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

**“COMPLEXOS DE RUTÊNIO COM O LIGANTE NITROSILO NO
DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS POTENCIALMENTE
LIBERADORES DE ÓXIDO NÍTRICO”**

Fábio Gorzoni Doro

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

RIBEIRÃO PRETO -SP

2007

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

**“COMPLEXOS DE RUTÊNIO COM O LIGANTE NITROSILO NO
DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS POTENCIALMENTE
LIBERADORES DE ÓXIDO NÍTRICO”**

Fábio Gorzoni Doro
Orientador: Prof. Dr. Elia Tfouni

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

RIBEIRÃO PRETO -SP

2007

FICHA CATALOGRÁFICA

Doro, Fábio Gorzoni

Estudo de complexos de rutênio com o ligante nitrosilo no desenvolvimento de materiais potencialmente liberadores de óxido nítrico.

Ribeirão Preto, 2007.

309 p. : il. ; 30cm

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

Orientador: Tfouni, Elia

1. Rutênio. 2. Óxido nítrico. 3. Imobilização.

“My advice is to keep your eye on the ball and don’t be pursued by your wishes. [...]. I learned that I really wanted to know what was going on rather than just getting papers published. We all have ideas that we like to prove to be correct, but we have to learn that we are limited.”

Henry Taube

Para
Linda, Juliana e
Carlos Roberto (in memorian)

Agradecimentos Especiais

Ser orientador é mais que apenas indicar um caminho, é, de certa forma, servir de modelo, é ser rígido quando necessário e paciente quando preciso. Ser orientador é também ser capaz de doar tempo, de estar disponível, é saber incentivar, é ensinar e aprender. Por tudo isso, Prof. Elia, eu agradeço.

A Profa. Marilda, sob cuja orientação iniciei minha carreira científica, pela amizade ao longo de todos esses anos, carinhosamente agradeço.

Ao Prof. Ubirajara, pela co-orientação, atenção, tempo e paciência ao longo deste período, sem os quais, grande parte desse trabalho não teria sido possível.

A toda minha família e especialmente ao meu sobrinho e afilhado Leonardo. Foi em vocês, no seu carinho, amizade e união que sempre encontrei um lugar especial e tranquilo onde pude me fortalecer para enfrentar as dificuldades.

Agradecimentos

A Dra. Leticia pela parceria ao longo desses quatro anos, pela confiança e incentivo.

A Profa. Dra. Zenis pelo exemplo dado do que seja trabalho com dedicação, comprometimento, alegria e bom humor. Pelas valiosas sugestões e interesse neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Roberto Santana pelas sugestões e pela disponibilidade de sempre colaborar quando preciso e aos alunos do seu grupo Fabiana, Renata, Marilia, Mario e Gisele.

A Profa. Dra. Maria Elizabeth por ter possibilitado o começo de uma frutífera colaboração e aos alunos do seu grupo Tathyane, César, Luciano e em especial a Ana Paula por toda a freqüente colaboração e troca de experiência.

Ao Prof. Dr. Glaico pela boa vontade e disponibilidade em colaborar sempre que mais precisávamos.

Aos Profs. Drs. Eduardo Castellano e Jose Schneider pela disponibilidade e colaboração neste trabalho e também pelo modelo de como uma parceria pode ser feita.

Aos Profs. Drs. Luis Alberto e Marcos Eberlin pela colaboração neste trabalho e obtenção dos espectros de massa.

Ao Prof. Dr. Mauro Bertotti pela colaboração nas medidas cinéticas.

A Profa. Dra. Rogéria pelas sugestões e colaboração na caracterização dos filmes finos.

A Profa. Dra. Márcia pela colaboração na caracterização dos filmes finos e da sua estabilidade.

Ao Prof. Dr. Douglas Wagner Franco por disponibilizar, por diversas vezes, a sua estrutura de pesquisa e aos alunos de seu grupo Jean e Clayston pela colaboração.

Aos Profs. Drs. Peter C. Ford, David Wink, Katryna Miranda e Bruce McGarvey, os quais, durante este período, tive a rara oportunidade de conhecer e de receber sugestões.

Ao Prof. Dr. Zeki Naal pelas sugestões na caracterização dos complexos imobilizados.

A Profa. Dra. Rose Carlos, que já no fim deste trabalho tive a oportunidade de iniciar uma colaboração, pela paciência e tranquilidade com as quais tem dividido seus conhecimentos.

Ao Dr. Anderson Jesus de Oliveira e a Profa. Dra. Enilza M. Espreafico pela realização dos ensaios biológicos.

A todos os colegas do grupo do Prof. Elia: Jeane, Fernanda, Kleber, Ivy, Fabio, Aline, Bruno, Robson e Leonardo com os quais trabalhei e pude trocar ricas além de divertidas experiências.

Aos docentes, Profs. Drs. Paulo Marcos, Maurício Constantino e Gil Valdo e aos colegas do grupo de Química Orgânica Kleber, Daniel, Pena, Álvaro, Luis Carlos, Mirela, Valquiria que sempre ajudaram, nós inorgânicos, quando precisamos.

Ao Prof. Dr. Sergio Galembeck pela colaboração e pelas conversas sempre ricas e aos alunos do seu grupo Renato e Vesseki.

Aos docentes, Profs. Drs. Pietro, Francisco Leone, Richard, Rosa e Arthur e aos colegas do grupo de Bioquímica, Carol, Elisangela, Carla, Ana, Toni, que sempre ajudaram, nós inorgânicos, quando precisamos.

Aos meus grandes amigos Luis Fernando e Paulo César pela sólida amizade que já dura mais de uma década e que ainda continuará por muitos anos.

Aos colegas do grupo da Profa. Marilda: André Guedes, Débora, André Faria, Carol, Juvenal, Ádamo, Tathyana e Valéria, pela amizade, colaboração, consideração e diversão ao longo de vários anos.

A todos os colegas de república, com os quais convivi, que pelo número e pela falta de memória característica deste período, não arrisco a listar para evitar deixar alguém de fora. Por todos os bons momentos, festas, comemorações e experiências ao longo de vários anos.

A todos os colegas do Departamento, Bruno, Fernanda, Renata, Andréia, Marina, Carô, Silvio, Adamo, Jefferson, André, Carlinhos, Fernando pelas divertidas conversas e momentos de descontração tão bons quanto necessários.

Aos colegas de turma com os quais ainda tenho a felicidade de conviver Cláudio Néri, Claire Lunardi e o Prof. Dr. Marcelo Firmino.

A todos os técnicos, que colaboraram - e muito - neste trabalho. Do Departamento de Química da FFCLRP-USP: Zanatto, Ademir, Mercia, Ivana, Dora, Vera, Virginia, Miltinho, Djalma, Luiza, Olimpia. Do Departamento de Física e Matemática da FFCLRP-USP: Carlão, Aziani, Serginho, Eldereis. Do IQSC-USP: Mauro, Carlos Bento e Rose.

A todos os funcionários do DQ: Lamia, Isabel, André, Marquinho, Nivaldo, Geraldo, Helio, Losane, Dias que colaboraram nesse trabalho, direta ou indiretamente.

A 3M do Brasil na pessoa de Jose Humberto Lopes pela caracterização dos filmes finos por testes de adesão.

A Degussa pelas amostras de siloxano para o desenvolvimento deste trabalho.

A FAPESP pelo apoio financeiro ao projeto que foi fundamental para seu bom desenvolvimento.

A todas as outras pessoas que colaboraram direta ou indiretamente para que esses resultados tenham sido alcançados.

ÍNDICE

RESUMO.....	26
ABSTRACT	29
I. INTRODUÇÃO GERAL	32
I.1. Alguns aspectos sobre a química do rutênio	32
I.2. A molécula de óxido nítrico	32
I.3. Complexos metálicos com o ligante nitrosilo.	36
II. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	40
Capítulo 1. Síntese, Caracterização e a Reatividade de um Nitrosilo Complexo de Rutênio com Ligante Cyclam Substituído.....	42
I. INTRODUÇÃO	43
I.1. Ligantes azamacrocíclicos.....	43
I.2. Complexos metálicos com o ligante cyclam e seus derivados.....	45
II. PARTE EXPERIMENTAL	49
II.1. Reagentes e Solventes	49
II.2. Materiais e Métodos.....	51
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
III.1. Síntese e caracterização do ligante ácido 3-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradeca-1-il)propanóico.....	66
III.2. Síntese dos nitrosilo complexos de rutênio com os ligantes tetraazamacrocíclicos.....	81
III.3. Caracterização dos nitrosilo complexos de rutênio com os ligantes cyclam e 1-(carboxypropil)cyclam.....	82
III.4. Reatividade Eletroquímica.....	113
III.5. Reatividade Química.....	131
III.6. Estudos Biológicos Preliminares.	140
Capítulo 2. Imobilização de Tetraaminas de Rutênio na Superfície da Sílica Gel Modificada.....	146
I. INTRODUÇÃO	147
I.1. Imobilização de complexos metálicos na superfície da sílica.....	147
II.2. Tetraaminas de rutênio com o ligante nitrosilo.....	149
II. PARTE EXPERIMENTAL	151
II.1. Reagentes e Solventes	151

II.2. Materiais e Métodos	153
II.3. Equipamentos	161
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO	162
III.1. Preparação e caracterização da sílica gel contendo grupos isonicotinamida..	162
III.2. Imobilização das tetraaminas de rutênio na superfície da ISNPS.	167
III.3. Caracterização das tetraaminas de rutênio imobilizadas.	168
III.4. Fotolabilização do ligante nitrosilo no complexo imobilizado	184
III.5. Liberação de óxido nítrico por redução química na tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada na ISNPS.....	192
III.6. Estudos de reciclagem do complexo imobilizado	196
Capítulo 3. Preparação de Filmes Finos de Silanos Organicamente Modificados Contendo o Complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF ₆) ₂ e Depositados sobre Aço Cirúrgico.....	200
I. INTRODUÇÃO	201
I.1 Alguns aspectos sobre o processo sol-gel	201
I.2. Siloxanos organicamente modificados e materiais híbridos orgânico-inorgânicos	202
I.3. Aplicações do processo sol-gel	205
II. PARTE EXPERIMENTAL	208
II.1. Reagentes e Solventes	208
II.2. Materiais e Métodos.....	209
II.3. Equipamentos e métodos utilizados.	215
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO	220
III.1. Tratamento e limpeza da superfície do aço inoxidável 316 L.....	220
III.2. Deposição e caracterização dos filmes finos de silanos híbridos orgânico-inorgânicos sobre a superfície do aço inoxidável 316 L.....	225
III.3. Deposição e caracterização dos filmes finos híbridos orgânico-inorgânicos contendo o complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF ₆) ₂	275
IV. CONCLUSÕES.....	291
V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	293

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Arranjo dos orbitais moleculares em um complexo $\{MNO\}^6$ hexacoordenado com a ligação M-N-O linear	39
Figura 2. Ligantes azamacrocíclicos	44
Figura 3. Estrutura do 1-(carboxipropil)cyclam e do tetraclohidrocloreto de 1-(carboxipropil)cyclam	68
Figura 4. Espectro de infravermelho do cyclam em pastilha de KBr.	68
Figura 5. Espectro de infravermelho do cloridrato de cyclam em pastilha de KBr.	69
Figura 6. Espectro de infravermelho do cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam em pastilha de KBr.....	69
Figura 7. Espectro de RMN de 1H para o 1-(carboxipropil)cylam em $CDCl_3$. δ (ppm) referente ao deslocamento do $CHCl_3$ (7.26 ppm)	72
Figura 8. Espectro de RMN de 1H para o cloridrato de 1-(carboxipropil)cylam em D_2O . δ (ppm) referente ao deslocamento do H_2O (4.70 ppm).	73
Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C para o 1-(carboxipropil)cylam em $CDCl_3$. δ (ppm) referente ao deslocamento do $CHCl_3$ (77.0 ppm).	74
Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C para o 1-(carboxipropil)cylam em $CDCl_3$ (ampliação da região de 20 a 60 ppm. δ (ppm) referente ao deslocamento do $CHCl_3$ (77.0 ppm).	75
Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C para o tetraclohidreto de 1-(carboxipropil)cylam em D_2O . δ (ppm) referente ao deslocamento do $(CH_3)_3Si(CD_2)_2CO_2Na$ (0 ppm). .	76
Figura 12. Espectro RMN de ^{13}C para o cloridrato de 1-(carboxipropil)cylam (ampliação da região de 20 a 60 ppm)em D_2O . δ (ppm) referente ao deslocamento do $(CH_3)_3Si(CD_2)_2CO_2Na$ (0 ppm)	77
Figura 13. Espectro ESI-MS do ligante 1-(carboxipropil)cyclam, utilizando o modo <i>electrospray</i>	78
Figura 14. Curva da titulação potenciométrica para o ligante tetraclohidrocloreto de 1-(carboxipropil)cyclam (2 mM, $\mu = 0,1 \text{ mol.L}^{-1} \text{ NaCl}$) com $NaOH \text{ } 0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ à temperatura ambiente.	80
Figura 15. Estrutura ORTEP para o complexo <i>fac</i> - $[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4, N^8, N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]Cl \cdot H_2O$	83

Figura 16. Diagrama de ORTEP de moléculas do complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H ₂ O localizadas no centro de inversão cristalográfica.....	84
Figura 17. Estrutura ORTEP para o complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO ₄) ₂ ...	85
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)] ⁺ em D ₂ O. δ (ppm) referente ao sinal da H ₂ O (4.70 ppm).	92
Figura 19. Espectro de RMN de ¹ H para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)] ⁺ em acetona- <i>d</i> ₆ (ampliação da região de 5 a 12 ppm). δ (ppm) referente ao sinal da acetona (1.96 ppm).....	93
Figura 20. Espectro de RMN de ¹³ C para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)] ⁺ em D ₂ O. δ(ppm) referente ao deslocamento do (CH ₃) ₃ Si(CD ₂) ₂ CO ₂ Na (0 ppm).	94
Figura 21. Espectro de RMN de ¹³ C para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)] ⁺ em D ₂ O (ampliação da região de 20 a 60 ppm). δ(ppm) referente ao deslocamento do (CH ₃) ₃ Si(CD ₂) ₂ CO ₂ Na (0 ppm).	95
Figura 22. Espectro de RMN de ¹ H para o complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)] ²⁺ em D ₂ O. δ (ppm) referente ao sinal da H ₂ O (4.70 ppm).....	96
Figura 23. Espectro de RMN de ¹ H para o complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)] ²⁺ em CD ₃ CN (ampliação da região de 4.5 a 6.6 ppm). δ (ppm) referente ao sinal da CH ₃ CN (1.96 ppm).....	97
Figura 24. Espectro de RMN de ¹³ C para o complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)] ²⁺ em D ₂ O. (δ) em ppm referente ao deslocamento do (CH ₃) ₃ Si(CD ₂) ₂ CO ₂ Na (0 ppm)	98
Figura 25. Espectro de ESI-MS de íon positivo para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl em H ₂ O-CH ₃ OH (1:1). (A) Distribuição isotópica experimental; (B) Distribuição isotópica teórica calculada.	102
Figura 26. Espectro de ESI-MS/MS do cluster de íons positivos de <i>m/z</i> 468.2 - 480.2 derivado do <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl	104
Figura 27. Espectro de infravermelho do complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H ₂ O em KBr.....	108
Figura 28. Espectro de infravermelho do complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF ₆) ₂ em KBr.	109

- Figura 29.** Espectro UV-Vis do $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$ em água (A) região de 280 a 700 nm a $2,6 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (B) região de 300 a 700 nm a $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.
.....112
- Figura 30.** :Espectro UV-Vis do $fac\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ a $3,8 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (A) região de 200 a 700 nm e (B) região de 300 a 700 nm. (—) Deconvolução Gaussiana.112
- Figura 31.** Ciclo voltamograma do $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$ a 1 mmol.L^{-1} em KCl/HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH = 1), T = 25 °C, utilizando-se como eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, carbono vítreo, Ag/AgCl e platina, respectivamente.114
- Figura 32.** Ciclo voltamograma do $fac\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ a 1 mmol.L^{-1} em HCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, T = 25 °C, a 100 mV.s^{-1}
.....115
- Figura 33.** Ciclo voltamograma do $fac\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ a 1 mmol.L^{-1} em HCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, T = 25 °C a 100 mV.s^{-1} , variando-se o tempo de eletrólise em -0,5 V, utilizando-se como eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, carbono vítreo, Ag/AgCl e platina, respectivamente.116
- Figura 34.** Acompanhamento da eletrólise do complexo $fac\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em -0,5 V em HCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ utilizando um eletrodo seletivo para NO.116
- Figura 35.** Estudo da variação da concentração de cloreto no comportamento eletroquímico do complexo $fac\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em pH = 1. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} , T = 25 °C.118
- Figura 36.** Estudo da variação da concentração de cloreto no comportamento eletroquímico do complexo $fac\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em pH = 4,7. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} , T = 25 °C.119
- Figura 37.** Estudo da variação do pH no comportamento eletroquímico do complexo $fac\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ utilizando NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} , T = 25 °C.120
- Figura 38.** Estudo da variação do pH no comportamento eletroquímico do complexo $fac\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ utilizando NaNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} , T = 25 °C.121

- Figura 39.** Voltamograma cíclico do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 4,7; T = 25 °C a 20 mV.s^{-1} 122
- Figura 40.** Estudo da variação da velocidade de varredura no comportamento eletroquímico do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 4,7; T = 25 °C.....123
- Figura 41.** Estudo da variação da temperatura no comportamento eletroquímico do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 4,7.Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1}123
- Figura 42.** Estudo da variação da concentração de cloreto no comportamento eletroquímico do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em pH = 4,7.Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} . T = 4 °C.....126
- Figura 43.** Voltamogramas com microeletrodo de platina (raio = 15,4 μm) para a solução 1 mM do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução KCl (pH ~ 1, $\mu = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) à 25°C.....129
- Figura 44.** Gráfico de $(E_p - E_{1/2})$ vs $\log 1/v$ obtido utilizando-se os dados obtidos por voltametria cíclica utilizando microeletrodo de platina.130
- Figura 45.** Curva de titulação potenciométrica para o complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ (2 mM, $\mu = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ NaCl) com NaOH $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ à temperatura ambiente.132
- Figura 46.** Gráfico de potenciais de pico (E_p) em função dos pHs para a determinação a determinação dos pKas para o complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$. Concentração do complexo 1 mM (pH inicial ~ 1, $\mu = 0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ KCl).134
- Figura 47.** Voltametria de pulso diferencial para o complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em diferentes valores de pH. Concentração do complexo 1 mM (pH inicial ~ 1, $\mu = 0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ KCl).134
- Figura 48.** Determinação da constante de aquação do cloreto no complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]Cl \cdot H_2O$ 137
- Figura 49.** Células B16-F10, observadas ao microscópio de luz sob um aumento de (A) 100x e (B) 400 x respectivamente141
- Figura 50.** Curva de crescimento padrão para culturas de células B16-F10, em meio HAM-F10, enriquecido com soro bovino fetal (10%).143

Figura 51. Efeito citotóxico do complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)] ⁺ na faixa de concentração de 0 a 1x10 ⁻³ mol.L ⁻¹ sobre células B16-F10.	144
Figura 52. Espectro de infravermelho da APS (A) and ISNPS (B), em pastilha de KBr.	163
Figura 53. Isoterma de adsorção (○) e desorção (●) de nitrogênio obtidas para a APS.	165
Figura 54. Isotermas de adsorção (○) e desorção (●) de nitrogênio obtidas para a ISNPS.	165
Figura 55. Espectro UV-Vis da [≡Si(CH ₂) ₃ -isn] em suspensão de CCl ₄ . Como branco foi utilizada uma suspensão da APS em CCl ₄	171
Figura 56. Espectro UV-Vis do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (SO ₃)] em suspensão de CCl ₄	171
Figura 57. Espectro UV-Vis do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (SO ₂)] ²⁺ em suspensão de CCl ₄	172
Figura 58. Espectro UV-Vis do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (SO ₄)] ⁺ em suspensão de CCl ₄	172
Figura 59. Espectro UV-Vis do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (H ₂ O)] ²⁺ em suspensão de CCl ₄	173
Figura 60. Espectro UV-Vis do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ (obtido pelo método 1) em suspensão de CCl ₄	173
Figura 61. Espectro UV-Vis do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ (obtido pelo método 2) em suspensão de CCl ₄	174
Figura 62. Espectro de infravermelho do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ preparado através do método 1 (A) e método 2 (B), em pastilha de KBr.	178
Figura 63. Ciclovoltagemograma do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (SO ₂)] ²⁺ em eletrodo modificado de pasta de carbono utilizando como eletrólito suporte solução de KCl 1,0 mol.L ⁻¹ pH ~ 1, v = 30 mV.s ⁻¹	179
Figura 64. Ciclovoltagemograma do <i>trans</i> -[Ru(isn)(NH ₃) ₄ (SO ₂)] ²⁺ em solução de KCl 1,0 mol.L ⁻¹ pH ~ 1, v = 30 mV.s ⁻¹	179
Figura 65. Ciclovoltagemograma do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (SO ₄)] ⁺ em eletrodo modificado de pasta de carbono utilizando como eletrólito suporte solução de KCl 1,0 mol.L ⁻¹ pH ~ 1, v = 30 mV.s ⁻¹	180

Figura 66. Ciclo voltamograma do <i>trans</i> -[Ru(SO ₄)(NH ₃) ₄ (isn)] ⁺ em solução de KCl 1,0 mol.L ⁻¹ pH ~ 1, v = 30 mV.s ⁻¹	180
Figura 67. Ciclo voltamograma do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ , preparado pelo método 1, em eletrodo modificado de pasta de carbono utilizando como eletrólito suporte solução de KCl 1,0 mol.L ⁻¹ pH ~ 1, v = 30 mV.s ⁻¹	181
Figura 68. Ciclo voltamograma do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ preparado pelo método 2, utilizando como eletrólito suporte solução de KCl 1,0 mol.L ⁻¹ pH ~ 1, v = 30 mV.s ⁻¹	181
Figura 69. Ciclo voltamograma do <i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ (isn)] ³⁺ em solução de KCl 1,0 mol.L ⁻¹ pH ~ 1, v = 30 mV.s ⁻¹	182
Figura 70. Alterações espectrais no IV durante a irradiação em 334 nm do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ , em pastilha de KBr. Tempo total de fotólise 24 horas.	185
Figura 71. Alterações espectrais no IV durante a irradiação com luz branca do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ , em pastilha de KBr. Tempo de fotólise 1 hora, com medidas a cada 15 minutos.	186
Figura 72. Alterações espectrais no IV durante a irradiação com luz branca do <i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ (isn)](BF ₄) ₃ em pastilha de KBr. Tempo de fotólise 1 hora e 20 minutos com medidas em intervalos de 20 minutos.	187
Figura 73. Variação da concentração de NO durante a fotólise em 334 nm de uma suspensão de 15 mg de [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ (0,75 x 10 ⁻⁴ mol.g ⁻¹) preparada através do método 2, em solução tampão fosfato previamente desaerada.	189
Figura 74. Variação da concentração de NO durante a fotólise com luz branca de uma suspensão de 15 mg de [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ (0,66 x 10 ⁻⁴ mol.g ⁻¹) preparada através do método 2, em solução tampão fosfato, previamente desaerada.	190
Figura 75. Mudanças espectrais no IV durante a irradiação com luz branca do material obtido após a fotólise do nitrosilo complexo de rutênio imobilizado e posterior reação com solução aquosa de nitrito, em pastilha de KBr.	191
Figura 76. Espectro de infravermelho do material obtido após redução do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ com Eu(II), em pastilha de KBr.....	193
Figura 77. Espectro UV-Vis do material obtido após reação do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ com Eu(II), em suspensão de CCl ₄	194

Figura 78. Cronoamperograma do NO liberado para a reação de uma suspensão de 3,0 mg $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$) em 10 mL de tampão fosfato previamente desaerado com Eu(II) (30x excesso).....	195
Figura 79. Cronoamperograma do NO liberado para a reação de uma solução 48 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ de <i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$ em 10 mL de tampão fosfato previamente desaerado com Eu(II) (30x excesso).	195
Figura 80. Espectros de IV do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ obtido após cada ciclo de recilagem, em KBr.....	197
Figura 81. Cronoamperograma do NO liberado para a reação do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ com Eu(II) em 10 mL de solução tampão fosfato previamente desaerada (A) antes dos ciclos de reciclagem, (B) após o terceiro ciclo de reciclagem.	198
Figura 82. Representação genérica de reações de hidrólise e condensação para alcoxissilanos.	202
Figura 83. Reação química para a formação do Ormosil entre TEOS e PDMS	204
Figura 84. Estrutura do tetraetoxissilano (TEOS) e dos organosiloxanos (Glymo e PDMS) utilizados na preparação dos filmes finos.	212
Figura 85. Imagens de microscopia óptica obtida para o aço inoxidável 316L para os diferentes tratamentos empregados. (A) sem tratamento; (B) método 1; (C) método 2; (D) método 3; (E) método 4 (F) método 4 com polimento e (G) método 5 com polimento.....	221
Figura 86. Imagens de AFM da superfície do aço inoxidável 316L. (A) sem polimento. (B) polida.	222
Figura 87. Variação do ângulo de contato dinâmico.....	222
Figura 88. Espectro de reflectância espectral para o filme obtido a partir da mistura M2.	227
Figura 89. Imagens de MEV dos filmes depositados sobre o aço inoxidável 316L. Magnificação 500x.....	228
Figura 90. Imagem de MEV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316L utilizando a mistura M6. Magnificação 5000x.	229
Figura 91. Mapeamento dos elementos por EDX na superfície do filme obtido a partir da mistura M1.	230
Figura 92. Mapeamento dos elementos por EDX na superfície do filme obtido a partir da mistura M6.	231

Figura 93. Análise por EDX do perfil (linha amarela) entre substrato e filme obtido com a mistura M1.....	232
Figura 94. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme preparado a partir da mistura M1: (A) Imagem 2D (B) Imagem 3D (C) Contraste de fase.....	234
Figura 95. Imagens de AFM obtidas no modo de contato para o filme preparado a partir da mistura M2: (A) Imagem 2D (B) Imagem 3D (C) Contraste de fase....	235
Figura 96. Imagens de AFM obtidas no modo de contato para o filme preparado a partir da mistura M3: (A) Imagem 2D (B) Imagem 3D (C) Contraste de fase....	236
Figura 97. (A) Imagem 2D; (B) Perfil da superfície; (C) Histograma da distribuição do diâmetro dos grãos e (D) Histograma da área dos grãos. Resultados obtidos a partir da imagem por AFM do filme preparado com a mistura M3.....	237
Figura 98. Imagens de AFM obtidas no modo de contato para o filme preparado a partir da mistura M6 (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.	240
Figura 99. (A) Imagem 2D; (B) Perfil da superfície; (C) Histograma da distribuição do diâmetro dos poros e (D) Histograma da área dos poros. Resultados obtidos a partir da imagem por AFM (50 μm x 50 μm) do filme preparado com a mistura M6.	241
Figura 100. Imagens de AFM obtidas no modo de contato para o filme preparado a partir da mistura M8: (A) Imagem 2D; (B) Imagem 3D; (C) Contraste de fase.	242
Figura 101. (A) Imagem 2D e (B) Perfil da superfície. Resultados obtidos a partir da imagem por AFM (50 μm x 50 μm) do filme preparado com a mistura M8.	243
Figura 102. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M1.	245
Figura 103. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M2.	245
Figura 104. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M3.	246
Figura 105. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M6.	249
Figura 106. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M6. Ampliação da região de 1400-700 cm^{-1}	249

Figura 107. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M8.	250
Figura 108. Espectros de RMN MAS CP de ^{29}Si obtidos para os diversos Ormosils preparados através das misturas M1, M2, M3, M6 e M8.	253
Figura 109. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M1.	254
Figura 110. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M2.	255
Figura 111. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M3.	255
Figura 112. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M6.	257
Figura 113. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M8.	257
Figura 114. Espectro de RMN MAS de ^{13}C obtido para o Ormosil preparado a partir da mistura M6.	259
Figura 115. Espectro de RMN MAS de ^{13}C obtido para o Ormosil preparado a partir da mistura M8.	260
Figura 116. Espectro de RMN CP MAS de ^{13}C obtido para o Ormosil preparado a partir da mistura M6.	261
Figura 117. Gráfico de Deformação vs Força (gf) obtido no teste de adesão <i>peel</i> em um equipamento Instron segundo norma ASTM D-1000, para os filmes obtidos a partir das misturas M1, M2, M3, M6 e M8.	265
Figura 118. Ângulo de contato estático com água para os filmes depositados sobre o aço inoxidável 316L e para o substrato (SUB).	267
Figura 119. Energia superficial para os filmes depositados sobre o aço inoxidável 316L e para o substrato (SUB).	268
Figura 120. Imagens de MEV obtidas para os filmes preparados a partir de M2 (A) e M6 (B) após teste de imersão estática a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 21 dias. Magnificação 500x.	273
Figura 121. Imagem de AFM obtida para o filme preparados a partir de M6 após teste de imersão estática a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 21 dias.	273
Figura 122. Imagem de MEV obtida para o filme M2NO. (A) Magnificação 500x e (B) Magnificação 5000x.	277

Figura 123. Imagem de MEV obtida para o filme M6NO. (A) Magnificação 500x e (B) Magnificação 5000x.	277
Figura 124. Mapeamento de Ru para M2NO (A) e M6NO (B) e espectro de EDX para M2NO (C) e M6NO (D).	278
Figura 125. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme M2NO (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.	280
Figura 126. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme M2NO (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.	281
Figura 127. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme M6NO (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.	282
Figura 128. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme M6NO (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.	283
Figura 129. (A) Imagem 2D; (B) Perfil da superfície; (C) Histograma da distribuição do diâmetro dos poros e (D) Histograma da área dos poros. Resultados obtidos a partir da imagem por AFM (50 μm x 50 μm) para o filme M6NO.	284
Figura 130. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da M2NO.....	286
Figura 131. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da M6NO.....	286
Figura 132. Espectro de refletância especular no IV do filme M6NO depositado sobre o aço inoxidável 316 L.....	288
Figura 133. Ângulo de contato estático da água para os filmes M2NO e M6NO e para os respectivos filmes sem complexo depositados sobre o aço inoxidável 316 L e para o substrato (SUB).	290
Figura 134. Energia superficial para os filmes M2NO e M6NO e para os respectivos filmes sem complexo depositados sobre o aço inoxidável 316 L e para o substrato (SUB).	290

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Comparação de alguns parâmetros selecionados para as espécies NO, NO ⁺ e NO ⁻	34
Tabela 2. Atribuições tentativas das bandas na região do infravermelho para os ligantes tetraazamacrocíclicos ^a	70
Tabela 3. Dados de RMN de ¹ H para o ligante 1-(carboxipropil)cyclam e cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam.....	78
Tabela 4. Dados cristalográficos e de refinamento da estrutura para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H ₂ O.	86
Tabela 5. Principais distâncias interatômicas ao redor do átomo de rutênio para os complexos <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H ₂ O. e <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO ₄) ₂ ³²	87
Tabela 6. Principais ângulos de ligação ao redor do átomo de rutênio para os complexos <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H ₂ O e <i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO ₄) ₂	88
Tabela 7. Dados de RMN de ¹ H para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)] ⁺ em D ₂ O	99
Tabela 8. Atribuições tentativas das bandas na região do infravermelho para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H ₂ O.	110
Tabela 9. Dados espectroscópicos para o complexo <i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)] ⁺ e alguns complexos análogos.	111
Tabela 10. Dados de análise elementar, área superficial, número de moles (<i>N</i>), densidade superficial (<i>d</i>) e distância interatômica média (<i>l</i>) dos grupos funcionais.	166
Tabela 11. Quantidade de complexo imobilizado na ISNPS.	169
Tabela 12. Máximos de absorção no UV-Vis para os complexos imobilizados ^a e alguns análogos em solução.	175
Tabela 13. Potencial redox para algumas das tetraaminas de rutênio imobilizadas e seus análogos em solução.....	182
Tabela 14. Análise de rutênio e quantidade de NO liberada do [≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)] ³⁺ a cada ciclo de reciclagem.	198
Tabela 15. Componentes e condições de preparação das misturas (sol) para a deposição de filmes finos sobre a superfície.....	213

Tabela 16. Componente dispersiva e polar para os líquidos selecionados para medida de energia superficial	216
Tabela 17. Medidas de ângulo de contato para os diferentes tratamentos empregados na superfície do aço inoxidável 316L.	224
Tabela 18. Espessuras dos filmes obtidas por refletância especular.	227
Tabela 19. RMN MAS CP de ²⁹ Si intensidades relativas das linhas (%) e atribuições prováveis.	254
Tabela 20. Força de adesão obtida para os filmes preparados a partir das misturas M1, M2, M3, M6 e M8 depositados sobre aço cirúrgico 316L.....	265
Tabela 21. Energia superficial para os filmes de xerogel homogêneos obtidos.	267
Tabela 22. Determinação da quantidade de Si lixiviada dos filmes de xerogel incubados em PBS a 25 °C.....	271
Tabela 23. Determinação da quantidade de Si lixiviada dos filmes de xerogel incubados em PBS a 36 ± 1 °C.....	271
Tabela 24. Espessuras dos filmes obtidas por refletância especular.	276
Tabela 25. Energia superficial obtida para os filmes M2NO e M6NO e seus análogos sem complexo.....	289

RESUMO

Neste trabalho são relatados os resultados do emprego de nitrosilo complexos de rutênio para a preparação de materiais potencialmente liberadores de óxido nítrico. A partir deste objetivo inicial, três diferentes estratégias foram investigadas, a saber: i) preparação de um nitrosilo complexo de rutênio com o ligante 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano (cyclam) mono-N-substituído com um grupamento carboxipropil; ii) imobilização de uma tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo na superfície da sílica-gel modificada com grupamentos isonicotinamida e iii) deposição de filmes finos híbridos orgânico-inorgânicos contendo o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂, sobre a superfície do aço 316L (aço cirúrgico), utilizando o processo sol-gel.

A primeira estratégia envolveu a síntese do ligante ácido 3-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradeca-1-il)propanóico, (1-carboxipropil)cyclam, com modificações do método previamente descrito na literatura. O ligante foi purificado através de uma nova metodologia, a qual levou a um expressivo aumento no rendimento. Este ligante, bem como seu cloridrato análogo, foram caracterizados utilizando-se técnicas como ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e de ¹³C, espectrometria de massa (ESI-MS), espectroscopia no infravermelho (IV) e análise elementar. Para o cloridrato também foi realizada a determinação do pKa da carboxila do substituinte. A partir da reação do ligante 1-(carboxipropil)cyclam com RuNOCl₃ foi sintetizado o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O. Para efeitos de comparação também foi sintetizado o análogo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ através da reação com RuNOCl₃ e da rota descrita na literatura. O complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O teve sua estrutura cristalina e molecular determinada por difração de Raios-X e foi caracterizado através de técnicas como espectrometria de massa por *electrospray* (ESI-MS) e espectrometria de massa por *electrospray* com fragmentação por impacto (ESI-MS/MS), RMN de ¹H e de ¹³C, análise elementar, espectroscopia no IV e no ultravioleta e visível (UV-Vis). O referido complexo teve seu comportamento eletroquímico investigado. Foram estimados os valores de pKa e a labilidade dos ligantes cloreto foi investigada. Por fim

foram realizados estudos preliminares de citotoxicidade deste complexo em células tumorais da linhagem B16-F10.

No tocante à segunda estratégia, inicialmente foi preparada uma sílica-gel contendo grupos isonicotinamida em sua superfície, a 3-isonicotinamidapropil sílica (ISNPS). Este suporte foi preparado a partir da reação entre a 3-aminopropil sílica e o ácido isonicotínico na presença de 1,3-diclohexilcarbodiimida (DCCI) em refluxo de dimetilformamida a qual levou a formação de uma ligação amida entre o grupamento amina da sílica e o ácido carboxílico da base nitrogenada. A sílica modificada foi caracterizada por análise elementar e espectroscopia no IV e teve sua área superficial específica determinada. A ISNPS foi utilizada para imobilizar a unidade $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_3)]$ através da reação com *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_4)(\text{SO}_2)\text{Cl}]\text{Cl}$ levando à obtenção do complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_3)]$. A partir deste complexo foram preparados os análogos $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{3+/2+}$ ($\text{L} = \text{SO}_2$, SO_4^{2-} , OH_2 e NO), os quais foram caracterizados através de espectroscopia no IV e no UV-Vis bem como por voltametria cíclica. A síntese do nitrosilo complexo imobilizado foi realizada pela reação do aquo complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ pela reação com nitrito tanto em meio ácido como em tampão fosfato ($\text{pH} = 7,4$). Os resultados semelhantes obtidos por ambos os métodos indicam que o aquo complexo é capaz de converter o ion nitrito em NO coordenado. O nitrosilo complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ foi investigado com relação à liberação de óxido nítrico (NO), mostrando-se capaz de liberar NO tanto por irradiação com luz quanto por redução química, gerando, respectivamente, os aquo complexos de rutênio (III) e (II). O nitrosilo complexo de rutênio imobilizado pode ser regenerado a partir destes materiais através da reação com solução de nitrito em $\text{pH} 7,4$. Até 3 ciclos de redução e regeneração do nitrosilo complexo imobilizado foram realizados. Observou-se que a tetraamina de rutênio é estável em relação à lixiviação e é capaz de manter a capacidade de liberar NO durante os ciclos de redução e regeneração.

Por fim, a terceira estratégia envolveu inicialmente o desenvolvimento de um tratamento para a superfície do aço cirúrgico 316L. A eficiência de cada tratamento foi avaliada através de microscopia ótica e de medidas de ângulo de contato estático e

dinâmico. O tratamento com melhor resultado levou à obtenção de uma superfície hidrofílica e homogênea tanto física como quimicamente, conforme observado através dos resultados de medidas de ângulo de contato estático e dinâmico e por microscopia de força atômica (AFM). Cinco diferentes filmes de silanos híbridos orgânico-inorgânicos foram depositados sobre a superfície do aço, utilizando-se o processo sol-gel e a técnica de *spin coating*. Como siloxanos foram utilizados o tetraetoxissilano (TEOS), o 3-glicidoxipropiltrimetoxissilano (Glymo) e o poli(dimetil)siloxano (PDMS) em misturas binárias. Os filmes obtidos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de força atômica (AFM), espectroscopia de reflectância especular no IV, ressonância magnética nuclear no estado sólido com rotação no ângulo mágico (RMN MAS) de ^{29}Si e de ^{13}C . As espessuras foram determinadas através de reflectância especular e as energias superficiais dos filmes foram determinadas através da técnica de ângulo de contato. Propriedades como adesão mecânica e estabilidade em solução dos filmes também foram avaliadas. A adesão mecânica foi investigada através de testes do tipo *peel* segundo normas ASTM, sendo que, dos cinco filmes avaliados, apenas um apresentou uma adesão pobre, sendo a adesão dos demais adequada. A estabilidade dos filmes em solução foi avaliada por testes de imersão estática nas temperaturas de $25 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $37 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ em tampão fosfato salino (PBS). Para a avaliação da estabilidade, a quantidade de silício liberada foi analisada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). A partir dos resultados obtidos na caracterização dos filmes e dos testes de adesão e estabilidade química foram escolhidas duas condições para a imobilização do complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ a qual foi realizada pela incorporação do complexo no sol e posterior deposição do gel contendo o complexo sobre a superfície do aço cirúrgico por *spin-coating*. Os filmes assim preparados foram caracterizados por MEV, AFM, espectroscopia de reflectância especular no IV. A espessura dos filmes foi determinada através de reflectância especular e a energia superficial dos filmes foi obtida através de medidas de ângulo de contato.

ABSTRACT

In this work we report the results on three different strategies aiming the preparation of materials that might be used as potential nitric oxide releasing materials. In order to achieve this goal, the following approaches were conducted: i) the synthesis and characterization of a new ruthenium nitrosyl complex with cyclam ligand mono-N-substituted with a carboxypropyl pendant group; ii) the immobilization of a ruthenium tetraamine nitrosyl complex on the modified silica gel surface and iii) deposition on the surface of surgical stainless steel of hybrid organic-inorganic thin films containing the *trans*-[RuCl(NO)(cyclam)](PF₆)₂ (cyclam = 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane) complex prepared by the sol-gel process.

Regarding the first approach, the 3-(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan-1-yl)propionic acid ligand, 1-(carboxypropyl)cyclam, was synthesized according to a reported method with slight modifications and purified by a new method which resulted in a significant yield improvement. The 1-(carboxypropyl) ligand, as well as its tetrahydrochloride analog, was characterized by means of ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance (NMR), electrospray mass spectrometry (ESI-MS), vibrational (IR) spectroscopy and elemental analysis. For the 1-(carboxypropyl)cyclam tetrahydrochloride, pK_a of carboxypropyl group was determined. The complex *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxypropyl)cyclam)]Cl•H₂O was prepared in an one pot reaction by mixing equimolar amounts of RuNOCl₃ and (1-carboxypropyl)cyclam. For comparative purposes, the analogous complex *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ was synthesized using RuNOCl₃ as starting material, and, also, by a published procedure. The complex *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxypropyl)cyclam)]Cl•H₂O was characterized by X-ray crystallography, electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS), elemental analysis, ¹H and ¹³C NMR, ultraviolet and visible (UV-Vis) and IR spectroscopies. The electrochemical behavior and chloride inertness of the *fac* complex were investigated and pK_a values were estimated. A preliminary investigation of the cytotoxicity of this complex on B16-F10 tumor cells was performed.

Considering the second approach, silica-gel bearing isonicotinamide groups were prepared by further modification of 3-aminopropyl-functionalized silica by a reaction with isonicotinic acid and 1,3-dicyclohexylcarbodiimide to yield the 3-isonicotinamidepropyl functionalized silica-gel (ISNPS). This support was characterized by means of IR spectroscopy, elemental analysis and specific surface area. The ISNPS was used to immobilize the $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{SO}_3]$ moiety by reaction with *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)\text{Cl}]\text{Cl}$ yielding $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_3)]$. The related immobilized $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{3+/2+}$ ($\text{L} = \text{SO}_2, \text{SO}_4^{2-}, \text{OH}_2$ and NO) complexes were prepared, and characterized by means of UV-Vis and IR spectroscopy as well as by cyclic voltammetry. Syntheses of the nitrosyl complex were performed by reaction of the immobilized ruthenium ammine $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]^{2+}$ with nitrite in acid or neutral (pH 7.4) solution. The similar results obtained in both ways indicate that the aquo complex was able to convert nitrite into coordinated nitrosyl. The reactivity of $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ was investigated in order to evaluate the nitric oxide (NO) release. It was found that, upon light irradiation or chemical reduction, the immobilized nitrosyl complex was able to release NO generating the corresponding Ru(III) or Ru(II) aquo complexes, respectively. The ruthenium nitrosyl based material could be regenerated from these NO depleted materials obtained photochemically or by reduction. Regeneration was done by reaction with nitrite in aqueous solution (pH 7.4). Reduction-regeneration cycles were performed up to three times with no significant leaching of the ruthenium complex.

In the last third approach, five different methods of treatment of the stainless steel surface were investigated and the efficiency of each one was evaluated by optical microscopy and static and dynamic contact angle techniques. The optimal condition resulted in a physical and chemically homogeneous surface as observed from atomic force microscopy (AFM) and contact angle measurements. After this previous step, five different sols were prepared using organosiloxanes such as tetraetoxysilane (TEOS), 3-glycidoxypropyltrimethoxysilane (Glymo) and poli(dimethyl)siloxane (PDMS) using binary mixtures. The resulting gels were spin-coated on the surgical 316L steel surface to yield five different organosilanes thin films. The resulting thin films were characterized by means of electron scanning microscopy (MEV), AFM,

infrared reflection absorption spectroscopy (IRRAS), ^{29}Si and ^{13}C solid state nuclear magnetic resonance with magic angle spinning (NMR MAS). The film thickness as well as the thin film surface energy was determined. The thin films mechanical adhesion and solution stability were investigated. The adhesion strength was evaluated by means of peel strength tests according to ASTM D-1000 method. Among the five different thin films evaluated, only one showed a poor adhesion. The solution stability was investigated by static immersion tests immersing thin film samples on saline phosphate buffer (PBS) at $25 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $36 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. The content of silicon species leached out from thin films was determined by inductive coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). From results obtained in the thin films characterization, mechanical adhesion and solution stability, two conditions were chosen for preparing thin films containing the complex *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂. These films were prepared by dissolving the complex into the sol solution and spin-coating the resulting gels. The ruthenium nitrosyl complex containing thin films were characterized by means of MEV, AFM and IRRAS. Film thickness was determined by specular reflectance. The surface energy was determined by contact angle measurements.

I. INTRODUÇÃO GERAL

I.1. Alguns aspectos sobre a química do rutênio

O rutênio aparece entre os metais de transição como um elemento de características particulares, especialmente em estados de oxidação baixos, sendo os complexos de Ru(II) e Ru(III), quase invariavelmente, de coordenação seis, baixo spin e geometria octaédrica ou pseudo-octaédrica. Como tais, os três orbitais t_{2g} orientados para as faces do octaedro estão completamente populados em complexos de Ru(II) e possuem uma vaga eletrônica em espécies de Ru(III). A diferença de um elétron entre os estados de oxidação II e III do rutênio afeta de maneira significativa sua química. O Ru(III) tem configuração t_{2g}^5 , comportando-se normalmente como π -receptor e um ácido duro, sendo seus complexos, de forma geral, inertes em relação à troca de ligantes. Deste modo, o Ru(III) tem preferência por ligantes saturados, tais como: H_2O , NH_3 , OH^- , Cl^- ^{1;2}

O Ru(II) apresenta uma configuração t_{2g}^6 e comporta-se como σ -doador, é um ácido mole, sendo, portando, encontrado coordenado a ligantes insaturados que apresentam orbitais π^* vazios, tais como N_2 , CO , organonitrilas, piridinas, fosfitos, arsinas e outros ^{1;2}.

I.2. A molécula de óxido nítrico

O óxido nítrico (NO), também denominado monóxido de nitrogênio, possui propriedades químicas e funções biológicas notáveis frente a sua aparente simplicidade. Em relação às propriedades químicas e as diversas reações nas quais esta molécula pode tomar parte, a formação de complexos metálicos tem sido uma das mais investigadas ³⁻⁸. Em relação às funções do óxido nítrico em sistemas biológicos ⁹⁻¹¹, sua participação como transmissor ou regulador em diversos processos fisiológicos fez desta molécula e de suas respectivas funções o alvo de um dos mais efervescentes

campos de pesquisa científica hoje em dia. Algumas das propriedades químicas e funções biológicas do óxido nítrico são relatadas a seguir.

I.2.1. Características químicas

O óxido nítrico é uma molécula diatômica e um radical livre estável. Esta molécula apresenta uma configuração eletrônica $(\sigma_{2s})^2; (\sigma_{2s}^*)^2; (\sigma_{2pz})^2; (\pi_{2p})^4; (\pi_{2p}^*)^1$ e conforme observado pela teoria de orbitais moleculares apresenta uma ordem de ligação de 2,5, consistente com sua distância de ligação, a qual se situa entre as observadas para o N_2 (1,06 Å) e O_2 (1,18 Å). O diagrama de orbitais moleculares para o NO é apresentado abaixo:

O óxido nítrico apresenta um elétron desemparelhado que ocupa um orbital molecular π de caráter antiligante, o que lhe confere sua natureza radicalar. Esta configuração eletrônica explica a alta reatividade desta molécula, e em particular a possibilidade de oxidação para o íon nitrosônio (NO^+) ou a redução para o íon nitróxido (NO^-) além da reação com outras espécies que possuem elétrons

desemparelhados como, por exemplo, O_2 , O_2^- e $OH^\bullet$. Particularmente, a reação do NO com oxigênio pode gerar espécies diferentes como NO_2 , N_2O_3 e NO_2^- dependendo do meio. Enquanto o NO é isoeletrônico com o mono-cátion do oxigênio molecular (O_2^+), o NO^+ é isoeletrônico com CO e CN^- e o NO^- é isoeletrônico com O_2 , apresentando, no caso do NO^- , um estado fundamental triplete. As propriedades de cada uma das espécies (NO, NO^+ e NO^-) são distintas. Algumas destas propriedades são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Comparação de alguns parâmetros selecionados para as espécies NO, NO^+ e NO^-

Parâmetro	NO^+	NO	NO^-
$\nu_{(NO)}$ (cm^{-1})	2337	1875	1470
comprimento de ligação (Å)	1,06	1,15	1,26
potencial de redução (V vs NHE)	1,2	-0,76	-

O íon nitrosônio é eletrofílico e, portanto, reage com um grande número de moléculas básicas, tanto em fase gasosa quanto em solução, quer pela simples formação de adutos ou por reações de transferência de carga.

A solubilidade e o transporte do óxido nítrico são similares ao do oxigênio molecular. A solubilidade em solução aquosa do NO é próxima de 2 mM a 298 K. A solubilidade em solventes orgânicos é maior e pode variar de 3 mM em DMSO a 15 mM em ciclohexano a 298 K. O óxido nítrico é uma molécula de fácil difusão, apresentando constante de difusão de $3300 \mu m^2.s^{-1}$ ¹² em condições fisiológicas e uma velocidade de difusão de $50 \mu s^{-1}$ em sistemas biológicos¹³.

I.2.2. Principais funções biológicas

Até a década de 1970, a química do óxido nítrico e seus derivados (N_xO_y) era largamente focada em sua conhecida toxicidade como constituintes da poluição

atmosférica ³. No entanto, na década de 1980 os trabalhos seminais de Furchgott, Ignarro e Murad ¹⁴⁻¹⁷, ligaram o fator relaxante derivado do endotélio (EDRF) ao óxido nítrico e sua função no controle da pressão sanguínea. No início da década de 1980, menos de 1000 trabalhos ligados a pesquisas com NO eram publicados por ano e hoje, mais de 10.000 trabalhos são publicados sobre este tema ao ano. Atualmente, a química, bioquímica, fisiologia, patofisiologia e farmacologia do NO e suas espécies correlatas ou derivadas têm recebido grande atenção. Hoje é conhecido que o NO exerce um papel fundamental em diversos processos fisiológicos, os quais incluem controle da pressão, neurotransmissão, resposta imune, prevenção da agregação de plaquetas e proliferação de células de músculo liso, processos inflamatórios, entre outros ⁹. A geração *in vivo* do NO em mamíferos é realizada através da oxidação da L-arginina em L-citrulina por uma classe de enzimas denominada de NOSintases (NOs). O tipo de ação fisiológica do NO pode, basicamente, ser dividido em duas categorias, segundo o efeito que promovem, sendo este dependente da concentração desta espécie. Baixas concentrações de NO (4 nM) ¹⁸ estão frequentemente ligadas aos chamados efeitos diretos enquanto concentrações muito mais altas provem efeitos indiretos. Os efeitos diretos estão ligados a processos regulatórios, que são resultantes de reações com centros metálicos e reações de caráter radicalar. Efeitos indiretos, por outro lado, estão ligados a uma variedade de reações com a geração de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio (ERNO) que resultam em pressão oxidativa e pressão nitrosativa, sendo esses efeitos associados a processos patofisiológicos e à resposta imunológica ^{9;10}. Sob condições biorregulatórias, um dos principais alvos do NO são as metaloproteínas, notadamente ferro-heme proteínas. Neste caso, a interação do óxido nítrico e o efeito observado dependerão do tipo de hemeproteína. A ligação do NO com a guanilato-ciclase leva, por exemplo, ao final de uma série de reações, a efeitos como a vasodilatação e outros processos fisiologicamente relevantes. Ferro heme proteínas como oxihemoglobina e oximioglobina participam de um dos principais mecanismos de diminuição da concentração de NO em biofluidos, os quais ocorrem através de reações muito rápidas resultando na produção de NO₃⁻ ¹⁹. Da mesma forma, sob determinadas condições, o óxido nítrico também pode provocar a inibição de ferro-proteínas tais como, citocromo P-450, citocromo-oxidase e catalase ²⁰.

Como mencionado acima, o óxido nítrico possui uma grande importância em processos fisiológicos e muitos dos quais, notadamente os processos regulatórios, envolvem a formação de adutos metal-NO. A necessidade do estudo das reações do NO coordenado a centros metálicos, aliada à possibilidade da utilização de metalocomplexos no controle das concentrações fisiológicas de NO, foi, sem dúvida, um dos principais estímulos ao estudo da química de coordenação do óxido nítrico e seus derivados na última década.

I.3. Complexos metálicos com o ligante nitrosilo.

O NO, em princípio, pode se ligar a centros metálicos através do nitrogênio ou do oxigênio levando à formação das espécies nitrosilo ou isonitrosilo, respectivamente ³. Complexos onde o NO funciona como ligante ponte entre dois centros metálicos também têm sido relatados ²¹. No entanto, a ligação do NO à centros metálicos é largamente dominada pela espécie nitrosilo. A ligação M-NO deve resultar na estabilização do NO, uma espécie radicalar no seu estado fundamental. Esta estabilização pode ser conseguida por um deslocamento da densidade eletrônica quer seja para o centro metálico quer seja para o ligante nitrosilo, resultando nas espécies que podem ser *formalmente* descritas como cátion nitrosilo (NO⁺) ou ânion nitroxila (NO⁻). A localização da densidade eletrônica resulta em diferentes ângulos de ligação na unidade M-N-O, como previsto por Enemark e Feltham ²². Enquanto a unidade M-NO⁺ é essencialmente linear (~ 180°), a unidade M-NO⁻ é angular (120-140°). Aplicando-se a teoria de valência ao arranjo linear M-N-O, o grupo NO⁺ pode ser considerado como tendo uma hibridização *sp*. As formas de ressonância que contribuem para a forma linear da ligação metal nitrosilo são mostradas abaixo.

A atribuição de estados formais de ligação ao metal e ao NO, embora tenham sido inicialmente úteis e auxiliado na compreensão da reatividade do NO coordenado e

ainda prevaleçam, não contemplam a forte natureza covalente da ligação M-NO e não explicam completamente os aspectos singulares da interação metal nitrosilo. Considerando-se os orbitais moleculares, a ligação do NO a um centro metálico envolve uma interação sinérgica entre os orbitais do ligante NO e do centro metálico como mostrado abaixo:

Como pode ser visto acima, a ligação M-NO pode ser considerada como composta por dois componentes: i) a doação da densidade eletrônica do NO para o metal, envolvendo um orbital sigma do nitrogênio e ii) uma retrodoação de densidade eletrônica dos orbitais d_{π} do metal para os orbitais π^* do ligante NO.

Historicamente a ligação na unidade M-NO em complexos metálicos com o ligante nitrosilo tem sido descrita atribuindo-se os estados formais de oxidação para o metal e o ligante nitrosilo. Esta notação tem se mostrado útil em muitos casos e facilitado a compreensão das propriedades químicas e da reatividade dos metalo-complexos. Dada a natureza da interação covalente M-NO e a dificuldade de se atribuir os estados formais de oxidação, além do fato de que a notação baseada nestes estados é uma aproximação simplificada e limitada, Enemark e Feltham²² sugeriram um formalismo que trata da unidade MNO como um “grupo funcional inorgânico” o qual é perturbado pelo campo imposto pelos outros ligantes coordenados ao metal. Esta notação utiliza a representação $\{\text{MNO}\}^n$ na qual n representa o número de elétrons presentes nos orbitais d do metal e π^* do NO. Dessa forma as espécies, as espécies com configuração d^6 , *formalmente* descritas como $\{\text{M-NO}^+\}$, $\{\text{M-NO}\}$ e $\{\text{M-NO}^-\}$ podem ser descritas, segundo a notação proposta por Enemark e Feltham, como $\{\text{MNO}\}^6$, $\{\text{MNO}\}^7$ e $\{\text{MNO}\}^8$, respectivamente.

Torna-se pertinente às colocações acima, a frase de Rudi van Eldik ²³ publicada no artigo intitulado *To be or not to be NO in the coordination chemistry ? A mechanistic approach: “Thus the coordination chemistry question remains: is it NO, NO⁺ or NO⁻ when coordinated to a metal centre?”* A resposta para essa questão é muito particular e deve considerar a natureza intrínseca do complexo. Alguns resultados como a ausência de sinal no espectro de ressonância paramagnética eletrônica, a energia relativamente alta da banda de estiramento do NO nos espectros de infravermelho e a eletrofilicidade do ligante nitrosilo ⁷ sugerem a notação [Ru^{II}-NO⁺] para complexos tais como *trans*-[Ru(NO)(NH₃)(L)]ⁿ⁺ (L = bases nitrogenadas heterocíclicas) e *trans*-[Ru(NO)Cl(mac)]²⁺ (mac = ligantes tetraazamacrocíclicos). No entanto, a acidez do ligante aquo coordenado ao centro de rutênio em nitrosilo complexos como *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(OH₂)]³⁺ ²⁴ (pKa = 3,1) e *trans*-[Ru(NO)(salen)(OH₂)] ²⁵ (pKa = 4,5) é maior que no análogo de rutenio (II) [Ru(NH₃)₅(OH₂)]²⁺ (pKa = 13,1) mas semelhante ao complexo de rutênio (III) [Ru(NH₃)₅(OH₂)]³⁺ (pKa = 4,1). Adicionalmente, há que se ressaltar que a notação [Ru^{II}-NO⁺] é apenas uma das formas de ressonância possíveis (outras sendo Ru^{III}-NO e Ru^{IV}-NO⁻) o que implica que complexos {RuNO}⁶ os eletrons na ligação Ru-NO são altamente deslocalizados. Assim, como afirmado acima, e conforme indicam os dados de pKa exemplificados, a notação [Ru^{II}-NO⁺] é muito simplificada. Desta forma, a notação proposta por Enemark e Feltham será adotada ao longo deste trabalho.

Complexos metálicos com o ligante nitrosilo podem variar largamente nas suas propriedades como geometria, número de coordenação (NC) e propriedades eletrônicas devido às diferenças nas configurações eletrônicas dos centros metálicos e nas interações covalentes M-NO. Como mencionado acima, as espécies contendo o ligante nitrosilo podem ser denotadas como {MNO}ⁿ (sem considerar os coligantes) sendo que esta notação permite uma descrição compreensiva para várias geometrias (notadamente com NC 4, 5, e 6) com diferentes números de elétrons *n*. De particular interesse para este trabalho são as espécies com NC = 6 e *n* = 6. Em complexos metálicos hexacoordenados {MNO}⁶, as interações M-NO são essencialmente lineares e podem ser facilmente compreendidas a partir de um tratamento simplificado de orbitais moleculares ²⁶. Os requisitos para esta descrição são que a ligação M-NO

defina o eixo z e os outros coligantes adotem posições em *trans* ao NO e/ou ocupem os outros eixos cartesianos. Como pode ser visto no esquema abaixo os orbitais $d_{x^2-y^2}$ e d_{z^2} interagem com os orbitais σ dos ligantes incluindo o do NO e que os orbitais d_{xz} e d_{yz} interagem com os orbitais $\pi^*(\text{NO})$. No entanto, cálculos recentes mostram uma grande mistura destes orbitais²⁷.

Figura 1. Arranjo dos orbitais moleculares em um complexo $\{\text{MNO}\}^6$ hexacoordenado com a ligação M-N-O linear²⁶.

O NO pode se coordenar a um grande número de centros metálicos, dentre os quais se destacam os metais de transição. Dentre estes, os nitrosilo complexos mais estudados são os de Fe, Cr, Rh, Ru^{3-8;28-31}. Dada a presença de átomos de ferro em hemoproteínas, os complexos de ferro recebem destacada atenção e os nitrosilo complexos de rutênio estão entre os mais descritos na literatura. O NO pode formar uma enorme variedade de nitrosilos de rutênio pela variação dos coligantes. Diversos ligantes têm sido utilizados na preparação de complexos de rutênio com o ligante nitrosilo, entre os quais podem ser mencionados tetraazamacrociclos^{6;32;33}, aminas^{7;34;35}, bases heterocíclicas aromáticas^{36;37}, etilenodiaminotetracetato (EDTA)³⁸, dimetilglioximato (DMG)^{39;40}, fosfinas⁴¹⁻⁴³, N,N'-bis-(salicideno)etilenodiaminato (salen)⁴⁴⁻⁴⁶ e porfirinas^{47;48}, entre outros.

No capítulo 1 serão relatados os resultados dos estudos de síntese, caracterização e reatividade de um nitrosilo complexo de rutênio com o ligante cyclam substituído e, na sua introdução, os aspectos da química e reatividade de complexos de rutênio com ligantes azamacrocíclicos com ênfase nos seus nitrosilo complexos. No capítulo 2 será abordada a imobilização de uma tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo na superfície da sílica e na introdução, a química destes complexos pertinente aos estudos aqui realizados. Por fim, no capítulo 3, será relatada a preparação de filmes finos de silanos híbridos orgânico-inorgânicos, bem como a preparação de filmes contendo o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂. Na introdução desse capítulo será enfocada a utilização do processo sol-gel na preparação de materiais com potenciais aplicações biológicas no que tange à liberação de óxido nítrico e suas propriedades.

II. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Os estudos de complexos de rutênio com o ligante nitrosilo em solução mostram que esta classe de complexos apresenta um grande potencial como doadores de óxido nítrico. Esta propriedade tem sido explorada com resultados promissores em aplicações *in vitro* e *in vivo* em sistemas biológicos, onde os resultados são atribuídos à liberação controlada de NO. A arquitetura dos nitrosilo complexos de rutênio pela escolha criteriosa dos ligantes ao redor da unidade [RuNO] leva a um controle das propriedades do óxido nítrico coordenado e conseqüentemente à liberação controlada de óxido nítrico a qual pode ser obtida, quer seja por reações com redutores (químicos ou biológicos), quer seja pela irradiação com luz ⁷. No entanto, a utilização destes compostos em solução, tendo em vista potenciais aplicações biológicas, pode apresentar algumas limitações pois, embora estes complexos sejam termodinamicamente estáveis em solução aquosa, reações de decomposição térmica, hidrólise, ataque nucleofílico sobre o ligante nitrosilo, entre outras, podem ocorrer no meio biológico. Estes fatos tornariam a atividade biológica reduzida. Outro fator seria possível falta de sítio especificidade quando estes complexos são utilizados em solução. Assim, têm sido buscadas estratégias para a imobilização ou encapsulamento de nitrosilo

complexos de rutênio em matrizes sólidas. Esta estratégia pode permitir a obtenção de materiais mais estáveis e de mais fácil manipulação além de possibilitar a liberação sítio específica do nitrosilo complexo de rutênio ou do óxido nítrico. Além disso, a presença da matriz pode oferecer uma possibilidade adicional no controle da liberação do NO.

A linha mestra deste trabalho foi a investigação de estratégias que pudessem levar à imobilização de nitrosilo complexos de rutênio em matrizes sólidas para a preparação de materiais que pudessem liberar óxido nítrico. Deste objetivo inicial, três diferentes frentes de estudo foram enfocadas, a saber: i) a preparação e caracterização de um nitrosilo complexo de rutênio contendo o ligante cyclam substituído com um grupo carboxipropil, o qual pode ser utilizado para a imobilização do referido complexo em matrizes sólidas ou em biomoléculas como proteínas ou aminoácidos através da formação de ligação amida, sendo, neste último caso, uma estratégia para a preparação de sistemas transportadores de drogas com utilização, por exemplo, em terapia anti-cancer; ii) imobilização de uma tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo na superfície da sílica com o objetivo de se avaliar os efeitos da imobilização na superfície frente às propriedades de liberação de NO do complexo e sua possibilidade de regeneração e iii) recobrimento da superfície do aço 316L (aço cirúrgico) com filmes de silanos organicamente modificados contendo o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ para a potencial aplicação em dispositivos biomédicos como *stents* coronarianos onde o complexo de rutênio possa atuar como liberador de NO, a qual pode resultar na diminuição da agregação de plaquetas e proliferação de células do músculo liso. Da mesma forma, após a liberação, verificar a possibilidade do complexo ser regenerado através da reação com nitrito presente em meio fisiológico e levar a um fluxo controlado e contínuo de óxido nítrico.

Por fim, embora este trabalho esteja segmentado em três diferentes linhas, o objetivo inicial é comum às frentes desenvolvidas.

***Síntese, Caracterização e a
Reatividade de um Nitrosilo Complexo
de Rutênio com Ligante Cyclam
Substituído***

I. INTRODUÇÃO

I.1. Ligantes azamacrocíclicos

A síntese e as propriedades de ligantes poliazamacrocíclicos têm sido intensamente investigadas nas últimas décadas ⁴⁹⁻⁵². Esta classe de ligantes apresenta inúmeras aplicações devido notadamente à sua relação com sistemas biomiméticos e catalíticos e às suas aplicações como agentes quelantes na biologia e medicina ^{53;54}. Como exemplos destas aplicações podemos mencionar seu emprego associado a radioquímicos e agentes de contraste para imagens por ressonância magnética ^{49;50;55}. Dentre uma enorme diversidade de tetraazamacrociclos contendo grupos amina, o ligante 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano, comumente referido como cyclam, é um dos mais estudados.

Os tetraazamacrociclos apresentam uma grande versatilidade química a qual oferece a possibilidade de funcionalização de átomos do anel. No caso particular do cyclam, vários derivados funcionalizados têm sido preparados pela ligação de grupos substituintes nos átomos de carbono e/ou nitrogênio do macrociclo. No caso da N-funcionalização, ou seja, a substituição de um ou mais hidrogênios do grupo amina por grupos funcionais, é possível a preparação de ligantes tetra, di ou mono-substituídos, sendo que esta pode ser realizada através de diferentes rotas ^{49;51;56;57}. Enquanto a tetra-N-substituição é mais amplamente estudada e mais facilmente realizada, uma vez que esta comumente envolve a reação do macrociclo com um excesso de reagente alquilante ^{51;58}, a mono-N-substituição requer uma sequência de reações como proteção-alkilação-desproteção ou a reação com aceptores de Michael ⁵⁶. O estudo de macrociclos N-funcionalizados tem sido realizado em maior profundidade que aqueles de C-funcionalizados. A razão dessa diferença provavelmente está ligada à relativa simplicidade da síntese de macrociclos N-substituídos uma vez que a química orgânica e as estratégias sintéticas para N-alkilações são bem conhecidas e as reações apresentam aplicações bem gerais. Estas características tornam os ligantes macrocíclicos passíveis de serem mono-N-substituídos com uma série de grupos

funcionais diferentes como cromóforos, éter coroa, derivados benzílicos, aminas, amidas e carboxilatos ⁵⁶. Entretanto, existem algumas desvantagens inerentes envolvidas na mono-N-funcionalização, como a conversão de uma amina secundária a uma amina terciária, um pobre doador por razões estéricas e a possibilidade de efeitos indutivos indesejados do grupo substituinte no átomo de nitrogênio que está relativamente próximo. Alguns exemplos de ligantes azamacrocíclicos são apresentados na Figura 2.

Figura 2. Ligantes azamacrocíclicos

Além das propriedades mencionadas, os macrociclos também são ligantes poderosos e muito importantes na química de coordenação. Algumas das propriedades dos complexos metálicos com o ligante cyclam e seus derivados, serão apresentadas no item a seguir.

I.2. Complexos metálicos com o ligante cyclam e seus derivados.

Ligantes macrocíclicos, quando coordenados a centros metálicos, conferem ao complexo formado características diferentes dos sistemas análogos de cadeia como maior estabilidade termodinâmica^{6;59;60} conquanto os ligantes NH₃ possuam uma força espectroquímica semelhante às aminas cíclicas. Essas propriedades estão relacionadas principalmente a fatores como a rigidez do ciclo e o tamanho da cavidade do anel. A configuração adotada pelo complexo metálico depende de alguns fatores como o tamanho do anel e a presença de substituintes^{6;33;61-64}. De forma geral, para íons metálicos de maior raio e anéis menores, como por exemplo, o 1,4,7,10-tetraazaciclododecano (cyclen), a configuração *cis* é preferida, enquanto em anéis maiores como 15aneN₄ (1,4,8,12-tetraazaciclopentadecano) a configuração *trans* é observada. Para o ligante cyclam, dependendo do metal, ambas as configurações (*cis* e *trans*) são possíveis^{6;62;63}.

Como mencionado no item anterior, o ligante cyclam é um dos tetraazamacrociclos mais estudados, fato esse que se estende à sua utilização na química de coordenação. Complexos com a maioria dos metais de transição, como, por exemplo, Cr, Ni, Fe, Cu, Co, Rh e Ru com este ligante foram sintetizados nas últimas décadas^{6;63;65-71}.

Complexos de rutênio (II) e (III) com ligantes tetraazamacrocíclicos têm sido investigados, principalmente em virtude da grande estabilidade conferida pelo ligante sobre esses íons metálicos. Estes complexos apresentam como uma de suas características a presença de uma amina cíclica saturada o que torna os complexos análogos às tetraaminas, porém não com propriedades idênticas^{6;60;63;72-75}. Os complexos de rutênio com ligantes tetraazamacrocíclicos podem ser preparados utilizando-se vários precursores como RuCl₃•nH₂O, K₃[RuCl₆], K₂[Ru(OH₂)Cl₅], K₃[Ru(ox)₃] (ox = oxalato), [RuCl₂(dmsO)₄] (dmsO = dimetilsulfóxido) ou [Ru(P(Ph₃))₃Cl₂] (PPh₃ = trifenilfosfina), refluxando em solvente orgânico, usualmente metanol ou etanol, com o ligante macrocíclico apropriado. A partir destas rotas de síntese uma grande variedade de complexos pode ser preparada, dentre os quais podemos citar *trans*-[Ru(L)(L')(mac)]ⁿ⁺ ou *cis*-[Ru(L)(L')(mac)]ⁿ⁺, onde mac =

tetrazamacrociclo e L e L' são Cl^- , Br^- , I^- , CN^- , SCN^- , trifluorometanossulfonato (tfms), ligantes piridínicos (py-X), pirazina, 3-cianopiridina (3-NCpy), 4-cianopiridina (4-NCpy), 4-cianopiridínio (4-NCpyH^+), 2, 2'-bipiridina (bpy), fenantrolina (phen), NO, OH^- e H_2O ⁶.

A configuração (*cis* ou *trans*), o estado de oxidação do metal, bem como o tamanho da cavidade do anel, influenciam as propriedades químicas dos complexos de rutênio. As reações de substituição, por exemplo, se restringem aos outros ligantes. As velocidades de substituição dos ligantes L no $[\text{RuL}_2(\text{mac})]^{n+}$ (mac = tetraazamacrociclo) (L = Cl) aumentam com o tamanho do anel para os complexos de configuração *trans*, e são maiores para os complexos *cis* do que para os *trans* ^{6;61;63}. Assim, o *trans*- $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_2(15\text{aneN}_4)]^+$ tem uma velocidade de aquação do cloreto de $6,4 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ e para o *trans*- $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_2(\text{cyclam})]^+$ não foi observada aquação mesmo após 24 horas, ilustrando o efeito do tamanho do anel ⁶. Cabe mencionar que a inércia de substituição do cloreto no *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}_2(\text{cyclam})]^+$ foi atribuída a interações entre os hidrogênios dos nitrogênios do anel e os cloretos ⁶. Já para o complexo *cis*- $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_2(\text{cyclen})]^+$ ⁶¹ esta velocidade é de $3,6 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, mostrando o efeito da configuração *cis* na labilidade dos ligantes ⁶.

No caso de macrociclos mono-N-funcionalizados, enquanto a investigação de complexos metálicos com Co, Ni, Cu ⁷⁶⁻⁸³ e, mais recentemente, com Cr ⁸⁴⁻⁸⁶, tem sido intensa, existem apenas poucos resultados para complexos de rutênio ^{33;87-90}. Para complexos de Ni, por exemplo, observa-se a possibilidade da penta-coordenação para o cyclam mono-N-substituído com grupamento aminopropil. A penta-coordenação altera as propriedades espectroscópicas do complexo e seus potenciais redox ^{78;82}. Essa propriedade fez com que esses ligantes também fossem denominados de “escorpiandos” ⁷⁸. A N-substituição, da mesma forma que a configuração geométrica e o tamanho do anel, também pode influir nas propriedades químicas dos complexos metálicos uma vez que a interação dos hidrogênios amínicos com os ligantes axiais é suprimida e podem ocorrer efeitos indutivos do grupo funcional do substituinte sobre o átomo de nitrogênio que o contém. Este efeito fica claro quando se observa as velocidades de aquação do ligante cloreto nos diclorocomplexos de Ru(III) com os ligantes cyclam, 1-(3-propilamônio)cyclam e 14-TMC (TMC = 1,5,9,13-tetrametil-

1,5,9,13-tetraazaciclohexadecano), sendo que para o primeiro a velocidade é tão lenta que não foi medida e para os demais, os valores relatados são $8,2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ e $2,7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, respectivamente ⁶.

O estudo de nitrosilo complexos metálicos com ligantes macrocíclicos tem recebido atenção nos últimos anos devido às propriedades singulares que estes complexos podem oferecer ^{6;32;67;71;91-94}, notadamente na possibilidade de atuarem como potenciais doadores de NO e também devido a seus efeitos em sistemas biológicos. No caso de nitrosilo complexos de rutênio com o ligante cyclam e seus derivados, observa-se que estes complexos são capazes de liberar NO quando irradiados com luz ou quando reduzidos química ou eletroquimicamente ^{6;32;91;93}. Por exemplo, o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(15aneN₄)]²⁺ quando irradiado apresentou um rendimento quântico $\Phi_{\text{NO}} = 0,6$ ⁹¹ mostrando-se capaz, sob irradiação em 355 nm, de provocar relaxamento de até 100 % em anéis pré-contraídos de aorta de rato ⁹⁵. A velocidade de liberação de NO ($6,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) ³², após redução do complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ é menor que para todos os tetraamin complexos análogos do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ ⁷, abrindo a possibilidade para o uso deste complexo como um pontencial doador controlado de NO. Quando este complexo foi administrado a ratos Wistar machos hipertensos, observou-se uma redução de ~ 8% na redução da pressão sanguínea destes animais. Embora a redução observada tenha sido menor que a obtida com o nitroprussiato de sódio (~ 30%), um conhecido vasodilatador, a duração do efeito foi aproximadamente 26 vezes maior, o que está de acordo com a lenta liberação de NO. Adicionalmente, o IC₅₀ observado para o *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ (~ 3mM) foi maior que o observado para o nitroprussiato (~ 0,6mM) ⁹².

Se os estudos de complexos de rutênio com ligantes tetrazamacrocíclicos mono-N-substituídos derivados do cyclam, são escassos na literatura, os resultados de nitrosilo complexos com estes ligantes são ainda mais raros ³³. Recentemente Slep et al. ³³ relataram a obtenção de um complexo de configuração *cis* com o ligante cyclam mono-N-substituído com o grupo N-(2-metilpiridil) onde o ligante está penta-coordenado à unidade RuNO. Outro exemplo é o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(1-(3-propilamonio)cyclam)]³⁺, preparado em nosso laboratório, no qual o ligante cyclam

apresenta uma mono-N-substituição com um grupo aminopropil ⁹⁶. Na grande maioria, os complexos de rutênio com o ligante cyclam N-substituído descritos na literatura, a configuração *trans* é observada, com o átomo de rutênio posicionado essencialmente no plano do macrociclo. Tanto quanto sabemos, apenas duas exceções são conhecidas. A primeira, e já mencionada, é o complexo sintetizado por Slep et al. ³³, o qual apresenta a configuração *cis* e uma denticidade κ^5 . A segunda são os resultados obtidos por Che et al. ⁸⁸, onde um cyclam tetra-N-substituído com grupos N-(2-piridilmetil) está hexacoordenado a um átomo de Ru(III) o qual se coordena a três átomos de nitrogênio do ligante cyclam e a três átomos de nitrogênio dos substituintes N-(2-piridilmetil) apresentando portanto uma denticidade κ^6 . Este último exemplo apresenta uma denticidade κ^3 para o ligante cyclam.

Se por um lado a N-substituição de ligantes tetraazamacrocíclicos pode afetar a configuração e as propriedades químicas dos seus metalocomplexos, por outro, pode fornecer estratégias para a imobilização destes, notadamente quando os substituintes apresentam grupos funcionais como aminas ou carboxilatos, os quais possibilitam sua utilização para a formação de ligações amida com superfícies sólidas ou com biomoléculas. No primeiro caso podem ser obtidos materiais com potenciais aplicações em química analítica, como, por exemplo, sensores. No segundo caso, a ligação de tais compostos a biomoléculas pode constituir em sistemas carregadores de drogas para agentes anti-tumorais com a possibilidade adicional de uma maior especificidade com a escolha adequada da biomolécula. Esta estratégia é de especial interesse para compostos contendo NO uma vez que há uma necessidade crescente de sistemas de liberação controlada e sítio-específica.

II. PARTE EXPERIMENTAL

II.1. Reagentes e Solventes

II.1.a. Metanol e Etanol ⁹⁷

Em um balão de 2 L foram adicionados 70 mL de etanol (ou metanol), 5,0 g de aparas de magnésio e 0,5 g de iodo. A mistura foi refluxada por duas horas. Adicionou-se então 1 L do solvente e refluxou-se por 1 hora. O solvente foi então destilado e armazenado sobre peneira molecular (4 Å) previamente ativada.

II.1.b. Clorofórmio

Previamente secado sobre sulfato de sódio anidro por 24 horas e destilado antes da utilização.

II.1.c. Éter Etílico ⁹⁷

Refluxado por 3 dias sobre hidróxido de sódio e destilado. Esse procedimento é realizado por duas vezes. Armazenado sobre sódio metálico e destilado antes do uso.

II.1.d. Ácido acrílico ⁹⁷

Destilado a 60 °C sob pressão reduzida ($\sim 10^{-3}$ Torr)

II.1.e. Tricloreto de Rutênio Hidratado

Para a síntese dos precursores $K_2[RuNOCl_5]$, $RuNOCl_3$ e *trans*- $[RuCl_2(cyclam)]Cl$ foi utilizado o sal $RuCl_3 \cdot nH_2O$ de procedência Strem que apresenta porcentagem de rutênio entre 40 e 43%.

II.1.f. Solução de perclorato de mercúrio(II)

41,3 g de óxido de mercúrio(II) foram dissolvidos em 200 mL de ácido perclórico 60%. Esta solução foi diluída até 400 mL, resultando assim em uma solução aproximadamente $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de Hg^{2+} .

II.1.g. Amálgama de zinco

O amálgama de zinco foi utilizado na forma granulada com o objetivo de se provocar a redução do íon desejado (Cr^{3+} ou Eu^{3+}). A sua preparação é realizada como descrito a seguir.

As pastilhas de zinco são lavadas com ácido nítrico e em seguida com água. Adiciona-se, então, uma solução de perclorato de mercúrio(II), preparada como descrito no item anterior. Após alguns minutos o amálgama é separado da solução e lavado com água desionizada.

II.1.h. Solução de crômio(II) ⁹⁸

18,5 g de dicromato de potássio foram dissolvidos em 150 mL de ácido perclórico 50%. Resfriou-se essa solução em banho de gelo e adicionou-se, gota a gota, 125 mL de peróxido de hidrogênio sob agitação. Ao fim da reação, a solução resultante foi aquecida durante 3 horas para eliminar o excesso de peróxido de hidrogênio. Em seguida a solução foi resfriada na geladeira por uma noite e o precipitado (KClO_4) foi removido por filtração. O filtrado foi diluído a 500 mL, produzindo uma solução perclorato de crômio(III) de concentração aproximadamente $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$. Através da redução dessa solução com amálgama de zinco, em atmosfera de argônio, obtém-se uma solução de perclorato de crômio(II), a qual foi usada na linha de argônio.

II.1.i. Linha de argônio ⁹⁸

O argônio foi utilizado nos experimentos em atmosfera inerte com compostos de rutênio(II). O gás foi borbulhado em uma solução de crômio(II), a qual se trata do $[\text{Cr}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$ em HClO_4 1 mol.L⁻¹. A solução do íon hexaaquacromio(II) de cor azul celeste, pode ser obtida por redução da correspondente solução de $[\text{Cr}(\text{OH}_2)_6]^{3+}$ de cor azul escuro. A espécie $[\text{Cr}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$ é um forte agente redutor e utilizada para eliminar oxigênio presente no argônio.

II.1.j. Solução de európio(II) ⁹⁹

Amostras de Eu_2O_3 pesadas para se obter a concentração desejada foram suspensas em aproximadamente 7 mL de água desionizada. Adicionou-se o ácido desejado (HCl ou HClO_4) na proporção de 3 mols de ácido para cada mol de európio e a mistura foi então diluída a 10 mL. O európio(III) foi reduzido a európio(II) com amálgama de zinco sob fluxo de argônio por aproximadamente 30 minutos.

II.2. Materiais e Métodos

II.2.1. Tratamento da resina de troca iônica

Nos trabalhos foram utilizadas duas resinas catiônicas diferentes, Sephadex SP C25 para purificação dos complexos de rutênio com ligantes macrocíclicos e o ligante nitrosilo e a Dowex 50WX2-400 para purificação do *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{cyclam})]\text{Cl}$. Cada uma das resinas foi tratada de forma diferente como descrito a seguir.

A resina catiônica Sephadex SP C25 foi tratada conforme descrito por Walker ⁶⁴.

Aproximadamente 5,0 g de resina foram suspensos em 50 mL de água desionizada aquecida a 35-40 °C. A suspensão foi mantida na geladeira por 5 dias para completa hidratação. Antes do uso, a resina foi filtrada, lavada com água desionizada e

ativada por suspensão em solução de HCl 2 mol.L⁻¹ (50 mL). Procedeu-se, em seguida, a lavagem com água desionizada até o pH do filtrado e da água serem iguais.

A resina catiônica Dowex 50WX2-400 foi tratada conforme descrito por Pavanin¹⁰⁰. Para o tratamento segue-se a sequência de etapas descritas abaixo.

- a. Lava-se 4 vezes com água e filtra-se;
- b. Lava-se 2 vezes com NaOH 3 mol.L⁻¹ e filtra-se;
- c. Lava-se 2 vezes com peróxido de hidrogênio 3% e filtra-se;
- d. Lava-se 2 vezes com HCl 6 mol.L⁻¹ e filtra-se;
- e. Lava-se 4 vezes com água e filtra-se;
- f. Lava-se 4 vezes com mistura água/acetona 50%(v/v) e filtra-se
- g. Lava-se com água até o pH do filtrado ser igual ao da água.

II.2.2. Síntese do ligante ácido 3-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradeca-1-il)propanóico.

Este ligante foi sintetizado seguindo-se o método descrito na literatura⁵⁶, com pequenas modificações.

1,0 g ($5,0 \times 10^{-3}$ mol) de cyclam e uma quantidade correspondente a uma ponta de espátula de 2,4-di-tercibutilfenol (inibidor de radical) foram dissolvidos em 20 mL de clorofórmio. Adicionou-se, então, gota a gota 0,38 g ($5,0 \times 10^{-3}$ mol) do ácido acrílico. A mistura reacional foi agitada por uma hora e, então, refluxada por 4 dias. Após esse período o solvente foi rotoevaporado obtendo-se um sólido branco.

II.2.3. Purificação do ligante ácido 3-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradeca-1-il)propanóico.

O sólido obtido no item anterior foi dissolvido em uma mistura de MeOH:NH₄OH (6:4) e purificado por cromatografia em coluna utilizando-se como fase estacionária sílica gel 230-400 mesh e como eluente uma mistura de MeOH:NH₄OH (6:4). A eluição das frações foi acompanhada por cromatografia em camada delgada. As frações que apresentavam o valor de $R_f = 0,54$, as quais continham o ligante substituído, foram agrupadas. O solvente foi eliminado no evaporador rotatório, obtendo-se o produto na forma de um óleo incolor. Rendimento:

40% (0,56 g, $2,0 \times 10^{-3}$ mol). IV: $\nu_{\max}$ (cm^{-1} , nujol) 3500 (OH); 1560-1200 (CH_2), 1640 (COO^-). RMN ^1H : δ_{H} (ppm; CDCl_3) 1.75-1.84 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.35 (t, 2H, CH_2CO), 2.53-2.58 (m, 4H), 2.64 (t, 2H), 2.79-2.85 (m, 10H), 2.90 (t, 2H). RMN ^{13}C : δ_{C} (ppm; CDCl_3) 24.42 e 26.38 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 35.64 (CH_2CO), 45.93, 46.06, 47.35, 48.75, 49.18, 50.09, 50.07, 52.04, 54.52 (CH_2N), 179.26 (CO). m/z (electrospray) 271.2.

II.2.4. Preparação do cloridrato do ligante ácido 3-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradeca-1-il)propanóico.

O produto resultantes das sínteses do ligante ácido 3-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradeca-1-il)propanóico, como mencionado acima, era obtido como um óleo incolor. Assim, decidiu-se também caracterizá-lo na forma protonada.

Aproximadamente 0,20 g do ligante foram dissolvidos em 10 mL de etanol e adicionou-se lentamente 2 mL de HCl 6 mol.L^{-1} para a completa protonação do ligante. A mistura foi resfriada por 2 horas e o precipitado branco foi coletado por filtração e lavado com etanol e éter.

Análise elementar para $\text{C}_{13}\text{H}_{32}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}_4$ ($2,75 \text{ H}_2\text{O}$) ($454,23 \text{ g.mol}^{-1}$) % exp. (calc.) C: 33,00 (33,34); N: 7,48 (7,91); H 11,97 (11,21). RMN ^1H : δ_{H} (ppm; D_2O) 1.99-2.11 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.78 (t, 2H, CH_2CO), 3.22-3.33 (m, 10H), 3.46-3.51 (m, 8H). RMN ^{13}C : δ_{C} (ppm; D_2O) 21.90 e 22.35 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 32.17 (CH_2CO), 40.99, 41.57, 44.59, 44.82, 45.24, 48.89, 48.90, 51.82, 53.10 (CH_2N), 177.69 (CO). IV: $\nu_{\max}$ (cm^{-1} , KBr) 1735 (COOH).

II.2.5. Síntese do $\text{K}_2[\text{RuNOCl}_5]$

Este complexo foi sintetizado segundo método descrito na literatura ¹⁰¹, com algumas modificações.

A uma solução contendo 3,00 g ($1,20 \times 10^{-2}$ mol) de $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ em 30 mL de água desionizada aquecida a 40°C , foi adicionado nitrito de potássio até que a adição de mais nitrito não causasse efervescência. Adicionou-se então ácido clorídrico 12

mol.L⁻¹ em pequenas porções até que a concentração final do ácido atingisse aproximadamente 6 mol.L⁻¹. A solução resultante foi lentamente concentrada por aquecimento até o volume de aproximadamente 10 mL. O sólido de coloração roxa foi filtrado a quente e recristalizado com HCl 6 mol.L⁻¹, lavado com HCl 6 mol.L⁻¹, etanol e secado sob vácuo. Rendimento: 58 % (2,74 g, 7,12x10⁻³ mol). IV: $\nu_{\max}$ (cm⁻¹, KBr) 1903 (NO); 589 (Ru-NO).

II.2.6. Síntese do RuNOCl₃

A síntese deste complexo foi realizada de forma similar à descrita na literatura ⁴¹.

1,00 g de RuCl₃.nH₂O (4,10x10⁻³ mol) foi dissolvido em 50 mL de metanol. A solução foi desaerada pela passagem de argônio e em seguida foi borbulhado NO gasoso por 3 dias (3 vezes ao dia, ~ 1 hora por vez). O NO_(g) foi gerado por adição de solução de ácido nítrico (30%) sobre fios de cobre. O gás gerado foi passado em uma solução de NaOH 10 mol.L⁻¹ para retirada de outros óxidos de nitrogênio como NO_{2(g)}. Ao final da reação a solução foi filtrada, o solvente rotoevaporado e o produto mantido em dessecador a vácuo. O sólido obtido apresentou-se pastoso. O espectro no infravermelho em pastilha de KBr do produto apresenta uma banda referente ao estiramento $\nu_{(\text{NO})}$ em 1908 cm⁻¹.

II.2.7. Síntese e purificação do *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O.

O RuNOCl₃ (4,1 mmol, assumindo que todo o tricloreto de rutênio foi convertido em RuNOCl₃) obtido no item anterior foi dissolvido em 300 mL de etanol e 1,22 g (4,49 mmol) de 1-(carboxipropil)cyclam, dissolvidos em 100 mL de etanol previamente desaerado, foram adicionados gota a gota. A mistura foi mantida em refluxo sob atmosfera de argônio por 18 horas. Ao final deste período a mistura foi separada por filtração e o filtrado foi rotoevaporado até a secura.

O sólido resultante foi dissolvido em água e a solução foi cromatografada em uma coluna de resina catiônica Sephadex SP C25 recém tratada. A eluição foi feita inicialmente com água e posteriormente com soluções de HCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$). Foram obtidas duas frações. A fração 1, de coloração roxa, obtida utilizando-se solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ foi rotoevaporada até a secura. A partir da fração 2, obtida utilizando-se HCl $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ como eluente, foram realizadas tentativas de se isolar um produto adequado para a caracterização, no entanto, sem sucesso. O sólido obtido a partir da fração 1 foi dissolvido em 10 mL de solução de HCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ e a solução foi deixada para recrystalizar o sólido lentamente, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente. Rendimento: 13 % (0,30 g, 0,59 mmol, calculado com base no ligante). Análise elementar para $\text{C}_{13}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{N}_5\text{Cl}_3\text{Ru}$ ($527,56 \text{ g.mol}^{-1}$) % exp. (calc.): C: 29,68 (29,56); H 5,52 (5,56); N 13,39 (13,27); Cl 20,90 (20,16).

II.2.8. Síntese do *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂

Para a síntese deste complexo foram empregadas duas metodologias diferentes. A primeira é semelhante à descrita para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O, ou seja partindo-se do mesmo precursor RuNOCl₃ e do ligante cyclam (método 1). A segunda é a mesma descrita na literatura ³² e envolve inicialmente a síntese dos precursores *trans*-[RuCl₂(cyclam)]Cl e *trans*-[RuCl(tfms)(cyclam)](tfms) (tfms = trifluorometanossulfonato) (método 2).

II.2.8.a. Síntese do *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ (método 1).

O RuNOCl₃ obtido a partir de 0,50 g de RuCl₃.*n*H₂O (~ 2,05 mmol) foi dissolvido em 75 mL de etanol previamente desaerado e 0,42 g ($2,1 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de cyclam, dissolvidos em 75 mL de etanol previamente desaerado, foram adicionados gota a gota. A mistura foi mantida em refluxo sob atmosfera de argônio por 18 horas. Ao final deste período a mistura foi filtrada e o filtrado foi rotoevaporado até a secura. O sólido obtido foi dissolvido em água e cromatografado em coluna de troca iônica Sephadex SP C25 de maneira semelhante à descrita no item anterior. A fração

recolhida empregando-se $\text{HCl } 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ como eluente foi concentrada no rotoevaporador até $\sim 10 \text{ mL}$ e, em seguida, adicionou-se 200 mg de NH_4PF_6 . A mistura foi mantida na geladeira por uma noite, sendo o precipitado amarelo formado recolhido por filtração, lavado com acetona e secado sob vácuo. Rendimento: 27% ($0,37 \text{ g}$, $5,6 \times 10^{-4} \text{ mol}$, calculado com base no ligante). Análise elementar para $\text{C}_{10}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{OP}_2\text{F}_{12}\text{ClRu}$ ($656,78 \text{ g.mol}^{-1}$) % exp. (calc.): C $18,17$ ($18,28$); H $3,94$ ($3,68$); N $10,20$ ($10,66$).

II.2.8.b. Síntese do *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})](\text{PF}_6)_2$ (método 2).

***trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{cyclam})]\text{Cl}$**

Este complexo foi sintetizado segundo método descrito na literatura ^{60;63}, com algumas modificações.

Em um balão de 3 bocas foram dissolvidos $3,00 \text{ g}$ ($1,23 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ em 300 mL de etanol e borbulhou-se hidrogênio, sob refluxo e agitação magnética, até a mudança de coloração da solução de marrom para azul (~ 4 horas). Desconectou-se a mangueira de hidrogênio e conectou-se na saída do condensador uma trompa de vácuo, forçando-se, assim, o borbulhamento de oxigênio atmosférico no balão por 2 horas. Finalmente, a solução foi desaerada com borbulhamento de argônio por mais 2 horas. Foram então adicionados lentamente $3,00 \text{ g}$ ($1,50 \times 10^{-2} \text{ mol}$) de cyclam dissolvidos em 100 mL de etanol previamente desaerado. A mistura foi mantida sob refluxo com atmosfera de argônio por 18 horas. Ao final da reação a mistura foi filtrada a quente e o filtrado rotoevaporado até a secura. O sólido marrom resultante foi dissolvido em água desionizada e a solução cromatografada em coluna de troca iônica DOWEX 50WX2 400. A coluna foi eluída inicialmente com água e posteriormente com soluções de HCl ($0,1$ e $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$). A eluição foi acompanhada por espectroscopia no UV-Vis. As frações contendo o complexo *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{cyclam})]\text{Cl}$, eluídas com $\text{HCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, foram agrupadas e rotoevaporadas até um volume de aproximadamente 15 mL . O precipitado laranja obtido foi recolhido por filtração, lavado com acetona e secado sob vácuo. Rendimento: 40% ($2,00 \text{ g}$; $4,80 \times 10^{-3} \text{ mol}$). UV-Vis: $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\log \epsilon$): 315 ($3,09$), 358 ($3,41$) (experimental); 315

(3,09), 358 (3,41) (teórico). $E_{1/2}^{\cdot} = -138 \text{ mV}$ (vs NHE) ($\Delta E = 68 \text{ mV}$) (experimental); $E_{1/2} = -150 \text{ mV}$ (vs NHE) (teórico).

***trans*-[RuCl(tfms)(cyclam)](tfms)**

Este complexo foi sintetizado segundo o método descrito na literatura^{32;102} com algumas modificações.

A um balão de 3 bocas foram adicionados 0,25 g ($5,9 \times 10^{-4} \text{ mol}$) do complexo *trans*-[RuCl₂(cyclam)]Cl e 2,5 mL de ácido trifluorometanossulfônico (HTFMS). A mistura foi refluxada por aproximadamente 2 horas sob atmosfera de argônio e agitação constante e então resfriada à temperatura ambiente. A solução, então, foi adicionada sobre 50 mL de éter etílico seco, sob agitação. A mistura foi resfriada por 2 horas e o precipitado verde formado foi coletado por filtração, lavado com éter e secado sob vácuo. Rendimento: 71 % (0,27 g; $4,25 \times 10^{-4} \text{ mol}$). A caracterização foi feita em solução aquosa, onde ocorre a formação do respectivo aquo complexo, *trans*-[RuCl(H₂O)(cyclam)]²⁺. UV-Vis: $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ (log ϵ): 326 (2,88), 358 (3,11) (experimental); 326 (2,84), 358 (3,04) (teórico). $E_{1/2}^{\cdot} = 12 \text{ mV}$ (vs NHE) ($\Delta E = 69 \text{ mV}$) (experimental); $E_{1/2} = 12 \text{ mV}$ (vs NHE) (teórico).

***trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂**

Este complexo foi sintetizado conforme descrito na literatura³², com algumas modificações.

Em um balão de 3 bocas, contendo 10 mL de água desionizada e previamente desaerada, foram dissolvido 0,25 g ($3,9 \times 10^{-4} \text{ mol}$) do *trans*-[RuCl(tfms)(cyclam)](tfms). Após a dissolução borbulhou-se NO_(g) (gerado pela adição de HNO₃ 30 % a fios de cobre) por aproximadamente 1 hora, tempo durante o qual ocorreu a mudança de coloração da solução de amarelo para verde. Adicionou-se então 2 mL de solução previamente desaerada de HPF₆ 0,1 mol.L⁻¹ e borbulhou-se NO por aproximadamente mais 3 horas. A solução amarela resultante foi desaerada com argônio por 15 minutos e filtrada a vácuo. Adicionou-se ao filtrado 100 mg de NH₄PF₆ e a mistura foi concentrada no rotoevaporador até aproximadamente 3 mL. O sólido amarelo formado foi separado por filtração e lavado com etanol, éter e secado em

dessecador a vácuo. Rendimento 45% (0,12 g; $1,8 \times 10^{-4}$ mol). Análise elementar para $C_{10}H_{24}N_5OP_2F_{12}ClRu$ (656,78 g.mol⁻¹) % exp. (calc.): C: 18,12 (18,28); N: 10,26 (10,66); H: 3,72 (3,68).

II.2.9. Análise elementar

As análises elementares foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da USP de São Paulo em um equipamento Perkin Elmer CHN 2000 ou na Central Analítica do Departamento de Química da FFCLRP-USP em um equipamento do mesmo modelo.

II.2.10. Espectroscopia na região do infravermelho.

Os espectros de transmissão na região do infravermelho para os complexos e ligantes sintetizados foram feitos em pastilhas de KBr ou emulsão de Nujol em janela de KBr e obtidos usando-se um espectrômetro com transformada de Fourier (FTIR) Bomem modelo MB-102.

II.2.11. Espectroscopia na região do ultravioleta e visível

Os espectros de absorção na região do ultravioleta e visível foram obtidos usando-se um espectrofotômetro HP8452A da Hewlett Packard. Foram empregados celas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

II.2.12. Ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN de 1H e de ^{13}C em solução foram obtidos no espectrometro de ressonância magnética nuclear Bruker modelo Avance DRX400 ou Avance DRX500, na Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Como solventes foram utilizados D_2O , $CDCl_3$, CD_3CN ou acetona- d_6 .

II.2.13. Ressonância paramagnética eletrônica

Os espectros de RPE foram obtidos em um espectrômetro de Bruker ESP 300e acoplado a uma fonte de microondas ER 041XK banda X com uma cavidade padrão modelo 941ST380 à temperatura de 77 K. As medidas foram realizadas no Laboratório de Química Inorgânica do Instituto de Química da USP de São Carlos.

II.2.14. Espectrometria de massa

Os espectros de massa foram obtidos utilizando-se um espectrômetro de massa de alta resolução Q-ToF (Waters Micromass, UK) operando no modo positivo de ionização por eletrospray. Os espectros de ESI MS/MS foram adquiridos usando o modo de varredura dos íons produzidos através da seleção de todos os íons complexos isotopólogos mono-catiônicos e da dissociação induzida pela colisão com argônio (CID) (15eV) e com a análise dos fragmentos iônicos por alta resolução ortogonal de tempo de voo (ToF). Para a análise dos complexos metálicos, as amostras foram diluídas na mistura CH₃OH:H₂O (1:1) ou metanol para o ligante livre, e injetadas através de uma bomba de seringa de fluxo contínuo de 10 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Os espectros de massa foram obtidos no Laboratório Thonsom de Espectrometria de Massas no Instituto de Química da UNICAMP.

II.2.15. Cristalografia de Raios-X

A estrutura cristalina e molecular do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂($\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}$ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O foi determinada através da montagem do cristal em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD com radiação de Mo K α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) monocromada por grafite. Os parâmetros finais da cela unitária foram baseados em todas as reflexões. A coleta dos dados foi feita utilizando-se o programa *COLLECT*¹⁰³. A integração e a escala das reflexões foi feita com o sistema de programas HKL Denzo-Scalepack¹⁰⁴. As correções das absorções foram realizadas usando o método de Gaussian¹⁰⁵. A estrutura molecular foi resolvida por métodos diretos com o programa

*SHELXS-97*¹⁰⁶. O modelo foi refinado através da matriz completa dos mínimos quadrados em F^2 no *SHELXL-97*¹⁰⁷. Todos os átomos de hidrogênio foram estereoquimicamente posicionados e refinados.

II.2.16. Titulação potenciométrica

As titulações potenciométricas para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ e para o ligante cloridrato de 1-(3-carboxipropil) foram realizadas empregando-se uma microbureta Metrohm E72. Soluções de concentração aproximadamente 2,0x10⁻³ mol.L⁻¹ do ligante ou do complexo tiveram sua força iônica ajustada com solução de NaCl 0,1 mol.L⁻¹. O acompanhamento da variação de pH foi feito utilizando-se um pHmetro/conduvímeter digital Analion modelo PM 600. Todas as medidas foram realizadas na ausência de luz. As soluções de NaOH e de NaCl foram preparadas utilizando-se água desionizada e previamente decarbonatada. As soluções de NaOH foram padronizadas utilizando-se biftalato de potássio como padrão primário.

II.2.17. Potenciometria direta

Os estudos sobre a labilização dos ligantes cloreto no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ foram realizados utilizando-se um eletrodo íon seletivo para cloreto Analion Cl651 e um eletrodo de referência de Ag/AgCl acoplados a um pHmetro/conduvímeter digital Analion modelo PM 600. Antes de cada medida o eletrodo foi calibrado com soluções de NaCl na faixa de concentração de 5,0x10⁻⁵ a 5,0x10⁻³ mol.L⁻¹ (8 concentrações) com força iônica μ = 0,1 mol.L⁻¹ de NaNO₃ e pH = 3,0 ajustado com HNO₃. As mesmas condições (força iônica e pH) foram utilizadas na análise do complexo.

II.2.18. Medidas eletroquímicas

As medidas de voltametria cíclica foram feitas em dois equipamentos: um potenciostato/galvanostato modelo 273A da EG&G Princeton Applied Research (PAR) e um bipotenciostato da AUTOLAB PGSTAT 30 (ECO CHEMIE). Para os experimentos realizados no PAR, como cela eletroquímica foi empregado um sistema de 3 eletrodos, carbono vítreo, Ag/AgCl e fio de platina como eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e eletrodo auxiliar, respectivamente. Nos experimentos realizados no Bipotenciostato, para a determinação da velocidade de saída de NO, foram empregados dois sistemas diferentes. No primeiro utilizou-se como eletrodo de trabalho um eletrodo de disco-anel de carbono vítreo com os seguintes raios: $r_{\text{disco}} = 0,56134 \text{ cm}$; $r_{\text{anel interno}} = 0,62484 \text{ cm}$ e $r_{\text{anel externo}} = 0,79248 \text{ cm}$ que foi acoplado a um módulo para rotação do eletrodo AFMT29T S/N 8486 PINE. As variações de temperaturas nos experimentos foram ajustadas utilizando-se um termostato da Ética, modelo CDC-49. No segundo sistema foi empregado um microeletrodo (raio efetivo $15,4 \pm 0,3 \mu\text{m}$). Para ambos os sistemas foram empregados eletrodos de Ag/AgCl e fio de platina como referência e auxiliar, respectivamente. Os potenciais redox foram calculados como $E'_{1/2} = E_{\text{pa}} + E_{\text{pc}} / 2$

II.2.19. Estudos Biológicos Preliminares.

II.2.19a. Crescimento e Manutenção da Cultura Celular

Nesse trabalho foram utilizadas células metatásticas da linhagem *B16* adquiridas junto à *American Type Culture Collection* (ATCC).

B16-F10: linhagem metastática de melanoma murino, cultivada em placas de petri 100 mm, em atmosfera úmida com 5% de CO₂, em nutriente HAM-F10 suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), penicilina G (10000 U/ml), estreptomicina (10000 µg/ml) e anfotericina (25,0 µg/ml).

II.2.19b. Preparação do meio de cultura HAM-F10

Para o preparo do meio de cultura, cerca de 10,0 g do nutriente HAM F-10 foram adicionados a 1,0 L de água mili-Q, sendo o pH do meio ajustado para 7,4. O meio foi filtrado para sua esterilização com filtro de 0,22 μ m, em capela de fluxo laminar e recolhido em frasco estéril, de capacidade para 100 mL. Ao frasco estéril contendo 90,0 mL de meio HAM F-10 acrescentou-se 1,0 mL de antibiótico (solução a 1 % previamente esterelizada), e posteriormente 10% de soro bovino fetal, resultando assim em um meio de cultura completo.

II.2.19c. Descongelamento das linhagens celulares

O descongelamento foi realizado de forma rápida. As células foram retiradas do nitrogênio líquido e colocadas em banho a 37,0° C. Após o descongelamento, foram levadas rapidamente para a capela de fluxo laminar, onde foram transferidas para um tubo cônico estéril contendo 5 mL de meio de cultura incompleto. Em seguida, as células foram centrifugadas a 1000 rpm por 5 minutos para lavagem do meio de congelamento. O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 1,0 mL de meio de cultura completo. As células foram então colocadas em uma placa de petri contendo cerca de 10 mL do meio de cultura completo. Em seguida, a placa contendo as células foi colocada na estufa (5% CO₂, 37,0° C), para o crescimento da cultura. Apenas culturas celulares com índice de mortalidade inferior a 3 % foram empregadas.

II.2.19d. Manutenção das células neoplásicas

Como as células *B-16* crescem aderidas no frasco celular, foi necessária a utilização de uma solução de Tyrode para soltá-las. Assim, o meio contendo as células foi transferido para um tubo *falcon*, o qual foi centrifugado a 1200 rpm, durante 5 minutos. Descartou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se o *pellet* com 10 mL de meio

de cultura completo, distribuindo as células em novas placas de petri contendo em média, 10 mL de meio de cultura completo, cada uma com $0,5 \times 10^6$ células/mL.

A troca de meio destas células foi realizada durante uma semana. A cada 2 dias as células foram lavadas com tampão fosfato salino (PBS) e novo meio de cultura completo (10 mL) foi adicionado. Quando o número médio de células atingiu $3,0 \times 10^6$ células.mL⁻¹, preparou-se uma nova subcultura de células ($0,5 \times 10^6$ células.mL⁻¹) com a finalidade de manter uma quantidade adequada de matrizes da linhagem utilizada nos estudos seguintes, ou congelou-se as mesmas para estocagem.

II.2.19d. Controle da integridade da membrana celular

Este teste é utilizado para contagem do número médio de células na cultura bem como o número de células com rompimento de membrana plasmática. Este controle é conhecido como teste de exclusão do azul de tripan. Consiste na remoção de uma alíquota de 100,0 µL da suspensão de células em crescimento, transferindo-a para um *ependorff*, sobre o qual se adiciona geralmente 100,0 µL de solução corante azul de tripan 0,4 %. A seguir, faz-se a contagem do número de células em um intervalo de tempo não superior a 5 min após adição do azul de tripan.

Assim, com base no número total de células contadas, tem-se uma amostragem estatística de toda a cultura celular. As células com ruptura da membrana celular apresentam-se marcadas de azul quando vistas ao microscópio, permitindo assim estimar a porcentagem de células com membranas danificadas em função do número de células totais que são observadas na câmara de Neubauer¹⁰⁸.

$$\text{Viabilidade (\%)} = (\text{células brancas/células totais}) \times 100 \quad (\text{Eq. 01})$$

III.2.19e. Congelamento das Células

No processo de congelamento, as células foram lavadas com PBS e soltas pela passagem da solução de *tyrode* nas placas. O meio contendo as células foi transferido para um tubo *falcon*, o qual foi centrifugado a 1200 rpm, durante 5 minutos. O

sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 300,0 µL de meio de cultura completo, sendo transferidas para um tubo criogênico previamente resfriado com gelo seco. Em seguida, foram adicionados ao tubo criogênico, 600,0 µL de soro bovino fetal e 100,0 µL de DMSO grau biológico. O tubo criogênico foi levado imediatamente ao freezer a -80,0 °C por 24 horas e então armazenado em nitrogênio líquido.

II.2.19f. Diagrama de crescimento das células

Este procedimento consiste em um controle básico que permite a detecção do tempo ideal para que a cultura de células alcance a fase logarítmica de crescimento considerada ideal para a execução da maioria dos experimentos, uma vez que nesta fase, as células estão em plena atividade, salvo contaminação externa.

Este trabalho teve início com o descongelamento a 37,0 °C das matrizes de células *B-16*, sendo o sobrenadante descartado e as células ressuspensas em 1,0 mL de meio de cultura completo (estoque primário). A partir do estoque primário foram preparadas várias sub-culturas, distribuídas em 20 novos frascos estéreis (35 mm) contendo 2,0 mL de meio de cultura completo, cada qual com $0,1 \times 10^6$ células.mL⁻¹. Nesta etapa realizou-se a primeira contagem do número de células. Nesta operação utilizou-se a câmara de Neubauer e um microscópio convencional. Fez-se então a contagem do número de células, distribuídas em 4 dos 9 quadrantes existentes, utilizando-se um contador múltiplo de cultura. Assim, com base no número total de células contadas, tem-se uma amostragem estatística de toda a cultura celular, a qual se iniciou com $0,1 \times 10^6$ células.mL⁻¹ (1ª contagem).

Após um período de 12 horas, realizou-se a segunda contagem de células. Assim, o meio contendo as células foi transferido para um tubo falcon, o qual foi centrifugado a 25,0°C com rotação de 1200 rpm, durante 5 minutos. Descartou-se o sobrenadante, ressuspendeu-se o *pellet* com 1,0 mL de meio de cultura completo e novamente fez-se a contagem.

Procedimento semelhante foi realizado para as demais placas, controlando-se a cada 4 horas o número médio de células, até atingir o estágio conhecido como platô,

no qual não se observou mais um aumento da concentração de células. Esta contagem foi realizada durante uma semana sendo que a troca de meio destas células foi realizada a cada 2 dias, quando as células eram lavadas com PBS e novo meio de cultura completo (2,0 mL) era adicionado. Ao final deste período, obteve-se o diagrama de crescimento da cultura celular, onde cada resultado obtido corresponde à média aritmética da contagem de células em triplicata, para cada intervalo de tempo. Assim, pode-se escolher a melhor concentração de células, dentro da fase de crescimento desta linhagem, para a execução dos experimentos.

II.2.19g. Citotoxicidade do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]Cl \cdot H_2O$

Nos experimentos de citotoxicidade, o estoque de cultura celular, é transferido para uma placa de 96 poços (5×10^3 células/poço), e após 24 horas é adicionada a solução estoque do complexo de rutênio, de maneira a obter a concentração desejada. A concentração do nitrosilo complexo de rutênio foi variada de 1×10^{-7} a 1×10^{-3} mol.L⁻¹.

As soluções foram então incubadas por 2 horas à temperatura ambiente, na ausência de luz. A seguir, a solução do complexo foi removida. As células foram novamente suplementadas com meio completo e aguardou-se 24 horas para avaliação do efeito citotóxico sobre as células. Após o tratamento com o complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]Cl \cdot H_2O$, as células tiveram sua atividade mitocondrial avaliada espectrofotometricamente através do ensaio do MTT. As absorbâncias foram obtidas em 562 nm e 690 nm em leitor de Elisa - KC4 (Power Wave). E a porcentagem de células viáveis foi calculada de acordo com a Equação 02:

$$\% \text{ Células viáveis} = \frac{D.O_{\text{Experimento}}}{D.O_{\text{Controle}}} \times 100 \quad (\text{Eq. 02})$$

II.2.19h. Análise Estatística

As análises estatísticas (MTT em triplicata) foram feitas utilizando-se o programa Prisma 3.0 através de análise de variância (One-way ANOVA) e como pós-teste foi usado o teste de Student–Newman–Keuls para múltiplas comparações. O valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1. Síntese e caracterização do ligante ácido 3-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradeca-1-il)propanóico.

A preparação de ligantes mono-N-funcionalizados pode ser feita através de diferentes métodos ^{51;55}. Dentre estes métodos, podemos destacar os que seguem a sequência proteção-alquilação-desproteção dos grupos amina do macrociclo ^{51;58} ou a utilização de um excesso do macrociclo em relação ao agente alquilante para prevenir a polialquilação ¹⁰⁹. Para a síntese do ligante 1-(carboxipropil)cyclam optou-se por um método capaz de levar em uma única etapa de síntese a obtenção seletiva do ligante desejado ⁵⁶. Este método envolve a reação entre quantidades equimolares de cyclam e do acceptor de Michael (ácido acrílico) (Esquema 1). Nesta condição de reação, a nucleofilicidade reduzida dos nitrogênios secundários resultantes da mono-protonação, tanto do produto de partida como azamacrociclo alquilado, na presença de um equivalente de ácido, contribui para a adição quimio-seletiva observada e a prevenção de uma segunda adição ⁵⁶.

Esquema 1. Reação de funcionalização do cyclam com o ácido acrílico.

O ligante 1-(carboxipropil)cyclam sintetizado foi purificado em coluna de sílica utilizando-se como eluente a mistura MeOH:NH₄OH (6:4). Este eluente foi escolhido após testes de cromatografia em camada delgada utilizando diferentes solventes como clorofórmio, metanol e hidróxido de amônio, puros e em misturas de diferentes proporções. Deve-se ressaltar que a mudança do eluente descrito na literatura (CHCl₃:MeOH:NH₄OH 4:3:1) ⁵⁶ para a purificação do produto de síntese para a utilizada neste trabalho, MeOH:NH₄OH (6:4), levou a um grande aumento do rendimento, de 3 % para aproximadamente 40 %. Na purificação foram obtidas 3 frações que apresentaram valores de R_f de 0,30 , 0,54 e 0,75. A fração com menor R_f corresponde ao cyclam que não reagiu, a fração com R_f = 0,54 ao produto monosubstituído e a fração com maior R_f, a uma impureza formada na reação. O produto monosubstituído pelo grupamento carboxipropil foi obtido na forma de um óleo incolor com rendimento de 40%.

III.1.1. Espectroscopia no infravermelho

Como mencionado anteriormente o ligante 1-(carboxipropil)cyclam é obtido como um óleo incolor. Nesta etapa, optou-se por caracterizar o ligante na forma protonada, a qual é sólida e facilita sua manipulação, uma vez que a protonação não altera a estrutura do ligante, exceto pela protonação dos grupos NH do macrociclo e permite a caracterização do produto que será investigado por titulação potenciométrica. O ligante 1-(carboxipropil)cyclam e o cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam são mostrados na Figura 3. Eles foram caracterizados por espectroscopia vibracional no infravermelho. Os espectros de infravermelho do ligante cyclam e do clorohidrato do cyclam e do clorohidrato do 1-(carboxipropil)cyclam são mostrados nas Figuras 4 a 6. As atribuições tentativas (Tabela 2) foram feitas com base no ligante cyclam e ligantes análogos descritos na literatura ^{51;56;79}.

Figura 3. Estrutura do 1-(carboxipropil)cyclam (A) e do cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam (B).

Figura 4. Espectro de infravermelho do cyclam em pastilha de KBr.

Figura 5. Espectro de infravermelho do cloridrato de cyclam em pastilha de KBr.

Figura 6. Espectro de infravermelho do cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam em pastilha de KBr.

Tabela 2. Atribuições tentativas das bandas na região do infravermelho para os ligantes tetraazamacrocíclicos ^a.

Cyclam	cloridrato de cyclam	cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam	Atribuição
3440 cm ⁻¹	3460 cm ⁻¹	3405 cm ⁻¹	v(OH)
3270-2800 cm ⁻¹	-	-	v(NH)
	2940-2630 cm ⁻¹	3000-2600 cm ⁻¹	v(NH ₂ ⁺)
-	-	1735 cm ⁻¹	v(COOH)
			δ(CH)
1480-780 cm ⁻¹	1480-740 cm ⁻¹	1600-730 cm ⁻¹	δ(CN)
			v(CH)

^a em pastilha de KBr

Conforme pode ser observado nas Figuras 4 a 6 e Tabela 2, os espectros de infravermelho apresentam os estiramentos característicos dos grupamentos NH e CH do anel macrocíclico. O estiramento observado na região de 3400 cm⁻¹ é provavelmente devido à presença de água de hidratação. É possível também observar claramente (Figura 6) a presença do estiramento característico da carboxila (1735 cm⁻¹) presente no grupo carboxipropil do substituinte.

III.1.2. Ressonância Magnética Nuclear

O ligante 1-(carboxipropil)cyclam, bem como sua forma protonada, o cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam foram caracterizados por RMN de ¹H e de ¹³C. Enquanto o ligante 1-(carboxipropil)cyclam foi analisado em solução de CDCl₃, o análogo protonado o foi em D₂O devido à diferença de solubilidade. A caracterização do cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam em D₂O permite a comparação com o nitrosilo complexo de rutênio, o qual também é solúvel neste solvente. O espectro de RMN de

^1H do 1-(carboxipropil)cyclam em CDCl_3 (Figura 7) apresentou uma grande multiplicidade nos conjuntos de sinais. No entanto, tanto a região observada como a multiplicidade e os respectivos valores de intensidades observados para os sinais, estão de acordo com o esperado e também com os relatados na literatura ⁵⁶.

O mesmo perfil do espectro foi observado para o cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam em D_2O (Figura 8), porém o número de conjuntos de sinais obtidos para este último foi menor devido ao efeito do solvente e a diferença de solvatação das moléculas. No entanto, a intensidade dos sinais também está de acordo com o esperado.

O espectro de RMN de ^{13}C em CDCl_3 e D_2O apresentou 13 sinais para os ligantes em questão, sendo 12 na região alifática de 20 a 60 ppm. O pico da referente ao grupo carboxílico foi observado em 179.2 ppm para o 1-(carboxipropil)cyclam e em 177.6 ppm para o ligante protonado em D_2O . Estes resultados estão de acordo com o esperado para as estruturas. Os espectros de RMN de hidrogênio e de carbono para os ligantes em questão são mostrados nas Figuras 7 a 12. A Tabela 3 mostra os deslocamentos químicos para os espectros de próton do 1-(carboxipropil)cyclam e do cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam.

Figura 7. Espectro de RMN de ¹H para o 1-(carboxipropil)cylam em CDCl₃. δ(ppm) referente ao deslocamento do CHCl₃ (7.26 ppm)

Figura 8. Espectro de RMN de ^1H para o cloridrato de 1-(carboxipropil)cylam em D_2O . δ (ppm) referente ao deslocamento do H_2O (4.70 ppm).

Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C para o 1-(carboxipropil)cylam em CDCl_3 . $\delta(\text{ppm})$ referente ao deslocamento do CHCl_3 (77.0 ppm).

Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C para o 1-(carboxipropil)cylam em CDCl_3 (ampliação da região de 20 a 60 ppm. $\delta(\text{ppm})$ referente ao deslocamento do CHCl_3 (77.0 ppm).

Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C para o tetraclohidreto de 1-(carboxipropil)cylam em D_2O . $\delta(\text{ppm})$ referente ao deslocamento do $(\text{CH}_3)_3\text{Si}(\text{CD}_2)_2\text{CO}_2\text{Na}$ (0 ppm).

Figura 12. Espectro RMN de ^{13}C para o cloridrato de 1-(carboxipropil)cylam (ampliação da região de 20 a 60 ppm) em D_2O . $\delta(\text{ppm})$ referente ao deslocamento do $(\text{CH}_3)_3\text{Si}(\text{CD}_2)_2\text{CO}_2\text{Na}$ (0 ppm)

Tabela 3. Dados de RMN de ^1H para o ligante 1-(carboxipropil)cyclam e cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam.

1-(carboxipropil)cyclam		cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam	
$\delta(\text{ppm})^a$	Número de H	$\delta(\text{ppm})^b$	Número de H
1.75-1.84 (m)	4	1.99-2.11 (m)	4
2.35 (t)	2	2.78 (t)	2
2.53-2.58 (m)	4		
2.64 (t)	2	3.22-3.33 (m)	10
2.79-2.85 (m)	10		
2.90 (t)	2	3.46-3.51 (m)	8

^a em CDCl_3 , ^b em D_2O ; (m) = multiplete, (t) = tripleto

III.1.3. Espectrometria de massa

O ligante 1-(carboxipropil)cyclam também foi caracterizado por espectroscopia de massa. O espectro de massa é mostrado na Figura 13.

Figura 13. Espectro ESI-MS do ligante 1-(carboxipropil)cyclam, utilizando o modo *electrospray*.

Como pode ser visto na Figura 13 o espectro de massa apresenta um pico em m/z 271.2, o que corresponde ao pico do íon molecular para a ligante 1-(carboxipropil)cyclam. Este valor é muito próximo do esperado (m/z 271.4) e está de acordo com o valor relatado na literatura ⁵⁶.

Portanto, como pode ser observado, os resultados apresentados confirmam a estrutura do ligante sintetizado sendo que estes também estão de acordo com os relatados na literatura ⁵⁶.

III.1.4. Titulação potenciométrica do ligante cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam

Os ligantes azamacrocíclicos e seus análogos substituídos apresentam grupos ácidos e/ou básicos. Essencialmente, estes grupos são as aminas do anel ou grupos substituintes como, por exemplo, carboxilatos, fenóis, aminas, entre outros ⁵⁰. O conhecimento do pKa dos grupos substituintes, tanto nos ligantes livres como em seus respectivos complexos metálicos, é interessante, uma vez que estes podem potencialmente se coordenar ao centro metálico, atuando como ligantes “escorpiões” ⁷⁸. Esse comportamento tem sido observado para ligantes obtidos a partir da mono-N-substituição do ligante cyclam com grupos carboxipropil ou aminopropil em complexos de Ni, Cu e Co ^{78;109}. Assim, iniciou-se os estudos com o ligante cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam uma vez que os seus valores de pKa estão disponíveis na literatura, ¹⁰⁹ permitindo, inicialmente um ajuste das condições de análise e uma posterior comparação com o nitrosilo complexo de rutênio. Para efeitos de comparação são apresentados os valores de pKa para o ligante cyclam. A curva da titulação potenciométrica obtida para o ligante cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam é mostrada na Figura 14.

Figura 14. Curva da titulação potenciométrica para o ligante cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam (2 mM, $\mu = 0,10 \text{ mol.L}^{-1} \text{ NaCl}$) com NaOH $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ à temperatura ambiente.

Através da curva mostrada na Figura 14, onde é possível visualizar apenas um ponto de inflexão, foi possível estimar o valor de $\text{pK}_a = 3,4 \pm 0,1$ para o grupo carboxilato do substituinte. O valor obtido é próximo ao valor relatado na literatura ($\text{pK}_a = 3,6$)¹⁰⁹. Esse ligante, como pode ser observado na Figura 3, deveria ainda apresentar os valores de pK_a referentes aos hidrogênios do grupo amina. Contudo, dois desses grupamentos amina apresentam valores de pK_a menores que 2 e, dadas as condições experimentais utilizadas, não foi possível determiná-los. Esse fato também foi observado por Kaden et al.¹⁰⁹. No entanto, através do número de equivalentes de íons hidroxilas gastos, foi possível determinar que no ponto de inflexão foram titulados 3 hidrogênios, sendo dois dos grupos N-H do ligante macrociclo e o da carboxila do substituinte, fato este que está de acordo com o esperado. Outros dois valores de pK_a (10,11 e 11,45) também seriam esperados. No entanto são próximos

entre si e não foi possível a determinação dos seus valores, também dadas as condições experimentais utilizadas, uma vez que mesmo em titulações realizadas até pH ~ 12,5 não foram observados pontos de inflexão adicionais. Para o ligante cyclam, os valores de pKa relatados na literatura são 11,6 , 10,6 , 1,6 e 2,4 ¹¹⁰. Entretanto após a protonação ou mono-N-substituição de um dos nitrogênios, ocorre uma diminuição da nucleofilicidade dos nitrogênios restantes, o que está de acordo com o aumento da acidez observada ¹⁰⁹. Há que se ressaltar que a acidez observada no início da titulação (pH ~ 2) está de acordo com os dois pKa's próximos de 2, como observado para os ligantes cyclam e o 1-(carboxipropil)cyclam. Como o substituinte carboxipropil tem um pKa de 3,6, logo, no ligante 1-(carboxipropil)cyclam o pKa determinado neste trabalho (3,4) deve ser referente ao grupo COOH.

III.2. Síntese dos nitrosilo complexos de rutênio com os ligantes tetraazamacrocílicos.

A síntese do complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ foi realizada seguindo a rota descrita na literatura ³², cuja metodologia é freqüentemente utilizada em nosso laboratório, e envolve a preparação dos precursores *trans*-[RuCl₂(cyclam)]Cl, que é obtido a partir da reação entre RuCl₃.*n*H₂O e o ligante cyclam, e o qual é convertido em *trans*-[RuCl(tfms)(cyclam)](tfms). O *trans*-[RuCl(tfms)(cyclam)]⁺, em presença de água, sofre aquação do ligante trifluorometanossulfonato, com uma constante de aquação do tfms de $k_{aq} = 6 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ ¹⁰² gerando, assim, o respectivo aquo complexo. Este complexo então é capaz de reagir com o NO em meio aquoso. O ligante nitrosilo, quando se coordena ao centro metálico leva a formação do par {RuNO}⁶, o qual é estabilizado fortemente pela retrodoação (*back-bonding*) do rutênio para o ligante nitrosilo. Outra metodologia ³², que também pode ser utilizada na preparação do referido complexo envolve a reação direta entre o K₂[Ru(NO)Cl₅] e o ligante cyclam. Estas rotas sintéticas também foram investigadas na tentativa de se obter o nitrosilo complexo de rutênio com o ligante 1-(carboxipropil)cyclam, mas tentativas de se isolar produtos adequados para a análise não foram bem sucedidas. Portanto uma nova rota

para a síntese do complexo com o ligante 1-(carboxipropil)cyclam foi utilizada, a qual consiste da adição deste ligante ao RuNOCl_3 , qual resultou na configuração *fac*. Embora não existam dados sobre o mecanismo envolvido na síntese de complexos com o RuNOCl_3 , existem sínteses relatadas da utilização deste precursor na preparação de nitrosilo complexos ^{41;43}. Esta rota também foi usada para a síntese do complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})](\text{PF}_6)_2$ com o objetivo de se investigar se as diferenças na estrutura entre este complexo e o *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ eram provenientes da rota sintética ou se estavam relacionadas à mono-N-substituição com o grupo carboxipropil em um dos átomos de nitrogênio no ligante cyclam. Como será apresentado mais adiante, os resultados obtidos na caracterização do complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})](\text{PF}_6)_2$, preparado através do RuNOCl_3 , estão de acordo com os resultados relatados na literatura ³² e com os resultados obtidos utilizando-se os precursores *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{cyclam})]\text{Cl}$ e *trans*- $[\text{RuCl}(\text{tfms})(\text{cyclam})](\text{tfms})$ neste trabalho.

O complexo *fac*, ainda então não caracterizado como tal, foi investigado por varias técnicas, tais como voltametria cíclica, espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear espectroscopia no UV-Vis e IV, cujos resultados não concordavam com as que seriam esperadas para a configuração *trans*. Inúmeras tentativas de síntese e diversas análises foram feitas, com resultados inconsistentes para uma configuração *trans*. Assim tentou-se e conseguiu-se crescer um cristal para análise por difração de Raios-X.

III.3. Caracterização dos nitrosilo complexos de rutênio com os ligantes cyclam e 1-(carboxypropil)cyclam.

III.3.1. Cristalografia de Raios-X.

A Figura 15 mostra a estrutura molecular obtida para o complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$. Uma molécula de água do solvente bem como o contra-íon cloreto, são omitidos por questão de clareza. A Figura

16 mostra o centro de inversão cristalográfica, onde incidentalmente, duas moléculas de água encontram-se ligadas por ligações de hidrogênio a dois íons cloretos atuando como doadores de elétrons e, assim, estes íons também estão ligados aos átomos O12 de dois complexos relacionados pelo mesmo centro de inversão, atuando como aceptores de elétrons. Para efeitos de comparação, a estrutura molecular do análogo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂, descrita na literatura ³², também é mostrada na Figura 17. A Tabela 4 mostra os principais dados cristalográficos e parâmetros de refinamento de estrutura para o *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O. A Tabela 5 mostra as principais distâncias interatômicas para estes complexos e a Tabela 6, os principais ângulos de ligação.

Figura 15. Estrutura ORTEP do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O.

Figura 16. Diagrama de ORTEP de moléculas do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O localizadas no centro de inversão cristalográfica.

Figura 17. Estrutura ORTEP para o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂³².

Tabela 4. Dados cristalográficos e de refinamento da estrutura para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O.

Fórmula Empírica	C ₁₃ H ₃₀ Cl ₃ N ₅ O ₄ Ru	
Fórmula Peso	527.84	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de Onda	0.71073 Å	
Sistema Cristalino	Triclínico	
Grupo Espacial	P1, N° 2	
Dimensões da Célula Unitária	a = 8.5010(10) Å	α= 72.564(5)°
	b = 9.1570(10) Å	β= 82.512(5)°
	c = 14.2000(10) Å	γ= 80.308(5)°
Volume	1035.78(18) Å ³	
Z	2	
Densidade (calculada)	1.692 Mg/m ³	
Coeficiente de Absorção	1.172 mm ⁻¹	
Correção da Absorção	Numérica	
F(000)	540	
Tamanho do Cristal	0.157 x 0.120 x 0.108 mm ³	
Faixa do theta para coleta de dados	2.98 to 26.05°	
Faixas de Índice	-10≤h≤10, -11≤k≤11, -17≤l≤17	
Reflexões Coletadas	12351	
Reflexões Independentes	4084 [R(int) = 0.0528]	
Aproximação para o theta = 26.05°	99.6 %	
Método de Refinamento	Matriz Completa dos mínimos quadrados em F ²	
Dados / Restrições / Parâmetros	4084 / 0 / 237	
Relação do fit em F ²	1,052	
Índices R Finais [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0307, wR2 = 0.0786	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0.0355, wR2 = 0.0812	
Coeficiente de Extinção	0.0088(11)	
Maior diferença entre pico e buraco	0.566 e -0.827 e.Å ⁻³	

Tabela 5. Principais distâncias interatômicas ao redor do átomo de rutênio para os complexos *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O. e *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂³²

RuNOCl ₂ cyclam-COOH ^a		RuNOClcyclam ^b
Ligação	Comprimento (Å)	Comprimento (Å)
Ru-Cl(1)	2,3789(7)	2,327(1)
Ru-Cl(2)	2,3798(7)	-
Ru-N(1)	2,133(2)	2,097(4)
Ru-N(2)	2,111(2)	2,088(4)
Ru-N(3)	2,146(2)	2,089(4)
Ru-N(4)	3,696(4) ^c	2,093(4)
Ru-N(5)	1,739(2)	1,747(4)
O(5)-N(5)	1,149(3)	1,128(5)

^a *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O; ^b *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂³²; ^c Valor estimado.

Tabela 6. Principais ângulos de ligação ao redor do átomo de rutênio para os complexos *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O e *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂

	RuNOCl ₂ cyclam-COOH ^a	RuNOClcyclam ^b
Ligação	Ângulo (graus)	Ângulo (graus)
N(5)-Ru-N(2)	171,54(9)	93,1(2)
C(7)-N(4)-C(8)	110,6(2)	115,6(5)
N(3)-Ru-Cl(1)	171,95(6)	85,37(13)
C(5)-N(3)-C(6)	109,7(2)	115,3(6)
C(10)-N(1)-C(1)	110,3(2)	115,0(4)
O(5)-N(5)-Ru	167,7(2)	178,0(4)
Cl(2)-Ru-N(1)	170,91(6)	-
Cl(1)-Ru-Cl(2)	89,50(3)	-
N(5)-Ru-Cl(1)	87,36(8)	117,43(14)
N(5)-Ru-Cl(2)	85,61(7)	-
N(2)-Ru-Cl(1)	85,95(6)	85,22(12)
N(2)-Ru-Cl(2)	89,15(6)	-

^a *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O; ^b *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂ ³².

Como pode ser observado através das Figuras 15 e 17, existe uma grande diferença estrutural entre os complexos *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O e *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂. Enquanto nos compostos análogos *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂ ³², *trans*-[Ru(NO)(OH)(tmc)]²⁺ ¹¹¹ e *trans*-[RuCl₂(1-(3-propilamônio)cyclam)]Cl ⁹⁰ o átomo de rutênio está coordenado aos quatro átomos de nitrogênio do macrociclo, no *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O o átomo de rutênio está

coordenado a apenas três átomos de nitrogênio, enquanto o quarto átomo do ligante, que apresenta o substituinte carboxipropil, encontra-se livre. Para completar a esfera de coordenação do rutênio, este se mantém ligado a dois ligantes cloretos e ao ligante nitrosilo. Como também pode ser observado, o grupamento carboxilato encontra-se livre e protonado. Desta forma, é possível observar que ocorre uma diminuição na denticidade do ligante cyclam com a mono-N-substituição com o grupo carboxipropil. O ligante cyclam que é tetradentado (denticidade 4), passa a apresentar denticidade 3 no nitrosilo complexo de rutênio com o tetraazamacrociclo substituído. A denticidade κ^3 para o ligante cyclam em um complexo de rutênio mononuclear foi relatada apenas uma outra vez na literatura ⁸⁸, tanto quanto sabemos. No entanto, neste caso, o cyclam foi tetra-N-substituído por ligantes N-(2-piridilmetil). Este cyclam substituído, octadentado, fica hexacoordenado ao átomo de Ru(III) através de três átomos de nitrogênio dos substituintes N-(2-piridilmetil) e de três átomos de nitrogênio do macrociclo ⁸⁸.

O complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ^3 N⁴,N⁸,N¹¹(1-(carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O apresenta distâncias Ru-N_{cyclam} entre 2,111(2) Å e 2,143(2) Å com um valor médio de 2,130(2) Å. Este valor é maior que as distâncias Ru-N_{amina} observadas nas tetraaminas de rutênio(III) e da mesma ordem das apresentadas por tetraaminas de rutênio(II), como exemplificado pelos complexos [Ru^{III}(NH₃)₆](BF₄)₃ (2,104 Å) ¹¹², [Ru^{III}(NH₃)₅(1-mpz)](tos)₄.5H₂O (de 2,10(1) a 2,118(8) Å) ¹¹³, [Ru^{II}(NH₃)₆]I₂ (2,144 Å) ¹¹², [Ru^{II}(NH₃)₅(1-mpz)]I₃ (2,17(1) (*trans*) a 2,136(8) Å) ¹¹⁴. As distâncias interatômicas médias Ru-N_{cyclam} no complexo *fac* são maiores quando comparadas às observadas nos complexos análogos de rutênio com o ligante cyclam, como no *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂ (2,092(4) Å) ³² e no *trans*-[RuCl(cyclam)(4-acpy)](BF₄) ⁷⁵, (2,097(2) Å), os quais apresentam distâncias interatômicas Ru-N similares às tetraaminas de Ru(III). A diminuição da distância Ru-N_{cyclam} nos complexos com ligantes macrocíclicos em relação às tetraaminas análogas foi atribuída ao constrangimento anular imposto pelo anel ⁷⁵. Dada a configuração molecular apresentada pelo complexo *fac*, onde o átomo de rutênio encontra-se fora do plano do anel, não se observa a mesma restrição espacial imposta pelo macrociclo nos complexos análogos de configuração *trans*. Assim, como esperado, as distâncias Ru-N

no complexo *fac* são maiores que as dos análogos macrociclos citados, e semelhantes às das tetraaminas de Ru(II).

A presença de um segundo ligante cloreto com relação ao complexo análogo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ deverá influenciar alguns aspectos da estrutura molecular. Como pode ser observado na Tabela 6, os ângulos de ligação Cl(2)-Ru-N(1) e Cl(2)-Ru-N(3) são aproximadamente lineares. Neste caso, o ligante negativo cloreto, doador de elétrons π , deverá influenciar mais estas ligações. Com efeito, a distância interatômica Ru-N(1) é de 2,133(2) Å e o comprimento de ligação Ru-N(3) é de 2,146(2) Å, ao passo que a ligação Ru-N(2), onde o N(2) está em *trans* ao NO, é mais curta 2,111(2), como esperado. Uma diminuição semelhante na distância interatômica Ru-N (*trans*) também foi observada para o [Ru(NO)(NH₃)₅]Cl₃, onde as amônias equatoriais apresentam uma distância média Ru-N de 2,092(10) Å e o NH₃ em posição *trans* ao NO apresenta uma distância de 2,017(11).

Nitrosilo complexos de rutênio geralmente apresentam um ângulo de ligação Ru-N-O aproximadamente linear^{24;32;34;111;115-117}. Como pode ser observado (Tabela 6) o ângulo O(5)-N(5)-Ru no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ^3 N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O é de 167,7°, sendo ligeiramente mais angular que outros nitrosilo complexos de rutênio relatados⁷, nos quais este ângulo de ligação varia de 180 a 170,4(5). Estes complexos incluem o *fac*-[RuCl₃(NO)(P-N)] (P-N = [*o*-(*N,N*-dimetilamino)fenil]difenilfosfina)⁴³ e as tetraaminas análogas *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(H₂O)]Cl (178,1°), [Ru(NO)(NH₃)₅]Cl₂ (172,8°), *cis*-[Ru(NO)Cl(NH₃)₄]Cl₂ (175,2°)⁷. Esta diferença pode influenciar a reatividade do ligante nitrosilo coordenado. Embora ocorra essa ligeira angulação no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ^3 N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O, a distância interatômica observada N(5)-Ru de 1,739(2) Å encontra-se na mesma faixa de 1,715(5) a 1,81 Å observada para outros tetraamim complexos de rutênio com o ligante nitrosilo⁷.

A origem da estrutura observada para o *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ^3 N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O ainda não está totalmente elucidada. A presença do substituinte carboxipropil no nitrogênio não ligado ao rutênio sugere que este grupo influencia as propriedades deste átomo. É conhecido que a substituição no grupo N transforma a amina secundária em uma amina terciária, um doador sigma pobre por

razões estéricas ⁵⁵. Além disso, o crescimento dos cristais deste complexo em solução de HCl 0,5 mol.L⁻¹ não leva à protonação do átomo do nitrogênio como verificado por cristalografia de Raio-X, análise elementar, NMR e espectrometria de massa. Este fato pode indicar uma fraca basicidade para este nitrogênio. Entretanto, o ligante 1-(3-aminopropil)cyclam, que também apresenta uma amina terciária, possui configuração *trans* para seu diclorocomplexo de rutênio, de acordo com a suas propriedades (eletroquímica e espectroscopia no UV-Vis e IV) ⁹⁰. Portanto, apenas a mono-N-substituição parece não ser a única razão para diminuição da denticidade do ligante cyclam substituído. Outro aspecto que pode ser considerado é o efeito indutivo do grupo funcional ⁵⁵. Considerando-se que, em princípio, a denticidade quatro seria a denticidade mais favorecida para o tetraazamacrociclo, é possível, na falta de evidências adicionais, que a denticidade três seja resultado de um controle cinético durante a reação. Há ainda que se ressaltar a possibilidade de uma penta-coordenação, uma vez que o ligante carboxilato pode se coordenar ao átomo de rutênio, a qual não é observada, uma vez que o esse grupo encontra-se protonado.

III.3.2. Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e de ¹³C

Os complexos *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O e *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂, preparados através da reação com RuNOCl₃, foram caracterizados por RMN de ¹H e de ¹³C. Os espectros são mostrados nas Figuras 18 a 24. Os valores de deslocamento químico bem como a multiplicidade dos sinais observados no espectro de próton para o *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O são mostrados na Tabela 7.

Figura 18. Espectro de RMN de ^1H para o complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em D_2O . δ (ppm) referente ao sinal da H_2O (4.70 ppm).

Figura 19. Espectro de RMN de ^1H para o complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em acetona- d_6 (ampliação da região de 5 a 12 ppm). δ (ppm) referente ao sinal da acetona (1.96 ppm).

Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C para o complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em D_2O . $\delta(\text{ppm})$ referente ao deslocamento do $(\text{CH}_3)_3\text{Si}(\text{CD}_2)_2\text{CO}_2\text{Na}$ (0 ppm).

Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C para o complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em D_2O (ampliação da região de 20 a 60 ppm). $\delta(\text{ppm})$ referente ao deslocamento do $(\text{CH}_3)_3\text{Si}(\text{CD}_2)_2\text{CO}_2\text{Na}$ (0 ppm).

Figura 22. Espectro de RMN de ^1H para o complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$ em D_2O . δ (ppm) referente ao sinal da H_2O (4.70 ppm).

Figura 23. Espectro de RMN de ^1H para o complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$ em CD_3CN (ampliação da região de 4.5 a 6.6 ppm). δ (ppm) referente ao sinal da CH_3CN (1.96 ppm).

Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C para o complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$ em D_2O . (δ) em ppm referente ao deslocamento do $(\text{CH}_3)_3\text{Si}(\text{CD}_2)_2\text{CO}_2\text{Na}$ (0 ppm)

Tabela 7. Dados de RMN de ^1H para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂($\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}$ (1-carboxipropil)cyclam)]⁺ em D₂O

Deslocamento químico (ppm)	Integração e multiplicidade
3.77	1 (dt)
3.71	1 (dt)
3.50	1 (dt)
3.25-3.37	3 (m)
3.21	1 (dt)
3.13	1 (dt)
3.04	1 (dd)
2.91-3.01	4 (m)
2.80-2.87	2 (m)
2.77	1 (dt)
2.51	1 (dt)
2.69	1 (m)
2.35	1 (m)
2.34	1 (dd)
2.17	1 (dt)
2.08	1(m)
1.85	1 (dt)
1.68	1 (dt)

dt = duplo triplete; dd = duplo dubleto; m = multiplete; td = triplo dubleto

Com pode ser observado na Figura 18 e na Tabela 7 o espectro de RMN de ^1H para o complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ apresentou 18 conjuntos de sinais na região de 1.5 a 4.0 ppm os quais correspondem aos hidrogênios metilênicos do ligante macrocíclico. Podemos observar na estrutura e no espectro que os hidrogênios metilênicos possuem deslocamentos químicos próximos e se acoplam a duas, três e quatro ligações o que dificulta a atribuição precisa de cada um deles e justifica a sobreposição e a alta multiplicidade apresentada pelos sinais no espectro (Figura 18). Este fato deve estar relacionado a dois fatores: i) à baixa simetria do complexo e ii) uma possível flexibilidade da parte do complexo que compreende os grupos metilênicos ligados ao nitrogênio não coordenado ao rutênio, bem como os do substituinte carboxipropil. Por outro lado, as intensidades destes sinais correspondem a um total de 24 hidrogênios, o que está de acordo com o esperado.

O espectro de RMN de ^1H do $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})](\text{PF}_6)_2$ preparado através do RuNOCl_3 apresentou dez conjuntos de sinais. Tanto a multiplicidade dos sinais observados quanto suas intensidades relativas e os deslocamentos químicos estão de acordo com a configuração *trans* esperada para esse complexo e com os dados relatados na literatura ³².

Nas Figuras 19 e 23 são mostrados os espectros de RMN de ^1H referente à região dos hidrogênios amínicos. Para o complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ observa-se 3 sinais com intensidades relativas 1:1:1, indicando que os mesmos não são quimicamente equivalentes devido à diferença nos seus ambientes químicos, provavelmente dada a baixa simetria do complexo. É possível observar também que um destes sinais aparece em uma frequência maior do espectro. Para os complexos análogos $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$ ³² e $\text{trans-}[\text{RuCl}(\text{cyclam})(4\text{-acpy})]^+$ ⁷⁵, a presença de dois sinais com integrais relativas 2:2 para os hidrogênios amínicos, tem sido interpretada como consequência da interação intramolecular entre esses átomos de hidrogênio e o átomo de cloro. Neste caso, o sinal de maior frequência seria correspondente ao par de hidrogenios que sofre a influência dessa interação. É conhecido que interações de hidrogênio deslocam os sinais dos hidrogênios participantes para frequências mais altas, portanto, pode ser proposto que o átomo de hidrogênio com sinal em 7,93 ppm no complexo seja aquele

que está ligado ao átomo de cloro no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺. Esta observação é consistente com a estrutura molecular determinada por cristalografia de Raios-X que mostra uma distância de 2.652 Å entre os átomos H-N(2) e Cl(1) (Figura 15) cujo valor é menor que o raio de van der Waals para o H e Cl, que está na faixa de 3,0 a 3,3 Å. Observa-se ainda um sinal alargado em aproximadamente 12 ppm que é referente ao hidrogênio do grupamento carboxila. Para o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺, nessa região são visualizados dois sinais com intensidades relativas 2:2. Este fato indica uma equivalência química entre dois desses hidrogênios, reflexo da simetria do complexo, a qual é resultado da similaridade nos ambientes químicos. A diferença nos deslocamentos químicos, como já comentado anteriormente, é devida às interações de hidrogênio com o ligante cloreto.

No espectro de RMN de ¹³C (Figuras 20 e 21) para o *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ são observados 13 sinais referentes aos 13 carbonos do ligante macrocíclico. Isto indica que nenhum desses átomos é quimicamente equivalente entre si. Para o *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ (Figura 24) observa-se 6 sinais no espectro de RMN de ¹³C, resultado esse que está de acordo com o descrito na literatura ³² e reflete a simetria do complexo, uma vez que existem átomos de carbono equivalentes entre si.

III.3.3. Espectrometria de Massa

A estrutura e a química de fragmentação em fase gasosa para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl, denominado, neste item, de [M-Cl]⁺, foram investigadas usando as técnicas de ESI-MS e ESI/MS-MS. Esta técnica tem sido utilizada na caracterização de complexos de rutênio ¹¹⁸⁻¹²¹ e complexos de rutênio com o ligante nitrosilo ¹²²⁻¹²⁴. Os espectros de massa são mostrados nas Figuras 25 e 26.

Figura 25. Espectro de ESI-MS de íon positivo para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl em H₂O-CH₃OH (1:1). (A) Distribuição isotópica experimental; (B) Distribuição isotópica teórica calculada.

Quando uma solução do complexo do *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl recém preparada em H₂O:CH₃OH (1:1) foi analisada por ESI-MS, obteve-se o espectro mostrado na Figura 25. É possível observar que o cluster predominante dos íons isotopólogos, apresenta íons com *m/z* variando de *m/z* 468.2 a 480.2, os quais são característicos de espécies contendo um átomo de Ru e dois átomos de Cl e é consistente com a composição C₁₃H₂₈O₃N₅RuCl₂. Também é possível observar na Figura 25 que a distribuição experimental e a abundância relativa do cluster dos íons isótopos coincide perfeitamente com a calculada para espécie [M-Cl]⁺. Outros clusters menos abundantes de menor *m/z* correspondem à perda de HCl e/ou NO como revelado no espectro de ESI-MS/MS (Figura 26).

Figura 26. Espectro de ESI-MS/MS do cluster de íons positivos de m/z 468.2 - 480.2 derivado do *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl

A Figura 26 mostra o espectro de ESI-MS/MS para a dissociação induzida por colisão para alguns isótopos selecionados de m/z 474.2, 475.2 e 476.2. É possível observar que o complexo catiônico fragmenta inicialmente pela perda de NO (m/z 444.6) ou HCl (m/z 438.2), sendo que sua química de fragmentação é coerente com a estrutura proposta. A fragmentação inicial de NO *vs* HCl também foi observada para outros nitrosilo complexos de rutênio ¹²²⁻¹²⁴ com o ligante cloreto na esfera de coordenação. A fragmentação então se processa por uma série de perdas de HCl ou NO. Independente do mecanismo de fragmentação, a espécie de m/z 372.2 é obtida. Esta espécie pode então perder [CO₂ + C₂H₄] ou [H₂O + CO] e C₂H₄ como mostrado no Esquema 2. Há que se ressaltar ainda a presença de um íon aproximadamente “mono-isotópico” de m/z 354.2 o qual possivelmente é formado por íons notadamente de ¹⁰²RuOH. É interessante observar que, apesar do macrociclo, protonado na carboxila, não se apresentar coordenado ao átomo de Ru na forma termodinamicamente mais estável esperada (κ^4), o ligante NO é perdido, assim como os ânions cloreto (na forma de HCl), enquanto a espécie observada após as fragmentações ainda contém o ligante cyclam coordenado.

Esquema 2. Mecanismo de fragmentação proposto para o complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]\text{Cl}$

III.3.4. Ressonância Paramagnética Eletrônica

O NO quando coordenado ao átomo de rutênio, de maneira geral, apresenta um forte caráter nitrosônio ^{3;5-7}. A técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) é extremamente útil para a determinação do caráter do ligante NO coordenado, uma vez que nesta técnica é possível a detecção de espécies radicalares paramagnéticas. O complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O foi analisado por RPE e nenhum sinal foi identificado, indicando que o referido complexo é RPE silente. Este resultado indica um acentuado caráter nitrosônio do ligante NO e está de acordo com os resultados de espectroscopia vibracional e voltametria cíclica. O mesmo comportamento foi observado para os complexos análogos *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ ³² e *trans*-[Ru(NO)Cl(1-(3-propilamonio)cyclam)](PF₆)₂ ⁹⁶.

III.3.5. Espectroscopia no infravermelho.

Complexos metálicos com NO apresentam frequências de estiramento do NO no espectro vibracional que são influenciadas por parâmetros como tipo de metal, ligantes da esfera de coordenação, ângulo de ligação M-NO e notadamente o estado formal de oxidação do NO ou seja, NO⁻, NO e NO⁺ ³. Nitrosilo complexos de rutênio, em particular, mostram frequências de estiramento do óxido nítrico coordenado entre 1800 e 2000 cm⁻¹, sendo estas indicativas do caráter nitrosônio do ligante ³. Complexos que apresentam o ligante nitrosilo ligado de forma angular ao centro metálico geralmente apresentam frequências de estiramento menores que os ligados de forma linear.

O espectro vibracional do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O (Figura 27) apresenta uma banda característica em 1881 cm⁻¹ que pode ser atribuída à frequência de estiramento ν_(NO) e está próxima ao valor observado para os complexos análogos *trans*-[Ru(NO)Cl(1-(3-propilamônio)cyclam)](PF₆)₂ (1865 cm⁻¹) ⁹⁶ e *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ (1875 cm⁻¹) ³², o que indica que a estrutura observada para esse complexo não influencia significativamente na frequência de estiramento do ligante nitrosilo. Devido ao fato do

ângulo de ligação O(5)-N(5)-Ru ser 167.7(2) para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O, enquanto o mesmo ângulo é de 178.0(4) para *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂, esperar-se-ia um estiramento no IV menor para o complexo *fac*, o que não é observado, donde se conclui que a ligeira angulação observada parece não ser suficiente para provocar um deslocamento para menores frequências. Outro estiramento característico observado nesse espectro é o referente ao grupamento carboxila do substituinte (1688 cm⁻¹).

Na região de 3200 a 2800 cm⁻¹, a qual compreende os estiramentos NH do ligante macrocíclico, é possível observar diferenças no número e intensidade das bandas as quais refletem tanto a mono-N-substituição como as diferenças estruturais observadas entre estes complexos.

Figura 27. Espectro de infravermelho do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O em KBr.

Figura 28. Espectro de infravermelho do complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ em KBr.

O espectro vibracional para o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ (Figura 28) apresenta a banda do ligante nitrosilo em 1870 cm⁻¹, com um desdobramento em 1855 cm⁻¹. O valor observado para $\nu_{(\text{NO})}$ no complexo com o ligante cyclam é próximo ao valor relatado na literatura (1875 cm⁻¹). Este tipo de desdobramento tem sido observado para outros nitrosilo complexos de rutênio³⁴ e tem sido atribuído ao efeito do estado sólido que provém da influência dos estiramentos de moléculas dentro de uma mesma célula unitária^{6;34}. No entanto, o mesmo desdobramento não é observado para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O no estado sólido.

Tabela 8. Atribuições tentativas das bandas na região do infravermelho^a para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O.

Complexo	Atribuição			
	ν_{NH}	ν_{NO}	ν_{COOH}	δ_{CH}
<i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H ₂ O	3100-2800	1881	1688	1460-740
<i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF ₆) ₂ ^b	3000-2800	1870	-	1450-850
<i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF ₆) ₂ ^c	3200	1875	-	1400-800

^a em pastilha de KBr. ^b neste trabalho. ^c ref. ³²

III.3.6. Espectroscopia no Ultra-Violeta e Visível.

Complexos do tipo *trans*-[Ru(NH₃)₄L(NO)]^{*n*+} (L = Cl⁻, H₂O, NH₃, OH⁻, py e pz) apresentam de sete a dez transições possíveis no espectro eletrônico segundo cálculos TD-DFT ²⁷. Os resultados destes estudos têm sido utilizados para se atribuir as bandas dos nitrosilo complexos de rutênio com aminas cíclicas, como o *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ ³² e *trans*-[Ru(NO)Cl(1-(3-propilamônio)cyclam)]²⁺ ^{6;96}. Estes complexos apresentam bandas nas regiões de 260 - 280 nm, 300 - 350 nm e 420-480 nm ^{32;96}. A banda na região de 260-280 nm tem uma contribuição de uma transição atribuída como TCLM [$p_{\pi}(\text{Cl}) - e_g(\text{Ru})$]. A banda na região de 300-350 nm consiste de pelo menos uma transição atribuída à transição d-d ¹A₁-¹T₁, somada a uma transição MLCT ($d_{\pi}(\text{Ru}) \rightarrow \text{NO}$). O espectro eletrônico destes complexos ainda apresenta uma banda alargada, de baixa intensidade na região entre 420 e 480 nm, para a qual contribui uma transição TCML $t_{2g}(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{NO})$. Os cálculos de TD-DFT para complexos do tipo *trans*-[Ru(NH₃)₄L(NO)]^{*n*+} indicam também nesta região (420-480 nm) uma transição $d_{xy}d_{yz}(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{NO})$. As bandas descritas acima são as principais observadas experimentalmente e têm as contribuições de transições previstas e

descritas acima, além de outras possíveis transições de acordo com os cálculos, como mencionado anteriormente.

As Figuras 29 e 30 mostram os espectros UV-Vis para os complexos *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ e *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺. As principais bandas de absorção e seus coeficientes de extinção molar são mostrados na Tabela 9.

Tabela 9. Dados espectroscópicos para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ e alguns complexos análogos em solução aquosa.

Complexo	λ (nm)	ε (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)
<i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)] ²⁺ ^a	262	2500
	352	190
	435	54
<i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(1-(3-propilamonio)cyclam)] ²⁺ ^b	272	3100
	360	400
	455	90
<i>trans</i> -[Ru(NO)Cl(cyclam)] ²⁺ ^c	266	2970
	352	120
	445	40
<i>fac</i> -[Ru(NO)Cl ₂ (κ ³ N ⁴ ,N ⁸ ,N ¹¹ (1-carboxipropil)cyclam)] ⁺ ^d	264	1860
	404	340
	532	76

^a ref. ³²; ^b ref. ⁹⁶; ^c neste trabalho. ^d neste trabalho obtido por deconvolução de bandas.

Figura 29. Espectro UV-Vis do $\text{trans-[Ru(NO)Cl(cyclam)]}^{2+}$ em água (A) região de 280 a 700 nm a $2,6 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (B) região de 300 a 700 nm a $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Figura 30. Espectro UV-Vis do $\text{fac-[Ru(NO)Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ a $3,8 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (A) região de 200 a 700 nm e (B) região de 300 a 700 nm. (—) Deconvolução Gaussiana.

Como pode ser observado na Tabela 9 a banda na região de 260-280 nm para o *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ apresenta uma absorptividade molar menor em relação aos complexos análogos e as bandas no visível encontram-se deslocadas para região de menor energia do espectro eletrônico em relação aos análogos. Estas diferenças observadas são possivelmente consequência da estrutura do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ que apresenta uma simetria muito diferente dos complexos análogos e também da presença de mais um átomo de cloreto se comparado ao complexo com o ligante cyclam. Embora as regiões dos máximos de absorção para este complexo sejam semelhantes às observadas para os análogos de configuração *trans*, torna-se difícil fazer uma atribuição precisa das transições para o complexo *fac*, embora transições do tipo TCLM [$p_{\pi}(\text{Cl}) - e_g(\text{Ru})$], MLCT ($d_{\pi}(\text{Ru}) \rightarrow \text{NO}$) e TCML $t_{2g}(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{NO})$ sejam possíveis e possam estar ocorrendo para esse complexo.

III.4. Reatividade Eletroquímica

Complexos metálicos com o NO apresentam processos redox que podem ser atribuídos ao par {RuNO}^{6/7} ^{6;7;32;33;39} os quais correspondem à redução da unidade {RuNO}⁶ para {RuNO}⁷. Para os complexos de Ru(II) do tipo *trans*-[Ru(NH₃)₄L(NO)]ⁿ⁺ (L = bases nitrogenadas heterocíclicas), após a redução, observa-se a labilização do ligante NO e a formação do respectivo aquo complexo de rutênio(II). Para seus análogos com ligantes tetraazamacrocíclicos como cyclam e 1-(3-propilamonio)cyclam, a labilização do ligante nitrosilo é precedida de reações químicas acopladas ao processo de transferência de elétrons, ^{6;32;96} dentre as quais, a aquação do ligante cloreto.

Inicialmente o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ foi caracterizado por voltametria cíclica. A Figura 31 mostra o ciclo voltamograma para o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ preparado através da reação com o RuNOCl₃. O complexo apresenta um processo redox reversível com um par de picos (1a/1c) com $E'_{1/2} = -0,32$ V, o que está de acordo com o relatado na literatura ³².

Figura 31. Ciclo voltamograma do $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$ a 1 mmol.L^{-1} em $\text{KCl}/\text{HCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ($\text{pH} = 1$), $T = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, utilizando-se como eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, carbono vítreo, Ag/AgCl e platina, respectivamente.

Como será apresentado a seguir, a reatividade eletroquímica do complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ parece ser muito mais complexa que a apresentada pelo complexo análogo $trans\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{cyclam})]^{2+}$.

O meio escolhido para os estudos iniciais de eletroquímica foi $\text{HCl } 0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, uma vez que o crescimento do cristal foi realizado neste mesmo meio, o que, esperar-se-ia que garanta a manutenção da configuração e ao menos a princípio, poderia inibir a ocorrência de eventuais reações como, por exemplo, a labilização dos ligantes cloretos. O voltamograma cíclico é mostrado na Figura 32.

Figura 32. Ciclo voltamograma do $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ a 1 mmol.L^{-1} em $HCl\ 0,5\text{ mol.L}^{-1}$, $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, a 100 mV.s^{-1} .

Na Figura 32, observa-se que se iniciando a varredura em 0 V e varrendo-se no sentido de potenciais mais negativos, observa-se um pico catódico 1c em -0,39 V. Após a inversão da varredura, observa-se um pico anódico 2a alargado e pouco definido em aproximadamente -0,16 V, sendo que esse comportamento não se altera com velocidades de varredura na faixa de 20 mV.s^{-1} até 1 V.s^{-1} . O potencial do pico catódico neste complexo é próximo ao potencial de pico catódico nos complexos análogos $trans-[RuCl(NO)(cyclam)]^{2+}$, $E_{pc} = -0,32\text{ V}$ ³², e $trans-[Ru(NO)Cl(1-(3\text{-propilamonio)cyclam})]^{3+}$, $E_{pc} = -0,34\text{ V}$ ⁹⁶ os quais são atribuídos ao processo de redução $\{RuNO\}^{6/7}$. Esta semelhança sugere que no complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ o pico catódico em -0,38 V seja correspondente ao mesmo processo de redução observado nos análogos, ou seja $\{RuNO\}^{6/7}$. Para se confirmar a indentidade deste processo de redução, o complexo foi eletrolisado a -0,5 V e os ciclovoltamogramas foram registrados em diferentes tempos (Figura 33). Em um outro experimento, a eletrólise realizada no mesmo potencial foi acompanhada através de um eletrodo seletivo para NO (Figura 34).

Figura 33. Ciclo voltamograma do $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ a 1 mmol.L^{-1} em $HCl\ 0,5\text{ mol.L}^{-1}$, $T = 25\text{ }^\circ C$ a 100 mV.s^{-1} , variando-se o tempo de eletrólise em $-0,5\text{ V}$, utilizando-se como eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, carbono vítreo, $Ag/AgCl$ e platina, respectivamente.

Figura 34. Acompanhamento da eletrólise do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em $-0,5\text{ V}$ em $HCl\ 0,5\text{ mol.L}^{-1}$ utilizando um eletrodo seletivo para NO. (—) $1,0\text{ mmol.L}^{-1}$ do complexo, (—) eletrólito suporte.

Como pode ser observado na Figura 33 com o aumento do tempo de eletrólise ocorre uma diminuição da intensidade do pico 1c com o aparecimento concomitante de um processo anódico (2a) em -0,19 V e um novo processo catódico (3c) em -0,32 V (após 20 minutos de eletrólise) os quais provavelmente são resultantes da aquação do ligante nitrosilo. A diminuição da intensidade do pico em -0,38 V indica a labilização do NO, a qual resulta em um aumento da concentração de óxido nítrico na solução, que se reflete no aumento da corrente medida pelo eletrodo seletivo para NO (Figura 34). Portanto, conforme os resultados obtidos acima, é possível afirmar que o processo de redução em -0,38 V é, como suposto anteriormente, referente à redução $\{\text{RuNO}\}^{6/7}$.

Por outro lado, a característica do pico anódico 2a (Figura 32) indica uma irreversibilidade, possivelmente devido à presença de reações químicas acopladas. Nos complexos análogos $\text{trans-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{cyclam})]^{2+}$ e $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{1-(3-propilamonio)cyclam})]^{3+}$ a reversibilidade do processo redox ($E_{\text{RuNO}^+/\text{RuNO}}$) é dependente do meio. Para o $\text{trans-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{cyclam})]^{2+}$, em meio aquoso, na ausência de cloreto, observa-se uma rápida aquação do cloreto ($k \sim 1,5 \text{ s}^{-1}$) após a redução do centro $\{\text{RuNO}\}^6$ com a formação do respectivo aquo complexo de rutênio(II) $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})(\text{OH}_2)(\text{cyclam})]^{2+}$. No entanto, em meio aquoso, na presença de cloreto, ou em meio de acetonitrila, o processo ($E_{\text{RuNO}^+/\text{RuNO}}$) é reversível ³². A reversibilidade do processo redox em meio aquoso para o $\text{trans-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{cyclam})]^{2+}$, pode ser atribuída à lenta dissociação do NO coordenado após a redução ($k_{\text{NO}} = 6.1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) ³².

Como será apresentado a seguir, a reatividade eletroquímica do complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$, no que concerne ao processo anódico obtido após a redução, depende não apenas do meio (aquoso ou orgânico) mas também do tipo de eletrólito, pH, temperatura, concentração de cloreto e velocidade de varredura. Esse fato é devido à estrutura molecular singular deste complexo, o qual apresenta, coordenado ao rutênio, dois ligantes cloretos e o ligante nitrosilo. Esta configuração ainda pode favorecer, após a redução do complexo, a labilização dos ligantes cloretos além da já esperada labilização do ligante nitrosilo. Outro fator adicional na reatividade eletroquímica é a possibilidade de coordenação do grupo

carboxilato ao átomo de rutênio após a labilização do ligante nitrosilo e/ou dos ligantes cloretos.

Inicialmente, optou-se por estudar o efeito da concentração de cloreto na reatividade eletroquímica do complexo *fac*. Com este objetivo foram obtidos ciclovoltamogramas em solução de NaNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ($\text{pH} = 1$) e NaCl $0,1$ ($\text{pH} = 1$) e $4,0 \text{ mol.L}^{-1}$ ($\text{pH} = 1$) (Figura 35 A-C).

Figura 35. Estudo da variação da concentração de cloreto no comportamento eletroquímico do complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em $\text{pH} = 1$. (A) em NaNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, (B) em NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, (C) em NaCl $4,0 \text{ mol.L}^{-1}$. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} , $T = 25^\circ\text{C}$.

Como pode ser observado na Figura 35, nas condições de análise estudadas acima, não foi notada nenhuma diferença no comportamento eletroquímico no que concerne ao processo catódico. A onda anódica não apresenta alterações perceptíveis, indicando que, nestas condições, a concentração de cloreto não influencia. No entanto, como será apresentado, a dependência da concentração de cloreto é observada com a variação do pH. A Figura 36 mostra os ciclovoltamogramas do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ em pH = 4,7 variando-se a concentração de cloreto. Há que se ressaltar que neste pH o carboxilato do substituinte carboxipropil está desprotonado uma vez que este grupo apresenta pK_a = 3,3 ± 0,1 (vide item III.5.1).

Figura 36. Estudo da variação da concentração de cloreto no comportamento eletroquímico do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ em pH = 4,7. Velocidade de varredura 20 mV.s⁻¹, T = 25 °C.

Na Figura 36 é possível observar que existe uma diferença clara no processo anódico em pH = 4,7 sendo que este se torna muito mais definido. Enquanto na

concentração $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de cloreto observa-se uma onda anódica bem definida, na concentração $4,0 \text{ mol.L}^{-1}$ de cloreto o processo anódico é praticamente suprimido. A pequena diferença (37 mV) observada no processo catódico para as duas condições em questão é devida à diferença da concentração do eletrólito suporte. Há que se ressaltar que os processos catódicos e anódicos observados na Figura 36 quando o ciclovoltamograma é obtido em $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de NaCl, não devem ser referentes ao mesmo par redox uma vez que $\Delta E \sim 110 \text{ mV}$ e a razão $I_{pa}/I_{pc} \sim 0,5$. Portanto, é possível observar que existe uma dependência da concentração de cloreto no comportamento eletroquímico deste complexo. Como mencionado anteriormente, o processo anódico depende também do pH do eletrólito suporte. Para se verificar essa dependência foram realizados estudos utilizando-se como eletrólito suporte NaNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em pH 1,0 e 4,7 e NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em pH 1,0 e 4,7. Os resultados são mostrados nas Figuras 37 e 38.

Figura 37. Estudo da variação do pH no comportamento eletroquímico do complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ utilizando NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} , $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Figura 38. Estudo da variação do pH no comportamento eletroquímico do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ utilizando $NaNO_3$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} , $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Como pode ser observado nas Figuras 37 e 38, dependendo do pH, é possível visualizar uma onda anódica definida, indicando uma dependência desse fator. Quando os ciclovoltagemogramas são obtidos em $pH = 1$ o processo anódico é praticamente suprimido. No entanto, quando os voltamogramas são registrados em $pH = 4,7$ observam-se ondas anódicas bem definidas para ambos os casos. Como mencionado anteriormente, o grupamento carboxila no complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ possui um pK_a $3,3 \pm 0,1$, portanto, em $pH = 1$, o carboxilato encontra-se protonado e em $pH = 4,7$ desprotonado, tornando-o potencialmente capaz de uma coordenação intramolecular no complexo após a redução. Para os casos nos quais se observa a onda anódica definida, quando a varredura é iniciada em 0 V e a inversão do sentido realizado em $-0,30 \text{ V}$ (Figura 39), ou seja, antes da redução do

complexo, não é observada a presença da onda 2a, indicando que esse processo é dependente da redução do centro $\{\text{RuNO}\}^6$.

Figura 39. Voltamograma cíclico do complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ $\text{pH} = 4,7$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ a 20 mV.s^{-1}

Há ainda que se ressaltar que a concentração de cloreto de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ não influencia na característica da onda anódica. Segundo os resultados obtidos acima, há evidências da ocorrência de reações químicas acopladas ao processo de redução do centro $\{\text{RuNO}\}^6$. Para verificar essa possibilidade foram realizados estudos em $\text{pH} = 4,7$ variando-se a velocidade de varredura e a temperatura na qual foram obtidos os ciclovoltagramas. Os resultados são mostrados nas Figura 40 e 41.

Figura 40. Estudo da variação da velocidade de varredura no comportamento eletroquímico do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 4,7; T = 25 °C. (A) velocidade de varredura 200 mV.s^{-1} e (B) 20 mV.s^{-1}

Figura 41. Estudo da variação da temperatura no comportamento eletroquímico do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH = 4,7. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} .

Como pode ser observado nas Figuras 40 e 41 a onda anódica é praticamente suprimida tanto através da diminuição da temperatura quanto pelo aumento da velocidade nas mesmas condições, ou seja, solução de NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH} = 4,7$. Estes resultados indicam a ocorrência de uma reação química acoplada à redução do centro $\{\text{RuNO}\}^6$, como mencionado anteriormente. Esta reação parece ser a responsável pela onda anódica observada e é suprimida, nestas condições, pela diminuição da temperatura e/ou aumento da velocidade.

A partir dos resultados relatados acima, algumas considerações e propostas podem ser feitas. Após a redução do complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em solução de NaNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ $\text{pH} = 3,0$, com Eu(II) ou por eletrólise, ocorre a labilização dos dois ligantes cloretos conforme determinado por potenciometria direta com eletrodo seletivo de cloreto, embora não tenha sido possível determinar as respectivas constantes de aquação (vide item III.5.2). Da mesma forma, como pode ser observado nas Figuras 33 e 34, após a redução eletroquímica do complexo, é possível observar a diminuição da intensidade do pico catódico, a qual estaria ligada à liberação de óxido nítrico. Assim, após a redução do complexo espera-se, a princípio, a substituição dos ligantes cloretos e do ligante nitrosilo por moléculas de água. Uma das possibilidades para a formação da onda anódica seria uma reação de desprotonação de uma ou mais das águas coordenadas ao centro de rutênio(II) que após a oxidação levaria à formação do hidroxocomplexo de rutênio(III), já que o pK_a em complexos de Ru(III) é notadamente mais baixo que para os análogos de rutênio(II) ²⁵. Essa reação, portanto, seria mais significativa quando o pH da solução fosse 4,7, como é o caso. No entanto, como as reações ácido-base são geralmente muito rápidas, a diminuição da temperatura e o aumento da velocidade de varredura não seriam suficientes para inibi-las.

Através da Figura 36 onde é estudada a variação da concentração de cloreto em um pH acima do pK_a da carboxila, não se observa a onda anódica definida. Na concentração de $4,0 \text{ mol.L}^{-1}$ de cloreto, esses ânions poderiam se ligar ao centro de rutênio no ponto de coordenação deixado livre pela saída do ligante nitrosilo. Da mesma forma, nesta concentração de cloreto, esperar-se-ia uma inibição da labilização dos ligantes cloretos. Assim não haveria um ponto de coordenação livre na esfera do

centro metálico ao qual o carboxilato pudesse estar se ligando, o que poderia originar a supressão do pico anódico observada. Como mencionado anteriormente, em pHs superiores aos pKa da carboxila, a onda anódica é definida. Esse resultado sugere a ocorrência de uma reação onde o carboxilato possivelmente se coordena ao átomo de rutênio. As moléculas de água coordenadas ao átomo de rutênio são lábeis e, portanto, podem permitir a coordenação mencionada. A coordenação de grupos funcionais (-NH₂ ou -COOH) presentes em complexos de Cu, Ni e Co com o ligante cyclam mono-N-substituído, tem sido relatada na literatura ⁷⁸ e ocorre em função do pH do meio devido à protonação/desprotonação do grupo funcional do substituinte. Foi observado que a coordenação do grupo funcional altera tanto as propriedades espectroscópicas quanto eletroquímicas. Uma vez que essa reação deve requerer a saída dos ligantes (NO ou Cl), a mesma seria afetada pelo aumento de velocidade e/ou diminuição da temperatura a qual de fato é, como pode ser observado nas Figuras 40 e 41. Ainda é necessário o conhecimento de qual ponto de coordenação poderia ser ocupado pelo carboxilato após a redução, dado que os ligantes (NO e Cl) devem sofrer uma labilização com diferentes velocidades. Uma evidência surge dos diferentes comportamentos observados quando os ciclovoltamogramas são registrados a 4 °C.

Figura 42. Estudo da variação da concentração de cloreto no comportamento eletroquímico do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ em pH = 4,7. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} . $T = 4\text{ }^\circ\text{C}$

Observa-se na Figura 42 que o ciclovoltagem obtido em $NaNO_3$ apresenta a onda anódica mais definida que o ciclovoltagem obtido em $NaCl$ no mesmo pH. Este fato sugere que a $4\text{ }^\circ\text{C}$ a concentração de cloreto de $0,1\text{ mol.L}^{-1}$ é suficiente para inibir a reação que possa estar levando à coordenação do carboxilato ao centro de rutênio. Desta forma é mais provável que, após a redução, ao menos um dos cloretos seja labilizado mais rapidamente que o ligante nitrosilo, sendo esta a posição possivelmente a ser ocupada pelo carboxilato.

Dado o exposto acima, acreditamos que possa estar ocorrendo a coordenação do grupo carboxila do substituinte carboxipropil presente no complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^+$ após a redução em soluções de pH acima do pK_a da carboxila. No entanto, seriam necessários estudos ainda mais aprofundados na tentativa de se elucidar a reatividade eletroquímica deste complexo e a identidade do produto de redução. Estes estudos provavelmente necessitariam da síntese de outros complexos para fins comparativos.

III.4.1 Determinação da velocidade de dissociação do NO no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl

Nitrosilo complexos de rutênio apresentam, em geral, grande estabilidade da ligação Ru-NO em relação à labilização do ligante nitrosilo coordenado. No entanto, a dissociação é observada após a redução química ou eletroquímica da unidade {RuNO}⁶. A velocidade de dissociação do NO na unidade {Ru-NO}⁷ depende diretamente dos ligantes axiais e equatoriais presentes na sua esfera de coordenação^{7;125}. Para complexos do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄L]ⁿ⁺ (L = bases nitrogenadas heterocíclicas) essa velocidade é dependente do ligante em *trans* ao NO. Para este tipo de complexo, a velocidade de labilização do NO pode variar de 0,02 s⁻¹ no *trans*-[Ru(NO)(NH₃)(4-pic)]³⁺ (4-pic = 4-picolina) até 4,0 s⁻¹ no *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(ImC)]³⁺ (ImC = imidazol coordenado pelo carbono). Os valores de *k*_{NO}, quando comparados a nitrosilo complexos de rutênio com ligantes macrocíclicos como cyclam, pode variar de até aproximadamente 10.000 vezes como observado entre o *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(ImC)]³⁺ (ImC = imidazol coordenado pelo carbono) (*k*_{NO} = 4,0 s⁻¹) e o *trans*-[Ru(NO)(OH₂)(cyclam)] (*k* = 6,1x10⁻⁴ s⁻¹)³²

A velocidade de dissociação de NO (*k*_{NO}) é uma propriedade importante, pois, além do aspecto de reatividade, potenciais aplicações biológicas, bem como seus possíveis efeitos como, por exemplo, o controle da pressão sanguínea, depende deste parâmetro^{92;126}. Com o objetivo de se determinar a velocidade de dissociação do NO no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl foram empregadas técnicas eletroquímicas como voltametria com eletrodo de disco-anel, voltametria de duplo degrau de potencial e voltametria cíclica com microeletrodo. No entanto, embora as duas primeiras técnicas mencionadas tenham sido utilizadas para a determinação dos valores das constantes de dissociação do NO para os complexos do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺, as mesmas não se mostraram adequadas para a determinação desse parâmetro no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl. Esse resultado provavelmente está relacionado com a complexidade da reatividade eletroquímica desse complexo. Esse fato foi evidenciado pelos estudos de voltametria cíclica com alguns fatores como a irreversibilidade do

processo de redução $\{\text{RuNO}\}^{6/7}$ dentro das condições experimentais estudadas e a dificuldade de se detectar de forma clara o processo redox referente ao produto de aquação, bem como sua identidade, além da dependência da reatividade eletroquímica com diversos fatores como tipo de eletrólito suporte, pH, velocidade de varredura e temperatura (vide item III.4).

Tendo em vista estes resultados, decidiu-se empregar a técnica de voltametria cíclica utilizando microeletrodo de platina para se determinar uma constante observada ($k_{\text{obs -NO}}$).

A utilização da técnica de voltametria cíclica com microeletrodo apresenta algumas características como o fato de não haver empobrecimento do material eletroativo na camada de difusão, uma vez que o material gerado eletroquimicamente é rapidamente removido. Em vista destas características, voltamogramas obtidos com velocidades relativamente lentas apresentam curvas $I \times E$ com formato sigmoidal ocasionado pelo processo de difusão radial. Deve-se ainda mencionar que este eletrodo, devido à sua área, pode alcançar velocidades de varredura de até 10^6 V.s^{-1} , o que possibilita o estudo da cinética de reações rápidas ¹²⁷.

O microeletrodo de platina utilizado nas medidas foi previamente confeccionado no laboratório do Prof. Dr. Mauro Bertotti, conforme descrito na literatura ¹²⁸. Esse eletrodo teve seu raio efetivo previamente determinado utilizando-se soluções de diferentes concentrações de ferrocianeto de potássio ($1, 2, 3, 4$ e $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) em $\text{KCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$. O raio efetivo obtido foi de $(15,4 \pm 0,1) \mu\text{m}$. Os voltamogramas cíclicos obtidos com o microeletrodo para o complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]\text{Cl}$ são mostrados na Figura 43.

Figura 43. Voltamogramas com microeletrodo de platina (raio = 15,4 μm) para a solução 1 mM do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂($\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}$ (1-carboxipropil)cyclam)]⁺ em solução KCl (pH ~ 1, $\mu = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) à 25°C. As velocidades de varredura utilizadas são mostradas no gráfico, em V.s^{-1} .

Como pode ser observado, em velocidades menores ($0,5 \text{ V.s}^{-1}$), o voltamograma cíclico apresenta a forma sigmoideal, como mencionado anteriormente. O processo catódico encontra-se em -0,42 V próximo ao valor observado para o processo {RuNO}^{6,7} observado no item III.4 ($E_{\text{pc}} = -0,39 \text{ V}$). Em velocidades mais altas ($10\text{-}40 \text{ V.s}^{-1}$) é possível visualizar o respectivo pico anódico.

Para a determinação do $k_{\text{-NO}}$ foram empregadas as seguintes equações:

$$E_p = E_{1/2} - (R T / n F).0,780 + (R T / 2n F).\ln \lambda \quad (\text{Eq. 03})$$

$$\lambda = k R T / n F v \dots\dots\dots (\text{Eq. 04})$$

Onde:

R = constante de

F = constante de Faraday

n = número de elétrons envolvidos na reação

T = temperatura

k = constante de velocidade

v = velocidade de varredura

As equações 03 e 04 foram combinadas possibilitando a construção do gráfico de $(E_{pc} - E_{1/2})$ vs $\log 1/v$ (Figura 44)

Figura 44. Gráfico de $(E_{pc} - E_{1/2})$ vs $\log 1/v$ obtido utilizando-se os dados obtidos por voltametria cíclica utilizando microeletrodo de platina.

Através da inclinação da reta foi possível calcular o valor da constante de dissociação do NO para o complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4, N^8, N^{11}(1-carboxipropil)cyclam)]^+$ $k_{obs-NO} = 2,8 \text{ s}^{-1}$. Esse valor é aproximadamente quatro ordens

de grandeza superior ao valor observado para o análogo *trans*-[Ru(NO)(OH₂)(cyclam)]²⁺. Em vista da possível presença de diversas espécies após a redução do ligante nitrosilo coordenado no complexo *fac*, a constante de labilização do NO, como mencionado anteriormente, é uma constante observada, o que dificulta a comparação direta com constantes específicas como as determinadas para os complexos *trans*-[Ru(NO)(H₂O)(cyclam)]²⁺ e os complexos do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺. Portanto, estes resultados são preliminares uma vez que é necessário conhecer a reatividade do complexo estendendo-se inclusive a condições de pH fisiológicas.

III.5. Reatividade Química

III.5.1. Determinação dos valores de pKa para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O.

Complexos de rutênio com ligantes azamacrocíclicos como cyclam e seus análogos substituídos podem apresentar hidrogênios passíveis de ionização em sua estrutura, sendo esses notadamente pertencentes aos grupos NH e/ou aos grupos substituintes. A desprotonação de um desses grupos amina pode alterar suas propriedades químicas como potencial redox ou influenciar na ocorrência de reações com nitrilas coordenadas como observado para o *trans*-[RuCl(L)(cyclam)]^{2+/3+} (L = piridinacarboxamida ou 4-cianopiridina) ¹²⁹. Outra possibilidade é a coordenação do grupo funcional do substituinte ao centro metálico como observado para complexos de Ni, Cu e Co com o ligante cyclam mono-N-substituído com grupo aminopropil ou carboxipropil ^{78;109}.

O valor dos pKas para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ foi estimado utilizando-se titulação potenciométrica e voltametria de pulso diferencial variando-se os pHs da solução. No primeiro caso, tínhamos como objetivo a determinação do pKa do grupamento carboxila do substituinte e dos grupamentos N-H do ligante macrocíclico. No segundo caso, a

determinação do pKa das aminas do ligante macrocíclico bem como do grupo nitrosilo coordenado ao rutênio. É conhecido que o grupo nitrosilo em tetraaminas de rutênio pode sofrer ataque nucleofílico por íons OH^- , gerando a espécie nitro (NO_2^-) coordenada^{7;34}. Além de indicar a reatividade do grupo nitrosilo coordenado frente ao ataque eletrofílico, esse estudo indica qual espécie poderá estar presente em meio fisiológico (pH = 7,4). A Figura 45 mostra a curva de titulação potenciométrica obtida para o complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$.

Figura 45. Curva de titulação potenciométrica para o complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ (2 mM, $\mu = 0,10 \text{ mol.L}^{-1} \text{ NaCl}$) com $\text{NaOH } 0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ à temperatura ambiente.

Como pode ser observado na Figura 45 existem dois pontos de inflexão. Através destes pontos foi possível obter os seguintes valores de $\text{pK}_{a1} = 3,3 \pm 0,1$ e $\text{pK}_{a2} = 8,5 \pm 0,1$. Através do número de equivalentes de base gasto, foi possível determinar que, para cada ponto de inflexão, foi titulado um hidrogênio. O valor de pH inicial, próximo de 3, sugere que o primeiro valor corresponde à desprotonação do

carboxilato do grupo substituinte cujo valor é próximo do observado para o cloridrato de 1-(carboxipropil)cyclam ($pK_a = 3,4$). Conforme o cálculo do número de mols de hidroxilas gasto, no primeiro ponto de inflexão foi titulado apenas um hidrogênio, portanto de acordo com o suposto. Esperar-se-ia, a princípio, que a acidez do hidrogênio do carboxilato no complexo fosse maior devido ao efeito indutivo ocasionado pelo centro metálico. No entanto, como pode ser observado através da estrutura molecular do *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ^3N^4,N^8,N^{11} (1-carboxipropil)cyclam)]⁺, o nitrogênio no macrociclo que possui o substituinte não está coordenado ao átomo de rutênio, o que diminuiria o efeito indutivo sobre o carboxilato do grupo substituinte, não alterando, portanto, significativamente a acidez do hidrogênio deste grupo, como observado.

O segundo valor de pK_a provavelmente é devido à desprotonação de um dos grupos N-H do ligante macrocíclico no complexo haja vista que o número de mols de hidroxilas gasto no segundo ponto de inflexão corresponde à titulação de um hidrogênio. No nitrosilo complexo de rutênio, o segundo pK_a (~ 8,5) é menor que os valores de pK_a mais altos observados para o ligante livre protonado (10,11 e 11,45). A presença da unidade {Ru-NO}⁶⁺ no complexo, deve exercer um efeito indutivo sobre o hidrogênios dos grupos amina, tornando-os mais ácidos, como observado. Este resultado está de acordo com o observado para o complexo *trans*-[RuCl₂(cyclam)]⁺ ($pK_a \cong 7,9$)¹²⁹ cujo valor também é menor que no ligante cyclam livre.

A estimativa do valor do pK_a também foi feita utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial permitindo a construção do gráfico de pH por E_{pc} , como mostrado na Figura 46.

Figura 46. Gráfico de potenciais de pico (E_{p_c}) em função dos pHs para a determinação dos pKas para o complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$. Concentração do complexo 1 mM (pH inicial ~ 1 , $\mu = 0,5 \text{ mol.L}^{-1} \text{ KCl}$).

Figura 47. Voltametria de pulso diferencial para o complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]^+$ em diferentes valores de pH. Concentração do complexo 1 mM (pH inicial ~ 1 , $\mu = 0,5 \text{ mol.L}^{-1} \text{ KCl}$).

Nas Figuras 46 e 47, podem ser identificadas 3 espécies conforme o pH da solução é variado. Através da Figura 47 foi possível estimar os valores de $pK_{a1} \sim 8,0$ e $pK_{a2} \sim 11,5$. Acreditamos que o valor de pK_{a1} seja devido à desprotonação do grupo N-H do ligante macrociclo já que este valor encontra-se próximo ao valor estimado através da titulação potenciométrica e é próximo ao valor estimado para o complexo *trans*-[RuCl₂(cyclam)]⁺ ($pK_a \cong 7,9$), para a desprotonação do primeiro grupo N-H¹²⁹. Como, neste caso, o nitrogênio que está sendo desprotonado adquire uma carga negativa, o aumento da densidade eletrônica sobre esse átomo através de efeitos indutivos deveria provocar uma diminuição do potencial catódico do ligante nitrosilo coordenado ao rutênio, o que está de acordo com o observado. Ainda é possível observar a presença de uma terceira espécie com $pK_a \sim 11,5$. Neste caso, dado o valor do potencial de pico observado, acreditamos que esse pK_a seja referente ao ataque nucleofílico dos íons OH⁻ no ligante nitrosilo coordenado com a respectiva formação grupo nitro coordenado. Outro fato relevante observado que pode corroborar as hipóteses descritas acima é a reversibilidade observada para os processos de desprotonação mencionados. Na mesma solução em que foram realizados os estudos da variação de pH, após o valor atingir o pH $\sim 12,5$, foram adicionadas pequenas alíquotas de HCl 1 mol.L⁻¹ e HCl 6 mol.L⁻¹ de modo que o pH fosse diminuído gradativamente para os valores de ~ 9 e ~ 1 . Para ambos os casos, foi observada a regeneração dos respectivos processos catódicos nos mesmos potenciais obtidos anteriormente neste pHs. Este fato nos leva a crer que se tratam de reações de protonação e desprotonação que levam à formação das espécies observadas na voltametria de pulso diferencial e não de reações de substituição no complexo. Da mesma forma, quando o complexo foi dissolvido em soluções de pH ~ 9 e ~ 12 , observou-se a presença dos picos catódicos nos mesmos potenciais obtidos quando a variação de pH foi feita gradativamente.

Conforme as observações acima podemos propor os seguintes equilíbrios para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ^3N^4,N^8,N^{11} (1-carboxipropil)cyclam)]⁺ em solução aquosa.

III.5.2. Labilidade dos ligantes cloretos

O complexo $\text{fac-}[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ apresenta dois cloretos coordenados ao átomo de rutênio. A labilidade destes ligantes foi investigada utilizando-se potenciometria direta empregando-se um eletrodo íon-seletivo para cloreto. Os estudos foram feitos as temperaturas de 25 e 40 °C e após a redução química ou eletroquímica do complexo.

As medidas foram realizadas inicialmente com uma solução $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo fac em NaNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 3,0) à temperatura de 25 ± 1 °C. Nestas condições foi determinada, conforme a curva de calibração, uma concentração inicial de cloreto de $2,2 \pm 0,2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, o que está de acordo com a presença do cloreto aniônico. O valor de corrente permaneceu essencialmente inalterado por duas horas, indicando que, durante esse tempo não ocorre a aquação dos ligantes cloretos. Há que se ressaltar também que nenhuma alteração no espectro eletrônico foi observada mesmo após 9 horas em solução aquosa. Este resultado foi confirmado por espectrometria de massas onde o pico do íon-molecular obtido corresponde à espécie com a presença de dois cloretos coordenados. Foram então realizadas medidas a 40 ± 1 °C, nas mesmas condições. Neste caso, a concentração inicial do complexo foi de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Obteve-se uma concentração inicial de cloreto de $2,1 \pm 0,2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ a qual está de acordo com a presença do cloreto aniônico. A variação da corrente foi

então acompanhada por 160 minutos, sendo que após este tempo não foi observada variação adicional na corrente por até 40 minutos. A concentração de cloreto obtida após esse período foi de $4,1 \pm 0,2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, a qual corresponde à aquação de um Cl^- ligado somada à presença do Cl^- aniônico. Através dos dados obtidos foi possível determinar a constante de aquação do cloreto a 40°C como $k = 5,6 \pm 0,3 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ (Figura 48) e $t_{1/2} = 1,2 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$.

Figura 48. Determinação da constante de aquação do cloreto no complexo *fac*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}_2(\kappa^3\text{N}^4, \text{N}^8, \text{N}^{11}(1\text{-carboxipropil})\text{cyclam})]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$

A labilidade do cloreto em complexos de rutênio com aminas é influenciada pelo estado de oxidação do metal bem como pela sua configuração (*cis* ou *trans*). Dentro de cada um destes tipos, as aminas cíclicas como cyclam apresentam ainda diferenças significativas nesta propriedade em relação aos seus análogos com ligantes NH_3 . De maneira geral, as constantes de velocidade de aquação aumentam de Ru(III) para Ru(II) e de *trans* para *cis* ⁶. Em tetraamin complexos de rutênio(III), como por exemplo no $[\text{RuCl}(\text{NH}_3)_5]\text{Cl}_2$ ($k = 3,1 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$) ¹³⁰ e no *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}$ ($k =$

$1,7 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$). o cloreto é cineticamente inerte frente à reação de substituição, ao passo que nos análogos de rutênio(II) os cloretos são lábeis, como observado para os complexos *trans*-[RuCl₂(NH₃)₄] ($k = 0,9 \text{ s}^{-1}$) e *cis*-[RuCl₂(NH₃)₄] ($k \sim 32 \text{ s}^{-1}$)¹³¹. Contudo, em complexos com o ligante cyclam, o ligante cloreto não apresenta a mesma labilidade. No caso de complexos de Ru(III) como o *trans*-[RuCl₂(cyclam)]⁺ essa velocidade é muito lenta, não sendo observada aquação após 24 horas. Para o complexo *cis*-[RuCl₂(cyclen)]Cl, o valor da constante de aquação é $3,6 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ⁶¹. No entanto, centros de Ru(II) apresentam uma labilidade maior para o ligante cloreto como observado para o complexo *trans*-[RuCl₂(cyclam)]Cl ($k = 0,036 \text{ s}^{-1}$), embora ainda muito inferior aos análogos com ligantes amônia. A inércia do ligante cloreto observada nos complexos com ligante cyclam e seus análogos como por exemplo no *trans*-[RuCl(cyclam)(4-acpy)](BF₄)⁷⁵ e *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](ClO₄)₂³², e *trans*-[RuCl₂(cyclam)]Br⁶³ é creditada às ligações de hidrogênio formadas entre os hidrogênios dos grupos amínicos do anel e os cloretos^{6;63;75}. As distâncias intramoleculares Cl(1)⋯H(N) de 2.70 Å, 2.43 Å e 2.71 Å, respectivamente, encontradas para estes complexos são inferiores à soma dos raios de van der Waals, o que é consistente com ligações de hidrogênio intermoleculares e conseqüentemente com a inércia observada. Outro fator que pode ser mencionado é o aumento da velocidade de aquação conforme as interações de hidrogênio entre os grupos N-H e os ligantes cloretos são suprimidas através da presença de grupos substituintes nos grupos amínicos do macrociclo como observado para os complexos *trans*-[RuCl₂(1-(3-propilamonio)cyclam)]⁺ ($k = 8,2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$) e *trans*-[RuCl₂(tmc)]⁺ ($k = 2,7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$)⁶. Para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O, as distâncias intramoleculares observadas entre o N(2)-H e os átomos Cl(1) e Cl(2) (vide item III.3.1) são respectivamente iguais a 2.652 Å e 3.150 Å. Logo, ao menos um cloreto se encontra ligado ao hidrogênio em uma distância menor que a encontrada no *trans*-[RuCl₂(cyclam)]Br por exemplo. O outro cloreto, embora tenha uma distância interatômica maior, o valor de 3.150 Å é ao menos ainda da mesma ordem do raio de van der Waals para o H e Cl, que esta na faixa de 3.0 a 3.3 Å. Estes resultados concordam com a labilidade observada no complexo *fac* indicando também que o ligante Cl(2) possui uma interação com próton amínico.

Quando a temperatura é aumentada para 40 °C observa-se a aquação de um dos ligantes cloretos, possivelmente o Cl(2), o qual, como mencionado, possui uma distância interatômica N(2)-H...Cl(2) de 3.150 Å. Embora a constante de aquação tenha sido obtida a 40 °C, o valor de $k = 5,6 \pm 0,3 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ indica que no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O a labilidade do cloreto é semelhante à observada para os complexos análogos de Ru(III) como o *trans*-[RuCl₂(NH₃)₄]Cl ($k = 1,7 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$) e *trans*-[RuCl₂(1-(3-propilamonio)cyclam)]⁺ ($k = 8,2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$)⁹⁰, cujas constantes foram determinadas a 25 °C. Nesta temperatura não é observada a labilização dos ligantes cloretos no complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O através de potenciometria direta com o eletrodo de cloreto o que está de acordo com os resultados obtidos por espectrometria de massa, onde, mesmo após aproximadamente 2 dias em solução aquosa, foi observado o pico do íon molecular em m/z 474.2 o qual condiz com a presença de dois átomos de Cl ligados ao átomo de rutênio.

A labilidade dos ligantes cloretos foi também investigada após a redução química do complexo *fac* com Eu²⁺ ou eletroquímica após eletrólise em -0,5 V em solução de NaNO₃ 0,1 mol.L⁻¹ pH = 3,0. O redutor mono-eletrônico Eu²⁺ é capaz de reduzir nitrosilo complexos de rutênio do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ (L = bases nitrogenadas heterocíclicas)³⁴ ou o *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺³². No primeiro caso, a redução leva à dissociação quantitativa do NO com a formação do respectivo aquo complexo de Ru(II). Já no segundo caso, após a redução, a labilização do ligante nitrosilo é precedida por uma rápida aquação do ligante cloreto em *trans* ao NO ($k = 1,5 \text{ s}^{-1}$). A redução de uma solução 2,5 x 10⁻⁴ mol.L⁻¹ do complexo *fac* com solução de perclorato de Eu²⁺ 0,1 mol.L⁻¹ foi acompanhada por voltametria de pulso diferencial. Após o desaparecimento do pico catódico referente à redução da unidade {RuNO}⁶, a quantidade de cloreto encontrada foi igual a $8,9 \times \pm 0,1 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Esse valor é superior ao valor teórico esperado de $7,6 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, embora indique uma concentração que corresponde a labilização dos dois ligantes cloretos somada à presença do cloreto aniônico. No entanto, após a eletrólise completa de uma solução 2,65 x 10⁻⁴ mol.L⁻¹ do complexo *fac* a -0,5 V obteve-se uma concentração de cloreto igual a $8,0 \pm 0,1 \times 10 \text{ mol.L}^{-1}$ a qual está de acordo com o valor teórico de $7,9 \times 10^{-4}$

mol.L⁻¹ esperado para a presença de 3 mols de cloreto por mol de complexo, indicando a labilização dos ligantes após a redução. Há que se ressaltar que, embora tenha sido possível investigar a labilidade dos dois ligantes cloretos após a redução, esse método não permitiu a determinação das velocidades de aquação uma vez que após a adição de Eu²⁺ a corrente apresentava grandes saltos e a eletrólise é apenas capaz de reduzir o complexo gradativamente.

III.6. Estudos Biológicos Preliminares.

III.6.1. Cultura de células neoplásicas

De uma maneira geral, o cultivo celular pode ser definido como um conjunto de técnicas que permitem a manutenção de células *in vitro*, conservando ao máximo suas propriedades fisiológicas, bioquímicas e genéticas. Tanto as células normais quanto as células cancerígenas podem ser cultivadas *in vitro* em laboratório. Entretanto, elas possuem comportamentos diferentes. As células normais passam por um número limitado de divisões celulares (cerca de 50) antes de sua destruição natural. Isto ocorre provavelmente devido à sua inabilidade de sintetizar telomerase em quantidade apreciável. As células de câncer, por sua vez, podem se proliferar indefinidamente em cultura, uma vez que essas produzem telomerase. A enzima telomerase tem a função de repetir a seqüência 5' final de uma fita de DNA. As células normais, quando colocadas em uma placa de meio de cultura, proliferam até quando a superfície do recipiente estiver coberta por uma única camada de células, tocando umas nas outras. Assim ocorre a interrupção do processo mitótico. Esse processo é conhecido por inibição por contato. As células de câncer, por outro lado, não apresentam inibição por contato. Uma vez que a superfície é coberta, a célula continua a se dividir com a formação de uma nova camada sobre a primeira ¹³².

A linhagem celular estudada nesse trabalho foi a B16-F10, que são melanócitos. A linhagem B16-F10 foi desenvolvida pela injeção de células tumorais *i.v.* em camundongos da linhagem C57BL/6 através de sucessivas aplicações, resultando em

células estáveis em suas propriedades metastáticas mesmo após muitas subculturas *in vitro* ^{133;134}.

A escolha da linhagem B16-F10 foi feita uma vez que esta é uma das linhagens disponíveis e tem sido utilizada em estudos de citotoxicidade e fototoxicidade com nitrosilo complexos de rutênio como *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺, *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(py)]³⁺ e [Ru(NO)(Hedta)] tanto em solução como encapsulados em micropartículas de PLGA, ácido poli(láctico e glicólico), fato esse que pode permitir uma comparação dos resultados obtidos para o complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]Cl•H₂O com os complexos mencionados acima. A utilização dessa linhagem, além de ser uma linhagem de células relacionadas a tumores de pele, pode ainda permitir o estudo do efeito fototóxico do complexo *fac* na morte celular.

Na Figura 49, é apresentada uma fotografia de microscopia de luz da célula B16-F10 cultivada nos laboratórios da FMRP-USP, vista sob um aumento de 100 e 400 vezes respectivamente.

Figura 49. Células B16-F10, observadas ao microscópio de luz sob um aumento de (A) 100x e (B) 400 x respectivamente

Como mostra a Figura 49, estas células controle, isto é, células que não foram submetidas à presença do nitrosilo complexo de rutênio apresentam morfologia adequada, distribuindo-se uniformemente sobre a placa atingindo a confluência (Figura 49A). Sob um aumento de 400x (Figura 49B), pode-se observar, ainda, que as

células apresentam a membrana íntegra com núcleos bem definidos, sem a presença de corpos apoptóticos.

III.6.2. Diagrama de crescimento celular.

Os trabalhos iniciais com uma cultura de células devem ser acompanhados de controles básicos, sendo um dos mais importantes deles o que nos fornece a relação de crescimento da cultura celular em função do tempo. Embora existam diferentes tipos de cultura celular, em geral todas apresentam um diagrama de crescimento básico, onde é possível identificar ao menos três fases distintas de crescimento.

A primeira fase é conhecida como fase preparatória. Consiste no período no qual não se observa um crescimento apreciável da cultura celular (0 a 5 %). Nessa fase, as células se adaptam metabolicamente ao sistema de cultura, ou seja, meio, temperatura, recipiente, entre outros fatores.

A segunda fase, conhecida como fase logarítmica ou fase de crescimento, representa a parte mais importante da cultura, onde usualmente encontra-se uma porcentagem de crescimento de 90 a 100%. Essa é, sem dúvida, a melhor fase para execução dos estudos em sistemas celulares, uma vez que a cultura encontra-se em plena atividade metabólica, com número máximo de células saudáveis ¹³⁵.

A terceira fase, conhecida como platô, é caracterizada por apresentar uma população elevada de células, onde geralmente existe uma redução drástica na porcentagem de crescimento (0 a 10 %). Geralmente, nessa última fase, as células não se apresentam fisiologicamente sadias, sendo, portanto, desfavorável o desenvolvimento de estudos relacionados à atividade celular nessa fase.

Para cada tipo diferente de cultura celular, entretanto, deve-se determinar precisamente seu diagrama de crescimento característico, avaliando, onde a mesma atinge a fase ideal, para o preparo de outras sub-culturas e, assim, sucessivamente.

Sendo assim, para a linhagem B16-F10 foi obtido experimentalmente o diagrama de crescimento celular mostrado na Figura 50.

Figura 50. Curva de crescimento padrão para culturas de células B16-F10, em meio HAM-F10, enriquecido com soro bovino fetal (10%).

Pode ser observado na Figura 50 que a fase logarítmica (fase de plena atividade fisiológica) tem início após 48 horas do início da incubação e essa é a fase ideal para a realização dos experimentos e se prolonga até aproximadamente 90 horas, quando as placas atingem a confluência. Este tipo de controle ainda é muito útil na obtenção de informações sobre: cuidados com a manutenção do meio, a periodicidade com que a cultura deve ser alimentada e o tempo ideal para troca de meio de cultura, ou mesmo, a preparação de uma nova sub-cultura.

III.6.3. Citotoxicidade do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]^{+}$

Os efeitos tóxicos do complexo *fac*, *in vitro*, foram determinados através do ensaio do MTT, sendo este ensaio apropriado para se determinar espectrofotometricamente o número de células vivas com atividade mitocondrial.

O método do MTT é simples e confiável e produz resultados reprodutíveis. O componente chave é o 3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-bromodifeniltetrazolio, que dissolvido em meio ou soluções salinas balanceadas sem vermelho de fenol, são de cor amarela. A desidrogenase mitocondrial das células viáveis quebra o anel tetrazolium, produzindo cristais de formazam púrpura, os quais são insolúveis em solução aquosa. Os cristais são dissolvidos em isopropanol acidificado, resultando em uma solução

púrpura que é espectrofotometricamente medida. Um aumento ou diminuição no número de células resulta em uma mudança concomitante na quantidade do formazan produzido, indicando o grau de citotoxicidade, causado pelo teste do material.

O comportamento das células B16-F10 frente a presença do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ em diferentes concentrações (0,0 – 1x10⁻³ mol L⁻¹) é mostrado na Figura 51.

Figura 51. Efeito citotóxico do complexo *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺ na faixa de concentração de 0 a 1x10⁻³ mol.L⁻¹ sobre células B16-F10.

A ação citotóxica do composto *fac*-[Ru(NO)Cl₂(κ³N⁴,N⁸,N¹¹(1-carboxipropil)cyclam)]⁺, avaliada pelo método do MTT (Figura 51) mostra que o composto é praticamente atóxico em toda a faixa de concentração estudada atingindo, na concentração máxima, 12% de morte celular. Estes resultados estão de acordo com o observado para o complexo análogo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺ para a mesma linhagem celular ¹³⁶. Há que se ressaltar que os respectivos aquo complexos de rutênio

trans-[Ru(OH₂)Cl(cyclam)]³⁺, *trans*-[Ru(OH₂)(NH₃)₄(py)]³⁺ e [Ru(OH₂)(Hedta)] não apresentam efeitos citotóxicos o que indica que este efeito é resultado da liberação de óxido nítrico nos nitrosilo complexos ^{136;137}. Um resultado interessante é que o complexo *fac* não apresenta efeitos proliferativos em concentrações menores do complexo, ao contrário do observado para os complexos *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺, *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(py)]³⁺ e [Ru(NO)(Hedta)] ^{136;137}. É conhecido na literatura que baixas concentrações de NO induzem a um efeito proliferativo, enquanto que elevadas concentrações desta espécie conduzem a efeito tóxicos ¹³⁸⁻¹⁴⁰.

Foi observado para a linhagem B16-F10 que os efeitos citotóxicos e proliferativos apresentam uma dependência da velocidade de saída do NO nos complexos *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺, *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(py)]³⁺ e [Ru(NO)(Hedta)] ^{136;137}, sendo que estes efeitos são mais pronunciados para complexos com *k*_{NO} maiores. Por exemplo, para o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(py)]³⁺ (*k*_{NO} = 6,0x10⁻² s⁻¹), observa-se 58% de morte celular na concentração de 1x10⁻³ mol.L⁻¹ ¹³⁷ para a linhagem B16-F10. Embora os estudos biológicos com o complexo *fac* sejam apenas preliminares, como esse complexo apresenta uma velocidade de liberação do NO, ao menos *a priori*, maior que os outros nitrosilo complexos mencionados acima, espera-se-ia efeitos proliferativos ou citotóxicos mais pronunciados que os observados para os complexos *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)]²⁺, *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(py)]³⁺ e [Ru(NO)(Hedta)]. No entanto, tal efeito pode estar relacionado à reatividade eletroquímica do complexo *fac*, a qual se mostrou bastante complexa e necessita de estudos ainda mais aprofundados, incluindo em pH fisiológico. Por outro lado, a ausência de efeitos proliferativos ou citotóxicos podem ser interessantes do ponto de vista do emprego deste complexo como agente fototóxico, uma vez que, sendo este complexo capaz de liberar NO quando fotoestimulado, o efeito observado (citotóxico ou proliferativo) deve ser mais diretamente relacionado à quantidade de óxido nítrico liberada.

***Imobilização de tetraaminas de
rutênio na superfície da sílica gel
modificada***

I. INTRODUÇÃO

I.1. Imobilização de complexos metálicos na superfície da sílica

A sílica gel é uma das variedades da sílica amorfa hidratada, constituindo-se de um esqueleto inorgânico composto por tetraedros (SiO_4) interligados entre si através dos vértices, arestas ou faces ¹⁴¹. Este material apresenta como características principais uma grande área superficial, 400-500 $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$, e uma alta irregularidade de sua superfície. Na superfície destes materiais podem ser encontrados dois tipos principais de espécies: os silanóis ($\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$) e os siloxanos ($\equiv\text{Si}-\text{OH}$), os quais podem se apresentar arranjos de diversas formas estruturais. No caso dos silanóis, esta espécie confere à superfície da sílica gel uma densidade de aproximadamente 7-8 grupos OH por 100 $\text{\AA}^2$ com uma distância média de 3,65 $\text{\AA}$ e são os principais responsáveis pela polaridade superficial ¹⁴¹. A estrutura tridimensional formada pelos tetraedros (SiO_4) dificilmente é colapsada, conferindo às sílicas, de uma forma geral, uma alta estabilidade mecânica, térmica e química. Essas propriedades, aliadas a grande área superficial, tornam essa matriz particularmente interessante para utilização na imobilização de diversos grupos funcionais ¹⁴²⁻¹⁴⁵. O método mais comum para a funcionalização da superfície da sílica é através da reação entre os grupos silanóis da superfície com alcoxisilanos organicamente modificados ^{142;146}. Este método é altamente versátil e possibilita a preparação de uma série de materiais os quais combinam as propriedades dos dois componentes: a rigidez tridimensional do esqueleto inorgânico que proporciona uma estabilidade mecânica enquanto a escolha adequada do grupo funcional orgânico proporciona a reatividade química específica desejada ¹⁴². Dadas estas características, sílicas contendo grupos funcionais em sua superfície têm sido largamente empregadas em várias áreas como cromatografia líquida de alta performance ¹⁴⁷, eliminação e/ou remoção de metais de águas residuais ^{142;145;148}, preparação de sensores para emprego em química analítica ¹⁴⁹, entre outras.

A presença de grupos funcionais que permitam a formação de ligações covalentes com complexos metálicos é de particular interesse, pois, de forma geral,

permite a imobilização sem modificações significativas nas propriedades do complexo. Esse fato pode ser verificado na larga utilização desta estratégia na preparação de catalisadores metaloporfirínicos suportados em sílica gel modificada ¹⁵⁰⁻¹⁵².

A imobilização de complexos de rutênio na superfície da sílica gel modificada também tem sido investigada ¹⁵³⁻¹⁵⁷. Franco et al. ¹⁵⁷ estudaram a imobilização de tetraaminas de rutênio na superfície da sílica gel modificada com grupos [3-(imidazolil)propil]trimetoxissilano. Neste trabalho, a imobilização da unidade $[\text{Ru}(\text{SO}_2)(\text{NH}_3)_4]$ no suporte mencionado foi realizada a partir da coordenação do grupo imidazol ao átomo de rutênio para a obtenção da espécie imobilizada $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{imN-Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)_2]\text{Cl}_2$ a partir da qual foram preparadas as espécies $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{imN-Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ ($\text{L} = \text{isn}, \text{pz}, \text{H}_2\text{O}, \text{C}_2\text{O}_4^-, \text{CO}$). Os resultados obtidos por Franco et al. ¹⁵⁷ indicaram que a reatividade do complexo imobilizado é similar à observada para o análogo em solução e que suas propriedades químicas não são significativamente afetadas pela presença do suporte. Em outro trabalho, Franco et al. ¹⁵⁶ relataram a imobilização do complexo $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{edta})]$ na sílica gel modificada com grupos [3-(2-aminoetil)aminopropil]triethoxissilano através da formação de uma ligação amida entre o carboxilato livre do complexo de rutênio $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{edta})]$ e o grupamento amino funcional da sílica modificada. Após a imobilização, o nitrosilo complexo mostrou-se capaz de liberar NO quando reduzido com íons Eu(II) além de não apresentar diferenças nas suas propriedades químicas como, por exemplo, seus potenciais redox. Adicionalmente, o respectivo aquo complexo de rutênio imobilizado mostrou-se capaz reagir com nitrito para a formação do nitrosilo complexo ¹⁵⁶.

Estes resultados indicam a possibilidade da imobilização de complexos de rutênio sem alterações significativas nas suas propriedades químicas. A imobilização de espécies capazes de liberar óxido nítrico e que ainda apresentem a possibilidade de conversão de nitrito em nitrosilo coordenado mostra-se como uma estratégia interessante na preparação de materiais que possam vir a apresentar potenciais aplicações biológicas.

Desta forma, complexos do tipo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ ($\text{L} =$ bases nitrogenadas heterocíclicas) apresentam-se como candidatos promissores para a

preparação materiais contendo nitrosilo complexos de rutênio. Algumas das propriedades desta classe de complexos serão apresentadas no próximo item.

II.2. Tetraaminas de rutênio com o ligante nitrosilo

Como mencionado na introdução, uma grande diversidade de nitrosilo complexos de rutênio pode ser preparada pela variação dos ligantes equatoriais e axiais na unidade RuNO, o que mostra a riqueza de possibilidades desta classe singular de complexos. Dentre essa classe de compostos, poucas séries foram estudadas de forma tão sistemática como as tetraaminas de rutênio com o ligante nitrosilo do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ onde ligante L pode ser tanto uma base nitrogenada heterocíclica como piridina (py), pirazina (pz), isonicotinamida (isn), 4-acetilpiridina (4-acpy), 4-picolina (4-pic), nicotinamida (nic), L-histidina (L-hist), imidazol (imC = imidazol coordenado pelo carbono e imN = imidazol coordenado pelo nitrogênio), 4-cloropiridina (4-Clpy) como os ligantes saturados Cl, H₂O, SO₃²⁻, trietilfosfito (P(OEt)₃)⁷. Atualmente, é conhecido que o ligante L *trans*-posicionado ao ligante NO exerce um papel importante na reatividade dessa classe de compostos. Essa influencia, de maneira geral, é derivada da extensão da back-bonding do grupo [Ru(NH₃)₄(L)] para o NO e das interações π e σ do ligante axial L na unidade L-Ru-NO. Propriedades como a reatividade do grupo nitrosilo frente ao ataque nucleofílico por íons OH⁻, o estiramento do grupo nitrosilo coordenado no espectro vibracional (ν_{NO}), os potenciais redox na unidade {RuNO}⁶, a velocidades de saída de NO após redução monoelétrica, além das transições e suas respectivas energias no espectro eletrônico, as quais afetam as propriedades fotoquímicas destes complexos¹⁵⁸ são dependentes do ligante L.

O conhecimento e a possibilidade de controle da reatividade do ligante nitrosilo coordenado nos complexos do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ abriram caminho para que estes complexos fossem estudados como potenciais doadores de óxido nítrico.

Os complexos do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺, em solução, podem liberar NO após redução química ou eletroquímica com a formação do respectivo aquo complexo de rutênio(II)^{7;34;35}. A irradiação destes complexos, em solução aquosa, com

fótons de energias correspondendo às bandas de 300-350 nm no espectro eletrônico, resulta na aquação do ligante nitrosilo com a formação do respectivo complexo de rutênio(III) ^{7;158}. No que concerne à atuação desta classe de compostos como doadores de NO, duas propriedades são particularmente importantes: os potenciais de redução e a velocidade de saída do NO após a redução monoelétrica do nitrosilo complexo. No caso dos potenciais de redução, estes podem variar numa ampla faixa de até 0,43 V como exemplificado pelos complexos *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ ($E_{NO^+/NO}^0 = 0,132 \text{ V vs NHE}$) e *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(imC)]³⁺ ($E_{NO^+/NO}^0 = -0,298 \text{ V vs NHE}$) os quais são acessíveis para a maioria dos redutores biológicos. Assim, após a redução, as constantes de velocidade específica k_{NO} assumem um papel crucial nas propriedades destes complexos como potenciais doadores de NO. Nos complexos *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ a velocidade de liberação do NO varia sensivelmente com a mudança do ligante na posição *trans* em relação ao NO, variando de 0,02 s⁻¹ (L = 4-pic) a 4,0 s⁻¹ (L = imC) a 25⁰C, aumentando conforme a seqüência: isn ~ pic ~ nic ~ H₂O ~ py ~ pz < L-His ~ imN < P(OEt)₃ < imC. Comparando-se as velocidades de saída do NO no complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(imC)]³⁺ ($k_{NO} = 4,0 \text{ s}^{-1}$) ao análogo com o ligante cyclam, *trans*-[Ru(NO)(OH₂)(cyclam)] ($k = 6,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$), observa-se uma variação de aproximadamente 10.000 vezes ⁷.

Além da possibilidade de controle das propriedades do NO coordenado, estes compostos apresentam, de maneira geral, características favoráveis para uso como pró-droga, tais como solubilidade em água, baixa toxicidade e estabilidade química ^{7;92;95;126;159}. Diversos testes biológicos têm sido realizados com esta classe de complexos com o objetivo de explorar seus efeitos. Como exemplo, podemos citar estudos utilizando como modelo anéis de aorta de ratos Wistar, com e sem endotélio ¹⁵⁹. Os resultados obtidos nestes ensaios indicam que os complexos *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]³⁺ (L = N-heterocíclicos, SO₃⁻, P(OEt)₃) e [Ru(NO)(edta)]⁻ apresentam efeito vasorelaxante com intensidades que variaram de 34 a 100 % no intervalo de tempo do experimento. Nestes estudos o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ destacou-se por induzir um efeito vasorelaxante de 71 % em 15 minutos, comparável ao efeito produzido pelo nitroprussiato de sódio (SNP), conhecido vasodilatador ¹⁶⁰. A avaliação deste efeito foi corroborada por testes *in vivo*

utilizando ratos hipertensos ¹²⁶. Outro exemplo é a atividade tripanocida e antiproliferativa apresentada pelos complexos do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ tanto *in vivo* como *in vitro* ¹⁶¹. Neste caso, os complexos *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]³⁺ (L = isn ou imN) mostraram-se capazes de eliminar *in vivo* tanto as formas extracelulares como as formas intracelulares do *Trypanosoma Cruzi* na corrente sanguínea e no tecido miocárdial permitindo uma sobrevivência de até 80 % dos ratos infectados ¹⁶¹. Há que se ressaltar que em ambos exemplos citados, as propriedades observadas foram atribuídas à liberação de NO dos complexos.

Dadas as características mencionadas, a imobilização de complexos do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ surge como uma estratégia interessante na preparação de materiais potencialmente doadores de NO. A utilização desta classe de complexos pode oferecer algumas vantagens sobre outros complexos. Como mencionado acima, as propriedades que influenciam a liberação de NO podem ser controladas pela escolha criteriosa do ligante L o que pode levar a uma sinergia entre uma determinada espécie redutora ou comprimento de onda de irradiação. Considerando-se que a imobilização, conforme relatado ^{156;157;162-164}, não afeta significativamente as propriedades dos complexos imobilizados, as propriedades observadas em solução para estes complexos poderiam ser estendidas a seus análogos imobilizados. Além disso, a imobilização poderia oferecer outras vantagens como uma melhora da estabilidade dos materiais, facilidade de manuseio e a possibilidade de reciclagem.

II. PARTE EXPERIMENTAL

II.1. Reagentes e Solventes

II.1.a. Isonicotinamida e ácido isonicotínico ⁹⁷

Aproximadamente 1 g do material foi dissolvido, sob agitação magnética, na menor quantidade possível de água aquecida a 60 °C. Adicionou-se 0,1 g de carvão ativo e após 10 minutos a mistura foi filtrada à quente. O filtrado foi resfriado na

geladeira por 2 horas e o sólido recolhido por filtração a vácuo, secado sob P_2O_5 e mantido em dessecador.

II.1.b. Diciclohexilcarbodiimida ⁹⁷

Destilada a aproximadamente 120 °C sob pressão reduzida ($\sim 10^{-4}$ Torr). A pureza do reagente destilado foi checada por RMN.

II.1.c. Dimetilformamida ⁹⁷

Mantida por 3 dias sobre peneira molecular (4 Å) previamente ativada e destilada à aproximadamente 80 °C sob pressão reduzida ($\sim 10^{-3}$ Torr) imediatamente antes do uso.

II.1.d. Óleo mineral

Lavado alternadamente com soluções de HCl 0,1 mol.L⁻¹ e NaOH 0,1 mol.L⁻¹ por 3 vezes. Lavado com água até pH neutro e apresentar teste negativo para cloreto com solução de nitrato de prata.

II.1.e. Sílica gel funcionalizada com grupamentos 3-aminopropil

Este material, de procedência Aldrich contendo ~ 1 mmol NH₂.g⁻¹ e com um tamanho de partícula de 40-63 µm foi secado por uma noite na estufa a 110 °C e mantido em dessecador sob vácuo até o momento do uso.

II.1.f. Tricloreto de Rutênio Hidratado

Para a síntese do complexo [RuCl(NH₃)₅]Cl₂, o qual é o complexo de partida para a preparação dos complexos *trans*-[Ru(NH₃)₄(HSO₃)₂], *trans*-[Ru(NH₃)₄(SO₂)Cl]Cl, *trans*-[Ru(NH₃)₄(SO₄)(isn)]Cl e *trans*-

[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)](BF₄)₃ foi utilizado o sal de procedência Acros que apresenta porcentagem de rutênio entre 35-40%.

II.2. Materiais e Métodos

II.2.1. Síntese do [RuCl(NH₃)₅]Cl

Este complexo foi sintetizado segundo método descrito na literatura ¹⁶⁵ com algumas modificações.

5,0 g de RuCl₃.*n*H₂O (0,021 a 0,019 mol) foram dissolvidos em 67 mL água desionizada. Adicionou-se, gota a gota, 47 mL de hidrato de hidrazina sob agitação magnética. A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética por 4 horas e em seguida resfriada em banho de gelo. Adicionou-se 125 mL de ácido clorídrico concentrado sob vigorosa agitação. Esta mistura foi então submetida a refluxo por 2 horas e em seguida novamente resfriada em banho de gelo. O sólido amarelo formado foi coletado por filtração e lavado com pequenas porções de HCl 1,5 mol.L⁻¹ para eliminação do cloreto de amônio formado. O complexo obtido foi dissolvido em solução de HCl 0,1 mol.L⁻¹ à quente, filtrado e precipitado pela adição de ácido clorídrico concentrado. O sólido amarelo obtido foi filtrado a vácuo, lavado com etanol e secado ao ar. Rendimento: 52 % (3,70 g, 12,4 mmol). UV-Vis: λ_{max}/nm (logε): 330 (3,26) (experimental); 330 (3,29) (teórico).

II.2.2. Síntese do *trans*-[Ru(NH₃)₄(HSO₃)₂]

Este complexo foi sintetizado como descrito na literatura ¹⁶⁶.

2,00 g (6,72 mmol) de [RuCl(NH₃)₅]Cl foram dissolvidos em 85 mL de água desionizada aquecida a uma temperatura entre 75 e 85°C. Adicionou-se 2,84 g (30,1 mmol) de NaHSO₃ e a mistura resultante foi mantida a 75 °C sob borbulhamento de SO_{2(g)}. Após 2 horas de reação resfriou-se o sistema em banho de gelo com borbulhamento contínuo de SO_{2(g)}. O sólido amarelo pálido obtido foi coletado por

filtração a vácuo, lavado com etanol e secado ao ar. Rendimento: 68 % (1,54 g, 4,61 mmol).

II.2.3. Síntese do *trans*-[RuCl(NH₃)₄(SO₂)]Cl

Este complexo foi sintetizado como descrito na literatura ¹⁶⁶.

1,54 g (4,62 mmol) de *trans*-[Ru(NH₃)₄(HSO₃)₂] foram refluxados em 180 mL de HCl 6,0 mol.L⁻¹ por 15 minutos. A solução foi filtrada a quente e o sólido formado foi redissolvido por aquecimento. Deixou-se a solução em repouso por uma noite. O sólido vermelho cristalino formado foi coletado por filtração a vácuo, lavado com porções de HCl 6,0 mol.L⁻¹ e etanol e secado ao ar. Rendimento: 64 % (1,12 g, 3,73 mmol).

II.2.4. Síntese do *trans*-[Ru(SO₄)(NH₃)₄(isn)]Cl

Este complexo foi sintetizado de maneira semelhante à descrita na literatura ^{35;167}, com pequenas modificações.

0,10 g (0,32 mmol) de *trans*-[RuCl(NH₃)(SO₂)]Cl foi suspenso em 3 mL de água desionizada previamente desaerada. Adicionou-se 55 mg (0,66 mmol) de NaHCO₃ em pequenas porções. Após dissolução, adicionou-se 0,39 g (3,2 mmol) do ligante isonicotinamida. Deixou-se reagir por aproximadamente 30 minutos. A solução foi então filtrada e ao filtrado adicionou-se 2 mL de HCl concentrado. A mistura foi levada à geladeira por ~ 1 hora para se completar a precipitação. O precipitado foi recolhido por filtração, lavado com etanol e secado sob vácuo. O sólido obtido foi então transferido para um béquer e acidificado com 5 gotas de HCl 1,5 mol.L⁻¹, adicionando-se em seguida 0,50 mL de H₂O₂ (30 %). A esta mistura foi adicionado um excesso de acetona (50 mL) para a precipitação de um sólido amarelo claro. A mistura foi mantida na geladeira por 2 horas e o sólido coletado por filtração, lavado com acetona e secado sob vácuo. Rendimento: 74 % (0,10 g, 0,24 mmol). UV-Vis: λ_{max} /nm (log ϵ): 268 (3,74), 340 (3,76) (experimental); 264 (3,72), 344 (3,75) (teórico).

II.2.5. Síntese do *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)](BF₄)₃

Este complexo foi sintetizado conforme metodologia descrita na literatura ³⁵, com pequenas modificações.

0,10 g (0,24 mmol) de *trans*-[Ru(SO₄)(NH₃)₄(isn)]Cl foram dissolvidos em um frasco borbulhador contendo 3 mL de solução de CF₃COOH pH = 2,1 previamente desaerada. Sob fluxo constante de argônio, adicionou-se amálgama de zinco e deixou-se reduzir o complexo por cerca de 40 minutos, gerando o íon *trans*-[Ru(NH₃)₄(OH₂)(isn)]²⁺. Em um balão de 10 mL foram adicionados 1,5 mL de solução de HBF₄ 4,9 mol.L⁻¹ e 0,105 g (14,5 mmol) de NaNO₂. Imediatamente após a adição de nitrito, a solução contida no frasco borbulhador foi transferida para o balão por diferença de pressão com o auxílio de uma mangueira de teflon. A mistura reacional foi mantida sob fluxo de argônio com agitação magnética por cerca de 2 horas. A solução foi então filtrada e ao filtrado adicionou-se etanol até ocorrer turvação. A mistura foi então levada à geladeira por duas horas e em seguida filtrada, lavada com etanol e secada a vácuo. Rendimento 69 % (96 mg, 0,16 mmol). UV-Vis: λ_{max}/nm (logε): 230 (4,08), 268 (3,15), 324 (2,52), 484 (1,70) (experimental); 230 (4,15), 268 (3,11), 323 (2,51), 486 (1,64) (teórico). IR (KBr)/cm⁻¹: 1923 (ν_{NO}). Análise elementar para RuC₆H₁₈N₆O₂B₃F₁₂ (568,2 g.mol⁻¹) % experimental (calculada): C 12,49 (12,38), H 3,22 (3,10), N 16,31 (16,84)

II.2.6. Preparação da sílica gel funcionalizada com grupamentos isonicotinamida.

A sílica gel modificada com grupamentos isonicotinamida foi preparada através da reação de amidação seletiva ¹⁶⁸ dos grupos amino da APS usando 1,3-diciclocarbodiimida e ácido isonicotínico.

1,50 g (7,50 mmol) de ácido isonicotínico foram dissolvidos em 100 mL de DMF previamente aquecida a 60 °C. Adicionou-se então 2,50 g (7,50 mmol) de 1,3-diciclohexilcarbodiimida. Após alguns minutos 2,50 g de APS (2,81 mmol NH₂.g⁻¹) foram suspensas na mistura. A suspensão foi mantida sob agitação mecânica e atmosfera de nitrogênio seco à temperatura de 60 °C por 4 horas. O sólido resultante

foi coletado por filtração, lavado com DMF, mistura água:metanol (1:1 v/v), metanol e extraído em Soxhlet por uma noite com metanol de maneira a remover qualquer excesso de reagente. Finalmente o sólido foi secado em uma pistola de Abderhalden à vácuo à 60 °C por 2 horas.

II.2.7. Preparação da tetraamina de rutênio contendo o ligante nitrosilo imobilizada na superfície da sílica gel contendo grupos isonicotinamida.

A imobilização da tetraamina de rutênio *trans*-[RuCl(NH₃)(SO₂)]Cl foi realizada de maneira similar à descrita na literatura ¹⁵⁷ e a síntese do nitrosilo complexo imobilizado [≡Si(CH₂)₃(isn)Ru(NH₃)₄(NO)]³⁺ segue um método semelhante ao descrito para o complexo em solução ³⁵. O procedimento básico é descrito a seguir.

[≡Si(CH₂)₃(isn)Ru(NH₃)₄(SO₃)]. 60 mg (2,0 x 10⁻⁴ mol) de *trans*-[Ru(NH₃)₄(SO₂)Cl]Cl foram adicionados a 10 mL de solução de NaHCO₃ 0,4 mol.L⁻¹ previamente desaerada e 0,25 g de sílica contendo grupos isonicotinamida (ISNPS) foram então, adicionados. A suspensão foi mantida sob borbulhamento de argônio contínuo por aproximadamente 40 minutos. O sólido laranja foi coletado por filtração e lavado com 20 mL de solução de NaHCO₃ 0,4 mol.L⁻¹ previamente desaerada. O complexo imobilizado é facilmente oxidado ao ar. Análise de Rutênio (2,8 x 10⁻⁴ mol.g⁻¹)

[≡Si(CH₂)₃(isn)Ru(NH₃)₄(SO₂)]Cl₂. 0,25 g da tetraamina de rutênio com o ligante sulfito imobilizada, [≡Si(CH₂)₃(isn)Ru(NH₃)₄(SO₃)], recém preparada, foi lavado com 50 mL de solução de HCl 0,1 mol.L⁻¹ previamente desaerada, etanol e secados e armazenados sob vácuo (2,3 x 10⁻⁴ mol.g⁻¹).

[$\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)\text{]Cl}$. 0,25 g da tetraamina de rutênio com o ligante SO_2 imobilizada, [$\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)\text{]Cl}_2$, foi suspenso em 10 mL de solução 0.1 mol.L^{-1} de HCl e oxidados pela adição de 1 mL de solução de H_2O_2 (3 % v/v). O sólido amarelo claro foi separado da solução por filtração, lavado com solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, etanol, secado e guardado sob vácuo. Análise de Rutênio ($2,1 \times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$).

[$\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)\text{]Cl}_2$. 0,25 g da tetraamina de rutênio com o ligante sulfato imobilizada, [$\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)\text{]Cl}$, foi suspenso em 10 mL de uma solução $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de HCl previamente desacidada. Adicionou-se 1,5 mL de solução de Eu(II) $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ ($n = 7,5 \times 10^{-4}$ mols, 15 vezes de excesso em relação a quantidade de rutênio) observando-se uma mudança de cor da suspensão de amarelo claro para vermelho. O complexo imobilizado foi separado da solução por filtragem dentro de uma “glove bag” e lavado com 30 mL de solução $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de HCl e imediatamente utilizado na próxima etapa.

[$\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})\text{]}^{3+}$. A tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada na sílica foi preparada empregando-se dois métodos diferentes. O primeiro (*método 1*) consiste na reação do correspondente aquo complexo imobilizado com

nitrito em meio ácido. O segundo (*método 2*) consiste na reação entre o aquo complexo e íons nitrito em tampão fosfato pH = 7,4. Os métodos são descritos a seguir.

Método 1: 0,25 g $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]\text{Cl}_2$ foi suspenso em 10 mL de solução 0,1 mol.L⁻¹ de HPF_6 previamente desaerada e um excesso de NaNO_2 (100 mg, 1,45 mmol) foi adicionado. Observou-se a mudança de cor da suspensão de vermelho para amarelo. O sólido foi coletado por filtração, lavado com água desionizada, etanol, secado e armazenado sob vácuo.

Método 2: Alternativamente, a tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada na sílica, $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, foi preparada suspendendo-se o aquo complexo imobilizado em 10 mL tampão fosfato (pH = 7,4) contendo 1 mol.L⁻¹ de NaNO_2 . A suspensão vermelha lentamente mudou de coloração para amarelo. O sólido foi separado da solução por filtração e lavado com solução tampão fosfato, água e etanol, sendo secado e armazenado sob vácuo.

II.2.8. Análise de rutênio pelo método de Malouf ¹⁶⁹

Este procedimento combina os métodos de Larsen e Ross ¹⁷⁰ e Woodhead e Fletcher ¹⁷¹ e consiste basicamente em uma oxidação com persulfato de potássio em KOH 2,0 mol.L⁻¹ na presença de hipoclorito de sódio a 5%, medindo-se a absorbância do ponto isobéstico das espécies $\text{RuO}_4^-/\text{RuO}_4^{2-}$ em 415 nm e cujo $\epsilon = 1047 \text{ cm}^{-1}.\text{mol}^{-1}.\text{L}$.

Em um béquer de 10 mL foi pesada quantidade suficiente do complexo ancorado para se obter uma concentração de rutênio de aproximadamente $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$

em um volume final de 10 mL. Adicionou-se 4 mL de solução de KOH 2,0 mol.L⁻¹, aproximadamente 30 mg de persulfato de potássio e 1 mL de solução de hipoclorito de sódio 5 %. A solução foi aquecida até próximo à ebulição e em seguida resfriada à temperatura ambiente e diluída a 10 mL em um balão volumétrico. A absorbância foi medida em 416 nm em relação a um branco feito com a sílica sem o complexo.

II.2.9. Experimentos de reciclagem

Os experimentos de reciclagem foram realizados de duas maneiras. O primeiro consiste na reação do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ com íons Eu(II). Aproximadamente 0,2 g do nitrosilo complexo de rutênio imobilizado foram suspensos em 10 mL de solução de HCl previamente desacidada. A esta suspensão foram adicionados 1,5 mL de solução de Eu(II) 0,5 mol.L⁻¹. O sólido foi então filtrado em uma *glove bag*, lavado com 30 mL de solução de HCl 0,1 mol.L⁻¹ e suspenso em 3 mL solução de tampão fosfato (pH = 7,4) contendo 1 mol.L⁻¹ de NaNO₂. O ciclo redução-regeneração foi então repetido por mais duas vezes.

O outro método de regeneração do nitrosilo complexo de rutênio imobilizado foi realizado após a fotólise do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ em uma pastilha de KBr. A pastilha de KBr foi dissolvida com 2 mL de solução 2 mol.L⁻¹ de NaNO₂ e o sólido recuperado por filtração, lavado com água desionizada e etanol e secado sob vácuo.

II.2.10. Calibração do eletrodo seletivo de NO

Para a determinação da quantidade de NO liberada no complexo imobilizado foi utilizado um eletrodo seletivo aminoNO-700 NO meter desenvolvido pela Innovative Instruments Inc. Este dispositivo detecta NO diretamente através de técnica amperométrica. A calibração do eletrodo foi realizada através da preparação de uma solução estoque de NO_(g) ¹⁷². Em 5,0 mL de solução tampão fosfato pH = 7,4, borbulhou-se argônio por 15 minutos de maneira a remover todo o oxigênio presente. O NO_(g) foi gerado pela adição de uma solução de ácido nítrico 33 % a fios de cobre

metálico (Cu^0)⁴¹. O gás gerado foi passado por uma solução de KOH (ou NaOH) 10 mol.L⁻¹ para remoção de possíveis traços de $\text{NO}_{2(g)}$ ou outros óxidos de nitrogênio presentes na mistura gasosa.

O óxido nítrico gasoso foi borbulhado na solução por aproximadamente 40 minutos, tempo suficiente para ocorrer a saturação da solução. Admitiu-se que o valor da concentração de óxido nítrico na solução estoque fosse de 2,1 mmol.L⁻¹ conforme valor relatado na literatura¹²⁸. Para a calibração, o eletrodo foi mergulhado em um balão de três bocas contendo 10 mL de solução tampão previamente desaerada com argônio. A seguir uma alíquota da solução de NO gasoso foi adicionada à solução a partir de uma microseringa Hamilton. Após alguns segundos, quando o valor da corrente permaneceu constante, registrou-se o valor e uma nova alíquota foi adicionada. A curva de calibração foi construída a partir dos valores de corrente registrados e das respectivas concentrações.

II.2.11. Determinação da quantidade de óxido nítrico na tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada na ISNPS.

Para a medida da quantidade de NO liberada a partir da redução do complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ com Eu(II), uma determinada quantidade do material (entre 20 e 50 mg) foi suspensa em 10 mL de tampão fosfato (pH = 7,4, $\mu = 0,01$ mol.L⁻¹) previamente desaerados contidos em um balão de 25 mL e um excesso de 30 vezes de Eu(II) (em solução de ácido perclórico pH 2) foi adicionado em relação a quantidade de complexo imobilizado. A concentração foi calculada através da variação de corrente medida pelo NOmeter. Durante a medida foi mantida uma leve corrente de argônio sobre a solução para minimizar a presença de oxigênio. Para efeitos de comparação, o mesmo estudo foi realizado para o complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$ em solução. Neste caso foi empregada uma solução contendo 48 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ do complexo em 10 mL de tampão fosfato. Foram realizadas ao menos duas medidas para determinação da quantidade de NO no complexo imobilizado e do análogo em solução.

II.3. Equipamentos

II.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho

Para análise por espectroscopia vibracional na região do infravermelho dos complexos imobilizados, o material foi disperso em KBr e os espectros obtidos em um espectrômetro com transformada de Fourier (FTIR) Bomem modelo MB-102.

II.3.2. Espectroscopia na região do ultravioleta e visível

Os espectros na região do ultravioleta e visível para os complexos imobilizados na superfície da sílica foram obtidos em suspensão em tetracloreto de carbono, visto que este solvente apresenta um índice de refração muito próximo ao da sílica gel ¹⁵³. Os espectros foram obtidos na região de 250-800 nm, utilizando cerca de 20 mg da amostra usando como branco a sílica sem o complexo em CCl₄. Foram empregadas celas de caminho óptico de 0,1 cm em um espectrofotômetro HP8452A da Hewlett Packard.

II.3.3. Determinação da área superficial específica

A determinação da área superficial das amostras de sílica foi realizada através do método BET ¹⁷³ em um equipamento Quanta Chrome modelo NOVA 1200 empregando-se nitrogênio como gás de adsorção/desorção.

II.3.4. Medidas eletroquímicas

Para as medidas de voltametria cíclica nos complexos imobilizados foi empregado um sistema de 3 eletrodos consistindo de um eletrodo modificado de pasta de carbono (eletrodo de trabalho), Ag/AgCl como eletrodo de referência e um fio de platina como contraeletrodo. Os eletrodos modificados de pasta de carbono foram preparados através da mistura física dos complexos imobilizados (20%) com pasta de

carbono (75%) e posterior adição de óleo mineral (5%). Todas as medidas foram realizadas a temperatura ambiente. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em um potenciostato/galvanostato modelo 273A da EG&G Princeton Applied Research (PAR).

II.3.5. Fotolabilização do ligante nitrosilo no tetraamim complexo de rutênio imobilizado na superfície da sílica modificada.

A estudo da fotolabilização do NO coordenado no complexo imobilizado foi realizado monitorando-se o desaparecimento da banda de NO no infravermelho ou *in situ* durante a irradiação de uma suspensão do material empregando-se o NOmeter. Neste último, uma determinada quantidade do material foi suspensa em 3 mL de tampão fosfato (pH = 7,4) desaerada contidos em uma cela de quartzo de 1 cm de caminho óptico. As irradiações monocromáticas em 334 nm foram feitas utilizando um filtro de interferência Oriel usando uma lâmpada de 150 W de Xenônio em uma fonte Oriel modelo 6253. As irradiações com luz branca foram feitas utilizando-se um feixe de luz com filtro de IV no mesmo sistema.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1. Preparação e caracterização da sílica gel contendo grupos isonicotinamida.

Para a imobilização da tetraamina de rutênio inicialmente foi necessária a preparação de um suporte que apresentasse em sua superfície um grupo funcional capaz de promover uma ligação estável com o referido complexo. Para a obtenção de um suporte com essas características empregou-se uma sílica previamente modificada com grupamentos aminopropil, a 3-aminopropilsílica, e o ácido isonicotínico. A presença do grupo amino na superfície da sílica permite a formação de uma ligação amida com o grupo carboxila do ácido isonicotínico e a conseqüente ancoragem da base nitrogenada. A formação da ligação amida na presença de DCCI se desenvolve

em uma única etapa, além de ocorrer em condições brandas. Este método ¹⁶⁸ tem como etapa principal a adição do grupo carboxila ao sitio reativo da carbodiimida, formando uma *o*-acilisourea, que é um potente reagente acilante. A formação da *o*-acilisourea é muito rápida e leva à formação da ligação amida por aminólise direta, ou via anidrido simétrico, com a formação da dicitclohexilurea. A uréia formada é solúvel o suficiente para ser eliminada por lavagem quando se realizam reações em meio heterogêneo.

A funcionalização da superfície da APS utilizando-se a DCCI para preparação da ISNPS é mostrada no Esquema 3.

Esquema 3. Funcionalização da superfície da APS através da reação com ácido isonicotínico *via* DCCI.

O suporte obtido foi caracterizado através de espectroscopia no infravermelho, análise elementar e determinação da área superficial.

A Figura 52 mostra os espectros de IR da APS e da ISNPS.

Figura 52. Espectro de infravermelho da APS (A) and ISNPS (B), em pastilha de KBr.

As principais características do espectro de IR da APS e da ISNPS são as bandas associadas como o esqueleto da matriz inorgânica. Estas bandas estão localizadas: a) na região de 3400 cm^{-1} , atribuída ao estiramento O-H dos grupos silanóis e à água fisicamente adsorvida ^{143;174}; b) em 1100 cm^{-1} e 800 cm^{-1} , as quais estão relacionadas com o estiramento (Si-O-Si) ^{143;174}; c) próximo a 900 cm^{-1} (ombro) atribuída à frequência de estiramento Si-OH e d) ao redor de 1650 cm^{-1} que pode ser atribuída à vibração angular da água adsorvida bem como aos modos de vibração acoplados Si-O-Si ¹⁴³. Ambos os espectros apresentam uma banda fraca próximo a 2950 cm^{-1} que pode ser atribuída ao estiramento C-H ¹⁴³. No entanto, o espectro da ISNPS apresenta uma banda bem definida em 1554 cm^{-1} que não aparece no espectro da APS. Esta banda encontra-se na região da banda II de amida ¹⁷⁵ e também é observada para o ligante isonicotinamida (1551 cm^{-1}). Esperava-se observar a banda I de amida próxima à 1660 cm^{-1} . Esta banda provavelmente está encoberta pela banda de 1650 cm^{-1} . Características semelhantes às descritas acima foram observadas para sílicas organomodificadas com grupamentos como 2-aminometilpiridina, 3-piperidilpropil e 3-imidazolilpropil ^{143;145;148}. Adicionalmente ao exposto acima, o produto da reação realizada nas mesmas condições entre a APS e a isonicotinamida, na ausência de DCCI, não apresentou a banda em 1554 cm^{-1} e não foi capaz de promover a imobilização do complexo no material preparado nestas condições. Estes resultados confirmam a ocorrência da ligação peptídica entre a APS e o ácido isonicotínico.

O número de grupos funcionais amino e isonicotinamida presentes na superfície da sílica foram determinados considerando-se os dados obtidos através da análise elementar (Tabela 10). A determinação da área superficial específica da APS e da ISNPS foi realizada através do método BET ¹⁷³ e as isotermas de adsorção/desorção de nitrogênio são mostradas nas Figuras 53 e 54.

Figura 53. Isotherma de adsorção ($\circ$) e desorção ($\bullet$) de nitrogênio obtidas para a APS.

Figura 54. Isotermas de adsorção ($\circ$) e desorção ($\bullet$) de nitrogênio obtidas para a ISNPS.

As isotermas obtidas para a APS e ISNPS apresentam uma forma do tipo IV, que é característica de materiais mesoporosos. Isotermas do mesmo tipo foram observadas por Jaroniec et. al. ¹⁴⁷ para sílicas funcionalizadas através da formação de ligação amida entre os grupos aminopropil da APS e diversos grupos funcionais. Os valores de área superficial obtidos através das isotermas para a APS e ISNPS foram de $332 \pm 5 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ e $304 \pm 5 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, respectivamente. A diminuição da área superficial com a organofuncionalização da superfície de matrizes de sílica pode ser atribuída à presença dos grupos funcionais que bloqueiam parcialmente a adsorção das moléculas de nitrogênio na superfície do material ¹⁴³.

Através dos dados de análise elementar e da área superficial, S_{BET} , foi possível estimar a densidade dos grupos funcionais, d , e a distância intermolecular média, l , assumindo uma distribuição uniforme dos grupos na superfície da matriz. Para esta estimativa foram empregadas as equações 05 e 06 ¹⁷⁶. Os dados obtidos estão resumidos na Tabela 10.

$$d = (N \times N_A) / S_{\text{BET}} \quad (\text{Eq. 05})$$

$$l = (1/d)^{1/2} \quad (\text{Eq. 06})$$

onde N is o número de mols de grupos funcionais por grama de sílica e N_A é o número de Avogadro.

Tabela 10. Dados de análise elementar, área superficial, número de moles (N), densidade superficial (d) e distância interatômica média (l) dos grupos funcionais.

Suporte	Análise Elementar		S_{BET} ($\text{m}^2.\text{g}^{-1}$)	N (mmol.g^{-1})	d (grupos. nm^{-2})	l ($\text{\AA}$)
	% N	% C				
APS	$1,59 \pm 0,03$	$4,97 \pm 0,09$	332 ± 5	$1,13^a$	2.1	6.9
ISNPS	$2,59 \pm 0,02$	$9,98 \pm 0,12$	304 ± 5	$0,66^b$	1.3	8.7

^a NH_2 . ^b isonicotinamida

Através das porcentagens obtidas de carbono e nitrogênio (Tabela 10), uma quantidade de 0,66 mmol de isonicotinamida por grama de suporte foi encontrada, correspondendo a uma conversão de aproximadamente 58 % dos grupos amino em grupos amida. Esta porcentagem de conversão é próxima ao limite físico uma vez que os grupos isonicotinamida possivelmente não se ligam ortogonalmente à superfície e sim de uma forma angular de maneira que o volume ocupado é maior que o volume da isonicotinamida. Adicionalmente a porcentagem de conversão está de acordo com os reportados por Jaroniec et al.¹⁴⁷ para a obtenção, a partir da APS, de uma série de sílicas funcionalizadas utilizando-se diversos ácidos carboxílicos pela formação de ligação amida.

III.2. Imobilização das tetraaminas de rutênio na superfície da ISNPS.

A imobilização da tetraamina de rutênio na superfície modificada com grupamentos isonicotinamida foi realizada conforme descrito no item II.2.7 da Parte Experimental deste capítulo. A metodologia empregada se baseia no descrito na literatura para a imobilização do *trans*-[Ru(H₂O)(NH₃)₄SO₂](CF₃SO₃)₂ na sílica funcionalizada com o grupo 3-imidazolilpropil (IPG)¹⁵⁷ e para o análogo em solução *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)]³⁺³⁵. A imobilização da unidade [Ru(NH₄)(SO₃)] foi realizada através da reação entre o *trans*-[RuCl(NH₃)₄(SO₂)]Cl e a ISNPS em solução de NaHCO₃ 0,4 mol.L⁻¹ pH = 9,0. Neste pH o *trans*-[Ru(NH₃)₄(SO₂)Cl]Cl é convertido a *trans*-[Ru(NH₃)₄(SO₃)Cl] seguido de uma rápida liberação do cloreto em *trans* ao ligante sulfito, levando à formação do *trans*-[Ru(NH₃)₄(SO₃)(OH₂)]¹⁷⁷. Em solução o ligante isonicotinamida é capaz de se coordenar ao complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄(H₂O)(SO₃)] com uma constante de equilíbrio de 3,8x10³ em pH 9¹⁷⁷. A ligação da isonicotinamida ao rutênio(II) neste complexo pode ser atribuída a uma ligação sigma, com a contribuição de uma *back-bonding*¹⁷⁸ na formação do [≡Si(CH₂)₃(isn)Ru(NH₃)₄(SO₃)]. Este complexo é então convertido a [≡Si(CH₂)₃(isn)Ru(NH₃)₄(SO₂)]Cl₂ através lavagem com solução HCl 0,1 mol.L⁻¹. O

Ru(II) é posteriormente convertido a Ru(III) e o ligante SO₂ oxidado a sulfato através da reação com H₂O₂ ¹⁷⁹. O complexo de rutênio(III) é então reduzido através da reação com Eu(II), o que provoca a labilização do ligante sulfato no complexo de rutênio(II) ¹⁶⁷ com a formação do respectivo aquo complexo $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]\text{Cl}_2$. O nitrosilo complexo de rutênio é então preparado através da reação entre o $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]\text{Cl}_2$ com nitrito em meio ácido (pH = 0,1 mol.L⁻¹) (método 1) ou com nitrito em pH = 7,4 (método 2).

Estudos prévios realizados por Franco et al. ¹⁵⁷ mostraram que a imobilização da unidade $[\text{Ru}(\text{NH}_4)(\text{SO}_3)]$ na superfície da sílica modificada com grupamentos 3-(imidazolil)propil não alterava significativamente a propriedades do complexo imobilizado com relação àquelas relatadas em solução. Uma vez que os complexos imobilizados preparados neste trabalho também estão separados por 3 átomos de carbono na superfície do suporte, esperaríamos um comportamento semelhante.

III.3. Caracterização das tetraaminas de rutênio imobilizadas.

III.3.1. Determinação da quantidade de rutênio.

A determinação da quantidade de rutênio para os diferentes complexos imobilizados é um parâmetro fundamental para a caracterização do material uma vez que a mesma, além de indicar a estabilidade do complexo imobilizado com relação ao possível lixiviamento durante as etapas de preparação, permite a comparação do NO liberado no nitrosilo complexo de rutênio com a quantidade de complexo imobilizado.

A determinação de rutênio em complexos imobilizados em matrizes sólidas pode ser realizada por absorção atômica ^{155;156} ou através do método de Malouf ¹⁵⁷. Optou-se pelo segundo método para a determinação da quantidade de rutênio para os diversos complexos imobilizados dado a facilidade e rapidez da realização das medidas o que permitia a pronta obtenção dos resultados durante as diversas preparações realizadas durante os trabalhos. Há que se ressaltar no entanto que esse método é limitado pela quantidade de rutênio presente nos materiais.

Inicialmente foi investigada a possibilidade de imobilização do complexo *trans*-[RuCl(NH₃)₄(SO₂)]Cl na superfície da APS, uma vez que esta contém grupamentos NH₂ e estes, por sua vez, são capazes de se ligar a cátions metálicos divalentes ¹⁴². Este controle foi realizado pois a ISNPS contém uma mistura de grupos isonicotinamida e amino. Reações realizadas entre o referido complexo e a APS nas mesmas condições descritas para a ISNPS resultaram em uma imobilização mínima de 7 µmols.g⁻¹ de rutênio, indicando que o complexo está imobilizado no suporte essencialmente através dos grupos isonicotinamida.

Os valores obtidos para a determinação de rutênio para os diversos complexos imobilizados são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11. Quantidade de complexo imobilizado na ISNPS.

Complexo Imobilizado	“loading” de complexo (x 10 ⁻⁴ mol.g ⁻¹ de sílica) ^a
[≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (SO ₃)]	2,8
[≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (SO ₂)]Cl ₂	2,3
[≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (SO ₄)]Cl	2,1
[≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (OH ₂)]Cl ₂	2,1
[≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)](PF ₆) ₃	1,9
[≡Si(CH ₂) ₃ (isn)Ru(NH ₃) ₄ (NO)](PO ₄) ₃	2,0

^a Determinado através do método de Malouf ¹⁶⁹. Incerteza de ± 0,2 x 10⁻⁴ mol.g⁻¹.

Como pode ser observado na Tabela 11, ocorre uma desancoragem mínima durante as etapas de preparação, a qual é mais pronunciada da primeira para a segunda etapa. Este fato provavelmente é devido ao efeito *trans* labilizante do ligante sulfito ¹⁷⁷. A estabilidade observada durante as etapas de preparação do nitrosilo complexo imobilizado possivelmente está relacionada à robustez e estabilidade termodinâmica das tetraaminas de rutênio (II) e (III), as quais, com exceção do ligante aquo nos

complexos de Ru(II), são cineticamente inertes com relação à substituição^{73;180}. Adicionalmente, os correspondentes nitrosilo complexos de rutênio também são robustos e termodinamicamente estáveis e todos os ligantes são inertes com relação à substituição. Além disso, os complexos estão fortemente ligados à superfície do suporte através de uma ligação amida, a qual, não é afetada por processos redox ou fotoquímicos, fato que previne também o lixiviamento. Os valores mostrados na Tabela 11 também são próximos aos obtidos para a imobilização de outros complexos de rutênio na superfície de sílicas organicamente modificadas^{155;157}.

A partir dos resultados da área superficial para a ISNPS (Tabela 10) e assumindo que a unidade $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]$ esteja uniformemente distribuída na superfície da sílica, é possível estimar uma densidade superficial média de $0,45 \text{ átomos.nm}^{-2}$ e uma distância intermolecular média de $15 \text{ \AA}$. Esta distância é aproximadamente 2,5 vezes maior que a distância média H-N-Ru-N-H normalmente observada para tetraaminas de rutênio similares^{34;166}.

III.3.2. Caracterização dos complexos imobilizados por espectroscopia no UV-Vis.

As Figuras 55 a 61 mostram os espectros UV-Vis dos complexos imobilizados. Para efeitos de comparação também é mostrado o espectro do suporte ISNPS (Figura 55). Os espectros UV-Vis foram obtidos na região de 250-800 nm, uma vez que em comprimentos de onda menores ocorre a interferência da matriz de sílica no espectro. Os valores para os máximos de absorção obtidos para os complexos imobilizados são mostrados na Tabela 12. Para efeitos de comparação também são apresentados os valores para os análogos em solução.

Figura 55. Espectro UV-Vis da $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{-isn}]$ em suspensão de CCl_4 . Como branco foi utilizada uma suspensão da APS em CCl_4 .

Figura 56. Espectro UV-Vis do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_3)]$ em suspensão de CCl_4 .

Figura 57. Espectro UV-Vis do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$ em suspensão de CCl_4 .

Figura 58. Espectro UV-Vis do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^{+}$ em suspensão de CCl_4 .

Figura 59. Espectro UV-Vis do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ em suspensão de CCl_4 .

Figura 60. Espectro UV-Vis do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ (obtido pelo método 1) em suspensão de CCl_4 .

Figura 61. Espectro UV-Vis do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ (obtido pelo método 2) em suspensão de CCl_4 .

Tabela 12. Máximos de absorção no UV-Vis para os complexos imobilizados^a e alguns análogos em solução.

complexo	λ (nm)
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{-isn}]$	272 ^b
isonicotinamida	268 ^c
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_3)]$	276, 420 ^b
<i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_3)]$	417 ^d
<i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_5]^{2+}$	260, 479 ^e
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$	270, 378 ^b
<i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$	268, 356 ^f
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$	264, 340 ^b
<i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$	268, 334 ^g
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]^{2+}$	274, 492 ^b
<i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]^{2+}$	266, 486 ^f
<i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]^{2+}$	485 ^h
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$	270, 334 ^{b,i}
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$	268, 330 ^{b,j}
<i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$	230, 268, 323, 486 ^k

^a em suspensão de CCl_4 . ^b Incerteza de ± 5 nm. ^c ref. ³⁵. ^d ref. ¹⁷⁷. Obtido em excesso de ligante, $[\text{isn}] > 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Parte da região do UV não pode ser visualizada devido à absorção do ligante livre. ^e ref. ¹⁸¹. ^f Neste trabalho, *trans*- $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$ em solução desaerada 1 mol.L^{-1} de HCl e *trans*- $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ em solução desaerada de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. ^g ref. ¹⁸². ^h ref. ¹⁸³. Obtido em excesso de ligante, $[\text{isn}] > 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Parte da região do UV não pode ser visualizada devido à absorção do ligante livre. ⁱ Preparada com nitrito pH = 1. ^j Preparada com nitrito pH = 7,4. ^k ref. ³⁵.

Como pode ser observado nas Figuras 55 a 61, as bandas no espectro UV-Vis apresentam-se alargadas. Este fato é devido ao espalhamento de luz provocado pela suspensão da matriz.

De uma maneira geral os complexos imobilizados na ISNPS apresentam duas bandas no espectro eletrônico (Tabela 12). Uma em aproximadamente 270 nm, que a

julgar pelo espectro do suporte, é possivelmente devida a uma transição interna do ligante (IL) isonicotinamida ³⁵ uma vez que o ligante livre apresenta uma absorção em 268 nm ¹⁷⁷ e aminas de rutênio(II) e rutênio(III) com este ligante também apresentam uma absorção próxima a este comprimento de onda (vide Tabela 12). Para tetraaminas de rutênio, bandas nessa região também apresentam contribuição de uma transição do tipo d-d.

Como pode ser observado na Tabela 12, embora ocorram alguns deslocamentos no máximo de absorção das bandas presentes nos complexos imobilizados, estas estão próximas às observadas para os complexos em solução. Complexos de Ru(II), do tipo $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{LL}']^{2+}$, em solução, apresentam bandas na região de 350 a 490 nm que podem ser atribuídas à bandas de transição de transferência de carga metal ligante (TCML) ^{72;73;180;184} $\text{Ru(II)} \rightarrow \text{L}$, onde a intensidade e a posição da banda dependem dos ligantes em *trans* ⁷³. Para os complexos de rutênio(II) imobilizados, observa-se bandas nestas regiões, que, por analogia, podem ser atribuídas a transições de TCML $\text{Ru(II)} \rightarrow \text{L}$. Há que se ressaltar que, a banda em 492 nm observada para o $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]^{2+}$ é muito próxima da observada para o análogo em solução (485 nm) a qual é característica da presença da unidade $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]^{2+}$, fato este que reforça a presença do complexo na superfície do suporte. Para o complexo de rutênio(III), $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^{3+}$, foi observada uma banda em 340 nm que tem sido atribuída a uma transição de carga ligante metal (TCLM) entre o rutênio(III) e o ligante sulfato ^{178;182} nos análogos em solução. Para a tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada, $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, além da banda de IL da isonicotinamida observou-se uma banda próxima a 330 nm, tanto para o complexo imobilizado preparado através do método 1 como pelo método 2. Para complexos análogos em solução do tipo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ (L = bases nitrogenadas heterocíclicas), esta banda tem sido atribuída, por analogia, a uma transição d-d e a uma MLCT, segundo cálculos realizados por TD-DFT para os complexos com ligantes como piridina ou pirazina ²⁷. No entanto, não foi possível visualizar as bandas em 230 e 486 nm observadas para este complexo em solução. Isto provavelmente é devido à absorção da matriz de sílica

somado ao espalhamento de luz, que devem encobrir a banda em 230 nm e devido à absorvidade molar muito baixa em 486 nm ($\epsilon = 4.4 \times 10^1 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)³⁵.

A proximidade das bandas de absorção nos espectros eletrônicos observada para os complexos imobilizados em relação aos análogos em solução indica que a estrutura do complexo imobilizado foi preservada.

III.3.3. Caracterização dos complexos imobilizados por espectroscopia no IV.

Tetraaminas de rutênio com o ligante nitrosilo do tipo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4\text{L}]^{n+}$ apresentam estiramento no espectro vibracional entre 1909 cm^{-1} e 1942 cm^{-1} , o que é compatível com o caráter nitrosônio para o ligante NO⁷. Os complexos imobilizados $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]\text{Cl}$, $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}_2$ e $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ foram analisados por espectroscopia no IV. Com exceção do complexo imobilizado contendo o ligante nitrosilo, não foram observadas bandas adicionais no espectro além das observadas para o suporte (vide item III.1). Isto provavelmente é devido às intensas bandas exibidas pela matriz de sílica que dominam uma larga faixa do espectro. Para o nitrosilo complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ preparado pelos métodos 1 e 2 uma banda bem distinta foi observada em 1930 cm^{-1} (Figura 62) para ambos. Esta banda é muito próxima à observada para o complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{isn})](\text{BF}_4)_3$ (1923 cm^{-1})³⁵ e por analogia foi atribuída ao estiramento $\nu_{(\text{NO})}$. Como mostrado na Figura 62, os estiramentos observados apresentam essencialmente o mesmo número de onda empregando-se o método 1 ou o método 2 para preparação do nitrosilo complexo imobilizado. Este fato sugere que o $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ é formado através da reação com nitrito em pH = 7,4 (vide adiante).

Figura 62. Espectro de infravermelho do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ preparado através do método 1 (A) e método 2 (B), em pastilha de KBr.

III.3.4. Caracterização dos complexos imobilizados por voltametria cíclica.

Para avaliar o comportamento eletroquímico dos complexos imobilizados foi utilizada a técnica de voltametria cíclica. Foram investigados os complexos imobilizados $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$, $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$ e $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, este último, preparado pelos métodos 1 e 2. Para fins de comparação os análogos em solução também foram estudados através da referida técnica. Os valores obtidos são mostrados na Tabela 13 e os voltamogramas são mostrados nas Figuras 63 a 69.

Figura 63. Ciclovoltagem do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$ em eletrodo modificado de pasta de carbono utilizando como eletrólito suporte solução de KCl 1,0 mol.L⁻¹ pH ~ 1, $v = 30 \text{ mV.s}^{-1}$.

Figura 64. Ciclovoltagem do *trans*- $[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$ em solução de KCl 1,0 mol.L⁻¹ pH ~ 1, $v = 30 \text{ mV.s}^{-1}$

Figura 65. Ciclo voltamograma do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$ em eletrodo modificado de pasta de carbono utilizando como eletrólito suporte solução de KCl 1,0 mol.L⁻¹ pH ~ 1, $v = 30 \text{ mV.s}^{-1}$.

Figura 66. Ciclo voltamograma do $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{SO}_4)(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^+$ em solução de KCl 1,0 mol.L⁻¹ pH ~ 1, $v = 30 \text{ mV.s}^{-1}$.

Figura 67. Ciclo voltamograma do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, preparado pelo método 1, em eletrodo modificado de pasta de carbono utilizando como eletrólito suporte solução de KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ pH ~ 1 , $v = 30 \text{ mV.s}^{-1}$.

Figura 68. Ciclo voltamograma do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ preparado pelo método 2, utilizando como eletrólito suporte solução de KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ pH ~ 1 , $v = 30 \text{ mV.s}^{-1}$.

Figura 69. Ciclo voltamograma do $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$ em solução de KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ pH ~ 1 , $v = 30 \text{ mV.s}^{-1}$.

Tabela 13. Potencial redox para algumas das tetraaminas de rutênio imobilizadas e seus análogos em solução.

Complexo	Potencial ^a (V vs Ag/AgCl)
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$	$0,40^b$
$trans\text{-}[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_2)]^{2+}$	$0,42^b$
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$	$0,025^c$
$trans\text{-}[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$	$0,057^c$
$trans\text{-}[\text{Ru}(\text{isn})(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$	$0,067^{c,d}$
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$	$0,29^e$
$[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$	$0,27^f$
$trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$	$0,22^g$
$trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$	$0,21^h$

^a Em solução de KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ pH ~ 1 , $v = 30 \text{ mV.s}^{-1}$, 25°C . ^b $E_{1/2}$ para o par $\text{Ru}^{\text{II/III}}$. ^c E_{pc} para a reação $[\text{Ru}(\text{SO}_4)(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow [\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{isn})(\text{OH}_2)]^{2+} + \text{SO}_4^{2-}$. ^d ref. ¹⁶⁷. Valor convertido de SCE para Ag/AgCl. ^e preparado pelo método 1. E_{pc} para o par $\text{NO}^{+/0}$. ^f preparado pelo método 2. ^g Neste trabalho. ^h $E_{1/2}$ ref. ³⁵. Valor convertido de SCE to Ag/AgCl.

Como pode ser observado através das Figuras 63 a 69 e da Tabela 13, de uma maneira geral os processos redox $\text{Ru}^{\text{II/III}}$ para os tetraaminas de rutênio imobilizadas

apresentam uma boa concordância com aqueles observados para os análogos em solução em condições experimentais similares.

Para o complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$ (Figura 65) a uma velocidade de varredura de 30 mV.s^{-1} , podem ser observados 2 picos, sendo um em $0,022 \text{ V}$ (Epc) e outro em $0,22 \text{ V}$ (Epa). Para o pico catódico, não se observa o pico anódico correspondente. É conhecido que a redução eletroquímica envolvendo complexos do tipo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{SO}_4)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^+$ (L = bases nitrogenadas heterocíclicas), em solução, apresenta um comportamento irreversível para o processo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{SO}_4)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{+/0}$ devido à rápida aquação do ligante sulfato após a geração do centro de rutênio(II) ¹⁶⁷. A reversibilidade do processo $\text{Ru}^{\text{II/III}}$ nos complexos com o ligante sulfato só pode ser observada em uma janela de tempo muito curta ($v > 0.5 \text{ V.s}^{-1}$) e a baixa temperatura ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) ¹⁶⁷.

A julgar pelo voltamograma observado para o $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_4)]^+$ e às condições experimentais empregadas, o mesmo processo parece estar ocorrendo para o complexo imobilizado. A irreversibilidade para o referido processo também é observada para o complexo análogo em solução como mostrado no voltamograma da Figura 66, obtido em condições experimentais similares.

Tetraaminas de rutênio com o ligante nitrosilo do tipo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ (L = bases nitrogenadas heterocíclicas), em solução, apresentam um processo redox $\{\text{RuNO}\}^{6/7}$ ^{34;35}. Através dos dados da Tabela 13 e como pode ser visto nas Figuras 67 e 68, a tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada preparada pelos métodos 1 e 2 apresenta um pico catódico irreversível próximo à -0.29 e -0.27 V , respectivamente. Os potenciais de redução observados para ambos os métodos de preparação são bem próximos um ao outro, o que indica uma semelhança entre os complexos obtidos através dos métodos 1 e 2, como observado através do IV. A irreversibilidade do processo indica uma labilização do ligante nitrosilo após redução. A irreversibilidade deste processo de redução pode estar relacionada com as condições experimentais (velocidade de varredura e temperatura), uma vez que para $v < 50 \text{ mV.s}^{-1}$ para os nitrosilo complexos análogos com ligantes como piridina, isonicotinamida e nicotinamida, um comportamento similar é observado em solução ^{34;35}. A mesma irreversibilidade foi observada para o complexo *trans*-

$[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$ em condições experimentais similares (Figura 69). Para este complexo a reversibilidade é observada apenas em velocidades mais altas e/ou menores temperaturas. No entanto, o pico catódico observado para os complexos imobilizados preparados através dos diferentes métodos é próximo àquele observado para o análogo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$ em solução, e portanto pode ser atribuído à redução $\{\text{RuNO}\}^{6/7}$. Deve-se notar que o pico catódico para o $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ tem um deslocamento um pouco maior quando comparado com aqueles observados para os processos $\text{Ru}^{\text{II/III}}$ após a imobilização. Isto pode indicar que a matriz de sílica e/ou os grupos funcionais podem estar influenciando o ligante nitrosilo de alguma forma.

Como pode ser observado pelos resultados descritos acima, as tetraaminas de rutênio imobilizadas na sílica com grupamentos isonicotinamida apresentam um comportamento similar aos análogos em solução. Propriedade similar também foi observada para o complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})\text{Cl}(\text{cyclam})]^{2+}$ imobilizado em matriz de sol-gel¹⁶² e para o complexo $[\text{Ru}(\text{edta})(\text{NO})]^-$ quimicamente ligado a superfície de sílica gel modificada¹⁵⁶. Além disso, conforme os resultados obtidos, a reação entre o nitrito em pH = 7,4 e o aquo complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)]^{2+}$ (método 2) leva à formação do respectivo nitrosilo complexo com propriedades químicas similares às observadas quando o nitrosilo complexo de rutênio foi preparado através do método 1. Em virtude disso, o nitrosilo complexo preparado pelo método 2 foi utilizado nos estudos de labilização do ligante nitrosilo.

III.4. Fotolabilização do ligante nitrosilo no complexo imobilizado

Tetraaminas de rutênio com o ligante nitrosilo do tipo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ (L = bases nitrogenadas heterocíclicas), em solução aquosa, quando irradiadas com fótons de energia correspondente às bandas na região de 300-350 nm no espectro eletrônico, sofrem aquação do ligante NO com a formação do aquo complexo de rutênio(III) correspondente¹⁵⁸, conforme é mostrado na equação 07.

Com o objetivo de se investigar se esta propriedade é mantida após a imobilização, a fotólise do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ foi acompanhada por espectroscopia de infravermelho e através do NOmeter. Para o acompanhamento por IV, aproximadamente 1 mg do material com o complexo imobilizado, $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, foi disperso em uma pastilha de KBr e fotolisado em 334 nm. Neste caso, observou-se uma diminuição muito lenta da banda referente a $\nu_{(\text{NO})}$ (Figura 70).

Figura 70. Alterações espectrais no IV durante a irradiação em 334 nm do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, em pastilha de KBr. Tempo total de fotólise 24 horas.

Quando a irradiação foi feita com luz branca, a banda do $\nu_{(\text{NO})}$ desaparece após aproximadamente uma hora de irradiação (Figura 71). Para efeito de comparação o

mesmo experimento foi realizado empregando-se o complexo não imobilizado *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)](BF₄)₃ (Figura 72) nas mesmas condições.

Figura 71. Alterações espectrais no IV durante a irradiação com luz branca do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, em pastilha de KBr. Tempo de fotólise 1 hora, com medidas a cada 15 minutos.

Figura 72. Alterações espectrais no IV durante a irradiação com luz branca do *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)](BF₄)₃ em pastilha de KBr. Tempo de fotólise 1 hora e 20 minutos com medidas em intervalos de 20 minutos.

Como pode ser observado na Figura 71 ocorre o desaparecimento do estiramento do $\nu_{(\text{NO})}$ para o complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ após 1 hora de fotólise. A diminuição do estiramento do NO indica a fotolabilização do NO no complexo imobilizado. Para o complexo não imobilizado *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)](BF₄)₃, observa-se uma diminuição acentuada do estiramento $\nu_{(\text{NO})}$ quando disperso em pastilha de KBr e fotolisado com luz branca por aproximadamente 1 hora. O desaparecimento banda referente ao $\nu_{(\text{NO})}$ não é completo durante o mesmo tempo de fotólise devido à quantidade de complexo presente no material imobilizado ser menor que a de *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)](BF₄)₃ dispersa na pastilha. No entanto, deve-se encarar com cautela a comparação feita baseada apenas nos tempos de fotólise. Estas comparações servem apenas qualitativamente e foram feitas sob a premissa de que as intensidades dos feixes de luz branca e as demais

condições foram mantidas sem variação significativa. Mesmo assim, comparando a irradiação com luz de 334 nm e com luz branca, o tempo menor de fotólise é consistente com uma maior intensidade total da luz branca, quando comparada com a luz filtrada de 334 nm, ou seja, com um maior número de fótons de energias diferentes absorvidos pelas amostras. A liberação de óxido nítrico sob irradiação com luz também foi observada em nosso laboratório para outros complexos como o $[\text{Ru}(\text{salen})(\text{OH}_2)(\text{NO})]^+$ (salen = N,N-bis(salicideno)etilenodiaminato) ¹⁶³ ou *trans*- $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{cyclam})]^{2+}$ ¹⁶² imobilizados em matrizes de xerogel. A liberação de NO durante a fotólise de um nitrosilo complexo de rutênio derivado do ligante salen imobilizado em uma matriz polimérica orgânica já havia sido observada por Borovik et al. ¹⁶⁴.

Após a fotólise, o complexo de rutênio(III) formado possivelmente está associado a uma molécula de água da superfície do material uma vez que estas matrizes contém de 1 a 2 % de água fisicamente adsorvida ^{143;148}.

A fotolabilização do ligante nitrosilo no complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ também foi acompanhada utilizando o NOmeter. O eletrodo seletivo do NOmeter detecta a presença do óxido nítrico em solução através de amperometria e é um método inequívoco para comprovar a presença do NO em solução.

Inicialmente foi realizada a fotólise da tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada preparada através do método 2 irradiando-se a suspensão com luz no comprimento de onda de 334 nm (Figura 73).

Figura 73. Variação da concentração de NO durante a fotólise em 334 nm de uma suspensão de 15 mg de $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ ($0,75 \times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$) preparada através do método 2, em solução tampão fosfato previamente desaerada.

Na Figura 73 observa-se que o aumento da concentração de NO durante a fotólise em 334 nm é muito lento, indicando que a fotolabilização do nitrosilo coordenado é lenta neste comprimento de onda, como verificado anteriormente através do acompanhamento da fotólise por IV. Nesta condição foi observada uma concentração de $2,57 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ de NO.

A fotolabilização do NO também foi acompanhada através do NOmeter durante a irradiação com luz branca. Os resultados são mostrados na Figura 74.

Figura 74. Variação da concentração de NO durante a fotólise com luz branca de uma suspensão de 15 mg de $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ ($0,66 \times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$) preparada através do método 2, em solução tampão fosfato, previamente desaerada.

Através da Figura 74, em comparação com a Figura 73, é possível observar que a quantidade de NO liberada é de aproximadamente uma ordem de grandeza maior quando o complexo imobilizado é irradiado com luz branca em relação à irradiação com luz no comprimento de onda de 334 nm. Este fato é devido à maior intensidade da luz branca e seu amplo espectro de energia. Nestas condições, a quantidade de NO observada em solução foi de $2,2 \mu\text{mol.L}^{-1}$.

Estudos realizados em nosso laboratório com o complexo $[\text{Ru}(\text{salen})(\text{OH}_2)(\text{NO})]^+$ imobilizado em uma matriz de xerogel mostraram que após a fotólise foi possível a regeneração do nitrosilo complexo através da reação com nitrito em meio aquoso ¹⁶³. De maneira a investigar se a tetraamina de rutênio imobilizada na sílica apresentava uma propriedade semelhante, reagiu-se o material fotolisado com uma solução de nitrito. O produto obtido foi analisado por IV e então novamente fotolisado (Figura 75).

Figura 75. Mudanças espectrais no IV durante a irradiação com luz branca do material obtido após a fotólise do nitrosilo complexo de rutênio imobilizado e posterior reação com solução aquosa de nitrito, em pastilha de KBr.

Como pode ser observado através da Figura 75 após a reação do material fotolisado com solução de nitrito, inicialmente observa-se uma banda em 1930 cm^{-1} , a qual desaparece durante a fotólise. Esta banda também é observada antes da fotólise (Figura 71) bem como no complexo imobilizado $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ preparado através do método 2 (Figura 62). Estes resultados sugerem que, como observado para o complexo $[\text{Ru}(\text{salen})(\text{OH}_2)(\text{NO})]^+$ imobilizado em uma matriz de xerogel, a tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada na sílica pode ser regenerada após a fotólise através da reação com nitrito, como indica o desaparecimento da banda em 1930 cm^{-1} referente ao $\nu_{(\text{NO})}$. No entanto, a regeneração do complexo de rutênio com o ligante salen, após a fotolabilização do ligante nitrosilo, requer aproximadamente uma semana para ser regenerado pela reação com solução aquosa de nitrito. Este fato possivelmente é, ao menos em parte, devido à lenta difusão

dos íons nitrito no ambiente restrito da rede de sílica. No caso da tetraamina de rutênio, a imobilização na superfície do suporte, torna o complexo rapidamente acessível aos íons nitrito, fazendo com que a regeneração seja tão rápida quanto o tempo de mistura com a solução.

Conforme os resultados relatados acima, é possível afirmar que a tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada é capaz de liberar óxido nítrico quando irradiada com luz, sendo também passível de regeneração.

III.5. Liberação de óxido nítrico por redução química na tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada na ISNPS.

Tetraaminas de rutênio com o ligante nitrosilo do tipo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ podem sofrer redução por via eletroquímica ou por redutores químicos resultando na aquação do ligante nitrosilo coordenado e a conseqüente formação do aquo complexo de rutênio(II) ⁷, conforme as equações 08 e 09.

Para o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(isn)]³⁺, em solução, o mesmo mecanismo é observado quando utiliza-se Eu²⁺ como redutor químico.

A redução do complexo imobilizado, [≡Si(CH₂)₃(isn)Ru(NH₃)₄(NO)]³⁺, foi investigada utilizando-se íons Eu(II) como agente redutor, com o objetivo de se estudar a aquação do ligante nitrosilo e a liberação do óxido nítrico.

Após a redução com Eu(II), o material obtido foi analisado por espectroscopia no IV e UV-Vis. Os espectros são mostrados nas Figuras 76 e 77.

Figura 76. Espectro de infravermelho do material obtido após redução do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ com $\text{Eu}(\text{II})$, em pastilha de KBr .

Como pode ser observado na Figura 76, ocorre o desaparecimento completo da banda em 1930 cm^{-1} presente no espectro de infravermelho do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ indicando a labilização do NO e fornecendo evidência adicional de que o referido estiramento pode ser atribuído ao nitrosilo coordenado, como mencionado anteriormente.

Figura 77. Espectro UV-Vis do material obtido após reação do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ com Eu(II), em suspensão de CCl_4 .

No espectro eletrônico mostrado na Figura 77 é possível observar uma banda na região do visível em 486 nm, além de uma banda em 264 nm. Estes resultados estão de acordo com o observado para o *trans*- $[\text{Ru}(\text{OH}_2)(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{2+}$ e para o $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ (vide Tabela 13) e sugerem que a aquação do ligante nitrosilo ocorre da mesma forma que a observada para o complexo em solução.

Após as investigações iniciais sobre a forma de liberação de NO no $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, a quantidade de óxido nítrico liberada do material foi estudada empregando-se o eletrodo seletivo de NO. As Figuras 78 e 79 mostram os cronoamperogramas obtidos para a reação do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ e do complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$ em solução, com o redutor químico Eu(II).

Figura 78. Cronoamperograma do NO liberado para a reação de uma suspensão de 3,0 mg $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ ($2.0 \times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$) em 10 mL de tampão fostafo previamente desaerado com Eu(II) (30x excesso).

Figura 79. Cronoamperograma do NO liberado para a reação de uma solução $48 \mu\text{mol.L}^{-1}$ de $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$ em 10 mL de tampão fosfato previamente desaerado com Eu(II) (30x excesso).

A partir do valor da corrente obtida, a concentração de NO foi calculada como $58 \pm 2 \mu\text{mol.L}^{-1}$ para o $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ (Figura 78) e $46 \pm 2 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e para o *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$, respectivamente (Figura 79). Estes valores estão em boa concordância com o valor esperado de $60 \mu\text{mol.L}^{-1}$ para o $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ e $48 \mu\text{mol.L}^{-1}$ para o *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{isn})]^{3+}$.

Estes valores sugerem que a liberação de NO no complexo imobilizado é essencialmente quantitativa após a redução com Eu(II) como presumido pelo desaparecimento do $\nu_{(\text{NO})}$ no espectro de IV. Este fato também reflete uma possível vantagem da imobilização do complexo na superfície do material, o que faz com que o mesmo seja mais facilmente acessível a agentes redutores, não sendo necessária a difusão destes agentes como no caso de uma imobilização no interior de uma matriz. A similaridade nas propriedades de liberação do NO entre o complexo imobilizado e o análogo em solução, sugere que a liberação de óxido nítrico não é significativamente afetada após a imobilização.

III.6. Estudos de reciclagem do complexo imobilizado

Uma propriedade interessante que a imobilização da tetraamina de rutênio pode facilitar é a regeneração do nitrosilo complexo imobilizado. Após a liberação do NO, o material pode ser facilmente isolado e nitrosilado novamente.

Uma vez que o aquo complexo de rutênio(II) é formado após a redução do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ com íons Eu(II), conforme observado por espectroscopia no UV-Vis (Figura 77) e resultados relatados em solução³⁵, decidiu-se investigar a possibilidade de regenerar o nitrosilo complexo de rutênio imobilizado. Os estudos de regeneração foram realizados através da reação com íons nitrito uma vez que, conforme relatado acima, o nitrosilo complexo de rutênio imobilizado também pode ser sintetizado a partir da reação entre o aquo complexo de rutênio(II) e o NO_2^- em solução tampão de fosfato pH 7,4.

Foram realizados três ciclos de redução e regeneração. Após cada ciclo a quantidade de rutênio presente no material foi determinada através do método de

Malouf ¹⁶⁹, com o objetivo de avaliar se houve desancoragem do complexo imobilizado (vide Tabela 14). O material obtido também foi analisado por IV com o objetivo de se verificar a presença da banda atribuída ao $\nu_{(\text{NO})}$ em 1930 cm^{-1} (Figura

80).

Figura 80. Espectros de IV do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ obtido após cada ciclo de reciclagem, em KBr.

Como pode ser observado na Figura 80, o espectro de IV do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ obtido após cada ciclo de reciclagem apresentou uma banda próxima a 1930 cm^{-1} . Este fato indica que foi possível a regeneração do nitrosilo complexo imobilizado através da reação com nitrito em $\text{pH} = 7,4$ nos 3 ciclos realizados.

A quantidade de NO liberada do material após cada ciclo de reciclagem foi determinada com o objetivo de avaliar se esta propriedade era preservada. Na Figura 81 são mostrados os cronoamperogramas da concentração de NO obtido para o material inicial e após o terceiro ciclo de reciclagem. Os valores das quantidades de NO obtido são mostrados na Tabela 14.

Figura 81. Cronoamperograma do NO liberado para a reação do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ com Eu(II) em 10 mL de solução tampão fosfato previamente desaerada (A) antes dos ciclos de reciclagem, (B) após o terceiro ciclo de reciclagem.

Tabela 14. Análise de rutênio e quantidade de NO liberada do $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$ a cada ciclo de reciclagem.

ciclo	“loading” de complexo ^a	NO liberado ($\times 10^{-4}$ mol) por grama do material
0	1.3	1.13
1	1.2	1.01
2	1.0	0.90
3	1.1	1.02

^a $\pm 0.2 \times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$. ^b $\pm 0.02 \times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$

Considerando os resultados da Tabela 14 é possível observar que uma pequena parte do complexo sofre desancoragem (aproximadamente 15 % baseado na análise de rutênio do material de partida) durante os 3 ciclos de reciclagem. Este fato pode ser devido a um lixiviamento dos grupos organosilano ligados à superfície da sílica, uma vez que a APS, material de partida para a preparação da ISNPS, perde grupos aminosilano em solução aquosa em pH neutro ou básico, enquanto a mesma é mais estável em pH ácido, conforme verificado por Walcarius et al.¹⁸⁵. Entretanto a razão NO liberado/Ru por grama de material permanece essencialmente constante. Estes resultados indicam que o complexo imobilizado pode ser regenerado sem perda significativa da capacidade de liberar NO.

A partir dos resultados apresentados, os quais indicam a possibilidade de regeneração do nitrosilo complexo imobilizado após redução com Eu(II) e reação com nitrito, podemos propor o seguinte ciclo:

A partir da terceira equação proposta para o ciclo catalítico de conversão de nitrito a NO observa-se que o nitrito coordenado ao complexo converte-se em NO espontaneamente, já que no pH estudado (pH = 7,4) esta espécie é predominante e a espécie nitro só é observada em pH superior a 10⁷.

Capítulo 3

***Preparação de filmes finos de silanos
organicamente modificados contendo o
complexo trans-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ e
depositados sobre aço cirúrgico.***

I. INTRODUÇÃO

I.1 Alguns aspectos sobre o processo sol-gel

O processo sol-gel propicia um método útil para preparar materiais inorgânicos ou híbridos orgânico-inorgânicos ¹⁸⁶⁻¹⁸⁸. A inerente utilidade deste processo é largamente devida à facilidade com que os materiais podem ser preparados, processados e modificados ^{186;187}. As condições brandas utilizadas na preparação resultam na possibilidade de incorporação de varias espécies como corantes ^{189;190}, complexos metálicos ^{162;163;191}, biomoléculas como proteínas e enzimas ^{192;193}. Isto pode ser obtido simplesmente pela dopagem do sol com o material desejado antes da gelificação ¹⁹⁴ ou alternativamente utilizando-se siloxanos modificados $R-(SiOR')_3$ onde R é a espécie de interesse ¹⁹⁵. Os materiais obtidos pelo processo sol-gel podem apresentar propriedades como transparência ótica, estabilidade química e mecânica e podem ser preparados em uma grande variedade de tamanhos e formas, os quais incluem filmes finos, fibras, monolitos e pós ^{196;197}. Adicionalmente, propriedades físicas como o tamanho médio de poros, porosidade, área superficial, índice de refração e polaridade da matriz resultante, podem ser controladas e direcionadas pela manipulação das condições de processamento do sol-gel, entre os quais, a concentração e tipo de siloxano empregado ^{186;187}.

Um gel de sílica pode ser formado basicamente pelo crescimento de uma rede a partir de um arranjo de partículas coloidais discretas ou pela formação de uma rede 3-D interconectada pela hidrólise e policondensação simultânea de um alcóxido de silício. Quando o líquido intersticial é removido como uma fase gasosa da rede de gel sob condições hipercríticas, a rede não colapsa e um *aerogel* de baixa densidade é produzido. Aerogeis podem apresentar porosidades tão grandes como 98% ¹⁸⁶. Quando o líquido intersticial é removido à pressão ambiente por evaporação térmica (processo chamado de secagem) e ocorre colapso da estrutura, o material é denominado xerogel.

Fatores como tipo do alcóxido metálico, solvente reacional e tipo de catálise (ácida ou básica) influenciam a natureza e estrutura do gel no processo sol-gel. Dentre

estes fatores, a natureza do catalisador influencia fortemente a cinética da reação, bem como a estrutura final do gel. De forma sucinta, na catálise básica, a reação deve se processar através de uma substituição nucleofílica, sendo neste caso, a velocidade de hidrólise maior que a de condensação, levando à formação de cadeias mais ramificadas no início do processo. Na catálise ácida, ocorre uma reação eletrofílica e a velocidade de condensação será maior que a de hidrólise, levando à formação de cadeias mais longas e menos ramificadas no início do processo¹⁸⁶⁻¹⁸⁸.

As reações de hidrólise e condensação com alcóxissilanos são representadas na Figura 82.

Hidrólise

Condensação

(R = metil, etil)

Figura 82. Representação genérica de reações de hidrólise e condensação para alcóxissilanos.

I.2. Siloxanos organicamente modificados e materiais híbridos orgânico-inorgânicos

Diversos são os alcóxissilanos que podem ser empregados na preparação de xerogéis. Os mais frequentemente empregados são o tetraetoxissilano ($\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$) também denominado TEOS e o tetrametoxissilano ($\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$) também denominado TMS. Siloxanos organicamente modificados cuja fórmula geral pode ser representada por $(\text{R}_{4-x}\text{Si}(\text{OR}')_x)$ onde R representa o grupo funcional e $x = 1-3$, podem ser

hidrolisados e condensados com os alcóxissilanos (TEOS ou TMS) para produzir materiais com propriedades superiores que aqueles preparados apenas com o TEOs ou TMS. Materiais assim preparados podem ser denominados Ormosils (Silicatos Organicamente Modificados) ¹⁹⁸⁻²⁰⁰. Uma ampla gama de siloxanos organicamente modificados com vários grupos funcionais são disponíveis comercialmente. Os mais comumente utilizados são os trialcóxissilanos ($x = 3$), onde o grupo funcional R é ligado ao silício através de uma ligação silício-carbono não hidrolisável. Estes alcóxissilanos são preferencialmente ligados por ligações cruzadas com os tetraalcóxissilanos para promover uma adequada interconectividade e estabilidade da rede. Dentre os diversos grupos funcionais presentes nos organosiloxanos destacam-se as cadeias alquílicas (C_nH_{2n+2}) como, por exemplo metil, etil e octil, e $(C_nH_{2n})-X$ onde X é o grupo funcional como, por exemplo, NH_2 , C_6H_5 , $COOH$, SH . A utilização dos organosiloxanos apresenta uma vantagem distinta que é a possibilidade do controle das propriedades químicas (índice de refração, polaridade e funcionalidade da superfície) da matriz de sílica. Esta estratégia permite que materiais com propriedades desejadas como hidrofobicidade, porosidade, flexibilidade e estabilidade química e mecânica possam ser facilmente preparados ¹⁸⁶⁻¹⁸⁸.

Outra classe de materiais híbridos orgânico-inorgânicos é a que emprega polisiloxanos, os quais contêm unidades $(SiRR'O)$ repetidas. Esta classe de polímeros é única entre os polímeros inorgânicos ou semi-orgânicos e tem sido intensamente investigada principalmente devido a suas aplicações comerciais. Dentre esta classe de materiais, o poli(dimetilsiloxano) (PDMS), o qual possui uma cadeia $(-Si(CH_3)_2O-)$, é um dos mais estudados. Os polímeros da família do PDMS apresentam propriedades únicas dada à configuração de sua cadeia polimérica. A cadeia do PDMS possui um comprimento de ligação Si-O (1,64 Å), o qual é significativamente maior que o da ligação C-C (1,53 Å) e um ângulo de ligação Si-O-Si de 143° maior que o valor usual para o tetraedro ($\sim 110^\circ$) e é tão flexível que pode facilmente passar para o estado linear ($\sim 180^\circ$). Adicionalmente o potencial torcional da ligação Si-O é significativamente menor que o da ligação C-C. Estas características conferem a cadeia do PDMS uma das maiores flexibilidades conhecidas para cadeias poliméricas ²⁰¹.

Materiais híbridos preparados a partir de alcóxissilanos e polisiloxanos têm sido intensamente investigados ²⁰²⁻²⁰⁷. Dentre estes, materiais empregando-se o poli(dimetilsiloxano) tem recebido atenção especial ²⁰²⁻²⁰⁵. As cadeias poliméricas do PDMS, as quais podem ser terminadas em grupos silanois (Si-OH) podem ser condensadas com o TEOS através de um processo em duas etapas como mostrado na Figura 83.

Hidrólise do TEOS

Co-polimerização com PDMS

Figura 83. Reação química para a formação do Ormosil entre TEOS e PDMS

A Figura 83 mostra que a reação de condensação se dá entre os grupos OH dos silanois terminais das cadeias de PDMS e os grupos Si-OH formados pela hidrólise do TEOS. A incorporação do polímero confere propriedades elásticas à estrutura do material. A estrutura e as características químicas e morfológicas destes materiais dependem de uma série variáveis tais como estrutura e composição química dos componentes orgânicos e inorgânicos bem como sua razão, solvente reacional,

conteúdo de água, temperatura, tipo e concentração do catalisador, tempo de gelificação, entre outros ²⁰³.

I.3. Aplicações do processo sol-gel

Dado a grande flexibilidade que o processo sol-gel permite, esta técnica tem sido utilizada na preparação de materiais para a aplicação em uma grande diversidade de áreas, como, por exemplo, na preparação de dispositivos ópticos e eletrônicos, sensores químicos e biomédicos, catalisadores e de biomateriais, entre outros ^{193;208-213}.

A utilização do processo sol-gel na área biomédica tem recebido grande atenção nos últimos tempos notadamente devido a alguns aspectos como, por exemplo, o desenvolvimento de materiais biocompatíveis ²¹⁴⁻²¹⁶, melhora da biocompatibilidade dos materiais atualmente empregados ^{217;218} e na preparação de sistemas liberadores de drogas ^{213;219-221}. Um exemplo notável foi a preparação do *Bioglass*[®] o qual é capaz de permitir ligação direta de tecido ósseo quando imerso em fluido biológico ²²².

Dentre as potenciais aplicações do processo sol-gel na área biomédica mencionadas acima, a melhora da biocompatibilidade de materiais utilizados e a liberação de moléculas que apresentem atividade fisiológica são de particular interesse para este trabalho. O aço inoxidável é o material mais largamente utilizado em implantes (temporários ou definitivos), cânulas e cateteres ^{223;224} em vista de suas propriedades mecânicas excelentes e sua aceitável biocompatibilidade. No entanto, este material apresenta algumas deficiências inerentes como a potencial liberação de íons metálicos ²²⁵. A deposição de filmes finos sobre o aço utilizando o processo sol-gel tem se mostrado útil no contorno dessa dificuldade sem prejuízo da biocompatibilidade do material ^{210;226} em parte devido a uma melhora da sua resistência à corrosão ²²⁶. Outro aspecto da utilização do aço inoxidável, é a possibilidade de formação de trombos ou coágulos na superfície do material, os quais podem se desprender e causar sérias complicações ^{227;228}. Este problema é particularmente crítico no caso do implante de *stents* coronarianos ²²⁹, onde a adesão plaquetária e a proliferação de células de músculo na área do implante podem levar ao processo de restenose (diminuição do calibre da artéria). Esse processo é observado

em até 30 % dos casos de angioplastia^{230;231}. A necessidade de estratégias que possam contornar as dificuldades mencionadas tem impulsionado as pesquisas para desenvolvimento de novos materiais. Estratégias como a imobilização direta de espécies sobre a superfície do material *via* ligação química²³² ou deposição de filmes finos poliméricos, orgânicos ou inorgânicos, sobre a superfície do aço, tem se mostrado úteis na redução de adesão plaquetária e proliferação de células de músculo liso²³³⁻²³⁵. No caso do emprego de filmes finos, essas coberturas tem sido aliadas à presença de drogas com ação antiproliferativa como *paclitaxel* e *sirolimus*²³⁶ ou antiinflamatória como dexametasona para a preparação dos chamados *drug eluting stents*. No entanto, esta estratégia tem sido largamente baseada na utilização de polímeros biodegradáveis^{236;237}. Outra estratégia empregada é a mimetização de funções de células endoteliais não trombogênicas²³⁸. Dentre as moléculas que contribuem para funções antitrombogênicas e antiplaquetárias, destaca-se o óxido nítrico (NO)^{239;240}. O óxido nítrico é um potente agente capaz de prevenir a ativação/adesão plaquetária. Estima-se que o fluxo de NO necessário para promover estes efeitos seja de $\sim 1 \times 10^{-10} \text{ mol.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ ²⁴¹. Há que se ressaltar que o NO é também um potente inibidor da proliferação de células do músculo liso²⁴² e portanto o emprego de agentes capazes de liberar NO como drogas sistêmicas tem sido proposto para reduzir a restenose que freqüentemente ocorre seguida o procedimento de angioplastia. Dessa forma, um grande esforço tem sido realizado para a incorporação de espécies que possam gerar/liberar óxido nítrico a partir de materiais^{162-164;243-247}. Dentre os diversos grupos de pesquisa que realizam esforços nesta direção estão os grupos de Keefer, Myerhoff e Schoenfisch^{238;248;249}. Estes grupos têm utilizado como doadores de NO espécies como diazeniodiolatos, os quais são capazes liberar NO espontaneamente sob condições fisiológicas^{249;250}. Enquanto os grupos Keefer e Myerhoff têm utilizado notadamente matrizes poliméricas orgânicas como poliuretano, policloreto de vinila, polivinil pirrolidona, álcool polivinílico^{243;251-253}, Schoenfisch^{246;254;255} têm utilizado o processo sol-gel para a preparação de matrizes capazes de incorporar ou ligar covalentemente grupos diazeniodiolatos. Os resultados obtidos são promissores uma vez que a liberação de NO destes materiais tem levado a uma redução significativa da adesão de plaquetas^{243;256}. Adicionalmente, estes materiais

têm apresentado boa estabilidade química, baixa toxicidade e uma biocompatibilidade adequada ^{254;256}. Estes materiais também têm se mostrado eficientes na prevenção da formação de filmes bacterianos podendo potencialmente ser utilizados na prevenção de infecções freqüentemente associadas com implantes metálicos ²⁵⁷.

Dentre os diversos tipos de compostos capazes de liberar NO encontram-se os complexos metálicos com o ligante nitrosilo ^{6;7;94;258}. Estes compostos têm sido utilizados na preparação de materiais capazes de liberar NO ^{156;162-164} quer seja utilizando-se o processo sol-gel, polímeros ou imobilização na superfície de suportes sólidos. O emprego de espécies M-NO é de especial interesse uma vez que as propriedades de liberação do NO podem ser controladas pela arquitetura do complexo. Trabalhos realizados em nosso grupo evidenciaram que o encapsulamento de nitrosilo complexos de rutênio com o ligante 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano (cyclam) ¹⁶² ou o ligante N,N'-bis-(salicideno)etileno-diaminato (salen) ¹⁶³ em matriz de xerogel não resulta em alteração significativa nas propriedades químicas destes complexos e os materiais são capazes de liberar NO quando irradiados com luz. No segundo exemplo, o material ainda apresentou a possibilidade de regeneração após reação com nitrito ¹⁶³. Estes resultados abrem a possibilidade para a utilização de outros nitrosilo complexos de rutênio na preparação de materiais potencialmente capazes de liberar óxido nítrico.

Estes resultados prévios aliados à flexibilidade proporcionada pela química do sol-gel no processamento de materiais motivaram a busca pelo desenvolvimento de um sistema que possa aliar a liberação controlada de NO a partir de nitrosilo complexos de rutênio e que ainda possua uma potencial aplicação em sistemas biológicos no que tange a melhora das propriedades do aço com relação à adesão de plaquetas e biocompatibilidade. Esta estratégia se torna ainda mais interessante quando se considera a possibilidade de regeneração dos nitrosilo complexos de rutênio frente a reação com íons nitrito, o que pode vir a constituir um sistema capaz de liberar óxido nítrico de forma contínua e controlada. Há aqui que se ressaltar que vários ensaios ainda seriam necessários para se avaliar o desempenho do material e que, o que se busca, é apenas uma prova de conceito. Neste sentido, são relatados neste capítulo os resultados dos estudos da deposição de filmes finos sobre o aço inoxidável, etapa que precede a escolha de condições para a imobilização do complexo *trans*-

[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ nas melhores condições encontradas dentre as investigadas.

II. PARTE EXPERIMENTAL

II.1. Reagentes e Solventes

II.1.a. Siloxanos

Os siloxanos empregados neste trabalho, tetraetoxisilano (TEOS) (Strem Chemicals), 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano (Glymo) (DEGUSSA) poli(dimetilsiloxano) (PDMS) (Dow Corning, M_n = 2200 g.mol⁻¹) foram utilizados como recebidos.

II.1.b. Aço inoxidável 316 L

Adquirido na Fênix Metais de Campinas como uma chapa de 50 x 50 cm e 1 cm de espessura. As amostras foram cortadas nas dimensões desejadas na Oficina de Precisão da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

II.1.c. Catalisador de estanho

Como catalisador para reações de condensação entre TEOS e PDMS foi utilizada uma solução 3 % (m/m) de dilaurato de dibutil estanho(II) em hexano.

II.1.d. Etanol e 2-propanol

Os álcoois anidros de procedência J.T. Baker foram utilizados como recebidos.

II.1.e. Ácido clorídrico

O ácido clorídrico 12 mol.L⁻¹ utilizado foi de procedência J.T Baker e as soluções de HCl 0,1 mol.L⁻¹ foram padronizadas empregando-se solução de NaOH previamente padronizada.

II.1.f. Acetonitrila ⁹⁷

Aproximadamente 1 L de acetonitrila foi passada através de uma coluna de alumina ativada e a seguir destilada com P₂O₅.

II.2. Materiais e Métodos

II.2.1. Síntese do complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂.

Esse complexo foi sintetizado e caracterizado conforme descrito nos itens II.2.8.b do capítulo 1.

II.2.2. Tratamento e limpeza da superfície do aço cirúrgico 316 L.

Para a limpeza da superfície do aço cinco métodos diferentes foram estudados e suas eficiências na obtenção de superfícies quimicamente homogêneas foram avaliadas. Nestes estudos foram utilizadas placas de 1 mm de espessura e 1 cm² de área. Após a limpeza as placas foram armazenadas em dessecador. O período entre a limpeza e a utilização das amostras foi sempre inferior a dois dias. Os métodos utilizados são descritos abaixo:

II.2.2.1. *Método 1*

A placa foi mergulhada por 10 minutos em um béquer contendo acetona aquecida a 50 °C sendo em seguida removida, lavada com diclorometano e secada em corrente de nitrogênio seco e filtrado.

II.2.2.2. *Método 2*

A placa foi colocada em um frasco fechado com uma saída e uma entrada para o ozônio. Diretamente sobre a superfície da placa foi mantido um fluxo de O_3 de $15 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ por 10 minutos. O gás foi gerado em um equipamento Ozongenerator Model 500 Fischer.

II.2.2.3. *Método 3*

A placa foi mergulhada em uma solução preparada pela mistura de volumes iguais de hidróxido de amônio (28 %) e peróxido de hidrogênio (30 %) por 10 minutos. Em seguida, a placa foi lavada com água, acetona, diclorometano e secada em corrente de nitrogênio seco e filtrado.

II.2.2.4. *Método 4*

Este método de limpeza emprega a seguinte seqüência de etapas:

- I. Coloca-se a placa em clorofórmio por 10 minutos.
- II. Sonica-se em etanol por 5 minutos.
- III. Coloca-se a placa em uma mistura de $NH_4OH:H_2O_2:H_2O$ (1:1:5 v/v) por 10 minutos.
- IV. Coloca-se a placa em água a 75°C por 10 minutos.

A placa é, então, lavada com acetona e diclorometano e secada sob corrente de nitrogênio seco.

II.2.2.5. *Método 5*

Este método de limpeza emprega a seguinte seqüência de etapas:

- I. Coloca-se a placa em uma mistura de $NH_4OH:H_2O_2:H_2O$ (1:1:5 v/v) por 10 minutos
- II. Lava-se com água desionizada

- III. Coloca-se a placa em H₂O desionizada a 75 °C por 10 minutos.
- IV. Lava-se com água desionizada seguida da secagem da superfície com uma corrente de nitrogênio filtrado.

II.2.3. Polimento da superfície.

O polimento da superfície do aço foi realizado em duas etapas. A primeira envolve a utilização, em sequência, de lixas SiC n. 1200, 1500 e 2000 (3M) e foi realizada manualmente. As placas lixadas foram polidas utilizando-se um disco de feltro DBM e pasta de alumina de 0,05 µm (AROTEC) até a obtenção de uma superfície espelhada. O disco de feltro foi fixado em um agitador magnético. Após o polimento as placas foram lavadas com água desionizada e armazenadas em um dessecador.

II.2.4. Preparação e deposição dos filmes finos de silanos organicamente modificado sobre a superfície do aço.

Os sóis foram preparados pela mistura dos componentes em tubos de PVC sob agitação magnética constante. Após a preparação, os tubos foram mantidos em um dessecador pelo tempo necessário para a gelificação. As quantidades dos componentes empregados e a metodologia de preparação utilizada encontram-se descritas na Tabela 15. Como siloxanos foram utilizados o TEOS, o PDMS e o Glymo (Figura 84) em combinações binárias.

PDMS

TEOS

Glymo

Figura 84. Estrutura do tetraetoxisilano (TEOS) e dos organosiloxanos (Glymo e PDMS) utilizados na preparação dos filmes finos.

Tabela 15. Componentes e condições de preparação das misturas (sol) para a deposição de filmes finos sobre a superfície.

Código da mistura	Componentes	Condição de preparação do sol-gel
M1 T ₉₀ P ₁₀ iPrSn	TEOS 1,8 g, PDMS 0,2 g, iPrOH 1,5 mL, ACN 0,5 mL, 3 gotas de DBTDL	As quantidades de TEOS, PDMS, iPrOH são adicionadas a um tubo de PVC e a mistura é mantida sob agitação magnética por 20 min. Adiciona-se a ACN e após 10 min 3 gotas de DBTDL. Mantém-se a agitação por 10 min. O sol é deixado gelificar por 5 h à temperatura ambiente
M2 T ₇₀ P ₃₀ iPrSn	TEOS 1,4 g, PDMS 0,6 g, iPrOH 1,5 mL, ACN 0,5 mL, 3 gotas de DBTDL	As quantidades de TEOS, PDMS, iPrOH são adicionadas a um tubo de PVC e a mistura é mantida sob agitação magnética por 20 min. Adiciona-se a ACN e após 10 min 3 gotas de DBTDL. Mantém-se a agitação por 10 min. O sol é deixado gelificar por 1 h a temperatura ambiente.
M3 T ₉₀ P ₁₀ iPrH	TEOS 0,9 g, PDMS 0,1 g, iPrOH 1,5 mL, H ₂ O 77 µL, HCl 12 mol.L ⁻¹ 25 µL, ACN 0,4 mL	As quantidades de TEOS, PDMS e iPrOH são misturadas em um tubo de PVC e a mistura é mantida sob agitação magnética por 15 min. Adiciona-se então o HCl e a H ₂ O e após 30 min, a ACN. A mistura é agitada por mais 30 min. O sol é deixado gelificar por 24 h à temperatura ambiente.

<p>M6 T₃₀G₇₀EtH</p> <p>Glymo 0,7 g, TEOS 0,3 g, EtOH 2 mL, HCl 0,1 mol.L⁻¹ 0,2 mL, H₂O 0,5 mL, 1 gota de polímero tensoativo fluorado PMC</p>	<p>O Glymo, o HCl e 1,0 mL de EtOH são misturados em um tubo de PVC (A). Em outro tubo são misturados o TEOS, H₂O e 1,0 mL de EtOH (B). Os frascos são mantidos sob agitação magnética por 40 min (A) e 20 min (B). Seus conteúdos são misturados, adiciona-se o polímero e a agitação mantida por mais 30 min. O sol é deixado gelificar por 24 h à temperatura ambiente.</p>
<p>M8 T₃₀G₇₀EtH</p> <p>Glymo 0,3 g, TEOS 0,7 g, EtOH 2 mL, HCl 0,1 mol.L⁻¹ 0,2 mL, H₂O 0,5 mL, 1 gota de polímero tensoativo fluorado PMC</p>	<p>O Glymo, o HCl e 1,0 mL de EtOH são misturados em um tubo de PVC (A). Em outro tubo são misturados o TEOS, H₂O e 1,0 mL de EtOH (B). Os frascos são mantidos sob agitação magnética por 40 min (A) e 20 min (B). Seus conteúdos são misturados, adiciona-se o polímero e a agitação é mantida por mais 30 min. O sol é deixado gelificar por 24 h à temperatura ambiente.</p>

Os géis obtidos conforme descrito na Tabela 15 foram depositados sobre a superfície das placas de aço previamente tratadas e limpas utilizando-se a técnica de *spin-coating*. Como *spin-coater* foi utilizado um sistema adaptado. Uma placa de agitação magnética teve sua placa de aquecimento removida. Ao imã da placa foi fixada uma placa de ferro, sob a qual foi colada uma fita adesiva dupla face. Nesta fita foi fixada a placa de aço sobre a qual desejava-se depositar o filme, recobrindo-se então sua superfície por uma camada do gel. Acelerou-se lentamente a rotação da

placa de agitação até uma determinada velocidade, a qual foi mantida por 15 segundos. Desacelerou-se lentamente até parada e a placa de aço foi cuidadosamente removida.

Após a deposição dos filmes, as amostras foram secas em estufa à 50 °C por 24 horas e posteriormente armazenadas em dessecador.

II.2.5. Preparação dos filmes finos de silano organicamente modificado contendo o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂.

A preparação dos filmes finos contendo o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ foi feita pela dopagem do sol com 20 mg ($3,0 \times 10^{-5}$ mol) do complexo resultando numa concentração inicial de $\sim 7,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹. Para a preparação destes materiais foram escolhidas as condições que apresentaram a melhor estabilidade nos testes de imersão estática (item III.2.8) e adesão ao substrato adequada (item II.2.7). As condições de preparação do filme (tempo de gelificação, método de deposição e secagem do sol-gel contendo o complexo), foram idênticas às utilizadas na preparação dos filmes sem o complexo.

II.3. Equipamentos e métodos utilizados.

II.3.1. Microscopia óptica

As imagens de microscopia óptica foram obtidas em um Microscópio Olympus BX50 com câmera de alta sensibilidade SIT-C-24 Hamamatsu. Radiação UV: lâmpada de mercúrio (100W). O aumento empregado foi de 20X. Foram escolhidas aleatoriamente 3 diferentes regiões de cada placa de aço para cada um dos diferentes tratamentos de limpeza. Estas medidas foram realizadas no Laboratório de Físico-Química de Superfícies do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

II.3.2. Medidas de ângulo de contato

As medidas de ângulo de contato foram realizadas em um Tensiômetro Automático Dataphysics OCA 20 utilizando-se água MilliQ e um volume de gota de 30 μL . A determinação da hidrofiliicidade da superfície após tratamento das placas de aço de 1 cm^2 foram realizadas em triplica utilizando amostras diferentes.

II.3.3. Medidas de energia superficial dos filmes.

Utilizou-se um Tensiômetro Automático Dataphysics OCA 20. Para as medidas foram selecionados três diferentes líquidos: água, diiodometano e n-dodecano. As componentes polares e dispersivas para cada um dos líquidos são mostradas na Tabela 16. Para as medidas, um volume de gota de 15 μL foi depositado sobre a superfície da placa a partir de uma pipeta automática. O tempo para as medidas foi de 60 segundos. Foram utilizadas placas de 4 cm^2 de área recobertas com os filmes. Para comparação as mesmas medidas foram realizadas com o aço inoxidável 316L. O método utilizado para a determinação da energia superficial foi o de OWRK (Owens-Wendt-Rabel e Koelble). Esse método leva em conta as componentes dispersiva e polar da energia superficial e pode ser empregado para medidas em polímeros, alumínio e coberturas. Estas medidas foram realizadas no Laboratório de Físico-Química de Superfícies do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

Tabela 16. Componente dispersiva e polar para os líquidos selecionados para medida de energia superficial

Líquido	Componente Dispersiva	Componente Polar
água	19.90	52.20
diiodometano	47.00	2.60
n-dodecano	25.35	0

II.3.4. Microscopia eletrônica de varredura

As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas em um equipamento LEO 400 no Instituto de Química de São Carlos - USP ou em um equipamento Zeiss EVO 50 no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

II.3.5. Microscopia de força atômica

As imagens de microscopia de força atômica foram obtidas em um microscópio Shimadzu modelo SPM 9600 acoplado a um computador com o programa SPM versão 3.03. As imagens foram tratadas com os programas SPM versão 3.03 e/ou SPIP (*Scanning Probe Image Processor*) versão 2.34. As análises foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

II.3.5. Reflectância Especular

As medidas de espessura foram coletadas através da reflectância especular obtendo os espectros das franjas de interferência correspondentes às espessuras de cada filme. O equipamento utilizado foi o NanoCalc 2000[®] da MIKROPACK composto por uma fonte de luz de halogênio, uma fibra óptica FCTR-IR400-2-ME-FR e um espectrômetro de duplo canal – 2058 Pixel do tipo CCD. As espessuras dos filmes foram determinadas traçando o perfil dos espectros das franjas de interferências, utilizando-se o programa Nanocalc[®] versão 2.3.1. As medidas foram realizadas no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

II.3.6. Ressonância magnética nuclear de ¹³C e ²⁹Si no estado sólido.

Para estas medidas aproximadamente 1 g do xerogel foi preparado utilizando-se as mesmas condições descritas na Tabela 15. A dispersão do gel foi feita sobre uma

placa de teflon e, após secagem, o material foi cuidadosamente removido e o sólido obtido armazenado em dessecador.

Os experimentos de ^{13}C -RMN de alta resolução no estado sólido foram feitos no espectrômetro Varian UNITY Inova 400, com campo estático de 9,4 Tesla. A sonda utilizada foi o modelo Varian-Jakobsen de 7 mm de ressonância dupla, permitindo rotação da amostra em torno do ângulo mágico (MAS) com frequência de 7 KHz em rotores de nitreto de Si e aplicando desacoplamento de alta potência da interação dipolar ^1H - ^{13}C . As medidas em polarização direta foram realizadas com pulso $\pi/2 = 4$ e tempo de repetição de 5 s. Nos experimentos de NQS, realizados com a finalidade de determinar quais linhas correspondiam a C com forte interação dipolar magnética H-C (sinais mais atenuados), o tempo entre o pulso e o início do desacoplamento foi de 100 microsegundos. Nos experimentos de polarização cruzada ^1H - ^{13}C , o pulso de $\pi/2$ de ^1H foi de 3,5 μs , o tempo de contato entre o sistema de ^{13}C e ^1H foi de 1 ms e o tempo de repetição foi de 3 s. Os experimentos de RMN de ^{29}Si foram realizados em polarização direta, para poder quantificar as frações relativas entre espécies observadas. O pulso $\pi/2$ foi de 4 μs e o tempo de repetição foi de 300 s para garantir a recuperação total dos sinais dos silicatos Q_4 . As medidas foram realizadas junto ao Grupo de Ressonância Magnética Nuclear de Sólidos no Instituto de Física de São Carlos - USP.

II.3.7. Testes de adesão mecânica dos filmes ao aço inoxidável 316L.

Os testes foram realizados em um equipamento Instron conforme normas ASTM D 1000 ²⁵⁹ utilizando amostras com dimensões de 2x2 cm. As determinações foram realizadas em duplicata. De maneira sucinta, a metodologia empregada é descrita a seguir: A placa de aço inoxidável 316L recoberta com o filme foi presa à placa de aço inoxidável, tipo AISI n.302, polida com acabamento 04, tamanho 5 cm x 12,7 cm x 1,6 mm utilizando-se fita dupla face 3M, com a face contendo o filme, voltada para cima. Sobre a amostra foi aplicada outra fita dupla face 3M de 20 mm de largura e com comprimento de aproximadamente 200 mm além do comprimento da placa de aço suporte. A fita empregada é especialmente desenvolvida pela 3M para testes de adesivos que contenham em sua formulação materiais à base de silício. Sobre

essa fita foi passado (ida e volta) um rolete com as seguintes características: diâmetro total de 3,75 polegadas, largura de 1,75 polegadas, coberto de borracha com aproximadamente 0,25 polegadas de espessura e dureza de 75-85 com peso de 2,170 Kg. A amostra foi deixada descansar por um período de aproximadamente 20 minutos antes dos testes. O suporte de aço é então preso à base da máquina e a extremidade da ponta livre da fita é presa à extremidade superior da máquina. A máquina é então acionada e a parte superior se descola a uma velocidade de 300 mm/min. Os resultados são expressos em gf/largura da amostra. Este teste também é conhecido como *peel test* a 180°. As medidas foram realizadas na Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento da 3M do Brasil na Unidade de Ribeirão Preto.

II.3.8. Testes de imersão estática

Os testes de imersão estática foram realizados pela imersão de amostras de aço 316L com dimensões de 1x1 cm, recobertas com filmes preparados conforme descrito no item II.2.4, em 10 mL de tampão PBS (20mM, I = 137 mM de NaCl e pH = 7,4) contidos em frascos de polietileno de alta densidade. Para efeitos de comparação foram também utilizadas amostras de aço inoxidável 316L sem recobrimento. As amostras foram mantidas à temperatura ambiente ou a temperatura de 36 ± 1 °C por 7 dias. Após esse período as placas foram transferidas para frascos contendo uma solução tampão nova e mantidos às temperaturas mencionadas por mais 7 dias. O procedimento foi repetido até se completarem 21 dias. A mesma metodologia foi utilizada para os filmes contendo o nitrosilo complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂. Todas as amostras foram mantidas congeladas até o momento da análise por ICP-MS.

II.3.9. Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

A determinação da quantidade de silício, estanho e rutênio liberado dos filmes durante os testes de imersão estática foi realizada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) utilizando espectrômetro de plasma Perkin Elmer Scicx Elan DRC II operando sob as seguintes condições: vazão do gás

nebulizador: 0,56 L.min⁻¹; vazão do gás intermediário: 1,20 L.min⁻¹; vazão do gás principal: 15 L.min⁻¹; voltagem da lente: 8,25 V e potencia de radiofrequência: 1100 W. As curvas de calibração foram construídas na faixa de concentração de 0 a 100 ppb (µg.L⁻¹) utilizando-se soluções padrões diluídas em tampão PBS. Os coeficientes de linearidade foram maiores que 0,9999. Para cada amostra foram realizadas 5 leituras.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1. Tratamento e limpeza da superfície do aço inoxidável 316 L

O tratamento da superfície de um determinado substrato metálico é requisito para a deposição de filmes finos tendo em vista que propriedades como a estrutura, hidrofobicidade e adesão dependem largamente da composição da superfície metálica e da sua morfologia ²⁶⁰. O tratamento a ser empregado também deve contemplar o tipo de material a ser depositado. Diversos tratamentos do aço inoxidável 316L como plasma ²⁶¹, *etching* ²⁶², ácido crômico ²⁶³ e polimento eletroquímico ²⁶⁴ podem ser empregados antes da deposição de filmes. Na primeira etapa deste trabalho foram investigadas cinco diferentes metodologias para o tratamento da superfície do aço inoxidável 316L com o objetivo de se obter uma superfície hidrofílica e homogênea tanto física como quimicamente. A eficiência de cada método na obtenção de uma superfície com as características desejadas foi avaliada através de microscopia ótica, microscopia de força atômica e medidas de ângulo de contato estático e dinâmico. A Figura 85 mostra as imagens obtidas por microscopia ótica e a Figura 86 mostra as imagens obtidas por AFM da superfície do aço inoxidável 316L antes e depois do polimento. Os resultados das medidas de ângulo de contato são mostrados na Figura 87 e na Tabela 17.

Figura 85. Imagens de microscopia óptica obtida para o aço inoxidável 316L para os diferentes tratamentos empregados. (A) sem tratamento; (B) método 1; (C) método 2; (D) método 3; (E) método 4 (F) método 4 com polimento e (G) método 5 com polimento.

Figura 86. Imagens de AFM da superfície do aço inoxidável 316L. (A) sem polimento. (B) polida.

Figura 87. Variação do ângulo de contato dinâmico. -■- sem tratamento; -●- método 1; -▲- método 2; -▼- método 3; -◆- método 4; -+ - método 4 (polida) e -X- método 5 (polida).

Através das imagens de microscopia óptica (Figura 85) comparando-se os métodos 1 a 4, é possível observar uma diminuição da presença de pontos brancos (Figura 85 A-E), que podem ser atribuídos à presença de impurezas na superfície como poeira, gordura, etc, indicando uma maior eficiência para o método 4 o qual emprega peróxido de hidrogênio e hidróxido de amônio. Quando o polimento é empregado ainda ocorre um aumento da eficiência, sendo que a imagem obtida para o método 5 virtualmente não apresenta pontos brancos. Comparando-se as imagens obtidas por microscopia de força atômica (Figura 86), utilizando-se este método de limpeza, é possível observar que a superfície da amostra polida (Figura 86B) apresenta claramente uma superfície fisicamente mais homogênea que a amostra sem polir (Figura 86A), fato esse que se reflete na diminuição significativa na rugosidade (Ra) de 0,95 μm (Figura 86A) para 0,17 μm (Figura 86B).

Através da comparação entre os métodos 1 a 4 (Figura 87), o tratamento empregando a mistura de hidróxido de amônio e peróxido de hidrogênio leva a uma menor variação do ângulo de contato dinâmico indicando uma maior homogeneidade da superfície. Comparando-se a utilização do tratamento 4 entre as amostras que receberam ou não o polimento, é possível constatar que este não altera o perfil da variação do ângulo de contato dinâmico mas ocasiona uma diminuição do seu valor, indicando uma melhora na hidrofiliabilidade. Quando comparadas, as amostras polidas e tratadas empregando-se os métodos 4 e 5, observam-se melhores resultados nas medidas de ângulo de contato dinâmico para o método 5, o que está de acordo com os resultados de microscopia óptica.

Tabela 17. Medidas de ângulo de contato para os diferentes tratamentos empregados na superfície do aço inoxidável 316L.

Método de tratamento	Ângulo de contato (graus) ^a
sem tratamento	83 ± 3
método 1	84 ± 4
método 2	83 ± 3
método 3	81 ± 1
método 4	64 ± 2
método 4 (polida)	50 ± 2
método 5 (polida)	41 ± 2

Como pode ser observado na Tabela 17 os métodos que empregam a mistura de peróxido de hidrogênio e hidróxido de amônio (métodos 4 e 5) apresentam um aumento na energia superficial e na hidrofilicidade, as quais estão associadas a um menor ângulo de contato. Comparativamente, o método 5 apresenta o melhor resultado, como observado anteriormente. O valor de ângulo de contato estático obtido para este método é inferior ao valor de $69 \pm 7.2^\circ$ observado por Joung et al.²³² empregando-se ácido crômico como agente de limpeza, mas superior ao valor de 22° observado por Sukenik et al.²⁶⁵ empregando-se tratamento com plasma precedido de polimento. No entanto, dentre os métodos avaliados, o método 5 resultou em uma significativa melhora na homogeneidade e hidrofilicidade da superfície. Há que se ressaltar que, segundo imagens obtidas por AFM após polimento e tratamento da superfície empregando o método 5, não foram observadas alterações morfológicas em áreas entre $125 \times 125 \mu\text{m}$ e $1 \times 1 \mu\text{m}$ que pudessem evidenciar processos de corrosão. As características obtidas após o tratamento da superfície do aço inoxidável 316L utilizando a condição otimizada (método 5) são desejáveis para a posterior deposição controlada de filmes. Embora a hidrofilicidade obtida com esse método de tratamento não seja tão alta como aquela obtida com plasma²⁶⁵, o mesmo é muito simples.

III.2. Deposição e caracterização dos filmes finos de silanos híbridos orgânico-inorgânicos sobre a superfície do aço inoxidável 316 L.

A deposição e caracterização dos filmes finos sobre a superfície do aço inoxidável 316L constituem uma segunda etapa na preparação de materiais que possam atuar como potenciais liberadores de óxido nítrico a partir da presença de um nitrosilo complexo metálico. Esta etapa possibilita o estabelecimento de condições para a obtenção de filmes que apresentem características desejáveis como homogeneidade, boa adesão, resistência mecânica e estabilidade química. Em relação ao aspecto biológico ainda é desejável que o material apresente baixa toxicidade e inibição da adesão plaquetária em relação substrato aço inoxidável 316L. A partir do estudo dos parâmetros que influenciam tais propriedades, torna-se possível a otimização da preparação dos filmes e uma avaliação mais precisa do efeito da presença do nitrosilo complexo metálico. Dessa mesma forma, o estabelecimento de condições para a obtenção de filmes com as características desejadas pode permitir a utilização de uma gama de nitrosilo complexos metálicos levando potencialmente a um controle nas propriedades de liberação de óxido nítrico.

Como mencionado anteriormente, empregaram-se os siloxanos TEOS, PDMS e Glymo para a preparação dos filmes finos. O TEOS foi empregado como precursor da rede de sílica. A emprego do Glymo e do PDMS foi feito com base nas propriedades que estes siloxanos poderiam conferir ao material. A utilização do Glymo na preparação de materiais híbridos orgânico-inorgânicos pode levar a um aumento da resistência mecânica^{266;267}, aumento da transparência ótica e no caso de filmes finos, a uma melhora na adesão^{266;267}. O PDMS, bem como os materiais preparados a partir deste, quer sejam polímeros orgânicos ou híbridos orgânico-inorgânicos, apresentam boa biocompatibilidade²⁶⁸, hemocompatibilidade²⁶⁹ e são capazes, quando aplicados na forma de filmes finos, de reduzir a agregação de plaquetas²¹⁰.

Inicialmente foram investigadas 33 composições diferentes para a preparação do sol. Nestes estudos foram variados parâmetros como o catalisador de condensação, solvente, tempo de gelificação, presença de agentes de cura como $\text{Al}(\text{acac})_3$ e tipo e proporção dos siloxanos empregados. Foram também testados dois métodos de

deposição *deep-coating* e *spin-coating*. Para a escolha preliminar foram levadas em conta algumas características. Após a preparação do sol, a solução resultante deveria apresentar um aspecto homogêneo sem a presença visível de precipitado ou de separação de fases. Ainda nesta fase preliminar, os filmes preparados foram analisados frente a técnicas e testes simples como a observação da superfície em um microscópio de bancada e a resistência frente à tentativa de descolamento utilizando fita adesiva e jato de água. Apenas as condições que levaram a obtenção de filmes com superfícies livres de trincas visíveis e que não tiveram remoção significativa de material frente aos testes realizados foram consideradas adequadas. A partir destes estudos preliminares foram pré-selecionadas 10 composições diferentes que após uma análise mais detalhada foram reduzidas a 5 composições (vide Tabela 15). O método de deposição que, aliado às composições selecionadas, apresentou o melhor resultado foi o *spin-coating*. Durante a apresentação dos resultados os filmes serão subdivididos em dois tipos para efeitos de comparação. O primeiro tipo compreende os filmes que contêm o polímero PDMS e o segundo, o organosiloxano Glymo. Os filmes assim preparados foram caracterizados e os resultados obtidos são descritos a seguir.

III.2.1. Reflectância Especular

A medida da espessura dos filmes é um parâmetro importante a ser determinado, uma vez que quanto mais espesso um filme, maior a quantidade de complexo que pode ser imobilizada. Filmes finos de organosilanos depositados sobre a superfície de substratos como alumínio, vidro ou silício, podem apresentar espessuras que variam de dezenas de nanômetros até uma centena de micrômetros. A espessura irá depender de vários fatores, entre eles o tipo de material depositado e o método de deposição²⁷⁰⁻²⁷².

Os filmes depositados sobre a superfície do aço inoxidável 316L tiveram sua espessura determinada através da técnica de reflectância especular. Os valores são mostrados na Tabela 18. A Figura 88 mostra um espectro típico obtido para as medidas de espessura dos filmes. Neste espectro é possível observar as franjas de interferência, que são as oscilações no valor da reflectância especular. Estas franjas são

originadas da diferença na reflexão entre as interfaces filme-substrato e substrato-ar e estão relacionadas ao índice de refração do filme.

Figura 88. Espectro de reflectância espectral para o filme obtido a partir da mistura M2.

Tabela 18. Espessuras dos filmes obtidas por refletância espectral.

Filme	Espessura (nm)
M1	971 ± 61
M2	3747 ± 82
M3	3187 ± 48
M6	2218 ± 38
M8	1502 ± 29

Como pode ser observado na Tabela 18, os filmes apresentaram espessuras entre aproximadamente 1 e 4 μm . Esse resultado está relacionado à diferença nos siloxanos empregados, suas proporções, solvente e catalisador, os quais conseqüentemente afetam a velocidade de formação do gel e sua densidade e viscosidade, o que leva às diferenças observadas. No entanto, as espessuras obtidas são adequadas para a imobilização do nitrosilo complexo metálico.

III.2.2. Microscopia eletrônica de varredura.

A morfologia da superfície dos filmes obtidos utilizando-se as condições descritas na Tabela 15 foi analisada por MEV. As imagens são mostradas nas Figuras 89.

Figura 89. Imagens de MEV dos filmes depositados sobre o aço inoxidável 316L utilizando as condições descritas na Tabela 15. Magnificação 500x.

Através da Figura 89 observa-se que todos os filmes apresentaram uma superfície homogênea e livre de trincas. Para os filmes que contém PDMS em sua composição observa-se uma superfície densificada, sugerindo que a presença deste componente é responsável por essa característica.

Para o filme obtido a partir da mistura M6 observa-se uma morfologia diferente dos demais quando as imagens são obtidas em uma magnificação de 5000x.

Figura 90. Imagem de MEV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316L utilizando a mistura M6. Magnificação 5000x.

Como pode ser visto na Figura 90 o filme apresenta poros de dimensões aproximadamente regulares e homogeneamente distribuídos sobre a superfície.

Essa característica apresentada pelo material é interessante, uma vez que, sendo esses poros do tipo aberto, poderiam facilitar a acessibilidade de redutores químicos ao nitrosilo complexo metálico imobilizado no filme, além de proporcionarem um aumento da área superficial do material. Há que se ressaltar que imagens com magnificações entre 5000x e 20.000X obtidas para os demais filmes não revelaram a presença de poros. A presença de uma pequena porosidade foi observada para a M8 apenas por AFM (item III.2.3) Estes resultados sugerem que a presença de poros para os filmes estudados depende de dois fatores: tipo de organosilano utilizado e a razão TEOS/Organosilano, além das condições de preparação. A dependência deste último fator pode ser observada quando se comparam os resultados obtidos com as misturas M6 e M8, uma vez que as condições de preparação são as mesmas, exceto pela variação na razão TEOS/Glymo. No primeiro caso a razão TEOS/Glymo utilizada foi de 30/70 (m/m) e no segundo 70/30 (m/m) indicando que uma maior proporção de

Glymo seja a responsável pela porosidade observada. No entanto variações mais sistemáticas na razão TEOS/Glymo seriam necessárias para confirmar tal dependência.

As Figuras 91 e 92 mostram o mapeamento por EDX de alguns elementos selecionados nos filmes obtidos a partir das misturas M1 e M6. Estas amostras foram escolhidas por representarem tipos diferentes de materiais sendo que em um deles o organosilano utilizado foi o PDMS e no outro, o Glymo.

Figura 91. Mapeamento dos elementos por EDX na superfície do filme obtido a partir da mistura M1.

Figura 92. Mapeamento dos elementos por EDX na superfície do filme obtido a partir da mistura M6.

Através do mapeamento obtido por EDX (Figuras 91 e 92) é possível observar uma distribuição homogênea dos elementos químicos analisados na superfície do filme. No entanto não é possível visualizar através desta técnica uma distinção nas imagens que corresponderia à presença dos poros, fato esse provavelmente devido à

profundidade de detecção do EDX que é de aproximadamente 1 μm , o que também justifica a presença de Fe para M1 devido ao substrato.

A interface filme substrato também foi analisada por MEV para uma das amostras. O resultado é mostrado na Figura 93.

Figura 93. Análise por EDX do perfil (linha amarela) entre substrato e filme obtido com a mistura M1.

Através da Figura 93, é possível observar que ocorre uma variação na porcentagem dos elementos ao longo da linha do perfil. Quando a linha do perfil encontra-se sobre o filme, observa-se uma porcentagem maior de carbono e silício. Essa porcentagem diminui após a interface filme-substrato. Para o ferro, principal componente do aço, observa-se um comportamento oposto, com uma porcentagem próxima de zero no filme, que aumenta após a interface do filme com o substrato.

III.2.3. Microscopia de força atômica.

A microscopia de força atômica apresenta algumas características como a possibilidade de obtenção de imagens em 3 dimensões com alta resolução; estudar amostras isolantes, semicondutoras e condutoras de elétrons sem a necessidade de recobrimento condutivo prévio; determinar diretamente a rugosidade da amostra; pode diferenciar fases com diferente viscoelasticidade; medidas de força de adesão e outras

273

O conhecimento da morfologia da superfície dos filmes, bem como a possibilidade de identificação de diferentes fases, é importante para, posteriormente, avaliar a estabilidade química e adesão celular.

As imagens da superfície dos filmes foram obtidas utilizando o modo de contato ou modo contato intermitente também denominado *tapping mode*. As imagens obtidas por AFM são mostradas nas Figuras 94 a 97 e foram obtidas com as mesmas amostras utilizadas na MEV (vide item III.2.2).

Figura 94. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme preparado a partir da mistura M1: (A) Imagem 2D (B) Imagem 3D (C) Contraste de fase.

Figura 95. Imagens de AFM obtidas no modo de contato para o filme preparado a partir da mistura M2: (A) Imagem 2D (B) Imagem 3D (C) Contraste de fase.

Figura 96. Imagens de AFM obtidas no modo de contato para o filme preparado a partir da mistura M3: (A) Imagem 2D (B) Imagem 3D (C) Contraste de fase.

Figura 97. (A) Imagem 2D; (B) Perfil da superfície; (C) Histograma da distribuição do diâmetro dos grãos e (D) Histograma da área dos grãos. Resultados obtidos a partir da imagem por AFM (2,5 μm x 2,5 μm) do filme preparado com a mistura M3.

As imagens de microscopia de força atômica dos filmes preparados com as misturas M1, M2 e M3 são mostradas nas Figuras 94 a 97. Estas amostras, as quais contêm o polímero orgânico PDMS, quando analisadas em uma varredura com área de $50 \times 50 \mu\text{m}$, mostram uma superfície relativamente homogênea, sem a presença de poros. No entanto, quando a varredura é feita em uma área de $1 \times 1 \mu\text{m}$, onde é possível observar a morfologia superficial em menor escala, observam-se características significativamente diferentes. De maneira geral, a superfície apresenta estruturas que lembram ilhas. Essa característica é mais acentuada e definida para o filme obtido a partir da mistura M3. Este resultado indica uma separação de fase, como evidenciado na imagem por contraste de fase (Figuras 96 (C)). Estudos realizados por Uilk et al.²⁰⁷, na preparação de filmes empregando-se PDMS onde foi feita a variação das proporções em peso de PDMS (97,4 a 81,7 % PDMS) em relação ao etoxisilano ($\text{SiO}(\text{OEt})_2$)_n, apresentaram uma morfologia superficial semelhante à observada neste trabalho, com a presença de estruturas semi-esféricas. No referido trabalho, os autores atribuem a presença das semi-esferas à difusão de componentes não ligados à rede tridimensional do filme para a superfície, a qual é promovida pelas moléculas de água formadas pela condensação das espécies PDMS e etoxisilano. Embora a arquitetura não seja conhecida, os autores descrevem sua composição por fases ricas em silício e polímero. No entanto existem algumas diferenças entre as estruturas observadas e os precursores utilizados por Uilk et al e os resultados e condições deste trabalho. O PDMS empregado pelos referidos autores, além de estar em uma proporção muito maior (entre 97,4 e 81,7 %) que a utilizada neste trabalho (10 e 30 %) em relação ao precursor de silício, possuía um peso molecular de 18 kDa. As semi-esferas observadas por Uilk et al (diâmetro médio de 2-5 μm) apresentaram dimensões de aproximadamente duas ordens de grandeza superiores às aqui observadas (diâmetro médio 68 nm) (Figura 97). Conforme pode ser observado através dos histogramas, observa-se uma frequência maior de estruturas com diâmetro ao redor de 40 nm. Há ainda que se ressaltar que a presença das ilhas é muito mais pronunciada para a mistura M3 que para M1 e M2. Esse comportamento provavelmente é devido a dois fatores. Na preparação do filme a partir da mistura M3, foram utilizados como catalisadores a água e o HCl. Neste caso, haveria uma maior quantidade de água capaz

de promover a difusão das espécies não ligadas do corpo do filme para a superfície, ocasionando a formação de estruturas mais definidas, como observado. Outro fator, é a formação de uma rede como maior grau de tridimensionalidade, como observado para o filme obtido a partir da M3 por RMN MAS CP de ^{29}Si (vide item III.2.5). Neste caso, as moléculas hidrofóbicas de PDMS não ligadas e/ou presas à rede, tenderiam a se difundir para a superfície do material para minimizar as interações com o ambiente de maior hidrofiliabilidade da rede de silício.

No caso das misturas M1 e M2, foi empregado o catalisador DBDTL, semelhante ao utilizado por Uilk et al. Neste caso, acreditamos que a diferença nas estruturas observadas em relação aos resultados de Uilk, possa ser causada pela diferença no peso molecular do PDMS empregado. Espera-se que polímeros de maior peso molecular sejam mais hidrofóbicos tendendo a possuírem uma menor interação com a rede de silício. Como neste trabalho a massa molecular média do PDMS utilizado é de aproximadamente 2200 g.mol^{-1} , acreditamos que sua interação com a rede de silício seja maior que para um polímero de maior peso molecular. Adicionalmente, conforme observado por RMN MAS CP de ^{29}Si para os Ormosils obtidos a partir das misturas M1 e M2, a tridimensionalidade da rede é significativamente menor conforme observado pelos sinais referentes às espécies Q_3 e Q_4 . Esse fato poderia ocasionar uma maior interação das moléculas de PDMS com o corpo do filme, ocasionando uma diminuição das semi-esferas presentes na superfície, como observado. Outra possibilidade seria a promoção de um maior grau de condensação entre as moléculas de TEOS e PDMS proporcionada pelo catalisador DBDTL. A formação de semi-esferas ou ilhas na superfície de materiais híbridos, bem como a separação de fases, também foi verificada por outros autores^{274;275}.

Figura 98. Imagens de AFM obtidas no modo de contato para o filme preparado a partir da mistura M6 (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.

Figura 99. (A) Imagem 2D; (B) Perfil da superfície; (C) Histograma da distribuição do diâmetro dos poros e (D) Histograma da área dos poros. Resultados obtidos a partir da imagem por AFM (50 μm x 50 μm) do filme preparado com a mistura M6.

Figura 100. Imagens de AFM obtidas no modo de contato para o filme preparado a partir da mistura M8: (A) Imagem 2D; (B) Imagem 3D; (C) Contraste de fase.

Figura 101. (A) Imagem 2D e (B) Perfil da superfície. Resultados obtidos a partir da imagem por AFM (50 μm x 50 μm) do filme preparado com a mistura M8.

Para os filmes obtidos a partir das misturas M6 e M8, as imagens de AFM mostram características significativamente diferentes das observadas para os filmes obtidos a partir das misturas M1 a M3. Inicialmente, para o filme obtido a partir da mistura M6 (Figura 98) é possível observar poros de tamanho micrométrico com um diâmetro médio de 2,1 μm (Figura 99). Como pode ser observados nos histogramas de distribuição do diâmetro e da área dos poros, os poros apresentam diâmetros distribuídos entre aproximadamente 1 e 4 μm, com uma frequência maior próxima a 1

μm , com um recobrimento de aproximadamente 12 % da superfície do filme. Para o filme obtido a partir da mistura M8 (Figura 100), cuja razão TEOS/Glymo é a inversa da utilizada para a M6, observa-se uma diminuição drástica na porosidade (menor que 1%). Este fato possivelmente está relacionado à formação de um filme com uma rede de maior tridimensionalidade, conforme observado por RMN MAS CP de ^{29}Si que mostra sinais mais intensos para as espécies Q_3 e Q_4 para M6 quando comparados a M8 (vide item III.2.5). Esse fato produziria também filmes mais densos. Por outro lado a presença de um maior número de espécies T_3 observadas através do espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si parece estar ligada à porosidade exibida pelo filme. Imagens obtidas em varreduras de áreas maiores ($50 \times 50 \mu\text{m}$) exibem uma maior homogeneidade, exceção feita à presença dos poros. Para o filme obtido a partir da mistura M6 uma alta homogeneidade é observada na varredura de área de $1 \times 1 \mu\text{m}$, sendo o mesmo comportamento observado para o filme obtido a partir da mistura M8.

III.2.4. Espectroscopia no infravermelho

A caracterização dos filmes foi realizada utilizando-se duas técnicas. A primeira empregada foi refletância especular no infravermelho, a qual permite a aquisição e avaliação do espectro de IV diretamente do filme depositado sobre o aço. Na segunda, uma amostra do mesmo sólido que foi submetido à análise por RMN de sólido de ^{13}C e de ^{29}Si foi dispersa em KBr e foram registrados os espectros utilizando-se o modo de transmitância. Essa técnica foi empregada uma vez que a mesma possibilita o controle da quantidade de massa na pastilha de KBr e portanto da intensidade das bandas no IV, o que permitiu, em alguns casos, a observação mais detalhada de bandas de menor intensidade. Há que se ressaltar que os espectros obtidos através das duas técnicas mencionadas mostraram-se bastante similares. Dada a similaridade observada, apenas os espectros obtidos por refletância especular no IV serão apresentados (Figuras 102 a 104).

M1, M2 e M3

Figura 102. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M1.

Figura 103. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M2.

Figura 104. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M3.

Para os filmes obtidos a partir das misturas M1, M2 e M3, as quais contêm o polímero orgânico PDMS, algumas características em comum podem ser observadas. Para a mistura M2, as bandas em 2963 e 2902 cm^{-1} podem ser claramente vistas e podem ser atribuídas aos estiramentos simétrico e assimétrico do C-H, respectivamente, do grupo $-\text{CH}_3$ do PDMS. Note-se que nesta mistura não foi utilizada água. A mesma atribuição pode ser estendida para as misturas M1 e M3 as quais apresentam as bandas dos referidos estiramentos em 2966 e 2926 cm^{-1} e 2969 e 2933 cm^{-1} , respectivamente. A intensidade da banda na região de 2960 cm^{-1} se deve à alta concentração dos grupos $-\text{CH}_3$ presentes nesta molécula, que possui de 21 a 23 unidades $-(\text{Si}(\text{CH}_3)_2-\text{O})-$ ^{205;276}. Para o filme obtido a partir da mistura M3, esta banda aparece parcialmente encoberta por uma banda larga na região de 3400 cm^{-1} . Bandas na região de 3400 cm^{-1} são associadas ao estiramento $-\text{OH}$, que neste caso pode estar associada à presença de água remanescente no filme, uma vez que a mistura M3 foi preparada utilizando-se água e HCl para promover a hidrólise e condensação do

TEOS, enquanto para as misturas M1 e M2 foi empregado como catalisador o dilaurato de n-dibutilestanho (vide Tabela 15). Esse fato também é evidenciado pela presença de uma banda fraca próxima a 1640 cm^{-1} que é associada à vibração angular da água. A presença da banda em 3400 cm^{-1} ainda pode estar relacionada ao estiramento --OH dos grupos silanois (Si-OH) formados pela hidrólise do TEOs que não sofreram condensação. Este provavelmente é o caso da banda na região de 3400 cm^{-1} observada para M1. A intensidade da banda na região de 3400 cm^{-1} varia nos filmes obtidos com as misturas M1, M2 e M3, seguindo a ordem decrescente $M3 \gg M1 > M2$, sendo que nesta última mistura a banda não é detectada.

Na região de $1400 - 700\text{ cm}^{-1}$, para os filmes obtidos a partir das misturas M1, M2 e M3, é possível visualizar um conjunto de bandas cujo número e intensidade difere entre as amostras. Observa-se, para estas 3 amostras, uma banda forte e estreita em aproximadamente 1260 cm^{-1} que é característica da presença do PDMS e pode ser atribuída à deformação do --CH_3 ligado ao silício^{205;276}. Na região de $1100\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ é possível observar a presença de uma banda intensa, desdobrada em duas componentes, característica dos estiramentos Si-O-Si , que podem tanto se originar da presença do PDMS, como da autocondensação entre as moléculas de TEOs e/ou da formação da ligação Si-O-Si entre o TEOs e o PDMS²⁰⁵. Para o filme obtido a partir da mistura M3 é possível observar uma banda próxima a 950 cm^{-1} que é atribuída ao estiramento Si-OH dos grupos silanois provenientes da hidrólise do TEOs. Essa banda não é observada no espectro do filme obtido com a mistura M2 e aparece como um ombro de intensidade muito fraca para M1. A presença desta banda está de acordo com a proposta feita acima de que, ao menos em parte, a banda referente ao estiramento --OH ($\sim 3400\text{ cm}^{-1}$) observada no espectro da M3, possui uma contribuição dos grupos Si-OH . Para o filme obtido a partir da mistura M1 observa-se uma banda na região de 3400 cm^{-1} , a qual deve se originar do estiramento dos silanois, como suposto acima. Este fato também indica que, comparando-se a mistura M1 e M2, o tempo de gelificação (5 h e 1 h, respectivamente) influi na hidrólise dos grupos siloxanos do TEOs. Nos espectros obtidos para os filmes preparados com as 3 misturas em questão, é possível observar uma banda em aproximadamente 850 cm^{-1} . Oteo et al.²⁰⁵ em um trabalho sistemático sobre a hidrólise do TEOs na presença de PDMS (terminados em

OH) com diversos pesos moleculares (550, 1700, 18000 e 26000 g.mol⁻¹) utilizando catálise ácida em meio de isopropanol, investigaram as propriedades dos materiais obtidos. Os autores verificaram, através de espectroscopia IV, que parâmetros como tempo de gelificação, condensação entre TEOS e PDMS e portanto as características do material formado, dependem do peso molecular do polímero orgânico. Oteo et al. atribuíram a formação da ligação entre TEOS e PDMS ao aparecimento de uma banda no espectro vibracional em 850 cm⁻¹ a qual não é observada para o PDMS ou durante a hidrólise do TEOS realizada separadamente. Os autores ainda verificaram que o aparecimento desta banda era mais evidenciado para os polímeros de menor peso molecular (550 e 1700 g.mol⁻¹) onde a razão de grupos hidroxilas por molécula é maior quando comparados aos de maior peso molecular. Em vista destes resultados, acreditamos que a banda observada em 850 cm⁻¹ em nossos espectros de IV para as misturas M1, M2 e M3, seja proveniente, possivelmente, ao menos em parte, da condensação entre o TEOS e o PDMS. No entanto há que se ressaltar que nos espectros obtidos para as misturas M6 e M8 (vide a seguir), também se observa uma banda próxima a este número de onda, que também pode estar relacionada com a presença de grupos silanois. Ainda na região de 1400-700 cm⁻¹ é possível observar uma banda intensa ao redor de 800 cm⁻¹ que é devida ao estiramento assimétrico Si-C do PDMS em cadeia linear²⁷⁶.

Figura 105. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M6.

Figura 106. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M6. Ampliação da região de 1400-700 cm⁻¹.

Figura 107. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da mistura M8.

Para os filmes preparados empregando-se Glymo e TEOS como siloxanos, as características principais dos espectros de IV são significativamente diferentes das observadas para os filmes obtidos com PDMS. Na região de aproximadamente 3400 cm^{-1} , em ambos os espectros, é possível observar uma banda alargada referente ao estiramento --OH . Esta banda é relativamente mais intensa para o filme obtido com a mistura M8, onde a proporção de TEOS empregada foi maior. Como será discutido mais à frente, a maior intensidade desta banda é devida à presença dos grupos silanois formados pela hidrólise do TEOS. Na região de $3050\text{--}2870\text{ cm}^{-1}$ surge um conjunto de bandas, as quais, para o filme obtido a partir da mistura M8, aparecem parcialmente encobertas pela banda referente ao estiramento --OH . Estas bandas são referentes a dois tipos de estiramento. As bandas na região de $3060\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ podem ser atribuídas às vibrações C-H do grupo --CH_3 do anel epóxido²⁷¹. As bandas na região de $2940\text{--}2840\text{ cm}^{-1}$ podem ser atribuídas aos estiramentos C-H dos grupos metilênicos

(-CH₂-) presentes no Glymo. A região de 1400-700 cm⁻¹ é de particular interesse para análise destes filmes. Uma análise mais detalhada é possível para o filme obtido a partir da mistura M6 (Figura 106). Para a mistura M8 um maior detalhamento fica prejudicado já que a maior proporção de TEOS utilizada leva à formação de bandas que encobrem parcialmente as bandas do Glymo. Para o filme obtido a partir da mistura M6, é possível observar a presença de uma banda fraca na região de 1260-1240 cm⁻¹ que pode ser atribuída à respiração do anel epóxido do Glymo²⁷¹. Em aproximadamente 1200 cm⁻¹ é possível visualizar uma banda que pode ser atribuída ao estiramento Si-O-CH₃ do Glymo. A região de 1090-1030 cm⁻¹ é dominada por uma banda forte desdobrada em duas componentes, que pode ser atribuída às vibrações Si-O-Si presentes no material formado pela autocondensação das moléculas de TEOS e pela ligação entre os grupos silanois formados na hidrólise do TEOS e do Glymo. Em um número de onda maior, próximo aos estiramentos Si-O-Si, é possível identificar um ombro em aproximadamente 1123 cm⁻¹ que possivelmente é devido ao estiramento -C-O-C- do grupo éter presente no Glymo. Para este filme (M6), na região de 910 cm⁻¹ aparece uma banda característica do anel epóxido do Glymo. Esta banda característica também pode ser observada para o filme obtido a partir da mistura. Para este filme (M8), é possível observar uma banda intensa em 940 cm⁻¹ que pode ser atribuída à presença de grupos silanóis Si-OH, o que contribui para a maior intensidade relativa da banda na região de 3400 cm⁻¹, como relatado acima. Deve-se ressaltar que essa banda não é observada para o filme obtido para a mistura M6, uma vez que neste filme a proporção de TEOS empregada é menor que a utilizada para a mistura M8. Acredita-se que a maior intensidade observada para a banda em 3400 cm⁻¹ no M8 esteja relacionada à hidrólise do TEOS, no qual grupos silanois formados permanecem, ao menos parcialmente, sem sofrer reações adicionais de condensação.

Estudos realizados com o siloxano Glymo mostraram que sob determinadas condições, é possível obter a abertura do anel epóxido, o que pode promover uma reação de polimerização adicional para a formação do polímero polietilenóxido^{271;277-279}. Garcia et al.²⁷⁷ utilizando catálise ácida na preparação de filmes finos contendo apenas Glymo em meio de etanol, com posterior cura a 90 °C não observaram a abertura do anel epóxido, concluindo que a formação da rede nos materiais obtidos

dava-se quase que exclusivamente pela formação de ligações Si-O-Si. Resultado semelhante foi observado por Bertani et al.²⁷¹ na preparação de filmes mistos empregando-se uma razão de Glymo:TEOS (7:3) em meio de metanol e catálise ácida sob refluxo por 4 h. Entretanto, tem sido sugerido na literatura²⁸⁰, que, sob determinadas condições, os grupos silanois formados podem reagir com o grupo epóxido de uma molécula vizinha de Glymo para formar a ligação Si-O-C-C. No entanto, conforme resultados obtidos por Underhill et al.²⁸¹ em estudos da estrutura de filmes de Glymo depositados sobre alumínio, observou-se que a abertura do anel epóxido ocorre apenas sob aquecimento (> 100 °C) por várias horas. Como pode ser observado para os filmes preparados com as misturas M6 e M8, é possível identificar claramente a presença das bandas referentes ao grupo epóxido. Devido a estes resultados e as condições de preparação utilizadas, podemos concluir que não ocorre a abertura do anel epóxido, ao menos em proporção significativa nos filmes preparados. No entanto como será apresentado no item III.2.5, uma pequena parcela dos anéis epóxido sofre reação de abertura nos materiais preparados a partir da mistura M8.

III.2.5. Ressonância magnética nuclear de ¹³C e ²⁹Si no estado sólido

A técnica de ressonância magnética nuclear no estado sólido com rotação no ângulo mágico (RMN MAS) tem provado ser muito útil e versátil na caracterização de diversos materiais inorgânicos e híbridos orgânico-inorgânicos^{202;282-290}. No caso da técnica de RMN MAS de ²⁹Si, sua notada importância provém do fato de que as ressonâncias observadas são sensíveis ao ambiente químico ao redor dos átomos de ²⁹Si e portanto fornecem uma descrição detalhada da microestrutura do material em questão, em termos destes ambientes²⁹⁰. Os centros de silício, segundo seus ambientes químicos e substituintes, podem ser denotados utilizando a notação convencional M_n, D_n, T_n e Q_n (M_n = R₃-Si-OR' ; D_n = R₂-Si-(OR')₂ ; T_n = R-Si-(OR')₃ e Q_n = Si(OR')₄)²⁹⁰ onde *n* denota o número de oxigênios ponte ligados ao átomo de silício (Esquema 4). Esta notação será utilizada para a descrição dos resultados neste trabalho. As atribuições propostas são baseadas em dados da literatura para sistemas semelhantes^{202;282;283;286-289}.

Esquema 4. Representação das espécies presentes nos filmes híbridos.

RMN MAS de ^{29}Si

A Figura 108 mostra os espectros de RMN MAS de ^{29}Si , obtidos através da técnica de polarização cruzada (CP), para os Ormosils preparados com as misturas M1, M2, M3, M6 e M8. As Figuras 109 a 113 mostram os espectros separadamente. As intensidades obtidas para cada um dos sinais referentes às respectivas unidades, bem como sua provável atribuição, são mostradas na Tabela 19.

Figura 108. Espectros de RMN MAS CP de ^{29}Si obtidos para os diversos Ormosils preparados através das misturas M1, M2, M3, M6 e M8.

Tabela 19. RMN MAS CP de ^{29}Si intensidades relativas das linhas (%) e atribuições prováveis.

Amostra	M ^{OH} (%)	M,D (%)	D (%)	D ² (%)	T ² (%)	T ³ (%)	Q ² (%)	Q ³ (%)	Q ⁴ (%)
M1		13	13	36				14	24
M2		7	1.3	74.5				3.2	14
M3	13	2.0	2.0	3			4	34	42
M6					11	79		1	9
M8					13	21	3	22	41

M1, M2 e M3

Os espectros de RMN MAS CP de ^{29}Si obtidos para os Ormosils preparados a partir das misturas M1, M2 e M3 são mostrados nas Figuras 109 a 111.

Figura 109. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M1.

Figura 110. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M2.

Figura 111. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M3.

Nas Figuras 109 a 111 observa-se, em comum materiais preparados com as misturas M1, M2 e M3 um sinal intenso e estreito em 22 ppm que pode ser atribuído às unidades D_2 $\{Si(CH_3)_2O_2\}$ das moléculas de PDMS ^{202;289}. A característica desse sinal indica claramente que o ambiente químico ao redor destas unidades é semelhante. Sobrepostos a esse sinal, existem dois outros sinais, que foram obtidos por deconvolução, que possivelmente são referentes às unidades D da cadeia de PDMS em um ambiente de mobilidade restrita e/ou a ligações cruzadas D(Q) e ligações de hidrogênio entre cadeias de PDMS em um tetramero cíclico ²⁸⁸. Esse resultado indica a presença de ligações cruzadas entre o TEOS e o PDMS em alguma extensão. Para o Ormosil obtido a partir da mistura M3 ainda é possível observar um sinal alargado em -14 ppm que possivelmente é devido à presença das unidades M^{OH} $\{SiO(CH_3)_2(OH)\}$ ²⁸⁸.

Nos espectros de RMN MAS CP de ²⁹Si obtidos para as misturas M1, M2 e M3, (Figuras 109 a 111) observa-se que o Ormosil obtido a partir da mistura M3 apresenta uma maior intensidade para os sinais referentes às unidades Q_3 e Q_4 que as observadas para as misturas M1 e M2. Este resultado está ligado às condições de preparação do sol para estas misturas (vide Tabela 15). O maior tempo de gelificação utilizado na preparação da mistura M3 (24 h), juntamente com a adição de água e HCl utilizados como promotor de hidrólise e catalisador de condensação, respectivamente, permitiram a formação em maior proporção das unidades Q_3 e Q_4 , as quais ocorrem pela hidrólise e condensação do TEOS. Esse resultado indica a formação de uma rede com alto grau de tridimensionalidade. O menor tempo de gelificação para M1 (5 h) e M2 (1 h) e a utilização do catalisador dilaurato de dibutilestanho, ao invés dos agentes de hidrólise e condensação água e HCl, provavelmente são os responsáveis pela menor intensidade dos sinais referentes às espécies Q_3 e Q_4 . A presença destas espécies possivelmente é devido a pequenas quantidades de água presente como impureza no solvente reacional ou devido à umidade do ar. Há que se ressaltar que os resultados obtidos por RMN MAS CP de ²⁹Si são consistentes com os resultados de infravermelho.

M6 e M8

Os espectros de RMN MAS CP de ^{29}Si obtidos para os Ormosils preparados a partir das misturas M6 e M8 são mostrados nas Figuras 112 e 113.

Figura 112. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M6.

Figura 113. Espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si obtido para o Ormosil preparado através da mistura M8.

Para o Ormosil obtido a partir da mistura M6 é possível observar que o espectro de RMN MAS CP de ^{29}Si (Figura 112) apresenta sinais referentes às unidades T_2 (-58 ppm), T_3 {C-SiO₃} (-67 ppm), Q_3 {SiO₃(OH)} (-101 ppm), Q_4 {SiO₄} (-110 ppm) e para o Ormosil obtido a partir da M8 (Figura 113) apresenta sinais referentes às unidades T_2 {C-SiO₂(OH)} (-57 ppm), T_3 {C-SiO₃} (-67 ppm), Q_2 {SiO₂(OH)₂} (-92 ppm), Q_3 {SiO₃(OH)} (-102 ppm), Q_4 {SiO₄} (-110 ppm). Neste caso, enquanto o espectro do Ormosil obtido a partir da mistura M6 é dominado por espécies T_3 , o obtido através da mistura M8 é dominado por espécies Q_4 . Estes resultados indicam um alto caráter tridimensional das redes de sílica para M6 e M8. A diferença na intensidade observada entre as bandas T e Q provavelmente está relacionada à maior quantidade de Glymo empregada na preparação da M6. Estudos realizados por Kentgens et al.²⁸⁷, mostraram que mesmo pequenas quantidades de Glymo quando adicionadas ao TEOS são capazes de provocar um aumento no número médio de ligações ponte Si-O-Si. No entanto, quando a proporção de Glymo é variada de 2,5% para 40 % em relação à quantidade de TEOS observa-se, após um aumento inicial, uma pequena diminuição nas ligações Si-O-Si. Este fato foi atribuído a um mecanismo pelo qual primeiramente ocorre a formação de partículas primárias de sílica, que podem então ter sua superfície ocupada por moléculas de Glymo, o que levaria a um aumento do grau de condensação. Ainda conforme os referidos autores²⁸⁷, quantidades extras de Glymo tenderiam a sofrer autocondensação, o que resultaria em um menor grau de ligações nestas moléculas. Dessa forma, a maior intensidade do sinal observado para as espécies T_3 obtido para a mistura M6, onde a razão TEOS/Glymo é 30:70, concorda com o proposto por Kentgens et al., pois nessa proporção, a autocondensação das moléculas de Glymo seria favorecida. Há ainda que se ressaltar que as intensidades relativas dos sinais referentes às unidades T_2 , Q_2 , Q_3 são maiores para o Ormosil obtido a partir da mistura M8. Essas unidades apresentam em sua estrutura grupos hidroxilas residuais (vide esquema 4), os quais contribuem para a maior intensidade relativa da banda na região de 3400 cm⁻¹ no infravermelho observada para a M8 em relação à mistura M6.

RMN ^{13}C para M6 e M8

As figuras 114 e 115 mostram os espectros de RMN no estado sólido de ^{13}C para os materiais híbridos orgânico-inorgânicos obtidos a partir das misturas M6 e M8 utilizadas para a preparação dos filmes finos. Os espectros foram obtidos utilizando-se 3 técnicas diferentes, a saber: polarização direta (DP), polarização cruzada (CP) e supressão não quaternária (NQS). A utilização destas técnicas permite obter tanto uma melhor resolução dos sinais no espectro quanto aumentar a razão sinal/ruído além de permitir a comparação dos resultados para as atribuições dos sinais.

Figura 114. Espectro de RMN MAS de ^{13}C obtido para o Ormosil preparado a partir da mistura M6.

Figura 115. Espectro de RMN MAS de ^{13}C obtido para o Ormosil preparado a partir da mistura M8.

Nos espectros das Figuras 114 e 115, é possível visualizar seis sinais que são referentes à cadeia orgânica do Glymo. Entretanto, há que se ressaltar que para o espectro obtido a partir do Ormosil preparado com a mistura M8, é possível visualizar o aparecimento de novos sinais de baixa intensidade, bem como um alargamento dos sinais referentes aos carbonos da cadeia orgânica. Estes resultados e suas possíveis causas serão discutidos mais à frente. A Figura 116 mostra a atribuição dos sinais de RMN MAS de ^{13}C utilizando o espectro obtido por CP para o Ormosil preparado a partir da mistura M6. O espectro obtido foi semelhante ao observado para Ormosils preparados a partir da hidrólise do Glymo^{282;283}.

Figura 116. Espectro de RMN CP MAS de ^{13}C obtido para o Ormosil preparado a partir da mistura M6.

Como pode ser observado, tanto para o espectro obtido a partir do Ormosil preparado a partir da mistura M6 quanto para a M8, é possível visualizar claramente os picos característicos do anel epóxido em 44 e 51 ppm^{282;283}, indicando que estes grupos são essencialmente preservados. Esse resultado está de acordo com o observado por espectroscopia no IV, cujos espectros destes materiais apresentaram os estiramentos referentes ao grupo epóxido.

Como mencionado acima, é possível observar um alargamento dos sinais nos espectros de RMN MAS CP de ^{13}C obtidos para o Ormosil preparado a partir da mistura M8. Esse comportamento pode ser ocasionado pelo aumento da rigidez do material, devido ao aumento das redes tridimensionais, o que causa uma redução na mobilidade dos grupos alquílicos e também pelo seu empacotamento em diferentes ambientes químicos^{282;283}. Como foi discutido acima, o espectro de RMN MAS de ^{29}Si obtido por polarização cruzada para o Ormosil obtido a partir da mistura M8 mostra

uma intensidade maior para os sinais referentes às unidades Q³ e Q⁴ do silício, em relação à M6, o que indica, como suposto, uma maior rigidez do material devido à formação de redes tridimensionais, o que resulta na redução da mobilidade observada. Ainda no espectro de RMN MAS CP de ¹³C para M8 é possível observar a presença de dois sinais com baixa intensidade em 60 e 65 ppm, respectivamente denotados como I e II. Spiess et al.²⁸³, estudando a preparação de materiais utilizando Glymo como alcoxisilano precursor e Al(O^sBu)₃ (sec-butóxido de alumínio) como agente de polimerização e como promotores de hidrólise HCl e água, observaram a presença de sinais nesta mesma região e que foram atribuídos à abertura do anel pelo metanol produzido na hidrólise dos grupos metóxi do Glymo para a formação do éter metílico (I) e a formação do diol promovido pela presença de água (II). A presença de um sinal acima de 74 ppm, também observado neste espectro, foi atribuída pelos autores como decorrente da formação do polietilenóxido o que ocorre através da reação do grupo oxirano com uma molécula vizinha de Glymo (vide Esquema 5). Sinais nas mesmas regiões também foram observados por Oliveira et al.²⁸⁵. Há que se ressaltar entretanto que, nas condições utilizadas por Spiess et. al, concomitante com o aparecimento dos sinais I, II e III, ocorre o desaparecimento dos sinais referentes ao anel epóxido. Este fato sugere que, nas condições utilizadas neste trabalho, a extensão das reações de abertura do anel observadas para M8 devem ser significativamente menores, uma vez que os sinais referentes ao grupo oxirano apresentam alta intensidade. As integrações dos sinais em 60, 65 e 74 ppm apresentam uma área percentual relativa de 0.7 , 1.7 e 4.0 enquanto as áreas dos sinais relativos ao Glymo apresentam uma área percentual relativa 76.6 o que está de acordo com a proposta feita acima.

Esquema 5. Possíveis reações de abertura do anel epóxi no Glymo.

Conforme discutido acima, esperar-se-ia a observação dos mesmos sinais em 60, 65 e aproximadamente 74 ppm no espectro de RMN MAS CP ^{13}C para o Ormosil obtido a partir da mistura M6. No entanto, possivelmente dada a maior proporção de Glymo empregada, as quantidades formadas dos produtos de abertura do anel são muito pequenas para serem detectadas, em relação à formação do material sem a respectiva abertura do anel epóxi. De fato, quando a região de 55 a 75 ppm é ampliada é possível observar a presença de sinais de intensidade muito fraca em 59 e 65 ppm. Outra possibilidade seria a participação dos grupos silanóis formados pela hidrólise do TEOS nestas reações, presentes em maior quantidade devido a maior proporção de TEOS empregada para M8.

III.2.6. Testes de adesão

Existem vários métodos para se medir o nível de adesão em sistemas como polímero/metal, polímero/polímero, entre outros ²⁹¹. Os mais comuns, dentre estes testes, são os testes do tipo *tape* (*tape test* ou *pull of test*) e testes de descolagem (*peel test*). Estes testes são realizados conforme normas ASTM ^{259;292}. Enquanto testes do tipo *pull-of test* fornecem uma avaliação semi-quantitativa da adesão por comparação

com padrões, testes do tipo *peel* são capazes de fornecer dados quantitativos sobre a adesão do material. Os testes do tipo *peel* foram utilizados para se avaliar a adesão dos filmes neste trabalho com o objetivo de se avaliar a estabilidade mecânica desses materiais. A investigação desse parâmetro é importante pois a perda por descolamento do filme pode ocasionar problemas de toxicidade em meio biológico ²⁴⁹.

A adesão entre o filme e o substrato pode se dar através de diversas forças físicas (adsorção física, interação de van der Waals, interações mecânicas que podem surgir da penetração do material no substrato) e interações químicas como ligações químicas (pontes de hidrogênio e ligações covalentes). Embora não haja ainda confirmação inequívoca da forma de ligação entre unidades de siloxano e superfícies de substratos metálicos, acredita-se que as mesmas possam ocorrer através da formação de ligações Si-O-M (M = metal) com os grupos hidroxila das espécies M-OH da superfície ²⁹³. Existe uma dificuldade inerente ao aço inoxidável no sentido de se obter filmes com boa adesão. A superfície de aços austeníticos, como o 316L, apresenta uma baixa densidade de grupos OH ²⁶⁵, os quais podem funcionar como sítios de ligação para os grupos silanóis formados na hidrólise dos alcóxissilanos. Como alternativa para se contornar essa dificuldade, tem sido utilizada a preparação de monocamadas auto-arranjadas de siloxanos (SAMs) as quais podem promover um aumento na densidade de grupos hidroxila e fornecer condições para a imobilização de grupos funcionais a partir de alcóxissilanos ²⁶⁵ ou a utilização de feixe de plasma para se aumentar a quantidade destes grupos na superfície ²⁶¹. No entanto, neste trabalho optamos pela deposição direta do filme sobre a superfície do aço após polimento e limpeza química. A Figura 117 mostra o gráfico de Deformação x Força (gf) obtido nos testes de adesão para os filmes preparados a partir das misturas M1, M2, M3, M5 e M6. Os valores obtidos são mostrados na Tabela 20.

Figura 117. Gráfico de Deformação vs Força (gf) obtido no teste de adesão *peel* em um equipamento Instron segundo norma ASTM D-1000, para os filmes obtidos a partir das misturas M1, M2, M3, M6 e M8.

Tabela 20. Força de adesão obtida para os filmes preparados a partir das misturas M1, M2, M3, M6 e M8 depositados sobre aço cirúrgico 316L.

Amostra	Força de Adesão (N/cm) ^a
M1	2,61
M2	2,22
M3	2,45
M6	3,70
M8	0,99

^a Valores médios obtidos de duas medidas.

A partir dos resultados observados na Figura 117 e Tabela 20 é possível observar que a força de adesão depende da composição dos filmes. Os filmes obtidos a

partir das misturas M1 e M3 apresentam valores de força de adesão próximos, o que indica que o catalisador utilizado e as condições de hidrólise (vide Tabela 15) não influenciam significativamente na força de adesão. O mesmo parece acontecer com a tridimensionalidade da rede e o número de espécies Q_2 , Q_3 e Q_4 (vide item anterior). No entanto, quando a concentração de PDMS é aumentada (de 10 % para 30%) nos filmes obtidos a partir da M2, ocorre uma diminuição sensível da força de adesão que possivelmente é causada pela estrutura do material formado. Para os filmes obtidos com as misturas M6 e M8, os valores de força de adesão obtidos são 3,70 N/cm e 0,99 N/cm, respectivamente. Essas diferenças, como mencionado anteriormente, são causadas pela diferença na composição das misturas. É conhecido que o Glymo (mesmo sem sofrer reações adicionais de polimerização pela função epóxido) é capaz de aumentar a adesão de filmes à substratos ^{294;295} da mesma forma que é capaz de aumentar a resistência a riscos ²⁹⁴. Uma vez que a proporção Glymo/TEOS é maior para M6 que para M8, observa-se o aumento da adesão como esperado. No entanto, o valor da força de adesão observado para M8 é significativamente menor que o observado para as outras misturas. Esse resultado pode estar relacionado à maior proporção de TEOS utilizada, uma vez que a adesão de filmes (não sinterizados) obtidos a partir apenas do tetraalcoxilano puro parece não apresentar boa adesão, como observado por Dhali et al. ²⁹⁶ para filmes de tetrametilortosilicato (TMOS) puro. Os valores de força de adesão obtidos para as misturas M1, M3 e M6 são da mesma ordem dos obtidos por Tsai et al. ²⁹⁷ para filmes híbridos de polimida/siloxano e óxido de tântalo sobre vidro (3,37 N/cm), indicando uma adesão satisfatória.

III.2.7. Energia superficial

A energia superficial é um parâmetro que reflete as características físico-químicas de uma superfície como sua hidrofiliicidade e reatividade. Outro fator de influência é a morfologia da superfície. Líquidos de diferentes polaridades, que irão apresentar diferentes componentes dispersivas e polares, são utilizados para se medir sua interação com a superfície, o que permite avaliar os parâmetros mencionados acima. De maneira geral, materiais com energia superficial mais alta são hidrofílicos e

mais reativos. Para filmes finos, é possível realizar um controle da energia superficial, variando-se os seus componentes. Outra propriedade, a qual é reflexo da energia superficial de uma superfície, é a interação com organelas biológicas como plaquetas e células de músculo liso. Dada a influência desta propriedade para potenciais aplicações biológicas, a energia superficial dos filmes preparados neste trabalho foi determinada. Os valores obtidos são mostrados na Tabela 21.

Tabela 21. Energia superficial para os filmes de xerogel homogêneos obtidos.

Filme	ES (mN/m)
SUB ^a	42.93
M1	22.82
M2	22.94
M3	25.30
M6	68.38
M8	32.75

^a Substrato Aço Inoxidável 316 L.

Figura 118. Ângulo de contato estático com água para os filmes depositados sobre o aço inoxidável 316L e para o substrato (SUB).

Figura 119. Energia superficial para os filmes depositados sobre o aço inoxidável 316L e para o substrato (SUB).

Como pode ser observado na Tabela 21 e nas Figuras 118 e 119, os valores de energia superficial para os filmes de xerogel variam de aproximadamente 23 mN/m até 68 mN/m, sendo que o substrato apresenta um valor aproximado de 43 mN/m. A partir destes resultados, algumas considerações podem ser feitas. Com exceção dos filmes obtidos a partir da M6, é possível observar, de uma maneira geral, uma diminuição significativa no valor energia superficial do substrato, a qual passa de 42.93 para até 22.82 mN/m (mistura M1). Como os filmes consistem de materiais híbridos orgânico-inorgânicos, a parte orgânica do filme deve contribuir para uma diminuição na molhabilidade do material por solventes de polaridade alta (água), que por sua vez reflete nos altos valores de ângulo de contato (Figura 118) e conseqüentemente na energia superficial (Figura 119).

Como mencionado anteriormente e segundo as composições dos filmes obtidos, estes podem ser divididos em dois grupos. O primeiro é aquele composto pelos filmes que contém o polímero PDMS (M1, M2 e M3). São os filmes preparados com esse polímero que apresentam as menores energias superficiais observadas já que este componente apresenta uma polaridade baixa devido à sua estrutura, composição

química e peso molecular. Estas características diminuem a interação entre a água e o filme, o que leva a um aumento no valor do ângulo de contato (Figura 118) e uma menor energia superficial (Figura 119). Dentre estes filmes pode-se observar que o aumento na proporção de PDMS de 10% (M1) para 30% (M2), não provoca variação significativa no ângulo de contato estático (Figura 118) nem na energia superficial (Figura 119). Estudos realizados por MacCarthy et al.²⁹⁸ indicam que Ormosils preparados a partir de misturas TEOS/PDMS produzem materiais com características diferentes conforme a porcentagem de PDMS empregada. Se a porcentagem de PDMS é superior a 30% em peso, estes materiais apresentam um comportamento elástico e quando a porcentagem é reduzida, Ormosils rígidos podem ser preparados. Possivelmente, devido a esse fato, a energia superficial não tenha variado significativamente na mudança da proporção de PDMS de 10 para 30 %, conforme observado nos filmes preparados. Outra possibilidade seria uma migração do PDMS para a superfície do filme durante o processo de secagem. Este fato pode estar relacionado à relativa sensibilidade observada nos filmes contendo PDMS frente ao feixe de elétrons durante as análises por MEV. Quando uma determinada área do filme ficava exposta por muito tempo ao feixe, era possível observar uma deformação na superfície indicando uma maior elasticidade.

No segundo grupo, composto por materiais preparados com a mistura de TEOS/Glymo, inicialmente observou-se que as energias superficiais obtidas são maiores que as observadas para os filmes com PDMS, mas, no entanto ainda assim menores que a apresentada pelo substrato. O aumento da energia superficial dos filmes que contém Glymo em relação aos filmes contendo PDMS pode ser explicado pela diminuição da parte orgânica (ou hidrofóbica) do filme, o que leva a uma maior molhabilidade com a água (Figura 118) e a uma maior energia superficial (Figura 119). Observa-se ainda que o filme preparado com a mistura M6 apresenta valores de ângulo de contato com a água (Figura 118) e energia superficial (Figura 119) muito diferente dos obtidos para os outros filmes e também para o substrato. Observa-se um valor de ângulo de contato baixo e uma energia superficial alta. Levando-se em consideração apenas a razão e os siloxanos empregados (TEOS/Glymo 30/70) (M6), não seria esperada tal diferença em relação aos filmes preparados com a razão

TEOS/Glymo (70/30) (M8). Portanto, essa diferença provavelmente é reflexo de outro fator, que não a composição química do filme, mas possivelmente da morfologia superficial. Conforme observado por AFM (Figura 98) o filme possui aproximadamente 12% de sua área coberta por poros. A porosidade deve influenciar nos valores das medidas de ângulo de contato com os diferentes solventes utilizados para se determinar a energia superficial. Neste caso, o líquido deve penetrar nos interstícios dos poros, levando a valores de ângulo de contato menores com um conseqüente aumento na energia superficial.

Estudos realizados por Tsuru et al.²³³ empregando filmes híbridos orgânico-inorgânico preparados com alcóxido de titânio, TEOS e PDMS, depositados sobre a superfície do aço inoxidável 316L indicaram que a compatibilidade sanguínea do material preparado não é alterada em relação ao aço e que a diminuição da energia superficial do filme em relação ao substrato leva à uma diminuição da adesão plaquetária.

Como relatado anteriormente, de uma maneira geral, os filmes apresentaram energias superficiais menores que a do substrato. Este resultado é interessante, uma vez que, como observado por Tsuru et al. a diminuição da energia superficial nos filmes estudados em relação ao substrato, pode também ocasionar uma diminuição da agregação de plaquetas. Mesmo o filme preparado a partir da mistura M6, ainda seria interessante para um potencial uso, uma vez que, como discutido anteriormente, o aumento da energia superficial é provavelmente devido à presença de poros. Essa característica obtida para os filmes é desejável, uma vez que aliada à potencial liberação de NO do nitrosilo complexo de rutênio imobilizado no filme, a adesão de plaquetas deve ser ainda mais reduzida.

III.2.8. Imersão Estática

É desejável que os filmes depositados sobre a superfície do aço 316L apresentem estabilidade frente à possibilidade de lixiviação de seus componentes sob condições que simulem as condições fisiológicas. Uma maior estabilidade pode proporcionar um tempo de vida mais longo para o material e prevenir potenciais

efeitos indesejáveis associados à liberação de componentes do filme. Para a avaliação da estabilidade foram realizados testes de imersão estática para os filmes finos obtidos a partir das misturas descritas no item II.2.4 (Tabela 15) e depositados sobre o aço 316L. Para efeitos de comparação, o mesmo experimento foi realizado com o substrato sem a deposição do filme. Os resultados são mostrados nas Tabelas 22 e 23. Após o tempo de imersão de 21 dias, os filmes que apresentaram melhor estabilidade foram analisados por MEV. As imagens são mostradas na Figura 120. Adicionalmente, o filme preparado a partir da condição M6 foi analisado por AFM (Figura 121).

Tabela 22. Determinação da quantidade de Si lixiviada dos filmes de xerogel incubados em PBS a 25 °C.

	Quantidade de Si ($\mu\text{g.L}^{-1}$)			
	0-7 d	7-14 d	14-21 d	total
SUB	10 ± 6	11 ± 5	21 ± 9	42 ± 12
M1	38 ± 12	146 ± 35	74 ± 19	258 ± 41
M2	31 ± 16	32 ± 14	70 ± 19	133 ± 28
M3	1109 ± 124	112 ± 10	87 ± 20	1308 ± 126
M6	67 ± 14	55 ± 13	48 ± 12	170 ± 22
M8	82 ± 20	23 ± 9	45 ± 14	150 ± 26

Tabela 23. Determinação da quantidade de Si lixiviada dos filmes de xerogel incubados em PBS a 36 ± 1 °C.

	Quantidade de Si ($\mu\text{g.L}^{-1}$)			
	0-7 d	7-14 d	14-21 d	total
SUB	18 ± 6	10 ± 6	35 ± 11	63 ± 14
M1	99 ± 22	93 ± 17	120 ± 14	312 ± 31
M2	50 ± 14	97 ± 22	48 ± 18	195 ± 32
M3	1149 ± 157	117 ± 19	67 ± 18	1333 ± 159
M6	101 ± 18	59 ± 15	40 ± 12	200 ± 26
M8	102 ± 19	92 ± 19	61 ± 20	255 ± 33

Nas Tabelas 22 e 23, pode ser observado que, a quantidade de silício liberada dos filmes finos é maior a 36 ± 1 °C que a 25 ± 1 °C, indicando que a estabilidade é dependente da temperatura. Observa-se também a presença de uma pequena quantidade de silício para o aço 316L sob as mesmas condições experimentais e de análise. Comparando-se as quantidades de Si liberadas pode-se estabelecer a seguinte ordem crescente de estabilidade: $M3 < M1 < M8 < M6 < M2$, sendo que para os filmes que contém PDMS observa-se a ordem $M3 < M1 < M2$ e para os filmes que contém Glymo $M8 < M6$. Embora as quantidades de Si determinadas no teste à 25 ± 1 °C sejam inferiores as observadas para o teste realizado a 36 ± 1 °C, como mencionado acima, não se observa mudança na ordem de estabilidade com a variação da temperatura. Não foi observada variação na quantidade de estanho nos testes de imersão estática entre as medidas realizadas para o aço e para os filmes. Em relação a quantidade de silício liberada, observa-se, de maneira geral, uma diminuição com relação ao tempo de imersão.

A figura 120 mostra as imagens de MEV obtidas para os filmes obtidos a partir de M2 e M6.

Figura 120. Imagens de MEV obtidas para os filmes preparados a partir de M2 (A) e M6 (B) após teste de imersão estática a 36 ± 1 °C por 21 dias. Magnificação 500x.

Figura 121. Imagem de AFM obtida para o filme preparados a partir de M6 após teste de imersão estática a 36 ± 1 °C por 21 dias.

Na Figura 120, tanto para M2 como para M6, observa-se a presença de um filme homogêneo, o que está de acordo com a estabilidade observada para estes materiais. Na Figura 121, as imagens de AFM mostram a presença do filme onde ainda é possível observar a presença de poros.

Um parâmetro importante a ser considerado na preparação de materiais visando potenciais aplicações em sistemas biológicos é a toxicidade dos componentes que podem ser lixiviados. Para os filmes preparados a partir dos siloxanos TEOS e PDMS, a lixiviação de espécies como moléculas de PDMS e partículas de sílica e/ou ácido monossilícico é mais provável. A estabilidade de filmes finos preparados a partir do processo sol-gel contendo diazeniodiolatos na preparação de materiais capazes de liberar NO tem sido investigada por Schoenfisch et al.^{246;254}. Estudos de estabilidade química destes materiais mostraram uma dependência da razão TEOS/aminosiloxano. No entanto, de maneira geral, os filmes apresentaram uma estabilidade adequada quando imersos em solução de PBS a 37 °C^{246;254}. Uma estratégia empregada para aumentar a estabilidade dos filmes foi a aplicação de uma camada de poliuretano sobre a superfície²⁵⁴. Há que se ressaltar que a lixiviação dos aminosilanos empregados na preparação destes materiais é indesejável devido à sua potencial toxicidade.

Embora a lixiviação de componentes dos filmes aqui estudados seja indesejável, o PDMS é um polímero que apresenta boa biocompatibilidade e baixa toxicidade sendo utilizado em sistemas carregadores de drogas²⁹⁹, como elastômero em aplicações biomédicas³⁰⁰ e na cobertura de *stents* coronarianos²⁶⁹, apresentando, neste caso, boa hemocompatibilidade *in vitro*. Como mencionado, outra possibilidade seria a liberação de espécies de silício. Açakaya et al.³⁰¹ estudaram o efeito da presença de zeólitas (silicalita, NaX, KA e SAPO-11), as quais consistem de uma rede de SiO₄ e AlO₄, na viabilidade e morfologia das linhagens celulares K562 e 3T3, e a liberação de silício em meio de SBF (*simulated body fluid*). Neste trabalho, onde a concentração de silício liberada após 14 dias atingiu 0,018 mmol.L⁻¹ (KA) e 0,185 mmol.L⁻¹ (silicalita), a incubação de soluções de 100 µmol.L⁻¹ de zeólita com as referidas linhagens celulares não resultou quer na diminuição de sua viabilidade quer em alterações na membrana celular. Adicionalmente, estudos de toxicidade realizados com nanopartículas de sílica³⁰² apresentaram pequenos efeitos tóxicos em culturas de

células somente quando presentes em altas concentrações. Por fim, há que se ressaltar, que são necessários estudos de citotocidade e biocompatibilidade para os filmes preparados.

Para o desenvolvimento e aprimoramento da estabilidade dos filmes preparados, há que se considerar quais as características da estrutura e morfologia dos filmes podem afetar esse parâmetro. Para os filmes preparados a partir dos siloxanos TEOS/Glymo (M6 e M8) não existe uma grande diferença na estabilidade (Tabelas 22 e 23). Por outro lado, observa-se uma diferença muito significativa, de aproximadamente uma ordem de grandeza, nessa propriedade quando se consideram os valores de Si determinados para os materiais preparados a partir dos siloxanos TEOS/PDMS (M1, M2 e M3). Como foi observado por RMN MAS de ^{29}Si (item III.2.5, Tabela 19), o material preparado com TEOS/PDMS (90:10) empregando-se HCl como catalisador e H_2O como agente de hidrólise (M3) possui uma maior proporção de espécies Q_3 e Q_4 , que a observada para M1 e M2, o que indica uma maior tridimensionalidade da rede. Essa característica deveria proporcionar uma maior estabilidade ao material. No entanto esse efeito não é observado. Uma possível explicação seria uma separação de fases mais pronunciada para esse material, conforme observado por AFM (item III.2.3 Figuras 96 e 97). Observa-se uma separação de fases mais pronunciada para M3 em relação à M1 e M2, sendo que a separação de fases é ainda menos pronunciada para M2 em relação à M1. Esse fato sugere que a ordem de estabilidade observada $\text{M3} \ll \text{M1} < \text{M2}$ possa estar relacionada com a separação de fases observada para estes filmes.

III.3. Deposição e caracterização dos filmes finos híbridos orgânico-inorgânicos contendo o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂

Após o estudo e caracterização dos filmes finos depositados sobre a superfície do aço 316L por uma ampla gama de técnicas, foi possível realizar uma escolha criteriosa de quais condições, dentre as estudadas, seriam mais adequadas para a preparação de um material que pudesse apresentar características desejáveis como

estabilidade e adesão adequadas. Da mesma forma, também foi possível conhecer quais características influenciam tais parâmetros. Gostaríamos de ressaltar também que essa etapa inicial foi importante para o conhecimento e desenvolvimento de técnicas sobre a preparação de filmes finos, bem como da utilização de métodos de caracterização, haja vista que esta é a primeira vez que estudos envolvendo este tipo de material são realizados em nosso laboratório.

Para a imobilização do complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ foram escolhidas as condições M2 e M6. Essa escolha se deve às características como adesão mecânica e estabilidade frente à liberação de componentes do filme. Ainda, a escolha destas duas condições contempla filmes das duas classes estudadas, ou seja, filmes contendo TEOS/Glymo e TEOS/PDMS. Esses materiais serão denotados a partir de agora de M2NO e M6NO

III.3.1. Reflectância Especular

A determinação da espessura dos filmes M6NO e M2NO foi feita utilizando-se duas amostras diferentes e realizando-se ao menos 4 medidas em sua superfície. A espessura encontrada para os filmes é mostrada na Tabela 24.

Tabela 24. Espessuras dos filmes obtidas por refletância especular.

Filme	Espessura (nm)
M2NO	3711 ± 76
M6NO	3698 ± 49

A espessura encontrada para o filme M6NO é significativamente maior que para o filme sem complexo. Essa diferença pode estar ligada a uma aceleração do processo de gelificação causada pela presença do complexo, o que produziria um gel mais denso e, conseqüentemente, um filme mais espesso. No entanto, devido ao sistema de *spin coating* adaptado utilizado na preparação dos filmes, tal diferença pode ser proveniente de uma variação da velocidade de rotação da placa. Ainda assim, o

filme apresenta uma espessura adequada. Para o filme M2NO a espessura obtida foi próxima à do filme sem o complexo.

III.3.2. Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 122 e 123 mostram as imagens de microscopia eletrônica de varredura obtida para as amostras M2NO e M6NO, respectivamente.

Figura 122. Imagem de MEV obtida para o filme M2NO. (A) Magnificação 500x e (B) Magnificação 5000x.

Figura 123. Imagem de MEV obtida para o filme M6NO. (A) Magnificação 500x e (B) Magnificação 5000x.

A Figura 122A mostra a imagem obtida por MEV para o filme M2NO. Observa-se um filme homogêneo e livre de trincas. Além disso, é possível observar a presença de estruturas que lembram esferas indicando uma possível separação de fases. A presença destas estruturas não foi verificada previamente para o filme sem o complexo e pode ser resultado da presença do complexo.

Na Figura 123A observa-se que o filme M6NO apresenta uma superfície homogênea, livre de trincas, como observado anteriormente para o filme obtido a partir da mistura M6. Na imagem de maior magnificação (Figura 123B) é possível observar a presença de poros na superfície do filme, indicando que a presença do complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ não altera significativamente a sua morfologia.

A Figura 124 mostra o mapeamento de rutênio na superfície do filme M2NO e M6NO (Figura 124 A e B) e os espectros de EDX para essas amostras (Figura 124 C e D).

Figura 124. Mapeamento de Ru para M2NO (A) e M6NO (B) e espectro de EDX para M2NO (C) e M6NO (D).

Na Figura 124 A e B é possível observar uma distribuição homogênea de rutênio na superfície do filme enquanto nos espectros de EDX observa-se o pico L_{α} do rutênio em 2,554 keV (Figura 124 C e D), indicando, como observado por espectroscopia no IV (vide ítem III.3.4), a presença do complexo no filme. A análise semi-quantitativa para o filme M2NO indicou uma porcentagem elementar e atômica de Ru (em relação ao Si) de 3,28 % e 0,93 %, respectivamente. Ressalte-se que esses valores estão dentro do erro de detecção da técnica (< 2 sigma). Esse fato possivelmente é devido ao tempo de gelificação desta amostra (1 hora), onde o volume de gel é praticamente o mesmo utilizado na preparação do sol (~ 4 mL). Assim a concentração de complexo no gel a ser depositado, que inicialmente é igual nos sóis para M2NO e M6NO, torna-se menor para a M2NO. Este fato é devido à utilização de etanol e ao tempo de gelificação de 24 horas para M6NO, os quais permitem uma redução significativa do volume resultando em um gel com maior concentração do complexo. Para o filme preparado a partir da msitura M6NO a análise semi-quantitativa por EDX forneceu uma porcentagem elementar e atômica de Ru (em relação ao silício) de 10,92 % e 3,29 % respectivamente.

III.3.3. Microscopia de força atômica

As Figuras 125 a 128 mostram as imagens de AFM obtidas para os filmes M2NO e M6NO, respectivamente, sendo estas obtidas nas mesmas condições que as utilizadas para os filmes sem o complexo e foram obtidas com as mesmas amostras utilizadas na MEV (vide ítem III.3.2).

Figura 125. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme M2NO (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.

Figura 126. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme M2NO (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.

Nas imagens de AFM obtidas para o filme M2NO (Figura 125), é possível observar, da mesma forma que constatado anteriormente por MEV, a presença de estruturas esféricas na superfície, as quais indicam uma separação de fases. Inicialmente, tal separação de fase não foi observada para o respectivo filme sem o complexo, o que sugere que a presença do complexo pode estar influenciando nesta característica. Ainda, a dimensão das estruturas na superfície do filme (entre 2 e 3 μm)

é muito superior às observadas anteriormente. Embora a presença do complexo possa estar influenciando na separação de fases, a presença de estruturas deste tipo, as quais indicam a separação de fases mencionada, tem sido observada para outros filmes empregando TEOS/PDMS. No entanto, ao contrário do observado anteriormente, quando a análise por AFM é realizada em áreas menores ($1 \times 1 \mu\text{m}$) (Figura 126), nenhuma separação evidente de fases é observada.

Figura 127. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme M6NO (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.

Figura 128. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o filme M6NO (A) Imagem superficial, (B) Imagem 3D, (C) Contraste de fase.

Figura 129. (A) Imagem 2D; (B) Perfil da superfície; (C) Histograma da distribuição do diâmetro dos poros e (D) Histograma da área dos poros. Resultados obtidos a partir da imagem por AFM ($50 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m}$) para o filme M6NO.

Na Figura 127 (A) é possível observar que o filme M6NO apresenta poros de tamanho relativamente homogêneo e com distribuição aproximadamente regular sobre a superfície. Na Figura 128 (C) observa-se a imagem por contraste de fases onde o contraste observado é referente à presença dos poros na superfície. Na Figura 128 é possível observar que, em uma menor área (1x1 μm), a superfície do material é regular sem separação evidente de fases. Este fato sugere que, ao menos na superfície, o complexo esteja homogeneamente distribuído, como observado pelo mapeamento de Ru por EDX. Analisando-se a Figura 129 (C) e (D), observa-se que tanto o diâmetro dos poros, o qual varia de aproximadamente 0,4 a 1,0 μm , quanto sua área, é menor que o observado para o filme M6 sem o complexo, onde o diâmetro varia de aproximadamente 1 a 4 μm (vide item III.2.3). No entanto, a porosidade observada para o filme M6NO é aproximadamente 9 %, cujo valor é da mesma ordem da observada para o filme M6 (~ 12%). Embora o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ possa estar agindo como *template*, uma vez que este complexo apresenta carga 2+, e influenciando na diferença da porosidade observada, são necessários estudos de variação da concentração do complexo no material para se avaliar tal dependência. Por fim, embora ocorram as mudanças de porosidade relatada, após a imobilização do complexo, a morfologia do filme não é alterada significativamente.

III.3.4. Espectroscopia no infravermelho.

Os filmes obtidos a partir das misturas M2NO e M6NO, depositados sobre o aço foram analisados por reflectância especular no IV. Os espectros obtidos são mostrados na Figura 130 e 131.

Figura 130. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da M2NO.

Figura 131. Espectro de refletância especular no IV do filme depositado sobre o aço inoxidável 316 L obtido a partir da M6NO.

No espectro de IV, para a M2NO, observa-se uma banda fraca em 1881 cm^{-1} , e para a M6NO, uma banda em 1865 cm^{-1} , sendo que bandas nessa região não são observadas para os respectivos filmes sem o complexo (item III.2.4). Esta banda encontra-se próxima à banda referente ao estiramento $\nu_{(\text{NO})}$ (1875 cm^{-1}) no complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂³² e, por analogia, foi atribuída ao estiramento do NO no complexo imobilizado. Nos espectros para os filmes M2NO e M6NO (Figuras 130 e 131) observam-se, de maneira geral, características semelhantes às dos respectivos filmes sem o complexo (item III.2.4). Assim, as atribuições realizadas anteriormente para os filmes M2 e M6 podem ser estendidas para os respectivos filmes contendo o complexo. De forma sucinta, para M2NO, as bandas em 2964 e 2899 cm^{-1} podem ser atribuídas aos estiramentos C-H dos grupos -CH₃ do PDMS. A banda fina e intensa em 1259 cm^{-1} pode ser atribuída à deformação do -CH₃ ligado ao sítio e a banda intensa em 1064 cm^{-1} com um ombro em 1122 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento Si-O-Si da rede de sílica. A banda na região de 850 cm^{-1} é possivelmente devida à condensação das moléculas de TEOS e PDMS e a banda em 815 cm^{-1} pode ser atribuída aos estiramentos Si-C da cadeia do PDMS.

Para o filme preparado a partir da mistura M6NO, a banda alargada na região de aproximadamente 3400 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento -OH dos grupos silanóis. As bandas na região de 3070 a 2870 cm^{-1} podem ser atribuídas aos estiramentos C-H dos grupos metil do anel epóxido e as bandas na região de 2940 a 2870 cm^{-1} podem ser atribuídas aos estiramentos C-H dos grupos metilênicos (-CH₂-) presentes no Glymo.

A Figura 132 mostra a região de 1400 a 700 cm^{-1} do espectro de IV, onde se encontram as bandas características do anel epóxido para os filmes M6 e M6NO.

Figura 132. Espectro de refletância especular no IV do filme M6NO depositado sobre o aço inoxidável 316 L.

Na Figura 132 observa-se a presença das bandas referentes ao anel oxirano em 1254 e 911 cm^{-1} também para o filme M6NO, indicando que esse grupo é preservado e que, portanto, não sofre reação em quantidades apreciáveis na presença do complexo. No entanto, na região referente aos estiramentos -Si-O-Si- da rede de sílica (1150 a 1000 cm^{-1}) ocorre uma mudança, com um pequeno deslocamento da banda mais intensa para um maior número de onda, a qual possivelmente pode ser oriundo da presença do complexo.

Para os filmes M2 e M2NO, na comparação das Figuras 130 e 103 (item III.2.4) não se observam mudanças significativas na posição das bandas, apenas um deslocamento na banda referente ao estiramento Si-O-Si.

III.3.5. Testes de adesão

Os testes de adesão para os filmes M2NO e M6NO foram realizados da mesma maneira que para os filmes sem complexo, ou seja seguindo-se as normas ASTM D-

1000. Para o filme M2NO o valor da força de adesão obtido foi de 2,15 N/cm sendo este da mesma ordem do obtido para o filme M2, o que indica que a adesão não foi influenciada pela presença do complexo. Para o filme M6NO, não foi possível obter o valor da força de adesão uma vez que, mesmo após a utilização de 3 diferentes tipos de fitas adesivas na tentativa de se revomer o filme, o mesmo permaneceu aderido à superfície do aço. Esse resultado indica que, mesmo sem um valor numérico, o filme apresenta uma boa adesão à superfície do aço, podendo esta ser inclusive superior à obtida anteriormente.

II.3.6. Energia superficial

A energia superficial dos filmes M2NO e M6NO foi determinada da mesma maneira utilizada anteriormente para os filmes sem o complexo. Os valores de energia superficial são mostrados na Tabela 25. Para efeitos de comparação também são apresentados os valores para os respectivos filmes sem o complexo e para o aço inoxidável.

Tabela 25. Energia superficial obtida para os filmes M2NO e M6NO e seus análogos sem complexo.

Filme	ES (mN/m)
SUB	42.93
M2	22.94
M2NO	19.39
M6	68.38
M6NO	47.34

Figura 133. Ângulo de contato estático da água para os filmes M2NO e M6NO e para os respectivos filmes sem complexo depositados sobre o aço inoxidável 316 L e para o substrato (SUB).

Figura 134. Energia superficial para os filmes M2NO e M6NO e para os respectivos filmes sem complexo depositados sobre o aço inoxidável 316 L e para o substrato (SUB).

A Tabela 25 e as Figuras 133 e 134 mostram, para o filme obtido a partir da M2NO, um ângulo de contato estático para a água de aproximadamente 100°, o que se

reflete na baixa energia superficial obtida para este filme. Comparativamente, os filmes M2 e M2NO apresentam energias superficiais da mesma ordem, sendo estas menores que as observadas para o aço inoxidável. Assim, pode-se concluir que a presença do complexo não influencia a energia superficial do filme. Este resultado sugere ainda que não houve migração significativa do complexo para a superfície do filme.

Para o filme M6NO, observa-se (Tabela 25 e Figura 133 e 134) um aumento significativo do ângulo de contato da água em relação ao filme sem o complexo, o que se reflete em uma diminuição significativa da energia superficial (de 68.38 mN/m no M6 para 47.34 mN/m no M6NO). Embora mais estudos sejam necessários para se verificar a origem desta diferença, uma possibilidade seria a diminuição da área dos poros observada para o filme M6NO observada em relação ao filme M6. Embora a porosidade seja semelhante, a diminuição do tamanho dos poros diminuiria a interação com os líquidos utilizados na determinação da energia superficial. A diminuição do tamanho dos poros também influencia na rugosidade da superfície (Rz), sendo que esse parâmetro variou de 304 nm (M6) para 121 nm (M6NO), podendo influenciar também na energia superficial observada.

IV. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, algumas conclusões podem ser feitas.

A síntese do complexo $fac-[Ru(NO)Cl_2(\kappa^3N^4,N^8,N^{11}(1\text{-carboxipropil)cyclam})]Cl.H_2O$ a partir da reação entre o ligante 1-(carboxipropil)cyclam e o $RuNOCl_3$, conforme observado por difração de Raios-X, levou a uma configuração completamente inesperada e diferente da observada para os complexos análogos de rutênio com o ligante cyclam e seus derivados N-substituídos os quais apresentam configuração *trans* ou *cis*. O modo de coordenação κ^3 do ligante 1-(carboxipropil)cyclam, o qual oferece a possibilidade de penta-coordenação, é observado pela primeira vez na literatura para um complexo de rutênio, tanto quanto sabemos. Gostaríamos de ressaltar ainda que todas as técnicas empregadas na

caracterização deste complexo concordam com a estrutura determinada por difração de Raios-X. No tocante a aspectos de reatividade, a configuração singular do complexo *fac*, como esperado, influencia fortemente esse parâmetro. Embora o complexo apresente dois cloretos coordenados ao átomo de rutênio, os mesmos são cinética e termodinamicamente inertes em solução aquosa à temperatura ambiente. Observa-se a saída de apenas um dos ligantes cloreto somente a 40 °C ($k = 5,6 \pm 0,3 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$). Ainda com relação ao aspecto de reatividade, o complexo apresenta 3 espécies conforme o pH da solução é aumentado. A reatividade eletroquímica desse complexo é extremamente rica, embora também muito complexa. No entanto, conforme observado, o complexo é capaz de liberar NO após a redução química ou eletroquímica, tornando-o um doador de óxido nítrico em potencial. Este complexo ainda apresenta um grupo carboxílico livre que pode ser utilizado para sua imobilização, conforme os objetivos iniciais.

A preparação e caracterização de uma sílica modificada contendo em sua superfície a base nitrogenada heterocíclica isonicotinamida possibilitou imobilização da unidade $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{SO}_3)]$ e a preparação dos complexos imobilizados correlatos $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{2+/3+}$ ($\text{L} = \text{SO}_3^{2-}$, SO_2 , SO_4^{2-} , H_2O e NO). As técnicas de caracterização empregadas mostram, da mesma forma que observado anteriormente em outros trabalhos, que a imobilização não influencia significativamente nas propriedades dos complexos. A tetraamina de rutênio com o ligante nitrosilo imobilizada na superfície da sílica, $[\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3(\text{isn})\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{NO})]^{3+}$, mostrou-se capaz de liberar óxido nítrico após redução química ou durante a irradiação com luz. Após a liberação de NO por redução química ou fotoquimicamente, o complexo imobilizado foi passível de regeneração através da reação com nitrito em solução neutra ($\text{pH} = 7,4$). No tocante à redução química, 3 ciclos de redução e regeneração com nitrito foram feitos, sendo que o complexo mostrou-se estável em relação ao lixiviamento e capaz de manter suas características na liberação de NO.

Na parte final destes trabalhos foi enfocada a preparação de materiais com um maior potencial de aplicação biológica uma vez que o substrato escolhido para a imobilização foi o aço inoxidável 316L, um material largamente empregado em biomateriais. Foi desenvolvido um método simples de tratamento da superfície do aço,

o qual forneceu as condições necessárias (homogeneidade física e química e hidrofiliidade) para a deposição controlada de filmes finos híbridos orgânico-inorgânicos preparados a partir do processo sol-gel. Para tanto foram empregadas misturas binárias dos siloxanos TEOS/PDMS e TEOS/Glymo. O emprego de uma ampla gama de técnicas na caracterização destes materiais permitiu uma visão de quais propriedades podem influenciar em características importantes para potenciais aplicações biológicas como energia superficial e a morfologia da superfície dos filmes, assim como nos parâmetros como adesão mecânica e estabilidade em solução. Desta forma, passa a ser possível a variação das condições de preparação de modo a se otimizar os resultados. A partir dos resultados obtidos nos estudos com os filmes, foi possível a escolha criteriosa de duas condições que permitiram a preparação de filmes finos contendo o complexo *trans*-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂. Espera-se que o complexo imobilizado possa liberar NO. Há que se ressaltar que ainda são necessários estudos que possam avaliar o comportamento destes materiais frente a parâmetros de importância biológica como citotoxicidade e inibição da adesão de plaquetas.

Por fim, como observado através dos resultados obtidos, e em outros estudos publicados, a imobilização de nitrosilo complexos de rutênio surge como uma potencial estratégia para a preparação de materiais capazes de liberar óxido nítrico de forma controlada. Esta estratégia ainda permite a utilização de ions nitrito, os quais estão presente no meio biológico, como uma fonte para a geração de NO.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Lee, S. M.; Wong, W. T. *Coordination Chemistry Reviews* **1997**, 164, 415-482.
- (2) Hui, J. W.-S.; Wong, W. T. *Coordination Chemistry Reviews* **1998**, 172, 389-436.
- (3) Richter-Addo, G. B.; Legzdins, P. *Metal Nitrosyls*, Oxford University Press **1992**.
- (4) McCleverty, J. A. *Chemical Reviews* **2004**, 104, 403-418.
- (5) Roncaroli, F.; Videla, M.; Slep, L. D.; Olabe, J. A. *Coordination Chemistry Reviews* **2007**, 251, 1903-1930.
- (6) Tfouni, E.; Ferreira, K. Q.; Doro, F. G.; da Silva, R. S.; da Rocha, Z. N. *Coordination Chemistry Reviews* **2005**, 249, 405-418.

- (7) Tfouni, E.; Krieger, M.; McGarvey, B. R.; Franco, D. W. *Coordination Chemistry Reviews* **2003**, 236, 57-69.
- (8) Ford, P. C.; Laverman, L. E. *Coordination Chemistry Reviews* **2005**, 249, 391-403.
- (9) Ignarro, L.J in *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology*, Academic Press, USA **2000**.
- (10) Wink, D. A.; Mitchell, J. B. *Free Radical Biology and Medicine* **1998**, 25, 434-456.
- (11) Pacher, P.; Beckman, J. S.; Liaudet, L. *Physiological Reviews* **2007**, 87, 315-424.
- (12) Lancaster, J. R. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry* **1997**, 1, 18-30.
- (13) Gally, J. A.; Montague, P. R.; Reeke, G. N.; Edelman, G. M. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1990**, 87, 3547-3551.
- (14) Palmer, R. M. J.; Ferrige, A. G.; Moncada, S. *Nature* **1987**, 327, 524-526.
- (15) Ignarro, L. J.; Buga, G. M.; Wood, K. S.; Byrns, R. E.; Chaudhuri, G. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1987**, 84, 9265-9269.
- (16) Ignarro, L. J.; Buga, G. M.; Byrns, R. E.; Wood, K. S.; Chaudhuri, G. *Circulation* **1987**, 76, 51.
- (17) Furchgott, R. F.; Zawadzki, J. V. *Nature* **1980**, 288, 373-376.
- (18) Radi, R. *Chemical Research in Toxicology* **1996**, 9, 828-835.
- (19) Herold, S.; Matsui, T.; Watanabe, Y. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, 123, 4085-4086.
- (20) Odaka, M.; Fujii, K.; Hoshino, M.; Noguchi, T.; Tsujimura, M.; Nagashima, S.; Yohda, M.; Nagamune, T.; Inoue, Y.; Endo, I. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, 3785-3791.
- (21) Norton, J. R.; Robinson, W. T.; Collman, J. P.; Dolcetti, G. *Inorganic Chemistry* **1972**, 11, 382-&.
- (22) Enemark, J. H.; Feltham, R. D. *Coordination Chemistry Reviews* **1974**, 13, 339-406.
- (23) Wolak, M.; van Eldik, R. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, 230, 263-282.
- (24) Bezerra, C. W. B.; da Silva, S. C.; Gambardella, M. T. P.; Santos, R. H. A.; Plicas, L. M. A.; Tfouni, E.; Franco, D. W. *Inorganic Chemistry* **1999**, 38, 5660-5667.
- (25) Bordini, J., Novaes, D. O., Borissevitch, I. E., Owens, B. T. and Tfouni, E. *Acidity and Photolability of Ruthenium Salen Nitrosyl and Aquo Complex in Aqueous Solutions*. submetido para publicação, **2007**.
- (26) Mingos, D. M. P. *Inorganic Chemistry* **1973**, 12, 1209-1211.

- (27) Gorelsky, S. I.; da Silva, S. C.; Lever, A. B. P.; Franco, D. W. *Inorganica Chimica Acta* **2000**, *300*, 698-708.
- (28) Akashi, H.; Yamauchi, T.; Shibahara, T. *Inorganica Chimica Acta* **2004**, *357*, 325-330.
- (29) Bottcher, H. C.; Mereiter, K. *Inorganic Chemistry Communications* **2004**, *7*, 1225-1228.
- (30) English, R. B. *Polyhedron* **1989**, *8*, 2565-2569.
- (31) Tsai, M. L.; Hsieh, C. H.; Liaw, W. F. *Inorganic Chemistry* **2007**, *46*, 5110-5117.
- (32) 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. *Inorganic Chemistry* **2000**, *39*, 2294-2300.
- (33) De Candia, A. G, Marcolongo, J. P., and Slep, D. L. A ruthenium nitrosyl species based on a pedant-arm 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane (cyclam) derivative: An experimental and theoretical study. *Polyhedron* doi:10.1016/j.poly.2007.04.038. 2007.
- (34) Borges, S. D. S.; Davanzo, C. U.; Castellano, E. E.; Schpector, J.; Silva, S. C.; Franco, D. W. *Inorganic Chemistry* **1998**, *37*, 2670-2677.
- (35) Gomes, M. G.; Davanzo, C. U.; Silva, S. C.; Lopes, L. G. F.; Santos, P. S.; Franco, D. W. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **1998**, 601-607.
- (36) Callahan, R. W.; Meyer, T. J. *Inorganic Chemistry* **1977**, *16*, 574-581.
- (37) Godwin, J. B.; Meyer, T. J. *Inorganic Chemistry* **1971**, *10*, 471-&.
- (38) Wanat, A.; Schnepfensieper, T.; Karocki, A.; Stochel, G.; van Eldik, R. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **2002**, 941-950.
- (39) Bagatin, I. A.; Toma, H. E. *Spectroscopy Letters* **1996**, *29*, 1409-1416.
- (40) Bagatin, I. A.; Toma, H. E. *Transition Metal Chemistry* **1996**, *21*, 71-76.
- (41) Batista, A. A.; Pereira, C.; Queiroz, S. L.; deOliveira, L. A. A.; Santos, R. H. D.; Gambardella, M. T. D. *Polyhedron* **1997**, *16*, 927-931.
- (42) Batista, A. A.; Pereira, C.; Wohnrath, K.; Queiroz, S. L.; Santos, R. H. D.; Gambardella, M. T. D. *Polyhedron* **1999**, *18*, 2079-2083.
- (43) Cavarzan, D. A.; Caetano, F. R.; Romualdo, L. L.; do Nascimento, F. B.; Batista, A. A.; Ellena, J.; Barison, A.; de Araujo, M. P. *Inorganic Chemistry Communications* **2006**, *9*, 1247-1250.
- (44) Bordini, J.; Hughes, D. L.; Neto, J. D. D.; da Cunha, C. J. *Inorganic Chemistry* **2002**, *41*, 5410-5416.

- (45) Works, C. F.; Ford, P. C. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 7592-7593.
- (46) Works, C. F.; Jocher, C. J.; Bart, G. D.; Bu, X. H.; Ford, P. C. *Inorganic Chemistry* **2002**, *41*, 3728-3739.
- (47) Lim, M. D.; Lorkovic, I. M.; Ford, P. C. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2005**, *99*, 151-165.
- (48) Lorkovic, I. M.; Ford, P. C. *Inorganic Chemistry* **2000**, *39*, 632-+.
- (49) Bernhardt, P. V.; Sharpe, P. C. *Inorganic Chemistry* **2000**, *39*, 4123-4129.
- (50) Costamagna, J.; Ferraudi, G.; Matsuhira, B.; Campos-Vallette, M.; Canales, J.; Villagran, M.; Vargas, J.; Aguirre, M. J. *Coordination Chemistry Reviews* **2000**, *196*, 125-164.
- (51) Kaden, T. A. *Topics in Current Chemistry* **1984**, *121*, 157-179.
- (52) Lewis, E. A.; Allan, C. C.; Boyle, R. W.; Archibald, S. J. *Tetrahedron Letters* **2004**, *45*, 3059-3062.
- (53) Dong, Y.; Lindoy, L. E. *Coordination Chemistry Reviews* **2003**, *245*, 11-16.
- (54) Liang, X. Y.; Sadler, P. J. *Chemical Society Reviews* **2004**, *33*, 246-266.
- (55) Bernhardt, P. V.; Lawrance, G. A. *Coordination Chemistry Reviews* **1990**, *104*, 297-343.
- (56) Fensterbank, H.; Zhu, J. R.; Riou, D.; Larpent, C. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1999**, 811-815.
- (57) Denat, F.; Brandes, S.; Guillard, R. *Synlett* **2000**, 561-574.
- (58) Buttafava, A.; Fabbrizzi, L.; Perotti, A.; Poggi, A.; Poli, G.; Seghi, B. *Inorganic Chemistry* **1986**, *25*, 1456-1461.
- (59) Che, C. M.; Poon, C. K. *Pure and Applied Chemistry* **1988**, *60*, 495-500.
- (60) daSilva, R. S.; Tfouni, E. *Inorganic Chemistry* **1992**, *31*, 3313-3316.
- (61) Ferreira, K. Q.; Lucchesi, A. M.; da Rocha, Z. N.; da Silva, R. S. *Inorganica Chimica Acta* **2002**, *328*, 147-151.
- (62) Che, C. M.; Kwong, S. S.; Poon, C. K.; Lai, T. F.; Mak, T. C. W. *Inorganic Chemistry* **1985**, *24*, 1359-1363.
- (63) Walker, D. D.; Taube, H. *Inorganic Chemistry* **1981**, *20*, 2828-2834.
- (64) Walker, D. D.; *Ph.D Thesis*, Stanford University, Stanford, C.A, USA. **1980**.
- (65) Kaden, T. A. *Chimia* **1976**, *30*, 207-208.

- (66) Kaden, T. A. *Chimia* **2000**, *54*, 574-578.
- (67) Lopes, L. G. F.; Sousa, E. H. S.; Miranda, J. C. V.; Oliveira, C. P.; Carvalho, I. M. M.; Batista, A. A.; Ellena, J.; Castellano, E. E.; Nascimento, O. R.; Moreira, I. S. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **2002**, 1903-1906.
- (68) Martin, L. Y.; Sperati, C. R.; Busch, D. H. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, *99*, 2968-2981.
- (69) Bounsall, E. J.; Koprach, S. R. *Canadian Journal of Chemistry* **1970**, *48*, 1481-&.
- (70) Szacilowski, K. T.; Xie, P. H.; Malkhasian, A. Y. S.; Heeg, M. J.; Udugala-Ganeheneg, M. Y.; Wenger, L. E.; Endicott, J. F. *Inorganic Chemistry* **2005**, *44*, 6019-6033.
- (71) Deleo, M. A.; Ford, P. C. *Coordination Chemistry Reviews* **2000**, *208*, 47-59.
- (72) Tfouni, E. *Coordination Chemistry Reviews* **2000**, *196*, 281-305.
- (73) Ford, P. C. *Coordination Chemistry Reviews* **1970**, *5*, 75-&.
- (74) Silva, M.; Tfouni, E. *Inorganic Chemistry* **1997**, *36*, 274-277.
- (75) daSilva, R. S.; Gambardella, M. T. P.; Santos, R. H. A.; Mann, B. E.; Tfouni, E. *Inorganica Chimica Acta* **1996**, *245*, 215-221.
- (76) El Ghachtouli, S.; Cadiou, C.; Dechamps-Olivier, I.; Chuburu, F.; Aplincourt, M.; Roisnel, T. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2006**, 3472-3481.
- (77) Schiegg, A.; Kaden, T. A. *Helvetica Chimica Acta* **1990**, *73*, 716-722.
- (78) Pallavicini, P. S.; Perotti, A.; Poggi, A.; Seghi, B.; Fabbriizzi, L. *Journal of the American Chemical Society* **1987**, *109*, 5139-5144.
- (79) Studer, M.; Riesen, A.; Kaden, T. A. *Acta Crystallographica Section C-Crystal Structure Communications* **1990**, *46*, 741-745.
- (80) Hambley, T. W.; Lawrance, G. A.; Martinez, M.; Skelton, B. W.; White, A. H. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **1992**, 1643-1648.
- (81) Lawrance, G. A.; Martinez, M.; Skelton, B. W.; White, A. H. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **1992**, 1649-1652.
- (82) Basak, A. K.; Kaden, T. A. *Helvetica Chimica Acta* **1983**, *66*, 2086-2092.
- (83) Mouffouk, F.; Demetriou, A.; Higgins, S. J.; Nichols, R. J. *Inorganica Chimica Acta* **2006**, *359*, 3491-3496.
- (84) DeRosa, F.; Bu, X. H.; Ford, P. C. *Inorganic Chemistry* **2003**, *42*, 4171-4178.
- (85) DeRosa, F.; Bu, X. H.; Ford, P. C. *Inorganic Chemistry* **2005**, *44*, 4157-4165.

- (86) DeRosa, F.; Bu, X. H.; Pohaku, K.; Ford, P. C. *Inorganic Chemistry* **2005**, *44*, 4166-4174.
- (87) Padilla-Tosta, M. E.; Lloris, J. M.; Martinez-Manez, R.; Benito, A.; Soto, J.; Pardo, T.; Miranda, M. A.; Marcos, M. D. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2000**, 741-748.
- (88) Che, C. M.; Tang, W. T.; Mak, T. C. W. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **1988**, 2879-2883.
- (89) Poon, C. K.; Che, C. M. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **1981**, 1019-1023.
- (90) Ferreira, K. Q.; Doro, F. G.; Tfouni, E. *Inorganica Chimica Acta* **2003**, *355*, 205-212.
- (91) Oliveira, F. S.; Togniolo, V.; Pupo, T.; Tedesco, A. C.; da Silva, R. S. *Inorganic Chemistry Communications* **2004**, *7*, 160-164.
- (92) Marcondes, F. G.; Ferro, A. A.; Souza-Torsoni, A.; Sumitani, M.; Clarke, M. J.; Franco, D. W.; Tfouni, E.; Krieger, M. H. *Life Sciences* **2002**, *70*, 2735-2752.
- (93) Oliveira, F. D.; Ferreira, K. Q.; Bonaventura, D.; Bendhack, L. M.; Tedesco, A. C.; Machado, S. D.; Tfouni, E.; da Silva, R. S. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2007**, *101*, 313-320.
- (94) Ford, P. C.; Bourassa, J.; Miranda, K.; Lee, B.; Lorkovic, I.; Boggs, S.; Kudo, S.; Laverman, L. *Coordination Chemistry Reviews* **1998**, *171*, 185-202.
- (95) Bendhack, L. M.; Ferezin, C. Z.; Oliveira, F. S.; Lunardi, C. N.; Simioni, A. R.; Tedesco, A. C.; Silva, R. S. *Faseb Journal* **2005**, *19*, A1553.
- (96) Ferreira, K. Q. *Tese de Doutorado*, Departamento de Química da FFCLRP-USP, Ribeirão Preto, S.P, Brasil. **2004**.
- (97) Perrin, D. D., Armarego, W. L. F. and Perrin, D. R. *Purification of Laboratory Chemicals*, 2nd Ed., Pergamon Press Ltd: Oxford. **1980**.
- (98) Shriver, D. F. *The Manipulation of Air Sensitive Compounds*, MacGraw-Hill Co., New York. The Manipulation of Air Sensitive Compounds, MacGraw-Hill Co., New York . **1969**.
- (99) Isied, S. S. *Ph.D Thesis*, Stanford University, Stanford, C.A, USA. **1973**.
- (100) Pavanin, L. A. *Tese de Doutorado* - Instituto de Química - USP: São Paulo, 1988.
- (101) Durig, J. R.; MacAllister, W. A.; Willis, J. N.; Mercer, E. E. *Spectrochimica Acta* **1966**, *22*, 1091-1100.
- (102) Bernhardt, P. V.; Lawrance, G. A. *Polyhedron* **1987**, *6*, 1875-1878.
- (103) Nonius , B. V. *Enraf-Nonius.COLLECT.Delft, The Netherlands (1997-2000)* **1997**.

- (104) Otwinowsk, Z.; Minor, W. *HKL Denzo and Scalepack*. In *Methods in Enzymology*, 276, edited by C.W.Carter, Jr. & R.M.Sweet, New York: Academic Press. **1997**, 307-326.
- (105) Coppens, P.; Leiserow, L.; Rabinovi, D. *Acta Crystallographica* **1965**, 18, 1035-&.
- (106) Sheldrick, G. M. *Program for Crystal Structures Analysis*. Universidade de Göttingen: Göttingen, Germany. **1997**.
- (107) Sheldrick, G. M. *SHELXS-97. Program for Crystal Structure Resolution*. Univ. of Göttingen: Göttingen, Germany. **1997**.
- (108) Wasley, G. D.; May, J. W. *Animal Cell Culture Methods*; Oxford: 1970; pp 1-194.
- (109) Studer, M.; Kaden, T. A. *Helvetica Chimica Acta* **1986**, 69, 2081-2086.
- (110) Hancock, R. D.; Motekaitis, R. J.; Mashishi, J.; Cukrowski, I.; Reibenspies, J. H.; Martell, A. E. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2* **1996**, 1925-1929.
- (111) Wong, K. Y.; Che, C. M.; Yip, W. H.; Wang, R. J.; Mak, T. C. W. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **1992**, 1417-1421.
- (112) Stynes, H. C.; Ibers, J. A. *Inorganic Chemistry* **1971**, 10, 2304-&.
- (113) Hambley, T. W.; Lay, P. A. *Inorganic Chemistry* **1986**, 25, 4553-4558.
- (114) Wishart, J. F.; Bino, A.; Taube, H. *Inorganic Chemistry* **1986**, 25, 3318-3321.
- (115) Emel'yanov, V. A.; Virovets, A. V.; Baidina, I. A.; Gromilov, S. A.; Belyaev, A. V. *Inorganic Chemistry Communications* **2001**, 4, 33-35.
- (116) Szczepura, L. F.; Muller, J. G.; Bessel, C. A.; See, R. F.; Janik, T. S.; Churchill, M. R.; Takeuchi, K. J. *Inorganic Chemistry* **1992**, 31, 859-869.
- (117) Veal, J. T.; Hodgson, D. J. *Inorganic Chemistry* **1972**, 11, 1420-&.
- (118) Eberlin, M. N.; Tomazela, D. M.; Araki, K.; Alexiou, A. D. P.; Formiga, A. L. B.; Toma, H. E.; Nikolaou, S. *Organometallics* **2006**, 25, 3245-3250.
- (119) Toma, H. E.; Alexiou, A. D. P.; Formiga, A. L. B.; Nakamura, M.; Dovidaskas, S.; Eberlin, M. N.; Tomazela, D. M. *Inorganica Chimica Acta* **2005**, 358, 2891-2899.
- (120) Toma, H. E.; Nikolaou, S.; Eberlin, M. N.; Tomazela, D. M. *Polyhedron* **2005**, 24, 731-738.
- (121) Toma, S. H.; Uemi, M.; Nikolaou, S.; Tomazela, D. M.; Eberlin, M. N.; Toma, H. E. *Inorganic Chemistry* **2004**, 43, 3521-3527.
- (122) Shepherd, R. E.; Slocik, J. M.; Stringfield, T. W.; Somayajula, K. V.; Amoscato, A. A. *Inorganica Chimica Acta* **2004**, 357, 965-979.

- (123) Slocik, J. M.; Somayajula, K. V.; Shepherd, R. E. *Inorganica Chimica Acta* **2001**, 320, 148-158.
- (124) Stringfield, T. W.; Somayajula, K. V.; Muddiman, D. C.; Flora, J. W.; Shepherd, R. E. *Inorganica Chimica Acta* **2003**, 343, 317-328.
- (125) Bertotti, M.; Mori, V.; Zanichelli, P.; Toledo, J. C.; Franco, D. W. *Nitric Oxide, Pt e* **2005**, 396, 45-53.
- (126) Torsoni, A. S.; de Barros, B. F.; Toledo, J. C.; Haun, M.; Krieger, M. H.; Tfouni, E.; Franco, D. W. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry* **2002**, 6, 247-254.
- (127) Bard, A. J. and Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, Wiley, New York. 1980.
- (128) Mori, V.; Bertotti, M. *Analyst* **2000**, 125, 1629-1632.
- (129) da Rocha, Z. N.; Ferreira, K. Q.; Silva, M.; de Oliveira, E. C.; Chiericato, G.; Tfouni, E. *Inorganic Chemistry* **2001**, 40, 5385-5392.
- (130) Broomhead, J. A.; Basolo, F.; Pearson, R. G. *Inorganic Chemistry* **1964**, 3, 826-&.
- (131) Marchant, J. A.; Matsubara, T.; Ford, P. C. *Inorganic Chemistry* **1977**, 16, 2160-2165.
- (132) Gareth, E. J. *Human Cell Culture Protocols*; 1996; pp 1-545.
- (133) Fidler, I. J. *Cancer Research* **1975**, 35, 218-224.
- (134) Briles, E. B.; Kornfeld, S. *Journal of the National Cancer Institute* **1978**, 60, 1217-1222.
- (135) Freshney, R. I. *Cytotechnology* **2002**, 39, 55-67.
- (136) de Gomes, A.; Barbugli, P. A.; Espreadico, E. M.; Doro, F. G.; Tfouni, E. *Faseb Journal* **2006**, 20, A101.
- (137) Gomes, A. J., Barbougli, P. A., Espreadico, E. M., and Tfouni, E. *trans-[Ru(NO)(NH₃)₄(py)](BF₄)₃.H₂O encapsulated in PLGA microparticles for delivery of nitric oxide to B16-F10 cells. Cytotoxicity and phototoxicity. submetido para publicação . 2007.*
- (138) Hajri, A.; Metzger, E.; Vallat, F.; Coffy, S.; Flatter, E.; Evrard, S.; Marescaux, J.; Aprahamian, M. *British Journal of Cancer* **1998**, 78, 841-849.
- (139) Jenkins, D. C.; Charles, I. G.; Thomsen, L. L.; Moss, D. W.; Holmes, L. S.; Baylis, S. A.; Rhodes, P.; Westmore, K.; Emson, P. C.; Moncada, S. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1995**, 92, 4392-4396.
- (140) Queiroz, S. L.; Batista, A. A. *Quimica Nova* **1999**, 22, 584-590.
- (141) Iller, R. K. *The Chemistry of Silica*, Wiley, New York, 1979.

- (142) Jal, P. K.; Patel, S.; Mishra, B. *Talanta* **2004**, 62, 1005-1028.
- (143) Sales, J. A. A.; Faria, F. P.; Prado, A. G. S.; Airoidi, C. *Polyhedron* **2004**, 23, 719-725.
- (144) Jacques, R. A.; Bernardi, R.; Caovila, M.; Lima, E. C.; Pavan, F. A.; Vaghetti, J. C. P.; Airoidi, C. *Separation Science and Technology* **2007**, 42, 591-609.
- (145) Moreira, J. C.; Gushikem, Y. *Analytica Chimica Acta* **1985**, 176, 263-267.
- (146) Dias, N. L.; Polito, W. L.; Gushikem, Y. *Talanta* **1995**, 42, 1031-1036.
- (147) Jaroniec, C. P.; Gilpin, R. K.; Jaroniec, M. *Journal of Physical Chemistry B* **1997**, 101, 6861-6866.
- (148) Espinola, J. G. P.; Arakaki, L. N. H.; de Oliveira, S. F.; da Fonseca, M. G.; Campos, J. A. A.; Airoidi, C. *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects* **2003**, 221, 101-108.
- (149) Lan, C. R.; Yang, M. H. *Analytica Chimica Acta* **1994**, 287, 111-117.
- (150) Doro, F. G.; Smith, J. R. L.; Ferreira, A. G.; Assis, M. D. *Journal of Molecular Catalysis A-Chemical* **2000**, 164, 97-108.
- (151) Cooke, P. R.; Gilmartin, C.; Gray, G. W.; Smith, J. R. L. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2* **1995**, 1573-1578.
- (152) Brule, E.; de Miguel, Y. R. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2006**, 4, 599-609.
- (153) Gushikem, Y.; Peixoto, C. R. M.; Rodrigues, U. P.; Kubota, L. T.; Stadler, E. *Journal of Colloid and Interface Science* **1996**, 184, 236-240.
- (154) do Carmo, D. R.; Rodrigues, U. P.; Gushikem, Y.; Franco, D. W. *Polyhedron* **2000**, 19, 2277-2282.
- (155) Codognoto, L. C.; Zanichelli, P. G.; Sernaglia, R. L. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2005**, 16, 620-625.
- (156) Zanichelli, P. G.; Sernaglia, R. L.; Franco, D. W. *Langmuir* **2006**, 22, 203-208.
- (157) Neiva, S. M. C.; Santos, J. A. V.; Moreira, J. C.; Gushikem, Y.; Vargas, H.; Franco, D. W. *Langmuir* **1993**, 9, 2982-2985.
- (158) Carlos, R. M.; Ferro, A. A.; Silva, H. A. S.; Gomes, M. G.; Borges, S. S. S.; Ford, P. C.; Tfouni, E.; Franco, D. W. *Inorganica Chimica Acta* **2004**, 357, 1381-1388.
- (159) Zanichelli, P. G.; Estrela, H. F. G.; Spadari-Bratfisch, R. C.; Grassi-Kassisse, D. M.; Franco, D. W. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry* **2007**, 16, 189-196.
- (160) Cottrell, J. E.; Illner, P.; Kittay, M. J.; Steele, J. M.; Lowenstein, J.; Turndorf, H. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **1980**, 27, 32-36.

- (161) Silva, J. J. N., Osakabe, A. L., Pavanelli, W. R., Silva, J. S., and Franco, D. W. In vitro and in vivo antiproliferative and trypanocidal activities of ruthenium NO donors. *British Journal of Pharmacology* doi:10.1038/sj.bjp.0707363. 2007.
- (162) Ferreira, K. Q.; Schneider, J. F.; Nascente, P. A. P.; Rodrigues, U. P.; Tfouni, E. *Journal of Colloid and Interface Science* **2006**, 300, 543-552.
- (163) Bordini, J.; Ford, P. C.; Tfouni, E. *Chemical Communications* **2005**, 4169-4171.
- (164) Mitchell-Koch, J. T.; Reed, T. M.; Borovik, A. S. *Angewandte Chemie-International Edition* **2004**, 43, 2806-2809.
- (165) Allen, A. D.; Senoff, C. V. *Canadian Journal of Chemistry* **1967**, 45, 1337-&.
- (166) Vogt, L. H.; Katz, J. L.; Wiberley, S. E. *Inorganic Chemistry* **1965**, 4, 1157-&.
- (167) Silva, H. A. D.; McGarvey, B. R.; Santos, R. H. D.; Bertotti, M.; Mori, V.; Franco, D. W. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne de Chimie* **2001**, 79, 679-687.
- (168) Jones, J. *Amino Acid and Peptide Synthesis*, Oxford University Press, 1997.
- (169) Malouf, M. G. *Ph.D. Thesis*, University of California, Santa Barbara, C.A, 1977.
- (170) Larsen, R. P.; Ross, L. E. *Analytical Chemistry* **1959**, 31, 176-178.
- (171) Woodhead, J. L.; Fletcher, J. M. *Journal of the Chemical Society* **1961**, 5039-&.
- (172) Kudo, S.; Bourassa, J. L.; Boggs, S. E.; Sato, Y.; Ford, P. C. *Analytical Biochemistry* **1997**, 247, 193-202.
- (173) Braunauer, S.; Emmet, P.; Teller, E. *Journal of the American Chemical Society* **1938**, 60, 309.
- (174) Duran, A.; Serna, C.; Fornes, V.; Navarro, J. M. F. *Journal of Non-Crystalline Solids* **1986**, 82, 69-77.
- (175) Silverstein, R. M., Bassler, G. C, and Morrill, T. C. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 5th Edition, John Wiley & Sons,
- (176) Denofre, S.; Gushikem, Y.; Decastro, S. C.; Kawano, Y. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions* **1993**, 89, 1057-1061.
- (177) Isied, S.; Taube, H. *Inorganic Chemistry* **1974**, 13, 1545-1551.
- (178) Brown, G. M.; Sutton, J. E.; Taube, H. *Journal of the American Chemical Society* **1978**, 100, 2767-2774.
- (179) Isied, S. S.; Taube, H. *Journal of the American Chemical Society* **1973**, 95, 8198-8200.

- (180) Ford, P.; Rudd, D. F. P.; Gaunder, R.; Taube, H. *Journal of the American Chemical Society* **1968**, *90*, 1187-&.
- (181) Matsubara, T.; Ford, P. C. *Inorganic Chemistry* **1976**, *15*, 1107-1110.
- (182) Silva, H. A. S.; Carlos, R. M.; Camargo, A. J.; Picchi, C. M. C.; Santos, R. H. D.; McGarvey, B. R.; Franco, D. W. *Inorganica Chimica Acta* **2004**, *357*, 3147-3154.
- (183) Isied, S. S.; Taube, H. *Inorganic Chemistry* **1976**, *15*, 3070-3075.
- (184) Bento, M. L.; Tfouni, E. *Inorganic Chemistry* **1988**, *27*, 3410-3413.
- (185) Etienne, M.; Walcarius, A. *Talanta* **2003**, *59*, 1173-1188.
- (186) Hench, L. L.; West, J. K. *Chemical Reviews* **1990**, *90*, 33-72.
- (187) Brinker, C. J.; Scherrer, G. W. in: *Sol-Gel Science, The Physics and Chemistry of Sol Gel Processing*, Academic Press: San Diego **1990**.
- (188) Schmidt, H. *Journal of Non-Crystalline Solids* **1988**, *100*, 51-64.
- (189) Deshpande, A. V.; Kumar, U. *Journal of Non-Crystalline Solids* **2002**, *306*, 149-159.
- (190) Oh, E. O.; Gupta, R. K.; Whang, C. M. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **2003**, *28*, 279-288.
- (191) Murphy, E. F.; Schmid, L.; Burgi, T.; Maciejewski, M.; Baiker, A.; Gunther, D.; Schneider, M. *Chemistry of Materials* **2001**, *13*, 1296-1304.
- (192) Tripathi, V. S.; Kandimalla, V. B.; Ju, H. X. *Sensors and Actuators B-Chemical* **2006**, *114*, 1071-1082.
- (193) Avnir, D.; Coradin, T.; Lev, O.; Livage, J. *Journal of Materials Chemistry* **2006**, *16*, 1013-1030.
- (194) Avnir, D.; Levy, D.; Reisfeld, R. *Journal of Physical Chemistry* **1984**, *88*, 5956-5959.
- (195) Wen, J. Y.; Wilkes, G. L. *Chemistry of Materials* **1996**, *8*, 1667-1681.
- (196) Clavier, C. W.; Rodman, D. L.; Sinski, J. F.; Allain, L. R.; Im, H. J.; Yang, Y.; Clark, J. C.; Xue, Z. L. *Journal of Materials Chemistry* **2005**, *15*, 2356-2361.
- (197) Mitzi, D. B. *Chemistry of Materials* **2001**, *13*, 3283-3298.
- (198) Jose, N. M.; Prado, L. A. S. D. *Quimica Nova* **2005**, *28*, 281-288.
- (199) Judeinstein, P.; Sanchez, C. *Journal of Materials Chemistry* **1996**, *6*, 511-525.
- (200) Hu, Y.; Chung, Y. J.; Mackenzie, J. D. *Journal of Materials Science* **1993**, *28*, 6549-6554.
- (201) Mark, J. E. *Accounts of Chemical Research* **2004**, *37*, 946-953.

- (202) Pena-Alonso, R.; Rubio, F.; Rubio, J. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **2005**, *36*, 77-85.
- (203) Mackenzie, J. D.; Chung, Y. J.; Hu, Y. *Journal of Non-Crystalline Solids* **1992**, *147*, 271-279.
- (204) Lulicucci, R.; Taylor, C.; Hollis, W. K. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2006**, *44*, 375-384.
- (205) Velasco, M. J.; Rubio, J.; Oteo, J. L. *Boletin de la Sociedad Espanola de Ceramica y Vidrio* **2001**, *40*, 37-42.
- (206) Patwardhan, S. V.; Taori, V. P.; Hassan, M.; Agashe, N. R.; Franklin, J. E.; Beaucage, G.; Mark, J. E.; Clarson, S. J. *European Polymer Journal* **2006**, *42*, 167-178.
- (207) Ulk, J.; Bullock, S.; Johnston, E.; Myers, S. A.; Merwin, L.; Wynne, K. J. *Macromolecules* **2000**, *33*, 8791-8801.
- (208) Collinson, M. M. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **1999**, *29*, 289-311.
- (209) Jeronimo, P. C. A.; Araujo, A. N.; Montenegro, M. C. B. S. *Talanta* **2007**, *72*, 13-27.
- (210) Tsuru, K.; Hayakawa, S.; Osaka, A. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **2004**, *32*, 201-205.
- (211) Tang, H. Y.; Wang, A. F.; Liang, X. M.; Cao, T.; Salley, S. O.; McAllister, J. P.; Ng, K. Y. S. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* **2006**, *51*, 16-24.
- (212) Uhlmann, D. R.; Teowee, G. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **1998**, *13*, 153-162.
- (213) Falaize, S.; Radin, S.; Ducheyne, P. *Journal of the American Ceramic Society* **1999**, *82*, 969-976.
- (214) Padilla, S.; Sanchez-Salcedo, S.; Vallet-Regi, M. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2005**, *75A*, 63-72.
- (215) Berthold, A.; Haibel, A.; Brandes, N.; Kroh, L.; Gross, U.; Uharek, L.; Schubert, H. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* **2007**, *18*, 1333-1338.
- (216) Smitha, S.; Shajesh, P.; Mukundan, P.; Nair, T. D. R.; Warriar, K. G. K. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2007**, *55*, 38-43.
- (217) Gallardo, J.; Galliano, P.; Duran, A. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **2001**, *21*, 65-74.
- (218) Tiwari, S. K.; Mishra, T.; Gunjan, M. K.; Bhattacharyya, A. S.; Singh, T. B.; Singh, R. *Surface & Coatings Technology* **2007**, *201*, 7582-7588.

- (219) Ahola, M.; Korteso, P.; Kangasniemi, I.; Kiesvaara, J.; Yli-Urpo, A. *International Journal of Pharmaceutics* **2000**, *195*, 219-227.
- (220) Korteso, P.; Ahola, M.; Karlsson, S.; Kangasniemi, I.; Yli-Urpo, A.; Kiesvaara, J. *Biomaterials* **2000**, *21*, 193-198.
- (221) Korteso, P.; Ahola, M.; Karlsson, S.; Kangasniemi, I.; Kiesvaara, J.; Yli-Urpo, A. *Journal of Biomedical Materials Research* **1999**, *44*, 162-167.
- (222) Hench, L. L. *Journal of the American Ceramic Society* **1991**, *74*, 1487-1510.
- (223) Hanawa, T. *Science and Technology of Advanced Materials* **2002**, *3*, 289-295.
- (224) Fini, M.; Aldini, N. N.; Torricelli, P.; Glavaresi, G.; Borsari, V.; Lenger, H.; Bernauer, J.; Glardino, R.; Chiesa, R.; Cigada, A. *Biomaterials* **2003**, *24*, 4929-4939.
- (225) Okazaki, Y.; Gotoh, E. *Biomaterials* **2005**, *26*, 11-21.
- (226) Duran, A.; Conde, A.; Coedo, A. G.; Dorado, T.; Garcia, C.; Cere, S. *Journal of Materials Chemistry* **2004**, *14*, 2282-2290.
- (227) Hum, O. S.; Neumann, A. W.; Zingg, W. *Thrombosis Research* **1975**, *7*, 461-470.
- (228) Neumann, A. W.; Hope, C. J.; Ward, C. A.; Herbert, M. A.; Dunn, G. W.; Zingg, W. *Journal of Biomedical Materials Research* **1975**, *9*, 127-142.
- (229) Thierry, B.; Tabrizian, M. *Journal of Endovascular Therapy* **2003**, *10*, 807-824.
- (230) Popma, J. J.; Califf, R. M.; Topol, E. J. *Circulation* **1991**, *84*, 1426-1436.
- (231) Fischman, D. L.; Leon, M. B.; Baim, D. S.; Schatz, R. A.; Savage, M. P.; Penn, I.; Detre, K.; Veltri, L.; Ricci, D.; Nobuyoshi, M.; Cleman, M.; Heuser, R.; Almond, D.; Teirstein, P. S.; Fish, R. D.; Colombo, A.; Brinker, J.; Moses, J.; Shalnovich, A.; Hirshfeld, J.; Bailey, S.; Ellis, S.; Rake, R.; Goldberg, S. *New England Journal of Medicine* **1994**, *331*, 496-501.
- (232) Joung, Y. K.; Kim, H. I.; Kim, S. S.; Chung, K. H.; Jang, Y. S.; Park, K. D. *Journal of Controlled Release* **2003**, *92*, 83-91.
- (233) Yabuta, T.; Tsuru, K.; Hayakawa, S.; Osaka, A. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **2004**, *31*, 273-276.
- (234) Mani, G.; Feldman, M. D.; Patel, D.; Agrawal, C. M. *Biomaterials* **2007**, *28*, 1689-1710.
- (235) Thierry, B.; Winnik, F. M.; Merhi, Y.; Silver, J.; Tabrizian, M. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1564-1571.
- (236) Sousa, J. E.; Costa, M. A.; Abizaid, A. C.; Rensing, B. J.; Abizaid, A. S.; Tanajura, L. F.; Kozuma, K.; van Langenhove, G.; Sousa, A. G. M. R.; Falotico, R.; Jaeger, J.; Popma, J. J.; Serruys, P. W. *Circulation* **2001**, *104*, 2007-2011.

- (237) Bamford, C. H.; Middleton, I. P.; Allamee, K. G.; Paprotny, J. J. *International Journal of Artificial Organs* **1992**, *15*, 71-78.
- (238) Wu, B.; Gerlitz, B.; Grinnell, B. W.; Meyerhoff, M. E. *Biomaterials* **2007**, *28*, 4047-4055.
- (239) Siney, L.; Lewis, M. J. *European Journal of Pharmacology* **1992**, *229*, 223-226.
- (240) Colman, R. W. *Cardiovascular Pathology* **1993**, *2*, S23-S31.
- (241) Vaughn, M. W.; Kuo, L.; Liao, J. C. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **1998**, *43*, H2163-H2176.
- (242) Chen, C. Y.; Hanson, S. R.; Keefer, L. K.; Saavedra, J. E.; Davies, K. M.; Hutsell, T. C.; Hughes, J. D.; Ku, D. N.; Lumsden, A. B. *Journal of Surgical Research* **1997**, *67*, 26-32.
- (243) Mowery, K. A.; Schoenfisch, M. H.; Saavedra, J. E.; Keefer, L. K.; Meyerhoff, M. E. *Biomaterials* **2000**, *21*, 9-21.
- (244) Oh, B. K.; Meyerhoff, M. E. *Biomaterials* **2004**, *25*, 283-293.
- (245) Zhang, H. P.; Annich, G. M.; Miskulin, J.; Stankiewicz, K.; Osterholzer, K.; Merz, S. I.; Bartlett, R. H.; Meyerhoff, M. E. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 5015-5024.
- (246) Marxer, S. M.; Rothrock, A. R.; Nablo, B. J.; Robbins, M. E.; Schoenfisch, M. H. *Chemistry of Materials* **2003**, *15*, 4193-4199.
- (247) Wheatley, P. S.; Butler, A. R.; Crane, M. S.; Fox, S.; Xiao, B.; Rossi, A. G.; Megson, I. L.; Morris, R. E. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 502-509.
- (248) Hetrick, E. M.; Schoenfisch, M. H. *Chemical Society Reviews* **2006**, *35*, 780-789.
- (249) Keefer, L. K. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **2003**, *43*, 585-607.
- (250) Keefer, L. K. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2005**, *5*, 625-634.
- (251) Reynolds, M. M.; Hrabie, J. A.; Oh, B. K.; Politis, J. K.; Citro, M. L.; Keefer, L. K.; Meyerhoff, M. E. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 987-994.
- (252) Reynolds, M. M.; Frost, M. C.; Meyerhoff, M. E. *Free Radical Biology and Medicine* **2004**, *37*, 926-936.
- (253) Zhou, Z. R.; Meyerhoff, M. E. *Biomaterials* **2005**, *26*, 6506-6517.
- (254) Nablo, B. J.; Schoenfisch, M. H. *Biomaterials* **2005**, *26*, 4405-4415.
- (255) Robbins, M. E.; Schoenfisch, M. H. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 6068-6069.

- (256) Hetrick, E. M.; Prichard, H. L.; Klitzman, B.; Schoenfisch, M. H. *Biomaterials* **2007**, 28, 4571-4580.
- (257) Nablo, B. J.; Prichard, H. L.; Butler, R. D.; Klitzman, B.; Schoenfisch, M. H. *Biomaterials* **2005**, 26, 6984-6990.
- (258) Patra, A. K.; Mascharak, P. K. *Inorganic Chemistry* **2003**, 42, 7363-7365.
- (259) American Society for Test and Materials (ASTM), West Conchohoken, PA, *D-1000 standart test methods for peel strength of adhesive bonds*.
- (260) Morshed, M. M.; McNamara, B. P.; Cameron, D. C.; Hashmi, M. S. J. *Surface & Coatings Technology* **2003**, 163, 541-545.
- (261) Tang, S.; Kwon, O. J.; Lu, N.; Choi, H. S. *Surface & Coatings Technology* **2005**, 195, 298-306.
- (262) Haidopoulos, M.; Turgeon, S.; Laroche, G.; Mantovani, D. *Surface & Coatings Technology* **2005**, 197, 278-287.
- (263) Zhang, F.; Kang, E. T.; Neoh, K. G.; Wang, P.; Tan, K. L. *Biomaterials* **2001**, 22, 1541-1548.
- (264) Haidopoulos, M.; Turgeon, S.; Sarra-Bournet, C.; Laroche, G.; Mantovani, D. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* **2006**, 17, 647-657.
- (265) Meth, S.; Sukenik, C. N. *Thin Solid Films* **2003**, 425, 49-58.
- (266) Hwang, D. K.; Moon, J. H.; Shul, Y. G.; Jung, K. T.; Kim, D. H.; Lee, D. W. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **2003**, 26, 783-787.
- (267) Metroke, T. L.; Kachurina, O.; Knobbe, E. T. *Progress in Organic Coatings* **2002**, 44, 295-305.
- (268) Feinberg, A. W.; Feigel, A.; Shevkoplyas, S. S.; Sheehy, S.; Whitesides, G. M.; Parker, K. K. *Science* **2007**, 317, 1366-1370.
- (269) Spiller, D.; Losi, P.; Briganti, E.; Sbrana, S.; Kull, S.; Martinelli, I.; Soldani, G. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* **2007**, 18, 1097-1104.
- (270) Conde, A.; Durán, A.; Damborenea, J. J. *Progress in Organic Coatings* **2003**, 46, 288-296.
- (271) Innocenzi, P.; Brusatin, G.; Guglielmi, M.; Bertani, R. *Chemistry of Materials* **1999**, 11, 1672-1679.
- (272) Douce, J.; Boilot, J.-P.; Biteau, J.; Scodellaro, L.; Jimenez, A. *Thin Solid Films* **2004**, 466, 114-122.
- (273) Bhushan, B. E. *Springer Handbook of Nanotechnology*, Springer **2003**, ch. 11-22.
- (274) Wen, J. A.; Mark, J. E. *Journal of Applied Polymer Science* **1995**, 58, 1135-1145.

- (275) Brennan, A. B.; Wilkes, G. L. *Polymer* **1991**, 32, 733-739.
- (276) Richards, R. E.; Thompson, H. W. *Journal of the Chemical Society* **1949**, 124-132.
- (277) Yim, H.; Kent, M. S.; Tallant, D. R.; Garcia, M. J.; Majewski, J. *Langmuir* **2005**, 21, 4382-4392.
- (278) Hoebbel, D.; Nacken, M.; Schmidt, H. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **1998**, 12, 169-179.
- (279) Philipp, G.; Schmidt, H. *Journal of Non-Crystalline Solids* **1986**, 82, 31-36.
- (280) Gi, X.; Koenig, J. L.; Ishida, H.; Wheeler, D. D. *Rubber Chemistry and Technology* **1991**, 64, 162-171.
- (281) Underhill, P. R.; Goring, G.; DuQuesnay, D. L. *International Journal of Adhesion and Adhesives* **1998**, 18, 307-311.
- (282) Bronstein, L. M.; Karlinsey, R. L.; Stein, B.; Zwanziger, J. W. *Solid State Ionics* **2005**, 176, 559-570.
- (283) Templin, M.; Wiesner, U.; Spiess, H. W. *Advanced Materials* **1997**, 9, 814-&.
- (284) Bronstein, L. M.; Karlinsey, R. L.; Stein, B.; Yi, Z.; Carini, J.; Zwanziger, J. W. *Chemistry of Materials* **2006**, 18, 708-715.
- (285) Judeinstein, P.; Oliveira, P. W.; Krug, H.; Schmidt, H. *Advanced Materials for Optics and Electronics* **1997**, 7, 123-133.
- (286) Julian, B.; Gervais, C.; Cordoncillo, E.; Escribano, P.; Babonneau, F.; Sanchez, C. *Chemistry of Materials* **2003**, 15, 3026-3034.
- (287) Peeters, M. P. J.; Wakelkamp, W. J. J.; Kentgens, A. P. M. *Journal of Non-Crystalline Solids* **1995**, 189, 77-89.
- (288) Babonneau, F. *New Journal of Chemistry* **1994**, 18, 1065-1071.
- (289) Komori, Y.; Nakashima, H.; Hayashi, S.; Sugahara, Y. *Journal of Non-Crystalline Solids* **2005**, 351, 97-103.
- (290) Engelhardt, G. and Michel, D. *High-Resolution Solid-State NMR of Silicates and Zeolites*, G. Engelhardt Editor, John Wiley & Sons, Chichester, **1987**
- (291) Garbassi, F., Morra, M., and Occhiello, E. *Polymer Surfaces - From Physics to Technology*. Chichester, John Wiley & Sons. **1994**.
- (292) American Society for Test and Materials (ASTM), West Conchohoken, PA, *D-3959-02 cross cut tape test for adhesion*.
- (293) Abe, Y.; Kagayama, K.; Takamura, N.; Gunji, T.; Yoshihara, T.; Takahashi, N. *Journal of Non-Crystalline Solids* **2000**, 261, 39-51.

- (294) Latella, B. A.; Ignat, M.; Barbe, C. J.; Cassidy, D. J.; Bartlett, J. R. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **2003**, 26, 765-770.
- (295) Spirkova, M.; Brus, J.; Hlavata, D.; Kamisova, H.; Matejka, L.; Strachota, A. *Journal of Applied Polymer Science* **2004**, 92, 937-950.
- (296) Dave, B. C.; Hu, X. K.; Devaraj, Y.; Dhali, S. K. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **2004**, 32, 143-147.
- (297) Tsai, M. H.; Ko, C. J. *Surface & Coatings Technology* **2006**, 201, 4367-4371.
- (298) McCarthy, D. W.; Mark, J. E.; Schaefer, D. W. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics* **1998**, 36, 1167-1189.
- (299) Carelli, V.; Dicolo, G.; Guerrini, C.; Nannipieri, E. *International Journal of Pharmaceutics* **1989**, 50, 181-188.
- (300) Sittel, C.; Thumfart, W. F.; Pototschnig, C.; Wittekindt, C.; Eckel, H. E. *Journal of Biomedical Materials Research* **2000**, 53, 646-650.
- (301) Ceyhan, T.; Tatlier, M.; Akcakaya, H. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* **2007**, 18, 1557-1562.
- (302) Chang, J. S.; Chang, K. L. B.; Hwang, D. F.; Kong, Z. L. *Environmental Science & Technology* **2007**, 41, 2064-2068.