# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

Felipe de Santis Gonçalves

Revisitando a redução de nitrosilo complexos de tetraminas de rutênio(II)

### UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

## Revisitando a redução de nitrosilo complexos de tetraminas de rutênio(II)

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em ciências.

Área de Concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Daniel Rodrigues Cardoso

Felipe de Santis Gonçalves

São Carlos Agosto de 2019

#### **AGRADECIMENTOS**

À minha família, Dercy, Silvio e Isabel, pelo apoio e incentivo;

Ao Antonio Carlos Roveda Júnior, pela ajuda sempre bem-vinda na minha vida dentro e fora do laboratório;

Ao Lucyano J. A. Macedo, pela amizade e pelo auxílio com os experimentos de eletroquímica;

Ao Daniel Rodrigues Cardoso, pela orientação, paciência e oportunidades trazidas nesses anos de convivência;

Aos meus amigos Carlos, Henrique, Fernando, Thiago e Pedro, pela boa convivência tanto dentro quanto fora do laboratório;

À Jennifer, pela amizade e também pela disposição dentro do laboratório;

Ao Grupo, composto pelo pessoal dos laboratórios 02, 50 e 117, pelo ambiente sempre amigável;

Ao pessoal da turma de Química de Coordenação (I)/2018, por me aturar nas minhas primeiras experiências em ensinar;

Ao CNPq, pela bolsa de mestrado concedida.

#### **RESUMO**

Complexos de tetraminas de rutênio(II) de fórmula geral trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> (onde L = espécies de P(III) e N-heterocíclicos) foram extensivamente estudados como doadores controlados de óxido nítrico. A escolha dos íons complexos trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> (onde L = espécies de P(III) e N-heterocíclicos) como agentes doadores de óxido nítrico (NO) em meio biológico é decorrente da baixa toxicidade in vivo, por serem solúveis em meio aquoso, além de apresentarem elevada estabilidade frente a oxidação pelo O2 presente no ar. É reconhecido na literatura que a labilização do óxido nítrico nestes complexos ocorre após a redução por 1-elétron do íon complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> levando a formação quantitativa do aqua-complexo trans-[Ru(H<sub>2</sub>O)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>2+</sup> e do NO em solução aquosa. No entanto, quando a redução dos complexos trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> foi investigada por espectroscopia no infravermelho in situ, um diferente comportamento químico é evidenciado, o que nos levou a revisitar o mecanismo de redução eletroquímica de nitrosilo complexos em tetraminas de rutênio(II). O presente trabalho investiga a química redox por espectroeletroquímica de FTIR in situ dos nitrosilo complexos trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup>, onde L = isonicotinamida, piridina, ou NH<sub>3</sub>, em solução aquosa. É observado, pela primeira vez, a labilização competitiva do ligante N-heterocíclico da esfera de coordenação após redução de 1-elétron do nitrosilo complexo, levando a formação da espécie NO e dos aquacomplexos trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> e trans-[Ru(H<sub>2</sub>O)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>2+</sup> em pH 7,4. O aquacomplexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> é subsequentemente reduzido no meio (-0,40 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>) resultando na labilização de NO e formação do aqua-complexo trans- $[Ru(H_2O)_2(NH_3)_4]^{2+}$  como produto final em meio aquoso com pH = 7,4. Não é observada a labilização do ligante trans posicionado ao NO<sup>+</sup> em tetraminas de rutênio(II) após redução por 1-elétron quando  $L = NH_3$ .

#### **ABSTRACT**

Ruthenium(II) complexes tetraamine with general formula trans- $[Ru(NO)(NH_3)_4(L)]^{3+}$  (where L = P(III) and N-heterocycles) were extensively studied as controlled NO donors. The choice for these ion complexes, trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup>, (where L = P(III) and N-heterocycles) as nitric oxide (NO) donors in biological media is due to their low toxicity in vivo, high solubility in aqueous solution, and their high stability against air oxidation. It is recognized in the literature that labilization of nitric oxide in these complexes occurs after a one-electron reduction of the complex ion trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup>, leading to a quantitative formation of the aquo-complex trans-[Ru(H<sub>2</sub>O)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>2+</sup> and NO in aqueous solution. Although, when the reduction of trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> complexes was investigated by *in situ* infrared spectroscopy, a different chemical behavior is observed, which led us to revisit the mechanism of electrochemical reduction of ruthenium(II) tetraamine nitrosyl complexes. The present work investigates the redox chemistry by FTIR spectroelectrochemistry in situ of nitrosyl complexes trans- $[Ru(NO)(NH_3)_4(L)]^{3+}$ , where L = isonicotinamide, pyridine or NH<sub>3</sub>, in aqueous solution. For the first time, it is observed a competitive labilization of the N-heterocyclic ligand from the coordination sphere upon one-electron reduction of the nitrosyl complex, leading to the formation of NO and the aquo-complex trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> and trans- $[Ru(H_2O)(NH_3)_4(L)]^{2+}$  in pH = 7.4. The aquo complex trans- $[Ru(NO)(NH_3)_4(OH)]^{2+}$ is subsequently reduced in solution (-0.40 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>) resulting in NO labilization and formation of the aquo complex trans-[Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sup>2+</sup> as an end-product in aqueous solution with pH = 7.4. It is not observed the labilization of the ligand trans positioned to  $NO^+$  in the ruthenium(II) tetraamine complex upon one-electron reduction when  $L = NH_3$ .

#### LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do complexo nitroprussiato
Figura 2. Exemplo de tetraminas de rutênio contendo o ligante NO+ coordenado trans a N-
heterocíclicos. No caso, isonicotinamida (à esquerda) e piridina (à direita)
Figura 3. À esquerda, diagrama de energia simplificado para os orbitais moleculares de
fronteira do íon nitrosônio. À direita, representação dos orbitais recorrentes das interações
sigma e π da molécula de NO•3
Figura 4. Representação simplificada da interação sigma entre os centros NO→Ru e
retrodoação Ru→NO. Setas indicam sentido do deslocamento de densidade eletrônica4
Figura 5. Representação simplificada da interação $\pi$ entre os centros $Ru^{II}$ - $NO^+$ e $Ru^{II}$ - $NO^-$
Setas indicam sentido do deslocamento de densidade eletrônica
Figura 6. Rota sintética para obtenção dos nitrosilo complexos trans-[Ru(NO)(NH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> (L)] <sup>3+</sup>
(L = isn ou py)6
Figura 7. Representação da célula utilizada nos experimentos de espectroeletroquímica 8
Figura 8. Microscopia multiplex no infravermelho do filme de amido contendo o complexo
RuNOisn incorporado. (a) Imagem ótica da região limite do filme. (b) Imagem química
referente à integração da região entre 1915-1945 cm <sup>-1</sup> . (c) Espectro no infravermelho das três
regiões distintas do filme demarcadas na figura 8a. (d) Ampliação da região demonstrando o
sinal atribuído ao ligante NO <sup>+</sup> coordenado
Figura 9. Espectro da diferença na região do infravermelho do filme de amido com o íon
complexo RuNOisn incorporado. Solução utilizada: HTFA pH 2,0. A variação no espectro
foi acompanhada pelo tempo com passos de 30 segundos. Potencial aplicado: -2,5 V; T = 20 $\pm$
4 °C
Figura 10. Espectro da diferença na região do infravermelho do filme de amido com o íon
complexo RuNOisn incorporado. Solução utilizada: tampão fosfato pH 7,4. A variação no
espectro foi acompanhada pelo tempo, com passos de 30 segundos. Potencial aplicado: -2,5 V
$T = 20 \pm 4  ^{\circ}C.$ 13
Figura 11. Espectroeletroquímica do íon complexo (A) RuNOisn e (B) RuNOpy no pH 7,2;
$C_{Ru} = 5x10^{-3} \text{ mol } L^{-1}; T = 20 \pm 4 \text{ °C}.$ Potenciais exibidos utilizam como referência eletrodo de
Ag/AgCl <sub>sat</sub> . Gráfico inserido representa potencial aplicado no qual não há variação no
espectro. Passos de 50 mV. Linha de base deslocada para melhor clareza

Figura 12. Espectroeletroquímica do RuNOpy em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol
$L^{1};\mu$ = 0,262 mol $L^{1}$ preparado em D2O. $C_{\text{Ru}}$ = 5x10-3 mol $L^{1};T$ = 20 $\pm$ 4 °C. A variação no
espectro foi acompanhada pelo tempo, com passos de 30 segundos. Potencial exibido utiliza
como referência eletrodo de Ag/AgCl <sub>sat</sub> . Gráfico inserido representa potencial aplicado no
qual não há variação no espectro
Figura 13. Espectro no infravermelho da região de 1650 a 1400 cm <sup>-1</sup> do complexo trans-
$[Ru(NO)(NH_4)(py)](PF_6)_3  registrado  em  pastilha  de  KBr,  representado  por  piridinal expression of the property of the prope$
coordenada, e de solução de piridina $0.3 \text{ mol } L^{1} \text{ em } D_2O$ , representado por piridina livre $17$
Figura 14. Espectro no infravermelho do complexo trans-[Ru(NO)(NH <sub>4</sub> )(H <sub>2</sub> O)](TFMS) <sub>3</sub>
solubilizado em diferentes soluções aquosas com variada concentração hidrogeniônica (C <sub>H+</sub> ).
<b>Figura 15</b> . Fórmula estrutural dos complexos <i>trans</i> -[Ru(NO)(NH <sub>4</sub> )(H <sub>2</sub> O)] <sup>3+</sup> e <i>trans</i> -[Ru(NO)(NH <sub>4</sub> )(OH)] <sup>2+</sup>
Figura 16. Espectroeletroquímica do RuNO(OH) em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1
mol L <sup>-1</sup> ; $\mu$ = 0,262 mol L <sup>-1</sup> ; $C_{Ru}$ = 5x10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> ; $T$ = 20 ± 4 °C. A variação no espectro foi
acompanhada pelo tempo, com passos de 17,5 segundos. Potencial exibido utiliza como
referência eletrodo de Ag/AgCl <sub>sat</sub> . Gráfico inserido representa potencial aplicado no qual não
há variação no espectro
Figura 17. Espectroeletroquímica do RuNOpy em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol
$L^{-1}$ ; $\mu$ = 0,262 mol $L^{-1}$ ; $C_{Ru}$ = 5x10 <sup>-3</sup> mol $L^{-1}$ ; $T$ = 20 $\pm$ 4 °C. A variação no espectro foi
acompanhada pelo tempo, com passos de 10 segundos. Potencial exibido utiliza como
referência eletrodo de Ag/AgCl <sub>sat</sub>
<b>Figura 18</b> . Variação da absorbância do sinal em 1607 cm <sup>-1</sup> com o tempo
Figura 19. Diagrama de energia simplificado dos orbitais moleculares de fronteira do
complexo <b>RuNOpy</b> , assumindo orbital d <sub>xy</sub> como não ligante24
<b>Figura 20</b> . Representação simplificada dos orbitais $\pi$ ligante e $\pi$ antiligante da piridina25
Figura 21. Diagrama de energia simplificado dos orbitais moleculares de fronteira do
complexo <b>RuNOpy</b> , assumindo interação d <sub>xy</sub> -π*py26
Figura 22. Espectroeletroquímica do RuNO(NH <sub>3</sub> ) em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1
mol L <sup>-1</sup> ; $\mu$ = 0,262 mol L <sup>-1</sup> ; $C_{Ru}$ = 5x10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> ; $T$ = 20 ± 4 °C. A variação no espectro foi
acompanhada pelo tempo, com passos de 14 segundos. Potencial exibido utiliza como
referência eletrodo de Ag/AgCl <sub>sat</sub> . Gráfico inserido representa potencial aplicado no qual não
há variação no espectro

$Figura\ 23.\ {\rm Espectro\ no\ infravermelho\ do\ } RuNO(NH_3)\ em\ solução\ de\ tampão\ fosfato$	pH 7,4;
0,1 mol L-1; $\mu$ = 0,262 mol L-1; $C_{Ru}$ = $5x10^{-3}$ mol L-1. Potencial exibido utiliza como re	eferência
eletrodo de Ag/AgCl <sub>sat</sub>	29
Figura 24. Diagrama de energia simplificado dos orbitais de fronteira do co	omplexo
RuNO(NH <sub>3</sub> )	30

#### LISTA DE ABREVIATURAS

RuNOisn – trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)]<sup>3+</sup> RuNOpy – trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup>

 $\begin{array}{lll} RuNO(H_2O) & - & \textit{trans-}[Ru(NO)(NH_3)_4(H_2O)]^{3+} \\ RuNO(OH) & - & \textit{trans-}[Ru(NO)(NH_3)_4(OH)]^{2+} \end{array}$ 

 $RuNO(NH_3)$  -  $[Ru(NO)(NH_3)_5]^{3+}$ 

py – piridina

py•- – piridina ânion radical

isn – isonicotinamida

NO – óxido nítrico

MCT – Detector de mercúrio, cádmio e telúrio

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RPE – Ressonância Paramagnética de Elétrons

HOMO - Orbital molecular ocupado de maior energia (Highest Occupied

*Molecular Orbital)* 

LUMO - Orbital molecular desocupado de menor energia (Lowest

*Unoccupied Molecular Orbital)* 

HTFA – Ácido trifluoroacético

HTFMS – Ácido trifluorometanosulfônico

FTIR – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

### SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	5
3. MATERIAIS E MÉTODOS	5
3.1. Reagentes e solventes	5
3.2. Síntese dos complexos	5
3.2.1. Síntese do complexo trans-[Ru(NO)(NH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> (H <sub>2</sub> O)](TFMS) <sub>3</sub>	6
3.2.2. Síntese do complexo [Ru(NO)(NH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub> ]Cl <sub>3</sub>	7
3.3. Preparo do filme de amido com o complexo RuNOisn incorporado	7
3.4. Instrumentação	8
3.4.1. Espectroeletroquímica no infravermelho	8
3.4.2. Eletrólise exaustiva	9
3.4.3. Microscopia multiplex no infravermelho	9
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4.1. Liberação controlada da espécie NO• a partir do filme de amido biodegradável	10
4.2 Espectroeletroquímica de nitrosilo complexos em solução aquosa	13
4.3. Proposta de liberação de piridina ânion radical pela redução do nitrosilo complexo	24
5. CONCLUSÕES	31
6. Referências	32
Anexo A	35
Anexo B	46
Anexo C	48
Anexo D	51
Anexo E	59

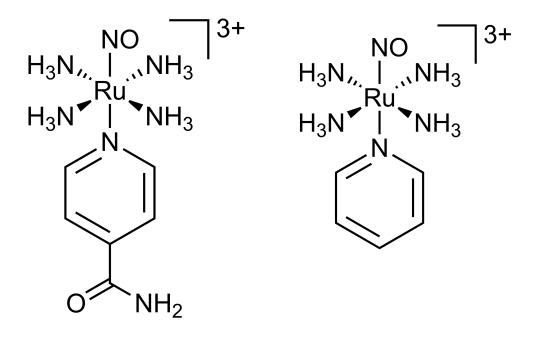
#### 1. INTRODUÇÃO

Estudos com relação ao oxido nítrico (NO•) mostram que essa molécula executa controle de funções biológicas no organismo¹. Desde que foi comprovado seu papel em funções como atividade imunológica, controle da pressão sanguínea, neurotransmissão e carcinogênese²-⁴, muito se foi destinado a estudos que envolvessem a liberação controlada dessa espécie. A presença de óxido nítrico no organismo pode ser tanto benéfica quanto prejudicial, dependendo da sua concentração e biodisponibilidade⁵. Sendo assim, tanto doadores quanto retiradores de NO foram desenvolvidos. Com relação à liberação controlada de óxido nítrico, uma das maneiras amplamente estudadas foi sua liberação pela redução de compostos de coordenação que continham o ligante nitrosônio (NO+) coordenado a centro metálicos6-10. Dentre esses compostos de coordenação, um dos primeiros a ser utilizado em tratamento terapêutico foi o íon complexo nitroprussiato, de fórmula [Fe(NO)(CN)5]²-, com a aplicação de vasodilatação¹¹1.

Figura 1. Fórmula estrutural do complexo nitroprussiato.

Dentre outros nitrosilo complexos, tetraminas de rutênio de fórmula geral *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> (como exemplo, L = espécies de P(III) e N-heterocíclicos) foram extensivamente estudadas com relação a liberação controlada de óxido nítrico, sendo que a escolha por esse sistema ocorre devido a propriedades como baixa toxicidade *in vivo*, por serem solúveis em meio aquoso, além de apresentarem elevada estabilidade frente a oxidação pelo O<sub>2</sub> presente no ar<sup>5</sup>. Além de propriedades de interesse biológico, essas tetraminas auxiliam no entendimento da química do NO pelo fato de apresentarem aminas no plano equatorial que se comportam como ligantes inocentes<sup>12</sup>. Sendo assim, o ligante *trans* posicionado é o maior responsável pela reatividade do ligante NO<sup>+ 5</sup> e o controle de sua reatividade é importante quando se trata da modulação de complexos para um alvo de interesse<sup>13</sup>.

Figura 2. Exemplo de tetraminas de rutênio contendo o ligante NO<sup>+</sup> coordenado *trans* a N-heterocíclicos. No caso, isonicotinamida (à esquerda) e piridina (à direita).



Fonte: Autoria própria

Esses nitrosilo complexos levam a liberação de NO• quando reduzidos, de acordo com as reações 1 e 2<sup>13</sup>:

$$trans$$
-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> + e<sup>-</sup>  $\rightarrow trans$ -[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>2+</sup> (1)  
 $trans$ -[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>2+</sup> + H<sub>2</sub>O  $\rightarrow trans$ -[Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)(L)]<sup>3+</sup> + NO $^{\bullet}$  (2)

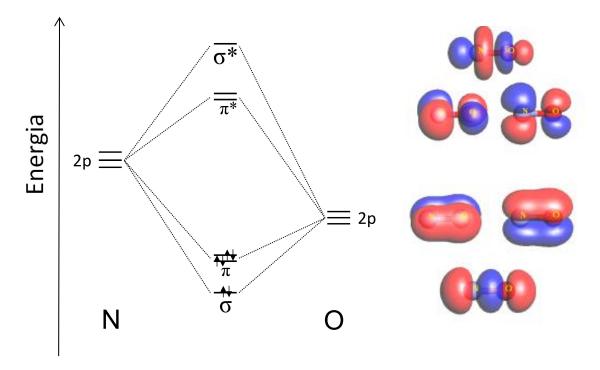
Estudos envolvendo o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>P(OEt)<sub>3</sub>]<sup>3+</sup> mostraram que esse composto pode levar à liberação controlada de NO• por redução química com íons de európio(II)<sup>14</sup> e também em meio biológico na presença de NADH mitocondrial<sup>15</sup>. No entanto, essas reações de redução podem levar à formação de produtos secundários, muito pouco explorados até então, sendo necessário, assim, um estudo mais aprofundado.

Essa classe de complexos foi muito estudada nos últimos anos, com a finalidade de entregar óxido nítrico de forma controlada<sup>16</sup>. A imobilização desses complexos em matrizes biocompatíveis tem sido de grande utilidade na questão de atingir um alvo específico<sup>17</sup>. Dentre diversos materiais entregadores de NO desenvolvidos, destacamos a utilização de filme de amido de mandioca, no qual o complexo *trans*-

[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)]<sup>3+</sup> foi incorporado<sup>18</sup>. A preferência pelo filme de amido se deve pelo fato de que esse tipo de polímero apresenta características de biodegradabilidade, além de apresentar baixa toxicidade e baixo custo<sup>18</sup>. Nesse trabalho, a liberação de óxido nítrico ocorre via fotoquímica, sendo possível acompanhar o consumo da espécie NO<sup>+</sup> coordenada após a incidência de luz.

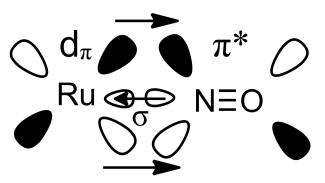
A ligação do nitrosônio ao centro metálico de Ru(II) se dá pela interação sigma NO $\rightarrow$ Ru além da retrodoação Ru $\rightarrow$ NO, pelo fato do ligante apresentar orbitais  $\pi^*$  vazios de energia e simetria favoráveis a interação com orbitais  $d_{\pi}$  populados do Ru(II).

Figura 3. À esquerda, diagrama de energia simplificado para os orbitais moleculares de fronteira do íon nitrosônio. À direita, representação dos orbitais recorrentes das interações sigma e  $\pi$  da molécula de NO $^{\bullet}$ .



Fonte: refs. 1,19

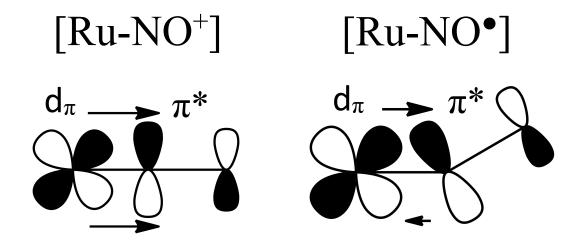
Figura 4. Representação simplificada da interação sigma entre os centros NO→Ru e retrodoação Ru→NO. Setas indicam sentido do deslocamento de densidade eletrônica.



Fonte: Autoria própria. ref.<sup>20</sup>

Em decorrência da elevada interação dos orbitais  $d_{\pi}$ - $\pi$ \*NO, a porção [RuNO] do complexo apresenta elevada linearidade, com ângulo de ligação RuNO próximo a 180°. No entanto, com a ocupação de um elétron no orbital  $\pi$ \* do ligante NO, a interação dos orbitais  $d_{\pi}$ - $\pi$ \*NO diminui, e a porção [RuNO] perde a linearidade, tendo ângulos de ligação próximos a 140°  $^{12}$ .

Figura 5. Representação simplificada da interação  $\pi$  entre os centros Ru<sup>II</sup>-NO<sup>+</sup> e Ru<sup>II</sup>-NO<sup>+</sup>. Setas indicam sentido do deslocamento de densidade eletrônica.



Fonte: Autoria própria. ref. 12

A perda da linearidade da ligação RuNO leva a diminuição da afinidade do ligante NO pelo centro metálico de Ru(II), levando a quebra da ligação Ru-NO. Com isso, há a labilização do ligante reduzido da esfera e coordenação. Como contraste, quando na forma de NO<sup>+</sup>, a afinidade pelo centro metálico de Ru(II) é tão elevada que o NO

apresenta a capacidade de labilizar o ligante *trans* posicionado a ele quando em solução aquosa com pH próximo do neutro<sup>21</sup>.

Diante da capacidade de nitrosilo complexos liberarem óxido, e sua facilidade de incorporação a materiais biodegradáveis, este trabalho teve como ideia inicial explorar a possibilidade de liberação de óxido nítrico de forma controlada, com a aplicação de potencial, a partir de filme biodegradável de amido de mandioca contendo o complexo **RuNOisn**. No entanto, resultados inesperados nos levaram revisitar o mecanismo de redução eletroquímica de nitrosilo complexos em solução aquosa.

#### 2. OBJETIVO

Estudar de forma mais aprofundada a reação de redução de nitrosilo complexos do tipo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> (em que L = isn, py, NH<sub>3</sub> ou OH<sup>-</sup>) via espectroeletroquímica de FTIR  $in \ situ$ .

#### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

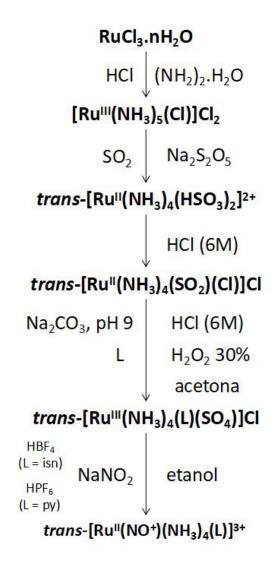
#### 3.1. Reagentes e solventes

Todos os reagentes utilizados foram adquiridos das empresas Merck, Sigma-Aldrich e Panreac. Os solventes etanol e acetona (grau HPLC) foram adquiridos das empresas Panreac e Honeywell, respectivamente, e foram utilizados sem purificação prévia. O tricloreto de rutênio(III) hidratado (RuCl<sub>3</sub> x nH<sub>2</sub>O, Sigma Aldrich, 40 - 49%) foi o precursor sintético dos complexos utilizados. Quanto aos gases, argônio 5.0; dióxido de enxofre 3.0 e óxido nítrico foram adquiridos da empresa White Martins. Anteriormente a cada experimento, soluções foram desaeradas com argônio 5.0.

#### 3.2. Síntese dos complexos

A rota sintética para a obtenção dos complexos trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> (L = isn ou py) foi realizada de acordo com procedimentos reportados na literatura<sup>22-24</sup>. As etapas estão resumidas na Figura 6.

Figura 6. Rota sintética para obtenção dos nitrosilo complexos trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> (L = isn ou py).



A caracterização dos nitrosilo complexos foi realizada pelas técnicas de espectroscopia de absorção no infravermelho e UV-Vis, Ressonância Magnética Nuclear (RMN), e estão de acordo com o reportado na literatura<sup>16,21</sup>

#### 3.2.1. Síntese do complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)](TFMS)<sub>3</sub>

O complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)](TFMS)<sub>3</sub> foi isolado a partir do trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)]<sup>3+</sup>. Para isso, 70 mg de **RuNOisn** foram solubilizados em 4 mL de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>. Essa solução foi mantida a 50 °C por 24 h. Em seguida, adiciona-se 1 mL de solução de ácido trifluorometanosulfônico (HTFMS) 5 mol L<sup>-1</sup>. A solução foi mantida refrigerada por 12h. Em seguida, essa

solução teve seu volume reduzido pelo uso de pressão reduzida, utilizando uma linha de Schlenk, até a formação de cristais de cor amarela, que por fim, foram filtrados e armazenados sob vácuo e ao abrigo da luz.

A caracterização do complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)](TFMS)<sub>3</sub> foi realizada pelas técnicas espectroscopia de absorção no UV-Vis e análise elementar, estando de acordo com o reportado na literatura<sup>25</sup>.

#### 3.2.2. Síntese do complexo [Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]Cl<sub>3</sub>

Em um balão de fundo redondo contendo 3 mL de água deionizada, são solubilizados 100 mg de [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]Cl<sub>3</sub>. Esse balão é conectado, via cânula de teflon, a um segundo balão de fundo redondo, contendo 5 mL de solução de HCl (Panreac) 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Sob atmosfera de argônio, borbulha-se óxido nítrico à solução de HCl. Então, a solução do balão com o complexo é transferida ao segundo balão. Deixa-se reagir por uma hora, mantendo o borbulhamento de óxido nítrico. O [Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]Cl<sub>3</sub> é precipitado pela adição de 20 mL de etanol gelado. O sólido é filtrado e armazenado sob vácuo e ao abrigo da luz.

A caracterização do complexo [Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]Cl<sub>3</sub> foi realizada pelas técnicas de espectroscopia de absorção no infravermelho e voltametria cíclica, estando de acordo com o reportado na literatura<sup>16</sup>.

#### 3.3. Preparo do filme de amido com o complexo RuNOisn incorporado

O procedimento para o preparo dos filmes de amido foi realizado baseado com o já reportado na literatura<sup>18</sup>, e consistiu em adicionar 75 mg de glicerol, 470 mg de amido modificado com trimetafosfato de sódio (STMP, Synth) e 7,0 mL de água destilada à um béquer. Essa solução foi aquecida até temperatura entre 75-80°C, em banho termostático, sob agitação constante. Com isso, obtêm-se um gel transparente, que é deixado para resfriar até temperatura ambiente. Ao fim desse processo, uma solução contendo 50 μmol do complexo **RuNOisn**, dissolvido em 7,0 mL de água deionizada, foi adicionada ao gel de amido. Essa solução final é mantida sob agitação por 5 minutos, e então é transferida para uma placa de Petri de acrílico com área de 28,3 cm². Para secagem do gel, essa placa foi mantida em uma estufa (T = 40 ± 2 °C) por 18 horas. Quando seco, o filme foi armazenado em dessecador com umidade controlada.

#### 3.4. Instrumentação

#### 3.4.1. Espectroeletroquímica no infravermelho

A configuração instrumental consistiu no acoplamento de uma célula eletroquímica de três eletrodos controlados por um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT128N a um espectrômetro de infravermelho Bruker Vertex 70v. Utilizou-se um disco de ouro devidamente polido como eletrodo de trabalho ao passo que um fio de platina e Ag/AgCl<sub>sat</sub> foram usados como eletrodo auxiliar e eletrodo de referência, respectivamente. A face do eletrodo de trabalho foi posicionada diretamente sobre uma janela de CaF<sub>2</sub> para a incidência do feixe de infravermelho e subsequente reflexão, a fim de se analisar as mudanças químicas que acontecem diretamente sob a influência de um sobre-potencial eletroquímico. A Figura 7 representa a célula eletroquímica utilizada durante o experimento.

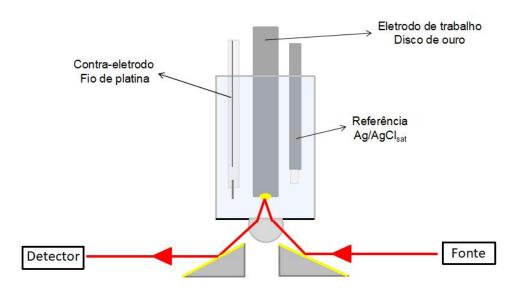


Figura 7. Representação da célula utilizada nos experimentos de espectroeletroquímica.

Fonte: Autoria Própria

Todos os experimentos de espectroeletroquímica foram realizados em solução de tampão fosfato. Quando preparado em solução de óxido de deutério ( $D_2O$ , Sigma-Aldrich, 99,9%), o valor de pH foi ajustado conforme descrito na literatura, sendo que pH = pH<sub>registrado</sub> + 0,4<sup>26</sup>. Os experimentos foram feitos utilizando-se 7,0 mL de solução do complexo **RuNOL** (L = isn, py, NH<sub>3</sub> ou OH<sup>-</sup>) ( $C_{Ru} = 5x10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ ). As medidas foram realizadas pela varredura de potencial de +0,25 V até -0,50 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>,

com passos de 50 mV. Os experimentos foram realizados a uma tempratura de  $20 \pm 4$  °C. Os espectros apresentados correspondem ao espectro da diferença ( $\Delta$ Absorção) utilizando-se como espectro de referência aquele obtido no potencial mais positivo, +0.25 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>, (potencial aplicado por um minuto) no qual nenhum processo eletroquímico ocorre com os complexos estudados. Foram acumulados ns = 32 interferogramas por espectro, utilizando-se um detector de HgCdTe (MCT), refrigerado com nitrogênio líquido (77 K), com o interferômetro trabalhando a 160 kHz, a uma resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup>.

#### 3.4.2. Eletrólise exaustiva

A configuração instrumental consistiu da utilização de uma célula eletroquímica de três eletrodos controlados por um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT204. Utilizou-se uma rede de ouro como eletrodo de trabalho, ao passo que um fio de platina e Ag/AgCl<sub>sat</sub> foram usados como eletrodo auxiliar e eletrodo de referência, respectivamente. A eletrólise exaustiva foi realizada em uma célula eletroquímica contendo  $5x10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> do complexo [Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]<sup>3+</sup> em tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup> e  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>. Após a aplicação de -0,35 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub> por uma hora, um espectro no infravermelho foi registrado.

#### 3.4.3. Microscopia multiplex no infravermelho

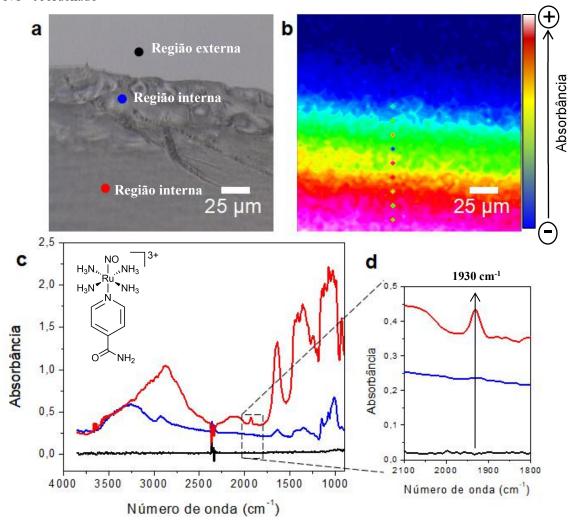
Utilizou-se um microscópio Hyperion 3000 acoplado a um espectrômetro de infravermelho Vertex 70v (Bruker). Este microscópio é equipado com um detector composto por um arranjo de fotodetectores no plano focal (FPA) com 64 × 64 elementos, possibilitando a coleta de espectros simultaneamente de 4096 regiões da amostra. As medidas foram realizadas no modo transmissão com ambas as lentes objetiva e condensadora de 15×, acumulando-se ns = 32 medidas por espectro a uma resolução de 4 cm<sup>-1</sup>. Os mapas químicos foram construídos pela distribuição matricial da área integrada sob cada sinal de absorção de interesse para se ter uma correlação com a imagem ótica da amostra. A amostra analisada foi referente ao filme de amido com o complexo **RuNOisn** incorporado à ele.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1. Liberação controlada da espécie NOº a partir do filme de amido biodegradável

Na Figura 8 são apresentados os resultados referentes à microscopia multiplex no infravermelho do filme de amido contendo o complexo **RuNOisn** incorporado à ele.

Figura 8. Microscopia multiplex no infravermelho do filme de amido contendo o complexo **RuNOisn** incorporado. (a) Imagem ótica da região limite do filme. (b) Imagem química referente à integração da região entre 1915-1945 cm<sup>-1</sup>. (c) Espectro no infravermelho das três regiões distintas do filme demarcadas na figura 8a. (d) Ampliação da região demonstrando o sinal atribuído ao ligante NO<sup>+</sup> coordenado



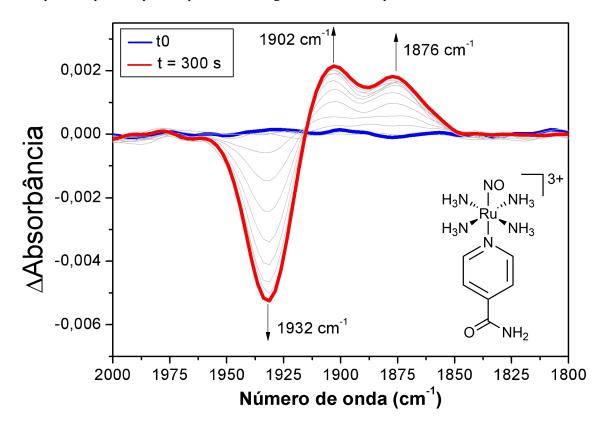
A figura 8a exibida acima foi retirada da borda do filme de amido. Os pontos escolhidos em preto, azul e vermelho são referentes às regiões fora do filme, logo na borda, e mais interna desse filme, respectivamente. O espectro de FTIR de cada uma dessas regiões é exibido na figura 8c. Observa-se que para o ponto mais interno no

filme (vermelho), mais intenso é o sinal do valor do estiramento em 1930 cm<sup>-1</sup>, atribuído ao estiramento v(NO) do ligante NO<sup>+</sup> coordenado ao centro metálico<sup>18</sup>.

A figura 8b é referente à integral da região no espectro entre 1915-1945 cm<sup>-1</sup>, delimitada pelo sinal do estiramento v(NO), sendo proporcional à quantidade de complexo **RuNOisn**. Nela, em azul, temos que a concentração da espécie **RuNOisn** é muito baixa ou zero, no caso da coloração azul escura. Conforme a coloração passa de verde, indo até rosa, maior é a intensidade do sinal do estiramento v(NO), sendo atribuído assim, uma maior concentração do complexo **RuNOisn**. Podemos ver que a concentração do complexo **RuNOisn** é uniforme ao longo do filme, apresentando maior acumulo de complexo conforme vamos para o centro do filme.

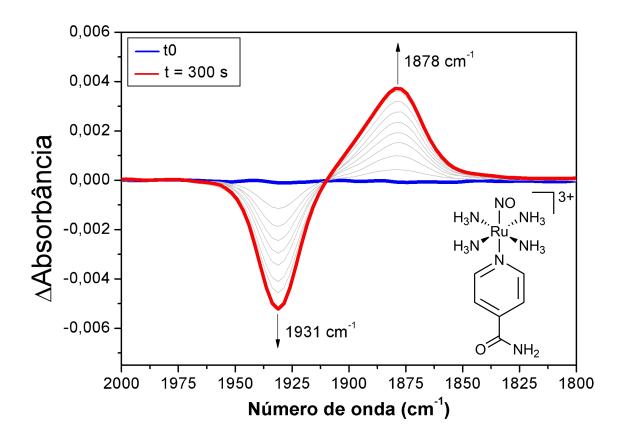
Em seguida, elaborou-se um estudo para avaliar a capacidade desse filme de liberar NO• via eletroquímica. Para tanto, o filme foi imobilizado em uma matriz condutora de forma que fosse provocada a passagem de corrente elétrica por ele. No entanto, ao aplicar-se potencial no sistema seco, nenhuma corrente elétrica era detectada. Para contornar esse problema, uma solução de ácido trifluoroacético (pH 2,0) foi preparada, na qual o filme foi submergido e fixado ainda úmido na matriz condutora. Com isso, passagem de corrente foi detectada, e com a aplicação potencial no sistema, observou-se a variação no espectro de absorção no infravermelho, como mostra a Figura 9.

Figura 9. Espectro da diferença na região do infravermelho do filme de amido com o íon complexo **RuNOisn** incorporado. Solução utilizada: HTFA pH 2,0. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo com passos de 30 segundos. Potencial aplicado: -2.5 V; T =  $20 \pm 4 \,^{\circ}\text{C}$ .



A banda centrada em 1932 cm<sup>-1</sup> é referente ao estiramento v(NO) da espécie NO<sup>+</sup> coordenada ao complexo **RuNOisn**<sup>16</sup>. Já a banda em 1876 cm<sup>-1</sup> foi atribuída ao estiramento de v(NO) da espécie NO<sup>•</sup> livre<sup>27</sup>. O comportamento de consumo da primeira e formação da segunda está de acordo com o que foi reportado na literatura<sup>13</sup> e apresentado nas equações (1) e (2). No entanto, observamos o surgimento da banda centrada em 1902 cm<sup>-1</sup>, até então não reportada na literatura para esse tipo de complexo. Em adição a isso, quando esse experimento foi realizado submergindo o filme em solução com pH 7,4, o seguinte resultado é obtido.

Figura 10. Espectro da diferença na região do infravermelho do filme de amido com o íon complexo **RuNOisn** incorporado. Solução utilizada: tampão fosfato pH 7,4. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo, com passos de 30 segundos. Potencial aplicado: -2,5 V;  $T = 20 \pm 4$  °C.

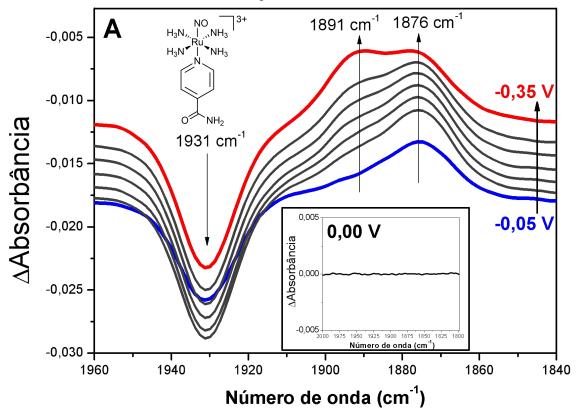


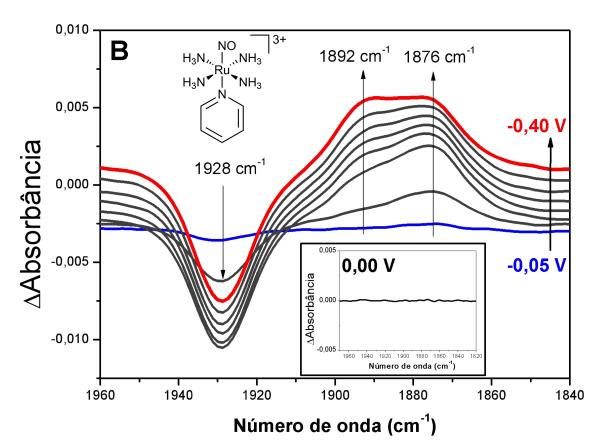
Dessa vez, não foi observado sinal em 1902 cm<sup>-1</sup>, mas apenas um estiramento 1878 cm<sup>-1</sup>. Pelo fato de termos formação de sinais dependentes do pH, e não explicados pela literatura para esses complexos, iniciou-se o estudo em solução de espectro eletroquímica de FTIR *in situ* com a finalidade de explicar o surgimento dessas bandas, e avaliar esse comportamento em outros íon complexos do tipo *trans*- $[Ru(NO)(NH_3)_4(L)]^{3+}$  (em que  $L = isn, py, NH_3$  ou  $OH^-$ ).

#### 4.2 Espectroeletroquímica de nitrosilo complexos em solução aquosa

O resultado obtido em solução via espectroeletroquímica de FTIR *in situ* no pH 7,2 para o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)]<sup>3+</sup> é apresentado a seguir. O mesmo experimento foi realizado com o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup>, no qual observou-se a mesma tendência no comportamento da espécie diante da redução eletroquímica em pH 7,2.

Figura 11. Espectroeletroquímica do íon complexo (A) **RuNOisn** e (B) **RuNOpy** no pH 7,2.  $C_{Ru} = 5x10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ ;  $T = 20 \pm 4$  °C. Potenciais exibidos utilizam como referência eletrodo de Ag/AgCl<sub>sat</sub>. Gráfico inserido representa potencial aplicado no qual não há variação no espectro. Passos de 50 mV. Linha de base deslocada para melhor clareza.





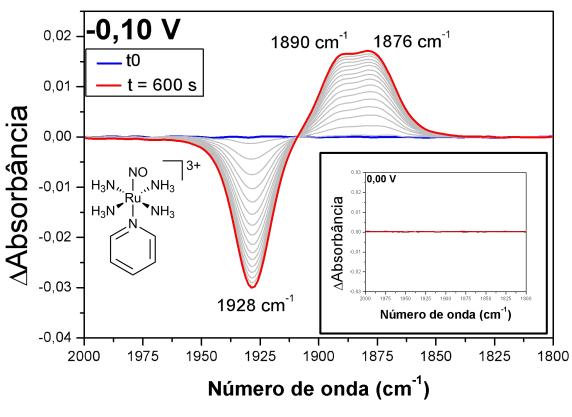
Nos gráficos apresentados nas Figuras 11a e 11b exibidos acima, observa-se:

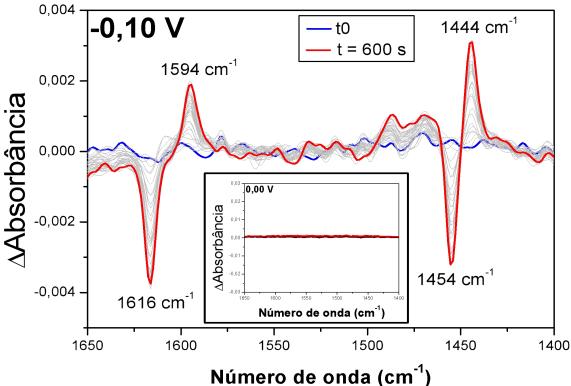
- i) Consumo de espécie com banda centrada na região de 1930 cm<sup>-1</sup>;
- ii) Formação de espécie com banda centrada na região de 1876 cm<sup>-1</sup>;
- iii) Formação de espécie com banda centrada na região de 1891 cm<sup>-1</sup>.

O sinal centrado na região de 1930 cm<sup>-1</sup> é atribuído ao v(NO) do NO<sup>+</sup> coordenado presente nos íons complexos **RuNOisn** e **RuNOpy**<sup>16</sup>. O sinal centrado em 1876 cm<sup>-1</sup> é atribuído ao estiramento do NO<sup>•</sup> livre<sup>26</sup>. O comportamento desses dois sinais é descrito na literatura pela redução do fragmento [RuNO<sup>+</sup>] para [RuNO<sup>•</sup>]<sup>13</sup>. O NO<sup>•</sup> coordenado apresenta então baixa afinidade pelo centro metálico, e é labilizado da esfera de coordenação, sendo substituído por uma molécula de água<sup>13</sup>. Com isso, observa-se o consumo do sinal referente ao v(NO) do NO<sup>+</sup> coordenado, e formação do sinal referente ao v(NO) da espécie NO<sup>•</sup> livre em 1876 cm<sup>-1 26</sup>. Entretanto, em solução aquosa, é observada a formação do sinalna região de 1890 cm<sup>-1</sup>.

No intuito de entender a formação da espécie referente ao sinal em 1890 cm<sup>-1</sup>, um experimento de espectroeletroquímica de FTIR *in situ*, acompanhado no tempo, foi realizado. Dessa vez, a solução de tampão fosfato foi preparada em meio de D<sub>2</sub>O, na qual o complexo **RuNOpy** foi solubilizado. A preferência por esse composto se deu por ele conter um ligante *trans* ao NO<sup>+</sup> estruturalmente mais simples, quando comparado ao **RuNOisn**. Nesse caso, foi possível acompanhar o comportamento da piridina ao reduzirmos o complexo com um elétron pela aplicação de potencial. Os demais potenciais analisados se encontram no Anexo A.

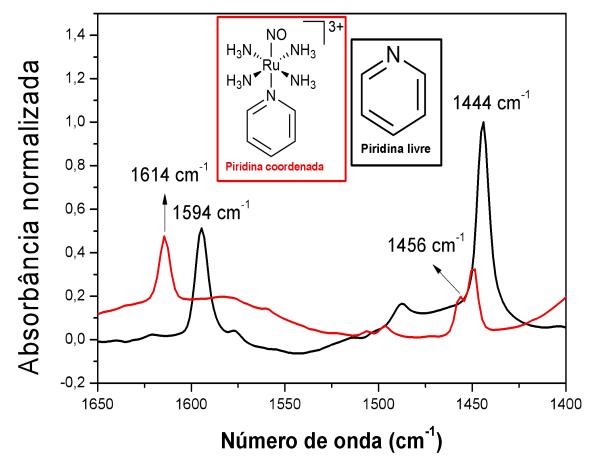
Figura 12. Espectroeletroquímica do **RuNOpy** em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol  $L^{-1}$ ;  $\mu = 0,262$  mol  $L^{-1}$  preparado em  $D_2O$ .  $C_{Ru} = 5x10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ ;  $T = 20 \pm 4$  °C. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo, com passos de 30 segundos. Potencial exibido utiliza como referência eletrodo de  $Ag/AgCl_{sat}$ . Gráfico inserido representa potencial aplicado no qual não há variação no espectro.





Para a redução eletroquímica do **RuNOpy** em pH 7,4 apresentada na Figura 12, observa-se formação das espécies com sinal centrando em 1890 cm<sup>-1</sup> e 1876 cm<sup>-1</sup>. Além disso, que esses sinais são acompanhados do consumo de piridina coordenada pelos sinais centrados em 1614 e 1456 cm<sup>-1</sup>, e formação de piridina livre, com sinais em 1594 e 1444 cm<sup>-1</sup>, conforme pode ser verificado na Figura 13 abaixo:

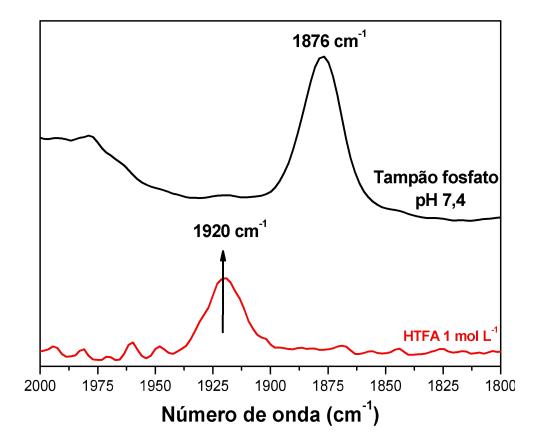
Figura 13. Espectro no infravermelho da região de 1650 a 1400 cm $^{-1}$  do complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>4</sub>)(py)](PF<sub>6</sub>)<sub>3</sub> registrado em pastilha de KBr, representado por piridina coordenada, e de solução de piridina 0,3 mol L $^{-1}$  em D<sub>2</sub>O, representado por piridina livre.



A saída do ligante piridina ainda pôde ser confirmada por ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H pelo surgimento de sinal de piridina livre quando o complexo é reduzido (Anexo E). Além disso, todas as espécies formadas pela redução do nitrosilo complexo não apresentaram sinal de ressonância paramagnética de elétrons (RPE) a 77 K. Com isso, duas reações deveriam estar acontecendo diante da redução do nitrosilo complexo **RuNOpy**. Uma de formação de NO• e outra de saída de piridina, levando possivelmente a formação do complexo **RuNO(H<sub>2</sub>O)**. Para elucidar tal proposta, o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sup>3+</sup> foi isolado, e o espectro no infravermelho na

região do NO<sup>+</sup> coordenado é apresentado a seguir, em diferentes soluções aquosas com variada concentração hidrogeniônica (C<sub>H+</sub>).

Figura 14. Espectro no infravermelho do complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)](TFMS)<sub>3</sub> solubilizado em diferentes soluções aquosas com variada concentração hidrogeniônica (C<sub>H+</sub>).



Com base no exposto, temos que o estiramento de NO<sup>+</sup> coordenado apresenta diferentes valores em diferentes pHs, devido as formas protonada e desprotonada da água *trans* posicionada. Na solução de tampão fosfato pH 7,4, temos o íon hidróxido coordenado *trans* ao NO<sup>+</sup>, que tem estiramento em 1876 cm<sup>-1</sup>. Em solução aquosa ácida (HTFA 1 mol L<sup>-1</sup>), tem-se água coordenada *trans* ao NO<sup>+</sup>, que apresenta estiramento em 1920 cm<sup>-1</sup>.

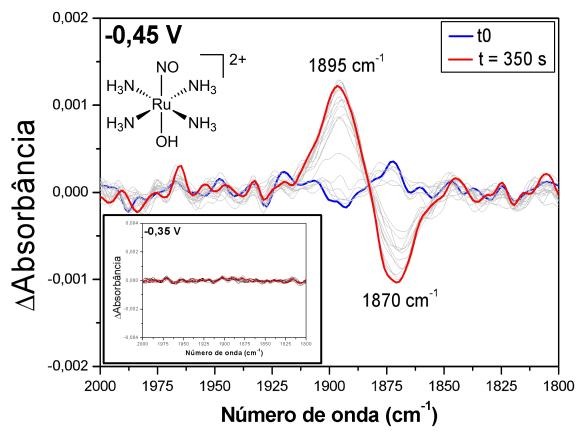
Figura 15. Fórmula estrutural dos complexos trans-[Ru(NO)(NH<sub>4</sub>)(H<sub>2</sub>O)]<sup>3+</sup> e trans-[Ru(NO)(NH<sub>4</sub>)(OH)]<sup>2+</sup>.

Fonte: Autoria própria.

A literatura reporta que no complexo sólido trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)]Cl<sub>3</sub>, o estiramento do NO<sup>+</sup> aparece em 1912 cm<sup>-1</sup> <sup>25</sup>, valor próximo ao obtido para o complexo em solução. No entanto, para o complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup>, há grande diferença no valor de estiramento reportado para o sólido, estando centrado em 1846 cm<sup>-1</sup> <sup>28</sup>. Ainda com relação a esse composto, há discrepância no valor de p $K_a$  reportado para a água coordenada, sendo que são reportados valores de p $K_a$  3,5; determinado por titulação potenciométrica<sup>25</sup>, e de p $K_a$  1,5; determinado por RMN de <sup>14</sup>N <sup>28</sup>. Para ambos os valores reportados, é seguro dizer que em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>, encontra-se o complexo com íon hidróxido coordenado trans ao NO<sup>+</sup>.

Diante disso, o experimento de espectroeletroquímica de FTIR *in situ*, acompanhado no tempo foi realizado, dessa vez, com o *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> em tampão fosfato pH 7,4, no intuito de averiguar a formação de bandas pela redução do complexo por um elétron. Os demais potenciais analisados se encontram no Anexo B.

Figura 16. Espectroeletroquímica do **RuNO(OH)** em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol  $L^{-1}$ ;  $\mu=0,262$  mol  $L^{-1}$ ;  $C_{Ru}=5x10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ ;  $T=20\pm4$  °C. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo, com passos de 17,5 segundos. Potencial exibido utiliza como referência eletrodo de Ag/AgCl<sub>sat</sub>. Gráfico inserido representa potencial aplicado no qual não há variação no espectro.



Com base no exposto na Figura 16 e informações da Figura 14, observa-se que o consumo da espécie com estiramento em 1870 cm<sup>-1</sup> ocorre devido a redução do NO<sup>+</sup> coordenado *trans* ao OH<sup>-</sup>, provocando a liberação de NO<sup>•</sup>, com sinal em 1895 cm<sup>-1</sup>, e formação do complexo *trans*-[Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, como proposto na literatura<sup>25</sup>:

trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> + e<sup>-</sup> + H<sub>2</sub>O + H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> 
$$\rightarrow$$
  
trans-[Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> + NO<sup>•</sup> + H<sub>2</sub>O (3)

Com isso, diferente do que havia sido proposto anteriormente, o sinal formado em 1876 cm<sup>-1</sup> pela redução do **RuNOpy** estaria associado a formação da espécie **RuNO(OH)**, e não a liberação do NO•, que é mais provável de ter seu sinal centrado em 1890 cm<sup>-1</sup> quando em solução aquosa, uma vez que é o sinal observado pela redução da espécie **RuNO(OH)**.

Sendo assim, podemos definir que a partir de -0,10 V vs.  $Ag/AgCl_{(sat)}$ , em solução de tampão fosfato 0,1 mol  $L^{-1}$ , pH 7,4 e  $\mu$  = 0,262 mol  $L^{-1}$  (Figura 12) tem-se:

- *i*) Quantidade apreciável de **RuNOpy** é reduzido, caracterizado pelo consumo do sinal em 1930 cm<sup>-1</sup>;
- ii) Formação de RuNO(OH), caracterizado pela formação do sinal centrado em 1876 cm<sup>-1</sup>;
  - iii) Formação de NO<sup>•</sup>, caracterizado pela formação do sinal em 1890 cm<sup>-1</sup>.

Somente esse processo ocorre até o potencial de -0,45 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>, no qual a espécie **RuNO(OH)** produzido passa a ser reduzido (Figura 16), levando a formação de NO• e Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>, conforme ilustrado nas equações (4), (5) e (6):

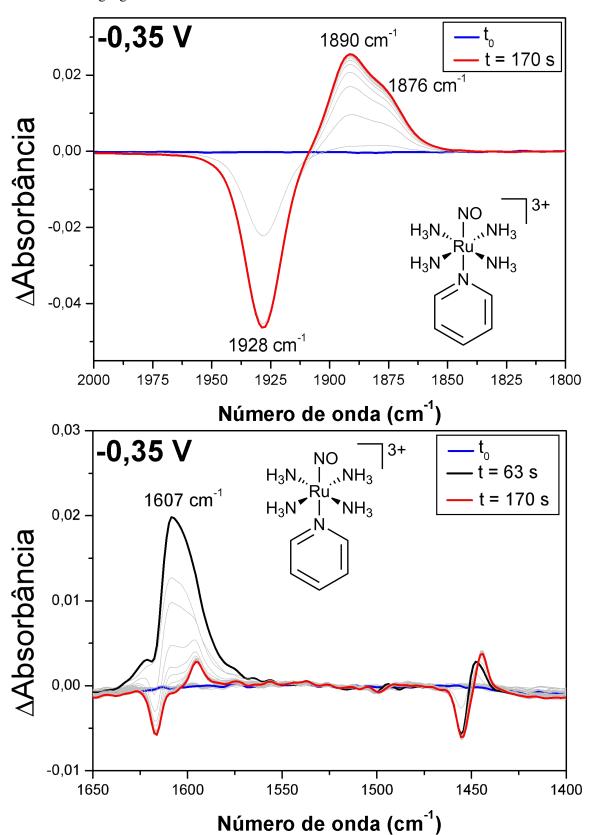
trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup> + e<sup>-</sup> + H<sub>2</sub>O →   
trans-[Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)(py)]<sup>2+</sup> + NO
$$^{\bullet}$$
 (4)

trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup> + e<sup>-</sup> + H<sub>2</sub>O 
$$\rightarrow$$
  
trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> + py<sup>•-</sup> + H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> (5)

trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> + e<sup>-</sup> + H<sub>2</sub>O + H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> 
$$\rightarrow$$
  
trans-[Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> + H<sub>2</sub>O + NO<sup>•</sup> (6)

De acordo com a equação (5), a espécie piridina ânion radical é formada devido a labilização do ligante N-heterocíclico reduzido. Estima-se que, caso essa espécie seja formada, proporcione um sinal de curto tempo de vida durante o processo de redução do **RuNOpy**, na região de 1650 cm<sup>-1</sup> a 1400 cm<sup>-1</sup> <sup>29</sup>. De fato, em potenciais mais negativos, como em -0,35 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>, um sinal de curto tempo de vida é observado na redução do **RuNOpy**, como é ilustrado a seguir:

Figura 17. Espectroeletroquímica do **RuNOpy** em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol  $L^{-1}$ ;  $\mu = 0,262$  mol  $L^{-1}$ ;  $C_{Ru} = 5x10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ ;  $T = 20 \pm 4$  °C. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo, com passos de 10 segundos. Potencial exibido utiliza como referência eletrodo de  $Ag/AgCl_{sat}$ .



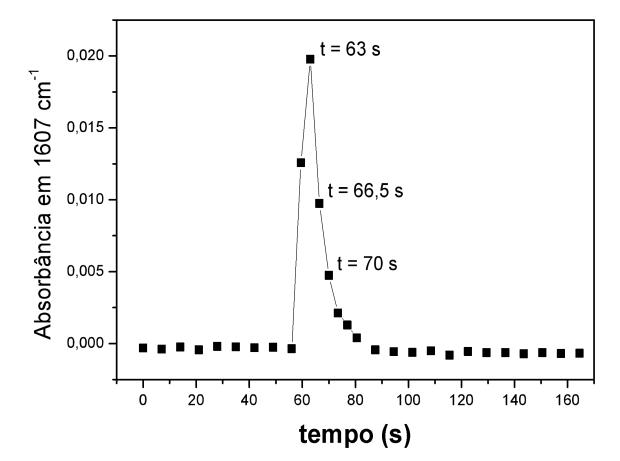


Figura 18. Variação da absorbância do sinal em 1607 cm<sup>-1</sup> com o tempo.

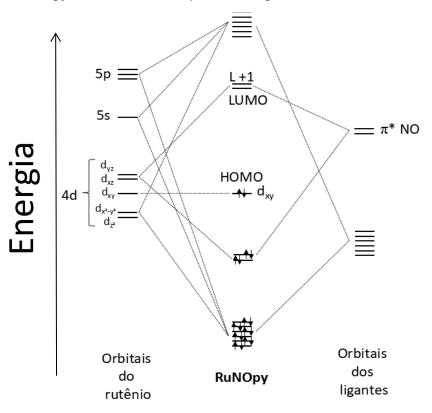
O sinal com máximo em 1607 cm<sup>-1</sup> surge assim que o potencial é aplicado (a partir de 56 segundos, Figura 18) atinge máximo de absorbância em t = 63 segundos, passando por dois t<sub>1/2</sub> nos próximos 7 segundos. Com um t<sub>1/2</sub> de 3,5 segundos, estima-se o sinal com máximo em 1607 cm<sup>-1</sup> represente a formação do ânion radical de piridina. O t<sub>1/2</sub> de 3,5 segundos representa tempo de vida menor do que o reportado para o ânion radical de piridina, gerado via eletroquímica em amônia líquida, com t<sub>1/2</sub> de 45 segundos<sup>30</sup> detectado via RPE. Entretanto, ainda não foi possível a detecção desse radical via RPE pela redução do complexo **RuNOpy** em tampão fosfato pH 7,4.

## 4.3. Proposta de liberação de piridina ânion radical pela redução do nitrosilo complexo

Como foi discutido até então, a redução por um elétron de nitrosilo complexos contendo N-heterocíclico coordenado leva a labilização de NO•, com formação de banda centrada em 1890 cm<sup>-1</sup>. No entanto, a redução desses complexos também leva a labilização do N-heterocíclico, de forma competitiva, e com isso, há a formação do complexo **RuNO(OH)** no pH 7,4, caracterizado pelo sinal em 1876 cm<sup>-1</sup>.

Da química desenvolvida até então para tetraminas de rutênio(II) contendo o ligante NO<sup>+</sup> coordenado *trans* a N-heterocíclicos, a labilização de NO<sup>•</sup> da esfera de coordenação desses complexos, pela redução por um elétron, pode ser explicada por: O elétron oriundo da redução ocupa o orbital vazio de menor energia (LUMO), conforme diagrama de energia representado na Figura 19. Como esse orbital é de propriedade antiligante com relação à interação entre Ru(II) e o NO coordenado, a redução leva a diminuição da interação entre esses dois centros. Por fim, ocorre a quebra da ligação Ru-NO, e o ligante é labilizado na forma de NO<sup>•</sup>.

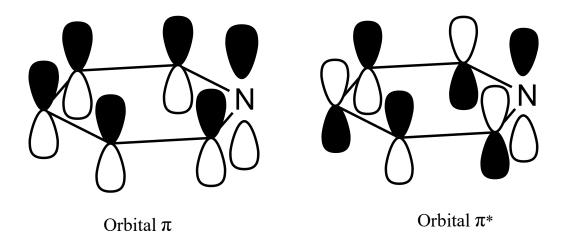
Figura 19. Diagrama de energia simplificado dos orbitais moleculares de fronteira de complexo **RuNOpy**, assumindo orbital d<sub>xy</sub> como não ligante.



Fonte: Autoria própria. Refs.<sup>8,5</sup>

No diagrama representado na Figura 19, não se leva em consideração interações  $\pi$  com o orbital  $d_{xy}$  do centro metálico, e por isso esse orbital é representado como não ligante. No entanto, o digrama de energia representado da Figura 19 não exemplifica a possível labilização de piridina ânion radical para o meio, com formação do complexo **RuNO(OH)**. Para que houvesse a labilização de py $^{\bullet}$  para o meio, seria necessária a sobreposição de orbitais de maior característica de py e Ru. A coordenação da piridina ao centro metálico se faz, inicialmente, pela sua capacidade de doar densidade eletrônica sigma ao centro metálico, caracterizado pela formação de uma ligação sigma. No entanto, esse ligante também apresenta capacidade de realizar interação  $\pi$  com orbital  $d_{\pi}$  do centro metálico $^{31}$  utilizando seu orbital  $\pi^*$ , representado na Figura 20.

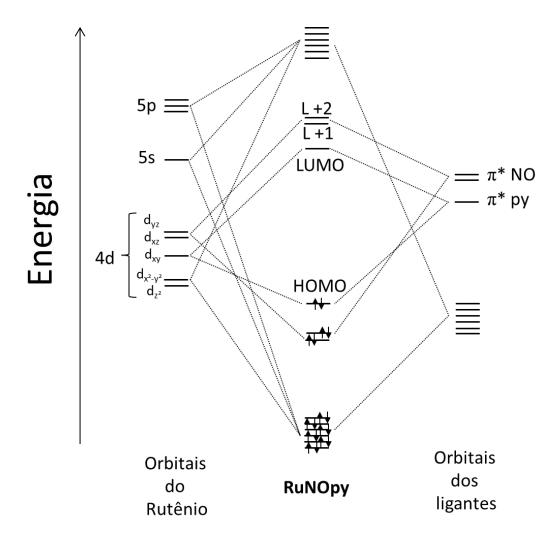
Figura 20. Representação simplificada dos orbitais  $\pi$  ligante e  $\pi$  antiligante da piridina.



Fonte: Autoria própria. Ref <sup>31</sup>

Levando em consideração a forma na qual o N-heterocíclico se coordena ao centro metálico, sendo que o plano do anel aromático se encontra entre os eixos de ligação Ru-NH<sub>3</sub>, propõe-se que o N-heterocíclico possa receber densidade eletrônica  $\pi$  do orbital  $d_{xy}$  do rutênio, em seu orbital  $\pi^*$ . Com isso, o orbital  $d_{xy}$  não apresenta característica de orbital não ligante. Assim, a sobreposição  $d_{xy}$ - $\pi^*$ py levaria a formação dos orbitais ligante e antiligantes dessa interação, de forma similar ao que ocorre para a sobreposição  $d_{\pi^*}$ - $\pi^*$ NO representada na Figura 19. Pelo fato de o complexo em estudo apresentar centro metálico  $d^6$  baixo spin, o orbital ligante da interação  $d_{xy}$ - $\pi^*$ py estaria ocupado com um par de elétrons, sendo que o orbital antiligante da interação  $d_{xy}$ - $\pi^*$ py estaria disponível a aceitar um elétron quando o complexo é reduzido, como representado na Figura 21.

Figura 21. Diagrama de energia simplificado dos orbitais moleculares de fronteira do complexo **RuNOpy**, assumindo interação  $d_{xy}$ - $\pi$ \*py.

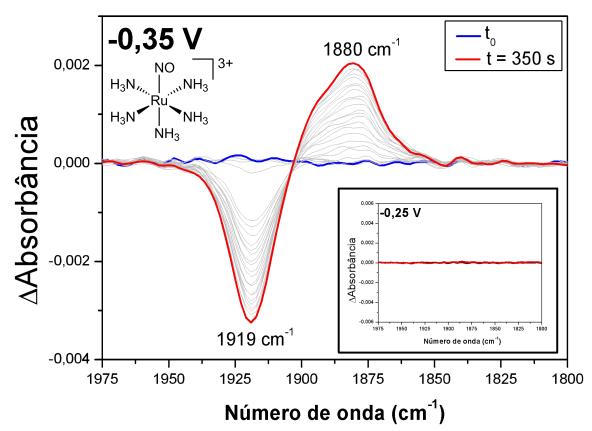


Fonte: Autoria própria.

Com isso, similar ao que ocorre com o nitrosilo coordenado, a ocupação de um elétron em um orbital de elevada contribuição π\*py (LUMO, de acordo com a Figura 21) levaria a diminuição da interação Ru-py, levando a uma menor afinidade da py ao centro metálico, ocorrendo a quebra da ligação Ru-py. Assim, a espécie piridina ânion radical é labilizada da esfera de coordenação, sendo substituída por uma molécula de água. A água coordenada, por sua vez, apresenta acidez maior do que quando livre no meio, e com isso há a desprotonação desse ligante, levando a formação do complexo **RuNO(OH)**.

Para avaliar a hipótese de que a população por um elétron do orbital de característica antiligante da interação d<sub>xy</sub>-π\*py (LUMO, segundo Figura 21) pela redução do complexo **RuNO(Dy** pode levar a labilização da piridina, com formação do complexo **RuNO(OH)**, um experimento de espectroeletroquímica de FTIR *in situ* foi realizado, dessa vez com o complexo **RuNO(NH3)** solubilizado em tampão fosfato pH 7,4. A utilização desse complexo se deu pelo fato de que o NH3 *trans* posicionado ao NO<sup>+</sup> é um ligante doador sigma puro, e com isso não há a interação π entre o NH3 e o orbital d<sub>xy</sub> do centro metálico. Sendo assim, a redução do complexo **RuNO(NH3)** levaria apenas a labilização do NO coordenado, e com isso, apenas o sinal de 1890 cm<sup>-1</sup> deveria ser observado no infravermelho, por se tratar do sinal do estiramento de NO<sup>•</sup> livre em solução, determinado pela espectroeletroquímica do complexo **RuNO(OH)** (Figura 16). Os resultados são apresentados a seguir. Os demais potenciais analisados se encontram no Anexo C.

Figura 22. Espectroeletroquímica do **RuNO(NH<sub>3</sub>)** em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol  $L^{-1}$ ;  $\mu = 0,262$  mol  $L^{-1}$ ;  $C_{Ru} = 5x10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ ;  $T = 20 \pm 4$  °C. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo, com passos de 14 segundos. Potencial exibido utiliza como referência eletrodo de  $Ag/AgCl_{sat}$ . Gráfico inserido representa potencial aplicado no qual não há variação no espectro.

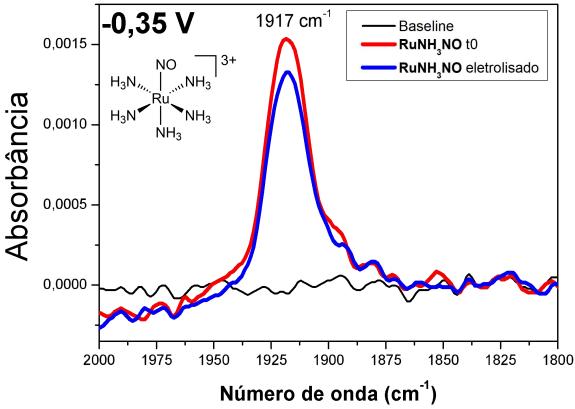


Como é observado na Figura 22, há o consumo da espécie com estiramento centrado em 1919 cm<sup>-1</sup>, sendo esse o estiramento da espécie de NO<sup>+</sup> coordenado *trans* a NH<sub>3</sub> no complexo **RuNO(NH<sub>3</sub>)**. Observa-se também a formação de sinal centrado em 1880 cm<sup>-1</sup>. A formação desse sinal gerou dúvidas quanto às espécies que estavam sendo formadas, uma vez que poderia estar relacionado à formação de sinal em 1890 cm<sup>-1</sup> e/ou formação do sinal em 1876 cm<sup>-1</sup>, ambos deslocados. Sendo assim, uma eletrólise exaustiva foi realizada com o eletrodo de trabalho consistindo de uma rede de ouro diferente do disco de ouro utilizado nos experimentos de espectroeletroquímica. Durante o processo de aplicação de potencial, a solução do complexo **RuNO(NH<sub>3</sub>)** foi mantida sob constante fluxo de argônio, no intuito de purgar qualquer gás gerado durante o processo de redução. Sendo assim, o seguinte era esperado:

- i) Caso houvesse formação de NO• pela redução do **RuNO(NH<sub>3</sub>)**, o gás seria purgado da solução pelo fluxo de argônio, e ao fim da eletrólise, veríamos apenas consumo do sinal em 1917 cm<sup>-1</sup>, referente ao estiramento de NO<sup>+</sup> *trans* a NH<sub>3</sub>.
- ii) Caso houvesse formação do complexo **RuNO(OH)** pela labilização do NH<sub>3</sub>, não seria possível purgar o complexo com um fluxo de argônio, e com isso, além do consumo do sinal em 1917 cm<sup>-1</sup> referente ao NO<sup>+</sup> *trans* a NH<sub>3</sub>, haveria formação de estiramento de NO<sup>+</sup> *trans* a OH<sup>-</sup>, esperado em 1876 cm<sup>-1</sup>.

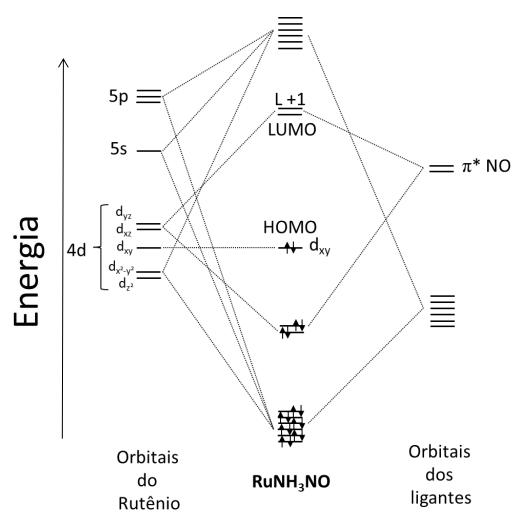
O resultado da eletrólise do RuNO(NH<sub>3</sub>) é apresentado a seguir na Figura 23.

Figura 23. Espectro no infravermelho da **RuNO(NH<sub>3</sub>)** em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol  $L^{-1}$ ;  $\mu=0,262$  mol  $L^{-1}$ ;  $C_{Ru}=5x10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ . Potencial exibido utiliza como referência eletrodo de  $Ag/AgCl_{sat}$ 



Na Figura 23 acima, é possível verificar o consumo da banda centrada em 1917 cm<sup>-1</sup>, referente ao estiramento de NO<sup>+</sup> *trans* a NH<sub>3</sub> no complexo **RuNO(NH<sub>3</sub>)**, sem formação de sinal na região de 1880 cm<sup>-1</sup>, esperado caso houvesse formação do complexo **RuNO(OH)**. Como a amônia não realiza interação  $\pi$  com orbitais  $d_{\pi}$  do centro metálico, o diagrama de energia seria o seguinte:

Figura 24. Diagrama de energia simplificado dos orbitais de fronteira do complexo RuNO(NH3).



Fonte: Autoria própria.

E com isso, a redução por um elétron do  $RuNO(NH_3)$  leva apenas a população de um orbital de característica antiligante da interação  $d_{\pi}$ - $\pi$ \*NO entre os centros Ru-NO. (LUMO e L+1, segundo Figura 24). Isso, por sua vez leva a quebra da ligação Ru-NO, com a labilização de NO•. Pelo fato do ligante NH<sub>3</sub> no complexo  $RuNO(NH_3)$  não interagir com o orbital  $d_{xy}$  do Ru, não se tem a formação do orbital que, quando populado, levaria a formação do complexo RuNO(OH) pela labilização de uma espécie de NH<sub>3</sub>. Com isso, não há a formação do complexo RuNO(OH) pelo processo de redução por um elétron do  $RuNO(NH_3)$ .

## 5. CONCLUSÕES

Pela primeira vez é reportado a saída de um N-heterocíclico coordenado trans ao ligante NO+ em tetraminas de rutênio(II), após redução por um elétron desse sistema em meio aquoso. É observado, por espectroeletroquímica de FTIR in situ, tanto a formação de NO livre quanto a formação do íon complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> que, por sua vez, sofre redução por 1-elétron (-0,40 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>) resultando na liberação de NO e formação do aqua-complexo trans-[Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sup>2+</sup> em meio aquoso com pH = 7,4. A labilização do ligante N-heterocíclico pode ser atribuída à interação de seu orbital π\* com o orbital d<sub>xy</sub> do centro metálico, uma vez que a para a redução por 1elétron do íon complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]<sup>3+</sup> não se observa a formação do íon complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup>. A observação da labilização concorrente do N-heterocíclico ligante com formação do íon complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(OH)]<sup>2+</sup> em meio aquoso após redução por 1-elétron de complexos do tipo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(L)]<sup>3+</sup> (N-heterocíclicos) é de elevada relevância do ponto de vista biológico para a utilização destes compostos como agentes doadores de NO, uma vez que o ligante N-heterocíclico é labilizado após a redução como ânion radical o qual poderá apresentar relevante atividade em meio biológico.

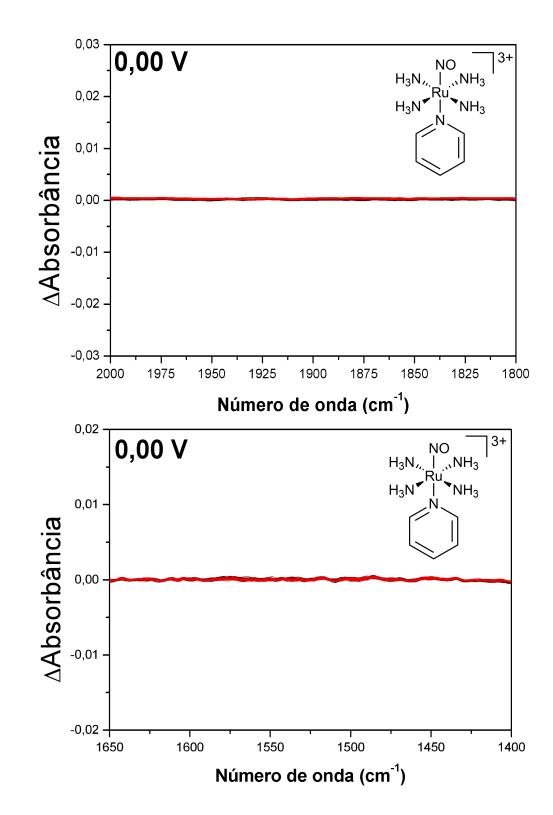
#### 6. Referências

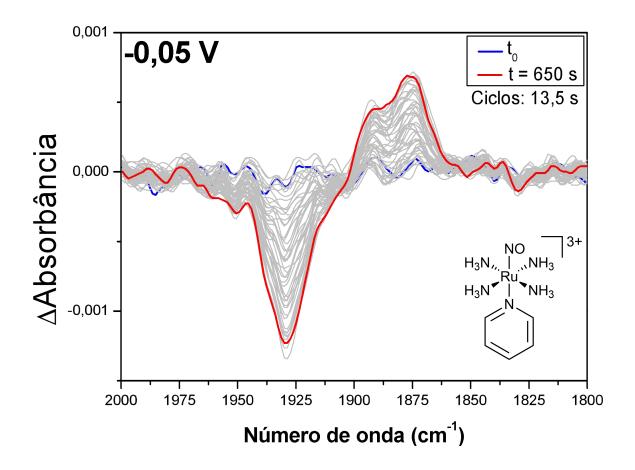
- 1 TOLEDO JUNIOR, J. C.; AUGUSTO, O. Connecting the chemical and biological properties of nitric oxide. **Chemical Research Toxicology**, Washington, v. 25, p. 975-989, 2012.
- 2 FORD, P. C.; BOURASSA, J.; MIRANDA, K.; LEE, B.; LORKOVIC, I.; BOGGS, S.; KUDO, S.; LAVERMAN, L. Photochemistry of metal nitrosyl complexes. Delivery of nitric oxide to biological targets. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 171, p. 185-202, 1998.
- 3 IGNARRO, J. L. E. **Nitric oxide, biology and pathobiology**. San Diego: Academic Press, 2000. p. 1017.
- 4 FEELISCH, M.; STAMLER, J. S. **Methods in nitric oxide research**. New York: John Wiley & Sons, 1996. p. 712.
- 5 ORENHA, R. P.; ROCHA, M. V. J.; POATER, J.; GALEMBECK, S. E.; BICKELHAUPT, F.M. Nature of the Ru-NO coordination bond: Kohn-Sham molecular orbital and energy decomposition analysis. **Chemistry Open**, Weinheim, v. 6, p. 410-416, 2017.
- 6 TORSONI, A. S.; BARROS, B. F.; TOLEDO JUNIOR, J. C.; HAUN, M.; KRIEGER, M. H.; TFOUNI, E.; FRANCO, D. W. Hypotensive properties and acute toxicity of *trans*-[Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>P(OEt)<sub>3</sub>(NO)](PF<sub>6</sub>)<sub>3</sub>, a new nitric oxide donor. **Nitric Oxide:** Biology and Chemistry, Maryland Heights, v. 6, n. 3, p. 247-254, 2002.
- 7 METZKER, G.; STEFANELI, E. V.; PEREIRA, J. C. M.; LIMA, F. C. A.; SILVA, S. C.; FRANCO, D. W. Nitric oxide and nitroxyl formation in the reduction of *trans*-tetraamminenitrosyltriethylphosphiteruthenium(II) ion. **Inorganica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 394, p. 765-769, 2013.
- 8 TOLEDO, J. C.; SILVA, H. A. S.; SCARPELLINI, M.; MORI, V.; CAMARGO, A. J.; BERTOTTI, M.; FRANCO, D. W. Ruthenium tetraammines as a model of nitric oxide donor compounds. **European Journal of Inorganic Chemistry**, Weinheim, n. 9, p. 1879-1885, 2004.
- 9 FREITAS, C. S.; ROVEDA JUNIOR, A. C.; TRUZZI, D. R.; GARCIA, A. C.; CUNHA, T. M.; CUNHA, F. Q.; FRANCO, D. W. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activity of ruthenium complexes with isonicotinic and nicotinic acids (niacin) as ligands. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 58, n. 11, p. 4439-4448, 2015.
- 10 FENG, M.; ZHAO, J.; YU, P.; WANG, J. Linear and nonlinear infrared spectroscopies reveal detailed solute-solvent dynamic interactions of a nitrosyl ruthenium complex in solution. **Journal of Physical Chemistry B**, Washington, v. 122, n. 39, p. 9225-9235, 2018.

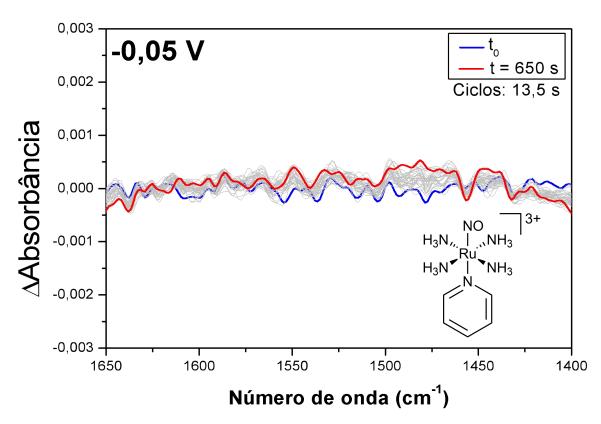
- 11 WANNER, M.; SCHEIRING, T.; KAIM, W. EPR Characteristics of the [NC)<sub>5</sub>M(NO)]<sup>3-</sup> Ions (M = Fe, Ru, Os). Experimental and DFT study estabilishing NO• as ligand. **Inorganic Chemistry**, Washington, v. 40, p. 5704-5707, 2001.
- 12 TOLEDO, J. C.; LIMA NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Mutual effects in the chemical properties of the ruthenium metal center and ancillary ligands upon coordination. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 249, p. 419-431, 2005.
- 13 TFOUNI, E.; KRIEGER, M.; McGARVEY, B. R.; FRANCO, D. W. Structure, chemical and photochemical reactivity and biological activity of some ruthenium amine nitrosyl complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 236, p. 57-69, 2003.
- 14 TFOUNI, E.; DORO, F. G.; FIGUEIREDO, L. E.; PEREIRA, J. C.; METZKER, G.; FRANCO, D. W. Tailoring NO donors metallopharmaceuticals: ruthenium nitrosyl ammines and aliphatic tetraazamacrocycles. **Current Medicinal Chemistry**, Sharjah, v. 17, p. 3643–3657, 2010.
- 15 TOLEDO JUNIOR, J. C.; LOPES, L. G. F.; ALVES, A. A.; SILVA, L. P.; FRANCO, D. W. Release of NO by a nitrosyl complex upon activation by the mitochondrial reducing power. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Philadelphia, v. 89, p. 267-271, 2002.
- 16 BORGES, S. S.; DAVANZO, C. U.; CASTELLANO, E. E.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; SOLVA, S. C.; FRANCO, D. W. Ruthenium nitrosyl complexes with n-heterocyclic ligands. **Inorganic Chemistry**, Washington, v. 37, p. 2670-2677, 1998.
- 17 TFOUNI, E.; DORO, F. G.; GOMES, A. J.; SILVA, R. S.; METZKER, G.; BENINI, P. G. Z.; FRANCO, D. W. Immobilized rutheium complexes and aspects of their reactivity. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 254, p. 355-371, 2010.
- 18 AGUIAR, F. H.; ROVEDA JUNIOR. A. C.; PIVA, R. J.; ONODA, K. A.; MIYAKAWA, A. A.; KRIEGER, J. E.; FRANCO, D. W.; TADINI, C. C. Compatibility of cassava starch films as nitric oxide carrier for potencial medical device. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 132, n. 2, p. 1-10, 2015.
- 19 ORENHA, R. P.; GALEMBECK, S. E. Molecular Orbitals of NO, NO<sup>+</sup>, and NO<sup>-</sup>: A computational Quantum Chemistry Experiment. **Journal of Chemical Education**, Washington, v. 91, n. 7, p. 1064-1069, 2014.
- 20 COE, B. J.; GLENWRIGHT, S. J. Trans-effects in octahedral transition metal complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 203, p. 5-80, 2000.
- 21 ROVEDA JUNIOR. A. C.; SANTOS, W. G.; SOUZA, M. L.; ADELSON, C. N.; GONÇALVES, F. S.; CASTELLANO, E. E.; GARINO, C.; FRANCO, D. W.; CARDOSO, D. R. Light-activated generation of nitric oxide (NO) and sulfite anion radicals (SO<sub>3</sub>•-) by a ruthenium(II) nitrosylsulphito complex. **Dalton Transactions**, Cambridge, v. 48, n. 29, p. 10812-10823, 2019.

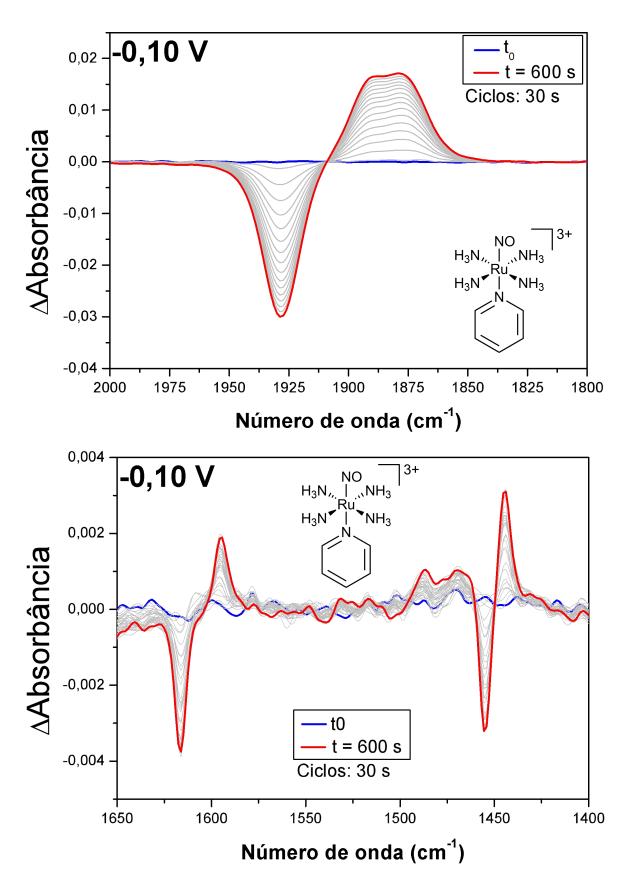
- 22 ISIED, S.; TAUBE, H. Effects of SO<sub>2</sub>, HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> and SO<sub>3</sub><sup>2</sup>- as auxiliary ligands on reactivity of ammineruthenium(II)-ligans bonds. **Inorganic Chemistry**, Washington, v. 13, n. 7, p. 1545-1551, 1974.
- 23 SILVA, H. A. D.; MCGARVEY, B. R.; SANTOS, R. H. D.; BERTOTTI, M.; MORI, V.; FRANCO, D. W. Sulfate as a ligand in ruthenium(II) and (III) ammines. **Canadian Journal of Chemistry**-Revue Canadienne De Chimie, Ottawa, v. 79, n. 5, p. 679-687, 2001.
- 24 GOMES, M. G.; DAVANZO, C. U.; SILVA, S. C.; LOPES, L. G. F.; SANTOS, P. S.; FRANCO, D. W. Cis- and trans-nitrosyltetraammineruthenium(II). Spectral and electrochemical properties and reactivity. **Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions**, Cambridge, n. 4, p. 601-607, 1998.
- 25 BEZERRA, C. W. B.; SILVA, S. C.; GAMBARDELLA, M. T. P.; SANTOS, R. H. A.; PLICAS, L. M. A.; TFOUNI, E. FRANCO, D. W. Water π-Donation in *trans*-Tetraammineruthenium(II): effect on coordinated-water properties induced by a trans NO ligand. **Inorganic Chemistry**, Washington, v. 38, p. 5660-5667, 1999.
- 26 KREZEL, A.; BAL, W. A formula for correlating p $K_a$  values determined in D<sub>2</sub>O and H<sub>2</sub>O. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Philadelphia, v. 98, p. 161-166, 2004.
- 27 RICHTER-ADDO, G. B.; LEGZDINS, P. **Metal nitrosyls**. New York: Oxford University Press, 1992. 369 p.
- 28 IL'YIN, M. A.; EMEL'ANOV, V. A.; BELYAEV, A. V.; MAKHINYA, A. B.; TKACHEV, S. V.; ALFEROVA, N. I. New method for the synthesis of *trans*-hydroxotetraamminenitrosoruthenium(ii) dichloride and its caracterization. **Russian Journal of Inorganic Chemistry**, Moscow, v. 53, n. 7, p. 1070-1076, 2008.
- 29 HILL, A. D.; KATSOUKIS, G.; FREI, H. Photoinduced electron transfer from ZrOCo binuclear light absorber to pyridine elucidated by transient optical and infrared spectroscopy. **Journal of Physical Chemistry C**, Washington, v. 122, p. 20176-20185, 2018.
- 30 TALCOTT, C. L.; MYERS, R. J. Electron spin resonance spectra of the radical anions of pyridine and related nitrogen heterocyclics. **Molecular Physics**, Abingdon, v. 12, n. 6, p. 549-567, 1967.
- 31 TOMASIK, P.; RATAJEWICZ, Z. **Pyridine-metal complexes**. New York: John Wiley & Sons, 1985. 2247 p.

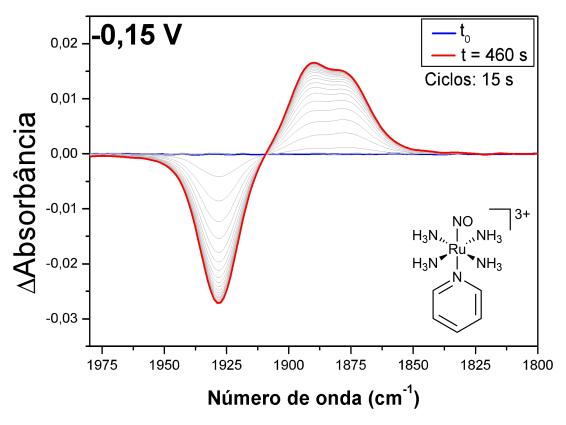
Anexo A. Espectroeletroquímica do **RuNOpy** em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>;  $C_{Ru}$  = 5x10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>; T = 20 ± 4 °C. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo, com ciclos indicados nas figuras. Potencial exibido utiliza como referência eletrodo de Ag/AgCl<sub>sat</sub>

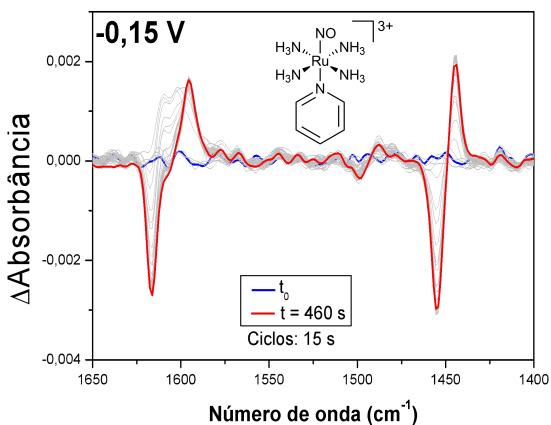


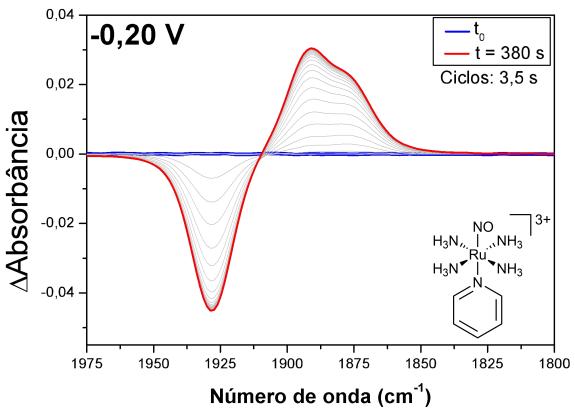


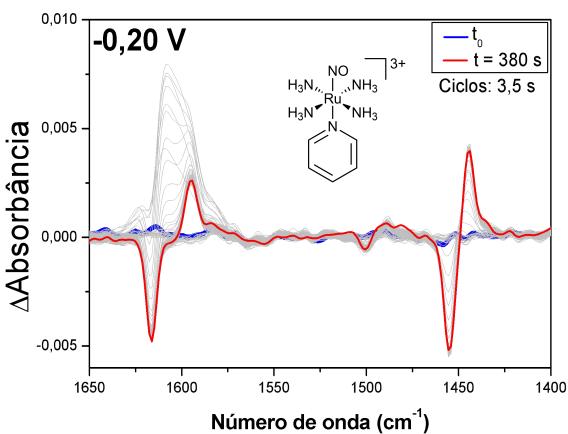


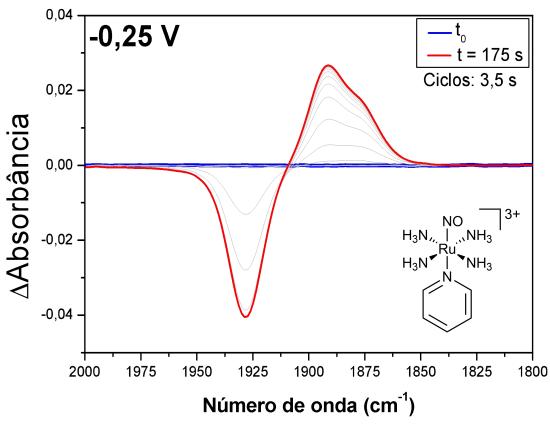


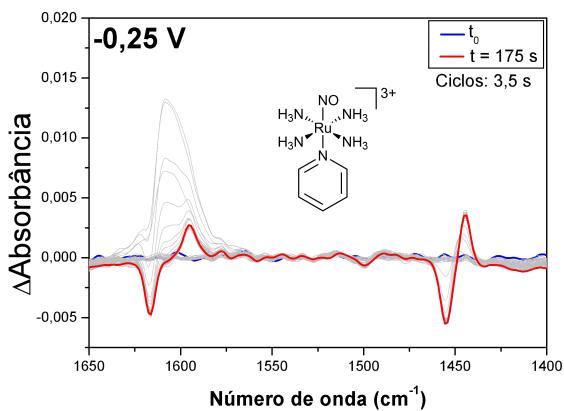


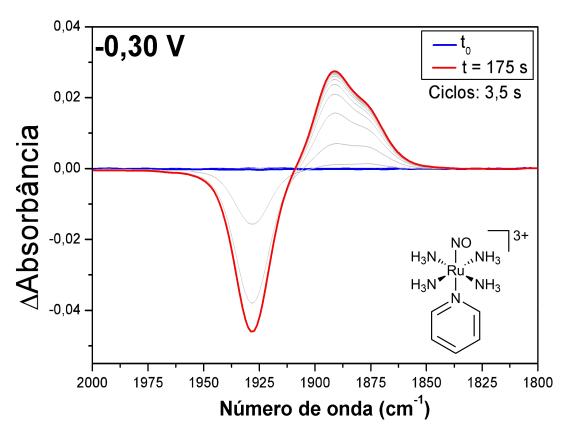


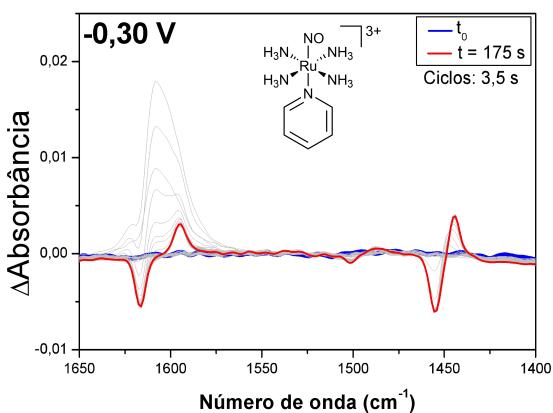


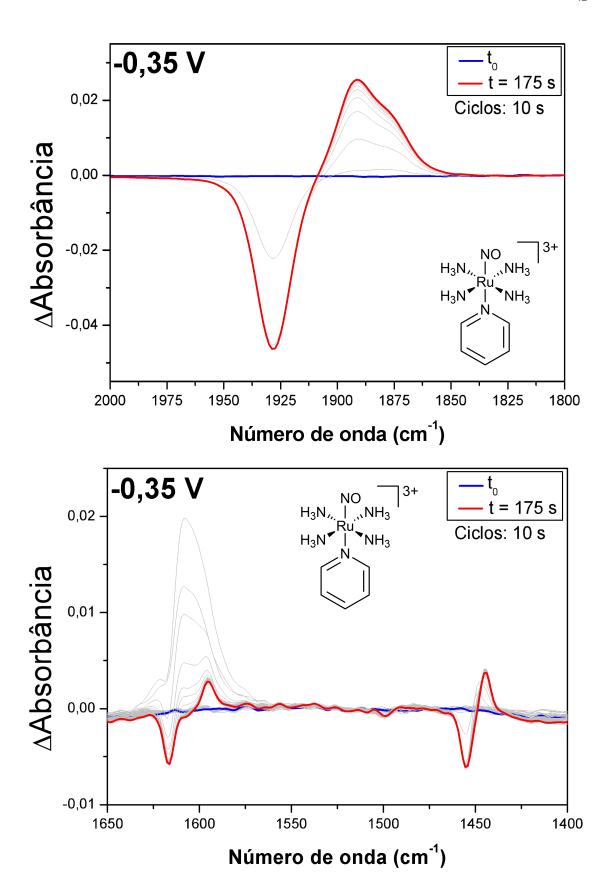


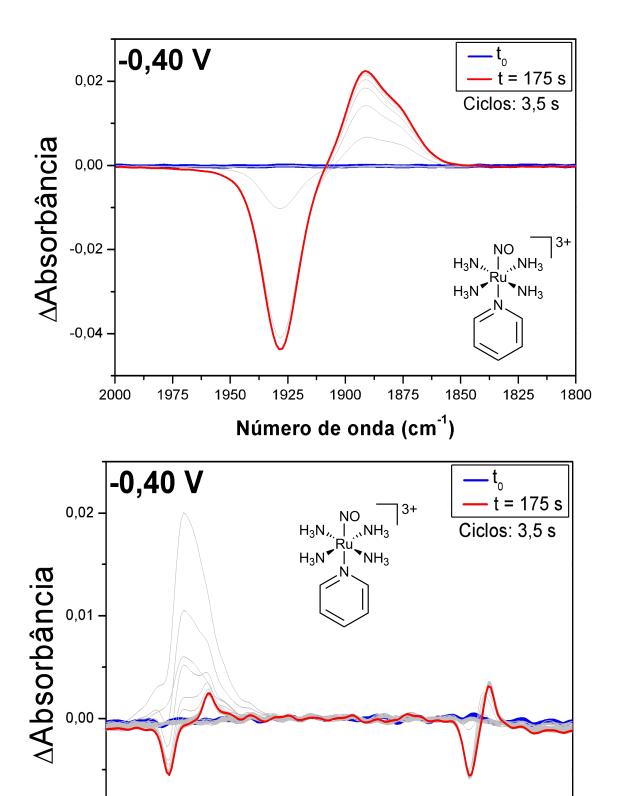






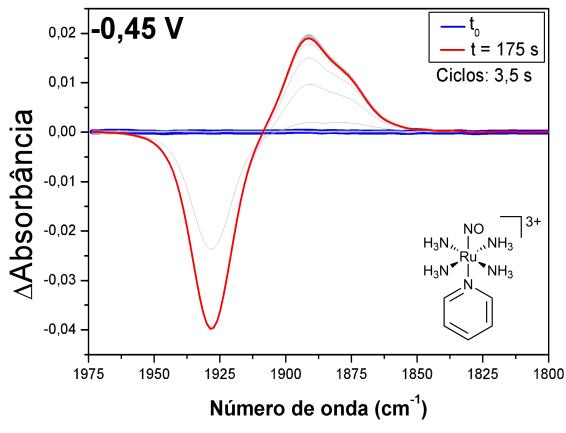


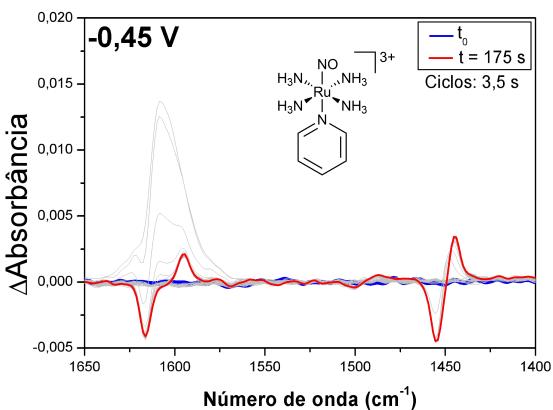


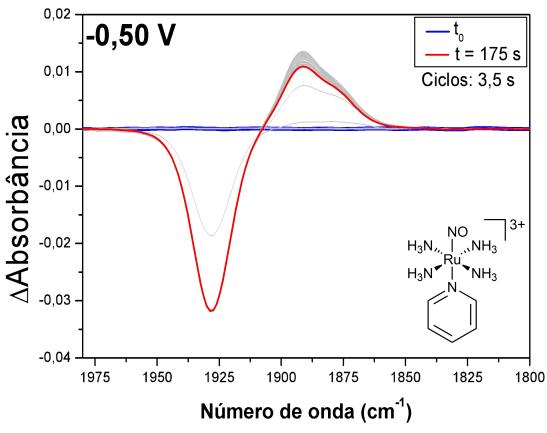


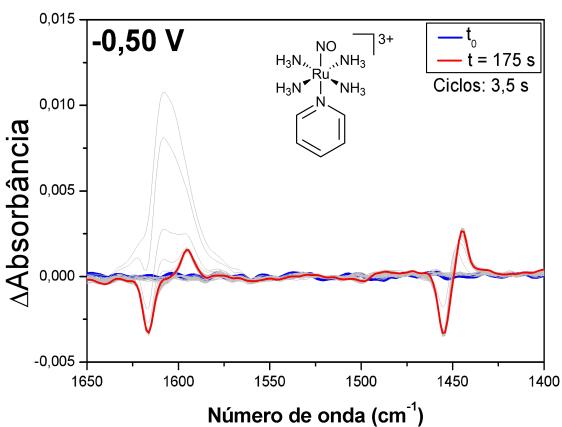
-0,01

Número de onda (cm<sup>-1</sup>)

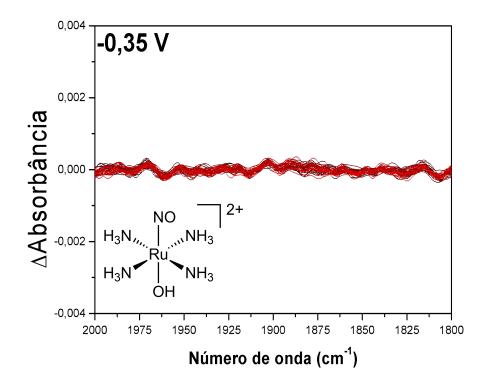


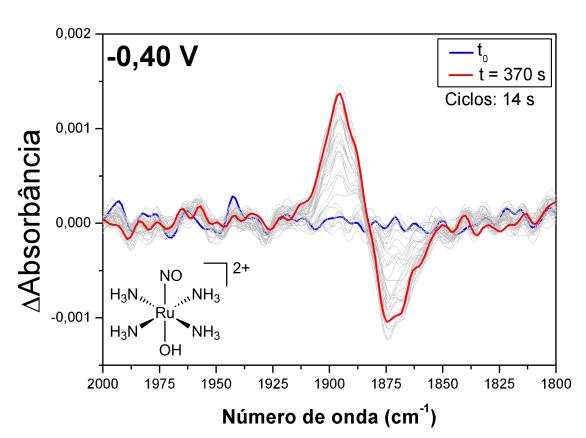


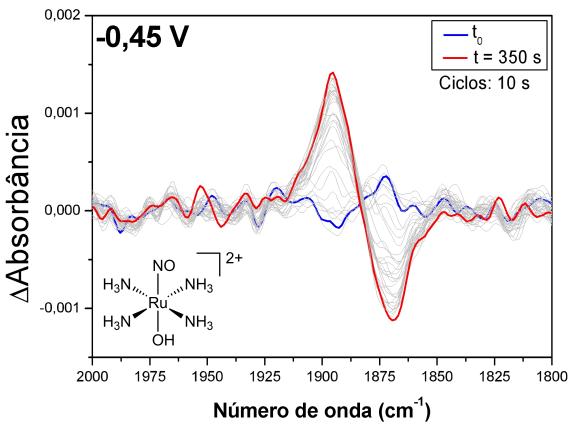


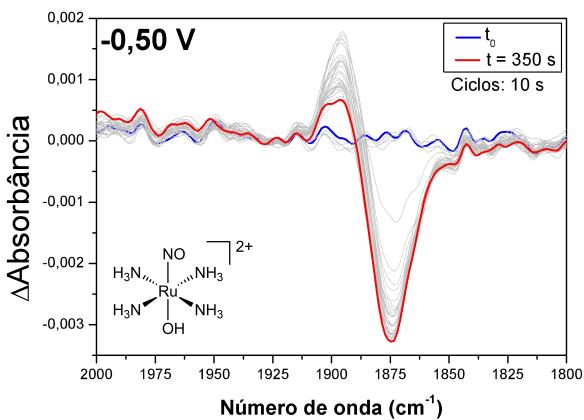


Anexo B. Espectroeletroquímica do **RuNO(OH)** em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>;  $C_{Ru}$  = 5x10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>; T = 20 ± 4 °C. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo, com ciclos indicados nas figuras. Potencial exibido utiliza como referência eletrodo de Ag/AgCl<sub>sat</sub>.

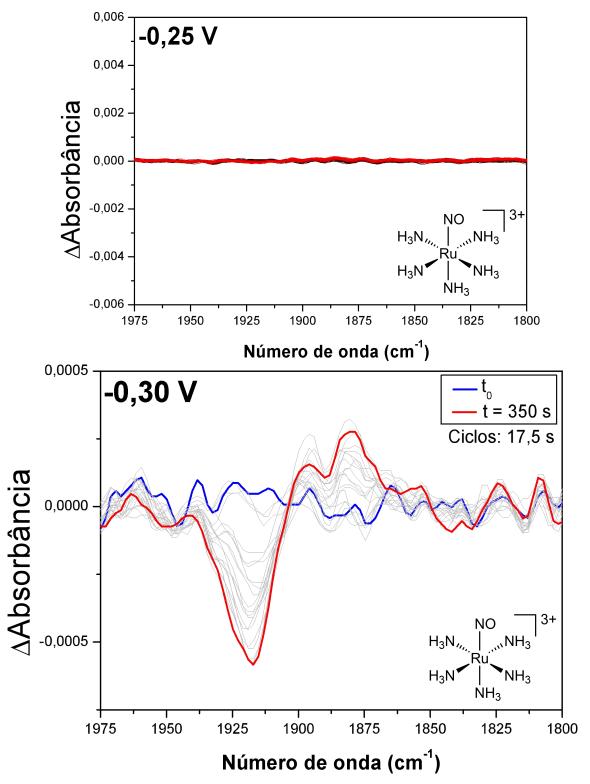


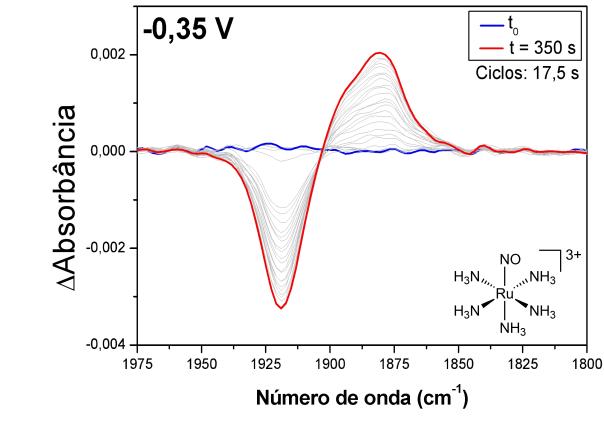


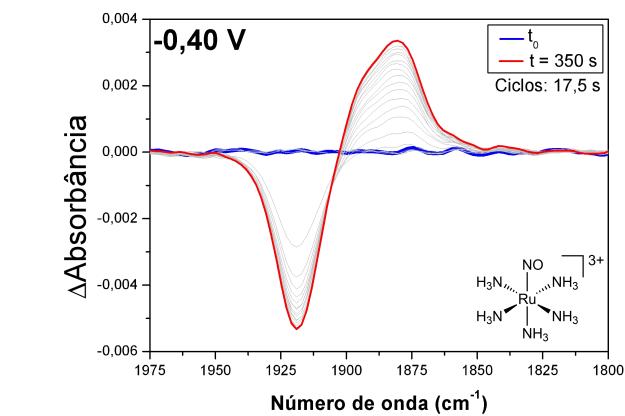


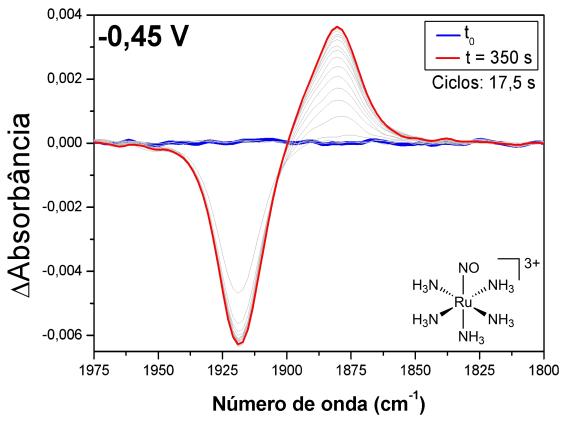


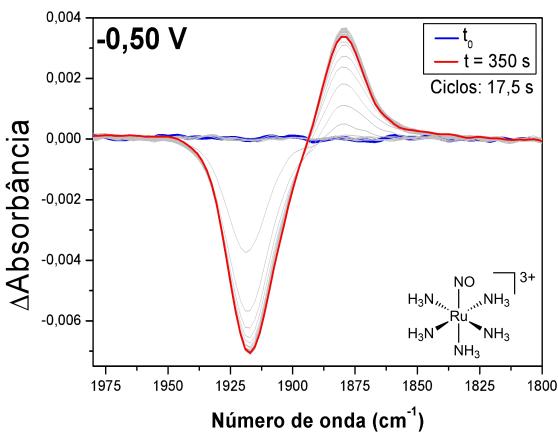
Anexo C. Espectroeletroquímica do RuNO(NH<sub>3</sub>) em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu=0,262$  mol L<sup>-1</sup>;  $C_{Ru}=5x10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>;  $T=20\pm4$  °C. A variação no espectro foi acompanhada pelo tempo, com ciclos indicados nas figuras. Potencial exibido utiliza como referência eletrodo de Ag/AgCl<sub>sat</sub>.











Anexo D. Caracterização dos nitrosilo complexos.

### D.1. Caracterização do complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)](BF<sub>4</sub>)<sub>3</sub>

A seguir, são apresentados os espectros vibracional, eletrônico e de RMN e o voltamograma cíclico para o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)](BF<sub>4</sub>)<sub>3.</sub>

Figura D.1.1. Espectro vibracional do complexo  $\textit{trans-}[Ru(NO)(NH_3)_4(isn)](BF_4)_3$  em pastilha de KBr

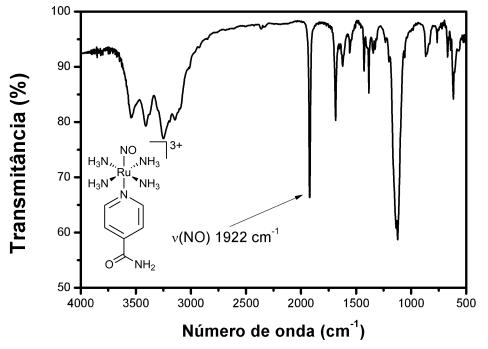


Figura D.1.2. Espectro eletrônico do complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)](BF<sub>4</sub>)<sub>3</sub> solubilizado em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>. T = 25 °C.

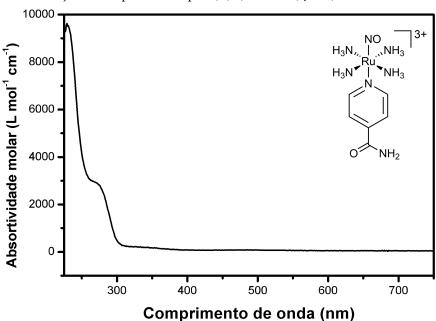
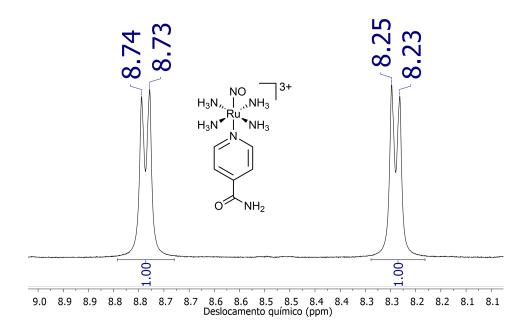


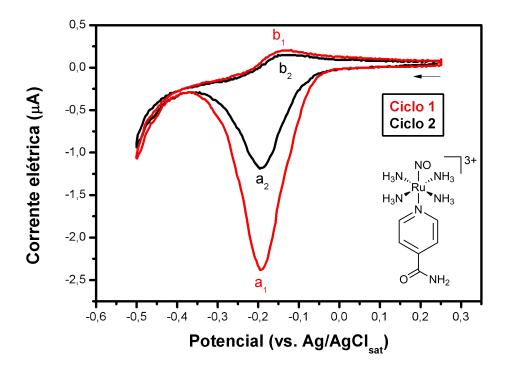
Figura D.1.3. Espectro de RMN de  $^1$ H do complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)](BF<sub>4</sub>)<sub>3</sub> em solução de 50% tampão fosfato pH 7,4 e 50% D<sub>2</sub>O. Referência: TMSPd-4  $\delta$  = 0,00 ppm.



É possível observar, assim, que o estiramento de v(NO) em 1922 cm<sup>-1</sup> é condizente com a descrição do ligante NO<sup>+</sup> coordenado ao centro de Ru(II), esperado na região de 1930 cm<sup>-1</sup>, como reportado na literatura<sup>16</sup>. Além disso, por espectroscopia eletrônica, observa-se transições em 276 nm e 232 nm, referentes a transições eletrônica de transferência de carga do centro metálico para o ligante NO<sup>+</sup>. Por fim, O espectro de RMN de <sup>1</sup>H indica a coordenação do ligante isonicotinamida ao centro metálico pelo deslocamento dos sinais de isonicotinamida livre em 8,70 ppm e 7,78 ppm<sup>21</sup> para região de menor blindagem, em 8,74 ppm e 8,25 ppm, indicando coordenação ao centro metálico de Ru(II).

A voltametria cíclica para o íon complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)]<sup>3+</sup> em solução de tampão fosfato pH 7,4 é apresentada a seguir

Figura D.1.4. Voltamogramas cíclicos para o íon complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(isn)]<sup>3+</sup> em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>. T = 25 °C. v = 50 mV/s.  $C_{Ru}$  =  $5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Seta indica sentido de varredura.



É reportado na literatura $^{13}$  que a redução eletroquímica de nitrosilo complexos leva ao processo

$$\label{eq:trans-} \begin{split} \textit{trans-}[Ru(NO)(NH_3)_4(isn)]^{3+} + e^- \rightarrow \textit{trans-}[Ru(NO)(NH_3)_4(isn)]^{2+} \left( r\acute{a}pida \right) \\ \textit{trans-}[Ru(NO)(NH_3)_4(isn)]^{2+} + H_2O \rightarrow \textit{trans-}[Ru(NH_3)_4(H_2O)(isn)]^{3+} + NO^{\bullet} \left( lenta \right) \end{split}$$

Sendo que, com base no voltamograma apresentado acima, é possível observar o par redox  $NO^+/NO^{\bullet}$  (representado por  $a_1/b_1$  para o primeiro ciclo, e  $a_2/b_2$  para o segundo ciclo).

#### D.2. Caracterização do complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)](PF<sub>6</sub>)<sub>3</sub>

A seguir, são apresentados os espectros vibracional, eletrônico e de RMN e o voltamograma cíclico para o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)](PF<sub>6</sub>)<sub>3</sub>.

Figura D.2.1. Espectro vibracional do complexo  $\textit{trans-}[Ru(NO)(NH_3)_4(py)](PF_6)_3$  em pastilha de KBr

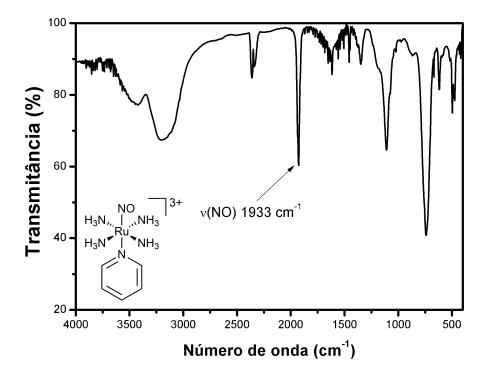


Figura D.2.2. Espectro eletrônico do complexo  $\textit{trans}\text{-}[Ru(NO)(NH_3)_4(py)](PF_6)_3$  solubilizado em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>. T = 25 °C.

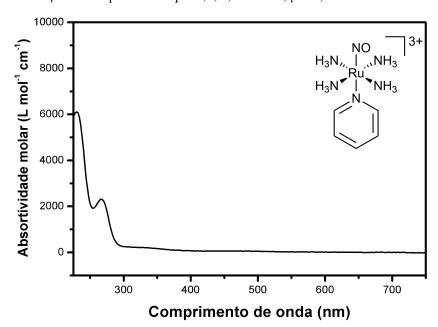


Figura D.2.3. Espectro de RMN de  $^1H$  da piridina livre em solução de 50% tampão fosfato pH 7,4 e 50% D<sub>2</sub>O. Referência: TMSPd-4  $\delta$  = 0,00 ppm.

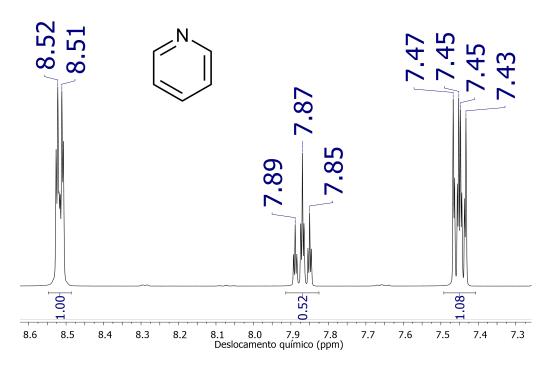
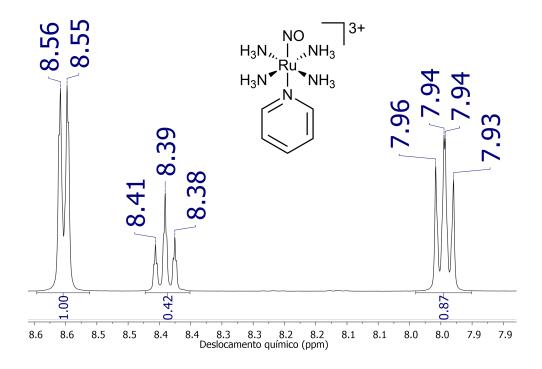
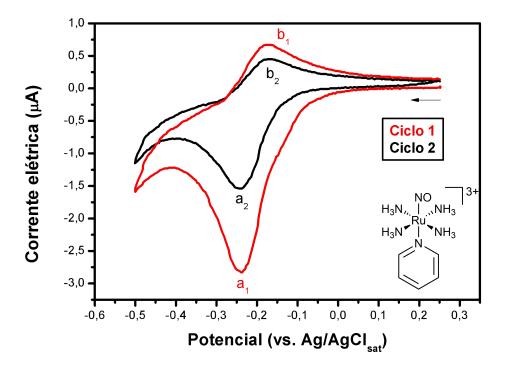


Figura D.2..4. Espectro de RMN de  $^1$ H do complexo trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)](PF<sub>6</sub>)<sub>3</sub> em solução de 50% tampão fosfato pH 7,4 e 50% D<sub>2</sub>O. Referência: TMSPd-4  $\delta$  = 0,00 ppm.



Com base nas figuras acima, o sinal do estiramento de NO em 1933 cm<sup>-1</sup> condiz com o esperado para o ligante NO<sup>+</sup> *trans* posicionado a piridina, com ambos os ligantes coordenados ao centro de Ru(II). Por espectroscopia eletrônica, observa-se transições em 267 nm e 232 nm, referentes a transições eletrônica de transferência de carga do centro metálico para o ligante NO<sup>+</sup>. O espectro de RMN de <sup>1</sup>H indica a coordenação do ligante piridina ao centro metálico pelo deslocamento dos sinais de piridina livre em 8,52 ppm, 7,89 ppm e 7,47 ppm para região de menor blindagem, em 8,56 ppm, 8,41 ppm e 7,96 ppm, indicando coordenação ao centro metálico de Ru(II).

Figura D.2.5. Voltamogramas cíclicos para o íon complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup> em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>. T = 25 °C. v = 50 mV/s.  $C_{Ru}$  =  $5 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Seta indica sentido de varredura.



Como já foi discutido anteriormente, a redução eletroquímica de nitrosilo complexos leva ao processo

$$trans$$
-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup> + e<sup>-</sup>  $\rightarrow trans$ -[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>2+</sup> (rápida)  
 $trans$ -[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>2+</sup> + H<sub>2</sub>O  $\rightarrow trans$ -[Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)(py)]<sup>3+</sup> + NO $^{\bullet}$  (lenta)

Sendo que, com base no voltamograma apresentado acima, é possível observar o par redox NO<sup>+</sup>/NO<sup>•</sup> (representado por a<sub>1</sub>/b<sub>1</sub> para o primeiro ciclo, e a<sub>2</sub>/b<sub>2</sub> para o segundo ciclo).

# D.3. Caracterização do complexo [Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]Cl<sub>3</sub>

A seguir, são apresentados os espectros vibracional, e o voltamograma cíclico para o complexo [Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>](Cl)<sub>3</sub>.

Figura D.3.1. Espectro vibracional do complexo [Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]Cl<sub>3</sub> em solução de tampão fosfato, pH 7,4; 0,1 mol  $L^{\text{-1}}$ ;  $\mu$  = 0,262 mol  $L^{\text{-1}}$ .  $C_{\text{Ru}}$  = 5x10<sup>-3</sup> mol  $L^{\text{-1}}$ .

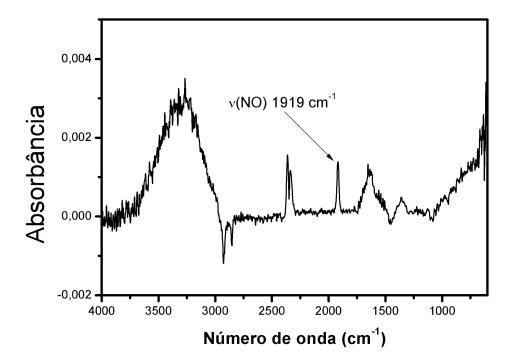
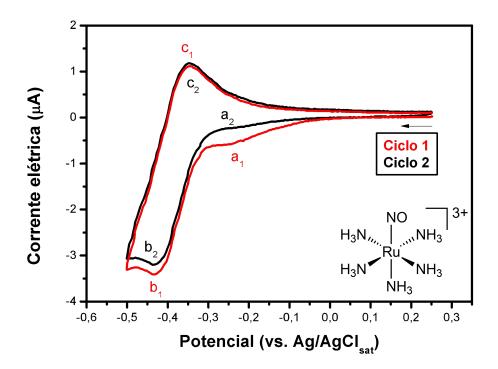


Figura D.3.2. Voltamogramas cíclicos para o íon complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]<sup>3+</sup> em solução de tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol L<sup>-1</sup>;  $\mu$  = 0,262 mol L<sup>-1</sup>. T = 25 °C. v = 50 mV/s.  $C_{Ru}$  = 5x10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>. Seta indica sentido de varredura.



Semelhante ao que já foi apresentado aos nitrosilo complexos já estudados, o complexo [Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]<sup>3+</sup>, quando reduzido por um elétron, leva a labilização de óxido nítrico pelas reações abaixo

$$\begin{split} [Ru(NO)(NH_3)_5]^{3+} + e^- &\to [Ru(NO)(NH_3)_5]^{2+} \, (\text{rápida}) \\ [Ru(NO)(NH_3)_5]^{2+} + H_2O &\to [Ru(NH_3)_5(H_2O)]^{3+} + NO^{\bullet} \, (\text{lenta}) \end{split}$$

No entanto, a reação de substituição de NO• por água é lenta o suficiente para que seja possível observar uma redução por um segundo elétron, sendo assim

$$[Ru(NO)(NH_3)_5]^{2+} + e^- \rightarrow [Ru(NO)(NH_3)_5]^+$$

Sendo assim, é possível observar o processo NO<sup>+</sup>/NO<sup>•</sup> representado por a<sub>1</sub> e a<sub>2</sub> e também o par redox NO<sup>•</sup>/NO<sup>-</sup>, representado por b<sub>1</sub>/c<sub>1</sub> para o primeiro ciclo, e b<sub>2</sub>/c<sub>2</sub> para o segundo ciclo.

Anexo E. São apresentados dados com relação ao experimento de eletrólise exaustiva para o íon complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup> em solução de tampão fosfato pH 7,4.

Figura E.1. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de solução preparada em  $D_2O$ . Tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol  $L^{\text{-1}}$ ;  $\mu$  = 0,262 mol  $L^{\text{-1}}$  do íon complexo  $\textit{trans}\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{py})]^{3^+}$ .  $C_{\text{Ru}}$  =  $5x10^{\text{-3}}$  mol  $L^{\text{-1}}$ .

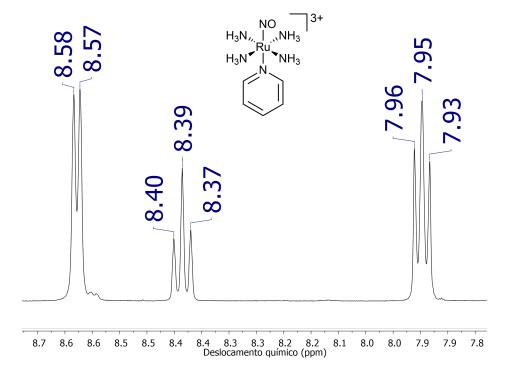


Figura E.2. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de solução preparada em  $D_2O$ . Tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol  $L^{-1}$ ;  $\mu$  = 0,262 mol  $L^{-1}$  do íon complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup> após eletrólise exaustiva. Potencial aplicado: -0,35 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>.  $C_{Ru}$  = 5x10<sup>-3</sup> mol  $L^{-1}$ .

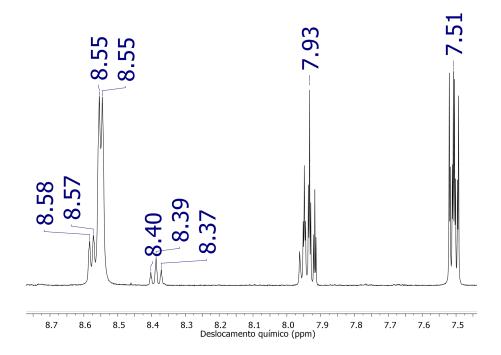
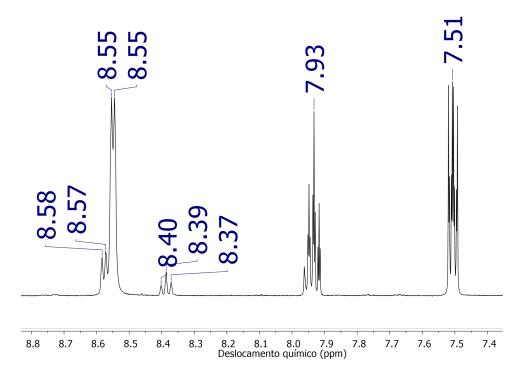


Figura E.3. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de solução preparada em  $D_2O$ . Tampão fosfato pH 7,4; 0,1 mol  $L^{-1}$ ;  $\mu = 0,262$  mol  $L^{-1}$  do íon complexo *trans*-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup> após eletrólise exaustiva com respectiva adição de solução de piridina.  $C_{Ru} = 5 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ .  $C_{py}^{final} = 2 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$ .



Com base no exposto nas figuras acima, é possível observar que pela aplicação de potencial -0,35 V vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub> há a labilização de piridina, pelo surgimento dos sinais em 8,55 ppm, 7,93 ppm e 7,51 ppm. E ainda, é verificada a atribuição dos sinais a piridina livre pela adição de solução de piridina, sem que haja a formação de novos sinais nessa região.

Sendo assim, a redução por um elétron do complexo trans- $[Ru(NO)(NH_3)_4(py)]^{3+}$  deve levar a formação tanto de óxido nítrico livre, quanto a formação do hidróxido complexo pelas reações

trans-[Ru(NO)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(py)]<sup>3+</sup> + e<sup>-</sup> + H<sub>2</sub>O → 
$$trans-[Ru(NO)(NH3)4(OH)]^{2+} + py^{\bullet-} + H3O^{+}$$