtração um precipitado vermelho-amarronzado. Rendimento 78,0 %.

4.16.9. $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{pySH})_2\text{NO})(\text{PF}_6)_3$

Dissolveu-se 0,150 g do complexo $(\text{RuCl}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2)\text{PF}_6$ (0,2 mmol) em 80 mL de uma mistura água/etanol 50 %. A solução foi desaerada em atmosfera de argônio por 15 minutos. Em seguida, foi adicionada a solução 0,07 g de NaNO_2 (1 mmol). A solução permaneceu em refluxo por 2 horas. Ao término do tempo de refluxo, a solução foi filtrada a quente e ao filtrado adicionado cerca de 1 mL de HPF_6 . Após 24 h de refrigeração foi obtido por filtração um precipitado marrom. Rendimento 36,0 %. Análise Elementar: Teórico: C: 29,38%; N: 8,22% e H: 2,06%. Experimental: C: 29,08%; N: 8,41% e H: 2,00%.

4.16.10. (RuCl_3NO)

O complexo (RuCl_3NO) foi sintetizado conforme Batista et al., (1997) com algumas modificações.

Em um balão volumétrico de 25 mL solubilizou-se 0,504 g de $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (1,91 mmol) em 100 mL de metanol. A solução foi desaerada com argônio por 30 minutos, em seguida a esta solução foi borbulhada NO (g) (conforme item 4.12) por durante 30 minutos. Este procedimento foi repetido 7 vezes. A solução vermelha resultante foi rotoevaporada até *secura* e armazenada à vácuo. Rendimento 87,9%.

4.16.11. (RuCl₂(terpy)NO)Cl

Dissolveu-se 0,306 g do complexo (RuCl₃NO) (1,29 mmol) em 50 mL de metanol, em seguida adicionou-se 0,113 g do ligante terpiridina (0,48 mmol). A solução permaneceu em refluxo (T = 65 °C) por 5 horas. Ao término do refluxo a solução foi deixada a temperatura ambiente, na qual se iniciou precipitação do complexo. Rendimento 42,6%. Infravermelho: $\nu(\text{NO})_{\text{KBr}}$ literatura = 1895 cm⁻¹ (HIRANO et al. 2001); $\nu(\text{NO})_{\text{KBr}}$ experimental = 1891 cm⁻¹. $E_{1/2}(\text{NO}^+/\text{NO}^0)$ acetonitrila literatura = - 0,12 V vs Ag/AgCl (HIRANO et al. 2001) e experimental = - 0,18 V vs Ag/AgCl.

4.16.12. Síntese do complexo fotossensibilizador (Ru(NH₃)₅(pz))(PF₆)₂

Dissolveu-se, sob brando aquecimento (T ≈ 30 °C), 0,200 g do precursor (RuCl(NH₃)₅)Cl (ALLEN & SENOFF, 1967), em 20 mL de água previamente desaerada com argônio. Em seguida procedeu-se a redução do centro metálico à Ru(II) com amalgama de zinco durante 10 minutos. Após este tempo adicionou-se 0,600 g do ligante pirazina (pz) (antes da adição do ligante verificou-se o pH da solução encontra-se próximo de 3,0) e a solução permaneceu em temperatura ambiente e sob agitação durante 2 horas. Em seguida adicionou-se 0,500 g de NH₄PF₆ e refrigeração por 24 horas. Rendimento 86,0%. O complexo foi caracterizado por espectro na região do UV-visível ($\lambda = 472$ nm e $\log \epsilon = 4,03$) que está de acordo com os dados descritos por Tfouni e Ford (1980).

4.17. Ensaios Farmacotécnicos

Os ensaios farmacotécnicos e farmacológicos foram conduzidos, respectivamente, sob a co-orientação da Profa. Dra. Renata Fonseca Vianna Lopez da FCFRP-USP.

4.17.1. Preparação de microemulsão

A microemulsão água/óleo (A/O) foi preparada de acordo com Wu (2001), Gelfuso e Lopez (2003). A microemulsão é formada por 32,50% de uma mistura 1:1 de sorbitan monooleato (Span 80) e de polioxietileno 20 sorbitan monooleato (Tween 80), 0,81% tampão fosfato isotônico pH = 7,40, 64,25 % óleo de oliva, 0,81% propilenoglicol. Quantidades apropriadas de fase oleosa (Tween 80, Span 80 e óleo de oliva) e de fase aquosa (tampão fosfato pH = 7,40 e propilenoglicol) foram pesadas (w/w) e aquecidas a 60 °C separadamente até se tornarem homogêneas. A fase aquosa foi vertida na fase oleosa e a mistura foi agitada vigorosamente por 24 horas a temperatura ambiente ($T \approx 30^{\circ}\text{C}$).

A incorporação do nitro complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ foi feita pela sua dissolução na fase aquosa, antes de verte-la na fase oleosa.

A microemulsão não incorporada e a incorporada com o nitro complexo de rutênio foram estocadas a temperatura ambiente e suas estabilidades avaliadas visualmente durante uma semana. A análise visual consiste na observação de mudanças físicas, como separação de fases, floculação e precipitação.

4.17.2. Estudo de liberação

O estudo de liberação foi realizado *in vitro* utilizando células de difusão tipo Franz (Figura 17) e uma membrana sintética hidrofílica de acetato de celulose. A membrana divide a célula em duas partes. Na parte superior fica a solução doadora e na parte inferior a solução receptora. A solução doadora ($\approx 1,0$ g), colocada sobre a membrana, é composta pela microemulsão incorporada com o complexo, conforme foi descrito no item 4.17. Os experimentos foram conduzidos a 37°C e a solução receptora foi constantemente agitada a 300 rpm com agitadores magnéticos. Amostras da solução receptora (1,5 mL) foram coletadas

automaticamente e continuamente por 12 h em intervalos de 1 hora. O fluxo foi dado por uma bomba peristáltica (1 rpm) que envia solução tampão para dentro do compartimento receptor e conseqüentemente retira o mesmo volume para os tubos coletores. As amostras coletadas foram analisadas por espectroscopia na região do UV-visível.

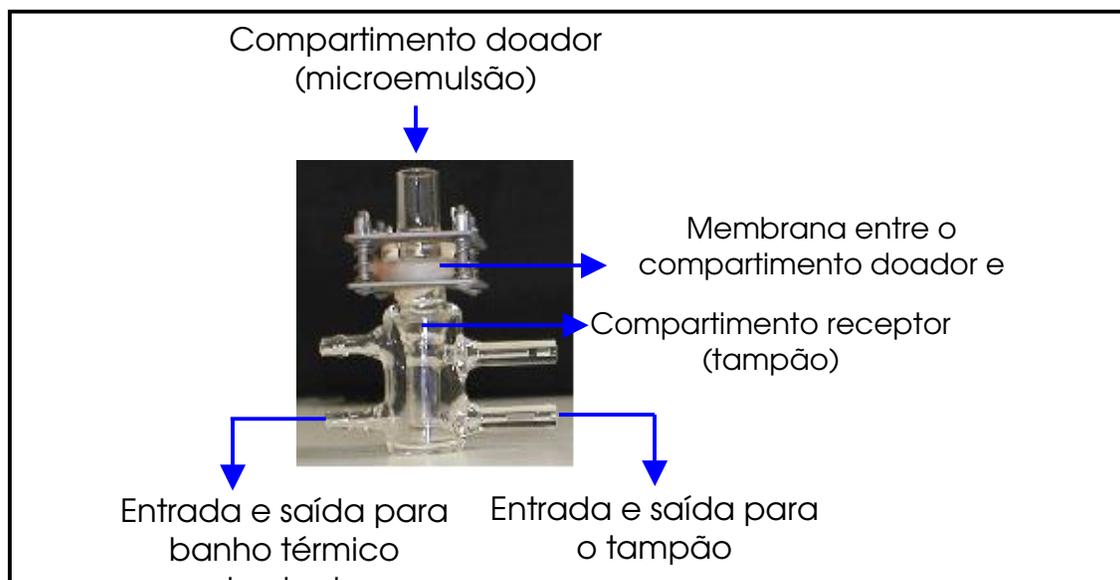


Figura 12. Célula de difusão tipo Franz utilizada nos estudos de liberação dos complexos de rutênio *in vitro*.

4.18. Preparação dos Filmes Sol Gel e Silicone

As preparações dos filmes foram conduzidas sob a co-orientação da Profa. Dra. Nádia José Mamede e da Profa. Dra. Zênis Novais da Rocha da UFBA.

Os filmes sol-gel foram preparados conforme Maruszewski (2001): em um béquer de plástico de 10 mL foi adicionado 3,8 mL de tetraetoxilano (TEOS), 4,8 mL de H₂O deionizada e 1 mL de etanol. A seguir, o complexo nitrosil de rutênio é dissolvido no hidrolizado ($\approx 0,001$ g/ 9,6 mL de hidrolizado) e adicionado 6 gotas de HCl concentrado. O hidrolizado permaneceu sob agitação por 1 hora no escuro. Após este tempo, o

hidrolizado foi vertido em uma forma de teflon e o processo de secagem ocorreu se deu a temperatura ambiente ($T \approx 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e no escuro por 24 h.

Os filmes de silicone foram preparados em um béquer de plástico de 10 mL, onde foi adicionado a mistura de 80:20% (w/w) de polidimetilsiloxano (PDMS): tetraetoxilano (TEOS). A seguir, o complexo nitrosilo de rutênio foi dissolvido em 0,5 mL em acetonitrila e adicionado à mistura ($\approx 0,001 \text{ g}$), mais 2,5 de isopropanol e 5 gotas do catalisador o complexo di-n-butilestanho-dilaurato 5% em hexano. O hidrolizado permaneceu sob agitação por 5 minutos no escuro. Após este tempo, o hidrolizado foi vertido em uma forma de teflon e o processo de secagem se deu a temperatura ambiente ($T \approx 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e no escuro por 24 h.

4.18.1. Medidas de Difração de Raio-x

As medidas de raio-x foram feitas no Departamento de Química da UFBA, utilizando-se um coletor de Siemens modelo D5005 e um difratômetro Shimadzu modelo XDR-6000 (irradiação Cu K_{α}).

4.18.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As medidas de microscopia eletrônica foram feitas no Departamento de Química da UFBA, utilizando um microscópio eletrônico Shimadzu modelo SSS-55 (tensão de 15Kv).

4.18.3. Espectros Eletrônicos no Estado Sólido

Espectros eletrônicos dos filmes no estado sólido foram feito no espectrofotômetro de transmissão, reflexão, fotoacústica e fotocondutividade desenvolvido pelo Prof. Dr. Iuri Muniz Pepe e construído no Laboratório de Propriedades Ópticas no Instituto de Física da UFBA.

4.19. Liberação de NO a partir dos sistemas de liberação *in vitro*

A liberação de NO a partir dos complexos de rutênio incorporados nos sistemas de liberação, microemulsão e matrizes sol-gel e silicone, foi medida pelo NOmeter acoplado a um sistema à vácuo (Figura 13). A microemulsão (ou a matriz sólida) foi colocada na cubeta "A". Esta cubeta foi fechada e conectada por um capilar plástico ao recipiente "B" onde se fez vácuo. No recipiente "B" foi adicionado 5 mL de solução tampão fosfato pH=7,40, previamente desaerado. A amostra dentro da cubeta "A" foi irradiada no comprimento de onda desejado e o NO liberado a partir da formulação passou através do capilar e borbulhou na solução tampão no recipiente "B", sendo então detectado pelo NOmeter.

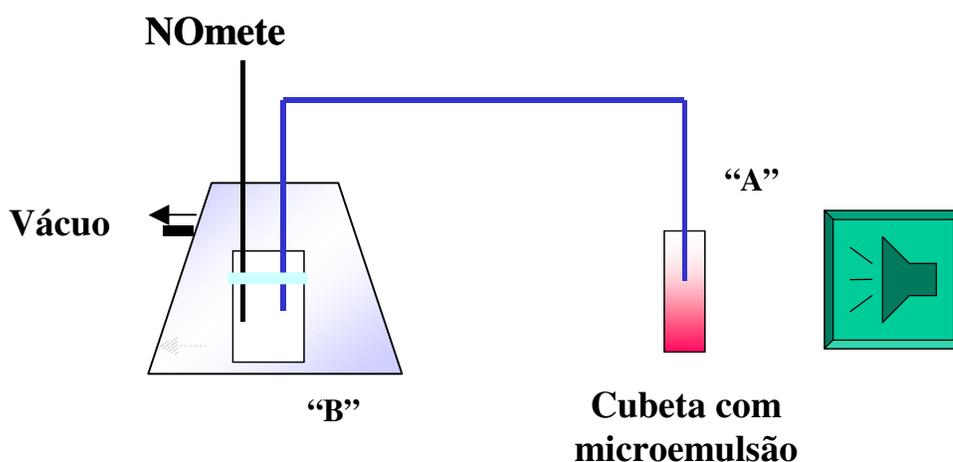


Figura 13. Esquema de detecção à vácuo de NO.

4.20. Análise Indireta de Íons Cloreto por Espectrometria de Absorção Atômica

A quantidade de íons cloreto da solução do complexo $(RuCl_2(terpy)NO)^+$, após fotólise em 355 nm, foi determinada indiretamente com base na quantificação de íons prata por espectrometria de absorção atômica.

Inicialmente fez-se a fotólise de uma solução aquosa contendo o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$. Esta solução foi eluída em uma coluna catiônica (DOWEX 50 WX-400 mesh) com água, para se eluir qualquer fragmento aniônico existente nesta solução. Após eluição, ao eluído foi adicionado 20 mL de uma solução de AgNO_3 $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida foi preparada solução padrão para íons com a mesma concentração de nitrato de prata da solução adicionado ao eluído.

A curva padrão foi feita em intervalos de concentração para os íons prata entre 1,0; 2,0; 4,0; 5,0 e 10,0 ppm.

Posteriormente procedeu-se análise diferencial de prata por espectroscopia de absorção atômica.

4.21. Ensaio Farmacológicos

Os ensaios farmacológicos foram conduzidos sob a co-orientação da Profa. Dra. Lusiane M. Bendhack da FCFRP-USP.

Como modelo experimental utilizou-se aorta torácica isolada de ratos preparada para registro da tensão isométrica. Os ratos foram sacrificados por decapitação, a aorta torácica foi isolada, dissecada de tecidos conjuntivos e gordura. Anéis de 4 mm de comprimento foram retirados de sua parte distal. O endotélio vascular foi removido mecanicamente e a efetividade da remoção foi demonstrada pela ausência de relaxamento na presença de acetilcolina ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) em anéis de aorta pré-contraídas com KCl e fenilefrina ($0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$) para os estudos com os complexos $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ e $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, respectivamente.

Os anéis foram aprisionados entre dois ganchos de metal inseridos no lúmen da artéria para produzir tensão conforme se mostra na Figura 14. Um dos ganchos foi conectado a um suporte fixo ajustável e o outro, a um transdutor de registro de força acoplado a um polígrafo, o qual mede a

tensão isométrica.

O sistema foi montado em câmara para órgão isolado (cuba) contendo 10,0 mL de solução fisiológica de Krebs modificada com a seguinte composição (em mmol L⁻¹): NaCl 130,0; KCl 4,7; KH₂PO₄ 1,2; CaCl₂ 1,6; MgSO₄ 1,2; NaHCO₃ 14,9; glicose 5,5 e EDTA 0,03 em pH = 7,4. Essa solução foi continuamente borbulhada com mistura de carbogênio (95% O₂ e 5% CO₂) e mantida a 37 ° C.

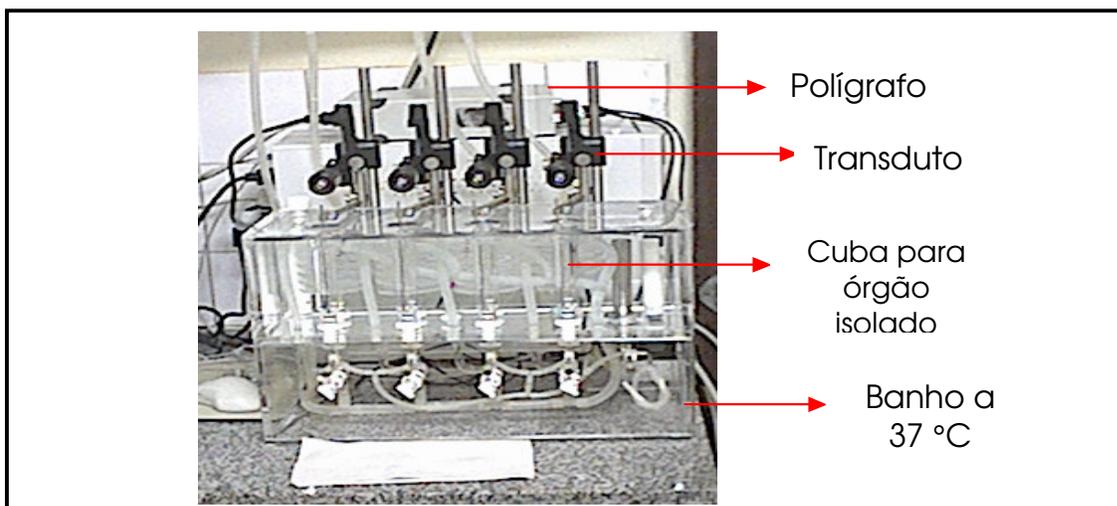


Figura 14. Cuba utilizada para o estudo farmacológico com aortas de ratos.

O sistema permaneceu em repouso para estabilização por 60 min sob tensão basal constante de 1,5 g. Em seguida, os anéis foram contraídos com KCl ($6,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) e quando a resposta contráctil permaneceu constante, adicionou-se a microemulsão incorporada com o complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$, em concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Após 20 min, durante os quais não houve relaxamento, o sistema foi irradiado com uma lâmpada ultravioleta da marca BLE Espesctroline em 355 nm. Foram construídas curvas de variação da tensão em função do tempo de exposição à luz.

O protocolo para os experimentos do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj}\text{-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ encapsulado em membrana sólida do tipo sol-gel foi

descrita de maneira semelhante ao estudo do complexo em solução. Os anéis de aorta foram contraídos com fenilefrina $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$. Após contração máxima foi mergulhado na cuba a membrana sol-gel de massa $0,129 \text{ g} \pm 0,004$ ($n=7$) para o controle (sem complexo) e $0,134 \pm 0,004$ ($n=7$) para membrana encapsulada com o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ na concentração de $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e irradiadas em 355 nm.

4.22. Cultura de Célula

Os ensaios de biologia celular foram conduzidos sob a co-orientação da Profa. Dra. Enilza M. Espreafico da FMRP-USP.

4.22.1. Linhagens de Células

As linhagens de células utilizadas nos estudos de atividade celular são do tipo melanoma humano: melanoma metastático **WM 1617** e melanoma metastático em fase de crescimento vertical **WM 278**. Tais linhagens de células foram obtidas do Wistar Institute (Philadelphia, EUA) cultivadas em placas de petri em meio TU 2 % (80 % de meio MCDB153 (Sigma), 20 % de meio L-15 (Life Technologies), 2 % de soro fetal bovino inativo, 5 mg mL de insulina bovina (Sigma) e $1,68 \text{ mmol L}^{-1}$ de CaCl_2) e mantidas a 37°C em atmosfera úmida com concentração controlada de 5 % de CO_2 com troca em média a cada 3 dias.

4.22.2. Análise da viabilidade celular pelo ensaio do MTT

O ensaio do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)2,5-difeniltetrazolio brometo) consiste na detecção do crescimento celular/morte celular, de acordo com a capacidade da mitocôndria em converter o sal de tetrazolio MTT em um produto de coloração vermelha que pode ser medido espectrofotometricamente. O princípio deste método consiste no fato de

que células vivas em crescimento têm mitocôndrias competentes (promoção da respiração celular), portanto irão converter o MTT no produto corado vermelho. Já as células mortas, ou em processo de morte celular têm a função mitocondrial comprometida, não convertendo o MTT no produto corado. A vantagem desse método é que ele é facilmente efetuado em microplacas de 96 poços.

4.22.3. Análise do Conteúdo de DNA por Citometria de Fluxo

A análise do conteúdo de DNA além de fornecer informação sobre as células que estão ciclando, também pode ser utilizada para a detecção (interferência) de fragmentação do DNA. Acredita-se que quando se realiza a preparação para a análise do conteúdo de DNA de células cujos núcleos possuem DNA fragmentado, os fragmentados de baixo peso molecular do material genético difundem-se para fora, e dessa forma apresentam menor marcação que células normais. Outra possibilidade é que a condensação da cromatina que ocorre durante a apoptose possa impedir a marcação dando um resultado similar. A amostra será corada com iodeto de propídio e analisada em citômetro de fluxo FACSort (Becton-Dickinson).

4.23. Imobilização Eletrodo de Ouro

Para o experimento de imobilização do complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-py-SH})\text{NO})^{3+}$ em suporte eletroquímico, foi utilizado como eletrodo suporte e de trabalho eletrodos de ouro com área de $0,007 \text{ cm}^2$.

Antes do procedimento de imobilização do complexo na superfície do eletrodo de ouro, este passou por um procedimento de limpeza (WANG, et al., 2000):

1-sonicar (5 minutos) em uma solução de 3:1 de ácido sulfúrico concentrado e peróxido de hidrogênio 30% e lavar com água Milli-Q;

2-polimento com alumina 1 μ m;

3-sonicar por 3 minuto em água Milli-Q, 3 minuto em etanol e 3 minuto em água Milli-Q;

Após a finalização das 3 etapas descritas, foi feito um teste de voltametria cíclica para verificação da limpeza do eletrodo em uma solução de H₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ conforme descrito por Sawyer, (1995).

A imobilização do complexo na superfície do eletrodo de ouro se deu por imersão do eletrodo na solução do complexo em solução do complexo (Ru(terpy)(2-pySH)NO)³⁺ 1 x 10⁻³ mol L⁻¹ em ácido perclorato de sódio (LiClO₄) 0,1 mol L⁻¹. O tempo de imersão do eletrodo foi otimizado durante os estudos. As medidas eletroquímicas para o eletrodo após imobilização foram feitas em perclorato de lítio 0,1 mol L⁻¹ em meio aquoso.

4.24. Cálculo Teórico para os complexos (Ru(terpy)(L)NO)³⁺, L = bpy e bdcac-COOH

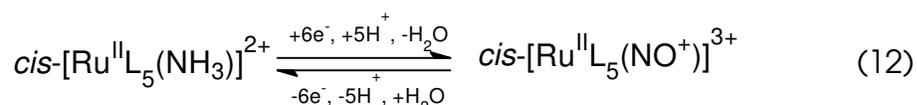
Os cálculos teóricos foram obtidos a partir do programa Gaussview 0.3, método: UB3LYP, base de cálculo: CEP-31G.

5. Resultados e Discussão

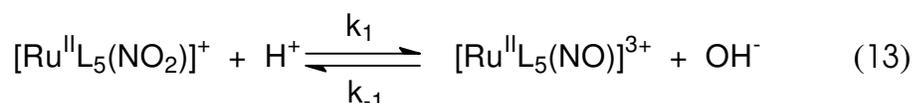
5.1. Sínteses

Complexos nitrosilo de rutênio são geralmente descritos como Ru(II) e o ligante como NO⁺ (GUENGERICH & SCHUG, 1978; BOTTOMLEY, 1978; WALSH et al., 1980; BORGES et al., 1998). Para obtê-los, existem diferentes possibilidades de rotas sintéticas:

- Borbulhamento de NO gasoso em uma solução aquosa de uma espécie precursora que contenha o fragmento Ru^{III}-H₂O (CHENEY & ARMOR, 1977; NAGAO et al., 1989). Neste caso, o ligante nitrosil coordena-se preferencialmente provocando a redução do metal e formando o fragmento estável {Ru^{II}-NO⁺}. Para realizar esse tipo de síntese, deve-se montar um aparato similar ao descrito no item 4.12.
- Oxidação do ligante amina (NH₃) coordenado ao íon Ru(II) (MURPHY et al., 1982; MURPHY et al., 1986; ASSEFA & STANBURY, 1997).



- Adição de ácido à solução da espécie precursora que contenha o ligante NO₂⁻ coordenado ao metal, que são conhecidas como nitro complexos de rutênio (Equação 13). Essa reação é reversível e depende do pH, por isso é tratada por muitos autores como um equilíbrio ácido-base (GODWIN & MEYER, 1971; KEENE et al., 1980; CALLAHAN & MEYER, 1977; PIPES & MEYER, 1984; TOGANO et al., 1992; ASSEFA & STANBURY, 1997; BIGNOZZI et al., 1993; NAGAO et al., 1999).



Nesse trabalho, os complexos nitrosilos foram obtidos a partir de precursores com o íon nitrito coordenado ao Ru(II). Esse procedimento resultou em altos rendimentos para as reações.

5.2. Caracterização dos Complexos de Rutênio

5.2.1. Espectroscopia na região do Infravermelho

Complexos de rutênio, em que existe o ligante nitrosil na esfera de coordenação do metal, são geralmente descritos como Ru(II) e o ligante como NO⁺ (GUENGERICH & SCHUG, 1978; BOTTOMLEY, 1978; WALSH et al., 1980; BORGES et al., 1998). Assim, a técnica de espectroscopia na região do infravermelho é muito utilizada para verificar a coordenação de NO⁺ ao íon metálico rutênio(II), que deve apresentar uma banda intensa no intervalo de 1800 cm⁻¹ a 1770 cm⁻¹. A variação da frequência de estiramento $\nu(\text{NO})$ em compostos de coordenação depende do metal, do estado de oxidação do ligante nitrosilo e da estereoquímica do ligante NO (SCHRÖDER & STEPHENSON, 1987; BATISTA et al., 1997; FORD et al., 1998).

Em relação à estereoquímica, alguns resultados empíricos de energia de estiramento sugerem distinção da ligação N≡O como sendo linear ou "bent". Apesar de alguns trabalhos explorarem a variação da energia de estiramento do NO em função da estereoquímica, essa relação deve ser feita com cautela, haja visto que as frequências de estiramento se sobrepõem em algumas regiões, conforme ilustrado na Figura 15 (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992) a seguir:

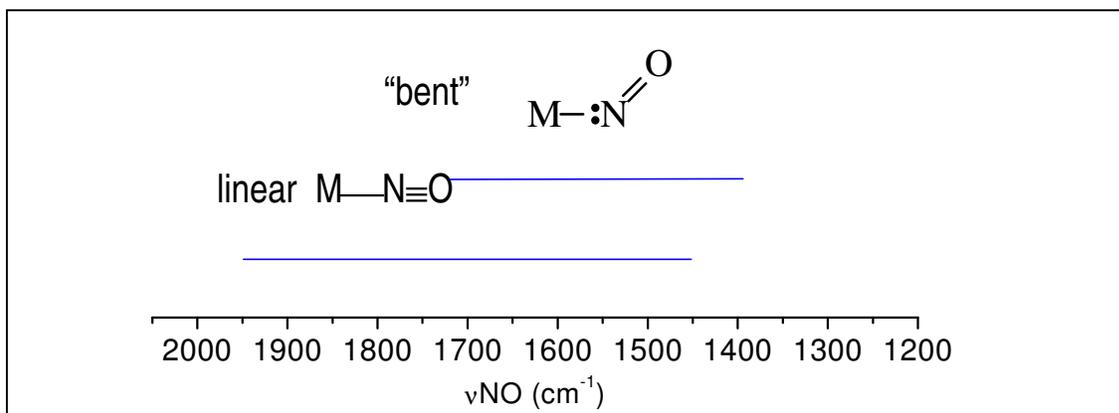


Figura 15. Intervalos típicos de frequência de estiramento na região do infravermelho para complexos metálicos nitrosilos.

Neste trabalho, os espectros na região do infravermelho para os complexos de rutênio que contêm o ligante NO^+ coordenado, apresentaram banda de estiramento de NO na região de 1960 cm^{-1} a 1850 cm^{-1} . Especificamente, para os complexos de rutênio do tipo $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$ onde $L = bdcac-COOH$ e $bdqi-COOH$ a técnica de infravermelho garante ainda informações pertinentes aos diferentes estado de oxidação para os ligantes benzoquinonadiimina (LEVER et al., 1993; HARTL et al., 1992; PIERPONT & BUCHANAM, 1981).

Os espectros vibracionais para os complexos $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$ foram feitos em estado sólido (KBr e emulsão de nujol) e em solução (acetonitrila).

5.2.1.1. Complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)(PF_6)_3$

Os espectros na região do infravermelho para o complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)(PF_6)_3$, em KBr (Figura 16) e emulsão de nujol (Figura 17), apresentaram semelhante desdobramento do sinal correspondente ao

estiramento de banda do NO. Os valores de $\nu(\text{NO})$ foram encontrados em 1945 cm^{-1} e 1961 cm^{-1} .

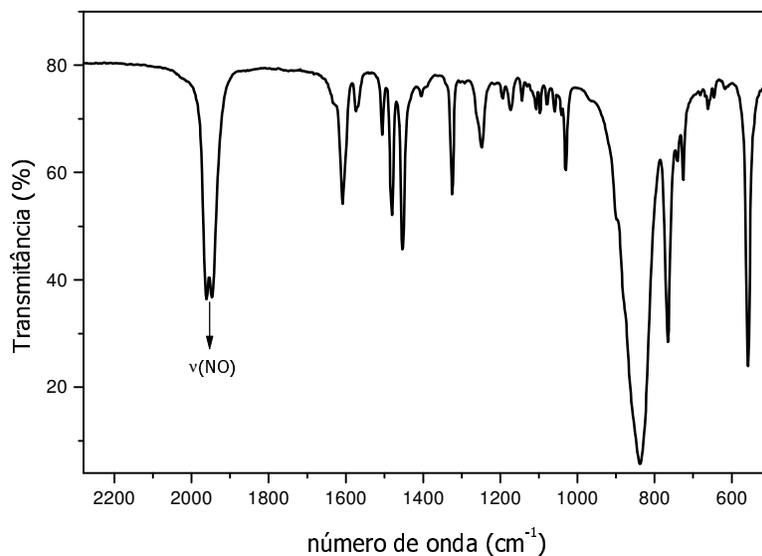


Figura 16. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$.

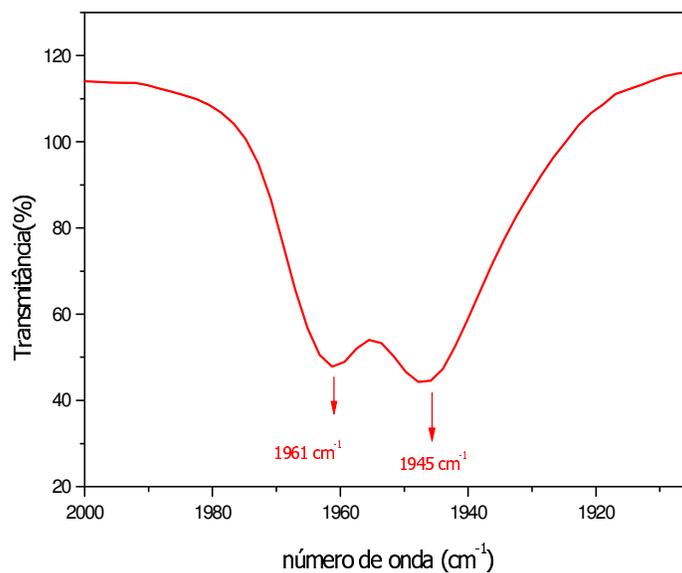


Figura 17. Espectro na região do infravermelho em expansão na região de $2000\text{-}1900 \text{ cm}^{-1}$ em emulsão de nujol, do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$.

No entanto, em meio de acetonitrila um único pico em 1950 cm^{-1} (Figura 18) foi observado. Frequentemente, os espectros no infravermelho feitos em pastilhas de KBr ou emulsão de nujol, apresentam a frequência de estiramento referente ao NO como sendo dois ou mais picos em frequências próximas. Tal resultado é ocasionado pelo efeito do estado sólido (GODWIN & MEYER, 1971). Assim sendo, pode-se inferir que em solução deve haver uma uniformidade estrutural para as espécies analisadas resultando em um único estiramento vibracional concernente a VNO.

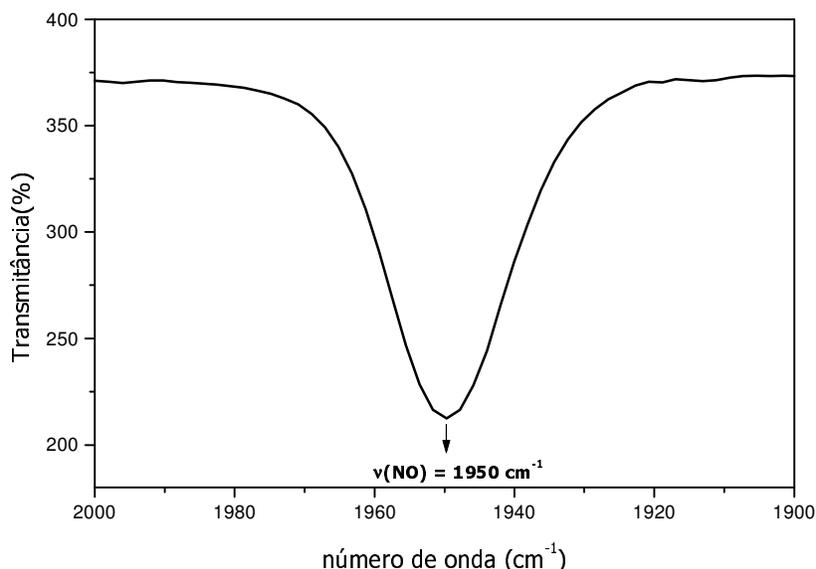


Figura 18. Espectro na região do infravermelho em expansão na região de $2000\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$ em acetonitrila do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$.

5.2.1.2. Complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$ L = bdcat-COOH e bdqi-COOH

Os espectros na região do infravermelho para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$ L = bdcat-COOH e bdqi-COOH em KBr encontram-se nas Figuras 19 e 20, respectivamente.

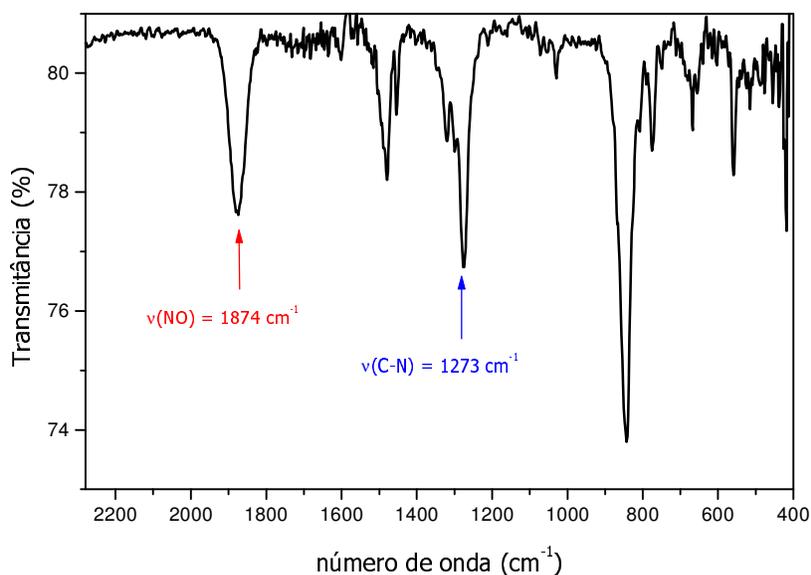


Figura 19. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr, do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$.

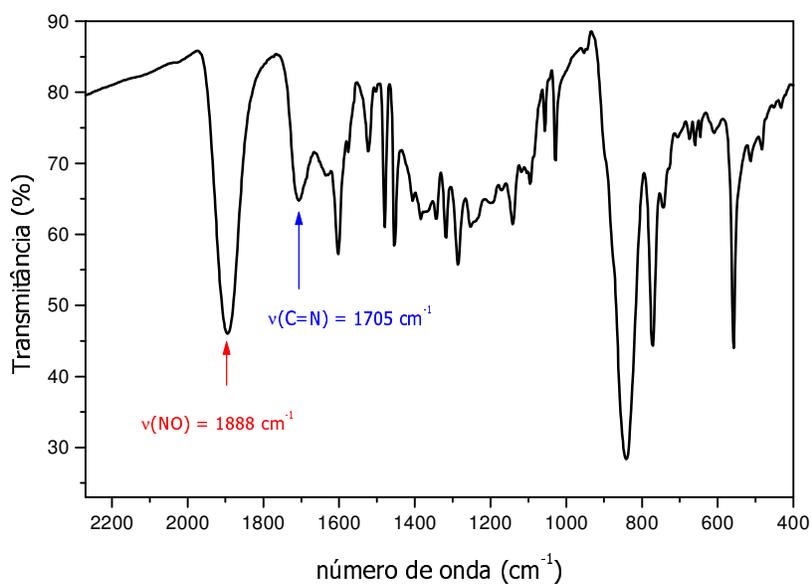


Figura 20. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr, do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$.

Os valores de estiramento de NO, em pastilha de KBr, obtidos para os complexos $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$ (1874 cm^{-1}) e $(\text{Ru}(\text{bdqj-}$

COOH)(terpy)NO)(PF₆)₃ (1888 cm⁻¹) foram próximos dos valores obtidos em acetonitrila 1898 cm⁻¹ e 1900 cm⁻¹, respectivamente. A variação de cerca de 20 cm⁻¹ em comparação aos valores obtidos em estado sólido, indica uma dependência do ν_{NO} em diferentes tipos de matrizes. A proximidade dos valores de ν_{NO} em acetonitrila para ambos os complexos, mostra que além do aspecto estrutural que deve influenciar a densidade eletrônica sobre a ligação N—O⁺, deve-se considerar também possível interação N—O⁺≡ solvente. Esta inferência é consistente com os dados experimentais observados.

A técnica de infravermelho também se mostra valiosa para a caracterização dos diferentes estados de oxidação para os ligantes benzoquinonadiimina, já que diferentes estiramentos vibracionais caracterizam as espécies catecol (bdcat-COOH), semiquinona (bds-COOH) e quinona (bdqi-COOH).

Os diferentes estados de oxidação para os complexos estudados, (Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)(PF₆)₃ e (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)(PF₆)₃, foram caracterizados conforme as bandas de estiramento diimina ($\nu(\text{C}=\text{N})$) e diamina ($\nu(\text{C}-\text{N})$) para as formas quinona e catecol, respectivamente.

A frequência de estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ para os ligantes diimínicos, encontra-se na região de 1675 cm⁻¹ a 1665 cm⁻¹ (MASUI, 1993). No entanto, o valor de estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ encontrado para o complexo (Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)(PF₆)₃ foi de 1705 cm⁻¹ e condiz com o valor encontrado para o complexo precursor (RuCl(bdqi-COOH)(terpy))PF₆ (1709 cm⁻¹). A somatória do efeito σ -doador e π -receptor do ligante imínico, quando coordenado ao íon metálico Ru(II), deve propiciar no aumento de energia observada.

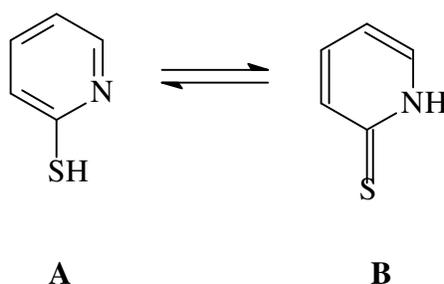
Para o complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)(PF₆)₃ o estiramento $\nu(\text{C}-\text{N})$ foi encontrado em 1275 cm⁻¹, o qual também aparece no ligante

livre (MASUI, 1993) e não apresenta alteração após coordenação ao metal rutênio como visto para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$. A diferença de comportamento entre o ligante na forma de benzoquinonadiimina (bdqi-COOH) e benzoquinonadiazina (bdcat-COOH) se deve a menor conjugação dos nitrogênios da forma bdcat-COOH com o anel, tornando estes nitrogênios eletronicamente isolados.

5.2.1.3. Complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})(\text{PF}_6)_3$

O ligante 2-mercaptopiridina (2-pySH) apresenta configuração espacial em que normalmente descreve-se como uma mistura de isômeros (Esquema 12). Em solução aquosa 99 % do ligante encontra-se na forma tautomérica (**B**) com o átomo de nitrogênio protonado e o grupo tiona viável à coordenação com o íon metálico.

Embora aparentemente uma reação em meio aquoso desse ligante com um aquo-complexo devesse ser favorecida o modo de coordenação **B** da 2-mercaptopiridina, de fato ambas as espécies (**A** e **B**) — coordenação pelo N ou S — podem ser verificadas na formação de compostos de coordenação (TOMA et al., 1987).



Esquema 12. formas tautoméricas para o ligante 2-mercaptopiridina.

O modo de coordenação do ligante 2-mercaptopiridina (2-pySH) na esfera do íon $\text{Ru}(\text{II})$ foi baseado tomando-se como referência o espectro no infravermelho do ligante livre (Figura 21) e comparações à literatura

(TOMA et al., 1987; DIÓGENES et al., 2003).

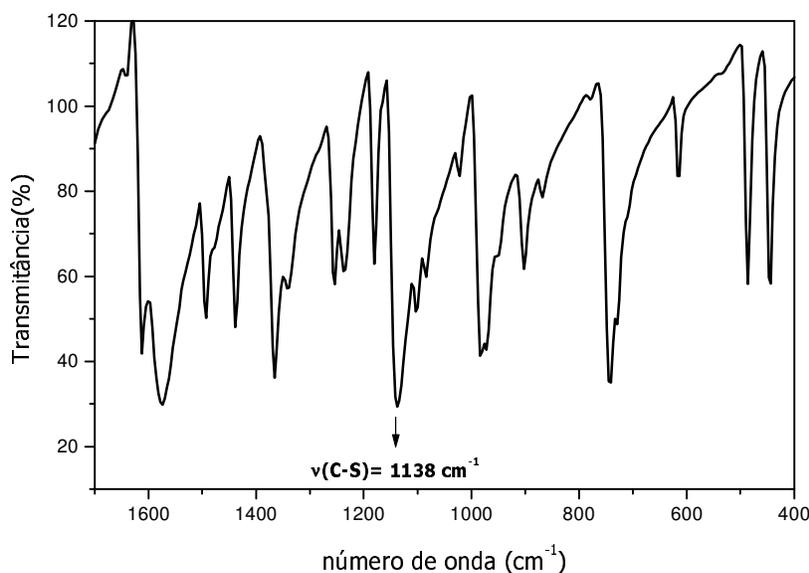
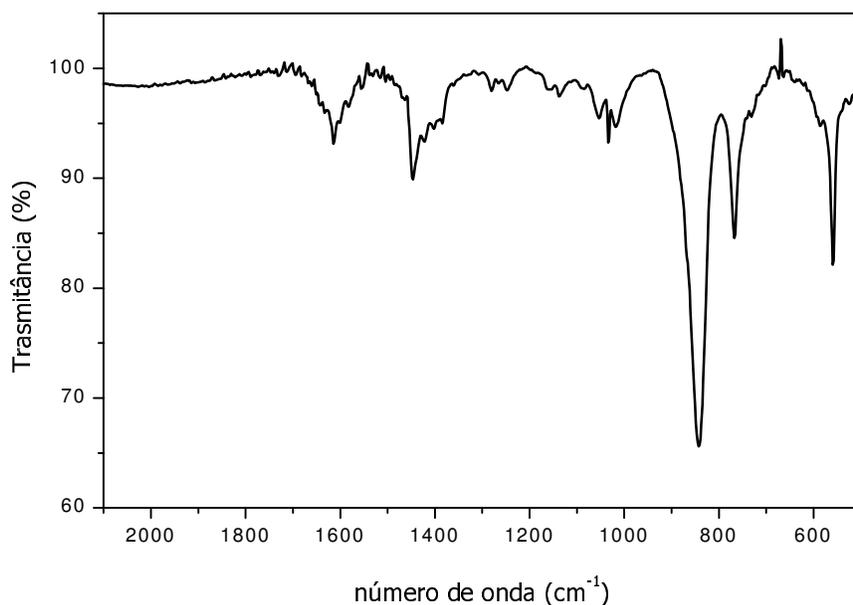


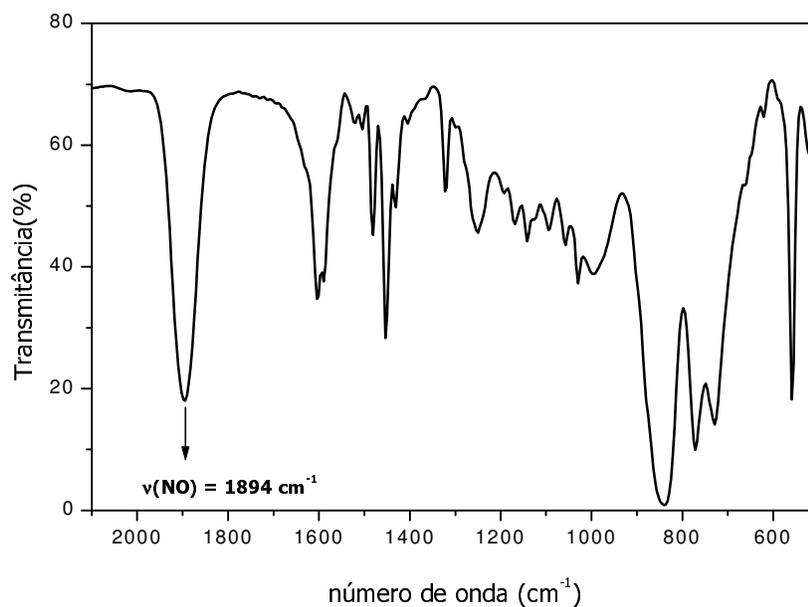
Figura 21. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr, do ligante livre 2-mercaptopiridina.

O estiramento $\nu(\text{C-S})$ do ligante foi caracterizado pelo intenso pico em 1138 cm^{-1} (ZHANG et al., 2003). Quando este ligante encontra-se coordenado ao íon metálico Ru(II) nos complexos $(\text{RuCl}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2)(\text{PF}_6)$ e $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})(\text{PF}_6)_3$ houve uma drástica diminuição na intensidade deste pico.

Conforme resultados de infravermelho relatados na literatura (DIÓGENES et al., 2001), para complexos metálicos que possuem em sua esfera de coordenação o ligante 4-mercaptopiridina coordenado pelo nitrogênio do ligante, verifica-se um intenso estiramento $\nu(\text{C-S})$ em 1120 cm^{-1} .



A



B

Figura 22. Espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr, dos complexos (RuCl(terpy)(2-pySH)₂)PF₆ (A) e (Ru(terpy)(2-pySH)₂NO)(PF₆)₃ (B).

Estes resultados nos levam a considerar que aparentemente os complexos com o ligante 2-mercaptopiridina descritos neste trabalho devem ser mais bem caracterizados como ligante coordenado pelo

átomo de enxofre. Acreditamos, porém que em meio aquoso há a possibilidade de isomerização, haja visto os resultados eletroquímicos encontrados (item 4.8). O estiramento ν_{NO} no complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})(\text{PF}_6)_3$ foi observado em 1894 cm^{-1} em KBr e é semelhante àquele obtido em acetonitrila (Tabela 3).

Os resultados de infravermelho referentes aos estiramentos do NO para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$ estudados neste trabalho estão relatados na Tabela 3.

Tabela 3. Energia vibracional do NO^+ dos complexos nitrosilos de rutênio abordados neste trabalho.

Complexos	ν_{NO} (cm^{-1}) em KBr	ν_{NO} (cm^{-1}) em acetonitrila
$(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)(\text{PF}_6)_3$	1945, 1961	1950
$(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO}^+)(\text{PF}_6)_3$	1874	1898
$(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO}^+)(\text{PF}_6)_3$	1888	1900
$(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO}^+)(\text{PF}_6)_3$	1894	1896

Com base nos resultados resumidos na Tabela 3, os valores de $\nu(\text{NO})$ para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$ — L = bpy, bdcat-COOH e bdqi-COOH diferem devido ao efeito sobre o ligante nitrosil ocasionado pelos co-ligantes L coordenados em posição *trans*.

Estudos descritos na literatura mostram que complexos cuja simetria é *cis* não há variação nos valores de $\nu(\text{NO})$, por exemplo as espécies *cis*- $(\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$ onde L = py, 4-pic e 4-acpy mostraram valores de $\nu(\text{NO})$ muito semelhantes (SAUAIA & da SILVA, 2003). No entanto, foi observado para os complexos em que L encontra-se *trans* ao ligante nitrosil, como as espécies *trans*- $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{L}(\text{NO}))^{3+}$ (BORGES et al. 1998) e *trans*- $(\text{RuL}(\text{py})_4(\text{NO}))^{n+}$ (TOGANO et al., 1992), uma variação acentuada de ν_{NO} atribuído ao efeito indutivo dos co-ligantes sobre a força de ligação

Ru^{II}-NO⁺.

De fato, a expectativa para a variação da banda de estiramento $\nu(\text{NO})$ deve ser maior para complexos de simetria *trans*. A razão disto deriva-se do fato que o ligante em posição *trans* possa influenciar diretamente os orbitais d_{π} do metal que fazem a retro-doação com o NO, enquanto que o ligante em posição *cis* interage com o outro orbital d_{π} do metal, diferente daquele diretamente responsável pela retro-doação para o NO (Figura 23).

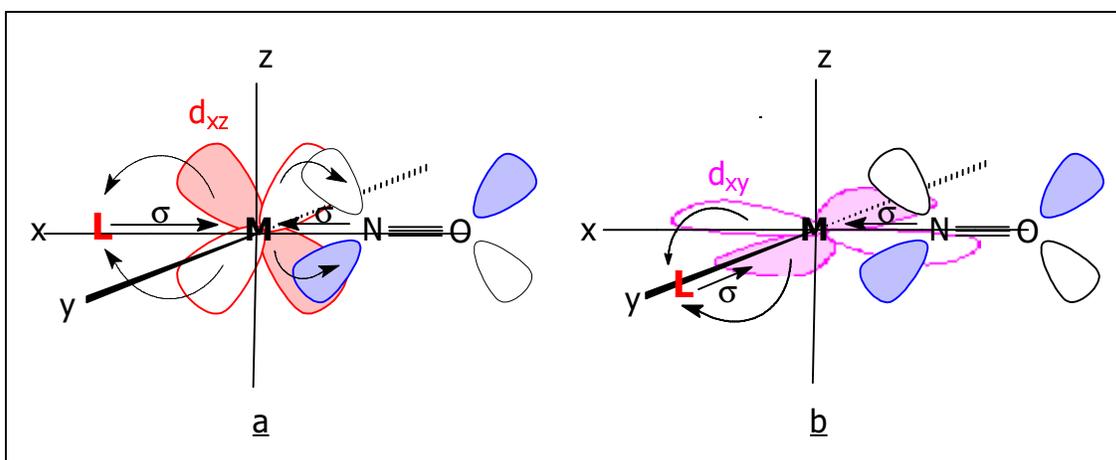


Figura 23. Influência da posição do ligante L na energia de estiramento do ligante nitrosil. a) posição *trans* e b) posição *cis*.

A relação de frequência de estiramento do NO⁺ na região do infravermelho para os complexos (Ru(terpy)(L)NO)(PF₆)₃ — L= bpy, bdqcat-COOH, bdqi-COOH e 2-pySH — estudados neste trabalho condiz com os resultados obtidos na literatura para complexos semelhantes onde L= 2-fenilpiridina (1858 cm⁻¹)(HADADZADEH et al., 2002), acetilacetato (1914 cm⁻¹) (DOVLETOGLOU et al., 1996) e 2-fenilazopiridina (1960 cm⁻¹) (MONDAL et al., 2001).

De maneira geral pode-se inferir que a energia de $\nu(\text{NO})$ para a classe de complexos (Ru(terpy)(L)NO)(PF₆)₃ é diretamente influenciado pela densidade eletrônica dos co-ligantes “L”.

No caso dos co-ligantes L = bdcacat-COOH, bdqi-COOH e 2-pySH se

tem um efeito semelhante sobre a densidade eletrônica sobre o íon metálico Ru(II). Difere deste conjunto o co-ligante bipyridina. A este co-ligante pode-se atribuir um maior caráter π -receptor com uma menor retro-doação Ru(II) \rightarrow NO⁺.

5.3. Espectroscopia na região do UV-visível

Os espectros na região do UV-visível de complexos de rutênio, com ligantes insaturados coordenados, apresentam, geralmente, bandas na região do visível, atribuídas a transições de campo ligante e de transferência de carga, e bandas na região do ultravioleta, atribuídas a transições interna do ligante (LEVER, 1984). Essas transições podem ser observadas no diagrama ilustrado na Figura 24, que foi adaptado de Richter-Addo & Legzdins (1992).

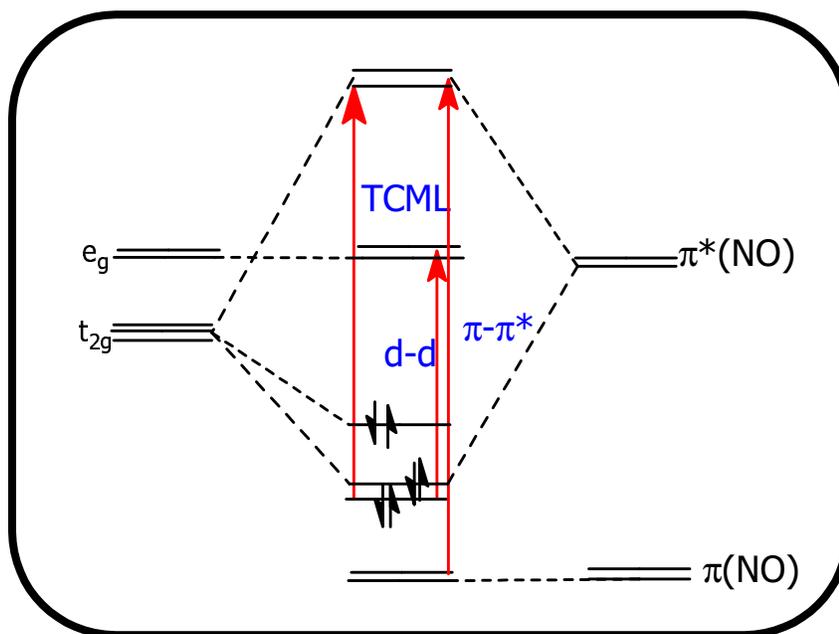


Figura 24. Diagrama simplificado de orbitais moleculares e transições eletrônicas para compostos do tipo $(Ru(terpy)(L)(NO))^{n+}$.

- As transições de campo ligante são observadas entre níveis energéticos localizados no metal. As bandas são originadas pelo desdobramento

das energias dos orbitais d (transições $d \rightarrow d$), que num campo octaédrico podem ser designados por t_{2g} e e_g .

- As transições de transferência de carga ou elétron do metal para o ligante (TCML) caracteriza-se por uma ligação π verificada nos compostos de rutênio com ligantes insaturados (FORD, et al., 1968; TFOUNI & FORD, 1980). Essas bandas possuem coeficiente de máxima absorvidade molar (ϵ) da ordem de $10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e normalmente localiza-se na região do visível. A ocorrência dessas bandas depende da existência de orbitais de simetria apropriadas no metal e no ligante, com energias pouco diferentes e grau de recobrimento diferente de zero. Uma vez que os elétrons de valência do íon metálico se encontram em orbitais de simetria π e considerando que os orbitais desocupados dos ligantes de menor energia também possuam simetria π , a transição mais provável é, portanto, $d_{\pi}(M) \rightarrow p\pi^*(L)$.
- \rightarrow As transições internas do ligante (IL) são semelhantes às transições observadas nos ligantes insaturados não coordenados. Por exemplo, os ligantes aromáticos n-heterocíclicos, ou não coordenados, geralmente apresentam, na região do ultravioleta próximo e médio, bandas de transição eletrônica atribuídas a $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$. As transições envolvendo os elétrons livres (n) ocorrem em regiões de maior comprimento de onda e são relativamente fracas. As transições envolvendo os elétrons π são bastante intensas sendo muito semelhante às observadas para os hidrocarbonetos aromáticos correspondentes.

Os dados espectrofotométricos na região do UV-visível para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{n+}$ — $\text{L} = \text{Cl}^-$, bpy , bdcat-COOH , bdqi-COOH e 2-pySH — estudados neste trabalho estão resumidos na Tabela 4. A origem

de cada transição será discutida separadamente para cada complexo em comparação aos espectros UV-visíveis dos seus respectivos precursores.

Tabela 4. Resultados de análises de espectros na região UV-visível para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ em solução aquosa.

Complexos	λ nm (log ϵ) ^a
$(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$	230 (4,66); 277 (4,33); 288 (4,36); 305 (4,27); 335 (4,02); 363 (3,87)
$(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$	280 (4,27); 327 (4,11); 355 (3,98)
$(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$	285 (4,39); 324 (4,27); 354 (4,15); 510 (3,65)
$(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$	272 (2,90); 320 (2,69); 375 (2,87); 484 (2,17)
$(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$	237 (3,94); 333 (3,51); 367 (3,34)

a: solução HCl 0,1 mol L⁻¹.

5.3.1. Complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$

O espectro UV-visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (Figura 25), é composto por diversas bandas caracterizadas pelo método da deconvolução — método de deconvolução de Lorentz, obtido pelo programa computacional Origin 5.0 — das quais aquelas observadas na região de 230 nm a 290 nm foram atribuídas à transições interna (IL) do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes insturados (terpy, bpy). As bandas em 305 nm e 332 nm foram atribuídas como sendo do tipo TCML envolvendo a transição $d_{\pi}\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \pi^*(\text{terpy}, \text{bpy})$, cuja caracterização foi feita em comparação aos espectros dos complexos $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ (Figura 26) e $(\text{RuCl}_3(\text{terpy}))$ (COE et al., 1995) e $(\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2)$ (DWYER et al., 1963).

O ombro na região de 363 nm foi atribuído à TCML devido as transições $d_{\pi}\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \pi^*(\text{terpy}, \text{bpy}, \text{NO}^+)$ em analogia a complexos similares $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{n+}$ (CHANDA et al., 2004), *cis*- $(\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO})$ (TOGNILOLO et

al., 2001; SAUAIA & da SILVA, 2003) e com base em nossos resultados fotoquímicos.

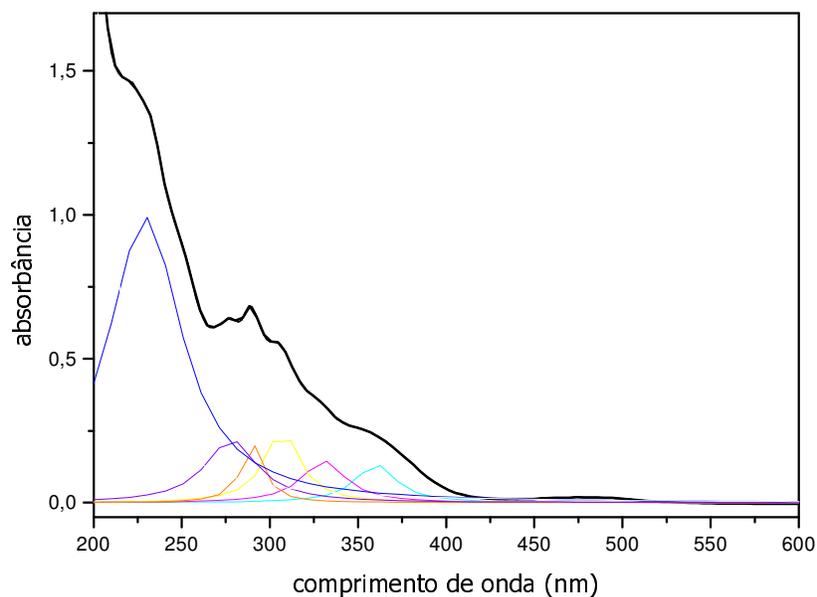


Figura 25. Espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (complexo) = $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Espectros obtidos por deconvolução de Lorentz: azul-escuro, violeta, laranja, amarelo, rosa e azul-claro.

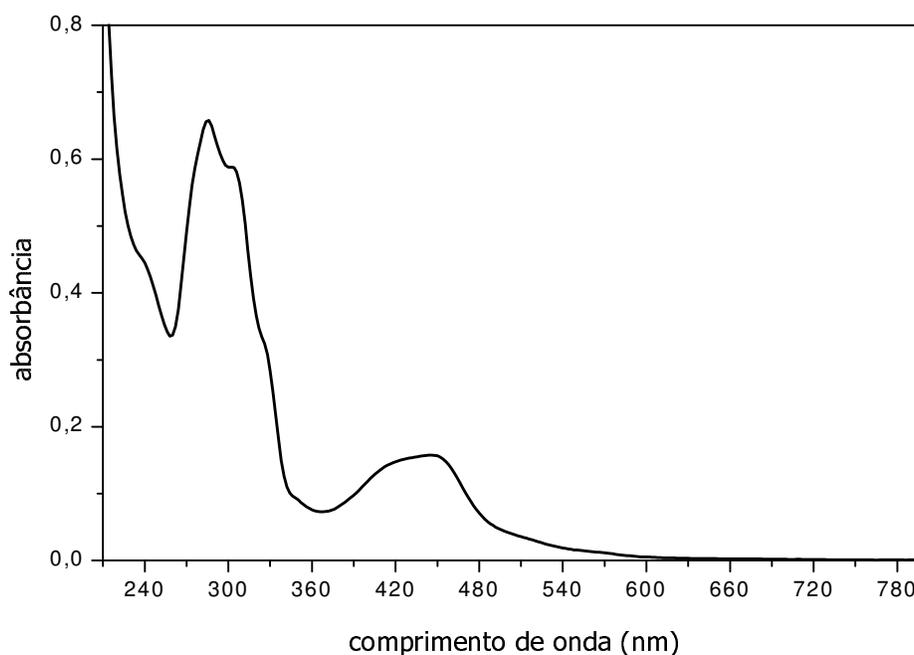


Figura 26. Espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ em meio aquoso (complexo) = $2,96 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

O efeito do ligante nitrosil na energia dos orbitais d_π do metal é claramente observado quando se compara os espectros eletrônicos do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e do seu precursor, o complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ (Figura 26). Há o desaparecimento da banda em 480 nm, no espectro do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$, caracterizada como uma transição eletrônica do tipo TCML envolvendo orbitais $d_\pi\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \pi^*(\text{terpy}, \text{bpy})$. Tal mudança espectroscópica na região do visível ocorre devido a forte retro-doação $d_\pi\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \pi^*(\text{NO}^+)$ o qual promove a estabilização dos orbitais d_π do metal e altera esta TCML para região do ultravioleta.

5.3.2. Complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$

O espectro UV-visível do complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ (Figura 27) foi caracterizado por apresentar bandas de transferência de carga tanto na região do visível quanto no ultravioleta. Sua caracterização deve-se

principalmente a comparação com o espectro do complexo precursor ($\text{RuCl}_3(\text{terpy})$) (Figura 28) e por analogia aos dados da literatura (SULLIVAN et al., 1980).

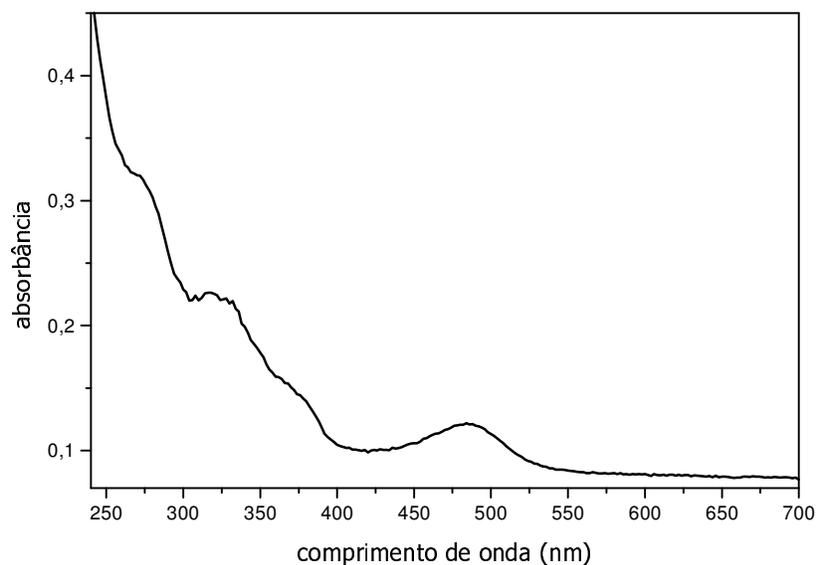


Figura 27. Espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $(\text{complexo}) = 3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

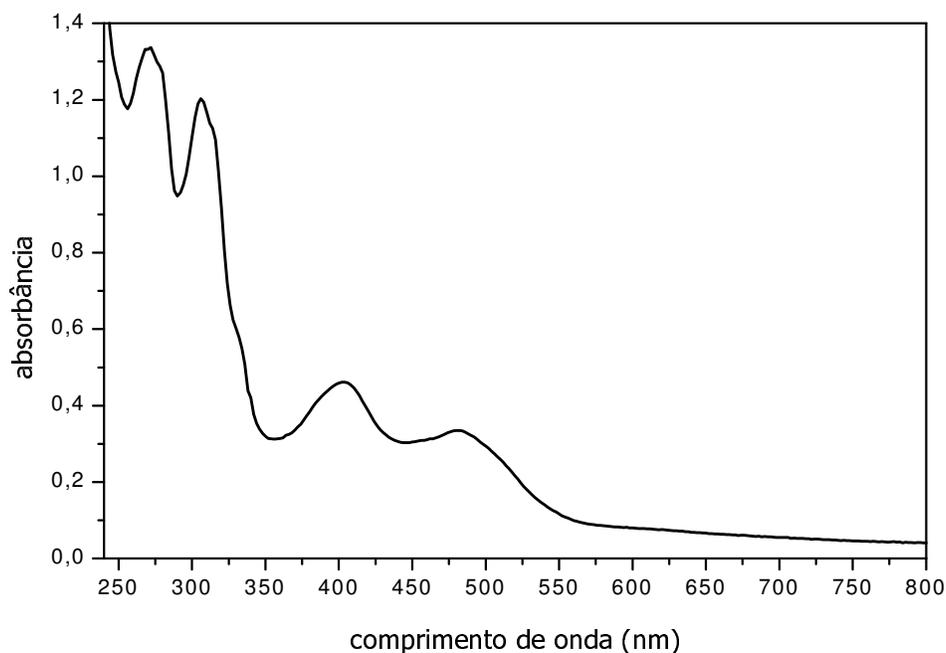


Figura 28. Espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo $(\text{RuCl}_3(\text{terpy}))$ em acetoneitrila. $(\text{complexo}) = 4,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

As bandas em 271 nm e 320 nm para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ podem ser caracterizadas, respectivamente, como sendo do IL atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do ligante terpiridina e TCML devido à transição $d_{\pi}\text{Ru(II)} \rightarrow \pi^*(\text{terpy})$.

O ombro na região de 375 nm foi caracterizado como do tipo TCML devido às transições $d_{\pi}\text{Ru(II)} \rightarrow \pi^*(\text{terpy}, \text{NO}^+)$, por analogia a sistemas semelhantes (TOGANO et al., 1992; TOGNIOLO et al., 2001; SAUIA & da SILVA, 2003). A banda em 480 nm se deve provavelmente a uma segunda TCML envolvendo as transições $d_{\pi}\text{Ru(II)} \rightarrow \pi^*(\text{terpy}, \text{NO}^+)$. Embora no espectro do complexo $(\text{RuCl}_3(\text{terpy}))$ seja também observadas duas bandas na região de 400 a 500 nm (Figura 28), naquele caso a caracterização foi feita como sendo TCML pertinente a uma transição $\pi^*(\text{terpy}) \rightarrow d_{\pi}\text{Ru(II)}$.

5.3.4. Complexos $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$

Conforme Lever e Gorelsky (2000), o comportamento de complexos com ligantes benzoquinonadiimina pode ser entendido com base essencialmente na mistura entre os orbitais do metal e ligante. Em sistemas do tipo $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{bdqi-COOH}))^{3+}$, $(\text{Ru}(\text{py})_4(\text{bdqi-COOH}))^{2+}$ e $(\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{bdqi-COOH}))^{2+}$ a capacidade de modular a energia de suas bandas depende do estado de oxidação do íon metálico e dos coligantes que completam o complexo (BARANOVSKI & SIZOVA, 1999). Por exemplo, o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{bdqi-COOH}))^{2+}$ na forma quinonóidica do ligante mostra uma banda TCML em 513 nm e na forma de semiquinona em 625 nm (MASUI, 1993), enquanto o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{bdcat-COOH}))^{2+}$ não apresenta banda na região do visível.

Considerando a característica de delocalização eletrônica entre os orbitais do metal e do ligante benzoquinonadiimina (MASUI et al., 1993) e o interesse em se construir complexos nitrosilos de rutênio com absorção na região do visível, idealizamos os complexos $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$.

O complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ tem um espectro UV-visível (Figura 29) que apresenta um máximo de absorção em 281nm caracterizado como uma banda IL devido às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes terpiridina e benzoquinona-diimina. A banda em 321 nm caracteriza-se como sendo do tipo TCML devido às transições $d_{\pi}(\text{Ru(II)}) \rightarrow \pi^*(\text{terpy, bdqi-COOH})$, enquanto que um ombro em 356 nm foi atribuído como sendo uma banda TCML do tipo $d_{\pi}(\text{Ru(II)}) \rightarrow \pi^*(\text{bdqi-COOH, NO}^+)$.

A banda de TCML na região do visível (500 nm) devido à transição $d_{\pi}(\text{Ru(II)}) \rightarrow \pi^*(\text{bdqi-COOH})$. Essa banda também é observada no espectro UV-visível do precursor $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^+$ (Figura 30).

A atribuição de tal banda é inequívoca, haja visto a semelhança

com espécies do tipo $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{L})^{2+}$ e $(\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L})^{2+}$ em que L é um ligante derivado da quinonadiimina (METCALFE & LEVER, 1997). Nestes casos, esta banda foi atribuída à TCML devido à transição $d_{\pi}\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \pi^*(\text{bdqi-COOH})$. Assim sendo, por comparação de ambos os espectros pode-se inferir a mesma atribuição para o espectro do complexo nitrosil.

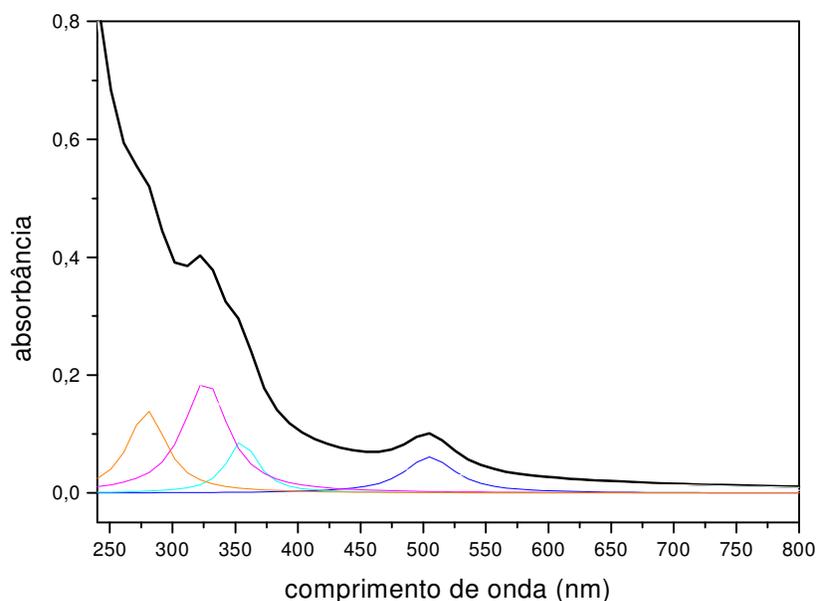


Figura 29. Espectro UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, $(\text{complexo}) = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Espectros obtidos por deconvolução de Lorentz : espectro laranja, rosa, azul-claro e azul-escuro.

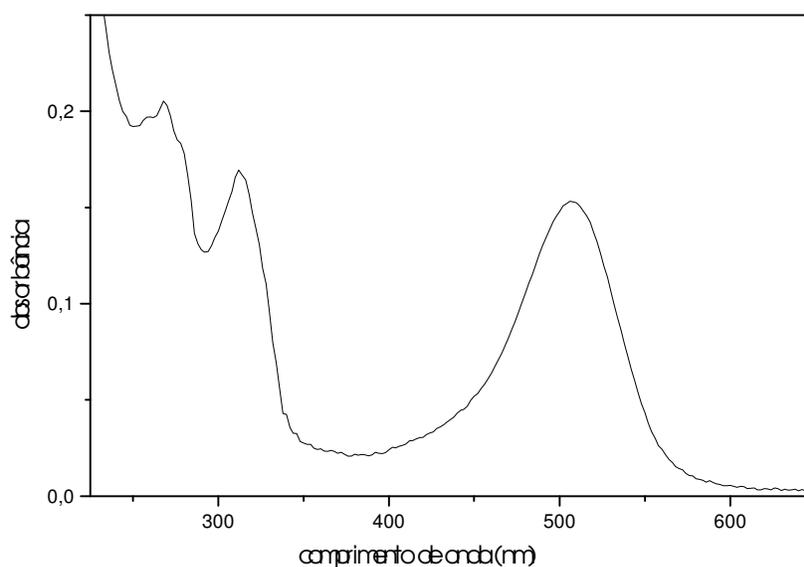


Figura 30. Espectro de absorção na região UV-visível do complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy}))^+$ em meio aquoso. $(\text{complexo}) = 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

A justificativa para a diferença de intensidade dessa banda (500 nm) nos espectros do precursor $(\text{RuCl}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy}))^+$ em relação ao produto $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ se deve a diminuição de densidade eletrônica sobre o íon metálico ocasionada pela coordenação do ligante nitrosil e conseqüente diminuição no overlap $d_{\pi}(\text{RuII}) \rightarrow \pi^*(\text{bdqj-COOH})$.

O espectro eletrônico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (Figura 31) apresentou semelhante caracterização espectroscópica com o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$. O complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ mostra um espectro UV-visível onde é possível observar uma banda em 280 nm característico de banda IL devido às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes terpiridina e benzoquinonadilimina. A banda em 327 nm caracteriza-se como sendo do tipo TCML $\{d_{\pi}\text{Ru(II)} \rightarrow \pi^*(\text{terpy})\}$.

O ombro em 355 nm, que de fato constitui-se de duas bandas em 330 nm e 350 nm (obtidas pelo método da deconvolução), caracterizado como sendo TCML devido às transições $d_{\pi}(\text{RuII}) \rightarrow \pi^*(\text{terpy}, \text{NO}^+)$. A ausência

de absorção na região do visível condiz com o resultado obtido para complexos semelhante como $(\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{catecol}))$ e $(\text{Ru}(\text{py})_4(\text{catecol}))$ (HAGA et al., 1986).

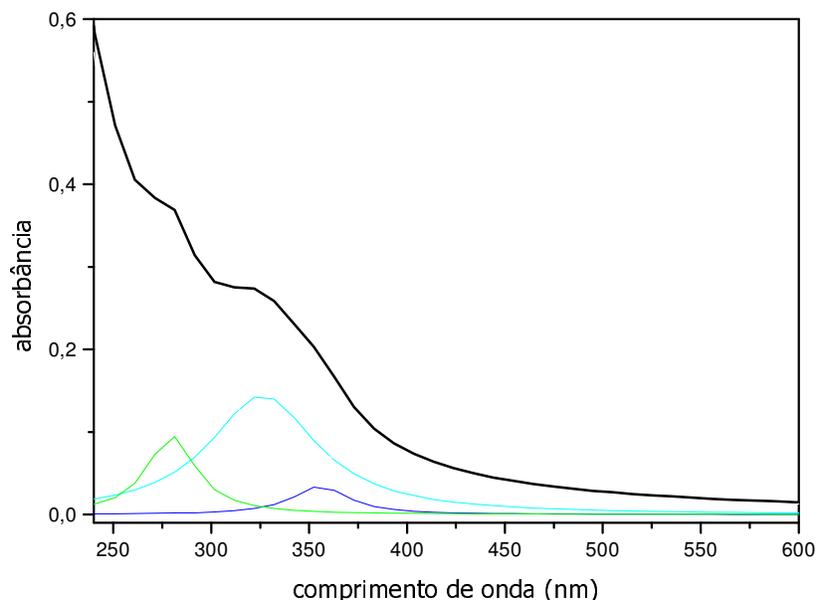


Figura 31. Espectro de absorção na região UV-visível do complexo $(\text{RuCl}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy}))^+$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. $(\text{complexo}) = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Espectros obtidos por deconvolução de Lorentz: espectro verde, azul-claro e azul-escuro.

Ao compararmos o comportamento espectroscópico na região do UV-visível dos complexos da série $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ $\text{L} = \text{bpy}$, bdqi-COOH e bdcat-COOH (Tabela 4), pode-se inferir uma maior desestabilização dos orbitais d_{π} do metal coordenado ao ligante nitrosil nos complexos com co-ligantes benzoquinonadíimina que no complexo com bipyridina (Figura 32).

Em uma série de trabalhos envolvendo o ligante benzoquinonadíimina (AUBURN et al., 1991; MASSUI et al., 1993; LEVER et al., 1995; de LIMA et al., 2002) cálculos teóricos e evidências experimentais permitiram sugerir que este ligante possui uma forte interação com o íon metálico em função da alta energia, simetria e overlap dos orbitais de valência. Tal evidência permite de forma qualitativa fazer uma analogia dos espectros

obtidos dos complexos nitrosilos de rutênio com o diagrama de orbitais moleculares simplificado (Figura 32). Quanto maior a densidade eletrônica propiciada pelos ligantes "L" e NO sobre o íon Ru(II) no complexo (Ru(terpy)(L)NO)ⁿ⁺ maior a energia dos orbitais d_π envolvidos na ligação.

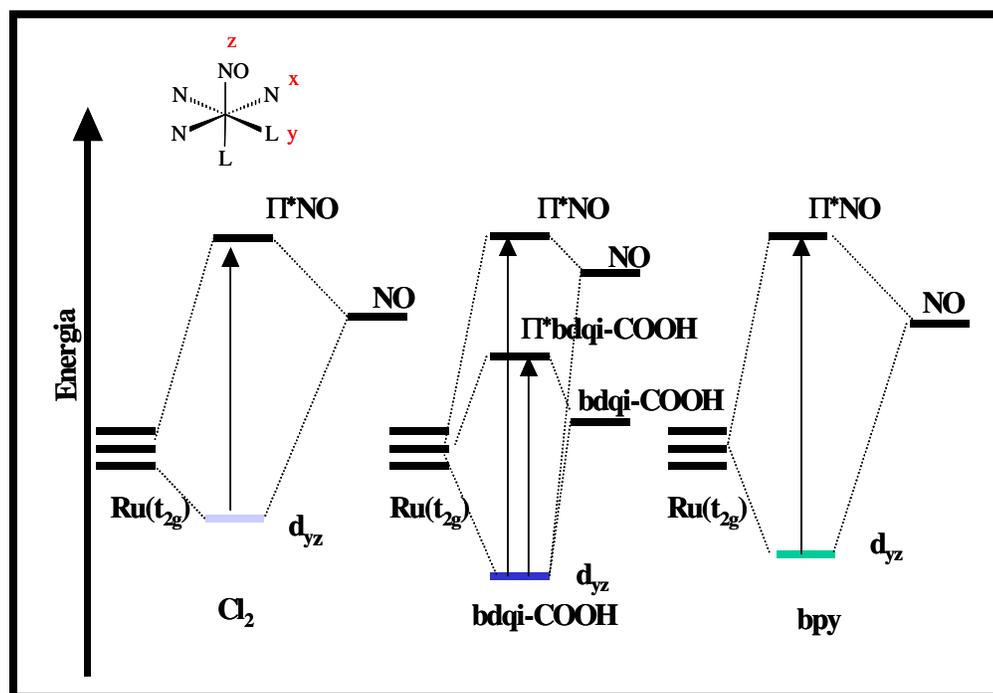


Figura 32. Diagrama de energia simplificado para os complexos (Ru(terpy)(L)NO)³⁺ L = Cl⁻, bpy e bdqi-COOH.

5.4. Estudo Eletroquímico. Voltametria cíclica e de pulso diferencial

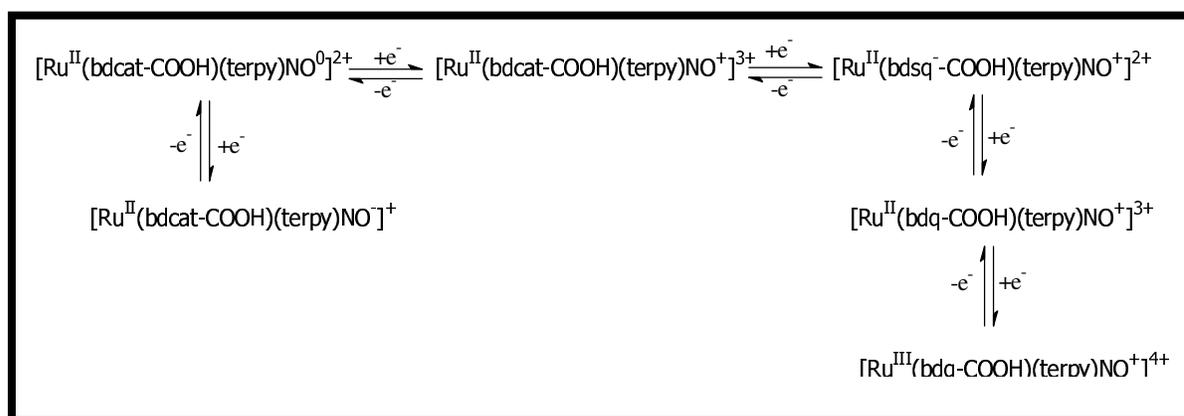
Os comportamentos eletroquímicos em meio aquoso para os complexos sintetizados no presente trabalho foram estudados conforme o item 4.8 em Materiais e Métodos.

5.4.1. Voltametria cíclica e de pulso diferencial em meio aquoso

De todos os complexos sintetizados e descritos neste trabalho somente as espécies (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)³⁺ e (Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)³⁺ apresentaram características farmacológicas de interesse haja visto a capacidade liberar NO em pH = 7,40. Assim sendo,

estudos eletroquímicos em meio aquoso foram conduzidos para estes compostos.

Aparentemente, os voltamogramas dos complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ $\text{L} = \text{bdcat-COOH}$ e bdqi-COOH , podem ter múltiplos processos (Esquema 13). Numa tentativa de se caracterizar pelo menos os picos que envolvem os processos relativos ao ligante nitrosil, utilizamos a espectroeletroquímica, bem como eletrólise à potencial controlado acoplado ao eletrodo de íon seletivo para NO (NOmeter).



Esquema 13. Processo eletroquímico global para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy}))(\text{L})\text{NO}^{3+}$, $\text{L} = \text{bdcat-COOH}$ e bdqi-COOH .

5.4.1.1. Complexos $(\text{Ru}(\text{terpy}))(\text{L})\text{NO}^{3+}$ $\text{L} = \text{bdcat-COOH}$ e bdqi-COOH

O voltamograma cíclico para o composto $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$, mostrado na Figura 33, foi iniciado em $+ 0,09 \text{ V vs Ag/AgCl}$, potencial de cela aberta, no sentido catódico onde foi possível observar duas ondas anódicas em $E_{pA} = - 0,14 \text{ V}$ e $E_{pB} = - 0,45 \text{ V vs Ag/AgCl}$.

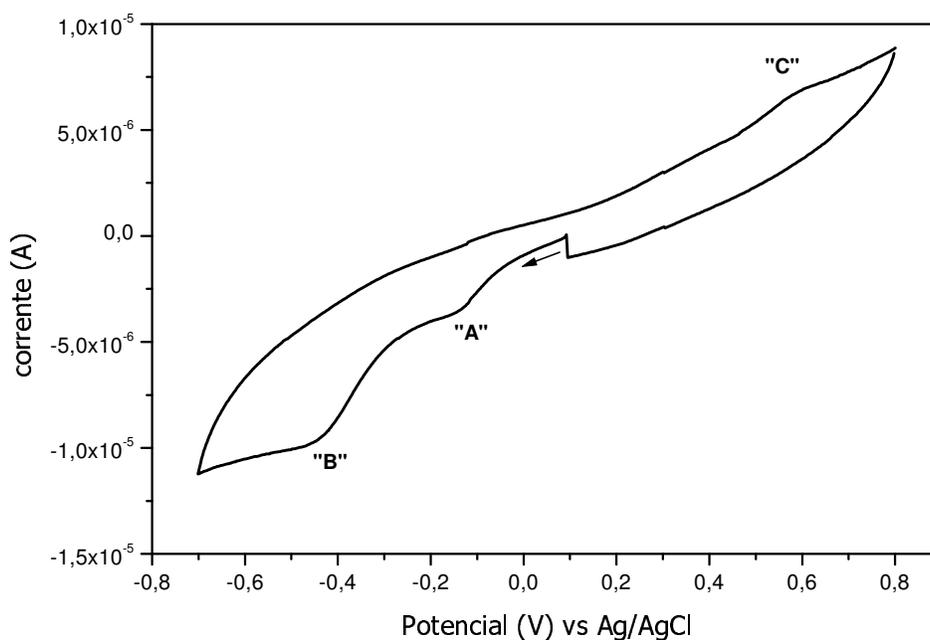


Figura 33. Voltamograma cíclico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: NaBF_4 0,1 mol L^{-1} . (complexo) = 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .

A reversibilidade do primeiro processo eletroquímico ("A") foi estudada em diferentes velocidades de varredura (Figura 34). Os voltamogramas cíclicos foram iniciados em + 0,10 V vs Ag/AgCl, conduzidos para potenciais negativos, revertidos em - 0,50 V vs Ag/AgCl e conduzidos para potenciais positivos até atingir + 0,10 V vs Ag/AgCl novamente.

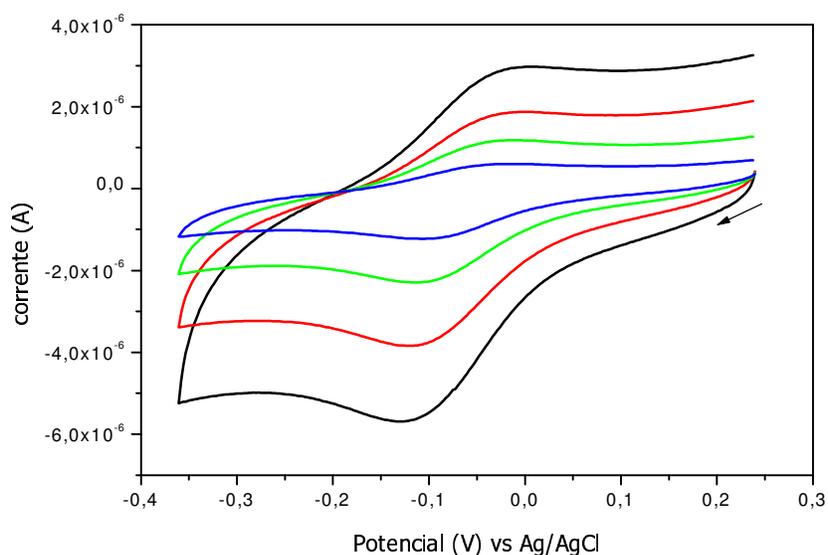


Figura 34. Voltamogramas cíclicos para o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: $NaBF_4$ 0,1 mol L^{-1} . (complexo)= 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 200,100, 50 e 20 $mV s^{-1}$.

De acordo com Nicholson e Shain (1965), esse processo eletroquímico pode ser denominado quase-reversível, haja visto que ΔE_p aumenta em função da velocidade (Tabela 5). Além disso, I_{pc} aumenta com o aumento da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) (Figura 35).

Tabela 5. Parâmetros eletroquímicos, em solução tampão pH = 2,03, para o complexo $(Ru(terpy)(bdqj-COOH)NO)^{3+}$, referente ao processo redox NO^+/NO^0 .

V ($mV s^{-1}$)	ΔE_p (V)
200	0,102
100	0,086
50	0,071
20	0,060

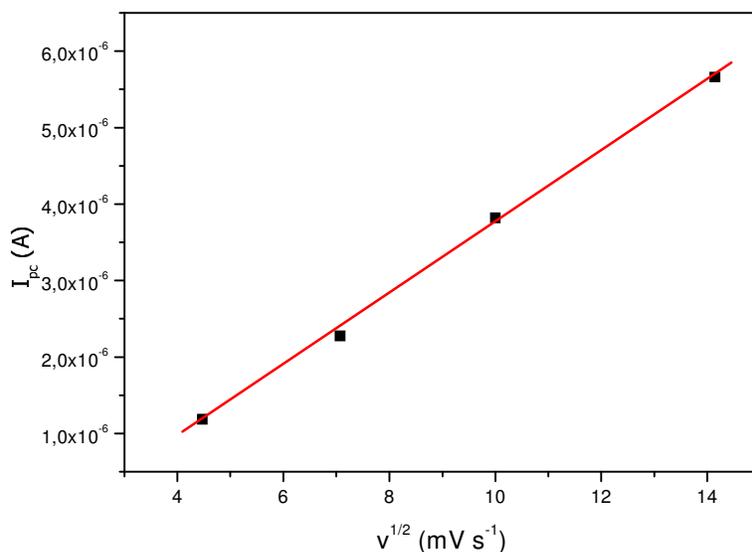


Figura 35. Gráfico de I_{pc} vs $v^{1/2}$ do complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Coeficiente de correlação da reta: 0,998.

Considerando-se a quase-reversibilidade caracterizada para o processo NO^+/NO^0 foi feito eletrólise em potencial controlado em $-0,3$ V vs Ag/AgCl. Acompanhou-se a saída de NO utilizando o NOmeter (Figura 36).

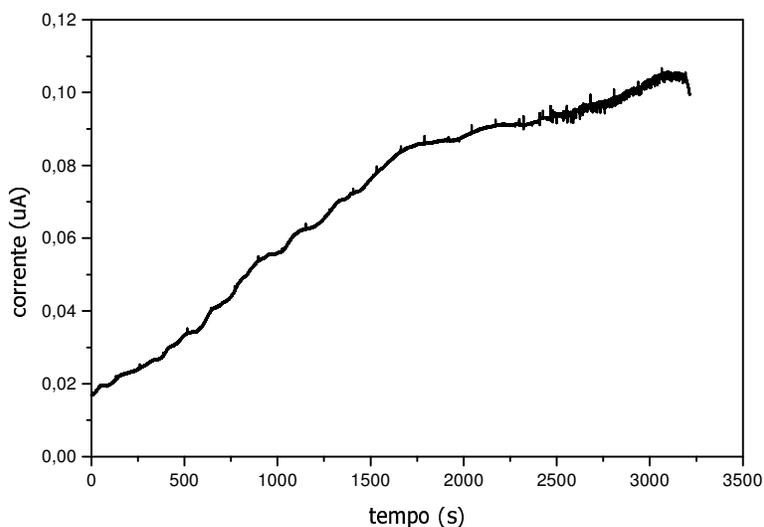


Figura 36. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03, sob eletrólise a potencial controlado em $-0,30$ V vs Ag/AgCl.

Com base no valor de potencial redox para o processo NO^+/NO^0 para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, estudou-se o comportamento espectroscópico promovido pela eletrólise a potencial controlado em $-0,3$ V vs Ag/AgCl (Figura 37). A variação espectral na região do UV-visível mostra um ombro na região de 350 nm, no espectro inicial, que logo nos primeiros minutos de reação apresenta modificações. Nota-se também um aumento de intensidade das bandas intraligantes (região do ultravioleta) e o aparecimento de uma banda em 480 nm.

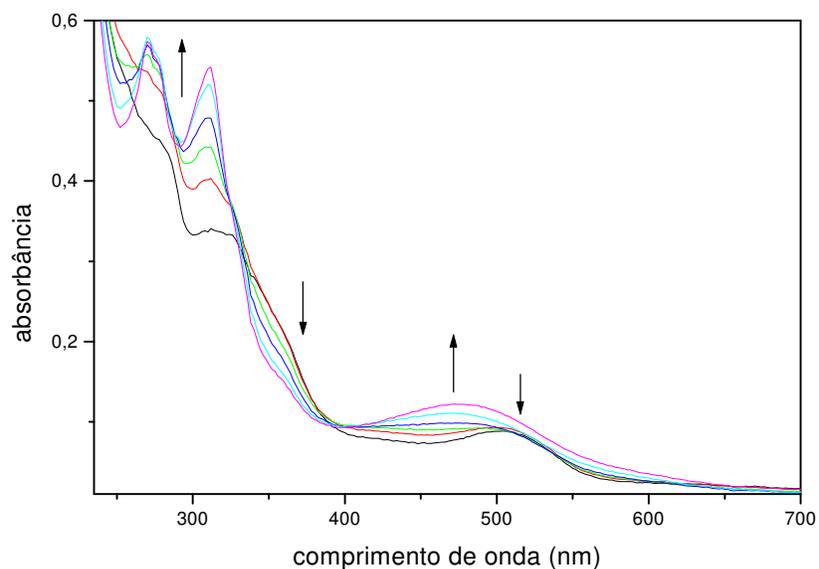


Figura 37. Espectros na região do UV-visível em função do tempo para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 após eletrólise em $-0,30$ V vs Ag/AgCl. Tempos de análise: 0; 2; 4; 6; 10; 20 minutos.

O surgimento da banda em 480 nm é coerente com a atribuição da banda de transferência de carga metal-ligante (TCML) se comparada a sistemas similares (HAGA et al., 1986). Após cessar a eletrólise (cerca de 1h) há o desaparecimento desta banda e o surgimento de uma outra banda em 510 nm, que é semelhante à banda na região do visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ (Figura 38). A formação da espécie $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ condiz com a saída do NO.

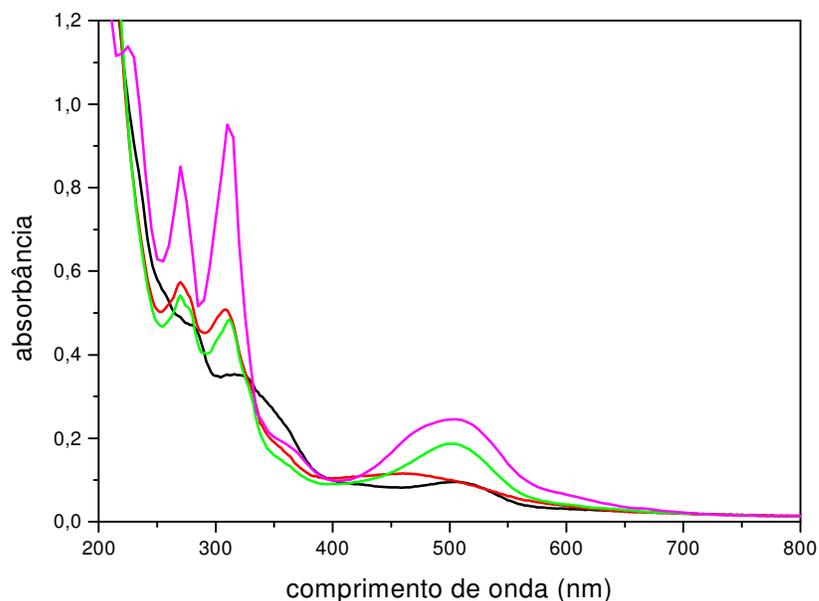


Figura 38. Espectros na região do UV-visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$. Espectro inicial (preto), espectro durante eletrólise em potencial $- 0,3 \text{ V}$ vs Ag/AgCl (vermelho), espectro após 1 hora do final da eletrólise (verde) e espectro do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ (rosa).

Após o processo NO^+/NO^0 ("A") pode ser observado o aparecimento de uma segunda onda anódica ("B") (Figura 39) que por comparação à literatura (SAUAIA & da SILVA, 2003) foi atribuída como sendo o processo NO^0/NO^- .

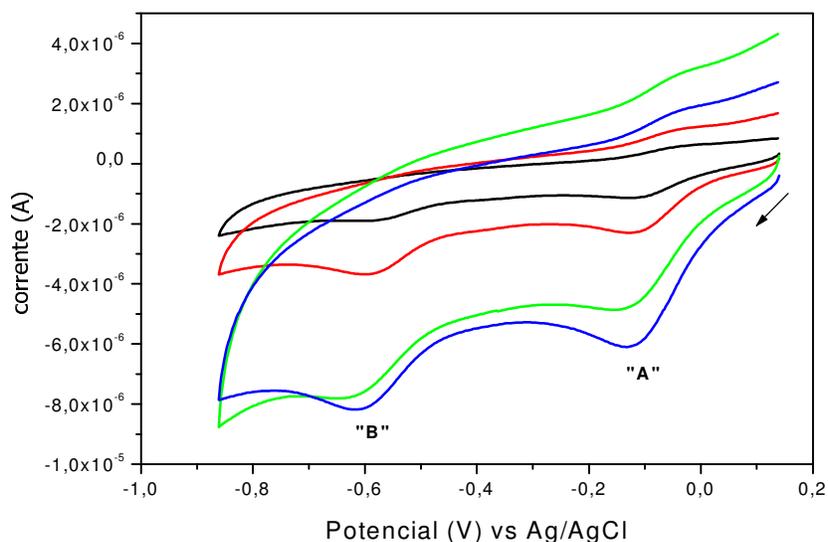


Figura 39. Voltamogramas cíclicos para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: NaBF_4 0,1 mol L^{-1} . (complexo)= 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 200, 100, 50 e 20 mV s^{-1} .

O mesmo procedimento espectroeletróquímico descrito anteriormente foi feito para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob redução em potencial controlado em $-0,80$ V vs Ag/AgCl (Figura 40). Observou-se o desaparecimento das bandas em 360 nm e 510 nm e o aparecimento da banda em 480 nm, comportamento semelhante ao observado para eletrólise em $-0,30$ V vs Ag/AgCl.

A não reversibilidade do processo de redução em $-0,80$ V vs Ag/AgCl foi constatada através do estudo espectroeletróquímico do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob eletrólise em $0,00$ V vs Ag/AgCl (Figura 41). Não foi possível observar o retorno do espectro inicial durante essa eletrólise.

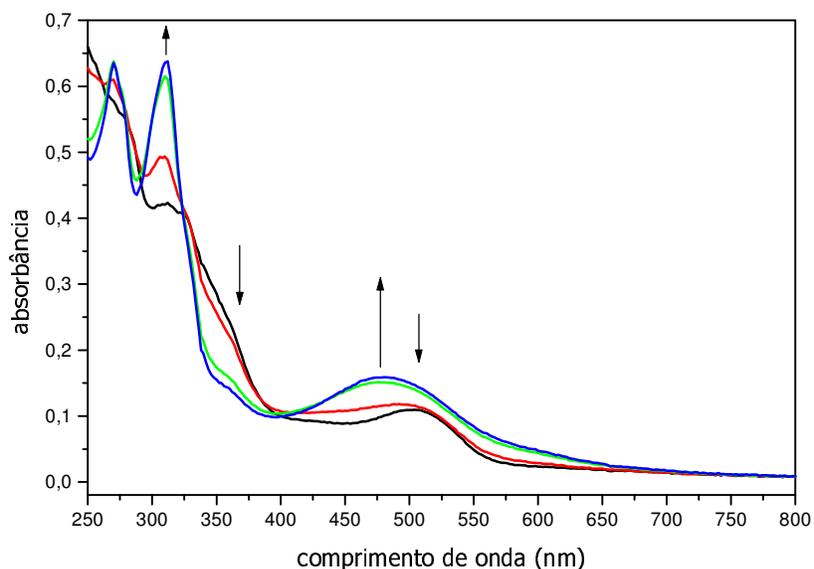


Figura 40. Espectros na região do UV-visível para o complexo (Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)³⁺ em solução tampão pH = 2,03. Espectro inicial (preto), espectro durante eletrólise em potencial - 0,8 V vs Ag/AgCl. Tempos: 2 min (vermelho), 12 min (verde) e 30 min (azul).

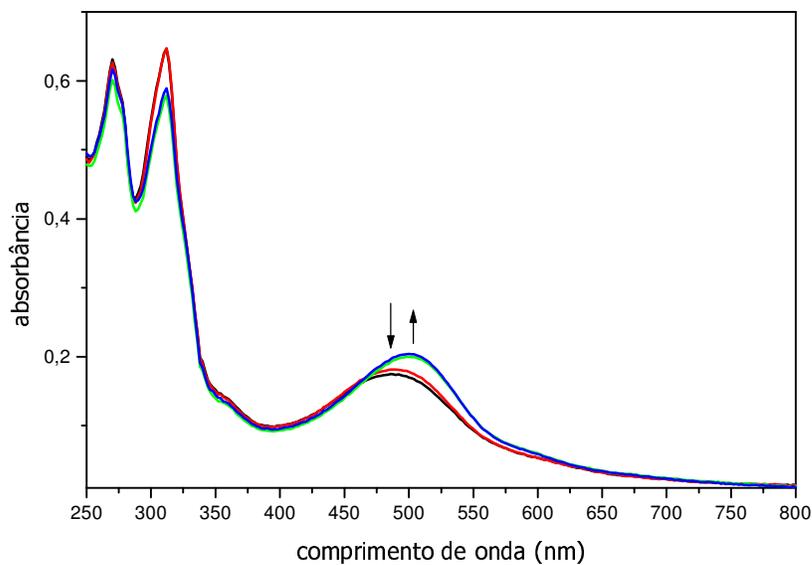


Figura 41. Espectros na região do UV-visível para o complexo (Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)³⁺ em solução tampão pH = 2,03. Espectro inicial (preto), espectro durante eletrólise em potencial 0,00 V vs Ag/AgCl. Tempos: 10 min (vermelho), 20 min (verde) e 40 min (azul).

O voltamograma cíclico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, em solução tampão pH = 2,03, foi semelhante ao obtido para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (Figura 42). Os potenciais redox para os processos centrados do ligante nitrosil, NO^+/NO^0 ("A") e NO^0/NO^- ("B") são em - 0,13 V e - 0,50 V vs Ag/AgCl, respectivamente.

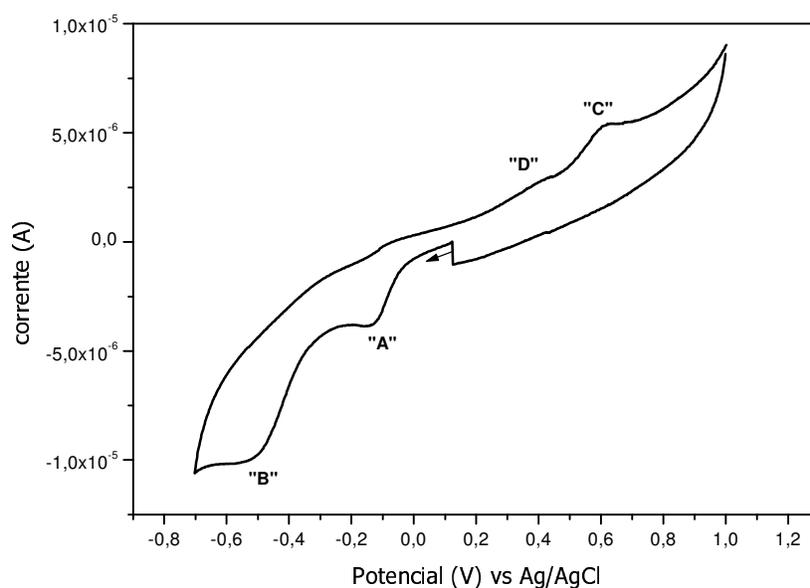


Figura 42. Voltamograma cíclico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: NaBF_4 0,1 mol L⁻¹. (complexo) = 1×10^{-3} mol L⁻¹. Velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.

O comportamento espectroeletroquímico, com redução em - 0,3 V vs Ag/AgCl para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ evidencia alterações espectroscópicas na região do ultravioleta e visível semelhantes às observadas para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (Figura 43), principalmente em relação ao desaparecimento da banda em 360 nm e aparecimento de uma banda em 480 nm.

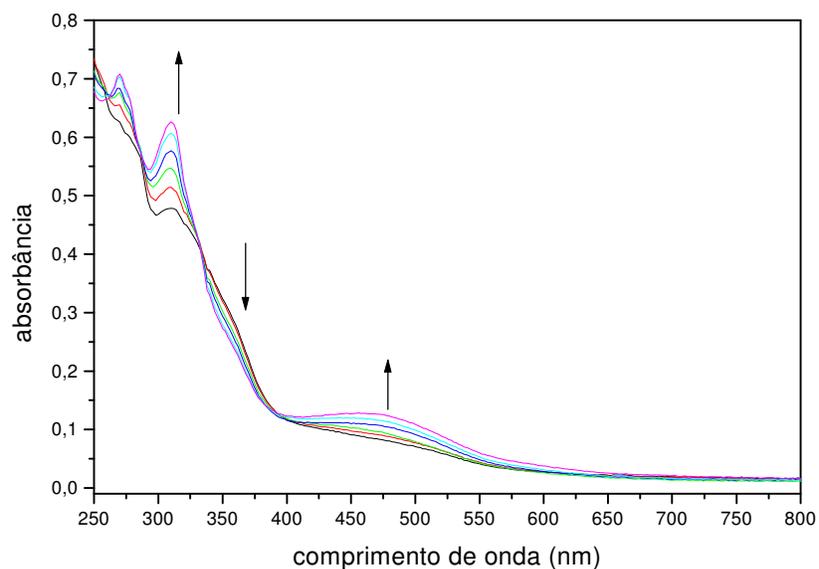


Figura 43. Espectros na região do UV-visível em função do tempo para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 após aplicação de potencial de - 0,30 V vs Ag/AgCl. Tempos de análise: 0; 2; 4; 6; 10; 20 minutos.

Cessada a eletrólise, a solução do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ permaneceu em repouso (cerca de 2 h) em atmosfera de oxigênio e observou-se o aparecimento da banda em 510 nm caracterizada como a espécie $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ (Figura 44).

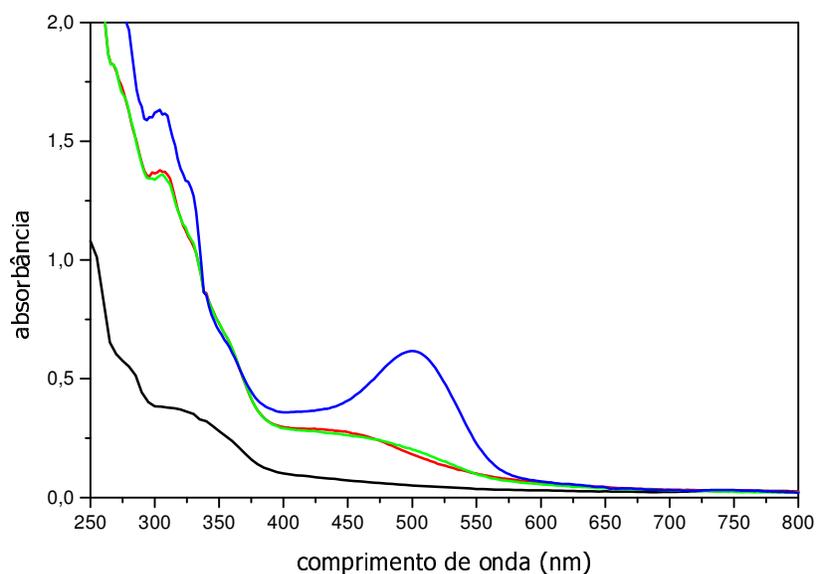


Figura 44. Espectros na região do UV-visível em função do tempo para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Espectro inicial (preto), após eletrólise em $-0,30$ V vs Ag/AgCl (vermelho), após cessada eletrólise: 45 minutos (verde) e 2 horas (azul).

A formação da espécie $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ foi comprovada pela detecção de NO após eletrólise à potencial controlado em $-0,3$ V vs Ag/AgCl (Figura 45).

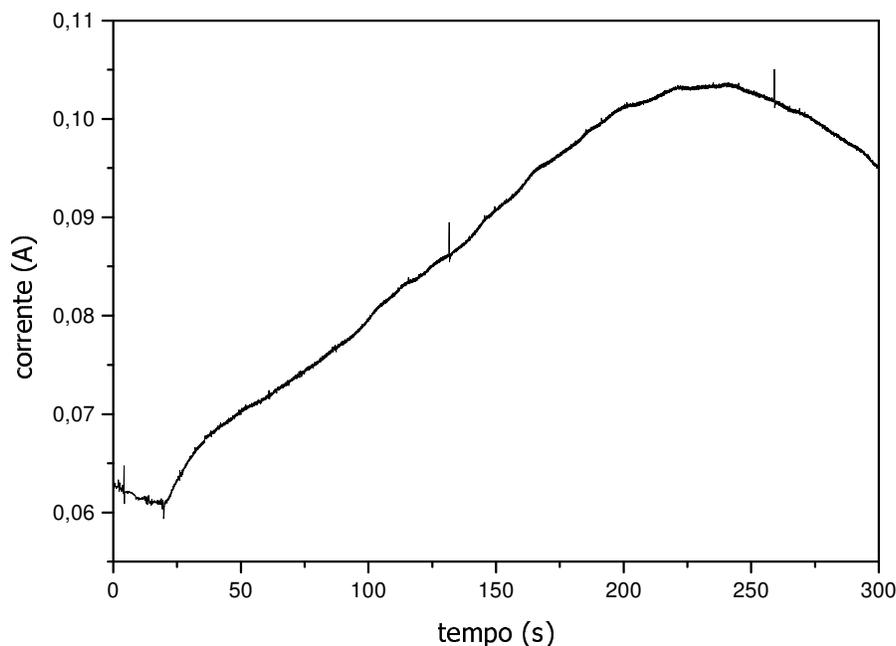


Figura 45. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03, sob eletrólise em $-0,30$ V vs Ag/AgCl.

Além dos estudos relacionados aos processos redox na região catódica ("A" e "B") para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ — L = bdqi-COOH e bdcat-COOH —, descritos anteriormente, faz-se necessário a caracterização dos processos na região anódica "C" e "D" (Figura 47).

O voltamograma cíclico (Figura 46) com início em $+0,10$ V vs Ag/AgCl em sentido catódico até potencial de $-0,30$ V vs Ag/AgCl e revertido em sentido anódico até potencial de $+1,00$ V vs Ag/AgCl mostrou o aparecimento de um pico anódico em $+0,34$ V vs Ag/AgCl ("D"). No entanto, quando o voltamograma cíclico é revertido em $-0,70$ V vs Ag/AgCl, o pico anódico aparece em $+0,57$ V vs Ag/AgCl ("C").

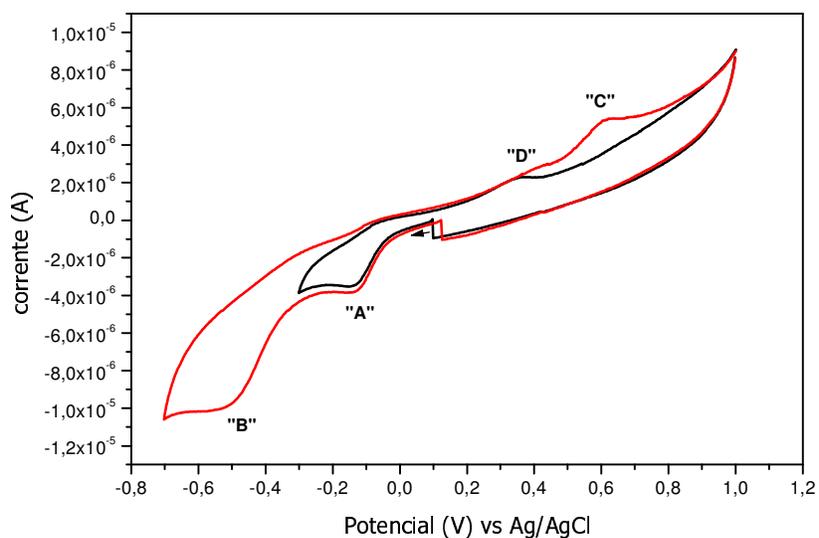


Figura 46. Voltamogramas cíclicos para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: NaBF_4 0,1 mol L^{-1} . (complexo)=1 x 10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .

As atribuições dos picos "C" e "D" foram feitas com base nos voltamogramas de pulso diferencial para o composto $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$. Os voltamogramas foram registrados após determinados períodos de eletrólise em - 0,80 V vs Ag/AgCl. Os voltamogramas foram iniciados em - -0,80 V vs Ag/AgCl e conduzidos e +1,00 V vs Ag/AgCl (Figura 47).

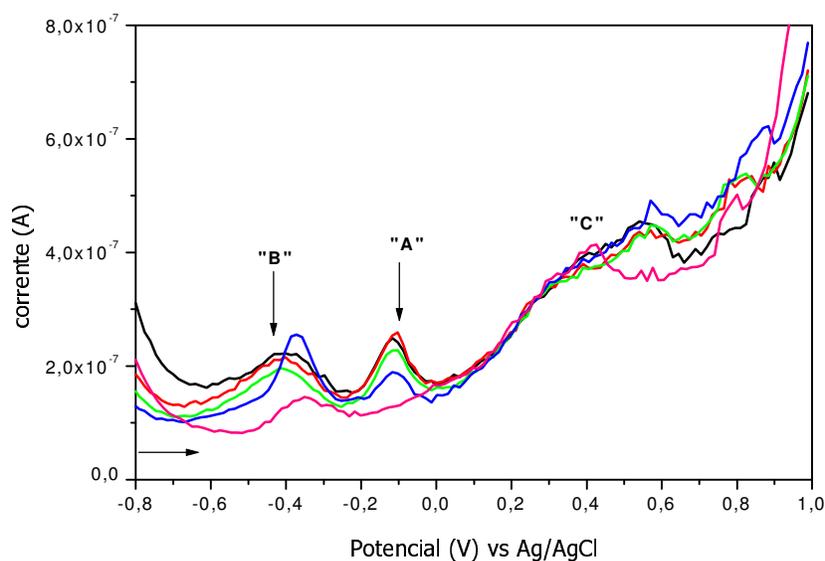


Figura 47. Voltamogramas de pulso diferencial, em solução tampão pH= 2,03, para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ durante eletrólise a potencial controla em $-1,00$ V vs Ag/AgCl. Tempo: 0s (vermelho), 60s (preto), 180s (verde) e 780s(azul). Voltamograma de pulso diferencial para o complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{+}$ (rosa).

O comportamento voltamétrico mostrado nessa figura evidencia a formação de uma nova espécie, com potencial em $+0,40$ V vs Ag/AgCl (pico "C"). O pico "C" foi atribuído ao processo redox centrado no ligante benzoquinonadiimina em comparação ao pico observado para o complexo precursor $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{+}$ (Figura 47).

O voltamograma cíclico para o complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{+}$ (Figura 48) foi iniciado em $+0,10$ V vs Ag/AgCl, potencial de cela aberta, em sentido catódico, resultando no aparecimento de um pico catódico em $-0,29$ V vs Ag/AgCl que foi caracterizado como sendo o processo centrado no ligante benzoquinoadiimina ($\text{Ru}^{\text{II}}\text{-bdqi-COOH}/\text{Ru}^{\text{II}}\text{-bdcat-COOH}$). Em seguida, em sentido anódico foi observado um pico em $+0,42$ V vs Ag/AgCl como sendo proveniente do processo oxidativo da espécie $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ que foi obtido por uma reação de substituição do ligante cloreto no precursor utilizado. Muito provavelmente este pico se deve ao processo centrado no ligante benzoquinonadiimina.

O esquema 14 representa o mecanismo eletroquímico envolvido neste sistema.

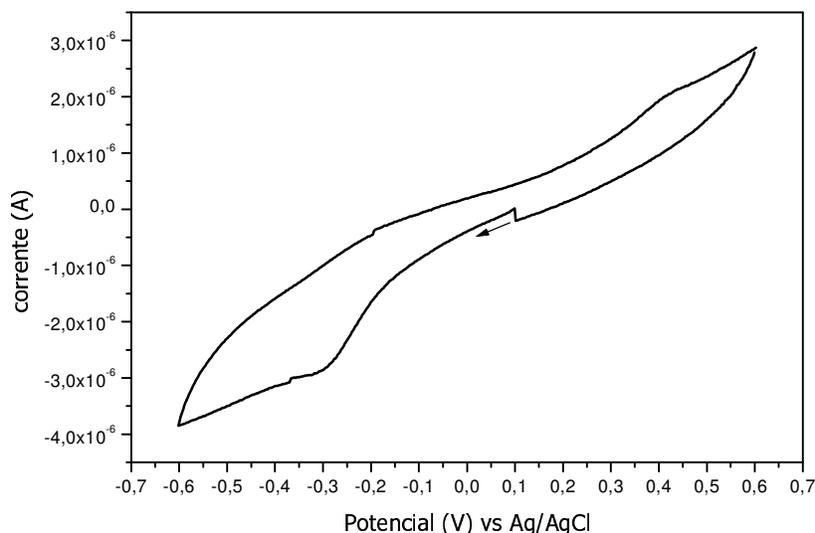
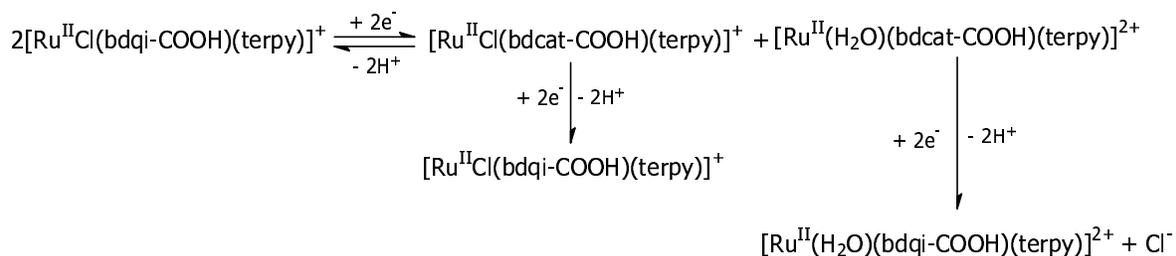
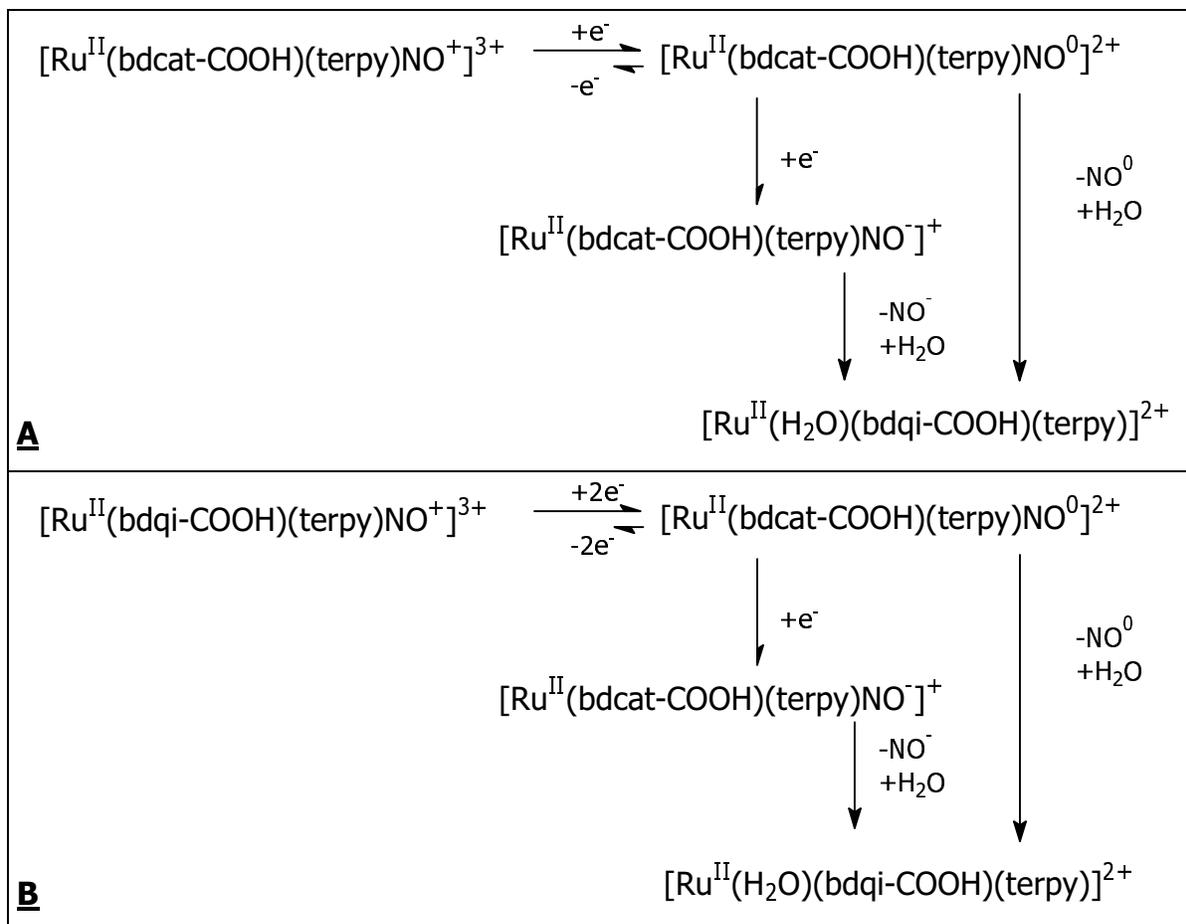


Figura 48. Voltamograma cíclico para o complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^+$ em solução tampão $\text{pH} = 2,03$. Eletrólito de suporte: NaBF_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. (complexo) $= 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} .



Esquema 14. Provável mecanismo eletroquímico para o complexo $(\text{RuCl}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^+$ em meio aquoso.

Assim, conclui-se que o mecanismo eletroquímico (Esquema 15) em meio aquoso para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ — $\text{L} = \text{bdcat-COOH}$ e bdqi-COOH — envolve os ligante nitrosil e benzoquinonadiimina.



Esquema 15. Mecanismo eletroquímico para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ L = bdcat-COOH (A) e bdqi-COOH (B) em meio aquoso.

5.4.1.2. Complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$

O voltamograma cíclico para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em meio aquoso Figura 49 mostra um par de pico redox em $-0,11$ vs Ag/AgCl ("A") e um pico de redução em $-0,40$ vs Ag/AgCl ("B"). Os dois picos "A" e "B" (Figura 49) foram atribuídos às reduções NO^+/NO^0 e NO^0/NO^- , respectivamente. Estas atribuições foram feitas com base no potencial de cela aberta, cujo valor foi de $V_{\text{rest}} = +0,20$ V vs Ag/AgCl.

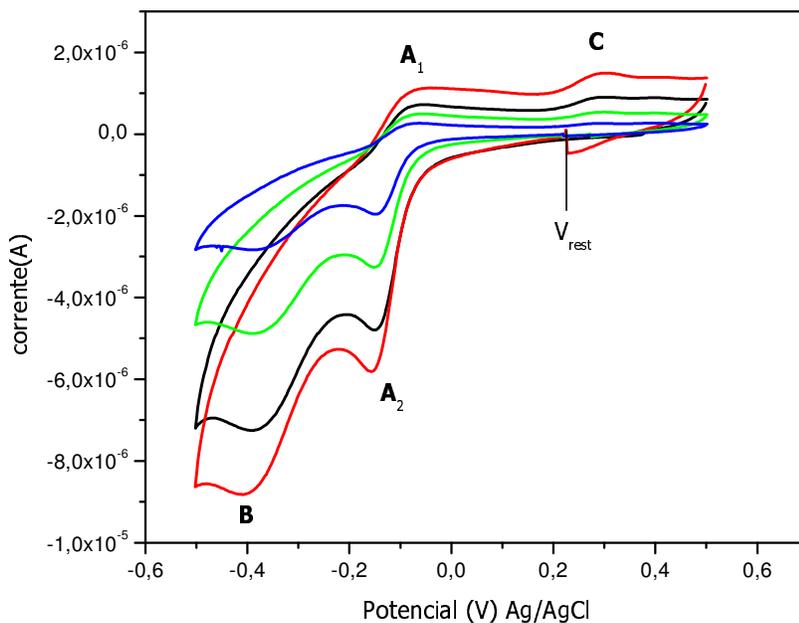


Figura 49. Voltamograma cíclico para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte: NaBF_4 0,1 mol L^{-1} . (complexo) = 1×10^{-3} mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 20, 50, 100 e 200 mV s^{-1} .

A caracterização dos picos redox para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em meio aquoso foram acompanhados por espectroeletróquímica e detecção de NO pelo NOmeter.

A eletrólise em potencial controlado da solução aquosa do complexo $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em $-0,25$ V vs Ag/AgCl resultou na diminuição da banda em 360 nm e no aparecimento de uma em 490 nm Figura 50.

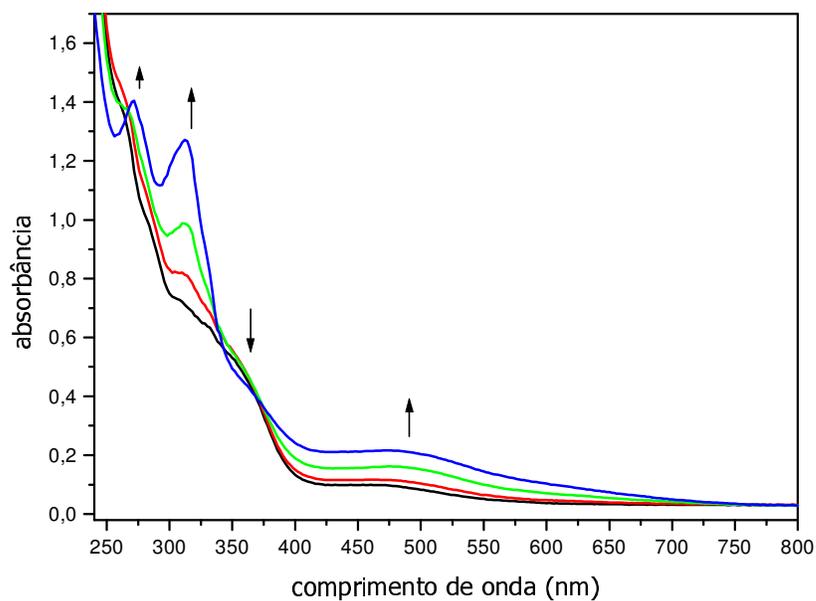


Figura 50. Espectros na região do UV-visível em função do tempo para o complexo $(Ru^{II}(terpy)(2-pySH)_2NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 após aplicação de potencial de -0,25 V vs Ag/AgCl. Tempos de análise: 0; 5; 10; 15 e 20 minutos.

O espectro do produto final da eletrólise é semelhante ao da espécie $(Ru(H_2O)(terpy)(2-pySH)_2)^{2+}$ (Figura 57), obtido *in situ*. Assim, pode-se concluir que a espécie gerada é o aquo-complexo.

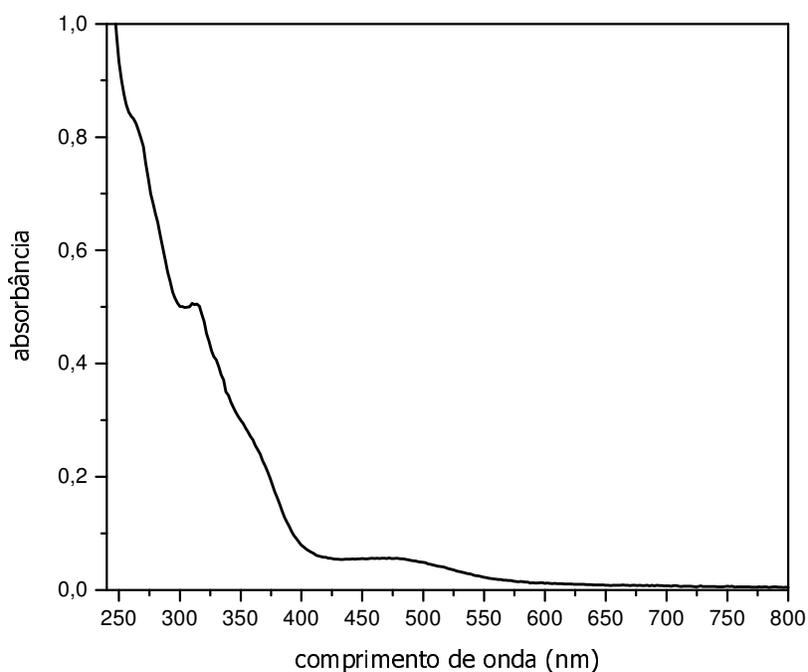


Figura 51. Espectro eletrônico qualitativo na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2)^{2+}$ em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A re-oxidação da solução em $-0,10 \text{ V vs Ag/AgCl}$ não retornou ao espectro inicial, ou seja o processo de redução NO^+/NO^0 não pode ser considerado como sendo eletroquimicamente reversível em meio aquoso. Baseado em tal discussão fez-se eletrólise em $-0,25 \text{ V vs Ag/AgCl}$ e acompanhou-se o processo utilizando-se NOmeter (Figura 52).

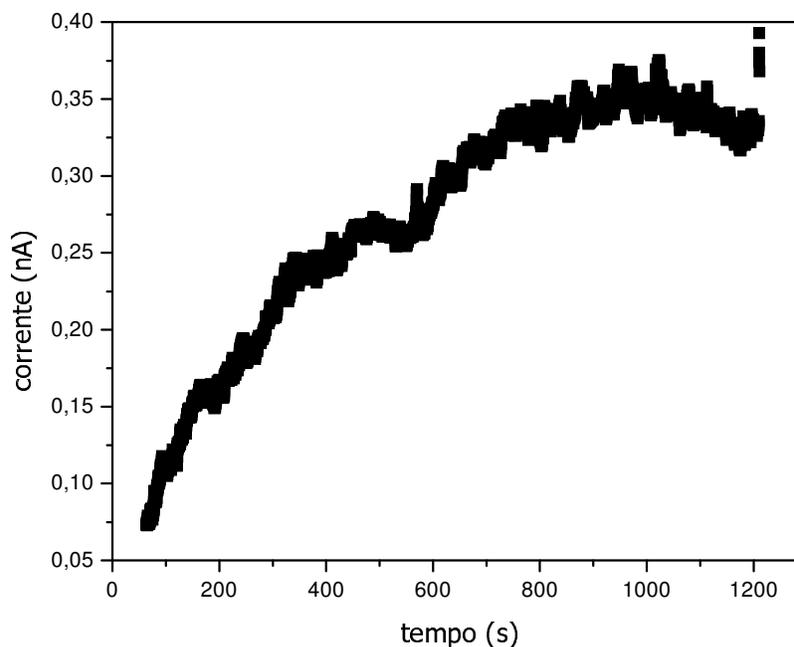
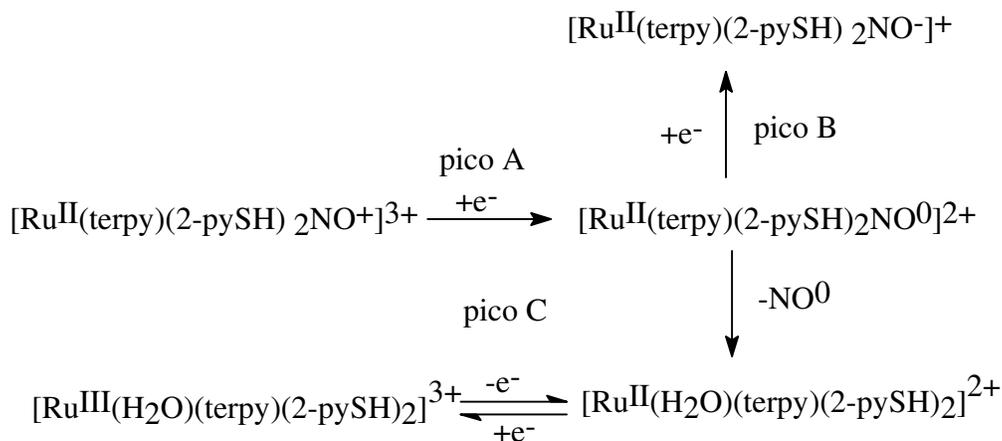


Figura 52. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03. (Potencial de eletrólise - 0,25 V vs Ag/AgCl).

Baseado nos resultados de voltametria cíclica e espectroeletróquímica e pela comparação com os resultados da literatura, podemos inferir o mecanismo eletroquímico para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em meio aquoso (Esquema 16).



Esquema 16. Mecanismo eletroquímico para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em meio aquoso.

5.5. Estudos Fotoquímicos

Os estudos fotoquímicos foram realizados no sistema de laser em dois comprimentos de onda de irradiação (λ_{irr}): 355 nm e 532 nm.

A razão da escolha do comprimento de onda de irradiação recai sobre as linhas de energia disponíveis no equipamento (laser), bem como pela avaliação dos espectros UV-visíveis das espécies nitrosilos de rutênio discutidos neste trabalho.

A irradiação em 355 nm deve-se ao ombro na região de 350 nm a 380 nm, característico das espécies $(Ru(terpy)(L)NO)(PF_6)_3$, $L = Cl^-$, bpy, bdcac-COOH e bdqi-COOH. Para fins de facilitar as interpretações espectroscópicas, estamos apresentando novamente a Tabela 6. Esse ombro, conforme discutido no item 5.3. foi atribuído como TCML devido à transição eletrônica $d_{\pi}(Ru^{II}) \rightarrow \pi^*(NO^+)$.

Tabela 6. Resultados de análises de espectros na região UV-visível para os complexos $(Ru(terpy)(L)NO)^{3+}$ em solução aquosa.

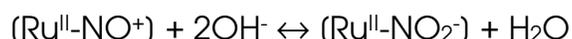
Complexos	λ nm (log ϵ) ^a
$(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$	230 (4,63); 277 (4,25); 288 (4,32); 305 (4,24); 332 (4,02); 358 (3,92)
$(Ru(bdcac-COOH)(terpy)NO)^{3+}$	288 (4,21); 325 (4,11); 355 (3,98)
$(Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)^{3+}$	285 (4,39); 324 (4,27); 358 (4,15); 510 (3,65)
$(RuCl_2(terpy)NO)^+$	272 (2,90); 320 (2,69); 375 (2,87); 484 (2,17)

a: solução HCl 0,1 mol L⁻¹

A irradiação em 532 nm foi feita para o complexo $(Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em razão do mesmo apresentar banda em 510 nm caracterizada como TCML $d_{\pi}(Ru^{II}) \rightarrow \pi^*(bdqi-COOH)$.

5.5.1. Fotoquímica dos complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})(\text{PF}_6)_3$, $\text{L} = \text{Cl}^-$, bpy , bdcat-COOH e bdqi-COOH com irradiação em 355 nm

A fotólise dessas espécies foram realizadas em diferentes tampões, trifluoroacético ($\text{pH} = 2,03$) e ácido acético/acetato de sódio ($\text{pH} = 4,50$), para evitar a formação do nitro complexo de rutênio que ocorre conforme o equilíbrio abaixo:



As espécies estudadas foram capazes de liberar óxido nítrico gasoso (NO^0) quando irradiadas em 355 nm e os mecanismos fotoquímicos foram baseados na variação espectral na região do UV-visível e nos perfis de corrente registrados pelo NOmeter, após cada pulso de flash-fotólise.

O monitoramento *in situ* de NO durante a fotólise é uma maneira indubitável de provar a geração fotoquímica de óxido nítrico (KOPPENOL, 1996; KUDO et al., 1997). O sinal gravado pelo sensor de NO gasoso aumenta rapidamente quando a fotólise é iniciada e diminui quando o feixe de luz é interrompido. O decréscimo de corrente se deve ao consumo de NO por vários caminhos, principalmente a oxidação (FORD et al., 1993).

Experimentos similares foram realizados com uma solução “branco” (tampão sem o complexo). A ausência de sinal mostra que os resultados observados são consistentes com a liberação de NO.

5.5.1.2. Complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$

O perfil de corrente registrado pelo NOmeter para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ durante a fotólise em 355 nm e $\text{pH} = 2,03$ está representado na Figura 53 e 54.

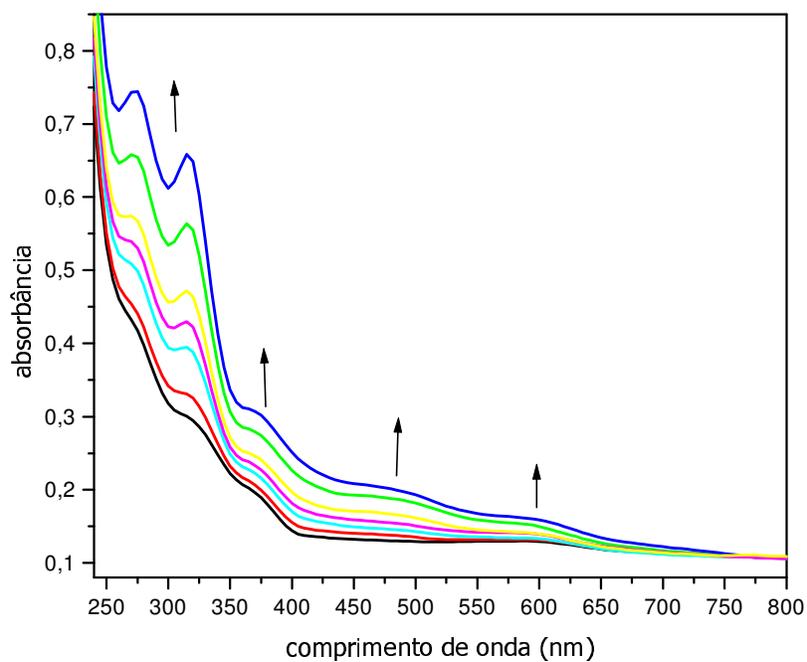


Figura 53. Espectros na região UV-visível para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão $\text{pH} = 2,03$ irradiado em 355 nm.

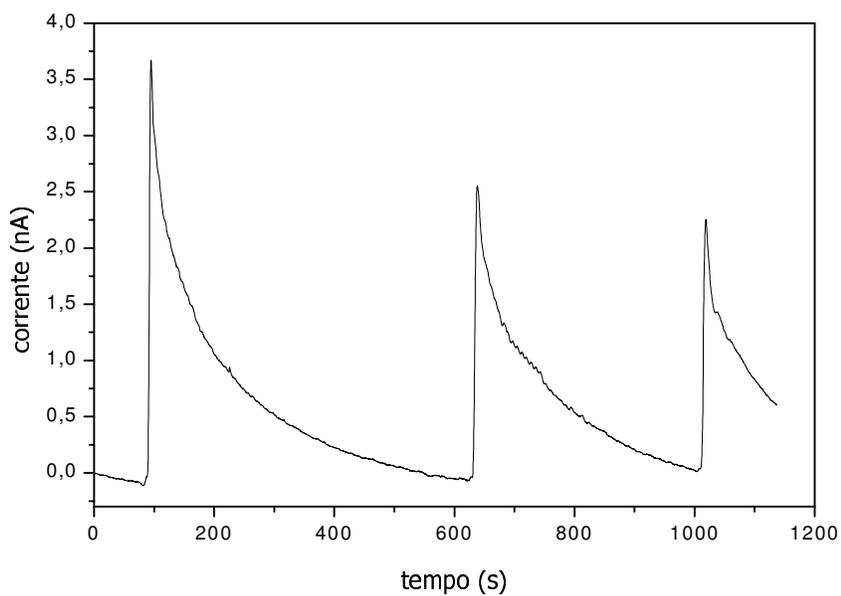


Figura 54. Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão $\text{pH} = 2,03$ irradiado em 355 nm.

A Figura 59 mostra que a fotólise em 355 nm para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ resulta no aumento de intensidade das bandas na região do ultravioleta, 273, 317 e 377 nm, e visível em 486 e 598 nm.

Embora a espectroscopia eletrônica seja válida para diagnosticar a fotorreação de um composto (TOGNIOLO et al., 2001; SAUAIA et al., 2003, OLIVEIRA et al., 2004), aparentemente no complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ isto não pode ser observado, já que o espectro inicial do complexo nitrosilo apresenta características espectroscópicas semelhantes ao do fotoproduto.

Assumindo que a banda em 377 nm é TCML $d_\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{terpy}, \text{NO}^+)$, a irradiação em 355 nm promove fotoxidação e formação da espécie $\{(\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_2(\text{terpy})\text{NO}^0)^+\}^*$ no estado excitado. O ligante NO^0 tem fraca atração pelo centro metálico (Ru^{III}) e é liberado da esfera de coordenação do metal.

A razão da semelhança entre as espécies precursora e fotoproduto, $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ e $(\text{RuCl}_3(\text{terpy}))$ (Figura 55), pode estar centrado no caráter “duro” do complexo contendo o fragmento $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{NO}^+$. Neste caso haveria uma menor densidade eletrônica do $\text{Ru}(\text{II})$, que poderia ser comparado a uma espécie tipo $\text{Ru}(\text{III})$ como no complexo $(\text{RuCl}_3(\text{terpy}))$.

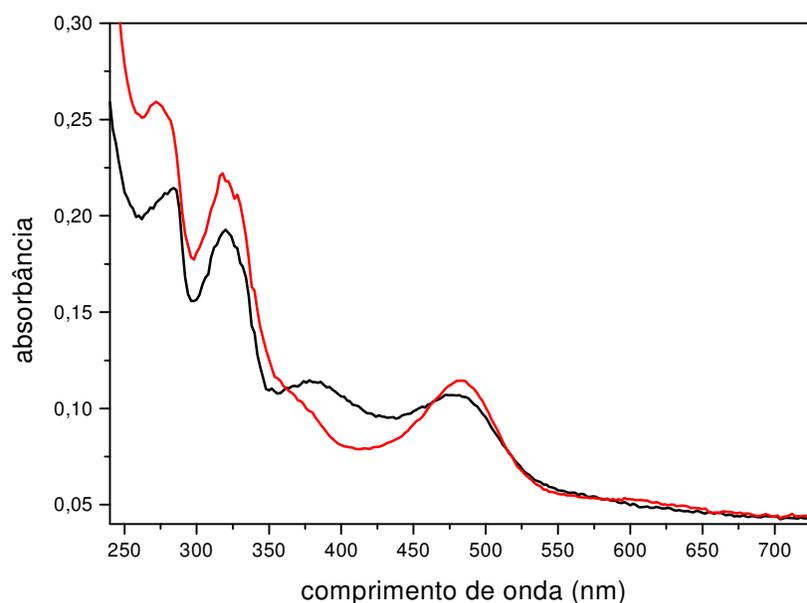


Figura 55. Espectros qualitativos na região do UV-visível para o complexo $(\text{RuCl}_3(\text{terpy}))$ (preto) em acetonitrila e $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ (vermelho) em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

O estudo com relação à labilização de íon cloreto foi abordado durante os experimentos fotoquímicos para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$. Assim, foi necessária a utilização de técnicas específicas, as quais envolveram cromatografia em coluna e absorção atômica. A técnica levou em consideração o fato de ocorrer a precipitação dos íons cloretos na forma do sal AgCl ($K_{ps} = 1,35 \times 10^{-10}$) (HARRIS, 1999).

Para tal dedução foi feito uma curva padrão com intervalos de concentração para íons prata de 1,0; 2,0; 4,0; 5,0 e 10,0 ppm conforme no item 4.20 (Figura 56). A concentração de prata obtida em $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ foi comparada àquela em "B" (item 4.20) para efeito de cálculo da concentração de íons cloreto após a fotólise da solução.

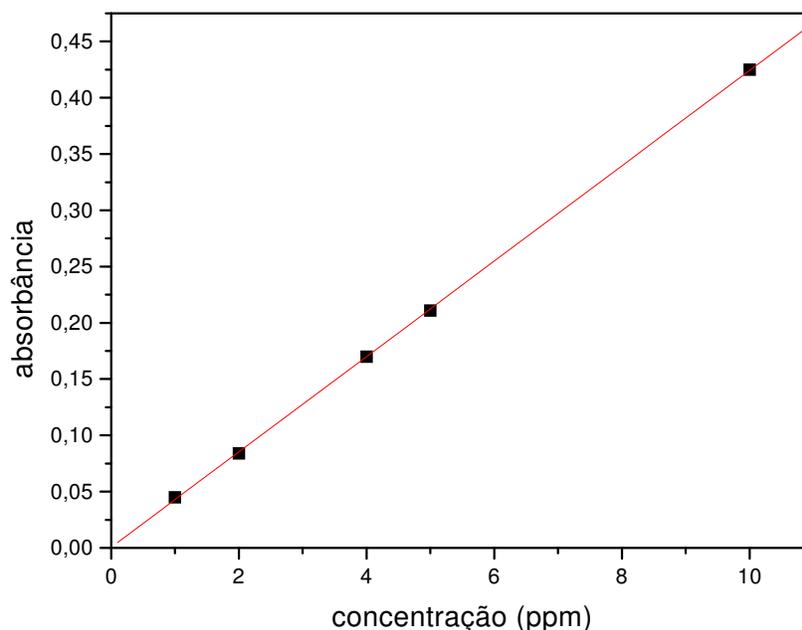


Figura 56. Curva padrão para quantificação de íons prata por absorção atômica. (Equação da reta: $y=A + Bx$, onde $A= 6,26 \times 10^{-4}$ e $B= 0,04236$ $R=0,99995$).

Desta forma, sugeriu-se que a labilidade do íon cloreto somente ocorreria se o processo de fotoexcitação tivesse ocorrido na banda de CL (d-d), haja visto que o orbital de caráter e_g^* teria como um dos componentes o orbital atômico atribuído ao ligante cloreto. Isto possibilitaria concluir que o orbital de caráter e_g^* poderia ser populado por irradiação direta em 355 nm ou ainda por processo de inter-conversão. Desta forma, poder-se-ia uma descrição simplificada do diagrama de orbitais moleculares poderia ser como representado na Figura 57.

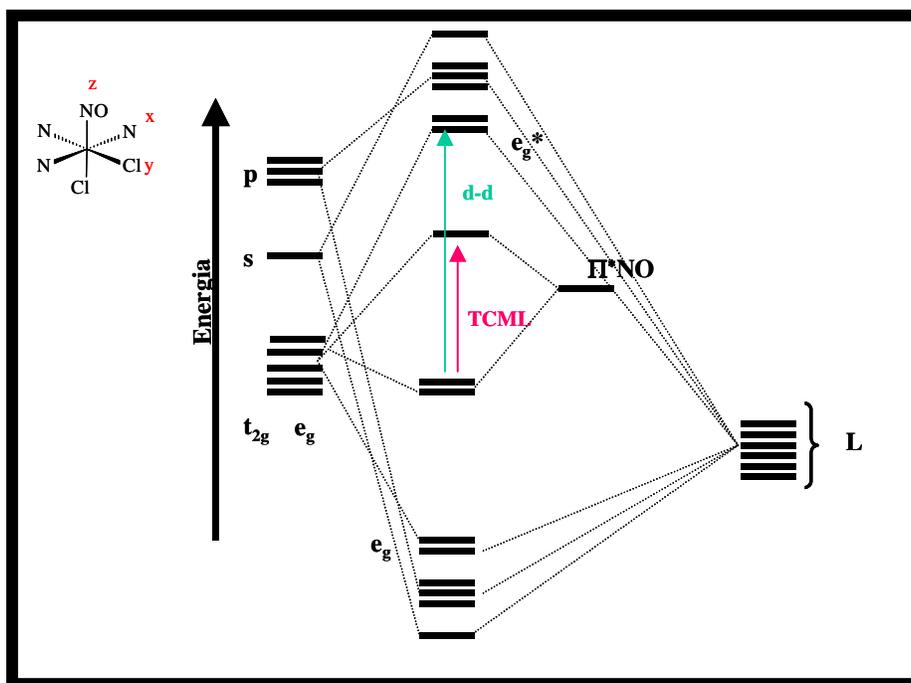
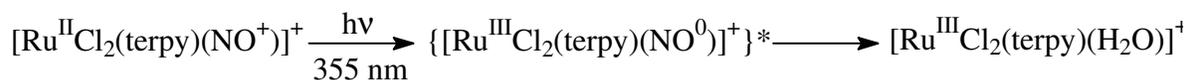


Figura 57. Diagrama de energia simplificado para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$

Os resultados obtidos mostraram que a solução do complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ fotolisada em 355 nm apresentou apenas labilidade do ligante NO (Esquema 17).



Esquema 17. Provável mecanismo fotoquímico para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ sob irradiação em 355 nm.

5.5.1.3. Complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$

A variação espectral na região do UV-visível e o perfil de corrente registrado pelo NOmeter para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ durante a fotólise em 355 nm em $\text{pH} = 2,03$ estão representados na Figuras 58 e 59.

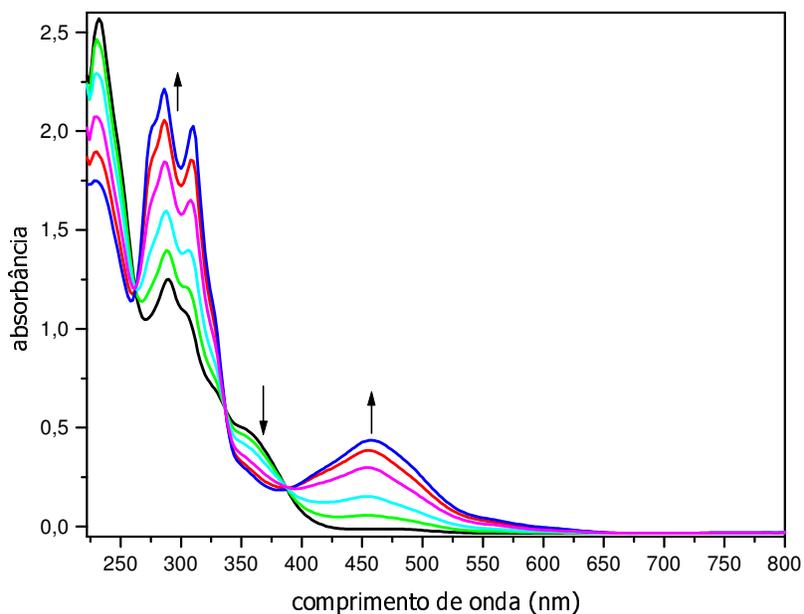


Figura 58. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(Ru(bpy)(terpy)(NO))^{3+}$, em solução tampão trifluoracético, pH = 2,03, após cada irradiação de energia de 15 mJ pulso^{-1} em 355 nm. Tempos de irradiação: 0 s, 1 s, 4 s, 9 s, 19 s, 24 s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

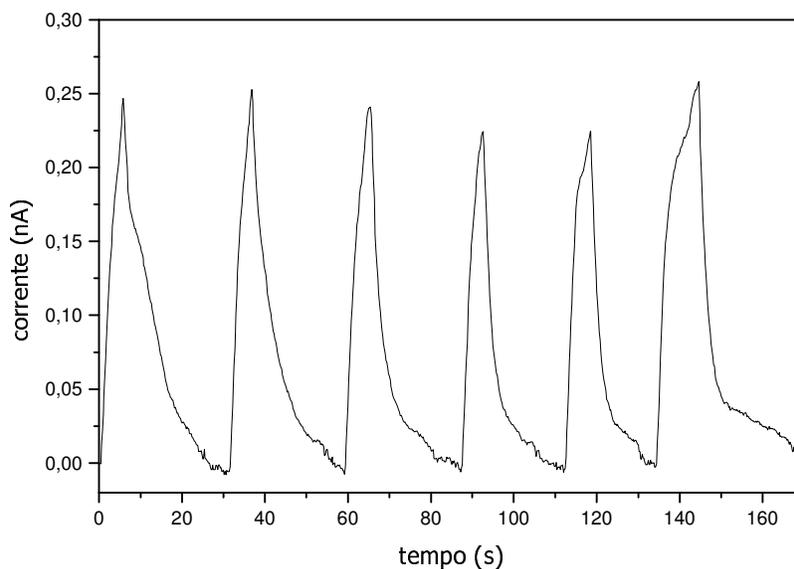


Figura 59: Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(Ru(bpy)(terpy)(NO))^{3+}$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão pH = 2,03 irradiado em 355 nm.

A Figura 64 mostra que a fotólise em 355 nm para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ resulta no aumento de intensidade das bandas na região do ultravioleta, 273 e 310 nm. A banda em 365 nm atribuída como sendo TCML $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{bpy}, \text{NO}^+)$, diminui sua intensidade com a irradiação em 355 nm em consequência da saída do ligante NO^0 da esfera de coordenação do metal. À medida que ocorre a labilização do NO há a coordenação de uma molécula de solvente (H_2O), o que condiz com o aumento da banda em 470 nm.

Conforme descrito anteriormente, ao irradiar na banda TCML $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{NO}^+)$ do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ocorreria fotoxidação e formação da espécie $\{(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^0)^{3+}\}^*$ no estado excitado e consequente substituição do NO por uma molécula de H_2O dando origem como fotoproduto a espécie $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$.

No entanto, o perfil espectral da espécie formada condiz com o espectro da espécie $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ (TAKEUCHI et al., 1984), que mostra uma banda TCML devido às transições entre os orbitais do metal e dos ligantes insaturados, que seriam diferentes dos obtidos para a espécie $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$, conforme Figura 60.

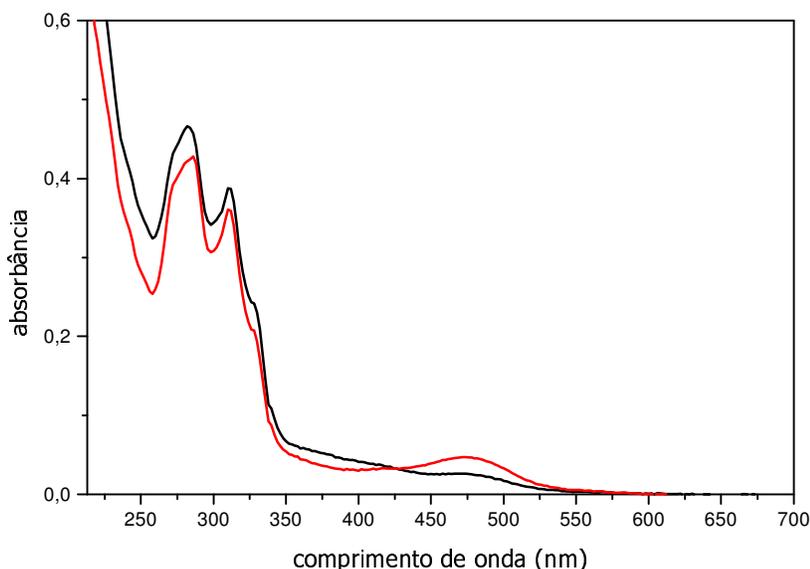


Figura 60. Espectros qualitativos na região do UV-visível da espécie $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ (vermelho) e de sua oxidação a potencial controlado + 0,80 V vs Ag/AgCl, originando a espécie $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$ (preto). $(\text{complexo})=4,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Acreditamos que ao irradiar o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em 355 nm, há a população de dois estados de transição: TCML $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{NO}^+)$ e d-d. A excitação da TCML promove a fotooxidação e conseqüente formação do foto-produto $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$ e na d-d tem-se a formação da espécie $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$.

Neste caso, para elucidar o mecanismo fotoquímico do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, utilizou-se, a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Foram feitos cromatogramas da solução contendo o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ antes e depois da irradiação em 355 nm e cromatogramas contendo as espécies aquo complexos, $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$ e $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$, sintetizadas *in situ* (Figura 61).

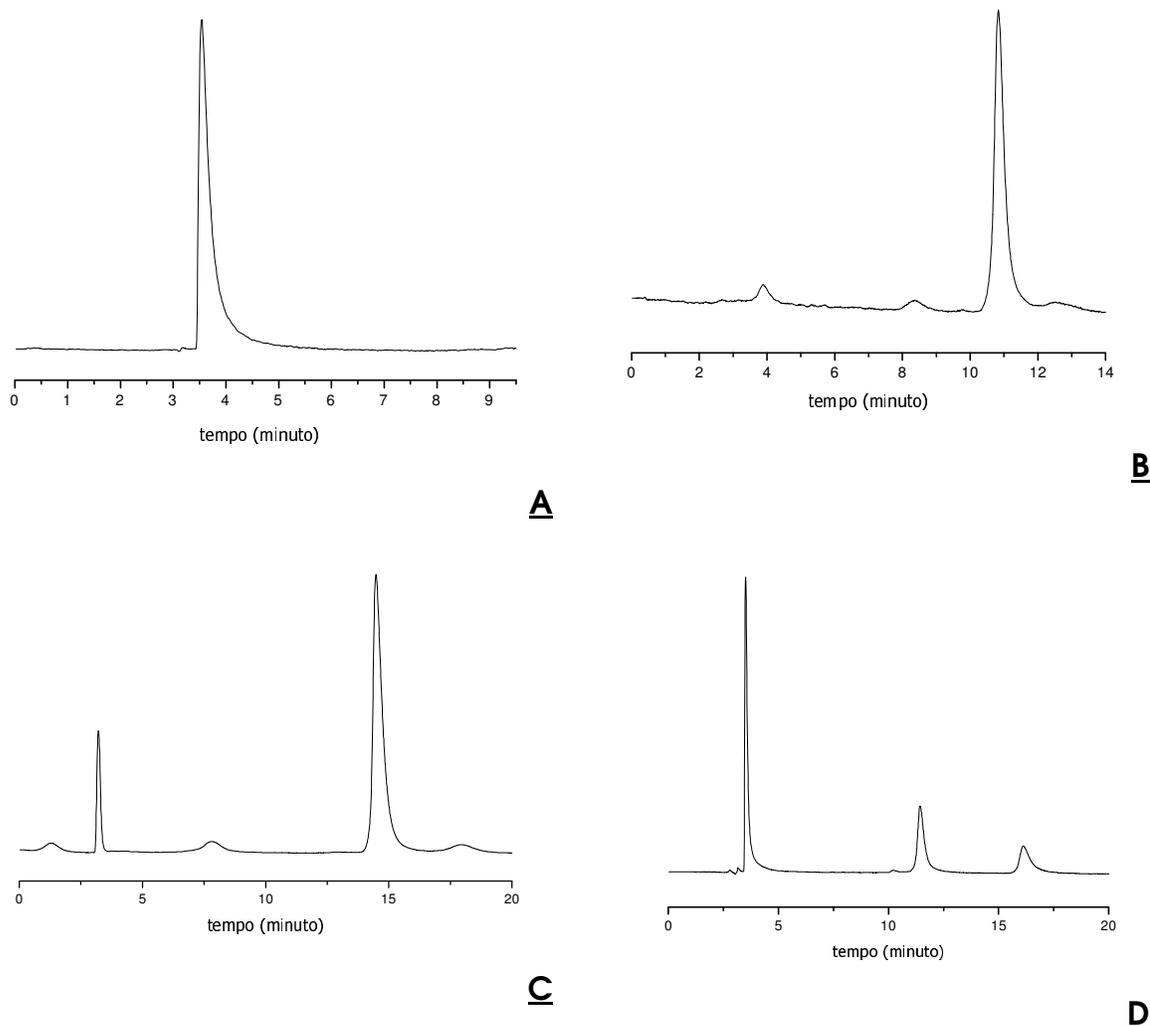


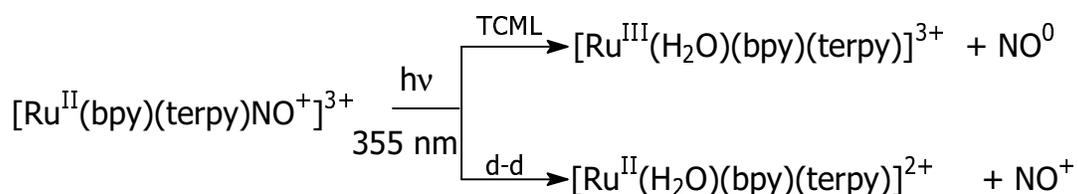
Figura 61. Cromatogramas obtidos: A) $(Ru^{II}(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ antes de irradiar em 355 nm, B) $(Ru^{II}(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$, C) $(Ru^{III}(H_2O)(bpy)(terpy))^{3+}$ e D) $(Ru^{II}(bpy)(terpy)(NO)^{3+}$ após de irradiar em 355 nm.

O cromatograma do complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ após irradiação em 355 nm (Figura 61 D), mostrou a existência de três espécies com tempos de retenção diferentes. Isto é consistente com a atribuição de que foram formadas três espécies diferentes contendo o íon rutênio. A julgar pelos cromatogramas representados na Figuras 61 A, B e C poder-se-ia esperar que estas espécies fossem caracterizadas como $(Ru^{II}(bpy)(terpy)NO)^{3+}$, $(Ru^{II}(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$ e $(Ru^{III}(H_2O)(bpy)(terpy))^{3+}$, respectivamente. Cabe ressaltar que o tempo de retenção observado na

Figura 61 C é ligeiramente diferente daquele observado na Figura 61 D. De certa forma isto pode ser explicado em função do efeito ocasionado pelo meio. A conclusão em afirmar se aquele pico em tempo de retenção ao redor de 15 min como devido a formação da espécie $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$ alicerçada nas medidas de NO feitas pelo NOmeter (Figura 59). Assim, podemos deduzir que quando há população dos estados TCML dar-se-ia origem as espécies $(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{3+}$ e NO^0 .

De fato dados sobre a fotoquímica de complexos análogos polipiridínicos (CASPAR & MEYER, 1983; SUEN et al., 1989; TYSON et al., 2001) mostram que a excitação eletrônica nesta região (355 nm) pode popular eletronicamente os estados d-d devido a desativação térmica do estado excitado TCML.

Com base nos resultados obtidos por HPLC, NOmeter e espectroscopia na região do UV-visível, o mecanismo fotoquímico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ quando irradiado em 355 nm pode ser descrito como aquele apresentado no Esquema 18.



Esquema 18. Mecanismo fotoquímico do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm (de LIMA et al., 2005b).

Em comparação aos resultados fotoquímicos obtidos para o complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$ infere-se que há inversão na energia dos orbitais eg^* e π^* . Provavelmente o efeito σ - e π -doador do ligante cloreto seja responsável pelo aumento da energia do orbital eg^* (Figura 57) no complexo $(\text{RuCl}_2(\text{terpy})\text{NO})^+$.

5.5.1.4. Complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ L = bdcac-COOH e bdqi-COOH

A variação espectral na região do UV-visível e o perfil de corrente registrado pelo NOmeter para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$, L = bdcac-COOH e bdqi-COOH durante a fotólise em 355 nm em pH = 4,50 estão representados na Figuras 62 a 65, respectivamente.

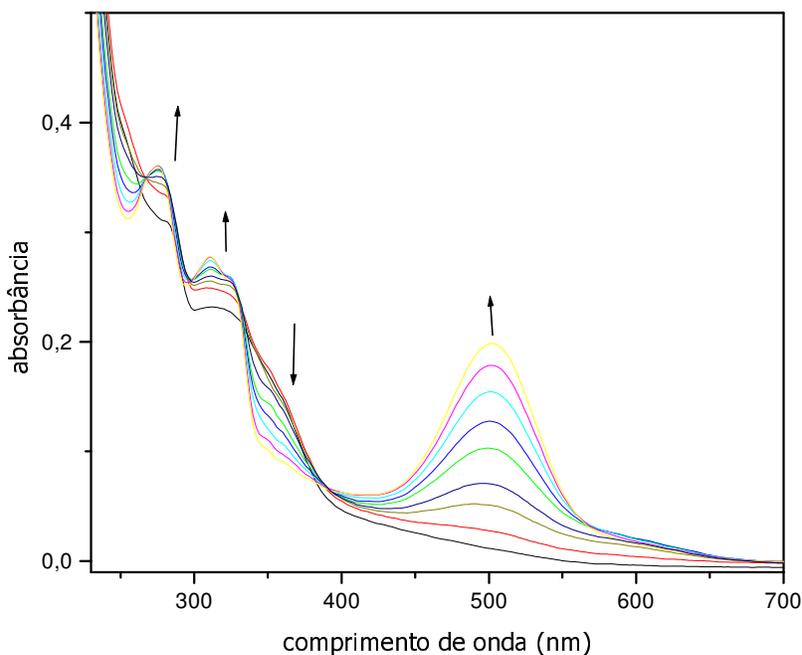


Figura 62. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcac-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, em solução tampão acetato pH = 4,50, após cada irradiação de energia de 15 mJ pulso^{-1} em 355 nm. Tempos de irradiação: 0s, 1s, 4s, 9s, 1 s e 24s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

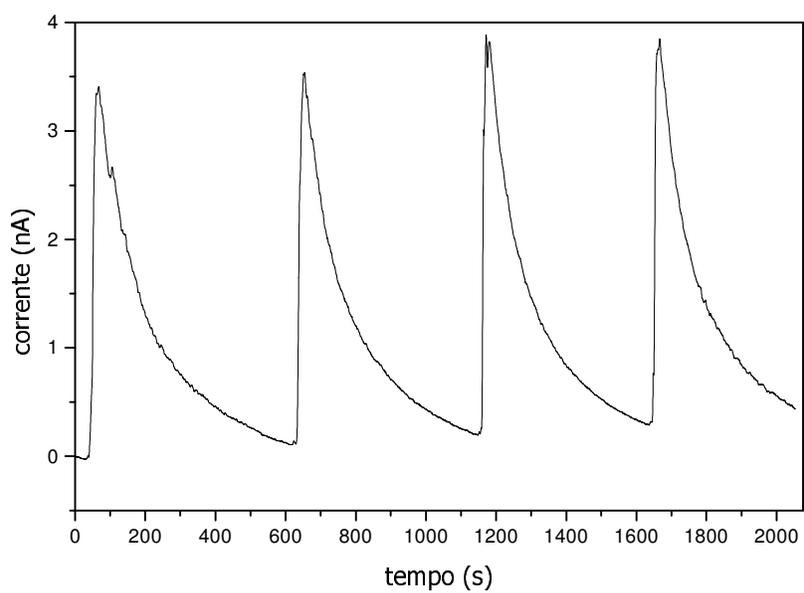


Figura 63. Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão acetato $\text{pH} = 4,50$ e irradiado em 355 nm.

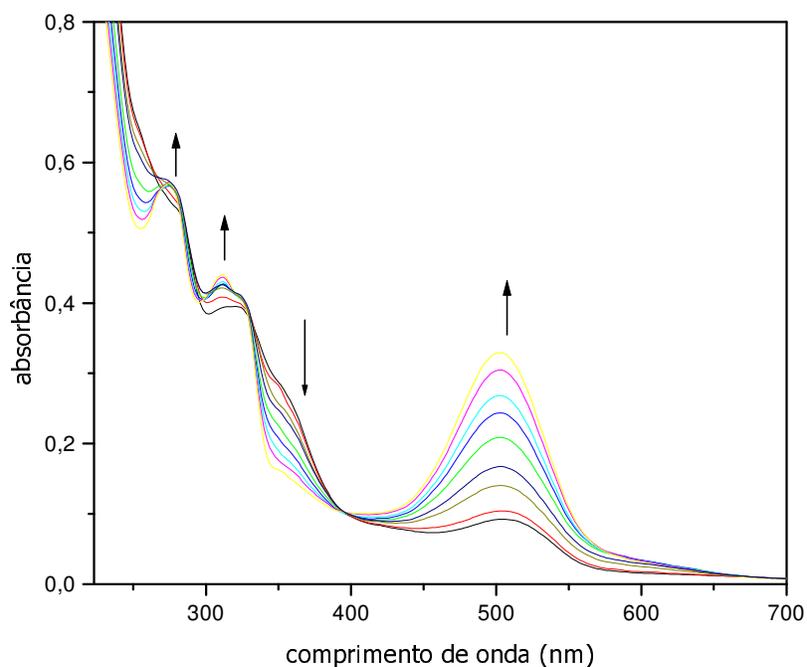


Figura 64. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, em solução tampão acetato pH = 4,50, após cada irradiação de energia de 15 mJ pulso^{-1} em 355 nm. Tempos de irradiação: 0s, 1s, 4s, 9s, 19s e 24s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

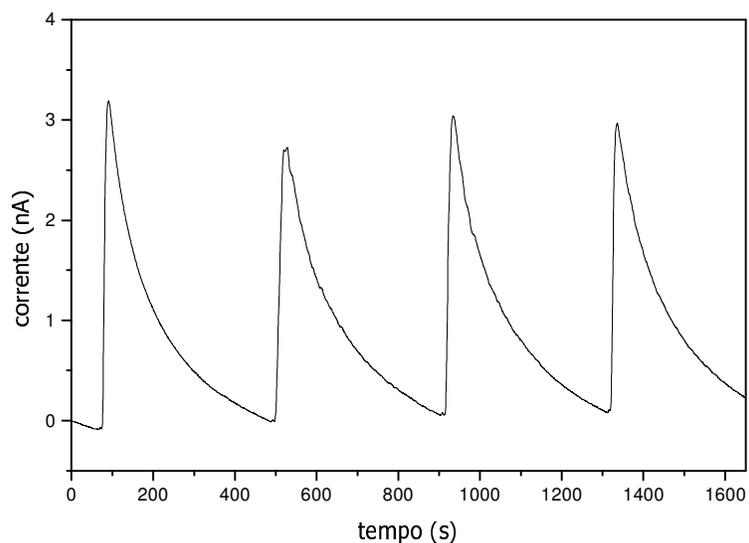


Figura 65. Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão acetato pH = 4,50 irradiado em 355 nm.

As Figuras 62 e 64 mostraram que a alteração espectral para os compostos $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, após fotólise em 355 nm, resultaram na diminuição do ombro em 360 nm caracterizado como uma banda de TCML $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{NO}^+)$. Para ambos compostos nitrosilos a diminuição da banda em 360 nm e o aumento da banda em 500 nm são devidas o processo de saída do ligante NO^0 e conseqüente substituição do NO por uma molécula de H_2O dando origem a espécie $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$. Tal atribuição leva em consideração a semelhança espectroscópica entre o espectro dos fotoprodutos e o da espécie $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$, previamente sintetizado (Figura 66).

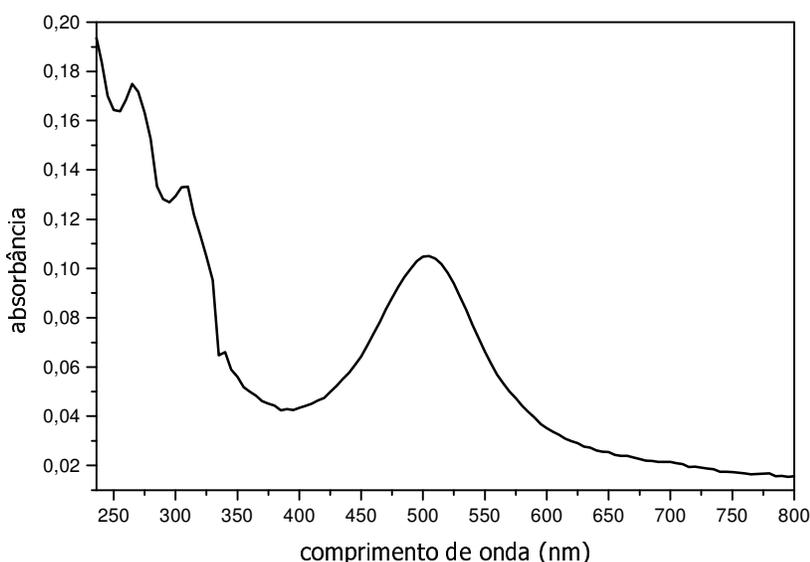
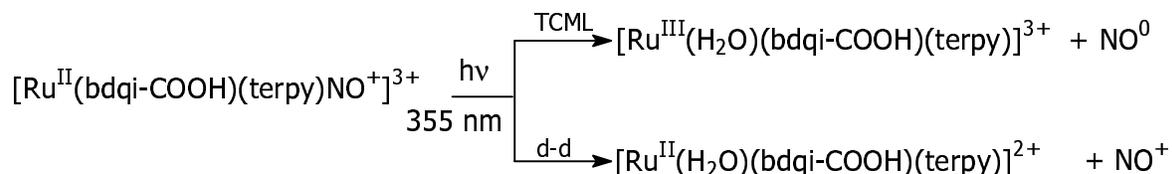


Figura 66. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$, em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Tendo em vista os resultados espectroscópicos e os cronoamperogramas, podemos descrever o mecanismo fotoquímico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm

(Esquema 19) de forma semelhante ao obtido para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺.



Esquema 19. Reatividade fotoquímica do complexo (Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)³⁺ sob irradiação em 355 nm.

A característica espectroscópica do fotoproduto da irradiação em 355 nm para o complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)³⁺ foi semelhante àquela para o complexo com ligante bdqi-COOH. Tal evidência torna necessária a investigação sobre a alteração no estado de oxidação do ligante benzoquinonadiimina (Ru^{II}catecol/Ru^{III}quinona) após fotólise em 355 nm.

As espécies redox para o ligante benzoquinonadiimina podem sofrer influência do oxigênio do meio reacional. Neste caso, avaliamos o comportamento espectroscópico do complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)³⁺ sob irradiação em 355 nm sob atmosfera de argônio (Figura 67).

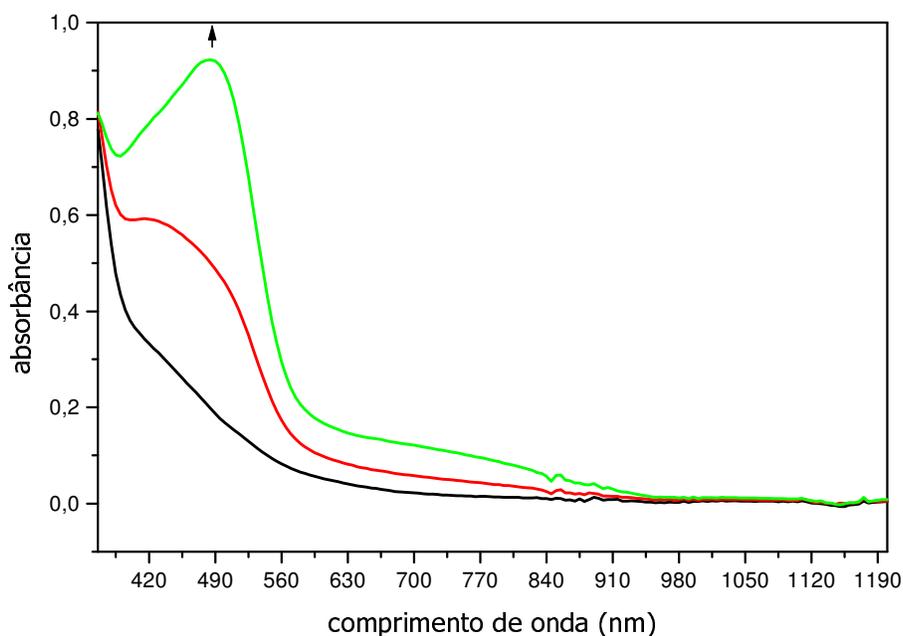


Figura 67. Espectros de absorção na região do visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (preto), em solução tampão acetato pH = 4,50, após irradiação em 355 nm em atmosfera de argônio (vermelho e verde).

Os espectros de absorção na região do visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ fotolisado em 355 nm em atmosfera de argônio, mostrou a formação de uma banda em 485 nm. Esta banda foi caracterizada como sendo a espécie $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$. Tal atribuição foi feita baseada na semelhança espectroscópica com o complexo $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_2(\text{bdcat-COOH}))^{2+}$, que mostra uma banda de TCML da transição $d_{\pi}\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \pi^*(\text{bpy})$ em 478 nm (MASUI, 1993). Assim, supõe-se que a banda em 485 nm observada nos estudos de fotólise para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ deve-se provavelmente à transição $d_{\pi}\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \pi^*(\text{terpy})$.

No entanto, a espécie aquo-complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ não se mostrou estável em presença de oxigênio (Figura 68).

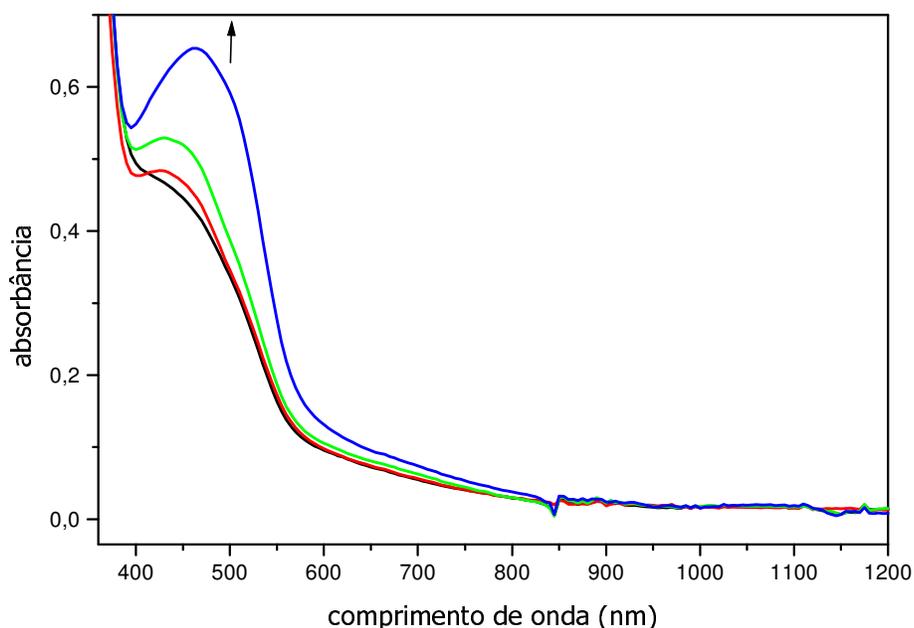
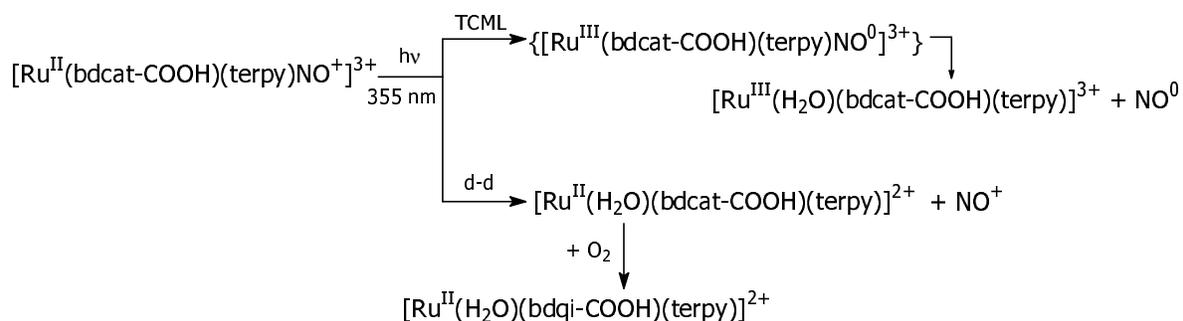


Figura 68. Espectros de absorção na região do visível do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ (preto), em solução tampão acetato pH = 4,50, em presença de oxigênio.

Claramente a variação espectral observada na fotólise do $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ na ausência e na presença de oxigênio é consistente ao processo oxidimétrico acoplado ao processo de labilização fotoquímica. Provavelmente, a conversão de $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-bdcat-COOH}$ em $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-bdqi-COOH}$ ocorra devido a um processo de oxidação do ligante catecol em quinona oriunda da presença de oxigênio no meio.

O mecanismo fotoquímico da fotólise em 355 nm do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em presença de oxigênio pode ser representado conforme o Esquema 20.



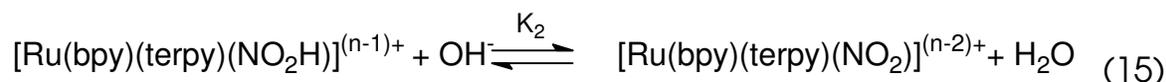
Esquema 20. Mecanismo fotoquímico do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm.

Assim sendo, a semelhança espectroscópica entre ambas as espécies nitrosilos se justifica através de processo fotoquímico seguido de processo químico.

5.5.1.5. Complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$

Diante da limitada estabilidade dos complexos nitrosilos de rutênio em função do pH do meio e levando em consideração o interesse de aplicação dessas espécies como doadoras de NO em ambiente fisiológico, cujo pH é próximo de 7,40, estudou-se a fotoreatividade do nitro complexo de rutênio.

O complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ foi gerado em solução aquosa com pH acima de 3,0. A formação do nitrito coordenado pode ocorrer em duas etapas distintas (Equações 14 e 15), conforme constatou Togano et al., (1992) para as espécies *trans*- $(\text{RuL}(\text{bpy})_2(\text{NO}))^{2+}$, em que L é Cl⁻ e OH⁻.



O perfil espectrofotométrico na região do UV-visível para o complexo nitrosilo de rutênio está mostrado na Figura 69 em pH = 7,40.

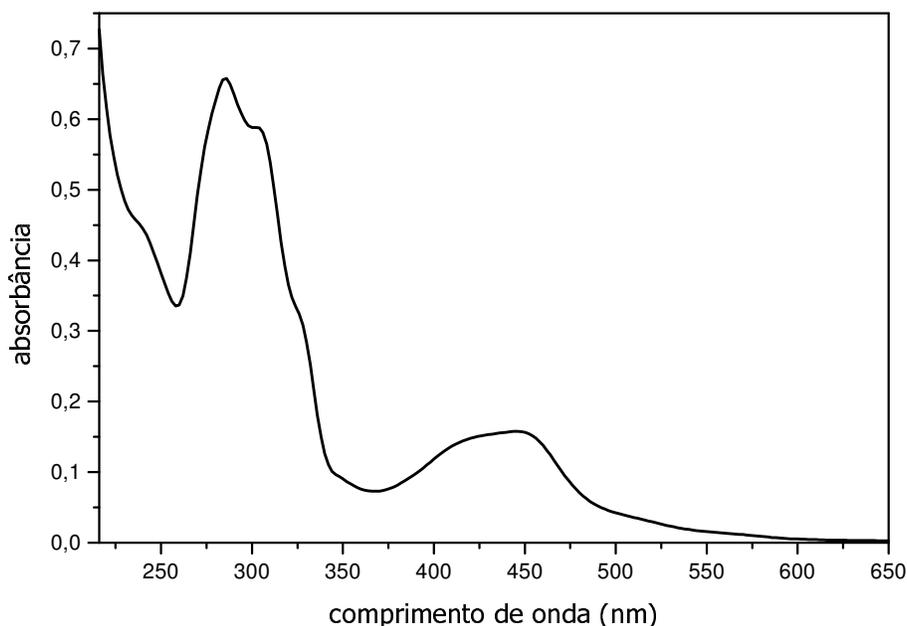


Figura 69. Espectros de absorção na região do visível do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$, em solução tampão fosfato, pH = 7,40. $(\text{complexo}) = 3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

As bandas na região do ultravioleta foram atribuídas à transição interna $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes insaturados — 240 nm ($\log \epsilon = 4,16$); 274 nm ($\log \epsilon = 4,26$); 282 nm ($\log \epsilon = 4,34$) e 308 nm ($\log \epsilon = 4,27$); 330 nm ($\log \epsilon = 3,97$) — e as bandas na região do visível, 420nm ($\log \epsilon = 3,69$) e 448 nm ($\log \epsilon = 3,72$), são atribuídas à TCML devido às transições $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{NO}_2^-, \text{bpy})$. O ombro na região de 330 nm tem uma contribuição da transição interna do NO_2^- . Conforme descrito por De Leo e Ford (2000), complexos metálicos que possuem o ligante nitrito podem apresentar uma banda na região de 200 nm a 400 nm devido à transição interna $n \rightarrow \pi^*$ do NO_2^- .

A variação espectral na região do UV-visível e os cronoamperogramas registrados pelo NOmeter, após cada pulso de flash-fotólise em 355 nm para as espécies $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$, podem ser visualizados nas Figuras de 70 e 71.

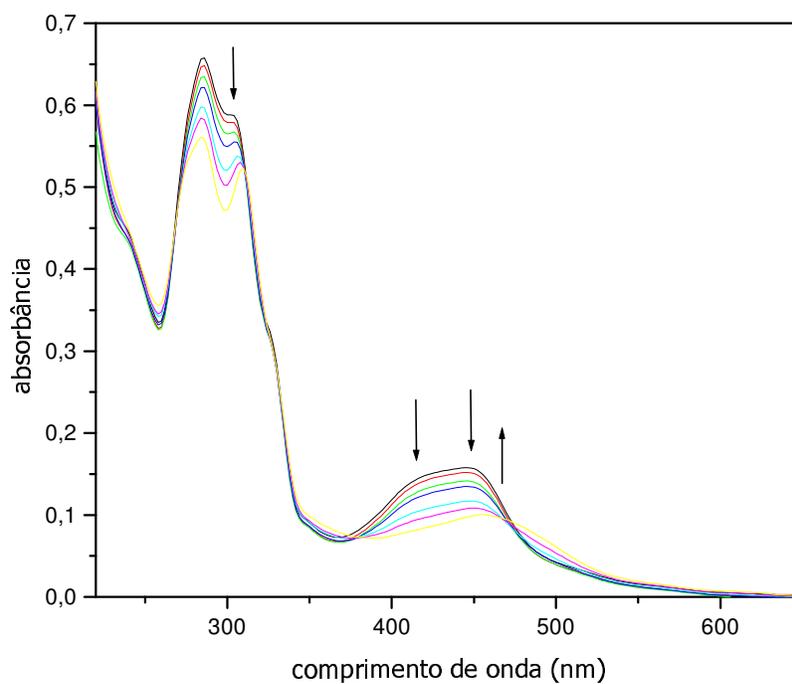


Figura 70. Variação espectral na região do UV-visível do complexo (Ru(NO₂)(bpy)(terpy))⁺, em solução tampão fosfato, pH = 7,40, após cada irradiação de energia de 15 mJ pulso⁻¹ em 355 nm. Tempos de irradiação: 0 s, 1 s, 4 s, 9 s, 19 s, 24 s. (complexo) = 5,87 × 10⁻⁵ mol L⁻¹.

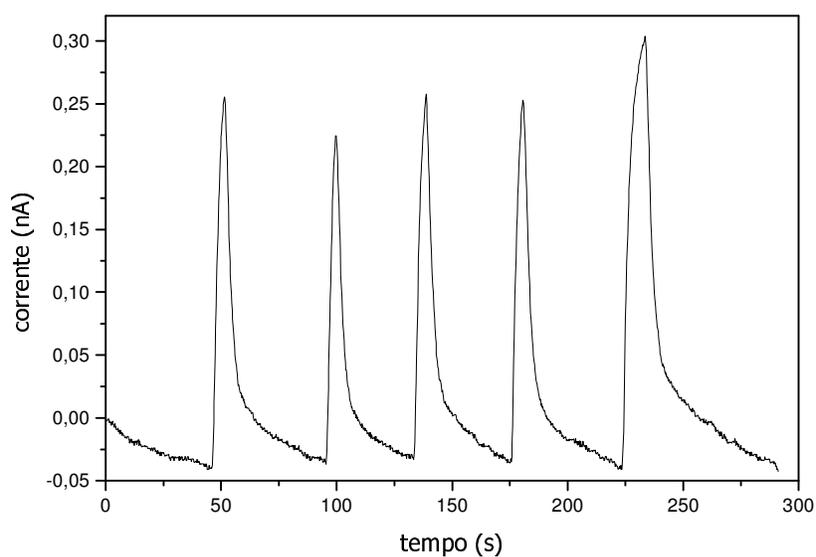
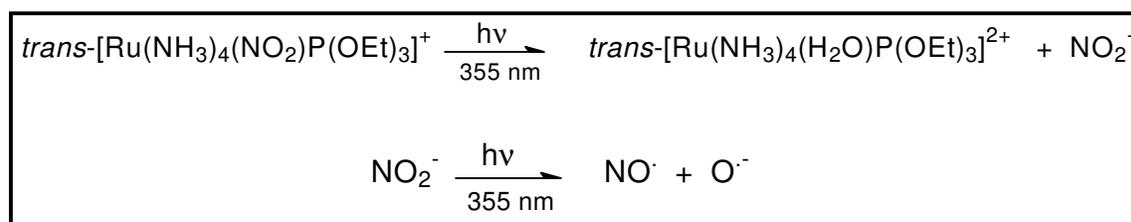


Figura 71. cronoamperograma do NO liberado para o complexo (Ru(NO₂)(bpy)(terpy))⁺ (1,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹) em tampão fosfato pH = 7,40 irradiado em 355 nm.

Observa-se que durante a fotólise, ocorre uma diminuição das bandas em 415 e 448 nm e o aparecimento de uma na região de 460 nm. Esta banda é característica do aquo-complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$.

Baseando-se nos dados espectroscópicos, identificou-se o complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ como produto da fotólise de $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$. A princípio, esse mecanismo fotoquímico poderia ser semelhante àquele descrito por Carlos et al., (2004b) (Esquema 21) e similar ao proposto por Lorkovik (1998) para uma classe de complexos que contém porfirina como co-ligante. Porém, alguns ensaios farmacológicos (item 4.21) nos conduziram a um mecanismo diferente daqueles até então propostos.



Esquema 21. Mecanismo fotoquímico para $\text{trans-}(\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO}_2)\text{P}(\text{OEt})_3)(\text{PF}_6)$ com $\lambda_{\text{irr}} = 355$ nm (CARLOS et al., 2004b).

Para elucidar o mecanismo fotoquímico do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ utilizou-se da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Foram feitos cromatogramas do nitro complexo antes e depois de irradiar em 355 nm e solução contendo aquo complexo (Figura 72). As especificações do aparelho e as condições utilizadas estão descritas no item 4.13.

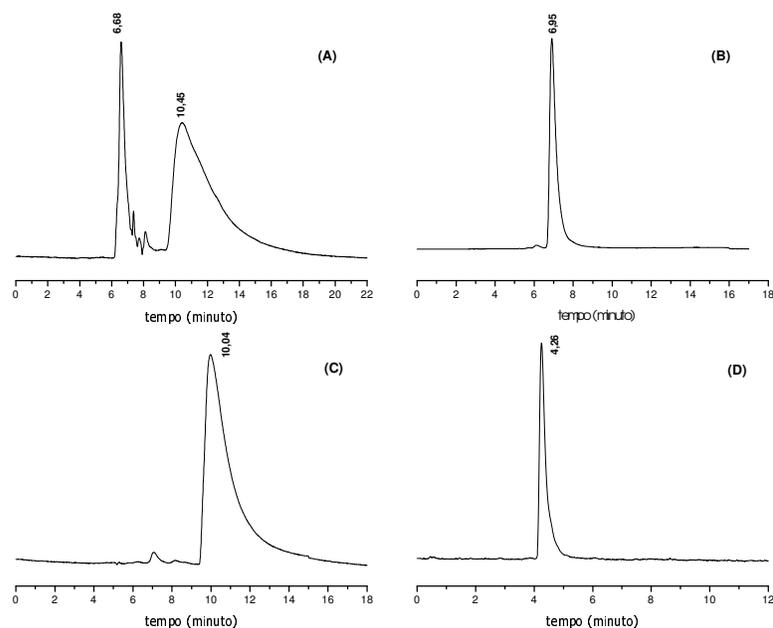


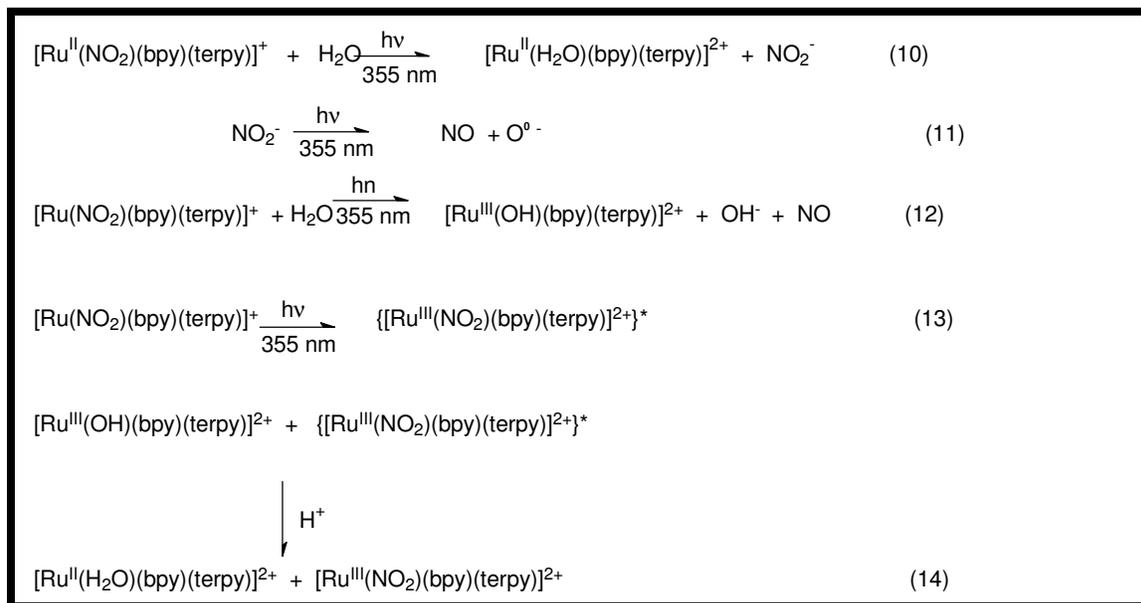
Figura 72. Cromatogramas obtidos dos íons: A) $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ depois de irradiar em 355 nm, B) $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ antes de irradiar em 355 nm, C) $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ e D) sal NaNO_2 .

A Figura 72 mostra que os picos obtidos no cromatograma da solução irradiada possuem os mesmos tempos de retenção da solução antes de irradiar e da solução contendo o aquo complexo. Esse resultado confirma a idéia de formação da espécie $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ como produto da irradiação do $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$.

Neste trabalho não foi observada formação significativa do íon nitrito após a fotólise, pois ao eluir pela coluna uma solução contendo NaNO_2 , é observado um pico com t_R de 4,26 min (Figura 72 D). As soluções irradiadas contendo os nitro complexos de rutênio não apresentaram pico em 4,26 min, que seria referente à presença de nitrito como produto da irradiação.

Com base nos resultados obtidos por HPLC, NÔmeter, espectroscopia na região do UV-visível e nos estudos fotoquímicos de soluções contendo NaNO_2 , acredita-se que ocorrem preferencialmente as

reações (10), (11) e (12) representadas no Esquema 22 (de LIMA et al., 2005a). A formação da espécie *cis*-(Ru^{II}(H₂O)(bpy)(terpy))⁺, evidenciada pelo espectro final da fotólise e por HPLC, ocorre a partir da redução do complexo (Ru^{III}(OH)(bpy)(terpy))²⁺. Este é originado pela quebra da ligação nitrogênio e oxigênio do nitro complexo no estado excitado {(Ru^{III}(NO₂)(bpy)(terpy)-)}⁺*, formado pela irradiação em 355 nm.



Esquema 22. Reações fotoquímicas geradas pela irradiação em 355 nm da espécie (Ru(NO₂)(bpy)(terpy))⁺ (de LIMA et al., 2005a).

5.5.2. Rendimento quântico da liberação de NO (φ_{NO}) em 355 nm dos complexos de rutênio

O cálculo do rendimento quântico de liberação de NO, quando os complexos de rutênio foram submetidos à irradiação em 355 nm, foi realizado conforme descrito no item 4.13. Os resultados estão resumidos na Tabela 7.

Tabela 7. Valores de φ_{NO} em 355 nm para os complexos de rutênio.

Complexo	$\phi(\text{NO})$ em 355 nm (mol einstein ⁻¹)
(RuCl ₂ (terpy)NO) ⁺	0,85 ± 0,03 ^a
(Ru(bpy)(terpy)NO) ³⁺	0,14 ± 0,02 ^a
(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO) ³⁺	0,46 ± 0,02 ^b
(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO) ³⁺	0,47 ± 0,03 ^b
(Ru(NO ₂)(bpy)(terpy)) ⁺	0,04 ± 0,01 ^c

a) pH = 2,03; b) pH = 4,50 ; c) pH = 7,40

Analisando os valores da Tabela 7, para os compostos nitrosilos (Ru(terpy)(L)NO)³⁺, percebe-se uma diminuição de ϕ_{NO} com o aumento da capacidade π -receptora do ligante L. Ou seja, $\phi_{\text{NO}}(\text{Cl}^-) > \phi_{\text{NO}}(\text{bdcat-COOH}) > \phi_{\text{NO}}(\text{bdqj-COOH}) > \phi_{\text{NO}}(\text{bpy})$.

Para o nitro complexo de rutênio, (Ru(NO₂)(bpy)(terpy))⁺, os valores de ϕ_{NO} são menores que para os nitrosilos complexos, pois para estas espécies a irradiação em 355 nm é bem próxima da banda de TCML $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{NO})$, que ocorre na região de 360 nm. Já no complexo nitro o processo de labilização do NO segue mecanismo diferente.

5.5.3. Estudo Fotoquímico para o complexo (Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)³⁺ sob irradiação em 532 nm.

Considerando que o complexo (Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)³⁺ possui uma banda na região do visível em 532 nm, propusemos o estudo fotoquímico de liberação de NO desse complexo sob irradiação em 532 nm.

A variação espectral na região do UV-visível e o perfil de corrente registrado pelo NOmeter para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ durante a fotólise em 532 nm estão representados na Figuras 73 e 74.

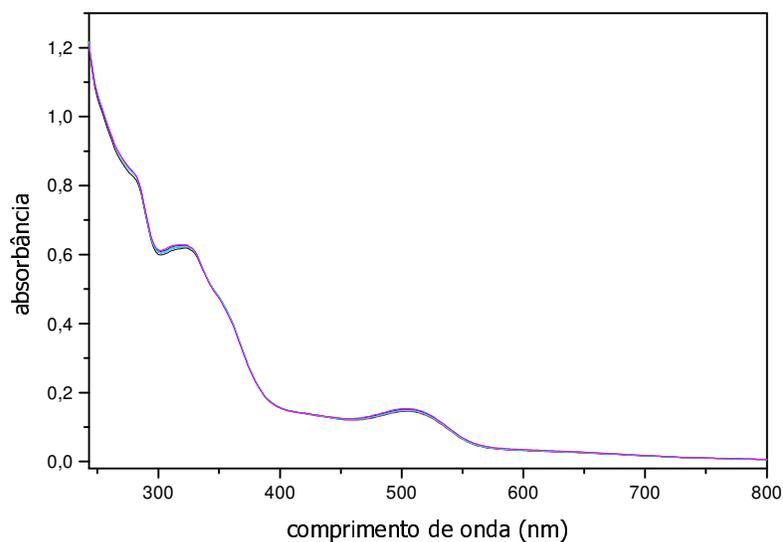


Figura 73. Variação espectral na região do UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, em solução tampão acetato, pH = 4,50, após cada irradiação de energia de 10 mJ pulso^{-1} em 532 nm. Tempos de irradiação: 0s, 1s, 4s, 9s, 19s e 24s. (complexo) = $5,87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

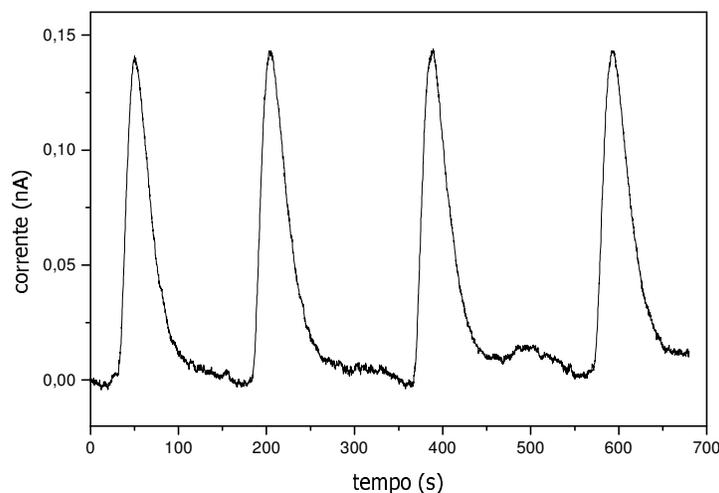
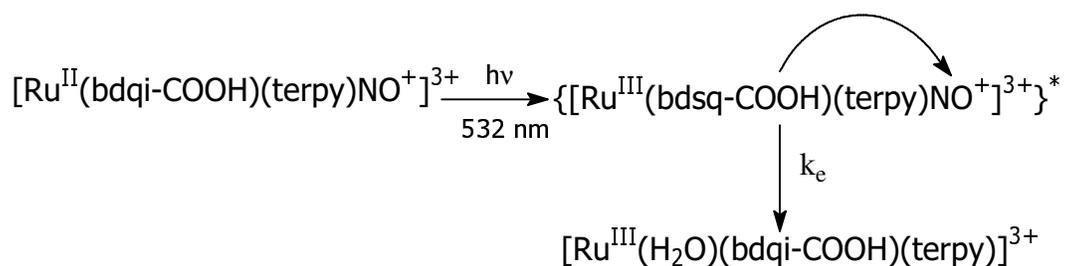


Figura 74. Cronoamperograma do NO liberado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução tampão acetato pH = 4,50 irradiado em 532 nm.

Durante a fotólise em 532 nm para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (Figura 73) não houve grande variação espectral, como observado para a irradiação em 355 nm. O valor de ϕ_{NO} sob fotólise em 532 nm foi igual a $0,0065 \pm 0,0003 \text{ mol einstein}^{-1}$, inferior cerca de 100 vezes o valor de ϕ_{NO} obtido quando o complexo foi irradiado em 355 nm.

Tais evidências podem ser justificadas com base no mecanismo fotoquímico (Esquema 23). Quando o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ é irradiado em 532 nm, ocorre excitação na banda TCML $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{bdqj-COOH})$ e formação da espécie $\{(\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bdsq-COOH})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{4+}\}^*$ (EBADI & LEVER, 1999) no estado excitado. Acreditamos que o ligante benzoquinona diimina coordenado ao metal rutênio, quando fotoexcitado pode haver a fotorredução do ligante no estado de oxidação quinona para semiquinona. A espécie semiquinona é um radical que no caso, pode transferir elétrons para o ligante nitrosil e assim produzir óxido nítrico.

O provável mecanismo da fotólise do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em 532 nm pode ser descrito no esquema 23.



Esquema 23. Provável mecanismo fotoquímico para o complexo (Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)³⁺ sob irradiação em 532 nm.

Haja visto que o rendimento quântico deve ser proporcional a constante de transferência de elétrons (k_e). O baixo valor de ϕ_{NO} encontrado para irradiação em 532 nm do complexo (Ru(bdqi-COOH)(terpy)NO)³⁺ deve ser reflexo da baixa eficiência de k_e .

5.6. Fotossensibilização

Visando a aplicação dos complexos nitrosilos de rutênio em terapia fotodinâmica e baseado no estudo de transferência eletrônica fotoinduzida intramolecular para o complexo binuclear (Ru(NH₃)₅(pz)Ru(bpy)₂NO)⁵⁺ (SAUAIA et al., 2003; SAUAIA et al., 2005), sugerimos o estudo de transferência eletrônica entre dois complexo de rutênio a partir da mistura física entre eles.

Os processos de transferência eletrônica fotoinduzida podem ser divididos em dois tipos (Figura 75): segundo um mecanismo de *esfera externa*, sem quebra ou formação intermediária de ligação química; e aquelas que se processam de acordo com um mecanismo de *esfera interna*, onde um ligante do tipo ponte conecta os grupos doadores e receptores em um complexo binuclear intermediário durante a transferência eletrônica (ROCHA & TOMA, 2002).

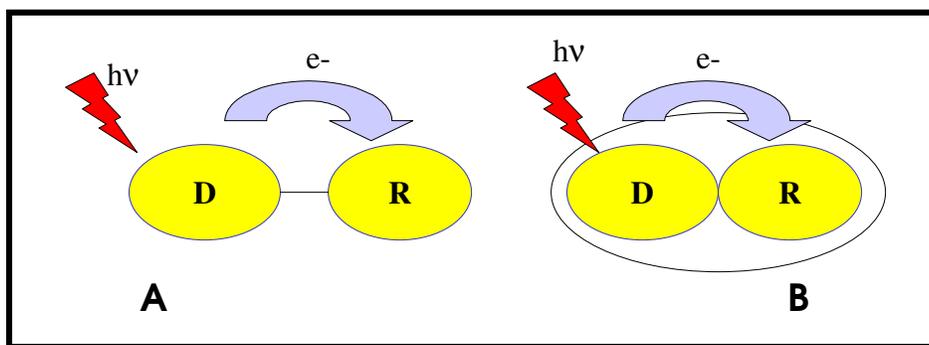


Figura 75. Representações das unidades doadoras e receptoras para transferência eletrônica de esfera interna (A) e externa (B).

No caso de transferência eletrônica intermolecular (esfera externa) a velocidade de transferência de elétrons entre os membros que compõem o sistema é sensível ao tipo de solvente e à adição de eletrólito do meio. Trata-se de um fenômeno difusional.

A característica espectroscópica para o composto fotossensibilizador é a alta absorvidade molar no comprimento de onda da irradiação. Isto se deve à maior probabilidade de se obter moléculas no estado excitado susceptíveis ao processo de transferência de elétrons (BARTHOLO & DAVINSON, 1971; GUPTA & DAHMIWAL, 1996; CRIADO et al., 2003; SHEN et al., 2003, HYIID et al., 2003). Este processo fotoquímico é semelhante ao processo natural da fotossíntese. Na fotossíntese, o fotossensibilizador (clorofila) converte luz em energia devido ao processo de separação de cargas: o sensibilizador é eletronicamente excitado formando um sistema de cargas opostas (D^+-R^-) (ZHANG et al., 2002). O complexo selecionado para este presente estudo é a espécie $(Ru(NH_3)_5(\text{pirazina}))^{2+}$ (Figura 76).

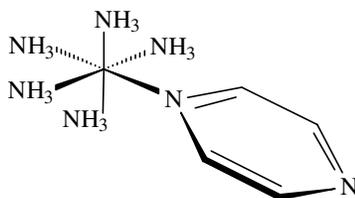


Figura 76. Estrutura do complexo fotoeletrossensibilizador $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pirazina}))^{2+}$.

Estudos prévios (MALOUF & FORD, 1977; BENTO & TFOUNI, 1988; MARTINEZ et al., 1997), mostraram a fotólise dos complexos de rutênio com ligantes piridínicos em $\lambda_{\text{MÁX}}$ na região de 500 a 600 nm. As bandas nesta região são formalmente caracterizadas como TCML Ru(II)-ligante piridínico e quando fotoexcitados produzem espécies do tipo $((\text{NH}_3)_5\text{Ru}^{\text{III}}-\text{X})^{2+}$, onde o íon Ru(III) está coordenado ao íon X. Estes complexos, como por exemplo $((\text{NH}_3)_5\text{Ru}^{\text{II}}-\text{X})^{2+}$, não são reativos em relação ao processo de fotossubstituição quando fotolisados na banda TCML (MALOUF & FORD, 1977).

O espectro do complexo $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pirazina-H}))^{3+}$ (Figura 77) mostram um alto valor de absorvitividade molar na banda TCML em 530 nm ($\log \epsilon = 4,08$) em meio ácido (BENTO & TFOUNI, 1988).

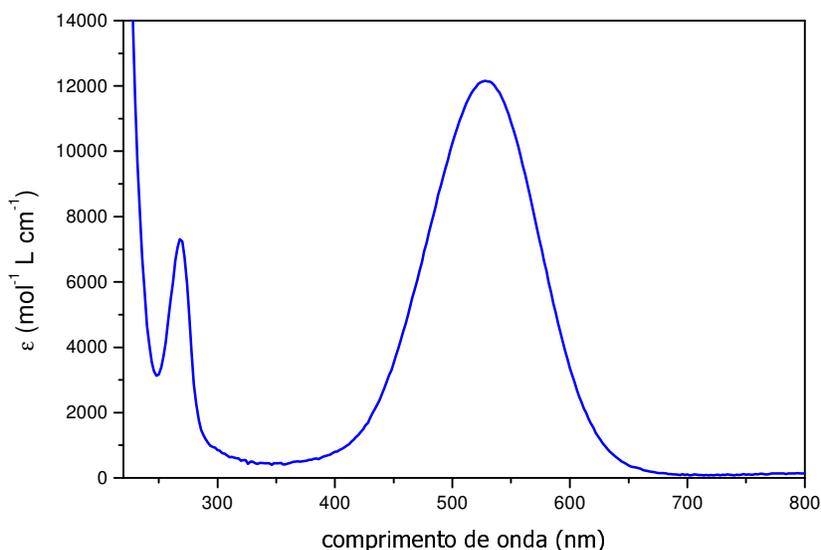


Figura 77. Espectro na região do UV-visível para o complexo $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pzH}))^{3+}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Ao irradiarmos o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{3+}$ sozinho em 532 nm e analisá-lo por eletrodo seletivo NO meter, não observou saída de óxido nítrico (considerando a sensibilidade do aparelho).

O fotossensibilizador bem como o complexo foram irradiados isoladamente e não mostraram alterações fotoquímicas sob irradiação em 532 nm . Passou-se a analisar uma mistura de soluções em proporção 1:2 dos complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$.

No primeiro teste, propusemos a mistura dos dois complexos no escuro e mensuramos a saída de NO . Observou-se a saída cerca de $5,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ de óxido nítrico.

O segundo procedimento foi misturar os dois complexos e irradiar em 532 nm (Figura 78). A irradiação de luz potencializou a saída de NO em cerca de $3,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

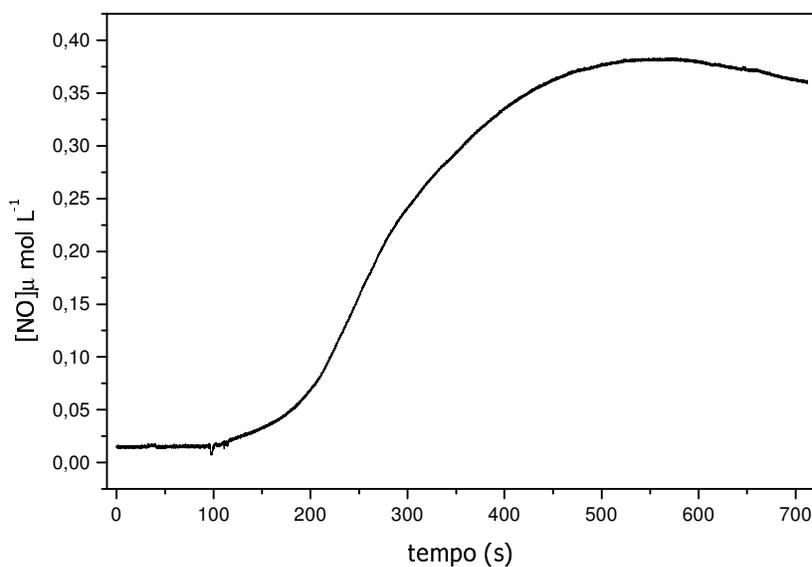


Figura 78. Cronoamperograma da mistura 1:2 dos complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ sob irradiação em 532 nm.

Pode-se considerar baixa a quantidade de óxido nítrico liberado no primeiro teste (no escuro) em relação ao segundo (com luz). No entanto, a explicação para a reação no escuro pode ser discutida com base em uma provável reação redox entre os dois complexos.

Neste caso, foi necessário um estudo detalhado com relação aos potenciais eletroquímicos das espécies envolvidas nos sistemas.

Inicialmente se fez o estudo de voltametria de pulso diferencial para a espécie fotossensibilizadora $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 (Figura 79).

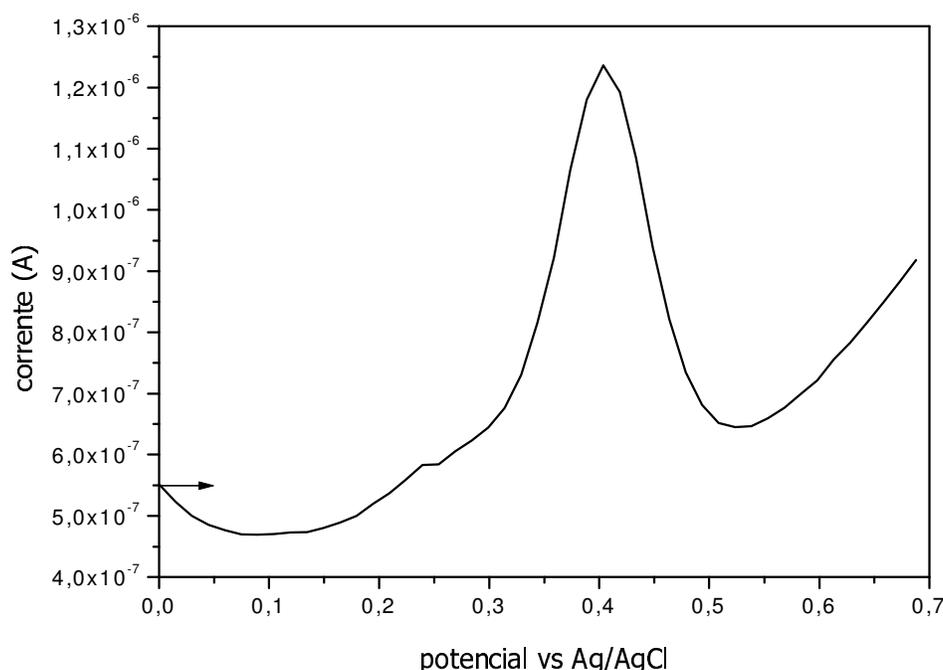


Figura 79. Voltamograma de pulso diferencial para o complexo $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ em solução tampão pH=2,03. Eletrólito de suporte KCl 0,1 mol L⁻¹.

A Figura 79 mostra um voltamograma de pulso diferencial do complexo $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$, entre 0,00 V a + 0,70 V vs Ag/AgCl. Iniciando-se a varredura no sentido anódico, vê-se o processo de oxidação centrado no metal ($\text{Ru}^{\text{II}}\text{-pz}/\text{Ru}^{\text{III}}\text{-pz}$) em + 0,40 V vs Ag/AgCl.

Quando sobreposamos os voltamogramas de pulso diferencial para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (onde "A"= NO^0/NO^+) e para a espécie fotoeletrossensibilizadora $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ (onde "B"= $\text{Ru}^{\text{III}}\text{-pz}/\text{Ru}^{\text{II}}\text{-pz}$) (Figura 80), observamos um potencial de interpolação em + 0,34 V vs Ag/AgCl. Este experimento justifica a capacidade da espécie $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ em promover a redução do óxido nítrico pelo complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$.

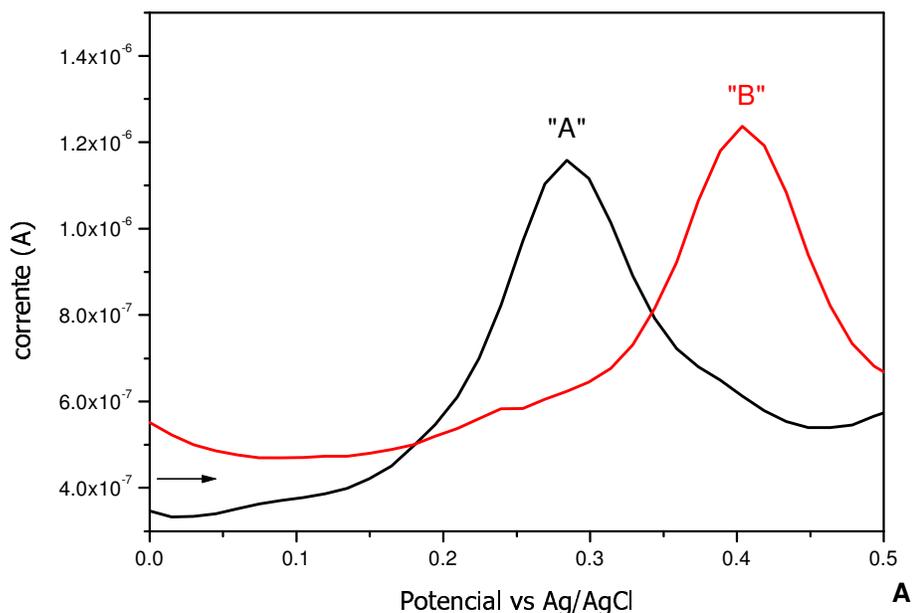


Figura 80. Voltamograma de pulso diferencial para os complexos $(\text{Ru}^{\text{I}}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ (vermelho) e $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (preto) em solução tampão pH = 2,03. Eletrólito de suporte KCl 0,1 mol L⁻¹.

Mesmo pela comprovada atividade redox entre a mistura dos dois complexos, a luz permitiu potencializar a saída de NO. Para tanto, tornou-se vantajoso o estudo de transferência eletrônica fotoinduzida intermolecular para tal sistema.

Foram feitos estudos do comportamento espectroscópico e medida cronoamperométrica de NO da mistura complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ sob irradiação em 532 nm (Figuras 81 e 82).

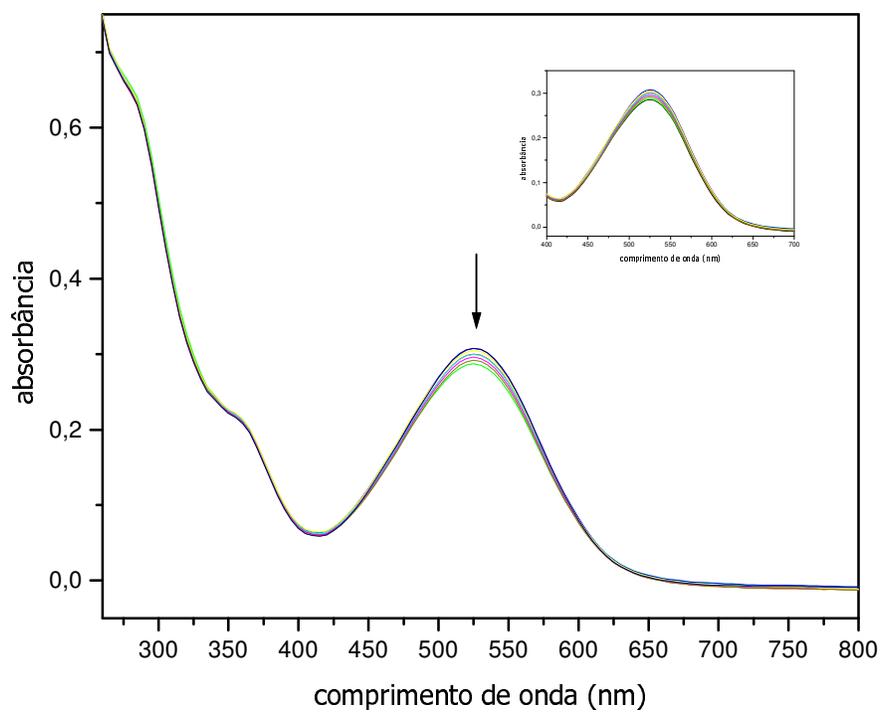


Figura 81. Espectros na região do UV-visível da mistura (2:1) $((\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ em solução tampão pH=2,03 e irradiado em 532 nm. (complexos)= $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Espectro inicial (azul-escuro) e espectros com pulsos de 5 s cada.

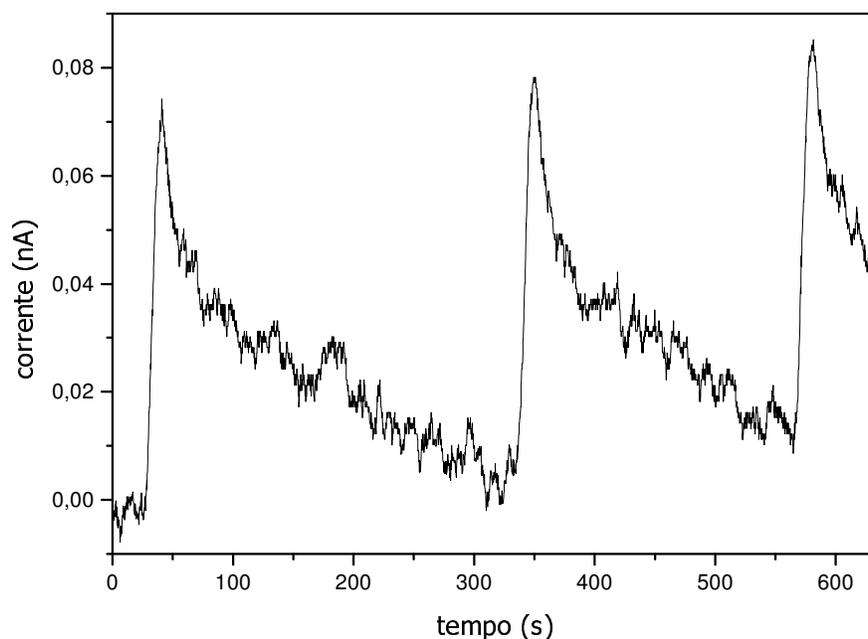


Figura 82. Cronoamperograma da mistura (1:2) ((Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺ e (Ru(NH₃)₅(pz-H))³⁺) em solução tampão pH=2,03 e irradiado em 532 nm. (complexos)=2,5 x 10⁻⁵ mol L⁻¹. Cada pulso de 10 s cada.

Na Figura 81 observa-se um decréscimo na banda em 532 nm, em consequência da formação da espécie (Ru^{III}(NH₃)₅(pz))³⁺.

O valor de rendimento quântico (ϕ_{NO}) baseado na medida do eletrodo seletivo de NO (NOmeter) para a mistura do fotossensibilizador (Ru(NH₃)₅(pz-H))³⁺ e o complexo nitrosil de rutênio (Ru(bpy)(terpy)NO⁺)³⁺ foi de $\phi_{NO} = 0,014 \pm 0,004$ mol eistein⁻¹.

Ao compararmos os resultados de rendimento quântico de NO da mistura, (Ru(NH₃)₅(pz-H))³⁺ e (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺, com o estudo feito por Sauaia et al., (2003b, 2005), para o complexo (Ru(NH₃)₅(pz)Ru(bpy)₂NO)⁵⁺, onde $\phi_{NO} = 0,025 \pm 0,004$ mol eistein⁻¹, concluiu-se que em os valores de ϕ_{NO} para os processos de transferência eletrônica fotoinduzida intermolecular e intramolecular foram próximos.

A eficiência entre os dois processos fotoquímicos de fotoindução pode ser discutida em relação aos valores de energia de potencial (ΔG^*) necessária para que os processos ocorram.

A teoria de Marcus é uma ferramenta importante no entendimento do comportamento dos processos de transferência eletrônica de esfera externa (ROCHA & TOMA, 2002).

Justifica-se o aspecto de maior importância nesse tipo de reações é a relação entre a velocidade de transferência de elétrons e a exergonicidade, ΔG^0 . Quando uma reação é bastante exergônica ($\Delta G^0 \ll 0$), pode-se assegurar que a transferência de elétrons ocorrerá com uma alta constante de velocidade; em uma reação endergônica ($\Delta G^0 \gg 0$), pode-se eliminar a possibilidade de transferência eletrônica (ROCHA & TOMA, 2002).

Em comparação a literatura, o provável diagrama de energia livre para o complexo binuclear $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz})\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{NO})^{5+}$ encontra-se demonstrado na Figura 83 A. No caso da reação de transferência eletrônica de esfera externa entre a mistura, $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{3+}$, é do tipo isoergônicas ($\Delta G^0 = 0$) (Figura 83 B).

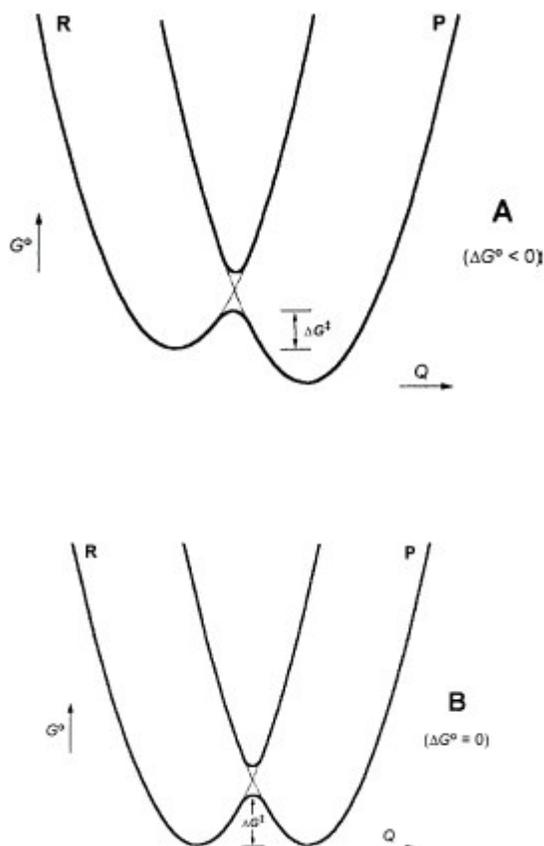
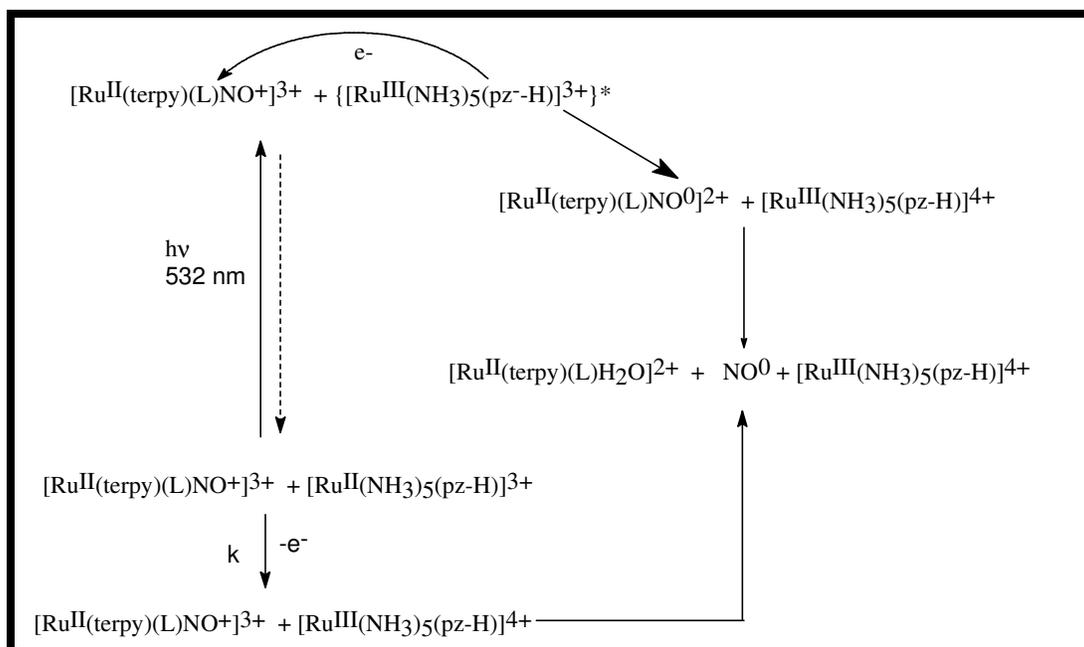


Figura 83. Diagrama ilustrativo de energia livre (ΔG°) em função da coordenada de reação (Q) para o sistema, simétrico (doador = receptor) e isoergônico ($\Delta G^\circ = 0$); Nos diagramas, ΔG^\ddagger é a energia livre de ativação da reação (ROCHA & TOMA, 2002).

A discussão sobre a utilização de fotossensibilizadores que absorvam no visível com alta absorvidade molar é válida para ser empregado em inúmeros complexos nitrosilos de rutênio que devido a forte retro-doação $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-NO}^+$ não possuem banda na região do visível.

Considerando os resultados fotoquímicos e eletroquímicos da mistura entre os complexos $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz-H}))^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO}^+)^{3+}$ podemos sugerir que o mecanismo de liberação de NO (Esquema 24) se deva por transferência eletrônica intermolecular.



Esquema 24. Esquema fotoquímico da mistura $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{pz}-\text{H}))^{3+}$.

5.7. Estudo Fotofísicos no Estado Excitado para os Complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ (L=bpy e bdcac-COOH)

As propriedades fotofísicas e fotoquímicas para complexos de rutênio são bastante estudadas, principalmente pelo fato desses compostos serem utilizados como eficientes fotossensibilizadores na conversão fotoquímica de energia solar em energia elétrica (BALZANI, et al., 1998; SORTINO, et al., 2003). No entanto, poucos são os trabalhos que tem abordado o estudo fotofísico de complexos nitrosilos de rutênio (LORKOVIC, et al., 1998; CHANDA, et al., 2004). Na sua maioria o interesse é maior por parte dos mecanismos fotoquímicos que envolvem a liberação de óxido nítrico (FORD, et al., 1998; TOGNILOLO, et al., 2001, BORDINI, et al., 2002; SAUAIA, et al., 2003b,c; 2005; OLIVEIRA, et al., 2004; de LIMA et al., 2005a,b).

Durante a discussão sobre os mecanismos fotoquímicos dos complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ onde L=bpy e bdcac-COOH em meio aquoso quando irradiados em 355 nm, sugeriu-se a formação de intermediários

reativos diferentes no estado excitado antes da liberação de NO, conseqüência da provável população dos estados TCML e d-d. Assim sendo, se fez necessário um estudo detalhado sobre os estados excitados para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ onde L=bpy e bdcac-COOH em solução.

Os experimentos para a obtenção dos estados excitados fotorreativos foram realizados conforme a técnica de fotólise por pulso de laser (FPL).

A técnica FPL envolve a medida de um estado excitado de uma amostra por um pulso da radiação laser e é uma excelente técnica para a preparação e realização de estudos cinéticos de moléculas eletronicamente excitadas. As medidas podem ser realizadas por monitoramento de absorção ou por mudança de emissão da amostra. Estas medidas permitem a caracterização de intermediários de tempo de vida curto, ou instáveis, em concentrações suficientes altas, possibilitando a observação e a análise direta das reações subseqüentes, através da investigação de seus processos químicos ou fotofísicos primários. Estes processos são: cruzamento intersistemas, transferência de energia e reações de supressão de espécies transientes com, ou sem, adição de componentes que possam levar à formação de produtos.

A medida cinética espectroscópica ideal de um transiente gerado durante um pulso de laser seria aquela em que a densidade óptica é proporcional a concentração do transiente. No entanto, isto geralmente não ocorre devido a uma sobreposição espectral entre as espécies que estão decaindo e os outros possíveis produtos formados.

Na técnica de fotólise por pulso de laser, uma grande população de moléculas do estado fundamental é promovida para um estado singlete pelo pulso de laser inicial. Após o disparo do pulso, uma certa quantidade de moléculas singlete sofrem cruzamento intersistema para o estado

triplete (ϕ_{isc}). Uma fonte de luz contínua é usada para monitorar os intermediários reativos formados que são detectados por uma fotomultiplicadora. Esta detecta o nível de luz contínua inicial, ou seja, a intensidade de luz antes do disparo do laser. Após o disparo do laser, a fotomultiplicadora registra a diferença entre a intensidade de luz inicial e da luz absorvida pelo estado triplete e um decaimento da resposta multiplicadora é mostrado por um osciloscópio.

De acordo com os dados apresentados nas Figuras 84 e 85, os espectros de absorção dos transientes para os complexos $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ e $(Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03, mostraram regiões com absorbância acima de zero que caracterizam o estado excitado triplete dos complexos em solução aquosa e à temperatura ambiente (25 °C).

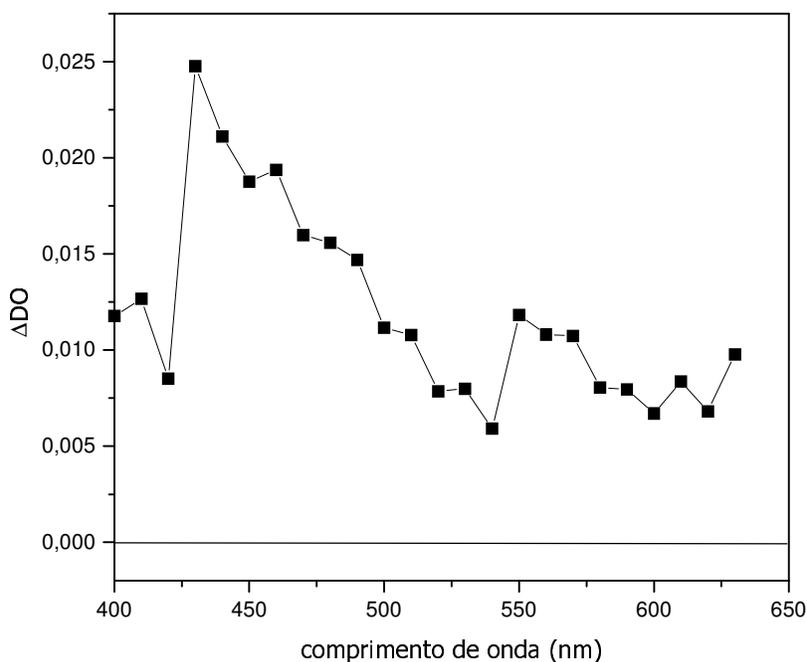


Figura 84. Espectro de absorção do transiente obtido após fotólise por pulso de laser em 355 nm do complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ em solução tampão pH=2,03 e 25 °C ($4,05 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), mostrando a absorção dos tripletes em 430 e 550 nm.

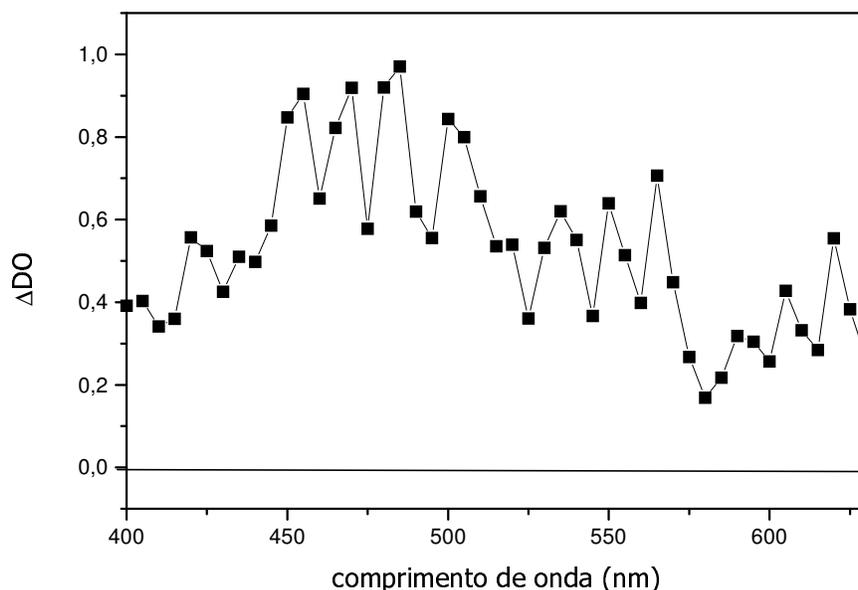


Figura 85. espectro de absorção do transiente obtido após fotólise por pulso de laser em 355 nm do complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 a 25 °C ($2,67 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), mostrando a absorção dos tripletes em 470 e 560 nm.

Normalmente, os espectros do estado excitado triplete mostram absorbâncias acima de zero como sendo do estado triplete e depleções (valor de densidade óptica negativa) nas bandas de absorção no estado fundamental. Neste estudo não foi possível verificar depleções; provavelmente os fotoprodutos formados no estado excitado tendem a decair ao mesmo produto ou produtos diferentes com espectros similares entre si (LORKOVIC, et al., 1998).

O espectro de decaimento do transiente em 430 nm para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (Figura 86) indica um decaimento de modo bi-exponencial. Isto evidencia a presença de mais uma espécie decaindo no mesmo comprimento de onda. Os tempos de vida para as duas espécies encontradas estão na ordem de 1,75 μs para 75 % da espécie "A" e 0,45 μs para 25 % espécie "B".

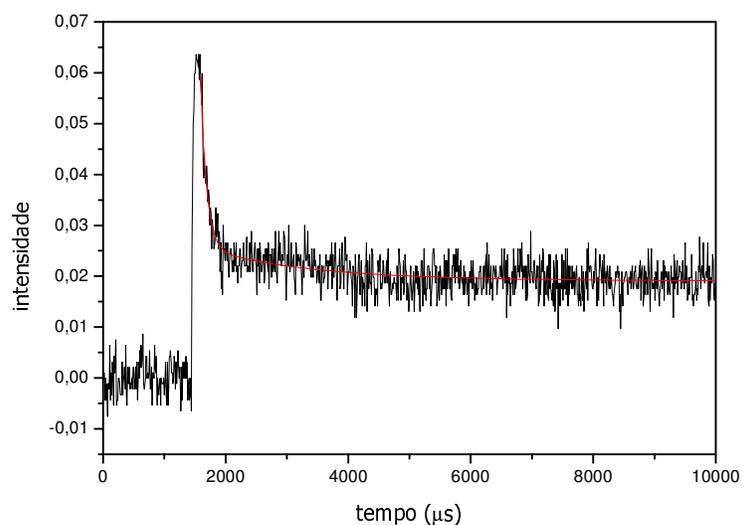


Figura 86. Simulação da curva de decaimento de emissão resolvida no tempo para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em 430 nm (excitação 355 nm).

O segundo transiente observado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ foi em 550 nm (Figura 87) mostrou um decaimento mono-exponencial com tempo de vida de 100 % da espécie envolvida de 0,48 μs.

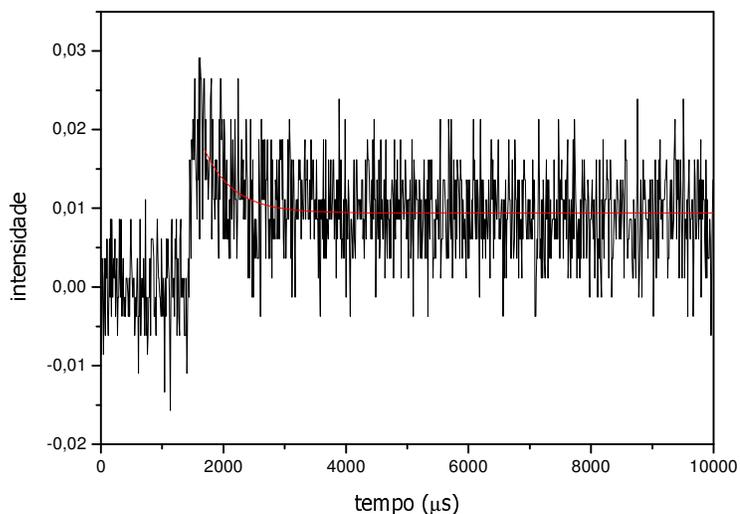


Figura 87. Simulação da curva de decaimento de emissão resolvida no tempo para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em 560 nm (excitação 355 nm).

O mesmo estudo de tempo de vida no estado excitado para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ foi feito para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$.

Para a espécie $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ as curvas de decaimento em 470 e 560 nm se comportaram de forma mono-exponencial (Figuras 88 e 89).

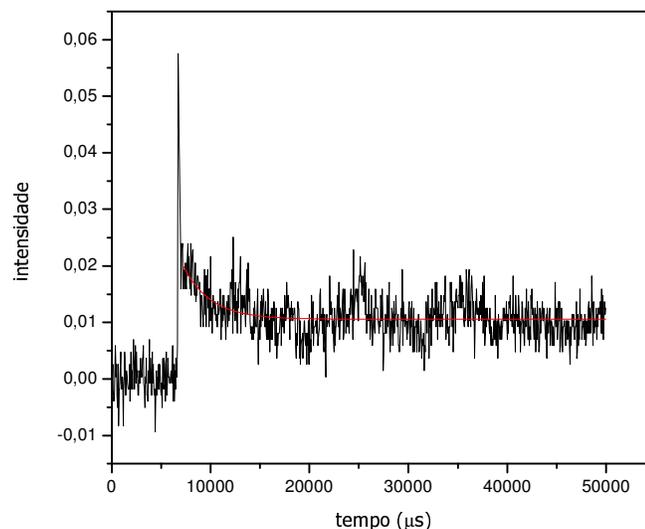


Figura 88. Simulação da curva de decaimento de emissão resolvida no tempo para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em 470 nm (excitação 355 nm).

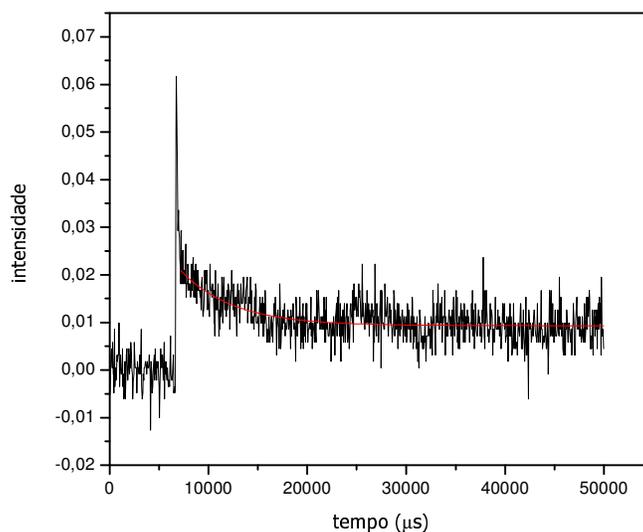


Figura 89. Simulação da curva de decaimento de emissão resolvida no tempo para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em 560 nm (excitação 355 nm).

Em ambos comprimentos de onda, 470 e 560 nm, há presença de 100 % das espécies, ou seja ambos são monoexponenciais, e os tempos de decaimento são 2,77 μs e 5,32 μs , respectivamente.

O tempo de decaimento do estado excitado a 77 K para o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})_2)^{2+*}$ é 11 μs , a diminuição do tempo de vida para os complexos estudados pode ser justificado pela temperatura, já que o tempo de vida para os complexos polipiridínicos é fortemente dependente da temperatura (DUATI et al., 2003). Outra justificativa se deve à saída do ligante nitrosil que provê um adicional canal para o decaimento do estado excitado. Os complexos decaem do estado excitado TCML para o orbital d-d populando-o.

Pode-se observar que o estudo do estado excitado para os dois complexos, $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução aquosa e à temperatura ambiente, originou dois estados triplete para cada complexo. Tomando-se por base os resultados obtidos acima, resolvemos também estudar o comportamento espectroscópico de luminescência para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$, L = bpy e bdcat-COOH em solução aquosa e à temperatura ambiente.

Os espectros de emissão para os complexos foram estudados sob excitação em diferentes comprimentos de onda, devido aos diferentes caminhos que, por exemplo, a espécie $(\text{Ru}(\text{terpy})_2)^{2+}$ pode decair dos estados excitado (HUTCHISON, et al., 1999).

Os espectros de emissão (Figura 90) para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ quando excitados em diferentes comprimentos de onda 280, 355 e 480 nm, conforme espectro de absorção (Figura 90) mostraram ser bastante semelhantes. Isto significa que a excitação nos diferentes comprimentos de onda propicia a população do mesmo nível de energia.

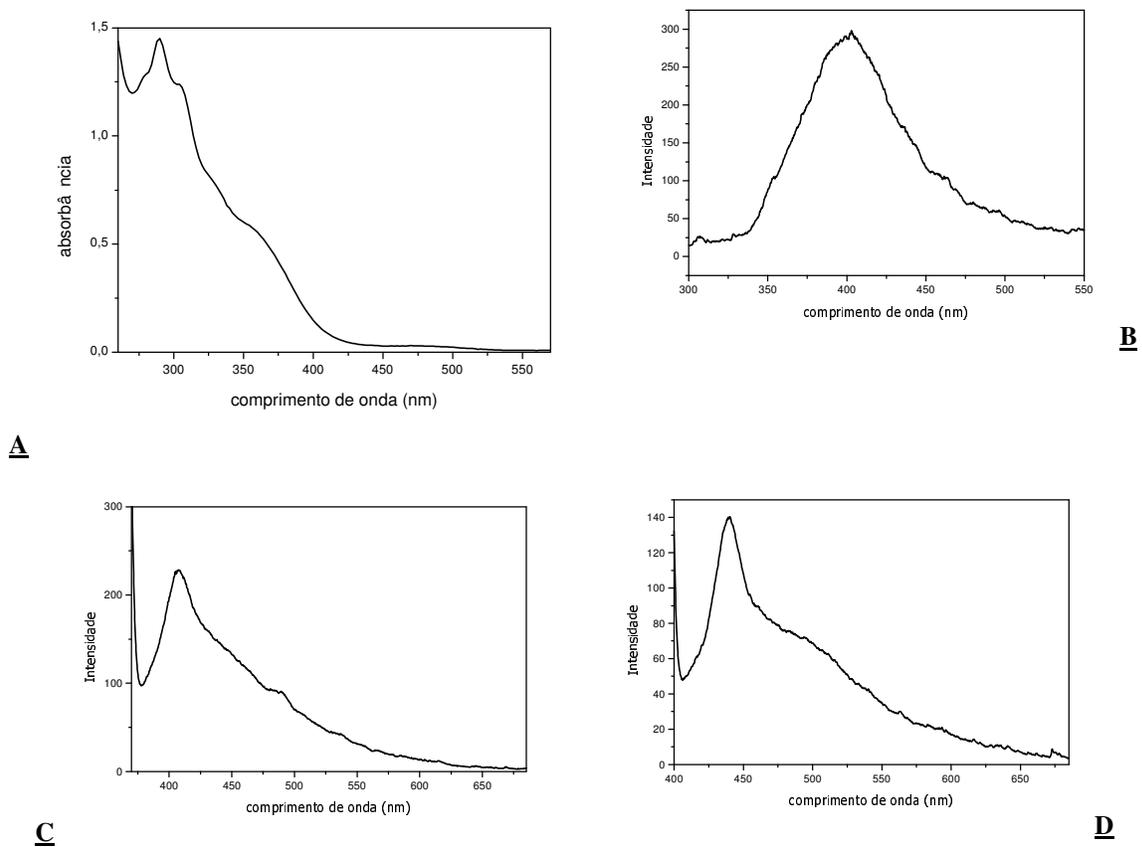
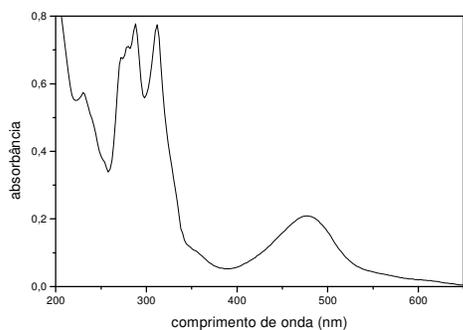
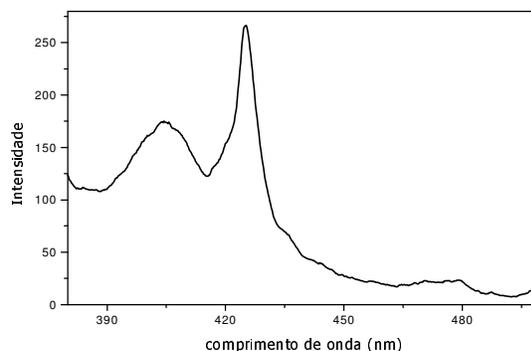


Figura 90. Espectro de absorçã na região do UV-visível (A) e espectro de emissã para o complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ em soluçã tampã pH=2,03 e temperatura ambiente. Excitaçã em 290 nm (B), 355 nm (C) e 480 nm (D).

O mesmo estudo foi feito para o complexo $(Ru(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$ (Figura 91), já que este é o fotoproduto da fotólise do complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ quando irradiado em 355 nm. Na Figura 91, vê-se a emissã em 400 e 425 nm para o complexo $(Ru(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$ quando excitado em 355 nm.



A

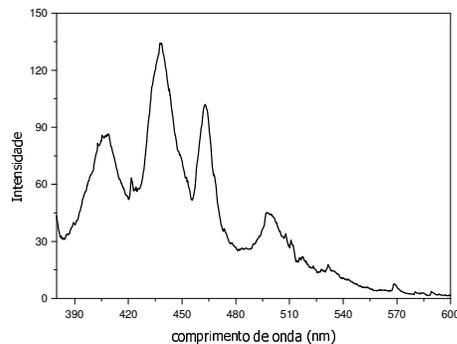
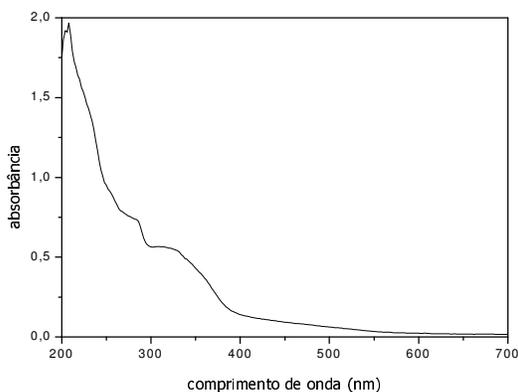


B

Figura 91. Espectros de absorção para o complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ em solução tampão pH = 2,03 à temperatura ambiente (A). Espectro de emissão para o complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ (B) após excitação em 355 nm.

Os dados fotofísicos permitiram concluir que os complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ quando excitados em 355 nm mostraram bandas de emissão em 400 nm. Isto significa que em ambos os complexos, precursor e foto-produto, emitem a partir do mesmo orbital de energia, que provavelmente provém de um orbital π^* centrado nos ligantes polipiridínicos.

Para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ foram observadas no espectro de emissão quando excitado em 355 nm (Figura 92) diferentes bandas na região de 400 a 500 nm. Essas emissões estão associadas à proximidade entre os estados de transferência de carga dos ligantes, já que todas as emissões provêm da excitação na região de 400 nm. Quando excitado em 480 nm, a emissão foi observada na região de 530 nm, que pode ser atribuída à emissão do aquo complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy}))^{2+}$ em analogia ao descrito para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$.



A

Figura 92. Espectros de absorção para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução tampão pH = 2,03 à temperatura ambiente (A). Espectro de emissão para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (B) após excitação em 355 nm.

B

Podemos dizer que os espectros de emissão condizem com os resultados de transiente e para ambos complexos mostram que o mecanismo de decaimento do estado excitado se dá por dois caminhos cineticamente diferentes.

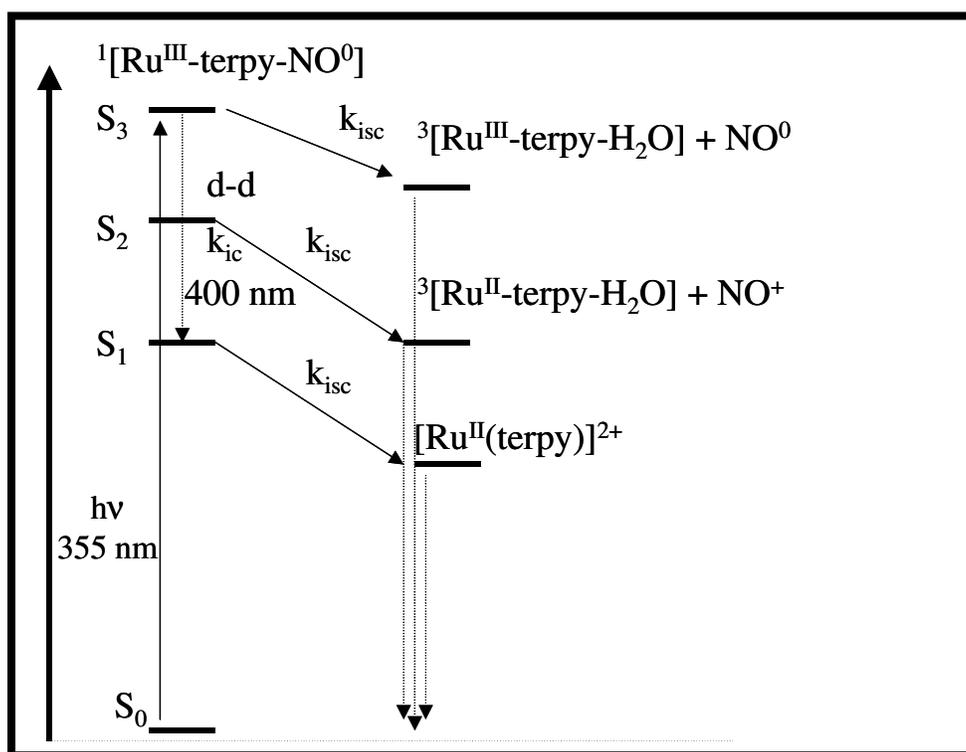
Acreditamos que ao irradiar os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ em 355 nm estamos popula-se dois estados de transição, o de TCML $\text{Ru}^{\text{II}}-\text{NO}^+$ e d-d. A hipótese sugerida é baseada nos resultados de fotólise do NO e de estudo no estado excitado.

Inicialmente, o resultado de fotólise mostra que sob irradiação em 355 nm o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ libera NO^0 , detectado pelo sensor de NO, e como produto final obtem-se como uma das espécie $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$.

No entanto, é sabido que a espécie NO^0 só pode ser obtida quando populado o estado de transição TCML $d_{\pi}(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{NO}^+)$ e como fotoproduto da liberação é obtida a espécie $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{terpy})(\text{L}))^{3+}$ (de LIMA et al., 2005b). Diante desses resultados podemos afirmar que o fotoproduto $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ é resultado da população do estado de campo

ligante d-d e conseqüente liberação do ligante nitrosil na sua forma de NO⁰.

Em comparação aos resultados descritos na literatura para sistemas do tipo (Ru^{II}(terpy)L₂)²⁺ (KIRCHHOFF, et al., 1985; CASPAR & MEYER; SUEN, et al., 1989; CLARK, et al., 1991), acreditamos que durante a fotólise de liberação NO⁰ pelos complexos (Ru(terpy)(L)NO)³⁺ ocorre a população de dois estados excitados, TCML e d-d, que resultam em um primeiro estado excitado formado pela espécie (Ru^{II}(H₂O)(bpy)(terpy))²⁺. E um segundo estado excitado decorrente da espécie (Ru^{II}(terpy)₂)²⁺ (Esquema 25).



Esquema 25. Diagrama de energia simplificado para o mecanismo fotoquímico do complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺ sob irradiação em 355 nm. a: irradiação em 355 nm; b: decaimento radiativo de fosforescência; c: cruzamento intersistemas, d: decaimento térmico.

Podemos dizer que os resultados de fotólise, que espectros do transiente e espectro de fluorescência para os complexos

(Ru(terpy)(L)NO)³⁺ dependem da ordem energética das transições TCML Ru^{II}-terpy, TCML Ru^{II}-L e TCML Ru^{II}-NO⁺. Além disso, a mudança entre o ligante L da bipyridina pelo ligante diimina, mostrou uma maior deslocalização do elétron no estado excitado sob o ligante diimina garantindo ao complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)³⁺ maior tempo de vida no estado excitado do que para complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺.

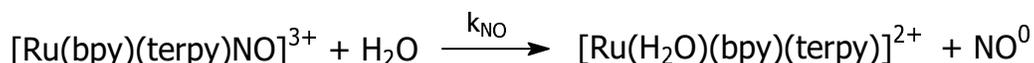
5.8.Reatividade Cinética dos Complexos (Ru(terpy)(L)NO)³⁺ L = bpy e bdqi-COOH

A proposta de utilização de complexos nitrosilos de rutênio em sistemas biológicos depende do conhecimento sobre o potencial de redução do ligante nitrosil e do controle dissociativo do NO⁰ dos complexos precursores tal como para as espécies (Ru(terpy)(L)NO⁺)³⁺. Torna-se portanto imprescindível determinar valores quantitativos que expressem a potencialidade do uso de complexos nitrosilos como metalo-droga.

Assim sendo, determinou-se as constantes de velocidade de dissociação de NO, a qual foi baseada na lei de velocidade:

$$d/dt \text{ (Ru(terpy)(L)H}_2\text{O)}^{3+} = k_{\text{NO}} \text{ (Ru(terpy)(L)NO}^+)^{3+}$$

A variação do espectro na região do visível para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺, quando há saída do NO e substituição pela molécula de solvente, no caso a água, é constatada pelo aparecimento da banda TCML do tipo d_π(Ru^{II})→π*(terpy, bpy)) em 470 nm, característico da espécie (Ru(H₂O)(bpy)(terpy))²⁺.



O experimento da medida de constante de velocidade de saída do NO (k_{NO}) no complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ foi feito baseando-se na redução do ligante nitrosil em presença do redutor químico pirocatecol. O uso deste reagente se deve ao fato de que sua estrutura molecular é semelhante a uma série de biomoléculas existentes no sistema biológico, além de ter um alto poder redutor (PATAI, 1974). Cineticamente k_{NO} foi determinado avaliando-se espectrofotometricamente a formação da espécie $(Ru(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$, fazendo-se a leitura da absorbância em 470 nm com o tempo em $25,0 \pm 0,1$ °C (Figura 93).

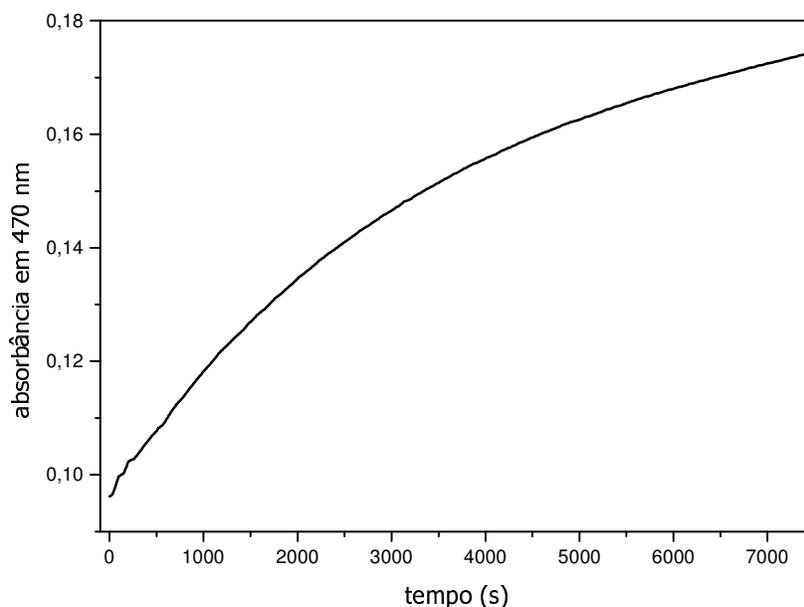


Figura 93. Curva cinética de absorvância vs tempo para a formação do complexo $(Ru(H_2O)(bpy)(terpy))^{2+}$ em 470 nm em pH = 2,03 a $25,0 \pm 0,1$ °C.

Os valor k_{NO} a $25,0 \pm 0,1$ °C calculado a partir do método cinético de Guggenheim (CONNORS, 1990) para reações de pseudo-primeira ordem: $\ln(i_t - i_{t+r})$ versus t (Figura 94), foi de $2,40 \times 10^{-4} \pm 4,00 \times 10^{-5} s^{-1}$.

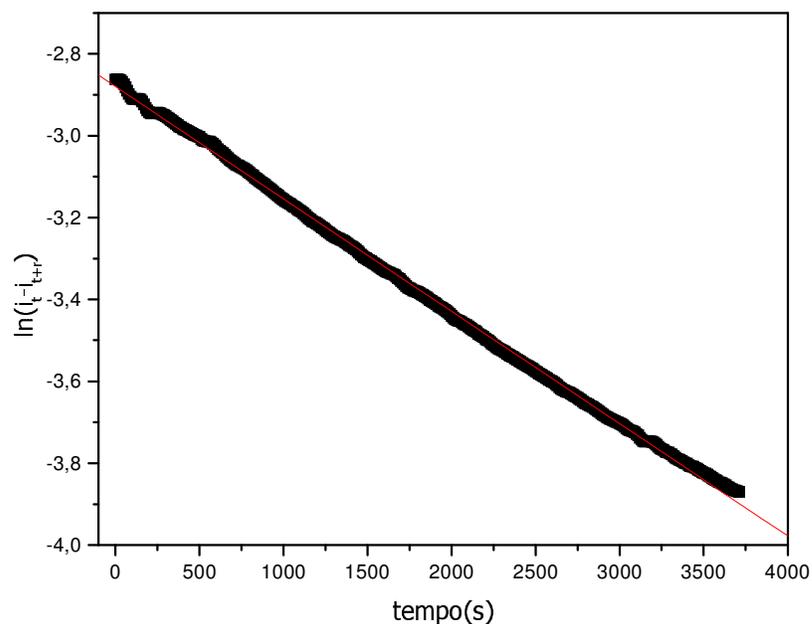


Figura 94. Gráfico de $\ln(i_t - i_{t+r})$ vs tempo para formação do complexo $(\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$.

Os dados cinéticos para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi}-\text{COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ foram feitos por eletrólise em potencial controlado em $-0,30 \text{ V}$ vs Ag/AgCl e acompanhamento da liberação pelo sensor NOmeter (Figura 95).

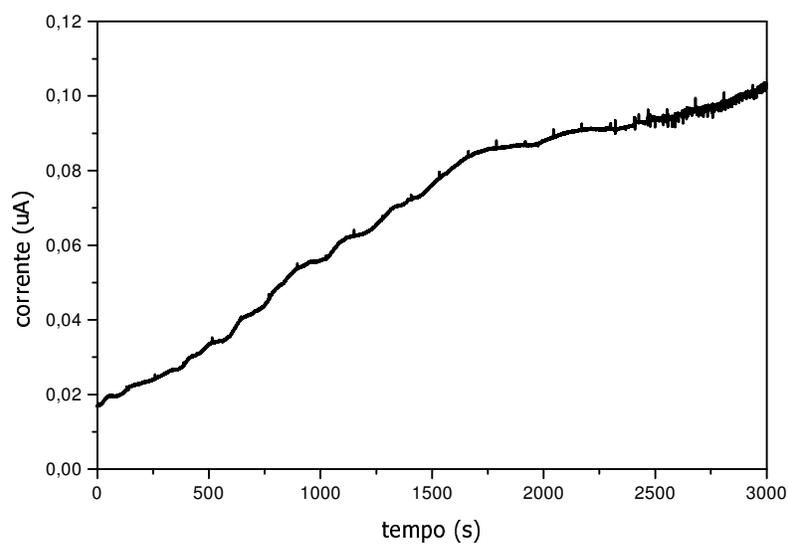


Figura 95. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob eletrólise a potencial controle em $-0,30$ V vs Ag/AgCl pH = 2,03 a $25,0 \pm 0,1$ °C.

Como para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ os dados obtidos pelos cronoamperogramas a $25,0$ °C foram tratados pelo método de Guggenheim (Figura 96). O valor de k_{NO} foi de $4,00 \times 10^{-3} \pm 9,00 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.

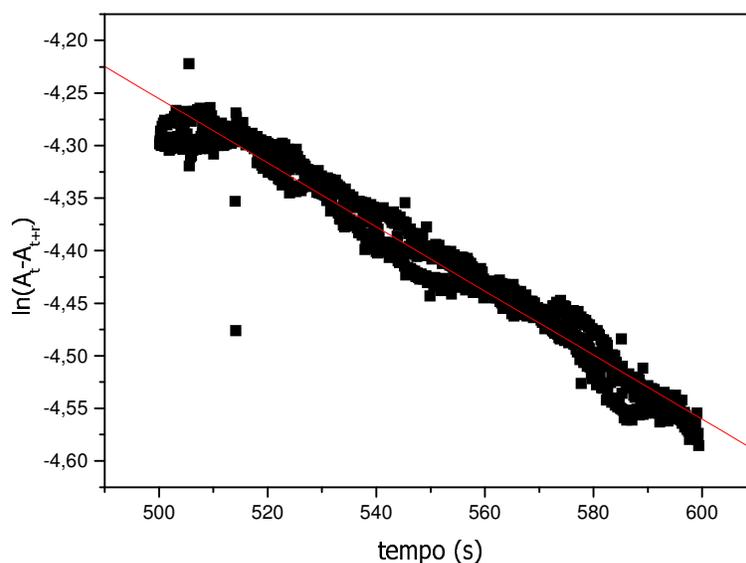


Figura 96. Gráfico de $\ln(A_t - A_\infty)$ vs tempo para saída de NO^0 do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$.

A diferença entre os valores de constante de dissociação do NO entre os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ $\text{L} = \text{bpy}$ e bdqi-COOH em ordem de magnitude o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($k_{\text{NO}} = 2,40 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) é menor que o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ ($k_{\text{NO}} = 4,00 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$). Isto provavelmente se deve ao efeito π -receptor do co-ligante bipyridina em comparação a benzoquinonadíimina. A presumível diminuição da densidade eletrônica sobre o íon $\text{Ru}(\text{II})$ em $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ deve fornecer o fortalecimento da ligação $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{NO}^0$ no complexo, após redução. Conseqüentemente uma maior velocidade de reação deveria ser esperado.

Tais resultados permitem dizer que o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ possui semelhante velocidade de liberação NO de outros complexos nitrosilos de rutênio utilizados em estudos biológicos como *trans*- $(\text{RuCl}(\text{cyclam})\text{NO})^{2+}$ ($k_{\text{NO}} = 6,10 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) (FERREIRA et al., 2003), *trans*- $(\text{RuNO}(\text{Hedta}))^{2+}$ ($k_{\text{NO}} = 7,30 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) (ZANICHELLI et al., 2004) e *trans*- $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{py})\text{NO})$ ($k_{\text{NO}} = 6,00 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$) (TOLEDO et al., 2004).

6. Sistemas de Liberação para os Complexos Nitrosilos de Rutênio

6.1. Estudo de Eletroatividade do complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ imobilizado em eletrodo de ouro

Considerando-se que a ligação enxofre-Au é apontada como aquela que estabelece a imobilização de compostos de coordenação em eletrodo de ouro (DIÓGENES et al., 2001; 2003) e aliado ao interesse de se desenvolver sistemas capazes de agir como doadores de NO (HOU et al., 2000), aventou-se a possibilidade de se ter o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ imobilizado em eletrodo de ouro como fonte de NO (Figura 97).

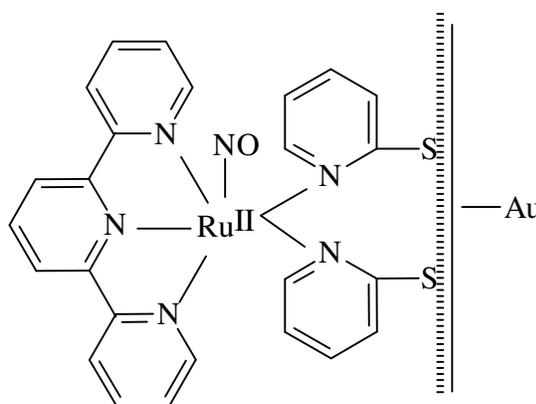


Figura 97. Modelo de adsorção do complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em superfície de ouro.

Inicialmente foi necessário adequar o tempo de imersão do eletrodo de ouro na solução do complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$. A eficiência da adsorção do complexo no eletrodo de ouro pode ser verificada após diferentes tempos de imersão conforme a Figura 98.

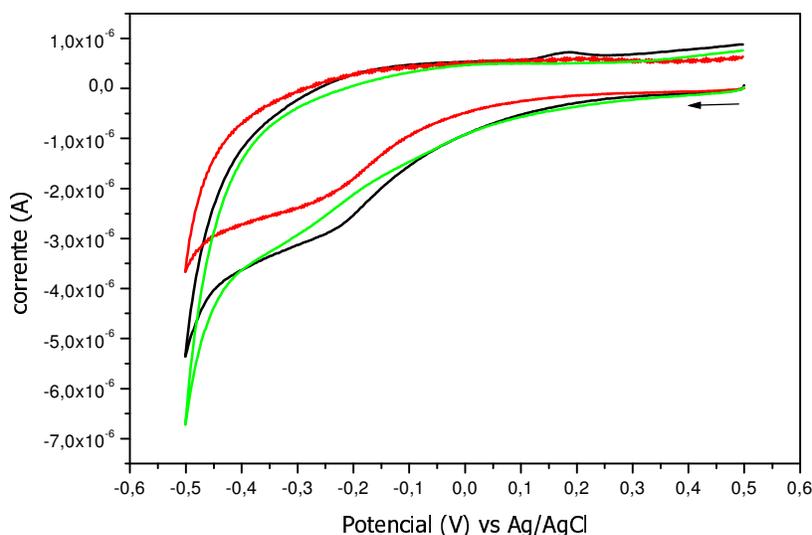


Figura 98. Voltamogramas cíclicos, em KCl 0,1 mol. L⁻¹, para o eletrodo imerso em solução do complexo (Ru(terpy)(2-pySH)₂NO)³⁺ verde 2 horas, preto 17 horas e vermelho 48 h. área eletrodo 0,007 cm².

Os voltamogramas cíclicos obtidos para o complexo (Ru(terpy)(2-pySH)₂NO)³⁺ imobilizado na superfície do eletrodo de ouro após os diferentes tempos de imersão, apresentam um pico de redução na região de - 0,20 V vs Ag/AgCl. Conforme já estudado anteriormente (item 5.4.1.2), o complexo (Ru^{II}(terpy)(2-pySH)₂NO)³⁺ em solução aquosa mostrou um pico de redução em - 0,20 V vs Ag/AgCl centrado no ligante nitrosil (NO⁺/NO⁰).

A quantidade de material eletroativo na cobertura do eletrodo (Γ) foi estimada pela integral da área dos picos de redução NO⁺/NO⁰ em diferentes tempos de imersão (Figura 98). De acordo com a equação 15:

$$\sigma = nFA\Gamma \quad (15)$$

onde σ é a carga consumida no processo de redução (integral da área do pico), n o número de elétrons envolvidos na reação ($n = 1$), F constante de Faraday e A área do eletrodo.

Os valores de Γ para os diferentes tempos de imersão (Tabela 8) mostraram que o tempo necessário para formação da camada no eletrodo foi de 17 horas. Durante esse período foi sendo observado maior

quantidade de material, em mols, na superfície do eletrodo. Em tempos superiores a 17 horas, ocorre a diminuição do valor de Γ , justificado pelo processo de desorção (DIÓGENES et al., 2002).

Tabela 8. Valores de σ (μ C cm^{-2}) e Γ (mol cm^{-2}) calculados para o processo redox NO^+/NO^0 ($E_{pc} = -0,20$ V vs Ag/AgCl) do complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ em LiClO_4 $0,1$ mol L^{-1} . Área do eletrodo: $0,007$ cm^2 .

Tempo de imersão (horas)	σ (μ C cm^{-2})	Γ (mol cm^{-2}) x 10^{-9}
1	1,43	2,11
2	1,48	2,19
17	1,63	2,41
48	1,23	1,82

O longo tempo necessário para um eficiente processo de adsorção do complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ na superfície do eletrodo de ouro se deve ao provável impedimento estérico originado da posição *meta*- do enxofre no ligante 2-mercaptopiridina. Normalmente, os estudos feitos para complexos semelhantes, $(\text{Ru}(\text{CN})_5(\text{pySH}))^{4-}$ (DIÓGENES et al., 2002), onde pySH é o ligante 4-mercaptopiridina, o tempo de imobilização foi de 30 minutos.

Outro fator a ser considerado é a forte retro-doação rutênio-ligante nitrosil, que diminui a interação entre os orbitais do metal e ligante 2-mercaptopiridina e afeta diretamente na estabilidade das monocamadas do complexo sobre o ouro (DIÓGENES et al., 2002).

Para melhor entendermos sobre a possível transferência de elétrons entre a monocamada de complexo e a superfície de ouro, fez-se a eletrólise em potencial controlado desse sistema em $-0,20$ V vs Ag/AgCl (Figura 99) em diferentes tempos de processo.

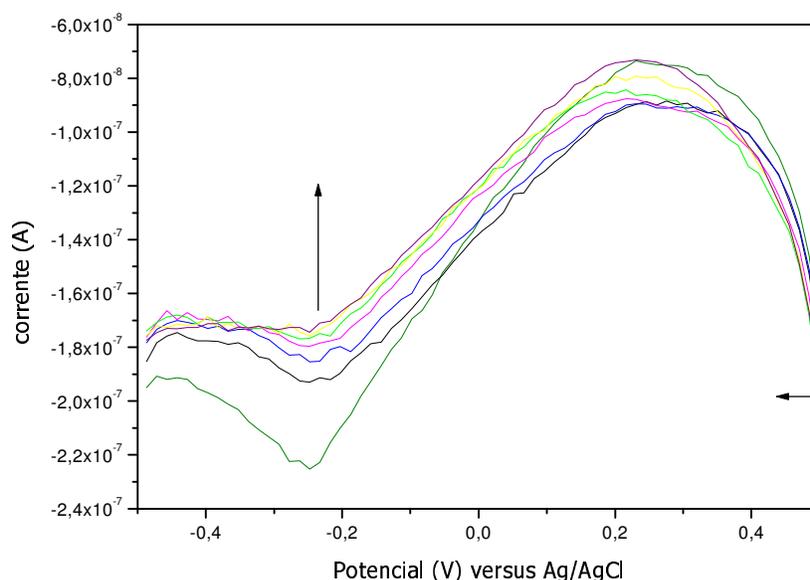


Figura 99. Voltamogramas de pulso diferencial, em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, para o eletrodo de ouro imobilizado com complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$. Os voltamogramas foram obtidos após eletrólise em $-0,20 \text{ V vs Ag/AgCl}$.

A princípio pensou-se em propor a medida de NO^0 liberado pelo eletrodo imobilizado com complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ após eletrólise em potencial controlado. No entanto, a quantidade de complexo na superfície do eletrodo (Γ) encontrado, foi cerca de nmol o que tornaria difícil observar devido à sensibilidade do sensor de NO.

Provavelmente, a baixa quantidade do complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ adsorvido na superfície do eletrodo de ouro se deve a alta quantidade da espécie rutênio tiona coordenada formada durante o método sintético, conforme observado os resultados de infravermelho (item 5.2.1.3). Estes dados, de certa forma servem de subsídios para inferir que de fato o complexo $(\text{Ru}(\text{terpy})(2\text{-pySH})_2\text{NO})^{3+}$ deve ser formada por isômeros, haja visto a baixa eficiência na imobilização.

6.2 Desenvolvimento de Filmes Sol-Gel e Silicone Encapsulados com Complexos Nitrosilos de Rutênio

Ao contrário de terapias farmacêuticas convencionais, o NO liberado de maneira localizada e em quantidade estável mostrou resultados eficientes frente à ação citotóxica e citostática em culturas de células tumorais, de fungo e bactérias. Assim sendo, é lícito supor que os compostos descritos neste trabalho possam se constituir eficientes doadores de NO, haja visto o controle da reatividade na liberação do NO.

Uma das possibilidades é a imobilização de compostos liberadores de NO em filmes sol-gel e/ou silicone são versáteis quimicamente para serem utilizados em clínica médica como revestimentos em aparelhos ortopédicos ou em "stainless steel" (NABLO & SCHOENFISH, 2005b; BORDINI et al., 2005).

Além disso, um dos problemas da utilização de complexos nitrosilos de rutênio é a reatividade do ligante nitrosil em meio fisiológico. O procedimento de imobilização de complexos nitrosilos de rutênio nesses filmes sólidos permite a utilização dos mesmos em diferentes condições de pH.

Neste intuito idealizamos o encapsulamento dos complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ L = bpy e bdqi-COOH em filmes de sol gel e silicone (Figura 100) e a promoção da saída de NO por estímulo fotoquímico.



Figura 100. Foto do filme de silicone encapsulado com o complexo $(Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)^{3+}$.

Inicialmente foram feitas análises de raios-X e de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliarmos as características estruturais, de distribuição e tamanho das partículas dos filmes.

Ambos os filmes sol-gel e silicone constituem-se de materiais amorfos (Figura 101).

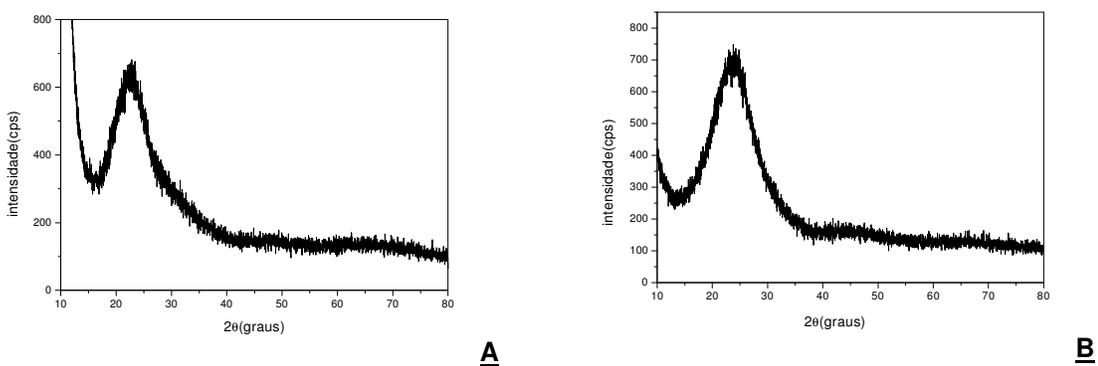


Figura 101. Espectros de raios-X para os filmes do tipo sol-gel sem complexo (A) e encapsulado com complexo $(Ru(bpy)(terpy)NO)^{3+}$ (B).

As medidas por MEV mostraram que os complexos nitrosilos de rutênio encontram-se distribuídos nos filmes de maneira irregular e homogênea (Figura 102).

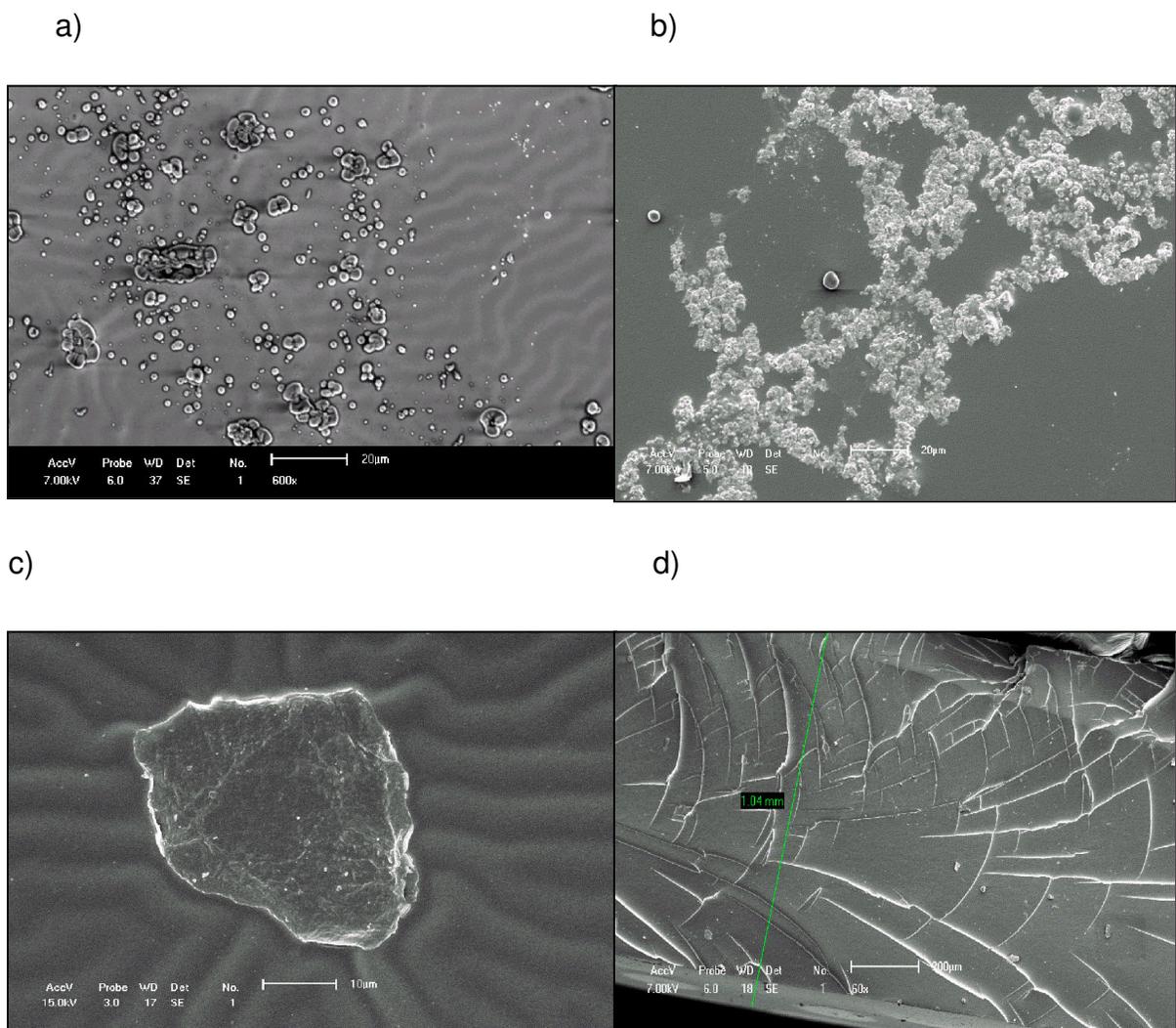


Figura 102: MEV para as membranas dos complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sol-gel (a e d) e $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ silicone (b e c) .

A fim de se estudar a estabilidade do complexo encapsulado nos filmes de silicone e sol-gel, mergulhou-se os filmes em uma solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e analisou-se por espectro UV-visível alíquota dessa solução com o tempo (Figura 103).

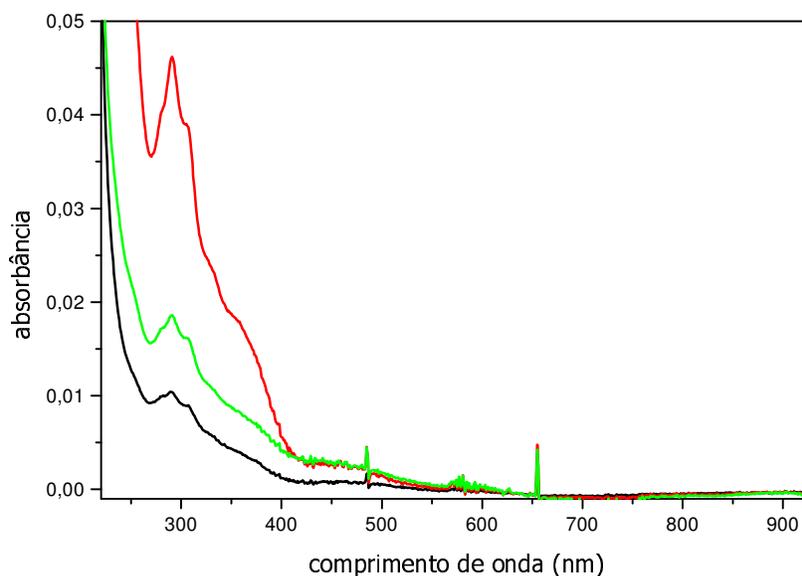
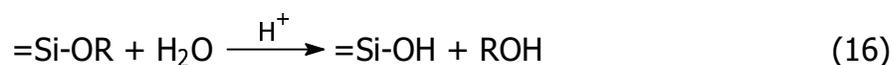


Figura 103. Espectros de absorção na região do UV-visível para alíquotas de HCl 0,1 mol L⁻¹ mergulhada com filme sol-gel encapsulado com complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺.

Os resultados espectroscópicos para os complexos (Ru(terpy)(L)NO)³⁺ encapsulados mostraram que a interação dos complexos no filme do tipo sol-gel é maior do que no de silicone. Uma pequena parte do complexo se mantém, sem interação química, na superfície da membrana de silicone e durante as lavagens com solução de HCl é retirado.

Os sistemas sólidos descritos são baseados na hidrólise de alcoossilanos. A reação química envolve, inicialmente a formação de um gel envolvendo o precursor hidrolisado (equação 16) e em seguida a formação de uma rede de silicato (equação 17). Neste estágio, o gel é aquoso e durante a secagem para sua gelificação são formados poros no gel. O processo de secagem é acompanhado pela expulsão de líquido dos poros (“sineresi”) (VENTON & GUDIPATI, 1995).



Provavelmente tal evidência espectroscópica durante as lavagens com HCl foi ocasionada pelo processo de "sineresi" durante a secagem dos filmes.

Espectros eletrônicos na região do UV-visível dos complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ encapsulados foram registrados no intuito de se comparar com os mesmos em solução (Figuras 104 e 105).

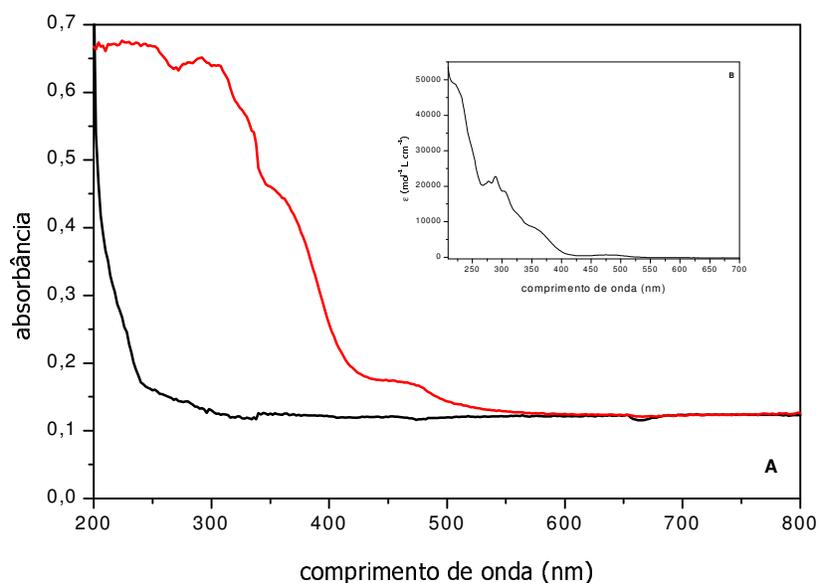


Figura 104. Espectro eletrônico UV-visível do filme sol-gel sem complexo (preto) e encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (vermelho) (A). Espectro eletrônico UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em $\text{HCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (B).

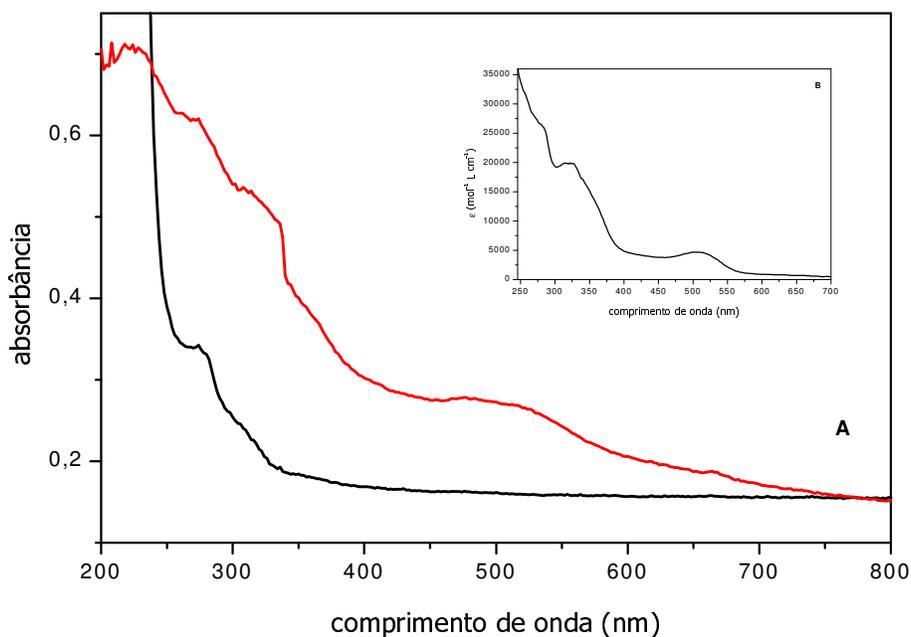


Figura 105. Espectro eletrônico UV-visível do filme sol-gel sem complexo (preto) e encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (vermelho) (A). Espectro eletrônico UV-visível do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (B).

Os espectros eletrônicos na região do UV-visível para os complexos encapsulados em silicone e sol-gel são iguais aos espectros eletrônicos em solução e consistentes com a presença do ligante nitrosil coordenado ao metal rutênio.

Além da técnica espectroscópica, foi proposta a técnica eletroquímica para caracterizar os filmes com os complexos encapsulados em comparação aos resultados obtidos em solução. Foram feitas análises de voltametria de pulso diferencial para os filmes encapsulados em matrizes de silicone e sol-gel, usando eletrodo de pasta de carbono como eletrodo de trabalho. Na faixa de potencial estudado ($-1,00$ a $+1,00 \text{ V}$ vs Ag/AgCl) as matrizes de silicone e sol-gel sem complexo não mostraram eletroatividade.

Na Figura 106, se vê o perfil do voltamograma de pulso diferencial do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ encapsulado em matriz sol-gel. O sistema

exibe três pares de picos redox, sendo que os pares de picos $1_a/1_c$ e 3_c foram atribuídos aos processos centrados no ligante nitrosil, NO^+/NO^0 e NO^0/NO^- , respectivamente. O par de picos $1_a/1_c$ com $E_{1/2} = + 0,19 \text{ V}$ vs Ag/AgCl refere-se ao processo NO^+/NO^0 que em meio aquoso foi observado em $E_{1/2} = + 0,18 \text{ V}$ vs Ag/AgCl. O pico 3_c com $E_{pc} = - 0,49 \text{ V}$ vs Ag/AgCl refere-se ao processo quase-reversível NO^0/NO^- , semelhante em meio aquoso (MURPHY et al., 1986).

Em comparação ao estudo eletroquímico para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, encapsulado em matriz sólida observou-se o aparecimento de um novo par de picos $2_a/2_c$, o qual podemos atribuí-lo como sendo um novo par redox NO^+/NO^0 decorrente da interação do fragmento $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{NO}^+$ com grupos silanois da matriz sólida.

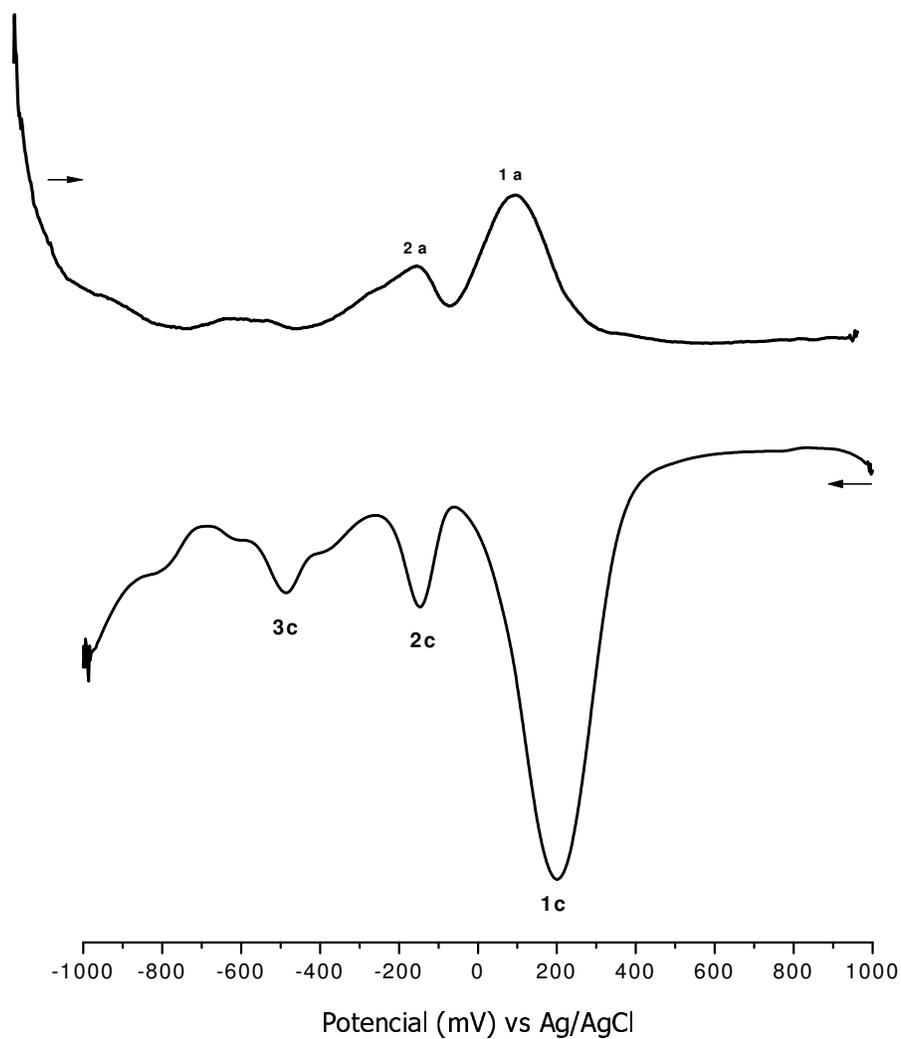


Figura 106. Voltamograma de pulso diferencial para o filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em eletrodo de pasta de carbono.

O mesmo estudo eletroquímico foi feito com o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ encapsulado em matriz de silicone e os potenciais redox obtidos estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9: Dados eletroquímicos centrados no ligante nitrosil para os complexos (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺ em filmes sólidos e em solução aquosa.

Complexo	E _{1a/1c} ^a	E _{2a/2c} ^a	E _{3a/3c} ^a
meio aquoso pH=2,03	+ 0,18	–	-0,41
filme sol-gel	+ 0,19	- 0,20	- 0,49
filme silicone	+ 0,18	- 0,22	- 0,51

a:Potencial (V) vs Ag/AgCl.

Interessante ressaltar que os potenciais redox para o ligante nitrosil no estado sólido não apresentaram grande variação em relação aos potenciais obtidos em solução.

Após os estudos concernentes à estabilidade dos complexos nitrosilos de rutênio encapsulados nos filmes sol-gel e silicone. Avaliou-se a saída de óxido nítrico dessas matrizes sob estímulo fotoquímico.

Inicialmente, fez-se fotólise na região do UV e visível das matrizes em solução fosfato pH = 7,40 (37 °C) e registrou-se a saída do NO com o NOmeter. Os complexos (Ru(terpy)(L)NO)³⁺ em filmes do tipo sol-gel e silicone (Figura 107 e 108) mostraram eficiência na liberação de NO sob estímulo na região do UV e visível.

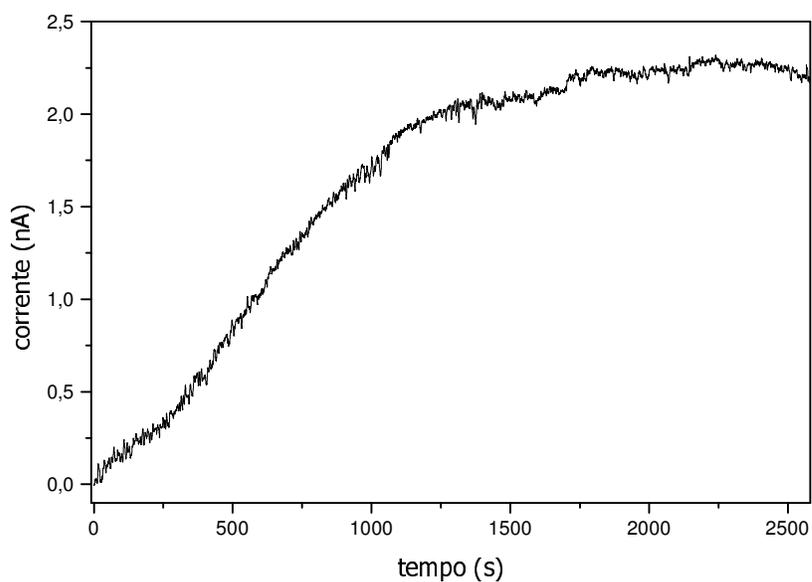


Figura 107. Cronoamperograma para o filme sol-gel encapsulado com complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺ e irradiado em 355 nm.

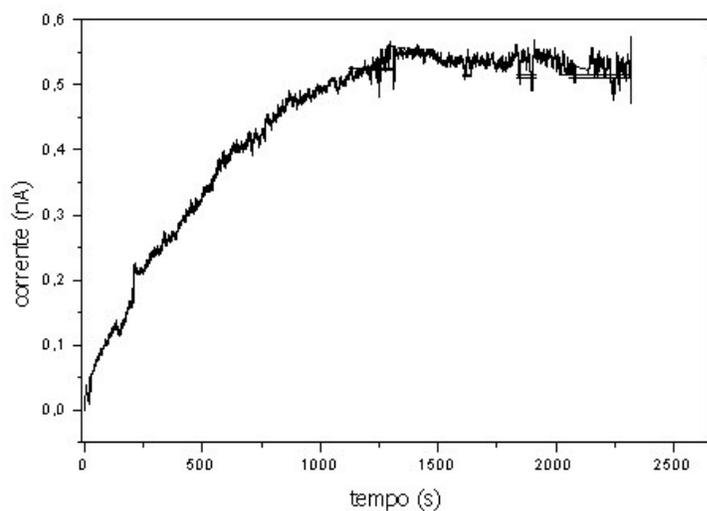


Figura 108. Cronoamperograma para o filme silicone encapsulado com complexo (Ru(bdqj-COOH)(terpy)NO)³⁺ e irradiado em 532 nm.

No intuito de entendermos o mecanismo que envolve a liberação de NO nos sistemas sólidos, analisou-se o espectro na região do infravermelho

do complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em pastilha de KBr e filme de nujol antes e depois da irradiação na região do ultravioleta (Figura 19).

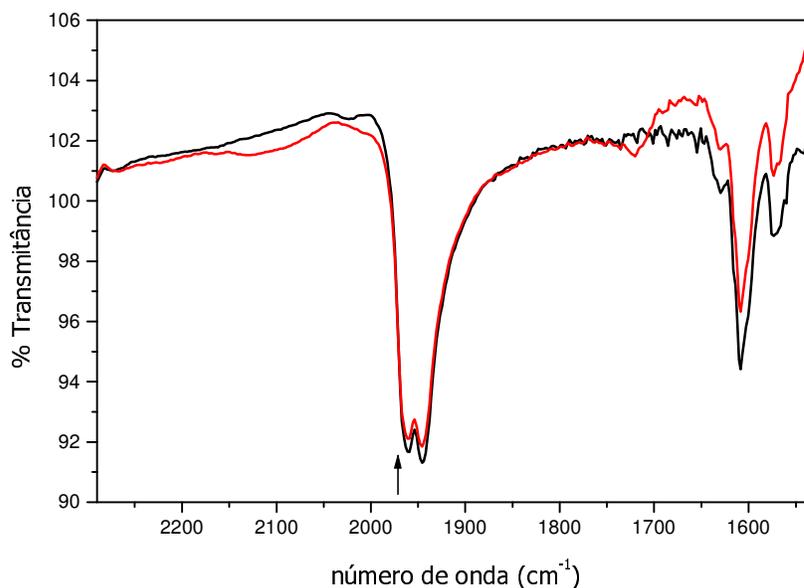


Figura 109. Espectros na região do infravermelho para o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em pastilha de KBr antes e depois da irradiação (cerca de 2 horas) em 355 nm.

Observa-se que não houve extinção da banda de estiramento de NO^+ (1950 cm^{-1}) como se esperava em consequência da fotolabilização. Ou seja, o mecanismo de liberação do NO a partir de matrizes sólidas não se baseia em um mecanismo dissociativo como em meio aquoso, mas sim de um mecanismo associativo. Provavelmente há a necessidade do meio aquoso e da formação de um intermediário heptacoordenado antes da liberação do NO.

Após tais evidências, propôs-se o estudo de liberação de NO pelos filmes sol-gel sem contato com o meio tamponado através da técnica de medida de NO *in situ* conforme item 4.19. Introduziu-se a matriz sol-gel encapsulada com o complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em uma cubeta de quartzo conectada à vácuo ao NOmeter e irradiou-se o sistema por 1 h com luz na região do ultravioleta (Figura 110).

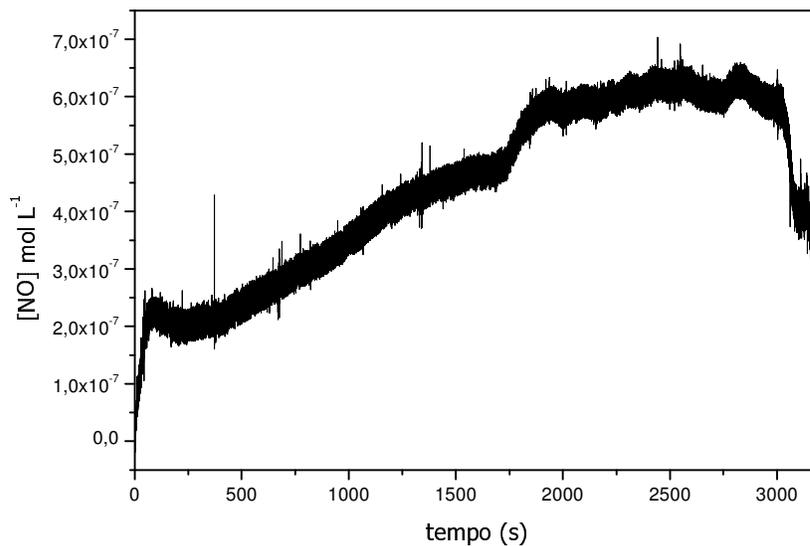


Figura 110. Cronoamperograma para o filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e irradiado em 355 nm sem meio aquoso.

O mesmo procedimento de medida de NO *in situ* foi feito para a matriz sol-gel de $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, mas nesta situação a matriz foi imersa em solução tampão pH = 7,40 (Figura 111).

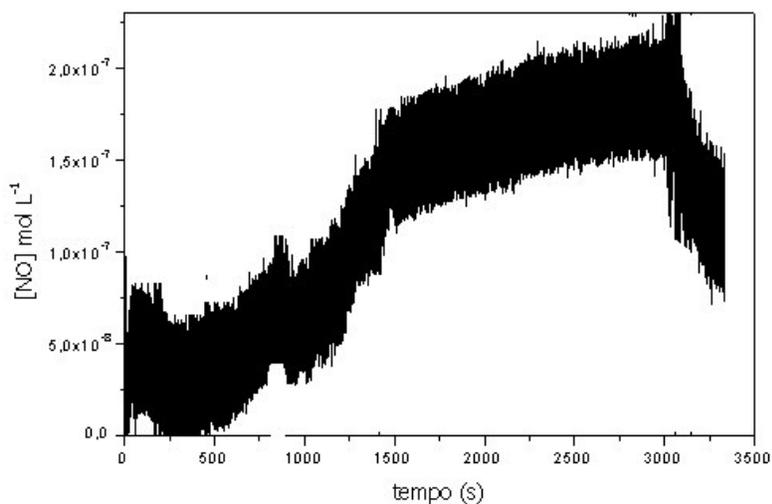


Figura 111. Cronoamperograma para o filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e irradiado em 355 nm em solução tampão fosfato pH = 7,40.

A concentração de NO liberada *in situ* nos dois sistemas, sólido e solução, foi semelhante. Tal resultado induz a proposta que possa haver interação em os sítios silanois da matriz com o complexo nitrosil que propicia a liberação de NO o que não se vê em outros tipos de matrizes sólidas como em KBr e nujol.

Afim de um melhor entendimento sobre a provável interação grupos silanois e o complexo nitrosil, acompanhou-se por espectroscopia na região do visível a alteração espectral (Figura 112) das matrizes no estado sólido em diferentes tempos de irradiação no ultravioleta.

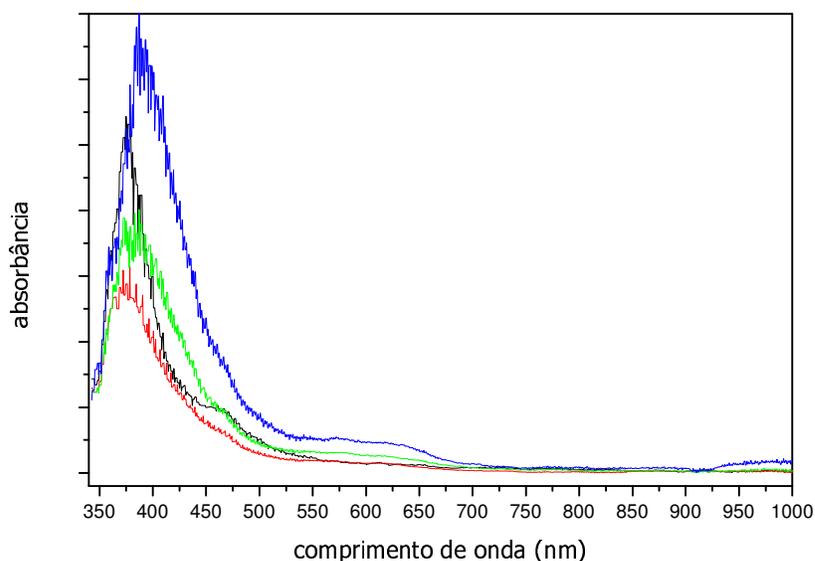
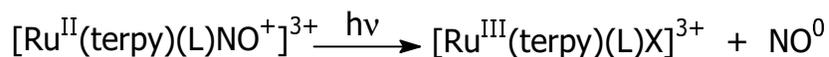


Figura 112. Espectros de absorção UV-visível do filme sol-gel encapsulado com complexo $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação em 355 nm.

O espectro inicial mostra uma banda em 470 nm que pode ser atribuída à espécie $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{bpy})\text{X})^{2+}$ (X = solvente) formada durante o processo de formação da matriz. Durante fotólise não se vê banda na região do visível que é coerente com o mecanismo de saída de NO em solução (Esquema 26).



Esquema 26: Provável mecanismo fotoquímico para os complexos $\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO}^{3+}$ encapsulados em membranas sol-gel e silicone sob irradiação do ultravioleta e visível.

No intuito de se utilizar as membranas sólidas em estudos farmacológicos, foi feito o estudo da labilização do NO pela membrana sol-gel com o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi}-\text{COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ colocado dentro de uma membrana de diálise (Figura 113).

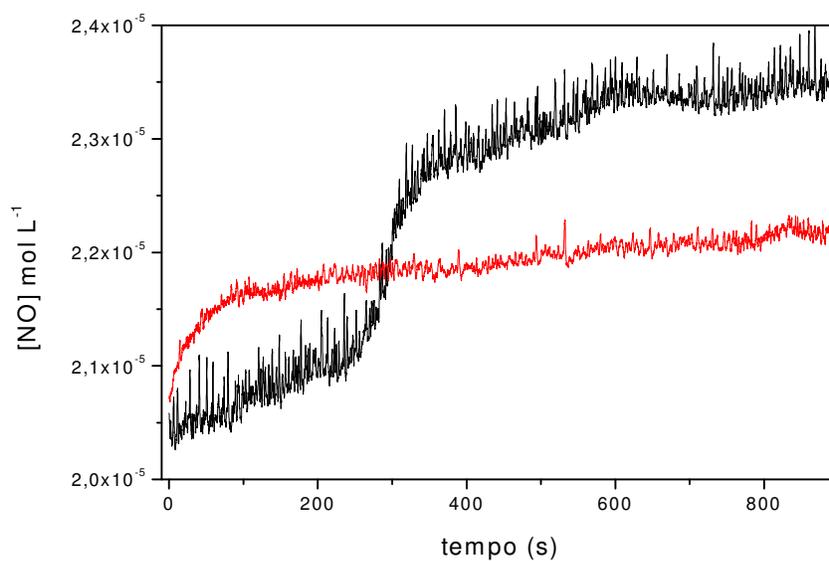


Figura 113. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ encapsulado em membrana sol-gel sem (preto) e dentro (vermelho) da membrana de diálise e irradiados em 355 nm.

A introdução da membrana sólida encapsulada com o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ dentro de uma membrana de diálise se fez necessária pelo fato de que o material que constitui a matriz sólida, no caso o TEOS, mostrou ser tóxica para as células endoteliais. Neste caso, o sistema proposto permitiu somente a passagem do NO, protegendo o meio biológico de possíveis interferências do material silanol.

6.3. Estudo Farmacotécnico para o Complexo Nitro Rutênio $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$

Após os estudos de liberação de NO pelos complexos nitrosilos e nitro rutênio, por estímulo fotoquímico. A nova etapa do trabalho envolve a aplicação desses compostos em sistemas biológicos. Para tal aplicação, fez-se necessário o estudo da variação das propriedades físico-químicas desses compostos em um veículo liberador de fármaco. Nesse caso,

passamos a estudar o comportamento do nitro complexo em microemulsão.

O nitro complexo de rutênio $(Ru(NO_2)(bpy)(terpy))^+$ em microemulsão foi analisado conforme o teste farmacotécnico de liberação de fármaco. Neste estudo é avaliado o tempo de retenção do fármaco dentro a formulação.

Na Tabela 10 estão apresentados os parâmetros analíticos obtidos no estudo de liberação, utilizando-se membrana de acetato de celulose, feitos a partir de microemulsão contendo o complexo $(Ru(NO_2)(bpy)(terpy))^+$. Os valores apresentados são valores médios, pois o experimento foi feito em triplicata, e também foram corrigidos com relação à diluição realizada a cada coleta.

Tabela 10. Quantidade de $(Ru^{II}(NO_2)(bpy)(terpy))^+$ liberada a partir da microemulsão.

tempo (h)	Quantidade liberada (mol cm ⁻²)
1	$6,92 \times 10^{-6}$
2	$2,42 \times 10^{-5}$
3	$4,25 \times 10^{-5}$
4	$6,79 \times 10^{-5}$
5	$1,04 \times 10^{-4}$
6	$1,45 \times 10^{-4}$
7	$1,84 \times 10^{-4}$
8	$2,22 \times 10^{-4}$
9	$2,59 \times 10^{-4}$
10	$2,97 \times 10^{-4}$
11	$3,26 \times 10^{-4}$
12	$3,50 \times 10^{-4}$

A Figura 114, apresenta o perfil de liberação do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ a partir da microemulsão durante 12 h de experimento.

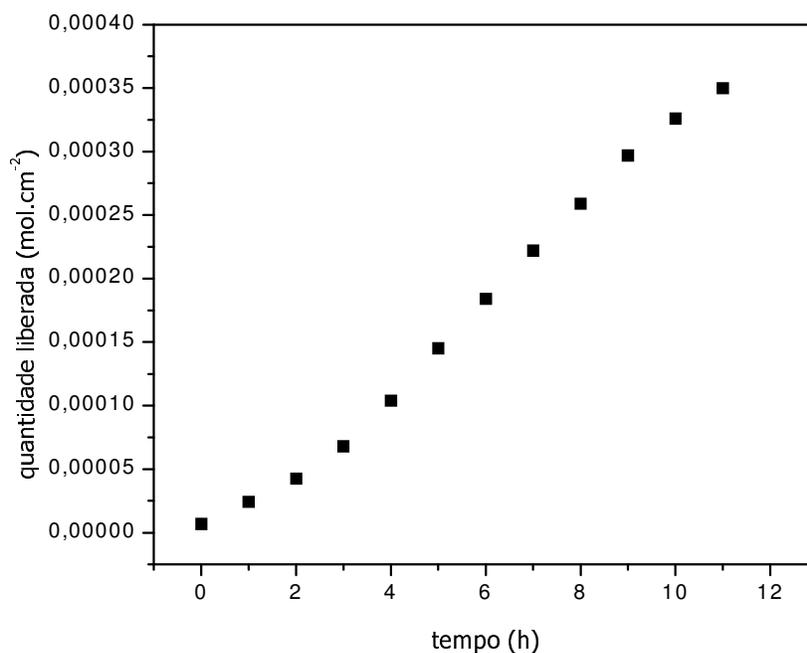


Figura 114. Perfil de liberação do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ a partir da microemulsão.

Os dados acima foram analisados segundo três modelos cinéticos para a liberação do composto pelo veículo: cinética de ordem zero (concentração/tempo), cinética de pseudo-primeira ordem (concentração/(tempo)^{1/2}) e primeira ordem (log da concentração/tempo) (GUY & HADGRAFT, 1990). A melhor correlação linear obtida pra este intervalo foi para cinética de ordem zero, isto indica que a liberação não depende da concentração do fármaco, ou seja, é uma liberação que ocorre por um processo de difusão. O mesmo resultado fora obtido quando feito em emulsão. O fluxo de liberação encontrado foi de $2,18 \times 10^{-5} \text{ mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para microemulsão e $5,46 \times 10^{-5} \text{ mol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

A estabilidade do complexo dentro da microemulsão (Figura 115) mostra que a microemulsão é capaz de manter o complexo em seu interior por cerca de 1 hora, após esse tempo o complexo tende a sair da formulação em direção à solução receptora (de LIMA et al., 2005a).

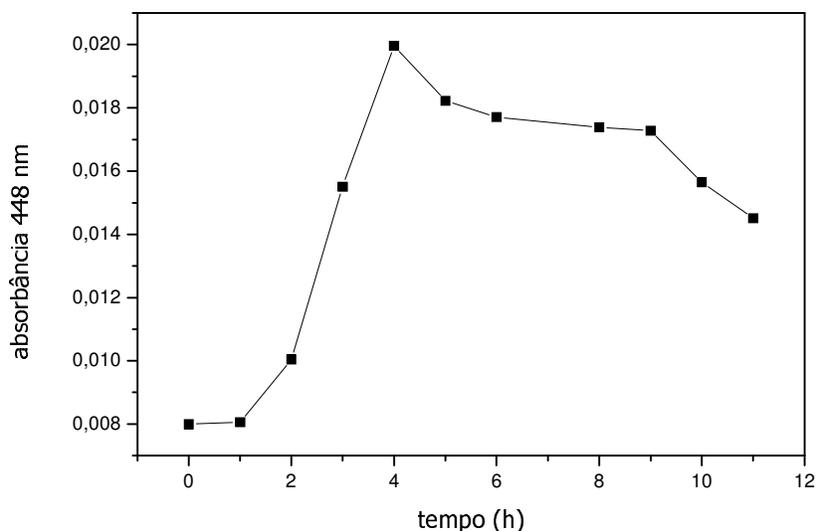


Figura 115. perfil de estabilidade do complexo $(Ru^{II}(NO_2)(bpy)(terpy))^+$ no interior da microemulsão (de LIMA et al., 2005a).

Após os resultados farmacotécnicos foi feita a avaliação da liberação de NO da microemulsão incorporada com o complexo $(Ru^{II}(NO_2)(bpy)(terpy))^+$ sob irradiação em 355 nm (Figura 116). O estudo se baseia na detecção do NO que sai da formulação por estímulo fotoquímico pelo método à vácuo conforme descrito na seção 4.14.

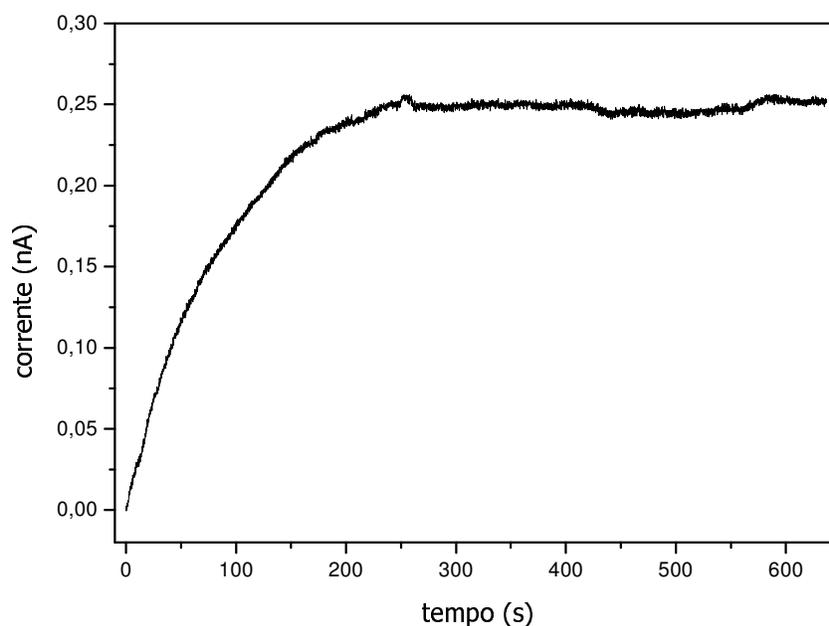


Figura 116. Cronoamperograma para o complexo $(\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ incorporado à microemulsão e irradiado em 355 nm. Detecção de NO pelo sistema à vácuo.

7. Estudos Biológicos

7.1. Estudo de vasodilatação em aorta de rato para os complexos nitrosilos de rutênio

Os resultados para os complexos de rutênio nitrosilos e nitro, foram bastante eficientes com relação à liberação de NO sob estímulo fotoquímico na região do ultravioleta e visível. Desta feita, sugerimos o estudo biológico desses complexos como metalo-drogas.

Inicialmente estudou-se a reatividade dos complexos doadores de NO como possíveis vasodilatadores, $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ incorporados em microemulsão A/O, $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em solução com pH = 7,40 e em matrizes sol-gel e silicone sob estímulo luminoso na região do ultravioleta e visível, respectivamente.

Os estudos de vasodilatação foram desenvolvidos conforme o protocolo descrito por Bonaventura et al., (2004).

Para o estudo do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ incorporados em microemulsão A/O, os anéis de aorta foram pré-contraídos com $\text{KCl } 60 \text{ mmol L}^{-1}$ e quando a resposta contrátil atingiu o platô de máxima concentração muscular, foi adicionado o complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$ em microemulsão e irradiado em 355 nm . Em seguida, as respostas de relaxamento foram registradas.

A Figura 117 apresenta a curva de relaxamento de aortas de ratos pré-contraídos com $\text{KCl } 60 \text{ mmol L}^{-1}$ e seguido da adição do complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^+$. Observa-se 100 % de relaxamento em 50 min ocasionado pela saída do NO incorporado a microemulsão.

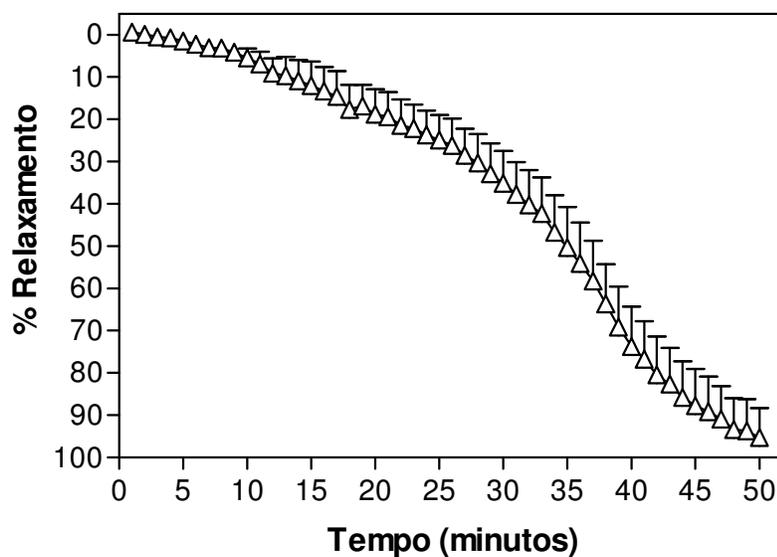


Figura 117. Tempo de relaxamento para o complexo $(\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{bpy})(\text{terpy}))^{2+}$ (Δ , $n = 6$). Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas com 60 mmol L^{-1} KCl e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ do complexo foi adicionado e irradiado em 355 nm . Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais (de LIMA *et al.*, 2005a).

Considerando a estabilidade do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj}-\text{COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em $\text{pH} = 7,40$, o seu efeito vasodilatador também foi estudado. Para este protocolo farmacológico foram utilizados diferentes tipos de vasoconstritor muscular: noradrenalina, fenilefrina e prostaglandina

em concentrações de $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ para os dois primeiros e $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o último.

A Figura 118 apresenta as curvas de relaxamento de aortas de ratos pré-contraídas com noradrenalina, fenilefrina e prostaglandina, seguido da adição do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$. Os resultados foram semelhantes para os diferentes contráteis.

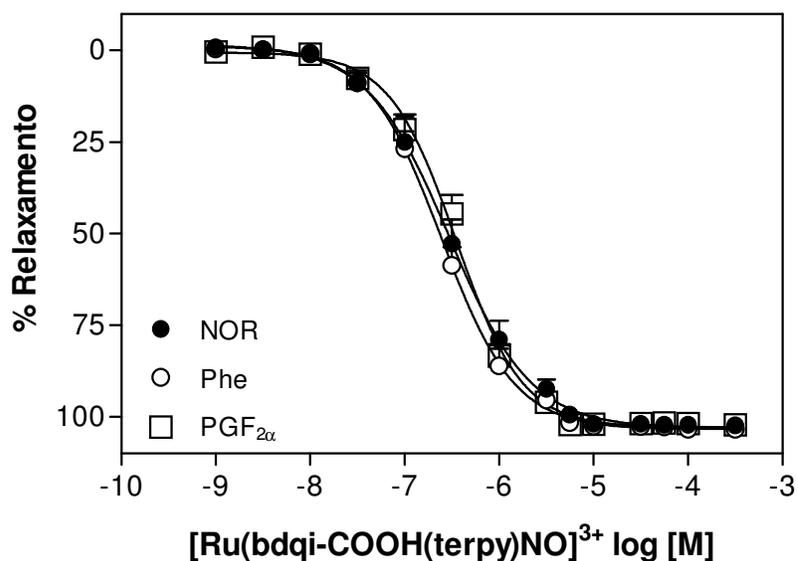


Figura 118. Tempo de relaxamento para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$. Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas noradrenalina (\bullet) $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$, fenilefrina (\circ) $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ e prostaglandina (\square) $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ do complexo foi adicionado. Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais (de LIMA et al., 2005b).

A noradrenalina e a fenilefrina são utilizadas como vasoconstritores e também agem como substâncias redutoras. Nos estudos do complexo $(\text{RuCl}(\text{15ane})\text{NO})^{2+}$ como vasodilatador (BONAVENTURA et al., 2004), foi utilizado a noradrenalina como pré-contrátil e espécie redutora para a liberação do NO pelo complexo. Neste estudo foi mostrado que a liberação do NO pelo complexo ocorre de maneira extracelular.

Para os estudos com o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ com diferentes pré-contráteis (Figura 118) a semelhança entre os resultados de

vasorelaxamento induz à hipótese de que o complexo entra na célula endotelial e por efeito de redutases intracelulares o NO é liberado.

Com base nos estudos fotoquímicos realizados para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação na região do visível, estudou-se o relaxamento da musculatura lisa vascular quando o sistema é submetido à irradiação luminosa.

Na Figura 119, vê-se a potencialização na liberação de NO pelo complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sob irradiação na região do visível em comparação ao seu efeito sem a luz.

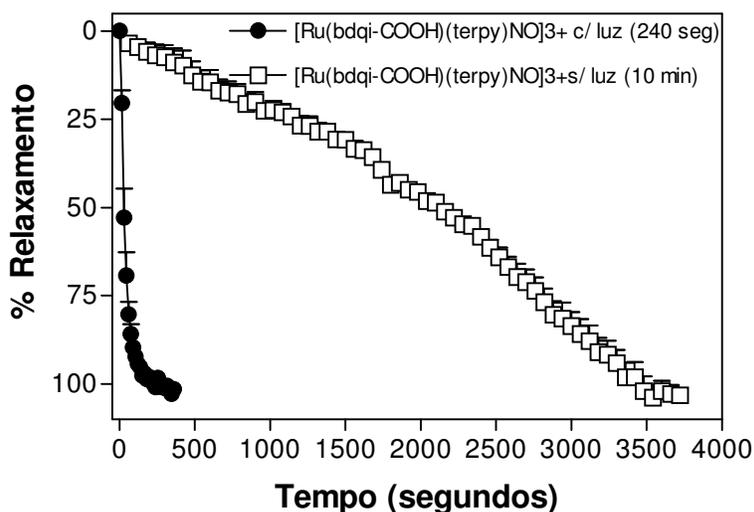


Figure 119. Tempo de relaxamento para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (●) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ sem (□) e com (●) irradiação na região do visível. Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas com fenilefrina $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$. Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais (de LIMA et al., 2005b).

O complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ sem irradiação luminosa promoveu 100 % de relaxamento muscular em cerca de 10 min e quando irradiado o resultado foi em 4 min. Isto mostra o efeito potencializador da luz na liberação do NO pelo complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$. Vale ressaltar que o endotélio da musculatura arterial foi retirado antes dos

estudos, a fim de se evitar interferência, já que este pode exercer influência no processo de relaxamento.

Considerando os promissores resultados do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ como fármaco vasodilatador, o mesmo foi estudado em comparação ao NPS (nitroprussiato de sódio) vasodilatador utilizado em emergências clínicas (BONAVENTURA et al., 2004).

Na Figura 120, vê-se os resultados de relaxamento muscular para os compostos $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e NPS sob irradiação em 532 nm.

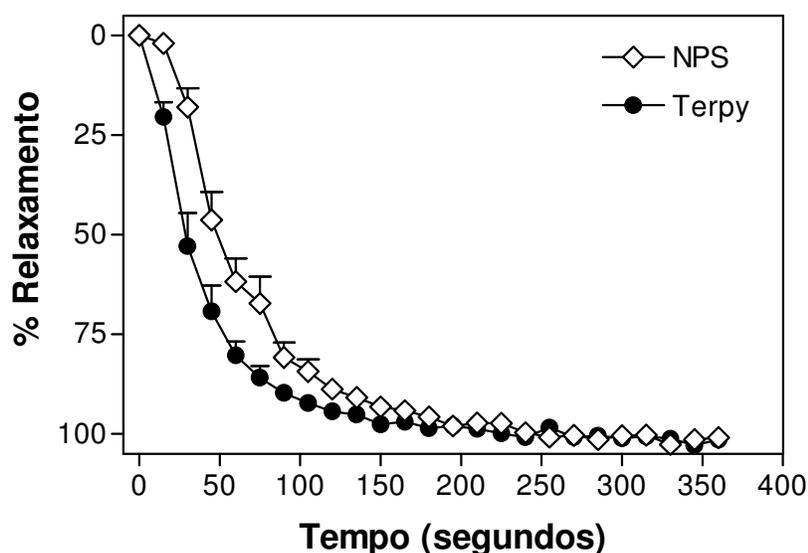


Figure 120. Tempo de relaxamento para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (●) $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e NPS (◇) $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ sob irradiação em 532 nm. Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas com fenilefrina $0,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$. Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais (de LIMA et al., 2005b).

O tempo para 100 % de relaxamento muscular para os dois compostos sob irradiação em 532 nm foi semelhante (cerca de 6 min). No entanto, a ação do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ mostra vantagens sobre NPS, já que o mecanismo de ação do NPS envolve a liberação de íons cianeto (SMITH & DASGUPTA, 2001).

A ação vasodilatadora do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ encapsulado em matriz sólida sol-gel também foi avaliada sob irradiação em 355 nm (Figura 121).

Na Figura 121 é possível observar a labilização do NO, pelo complexo encapsulado na matriz sólida após irradiação no ultravioleta, devido ao resultado de relaxamento em comparação a matriz sólida sem o complexo.

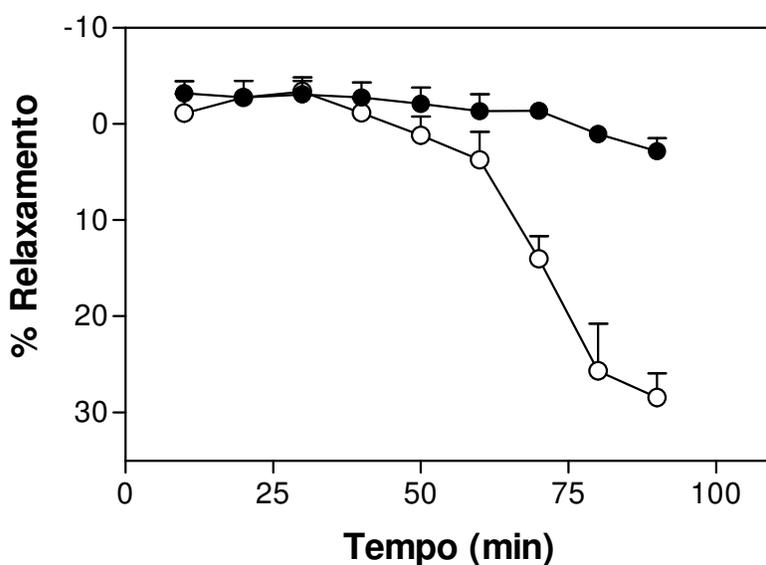


Figura 121. Tempo de relaxamento para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ encapsulado na membrana sol-gel (○) e controle sem complexo (●). Anéis de aorta torácica foram pré-contraídas com fenilefrina 100 nmol L^{-1} . Dados tratados \pm SEM de n preparações a partir de diferentes animais.

7.2. Resultados Preliminares do Efeito do Óxido Nítrico em Cultura de Células Neoplásicas

O NO atua em carcinogênese, progressão tumoral e na terapia do câncer dependendo das condições intracelulares, como tipo de célula alvo, concentração de NO e presença de outras espécies radicalares (WELLER, 2003; CHIANG et al., 2005). A resposta apoptótica celular parece depender significativamente do potencial redox da célula que é influenciado pelos níveis de óxido nítrico. No entanto, ao mesmo tempo

em que altas concentrações de NO promovem o efeito tumoricida (morte celular), mecanismos de proteção celular anti-apoptose (efeito tumorigênico) mediado pelo NO estão sendo estudados, mas ainda não foram totalmente elucidados. Sob influência citotóxica do NO, as células tumorais podem morrer por apoptose ou necrose (KRÖNCKE et al., 1997). Dentre as hipóteses para elucidação dos mecanismos que envolvem o processo de apoptose ocasionado pelo NO destacam-se: indução da expressão de Bcl-2 que é um inibidor do processo de ativação das caspases (CALSGRIERSON & ORMEROD, 2004), inativação de enzimas que reparam o DNA e indução do fator de transcrição p53 (KRÖNCKE, et al., 1997).

Neste caso, ensaios de citotoxicidade celular em linhagens de células neoplásicas foram propostos para o complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$.

As linhagens de células estudadas foram dos tipos **WM 1617** e **WM 278**. Essas linhagens são do tipo melanoma e no caso da **WM 1617** é a mais agressiva por estar na fase de metástase.

Na Figura 122 observou-se a capacidade citotóxica do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ frente as linhagens de célula **WM 278** e **WM 1617** incubadas durante 48 h.

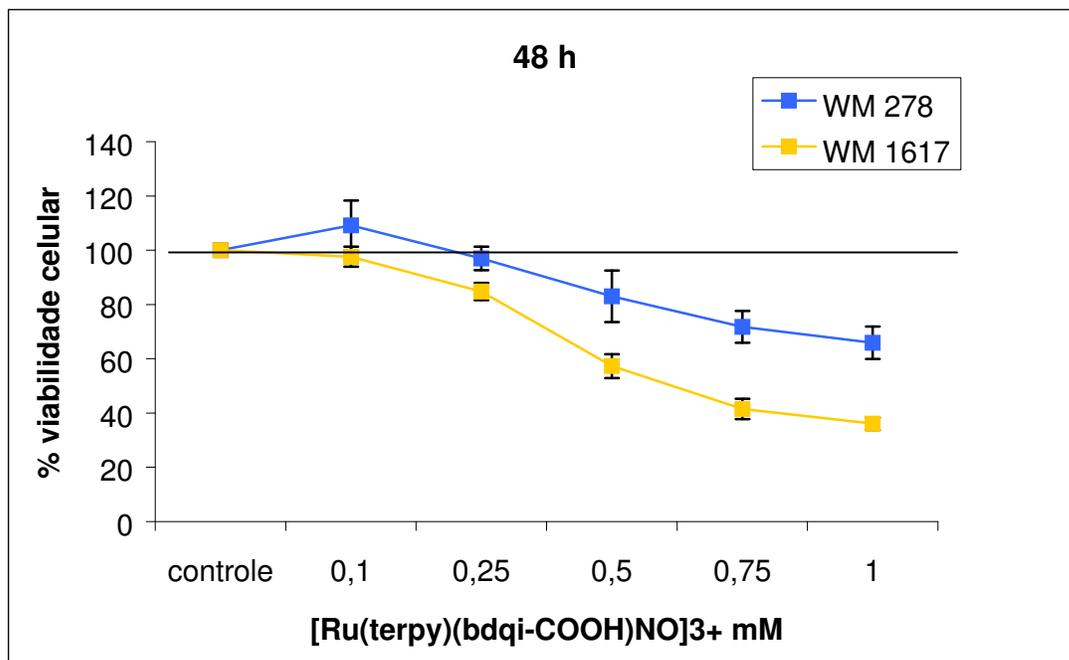


Figura 122. viabilidade celular do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ frente as linhagens de célula **WM 278** e **WM 1617**. Tempo de incubação 48 h.

A capacidade citotóxica do complexo em linhagens do tipo **WM 278** foi de 30 % enquanto que em linhagens **WM 1617** de 60 %.

Tais resultados são pertinentes com o descrito por Zhao et al., (2005) que relatou a citotoxicidade do NO em linhagens de carcinoma de células do tecido bucal (Tca8113) incubado com NPS em 12, 24 e 48 h. Após 48 h de incubação do NPS (4 mmol L^{-1}) foi verificada a morte celular de 90 % das células cultivadas.

A diferença entre a viabilidade celular dos doadores exógenos de NO: NPS e $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$, deve-se aos diferentes tipos de linhagens de células estudadas. No entanto, vale ressaltar a importância do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ como agente anti-tumoral, pois o NPS libera íons cianeto, que são altamente tóxico para as células tumorais e saudáveis.

No intuito de se verificar o possível mecanismo de ação do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em linhagens de células **WM 1552**, **278** e **1617**, foi proposto a incorporação de iodeto de propídio *in situ* (item 4. 22. 3). O iodeto de propídio é um marcador de células normais. Quando incorporado por estas células, as mesmas são marcadas em vermelho.

Na Figura 123, vê-se que as culturas de células **WM 1552** e **278** foram marcadas quase em sua totalidade em comparação a cultura de célula **WM 1617**.

Isto significa, que o mecanismo de ação do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqj-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ é diferente para as culturas de células estudadas. Provavelmente, a ação tumorigênica do complexo em células **WM 1617** deve-se à fragmentação do DNA celular.

Figura 123. Citometria de Fluxo do complexo $(\text{Ru}(\text{bdqi-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ em linhagens de células **WM 1552, 278 e 1617**.

8. Resultados dos Cálculos Teóricos para os complexos $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$, onde L= bpy e bdcac-COOH

A fotoreatividade observada entre as espécies $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ e $(\text{Ru}(\text{bdcac-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ nos levou a considerar que os orbitais envolvidos nos processos fotoquímicos fossem diferentes. Assim sendo, procedemos estudos preliminares relativos a determinação das estruturas destes orbitais.

A Figura 124, vê-se as estruturas otimizadas de orbitais moleculares para os dois complexos. Foram feitas pesquisas dos modos vibracionais e todas as frequências vibracionais encontradas não apresentaram frequência imaginária, indicando que tem-se um ponto mínimo de energia.

Figura 124. Estruturas para os complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})(\text{NO})^3+$ (A) e $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^3+$ (B).

A discussão sobre a participação dos orbitais do centro metálico e do ligante nitrosil nos níveis HOMO e LUMO foram mostrados nas representações das Figuras 125 e 126, para as duas estruturas.

Nota-se que o orbital HOMO para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺ existe a contribuição dos orbitais de fronteira do rutênio, do NO e do co-ligante bipyridina, enquanto que para o complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)³⁺ há a participação do orbital π^* do NO e do rutênio.

Com relação ao orbital LUMO é interessante notar que as participações são muito parecidas. Sendo as participações pelos orbitais do centro metálico, NO e co-ligante "L".

Neste caso, a transição eletrônica entre o orbital HOMO e LUMO para os complexos (Ru(terpy)(L)NO)³⁺ poderia ser descrita como:

$$d\pi_{\text{HOMO}} = \psi_1 = \psi_{\text{Ru}} + \psi_{\text{NO}} + \psi_{\text{L}}$$

$$d\pi_{\text{LUMO}} = \psi_2 = \psi_{\text{Ru}} + \psi_{\text{NO}} + \psi_{\text{L}}$$

Sendo que ψ_2 é semelhante entre ambas as espécies. E no caso de ψ_1 para o complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)³⁺ há contribuição das funções de onda do centro metálico e do NO. Já ψ_1 para o complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺ é constituído dos orbitais do rutênio e do NO, além da participação do orbital do co-ligante bipyridina.

Provavelmente, a menor fotoreatividade do complexo (Ru(bpy)(terpy)NO)³⁺ quando irradiados em 355 nm se deve a transição TCML = $\psi_1 \rightarrow \psi_2$ com contribuição das funções de ψ_{NO} em ψ_{L} , diferente do complexo (Ru(bdcat-COOH)(terpy)NO)³⁺ com maior contribuição de ψ_{NO} .

Figura 125. Representação dos orbitais HOMO para os complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (A) e $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (B).

Figura 126. Representação dos orbitais LUMO para os complexos $(\text{Ru}(\text{bpy})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (A) e $(\text{Ru}(\text{bdcat-COOH})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ (B).

9. Considerações Finais

A síntese e o estudo de complexos nitrosilos de rutênio do tipo $(\text{Ru}(\text{terpy})(\text{L})\text{NO})^{3+}$ — L= Cl^- , bpy, bdcac-COOH, bdqi-COOH e 2-pySH — possibilitou verificar a riqueza de suas propriedades físico-químicas, fotoquímicas e biológicas. Esses compostos são termicamente estáveis e possuem em sua estrutura a molécula de óxido nítrico. Devido à importância biológica do NO, esses compostos tornam-se interessantes no sentido de poderem ser utilizados como doadores de NO. Foi verificado que isso ocorre por estímulo fotoquímico na região do ultravioleta e visível, o que possibilita o controle da geração de NO.

Os testes biológicos, de relaxamento muscular e citotoxicidade celular, demonstraram resultados promissores para a utilização desses compostos como fármacos.

Embora a obtenção de novos fármacos não ter sido objetivo deste trabalho, os resultados aqui obtidos nos permite vislumbrar a possibilidade destes ou mesmo a modelagem de novos compostos que possam ser utilizados como fármacos.

Resultados preliminares de citotoxicidade celular em células tumorais nos leva a considerar as espécies relatadas aqui, aquela de maior potencialidade já verificada dentre todos os complexos nitrosilos anteriormente descritos. Esta observação constitui ser a base do estudo mecanístico deste compsto em sistemas biológicos para o desenvolvimento do projeto "Expressão Gênica Diferencial e Caracterização Funcional de Alvos Moleculares Visando o Desenvolvimento de Terapia Anti-Tumoral Direcionada e Diagnose do Câncer" (CNPq processo n ° 401322/2005-0) coordenado pela Profa. Dra. Enilza M. Espreafico do qual o Prof. Dr. Roberto Santana da Silva faz parte.

10. Referências Bibliográficas

- ABBOTT, L. C.; NAHM, S. S. Neural nitric oxide synthase expression in cerebellar mutant mice. **Cerebellum**, v. 3, p.1412-151, 2004.
- ABUFARAQ, A.; REEDIJK, J. Ruthenium complexes tetraared to organic DNA intercalators. **J. Inorg. Biochem.**, v. 59, p. 137, 1995.
- ABRAMS, M. J.; MURRER, B. A. Metal compounds in therapy and diagnosis. **Science**. v. 261, p. 725-30, 1993.
- ADAMSON, A. W.; FILEISCHAWER, P. D. Concepts of Inorganic Photochemistry, Wiley Interscience, p. 81, 1975.
- AINSCOUGH, E. W.; BRODIE, A. M. Nitric oxide – some old and new perspectives. **J. Chem. Educ.** v. 72, p. 686-92, 1995.
- ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J. Ruthenium in medicine: current clinical uses and future prospects. **Platinum Metals Rev.** v. 45, p. 62-9, 2001.
- ALLEN, A. D; SENOFF, C. V. Preparation and infrared spectra of some amminecomplexes of ruthenium(II) and ruthernium (III). **Can. J. Chem.**, v. 45, p. 1337-41, 1967.
- ALLEN, G.H.; WHITE, R.P.; RILLEMA, D.P.; MEYER, T.J. Synthetic control of excited-state properties. Tris-chelate complexes containing the ligands 2,2'-bipyrazine, 2,2'-bipyridine, and 2,2'-bipyrimidine, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 106, p. 2613-20, 1984.
- AMOYAL, E; BAHOUT, M; CALZAFERRI, G. Excited states of M(II,d6)-4'-phenylterpyridine complexes: electron localization **J. Am. Chem. Soc.**, v.95, p. 7641-49, 1991.

- ARGAZZI, R.; IHA, N. Y. M.; ZABRI, H.; ODOBEL, F.; BIGNOZZI, C. A. Design of molecular dyes for application in photoelectrochemical and electrochromic devices based on nanocrystalline metal oxide semiconductors. **Coord. Chem. Rev.**, v. 248, p. 1299-316, 2004.
- ASPLEY, C. J.; SMITH, J. R. L., PERUTZ, R. N. Systematic synthesis and photochemistry of tetraaryl porphyrins mono-substituted with a transition metal carbonyl: characterization of a zinc porphyrin-rhenium carbonyl complex. **J. Chem. Soc. - Dalton Trans**, v. 14, p. 2269-71, 1999.
- ASSEFA, Z.; STANBURY, D. M. Oxidation of coordinated ammonia to nitrosyl in the reaction of aqueous chlorine with cis-(Ru(bpy)₂(NH₃)₂)²⁺, **J. Am. Chem. Soc.**, v.119, 521-30, 1997.
- AU, Y. K.; WONG, W. T. Ruthenium 1994. **Coord. Chem. Rev.**, v. 162, p. 417-75, 1997.
- AUBURN, P. R.; DODSWORTH, E. S.; HAGA, M.; LIU, W.; NEVIN, W. A.; LEVER, A. B. P. Bis(dioxolene)bis(pyridine)ruthenium redox series. **Inorg. Chem.**, v. 30, p. 3502-12, 1991.
- BAILEY, V. M. R.; GALANG, J. L. C.; DOAN, P. E.; CLARKE, M. J. ¹H and ³¹P NMR and EPR of pentaaminruthenium(III) complexes of endocyclically coordinated nucleosides and related heterocyclic bases autoxidation of (Guokn7)(NH₃)₅Ru^{III}) (giok = guanosine). Crystal structure of 7MeGuaKn9(NH₃)₅Ru)Cl₃.3H₂O. **Inorg. Chem.**, v. 36, p. 1873, 1997.
- BALZANI, V.; CARASSITE, V. Photochemistry of coordination compounds., Academic Press, Nova Iorque, 1970, Cap.1, 1-78.

- BALZANI, V.; CREDI, A.; VENTURI, M. Photochemistry and photophysics of coordination compounds: An extended view. **Coord. Chem. Rev.**, v.171, p.3-16, 1998.
- BASTOS, C. M.; GORDON, K. A.; OCAIN, T. D. Synthesis and immunosuppressive activity of ruthenium complexes. **Bioorg. Med. Chem. Let.**, v. 8, p. 147, 1998.
- BATISTA, A. A.; QUEIROZ, S. L.; HEALY, P. C.; BUCKLEY, R. W.; BOYD, S. E.; BERNERS-PRICE, S. J.; CASTELLANO, E. E.; ELLENA, J. A novel coordination mode for a pyridylphosphine ligand. X-ray structures of (RuCl₂(NO)L) (I) and (RuCl₂(NO)L) center dot DMSO (II) (L = ((2-py)(2)PC₂H₄POO(2-py)(2))(-)). **Can. J. Chem.** v. 79, p. 1030-5, 2001.
- BATISTA, A. A.; PEREIRA, C.; QUEIROZ, S. L.; DE OLIVEIRA, L. A. A.; SANTOS, R. H. D.; GAMBARDELLA, M. T. D. Nitrosyl ruthenium complexes with general formula (RuCl₃(NO)(P-P)) (P-P = {PPh₂(CH₂)_nPPh₂}, n = 1-3 and {PPh₂-CH = CH-PPh₂}). X-ray structure of (RuCl₃(NO){PPh₂(CH₂)₃PPh₂}. **Polyhedron**. v. 16, p. 927-31, 1997.
- BAKHTIAR, R.; OCHIAI, E. I. Pharmacological applications of inorganic complexes, **Gen. Pharmacol.** v. 32, p. 525-40, 1999.
- BLAU, F. **Bericht**, 21, 1077, 1888.
- BARANOVSKI, V. I.; SIZOVA, O. V. The properties of some organic molecule as free species and as ligands in ruthenium(II) complexes. **Chem. Phys. Let.**, v. 315, p. 130-134, 1999.
- BECKMAN, J. S. The physiological and pathological chemistry of nitric oxide. In: LANCASTER JUNIOR, J. (ed.) *Nitric oxide. Principles and Actions*. Califórnia, American Press, Cap.1, p. 1-81, 1996.

- BENTO, M. L.; TFOUNI, E. Spectra, reduction potentials and coordinated pyrazine basicities in the ruthenium(II) complexes *trans*-Ru(NH₃)₄LL'ⁿ⁺¹. ***Inorg. Chem.***, v. 27, p. 3410-3, 1988.
- BERNERS-PRICE, S. J.; SADLER, P. J. Coordination chemistry of metalodrugs: insights into biological speciation from NMR spectroscopy. ***Coord. Chem. Rev.***, v. 151, p. 1-40, 1996.
- BIGNOZZI, C. A.; CHIORBOLI, C.; MURTAZA, Z.; JONES, W. E.; MEYER, T. J. Photophysical and photochemical behavior of nitro complexes of ruthenium(II). ***Inorg. Chem.***, v.32, 1036-8, 1993.
- BONAVENTURA, D.; OLIVEIRA, F. D.; TOGNILOLO V.; TEDESCO. A. C.; DA SILVA, R. S.; BENDHACK, L. M. A macrocyclic nitrosyl ruthenium complex is a NO donor that induces rat aorta relaxation. ***Nitric-Oxide Biol. Chem.***, v. 10, p. 83-91, 2004.
- BONNETT, R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. ***Chem. Soc. Rev.***, v. 24, p. 19-33, 1995.
- BORDINI, J.; HUGHES, D. L.; NETO, J. D. D.; DA CUNHA, C. J . Nitric oxide photorelease from ruthenium salen complexes in aqueous and organic solutions. ***Inorg. Chem.***, v. 41, p.5410-16, 2002.
- BORDINI, J., FORD, P. C.; TFOUNI, E. Photochemical release of nitric oxide from a regenerable, sol-gel encapsulated Ru-salen-nitrosyl complex. ***Chem. Comm.***, v. 33, p. 4169-71, 2005.
- BORGES, S. S. S. et al. Ruthenium nitrosyl complexes with n-heterocyclic ligands. ***Inorg. Chem.***, v. 37, p. 2670-7, 1998.
- BORGSTRÖM, M. et al. Electron donor-acceptor dyads and triads based on tris(bipyridine)ruthenium(II) and benzoquinone: synthesis, characterization,

and photoinduced electron transfer reactions. **Inorg. Chem.**, v. 42, p. 5173-84, 2003.

BARTHOLO, RF; DAVIDSON, RS. Photosensitized oxidation of amines .2. Use of dyes as photosensitisers – evidence that singlet oxygen of not involved. **J. Chem. Soc. C-Organic**, v.12, p.2347-&,1971.

BOTTOMLEY, F. Nitrosyl complexes of ruthenium. **Coord. Chem. Rev.**, v. 26, p. 7-32, 1978.

BOURASSA, J.; DEGRAF, F. W.; KUDO, S.; WINK, D. A.; MITCHELL, J. B.; FORD, P. C. Photochemistry of Roussin' s red salt, $\text{Na}(\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{NO})_4)$, and of Roussin' s black salt, $\text{NH}_4(\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_7)$. In situ nitric oxide generation to sensitize gamma-radiation induced cell death. **J. Am. Chem Soc.**, v. 119, p. 2853-60, 1997.

BOYDE, S.; STROUSE, G.F.; WAYNE, E.; THOMAS, J.J.; MEYER, J. The effect on MLCT excited states of electronic delocalization in the acceptor ligand, **J. Am. Chem Soc.**, v. 112, p.7395-7396, 1990.

BUCHANAN, R. M. Counterligand dependence of charge – distribution in copper quinone complexes. **J. Am. Chem. Soc.**, v.25, p. 308, 1986.

BURNEY, S., CAULFIELD, J. L., NILES, J. C., WISHNOK, J. S., TANNENBAUM, S. R. The chemistry of DNA damage from nitric oxide and peroxyxynitrite. **Mutat Res-Fundam Mol Mech Mutagenesis**, v.424, p. 37-49, 1999.

BUTLER, A. R. The biological roles of nitric oxide. **Chemistry & Industry**, v. 26, p. 828-30, 1995.

- CALLAHAN, R. W.; MEYER, T. J. Reversible electron transfer in ruthenium nitrosyl complexes. **Inorg. Chem.**, v.16, p. 574-81, 1977.
- CHAISSON, D. A.; PETERSEN, J. D.; HINTZE, R. E.; FORD, P. C.; STUERMER, D. H.; MCDONALD, D. P. Photochemical reaction pathways of ruthenium(II) complexes. III. Metal-to-ligand charge-transfer excitation of the pentaamminepyridineruthenium(II) cation and related species. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 94, p. 6665-73, 1972.
- CALS-GRIERSON, M. M.; ORMEROD, A. D. Nitric oxide function in the skin. **Nitric oxide -Biol. Chem.** v. 10, p. 179-93, 2004.
- CALLAHAN, R. W.; MEYER, T. J. Reversible electron transfer in ruthenium nitrosyl complexes. **Inorg. Chem.** v. 16, p. 574-81, 1977.
- CAMERA, S.; TOMA, H. E. Photophysical behavior of molecular dyads and triad comprising tris(bipyrazine)ruthenium^{II}, bis(bipyridine)chlororuthenium^{II} and pentacyanoferrate^{II} complexes. **J. Photochem. Photobiol. A.**, v. 151, p. 57-65, 2002.
- CAMERON, B. R.; BAIRD, I. R.; Metals in medicine: a review of the symposium. **J. Inorg. Biochem.**, v. 83, p. 233, 2001.
- CASPAR, J. V.; MEYER, T.J. Photochemistry of MLCT excited state – effect of nonchromophoric ligand variations on photophysical properties in the series cis-Ru(BPY)₂L₂²⁺, **Inorg. Chem.**, v. 22, p.2444, 1983.
- CASS, M. E.; PIERPONT, C. G. Synthesis of tris-(3,5-di-tert-butylcatecholato)molybdenum(IV) and its reaction with molecular-oxygen. **Inorg. Chem.**, v. 25, p. 122, 1986.

CARLOS, R. M.; FERRO, A. A.; SILVA, H. A. S.; GOMES, M. G.; BORGES, S. S. S, FORD P. C.; TFOUNI, E.; FRANCO, D. W. Photochemical reactions of *trans*-(Ru(NH₃)₄L(NO))(3+) complexes. *Inorg. Chim. Acta.*, v. 357 , p. 1381-88, 2004a.

CARLOS, R. M.; CARDOSO, D. R.; CASTELLANO, E. E.; OSTI, R. Z.; CAMARGO AJ, MACEDO, L. G.; FRANCO, D. W. Reactivity of radicals generated on irradiation of *trans*-(Ru(NH₃)₄(NO₂)P(OEt)₃)(PF₆). *J. Am. Chem. Soc.*, v. 126, p. 2546-55,2004b.

CARTER, T. D.; BETTACHE, N.; OGDEN, D. Potency and kinetics of nitric oxide-mediated vascular smooth muscle relaxation determined with flash photolysis of ruthenium nitrosyl chlorides. *Brit. J. Pharmacol.*, v. 122, p. 971-73, 1997.

CHAMBRON, J. C.; COLLIN, J. P.; DALBAVIE, J. O.; DIETRICH-BUCHECKER C. O.; HEITZ, V.; ODOBEL, F.; SOLLADIE, N.; SAUVAGE, J. P. Rotaxanes and other transition metal-assembled porphyrin arrays for long-range photoinduced charge separation. *Coord. Chem. Rev.*, v. 178-180, p. 1299-312, 1998.

CHANDA, N.; PAUL, D.; KAR, S.; MOBIN, S. M.; DATTA, A.; PURANIK, V. G.; RAO, K. K.; LAHIRI, G. K. Effect of 2-(2-pyridyl)azole-based ancillary ligands (L¹⁻⁴) on the electrophilicity of the nitrosyl function in (Ru^{II}(trpy)(L¹⁻⁴)(NO))³⁺ (trpy = 2,2':6',2''terpyridine). Synthesis, structure, and spectroscopic, electrochemical, and kinetic aspects. *Inorg. Chem.*, v. 44, p. 3499-3511, 2005.

CHANDA, N.; SARKAR, B.; KAR, S.; FIEDLER, J.; KAIM, W.; LAHIRI, G. K. Mixed valence aspects of diruthenium complexes ((L)ClRu)₂(μ-tppz)⁽ⁿ⁺⁾ incorporating 2-(2-pyridyl)azoles (L) as ancillary functions and 2,3,5,6-tetrakis(2-pyridyl)pyrazine (Tppz) as bis-tridentate bridging ligand. *Inorg. Chem.*, v.43, p. 5128-5133, 2004.

CHEN, Y.; SWEETLAND, M. A., SHEPHERD, R. E. A reversible NO complex of Fe^{II}(TIM): an $S = 1/2$ FeNO⁷ nitrosyl. *Inorg. Chim. Acta*. v. 260, 163-72, 1997.

CHEN, Y.; SHEPHERD, R. E. (Ru^{II}(ttha)(H₂O))²⁺ is a rapid NO Scavenger (ttha⁶⁻ = triethylenetetraminehexaacetate). *J. Inorg. Biochem.* v. 68, p. 183-90, 1997.

CHEN, Y.; LIN, F. T.; SHEPHERD, R. E. N-15 NMR and electrochemical studies of (Ru^{II}(hedta))⁽⁻⁾ complexes of NO, NO⁺, NO²⁻, and NO⁻. *Inorg. Chem.* v. 38, p. 973-83, 1999.

CHENEY, R. P.; ARMOR, J. N. reactivity of coordinated nitrosyl. 6. Preparation, and reduction nitrosylpentaquaoruthenium(3+) and reduction of various ruthenium ammine nitrosyls. *Inorg. Chem.*, v. 16, p. 3338-44, 1977.

CHI, C. M.; SI, S. K.; CHUNG, K. P.; TING, F. L.; THOMAS C. W. M. *Cis*-ruthenium complexes of 1, 4, 8, 11-tetraazacyclotetradecane (cyclam): crystal and molecular structure of *cis*-(Ru(cyclam)Cl₂). *Inorg. Chem.*, v. 24, p. 1359-66, 1985.

CHIANG, T.M.; SAYRE, R.M.; DOWDY, J.C.; WILKIN, N.K.; ROSENBERG, E.W. Sunscreen ingredients inhibit inducible nitric oxide synthase (iNOS): a possible biochemical explanation for the sunscreen melanoma controversy. *Melanoma Res.*, v. 15, p. 3-6, 2005.

CLARK, R.; HECKER, A.; GUSHURST, K.I.; MCMILLIN, D.R. Phenyl substituents and excited-state lifetimes in ruthenium(II) terpyridyls, *Inorg. Chem.*, v. 30, p. 538-541, 1991.

COCKS, A. T.; WRIGHT, D.; SEDDON, K. R. Photophysical properties of mixed-ligand

ruthenium(II) complexes (Ru(1,10-phenantroline)_n{2-(2-pyryl)quinoline}_{3-n})²⁺ (n= 0,1,2 or 3). **Chem. Phys. Lett.**, v. 85, p. 369-373, 1982.

COE, B. J.; THOMPSON, D. W., CULBERTSON, C. T.; SCHOONOVER, J. R.; MEYER, T. J. Synthesis and photophysical properties of mono(2,2',2''-terpyridine) complexes of ruthenium (II). **Inorg. Chem.**, v. 34, p. 3385-95, 1995.

COLLIN, J.P.; HARRIMAN, A.; HEITZ, V.; ODOBEL, F.; SAUVAGE, J. P. Transition metal-assembled multiporphyrinic systems as models of photosynthetic reaction center. **Coord. Chem. Rev.**, v. 148, p. 63-9, 1996.

COMBA, P. Metal ion selectivity and molecular modeling. **Coord. Chem. Rev.**, v. 185-186, p. 81, 1999.

CONNORS, K. Chemical Kinetics- The study of reaction rates in solution. United States, VCH, 1990.

COPPENS, P.; NOVOZHILOVA I.; KOVALEVSKY, A. Photoinduced linkage isomers of transition-metal nitrosyl compounds and related complexes. **Chem. Rev.**, v. 102, p. 861-84, 2002.

CREUTZ C.; TAUBE, H. Binuclear complexes ruthenium amines. **J. Am. Chem Soc.**, v. 95, p. 1086-94, 1972.

CRIADO, S.; PAJARES, A.; GIANOTTI, J.; STETTLER, G.; ESCALADA, J. P.; BERLOTTI, S.; AMAT-GUERRI, F.; GARCIA. Kinetic study of the riboflavin-sensitized photooxygenation of two hydroxyquinolines of biological interest. **J. Photochem. Photobiol. B-Biology**, v. 71, p. 19-25, 2003.

CROSBY, G. A. Structure, bonding, and excited states of coordination complexes. **J. Chem. Edu.**, v. 60, p. 791-96, 1983.

- CULOTTA, E.; KOSHLAND JUNIOR, D. E. NO news is good news. **Science**, v. 258, p. 1862-5, 1992.
- DAVISS, S. S.; ILLUM, L. Drug delivery system for challenging molecule. **Internat. J. Pharmac.**, v. 176, p.1-8, 1998.
- DALMORA, M.E.; DE OLIVEIRA, A.G. Inclusion complex of piroxicam with beta-cyclodextrin and incorporation in hexadecyltrimethylammonium bromide based microemulsion. **Inter. J. Pharmac.**, v. 184, p. 157-164. 1999.
- DEB, A. K.; PAUL, P. C.; GOSWAMI, S. Synthesis, characterization, and reactivity of new mononitrosyl complexes of ruthenium containing 2-(aryloxy)pyridines: examples of strongly electrophilic nitrosyls. **J. Chem. Soc. Dalton Trans.** v. 8, p. 2051-4, 1988.
- De LEO, M. A; FORD, P. C. Photoreactions of coordinated nitrite ion. Reversible nitric oxide labilization from the chromium (III) complex (*trans*-Cr(cyclam)(ONO)₂)⁺. **Coord. Chem. Rev.** v. 208, p. 47-59, 2000.
- De OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CHAIMOVICH, H. Effect of hexadecyltrimethylammonium bromide-based microemulsions on the rate of decomposition of the beta-lactam antibiotic cephaclo. **J. Pharmac. Scienc.**, v. 86, p. 616-20.,1997.
- De OLIVEIRA, A.G, SCARPA, M.V, CORREA, M.A, CERA, L.F.R, FORMARIZ, T.P. Microemeulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**. v. 27, p. 131-38. 2004.
- DELEARIE, L. A.; HALTIWANGER, R. C.; PIERPONT, C. G. Synthesis structures and properties of the catecholate rhenium (VI) complexes Re(O₂C₆H₂(TBU)₂)₃ and

$\text{Re}(\text{O}_2\text{C}_6\text{Cl}_4)_3$. **Inorg. Chem.**, v. 26, p. 817, 1987.

DELMEDICO, A. Linkage isomers of ruthenium alizarin complexes. **Inorg. Chem.**, v. 33, p. 1534, 1994.

DEMAS, J. N. Photophysical pathways in metal complexes., **J. Chem. Edu.**, v. 60, p. 803-808, 1983.

DEMAS, J. N.; BOWMAN, W. D. Determination of the quantum yield of the ferrioxalate actinometer with electrically calibrated radiometers. **J. Phys. Chem.**, v. 85, p. 2766-71, 1981.

DeROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. **Coord. Chem. Rev.** v. 233, p. 351-71, 2002.

DE ROSA, F. S.; BENTLEY, M. V. L. B. Photodynamic therapy of skin cancers: sensitizers, clinical studies and future directives. **Pharm. Res.**, v. 17, p. 1447-55, 2000.

DIÓGENES, I.C.N.; NART, F.C.; TEMPERINI, M. L. A.; MOREIRA, I. C. The $(\text{Ru}(\text{CN})_5(\text{pyS}))^{4-}$ complex, an efficient self-assembled monolayer for the cytochrome c heterogeneous electron transfer studies. **Inorg. Chem.**, v. 40, p. 4884-89, 2001.

DIÓGENES, I. C. N.; NART, F. C.; TEMPERINI, M. L. A.; MOREIRA, I.C. The stability study of pentacyano(4-mercaptopiridine)ruthenate(II) self-assembled monolayer onto gold surface. **Electroanalysis**, v. 14, p. 153-7, 2002.

DIOGENES, I. C. N.; DE SOUSA J. R.; DE CARVALHO, I. M. M.; TEMPERINI, M. L. A., TANAKA, A. A.; MOREIRA, I. D. S. Self-assembled monolayers formed by $(\text{M}(\text{CN})_5(\text{pyS}))^{4-}$ (M = Fe, Ru) on gold: a comparative study on stability and efficiency to assess the cyt c heterogeneous electron transfer reaction. **Dalton Trans.**, v. 11, p. 2231-36, 2003.

- DOUGHERTY, T. J.; KAUFMAN, J. E.; GOLDFARB, A.; WEISHAUP, K. R.; BOYLE, D.; MITTLEMAN, A. Photoradiation therapy for treatment of malignant-tumors. **Cancer Res.**, v. 38, p. 2628-33, 1978.
- DOUGHERTY, T. J. Photodynamic therapy (PDT) of malignant tumors, **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 2, p. 83-90, 1984.
- DOUGHERTY, T. J. Photosensitizers – Therapy and detection of malignant tumors, **Photochem. Photobiol.**, v. 45, p.879-89, 1987.
- DOUGHERTY, T. J. Photodynamic therapy: part II. **Seminar Surgery Oncology**, v. 11, n. 5, p. 333-40, 1995.
- DOVLETOGLOU, A.; ADEYEMI, S. A.; MEYER, T. J. Coordination and redox chemistry of substituted-polypyridyl complexes of ruthenium. **Inorg. Chem.**, v. 35, p. 4120, 1996.
- DUATI, M.; TASCA, S.; LYNCH, F. C.; BOHLEN, H.; VOS, J. G.; STAGNI, S.; WARD, M. D. Enhancement of luminescence lifetimes of mononuclear ruthenium(II)-terpyridine complexes by manipulation of the or-donor strength of ligands. **Inorg. Chem.**, v.42, p. 8377-84, 2003.
- DURANTE, V. A.; FORD, P.C. Electron transfer photochromism. Flash photolysis of the binuclear complex pentaammineruthenium(II)(μ -pyrazine)copper(II). **J. Am. Chem. Soc.**, v. 97, p. 6898-6900, 1975.
- DURHAM, B.; WALSH, J. L.; CARTER C. L.; MEYER, T. J. Synthetic applications of photosubstitution reactions of poly(pyridyl) complexes of ruthenium(II). **Inorg. Chem.**, v. 19, p. 860-5, 1980a.
- DURHAM, B.; WILSON, S. R.; HODGSON, D. J.; MEYER, T. J. *Cis-trans* photoisomerization in $\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{OH}_2)_2^{2+}$. Crystal structure of *trans*- $(\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{OH}_2)(\text{OH}))(\text{ClO}_4)_2$. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 102, p. 600-7, 1980b.

DWYER, F. P.; GOODWIN, H. A.; GYARFAS, E. C. Mono and bis(2, 2'-bipyridine) and (1, 10-phenantroline) chelates of ruthenium and osmium. 1. Monochelates of bivalent, trivalent, and quadrivalent ruthenium. **Aust. J. Chem.** v. 16, p. 42, 1963.

EBADI M, LEVER ABP . Ruthenium complexes of quinone related ligands: A study of the electrochemical properties of 2-aminothiophenolatobis(2,2'-bipyridine)ruthenium(II). **Inorg. Chem.**, v. 38, p. 467-74, 1999.

ELSON, C. M.; ITZKOVITCH, I. J.; PAGE, J. A. Electrochemistry of ruthenium ammine complexes. **Can. J. Chem.** v. 53, p. 2922-9, 1975.

FELDMAN, P. L.; GRIFFITH, O. W.; STUEHR, D. J. The surprising life of nitric oxide. **C&EN**, v. 20, p. 26-33, 1993.

FERREIRA KQ, DORO FG, TFOUNI E . Aquation reactions of Ru-II and Ru-II dichloro complexes with 1-(3-propylammonium)cyclam - Properties of trans-(RuCl(L(1-(3-propylammonium)cyclam)))(n+) complexes (L = Cl-, tfms(-), H₂O). **Inorg. Chim. Acta**, v. 355, p. 205-12. 2003.

FERREIRA, K. Q.; SANTOS, F. G.; DA ROCHA, Z. N.; GUARATINI, T.; DA SILVA, R. S.; TFOUNI, E. . Conformational isomers of cis-chloro(nitrosyl)(1,4,7,10-tetraazacyclododecene)ruthenium(II), cis-((RuCl)-Cl-II(imcyclen)(NO⁺))(2⁺). Oxidation of the coordinated 1,4,7,10-tetraazacyclododecane (cyclen) ligand. **Inorg. Chem. Comm.**, v.7, p. 204-8, 2004.

FERRO, A. A. Síntese, caracterização e reatividade química e fotoquímica de aminas de rutênio (*trans*-(Ru(NO(NH₃)₄L)(BF₄)₃ (L= pz, 4-acpy, imN ou L-hist) e *trans*-(RuCl(NO)(cyclam))(PF₆)₂ (cyclam = 1, 4, 8, 11-tetraazaciclotetradecano). Ribeirão Preto, 2000. Tese (Doutorado) - Departamento de Química – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de

Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

FLAMIGNI, L.; BARIGELLETTI, F.; ARMAROLI, J. P. C.; DIXON, I. M.; SAUVAGE, J. P.; WILLIAMS, J. A. G. Photoinduced processes in multicomponent arrays containing transition metal complexes. **Coord. Chem. Rev.**, v. 190-192, p. 671-82, 1999.

FLITNEY, F. W.; MEGSON, I. L.; THOMSON, J. L. M.; KENNOVIN, G. D.; BUTLER, A. R. Vasodilator responses of rat isolated tail artery enhanced by oxygen-dependent, photochemical release of nitric oxide from iron-sulphur-nitrosyls. **Br. J. Pharmacol.**, v. 117, p. 1549-57, 1996.

FORD, P. C.; De RUDD, F. P.; GAUNDER, R.; TAUBE, H. Synthesis and properties of pentaamminepyridineruthenium(II) and related pentaammineruthenium complexes of aromatic nitrogen heterocycles. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 90, p.1187-94, 1968.

FORD, P.C. et al. Autoxidation kinetics of aqueous nitric oxide. **FEBS Lett.**, v. 326, n. 1, 2, 3, p. 1-3, 1968.

FORD, P. C.; et al. Synthesis and properties of pentaamminepyridine ruthenium(II) and related pentaammineruthenium complexes of aromatic nitrogen heterocycles. **J. Am. Chem Soc.** v. 90, p. 1187-94, 1968.

FORD, P. C.; WINK, D.; DIBENEDETTO, J. Mechanistic aspects of the photosubstitution and photo-isomerization reactions of D₆-metal complexes. **Progress. Inorg. Chem.**, v. 30, p. 213-271, 1983.

FORD, P. C. et al. Photochemistry of metal nitrosyl complexes. Delivery of nitric oxide to biological targets. **Coord. Chem. Rev.**, v. 171, p. 185-202, 1998.

- FORD, P. C.; WINK, D. A.; STANBURY, D. M. Autoxidation kinetics of aqueous nitric-oxide. **Febs. Lett.** v. 326, p.1-3, 1993.
- FORD, P. C.; BOURASSA, J.; MIRANDA, K.; LEE, B.; LORKOVIC, I.; BOGGS, S.; KUDO, S.; LAVERMAN, L. **Coord. Chem. Rev.**, v. 171, p. 185-202, 1998.
- FORD, P. C.; LAVERMAN, L. E. Reaction mechanisms relevant to the formation of iron and ruthenium nitric oxide complexes. **Coord. Chem. Rev.**, v. 249, p. 391-403, 2005.
- FORD, P. C.; WECKSLER, S. Photochemical reactions leading to NO and Nox generation. **Coord. Chem. Rev.**, v. 249, p. 1382-95, 2005.
- FUKUTO, J. M.; SWITZER, C. H.; MIRANDA, K. M.; WINK, D. A.; Nitroxyl (HNO): Chemistry biochemistry, and pharmacology. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.** v. 45, p. 335-55, 2005.
- FULLER ZJ, BARE WD, KNEAS KA, XU WY, DEMAS JN, DEGRAFF BA. Photostability of luminescent ruthenium(II) complexes in polymers and in solution. **Anal. Chem.**, v.75, p. 2670-77, 2003.
- FRICKER, S. P. et al. Ruthenium complexes as nitric oxide scavengers: a potential therapeutic approach to nitric oxide-mediated diseases. **Brit. J. Pharm.**, v. 122, p. 1441-9, 1997.
- GABIKIAN, P., CLATTERBUCK, R. E., EBERHART, C. G., TYLER, B. M., TIERNEY, T. S., TAMARGO, R. J. prevention of experimental cerebral vasospasm by intracranial delivery of a nitric oxide donor from a controlled-release polymer-toxicity and efficacy studies in rabbits and rats. **Stroke**, v. 33, p. 2681-86, 2002.
- GAGNÉ, R. R.; KOVAL, C. A.; LISENSKY, G. C. Ferrocene as an internal standard for

electrochemical measurements. **Inorg. Chem.**, v. 19, p. 2854-5, 1980.

GAUNDER, R. G.; TAUBE, H. The reduction of complexes of pentaammineruthenium(III) with pyridine derivatives. **Inorg. Chem.**, v. 12, p. 2627-39, 1970.

GELFUSO, G. M.; LOPEZ, R. F. V. Water-in-oil nanoemulsion for topical delivery of cisplatin: obtention and characterization, **Br. J. Pharm. Sci.**, 39, supl. 2, 326, TF68, 2003.

GODWIN, J. B.; MEYER, T. J. The preparation of ruthenium nitrosyl complexes containing 2, 2'-bipyridine and 1, 10-phenanthroline. **Inorg. Chem.**, v. 10, p. 471-4, 1971a.

GODWIN, J. B.; MEYER, T. J. Nitrosyl-nitrite interconversion in ruthenium complexes. **Inorg. Chem.**, v. 24, p. 2150-3, 1971b.

GOMES M. G.; DAVANZO C. U.; SILVA S. C.; LOPES L. G. F.; SANTOS P. S.; FRANCO D. W. *Cis-* and *trans-* nitrosyltetraammineruthenium(II). Spectral and electrochemical properties and reactivity. **J. Chem. Soc.-Dalton Trans.**, v. 4, p. 601-7, 1998.

GORELSKY, S. I.; et al. Electronic spectra of *trans*-(Ru(NH₃)₄(L)(NO))^{3+/2+} complexes. **Inorg. Chim. Acta.**, v. 300-302., p. 698-708, 2000.

GOTTFRIED, V.; PELED, D.; WINKELMEN, J. W.; KIMEL, S. Photosensitizers in organized media: singlet oxygen production and spectral properties. **Photochem. Photobiol.**, 48, 157-163, 1988.

GREEN, L. C.; DELUZURIAGA, K. R.; WAGNER, D. A.; RAND W.; ISTFAN N.; YOUNG V. R.; TANNENBAUM, S. R. Nitrate biosynthesis in man. **P. Natl. Acad. Sci-Biol.** v. 78, p. 7764-8, 1981.

- GUENGERICH, C. P.; SCHUG, K. Reaction of nitrosylpentaamminruthenium (II) with ethylamine, methylamine, and hexaammineruthenium(III) ion to produce dinitrogen complexes. *Inorg. Chem.* v. 17, p.1378-9, 1978.
- GUO, F.; SADLER, P. J. Medicinal inorganic chemistry. *Adv. Inorg. Chem.* v. 49, p. 183-306, 2000.
- GUPTA PK, DAHMIWAL NR. Methylene blue sensitized oxidation of 2-imidazolidinethione in microheterogeneous medium. Indian Journal of Chemistry Section *Abs.-Inorg. Bio-Inorg Phys. Theor. Anal. Chem.*, v. 35, p. 852-55, 1996.
- GUY, R.H.; HADGRAFT, J; On the determination of drug release rates from topical dosage forms. *Inter. J. Pharmac.*, v. 60. R1-R3, 1990.
- HADADZAHED, H.; DeROSA, M. C.; YAP, G. P.; REZVANI, A. R.; CRUTCHLEY, R. J. Cyclometalated ruthenium chloro and nitrosyl complexes. *Inorg. Chem.*, v. 41, p. 6521, 2002.
- HAGA, M.; DODSWORTH, E. S.; LEVER, A. B. P. Catechol-quinone redox series involving bis(bipyridine)ruthenium(II) and tetrakis(pyridine)ruthenium(II). *Inorg. Chem.*, v.25, p. 447-53, 1986.
- HARDWICK J. B.J.; TUCKER A. T.; WILKS M.; BENJAMIN N. A novel method for the delivery of nitric oxide therapy to the skin of human subjects using a semi-permeable membrane. *Clinic. Scienc.*, v.100, p. 395-400, 2001.
- HARRIS, D. H. Análise Química Quantitativa, 5º ed. Editora LTC- Livros Técnicos Científicos, 307-309, 2001.
- HARTL, H.; STUFKENS, D. J.; VLCER, JR. A. Mn(II) dioxolene bonding as a function of the ligand oxidation state: UV-vis, IR, resonance Raman, spectroelectrochemical study of $(Mn(Ln)(diox))_z^z$ ($n = 0,1$; $z = -2, -1, 0, +1$) and

(Mn(CO)₂{(P(OEt)₃)₃M(diox)}^z (n = -1, 0 +1) complex. *Inorg. Chem.*, v. 31, p. 1687, 1992.

HECKER, C.R, GUSHURST K.I, MEC MILLIN, D.R. Phenyl substituents and excited-state lifetime in ruthenium (II) terpyridyls. *Inorg. Chem.*, v. 30, p. 538-41, 1991.

HIRANO, T; UEDA, K; MUKAIDA, M; NAGAO, H; OI, T. Reactions of (RuCl₂(NO)(terpy))⁺ (terpy= 2,2' :6' , 2"-terpyridine) with mono anions such as NO₂⁻, Br⁻ and N₃⁻ and structural studies on terpydineruthenium having a nitrosyl ligand. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, v. p. 2341-45, 2001.

HOSHINO, M.; IIMURA, Y.; KONISHI, S. Photochemistry of molybdenum(V) tetraphenylporphyrin studied by laser flash-photolysis – light induced homolysis of the MO-O bond of oxoalkoxo(nitrito)molybdenum(V) and oxo(nitrito)molybdenum(V) tetraphenylporphyrin. *J. Phys. Chem.*, v. 96, p. 179-185, 1992.

HOU, Y.; CHE, Y.; AMRO, N. A.; WADU-METHRIGE, K.; ANDREANA, P.; LIU, G.; WANG, P.G. Nanomolar scale nitric oxide generation from self-assembled monolayer modified gold electrodes. *Chem. Comm.*, 1831-32. 2000.

HUTCHISON, K.; MORRIS, J. C.; NILE, T. A.; WALSH, J. L.; THOMPSON, D. W.; PETERSEN, J. D.; SCHOONOVER, J. R. Spectroscopic and photophysical properties of complexes of 4'-ferrocenyl-2,2' :6' , 2"-terpyridine and related ligands. *Inorg. Chem.*, v. 38, p.2516-23, 1999.

HYIID L, BOUWMAN WG, PADDON-ROW MN, VAN RAMESDONK HJ, VERHOEVEN JW, BROUWER AM. Spin control of the lifetime of an intramolecular charge-transfer excited state. *Photochem. Photobiol. Sci.*, v. 2, p. 995-1001, 2003.

IGNARRO L. *Nitric Oxide: Biology and Photobiology*, San Diego, California, USA, 1. Ed., Academic Press, 2000.

ISIED, S. S.; TAUBE, H. Effects of SO_2 , HSO_3^- , and SO_3^{2-} as auxiliary ligands on reactivity of ammineruthenium(II)-ligand bonds. ***Inorg. Chem.*** v. 13, p. 1545-51, 1974.

ISIED, S. S.; TAUBE, H. Rates of substitution in *cis* and *trans* ruthenium(II) aquotetraammines. ***Inorg. Chem.*** v. 15, p. 3070-5, 1976.

ISO-NO & ISO-NO MARK II, *Instruction Manual*, World Precision Instruments, Inc., 61 p. 1996.

Jl, L. N.; LIU, J. G.; YE, B. H. Studies of molecular recognition mechanism in supramolecular system of ruthenium(II) polypyridil complexes and DNA. ***Mat. Sci. Eng.***, v. 10, p. 51, 1999.

JONES, W. E.; SMITH, R. A.; ABRAMO, M. T.; WILLIAMS, M. D.; VANHOUTEN, J. Photochemistry of hetero-tris-chelated ruthenium(II) polypyridine complexes in dichloromethane. ***Inorg. Chem.***, v. 28, p. 2281-85, 1989.

JURIS, A.; BALZANI, V. Ru(II) polypyridine complexes: photophysics, photochemistry, electrochemistry, and chemiluminescence. ***Coord. Chem. Rev.*** v. 84, p. 85-277, 1988.

KALYANASUNDARAM, K. Photochemistry of polypyridine and porphyrin complexes. *Academic Press Inc. San Diego*, 626 p., 1992.

KARIDI, K.; GAROUFIS, A.; TSIPIIS, A.; HADJILIADIS, N.; DEN DULK, H.; REEDIJIK, J. Synthesis, characterization, in vitro antitumor activity, DNA-binding properties

and electronic structure (DFT) of the new complex cis-(Cl,Cl)(Ru(II)Cl₂(NO⁺)(terpy))Cl. **Dalton Trans.** V. 7, 1176-87, 2005.

KEENE, F. R. et al. Oxidation of the ligand in nitro complexes of ruthenium(III). **Inorg. Chem.** v. 19, p. 1896-903, 1980.

KIRCHHOFF, J.R.; MCMILLIN, D.R.; MARNOT, P.A.; SAUVAGE, J.P. Photochemistry and photophysics of bis(terpyridyl) complexes of ruthenium(II) in fluid solution. Evidence for the formation of an η²-diphenylterpyridine complex, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 107, p. 1138-1141, 1985.

KOPPENOL, W. H. Thermodynamics of reactions involving nitrogen-oxygen compounds. In: PACKER, L. (ed.) *Nitric Oxide. Part A: sources and detection of NO; NO synthase. Methods in Enzymology.* California, Academic Press, v. 268, Cap. 2, p. 7-12., 1996.

KUDO, S., BOURASSA, J. L., BOGGS, S. E., SATO, Y., FORD, P. C., *In situ* nitric oxide (NO) measurement by modified electrodes: NO labilized by photolysis of metal nitrosyl complexes. **Anal. Biochem.** v. 247, p. 193-202, 1997.

KURIHARA, M.; DANIELE, S.; TSUGE, K.; SUGIMOTO, H.; TANAKA, K. Synthesis and characterization of ruthenium terpyridine dioxolene complexes: Resonance equilibrium between Ru-III-catechol and Ru-II-semiquinone forms. **Bull. Chem. Soc. Jap.**, v. 71, p. 867-75, 1998.

KRÖNCKE, K.D., FEHSEL, K., KOLB-BACHOFEN, V. Nitric oxide: Cytotoxicity versus cytoprotection - How, why, when, and where?. **Nitric Oxide: Biol. Chem.**, v. 1, p. 107-20, 1997.

- LANG, D. R. DAVIS, J. A., LOPES, L. G. F., FERRO, A. A., VASCONCELLOS, L. C. G., FRANCO, D. W., TFOUNI, E, WIERASZKO, A., CLARKE, M. J. A controlled NO-releasing compound: synthesis, molecular structure, spectroscopy, electrochemistry, and chemical reactivity of R,R,S,S-trans-(RuCl(NO)(cyclam))(2+)(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane). **Inorg. Chem.** v. 39, p. 2294-300, 2000.
- LANGEVIN, D. Microemulsions. **Acc. Chem. Res.**, v. 21, p. 255-60. 1988.
- LEISING, R.A. et.al. Synthesis, characterization, and X-ray crystal structure of (Ru(NO₂)(PMe₃)₂(trpy))(ClO₄), **Inorg. Chem.**, v. 29, p. 1306-1312, 1990
- LEVER, A. B. P. Inorganic electronic spectroscopy. 2.ed. Nova Iorque, Elsevier, 1984.
- LEVER, A. B. P. Electrochemical parametrization of metal complex redox potentials, using the ruthenium(III)/ruthenium(II) couple to generate a ligand electrochemical series. **Inorg. Chem.** v. 29, p. 1271-85, 1990.
- LEVER, A. B. P.; MASI, H.; METCALFE, R. A.; STUFKENS, D. J.; DODSWORTH, E. S.; AUBURN, P. R. The ground and excited state electronic of ruthenium quinone and related species, **Coord. Chem. Rev.**, v.125, p. 317, 1993.
- LEVER, A. B. P.; VLCEK, A. A.; DODSWORTH, E. S.; FIELDER, S. S.; OSBORNE, M. C.; PIETRO, W. J . Recent development in the theory and application of the ligand electrochemical parameter. **Abs. Papers Am. Chem. Soc.**, v. 210, p. 401-INOR Part 1,1995.
- LINDSAY, E.; VLCEK, A.; LANGFORD, C. H. Mechanism of associative photoinduced ligand substitution in W(CO)₄phen under metal -to- ligand charge transfer excitation - subnanosecond transient spectra and solvent and wavelenght

dependence evidence for rapid primary processes. *Inorg. Chem.*, v. 32, p. 2269-75, 1993.

LORKOVIC, I.M.; MIRANDA, K. M.; LEE, B.; BERNHARD, S.; SCHOONOVER, J. R, FORD, P. C. Flash photolysis studies of the ruthenium(II) porphyrins Ru(P)(NO)(ONO). Multiple pathways involving reactions of intermediates with nitric oxide. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 120, p. 11674-683, 1998

de LIMA, R. G.; LEVER, A. B. P.; ITO, I. Y.; da SILVA, R.S. Antifungal activity of novel catecholamine ruthenium(III) complexes, *Trans. Metal Chem.*, v. 28, p. 272-75, 2003.

de LIMA, R. G.; MARCHESI, M. S. P.; de GODOY, M. A. F.; CASSANO, A. O.; de OLIVEIRA A. M; da SILVA, R. S. Structure-activity relationship of coordinated catecholamine in the (Ru-III(NH₃)(4)(catecholamine))(+) complex. *Inter. J. Pharmac.*, v. 271, p. 21-30, 2004.

de LIMA, R. G.; SAUAIA, M. G.; BONAVENTURA, D.; TEDESCO, A. C.; LOPEZ, R. F. V., BENDHACK, L. M.; da SILVA, R. S. Controlled nitric oxide photo-release from nitro ruthenium complexes: The vasodilator response produced by UV light irradiation. *Inorg. Chim. Acta*, v. 358, p. 2643-50, 2005a.

de LIMA, R.G.; SAUAIA, M.G.; BONAVENTURA, D.; TEDESCO, A C.; BENDHACK, L.M.; da SILVA, R.S. Influence of ancillary ligand in the nitric oxide photo-release from the (Ru(L)(terpy)NO)³⁺ and its vasodilator activity based on visible light irradiation. *Inorg. Chim. Acta.*, 2005b. (submetido)

LOPES, L. G. F.; CASTELLANO, E. E.; FERREIRA, A. G.; DAVANZO, C. U.; CLARKE, M. J.; FRANCO, D. W. Reactivity of trans-(Ru(NH₃)₄(P(Oet)₃NO)X-3 (X = PF₆⁻, CF₃COO⁻): modulation of the release of NO by the trans-effect. *Inorg. Chim.*

Acta, v. 358, p. 2883-90, 2005.

MALOUF, G.; FORD, P. C. Photochemistry of the ruthenium(II) ammine complexes, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{py-X})^{2+}$ - Variation os systemic parameters to modify photochemical reactivities. *J. Am. Chem. Soc.* v. 22, p. 7213-20, 1977.

MARCONDES, F. G.; FERRO, A. A., SOUZA-TORSONI, A.; SUMITANI, M.; CLARKE, M. J.; FRANCO, D. W.; TFOUN, E.; KRIEGER, M. H. In vivo action of new NO donor/scavenger ruthenium cyclam complexes on blood pressure. *Life Sci.*, v. 70, p. 2735-52, 2002.

MURPHY, W. R.; TAKEUCHI, Jr. K.; BARLEY, M. H.; MEYER, T. J. Mechanism of reduction of bound nitrite to ammonia, *Inorg. Chem.*, v. 25, p. 1041-53, 1986.

MARUSZEWSKI, K., JASIORSSKI, M., HRENIAK, D., STREK, W. Photochemical reduction of methyl viologen in silicate xerogels obtained by the sol-gel process. *J. Mol. Struc.*, v. 597, p. 273-7, 2001.

MARUSZEWSKI, K; KINCAID, J.R. Dramatic Increase of $^3\text{MLCT}$ State Lifetimes of a Ruthenium(II) Polypyridine Complex upon Entrapment within Y-Zeolite Supercages, *Inorg. Chem.*, v. 34, p. 2002-6, 1995.

MARTINEZ, M. S. Fotoquímica e determinação das energias dos estados excitados responsáveis pelas reações fotoquímicas de algumas aminas de rutênio via supressão/sensibilização. São Carlos, 1997. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

MASUI, H. Ruthenium complexes of quinone-related ligands: substitution and electronic structure. Tese de doutorado, York University, Ontario Canadá, 1993.

MASUI, H.; LEVER, A. B. P.; DODSWORTH, E. S. Substituent effects and bonding

characteristics in (o-benzoquinonedilimine)bis(bipyridine)ruthenium(II) complexes., *Inorg. Chem.*, v. 32, p. 97, 1993.

McCLEVERTY, J. A. Chemistry of nitric oxide relevant to biology. *Chem. Rev.*, v. 104, p. 403-18, 2004.

METCALFE, R. A.; LEVER, A. B. P. Tetraammineruthenium(II) and -ruthenium(III) complexes of o-benzoquinone diimine and their redox series. *Inorg. Chem.*, v. 36, p. 4762-71, 1997.

McGARVEY B. R.; FERRO, A. A.; TFOUNI, E.; BEZERRA, C. W. B.; BAGATIN, I.; FRANCO, D. W. Detection of the EPR spectra of NO center dot in ruthenium(II) complexes. *Inorg. Chem.* v. 39, p. 3577-81, 2000.

MISHRA, L.; SINHA, R.; ITOKAWA, H. et al., Anti-HIV and cytotoxic activities of Ru(II)/Ru(III) polypyridyl complexes containing 2,6-(2'-benzimidazolyl)-pyridine/chalcone as co-ligand. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 9, p. 1667, 2001.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharm. Rev.* v. 43, p. 109-20, 1991.

MONDAL, B., PAUL, H.; PURANIK, V. G.; LAHIRI, G. K.; Ruthenium mononitro and mononitroso terpyridine complexes incorporating azoimine based ancillary ligands. Synthesis, crystal structure, spectroelectrochemical properties and kinetic aspects. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, v. 481, 2001.

MORI, V.; BERTOTTI, M. Nitric oxide solutions: standardisation by chronoamperometry using a platinum disc microelectrode. *Analyst.* v. 125, p. 1629-32, 2000.

MORITA, T. Manual de soluções, reagents e solvents, Editora Edgard & Blucher Ltda, 1968.

- MUIJSERS, R. B. R.; TEN HACKEN, N. H. T.; VAN ARK, I.; FOLKERTS, G.; NIJKAMP, F. P.; POSTMA, D. S. L-Arginine is not be limiting factor for nitric oxide synthesis by human alveolar macrophages in vitro. **Eur. Resp. J.** v. 18, p. 667-71, 2001.
- MULLAZANI, Q. G.; D'ÁNGELANTONI, M.; VENTURI, M.; RODGERS, M. A. J. Oxidation of superoxide radical anion by excited tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) ion in acetonitrile. A search for singlet molecular oxygen. **J. Phys. Chem.**, v. 95, p. 9605-08, 1991.
- NABLO, B. J.; CHEN, T. Y., SCHOENFISCH, M. H. Sol-gel derived derived nitric oxide releasing materials that reduced bacterial adhesion. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 123, p. 9712-13, 2001.
- NABLO, B. J.; ROTHROCK, A. R.; SCHOENFISCH, M. H. Nitric oxide-releasing sol-gels as antibacterial coatings for orthopedic implants. **Biomaterials**, v. 26, p. 917-924, 2005a.
- NABLO, B. J., SCHOENFISCH, M. H. In vitro cytotoxicity of nitric oxide-releasing sol-gel derived materials. **Biomaterials**, v. 26, p. 4405-15, 2005b.
- NAGAO H.; ITO, K.; TSUBOYA, N.; OYAMA, D.; NAGAO, N.; HOWELL, F. S.; MUKAIDA M. Evidence for a new nitrosyl-to-nitro reaction and an acetamide formation in the {Ru-NO}6-type complex, *cis*-(Ru(NO)(CH₃CN)(bpy)₂)₃⁺. **Inorg. Chim. Acta.** v. 290, p. 113-9, 1999.
- NAGAO H.; NISHIMURA, H.; FUNATO, H.; ICHIKAWA, Y.; HOWELL, F. S.; MUKAIDA M., KAKIHANA, H. Synthesis, properties, and molecular-structure of *trans*-chloronitrosylbis(2,2'-bipyridine)ruthenium(2+): *trans* and *cis* isomer characteristics compared. **Inorg. Chem.** v. 28, p. 3955-9, 1989.

- NAVARRO, M.; PEREZ, H.; SÁNCHEZ-DELGADO, R. A. Síntesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of the new gold-chloroquine complex (Au(PPh₃)(CQ))(PF₆). **J. Med. Chem.**, v. 40, p. 1937, 1997.
- NICHOLSON, R.S.; SHAIN, I. Theory of stationary electrode polarography for a chemical reaction coupled between two charge transfers. **Anal. Chem.** v. 37, p. 178-90, 1965.
- OCHSNER, M. Light scattering of human skin: A comparison between zinc(II)--phthalocyanine and photofrin II®, **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 32, p. 3-9, 1996.
- OOYAMA, D. et al. Synthesis, characterization, structure and redox behavior of *cis*-(Ru(NO)X(bpy)(py)₂)²⁺ (X=monodentate) type complexes of nitrosylruthenium (II) and their related complexes. **Inorg. Chim. Acta**, v. 237, p. 47-55, 1995.
- de OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CHAIMOVICH, H. Effect of hexadecyltrimethylammonium bromide-based microemulsions on the rate of decomposition of the beta-lactam antibiotic cephaclo. **J. Pharm. Sci.** v. 86, p. 616-20, 1997.
- OLIVEIRA, F. D.; TOGNILOLO, V.; PUPO, T. T.; TEDESCO, A. C.; DA SILVA, R. S. Nitrosyl ruthenium complex as nitric oxide delivery agent: synthesis, characterization and photochemical properties. **Inorg. Chem. Comm.**, v. 7, p. 160-4, 2004.
- OOYAMA, D. et al. Synthesis, characterization, structure and redox behavior of *cis*-(Ru(NO)X(bpy)(py)₂)²⁺ (X=monodentate) type complexes of nitrosylruthenium (II) and their related complexes. **Inorg. Chim. Acta** v. 237, p. 47-55, 1995.

- PATAI, S. The chemistry of the quinonoid compounds. Part 1 and 2, Wiley, New York, 1974.
- PAVANIN, L. A. Estudo das *cis*-tetraaminas de Ru(II) com ligantes heterocíclicos nitrogenados aromáticos. São Paulo, 1988. Tese de Doutorado, Instituto de Química – USP.
- PIERPONT, C. G.; BUCHANAN, R. M. Transition metal complexes of rthbenzoquinone, orthosemiquinone and catecholate ligands. **Coord. Chem. Rev.**, 38, 45, 1981.
- PIPES, D. W., MEYER, T. J. Comparasions between nitrosyl complexes of osmium(II) and ruthenium(II). **Inorg. Chem.**, v. 23, p. 2466-2472, 1984.
- PORTER, G. B. Introduction to inorganic photochemistry. **J. Chem. Educ.**, v. 60, p. 785-790, 1983.
- POSTOVIT, L. M.; SULLIVAN, R.; ADAMS, M. A.; GRAHAM, C. H. Nitric oxide signaling and cellular adaptations to changes in oxygenation. **Toxicol.**, v. 208, p. 235-48, 2005.
- QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A. Biological functions of nitric oxide. **Química Nova**, v. 22, p. 584-590, 1999
- RABEK, J.F. Experimental methods in photochemistry and photophysics, New York, *A Wiley-Intenciance Publication*, 1982.
- RADOMSKI, M. W. R.; DUTRA, A.; MONCADA, S. S-nitroso-glutathione inhbits platelet activation in vitro and in vivo. **Braz. J. Pharmacol.**, v. 107, p. 745-749, 1992.

- RAVEH, O.; PELEG, N.; BETTLEHEIM, A.; SILBERMAN, I.; RISHPON, J. Determination of NO production in melanoma cells using an amperometric nitric oxide sensor. **Bioelectrochem. Bioenerg.**, v. 43, p. 19-25, 1997.
- RICHTER-ADDO, G. B.; LEGZDINS, P. Metal nitrosyls. Nova Iorque, Oxford University Press, Inc., 1992.
- ROBBINS, M.E., OH K.B., SCHOENFISCH M.E. Nitric oxide releasing sol-gel microarrays for biosensor applications. **Abs. Papers Am. Chem. Soc.**, v. 227: U91-U91 079-ANYL Part 1, 2004.
- ROCHA R. C.; TOMA H. E. Transferência de Elétrons em Sistemas Inorgânicos de Valência Mista, **Química Nova**, v. 25, p. 624-38, 2002.
- ROTTA, J. C. G.; LUNARDI, C. N.; TEDESCO, A. C. Nitric oxide release from the S-nitrosothiol zinc phthalocyanine complex by flash photolysis. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 36, p. 587-594, 2003.
- SADLER, P. J. Inorganic chemistry and drug design. **Adv. Inorg. Chem.** v. 36, p. 1-48, 1991.
- SALAYMEH, F.; BERHANE, S.; YUSOF, R.; DE LA ROSA, R.; FUNG, E. Y.; MATAMOROS, R.; LAU, K. W.; ZHENG, Q.; KOBER, E. M.; CURTIS, J. C. Electronic coupling in mixed-valence binuclear ruthenium ammine complexes as probed by an electrochemical method and an extension of Mulliken' s theory of donor acceptor interactions. **Inorg. Chem.** v. 32, 3895-908, 1993.
- SANCHEZ-DELGADO, R. A.; NAVARRO, M.; PEREZ, H.; URBINA, J. A. Toward a novel metal based chemotherapy against tropical diseases. **J. Med. Chem.**, v. 39, p. 1095, 1996.
- SAUAIA, M. G.; da SILVA, R. S. The reactivity of nitrosyl ruthenium complexes

containing polypyridyl ligands. **Trans. Metal Chem.** v. 28, p. 254-9, 2003a.

SAUAIA, M. G.; de LIMA, R. G.; TEDESCO, A. C.; da SILVA, R. S. Photoinduced NO release by visible light irradiation from pyrazine-bridged nitrosyl ruthenium complexes. **J. Am. Chem. Soc.** v. 125, p. 14718-9, 2003b.

SAUAIA, M. G.; OLIVEIRA, F. S.; TEDESCO, A. C.; da SILVA, R. S. Control of NO release by light irradiation from nitrosyl-ruthenium complexes containing polypyridyl ligands. **Inorg. Chim. Acta.** v. 355, p. 191-6, 2003c.

SAUAIA, M. G.; de LIMA, R. G.; TEDESCO, A. C.; da SILVA, R. S. **Inorg. Chem.** (in press), 2005.

SAVA, G.; PACOR, S.; BERGAMO, A.; COCCHIETTO, M.; MESTRONI, G.; ALESSIO, E. Effects of ruthenium complexes on experimental tumors: irrelevance of cytotoxicity for metastasis inhibition, **Chem. Biol. Interac.**, v. 95, p. 109, 1995.

SAWYER, D. T.; SOBKOWIAK, A.; ROBERTS, J. I. JR. *Electrochemistry for Chemists*. 2nd ed, John Wiley & Sons, New York, 1995.

SCHANZE, K. S.; MEYER, T. J. Direct Observation of Intramolecular Electron Transfer in a Photochemically Prepared Mixed-Valence Dimer. **Inorg. Chem.** v. 24, 2121-23, 1984.

SCHRÖDER, M.; STEPHENSON, T. A. Ruthenium. In: WILKINSON, G. (ed.). *Comprehensive Coordination Chemistry. The synthesis, reactions e applications of coordination compounds*. 1.ed. Nova Iorque, Pergamon Press, 1987. v. 4, cap. 45, p. 279-518.

SCHWIETERT, C. W.; McCUE, J. P. Coordination compounds im medicinal

chemistry. **Coor. Chem. Rev.** v. 184, p. 67-89, 1999.

SEDDON, E. A.; SEDDON, K. R. The chemistry of ruthenium. Nova Iorque, Elsevier, 1984.

SHEN, X. L.; MORIUCHI, T.; HIRAO. Redox-switchable pi-conjugated systems bearing terminal ruthenium(II) complexes. **Tetrahedron Lett.**, v. 44, p. 7711-14, 2003.

SHIMOKAWA, H.; TOMOIKE, H.; NABEYAMA, S.; YAMAMOTO, H.; ARAKI, H.; NAKAMURA, M.; ISHII, Y.; TANAKA, K. Coronary artery spasm induced in arteriosclerotic miniature swine. **Science**. v. 221, p. 550-62, 1983.

SHUKLA, A. D.; WHITTLE, B.; BAJAJ, H. C. Dinuclear complexes of a new bridging ligand containing 2,2'-bipyridyl and dioxolene binding sites: syntheses, electrochemical and electronic spectroscopic properties, 285, 89, 1999.

SHUKLA, A. D.; DAS, A. Redox responsive binuclear complexes using 5,6-dihydroxy-1,10-phenanthroline as a bridging ligand: synthesis, characterization and physicochemical studies. *Polyhedron*, v. 19, p. 2605-11, 2000.

SILVA, R. S.; TFOUNI, E. Ruthenium(II) macrocyclic complexes with inert chloride and labile azines. Synthesis and properties of the macrocyclic complexes *trans*-chloro(azine)(1, 4, 8, 11-tetraazaciclotetradecane)ruthenium(II) *trans*-(RuCl(cyclam)L)⁺. **Inorg. Chem.** v. 31, p. 3313-24, 1992.

SILVA, R. S.; GAMBARELLA, M. T. P.; SANTOS, R. H. A.; MANN, B. E.; TFOUNI, E. Structural properties of *trans*-chloro(4-acetylpyridine) (1, 4, 8, 11-tetraazaciclotetradecane)ruthenium(II) tetrafluoroborate, *trans*-(RuCl(cyclam)(4-acpy))(BF₄), by X-ray diffraction and NMR spectroscopy. **Inorg. Chim. Acta**, v. 245, p. 215-20, 1992.

SIMA, J.; MAKÁNOVÁ, J. Photochemistry of iron(III) complexes. **Coordin. Chem.**

Rev., v. 160, p. 161-89, 1997.

SIMPLICIO, F. I.; MAIONCHI, F.; HIOKA, N. Photodynamic therapy: Pharmacological aspects, applications and news from medications development. **Química Nova**, v.25, p. 801-07, 2002.

SMITH, J. N.; DASGUPTA, T. P. Mechanism of nitric oxide release. I. Two-electron reduction of sodium nitroprusside by L-cysteine in aqueous solution. **Inorg. Reaction. Mech.** v. 3, p. 181-95, 2001.

SNYDER, S. H.; BREDT, D. S. Biological roles of nitric oxide. **Sci. Am.** v. 266, p. 28-35, 1992.

SORTINO, S.; PETRALIA, S.; DI BELLA, S. Reversible light-driven redox switching of multifunctional dipolar ruthenium(III/II) pentaammine(4,4'-bipyridinium) complexes. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 125, p. 5610-11, 2003.

SRNIVASAN, V. S.; PODOLSKI, D.; WESTRICK, N. J.; NECKERS, D. C. Photochemical generation of O_2^- by rose bengal and $Ru(bpy)_3^{2+}$. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 100, p. 6513-15, 1978.

STAMLER, J. S.; SINGEL, D. J.; LOSCALZO, J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. **Science**, v. 258, p. 1898-902, 1992.

STEMP, E. D. A.; HOLMLIN, R. E.; BARTON, J. K. Electron transfer between metal complexes bound to DNA: variations in sequence, donor and metal binding mode. **Inorg. Chim. Acta**, v. 297, p. 88, 2000.

STOCHEL, G.; WANAT, A.; KULIS, E.; STASICKA, Z. Light and metal complexes in medicine, **Coord. Chem. Rev.**, v. 171, p. 203-20, 1998.

SZACIŁOWSKI, K. Photochemistry of the $(Fe(CN)_5N(O)SR)^{3-}$ complex: A mechanistic

- study. J. **Photochem. Photobiol. A.** v. 143, p.99-108, 2001.
- SUEN, H. F.; WILSON, S. W.; POMERANTZ, M.; WALSH, J.L. Photosubstitution reactions of terpyridine complexes of ruthenium (II), **Inorg. Chem.**, v. 28, p. 786-91, 1989.
- SULLIVAN, B. P.; CALVERT, J. M.; MEYER, T. J. Cis-trans isomerism in (trpy)(PPh₃)RuCl₂. Comparasions between the chemical and physical properties of a cis-trans isomeric pair. **Inorg. Chem.**, v. 19, p. 1404-07, 1980.
- SUSLICK, K. S.; WATSON, R. A. Photochemical reduction of nitrate and nitrite by manganese and iron porphyrins. **Inorg. Chem.**, v. 30, p. 912-19, 1991
- SZCZEPURA, L. F.; TAKEUCHI, K. J. Synthesis and characterization of novel (cyclopentadienyl)nitroruthenium complexes. **Inorg. Chem.**, v. 29, p. 1772-7, 1990.
- TAKEUCHI, K. J.; THOMPSON, M. S.; PIPES, D. W.; MEYER, T. J. redox and spectral properties of monooxo polypyridil complexes of ruthenium and osmium in aqueous media. **Inorg. Chem.**, v. 23, p. 1845-51, 1984.
- TEDESCO, A. C.; ROTTA, J. C. G.; LUNARDI, C. N. Synthesis, Phophysical and Photochemical aspects of Phthalocyanines for Photodynamic Therapy. **Curr. Org. Chem.**, v. 7, p. 187-196, 2003.
- TFOUNI E.; FORD, P.C. Thermal and photochemical properties of some *trans*-disubstituted tetraammineruthenium(II) complexes of aromatic nitrogen heterocycles, *trans*-Ru(NH₃)₄LL'ⁿ⁺. **Inorg. Chem.** v. 19, p. 72-76, 1980.
- TFOUNI, E.; FERREIRA, K. Q.; DORO, F. G.; da SILVA, R. S.; da ROCHA, Z. N. Ru(II) and Ru(III) complexes with yclam and related species. **Coord. Chem. Rev.**, v. 249, p. 405-18, 2005.

- TOGANO, T.; KURODA, H.; NAGAO, N.; MAEKAWA, Y.; NISHIMURA, H.; HOWELL, F. S.; MUKAIDA, M. Synthesis, properties and molecular structure of trans-hydroxobis (2,2'-bipyridine)nitrosylruthenium(2+): influence of axial ligand on characteristics of nitrosyl moiety in trans-(Ru(NO)XL₄)ⁿ⁺ (X = OH⁻, Cl⁻; L = py, ½(bpy)) type complexes. *Inorg. Chim. Acta*, v. 196, p. 57-63, 1992.
- TOGNILOLO, V.; SILVA, R. S.; TEDESCO, A. C. Photo-induced nitric oxide release from chlorobis(2,2'-bipyridine)nitrosylruthenium(II) in aqueous solution. *Inorg. Chim. Acta*. v. 316, p. 7-12, 2001.
- TOLEDO, J. C.; SILVA ; SCARPELLINI, M.; MORI, V.; CAMARGO, A. J.; BERTOTTI, M.; FRANCO, D. W. Ruthenium tetraammines as a model of nitric oxide donor compounds. *Euro. J. Inorg. Chem.*, v.9, p. 1879-85, 2004.
- TOLEDO, J. C.; NETO, B. S. L.; FRANCO, D. W. Mutual effects in the chemical properties of the ruthenium metal center and ancillary ligands upon coordination. *Coord. Chem. Rev.* v. 249, p. 419-31, 2005.
- TOMA, H. E.; SERRASQUEIRO, R. M.; ROCHA, R. C.; DEMETS, G. J. F.; WINNICHOFER, H.; ARAKI, K.; RIBEIRO, P. E. A.; DONNICI, C. L. Photophysical and photoelectrochemical properties of the bis(2,2'-bipyridine)(4,4'-dimethylthio-2,2'-bipyridine)ruthenium(II) complex. *J. Photoch. Photobiol., A.*, v. 135, p. 185-191, 2000.
- TOMA, H. E.; SANTOS, P. S.; MATTIOLI, M. P. D.; OLIVEIRA, L. A. A. Kinetics, electrochemical and resonance raman spectra of the (2-mercaptopyridine)(EDTA)ruthenium(III) complex. *Polyhedron*, 6, 603-11, 1987.
- TRAYLOR, T. G.; SHARMA, V. S. Why NO? *Biochem.*, v. 31, p. 2847-55, 1992.

- TREADWAY, J.A, LOEB, B, LOPEZ, R, ANDERSON, P.A, KEENE, F.R, MEYER, T.J. Effect of delocalization and rigidity in the acceptor ligand on MLCT excited-state decay. *Inorg. Chem.*, v. 35, p. 2242-46, 1996.
- TREININ A, HAYON E . Charge-transfer spectra of halogen atoms II water-correlation of electronic transition energies of iodine, bromine, chlorine, hydroxyl, and hydrogen radicals with their electron affinities. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 97, p. 1716-21, 1975.
- TRIMMER, B. A.; APRILLE, J.; MODICA-NAPOLITANO, J. Nitric oxide signalling: insect brains and photocytes. *Free Radic. Enzymol, Signal. Disease Biochem. Soc. Symp.*, v. 71, p. 65-83, 2004.
- VENTON, D. L.; GUDIPATI, E. Entrapment of enzymes using organo-functionalized polysiloxane copolymers. *Biochim. et Biophys. Acta-Protein Struct. Molec. Enzymol.*, v.1250, p. 117-125, 1995.
- VOGLER, L. M.; BRAUNS, E.; BREWER, K. J. Investigation of the spectroscopic and electrochemical properties of ruthenium complexes incorporating tridentate bridging ligands. *A. Papers Am. Chem. Soc.*, v. 208, p. 232-INOR Part 1, 1994.
- VON POELHSITZ, G.; BATISTA, A. A.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. E.; LANG, E. S. Síntesis and characterization of nitrosyl complexes containing 4,6-dimethylpyrimidine-2-thiolato (SpymMe(2)') as ligand: (Ru(SpymMe(2)'), -N,-S)(SpymMe(2)', -S)(NO)(P-P))PF₆ (P-P = 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane or 1,2-bis(diphenylphosphino)ethylene – X-ray structure of (Ru(SpymMe(2)', N, -S)(SpymMe(2)', -S)(NO)(dppe))PF₆). *Inorg. Chem. Comm.*, v. 8, p. 805-8, 2005.
- WALSH, J. L.; BULLOCK, R. M.; MEYER, T. J. Alkyl nitrite complexes of ruthenium prepared by acid-base chemistry at the bound nitrosyl group. *Inorg. Chem.* v. 19, p. 865-9, 1980.

- WANG, P. G.; XIAN, M.; TANG, X; WU, X.; WEN, Z; CAI, T.; JANCZUK, A. J. Nitric Oxide Donors: Chemical Activities and biological applications. **Chem. Rev.**, v.102, p. 1091-1134, 2002.
- WARD, M. D. A. Dinuclear ruthenium(II) complex with the dianion of 2,5-dihydroxy-1,4-benzoquinone as bridging ligand, redox, spectroscopic, and mixed-valence properties. **Inorg. Chem.**, v.35 p. 1712-&, 1996.
- WAYNE, C. E.; WAYNE, R. P. Photochemistry. Oxford Chemistry Primers. 52-53, 1996.
- WECKSLER, S. R.; FORD, P. C.; MEGSON, I.; BISWAS, S. Investigating the biological activity of Roussins'salts: Potential applications for photodynamic therapy (PDT) drugs. Abs. Papers A. Chem. Soc. V. 227, p. U1511-683 Inor, 2004.
- WELLER, R. Nitric Oxide: a key mediator in cutaneous physiology. **Clin. Exp. Derm.**, v. 28, p. 511-14, 2003.
- WHITTLE, B.; EVEREST, N. S.; HOWARD, C.; WARD, M. D. Synthesis and electrochemical and spectroscopic properties of a series of binuclear and trinuclear ruthenium and palladium complexes based on a new bridging ligand containing terpyridil and catechol binding sites, **Inorg. Chem.**, v. 34, p. 2025, 1995.
- WIERASZKO, A.; CLARKE, M. J.; LANG, D. R.; LOPES, L. G. F.; FRANCO, D. W. The influence of NO-containing ruthenium complexes on mouse hippocampal evoked potentials in vitro. **Life Sci.**, v. 68, p. 1535-44, 2001.
- WILLNER, I. et al. Photoinduced electron transfer in supramolecular assemblies of transition metal complexes. **Coord. Chem. Rev.** v. 171, p. 261-85, 1998.
- WINK, D. A.; GRISHAM, M. B.; MITCHELL, J. B.; FORD, P.C. In: Direct and indirect

- effects of nitric oxide in chemical reactions relevant to biology. In: PACKER, L. (ed.) *Nitric Oxide. Part A: sources and detection of NO; NO synthase. Methods in Enzimology*. Califórnia, Academic Press, v. 268, Cap. 3, p. 12-31, 1996.
- WINK, D. A., VODOVOTZ, Y., LAVAL, J., LAVAL, F.; DEWHIRST, M. W., MITCHELL, J. B. The multifaceted roles of nitric oxide in cancer. ***Carcinogeneses***, 19, 711-721, 1998.
- WINKLER J. R.; NETZEL, T. L.; CREUTZ C.; SUTIN N. Direct observation of metal-to-ligand charge-transfer (MLCT) excited states of pentaammineruthenium(II) complexes. ***J. Am. Chem. Soc.*** v. 109, 2381-92, 1987.
- WOHRLE D.; HIRTH A.; BOGDAHN-RAI T.; SCHNURPFEIL G.; SHOPOVA M. Photodynamic therapy of cancer: second and third generations of photosensitizers. ***Russ. Chem Bullet.*** v. 47, p. 807-16, 1998.
- WONDIMAGEGN, T.; GHOSH, A. A quantum chemical survey of metalloporphyrin-nitrosyl linkage isomers: insights into the observation of multiple FeNO conformations in a recent crystallographic determination of Nitrophorin 4. ***J. Am. Chem. Soc.*** v. 123, p. 5680-3, 2001.
- WORKS, C. F.; FORD, P. C. Photoreactivity of the ruthenium nitrosyl complexes, Ru(salen)(Cl)(NO). Solvent effects on the back reaction of NO with the Lewis acid Ru^{III}(salen)(Cl). ***J. Am. Chem. Soc.*** v. 122, p. 7592-3, 2000.
- WORKS, C. F.; JOCHER, C.; FORD, P. C. Synthesis, characterization, and photophysical studies of some ruthenium salen nitrosyl compounds: Potential NO delivery agents and mechanistic insights in catalytic behavior. ***Abstr. Pap. Am. Chem.*** v. 221, p. 745, 2001.

WU, H.; RAMACHANDRAN, C.; WEINER, N. D.; ROESSLER, B. J. Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsion. *Inter. J. Pharm.*, v.220, p. 63-75, 2001.

YOON, J.; WU, C. J.; HOMME, J.; TUCH, R. J., WOLFF, R. G.; TOPOL, E. J. et al., Local delivery of nitric oxide from an eluting stent to inhibit neointimal thickening in a porcine coronary injury model. *Yonsei Med. J.*, v. 43, 245-51, 2002.

ZAMPIERI, R. C. L.; VON POELHSITZ, G.; BATISTA, A. A.; NASCIMENTO, O. R.; ELLENA J.; CASTELLANO, E. E. Syntheses, characterization and X-ray structures of the fac-(RuCl₃(NO)(dppe)) and the trans-(RuCl(NO)(dppe)₂)(2+) species. *J. Inorg. Biochem.* v. 92, p. 82-8, 2002.

ZANICHELLI, P. G.; MIOTTO, A. M.; ESTRELA, H. F.G.; SOARES, F. R.; GRASSI-KASSISSE, D. M.; SPADARI-BRATFISCH, R. C.; CASTELLANO, E. E.; RONCAROLI, F.; PARISE, A. R.; OLABE, J. A.; de BRITO, A. R. M. S.; FRANCO, D. W. The (Ru(Hedta)NO)^{0,1-} system: structure, chemical reactivity and biological assays. *J. Inorg. Biochem.* v. 98, p. 1921-32, 2004.

ZHANG, H. L.; EVANS, S. D.; HENDERSON, J. R.; MILES, R. E.; SHEN, T. Spectroscopic characterization of gold nanoparticles passivated by mercaptopyridine and mercaptopyrimidine derivatives. *J. Phys. Chem.*, 107, 6087-6095, 2003.

11. Apêndice

11.1. Artigos publicados em periódicos indexados

1) Sauaia M. G, de Lima R. G, Tedesco A. C, da Silva R. S. Influence of ancillary ligand L in the nitric oxide photo-release by the $(\text{Ru}(\text{L})(\text{terpy})\text{NO})^{3+}$ complex and its vasodilator activity based on visible light irradiation. ***Inorganica Chimica Acta***, 2005 (submetido).

2) Sauaia, M. G.; de Lima, R.S.; Tedesco, A. C.; da Silva, R. S. Nitric oxide production from visible light irradiation on aqueous solution of nitrosyl ruthenium complexes. ***Inorganic Chemistry***, 2005 (no prelo).

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

4) Sauaia M. G, Oliveira F. D. S, de Lima R. G, Cacciari A. D. L, Tfouni E, da Silva R. S. Syntheses, characterization and photochemical properties of new NO center dot-ruthenium(II) complexes. ***Inorganic Chemistry Communications***, 8 (4), 347-349, 2005.

5) de Lima R. G, Marchesi M. S. P, de Godoy M. A. F, Cassano A. O, de Oliveira A. M, da Silva R. S. Structure-activity relationship of coordinated catecholamine in the $(\text{Ru-III}(\text{NH}_3)_4(\text{catecholamine}))^{+}$ complex. ***International Journal of Pharmaceutics***, 271 (1-2), 21-30, 2004.

6) Sauaia M. G, de Lima R. G, Tedesco A. C, da Silva R. S. Photoinduced NO release by visible light irradiation from pyrazi-bridged nitrosyl ruthenium complexes. ***Journal of the American Chemical Society***, 125 (48), 14718-14719, 2003.

7) de Lima R. G, Bonato P. S, da Silva R. S. Analysis of albendazole metabolites by electrospray LC-MS/MS as a probe to elucidate electro-oxidation mechanism of albendazole. ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, 32 (2), 337-343, 2003.

8) de Lima R. G, Lever A. B. P, Ito I. Y, da Silva R. S. Antifungal activity of novel catecholamine ruthenium(III) complexes. ***Transition Metal Chemistry***, 28 (3), 272-275, 2003.

11.2. Artigos publicados em periódicos indexados, relacionados à química de complexos nitrosilos de rutênio