

Sobre a redução do óxido nítrico em complexos de tetraaminas de rutênio (II)

Eliane Vasconcelos Stefaneli

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos da Universidade de
São Paulo como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Ciências.
Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Douglas Wagner Franco

São Carlos

2007

*À minha mãe, Maria José, que sempre confiou em
minha capacidade, dando-me incentivos e forças
durante esse período de ausência, e às minhas irmãs,
Elaine e Aline.*

Dedico este trabalho

“Nada na vida pode substituir a PERSISTÊNCIA:

Nem o talento o fará, pois o mundo está cheio de homens de talento, fracassados. Nem a genialidade o fará, pois gênios desempregados é quase um provérbio. Nem o conhecimento o fará, pois encontramos muitos diplomados medíocres”.

Autor desconhecido

É preciso ter paciência e esperar o momento certo...

...E nunca levar a vida muito a sério!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado força e coragem o suficiente para superar todas as dificuldades e sempre seguir em frente.

À minha mãe, Maria José Vasconcelos, por ter me dado o seu apoio sempre que precisei e por sua total confiança.

Às minhas irmãs, Elaine Cristina e Aline, pelo carinho, amizade e apoio transmitidos em nossos encontros; e aos meus cunhados Vicente e Lindomar pelo apoio e amizade.

Aos meus lindos sobrinhos, Luís Henrique e Lucas, pelas alegrias de seus nascimentos.

Ao prof. Dr. Douglas Wagner Franco pela orientação, amizade e motivação..

À prof^a. Dra Teresa Benita Iwasita de Vielstich (IQSC/USP) por disponibilizar o equipamento de espectroeletróquímica para a realização de parte deste trabalho.

À prof^a Dra Márcia Temperini (IQ/USP) pela atenção dispensada para a realização dos experimentos em seu laboratório. Ao prof. Dr. Sérgio Antônio Spinola Machado (IQSC/USP) pelas várias discussões sobre eletroquímica proporcionada no decorrer deste trabalho.

Ao prof. Dr. Luiz Henrique Mazo (IQSC/USP) pelos experimentos de Voltametria de Onda Quadrada e pelas valiosas discussões sobre eletroquímica.

Ao prof. Dr. Elia Tfouni (FFCL-RP) pelo composto $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})](\text{PF}_6)_2$ gentilmente cedido.

Ao Francisco das Chagas Alves Lima pelos cálculos teóricos baseados em DFT.

À Patrícia, Clayston, Jean e Renata, pelo auxílio em vários experimentos, pela leitura e correção criteriosa da dissertação e monografia, mas principalmente pela paciência, companheirismo e incentivo durante todo este tempo.

Aos meus amigos em São Carlos: Daniela, Karen, Chris e Marsele, pela sincera amizade. À Márcia por seus conselhos e palavras de incentivo, e seus e-mail que sempre me trouxeram alegria.

Ao Bruno, Roberto, Andréia (IQSC/USP) e Gustavo (IQ/USP) pelo auxílio em alguns experimentos. Ao Haruo pelo auxílio em alguns experimentos e pelas ótimas discussões sobre eletroquímica.

Aos demais amigos e colegas do Laboratório de Química Inorgânica e Analítica, atuais e do passado: Fefê, Gustavo, Heloísa, Mariana, pela agradável convivência, amizade e companheirismo, tornando-se pessoas muito importantes na minha vida. Valeu mesmo!

Aos amigos e colegas do Laboratório de aguardente, em especial Luciana, Wendel e Itapira.

A todos que aqui conheci e com quem convivi, como se fosse a minha própria família, durante esse tempo longe do convívio familiar, pois “O laço que une a sua verdadeira família não é de *sangue*, mas de *respeito* e alegria pela vida um do outro” (Richard Bach). Aos que me apoiaram, me incentivaram, e principalmente, me aceitaram da maneira que sou, o meu “***Muito Obrigado***” e meu carinho eterno.

Aos funcionários do Instituto de Química de São Carlos/USP, em especial à Veroneide.

Ao Instituto de Química de São Carlos/USP, pelo apoio e oportunidade.

A CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa Química) pelo auxílio financeiro.

Meus sinceros agradecimentos

SUMÁRIO

Lista de Figuras	i
Lista de Tabelas	iii
Lista de Abreviaturas e Siglas	iv
Lista de Símbolos e Fórmulas	v
Resumo	vi
Abstract	vii
1 – Introdução	1
1.1- Aspectos gerais da química do HNO.....	4
1.2- Compostos nitrosilos de rutênio.....	12
2 – Objetivos.....	14
3 – Parte experimental.....	15
3.1- Reagentes e Soluções.....	15
3.2- Sínteses.....	18
3.3- Metodologia Experimental.....	21
3.4- Métodos e Cálculos.....	25
4 – Resultados e Discussões.....	29
4.1- Perfil voltamétrico do íon complexo <i>trans</i> -[Ru(NH ₃) ₄ P(OEt) ₃ NO] ³⁺	29
4.2- Espectroscopia vibracional vs Potencial.....	42
4.3- Cálculos de DFT para os complexos <i>trans</i> -[Ru(NH ₃) ₄ P(OEt) ₃ L] ^{n/n+2} , onde L=NO ⁺ , NO, NO ⁻ e HNO.....	45
4.4- Redução química por reação com o α-cetoglutarato.....	49
4.5- Reação com a metmioglobina.....	56
5 – Considerações Finais.....	60
6 – Referências Bibliográficas.....	62
7 – Apêndices.....	71

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Diagrama simplificado dos orbitais moleculares para o monóxido de nitrogênio, contendo o átomo de nitrogênio em diferentes estados de oxidação	2
FIGURA 1.2 – Descrição simplificada da interação entre os orbitais da molécula de NO com os orbitais d_{π} do metal. Doação de um par de elétrons σ do nitrogênio do NO para o metal, seguido de uma retrodoação do metal para o monóxido de nitrogênio.....	3
FIGURA 1.3 – Esquema redox para o óxido nítrico. Estados formais de oxidação dos átomos de nitrogênio são mostrados em números romanos.....	4
FIGURA 1.4 – Espécies de nitroxil.....	8
FIGURA 1.5 – Diagrama de energia das várias espécies de nitroxil em fase gasosa.....	8
FIGURA 1.6 – Esquema das rotas de ação de NO <i>versus</i> HNO.....	10
FIGURA 2.1 – Forma da onda tempo/potencial para a voltametria de onda quadrada, mostrando a escada de potencial, E_s , o potencial de pulso, E_p , e o tempo entre as escadas aplicadas.....	26
FIGURA 4.1 – Voltamograma cíclico do complexo <i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃] ³⁺ em solução de CF ₃ COOH/NaCF ₃ COO, mostrando o perfil voltamétrico.....	29
FIGURA 4.2 – Voltamograma cíclico do complexo <i>t</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃](PF ₆) ₃ (—) $v = 0,005 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$; (---) $v = 0,5 \text{ V/s}$	30
FIGURA 4.3 – Voltamograma cíclico do complexo <i>t</i> -[Ru(Hedta)NO].....	33
FIGURA 4.4 – Deconvolução do voltamograma cíclico (0,5 V/s) do íon complexo <i>t</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃] ³⁺	35
FIGURA 4.5 – Voltamogramas de onda quadrada mostrando a influência da variação da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais (f) sobre o segundo pico de redução do íon complexo <i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃] ³⁺	36
FIGURA 4.6 – Gráfico da variação da corrente de pico (I_{pc2}) em função da frequência de onda quadrada (f) para o segundo pico de redução do complexo <i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃] ³⁺	38
FIGURA 4.7 – Gráfico da variação da corrente de pico (I_{pc2}) em função da raiz quadrada da frequência de onda quadrada ($f^{1/2}$) para o segundo pico de redução do complexo <i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃] ³⁺	39
FIGURA 4.8 – Gráfico da variação da corrente de pico (I_{pc2}) em função do logaritmo da frequência de onda quadrada ($\log(f)$) para o pico de redução do complexo <i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃] ²⁺	40
FIGURA 4.9 – Espectro eletrônico na região do IR vs potencial para o complexo	

<i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃] ³⁺ ; a) E _S = -0,02 V; b) E _S = -0,22 V; c) E _S = -0,82 V...	41
FIGURA 4.10 – Espectro eletrônico na região do IR vs potencial de pico para o complexo <i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ nic] ³⁺ ; a) E _S = 0,05 V; b) E _S = -0,25 V; c) E _S = -0,35 V; d) E _S = -0,55 V; e) E _S = -0,65 V.....	42
FIGURA 4.11 – Esquema de algumas formas do ácido α-cetoglutarico em solução.	49
FIGURA 4.12 – Voltamograma cíclico (—) do íon complexo <i>t</i> -[Ru(NH ₃) ₄ NOP(OC ₂ H ₅)] ³⁺ ; (—) após 45 min de reação do complexo com o α-Cetoglutarato; (—) Após 90 min de reação	50
FIGURA 4.13 – Voltamograma cíclico de uma solução de NaTFA saturada com o gás N ₂ O.....	51
FIGURA 4.14 – Voltamograma cíclico de uma solução de NaTFA saturada com NO.....	52
FIGURA 4.15 – Monitoramento espectrofotométrico da reação do complexo <i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OCH ₂ CH ₃)] ³⁺ e α-CG.....	53
FIGURA 4.16 – RMN ³¹ P do produto final da reação do íon complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ P(OCH ₂ CH ₃)] ³⁺ e α-CG (em água deuterada e NaTFA).....	54
FIGURA 4.17 – Monitoramento espectrofotométrico da reação do complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ P(OCH ₂ CH ₃)] ³⁺ , α-CG e metMb.....	56
FIGURA 4.18 – Espectro eletrônico do produto da reação da metmioglobina e NO a) metMb - 502 e 630 nm e b) produto da reação - 534 e 567 nm.....	57
FIGURA 4.19 – Voltamograma cíclico de uma solução contendo íons <i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ P(OCH ₂ CH ₃)] ³⁺ , α-CG e metmioglobina.....	58

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 – Propriedades de monóxidos de nitrogênio.....	1
TABELA 4.1 – Variação do potencial e corrente de pico em função da frequência para o segundo pico de redução do íon <i>trans</i> -[RuNO(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃] ³⁺	37
TABELA 4.2 - Comprimentos de ligação e ângulos de ligação do Complexo <i>trans</i> -[Ru(NH ₃) ₄ P(OC ₂ H ₅) ₃ L] ⁿ⁺ (L= NO, NO ⁺ , NO ⁻ e HNO) em água e a sua comparação com dados cristalográficos para o complexo.....	45
TABELA 4.3 - Cálculo das cargas atômicas derivadas do potencial eletrostático para o complexo contendo o monóxido de nitrogênio em diferentes estados formais de oxidação.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS e SIGLAS

4-pic – 4-Picolina

α -CG – α -Cetoglutaratato

Abs – Absorbância

Aquofosfito – Refere-se ao complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄(H₂O)P(OCH₂CH₃)₃](PF₆)₃

Cyclam – Ácido 1,4,8,11-tetraazaciclopentaacético

cGMP - Monofosfato cíclico de guanosina

ECS – Eletrodo de Calomelano Saturado

edta – Ácido etilenodiamintetraacético

Et – Etanol

ImN – Imidazol

Isn – Isonicotinamida

Mb – Mioglobina

nic – Nicotinamida

Py – Piridina

Pz – Pirazina

RMN – Ressonância magnética nuclear

sGC - Guanilato ciclase solúvel

UV-Vis – Ultravioleta visível

VC – Voltametria cíclica

LISTA DE FÓRMULAS e SIMBOLOS

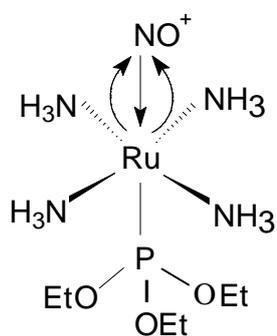
ϵ – Coeficiente de absorvidade molar

ν – Número de onda

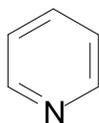
t – Tempo

T – Temperatura em $^{\circ}\text{C}$

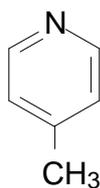
v – Velocidade de varredura em V.s^{-1}



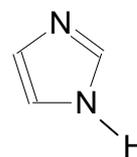
⇒ Íon complexo trietilfosfito tetraamina de rutênio



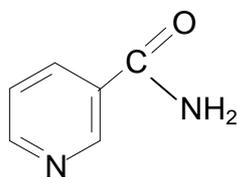
py – Piridina



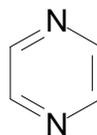
4-pic – 4-picolina



ImN – Imidazol



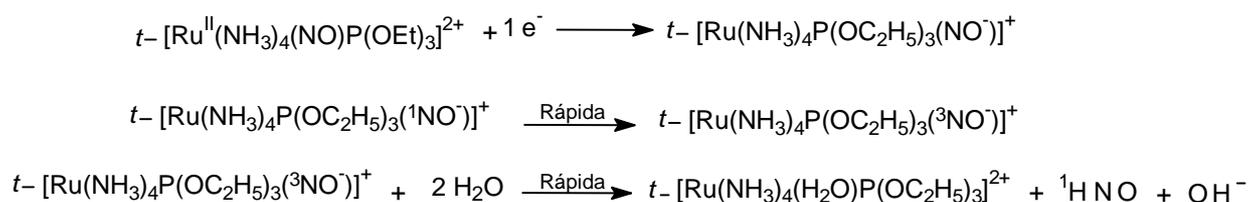
nic – Nicotinamida



pz – Pirazina

RESUMO

A redução eletroquímica de íons complexos do tipo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{LNO}]^{2+}$, foi investigada com o intuito de verificar a possibilidade desses complexos atuarem como doadores de nitroxil (HNO/NO^-). Neste trabalho foi dada uma ênfase especial no estudo da espécie em que $\text{L} = \text{P}(\text{OEt})_3$. Aplicando-se as técnicas de voltametria cíclica e de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada e espectroeletroquímica, foi possível verificar que a espécie $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{NO}]^{2+}$ sofre redução monoelétrica gerando o íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{NO}]^+$. Foram analisadas as estabilidades relativas das espécies possivelmente formadas, $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{NO}]^+$ e $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{HNO}]^{2+}$, baseadas na Teoria de Densidade Funcional (DFT). Após a transferência eletrônica, de acordo com a equação abaixo, a espécie formada sofre isomerização de spin, ocorrendo posteriormente a dissociação do grupo NO:

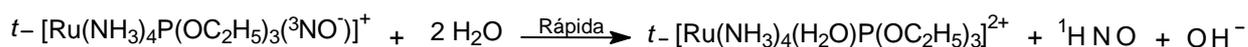
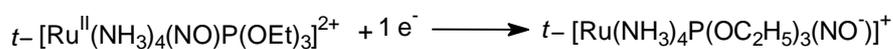


O processo apresenta-se como irreversível no espectro voltamétrico devido às restrições de spin.

A reação do íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{NO}]^{3+}$ com o alfa-cetoglutarato ($E_{\text{red}} = -0,90 \text{ V}$), composto capaz de agir como redutor de dois elétrons por transferência de elétrons de esfera externa, foi monitorada eletroquímica e espectrofotometricamente utilizando a metmioglobina, Mb - Fe(III), captador seletivo de nitroxil. Os resultados obtidos sugerem o complexo supracitado como um possível doador de nitroxil.

ABSTRACT

The electrochemical reduction behavior of the complexes $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{NO}]^{2+}$ was investigated in order to determine the possibility of these complexes to serve as nitroxyl donors (HNO/NO^-). Special emphasis was given when $L = \text{P}(\text{OEt})_3$. Using cyclic voltammetry and differential pulse, square wave voltammetry and spectroelectrochemistry techniques was possible to infer that the ion complex $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{NO}]^{2+}$ suffers an one electron reduction generating the ion complex $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{NO}]^+$. Analyzing the behavior of the cyclic voltammetry spectra, is possible to conclude that the process is irreversible by spin restrictions.



The reaction of the ion complex $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{NO}]^+$ with the reductor agent alpha-ketoglutarate ($E_{\text{red}} = -0,90\text{V}$), a two electron reductor by outersphere pathway, was monitored by electrochemistry and UV-vis spectroscopy techniques using Mb-Fe(III) as a selective nitroxyl scavenger. The results obtained with these experiments confirm the original purpose of this study.

INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

Dois fatos ocorridos na década de 80 fizeram ressurgir o interesse pela química do NO. O primeiro foi o seu reconhecimento como responsável pelo relaxamento vascular e o segundo foi a constatação de sua produção por macrófagos ativados^[1,2]. Desde então, tem ocorrido importantes descobertas sobre a sua implicação em processos biológicos^[3] tais como: neurotransmissão^[4], no processo normal de ereção do pênis^[5], no relaxamento da musculatura^[6,7] e no controle da pressão sanguínea^[8]. A importância destas descobertas acerca do NO, aclamado como “a molécula do ano” em 1992, rendeu em 1998, o Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina a Louis J. Ignarro, Robert F. Furchgott e Ferid Murad. Sendo assim, na última década a possível atividade biológica da forma reduzida de um elétron do óxido nítrico, NO⁻, ganhou considerável destaque.

A química do óxido nítrico (NO) envolve espécies interrelacionadas em diferentes estados de oxidação (NO⁺, NO ou NO⁻) com propriedades e reatividades distintas^[1,9-11]. Algumas propriedades físicas que ilustram essas distinções estão resumidas na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Propriedades de monóxidos de nitrogênio^[11]

Molécula	Nox (N)	Comprimento de ligação (Å)	$\nu_{\text{N-O}}$ (cm ⁻¹)
Cátion nitrosônio (NO ⁺)	+3	0,95	2300
Óxido nítrico (NO [•])	+2	1,15	1840
Ânion nitroxil (NO ⁻)	+1	1,26	1290

O NO^\bullet tem apenas um elétron em seu orbital $2p$ - π antiligante, como mostra o diagrama de orbitais moleculares (Figura 1.1)^[12]. A presença desse elétron desemparelhado ocupando um orbital π antiligante confere ao NO caráter radicalar, com uma ordem de ligação de 2,5, o qual não apresenta uma forte tendência para dimerização. A remoção desse elétron gera o NO^+ , cuja ordem de ligação é 3, sendo isoeletrônico com N_2 e CO . Da mesma forma, a adição de um elétron no orbital π^* forma o NO^- , isoeletrônico com o dióxigênio, com uma ordem de ligação 2 e com a carga negativa localizada no átomo de nitrogênio (o par ácido é HNO)^[9].

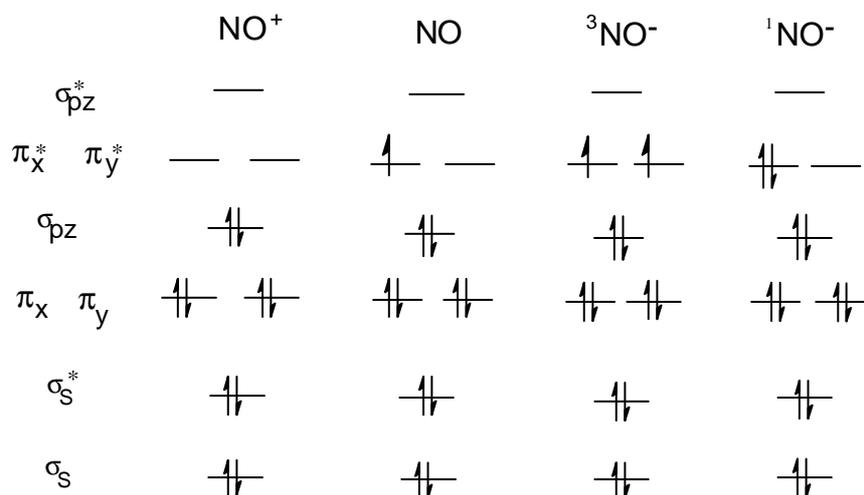


Figura 1.1 – Diagrama simplificado dos orbitais moleculares para o monóxido de nitrogênio, contendo o átomo de nitrogênio em diferentes estados de oxidação^[12].

Cada elétron adicionado (de NO^+ a NO^-) diminui a ordem de ligação N-O, refletindo diretamente no aumento da distância de ligação e na diminuição da energia de estiramento (ν_{NO}). A medida dessas propriedades fornece dados importantes para atribuir o caráter do grupo nitrosil em compostos contendo NO. O óxido nítrico forma facilmente complexos com íons de metais de transição. Muitos desses são complexos onde o NO está formalmente na forma de NO^+ . De acordo

com a Figura 1.2, além da ligação σ entre o óxido nítrico e o metal de transição, o íon NO^+ tem dois orbitais π^* não preenchidos e degenerados (π_y^* e π_z^*) simetricamente capazes de constituírem ligação π com orbitais preenchidos $nd\pi$ de íons metálicos^[13].

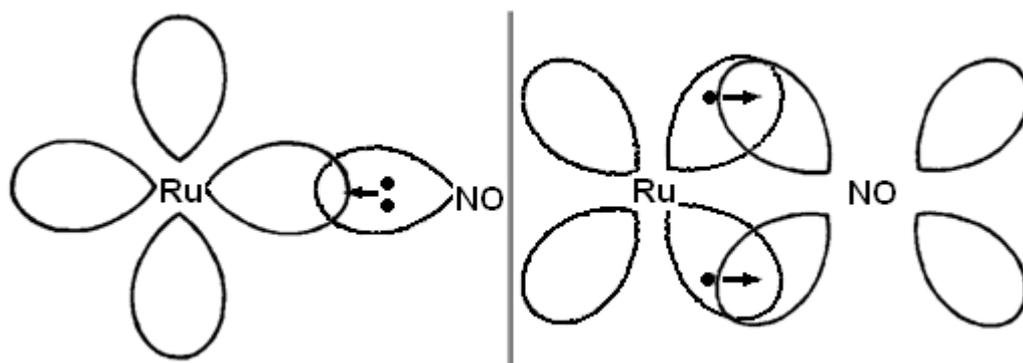


Figura 1.2 – Descrição simplificada da interação entre os orbitais da molécula de NO com os orbitais $d\pi$ do metal. Doação de um par de elétrons σ do nitrogênio do NO para o metal, seguido de uma retrodoação do metal para o monóxido de nitrogênio^[13].

Por outro lado, a adição de mais um elétron no orbital π^* da molécula de NO^+ leva ao enfraquecimento da ligação M-NO com o centro metálico e N-O, sendo que a frequência de estiramento, ν_{NO} , para nitroxilos metálicos dessa natureza estão geralmente na região de 1300 a 1500 cm^{-1} ^[14-16].

A afinidade eletrônica de NO^+ irá depender se o produto NO^- está no estado singlete ou tripleto, mas a redução do óxido nítrico ao íon nitroxil pode ser realizado por agentes redutores biológicos^[17]. A Figura 1.3 ilustra as diferentes espécies redox de óxido de nitrogênio e o estado de oxidação do respectivo nitrogênio.

A velocidade das reações envolvendo o íon nitroxil normalmente é determinada pela velocidade de decomposição de suas espécies geradoras, sendo assim a concentração de íon nitroxil presente em solução sempre será incerta. Portanto, para uma melhor compreensão de HNO como um agente farmacológico, bem como para confirmar se as atividades biológicas observadas são realmente devido ao HNO, novos compostos liberadores de HNO necessitam ser desenvolvidos^[29-31] como alternativa ao sal de Angeli.

Mesmo o mais simples de todos os processos envolvendo o HNO, a sua desprotonação, é relativamente complexo. A desprotonação de HNO produz a base conjugada NO⁻ (Equação 3). Entretanto, o equilíbrio ácido-base do HNO não é típico devido ao par ácido-base conjugado ter diferentes estados de spin eletrônicos. O estado fundamental do HNO é o singleto, enquanto que o NO⁻ tem a mesma configuração eletrônica do oxigênio molecular. Assim, possui um estado fundamental tripleto (³NO⁻) e um estado excitado singleto (¹NO⁻) com uma energia de aproximadamente 17-20 kcal.mol⁻¹ maior. Isso significa que a transferência de próton requer uma mudança no estado spin, a qual é proibida pela mecânica quântica^[32-34].



Assim, a reação de protonação-desprotonação do nitroxil representa um processo proibido por spin e, por isso deve-se esperar uma baixa probabilidade de ocorrer, ou seja, a reação é cineticamente lenta comparada às reações normais de ácido-base (aquelas em que não ocorre a alteração de spin).

As propriedades do nitroxil aquoso (HNO) e seu ânion (NO⁻) foram revisadas nos últimos anos demonstrando que o HNO é um ácido muito mais fraco ($pK_a >$

11)^[21] do que se acreditavam ($pK_a > 4,7$)^[35]. Assim, considera-se atualmente que o ^1HNO , e não $^3\text{NO}^-$ ou $^1\text{NO}^-$, é a forma dominante de nitroxil em condições fisiológicas. Porém, o valor de pK_a é pouco significativo para este sistema, que deve considerar a velocidade de desprotonação de HNO e de protonação de NO^- . Desde que ambas as espécies HNO e NO^- são altamente reativas, todas as outras reações envolvendo essas espécies serão cineticamente favoráveis em relação à de transferência de próton. Portanto, uma vez formada, a espécie $^3\text{NO}^-$ pode ter um tempo de vida significativa (da ordem de milissegundos) antes da protonação, podendo ser capaz de participar de reações adversas^[35].

Desde que o HNO é o produto de redução de um elétron do NO, então é possível que a simples redução de NO possa resultar em sua formação^[36-38]. Claramente, um fator importante na geração de HNO proveniente da redução de NO deve ser o potencial de redução monoelétrica de NO recentemente determinado, situando-se na faixa de -0,5 a -0,6 V (vs ENH)^[17,21] a 22 °C. Por outro lado, o potencial de redução para o par $\text{NO}/^3\text{NO}^-$ é mais desfavorável (-0,8 V vs ENH)^[17,21] a 22 °C. Assim, ao menos em princípio, propõem-se que a espécie HNO poderia ser formada pela redução direta de um elétron de NO em meio biológico, apesar da “proibição” de spin.

Além das espécies HNO e $^3\text{NO}^-$, existem outras espécies de nitroxil semelhantes em estrutura e estado spin. A protonação do $^3\text{NO}^-$ foi proposta para ocorrer no átomo de oxigênio (mais eletronegativo), formando o ^3NOH ^[1,21]. Porém, a única evidência experimental direta para a existência de ^3NOH foi obtida através da detecção de uma banda de IR em uma matriz de argônio sólido seguindo por uma descarga de microondas dentro de uma mistura $\text{H}_2/\text{NO}/\text{Ar}$. Em contraste, a presença

da espécie HNO foi observada espectroscopicamente na fase gasosa e em uma matriz de argônio 40 anos antes^[38]. A Figura 1.4 ilustra as diferentes espécies de nitroxil^[18].

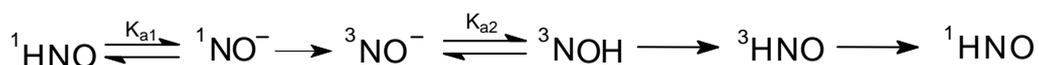


Figura 1.4 – Espécies de nitroxil

As espécies ${}^1\text{NO}^-$ e ${}^3\text{NOH}$ não devem ser acessíveis biologicamente, visto que eles não podem ser gerados sob condições biológicas normais por processos térmicos. As energias relativas dessas espécies estão representadas na Figura 1.5^[1], mostrando que as espécies ${}^1\text{HNO}$ e ${}^3\text{NO}^-$ são as mais estáveis em solução.

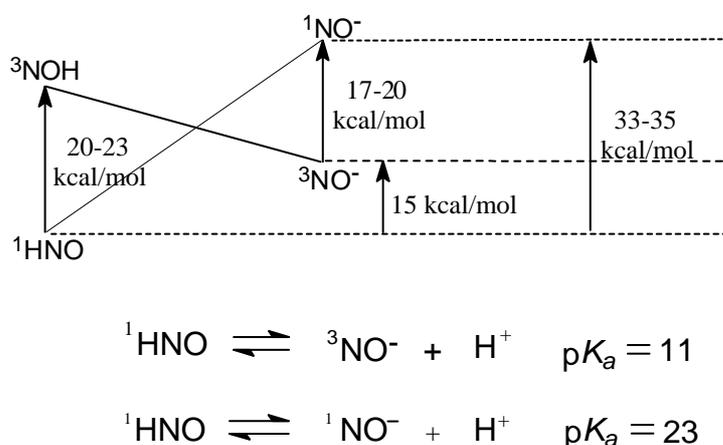


Figura 1.5 – Diagrama de energia das várias espécies de nitroxil em fase gasosa.

É estabelecido que o ânion nitroxil no estado fundamental tripleto, ${}^3\text{NO}^-$, pode reagir com O_2 para formar o peroxinitrito, ${}^-\text{ONOO}^{\text{[39-41]}}$ (Equação 4), um oxidante forte, com uma constante de velocidade de segunda ordem de $2,7 \times 10^9 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[27] a 22 °C.



Porém, espera-se que baixas concentrações de NO^- seja produzido por HNO em condições fisiológicas. Dessa forma, a reação de HNO com O_2 apesar de relativamente lenta ($K_a = 3 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)^[40], é potencialmente mais relevante em sistemas biológicos, visto que esta espécie é a mais estável em meio fisiológico. A literatura sugere que a reação de HNO e O_2 produz um potente oxidante de dois elétrons distinto do OONO^- ^[40, 42].

Os resultados de estudos das propriedades farmacológicas de doadores de HNO, como exemplo, o sal de Angeli^[42], indicam que o HNO quando administrado antes da isquemia atua como proteção para um subsequente dano de reperfusão. O dano de isquemia-reperfusão é um fenômeno pelo qual tecidos isquêmicos (ausentes de oxigênio) são altamente danificados quando o fornecimento de oxigênio é reestabelecido, possivelmente devido à formação de superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Neste caso, o óxido nítrico protege contra os danos de reperfusão, provavelmente por captação do superóxido. Entretanto, a administração de HNO durante a reperfusão agrava o dano de isquemia-reperfusão^[40,43-45]. Recentes descobertas de que o HNO possui a capacidade de aumentar a contração ventricular esquerda e, ao mesmo tempo, diminuir a sobrecarga cardíaca e a pressão diastólica sem aumentar a resistência arterial, faz com que o nitroxil seja um candidato ideal para o tratamento de ataque cardíaco, desde que aumente a contração cardíaca, enquanto diminui a resistência vascular^[43].

Como o óxido nítrico, o nitroxil também tem sido ligado a processos de vasodilatação^[46]. Além disso, os estudos dos efeitos de HNO no sistema cardiovascular indicam que a sua ação é independente de NO e do monofosfato cíclico de guanosina (cGMP). Especificamente, o nitroxil estimula a liberação de peptídeos relacionados ao gene calcitonina (CGRP), a qual conduz a uma elevação de monofosfato cíclico de adenosina (MPAc) intracelular, enquanto que o óxido nítrico age através da ativação de guanilato ciclase solúvel (sCG) e elevações na concentração de MPGc^[44], como mostra a Figura 1.6.

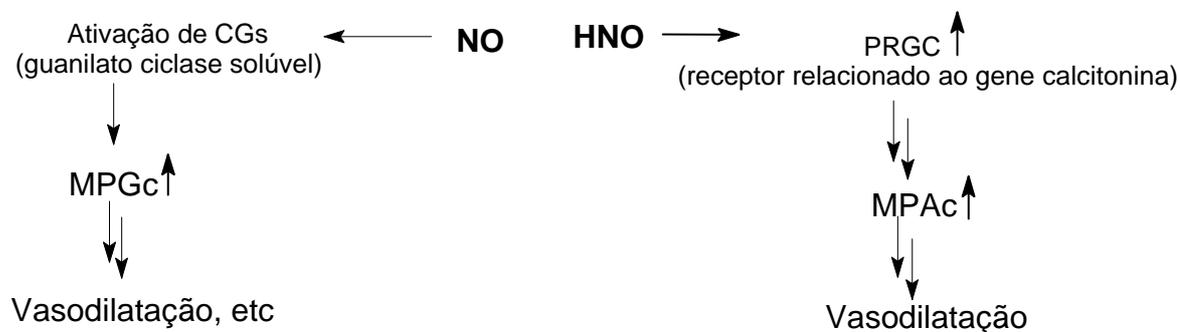


Figura 1.6 – Esquema das rotas de ação de NO e HNO^[18]

Isso indica que o HNO deve agir (pelo menos em sistemas cardiovasculares) pela rota contendo monofosfato cíclico de adenosina (MPAc), a qual é fundamentalmente distinta da rota seguida pelo NO. Essa diferença fundamental entre as ações de HNO e NO têm sido descritas como “ortogonais”, pois envolvem sistemas de mensageiros distintos, sugerindo que as ações de HNO não são simplesmente devido à sua conversão oxidativa a NO. Estes estudos indicam a capacidade do nitroxil atravessar a membrana celular e acessar o espaço intracelular^[47].

Desde que a energia de ligação H-NO é somente de 48-50 kcal.mol⁻¹, o HNO pode agir também como um bom doador de átomo de hidrogênio. Sendo assim,

espera-se que o HNO possa ser um eficiente captador de radicais e/ou antioxidante através da doação do átomo de H e formação de NO^[48].

Como todos os agentes farmacológicos, o HNO também pode ter implicações toxicológicas associada com a sua administração. Pesquisadores revelaram que o HNO, derivado do sal de Angeli, é citotóxico para fibroblastos em concentrações milimolares do doador^[1,49], e causa danos aos sítios específicos de DNA, sendo este último independente de O₂ (Equação 3), indicando que ONOO⁻ não está envolvido neste processo^[50].

Por causa da natureza altamente reativa do nitroxil, sua detecção direta permanece difícil, sendo mais comumente identificado indiretamente por meio de seus produtos finais estáveis, por exemplo o N₂O. Por isso, a detecção de N₂O tem sido usada como evidência da geração de HNO, devido à reação de dimerização (Equação 1). Entretanto, isso não é prova absoluta da intermediação de HNO, visto que N₂O pode ser gerado por caminhos que não envolvem HNO livre, tais como via redução de NO^[51]. Além disso, a formação de N₂O é uma reação de segunda ordem e deve requerer altas concentrações de HNO para que a reação produza N₂O em concentrações significativas.

Um dos primeiros detectores descritos para a identificação do nitroxil ocorre via reação com tetracianoniquelato, [Ni(CN)₄]²⁻, onde o íon NO⁻ desloca o íon CN⁻ no complexo citado, obtendo-se como produto a espécie níquel-nitroxil (Equação 5)^[52].



A formação do produto [NiNO(CN)₃]²⁻ é monitorado espectrofotometricamente a $\lambda = 498 \text{ nm}$ ($\epsilon = 427 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Entretanto, este processo não é eficiente, pois é

dependente do pH e só ocorre em condições onde o pH está acima de 9,0, limitando-se com isso, a utilização de alguns nitrosilos complexos, que são instáveis em soluções de baixa concentração hidrogeniônicas^[52].

Baseado no potencial de redução para o NO (de -0,5 a -0,8 V vs ENH), o $\text{HNO}/^3\text{NO}^-$ pode agir como um poderoso redutor de um elétron. Por exemplo, a reação de HNO com o heme férrico resulta na geração do aduto nitrosil ferroso, em competição com a formação de N_2O , via nitrosilação redutiva (Equação 6)^[44,53] com uma constante de velocidade de $8 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[53] sob condições fisiológicas.



A formação de nitrosilmioglobina (MbNO) pode ser determinada pelo monitoramento espectrofotométrico do aumento de absorbância em 543 e 578 nm a 25 °C^[54-55]. Dessa forma, a formação de íon nitroxil pode ser confirmada por captação com metmioglobina (Fe(III)), sendo este, portanto, o método que será utilizado neste trabalho. Outros métodos de detecção/captação de HNO têm sido estudados, tais como via reação com nitrosobenzeno^[56-57]. Entretanto, não serão utilizados em nossos estudos.

1.2- Compostos nitrosilos de rutênio

Em nosso Grupo de pesquisa foram sintetizados complexos do tipo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{L}]^{3+}$, onde L= isn, nic, py, 4-pic, L-Hist, imN, dentre outros^[58]. Estes ligantes foram escolhidos considerando sua correspondente acidez e basicidade π e σ , a fim de modular em intensidades diferentes a interação Ru-NO ao longo do eixo L-Ru-NO. As vias de síntese estão bem definidas e os complexos apresentam características convenientes para sua aplicação como modelos de fármacos, pois

são solúveis em água, estáveis em presença de oxigênio e apresentam moderada toxicidade. Além disso, como as amônias se comportam como ligantes inocentes é factível, em princípio, modelar as propriedades do ligante NO^+ em função do ligante L, situado em posição *trans* na esfera de coordenação do metal^[59].

O interesse farmacológico em se produzir substitutos para o nitroprussiato, composto utilizado como agente terapêutico devido à sua eficácia como vasodilatador, encoraja a síntese de compostos de coordenação que possam liberar ou captar o óxido nítrico de forma controlada. Esse interesse se deve ao fato de que o nitroprussiato de sódio libera íons cianeto, que é reconhecidamente tóxico, além de não permitir a modelagem de suas propriedades, por alteração em sua esfera de coordenação^[60]. Dessa forma, a habilidade em liberar NO^* por redução química, aliada à solubilidade dos compostos de rutênio sintetizados em nosso laboratório tornou claras as suas potencialidades como modelo de fármacos doadores de NO ^[61-62]. Assim sendo, a descoberta dos efeitos farmacológicos de HNO nos inspirou a investigar detalhadamente o potencial dos complexos de rutênio como liberadores de nitroxil.

Dentre os compostos, o complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3](\text{PF}_6)_3$ é o que se apresenta como candidato bastante promissor para o estudo de liberação de nitroxil, devido ao seu espectro eletroquímico, o qual indica claramente a existência de um segundo processo de redução após a formação da espécie *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3]^{2+}$.

OBJETIVO

2. OBJETIVOS

Considerando o conhecimento acumulado em nossos estudos sobre nitrosilos, o presente visa estudar eletroquimicamente os íons complexos nitrosilos de rutênio sintetizados em nosso laboratório, tais como: *trans*-[RuNO(NH₃)₄L]³⁺, onde L = P(OC₂H₅)₃, piridina, imidazol, 4-picolina, nicotinamida, ou [RuNO(cyclam)(Cl)]²⁺ e [RuNO(Hedta)], objetivando esclarecer o segundo processo de redução nos complexos supracitados. Com base nas características dos espectros voltamétricos, o composto *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)](PF₆)₃ será escolhido para o estudo de liberação de HNO por possuir a segunda onda catódica mais bem definida e a potenciais menos negativos em relação aos demais complexos. Além disso, o efeito e influência *trans* do P(OC₂H₅)₃ proporciona a rápida liberação do ligante HNO/NO⁻ da esfera de coordenação da espécie gerada na segunda onda de redução. A investigação será conduzida através de técnicas eletroquímicas e espectroeletroquímicas.

A redução do complexo *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺ também será investigada utilizando-se um composto capaz de agir como um redutor (α -cetoglutarato), cujo potencial seja acessível à segunda onda de redução no complexo. Além disso, para avaliar a estabilidade da espécie contendo HNO/NO⁻ coordenado ao metal no complexo *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺ será utilizado um composto capaz de reagir com o nitroxil liberado em solução. Para tanto, serão utilizadas técnicas eletroquímicas e espectroscópicas.

PARTE

EXPERIMENTAL

3- PARTE EXPERIMENTAL

A água utilizada para a preparação das soluções foi previamente destilada e posteriormente deionizada por um sistema Milli-Q (Millipore), e todos os reagentes utilizados foram de pureza analítica (Aldrich, Sigma ou Merck). Quando necessário, realizou-se sua purificação conforme métodos descritos na literatura^[61].

3.1- Reagentes e soluções

- Argônio^[64]

As preparações e os experimentos envolvendo complexos de rutênio foram sempre realizados sob atmosfera inerte, utilizando-se técnicas padrões para a manipulação de compostos sensíveis ao oxigênio. Assim sendo, utilizou-se argônio, de procedência White Martins, nestes experimentos. O fluxo de argônio utilizado nas operações de desaeração foi purificado para eliminar traços residuais de oxigênio, antes de chegar às soluções. Dessa forma, fazia-se o gás passar através de dois frascos lavadores contendo solução de Cr(II) $0,3 \text{ molL}^{-1}$ em CrCl_3 e $\text{HCl } 0,5 \text{ molL}^{-1}$, previamente desaerada, com amálgama de zinco. A redução total dos íons Cr(III) pelo amálgama de zinco e sob atmosfera de argônio foi efetivada após um período de 6 horas, constatada pela mudança da coloração verde para azul. Um terceiro frasco contendo ácido sulfúrico concentrado foi utilizado, a fim de eliminar a umidade presente no gás. Todos os compostos preparados foram estocados em dessecador, a vácuo, e na ausência de luz.

- **Amálgama de zinco**

O amálgama de zinco foi preparado pela reação de uma solução saturada de cloreto de mercúrio (II) em HClO_4 $0,05 \text{ molL}^{-1}$ com zinco metálico granulado, que foi previamente tratado com uma solução de HClO_4 $4,0 \text{ molL}^{-1}$. Após 10 minutos, o amálgama foi separado da solução, lavado com água destilada, seco ao ar em papel de filtro e imediatamente utilizado após a sua preparação.

- **Solventes**

Éter etílico: Foi tratado com CaCl_2 e sulfato ferroso amoniacal e destilado. Após a destilação foi adicionado, lentamente, fios de sódio metálico, permanecendo armazenado até cessar a evolução de bolhas de gás. Em seguida foi filtrado e novamente destilado.

Gás óxido nítrico: (99,9% de pureza e de procedência White Martins) foi utilizado sem tratamento prévio.

Ácido trifluoroacético: (CF_3COOH 99% de pureza e de procedência Aldrich) foi usado na preparação de soluções com diversas finalidades: controle de pH, sínteses e eletrólito de suporte.

Ligante trietilfosfita: ($\text{P}(\text{OEt})_3$, de procedência Aldrich) foi destilado. O espectro de Ressonância Magnética Nuclear ^{31}P indicou ausência de fosfonados. O reagente foi então ampolado em frasco contendo 1 mL do ligante, ao abrigo da luz. Quando necessário, o ligante foi tratado com sódio metálico, seguido por destilação à pressão reduzida. Ao se observar uma forte banda em 1260 cm^{-1} por espectroscopia

na região do infravermelho, a qual caracteriza uma ligação P=O, faz-se necessário tratar o ligante trietilfosfito com sódio metálico.

Composto tricloreto de rutênio: ($\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ de procedência Aldrich) foi empregado como reagente de partida na síntese do complexo cloreto de cloropentaaminrutênio (III) ($[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$).

Hexafluorofosfato de Amônio: (NH_4PF_6 99% de pureza e de procedência Aldrich), foi usado como contra íon nas sínteses dos complexos de rutênio.

Composto α -cetogluturato: ($\text{Na}_2\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_5$ 99,5 % de pureza e procedência Acros Organics) foi utilizado na reação com o complexo de rutênio, sem qualquer tratamento prévio.

Metmioglobina^[65]: foi preparada por oxidação de mioglobina de músculo de esqueleto do cavalo (95-100%) em pH 4,2 e tampão acetato $0,1 \text{ molL}^{-1}$, com um excesso de ferricianeto de potássio (5% molar) no mesmo tampão. O excesso de ferricianeto foi removido por filtração da solução em uma coluna cromatográfica por exclusão de tamanho Sephadex G-25, equilibrada em pH 4,2 em tampão acetato $0,1 \text{ molL}^{-1}$. Depois de filtrada, alíquotas foram armazenadas na geladeira por três dias ao máximo, em ausência de luz.

- **Eletrólito de Suporte**

A força iônica das soluções foi mantida utilizando trifluoroacetato de sódio, NaCF_3COO . A solução deste sal foi preparada a partir do ácido trifluoracético (Aldrich), e de hidróxido de sódio (Merck). Os dois reagentes padronizados foram misturados em quantidades suficientes para se ter uma solução estoque com a

concentração em $0,1 \text{ molL}^{-1}$. O valor do pH desejado em cada experimento foi ajustado pela adição de uma solução de hidróxido de sódio $1,0 \text{ molL}^{-1}$ e/ou ácido trifluoracético $1,0 \text{ molL}^{-1}$.

- **Formação de NO**

O gás NO foi produzido pela adição de H_2SO_4 , proveniente de um funil de separação, em NaNO_2 sólido, contido em um erlenmeyer. O gás formado foi forçado a passar através de um vaso lavador contendo NaOH concentrado para remover traços de NO_2 e, em seguida, foi borbulhado através de um outro frasco contendo água destilada, a fim de remover a possível presença de NaOH carregado pelo gás.

- **Óxido de Deutério (D_2O)**

O óxido de deutério, 99,8 % de pureza e de procedência Aldrich, foi utilizado como solvente nos experimentos de ressonância magnética nuclear de fósforo.

3.2- Sínteses

Os compostos *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4(\text{L})](\text{BF}_4)_3$, onde L= imN, 4-pic, py e nic, já são conhecidos e foram sintetizados seguindo procedimentos descritos na literatura^[58], a partir dos compostos precursores $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$ ^[58], *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{HSO}_3)_2]$ ^[66], *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{SO}_2\text{Cl}]\text{Cl}$ ^[66] e *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)\text{L}]\text{Cl}$ ^[58,67]. O composto $[\text{RuNOHedta}]$ foi sintetizado a partir dos precursores $\text{K}_2[\text{RuCl}_5\text{H}_2\text{O}]$ e $\text{K}[\text{RuHedtaCl}]$, de acordo com a literatura^[68-69]. O composto $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})](\text{PF}_6)_2$ ^[70,71] foi gentilmente cedido pelo prof. Dr. Elia Tfouni – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade São Paulo. O composto *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3](\text{PF}_6)_3$ foi sintetizado conforme descrito abaixo.

- **[Ru(NH₃)₅Cl]Cl₂^[58]**

2,0 g de RuCl₃.xH₂O foram dissolvidos em 27,0 mL de água destilada. A seguir, adicionou-se cuidadosamente 26,0 mL de hidrato de hidrazina (NH₂NH₂.xH₂O) sob agitação constante e em banho de gelo. A mistura permaneceu reagindo por 6 horas e, em seguida, adicionou-se 50,0 mL de HCl concentrado, sob banho de gelo e agitação. A solução foi refluxada por 2 horas, ocorrendo a formação de um precipitado amarelo. A mistura foi resfriada, o sólido filtrado e lavado por diversas vezes com HCl 1,5 molL⁻¹ gelado.

Recristalização: O sólido obtido foi dissolvido em 200,0 mL de HCl 0,1 molL⁻¹ a quente (50-60°C), e a solução resultante foi filtrada a quente após completa dissolução. O sólido foi reprecipitado pela adição de excesso de HCl concentrado à solução, ainda a quente, em banho de gelo. O sólido amarelo formado foi filtrado, seco à vácuo e estocado ao abrigo da luz.

- **[Ru(NH₃)₅H₂O](PF₆)₂^[72]**

Adicionou-se 0,2 g de [Ru(NH₃)₅Cl]Cl₂ e algumas pastilhas de amálgama de zinco a 7,0 mL de uma solução aquosa, previamente desoxigenada, de CF₃COOH 0,01 molL⁻¹. Após 1 hora de reação, sob fluxo de argônio, o amálgama reduz o Ru (III) a Ru (II), sendo o íon cloreto substituído pela água rapidamente. A solução adquiriu uma coloração amarelo claro. A seguir, adicionou-se 1,0 g de NH₄PF₆ e filtrou-se o precipitado amarelo em glove-bag. O sólido foi lavado com etanol e secado a vácuo durante 15-20 minutos e usado posteriormente.

- ***trans*- [Ru(NH₃)₄(P(OEt₃)₂)(PF₆)₂]^[72]**

Em um frasco borbulhador, colocou-se 10,0 mL de acetona, previamente desoxigenada por 30 minutos, e adicionou-se 0,2 g de t-[Ru(NH₃)₅H₂O](PF₆)₂, recentemente preparado, e 1,0 mL de trietilfosfito, (P(OEt)₃). A mistura permaneceu reagindo, sob fluxo de argônio, por aproximadamente 1 hora. O excesso de acetona foi eliminado empregando-se o evaporador rotatório, formando o bifosfito complexo, *trans*-[Ru(NH₃)₄(P(OEt₃)₂)²⁺. O sólido amarelo claro foi precipitado com a adição de uma mistura éter-etanol 2:1. O sólido foi filtrado e lavado com uma mistura de éter/etanol, para a eliminação do excesso de ligante, secado e estocado a vácuo, ao abrigo da luz.

- ***trans*- [RuNO(NH₃)₄P(OEt₃)₃](PF₆)₃^[73]**

200 mL de CF₃COOH 0,001 mol.L⁻¹ foram desoxigenados sob fluxo de argônio por aproximadamente 3 horas. Em seguida, adicionou-se 0,2 g de *trans*-[Ru(NH₃)₄(P(OEt₃)₂)(PF₆)₂]. A mistura permaneceu em reação a 40 °C por 5 horas, sob fluxo de argônio. Sob estas condições forma-se o íon t-[Ru(NH₃)₄(P(OEt₃)₂H₂O)]²⁺^[58,74], cuja formação foi acompanhada por Espectroscopia na região do UV-Visível, através da formação da banda em 316 nm ($\epsilon = 650 \text{ Lmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)^[74]. Evaporou-se o excesso de solvente em evaporador rotatório, à aproximadamente 40 °C, até atingir o volume de aproximadamente 3,0 mL. A esta mistura adicionou-se 2,0 mL de CF₃COOH 2,0 molL⁻¹, para acidificar o meio. Sob constante fluxo de argônio, adicionou-se 0,2 g de NaNO₂. A solução adquiriu imediatamente uma coloração rósea. Esta mistura permaneceu em reação por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,15 g de NH₄PF₆ e deixou-se no refrigerador até a formação de um sólido cristalino róseo. O precipitado foi filtrado, lavado com éter,

previamente desoxigenado, seco e estocado a vácuo e ao abrigo da luz. O composto é solúvel em água e etanol, e insolúvel em éter etílico e clorofórmio.

Todos os compostos foram caracterizados por: espectroscopia na região do UV-Visível e do infravermelho, ressonância paramagnética de elétrons e técnicas voltamétricas.

3.3- Metodologia Experimental

- **Espectroscopia Eletrônica nas Regiões do Ultravioleta e Visível**

As medidas nas regiões do visível e ultravioleta foram realizadas em um espectrofotômetro Hittachi modelo 3501-U, utilizando-se células de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm adaptadas com rolhas de borracha. As análises foram feitas sob atmosfera inerte, com as cubetas cujas extremidades superiores foram vedadas por uma rolha de borracha, a qual permitia a passagem de um tubo de teflon (“*tygon*”), para a transferência da solução. A temperatura foi mantida constante ($20,0 \pm 0,2$)°C com o auxílio de um termostato da marca Superhom de fabricação nacional. As medidas foram realizadas pela leitura direta dos espectros utilizando-se como branco o respectivo solvente.

- **Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho vs Potencial**

As medidas de espectro vibracional vs potencial foram realizadas no laboratório de Eletroquímica, do Instituto de Química de São Carlos, sob supervisão da prof^a. Dra. Tereza Benita Iwasita, utilizando-se de um sistema Potentioscan Wenking, modelo POS 73 e um espectrofotômetro BOMEM FTIR modelo NEXUS 870 MB-102, equipado com um acessório de reflectância especular de ângulo variável e um detector. Os espectros foram obtidos a partir de amostras líquidas (solução aquosa

de NaCF_3COO) em $\text{pH} = 3,0$ força iônica $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e a temperatura ambiente. A solução foi desaerada com gás nitrogênio. Neste experimento foi utilizado um sistema composto por três eletrodos: eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho, eletrodo de hidrogênio como referência e eletrodo de platina como auxiliar. O ângulo incidente foi ajustado para 27° . Um total de 50 varreduras interferométrica com resolução de 8 cm^{-1} , que foram acumuladas para um espectro médio nos experimentos de FT-IR, a cada etapa de potencial. O espectro resultante foi normalizado como a Equação 7 sugere.

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{[R(E_S) - R(E_R)]}{R(E_R)} \quad (7)$$

Onde E_S , E_R representam o potencial aplicado sob a amostra e o potencial de referência, e $R(E_S)$ e $R(E_R)$ representa o espectro de feixe simples obtido a E_S e E_R , respectivamente. Pela subtração do espectro de reflexão ao potencial da amostra, $R(E_S)$, do espectro de reflexão ao potencial de referência, $R(E_R)$, o “background” devido à absorção do solvente é eliminado. Conseqüentemente, um sinal no sentido negativo e um no sentido positivo de bandas indicam o aumento e a diminuição em intensidade de transmissão das bandas a E_S , respectivamente^[75-76].

- **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**

As medidas de ressonância magnética nuclear (RMN ^{31}P) foram realizadas obtidas empregando-se um espectrômetro Bruker, modelo AC 200, munido de magneto 4,7 T. Os espectros de RMN ^{31}P foram obtidos em solução de água deuterada e trifluoroacetato de sódio em $\text{pH} 3,0$. Os experimentos foram realizados na Universidade Federal de São Carlos, pelo aluno Gustavo Von Poelhsitz.

As soluções foram desaeradas por 30 minutos e transferidas via “tygon” para o interior do tubo de RMN, previamente desaerado.

- **Voltametria Cíclica e de Pulso Diferencial**

As técnicas de voltametria cíclica e de pulso diferencial foram empregadas para o estudo preliminar da segunda redução eletrônica dos complexos de rutênio sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa. De início, os experimentos consistiram em testes com diferentes compostos, no intervalo de potencial adequado a cada um, com o intuito de avaliar a resposta voltamétrica. Nestes experimentos, os voltamogramas cíclicos foram registrados no intervalo de 1,0 a -1,2 V vs eletrodo de calomelano saturado (ECS), empregando-se o sistema eletroquímico EG&G Princeton Applied Research – Modelo 264 A.

A célula eletroquímica, munida com camisa para circulação de água termostalizada, era constituída por três eletrodos: um eletrodo de calomelano saturado como referência, um fio de platina como auxiliar e um eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho. Um tubo para entrada de argônio foi adaptado na tampa da célula de forma que, atingisse a solução antes das medidas, e na superfície da solução durante o registro dos voltamogramas cíclicos (Figura 3.1). Uma solução de $\text{HCF}_3\text{COO}/\text{NaCF}_3\text{COO}$ $0,1 \text{ molL}^{-1}$ em $\text{pH} = 3,0$ foi usada como eletrólito. Os voltamogramas foram registrados em um programa desenvolvido pela MICROQUÍMICA Ind. Com. e Rep. LTDA.

Os experimentos foram realizados a $(25,0 \pm 0,2) \text{ }^\circ\text{C}$ e a $(2,5 \pm 0,2) \text{ }^\circ\text{C}$, mantendo-se a temperatura constante com o auxílio de um banho termostalizado.

- **Voltametria de Onda Quadrada**

As medidas de voltametria de onda quadrada foram realizadas no laboratório de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos do Instituto de Química de São Carlos, por Andréia Renata Malagutti. O experimento foi conduzido nas mesmas condições utilizadas para a realização das medidas de Voltametria Cíclica. Para isso foi utilizado o sistema Potenciostato/Galvanostato Autolab, modelo PGSTAT 12/30/302 acoplado ao programa GPES Manager – General Purpose, Electrochemical System version 4.9.

Um passo importante para a realização do experimento foi a otimização dos parâmetros que possam influenciar na resposta voltamétrica. Para isto foi realizado um teste dos parâmetros da voltametria de onda quadrada, como frequência da onda quadrada (f), amplitude da onda quadrada (ΔE_p) e incremento de varredura (ΔE_s), buscando, desta forma, o melhor sinal analítico.

- **Medidas de pH**

As medidas de pH foram realizadas utilizando-se de um pHmetro, ION ANALYSER modelo PHM250 Meter Lab - Radiometer Analytical - Copenhagen, equipado com eletrodo de vidro, combinado com um eletrodo de referência Ag/AgCl, em KCl 3 molL⁻¹.

- **Decomposição Gaussiana**

Quando necessário, para uma melhor interpretação, os voltamogramas foram submetidos à decomposição gráfica empregando-se o programa do *Microcal Origin* 6.0. As deconvoluções foram realizadas mediante condição de retorno, assumindo-se formas gaussianas para as componentes individuais dos voltamogramas.

3.4- Métodos e Cálculos

- **Voltametria Cíclica**^[77-79]

A voltametria é uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, feitas durante a eletrólise dessa espécie em uma cela eletroquímica constituída de pelo menos dois eletrodos, o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência. O potencial é aplicado entre os dois eletrodos em forma de varredura, isto é, variando-o a uma velocidade constante em função do tempo. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente. A curva corrente vs potencial obtida é denominada de voltamograma.

As técnicas voltamétricas permitem extrair vários parâmetros importantes para o estudo do comportamento de vários compostos inorgânicos, dentre eles o grau de reversibilidade da reação, a ocorrência ou não de processos adsorptivos na superfície do eletrodo e o número de prótons e elétrons envolvidos na reação. Sendo assim, a técnica de voltametria cíclica foi utilizada neste estudo e os parâmetros eletroquímicos foram obtidos diretamente dos voltamogramas cíclicos, ou seja, das curvas de corrente (*i*) versus potencial (*E*).

- **Voltametria de Onda Quadrada**^[79-82]

Uma das técnicas eletroquímicas selecionadas para o estudo do comportamento eletroquímico do íon complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃NO]³⁺ foi a voltametria de onda quadrada (VOQ). Na voltametria de onda quadrada, a forma do pico de corrente resultante é proveniente da aplicação de pulsos de potenciais de altura ΔE_p (amplitude de pulso), que variam de acordo com uma escada de potencial com largura ΔE_s (incremento de potencial).

As curvas de corrente-potencial apresentam perfil bem definido e são, geralmente, simétricas, porque as correntes elétricas são medidas somente no final de cada semiperíodo (final dos pulsos diretos e reversos). A diferença entre duas leituras sucessivas ($i = i_1 - i_2$), corrente resultante (Δi), que é um sinal obtido diferencialmente, é registrado como uma função do potencial de cada período de meia onda. Isso faz com que a técnica apresente excelente sensibilidade e baixa influência das correntes capacitivas. Esta medida precede um tempo inicial (t_i) que é onde o eletrodo de trabalho é polarizado a um potencial onde a reação redox não ocorre. As variações na altura e na largura do pulso de potencial são sempre constantes para um determinado intervalo de potenciais.

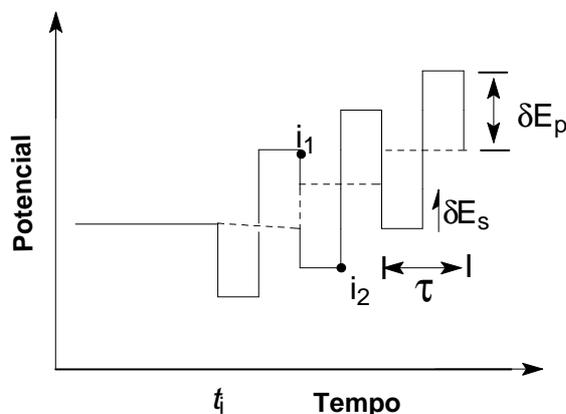


Figura 2.1 – Forma da onda tempo/potencial para a voltametria de onda quadrada, mostrando a escada de potencial, E_s , o potencial de pulso, E_p , e o tempo entre as escadas aplicadas.

O incremento de potencial (ΔE_s) é um dos responsáveis pela definição da velocidade de varredura de potenciais, visto que esta é dada pelo produto do incremento de potencial pela frequência de aplicação dos pulsos de potencial.

A corrente de pico (i_p) apresenta uma relação linear com a frequência de aplicação do pulso de potencial (f), se a reação for totalmente irreversível (Equação 8):

$$i_p = K_r f \quad (8)$$

Para os potenciais de pico em reações redox totalmente irreversíveis, existe uma relação linear entre (E_p) e o logaritmo da frequência, com uma inclinação de :

$$\frac{\delta E_p}{\delta \log (f)} = \frac{-2,3RT}{\alpha nF} \quad (9)$$

onde R é a constante dos gases, T é a temperatura, α o coeficiente de transferência eletrônica, n o número de elétrons envolvidos na transferência eletrônica e F a constante de Faraday.

Esta metodologia possibilita uma varredura completa do potencial em curto intervalo de tempo, se comparado a técnicas tradicionais como a voltametria de pulso diferencial, além de minimizar ao máximo os efeitos da corrente capacitiva. Além disso, observando-se o sinal de corrente obtidos nas varreduras direta e inversa é possível conseguir as mesmas informações da voltametria cíclica e, assim, analisar o mecanismo de redução eletroquímica *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺ pela variação dos parâmetros voltamétricos.

- **Cálculos Teóricos**

Todos os cálculos teóricos das espécies *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃L]ⁿ, onde L = NO⁺, NO, NO⁻ e HNO foram realizadas no Instituto de Química de São Carlos, por Francisco das Chagas, usando o programa Gaussian 03^[83]. Os cálculos teóricos foram realizados com o intuito de verificar o provável sítio de redução da espécie *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃NO]²⁺. Inicialmente foram desenvolvidos cálculos da geometria no vácuo em nível de Teoria de Densidade Funcional (DFT) utilizando o funcional híbrido B3LYP com o conjunto de base LanL2DZ. Com as estruturas otimizadas no vácuo, realizaram-se cálculos levando em consideração o efeito do solvente. O modelo utilizado foi o modelo de polarização contínua (*Polarized Continuum Model - PCM*)^[84-85]. Esse modelo define a cavidade como a união de uma série de esferas atômicas entrelaçadas. O efeito da polarização do solvente é representado numericamente e computado por uma integração numérica. A água foi utilizada como solvente no presente trabalho. Os cálculos foram realizados sem imposição de simetria C₁ para todos os complexos. Os Cálculos de frequência foram realizados para verificar o verdadeiro estado de mínimo das estruturas otimizadas. Os cálculos dos orbitais naturais de ligação foram realizados utilizando o programa NBO 3.0^[86], como está implementado o programa Gaussian 03. Os orbitais de fronteiras, HOMO e LUMO, foram representados pelo programa de visualização Gauss View, versão 3.09^[87]. Os métodos que utilizam orbitais moleculares têm sido utilizados nos cálculos de diversos parâmetros de interesse químico. Dentre estes parâmetros dois são muito utilizados em estudos das relações estrutura-atividade: energia do HOMO (“Highest Occupied Molecular Orbital” – orbital molecular ocupado de mais alta energia) e energia do LUMO (“Lowest Unoccupied Molecular Orbital” – orbital molecular desocupado de menor energia).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4- RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – Perfil voltamétrico do íon complexo $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$

A técnica de voltametria cíclica (VC) foi empregada para a avaliação preliminar da reação de redução dos complexos nitrosilos de rutênio, a fim de se familiarizar com os seus respectivos espectros voltamétricos. Em particular, o interesse inicial era de verificar quais dentre esses compostos possuem um segundo processo de redução acessível aos redutores biológicos. Os voltamogramas mostraram que o íon complexo $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ apresenta uma segunda onda de redução bem definida e a potencial menos negativo em relação aos demais compostos.

A Figura 4.1 apresenta o perfil voltamétrico do íon complexo $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$.

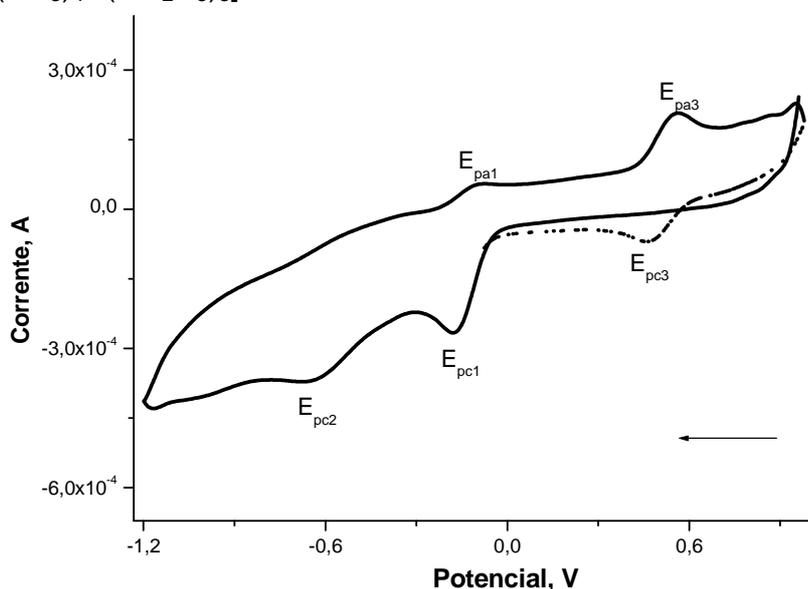
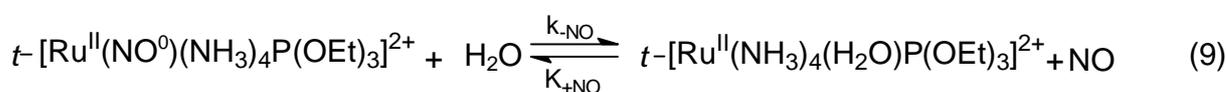
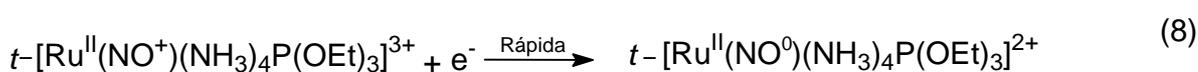


Figura 4.1 – Voltamograma cíclico do íon complexo $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ em solução de $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{NaCF}_3\text{COO}$, mostrando o perfil voltamétrico. (—) primeira varredura; (...) segunda varredura. Condições: $\text{pH} = 3,0$; $\mu = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; $C_{\text{Ru}} = 1,3 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $v = 0,1 \text{ V.s}^{-1}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

Pode-se observar neste voltamograma a existência de três processos no intervalo de potencial de 1,0 a -1,2 V em soluções cujo pH varia de 1,0 a 3,0: o pico catódico E_{pc1} em -0,18 V vs ECS, é atribuído à redução reversível da espécie $[\text{RuNO}^+]^{3+}$ a $[\text{RuNO}^\bullet]^{2+}$ e o pico catódico E_{pa1} à oxidação do processo inverso; o pico catódico E_{pc2} em -0,69 V vs ECS, não relatado na literatura, será tentativamente atribuído ao processo de redução $[\text{RuNO}^\bullet]^{2+}$ a $[\text{RuNO}^\bullet]^+$ no decorrer deste trabalho; e um terceiro pico anódico (E_{pa3}) em 0,55 V vs ECS que é referente à oxidação do par redox $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{H}_2\text{O}]^{2+} / [\text{Ru}^{\text{III}}\text{H}_2\text{O}]^{3+}$ formado, o qual pode-se observar em uma segunda varredura, o pico catódico do processo inverso, $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{H}_2\text{O}]^{3+} / [\text{Ru}^{\text{II}}\text{H}_2\text{O}]^{2+}$. A faixa de concentração hidrogeniônica em experimentos utilizando este complexo é limitada pelo fato de que o composto apresenta outros processos além dos assimilados à espécie aquo e nitrosilo complexo, quando a $C_{\text{H}^+} < 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. De acordo com estudos anteriores^[88], pode ocorrer uma reação de desproporcionamento no íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ formando o Ru(II) e Ru (VI) como produtos majoritários. Esta reação conduz a uma mudança no espectro voltamétrico em $C_{\text{H}^+} < 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, visto que o Ru(II) oxidado na superfície do eletrodo gerando o Ru(III), rapidamente se desproporciona formando o Ru(VI) e mais Ru(II)^[74]. Portanto, um aumento na corrente de pico anódico $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{H}_2\text{O}]^{2+} / [\text{Ru}^{\text{III}}\text{H}_2\text{O}]^{3+}$ será observado.

No voltamograma da Figura 4.1, observa-se que o processo E_{pa3} e E_{pc3} , referentes ao complexo aquofosfito, é dependente do primeiro processo de redução do complexo nitrosilo de rutênio, $[\text{RuNO}^+]^{3+} / [\text{RuNO}^\bullet]^{2+}$. Estudos anteriores^[89] indicam que os centros metálicos de rutênio possuem baixa afinidade por NO^\bullet , sendo que o produto de redução monoelétrônica do íon complexo $\text{trans-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ possui a mais elevada

constante de velocidade específica para a liberação de NO dentre as tetraaminas sintetizadas por nosso grupo de pesquisa ($k_{\text{NO}} = 0,97 \text{ s}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$)^[88]. Assim, após a redução monoelétrica sobre o fragmento $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+]$, ocorre a dissociação de NO e a formação do respectivo aquo complexo^[89], que posteriormente sofre o processo de oxidação, de acordo com as Equações 8 e 9.



Este processo de dissociação de NO pela espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]$ é dependente da temperatura, aumentando com a mesma. Além disto, a velocidade de varredura tem efeito indireto nas correntes de pico de cada um desses processos, pois a baixas velocidades de varredura maior será o tempo de varredura, proporcionando um aumento na quantidade da espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{H}_2\text{O}]^{2+}$. Isto foi observado em voltamogramas onde o potencial varia de 1,0 V a -0,5 V, considerando o primeiro processo de redução do *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ e o processo referente ao complexo aquofosfito. Neste caso, com o aumento da temperatura observa-se a diminuição da corrente de pico anódica do par $[\text{RuNO}^*]^{2+}/[\text{RuNO}^+]^{3+}$ devido à dissociação de NO da espécie $[\text{RuNO}^*]^{2+}$ e o aumento da corrente de pico referente à oxidação/redução do complexo aquofosfito, $i_{\text{pa}3}$ e $i_{\text{pc}3}$. Com a diminuição da temperatura acontece o contrário.

Da mesma maneira, para voltamogramas em que o potencial varia de 1,0 a -1,2 V, sendo considerado também o segundo processo de redução, $[\text{RuNO}^*]^{2+}/[\text{RuNO}^+]^+$, a

diminuição da temperatura aumenta a concentração da espécie $[\text{RuNO}^*]^{2+}$ a ser oxidada a $[\text{RuNO}^+]^{3+}$ na superfície do eletrodo, aumentando assim a corrente de pico anódica do par $[\text{RuNO}^*]^{2+}/[\text{RuNO}^+]^{3+}$. O aumento da concentração de $[\text{RuNO}^*]^{2+}$ conduz ao aumento da corrente de pico pertinente ao pico de redução da espécie $[\text{RuNO}^*]^{2+}$ a $[\text{RuNO}^+]^+$, o qual torna-se mais definido.

A aparente irreversibilidade da onda anódica a $-0,69$ V vs ECS poderia ser explicada em parte pela reação de dissociação de NO^- coordenado ao centro metálico do rutênio (II). Entretanto, como veremos mais adiante, esta situação é mais complexa devido à alteração de spin. Por isso, a segunda onda catódica pode ser mais bem observada se a velocidade de varredura for aumentada e se a temperatura da solução for diminuída.

O perfil voltamétrico das ondas de redução do íon complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ é mostrado na Figura 4.2, a qual enfatiza as duas ondas de redução a velocidades de varredura de $0,005$ e $0,5$ $\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$.

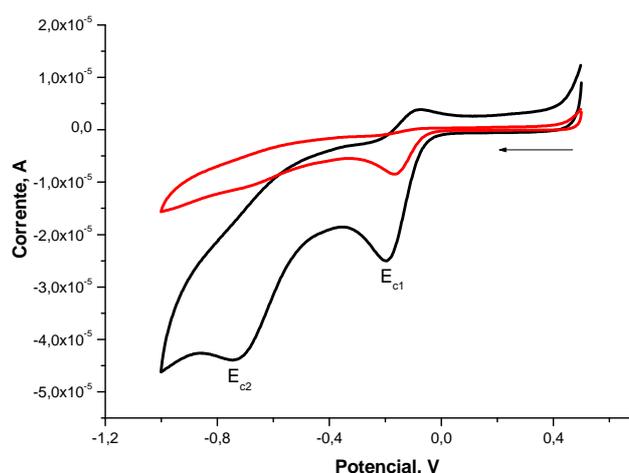


Figura 4.2 – Voltamograma cíclico do complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3](\text{PF}_6)_3$ (—) $v = 0,005$ $\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$; (—) $v = 0,5$ V/s . Condições: $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{NaCF}_3\text{COO}$ pH = 3,0; $\mu = 0,1$ molL^{-1} ; $T = 25$ $^\circ\text{C}$; $C_{\text{Ru}} = 1,1 \times 10^{-3}$ molL^{-1} ; eletrodo de trabalho: carbono vítreo; $E_i = 0,3$ V; $E_f = -1,0$ V.

A Figura 4.2 mostra claramente a não equivalência entre as correntes dos picos de redução e oxidação da mesma espécie. Conforme foi comentado, observa-se que os processos de redução do $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ se tornam mais bem definidos à medida em que a velocidade de varredura aumenta.

Este segundo processo de redução foi observado para outros compostos sintetizados em nosso Laboratório⁽⁵⁶⁾, tais como: $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{3+}$, onde L = 4-pic, py, ImN, nic, $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$. Voltamogramas cíclicos, assim como os voltamogramas de pulso diferencial, para as soluções desses compostos estão ilustrados no apêndice A. Para o complexo $[\text{RuNOHedta}]\cdot\text{H}_2\text{O}$, não se observa uma segunda onda catódica em potenciais aplicados de 1,0 a -1,0 V. A Figura 4.3 apresenta o voltamograma cíclico de uma solução aquosa contendo o complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})(\text{Hedta})]$, a 25 °C.

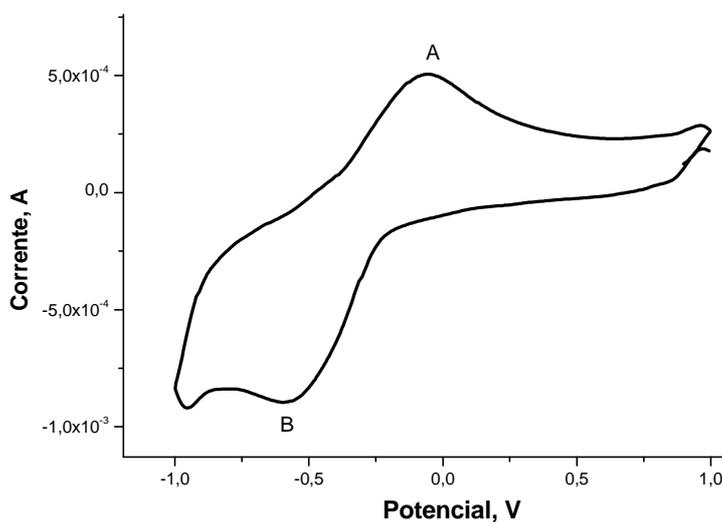


Figura 4.3 – Voltamograma cíclico do complexo $[\text{Ru}(\text{HEdta})\text{NO}]\cdot\text{H}_2\text{O}$. Condições: $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{NaCF}_3\text{COO}$ $\mu = 0,1 \text{ molL}^{-1}$; pH = 5,4; $C_{\text{Ru}} = 5,9 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$; T = 25 °C; $v = 0,2 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.

Este complexo apresenta um processo reversível já bem caracterizado^[68] (A e B), com um potencial de meia onda de $E_{\text{NO}^+/\text{NO}} = -0,3 \text{ V}$. Por outro lado, não se observa a

segunda onda catódica no voltamograma do composto. Este comportamento da espécie $[\text{RuNOHedta}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ pode ser devido à segunda transferência eletrônica ocorrer a potenciais bem mais negativos, confundindo-se com processos devido ao eletrólito de suporte, nas condições de trabalho realizadas.

Em uma análise mais detalhada da segunda onda catódica procurou-se estimar o número aproximado de elétrons envolvido no processo. Para tanto, tentou-se aplicar o processo de deconvolução ao voltamograma e realizar experimentos usando a técnica de voltametria de onda quadrada.

Uma tentativa para se estimar o número de elétrons envolvidos no processo eletroquímico referente à segunda onda catódica, $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}/[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}]^+$, foi aplicar deconvolução das ondas de redução sob a faixa de 0,0 a -1,0 V.

Para se construir uma curva de calibração normalmente colocam-se os valores das correntes de pico (ou a área sob o pico) contra as concentrações da espécie eletroativa correspondentes a eles. Desta forma, a corrente de pico (altura ou área) será diretamente proporcional à concentração da espécie eletroativa^[78]. Assim sendo, por comparação de duas ondas catódicas de um mesmo voltamograma, pode-se estimar o número de elétrons através dos valores de corrente de pico de ambas as ondas. Para tanto, a deconvolução foi efetuada descontando-se a linha de base, considerando a variação da mesma de forma linear.

No caso em questão foi verificado que ambas as ondas catódicas apresentaram áreas similares sugerindo uma possível redução de um elétron para a segunda onda catódica, visto que a primeira onda catódica é atribuída a uma redução monoeletrônica

do par $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+]^{3+}/[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}$. A Figura 4.4 mostra a deconvolução de um voltamograma, no sentido de redução, para o íon complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{NOP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$.

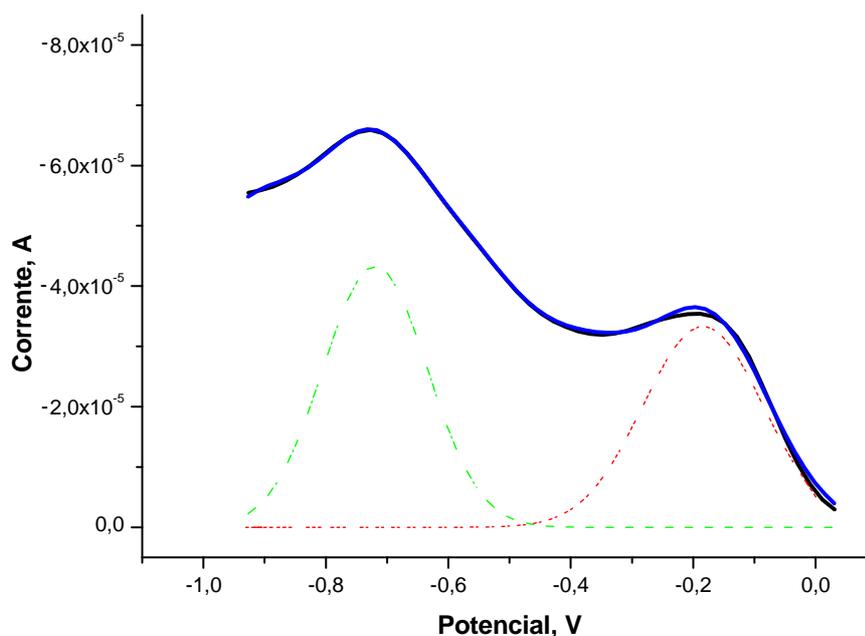


Figura 4.4 – Deconvolução do voltamograma do íon complexo *t*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{NOP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$. Condições: pH = 3,0; T = 2,5°C; $C_{\text{Ru}} = 5,3 \times 10^{-3}$ mol/L; NaTFA; $\mu = 0,5$ mol/L; $v = 0,5 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$; $E_i = 0,0 \text{ V}$; $E_f = -1,0 \text{ V}$.

A Voltametria de onda quadrada foi utilizada para o estudo do comportamento eletroquímico do íon complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ por ser uma técnica voltamétrica de pulso mais rápida e sensível dentre todas, possibilitando assim, uma análise do tipo de processo redox envolvido^[90] e uma estimativa do número de elétrons utilizando os critérios de diagnósticos desenvolvidos por LOVRIC e OSTERYOUNG^[91].

Inicialmente foi necessário estabelecer as condições experimentais apropriadas para a análise, após tal, o incremento de varredura (ΔE_s) foi fixado em 2 mV e a amplitude de pulso (ΔE_p) foi mantida em 50 mV, condições estas que demonstraram

satisfatórias para as medidas realizadas, baseadas no perfil voltamétrico referente ao E_{pc2} .

A frequência de aplicação dos pulsos de potenciais (f) é uma das variáveis mais importantes envolvidos na voltametria de onda quadrada, pois mantendo-se a concentração constante é ela quem determina a intensidade dos sinais, e conseqüentemente, a sensibilidade obtida nas análises, além de possibilitar uma observação do tipo de processo e o número de elétrons envolvidos na transferência eletrônica^[79]. Desta forma, uma avaliação da influência da variação da frequência (f) de um pulso foi efetuado no intervalo entre 100 e 600 Hz, utilizando-se uma solução contendo o íon $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$. As respostas voltamétricas para o segundo pico de redução ($E_p = -0,69$ V) obtidas nestas condições, em função da variação da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais são mostradas na Figura 4.5.

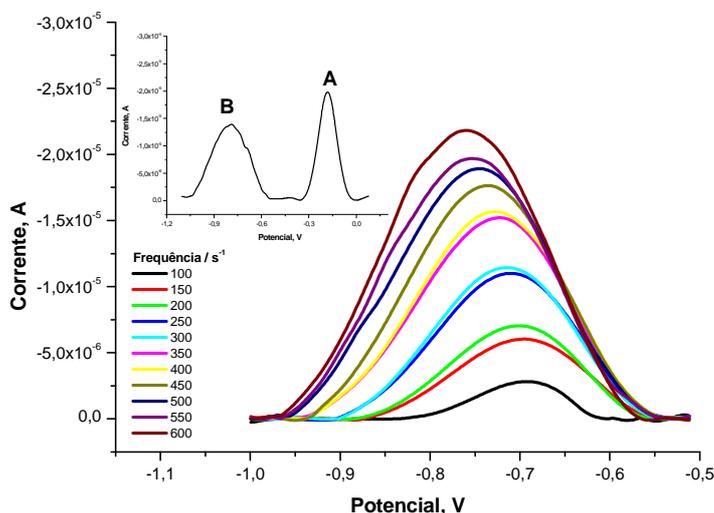


Figura 4.5 – Voltamogramas de onda quadrada mostrando a influência da variação da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais (f) sobre o segundo pico de redução do íon complexo $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$. Condições: $C_{\text{Ru}} = 1,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{NaCF}_3\text{COO}$ $\text{pH} = 3,0$; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; $\Delta E_p = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$. Inserção: Voltamograma de onda quadrada mostrando os picos de redução E_{pc1} e E_{pc2} .

Observa-se que o aumento no valor da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais promoveu um aumento da intensidade da corrente de pico (I_{pc2}), e os potenciais de pico (E_{pc2}) se deslocaram para regiões mais negativas. O gráfico inserido na Figura 4.5 mostra a separação dos picos de redução E_{pc1} e E_{pc2} . No entanto, frequências abaixo de 100 s^{-1} não influenciam de maneira significativa na intensidade do sinal, por este motivo a frequência de trabalho escolhida foi acima de 100 s^{-1} , onde se obtém um voltamograma bem definido, com maior corrente de pico. Os valores de correntes e potenciais de pico em função da variação da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais estão resumidos na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Variação do potencial e corrente de pico em função da frequência para o segundo pico de redução do íon *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺

Frequência (s ⁻¹)	E _{p2} (mV)	I _{p2} (μA)
100	-691	-2,81
150	-695	-5,94
200	-700	-7,09
250	-714	-10,92
300	-716	-11,40
350	-723	-15,17
450	-736	-17,58
500	-750	-18,89
550	-752	-19,67
600	-759	-21,81

Condições: solução NaTFA, $\mu = 0,1 \text{ molL}^{-1}$; pH 3,0; T = 25 °C

De acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada^[80], para processos controlados pela difusão das espécies, a intensidade de corrente de pico varia linearmente com a frequência (f) de aplicação dos pulsos. A Figura 4.6 mostra o comportamento da corrente de pico em função da variação da frequência da onda quadrada para a transferência de elétrons ao íon complexo *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]²⁺.

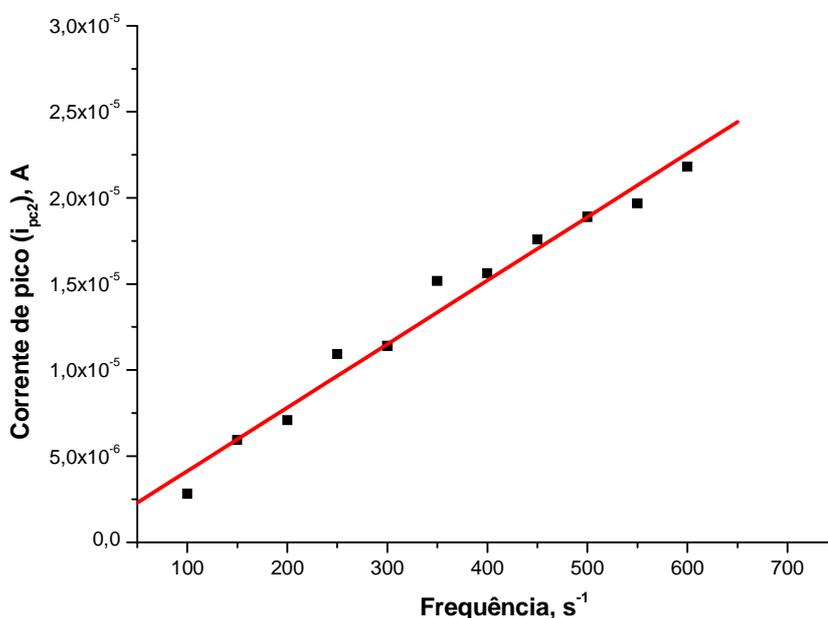


Figura 4.6 – Gráfico da variação da corrente de pico (I_{pc2}) em função da frequência de onda quadrada (f) para o segundo pico de redução do complexo *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺. Condições: CF₃COOH/NaCF₃COO pH = 3,0; $\mu = 0,1 \text{ molL}^{-1}$; T = 25 °C; C_{Ru} = $1,4 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$; $\Delta E_s = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_p = 2 \text{ mV}$; (R = 0,98775).

Observa-se que a intensidade de corrente de pico varia linearmente com a frequência da onda quadrada, mostrando que o processo da segunda onda de redução do complexo *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺ sobre o eletrodo de carbono vítreo apresenta-se como irreversível.

Para sistemas redox totalmente irreversíveis, onde não ocorre adsorção e a corrente é controlada por difusão, também existirá uma relação linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da frequência ($f^{1/2}$). Este comportamento foi observado para a redução da espécie $[Ru^{II}NO^*]$, como mostra a Figura 4.7.

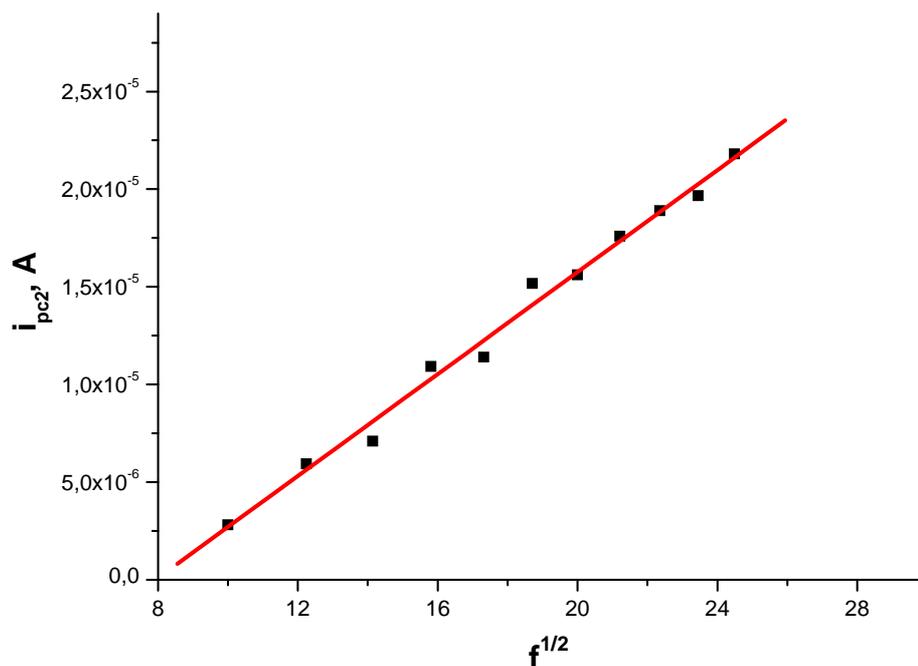


Figura 4.7 – Gráfico da variação da corrente de pico (i_{pc2}) em função da raiz quadrada da frequência de onda quadrada ($f^{1/2}$) para o segundo pico de redução do complexo $trans-[RuNO(NH_3)_4P(OC_2H_5)_3]^{3+}$. Condições: $CF_3COOH/NaCF_3COO$ pH = 3,0; $\mu = 0,10$ molL $^{-1}$; $T = 25$ °C; $C_{Ru} = 1,4 \times 10^{-3}$ molL $^{-1}$; $\Delta E_s = 50$ mV; $\Delta E_p = 2$ mV ($R = 0,99483$).

De acordo com os critérios de diagnósticos da voltametria de onda quadrada, a dependência dos potenciais de pico sobre o logaritmo da frequência para reações totalmente irreversíveis é linear, e apresenta uma inclinação de acordo com a Equação de Lovric^[91]:

$$\frac{\delta E_p}{\delta \log (f)} = \frac{-2,3RT}{\alpha nF} \quad (10)$$

Construindo-se um gráfico de potencial de pico (E_{pc2}) vs $\log(f)$ é possível calcular o valor de αn , aproximando-se o valor de α para 0,5^[92]. Para a determinação do valor de αn , foram realizados experimentos, onde as variações de frequência foram conduzidas a temperaturas de 2,5 °C e 25,0 °C. Com os valores dos potenciais de pico (E_{pc2}) para cada variação de frequência foram obtidos gráficos de E_p em função do $\log(f)$. Assim, a partir das inclinações das retas obtidas foi possível determinar os valores de αn . Na Figura 4.8 está apresentado o comportamento do potencial de pico em função do logaritmo da frequência, para o segundo processo de redução do íon *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$.

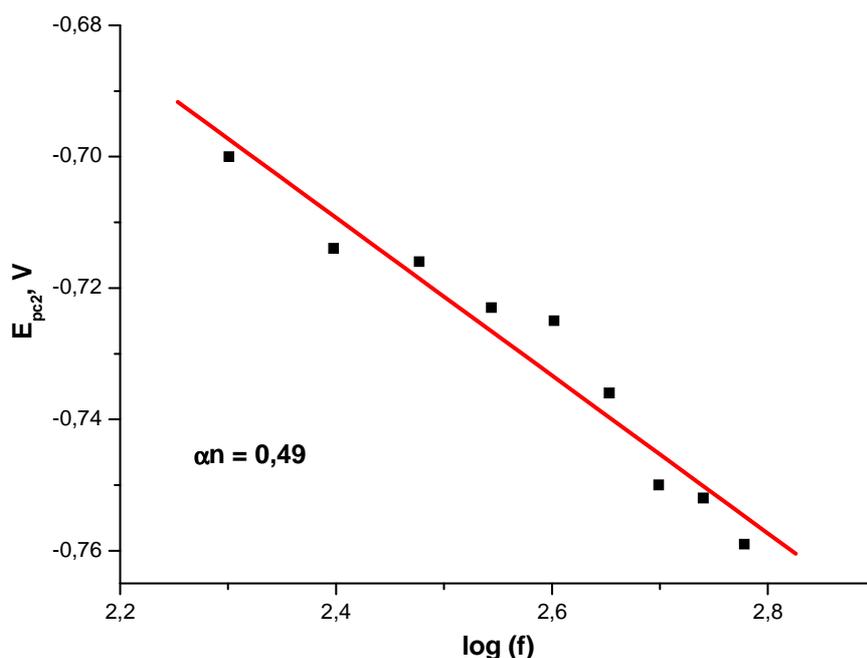


Figura 4.8 – Gráfico da variação da corrente de pico (I_{pc2}) em função do logaritmo da frequência de onda quadrada ($\log(f)$) para o pico de redução do íon complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{2+}$. Condições: $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{NaCF}_3\text{COO}$ pH = 3,0; $\mu = 0,10 \text{ molL}^{-1}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; $C_{\text{Ru}} = 1,4 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$; $\Delta E_s = 50 \text{ mV}$; $\Delta E_p = 2 \text{ mV}$ ($R = 0,97092$)-(Dados extraídos da Tabela 4.1).

Considerando o processo como irreversível, em primeira aproximação, a correlação dos potenciais de pico em relação ao aumento da frequência de aplicação dos pulsos de potenciais possibilitou uma estimativa do número de elétrons envolvidos neste processo redox. Observa-se um comportamento linear com inclinação para $\delta E_p / \delta \log(f)$ de -0,12. Aplicando-se este valor na Equação 10, tem-se que $\alpha n = 0,49$, o que corresponderia a um valor de n de 0,98 (≈ 1 elétron). Este valor de n é compatível com a redução da espécie $[\text{RuNO}^*]^{2+}$ a $[\text{RuNO}]^+$.

4.2 – Espectroscopia vibracional vs Potencial

Espectros FT-IR *in situ* de uma solução contendo o íon complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$, registrados no intervalo de número de onda de 2200-1700 cm^{-1} , considerando o processo de redução para a faixa de potencial de -0,02 V a -0,82 V vs ECS, são mostrados na Figura 4.9.

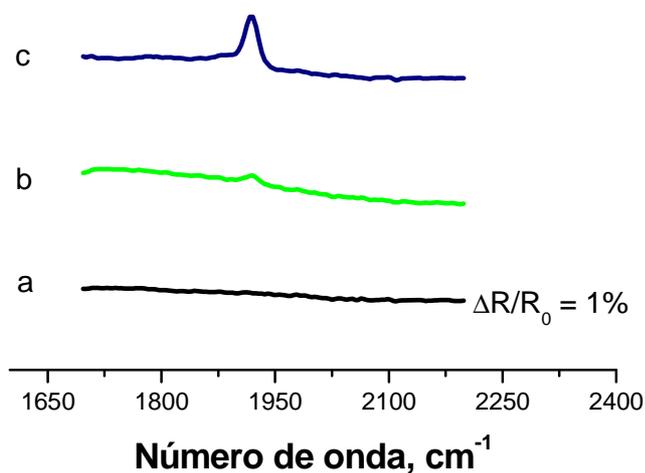


Figura 4.9 – Espectro eletrônico na região do IR vs potencial para o complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$; a) $E_S = -0,02$ V; b) $E_S = -0,22$ V; c) $E_S = -0,82$ V. Condições: $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{NaCF}_3\text{COO}$ pH = 3,0; $\mu = 0,1$ mol.L⁻¹; $C_{\text{Ru}} = 1,4 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹; T = 25,0 °C; $E_R = 0,5$ V. Luz s-polarizada, eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

Neste processo, para o potencial fixado em $-0,02$ V, não se observou uma mudança significativa no espectro, visto que neste caso ainda não foi atingido o potencial de redução do par redox $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+]^{3+}/[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}$ ($-0,18$ V vs ECS). Em geral a frequência de estiramento do monóxido de nitrogênio, ν_{NO} , coordenado em complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4\text{L}]^{3+}$ ($\text{L} = \text{P}(\text{OEt})_3$, nic, py ImN, L-Hist, pz, isn) é intensa e apresenta-se na região de $1911\text{-}1970$ cm^{-1} ^[56]. Ajustando-se o potencial para $-0,22$ V, um sinal positivo em 1918 cm^{-1} começa a se definir, indicando o desaparecimento da espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+]^{3+}$ por redução, já que neste ponto se atinge o potencial de redução do par $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+]^{3+}/[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}$. Além disso, quando o potencial aplicado é de $-0,82$ V um aumento desta variação de sinal é observado, visto que neste potencial uma maior quantidade de $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+]^{3+}$ é reduzida, levando a um consumo maior dessa espécie. Deste modo, a variação de sinal em 1918 cm^{-1} , conforme antecipado, é devido ao ν_{NO} .

O mesmo experimento foi realizado com o íon complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{nic}]^{3+}$ obtendo-se o espectro apresentado na Figura 4.10.

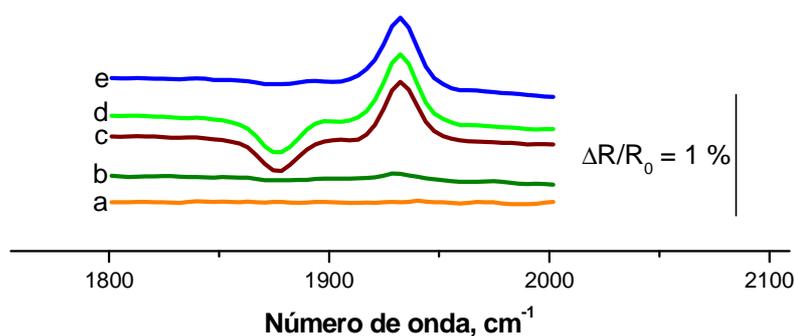


Figura 4.10 – Espectro eletrônico na região do IR vs potencial de pico para o complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{nic}]^{3+}$; a) $E_S = 0,05$ V; b) $E_S = -0,25$ V; c) $E_S = -0,35$ V; d) $E_S = -0,55$ V; e) $E_S = -0,65$ V; Condições: $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{NaCF}_3\text{COO}$ pH = 3,0; $\mu = 0,1$ mol.L^{-1} ; $C_{\text{Ru}} = 3,0 \times 10^{-3}$ mol.L^{-1} ; $T = 25,0$ $^\circ\text{C}$; $E_R = 0,5$ V. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. (região IR $2000\text{-}1800$ cm^{-1}). Luz s-polarizada.

Neste caso, ao se atingir o potencial de redução da espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+\text{nic}]^{3+}$ ($E_{\text{NO}^+/\text{NO}^\bullet} = -0,26 \text{ V vs ECS}$) uma variação de sinal no sentido positivo em 1933 cm^{-1} começa a se definir, como mostra o espectro b da Figura 4.11. Neste potencial ocorre o desaparecimento da espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+\text{nic}]^{3+}$, devido à redução para $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^\bullet\text{nic}]^{2+}$, e deste modo este sinal foi atribuído ao ν_{NO} na espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+\text{nic}]^{3+}$. À medida que este potencial é alterado para $-0,35 \text{ V vs ECS}$ (espectro c) e $-0,55 \text{ V vs ECS}$ (espectro d) uma variação de sinal em 1875 cm^{-1} é evidenciada. Esta variação é indicativa da formação da espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^\bullet\text{nic}]^{2+}$, sendo portanto, atribuída ao ν_{NO} nesta espécie. Esta observação foi possível, pois a constante de liberação de NO no íon complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{nic}]^{2+}$ é favorável, $k_{\text{NO}} = 0,025 \text{ s}^{-1[89]}$ e assim, a espécie reduzida mantém a sua integridade o tempo suficiente para ser detectada. Quando o potencial é elevado a $-0,65 \text{ V vs ECS}$ este sinal não é mais observado devido ao início do segundo processo de redução, que envolve o consumo da espécie *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{nic}]^{2+}$.

Quando este experimento foi realizado com o íon complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ não foi possível observar a banda ν_{NO} referente ao produto da redução monoelétrica, $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^\bullet]^{2+}$, pois o k_{NO} para esta espécie é de $0,97 \text{ s}^{-1[89]}$ e refletindo a baixa afinidade do centro de rutênio (II) pelo óxido nítrico, esta se dissocia com meia vida da ordem de 0,7 segundos. Assim, o tempo de obtenção da média dos espectros, em torno de 20 s, é significativamente elevado para permitir a detecção da espécie *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{2+}$ sob as condições de temperatura em que o experimento foi conduzido ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

4.3 – Cálculos de DFT para os complexos $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OEt})_3\text{L}^n]^{n+2}$, onde $\text{L}=\text{NO}^+$, NO , NO^- e HNO

Cálculos Quânticos, realizados anteriormente, permitiram interpretar os espectros eletrônicos de uma série de compostos do tipo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{LNO}]^{3+}$, bem como verificar que a adição de um elétron aos compostos acima conduz à espécie $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{LNO}]^{2+}$ com densidade eletrônica correspondente ao elétron adicionado, situado principalmente sobre os orbitais do ligante NO. Para uma melhor compreensão da estabilidade do ligante NO coordenado ao metal no complexo em estudo, em seus diferentes estados de oxidação (NO^+ , NO , NO^- e HNO) (Figura 4.2), bem como dos sítios de redução referente à espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}$, foram realizados cálculos quânticos para cada uma das espécies acima.

Para a validação da base de cálculo e da metodologia, foram calculados os parâmetros para a espécie complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3\text{NO}](\text{CF}_3\text{COO})_3$ e foi feita uma comparação com dados experimentais obtidos por difração de raios-X^[73] para o mesmo complexo. As distâncias e os ângulos de ligação selecionados da otimização dessa molécula estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Distâncias de ligação e ângulos de ligação do Complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃L]ⁿ⁺ (L= NO, NO⁺, NO⁻ e HNO) em água e a sua comparação com dados cristalográficos^[49] para o complexo.

	Ru – N (NO) (Å)	N – O (Å)	Ru-N(NO)-O (grau)
(NO ⁺) _{exp}	1,766	1,124	174,9
(NO ⁺)	1,815	1,170	177,9
(NO [•])	1,915	1,213	141,6
(NO ⁻)	1,926	1,282	116,9
(HNO)	1,938	1,282	122,7

Pela análise da Tabela 4.2 observa-se que os resultados dos dados cristalográficos e os obtidos por cálculo teórico para o complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃NO](PF₆)₃, estão muito próximos, atestando a auto consistência do método de cálculo.

Assim a distância interatômica calculada para Ru-N(O) é de $1,81 \pm 0,02$ Å, sendo este valor próximo ao de 1,766 Å obtido por difração de raios-X para o composto nitrosilo. Esta distância aumenta com a redução e a protonação do nitroxil atingindo o valor de $1,94 \pm 0,02$ Å. A distância N-O de $1,17 \pm 0,02$ Å para o complexo nitrosilo também aumenta com a redução e a protonação do nitroxilo. Estas alterações estão também relacionadas à variação da ordem de ligação entre os átomos de N e O, que diminui à medida que ocorre a população dos orbitais antiligantes do monóxido de nitrogênio, levando a um enfraquecimento da ligação N-O e aumentando assim, a distância entre os dois átomos.

A distância calculada para o fragmento Ru-NO será a soma das distâncias do Ru-N(O) e N-O, que varia de 2,99 Å (nitrosilo complexo) a 3,22 Å (composto nitroxil protonado). Essa diferença na distância do fragmento Ru-NO com a redução do nitrosilo, é um reflexo do modelo de ligação, que considera a existência no complexo de nitrosilo de uma extensa retrodoação na ligação Ru→NO. Este tipo de ligação diminui a distância metal-ligante. Por outro lado, a diminuição do efeito π -receptor do NO com a redução do nitrosilo leva ao enfraquecimento da ligação, e conseqüentemente, aumenta a distância metal-ligante^[59].

Foram também obtidas informações sobre a composição dos orbitais moleculares (HOMO e LUMO) do complexo onde a espécie NO se encontra em diferentes estados formais de oxidação (NO⁺, NO, NO⁻ e HNO). Esses orbitais moleculares (HOMO e LUMO) têm sido muito utilizados em estudos de reatividade química, pois indicam os possíveis sítios reativos em reações de oxidação e redução. Os orbitais moleculares HOMO fornecem indícios sobre a tendência de um composto em formar cátion, pois é deste orbital que o elétron seria retirado em uma reação de oxidação. Já o orbital LUMO fornece resultados sobre os sítios de redução de uma molécula, pois este orbital é o responsável pela entrada de elétron na molécula^[93].

Como neste trabalho a reação envolvendo o complexo é uma reação de redução, somente o orbital LUMO (orbital molecular onde entrará o elétron referente à redução do complexo) da espécie [Ru^{II}NO[•]]²⁺ será analisado.

Para o complexo reduzido [Ru^{II}NO[•]]²⁺ o LUMO e o LUMO +1 possuem 80 e 85 % de caráter π^* do NO, respectivamente. Assim, pode-se considerar que a segunda

redução ocorre com a população dos orbitais π^* do NO. O LUMO +1 possui um aumento de energia de 0,30 eV comparado à energia do LUMO. Como a diferença de energia entre o LUMO e o LUMO +1 é muito pequena, os dois estados podem ser considerados degenerados. A composição do LUMO para esta espécie é de 80 % π^* (NO) e 16 % $d_{x^2 - y^2}$ (Ru) e para o HOMO é de 100 % d_{xy} (Ru). A composição dos LUMOs e HOMOs para os demais sistemas, calculados por DFT, se encontram tabelados no Apêndice A.

Com o intuito de confirmar as evidências constatadas da análise do LUMO, foi efetuado o cálculo das cargas atômicas derivadas do potencial eletrostático, com o complexo contendo o NO em diferentes estados de oxidação. Este cálculo permitiu avaliar a mudança de densidade eletrônica do complexo antes e após as sucessivas reduções. Os valores das cargas atômicas calculadas estão indicados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Cálculo das cargas atômicas derivadas do potencial eletrostático para o complexo contendo o monóxido de nitrogênio em diferentes estados formais de oxidação

Átomos	NO ⁺	NO	NO ⁻	HNO
Ru	0,55	0,43	0,35	0,45
N (NO)	0,30	0,13	-0,04	-0,10
O (NO)	0,05	-0,14	-0,42	-0,30
P	1,86	1,79	1,69	1,78

Ao analisar a Tabela 4.3, verifica-se que a adição de elétrons no orbital molecular do complexo leva a mudanças na densidade de carga eletrônica da molécula, porém a variação mais significativa ocorre nos átomos de N e O, comprovando novamente que o ligante NO é o principal sítio de redução dos pares $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^+]^{3+}/[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}/[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}]^+$.

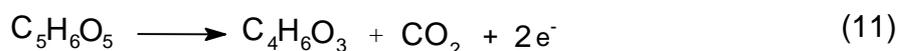
Verificou-se também que o estiramento vibracional NO, em termos de cm^{-1} , do sistema *trans*- $[\text{RuL}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$, baseado nos cálculos quânticos, diminui com a redução das espécies: L = NO^+ (1812 cm^{-1}), NO (1588 cm^{-1}), NO^- (1309 cm^{-1}), HNO (1297 cm^{-1}). Os valores teóricos de 1309 e 1297 cm^{-1} para o ν_{NO} dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}]^+$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{HNO}]^{2+}$, respectivamente, se encontram dentro da faixa dos valores de ν_{NO} de $1300\text{-}1500 \text{ cm}^{-1}$ para complexos de nitroxilos metálicos, contendo o ferro, ósmio, rênio e rutênio como centros metálicos^[14-16,20], relatados na literatura.

Os valores calculados para a energia de solvatação sugerem que a espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{HNO}]^{2+}$ é mais estável que a espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}]^+$ com uma diferença de energia de $104,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Além disso, a espécie $[\text{Ru}^{\text{I}}\text{NO}]^+$, onde o grupo NO se encontra no estado singleto, é mais estável que a espécie $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{NO}]^+$, em que o grupo NO está no estado tripleto, com uma diferença de $11,2 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Assim, é bastante razoável supor que o produto da redução de dois elétrons do íon *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ é provavelmente a espécie *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3^3\text{NO}]^+$, onde o NO se encontra na forma reduzida tripleto, $^3\text{NO}^-$, a qual se isomeriza originando a espécie singleto *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3^1\text{NO}]^+$ mais estável.

4.4 – Redução química por reação com o α -Cetoglutarato

Para estudar a redução química do ligante NO^+ a NO^- no íon complexo *trans*- $[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$, escolheu-se um redutor de dois elétrons com potencial de redução adequado à segunda onda de redução, considerando-se $E_{\text{pc}2} = -0,69 \text{ V vs ECS}$. Desta maneira, optou-se para este propósito, a utilização do α -cetoglutarato, um importante composto biológico e um intermediário fundamental no ciclo de Krebs.

Sabe-se que o α -cetoglutarato (α -CG) pode sofrer uma aminação redutiva^[95-96], porém este composto também possui uma função importante em reações de oxirredução. O α -CG sofre uma descarboxilação formando o succinato semialdeído e CO_2 ^[97-98], liberando com o processo dois elétrons^[99], conforme a Equação 6.



O potencial de redução da reação é de $-0,90 \text{ V vs ECS}$ ^[99-100], ou seja, possui um potencial acessível para atuar como redutor para o complexo em estudo. Por outro lado, a reação do complexo com o α -CG é relativamente lenta (cerca de alguns minutos), devido provavelmente à interconversão deste composto em outras formas inativas^[101-102], como mostra a Figura 4.11.

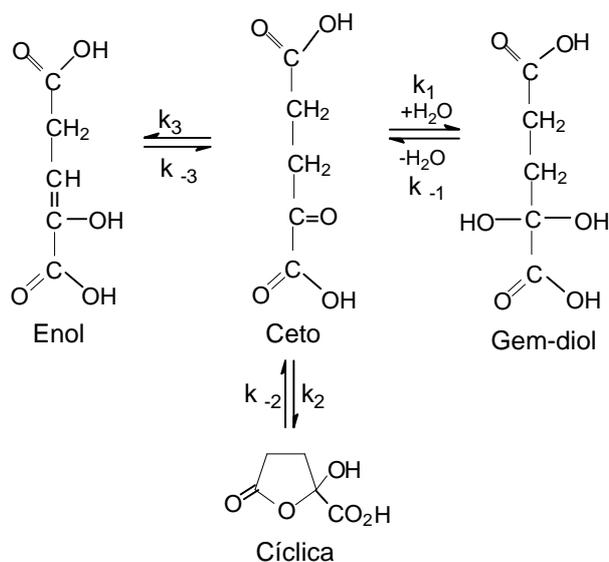


Figura 4.11 – Esquema de algumas formas do ácido α -cetoglúterico em solução^[103].

As evidências sugerem que a interconversão das formas cíclica \rightleftharpoons ceto é extremamente rápida, e que a concentração da forma gem-diol é elevada com a diminuição do pH, sendo que em pH 1,0 uma solução de α -CG contém 35% da forma gem-diol, 35% ceto e 30% da forma cíclica, e em pH neutro a forma gem-diol diminui para apenas 6%, prevalecendo a forma ceto^[99], que é a forma ativa. Assim sendo, sob as condições experimentais (pH \approx 3,0) o α -CG não se encontra totalmente em sua forma ativa (ceto).

Neste trabalho foi utilizado o composto α -cetoglutarato como redutor de dois elétrons para reduzir o íon complexo $trans\text{-}[\text{RuNO}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$ a $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3\text{NO}]^+$.

O acompanhamento da reação de redução do íon complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄NOP(OC₂H₅)₃]³⁺ com o α-CG, foi efetuado utilizando-se a voltametria cíclica (Figura 4.12).

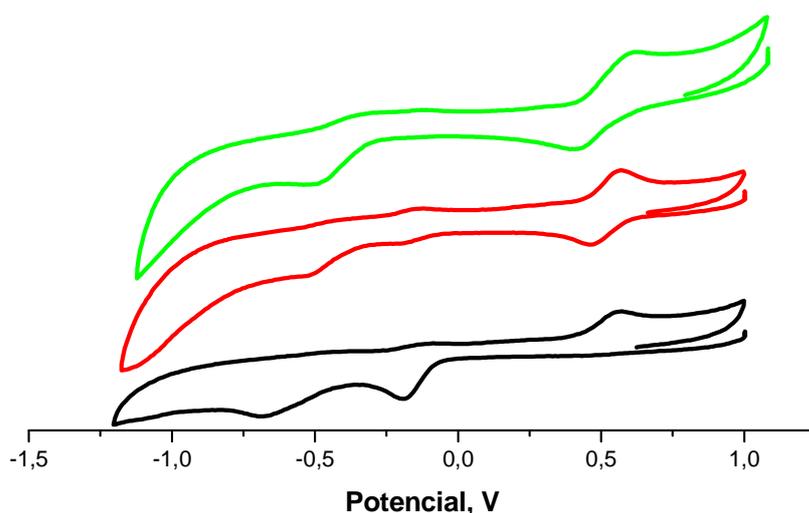


Figura 4.12 – Voltamograma cíclico (—) do íon complexo *t*-[Ru(NH₃)₄NOP(OC₂H₅)₃]³⁺; (—) após 45 min de reação do complexo com o α-Cetoglutarato; (—) Após 90 min de reação. Condições: NaTFA; $\mu = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 2,9; T = 25°C; $C_{\text{Ru}} = 1,2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $C_{\alpha\text{-CG}} = 1,1 \times 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$; $v = 0,5 \text{ V.s}^{-1}$.

Observa-se na Figura 4.12 o desaparecimento dos picos de redução em -0,18 e -0,69 V, referindo-se às etapas $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}]^{3+} \rightarrow [\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}]^{2+}$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}]^{2+} \rightarrow [\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}]^{+}$, respectivamente, e o aparecimento de um pico em -0,50 V. A formação desse pico pode estar relacionado à liberação de óxido nítrico (produto da reação de dimerização do HNO) em solução ou do óxido nítrico, liberado pela dissociação de NO no complexo. Experimentos em soluções aquosas indicam que o óxido nítrico é reduzido utilizando um eletrodo de platina, provavelmente a gás nitrogênio^[103], de acordo com Equação 12:



Outra possibilidade seria a redução do óxido nítrico liberado no meio, formando o $\text{HNO}^{[17, 21]}$ (Equação 13):



Sendo assim, para verificar se a formação do pico em -0,5 V referia-se a uma dessas reações de redução, em experimentos paralelos, borbulhou-se o óxido nítrico (solubilidade em água de aproximadamente $2 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ a 1 atm)^[103] e o óxido nítrico por cerca de 2 h em soluções contendo o eletrólito NaTFA $\mu = 0,1 \text{ molL}$ e pH 3. Voltamogramas cíclicos foram registrados em condições comparáveis aos experimentos realizados entre o α -CG e o complexo, para ambos os casos, como mostram as Figuras 4.13 e 4.14.

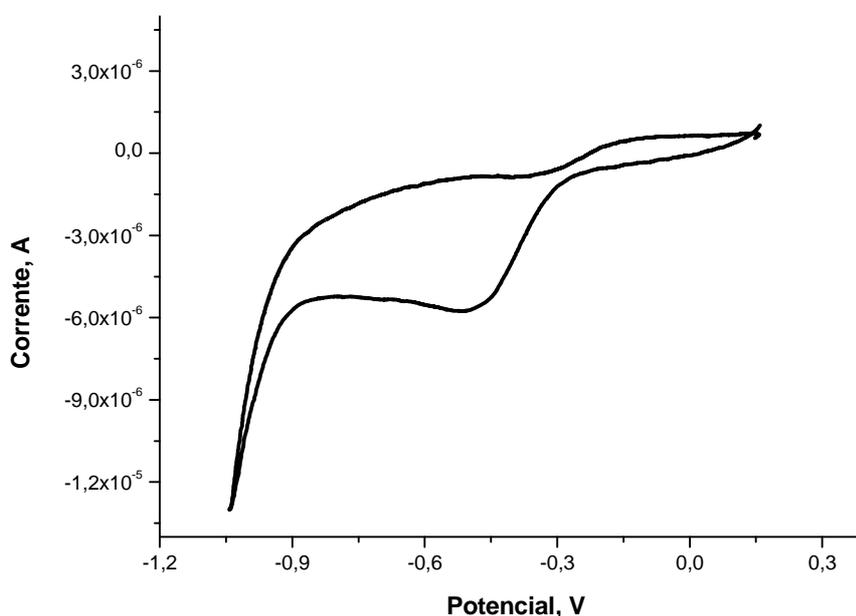


Figura 4.13 – Voltamograma cíclico de uma solução de NaTFA saturada com o gás N_2O . Condições: $\mu = 0,1 \text{ molL}^{-1}$; pH = 3,1; $v = 0,1 \text{ V.s}^{-1}$; $T = 25^\circ\text{C}$.

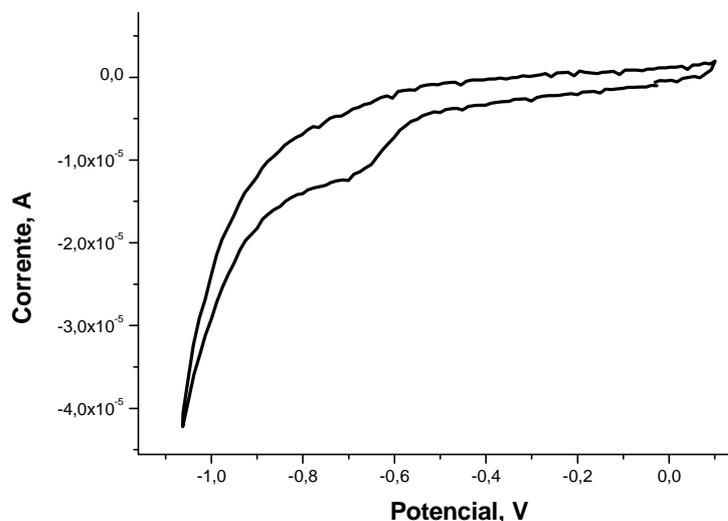


Figura 4.14 – Voltamograma cíclico de uma solução de NaTFA saturada com NO. Condições: $\mu = 0,1 \text{ molL}^{-1}$; pH = 3,2; $v = 0,2 \text{ V.s}^{-1}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$;

Pela análise dos voltamogramas cíclicos, observou-se que a redução da molécula NO ocorre a potencial mais negativo (-0,7 vs ECS) do que aquele observado para o produto formado pela reação do complexo e α -CG (-0,5 vs ECS). Entretanto, as soluções saturadas de óxido nítrico apresentaram pico de redução próximo ao observado para a reação. Deste modo, o aparecimento do pico a -0,5 V vs ECS observado para as soluções de $\text{trans-[RuNO(NH}_3)_4\text{P(OC}_2\text{H}_5)_3]^3+$, após a reação com o α -cetoglutarato foi tentativamente atribuído à presença em solução da espécie eletroativa N_2O , o qual seria gerado pela reação de dimerização.

Foi realizado o monitoramento da reação por espectrofotometria na região do ultravioleta e visível (Figura 4.15). O espectro de absorção UV-vis do α -CG apresenta uma banda de absorção fraca em 320 nm ($\epsilon = 29,1 \text{ mol}^{-1}\text{L}^{-1}\text{cm}^{-1}$) para a forma ceto^[102,104], sendo que as formas gem-diol e cíclica não absorvem na faixa de

comprimento de onda estudada. Além disso, o ácido succínico, um dos produtos da reação, apresenta uma banda em 215 nm^[105], ou seja, não interfere na análise do espectro.

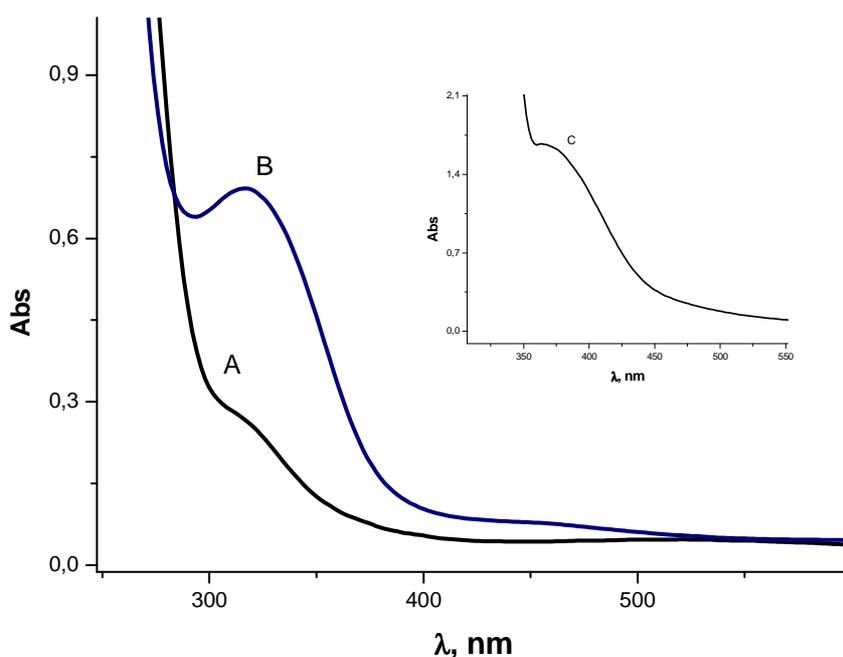


Figura 4.15 – Monitoramento espectrofotométrico da reação do complexo *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OCH₂CH₃)]³⁺ e α -CG. Condições: $C_{Ru} = 1,3 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $C_{\alpha\text{-CG}} = 9,6 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$; NaTFA; pH = 2,9; $\mu = 0,1 \text{ M}$; T = 25 °C.

Conforme indicado na Figura 4.16, a variação do espectro na região de 300 a 400 nm foi utilizada para monitorar a reação. Neste caso foi observado o aumento da banda em 316 nm, que é onde os íons complexos *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄P(OCH₂CH₃)]³⁺ ($\epsilon = 216 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) e *trans*-[Ru(NH₃)₄(H₂O)P(OCH₂CH₃)]²⁺ ($\epsilon = 650 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)^[33] absorvem. Como o composto de partida é o nitrosilo complexo (espectro A) e, visto que a absorvidade deste composto é menor que o do aquocomplexo, nota-se que a variação do espectro é consistente com a reação do nitrosilo complexo e α -CG

originando o íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)]^{2+}$. Este fato pode ser comprovado pela reação do produto formado com pirazina (pz). Sabe-se que o íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)]^{2+}$ reage rapidamente com pirazina para formar a espécie $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3(\text{pz})]^{2+}$. Este íon complexo possui uma banda de absorção em 366 nm ($\epsilon = 4,2 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)^[106], a qual pode ser observada no espectro registrado após a adição de excesso de pirazina no meio reacional no final da reação (espectro inserido na Figura 4.16).

A reação também foi monitorada por ressonância magnética nuclear. A Figura 4.16 apresenta o espectro de RMN ^{31}P do produto final da reação do complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{NOP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)](\text{PF}_6)_3$ e α -cetoglutarato na proporção 1:100.

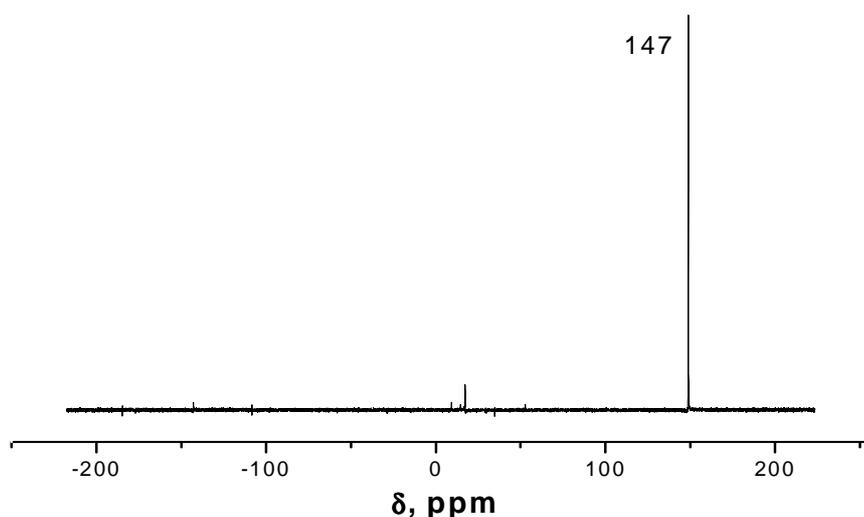


Figura 4.16 – RMN ^{31}P do produto final da reação do íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)]^{3+}$ e α -CG (em água deuterada e NaTFA). Condições: $C_{\text{Ru}} = 5,4 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $C_{\alpha\text{-CG}} = 7,4 \times 10^{-1} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $\mu = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{pH} = 3,2$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; tempo de reação = 2 h.

Observa-se na Figura 4.16 o desaparecimento do singlete em 80 ppm, referente ao núcleo de fósforo do ligante trietilfosfito, $\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ no complexo nitrosilo de rutênio e

o aparecimento de um singlete em 147 ppm, que é referente ao P(OC₂H₅) no complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄(H₂O)P(OCH₂CH₃)²⁺ formado. O desaparecimento do sinal em 80 ppm, confirma que o complexo contendo o íon nitrosilo foi totalmente convertido na espécie aquofosfito após o período de 2 horas. A reação foi realizada a temperatura ambiente e sob fluxo de argônio. A análise da reação por espectroscopia RMN ³¹P e por UV-vis mostra, portanto, o íon complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄(H₂O)P(OCH₂CH₃)²⁺ como um produto da reação, estando de acordo com o pressuposto.

4.5- REAÇÃO COM A METMIOGLOBINA

A metmioglobina e methemoglobina são convertidas em nitrosilmioglobina e nitrosilhemoglobina, respectivamente, por reação com doadores de HNO/NO^{-[29]}. Assim, tais proteínas são capazes de agir como captadores altamente seletivos para as espécies nitroxil. Essas reações são comumente denominadas de nitrosilação redutiva, visto que o Fe da hemoproteína está em seu estado oxidado (III) e após a reação o Fe será reduzido a (II).

Dessa forma, para verificar se há a liberação de NO⁻, o complexo foi reduzido com α-cetoglutarato em uma solução contendo a metmioglobina, sob atmosfera de argônio. A reação realizada em tampão ácido acético/acetato (0,1 molL⁻¹) e pH = 4,2, foi acompanhada espectroscopicamente na região do ultravioleta e visível (Figura 4.17).

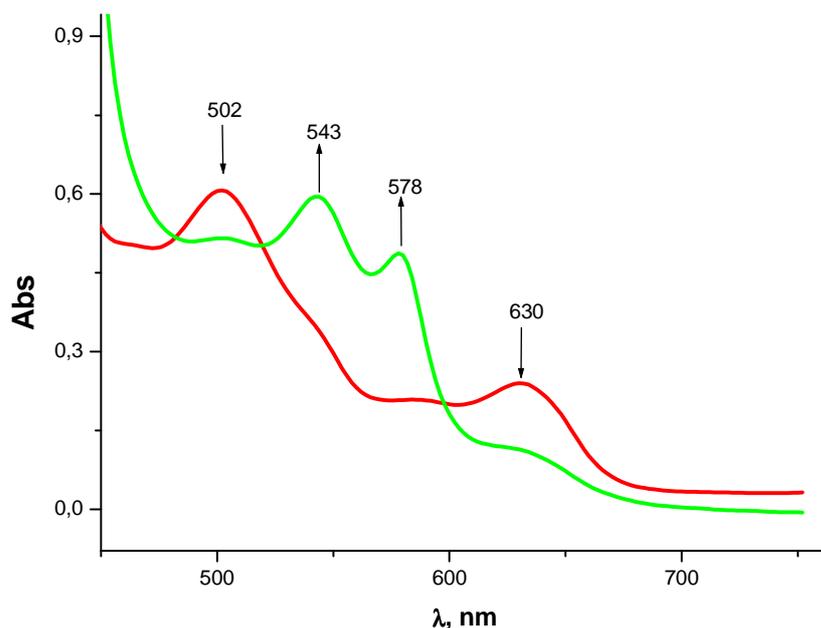


Figura 4.17 – Monitoramento espectrofotométrico da reação do complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄P(OCH₂CH₃)]³⁺, α-CG e metMb. Condições: C_{Ru} = 5,4x10⁻⁴ mol.L⁻¹; C_{α-KG} = 5,4x10⁻² mol.L⁻¹; C_{metMb} = 5,9x10⁻⁵ mol.L⁻¹ NaTFA; pH=4,2; μ = 0,1 molL; T = 25 °C. (A) espectro da metMb – 502 nm (ε = 10,2x10³ M⁻¹.cm⁻¹) e 630 nm (ε = 3,9x10³ M⁻¹.cm⁻¹); (B) Produto da reação – 543 nm e 576 nm; tempo de reação = 1 h.

A bem definida mudança no espectro UV-visível observada durante a redução do complexo, leva a identificação do produto como sendo o aduto nitrosilo ferroso, caracterizado pelo aparecimento das bandas de absorção em 543nm (ε = 11,6x10³ mol⁻¹.L⁻¹.cm⁻¹) e 578 nm (ε = 10,5x10³ mol⁻¹.L⁻¹.cm⁻¹). Assim, esses resultados fornecem fortes evidências para a produção de HNO/NO⁻ durante a reação, visto que o espectro eletrônico da metmioglobina não mostrou nenhuma alteração ao se adicionado a uma solução contendo α-cetoglutarato. A presença das bandas de absorções em 502 nm (ε = 10,2x10³ mol⁻¹.L⁻¹.cm⁻¹) e 630 nm (ε = 3,9x10³ mol⁻¹.L⁻¹.cm⁻¹) no espectro final, indicam a presença de metmioglobina não reativa. O produto formado mostrou-se

instável quando exposto ao ar, revertendo-se a metMb em 30 minutos aproximadamente.

Um ponto de interesse no espectro da Figura 4.18 é a investigação da origem da formação do aduto MbFe-NO. Para confirmar se realmente é a espécie NO^- que reage com a mioglobina, foram realizados experimentos borbulhando o óxido nítrico por 1h em uma solução de tampão acetato, $\text{pH} = 4,2$, $\mu = 0,1 \text{ molL}^{-1}$, contendo a mioglobina, seguido por fluxo de argônio por alguns minutos para remover o NO que não reagiu, e em seguida foram registrados espectros na região do ultravioleta-visível (Figura 4.18).

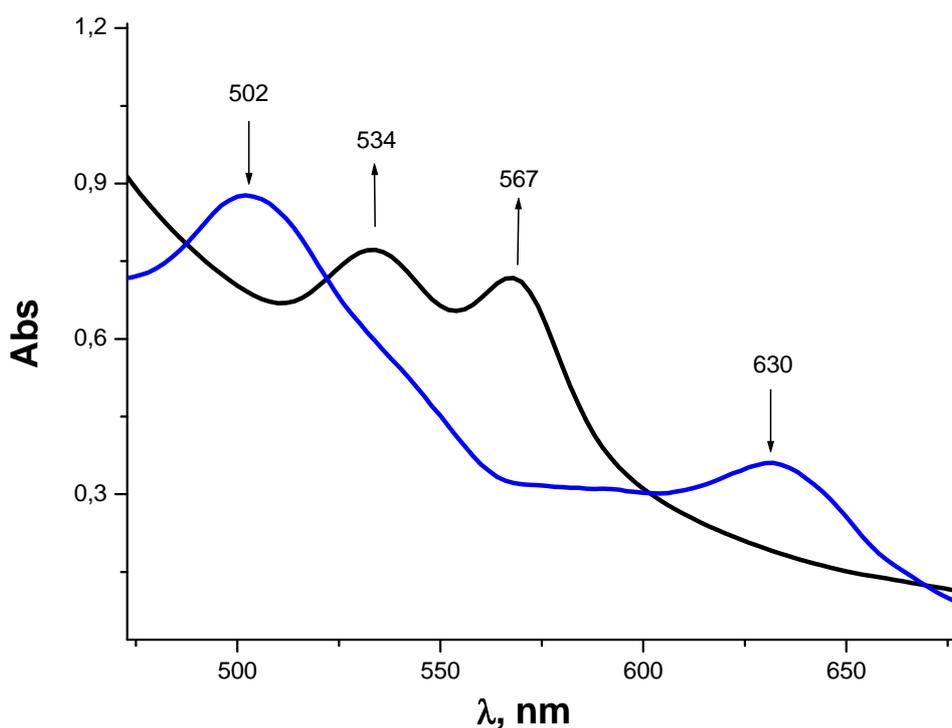


Figura 4.18 – Espectro eletrônico do produto da reação da metmioglobina e NO (—) metMb – 502 e 630 nm e (—) produto da reação – 534 e 567 nm. Condições: $C_{\text{metMb}} = 8,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ tampão acetato $\text{pH} = 4,2$; $\mu = 0,1 \text{ molL}^{-1}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Neste caso, foram observados uma diminuição nas bandas características da metmioglobina (502 e 630 nm) e um aumento das bandas em 534 e 567 nm. Essas bandas são atribuídas à formação do aduto Mb-Fe^{III}NO/Fe^{II}NO⁺, formado a partir da reação de metMb e NO. Observa-se uma ligeira diferença entre os espectros formados pela reação de metMb e óxido nítrico (Figura 4.18) e pela reação de metMb com o produto da redução química do complexo nitrosilo de rutênio (Figura 4.17). Essa diferença entre as bandas indica que a reação entre a metMb e o produto liberado durante a redução química de *trans*-[RuNO(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺ e α -CG não ocorre via óxido nítrico, confirmando as fortes evidências anteriores de liberação de nitroxil em solução.

A Figura 4.19 mostra o voltamograma cíclico de uma solução contendo o complexo, α -CG e a metMb (adicionada antes do complexo).

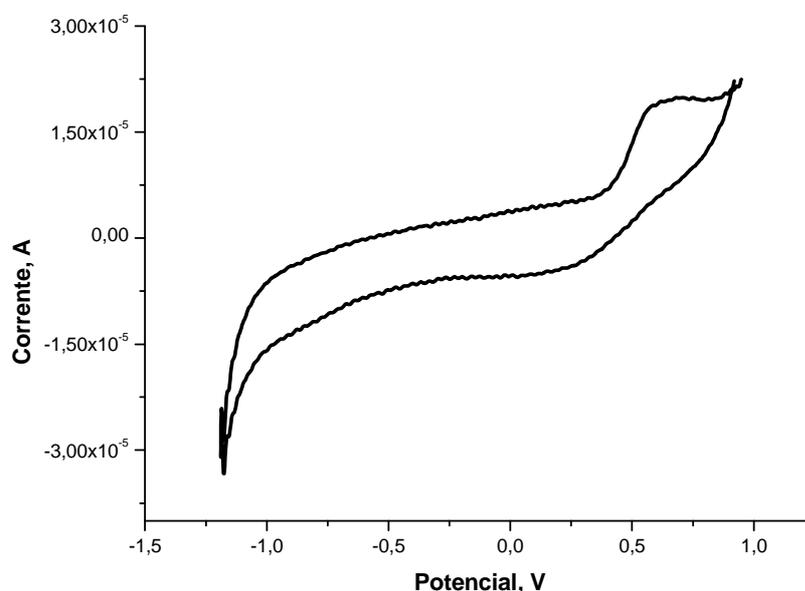
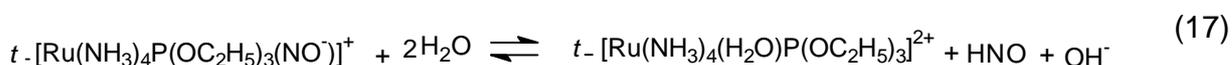
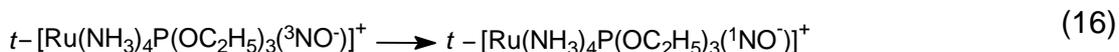
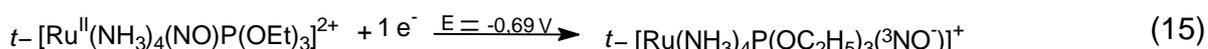
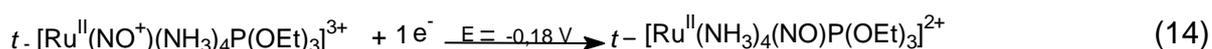


Figura 4.19 – Voltamograma cíclico de uma solução contendo íons *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄P(OCH₂CH₃)₃]³⁺, α -CG e metmioglobina. Condições: eletrólito: Tampão acetato 0,1 mol.L⁻¹; pH = 4,2; $v = 200 \text{ mV.s}^{-1}$; $C_{\text{Ru}} = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $C_{\alpha\text{-CG}} = 7,2 \times 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$; $C_{\text{Mb}} = 20 \text{ }\mu\text{mol.L}^{-1}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; tempo de reação = 1 h.

Nota-se nesta figura o desaparecimento do pico de redução em -0,5 V. Levando em consideração que este pico seja referente à redução do óxido nitroso, a adição de metMb, que age como captador do nitroxil, pode reduzir a concentração da espécie de nitroxil presente no meio reacional. Isso seria coerente com a hipótese de que o pico em -0,5 V seja referente à presença de óxido nitroso, proveniente da dimerização do nitroxil. O pico de oxidação próximo a 0,6 V se refere ao aquocomplexo.

Com base nos resultados aqui obtidos, as Equações 14-17 propõem uma seqüência de reações que poderiam explicar o sistema em estudo.



Neste conjunto de reação o composto *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄P(OC₂H₅)]³⁺ é reduzido eletroquimicamente via 1 elétron formando a espécie [Ru^{II}NO]²⁺ (Equação 9), que pode ser novamente reduzido monoelêtronicamente (Equação 10). Deste processo de redução seria liberado a espécie nitroxil em solução. Por redução química o composto *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄P(OC₂H₅)]³⁺ pode ser reduzido via 2 elétrons formando provavelmente a espécie [Ru^{II}NO]⁺ (Equação 11), que deve se dissociar liberando a espécie nitroxil e gerando o complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄(H₂O)P(OC₂H₅)]²⁺ (Equação 17).

CONSIDERAÇÕES

FINAIS

5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho propõe uma seqüência de reações para explicar a redução de dois elétrons para o complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ em solução aquosa. No espectro voltamétrico foi possível verificar que o complexo apresenta duas ondas (ou picos) de redução em -0,18 V e -0,69 V. A primeira onda de redução em -0,18 V se refere à redução [Ru^{II}NO⁺]³⁺/[Ru^{II}NO⁰]²⁺. O estudo voltamétrico da segunda onda de redução no íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ mostrou que o composto se reduz irreversivelmente com a transferência de 1 elétron, sendo a reação controlada por difusão. Portanto, a segunda onda de redução foi atribuída neste trabalho à redução da espécie [Ru^{II}NO⁰]²⁺ a [Ru^{II}NO]⁺.

Esse potencial de redução de -0,69 V é acessível para redução química pelo composto α -cetoglutarato, capaz de agir como um redutor sobre o complexo. Nesta reação foi observada a formação do íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(H₂O)(P(OEt)₃)]²⁺ e nitroxil como produtos da reação. Isso foi confirmado por medidas de RMN ³¹P, observando o aparecimento de um sinal em 147 ppm, referente ao grupo fosfito no *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(H₂O)(P(OEt)₃)]²⁺ e por espectrofotometria UV-Vis, por adição de pirazina após a reação, observando o aparecimento da banda em 366 nm devido à formação do complexo *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(P(OEt)₃)pz]²⁺.

Os cálculos quânticos (DFT) indicam que o sítio de redução da espécie *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(NO)(P(OEt)₃)]²⁺ se encontra quase que exclusivamente sobre os orbitais π antiligantes do NO. A forma reduzida de dois elétrons do complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ apresenta uma rápida liberação do ligante nitroxil,

devido à baixa afinidade que o rutênio (II) possui por esta molécula, em função do efeito e da influência trans do ligante P(OEt)₃.

A liberação de nitroxil, pela redução de 2 elétrons no íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺, foi verificado pela adição da metmioglobina, visto que o nitroxil liberado reage com heme férrico, gerando o heme nitrosilo ferroso, agindo como captador de nitroxil. Este composto foi escolhido devido à sua especificidade em relação à espécie nitroxil e a possibilidade de ser utilizado nas condições experimentais. Pode-se observar, por espectroscopia na região do UV-Vis, que o captador não reagiu preferencialmente com o óxido nítrico, visto que as bandas referentes ao aduto heme MbFe(III)NO/MbFe(II)NO⁺ não foram observadas. O aparecimento das bandas em 243 e 276 nm, característica do aduto nitrosilo reduzido, sugere que a espécie HNO se encontra predominantemente em solução. Desta forma, a provável seqüência de reações para a redução do complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄NOP(OCH₂CH₃)](PF₆)₃ foi sugerido de acordo com os resultados eletroquímicos, químicos e os cálculos quânticos.

O estudo detalhado do mecanismo de redução de dois elétrons deve ir além desse complexo. Trabalhos envolvendo a redução de complexos nitrosilos de rutênio por outros agentes redutores biológicos estão sendo investigados em nosso laboratório.

REFERÊNCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] MIRANDA, K. M. The chemistry of nitroxyl (HNO) and implications in biology. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 249, p. 433-455, 2005.
- [2] MONCADA, S.; HIGGS, E. A. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. **British Journal of Pharmacology**, v. 147, p.193-201, 2006.
- [3] WINK, D. A.; MITCHELL, J. B. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 25, p. 434-456, 1998.
- [4] STERN, J. E.; LI, Y; ZHANG, W. Nitric oxide: A local signaling molecule controlling the activity of pre-autonomic neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 177, p. 37-42, 2003.
- [5] MAAS, R.; SCHWEDHELM, E; ALBSMEIER, J.; BOGER, R. H. The pathophysiology of erectile dysfunction related to endothelial dysfunction and mediators of vascular function. **Vascular Medicine**, v. 7, p. 213-225, 2002.
- [6] IGNARRO, L. J. Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. **Hypertension**, v. 16, p. 477-483, 1990.
- [7] 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. **British Journal of Pharmacology**, v. 122, p. 971-973, 1997.
- [8] BONAVENTURA, D.; OLIVEIRA, F. S.; SILVA, R. S.; BENDHACK, L. M. Decreased vasodilation induced by a new nitric oxide donor in two kidney, one clip hypertensive rats is due to impaired K⁺ channel activation. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 32, p. 478-481, 2005.
- [9] HUGHES, M. N. Relationships between nitric oxide, nitroxil ion, nitrosonium cation and peroxynitrito. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 141, p. 263-272, 1999.
- [10] MARAJ, S. R.; KHAN, S.; CUI, X. Y.; CAMMACK, R.; JOANNOU, C. L.; HUGHES, M. N. Interactions of nitric oxide and redox-related species with biological targets. **Analyst**, v. 120, p. 699-703, 1995.
- [11] STAMLER, J. S.; SINGEL, D. J.; LOSCALZO, J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. **Science**, v. 258, p. 1898-1902, 1992.
- [12] AKHMETOV, N. Inorganic Chemistry. Editora MIR, 1973.
- [13] BASOLO, F.; JOHNSON, R. Química de los compuestos de coordinación. Editorial Reverté, S. A., 1980.

- [14] CHEN, Y.; LIN, F. T.; SHEPHERD, R. E. ^{15}N NMR and electrochemical studies of $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{hedta})]^-$ complexes of NO , NO^+ , NO_2^- and NO^- . **Inorganic Chemistry**, v. 38, p. 973-983, 1999.
- [15] SOUTHERN, J. S.; GREEN, M. T.; HILLHOUSE, G. L.; GUZEI, I. A.; RHEINGOLD, A. L.; Chemistry of coordinated nitroxyl. Reagent-specific protonations of *trans*- $\text{Re}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{PR}_3)_2$ (R = Ph, Cy) that give the neutral nitroxyl complexes *cis*, *trans*- $\text{ReCl}(\text{CO})_2(\text{NH}=\text{O})(\text{PR}_3)_2$ or the cationic hydride complex [*trans*, *trans*- $\text{ReH}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{PPh}_3)_2^+$][SO_3CF_3^-]. **Inorganic Chemistry**, v. 40, p. 6039-6046, 2001.
- [16] MARHENKE, J.; JOSEPH, C. A.; CORLISS, M. Z.; DUNN, T. J.; FORD, P. C. Thermal and photochemical reactivity of $[\text{Os}(\text{HNO})(\text{CO})\text{Cl}_2](\text{PPh}_3)_2$. Evidence for photochemical HNO generation. **Polyhedron**, v. 26, p. 4638-4644, 2007.
- [17] BARTBERGER, M. D.; LIU, W.; FORD, E.; MIRANDA, K. M.; SWITZER, C.; FUKUTO, J. M.; FARMER, P. J.; WINK, D. A.; HOUK, K. N. The reduction potential of nitric oxide (NO) and its importance to NO biochemistry. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, p. 10958-10963, 2002.
- [18] FUKUTO, J. M.; BARTBERGER, M. D.; DUTTON, A. S.; PAOLOCCI, N.; WINK, D. A.; HOUK, K. N. The physiological chemistry and biological activity of nitroxil (HNO): the neglected, misunderstood, and enigmatic nitrogen oxide. **Chemical Research in Toxicology (Review)**, v. 18, p. 790-801, 2005.
- [19] NAGASAWA, H. T.; DEMASTER, E. G.; REDFERN, B.; SHIROTA, F. N.; GOON, D. J. W. Evidence for nitroxyl in the catalase-mediated bioactivation of the alcohol deterrent agent cyanamide. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, p. 3120-3122, 1990.
- [20] LEE, M. J. C.; NAGASAWA, H. T.; ELBERLING, J. A.; DEMASTER, E. G. Prodrugs of nitroxyl as inhibitors of aldehyde dehydrogenase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 3648-3652, 1992.
- [21] SHAFIROVICH, V.; LYMAR, S. V. Nitroxyl and its anion in aqueous solutions: Spin states, protic equilibria, and reactivities toward oxygen and nitric oxide, **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, p. 7340-7345, 2002.
- [22] DOYLE, M. P.; MAHAPATRO, S. N. Nitric oxide dissociation from trioxodinitrate (II) in aqueous solution. **Journal of the American Chemistry Society**, v. 106, p. 3678-3679, 1984.
- [23] DONALD, C. E.; HUGHES, M. N.; THOMPSON, J. M.; BONNER, F. T. Photolysis of the N=N bond in trioxodinitrate: reaction between triplet NO^- and O_2 to form peroxonitrite. **Inorganic Chemistry**, v. 25, p. 2676-2677, 1986.
- [24] MIRANDA, K. M.; DUTTON, A. S.; RIDNOUR, L. A.; FOREMAN, C. A.; FORD, E.; PAOLOCCI, N.; KATORI, T.; TOCCHETTI, C. G.; MANDARDI, D.; THOMAS, D. D.; ESPEY, M. G.; HOUK, K. N.; FUKUTO, J. M.; WINK, D. A. Mechanism of aerobic decomposition of Angeli's salt (sodium trioxodinitrate) at physiological pH. **Journal of the American Chemistry Society**, v. 127, p. 722-731, 2005.

- [25] BONNER, F. T.; RAVID, B. Thermal decomposition of oxyhyponitrite (sodium trioxodinitrate (II)) in aqueous solution. **Inorganic Chemistry**, v. 14, p. 558-563, 1975.
- [26] BAZYLINSKI, D. A.; HOLLOCHER, T. C. Evidence from the reaction between trioxodinitrate (II) and ^{15}NO that trioxodinitrate (II) decomposes into nitrosyl hydride and nitrite in neutral aqueous solution. **Inorganic Chemistry**, v. 24, p. 4285-4288, 1985.
- [27] FUKUTO, J. M.; SWITZER, C. H.; MIRANDA, K. M.; WINK, D. A. Nitroxyl (HNO): chemistry, biochemistry, and pharmacology. **Annual Review Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 335-355, 2005.
- [28] LIOCHEV, S. I.; FRIDOVICH, I. The mode of decomposition of Angeli's salt ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) and the effects thereon of oxygen, nitrite, superoxide dismutase, and glutathione. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 34, p. 1399-1404, 2003.
- [29] OENNINGTON, R. L.; SHA, X.; KING, B. *N*-Hydroxy sulfonimidamides as new nitroxyl (HNO) donors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 2331-2334, 2005.
- [30] ZENG, B. B.; HUANG, J.; WRIGHT, M. W.; KING, S. B. Nitroxyl (HNO) release from new functionalized *N*-hydroxyurea-derived acyl nitroso-9,10-dimethylanthracene cycloadducts. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 5565-5568, 2004.
- [31] SHA, X.; ISBELL, T. S.; PATEL, R. P.; DAY, C. S.; KING, S. B. Hydrolysis of acyloxy nitroso compounds yields nitroxil (HNO). **Journal of the American Chemistry Society**, v. 128, p. 9687-9692, 2006.
- [32] SHAFIROVICH, V.; LYMAR, S. V. Spin-forbidden deprotonation of aqueous nitroxil (HNO). **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, p. 6547-6552, 2003.
- [33] PAOLOCCI, N.; JACKSON, M. I.; LOPEZ, B. E.; MIRANDA, K.; TOCCHETTI, C. G.; WINK, D. A.; HOBBS, A. J.; FUKUTO, J. M. The pharmacology of nitroxyl (HNO) and its therapeutic potential: Not just the janus face of NO. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 113, p. 442-458, 2007.
- [34] JANAWAY, G. A.; BRAUMAN, J. I. Direct observation of spin forbidden proton-transfer reactions: $^3\text{NO}^- + \text{HA} \rightarrow ^1\text{HNO} + \text{A}^-$. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 104, p. 1795-1798, 2000.
- [35] GRATZEL, M.; TANIGUCHI, S.; HENGLEIN, A. A pulse radiolytic study of short-lived byproducts on nitric oxide reduction in aqueous solution. **Ber Bunsenges Physical Chemistry**, v. 74, p. 1003-1010, 1970.
- [36] STOJANOVIĆ, S.; STANIĆ, D.; NIKOLIĆ, M.; SPASIĆ, M.; NIKETIĆ, V. Iron catalyzed conversion of NO into nitrosonium (NO^+) and nitroxyl (HNO/NO^-) species. **Nitric Oxide**, v. 11, p. 256-262, 2004.

- [37] LYMAR, S. V.; SHAFIROVICH, V.; POSKREBYSHEV, G. A. One-reduction of aqueous nitric oxide: a mechanistic revision. **Inorganic Chemistry**, v. 44, p. 5212-5221, 2005.
- [38] BROWN, H. W.; PIMENTEL, G. C. Photolysis of nitromethane and of methyl nitrite in an argon matrix; infrared detection of nitroxyl, HNO. **The Journal of Chemical Physics**, v. 29, p. 883-888, 1958.
- [39] KIRSCH, M.; GROOT, H. Formation of peroxyxynitrite from reaction of nitroxyl anion with molecular oxygen. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 277, p. 13379-13388, 2002.
- [40] FUKUTO, J. M.; DUTTON, A. S.; HOUK, K. N. The chemistry and biology of nitroxyl (HNO): A chemically unique species with novel and important biological activity. **ChemBioChem**, v. 6, p. 612-619, 2005.
- [41] MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; YAMADA, K.; KRISHNA, M.; LUDWICK, N.; KIM, S. M.; JOURD'HEUIL, D.; GRISHAM, M. B.; FEELISCH, M.; FUKUTO, J. M.; WINK, D. A. Unique oxidative mechanisms for the reactive nitrogen oxide species, nitroxyl anion. **The Journal Of Biological Chemistry**, v. 276, p. 1720-1727, 2001.
- [42] MIRANDA, K. M.; YAMADA, K.; ESPEY, M. G.; THOMAS, D. D.; DEGRAFF, W.; MITCHELL, J. B.; KRISHNA, M. C.; COLTON, C. A.; WINK, D. A. Further evidence for distinct reactive intermediates from nitroxil and peroxyxynitrite: effects of buffer composition on the chemistry of Angeli's salt and synthetic peroxyxynitrite. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 401, p. 134-144, 2002.
- [43] PAGLIARO, P.; MANCARDI, D.; RASTALDO, R.; PENNA, C.; GATTULLO, D.; MIRANDA, K. M.; FEELISCH, M.; WINK, D. A.; KASS, D. A.; PAOLOCCI, N. Nitroxyl affords thiol-sensitive myocardial protective effects akin to early preconditioning. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 34, p. 33-43, 2003.
- [44] WINK, D. A.; MIRANDA, K. M.; KATORI, T.; MANCARDI, D.; THOMAS, D. D.; RIDNOUR, L.; ESPEY, M. G.; FEELISCH, M.; COLTON, C. A.; FUKUTO, J. M.; PAGLIARO, P.; KASS, D. A.; PAOLOCCI, N. Vascular signaling by free radicals orthogonal properties of the redox siblings nitroxyl and nitric oxide in the cardiovascular system: a novel redox paradigm. **American Journal Physiology Heart and Circulatory Physiology**, v. 285, p. 2264-2276, 2003.
- [45] MA, X. L.; GAO, F.; LIU, G. L.; LOPEZ, B. L.; CHRISTOPHER, T. A.; FUKUTO, J. M.; WINK, D. A. Opposite effects of nitric oxide and nitroxyl on postischemic myocardial injury. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, p. 14617-14622, 1999.
- [46] FUKUTO, J. M.; CHIANG, K.; HSZIEH, R.; WONG, P.; CHAUDHURI, G. The pharmacological activity of nitroxyl: a potent vasodilator with activity similar to nitric oxide and/or endothelium-derived relaxing factor. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 263, p. 546-551, 1992.

- [47] MIRANDA, K. M.; PAOLOCCI, N.; KATORI, T.; THOMAS, D. D.; FORD, E.; BARTBERGER, M. D.; ESPEY, M. G.; KASS, D. A.; FEELISCH, M.; FUKUTO, J. M.; WINK, D. A. A biochemical rationale for the discrete behavior of nitroxyl and nitric oxide in the cardiovascular system. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, p. 9196-9201, 2003.
- [48] LOPEZ, B. E.; SHINYASHIKI, M.; HAN, T. H.; FUKUTO, J. M. Antioxidant actions of nitroxyl (HNO). **Free Radical Biology and Medicine**, v. 42, p. 482-491, 2007.
- [49] WINK, D. A.; FEELISH, M.; FUKUTO, J.; CHISTODOULOU, D.; JOURD'HEUIL, D.; GRISHAM, M. B.; VODOVOTZ, J.; COOK, J. A.; KRISHNA, M.; DEGRAFF, W. G.; KIM, S.; GAMSON, J.; MITCHELL, J. B. The cytotoxicity of nitroxyl: possible implications for the pathophysiological role of NO. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 351, p. 66-74, 1998.
- [50] CHAZOTTE-AUBERT, L.; OIKAWA, S.; GILIBERT, I.; BIANCHINI, F.; KAWANISHI, S.; OHSHIMA, H. Cytotoxicity and site-specific DNA damage induced by nitroxyl anion (NO⁻) in the presence of hydrogen peroxide. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274, p. 20909-20915, 1999.
- [51] RINDEN, E.; MARICQ, M. M.; GRABOWSKI, J. J. Gas-phase ion-molecule reactions of the nitric oxide anion. **Journal of the American Chemistry Society**, v. 111, p. 1203-1210, 1989.
- [52] BONNER, F. T.; AKHTAR, M. J. Formation of nitrosyltricyanonickelate (NiNO(CN)₃²⁻) in a direct NO⁻ displacement reaction. **Inorganic Chemistry**, v. 20, p. 3155-3160, 1981.
- [53] DOYLE, M. P.; MAHAPATRO, S. N.; BROENE, R. D.; GUY, J. K. Oxidation and reduction of hemoproteins by trioxodinitrate (II). The role of nitrosyl hydride and nitrite. **Journal of the American Chemistry Society**, v. 110, p. 593-599, 1988.
- [54] BAZYLINSKI, D. A.; HOLLOCHER, T. C. Metmyoglobin and methemoglobin as efficient traps for nitrosyl hydride (nitroxyl) in neutral aqueous solution. **Journal of the American Chemistry Society**, v. 107, p. 7982-7986, 1985.
- [55] TIRAVANTI, E.; SMOUILOV, A.; ZWEIER, J. L. Nitrosyl-heme complexes are formed in the ischemic heart. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279, p. 11065-11073, 2004.
- [56] SHOEMAN, D. W.; NAGASAWA, H. T. The reaction of nitroxyl (HNO) with nitrobenzene gives cupferron (N-Nitrophenylhydroxylamine), **Nitric Oxide: Biology and Chemistry**, v. 2, p. 66-72, 1998.
- [57] BARI, S. E.; MARTI, M. A.; AMOREBIETA, V. T.; ESTRIN, D. A.; DOCTOROVICH, F. Fast nitroxyl trapping by ferric porphyrins. **Journal of the American Chemistry Society**, v. 125, p. 15272-15273, 2003.

- [58] BORGES, S. S. S.; DAVANZO, C. U.; CASTELLANO, E. E.; Z-SCHPECTOR, J.; SILVA, S. C.; FRANCO, D. W. Ruthenium nitrosyl complexes with N-heterocyclic ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 37, p. 2670-2677, 1998.
- [59] TOLEDO, J. C.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Mutual effects in the chemical properties of the ruthenium metal center and ancillary ligands upon coordination. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 249, p. 419-431, 2005.
- [60] SWINEHART, J. H. The nitroprusside ion. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 2, p. 385-402, 1967.
- [61] BARROS, B. F.; TOLEDO JR, J. C.; FRANCO, D. W.; TFOUNI, E.; KRIEGER, M. H. A new inorganic vasodilator, *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄P(OEt)₃](PF₆)₃: hypotensive effect of endothelium-dependent and -independent vasodilators in different hypertensive animals models. **Nitric Oxide**, v. 7, p. 50-56, 2002.
- [62] ZANICHELLI, P. G.; ESTRELA, H. F. G.; SPADARI-BRATFISCH, R. C.; GRASSI-KASSISSE, D. M.; FRANCO, D. W. The effects of ruthenium tetraammine compounds on vascular smooth muscle. **Nitric Oxide**, 2007.
- [63] PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. F.; PERIN, D. R. Purification of laboratory chemicals, 2nd edition, Pergamon Press, Elmsford, New York, 1980.
- [64] SHRIVER, D. E. The manipulation of air sensitive compounds, Editora Mc Graw Hill Co, New York, 1969.
- [65] ARNELLE, D. R.; STAMLER, J. S. NO⁺, NO[•], and NO⁻ donation by S-nitrosothiols: implications for regulation of physiological functions by S-nitrosylation and acceleration of disulfide formation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 318, p. 279-289, 1995.
- [66] VOGT JR, L. H.; KATZ, L.; WIBERLEY, S. E. The crystal and molecular structure of ruthenium-sulfur dioxide coordination compounds. I. Chlorotetraammine(sulfur dioxide) ruthenium (II) chloride. **Inorganic Chemistry**, v. 4, p. 1157-1163, 1965.
- [67] SILVA, H. A. S.; MCGARVEY, B. R.; SANTOS, R. H. A.; BERTOTTI, M.; MORI, V.; FRANCO, D. W. Sulfate as a ligand in ruthenium (II) and (III) amines. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 79, p. 679-687, 2001.
- [68] 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.; BRITO, A. R. M. S.; FRANCO, D. W. The [Ru(Hedta)NO]^{0,1-} system: structure, chemical reactivity and biological assays. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, p. 1921-1932, 2004.
- [69] DIAMANTIS, A. A.; DUBRAWSKI, J. V. Preparation and structure of ethylenediaminetetraacetate complexes of ruthenium (II) with dinitrogen, carbon monoxide, and other π-acceptor ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 20, p. 1142-1150, 1981.

- [70] LANG, D. R.; DAVIS, J. A.; LOPES, L. G. F.; FERRO, A. A.; VASCONCELLOS, L. C. G.; FRANCO, D. W.; TFOUNI, E.; WIERASZKO, A.; CLARKE, M. J. A controlled NO-releasing compound: synthesis, molecular structure, spectroscopy, electrochemistry, and chemical reactivity of R, R, S, S – *trans* – [RuCl(NO)(cyclam)]²⁺ (1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane). **Inorganic Chemistry**, v. 39, p. 2294-2300, 2000.
- [71] BONAVENTURA, D.; OLIVEIRA, F. S.; TOGNILO, V.; TEDESCO, A. C.; SILVA, R. S.; BENDHACK, L. M. A macrocyclic nitrosyl ruthenium complex is a NO donor that induces rat aorta relaxation. **Nitric Oxide**, v. 10, p. 83-91, 2004.
- [72] FRANCO, D. W.; TAUBE, H. Triethyl phosphite as a ligand on ruthenium (II). **Inorganic Chemistry**, v. 17, 571-578, 1978.
- [73] LOPES, L. G. F.; CASTELLANO, E. E.; FERREIRA, A. G.; DAVANZO, C. U.; CLARKE, M. J.; FRANCO, D. W. Reactivity of *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃NO]X₃ (X = PF₆⁻, CF₃COO⁻): modulation of the release of NO by the *trans*-effect. **Inorganica Chimica Acta**, v. 358, p. 2883-2890, 2005.
- [74] FRANCO, D. W. The aquation and *trans*-influence of phosphites in complexes of ruthenium (II). **Inorganica Chimica Acta**, v. 48, p. 1-7, 1981.
- [75] JIN, B.; LIU, P.; WANG, Y.; ZHANG, Z.; TIAN, Y.; YANG, J.; ZHANG, S.; CHENG, F. Rapid-scan time-resolved FT-IR spectroelectrochemistry studies on the electrochemical redox process. **Journal Physical Chemistry B**, v. 111, p. 1517-1522, 2007.
- [76] GALE, R. J. Spectroelectrochemistry: theory and practice. Editora Plenum Press, New York, 1988.
- [77] BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Electrochemical Methods fundamentals and Applications, John Wiley & sons, Inc., New York, 1980.
- [78] ALEIXO, L. M. Voltametria: conceitos e técnicas. **Chemkeys**.
- [79] KULPA, S. H.; FRANKENTHAL, R. P. Electrochemical Methods fundamentals and Applications, **Journal Electrochemical Society**, v. 124, p. 1977, 1977.
- [80] OSTERYOUNG, J. G.; OSTERYOUNG, R. A. Square wave voltammetry, **Analytical Chemistry**, v. 57, p. 101-110, 1985.
- [81] CABRAL, M. F.; SOUZA, D.; ALVES, C. R.; MACHADO, S. A. S. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. **Eclética Química**, v. 28, p. 41-47, 2003.
- [82] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, p. 81-89, 2003.
- [83] FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; MONTGOMERY Jr., J. A.; VREVEN, T.; KUDIN, K. N.;

BURANT, J. C.; MILLAM, J. M.; IVENGAR, S. S.; TOMASI, J.; BARONE, V.; MENNUCI, B.; COSSI, M.; SCALMANI, G.; REGA, N.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; KLENE, M.; Li, X.; KNOX, J. E.; HRATCHIAN, H. P.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; AYALA, P. Y.; MOROKUMA, K.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; ZAKRZEWSKI, V. G.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; STRAIN, M. C.; FARKAS, O.; MALICK, D. K.; RABUCK, A. D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CUI, Q.; BABOUL, A. G.; CLIFFIRD, S.; CIOSLOWSKI, J.; STEFANOV, B. B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; MARTIN, R. L.; FOX, D. J.; KEITH, T.; AL-LAHAM, M. A.; PENG, C. Y.; NANAYAKKARA, A.; CHALLACOMBE, M.; GILL, P. M. W.; JOHNSON, B.; CHEN, W.; WONG, M. W.; GONZALEZ, C.; POPLE, J. A. Gaussian 03, **Revision C.02**, Gaussian, Inc, Wallingford CT, 2004.

[84] MIERTUS, S.; SCROCCO, E.; TOMASI, J. **Journal Chemistry Physical**, v. 55, p. 117, 1982.

[85] MIERTUS, S.; TOMASI, J. **Journal of Chemical Physics**, v. 65, p. 239, 1981.

[86] GLENDENING, E. D.; BADENHOOP, J. K.; REED, A. E.; CARPENTER, J. E.; BOHMANN, J. A.; MORALES, C. M.; WEINHOLD, F. NBO 5.0: Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, Madison, 2001.

[87] DENNINGTON II, R.; KEITH, T.; MILLAM, J.; EPPINETT, K.; HOVELL, W. L.; GILLILAND, R. Gauss View, version 3.07, **Semichem, Inc.**, Shawnee Mission, KS, 2003.

[88] REZENDE, N. M. S.; MARTINS, S. C.; MARINHO, L. A.; SANTOS, J. A. V.; TABAK, M.; PERUSSI, J. R.; FRANCO, D. W. Triethyl phosphite as a ligand on Ru(III). Synthesis, characterization and properties of *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃(H₂O)](CF₃SO₃)₃. **Inorganica Chimica Acta**, v. 182, p. 87-92, 1991.

[89] TOLEDO JR, J. C.; LOPES, L. G. F.; ALVES, A. A.; SILVA, L. P.; FRANCO, D. W.; Release of NO by a nitrosyl complex upon activation by the mitochondrial reducing power. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 89, p. 267-271, 2002.

[90] SMITH, E. T.; FEINBERG, B. A. Redox properties of several bacterial ferredoxins using square wave voltammetry. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 265, p. 14371-14376, 1990.

[91] LOVRIC, M.; KOMORSKY-LOVRIC, S. Square-wave voltammetry of an adsorbed reactant. **Journal Electroanalytical Chemistry**, v. 248, p. 239-253, 1988.

[92] BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. Electrochemistry: principles, methods, and applications. Ed. Oxford Science Publications, 1993.

- [93] TOLEDO, R. A. T.; MAZO, L. H.; SANTOS, M. C.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F.; CAVALHEIRO, E. T. G. Estudo eletroquímico e químico quântico da oxidação do antidepressivo tricíclico amitriptilina. **Química Nova**, v. 28, 456-461, 2005.
- [94] LEE, J.; RICHTER-ALDO, G. B. A nitrosyl hydride complex of a heme model [Ru(tp)(HNO)(1-Melm)] (tp = tetratolylporphyrinato dianion). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, p. 1247-1250, 2004.
- [95] CROSS, D. G.; HARVEY, F. F. The mechanism of glutamate dehydrogenase reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 245, p. 2612-2621, 1970.
- [96] BATES, D. J.; FRIEDEN, C. Full time course studies on the oxidation of reduced coenzyme by bovine liver glutamate dehydrogenase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 248, p. 7885-7890, 1973.
- [97] TIAN, J.; BRYK, R.; ITOH, M.; SUEMATSU, M.; NATHAN, C. Variant tricarboxylic acid cycle in mycobacterium tuberculosis: identification of α -ketoglutarate decarboxylate. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, p. 10670-10675, 2005.
- [98] RACKIS, J. J.; KALNITSKY, G. The non-enzymatic oxidation of α -ketoglutarate. II. The products of the reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 225, p. 751-758, 1957.
- [99] LOACH, P. A. Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, CRC Press, Cleveland, 1968.
- [100] MOTTA, V. T. Fosforilação oxidativa. Bioquímica Básica. Autolab Análises Clínicas, p. 208-234.
- [101] ANNET, R. G.; KOSICKI, G. W. Oxalacetate keto-enol tautomerase: purification and characterization. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 244, p. 2059-2067, 1969.
- [102] VISWANATHAN, T. S.; JOHNSON, R. E.; FISHER, H. F. α -Ketoglutaric acid: solution structure and the active form for reductive amination by bovine liver glutamate dehydrogenase. **Biochemistry**, v. 21, p. 339-345, 1982.
- [103] JONHSON, K. E.; SAWYER, D. T. The electrochemical reduction of nitrous oxide in alkaline solution. **Electroanalytical Chemistry and Interfacial electrochemistry**, v. 49, p. 95-103, 1974.
- [104] KOZLOWSKI, J.; ZUMAN, P. Acid-base, hydration-dehydration and keto-enol equilibria in aqueous solutions of α -ketoacids: study by spectroscopy, polarography and linear sweep voltammetry. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 28, p. 43-70, 1992.
- [105] Comparison of UV and ELS detection of succinic acid. **Application Notebook**, Polymer Laboratories – <http://www.polymerlabs.com>

[106] NASCIMENTO FILHO, J. C.; REZENDE, J. M.; LIMA NETO, B. S. Ruthenium (II) tetraamines a useful model to compare trans-effect and trans-influence of phosphanes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 145, p. 111-115, 1988.

APÊNDICES

7- APÊNDICE – Eletroquímica

As figuras a seguir apresentam os voltamogramas cíclicos dos seguintes complexos:

- *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(py)]³⁺ - Os potenciais de redução para o complexo, determinado por voltametria cíclica são a -0,29 V (pico A) e -1,05 V (pico B) (vs ECS). A primeira onda de redução é formalmente atribuída à redução monoelétrica do par Ru^{II}NO⁺/Ru^{II}NO⁰. A segunda onda catódica provavelmente não é uma redução monoelétrica.

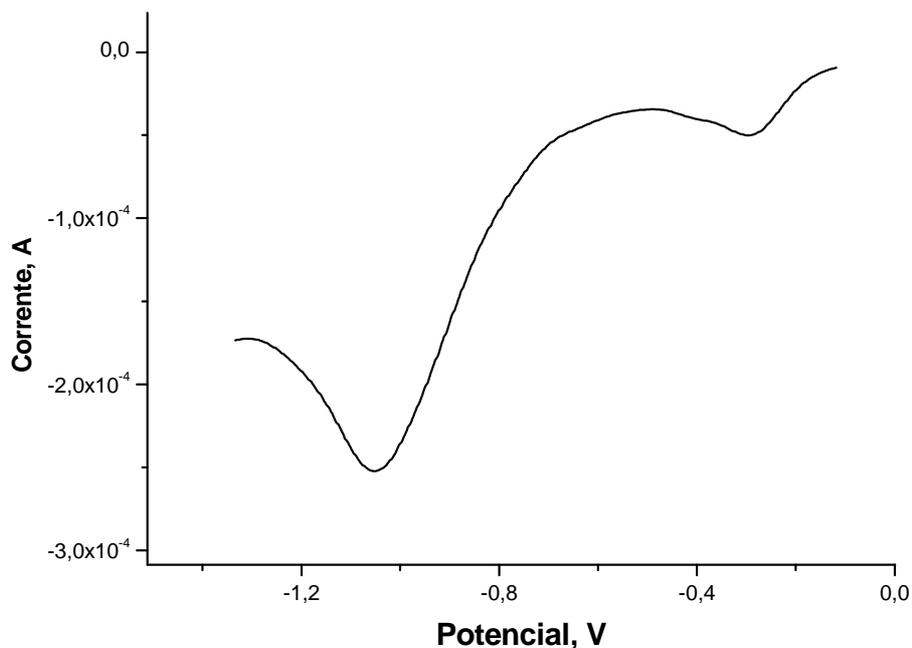


Figura 7.1 - Voltamograma de pulso diferencial do íon complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄NO(py)]³⁺. pH = 3,5; T = 25 °C; C_{Ru} = 5,0x10⁻³ molL; NaTFA; μ = 0,1 molL; v = 0,05 V.s⁻¹.

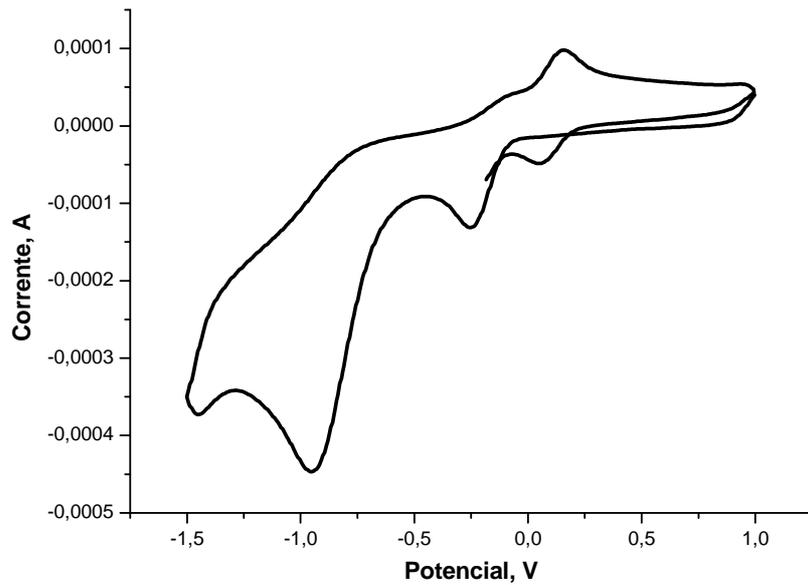


Figura 7.2 - Voltamograma cíclico (0,5 V/s) do íon complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄NO(py)]³⁺. C_{Ru} = 3,4x10⁻³ molL; Tampão acetato; μ = 0,2 molL; pH = 3,5; E_{inicial} = 1,0 V; E_i = 1,0 V; E_f = -1,5 V; T = 25 °C.

- *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(Isn)]³⁺ - Não se observa uma segunda onda catódica

bem definida sob as condições experimentais.

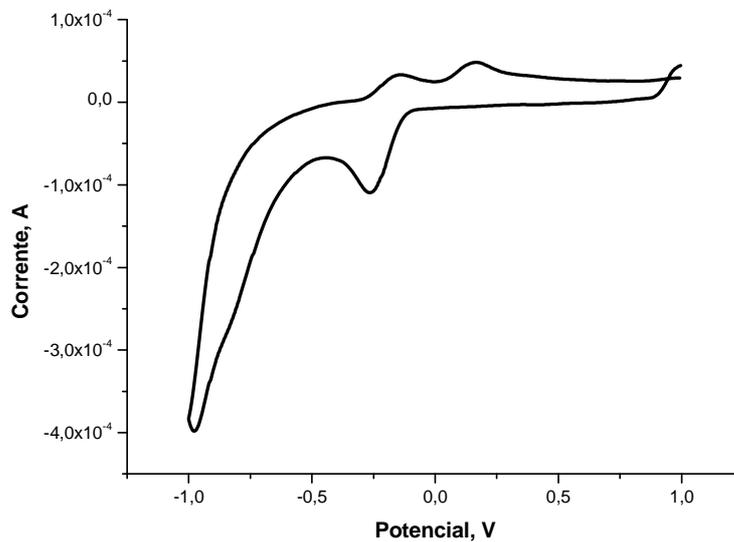


Figura 7.3 - Voltamograma cíclico do íon complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)]³⁺. pH = 3,5; T = 25 °C; C_{Ru} = 5,0x10⁻³ molL; Tampão acetato; μ = 0,3 molL; E_{inicial} = 1,0 V; v = 0,2 V.s⁻¹.

• *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(4-pic)]³⁺ - Os potenciais de redução para o complexo, determinado por voltametria cíclica são a -0,3 V (pico A) e -1,07 V (pico B) (vs ECS). A primeira onda de redução é formalmente atribuída à redução monoelétrica do par Ru^{II}NO⁺/Ru^{II}NO⁰. A segunda onda catódica provavelmente não é uma redução monoelétrica.

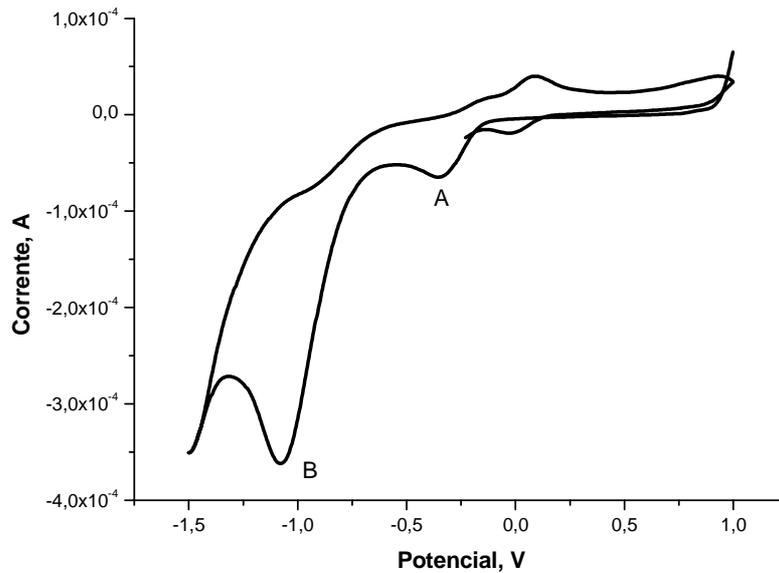


Figura 7.4 - Voltamograma cíclico (0,2 V/s) do íon complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(4-pic)]³⁺. pH = 2,0; T = 25 °C; C_{Ru} = 5,1x10⁻³ mol/L; NaTFA; μ = 0,1 mol/L.

• *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(ImN)]³⁺ - Observa-se uma segunda onda catódica em -1,1 vs ECS a 25 °C.

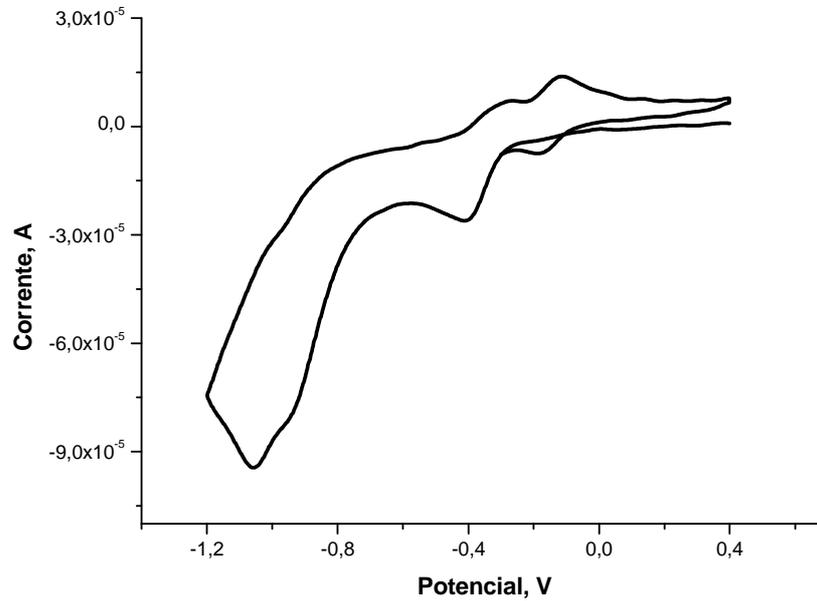


Figura 7.5 - Voltamograma cíclico (0,2 V/s) do íon complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄NO(ImN)]³⁺. NaTFA; $\mu = 0,2$ mol/L; pH = 3,8; $C_{RU} = 1,2 \times 10^{-3}$ mol/L; T = 25 °C.

• *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(nic)]³⁺ - A Figura 7.6 apresenta o voltamograma cíclico de uma solução aquosa contendo íons do complexo, 25 °C. Este complexo apresenta a segunda onda catódica a um potencial de redução de -0,95 V vs ECS.

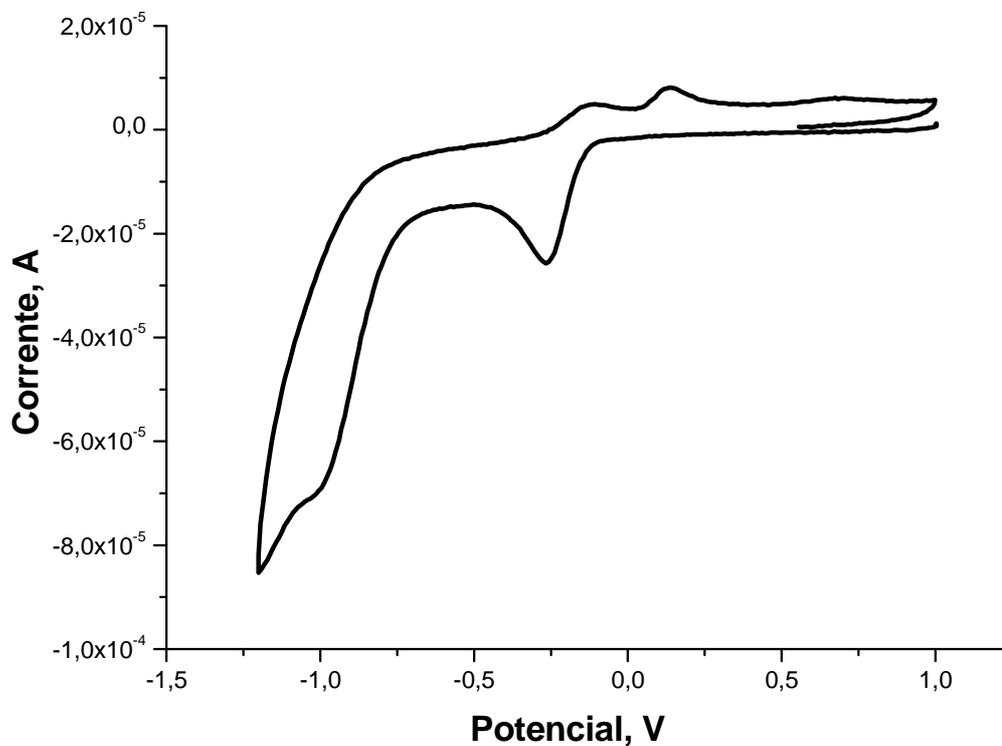


Figura 7.6 - Voltamograma cíclico (0,5 V/s) do íon complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄NO(nic)]³⁺. pH = 3,0; T = 25 °C; C_{Ru} = 1,6x10⁻³ mol/L; Tampão fosfato; μ = 0,3 mol/L; E_{inicial} = 1,0 V.

• *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ - A Figura 7.7 apresenta o voltamograma cíclico de uma solução aquosa contendo íons do complexo, 25 °C, onde se pode observar a segunda onda catódica a um potencial de -0,86 vs ECS.

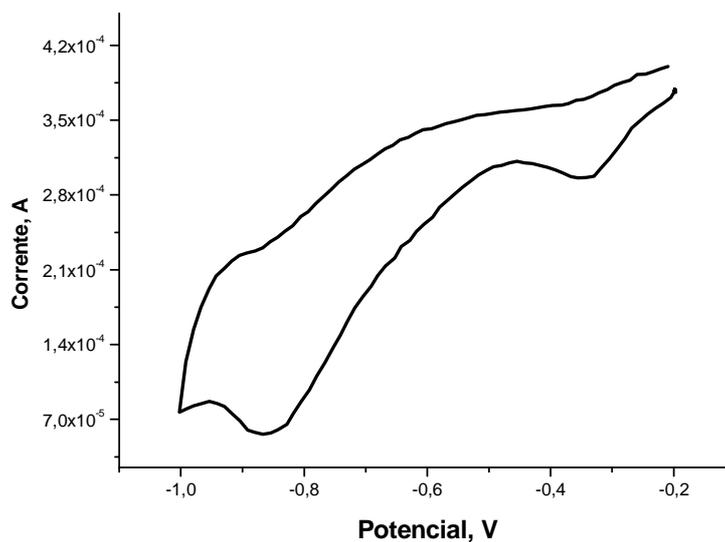


Figura 7.7 - Voltamograma cíclico (0,2 V/s) do íon complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺. pH = 3,1; T = 25 °C; C_{Ru} = 1,4x10⁻³ mol/L; NaTFA; μ = 0,1 mol/L

APÊNDICE – Cálculo de DFT

Tabela 7.1- Caráter, energias e estrutura de contorno dos LUMOs e HOMOs do sistema *trans*-[RuL(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺, onde L = NO⁺, calculado por TFD.

Orbital	Caráter do orbital	Energia (eV)
LUMO +5	100% sp POC ₂ H ₅	-0,7
LUMO +4	9% d _z ² 91% sp POC ₂ H ₅	-1,6
LUMO +3	100% d _{x²-y²} (Ru)	-2,8
LUMO +2	66% Ru 5% NO, NH ₃ 29% sp POC ₂ H ₅	-3,5
LUMO +1	35% d _{xy} (Ru) 65% π* (NO)	-4,5
LUMO	36% d _{xy} (Ru) 63% π* (NO)	-4,5
HOMO	100% d _{xy} (Ru)	-8,9
HOMO -1	100% p _y POC ₂ H ₅	-9,3
HOMO -2	100% p _z POC ₂ H ₅	-9,7
HOMO -3	100% p _z POC ₂ H ₅	-9,7
HOMO -4	64% d _{xy} (Ru) 35% p _x (NO)	-9,9
HOMO -2	67% d _{yz} (Ru) 33% p _x (NO)	-9,9

Tabela 7.2- Caráter, energias e estrutura de contorno dos LUMOs e HOMOs do sistema $trans\text{-}[\text{RuL}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{2+}$, onde L = NO, calculado por TFD.

Orbital	Caráter do orbital	Energia (eV)
LUMO +4	100% $d_{yz} - sp$ (Ru, NO, NH_3 e POC_2H_5)	-0,4
LUMO +3	100% d_{yz} (Ru)	-1,0
LUMO +2	49% $d_{x^2-y^2}$ (Ru) 50% (NO, NH_3 e POC_2H_5)	-1,1
LUMO +1	15% d_z^2 (Ru) 85% π^* (NO)	-3,0
LUMO	16% $d_{x^2-y^2}$ (Ru) 80% π^* (NO)	-3,3
HOMO	100% d_{xy} (Ru)	-6,9
HOMO -1	100% d_{xz} (Ru)	-7,4
HOMO -2	100% d_{yz} (Ru)	-7,7
HOMO -3	100% p_x POC_2H_5	-8,5
HOMO -4	100% p_y POC_2H_5	-8,9

Tabela 7.3- Caráter, energias e estrutura de contorno dos LUMOs e HOMOs do sistema *trans*-[RuL(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺, onde L = NO⁻, calculado por TFD.

Orbital	Caráter do orbital	Energia (eV)
LUMO +4	74% d _{x²-y²} (Ru) 16% sp (NH ₃)	0,3
LUMO +3	90% d _{z²} (Ru) 6% sp (NH ₃) 4% p _x (POC ₂ H ₅)	0,1
LUMO +2	76% d _{xz} -sp (Ru-NH ₃) 8% π* (NO) 16% p _x (POC ₂ H ₅)	-0,03
LUMO +1	64% d _{xy} -sp (Ru-NH ₃) 36% p _x (POC ₂ H ₅)	-0,2
LUMO	20% d _{xy} (Ru) 70% π* (NO) 9% p _x (POC ₂ H ₅)	-1,8
HOMO	27% d _{xz} (Ru) 73% p _z (NO)	-4,8
HOMO -1	100% d _{xz} (Ru)	-5,5
HOMO -2	89% d _{yz} (Ru) 11% p _z (NO)	-5,7
HOMO -3	83% d _{xy} (Ru) 7% p _z (NO)	-6,1
HOMO -4	9% p _x (POC ₂ H ₅)	-7,8

Tabela 7.4- Caráter, energias e estrutura de contorno dos LUMOs e HOMOs do sistema *trans*-[RuL(NH₃)₄P(OC₂H₅)₃]³⁺, onde L = HNO, calculado por TFD.

Orbital	Caráter do orbital	Energia (eV)
LUMO +4	36% d _{yz} -sp (Ru-NH ₃) 54% p _x (POC ₂ H ₅)	-0,2
LUMO +3	41% d _{yz} -sp (Ru-NH ₃) 59% p _x (POC ₂ H ₅)	-0,3
LUMO +2	100% d _{yz} -sp (Ru-NH ₃)	-0,7
LUMO +1	81% d _{x²-y²} (Ru) 7% π* (NO) 12% p _x (POC ₂ H ₅)	-1,2
LUMO	36% d _{xz} (Ru) 64% π* (NO)	-3,5
HOMO	100% d _{yz} (Ru)	-6,7
HOMO -1	100% d _{xz} (Ru)	-7,1
HOMO -2	64% d _{xz} (Ru) 36% p _x (NO)	-7,3
HOMO -3	51% p _z (NO) 49% p _x (POC ₂ H ₅)	-7,8
HOMO -4	18% p _z (NO) 82% p _x (POC ₂ H ₅)	-8,5

Tabela 7.5 - Parâmetros geométricos do Complexo $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3\text{L}]^{n+}$
(L= NO, NO⁺, NO⁻ e HNO)

	NO ⁺	NO [•]	NO ⁻	HNO
<u>Comprimento de ligação (Å)</u>				
Ru – N (2)	2,176	2,189	2,186	2,17104
Ru – N (5)	2,173	2,176	2,176	2,16736
Ru – N (8)	2,178	2,182	2,202	2,19302
Ru – N (11)	2,183	2,193	2,205	2,19380
Ru – N (14)	1,815	1,915	1,926	1,93826
Ru – P (20)	2,495	2,483	2,515	2,46273
N (14) – O (15)	1,170	1,213	1,282	1,28204
P (20) – O (15)	1,687	1,707	1,740	1,70804
<u>Ângulo de ligação (em grau)</u>				
N(NH ₃)-Ru-N(NH ₃)	89,7	90,0	90,0	90,0
N(NH ₃)-Ru-N(NO)	95,3	91,4	87,9	91,4
N(NH ₃)-Ru-P	84,7	88,7	92,1	88,5
N(NO)-Ru-P	178,7	176,2	176,3	177,2
Ru-N(NO)-O	177,9	141,6	116,9	122,7

A partir da Figura 7.8 observa-se que os orbitais π^* do NO^* são os que apresentam maior contribuição para a formação do LUMO sendo, portanto, este o sítio de extrema importância no processo de redução da espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}$.

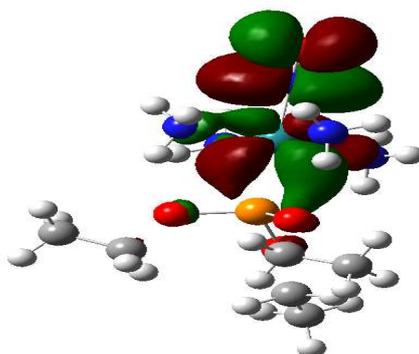


Figura 7.8– Representação gráfica do LUMO para a espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{NO}^*]^{2+}$.

A Tabela 7.6 apresenta as energias de solvatação e relativa no vácuo das várias espécies do complexo.

Tabela 7.6- Energias relativas e de solvatação do sistema *trans*- $[\text{RuL}(\text{NH}_3)_4\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]^{3+}$, onde L = NO^+ , NO, NO^- e HNO em kcal.mol^{-1} .

Energia (kcal.mol^{-1})	NO^+	NO	NO^-	HNO
Relativa	684,0	376,5	175,7	0,0
Solvatação em água	-300,1	-116,3	-16,7	-121,1