Gustavo Metzker

**Sobre a formação do ligante nitroxila e a reação de
transferência de óxido nítrico em tetraaminas de rutênio**

Tese apresentada ao Instituto de Química de
São Carlos da Universidade de São Paulo
como parte dos requisitos para a obtenção do
título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Douglas Wagner Franco

Área de Concentração: Química Analítica e
Inorgânica

São Carlos

2013

Dedicatória

À meus pais, Antonio e Carmen que sempre me apoiaram incondicionalmente e que através de muitos esforços e privações permitiram que eu chegasse até aqui;

À meu irmão Fabrício, que além de irmão é um grande amigo, companheiro e incentivador;

À minha tia Aparecida pelo constante incentivo e apoio;

À Natália e ao Bohr, pelo amor, carinho, paciência e incentivo durante essa jornada e por permitir que eu faça parte de suas vidas.

Agradecimentos

Ao Prof. Douglas pela orientação, amigável convivência, discussões e por sua fundamental contribuição em minha formação profissional.

Aos Professores Benedito, Ubirajara e Daniel Rodrigues Cardoso pela amigável convivência e pelas valiosas discussões durante esses anos.

Aos colegas do Laboratório de Química Inorgânica e Analítica, dos que já se “foram” aos aqui ainda presentes, pela prazerosa convivência, discussões e ajuda durante esses anos de jornada.

Aos colegas do Laboratório da Química da Aguardente pela agradável convivência.

Aos grandes amigos da “velha guarda” (Turma IQSC 2003) Pietro, Raphael e Bruno.

A Veroneide pela sua eterna disposição em ajudar e pela amizade.

A todo pessoal da Biblioteca, em especial a Bernadete, Eliana e Wilneide.

A Silvia, Andreia e Gustavo, da Comissão de Pós-Graduação pelo auxílio e apoio.

Aos todos os funcionários do IQSC (oficinas de apoio, CAQI, corpo administrativo) sem os quais este trabalho não teria condições de ser realizado.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Um agradecimento especial a minha “família ararense” (meu pai Antonio, minha mãe Carmen e ao meu irmão Fabrício) a minha tia Aparecida pelo seu grande apoio e incentivo durante todos os anos desta jornada e para minha “família são-carlense” (Natália, minha noiva e ao Bohr, nosso cachorro) pelo amor, carinho e compreensão.

"Mantenha-se simples, bom, puro, sério, livre de afetação, amigo da justiça, temente aos deuses, gentil, apaixonado, vigoroso em todas as suas atitudes. Lute para viver como a filosofia gostaria que vivesse. Reverencie os deuses e ajude os homens. A vida é curta."

Marcus Aurelius

"Carefully watch your thoughts, for they become your words. Manage and watch your words, for they will become your actions. Consider and judge your actions, for they have become your habits. Acknowledge and watch your habits, for they shall become your values. Understand and embrace your values, for they become your destiny."

Mahatma Gandhi

Resumo

Foram estudadas as reações de formação do NO^- / HNO , estados de spin e reatividade frente a redutores dos complexos $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})](\text{X})_n$ onde L = N-heterocíclicos (IsN, Nic e ImN) ou éster de fósforo ($\text{P}(\text{OEt})_3$). O potencial para o par redox $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^0)]^{n+} / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^-)]^{(n-1)+}$ foi identificado somente para $\text{L} = \text{P}(\text{OEt})_3$ com valor de $E_p = -0,41\text{V}$. Cálculos DFT indicaram que após a redução, a espécie singlete coordenada (NO^-) é formada por ser mais estável que forma tripleto ($^3\text{NO}^-$), sendo imediatamente protonada, dando origem a espécie singlete protonada (^1HNO) não havendo, portanto proibição de spin para a reação de protonação do ligante, indicando comportamento diferente do observado para o ligante livre, onde a espécie $^3\text{NO}^-$ é a mais estável. Após a redução química por $\text{Zn}(\text{Hg})$, a espécie N_2O , produto da dimerização do HNO , pôde ser identificada indicando a liberação de HNO pelo complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$. A reação de transferência de óxido nítrico entre os nitrosilo complexos onde $\text{L} = \text{IsN}$, Nic, ImN, $\text{P}(\text{OEt})_3$, $\text{P}(\text{OMe})_3$, $\text{P}(\text{OIsP})_3$ e $\text{P}(\text{OH})(\text{OEt})_2$ e espécies de $\text{Fe}(\text{III})$ (mioglobina, hemoglobina e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$) foi investigada, indicando a reação de nitrosilação redutiva das espécies de $\text{Fe}(\text{III})$, gerando como produtos os respectivos nitrosilo complexos de $\text{Fe}(\text{II})$ e $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$. A espécie binuclear $[\text{Ru}^{\text{II}}(\mu\text{-NO})\text{Fe}^{\text{III}}]$ foi proposta com base em resultados obtidos por polarografia de pulso diferencial (PPD) e a análise do comportamento cinético desta reação cujas constantes de velocidade específica para a formação e decaimento foram calculadas. Diferentemente das outras reações de transferência de NO descritas na literatura, foi observada a oxidação do centro metálico (Ru^{II}), indicando que o ligante NO^+ pode agir como ponte para a transferência de elétrons. Esta reação pode ser uma via alternativa para a nitrosilação redutiva de heme proteínas, uma das principais vias de ação biológica do NO .

Abstract

The formation reaction of NO^- / HNO , spin states and reactivity towards reducing agents of the complex $\text{trans}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ where $\text{L} = \text{N-heterocyclic (IsN, Nic and ImN) or phosphorus ester (P(OEt)}_3\text{)}$. The redox potential for the redox pair $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO})]^{n+} / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^-)]^{(n-1)+}$ was identified only for $\text{L} = \text{P (OEt)}_3$ with $E_p = -0.41 \text{ V}$. DFT calculations have indicated that upon reduction, the coordinated singlet species ($^1\text{NO}^-$) is formed to be more stable than the triplet form ($^3\text{NO}^-$), being immediately protonated giving rise to singlet protonated species (^1HNO). The protonation of coordinated $^1\text{NO}^-$ is not a spin forbidden reaction, indicating the different behavior observed for the free ligand, $^3\text{NO}^-$ where the species is more stable. After the chemical reduction of Zn(Hg) , the s N_2O , a HNO dimerization product, could be identified, indicating HNO release from the complex $\text{trans}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$. The nitric oxide transfer reaction between nitrosyl complexes where $\text{L} = \text{IsN, Nic, ImN, P(OEt)}_3, \text{P(OMe)}_3, \text{P(OIsp)}_3 \text{ e } \text{P(OH)(OEt)}_2$ and Fe(III) species (myoglobin, hemoglobin, and $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$) was investigated, indicating the reductive nitrosylation reaction of species of Fe(III) species, generating as by-products iron-nitrosyl complexes and $\text{trans}[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$. The binuclear species $[\text{Ru}^{\text{II}}(\mu\text{-NO})\text{Fe}^{\text{III}}]$ could be identified through electrochemical techniques and their specific rate constants for its formation and decay were calculated. Unlike other NO transfer reactions described in the literature, was observed the oxidation of the metallic center (Ru^{II}), indicating that the NO^+ ligand can act as a bridge for electron transfer. This reaction may be an alternative pathway for the reductive nitrosylation of heme proteins, one of the major routes for biological action of NO .

Lista de Figuras

Figura 1	A: Estrutura das tetraaminas de rutênio contendo nitrosônio (NO^+) como um dos ligantes em uma das posições axiais. B: ligantes (L) N-heterocíclicos e ésteres de fósforo utilizados neste trabalho.	2
Figura 2	Diagramas de orbital molecular simplificados para as possíveis espécies de $\text{NO}^{(n)}$ coordenadas ao centro metálico de Ru(II).	4
Figura 3	Diagrama de energia livre de formação, pK_a e potencial redox para as várias espécies do íon nitroxila. Adaptado da referência 26.	7
Figura 4	Principais doadores orgânicos de HNO. Adaptado das referências 21 e 32.	9
Figura 5	Exemplos de complexos metálicos contendo NO^-/HNO coordenado.	10
Figura 6	Voltamograma cíclico da solução contendo o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$. (—) 1º ciclo; (—) 2º ciclo; $C_{\text{Ru}} = 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 4,2$; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$); $T = (2,5 \pm 0,2)^\circ\text{C}$.	31
Figura 7	Diagrama de energia, calculada através de método <i>ab initio</i> , para as várias isoformas do íon nitroxila não coordenado. ⁹⁴	39
Figura 8	Diagrama de energia, calculado através de método <i>ab initio</i> , para as várias isoformas do íon nitroxila coordenado ao complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{X})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{n+}$ ⁹⁴	40
Figura 9	Diagramas de orbital molecular simplificados para o íon nitroxila, livre e coordenado, para os estados de spin singleto e tripleto para o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^-)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^+$. As interações σ e π com o ligante $\text{P}(\text{OEt})_3$ foram omitidas para maior simplicidade do diagrama.	43
Figura 10	Cronoamperograma da reação entre o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e Eu^{2+} (curva em vermelho) e $\text{Zn}(\text{Hg})$ (curva em preto). $C_{\text{Ru}} = 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{\text{Eu(II)}} = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 4,2$; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$); $T = (25,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$. Seta indica a adição de amalgama ou Eu(II).	48
Figura 11	Espectros de UV-Vis da reação entre o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $\text{Zn}(\text{Hg})$. $C_{\text{Ru}} = 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 4,2$; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$); $T = (25,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$. Uma hora de reação.	49

Figura 12	Voltamograma de pulso diferencial da reação entre o íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ e Zn(Hg) após 30 minutos (curva em preto). Curva em vermelho: solução saturada de N_2O . $C_{Ru} = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; pH=4,2; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (CH_3COOH/CH_3COONa); $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$; Amp. pulso = 50 mV; $T = (2,5 \pm 0,2) ^\circ C$.	50
Figura 13	Estrutura química do complexo $[Fe^{III}(Cl)TPPS]$	56
Figura 14	Espectros de UV-Vis de soluções contendo o íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ e A: met-Mb; B: $[Fe^{III}(H_2O)TPPS]$ e C: Hb. A: $C_{Ru} = 3,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{met-Mb} = 7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; B: $C_{Ru} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{[Fe^{III}(H_2O)TPPS]} = 2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; Inset: região espectral ampliada de 475 a 625 nm da $[Fe^{II}(NO^+)TPPS]$. C: $C_{Ru} = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{[Hb]} = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; Todos experimentos realizados em pH = 4,0; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (CH_3COOH/CH_3COONa); $T = (25,0 \pm 0,2) ^\circ C$.	58
Figura 15	Espectro de EPR em banda X para a reação entre a met-Mb e o complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$. $C_{met-Mb} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $C_{Ru} = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. pH = 4,0; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = -196 ^\circ C$. Frequência de micro-ondas = 9,485 GHz; amplitude de modulação: 5G. A: primeira derivada; B: espectro de absorção.	60
Figura 16	Voltamogramas cíclicos obtidos durante o curso da reação entre os complexos $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ e $[Fe^{III}(H_2O)TPPS]$, mostrando a formação do complexo $trans-[Ru^{III}(H_2O)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$. $C_{[Fe^{III}TPPS]} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ $C_{Ru} = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; pH = 4,0; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (CH_3COOH/CH_3COONa); $T = (25,0 \pm 0,2) ^\circ C$. Eletrodo de carbono vítreo.	61
Figura 17	Gráfico de absorbância normalizada em relação ao tempo para a reação entre o íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ e A: $[Fe^{III}(H_2O)TPPS]^{3-}$ $C_{[Fe^{III}(H_2O)TPPS]} = 5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ - Fe : Ru: (■):1:10; (●):1:20; (▼):1:30; (▲):1:40. B: met-Mb – $C_{met-Mb} = 1,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ - Fe : Ru: (■):1:60; (●):1:80; (▼):1:100; (▲):1:120. C Hb - $C_{Hb} = 1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ – Fe : Ru (■):1:10; (●):1:20; (▼):1:25; (▲):1:30.	63

Figura 18	Espectros de EPR da solução do íon complexo $trans-[Ru(NO)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ e met-Mb. $C_{met-Mb} = 7,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{Ru} = 3,75 \times 10^{-3}$. (—): $t = 250 \text{ s}$; (—): $t = 750 \text{ s}$; (—): $t = 1000 \text{ s}$; (—): $t = 1500 \text{ s}$; $pH = 4,0$; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = -196^\circ\text{C}$.	67
Figura 19	Correlação entre os potenciais $E^{0'}_{(Fe^{III}/Fe^{II})}$ e valores de constantes de velocidade específica reação entre espécies de Fe(III) e o íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$.	69
Figura 20	Polarogramas de pulso diferencial obtidos em função do tempo para a reação entre $trans-[Ru(NO)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ e $[Fe^{III}(H_2O)TPPS]$. $C_{Ru} = 7,15 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{[Fe^{III}TPPS]} = 7,15 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. $pH = 4,0$, $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, (CH_3COOH/CH_3COONa) ; $T = (25,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$. (a) 1; (b) 9; (c) 60 e (d) 120 minutos após a mistura. Eletrodo de mercúrio (Modo Estático).	71
Figura 21	Gráfico das correntes de pico em função do tempo para os processos eletroquímicos observados durante a reação entre $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ e $[Fe^{III}(H_2O)TPPS]$. As correntes foram normalizadas para o ajuste não linear. Não indica que as correntes de pico para os processos $E^{0'}_{prod}$ e $E^{0'}_{int}$ atingiram os mesmos valores máximos.	72
Figura 22	Estrutura otimizada utilizando cálculo DFT para o complexo binuclear.	75
Figura 23	Superfície de contorno para o HOMO-12.	78
Figura 24	Espectro de EPR para o sólido isolado da reação entre $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ e $[Fe^{III}(H_2O)TPPS]$. Frequência de micro-ondas = 9,784 GHz; amplitude de modulação: 1G. $T = 10\text{K}$. Insert: região de 900 a 1500 Gauss ampliada 6 vezes.	80

Lista de Tabelas

Tabela 1	Valores de constantes de velocidade específicas para a liberação de NO (k_{NO}) nos íons complexos <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (L)] ³⁺ .	30
Tabela 2	Energia e composição dos orbitais não ocupados (LUMO) para o íon complexo <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁰)(NH ₃) ₄ (P(OEt) ₃)] ²⁺ .	32
Tabela 3	Potenciais de redução (E_p) e constantes específicas de liberação de NO e HNO (k) para os íons complexos <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (L)] ³⁺	34
Tabela 4	Potenciais de redução (E_p) e constantes específicas de liberação de NO e NO ⁻ (k) para os complexos <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (P(OEt) ₃)] ³⁺ e [Fe ^{II} (NO ⁺)(CN) ₅] ²⁻ .	35
Tabela 5	Valores de pK_a o ligante pirazina (pz) para os complexos <i>trans</i> -[Ru ^{II} (L) _n (pzH) _m] ⁿ	37
Tabela 6	Relação entre o número de equivalentes adicionados e a produção de NO para o íon complexo <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (P(OEt) ₃)] ³⁺ em solução.	47
Tabela 7	Constantes de velocidade específicas ^(a) para a reação entre os complexos <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (L)] ⁿ⁺ e [Fe ^{II} (NO ⁺)(CN) ₅] ²⁻ e espécies de Fe(III). Potenciais $E^{0'}_{\text{NO}^+/\text{NO}^0}$ para estes nitrosilos ^(b) .	66
Tabela 8	Potenciais de redução $E^{0'}_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$ para as espécies de Fe(III) utilizadas neste estudo.	68
Tabela 9	Possíveis espécies eletroativas para a reação entre a [Fe ^{III} (H ₂ O)TPPS] e o íon complexo <i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ (P(OEt) ₃)] ³⁺ em solução aquosa.	73
Tabela 10	Energia e composição de alguns orbitais moleculares obtidos para a estrutura otimizada para o complexo binuclear.	76

Lista de Abreviaturas

DFT	Density Function Theory (Teoria do Funcional de Densidade)
EPR	Electron Spin Resonance (Ressonancia Paramagnetica de Eletrons)
ENH	Eletrodo Normal de Hidrogenio
ImC	Imidazol coordenado pelo átomo de carbono
hist	Histidina
pz	Pirazina
met-Mb	Mioglobina onde centro metálico de Fe está no estado de oxidação 3+
DMPS	2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato
MGD	N-metil-D-glucamina-ditiocarbamato
Nic	Nicotinamida
IsN	Isonicotinamide
ImN	Imidazol coordenado pelo átomo de hidrogênio
TPPS	Tetra-fenil-porfirina-sulfonada
Hb	Hemoglobina humana
Zn(Hg)	Amálgama de zinco-mercúrio
HTFA	Ácido trifluoroacético
B3LYP	Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr
DGDZVP	Duplo Degauss Duplo Zeta Valência Polarizada
TGDZVP	Triplo Degauss Duplo Zeta Valência Polarizada
PCM	Polarizable Continuum Model

Sumário

1	Introdução	1
1.1	Rutênio: tetraaminas e nitrosilo complexos	1
1.2	O íon nitroxila (NO^-/HNO)	6
1.3	Reações de transferência de NO	13
2	Objetivos e Justificativa	15
2.1	Objetivos	15
2.2	Justificativa	16
3	Materiais e Métodos	17
3.1	Instrumentação	17
3.2	Reagentes	18
3.3	Soluções	19
3.3.1	Soluções de ácido trifluoroacético (HTFA)	19
3.3.2	Soluções de Eu(II)	19
3.3.3	Soluções saturadas de óxido nitroso (N_2O)	19
3.3.4	Soluções padrão e curva de calibração de zinco	19
3.4	Métodos	20
3.4.1	Tratamento do argônio e manipulações em atmosfera inerte	20
3.4.2	Amálgama de Zinco (Zn(Hg))	20
3.4.3	Experimento para a quantificação de zinco na reação entre Zn(Hg) e $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P(OEt)}_3)]^{3+}$	21
3.4.4	Purificação da mioglobina (met-Mb) e hemoglobina humana (Hb)	21
3.5	Sínteses dos complexos	22
3.5.1	Síntese do complexo $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{NH}_3)_5]\text{Cl}_2$	22
3.5.2	Síntese do complexo $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{Cl})(\text{SO}_2)(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}$	22
3.5.3	Sínteses dos complexos $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})](\text{BF}_4)_3$ ($\text{L} = \text{N- Heterocíclico}$)	23
3.5.4	Síntese do complexo $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P(OR)}_3)](\text{PF}_6)_3$ ($\text{R} = \text{Metil e Etil}$)	24
3.5.5	Síntese do complexo $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P(OIsp)}_3)](\text{PF}_6)_3$	25
3.5.6	Síntese do complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Cl})\text{TPPS}]$	26
3.5.7	Tentativa de isolamento do complexo binuclear $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS- Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P(OEt)}_3)](\text{PF}_6)_2$	26

3.6	Cálculos <i>ab initio</i>	27
3.7	Tratamento Cinético	27
4	Resultados e Discussão	29
4.1	Sobre a formação, liberação e estados de spin do NO ⁻ / HNO coordenados a tetraaminas de rutênio	29
4.1.1	Redução eletroquímica dos íons <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (L)] ⁿ⁺	29
4.1.2	Estados de spin do ligante nitroxila	38
4.1.3	Redução química do íon <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (P(OEt) ₃)] ³⁺	46
4.1.4	Conclusões Parciais	52
4.2	Reações de transferência de NO entre complexos <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (L)] ³⁺ e espécies de Fe(III)	54
4.2.1	Reação entre nitrosilos complexos e met-mioglobina	54
4.2.2	Identificação e quantificação dos produtos da reação entre os <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (L)] ³⁺ e espécies de Fe(III)	55
4.2.3	Estudo cinético da reação entre os complexos <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (P(OR) ₃)] ³⁺ e as espécies de Fe(III)	62
4.2.4	Identificação e cálculos <i>ab initio</i> do intermediário da reação entre os complexos <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (L)] ³⁺ e espécies de Fe(III)	70
4.2.5	Análise do sólido obtido para a reação entre <i>trans</i> -[Ru ^{II} (NO ⁺)(NH ₃) ₄ (P(OEt) ₃)] ³⁺ e [Fe ^{III} (H ₂ O)TPPS].	79
4.2.6	Conclusões Parciais	81
5	Considerações Finais e Perspectivas	82
6	Referências Bibliográficas	84
	Apêndice I	96
	Apêndice II	98
	Apêndice III	99
	Apêndice IV	100

1. Introdução

1.1 Rutênio: tetraaminas e nitrosilo complexos

As tetraaminas de rutênio são um modelo bastante útil para o estudo sistemático de reatividade em química de coordenação.¹⁻³ Tal característica se deve ao fato das amônias que ocupam o plano equatorial serem inertes (inocentes) a reações de substituição.¹⁻³ Assim, a modelagem destes compostos permite o estudo sistemático do efeito e influência *trans*, reações de substituição, oxirredução e do ataque nucleofílico e eletrofílico dos ligantes na posição axial.¹⁻⁵

Nitrosilo complexos de rutênio são espécies onde um dos ligantes foi substituído pelo íon nitrosônio (NO^+). Tratando-se das tetraaminas, estes complexos possuem formula geral *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ (Figura 1A). A semelhança das aminas de cobalto, suas vias de síntese e reatividade tem merecido atenção ao longo de décadas.^{3,6-8} A presença do ligante NO^+ (que possui orbitais de simetria $p\pi^*$ vazios) e do centro metálico de rutênio no estado de oxidação 2+ (configuração d^6 baixo spin com orbitais de simetria $d\pi$ completamente preenchidos) permite a formação de uma interação de caráter ligante entre o centro metálico de Ru(II) e o ligante NO^+ . Esta retrodoação fortalece de forma intensa a ligação Ru–NO, podendo esta ser interpretada como formalmente uma ligação dupla, conforme resultados de cálculo utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT) para estes complexos.³ De forma geral, estes complexos são estáveis em solução aquosa e na presença de oxigênio, não ocorrendo a oxidação do centro metálico de Ru(II) à Ru(III), além de serem classificados como inertes a reações de substituição, seja do NO^+ ou seja do ligante *trans*.³

A variação do ligante L permite a modulação de parâmetros termodinâmicos (potencial de redução do ligante nitrosônio coordenado, frequência de estiramento da ligação

Introdução

$\text{N}\equiv\text{O}$) e cinéticos em respeito à velocidade de liberação de NO após a reação de redução do NO^+ coordenado. Estas modificações permitem que a reatividade destes compostos seja controlada. A Figura 1B mostra alguns N-heterocíclicos e ésteres de fósforo utilizados como ligantes *trans* ao NO^+ neste trabalho.

Figura 1 – A: Estrutura das tetraaminas de rutênio contendo nitrosônio (NO^+) como um dos ligantes em uma das posições axiais. B: ligantes (L) N-heterocíclicos e ésteres de fósforo utilizados neste trabalho.

Segundo Felthan e Enemark⁹, compostos de coordenação que apresentam NO^+ na esfera de coordenação podem ser classificados como $\{\text{M}(\text{NO})\}^6$. Esta classificação indica o número de elétrons totais presentes nos orbitais de simetria $d\pi$ do metal e $p\pi^*$ do ligante. Assim, em espécies onde o óxido nítrico (NO) está coordenado ao centro metálico seriam classificadas como $\{\text{M}(\text{NO})\}^7$. Os nitrosilos de rutênio, são classificados como $\{\text{Ru}(\text{NO})\}^6$.

Introdução

Outro ponto importante de discussão é o ângulo de ligação entre o centro metálico e o ligante NO. Quando na forma de nitrosônio, este ângulo aproxima-se de 180°. Esta posição permite uma interação mais efetiva entre os orbitais $d\pi$ do metal e $p\pi^*$ do ligante, permitindo uma retrodoação mais intensa. Quando na forma de NO, este ângulo afasta-se de 180°, indicando uma sobreposição menos efetiva dos orbitais e, portanto uma retrodoação menos efetiva. A diminuição da extensão da retrodoação enfraquece a ligação [M–NO], permitindo assim a dissociação do NO do centro metálico.³

Apesar de sua aparente robustez em solução, estes compostos podem sofrer reação de substituição após a redução por um elétron do ligante NO^+ , segundo (Eqs. 1 e 2):

A alteração do ligante L *trans* posicionado ao NO^+ permite variar seu potencial de redução, $E^0_{(\text{NO}^+/\text{NO}^0)}$, de -0,29 (L = ImC) à +0,11 V vs. ENH (L = P(OEt)₃) (Eq.1) e a velocidade de dissociação do NO de $2,0 \times 10^{-2}$ (L = 4-pic) à $0,98 \text{ s}^{-1}$ (L = P(OEt)₃) (Eq. 2).

Após a primeira redução do ligante nitrosônio a óxido nítrico, a reação de dissociação do NO ocorre com tempos de meia vida diversos, reflexo dos diferentes valores de k_{NO} mencionados anteriormente. Ainda persiste a possibilidade de uma segunda redução do ligante NO coordenado, dada a presença de um orbital de caráter antiligante vazio, fruto da interação entre os orbitais de simetria $p\pi^*$ do ligante NO^+ com os orbitais de simetria $d\pi$ do metal.³ O diagrama de orbital molecular simplificado da Figura 2 ilustra esses orbitais.

Figura 2 – Diagramas de orbital molecular simplificados para as possíveis espécies de $\text{NO}^{(n)}$ coordenadas ao centro metálico de Ru(II) .

Assim, a reação representada pela Eq.3 é factível de ocorrer, sugerindo que estes compostos sejam capazes de liberar NO e NO^- (nitroxila) após a primeira e segunda redução do ligante respectivamente.

Introdução

Outra reação relevante de ocorrer nesta classe de compostos é o ataque nucleofílico de íons hidroxila.^{10,11} Este ataque pode ocorrer sobre o ligante NO^+ , gerando como produto o nitrito complexo equivalente $\text{trans}-[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}_2)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{(n-1)+}$, segundo (Eq.4):

A constante específica de ataque para a reação mostrada na Eq.4 foi calculada^{10,11} sendo que os valores obtidos variaram de $7,6 \times 10^{-1}$ (L = hist) a $1,77 \times 10^2$ (L = pz). Relata-se uma correlação entre as constantes de velocidade obtidas e os valores numéricos de potencial de redução do ligante NO^+ : quanto mais positivo o potencial de redução do ligante NO^+ (e, portanto maior o carácter positivo do ligante NO^+) maior a constante de velocidade para o ataque nucleofílico.

Ainda tratando-se do ataque nucleofílico de íons hidroxila, este pode ocorrer simultaneamente sobre o ligante NO^+ e o ligante *trans*, quando L = $\text{P}(\text{OR})_3$, gerando uma mistura dos compostos $\text{trans}-[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_4]^{3+}$ e $\text{trans}-[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{2+}$ na proporção 60:40, respectivamente.¹² Além disso, o mesmo ataque nucleofílico pode ser observado no complexo $\text{trans}-[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)](\text{PF}_6)_3$, mesmo no estado sólido, gerando como produtos principais $\text{trans}-[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OH})(\text{OEt})_2)](\text{PF}_6)_3$ e etanol.¹²

Dada a possibilidade de ativação destes compostos por redução de um elétron e a consequente liberação de óxido nítrico, estes foram conduzidos a testes *in vitro* e *in vivo* contra doenças causadas por parasitas¹³⁻¹⁶ (doença de Chagas e leishmaniose), bactérias (tuberculose) e câncer.¹⁷ Além disto, testes recentes destes compostos mostraram-se bem sucedidos em sistemas modelos de inflamação e dor em animais.¹⁸

No entanto, a possibilidade da segunda redução do óxido nítrico coordenado levando a formação do ligante nitroxila é ainda praticamente inexplorada neste e em outros sistemas. A liberação seletiva de óxido nítrico e ou nitroxila é de grande relevância, visto que estas moléculas apresentam funções fisiológicas distintas e até mesmo complementares.¹⁹ Além disto, dados sobre a química fundamental do ligante nitroxila são escassos na literatura e estes são aspectos importantes de serem discutidos, principalmente os estados de “spin” e a protonação deste ligante, que serão abordados a seguir.

1.2 O íon nitroxila (NO^-/HNO)

O íon nitroxila (NO^-) e sua forma ácida (HNO) têm despertado maior atenção na última década, principalmente após a constatação que estes participam de processos fisiológicos^{20,21} dentre os quais a vasodilatação, a sinalização cerebral e atividade anticancerígena.²²⁻²⁴

A química do íon nitroxila é marcadamente diferente da química do NO .²⁵ Do ponto de vista da reatividade química, comparando-se o íon nitroxila ao óxido nítrico, a adição de um elétron no orbital $p\pi^*$ faz com que este íon tenha tempo de vida reduzido em solução ($t_{1/2} = 20$ milissegundos).²⁶ Trata-se de um nucleófilo mais potente que o óxido nítrico, apresentando nitrosação redutiva, além de contrariamente ao NO , apresentar equilíbrio ácido-base.²⁷ Além de apresentar reatividade química diferente, no âmbito fisiológico a ação do íon nitroxila é bastante distinta da apresentada pelo óxido nítrico.^{27,28}

Como exemplos desta diferença, pode-se citar a ação vasodilatadora e a acentuada reatividade frente a tióis. O íon nitroxila apresenta função vasodilatadora venosa, em contraste a função vasodilatadora arterial do NO .²⁷ O NO reage lentamente com grupos tióis, sendo um

Introdução

agente modificador ineficaz de proteínas que contem esse grupo; contrariamente o íon nitroxila reage rapidamente com tióis, sendo um importante agente nitrosilante de proteínas.²⁸

Outro aspecto importante do íon nitroxila são suas duas possíveis configurações de spin.^{26,29} Através de cálculos DFT, *ab initio*, e experimentos espectroscópicos foi possível identificar e classificar as várias isoformas do íon nitroxila^{26,29}, quanto a sua energia livre de formação, valor de pK_a e potencial redox, referentes a reação de redução por um elétron do óxido nítrico.²⁹ A Figura 3 ilustra o diagrama de energia para as várias isoformas do íon nitroxila.

Figura 3 – Diagrama de energia livre de formação, pK_a e potencial redox para as várias espécies do íon nitroxila. Adaptado da referência 26.

Segundo a literatura²⁶, a forma energeticamente mais estável do íon nitroxila é a forma protonada singlete (1HNO), seguida da forma desprotonada tripleto ($^3NO^-$). O valor de pK_a calculado para esta reação é de 11,4.^{26,29} Portanto, em meio em que o $pH \approx 7,4$, o íon nitroxila encontra-se protonado e na forma singlete.

Em solução aquosa, o HNO sofre reação de dimerização (Eq. 5), originando como produto a espécie N₂O com constante de velocidade específica $k_{\text{dim}} = 8 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 25°C.^{28,30}

Portanto, o aumento da concentração local de HNO facilita o seu consumo, gerando óxido nitroso e diminuindo os possíveis efeitos farmacológicos desta molécula.³¹

Outro aspecto importante relacionado ao íon nitroxila é o seu equilíbrio ácido-base. Este equilíbrio difere da maioria absoluta das reações deste tipo, pois envolve a mudança do estado de spin, tornando-a, portanto, lenta (Eq. 6).

Como o tempo de meia vida da espécie nitroxila em solução é da ordem de milissegundos²⁶, caso a forma desprotonada fosse gerada em solução esta dificilmente seria protonada. Além disso, como a forma singleto protonada é energeticamente mais estável que a espécie tripleto protonada, esta será a espécie presente em solução. Assim, quando tratarmos do íon nitroxila em solução estaremos nos referimos à espécie ¹HNO.²⁸

Devido a sua atividade biológica, moléculas doadoras de HNO têm sido sintetizadas, caracterizadas e testadas *in vitro* e *in vivo*.^{21,27,31,32} Dentre essas moléculas, destacam-se os nitróxidos orgânicos e seus derivados, como mostrado na Figura 4.

Figura 4 – Principais doadores orgânicos de HNO. Adaptado das referências 21 e 32.

As sínteses dos sais de Angeli e de Piloty (Figura 4, A) são conhecidas desde o final do século XIX.³¹ Porém, somente na década de 70 do século passado lhes foi atribuído à capacidade de liberar HNO quando em solução.³³ A partir da metade da década de 90, foram sintetizados e caracterizados outros doadores de HNO (Figura 4, B) destacando-se em ordem cronológica: as isopropilaminas substituídas³⁴; os nitrosos de acila³⁴; os nitrosos de aciloxila³⁵ e as hidroxilaminas substituídas.³² Apesar de liberarem HNO em solução, estas espécies apresentam diversas limitações, tais como a baixa estabilidade térmica e fotoquímica (sólido e solução); a formação de subprodutos tóxicos e a liberação de HNO de forma pouco controlada, gerando concentrações locais elevadas desta molécula.^{34,35}

Por outro lado, a síntese, a caracterização, a reatividade e a capacidade de liberação de HNO por complexos metálicos pouco têm sido explorada na literatura. Exemplos de complexos contendo NO⁻ ou HNO coordenados podem ser encontrados na literatura com os seguintes metais: Fe(II)³⁶⁻⁴⁰; Ru(II)⁴¹⁻⁴⁴; Os(II)⁴⁵⁻⁴⁷; Re(I)⁴⁷⁻⁴⁹; Ir(III)⁵⁰; Co(III)⁵¹⁻⁵⁴; Cr(III)⁵⁵⁻⁵⁷, Pt(VI)⁵⁸ e Rh(I).⁵⁹ Alguns exemplos encontram-se na Figura 5. No entanto existem limitações

Introdução

para a utilização destas espécies como doadores de HNO tais como baixa labilidade da espécie nitroxila e a baixa solubilidade em água destes compostos.¹⁷⁻¹⁹

Figura 5 – Exemplos de complexos metálicos contendo NO⁻/HNO coordenado.

Introdução

Os compostos representados na Figura 5, juntamente com os demais complexos contendo HNO coordenado aos metais anteriormente citados apresentam NO^-/HNO na sua esfera de coordenação conforme confirmado através de suas estruturas de raios-X (ângulo $\text{M-N(H)O} < 180^\circ$) e estiramento no infravermelho ($\nu\text{N}\equiv\text{O}$) em torno de 1300 cm^{-1} característico de NO^-/HNO coordenado.²⁹ Todos apresentam configuração d^6 baixo spin, portanto classificados como $\{\text{M}(\text{NO})\}^8$ pela definição de Feltham-Enemark.⁹ Esta configuração estabiliza as espécies $\text{NO}^{(n)}$, visto que permite uma melhor interação σ e a retrodoação para os orbitais $p\pi^*$ do ligante $\text{NO}^{(n)}$. Considerando-se o NO^- como ligante ocorreria uma diminuição na intensidade da retrodoação $[\text{M}\rightarrow\text{NO}^{(n)}]$, pois neste caso os elétrons estariam alocados nos orbitais antiligantes. Quanto maior a carga negativa do ligante $\text{NO}^{(n)}$, mais o ângulo de ligação $[\text{M}-\text{NO}^-]$ se afasta do valor de 180° , ângulo este onde a retrodoação é considerada menos efetiva.⁹ No entanto, estudo recente utilizando cálculos *ab initio* para uma série de complexos de metais de transição contendo HNO coordenado indicaram a possibilidade de retrodoação para o HNO, a qual seria em grande parte a responsável pela ligação entre o metal e o íon nitroxila.⁶⁰ Trata-se, portanto, de ponto controverso na literatura a existência e a extensão da retrodoação do metal ao íon nitroxila.

Quanto a reatividade do HNO coordenado, o estudo mais completo até o presente momento trata do íon complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^-)(\text{CN})_5]^{4-}$, onde foram explorados aspectos eletroquímicos, térmicos e fotoquímicos deste íon.⁶¹ No entanto, dada a necessidade de gerar este íon *in situ* para os estudos (tal complexo não pôde ser isolado) e sua relativa instabilidade ($t_{1/2} \approx 50$ minutos), estudos mais profundos não puderam ser realizados. Apesar deste fato, um dado importante obtido para este complexo foi à estimativa da constante específica de saída do NO^- / HNO da esfera de coordenação, cujo valor é $< 4,7 \times 10^{-7}\text{ s}^{-1}$ indicando a baixa labilidade do ligante.

A identificação e principalmente a quantificação do íon nitroxila não são triviais, dada a sua fugacidade em solução.²⁷ Assim, a busca por métodos analíticos para a sua identificação, direta ou indireta, é tema atual. O método mais comumente utilizado para tanto é a identificação da molécula de N₂O, produto da dimerização do íon nitroxila em meio aquoso (Eq. 5).

A reação representada pela Eq. 5 possui uma constante de velocidade de segunda ordem³⁰ de $8 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e a identificação de N₂O pode se efetuada eletroquimicamente através da redução de N₂O a N₂⁶², pela sua análise empregando cromatografia gasosa hifenada a espectrometria de massas⁶³ ou por suas bandas características no infravermelho.⁶⁴ No entanto, estes métodos possuem restrições quanto aos seus aspectos quantitativos.

Além dos métodos descritos anteriormente, foi proposta na literatura a utilização da proteína met-mioglobina (met-Mb) como captador de HNO onde o átomo de ferro apresenta estado de oxidação formal 3+.⁶⁵ Esta reação se daria através de nitrosação redutiva da proteína, gerando como produto a mioglobina nitrosilada conforme mostrado na Eq.7. Este método pode ser considerado semi-quantitativo, pois através do coeficiente de absortividade molar da mioglobina nitrosilada pode-se estimar a concentração de HNO gerada no meio.⁶⁵ Métodos baseados em porfirinas de manganês também foram desenvolvidos e testados.⁶⁶

Recentemente foi proposta a utilização de fosfinas⁶⁷ como captadores químicos para o HNO. Este método tem se mostrado promissor, porém ainda restam alguns problemas relacionados com a solubilidade e a seletividade destes compostos. Dois métodos baseados em fluorescência também foram propostos, sendo um deles empregando complexo de Cu(II) que após a reação com HNO gera Cu(I), labilizando o ligante o qual emite fluorescência.⁶⁸ O

outro método baseia-se em nitronas modificadas que na presença de HNO geram produtos altamente fluorescentes.⁶⁹ Em ambos os casos os autores relatam a possibilidade de diferenciar HNO de NO, visto que a reatividade seria seletiva. No entanto, estes compostos podem sofrer reações de oxido-redução o que limitaria seu uso. Todos os métodos descritos ainda possuem limitações importantes a serem contornadas para sua aplicação *in vivo* ou em sistemas modelo mais complexos. Assim os métodos indiretos são ainda as únicas maneiras utilizadas para identificar a presença de HNO.

1.3 Reações de transferência de NO

Desde a descoberta das funções endógenas do NO a busca por doadores exógenos desta molécula tem sido busca constante de diversos grupos de pesquisa. Aliado a busca de tais moléculas, os mecanismos pelos quais estas podem modificar os receptores endógenos de NO, ou como se dá a liberação do NO tem sido explorado.

De forma geral, existem três mecanismos pelos quais o óxido nítrico pode ser liberado: i) espontaneamente; ii) induzido fotoquimicamente; iii) através de reações redox. Uma vez gerado em solução o óxido nítrico reage via nitrosilação ou nitrosilação redutiva com alvos biológicos, tais como Heme proteínas contendo Fe(II) ou Fe(III) respectivamente, que são os mecanismos mais aceitos atualmente para a ativação de tais proteínas.

Além dos mecanismos de nitrosilação e nitrosilação redutiva, um terceiro mecanismo pelo qual o NO poderia ativar Heme proteínas foi proposto onde o NO não seria liberado em solução, mas sim transferido de forma direta a outras moléculas. Dentre os doadores de NO já estudados e descritos na literatura estão os nitrosotióis (RSNO) derivados da cisteína reconhecidos como moléculas capazes de transferir diretamente o grupo NO para compostos de ferro(II) tais como $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{DMPS})]^{4-}$ e $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{MGD})_2]$ (DMPS: 2,3-dimercaptopropano-1-

Introdução

sulfonato; MGD: N-metil-D-glucamina-ditiocarbamato).^{70,71} Foram obtidas constantes de velocidade para estas reações onde os valores variaram entre 6,1 a 71 L mol⁻¹ s⁻¹.

De forma análoga aos nitrosotióis, alguns nitrosilos metálicos podem transferir NO.⁷²⁻

⁷⁴ Este tipo de reação ocorreria segundo (Eqs. 8 e 9):

A literatura indica que compostos de Co e Mn podem transferir NO para compostos de Fe, Co, Ni, Ru e Rh. Tratando-se de compostos de Fe, algumas Heme proteínas foram testadas e a reação também foi observada. Nestes casos, o ligante NO é transferido sem que ocorra a alteração do estado de oxidação dos centros metálicos^{73,74} e sem a mudança do estado de oxidação do fragmento NO, diferentemente da nitrosilação redutiva (Eq. 3), onde o centro metálico é reduzido e o fragmento NO se oxida. Além disso, dados cinéticos são escassos e a identificação do intermediário binuclear onde o NO atuaria como de ligante ponte nunca foi caracterizado.

A transferência do fragmento NO de forma direta entre dois centros metálicos pode ter em princípio uma grande relevância biológica, pois estaria diretamente envolvida na sinalização de processos fisiológicos onde o NO está envolvido. Além disso, a transferência direta do grupamento NO de um centro metálico a outro sem a necessidade de ativação do ligante nitrosênio poderia tornar a aplicação de nitrosilos metálicos mais ampla.

2. Objetivos e Justificativa

2.1 Objetivos

Sobre a formação do ligante nitroxila:

- Avaliar a possibilidade da segunda redução do ligante NO^+ , eletro e quimicamente, em complexos $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{\text{n}+}$, onde L = N-heterocíclicos tais como nicotinamida (Nic), isonicotinamide (IsN) e imidazol (ImN), ou o éster de fósforo $\text{P}(\text{OEt})_3$.
- Identificar, em caso positivo da segunda redução do ligante NO^+ , os produtos da reação, principalmente a formação de HNO .
- Em caso positivo da segunda redução do ligante NO^+ , estudar os estados de spin do ligante NO / HNO através de cálculos *ab initio*.

Sobre a reação de transferência de NO :

- Avaliar a possibilidade da transferência de NO em complexos $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{\text{n}+}$, onde L = N-heterocíclicos tais como nicotinamida (Nic), isonicotinamide (IsN) e imidazol (ImN), ou o éster de fósforo $\text{P}(\text{OEt})_3$, para espécies de $\text{Fe}(\text{III})$, tais como $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]^{4-}$, met-mioglobina (met-Mb) e hemoglobina (Hb).

Objetivos e Justificativa

- Caso a reação ocorra, identificar e quantificar os produtos da reação formados.
- Caso a reação ocorra, propor o mecanismo pelo qual a reação se processa, bem como tentar identificar o intermediário da reação.

2.2 Justificativas

A busca por complexos capazes de liberar NO^- / HNO é crescente, dada a descoberta de suas funções fisiológicas. Portanto, fontes exógenas de NO^- / HNO são requeridas. Uma vez que os complexos *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ já foram testados *in vitro* e *in vivo* como liberadores de óxido nítrico, possivelmente podem ser também uma plataforma para liberação de NO^- / HNO . Em vista dos resultados obtidos, propor modificações estruturais nos complexos para permitir a modulação do potencial de redução ($E^0_{\text{NO}^0/\text{NO}^-}$) e velocidade de liberação do NO^- / HNO , para futuramente desenvolver uma plataforma de compostos doadores de NO^- / HNO .

Quanto à transferência de NO, este estudo é importante para contribuir na elucidação do mecanismo de ação dos nitrosilo complexos *in vitro* e *in vivo*. Caso o NO possa ser transferido diretamente às espécies de Fe(III) sem a necessidade de serem ativados por redução, representaria uma via alternativa para a nitrosilação de heme proteínas, principais alvos do NO em meio biológico.

3 Materiais e Métodos

3.1 Instrumentação

Experimentos envolvendo espectrofotometria de UV-Vis foram executados nos seguintes espectrofotômetros: Hitachi, modelo U3501 ou Thermo Scientific, modelo Multiskan GO, utilizando cubetas de quartzo de caminho ótico de 1,00 cm.

Os espectros de IV foram obtidos em um espectrofotômetro BOMEM, MB-102, na região espectral de 4000 a 400 cm^{-1} . As pastilhas foram confeccionadas utilizando brometo de potássio (KBr), sendo estas preparadas no momento das medidas empregando-se concentração de complexo a 1% em massa em relação ao KBr.

Os experimentos eletroquímicos foram efetuados em um potenciostato/galvanostato PAR (Princeton Applied Research), modelo 264, utilizando cela de vidro encamisada para termostatização com água. O sistema era composto de três eletrodos, sendo utilizado carbono vítreo como eletrodo de trabalho (área = 0,56 cm^2), rede de platina como contra eletrodo e eletrodo de calomelano saturado ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ em solução saturada de KCl) como referência. Os valores de potencial foram convertidos para eletrodo normal de hidrogênio (ENH). Para os experimentos que demandaram o uso de eletrodo de mercúrio, foi utilizado um sistema marca PAR, modelo 303A, utilizando o sistema HMDE (Hanging Mercury Drop Electrode – Eletrodo de Mercúrio de Gota Pendente), com tamanho de gota médio (1,55 mm^2 , dado do fabricante).

Espectros de ^{31}P RMN foram obtidos em um espectrômetro Bruker, modelo AC-200, utilizando-se como padrão interno para fósforo o próprio contra-íon do complexo ($\delta_{\text{PF}_6^-} = -144,0$ ppm).

As análises de NO foram executadas utilizando dois equipamentos distintos. Para identificação, foi utilizado um sistema cronoamperométrico Nitric Oxide Measurement System, modelo inNOT, utilizando eletrodo seletivo a NO, modelo Amino700. Para quantificação de NO foi utilizado um equipamento de quimiluminescência Nitric Oxide Analyser GE Sievers, modelo 280i. O gás de arraste utilizado foi nitrogênio. A quantificação foi efetuada através de integração das curvas obtidas utilizando-se como padrão o nitrito de sódio reduzido a NO em uma solução contendo ácido acético glacial e iodeto de potássio. Os experimentos envolvendo o sistema NOA foram efetuados no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, sob supervisão do Prof. Dr. Elia Tfouni.

A quantificação de zinco em experimentos utilizando Zn(Hg) foi efetuada utilizando equipamento de absorção atômica Varian, modelo 240FS. A linha espectral de absorção utilizada foi 231,8 nm.

Os espectros de ressonância paramagnética de elétrons (RPE) foram efetuados em um espectrômetro Bruker, modelo EMXplus, acoplado a uma cavidade retangular, operando na banda X. As medidas que demandaram temperaturas abaixo as da ambiente foram efetuadas utilizando um “dedo-frio” de quartzo imergindo o tubo contendo a amostra diretamente em nitrogênio líquido (77K).

3.2 Reagentes

Os reagentes utilizados foram de procedência Sigma-Aldrich, Strem Chemicals ou Merck. Quanto aos solventes, de procedência J.T. Baker, Mallicrodt ou Panreac foram purificados, quando necessário, seguindo os procedimentos descritos na literatura.⁷⁵

3.3 Soluções

3.3.1 Soluções de ácido trifluoroacético (HTFA)

Todos os procedimentos foram executados em solução de ácido trifluoroacético pH = 4,0 ou 4,2, $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, ($\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CF}_3\text{COONa}$), exceto quando mencionado. As soluções foram preparadas utilizando-se água deionizada por um sistema Milli-Q.

3.3.2 Soluções de Eu(II)

As soluções de Eu(II) foram preparadas através da redução do óxido de Európio (Eu_2O_3 , pureza de 99.99%) em solução de ácido clorídrico desaerada contendo Zn(Hg). Após 20 minutos sob atmosfera de argônio, a redução de Eu(III) a Eu(II) se completou e a solução foi utilizada imediatamente.

3.3.3 Soluções saturadas de óxido nitroso (N_2O)

Soluções saturadas de N_2O (procedência White Martins, pureza 99.8%) foram obtidas borbulhando-se o gás diretamente em solução pH = 4,2 a $(2,5 \pm 0,2)^\circ\text{C}$ durante 30 minutos.

3.3.4 Soluções padrão e curva de calibração de zinco

Para análise de zinco em solução aquosa, uma curva de calibração foi preparada utilizando solução padrão de Zn^{2+} (1000 mg L^{-1} de Zn^{2+} em HNO_3 2% em água).

3.4 Métodos

3.4.1 Tratamento do argônio e manipulações em atmosfera inerte

Todas as manipulações experimentais foram executadas na ausência de oxigênio, utilizando argônio ou nitrogênio de alta pureza (mínimo 99,99%). A fim de retirar traços remanescentes de oxigênio, o gás foi conduzido através de torres de vidro contendo solução ácida de Cr(II) e em sequência torre de vidro contendo H₂SO₄ como secante.⁷⁶ Quando a ausência de oxigênio foi necessária, os experimentos foram efetuados utilizando técnicas de atmosfera inerte. As soluções foram transferidas por pressão via cânula de teflon utilizando fluxo de gás inerte para balões de fundo redondo selados com septos de borracha ou cubetas de quartzo dotadas de torneira de alto vácuo, a fim de manter a atmosfera de argônio durante os experimentos.

3.4.2 Amálgama de Zinco (Zn(Hg))

O amálgama de zinco (Zn(Hg)) foi preparada tratando zinco metálico com uma solução saturada de cloreto de mercúrio(II) preparada em HClO₄, de concentração $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Após 5 minutos, o amálgama foi exaustivamente lavado com água destilada e utilizado imediatamente.

3.4.3 Experimento para a quantificação de zinco na reação entre Zn(Hg) e $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P(OEt)}_3)]^{3+}$

Após o término da reação entre o complexo $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P(OEt)}_3)]^{3+}$ e Zn(Hg) , o amálgama foi separado por decantação e a solução resultante transferida para um balão volumétrico de 50,0 mL. O amálgama foi lavado com três porções de 3 mL de solução de ácido trifluoroacético e esses volumes adicionados ao balão volumétrico, sendo seu volume completado até o menisco. Alíquotas desta solução foram retiradas para efetuarem-se as análises.

3.4.4 Purificação da mioglobina (met-Mb) e hemoglobina humana (Hb)

As soluções de met-mioglobina (met-Mb, proveniente de músculo de coração de cavalo, Sigma-Aldrich) foram preparadas adaptando-se o procedimento descrito na literatura.⁷⁷ Pesou-se cerca de 20 mg de proteína, sendo esta adicionada imediatamente a uma solução de ácido trifluoroacético pH = 4,0. Esta solução foi submetida um processo de filtração em gel em uma coluna (15 x 0,8 cm) contendo como fase estacionária Sephadex G-25 para eliminação de contaminantes, tais como pequenos peptídeos e eventualmente fragmentos de porfirina. A concentração exata desta solução foi determinada utilizando-se UV-Vis, através do coeficiente de absorvidade molar da banda de absorção em 502 nm ($\epsilon = 10.200 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).⁷⁷ A solução de met-Mb purificada foi utilizada imediatamente. O mesmo procedimento de purificação foi adotado para os experimentos envolvendo hemoglobina, utilizando o máximo de absorção em 530 nm ($\epsilon = 10.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).⁷⁸

3.5 Sínteses dos complexos

3.5.4 Síntese do complexo $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{NH}_3)_5]\text{Cl}_2$ ⁷⁹

Pesou-se 2,0 g de $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ e dissolveu-se em 25 mL de água destilada. A solução resultante foi colocada em banho de gelo e sob agitação foi adicionado 30 mL de hidrazina monohidratada ($(\text{NH}_2)_2\text{H}_2\text{O}$) permanecendo a agitação por 6 horas. Novamente em banho de gelo foi adicionado 50 mL de HCl 12 mol L^{-1} . A solução resultante foi refluxada por 2 horas, ocorrendo a formação de precipitado amarelo ainda sob refluxo. Após o resfriamento da solução, o sólido amarelo foi coletado via filtração e lavado com solução de HCl 1,5 mol L^{-1} .

Todo o sólido obtido na etapa anterior foi dissolvido em 200 mL de uma solução de HCl 0,1 mol L^{-1} a 60 °C. Qualquer sólido suspenso na solução foi separado por filtração. A solução resultante foi resfriada em banho de gelo sendo adicionado cerca 50 mL de HCl 12 mol L^{-1} . O sólido obtido foi filtrado, lavado com éter etílico, seco a vácuo e estocado em dessecador. Pouco solúvel em água. Rendimento: 55% (considerando RuCl_3 como sal anidro).

3.5.5 Síntese do complexo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{Cl})(\text{SO}_2)(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}$ ⁸⁰

Em um balão de fundo redondo contendo 140 mL de água destilada e 5,3 g de metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) borbulhou-se $\text{SO}_{2(\text{g})}$ por 1 hora à 75°C. A esta solução foi adicionado 3,7 g de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{Cl})(\text{NH}_3)_5]\text{Cl}_2$. Manteve-se o borbulhamento de $\text{SO}_{2(\text{g})}$ e a reação prosseguiu por 1 hora. Após esse período, a solução foi colocada em banho de gelo, ainda sob fluxo de $\text{SO}_{2(\text{g})}$ por 15 minutos. O sólido *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{HSO}_3)_2(\text{NH}_3)_4]$ foi filtrado, lavado com éter etílico e seco á vácuo por 15 minutos.

Todo sólido obtido na síntese anterior foi redissolvido em 400 mL de uma solução de HCl 6,0 mol L⁻¹, sendo esta refluxada por 30 minutos. A solução foi filtrada a quente e resfriada a temperatura ambiente. A solução permaneceu em refrigerador por 12 horas. O sólido obtido foi filtrado, lavado com éter etílico, seco a vácuo e estocado em dessecador. Solúvel em água. Rendimento: 48%.

3.5.6 Sínteses dos complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)](BF₄)₃

(L = N- Heterocíclicos)⁸

Os nitrosilo complexos contendo ligantes N-Heterocíclicos (imidazol (ImN); nicotinamida (Nic) e isonicotinamida (IsN)) foram sintetizados segundo:

Pesou-se 0,1g do complexo *trans*-[Ru^{II}Cl(SO₂)(NH₃)₄]Cl e dissolveu-se em 3,0 mL de solução de NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ previamente desaerada, contendo um excesso de 10 vezes do ligante desejado. Após 20 minutos de reação, adicionou-se 1,0 mL de solução de HCl (6,0 mol L⁻¹). Em seguida, foi adicionado 1,5 mL de H₂O₂ à 30%, gerando o complexo *trans*-[Ru^{III}Cl(SO₄)(NH₃)₄]⁺ em solução. Adicionou-se acetona até a turbidez (cerca de 70 mL) e a solução resultante foi mantida em refrigerador por 12 horas. O sólido, *trans*-[Ru^{III}(SO₄)(NH₃)₄(L)]Cl, foi filtrado, lavado com acetona e estocado sob vácuo. Solúvel em água. Rendimento: 75-80

Para a síntese dos complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)](BF₄)₃, 0,1g do complexo *trans*-[Ru^{III}(SO₄)(NH₃)₄(L)]Cl foi dissolvido em 5,0 mL de uma solução HBF₄ 1,0×10⁻⁴ mol L⁻¹ previamente desaerada contendo amalgama de Zn(Hg). Após 30 minutos de reação, a solução foi transferida via cânula de teflon para um segundo balão contendo 1,5 mL de solução HBF₄ 5,0 mol L⁻¹. A esta solução foi adicionado 0,2 g de NaNO₂ e etanol até a

turbidez, permanecendo a solução em refrigerador por 2 horas. O sólido obtido foi lavado com etanol, seco à vácuo e estocado em dessecador.

3.5.7 Síntese do complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OR)₃)](PF₆)₃ (R = Metil e Etil)⁸¹

Os complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OR)₃)](PF₆)₃, R = OEt ou OMe, foram sintetizados conforme procedimento descrito na literatura.³⁶ Pesou-se 0,2 g de [Ru^{III}(NH₃)₅Cl]Cl, dissolvendo-se em 7 mL de solução 1,0×10⁻² mol L⁻¹ de HTFA, contendo algumas pastilhas de Zn(Hg) recém preparadas. Após 45 minutos de reação, a solução resultante foi separada da amálgama e a esta adicionada 1,0 g de NH₄PF₆. O sólido obtido *trans*-[Ru^{II}(H₂O)(NH₃)₅](PF₆)₂, foi imediatamente filtrado em “glove-bag” e seco a vácuo por 15 minutos. Todo o sólido obtido na etapa anterior foi dissolvido em 10 mL de acetona previamente desaerada, contendo 1,0 mL do correspondente éster de fósforo (P(OR)₃). Após 1 hora de reação, o excesso de solvente e ligante foi retirado utilizando-se evaporador rotatório. Adicionou-se cerca de 20 mL de solução éter etílico: etanol, na proporção de 2:1. O sólido obtido, *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(P(OR)₃)₂](PF₆)₂ foi filtrado, lavado com éter etílico e seco em dessecador.

Pesou-se 0,2 g de *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(P(OR)₃)₂](PF₆)₂ e adicionou-se a 200 mL de uma solução aquosa 1,0×10⁻² mol L⁻¹ de HTFA a 40°C. Após 6 horas de reação, a total conversão do complexo *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(P(OR)₃)₂]²⁺ à *trans*-[Ru^{II}(H₂O)(NH₃)₄(P(OR)₃)]²⁺ foi verificada através do espectro de UV-Vis da solução (R = OMe / OEt: λ_{max} = 316 nm; ε = 650 / 560 L mol⁻¹ cm⁻¹, respectivamente).⁸² Posteriormente, o excesso de solvente foi removido empregando-se evaporador rotatório até o volume de 2 mL. À solução resultante contendo o complexo *trans*-[Ru^{II}(H₂O)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]²⁺ foi adicionado 3 mL de solução aquosa 2,0 mol L⁻¹ de HTFA previamente desaerada. Adicionou-se 0,2 g de NaNO₂. A

coloração da solução tornou-se rósea, indicando a formação do complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OR)₃)]³⁺. Adicionou-se 0,3 g de NH₄PF₆ e a solução foi mantida em refrigerador por 12 horas. Os cristais avermelhados são recolhidos por filtração, lavados com éter etílico, estocados em frasco de Schlenk a vácuo e armazenados em freezer (-20°C). Rendimentos: R: OMe (47%) / OEt (44%).

3.5.5 Síntese do complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OIsp)₃)](PF₆)₃

Para a síntese do complexo contendo o ligante isopropil fosfito, P(OIsp)₃, algumas alterações foram efetuadas em relação ao procedimento descrito no item 3.3.1, da referência 81, a partir da etapa de aquação do complexo *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(P(OIsp)₃)₂](PF₆)₂. Pesou-se 0,2 g do complexo *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(P(OIsp)₃)₂](PF₆)₂, sendo este dissolvido em 400 mL de solução etanólica 25:75 (solução aquosa 1,0×10⁻² mol L⁻¹ de HTFA:etanol absoluto grau HPLC) a 40°C. Após 3 horas, a total conversão do complexo *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(P(OIsp)₃)₂]²⁺ à *trans*-[Ru^{II}(H₂O)(NH₃)₄(P(OIsp)₃)]²⁺ foi verificada através do espectro de UV-Vis da solução UV-Vis da solução ($\lambda_{\text{max}} = 316 \text{ nm}$; $\epsilon = 650 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).⁸² A solução foi evaporada até a secura empregando evaporador rotatório. O sólido amarelo obtido foi imediatamente dissolvido em 5 mL de solução aquosa 2,0 mol L⁻¹ de HTFA previamente desaerada. Adicionou-se 0,2 g de NaNO₂. A coloração da solução tornou-se rósea, indicando a formação do complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OIsp)₃)]³⁺. Adicionou-se 0,3 g de NH₄PF₆ a solução, sendo está filtrada para a retirada de qualquer sólido suspenso. A solução resultante foi concentrada até o volume de 3 mL e mantida em refrigerador por 24 horas. O sólido obtido foi filtrado, lavado com éter etílico, seco a vácuo e estocado em frasco de Schlenk sob vácuo e armazenado em freezer (-20°C).

O aumento de volume de solução e a adição de etanol na etapa de aquação do complexo *trans*-[Ru^{II}(NH₃)₄(P(OIsp)₃)₂](PF₆)₂ foi necessária devido a baixa solubilidade do composto em água. A secagem completa da solução etanólica contendo *trans*-[Ru^{II}(H₂O)(NH₃)₄(P(OIsp)₃)₂]²⁺ é necessária para evitar a formação de óleo durante a síntese. Rendimento: 26%

3.5.6 Síntese do complexo [Fe^{III}(Cl)TPPS]⁸³

Em 30 mL de água destilada à 60°C foram adicionados 50 mg ($5,3 \times 10^{-5}$ mol) de Na₂TPPS (tetra-fenil-porfirina-sulfonada dissódica), ajustando-se o pH até a neutralidade com auxílio de soluções de NaOH e HCl a 3 mol L⁻¹. Sob agitação constante, um excesso de 4 vezes de FeSO₄·7H₂O foi adicionado a esta solução, tomando-se o cuidado de manter o pH neutro. A reação foi mantida a temperatura constante por 30 minutos. A solução foi resfriada a temperatura ambiente e o pH foi ajustado a 3,0. O excesso de Fe³⁺ foi removido empregando-se uma coluna Dowex 50W (mesh 50-100). O pH da solução foi ajustado a 5,0 e a precipitação do sólido foi obtida adicionando-se 4 volumes de acetona. O sólido obtido foi dissolvido em metanol, filtrado e reprecipitado utilizando excesso de acetona. Rendimento: 54%.

3.5.7 Tentativa de isolamento do complexo binuclear

Duas alíquotas de 2,0 mL de duas soluções aquosas de concentração $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ dos complexos [Fe^{III}(H₂O)TPPS] e *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ foram misturadas em atmosfera de argônio. Imediatamente após a mistura, observou-se a formação de um precipitado azul escuro. Após 15 minutos de reação, a solução foi lavada ao refrigerador por 2 horas. Filtrou-se o sólido em

filtro de placa porosa, lavou-se o sólido com éter etílico gelado. Secou-se a vácuo por 2 horas. Sólido pouco solúvel em água. Rendimento $\approx$ 5%. Outras abordagens de síntese tais como alteração das concentrações das soluções, tempo de reação, tempo de repouso em geladeira e adição de solventes para a precipitação foram testadas, porém sem sucesso. O sólido mostrou-se instável, havendo progressiva alteração no espectro de RPE em função do tempo.

3.6 Cálculos *ab initio*

Cálculos *ab initio* foram realizados utilizando-se o software Gaussian 03.⁸⁴ A otimização das estruturas moleculares foram efetuadas utilizando a abordagem Kohn-Sham da Teoria da Densidade do Funcional⁸⁵ (do inglês, DFT: Density Functional Theory) através do método B3LYP.^{86,87} Para os cálculos envolvendo o estudo da formação e liberação de HNO no complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ utilizou-se as seguintes bases: DGDZVP (Duplo Degauss Duplo Zeta Valência Polarizada)⁸⁸⁻⁹¹ para o átomo de rutênio e TGTZVP (Triplo Degauss Duplo Zeta Valência Polarizada)⁸⁸⁻⁹¹ para os átomos de N, O, P e H. Aos demais átomos foi aplicada a base 3-21G. Para os cálculos envolvendo o sistema binuclear [Ru-(μ-NO)-Fe] foi utilizada a base DGDZVP para todos os átomos.

Todos os cálculos foram efetuados utilizando modelo de solvatação contínua polarizada, sendo água como solvente (do inglês, PCM: Polarizable Continuum Model).⁹²⁻⁹⁴

3.7 Tratamento cinético

O tratamento cinético das curvas de absorbância em função do tempo obtidas para a reação entre as espécies de Fe(III) e os complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OR)₃)]³⁺ se deram através da resolução das equações diferenciais descritas no Apêndice I. Estas equações foram resolvidas utilizando-se o software Wolfram Mathematica 9. A equação analítica

Materiais e Métodos

resultante foi utilizada para o ajuste não linear das curvas foi executado no software Origin 8.0.

4 Resultados e Discussão

4.1 Sobre a formação, liberação e estados de spin do NO⁻ / HNO coordenados a tetraaminas de rutênio⁹⁴

4.1.1 Redução eletroquímica dos íons *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺

Os nitrosilo complexos de rutênio contendo ligantes N-heterocíclicos e fosfanos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)]³⁺, onde L = ImN, IsN, Nic e P(OEt)₃, foram estudados anteriormente no que diz respeito a liberação de NO sendo suas constantes de velocidade específicas (k_{NO}) e os respectivos potenciais de redução para o par [Ru^{II}(NO⁺)] / [Ru^{II}(NO⁰)] ($E^0_{(\text{NO}^+/\text{NO}^0)}$) descritos na literatura.³ De forma geral, para os complexos supra citados o par redox associado ao processo [Ru^{II}(NO⁺)] / [Ru^{II}(NO⁰)] é eletroquimicamente reversível pois baixando-se a temperatura a 2,5°C e utilizando velocidades de varredura $\geq 1 \text{ V s}^{-1}$, é possível observar o pico anódico para o processo [Ru^{II}(NO⁰)] / [Ru^{II}(NO⁺)].⁶ No entanto, o processo [Ru^{II}(NO⁺)] / [Ru^{II}(NO⁰)] é quimicamente irreversível, visto que o ligante nitrosônio é reduzido a óxido nítrico, o qual dissocia-se em seguida.⁶

A maior reversibilidade do processo [Ru^{II}(NO⁺)] / [Ru^{II}(NO⁰)] pode ser associada a maior permanência da espécie NO coordenada ao centro metálico. De fato, a velocidade de liberação de NO para os complexos onde L = ImN, IsN, Nic pode variar de até duas ordens de grandeza quando comparado a do ligante P(OEt)₃, conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de constantes de velocidade específicas para a liberação de NO (k_{NO}) nos íons complexos $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{3+}$.

L	$k_{\text{NO}} (\text{s}^{-1})$	Referência
P(OEt)₃	0,98	3,94
Nic	0,025	3
IsN	$\approx 0,025^{\text{a}}$	3
ImN	0,16	3

^a estimado por similaridade com a estrutura do ligante Nic.

A permanência do ligante NO na esfera de coordenação do complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{3+}$ quando $\text{L} = \text{N-heterocíclicos}$ em relação ao $\text{L} = \text{P(OEt)}_3$ pode ser explicada considerando a maior influência e efeito *trans* do ligante de fósforo.⁴ Assim, devido a maior estabilidade da ligação $[\text{Ru}^{\text{II}}-\text{NO}^0]$ nos complexos onde $\text{L} = \text{IsN}$, Nic e ImN , estes foram *a priori* selecionados para os estudos preliminares da segunda redução do ligante NO coordenado, correspondendo ao par redox $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^0)] / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^-)]$.

No entanto, nenhuma processo redox, além dos já descritos para a redução $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)] / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^0)]$ pôde ser observado na janela de 0,1 à -1,0 V *vs.* ENH, quando $\text{L} = \text{IsN}$, Nic e ImN , utilizando-se carbono vítreo como eletrodo de trabalho. A tentativa de utilização de eletrodo de mercúrio, cuja janela de potencial para varredura em potenciais negativos em meio aquoso é maior não conduziu a resultados satisfatórios. Portanto, para os nitrosilo complexos onde $\text{L} = \text{ImN}$, IsN e Nic , não foi possível observar o processo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^0)] / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^-)]$, dadas as limitações experimentais. Pode-se, no entanto afirmar que estes potenciais são mais negativos que -1,0 V.

Os experimentos foram então dirigidos para o complexo onde $\text{L} = \text{P(OEt)}_3$. O voltamograma cíclico para a solução contendo o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P(OEt)}_3)]^{3+}$, em solução aquosa, é mostrado na Figura 6. O complexo

$trans\text{-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ pode sofrer ataque nucleofílico em pH acima de 5,5, portanto os experimentos foram conduzidos em meio ácido.¹²

Observa-se um pico catódico ($E_{p,c}$ (1)) em 0,08 V e seu par redox, um pico anódico ($E_{p,a}$ (1)) em 0,26 V atribuídos aos processos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]^{3+} / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^0)]^{2+}$, ou seja a redução do ligante NO^+ à NO .⁶ Outro par redox, reversível, ($E_{p,c} / E_{p,a}$ (3); $E^0_{1/2} = 0,72$) é atribuído ao processo $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})]^{3+} / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$.⁶ Observa-se também um pico catódico ($E_{p,c}$ (2)) em -0,41 V, com o seu pico anódico correspondente a $E_{p,a}$ (2) = -0,15 V.

Figura 6 – Voltamograma cíclico da solução contendo o íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$. (—) 1º ciclo; (—) 2º ciclo; $C_{\text{Ru}} = 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; pH = 4,2; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$); $T = (2,5 \pm 0,2)^\circ\text{C}$.

Como pode ser observado no voltamograma da Figura 7, o processo referente ao pico anódico $E_{p,a}$ (2) não é bem definido nas condições experimentais utilizadas. O componente anódico $E_{p,a}$ (2) não ficou bem definido mesmo abaixando-se a temperatura a $2,5^\circ\text{C}$. O número de elétrons envolvidos no processo $E_{p,c}$ (2) foi anteriormente calculado através de

Resultados e Discussão

voltametria de onda quadrada^{94,95} utilizando a equação de Lovric,⁹⁶ concluindo-se que o número de elétrons envolvidos neste processo é igual a 1.

Levando em consideração o número de elétrons do processo $E_{p,c}$ (2), este foi atribuído a redução do ligante NO^0 , gerando o íon nitroxila (NO^-), segundo a Eq.10, abaixo:

Para confirmar se o processo de redução representado por $E_{p,c}$ (2) é mesmo referente a redução do ligante NO coordenado, foram efetuados cálculos *ab initio*, utilizando DFT. A população eletrônica dos orbitais de fronteira não ocupados está resumida na Tabela 2.

Tabela 2 – Energia e composição dos orbitais não ocupados (LUMO) para o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^0)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{2+}$.

Orbital	Energia (Hartree)	Composição (%) – Átomo/Ligante - Orbital
LUMO+3	-0,01034	41-Ru-(s) / 14-NO-(s,p _x) / 44-P(OEt) ₃ -(s,p _x)
LUMO+2	-0,03979	75-Ru-(s) / 25-NO-(s)
LUMO+1	-0,04709	50-Ru-(d _{xz}) / 14-NH ₃ -(s,p _z) / 10-NO-(s,p _x) / 23-P(OEt) ₃ -(s)
LUMO	-0,12156	20-Ru-(d _{xz}) / 3-NH ₃ -(s) / 65-NO-(p _y) / 12-P(OEt) ₃ -(s,p _z)

Pode-se observar na Tabela 2 que o orbital LUMO tem sua maior composição centrada sobre o ligante NO (65%), seguida da contribuição sobre o centro metálico (20%). As energias dos orbitais LUMO+1 a LUMO+3 são muito superiores quando comparadas a do orbital LUMO, portanto pouco devem contribuir para a reatividade deste composto.

Levando em consideração a composição e a energia do orbital LUMO, a reação de redução do íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁰)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]²⁺ se dará provavelmente sobre o ligante NO, confirmando assim a hipótese levantada anteriormente através dos experimentos voltamétricos.^{94,95}

Após a formação da espécie *trans*-[Ru^{II}(NO⁻)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]⁺, existe a possibilidade de protonação do ligante nitroxila, dando origem a espécie *trans*-[Ru^{II}(HNO)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]²⁺. De fato, cálculos de DFT indicaram que após a redução, o ligante NO⁻ será imediatamente protonado, dando origem a espécie HNO coordenada. Como esta protonação envolve mudança de estado de spin e discussão sobre o valor de pK_a do ligante NO⁻, este item será discutido de no item 4.1.2. Portanto, o ligante nitroxila coordenado será tratado *a priori* como HNO e não NO⁻. De forma análoga, os valores de constante específica de liberação serão referidos como k_{HNO}.

Os valores numéricos dos potenciais de referentes à primeira e a segunda redução do ligante NO⁺ dos complexos aqui investigados encontram-se sumarizados na Tabela 3, juntamente com os valores da constante de velocidade específica de liberação de NO para estes compostos.

Tabela 3 – Potenciais de redução (E_p) e constantes específicas de liberação de NO e HNO (k) para os íons complexos $trans$ -[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)]³⁺

L ou Complexo	E_p (V vs. ENH)		k (s ⁻¹)		Referência
	NO ⁺ / NO ⁰	NO ⁰ / NO ⁻	-NO	-HNO	
P(OEt) ₃	0,08	-0,46	0,98	< 0,98	3,94
Nic	0,06	< -1,0 ^a	0,025	n.d	3
IsN	0,05	< -1,0 ^a	≈ 0,025 ^b	n.d	3
ImN	-0,12	< -1,0 ^a	0,16	n.d	3

^a Estimado a partir dos dados de voltametria cíclica; ^b estimado por similaridade com a estrutura do ligante Nic; n.d: não determinado. Valores de E^0 e k obtidos a (25,0±0,2)°C.

A irreversibilidade química do processo $E_{p,c}$ (2) pode ser explicada em princípio devido a baixa afinidade do ligante nitroxila pelo centro metálico de rutênio. A redução de dois elétrons do ligante NO⁺ irá popular seus orbitais $p\pi^*$, portanto enfraquecendo a retrodoação ($4d\pi_{Ru} \rightarrow 2p\pi^*_{NO}$) do metal para o ligante. Sendo o ligante HNO um fraco π -receptor, a ligação Ru–NO fica enfraquecida, facilitando a dissociação do ligante nitroxila da esfera de coordenação.⁹⁴ Somado a este efeito, tem-se ainda o forte efeito e influência *trans* do ligante P(OEt)₃ que induz a rápida dissociação do HNO da esfera de coordenação.

Até o momento, não foi possível calcular a constante de velocidade específica para a saída do ligante HNO da esfera de coordenação, k_{HNO} . Experimentos voltamétricos realizados a 2,5°C e utilizando velocidades de varredura superiores a 1 V s⁻¹ indicam, nessas condições, a reversibilidade do processo atribuído a redução [Ru^{II}(NO⁺)]³⁺ / [Ru^{II}(NO⁰)]²⁺. O mesmo não é observado nestas condições para o processo [Ru^{II}(NO⁰)]²⁺ / [Ru^{II}(NO⁻)]⁺ pois mesmo com a diminuição da temperatura e o aumento da velocidade de varredura até 1V/s, o processo anódico $E_{p,c}$ (2) continuou apresentando-se como praticamente irreversível. Esta observação nos permite inferir, mesmo de forma qualitativa, que $k_{HNO} > k_{NO}$.

Os dados da literatura para potenciais de redução e constante específica de liberação de NO^- / HNO para complexos de rutênio são escassos, sendo esta observação também válida em se tratando de complexos de outros metais de transição contendo o ligante nitroxila coordenado.³⁶⁻⁵⁹ Um dos poucos exemplos encontrados na literatura⁶¹ trata do íon complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^-)(\text{CN})_5]^{4-}$. A Tabela 4 mostra os valores de potenciais de redução e das constantes de velocidade específica para a liberação do NO^- e HNO nos íons complexos $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{CN})_5]^{2-}$ e *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{3+}$

Tabela 4 – Potenciais de redução (E_p) e constantes específicas de liberação de NO e NO^- (k) para os íons complexos *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{CN})_5]^{2-}$.

L ou Complexo	E_p (V vs. ENH)		k (s^{-1})		Referência
	$\text{NO}^+ / \text{NO}^0$	$\text{NO}^0 / \text{NO}^-$	$-\text{NO}^0$	$-\text{HNO}$	
$\text{P}(\text{OEt})_3$	0,08	-0,41	0,98	< 0,98	3,94
$[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{CN})_5]^{2-}$	-0,4	$\approx -0,6$	$1,6 \times 10^{-5}$	$< 4,7 \times 10^{-7a}$	61

^a os autores indicam a saída de NO^- e não HNO em função das condições experimentais utilizadas e do valor de pK_a (7,7) para o HNO coordenado no complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO})(\text{CN})_5]^{4-}$ (ref. 97).

Comparando-se os valores de constates de velocidade específica de liberação de NO e NO^- / HNO para os complexos representados na Tabela 4, nota-se que os valores de k variam de 5 ordens de grandeza para a liberação de NO e de 7 ordens de grandeza para liberação de NO^- / HNO .⁶¹ A lenta dissociação do NO^- do complexo de ferro foi associada pelos autores a alta estabilidade da ligação $[\text{Fe}-\text{NO}^-]$ que teria um acentuado caráter σ e π . Segundo os autores⁶¹, esta observação experimental ganhou suporte adicional em cálculos *ab initio*, onde a estabilidade da ligação $\text{M}-\text{NO}^-$ foi analisada para uma série de porfirinas com diversos centros metálicos.⁶⁰

No que tange a estabilidade da ligação $[\text{Ru} - \text{HNO}]$ para o íon complexo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$, observou-se um comportamento bastante diferente do

descrito para o íon complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{CN})_5]^{2-}$, refletido nos valores das constantes de dissociação de NO^- / HNO . Para o complexo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ os ligantes NO e HNO são rapidamente substituídos pela água, gerando o íon complexo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{2+}$. Conforme antecipado anteriormente, atribuiu-se esta rápida substituição pela diminuição da extensão da retrodoação $[\text{Ru} - \text{HNO}]$. A observação experimental é coerente com cálculos *ab initio* que indicam uma diminuição da ordem de ligação para o fragmento $\text{Ru} - \text{NO}^x$ segundo: $\text{NO}^+ > \text{NO}^0 > \text{NO}^-$.

A diferença de estabilidade da ligação entre os centros metálicos de $\text{Fe}(\text{II})$ e $\text{Ru}(\text{II})$ e o NO^- e HNO podem tentativamente serem explicadas levando-se em conta dois aspectos: os ligantes no plano equatorial dos complexos de Fe e Ru e pelo efeito e influência do ligante *trans* do ligante $\text{P}(\text{OEt})_3$.

Para o íon complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^-)(\text{CN})_5]^{4-}$ o plano equatorial é composto por ligantes π -aceptores $(\text{CN}^-)^{60,61}$. Estes ligantes permitem que o centro metálico fique menos denso eletronicamente, o que permitiria uma melhor interação entre o centro metálico de $\text{Fe}(\text{II})$ e o NO^- / HNO , aumentando assim a estabilidade da ligação. O efeito dos cianetos⁹⁹ no plano equatorial em relação às aminas pode ser vislumbrado observando-se os valores de pK_a para o ligante pirazina (pz / pzH^+) nos íons complexos *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{L})_n(\text{pzH})]^n$ resumidos na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de pK_a o ligante pirazina (pz) para os complexos $trans-[Ru^{II}(L)_n(pzH)_m]^n$

Complexo	pK_a	Referência
$trans-[Ru^{II}(NH_3)_5(pzH)]^{3+}$	2,5	98
$trans-[Ru^{II}(CN)_5(pzH)]^{2-}$	0,4	99
$trans-[Ru^{II}(NH_3)_4(pz)(pzH)]^{3+}$	1,5	100
pzH^+	0,6 ^a	98

Valores de pK_a de 0,4 e 0,8 também são reportados para íon pirazínio (ref. 98)

Nota-se que o íon complexo $trans-[Ru^{II}(CN)_5(pzH)]^{2-}$ apresenta o valor de pK_a ligeiramente inferior ao do íon pirazínio, seguido do íon complexo $trans-[Ru^{II}(NH_3)_4(pz)(pzH)]^{3+}$, cujo ligante *trans* a pirazina protonada também é uma pirazina. Esse exemplo indica que mesmo havendo retrodoação para os ligantes axiais que são π -aceptores, seja para o CN^- no íon complexo $trans-[Ru^{II}(CN)_5(pzH)]^{2-}$ seja na pirazina no íon complexo $trans-[Ru^{II}(NH_3)_4(pz)(pzH)]^{3+}$, o valor de pK_a ainda é 1,1 unidades inferior para o íon complexo $trans-[Ru^{II}(CN)_5(pzH)]^{2-}$ indicando que os CN^- do plano equatorial possuem forte influência na retirada da densidade eletrônica do centro metálico. De fato, a pirazina coordenada ao íon complexo $trans-[Ru^{II}(CN)_5(pzH)]^{2-}$ apresenta valor de pK_a ligeiramente inferior ao da pirazina livre ($pK_a = 0,6$).⁹⁸ O efeito eletrônico no centro metálico causado pela troca dos íons cianetos por amônias também pôde ser observado nos complexos $trans-[Ru^{II}(X)_5(pzH)]^n$, pois o pK_a é 2,1 unidades superior para o íon complexo onde as amônias estão presentes.

Portanto, no íon complexo $[Fe^{II}(NO^+)(CN)_5]^{2-}$, os ligantes CN^- no plano equatorial e em uma das posições axiais permitem que o metal torne-se mais deficiente em elétrons. O mesmo efeito não ocorre com o íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ onde os ligantes do plano equatorial, NH_3 , são doadores σ e considerados inocentes.³ Além disso, o

ligante *trans* no caso do complexo de Ru(II) é um éster de fósforo, cujo efeito e influência *trans* é bastante intenso⁴, facilitando a saída do NO ou NO⁻ da esfera de coordenação.

4.1.2 Estados de spin do ligante nitroxila

A redução do ligante NO, gerando o íon nitroxila coordenado, traz a discussão dois pontos importantes: a configuração de spin deste sistema e a natureza da espécie coordenada : o íon nitroxila ou sua forma ácida, o HNO.

É importante ressaltar que considerando a reação ácido-base para o NO⁻ / HNO livre esta é proibida por spin, pois envolve as espécies ³NO⁻ e ¹HNO que segundo a literatura são as espécies de menor energia.²⁶ Esta proibição faz com que esta reação seja lenta, em comparação a uma reação ácido-base convencional.

Cálculos *ab initio* foram efetuados⁹⁴ e a Figura 7 apresenta o diagrama de energia calculado para as espécies NO⁻ e HNO, não coordenados.

Figura 7 – Diagrama de energia, calculada através de método *ab initio*, para as várias isoformas do íon nitroxila não coordenado.⁹⁴

Como pode ser observado no diagrama acima, a espécie energeticamente mais estável é a forma singlete protonada (¹HNO), seguido da forma tripleto (³HNO), sendo esta última 36,0 kJ mol⁻¹ menos estável do que a primeira. O íon nitroxila, na configuração de spin tripleto (³NO⁻) é a terceira espécie menos estável, sendo a forma singlete (¹NO⁻) a menos estável. Nota-se que a protonação do íon nitroxila o estabiliza em mais de 214 kJ mol⁻¹, com relação ao correspondente singlete.

Estes resultados são distintos dos descritos na literatura,²⁶ onde a espécie tripleto não protonada (³NO⁻) é apresentada como mais estável que a forma tripleto protonada (³HNO), conforme pode ser observado na Figura 3, no item 1.2 da Introdução.

O mesmo diagrama da Figura 7 foi calculado para as espécies NO⁻ e HNO coordenadas ao centro metálico de rutênio no complexo *trans*-[Ru^{II}(X)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]ⁿ⁺ conforme mostra a Figura 8.

Figura 8 - Diagrama de energia, calculado através de método *ab initio*, para as várias isoformas do íon nitroxila coordenado ao complexo $trans\text{-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{X})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{n+}$ ⁹⁴

O diagrama da Figura 8 indica que o HNO coordenado, nos estados singlete ou tripleto, são energeticamente mais estáveis se comparado às espécies de NO⁻ coordenadas. Nota-se também que a espécie $[\text{Ru}(^1\text{NO}^-)]$ é ligeiramente mais estável que a correspondente $[\text{Ru}(^3\text{NO}^-)]$. O efeito da protonação na estabilidade das espécies de nitroxila coordenada fica evidente, visto que as espécies $[\text{Ru}(^1\text{HNO})]$ e $[\text{Ru}(^3\text{HNO})]$ são estabilizadas em mais de 10³ kJ mol⁻¹ em relação as espécies $[\text{Ru}(^1\text{NO}^-)]$ e $[\text{Ru}(^3\text{NO}^-)]$.

A estabilização da espécie singlete coordenada pode ser explicada observando-se os diagramas de orbital molecular simplificados, montado a partir dos dados de cálculo DFT, da Figura 9.

Analisando-se os orbitais para as espécies $^1\text{NO}^-$ e $^3\text{NO}^-$ não coordenadas (Figura 9), nota-se que na espécie singlete ocorre à quebra da degenerescência dos orbitais $p\pi^*$, e

consequentemente o emparelhamento dos elétrons em apenas um orbital, havendo portanto, o aumento de energia de um dos orbitais $p\pi^*$. Na espécie tripleto, os orbitais $p\pi^*$ são degenerados e, portanto cada orbital comportaria um dos elétrons. O emparelhamento dos elétrons na espécie singleto faz com que esta apresente energia bastante superior em relação à forma tripleto ($127,6 \text{ kJ mol}^{-1}$), conforme pode ser observado no diagrama de energia da Figura 8.

Considerando as espécies $[\text{Ru}(\text{}^1\text{NO}^-)]$ e $[\text{Ru}(\text{}^3\text{NO}^-)]$, nota-se no diagrama da Figura 9 que a espécie singleto é mais estável que a tripleto, efeito este contrário ao observado para as mesmas espécies não coordenadas. Este efeito pode ser explicado pela possibilidade de retrodoação dos orbitais $\text{Ru}d\pi$ para o orbital $p\pi^*$ da espécie singleto, o que não ocorreria na espécie tripleto. Na espécie singleto, o emparelhamento dos dois elétrons em somente um dos orbitais $p\pi^*$ faz com que um orbital $p\pi^*$ do ligante fique vazio, propiciando a possibilidade para a retrodoação. Já na espécie tripleto, os dois orbitais $p\pi^*$ degenerados encerram um elétron cada, ficando, portanto ambos semi-preenchidos. No entanto, a pequena diferença de energia entre as espécies $[\text{Ru}(\text{}^1\text{NO}^-)]$ e $[\text{Ru}(\text{}^3\text{NO}^-)]$, ($3,3 \text{ kJ mol}^{-1}$) indica que a retrodoação na espécie $[\text{Ru}(\text{}^1\text{NO}^-)]$ seria bastante débil. A análise mais detalhada dos orbitais moleculares para a espécie $[\text{Ru}(\text{}^1\text{NO}^-)]$ mostra que de fato a retrodoação é pouco intensa.

Raciocínio análogo pode ser aplicado as espécies $[\text{Ru}(\text{}^1\text{HNO})]$ e $[\text{Ru}(\text{}^3\text{HNO})]$. No entanto, nota-se que para as espécies protonadas coordenadas as energias são inferiores as das correspondentes espécies não protonadas.

Segundo resultados dos cálculos DFT,⁹⁴ a protonação das espécies $[\text{Ru}(\text{}^1\text{NO}^-)]$ ocorreria nos orbitais de simetria σp e $p\pi$ de caráter não ligante, com pequena participação dos orbital $p\pi^*$, de natureza antiligante. Para a espécie $[\text{Ru}(\text{}^3\text{NO}^-)]$ a protonação ocorreria nos orbitais σp e $p\pi$ de caráter não ligante, não havendo participação dos orbitais de natureza antiligantes. A protonação se daria nestes orbitais visto que o par de elétrons livre do

nitrogênio das espécies NO^- / HNO está envolvido na ligação σ com o metal, não estando, portanto envolvido na protonação. É importante ressaltar que também no caso das espécies ^1HNO e ^3HNO coordenadas, haveria retrodoação somente para a espécie singleto. Ainda, a protonação das espécies $[\text{Ru}(^1\text{NO}^-)]$ e $[\text{Ru}(^3\text{NO}^-)]$ gera um novo orbital ligante, o que permitiria que estas espécies sejam mais estáveis. A protonação do HNO coordenado poderia ser comparável com a protonação da molécula de H_2O onde a protonação também se dá em um orbital $p\pi$ de natureza não ligante.

O pK_a para a molécula de ^1HNO livre foi calculado como sendo 11,4.²⁶ Este valor indica que o HNO é um ácido fraco e que em meio neutro a forma predominante seria HNO e não o íon nitroxila. Tratando-se da molécula coordenada, a literatura informa que para o íon complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO})(\text{CN})_5]^{4-}$ o pK_a do ligante nitroxila é de 7,7.⁹⁷ No entanto, o procedimento experimental utilizado para o cálculo deste valor é bastante particular, pois o experimento foi efetuado na presença de grande excesso de CN^- para impedir a saída do ligante NO após sua primeira redução.⁹⁷

Figura 9 – Diagramas de orbital molecular simplificados para o íon nitroxila, livre e coordenado, para os estados de spin singlete e tripleto para o íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁻)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]⁺. As interações σ e π com o ligante P(OEt)₃ foram omitidas para maior simplicidade do diagrama.

Para o íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^+$ experimentos visando o cálculo do pK_a não foram bem sucedidos, pois imediatamente após a redução, ocorre a saída do íon nitroxila ou de seu ácido conjugado da esfera de coordenação. Além disso, o íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ sofre ataque nucleofílico sobre o NO^+ e o éster de fósforo, em $pH \geq 5,5$, o que impede qualquer tipo de titulação deste compostos em pH acima deste mencionado.⁸¹ Assim, foram efetuados cálculos *ab initio* para inferir se após a segunda redução do íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ quais dos produtos $trans-[Ru^{II}(HNO)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{2+}$ ou $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^+$ seria mais provável.

Conforme mostra o diagrama da Figura 8, após a redução do íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^0)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{2+}$, a espécie formada seria $trans-[Ru^{II}({}^1NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^+$ a qual possui energia ligeiramente inferior a da espécie tripleto. Considerando que entre as espécies $trans-[Ru^{II}({}^1HNO)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{2+}$ e $trans-[Ru^{II}({}^1NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^+$ não existe restrição de spin e que a espécie $trans-[Ru^{II}({}^1HNO)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{2+}$ é energeticamente mais estável, a protonação deve ocorrer facilmente. Portanto, nas condições em que foram executados os nossos experimentos ($pH, < 7$), a espécie formada será provavelmente $trans-[Ru^{II}({}^1HNO)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{2+}$.

O valor de pK_a calculado para esta reação, considerando-se a espécie singlete, foi de 9,9.⁹⁴ Este valor mostra-se coerente quando comparado ao valor correspondente calculado para o ligante livre (11,4), indicando que a coordenação, principalmente através do efeito sigma, leva a um aumento da acidez do ligante. Assim, após a redução do complexo $trans-[Ru^{II}(NO^0)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{2+}$, provavelmente o complexo $trans-[Ru^{II}({}^1HNO)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^+$ é formado, segundo (Eq.11):

Como a ligação metal ligante $[Ru^{II}-HNO]^{2+}$ encontra-se enfraquecida comparativamente a $[Ru^{II}-NO^0]^{2+}$ dada a diminuição da retrodoação do metal para o ligante HNO coordenado, este deve ser liberado rapidamente após sua formação devido ao efeito *trans* do ligante $P(OEt)_3$. Esta suposição está de acordo com os resultados dos experimentos eletroquímicos que indicam que após a segunda redução o ligante é liberado rapidamente da esfera de coordenação, mesmo quando o experimento é executado a temperatura de 2,5 °C e a velocidades de varredura de até $1Vs^{-1}$. Isto estaria em acordo com a maior afinidade de centro metálico por NO em relação a NO^+ ou HNO.

4.1.3 Redução química do íon $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$

Após a constatação que no íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ o ligante NO é passível de ser reduzido em duas etapas de um elétron cada, foram efetuados experimentos utilizando redutores químicos como európio (Eu(II)) e o ditionito de sódio ($Na_2S_2O_4$) e amalgama de zinco ($Zn(Hg)$). Esses redutores apresentam potencial de redução acessível para a segunda redução do ligante nitrosilo. As reações e os potenciais de redução para estas espécies encontram-se listadas abaixo (Eqs. 12 a 14):

Foram efetuadas titulações utilizando diferentes excessos dos redutores Eu(II) e $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ frente ao íon complexo $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$. Como pode ser observado através dos dados da Tabela 6, a concentração de NO produzida em relação à concentração de redutor adicionada no meio está dentro do erro experimental estequiométrica, sugerindo fortemente que apenas NO está sendo produzido durante as reações com Eu(II) e com $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$. Uma segunda redução, devido ao aumento da proporção de redutor, conduziria a uma redução na concentração de NO produzida, devido à redução do ligante NO a NO^- . Além disso, voltamogramas de pulso diferencial não indicaram a formação de N_2O , produto da dimerização do HNO, sendo este um segundo indício que não houve a segunda redução do ligante NO.

Tabela 6 – Relação entre o número de equivalentes adicionados e a produção de NO para o íon complexo $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ em solução.

Relação Complexo:Redutor (equivalentes)	NO Produzido(*)	
	Eu(II)	$\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$
1 : 0,5	0,48	0,41
1 : 1	0,93	0,89
1 : 2	0,94	0,91
1 : 10	0,94	0,91

(*) utilizando Nitric Oxide Analyser (NOA). $C_{\text{Ru}} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; pH = 4,2; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Experimentos utilizando ^{31}P RMN e UV-Vis após o termino da reação indicaram a formação do íon complexo $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{2+}$ ($\delta = 148,0 \text{ ppm}$; $\lambda = 366 \text{ nm}$, $\epsilon = 4,2 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)⁶ como um dos produtos da reação. Este dado é coerente com a redução do ligante NO e a sua liberação da esfera de coordenação.

A utilização de Zn(Hg) como redutor levou a resultados diferentes dos acima descritos, não sendo observada a liberação de NO em solução utilizando-se o eletrodo seletivo a NO conforme pode ser observado na Figura 8. Devido a limitações experimentais do sistema NOA, Zn(Hg) não pode ser utilizado como redutor. No entanto, a título de comparação, a Figura 10 também mostra a curva quando utilizado como redutor Eu(II), em dez vezes de excesso em relação ao complexo de rutênio.

Figura 10 - Cronoamperograma da reação entre o íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ e Eu²⁺ (curva em vermelho) e Zn(Hg) (curva em preto). C_{Ru} = 5,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹; C_{Eu(II)} = 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹; pH = 4,2; μ = 0,1 mol L⁻¹ (CH₃COOH/CH₃COONa); T = (25,0±0,2)°C. Seta indica a adição de amalgama ou Eu(II).

De forma análoga ao descrito para as reações com Eu(II) e S₂O₄²⁻, foi observada a formação do íon complexo *trans*-[Ru^{II}(H₂O)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]²⁺. Através de dados espectrofotométricos, Figura 11, (λ = 366 nm, ε = 4,2×10³ L mol⁻¹ cm⁻¹)⁶ foi quantificado o aquo complexo em solução, indicando uma conversão quantitativa do complexo de partida ao

produto e a manutenção da composição de sua esfera de coordenação. Devido a utilização de Zn(Hg), um redutor heterogêneo, não foi possível estimar a velocidade de liberação do HNO em solução após a redução.

Figura 11 – Espectros de UV-Vis da reação entre o íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ e Zn(Hg). C_{Ru} = 5,0×10⁻⁴ mol L⁻¹; pH = 4,2; μ = 0,1 mol L⁻¹ (CH₃COOH/CH₃COONa); T = (25,0±0,2) °C. Uma hora de reação.

A não observação experimental da presença de NO sugere que possa estar ocorrendo a segunda redução deste ligante, gerando a espécie HNO coordenada. Conforme discutido anteriormente, após a segunda redução do ligante NO, sua saída da esfera de coordenação seria bastante rápida. Portanto, uma vez liberado em solução, o HNO formado sofreria reação de dimerização, obtendo-se o óxido nitroso (N₂O) como produto. A espécie N₂O é estável em solução aquosa e eletroquimicamente ativa,⁶² segundo a reação (Eq. 15):

Como pode ser observado na Figura 12, após 30 minutos da reação entre o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $\text{Zn}(\text{Hg})$ um novo processo eletroquímico foi observado em $-0,32 \text{ V}$ (Figura 12, pico C). O valor de potencial de pico para este processo é compatível com o valor da redução do N_2O em solução conforme descrito na literatura.⁶² A fim de confirmar se este processo corresponde a redução do óxido nitroso, foi obtido um voltamograma de pulso diferencial (VDP) de uma solução saturada com N_2O . Observa-se na Figura 13, que os picos coincidem, bem como o potencial de pico indicando que provavelmente N_2O esta sendo formado em solução. Os picos A e C correspondem aos processos de redução do ligante NO^+ no complexo íon $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$.

Figura 12 – Voltamograma de pulso diferencial da reação entre o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $\text{Zn}(\text{Hg})$ após 30 minutos (curva em preto). Curva em vermelho: solução saturada de N_2O . $C_{\text{Ru}} = 5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 4,2$; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$); $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$; Amp. pulso = 50 mV ; $T = (2,5 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$.

A redução de nitrosônio a nitroxila coordenada envolve uma redução de 2 elétrons. Portanto, utilizando Zn(Hg) como redutor de 2 elétrons, espera-se que a concentração de Zn^{2+} formada em solução seja equivalente a concentração inicial do nitrosilo complexo. Objetivando confirmar a estequiometria da reação em questão, foram efetuadas análises de Zn^{2+} após o término da reação. Os resultados obtidos mostram que para cada equivalente de complexo, forma-se 0,94 equivalentes de Zn^{2+} . Portanto, é plausível supor que a reação abaixo esteja ocorrendo (Eq. 16):

A liberação de HNO por complexos de coordenação é assunto pouco explorado na literatura. Alguns poucos relatos indicam sua formação, porém nenhum estudo até o momento indica de forma sistemática as reações de redução e identifica sua liberação. No presente momento, a identificação e principalmente a quantificação de HNO é assunto de intensa pesquisa. Até o momento, não está disponível na literatura nenhum método acessível que possa ser utilizado para a sua identificação e quantificação de forma precisa e reprodutível.²⁸

No modelo experimental proposto e discutido acima, o único produto que não foi identificado de forma direta foi o HNO. No entanto, a formação de N_2O e o conjunto dos diversos dados experimentais indicam que a reação representada pela Eq.14 esteja ocorrendo.

O estudo sistemático da redução do íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ mostra que não somente o potencial de redução do redutor utilizado, fator termodinâmico fundamental, é necessário para que haja a reação. O mecanismo intrínseco e a cinética do processo são fatores chaves para a formação do HNO. A não formação de HNO quando utilizado Eu(II) e $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ possivelmente está relacionado com a

elevado valor de constante de dissociação de NO, após a primeira redução, da esfera de coordenação. Mesmo utilizando-se excesso de redutor a saída de NO é mais rápida que o processo da segunda redução no local. No entanto, quando se utiliza Zn(Hg) o mecanismo da reação é diferente, propiciando a segunda redução e levando a formação de HNO. Isto é possível, pois as velocidades com que ocorrem as reações de transferência de elétrons k_1 e k_2 são bastante próximas¹⁰¹ e os potenciais para os dois processos são não distinguíveis polarograficamente¹⁰² (Eqs. 17 e 18).¹⁰¹

A reação de nitrosilo complexos de rutênio com tióis (RSH/RS⁻) vem sendo estudada pelo nosso Grupo. Dependendo do excesso de tiol em relação ao metal, observa-se que pode ocorrer a liberação de HNO¹⁰³ com o complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺. Uma vez que os tióis são encontrados em concentrações elevadas em meio biológico, (10 μmol L⁻¹),²⁷ estes poderiam ser espécies diretamente envolvidas na liberação de HNO por nitrosilo complexos de rutênio em meio biológico.

4.1.4 Conclusões Parciais

Os resultados aqui reunidos permitem concluir que os nitrosilo complexos de rutênio, *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)]³⁺, podem apresentar a segunda redução do ligante nitrosônio, gerando o íon nitroxila coordenado. O potencial para a segunda redução do nitrosilo coordenado é bastante sensível ao ligante *trans* posicionado no NO⁺, sendo para os N-heterocíclicos aqui estudados (Nic, IsN e ImN) > -1,0 V.

Para o complexo onde $L = P(OEt)_3$, o potencial para a segunda redução é consideravelmente mais positivo se comparado aos N-heterocíclicos, determinado com o valor de -0,41 V. A redução química é influenciada pela natureza e pelo mecanismo de redução, uma vez que redutores de 1 elétron, mesmo em grande excesso, não foram capazes de gerar o íon nitroxila em solução, provavelmente pela rápida saída do NO da esfera de coordenação. Após a redução, forma-se a espécie $trans-[Ru^{II}({}^1NO^-(NH_3)_4(L))]^+$ onde o ligante nitroxila esta no estado singleto, mais estável se comparado a forma tripleto, diferentemente do observado para o ligante livre. Uma vez que a espécie singleto coordenada é a mais estável e a protonação do ligante não é proibida por spin, esta espécie será imediatamente protonada dando origem ao íon complexo $trans-[Ru^{II}({}^1HNO)(NH_3)_4(L)]^{2+}$ seguindo-se a rápida liberação do 1HNO para a solução.

Assim, o íon complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$, que libera HNO em solução, pode vir a se constituir em plataforma para o desenvolvimento de novos complexos de rutênio como fonte exógena de nitroxila, dada a necessidade de moléculas capazes de liberar de forma controlada o HNO para aplicações biológicas em vista de suas funções fisiológicas.

4.2 Reações de transferência de NO entre complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)]³⁺ e espécies de Fe(III)⁹⁹

4.2.1 Reação entre nitrosilos complexos e met-mioglobina

Conforme discutido nos itens 4.1 deste capítulo e no item 1.2 da Introdução, a busca por métodos capazes de identificar HNO é de extrema importância para o desenvolvimento da química do íon nitroxila. Um dos métodos mais utilizados é o uso de met-mioglobina (met-Mb), cujo estado de oxidação formal do centro metálico de Fe é 3+. A reação entre a met-Mb e o HNO leva a formação da espécie [MbFe^{II}(NO⁰)], Eq.19, através da nitrosilação redutiva do centro metálico com constante de velocidade específica¹⁰⁴ de $1,4 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

A espécie [MbFe^{II}(NO⁰)] é estável em solução, podendo ser detectada principalmente por dois métodos espectroscópicos: UV-Vis¹⁰⁵ e pelo espectro de EPR da amostra, uma vez que o NO coordenado ao centro de Fe(II) é paramagnético.¹⁰⁵

Durante a execução dos experimentos discutidos no item 4.1.3 deste capítulo, tentou-se a utilização de met-Mb como captador para o HNO formado a partir das reações envolvendo o complexo íon *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺. No entanto, foi observado que soluções contendo met-Mb e *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺, sem a presença de redutores químicos para a liberação de NO, tinham como produto final a espécie [MbFe^{II}(NO⁺)].

Nota-se que diferentemente da nitrosilação redutiva, Eq. 19, a formação de [MbFe^{II}(NO⁺)] implicaria em reação de nitrosilação, onde NO e não HNO reagiria com a met-Mb, Eq.20, com $k = 1,4 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.¹⁰⁵

Os nitrosilo complexos $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{n+}$ não liberam NO espontaneamente em solução. De fato, soluções destes nitrosilos em pH = 3,0 não apresentam modificação em seus espectros de UV-Vis por até 72 horas, na ausência de oxigênio. Estes complexos somente liberam NO ou HNO da esfera de coordenação após a redução por um ou dois elétrons, conforme discutido anteriormente.⁹⁴ Portanto, as reações consecutivas (Eqs. 21 e 22):

não ocorrem na ausência de redutores químicos e radiação luminosa.³

Corroborando com o exposto acima, o acompanhamento da reação utilizando eletrodo seletivo a NO indicou que não ocorre a formação de NO livre em solução.

Frente ao exposto, é mais provável que esteja ocorrendo uma reação de transferência de NO entre os nitrosilo complexos e a met-Mb. O esclarecimento desta reação, bem como a identificação dos produtos e das etapas desta reação serão discutidos nos próximos itens.

4.2.2 Identificação e quantificação dos produtos da reação entre os $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{3+}$ e espécies de Fe(III)

Com o objetivo de verificar a possível transferência de NO entre os nitrosilo complexos e a met-Mb, foram efetuados experimentos com diversos nitrosilos a fim de verificar se a reação mencionada anteriormente seria geral ou específica do nitrosilo

complexo com o ligante P(OEt)_3 . Para tanto, foram testados sete íons complexos tipo $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{L})]^{\text{n}+}$, três deles com ligantes N-heterocíclicos (Nic, IsN e ImN) e quatro deles contendo como ligantes ésteres de fósforo: (trimetilfosfito: P(OMe)_3 ; trietilfosfito: P(OEt)_3 ; trisiopropilfosfito: P(OIsp)_3 e dietilfosfito: P(OH)(OEt)_2). Também foi testado o íon complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{CN})_5]^{2-}$, bem reconhecido como doador de NO exógeno.⁹⁷

Além da met-Mb, também foram utilizadas outras duas espécies de Fe(III): hemoglobina humana (Hb) e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Cl})\text{TPPS}]$, esta última cuja estrutura química é mostrada na Figura 13.

Figura 13 – Estrutura química do complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Cl})\text{TPPS}]$.

Este composto porfirínico foi escolhido por se tratar de um mimético do grupo Heme, ser solúvel em água devido presença dos grupos sulfônicos na sua estrutura, ser estável em uma ampla faixa de pH (2-10) e apresentar bandas características na região visível do espectro, facilitando o acompanhamento da evolução da reação, visto que os nitrosilos de

rutênio geralmente apresentam absorção abaixo de 350 nm.³ O ligante cloreto na espécie $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Cl})\text{TPPS}]^{4-}$ sofre rápida reação de aquação,¹⁰⁶ segundo a reação (Eq.23):

A utilização do íon complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]^{3-}$ no estudo da reação de transferência de NO visa também verificar se a reação ocorre somente com o íon de Fe(III) do grupo Heme ou se as cadeias laterais da proteína possuem alguma influência.

A julgar pelos dados de espectro eletrônico, a reação entre os nitrosilo complexos descritos anteriormente e os compostos de Fe(III) indicaram que a reação ocorre somente quando $\text{L} = \text{P}(\text{OMe})_3$ e $\text{P}(\text{OEt})$, não sendo observada reação quando $\text{L} = \text{Nic}$, IsN , ImN , $\text{P}(\text{OIsP})_3$ e $\text{P}(\text{OH})(\text{OEt})_2$. Entretanto, é prudente enfatizar que a reação em questão diz respeito à nitrosilação, detectável por meio das alterações do espectro UV-Vis, nada informando acerca de eventuais outras associações.

Os gráficos da Figura 14, ilustram a evolução da reação entre o íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e met-Mb (A), $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]^{3-}$ (B) e Hb (C) monitorando-se o espectro de UV-Vis destas soluções. Nota-se a formação de duas novas bandas em 535 e 570 nm (Figura 14 A), 420 e 538 nm (Figura 14 B) e 538 e 570 nm (Figura 14 C) para a formação das espécies $[\text{MbFe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]$ e $[\text{HbFe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$ respectivamente.

Figura 14 - Espectros de UV-Vis de soluções contendo o íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e A: met-Mb; B: $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$ e C: Hb. A: $C_{\text{Ru}} = 3,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{\text{met-Mb}} = 7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; B: $C_{\text{Ru}} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]} = 2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; Insert: região espectral ampliada de 475 a 625 nm da $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]$. C: $C_{\text{Ru}} = 2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{[\text{Hb}]} = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; Todos experimentos realizados em pH = 4,0; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $(\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa})$; $T = (25,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$.

Ford e colaboradores¹⁰⁵ demonstraram ser possível diferenciar a formação das espécies $[\text{MbFe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$ e $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]^-$ dos seus produtos de nitrosilação redutiva $[\text{MbFe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)]$ ($\lambda = 432$ e 555 nm) e $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)\text{TPPS}]$ ($\lambda = 425$ e 555 nm) através de seus espectros eletrônicos devido ao deslocamento dos máximos de absorção. Os espectros da Figura 14, cujos máximos de absorção estão descritos anteriormente, são característicos das espécies $[\text{MbFe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]$ e $[\text{HbFe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$.¹⁰⁵

Outra forma de se diferenciar a formação das espécies $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$ e $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)]$ é a ausência de sinal de EPR da primeira espécie em relação a segunda. De fato, a análise das soluções resultantes da reação entre a met-Mb ou $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$ e $\text{trans}-[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ não indicaram o sinal de EPR referente a espécie de $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{NO}^0]$, seja para met-Mb ou para $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)\text{TPPS}]$.

No entanto, a análise das mesmas soluções indicou a presença de uma espécie paramagnética, com valor de g centrado em 2,43, valor este não característico de espécies de Fe(III). O espectro obtido para o produto da reação descrita anteriormente tem valor de g próximo ao de 2,45 descrito na literatura¹⁰⁷ para a espécie

$trans-[Ru^{III}(H_2O)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$. A Figura 15 ilustra um espectro típico de EPR da reação entre a met-Mb e o complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$.

Figura 15 - Espectro de EPR em banda X para a reação entre a met-Mb e o complexo $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$. $C_{met-Mb} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $C_{Ru} = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. pH = 4,0; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; T = -196°C. Frequência de micro-ondas = 9,485 GHz; amplitude de modulação: 5G. A: primeira derivada; B: espectro de absorção.

A formação do íon complexo $trans-[Ru^{III}(H_2O)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$ também pôde ser identificada através do acompanhamento da reação por voltametria cíclica, onde nota-se o gradativo aumento da corrente do potencial de pico catódico referente ao processo $trans-[Ru^{III}(H_2O)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+} / trans-[Ru^{II}(H_2O)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{2+}$ em 0,72 V⁶, como mostra a Figura 16.

Figura 16 - Voltamogramas cíclicos obtidos durante o curso da reação entre os complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ e [Fe^{III}(H₂O)TPPS], mostrando a formação do complexo *trans*-[Ru^{III}(H₂O)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺. C_[Fe^{III}TPPS] = 1,0×10⁻⁴ mol L⁻¹; C_{Ru} = 1,0×10⁻³ mol L⁻¹; pH = 4,0; μ = 0,1 mol L⁻¹; (CH₃COOH/CH₃COONa); T = (25,0±0,2)°C. Eletrodo de carbono vítreo.

As análises de espectros de UV-Vis (Figura 14A) e de EPR (Figura 15) indicaram a formação da espécie [MbFe^{II}(NO⁺)] e do íon complexo *trans*-[Ru^{III}(H₂O)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ como produtos da reação entre a met-Mb e o íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺. O mesmos produtos puderam ser observados para a reação com [Fe^{III}(H₂O)TPPS]³⁻. Através da análise do espectro de UV-Vis ao termino da reação, foi possível quantificar a formação das espécies [Fe^{II}(NO⁺)], pelos valores característicos de coeficiente de absorvidade molar ($\epsilon = 9,0 \times 10^3$ e $2,56 \times 10^5$ L mol⁻¹ cm⁻¹ para [MbFe^{II}(NO⁺)] e [Fe^{II}(NO⁺)TPPS] respectivamente).¹⁰⁵ O íon complexo *trans*-[Ru^{III}(H₂O)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ não pode ser quantificada, visto que as bandas características deste complexo encontram-se envelopadas pelas bandas das espécies de ferro formadas, e pelo excesso de *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ presente em solução.

Tomando-se como base a quantificação dos produtos $[\text{Fe}^{\text{II}}\text{NO}^+]$ e do íon complexo $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e a não identificação de NO livre em solução, propõe-se que a estequiometria da reação seja a seguinte (Eq.20):

Em tempo, observou-se para o ligante $\text{P}(\text{OMe})_3$ comportamento semelhante ao descrito para o ligante $\text{P}(\text{OEt})_3$ frente as espécies met-Mb e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]^{3-}$.

4.2.3 Estudo cinético da reação entre os complexos $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OR})_3)]^{3+}$ e as espécies de Fe(III)

Após a identificação e a quantificação dos produtos da reação entre as espécies de Fe(III) e os nitrosilo complexos, procedeu-se então o acompanhamento cinético destas reações para o cálculo das constantes de velocidade específicas. Os experimentos envolvendo os complexos $\text{trans-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OR})_3)]^{3+}$ foram efetuados em meio ácido para evitar o ataque nucleofílico de íons OH^- ao complexo.¹² Os gráficos da Figura 17 ilustram o perfil da variação de absorvância em relação tempo para a formação das espécies $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]^-$ (A), $[\text{MbFe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$ (B) e $[\text{HbFe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$ (C). Nestes experimentos utilizou-se sempre excesso do complexo de rutênio em relação as espécies de Fe(III).

Como podem ser observados os perfis das curvas obtidas a partir dos dados experimentais não seguem uma variação exponencial típica, encontrada para reações de segunda ordem ou mais especificamente em reações de pseudo-primeira ordem como neste caso. Obteve-se um perfil sigmoidal que segundo a literatura sugere a existência de um mecanismo onde estão ocorrendo reações consecutivas.^{108,109}

Figura 17 – Gráfico de absorvância normalizada em relação ao tempo para a reação entre o íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e A: $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]^{3-}$ – $C_{[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]} = 5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ - Fe : Ru: (■):1:10; (●):1:20; (▼):1:30; (▲):1:40. B: met-Mb – $C_{\text{met-Mb}} = 1,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ - Fe : Ru: (■):1:60; (●):1:80; (▼):1:100; (▲):1:120. C Hb – $C_{\text{Hb}} = 1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ – Fe : Ru (■):1:10; (●):1:20; (▼):1:25; (▲):1:30.

Curvas semelhantes às apresentadas para a Figura 17 foram obtidas para o complexo quando $L = P(OMe)_3$, para a reação com as espécies met-Mb e $[Fe^{III}(H_2O)TPPS]$. Estas curvas encontram-se no Apêndice II.

Levando-se em conta o esquema de reações proposto anteriormente para a transferência de NO (Eqs. 8 e 9) e o perfil sigmoidal encontrado, é plausível supor que, durante o curso da reação uma espécie binuclear esteja sendo formada a qual ao longo do tempo daria lugar as espécies $[Fe^{II}(NO^+)(L_2)]$ e ao íon complexo $trans-[Ru^{III}(H_2O)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$. Assim, propõe-se o seguinte conjunto de reações (Eqs. 25 e 26):

(25)

(26)

A primeira etapa da reação seria a formação de um complexo binuclear, onde o ligante NO atuaria como ponte entre os dois centros metálicos. Em uma segunda etapa, ocorreria a quebra da ligação entre o ligante NO e o centro metálico de rutênio, ocorrendo a transferência de NO dando origem ao nitrosilo de ferro. Por se tratar de uma reação envolvendo a formação de intermediário de reação, o tratamento dos dados não é trivial. Para tanto, foi proposto um modelo cinético baseando-se nas Eqs. 25 e 26, resolvendo analiticamente as equações através de software de simulação matemática. Como primeira tentativa foi considerada uma etapa de equilíbrio para a formação do intermediário. No entanto, a tentativa posterior de utilizar as equações de velocidade obtidas para realizar o ajuste não-linear das curvas de absorbância em relação ao tempo não levaram a resultados satisfatórios. Assim, a primeira etapa de reação (formação da espécie binuclear) e a segunda etapa (formação dos produtos) foram consideradas como diretas (irreversíveis). Utilizando essa abordagem, o ajuste não linear das curvas mostrou-se mais coerente. Portanto, as equações de reações que melhor explicam os dados experimentais são (Eqs. 27 e 28):

A resolução detalhada das equações utilizadas para a obtenção das constantes de velocidade e o tratamento matemático utilizado encontram-se no Apêndice I.

A partir de gráficos semelhantes aos mostrados na Figura 17 para met-Mb e $[Fe^{III}(H_2O)TPPS]$, mostrados no Apêndice III e utilizando a resolução das equações mostradas

Resultados e Discussão

no Apêndice I, foi possível calcular os valores das constantes de velocidade para as reações 23 e 24. Estes dados estão resumidos na Tabela 7.

Tabela 7 - Constantes de velocidade específicas^(a) para a reação entre os complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)]ⁿ⁺ e [Fe^{II}(NO⁺)(CN)₅]²⁻ e espécies de Fe(III). Potenciais E⁰⁺_(NO⁺/NO⁰) para estes nitrosilos^(b).

L ou Complexo	[Fe ^{III} (L)]	k ₁ L mol ⁻¹ s ⁻¹	k ₂ s ⁻¹ (×10 ³)	E ⁰⁺ _(NO⁺/NO⁰) V (ENH)
P(OMe)₃	TPPS	7,7±0,5	2,7±0,1	0,13
	met-Mb	1,1±0,1	5,3±0,1	
P(OEt)₃	TPPS	2,8±0,1	2,4±0,4	0,08
	met-Mb	2,1±0,1	11,4±0,5	
	Hb ^(c)	2,4±0,2	8,5±0,5	
P(OIs)₃	TPPS	n.r.o	n.r.o	0,02
	met-Mb			
P(OH)(OEt)₂	TPPS	n.r.o	n.r.o	-0,31
	met-Mb			
ImN	TPPS	n.r.o	n.r.o	-0,12
	met-Mb			
IsN	TPPS	n.r.o	n.r.o	0,05
	met-Mb			
Nic	TPPS	n.r.o	n.r.o	0,07
	met-Mb			
[Fe^{II}(NO⁺)(CN)₅]²⁻	TPPS	n.r.o	n.r.o	-0,40
	met-Mb			

(a) T = (25,0±0,2)°C, pH = 4,0 (Na/HTFA; μ = 0,1 mol L⁻¹). (b) ref.3; n.r.o: nenhuma reação de nitrosilação observada.

(c) valores das constantes corrigidos pelo fator estatístico (cada molécula de Hb contém 4 grupos Heme).

Além do cálculo das constantes utilizando o modelo cinético descrito acima, o valor da constante k₂ (Eq.28) também foi estimado via EPR em solução, monitorando-se a formação de Ru(III). O gráfico da Figura 18 ilustra o aumento da concentração de Ru(III) em função do tempo. O valor de k₂ estimado utilizando-se este método foi de 1,3×10⁻³ s⁻¹, portanto da

mesma ordem de grandeza do valor de k_2 calculado utilizando-se o modelo matemático proposto.

Figura 18 – Espectros de EPR da solução do íon complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e met-Mb. $C_{\text{met-Mb}} = 7,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $C_{\text{Ru}} = 3,75 \times 10^{-3}$. (—): $t = 250 \text{ s}$; (—): $t = 750 \text{ s}$; (—): $t = 1000 \text{ s}$; (—): $t = 1500 \text{ s}$; $\text{pH} = 4,0$; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = -196^\circ\text{C}$.

Nos dados da Tabela 7 pode-se observar que a natureza do ligante L *trans* posicionado ao NO, é fator importante para que a reação ocorra. Para todos os N-heterocíclicos testados não foi observada variação espectral o que indicaria a ocorrência da reação de nitrosilação. O mesmo se verificou para os dois outros ésteres de fósforo ($\text{P}(\text{OH})(\text{OEt})_2$ e $\text{P}(\text{OIspr})_3$) testados. Nota-se também que o íon complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{CN})_5]^{2-}$ não reagiu frente as espécies de Fe(III) aqui testadas. Para os complexos onde $L = \text{P}(\text{OMe})_3$ e $\text{P}(\text{OEt})_3$ foi observada a reação de nitrosilação. Comparando-se os diferentes ésteres e um dos complexos modelo de Fe(III), é possível observar que os valores de k_1 são superiores quando $L = \text{P}(\text{OMe})_3$ com relação a $\text{P}(\text{OEt})_3$. Observa-se também que a reação com as proteínas

apresentam valores de k_1 inferiores ao observado para a espécie $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]^{3-}$, provavelmente devido ao acesso ao centro metálico de ferro na proteína ser dificultado pelo bolsão hidrofóbico. Na mesma direção deste argumento os valores de k_2 indicam que a dissociação do intermediário se dá de forma mais rápida nas proteínas em comparação as espécies contendo TPPS.

A literatura é escassa na discussão deste tipo de reação, principalmente no que diz respeito aos valores de constantes de velocidade. Um dos poucos exemplos disponíveis é o cálculo do valor de k_2 ($k_{\text{obs}} = 0,178 \text{ min}^{-1}$)⁷⁴ para a reação entre o complexo $[\text{Mn}(\text{NO})(\text{TC-5,5})]$ e $[\text{Fe}(\text{TC-5,5})]$ (TC-5,5: ligante do tipo tetraazomacrociclo). Tratando-se da reação de transferência de NO para metalo-proteínas, é descrita a reação de transferência de NO entre o complexo $[\text{Co}(\text{NO})\text{Cl}(\text{en})_2]^+$ (en = etilenodiamina) e a hemoglobina, com valor de $k = 72 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.¹¹⁰ No entanto, os autores apenas descrevem o processo como ocorrendo segundo um processo cinético simples de segunda ordem, não informando se houve ou não a formação de algum intermediário. Novamente, a comparação com nosso sistema fica, portanto prejudicada.

Dos dados reunidos na Tabela 7, pode-se observar que os ligantes que apresentam os valores de potencial de redução $E^0_{(\text{NO}^+/\text{NO}^0)}$ mais positivos ou iguais a +0.08V são aqueles que apresentaram a transferência de NO. Os valores de potencial para a redução $E^0_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$ para as espécies de Fe(III) encontram-se descritos na Tabela 8.

Tabela 8 – Potenciais de redução $E^0_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$ para as espécies de Fe(III) utilizadas neste estudo.

Espécie	$E^0_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})} \text{ (V vs. ENH)}$	Referência
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{TPPS})]^{3-}$	0,014	111
met-Mb	0,07	78
Hb	0,04	78

Resultados e Discussão

Utilizando os dados das Tabelas 7 e 8 foi possível correlacionar os valores de k_1 e k_2 com os valores de potencial $E^{0'}_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$ para as espécies de Fe(III) utilizadas neste estudo com o íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺. Os gráficos da Figura 19 ilustram essa correlação.

Figura 19 – Correlação entre os potenciais $E^{0'}_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$ e valores de constantes de velocidade específica reação entre espécies de Fe(III) e o íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺.

Nota-se uma tendência entre os valores de potenciais de redução $E^{0'}_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$ e os valores das constantes de velocidade específica para as reações em questão. Tratando-se de k_1 , nota-se que quanto mais positivo o valor de $E^{0'}_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$ mais lenta a reação se torna. Essa tendência está correlacionada com o potencial $E^{0'}_{(\text{NO}^+/\text{NO}^0)}$, porém não de forma clara. O efeito oposto é observado para o valor de k_2 , onde a quebra da ligação [Ru^{II} – (μ-NO⁺) – Fe^{III}] é facilitada quando se tem valores mais positivos de $E^{0'}_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$, indicando que a estabilidade do intermediário segue a ordem: [Fe^{III}(H₂O)TPPS]³⁻ > Hb > met-Mb.

4.2.4 Identificação e cálculos *ab initio* do intermediário da reação entre os complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)]³⁺ e espécies de Fe(III)

O conjunto de dados cinéticos apresentados anteriormente somados aos dados da literatura⁷²⁻⁷⁴ indicam fortemente a formação de uma espécie binuclear, onde o ligante NO estaria servindo de ponte entre os centros metálicos de Fe e Ru. No entanto, não há informação disponível que indique que este intermediário tenha sido isolado ou mesmo caracterizado em solução em qualquer dos sistemas já estudados.

Baseando-se nas correlações entre os potenciais de redução das espécies e os valores das constantes de velocidade, escolheu-se o sistema envolvendo a reação entre [Fe^{III}(H₂O)TPPS] e o complexo *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ para a tentativa de identificação da espécie binuclear. A primeira tentativa de identificação foram experimentos na região do infravermelho próximo, pois a formação de um complexo binuclear com NO agindo como ligante ponte *a priori* deveria apresentar o aparecimento de banda, não presente nos compostos de partida, nesta região. No entanto, não foi possível observar a formação desta banda. Uma possível explicação para tal fato é que complexos binucleares não simétricos podem apresentar valores de coeficiente de absorvidade molar bastante baixos na região do infravermelho próximo.¹¹² A tentativa do aumento da concentração das espécies para novos experimentos envolvendo a identificação das bandas de intervalência levaram a formação de um precipitado, que em um primeiro momento se cogitou tratar da espécie binuclear. No entanto, a análise deste sólido mostrou que este não se tratava do complexo binuclear em questão. O mesmo sólido foi obtido em diversas tentativas de isolamento da espécie binuclear, porém sem resultados satisfatórios. A análise deste sólido será apresentada posteriormente no item 4.2.4.

Em continuidade, foram efetuados experimentos de voltametria cíclica e de pulso diferencial. Nestes experimentos o progresso da reação foi monitorado em função do tempo,

de soluções contendo os complexos *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ e [Fe^{III}(H₂O)TPPS]. O gráfico da Figura 20 ilustra esse os resultados obtidos.

Figura 20 - Polarogramas de pulso diferencial obtidos em função do tempo para a reação entre *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ e [Fe^{III}(H₂O)TPPS]. C_{Ru} = 7,15×10⁻⁴ mol L⁻¹; C_[Fe^{III}TPPS] = 7,15×10⁻⁵ mol L⁻¹. pH = 4,0, μ = 0,1 mol L⁻¹, (CH₃COOH/CH₃COONa); T = (25,0±0,2) °C. (a) 1; (b) 9; (c) 60 e (d) 120 minutos após a mistura. Eletrodo de mercúrio (Modo Estático).

Nota-se da Figura 20 dois pares redox, assinalados como $E^{0'}_{\text{int.}} = -0,47\text{V}$ e $E^{0'}_{\text{prod}} = -0,36\text{ V}$. Tomando-se a largura das ondas polarográficas a meia altura ($W_{1/2}$) ambos os processos apresentam o mesmo valor indicando que os processos $E^{0'}_{\text{int.}}$ e $E^{0'}_{\text{prod}}$ envolvem o mesmo número de elétrons. Outro ponto importante é o comportamento da corrente de pico em função do tempo para estes processos. O voltamograma de pulso diferencial representado como (a) na Figura 20, com $E^{0'}_{\text{int.}} = -0,47\text{ V}$ foi obtido imediatamente após a mistura de soluções contendo os complexos de Ru e Fe. Voltamograma representado por (b) foi obtido 9 minutos após a mistura, sendo este o maior valor de corrente de pico encontrado para este processo em função do tempo. Ao longo do tempo, o processo eletroquímico representado por

(a) e (b) foi gradativamente tendo sua corrente de pico diminuída, até seu completo desaparecimento. Concomitantemente um novo processo eletroquímico representado por (c) e (d), com $E_{\text{prod}}^{0'} = -0,36 \text{ V}$, pode ser observado nos voltamogramas da Figura 20. O voltamograma (d) representa o valor máximo de corrente de pico obtido para a reação.

Plotando os valores de corrente de pico para os processos eletroquímicos em $-0,47 \text{ e } -0,36 \text{ V}$, obteve-se as curvas mostradas na Figura 21.

Figura 21 - Gráfico das correntes de pico em função do tempo para os processos eletroquímicos observados durante a reação entre $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$. As correntes foram normalizadas para o ajuste não linear. Não indica que as correntes de pico para os processos $E_{\text{prod}}^{0'}$ e $E_{\text{int}}^{0'}$ atingiram os mesmos valores máximos.

Nota-se do gráfico da Figura 21 que plotando-se os valores de corrente de pico em função do tempo para o processo em $-0,47 \text{ V}$ (curva em preto) obtém-se um perfil onde fica evidente a formação de uma espécie com seu posterior decaimento em função do tempo. Fazendo-se o mesmo tratamento, porém agora para o processo em $-0,35 \text{ V}$ (curva em

Resultados e Discussão

vermelho) nota-se um perfil sigmoidal, indicando a formação de uma nova espécie eletroativa em função do tempo.

Levando-se em conta as espécies presentes em solução, as seguintes espécies eletroativas poderiam estar presentes (Tabela 9):

Tabela 9 – Possíveis espécies eletroativas para a reação entre a $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$ e o íon complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ em solução aquosa.

Par redox	$E^{0'}$ ou E_p (V vs. EHN)	Referência
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})]^{2+} / [\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$	0,014	111
$[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}] / [\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)\text{TPPS}]^{2-}$	0,58	111
$[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)] / [\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^-)]^{3-}$	-0,36	111
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+} / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^0)(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{2+}$	0,08	3,6
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^0)(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{2+} / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{HNO})(\text{P}(\text{OEt})_3)]^+$	-0,41	94
$[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+} / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{2+}$	0,72	3,6

Como base nos valores da Tabela 9, segundo a faixa de potencial utilizada no experimento mostrado na Figura 20, poderiam estar inicialmente presentes as espécies eletroativas $E^{0'}_{(\text{NO}^0/\text{HNO})} = -0,41$ V para o íon complexo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $E^{0'}_{(\text{NO}^0/\text{NO}^-)} = -0,36$ V para o complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]$. Embora deslocados em 60 mV, os processos $E^{0'}_{\text{int}} = -0,47$ e $E^{0'}_{(\text{NO}^0/\text{HNO})} = -0,41$ V poderiam a princípio ser correlacionados. No entanto, caso o processo em -0,47 V fosse oriundo da formação do íon complexo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{HNO})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ este não poderia apresentar o perfil em função do tempo mostrado na Figura 21, pois o íon complexo *trans*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ está em excesso em solução e a espécie contendo HNO coordenada seria gerada eletroquimicamente de forma contínua. Além disso, o processo eletroquímico de formação de HNO no íon

complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ só é detectável a baixa temperatura (2,5°C), condição experimental diferente da utilizada no voltamograma mostrado na Figura 20.

Portanto, o processo E^{0'}_{int} = -0,47 V, não pôde ser atribuído a nenhuma destas duas espécies, reagentes, ou produtos, envolvidos na reação. Assim, supõe-se, pelo perfil do comportamento da corrente de pico observado na Figura 21, que este processo seja devido a espécie binuclear com o ligante NO em ponte.

Ainda corrobora com essa atribuição a análise cinética da curva E^{0'}_{int} = -0,47 V. A partir das porções lineares da curva, ascendente que teria relação com k₁ da Eq.27 e a descendente que teria relação com k₂ da Eq. 28 foram estimados os valores de k₁ = 3,2 s⁻¹ e k₂ = 2,0×10⁻³ L mol⁻¹ s⁻¹. Estes valores estão bastante próximos aos calculados para a reação entre [Fe^{III}(H₂O)TPPS]³⁻ e o íon complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ apresentados na Tabela 7. A análise cinética da curva relativa ao processo E^{0'}_{prod} = -0,35 conduziu a um valor de k₂ inferior (cerca de 10 vezes) ao calculado para a mesma reação e apresentado na Tabela 7. Essa diferença, a princípio pode ser tentativamente associado a um algum componente cinético no processo de transferência de elétrons entre o eletrodo e a espécie [Fe^{II}(NO⁺)TPPS]⁻.

O processo E^{0'}_{prod} = -0,36V pode ser fruto da reação (Eq.25):

Essa atribuição é apoiada pelo perfil sigmoidal encontrado na Figura 21 para o processo E^{0'}_{prod}, coerente com a formação da espécie [Fe^{II}(NO⁺)TPPS], observada espectrofotometricamente.

O processo em -0,47 V é um processo de redução, dada o sentido da varredura do voltamograma de pulso diferencial apresentado na Figura 20. Para atribuir de forma mais

precisa esse processo, foram efetuados cálculos *ab initio* para o intermediário da reação, visando sua otimização e a determinação da composição dos orbitais não ocupados de fronteira. A Figura 22 mostra a estrutura otimizada para o complexo binuclear e a Tabela 10 mostra os resultados resumidos para a população dos principais orbitais desta molécula.

Figura 22 – Estrutura otimizada utilizando cálculo DFT para o complexo binuclear.

Tabela 10 - Energia e composição de alguns orbitais moleculares obtidos para a estrutura otimizada para o complexo binuclear.

		Composição (%)			
Energia (Hartree)		-0.3420	-0.2798	-0.2444	-0.1486 -0.1470
Orbital		HOMO-12	HOMO-2	HOMO	LUMO ^(a) LUMO+1 ^(a)
Átomo ou Ligante	Fe	11 (d_{xy}, d_z^2)	28 (d_z^2)	0	32 (d_z^2) 7 (d_{yz})
	NO	2 ($p\pi^*$)	46 ($p\pi^*$)	0	17 ($p\pi^*$) 80 ($p\pi^*$)
	Ru	51(d_z^2, d_{yz})	3 (d_z^2)	0	20 (d_z^2) 3 (d_{yz})
	TPPS	5 ($p\pi^*$)	6 (σ_p^*)	99 ($p\pi^*$)	6 (σ_p^*) 7 ($n^{(b)}\pi^*$)
	NH ₃	2 ($n^{(b)}p$)	1 (σ_p^*)	0	4 (σ_p^*) 2 ($n^{(b)}p$)
	P(OEt) ₃	29 ($n^{(b)}p$)	11 (σ_p^*)	0	18 (σ^*) 0
	H ₂ O	0	5 (σ_p^*)	0	3 (σ_p^*) 0

(a) Devido à pequena diferença de energia entre os orbitais ($< 1,0 \text{ kcal mol}^{-1}$) estes podem ser considerados degenerados. (b) a notação n significa a presença de vários orbitais (Ex.: p_x e p_y); Orbital HOMO-12 ligante do orbital LUMO+1; HOMO-2 ligante do orbital LUMO, com isso definem-se os pares.

Pode-se observar da Tabela 10 que os orbitais LUMO e LUMO+1 são degenerados e majoritariamente centrados no ligante NO em ponte (superfícies de contorno para estes orbitais encontram-se no Apêndice III). Assim, os potenciais de pico observados em

Resultados e Discussão

-0,47 V nos voltamogramas (c) e (d) da Figura 21 são coerentes com a proposta de redução do ligante NO em ponte segundo (Eq.30):

Outro ponto importante de discussão é a ligação entre os centros de [Ru–(NO)– Fe] no binuclear e a possibilidade de transferência de elétrons entre os dois metais com o ligante NO agindo como ligante ponte.

A ligação entre os centros de Ru e Fe através do NO se dá através da ligação do ferro pelos orbitais de simetria $p\pi^*$ nos complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OR)₃)]³⁺. Através de cálculos DFT, foi possível observar que os orbitais $p\pi^*$ são na verdade os orbitais LUMO para estes complexos, com composição predominante sobre o ligante NO⁺ (LUMO: P(OMe)₃ 63% $p\pi^*$ NO⁺ e 37% Rud π ; P(OEt)₃: 60% $p\pi^*$ NO⁺ e 40% Rud π ;) Nota-se, também que para a espécie [Fe^{III}(H₂O)TPPS], o orbital HOMO é predominantemente centrado sobre o orbital d_z^2 (90% d_z^2 e 10% $p\pi$ TPPS). Assim, um ataque nucleofílico da espécie de Fe(III) no ligante NO⁺ do complexo de rutênio seria possível. A princípio este ataque parece pouco provável, visto que a espécie de Fe(III) é deficiente em elétrons. No entanto, a espécie [Fe^{III}(H₂O)TPPS] penta coordenada de é alto spin¹⁰⁵ o que implica em um elétron desemparelhado no orbital de d_z^2 . Assim, esse elétron poderia atacar os orbitais $p\pi^*$ do NO⁺ formando o complexo em ponte. Cálculos DFT estão em andamento para confirmar esta hipótese.

A análise das composições de orbital e superfície de contorno para os orbitais HOMO do complexo binuclear evidencia a ligação [Ru– (NO) –Fe], sendo o orbital em questão representado na Tabela 10 como HOMO-12. O orbital HOMO-2 também contribui para a ligação. A superfície de contorno para o orbital HOMO-12 é mostrada na Figura 23.

Figura 23 - Superfície de contorno para o HOMO-12.

Observa-se um orbital completamente deslocalizado, de caráter ligante, entre os átomos de Ru, N do NO em ponte e Fe. A presença deste orbital possibilita que haja transferência de elétrons entre o centro metálico de Ru(II) e o centro metálico de Fe(III), gerando as espécies Ru(III) e Fe(II) como produtos finais, corroborando com os produtos de reação identificados. Assim, o ligante NO estaria agindo como ponte para a transferência de elétrons entre os centros metálicos de Ru e Fe.

Reforçando essa hipótese, os valores de estiramento para o nitrosilo coordenado $\nu(\text{NO}^+)$ nos complexo *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OEt)₃)]³⁺ (1910 cm⁻¹) e [Fe^{II}(NO⁺)TPP] (1677 cm⁻¹), onde TPP corresponde a tetra-fenil-porfirina (semelhante a da TPPS a exceção dos grupos benzenosulfônicos). Devido a semelhança nas estruturas da TPP e TPPS supõe-se que os estiramentos $\nu(\text{NO}^+)$ para as duas espécies sejam próximos. Nota-se pela grande diferença no estiramento que a ligação [Fe^{II}-(NO⁺)] teria um maior componente π (retrodoação) que a ligação [Ru^{II}-(NO⁺)] sendo portanto a primeira mais estável. Assim, a

maior estabilidade da espécie $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]$ em relação ao nitrosilo de rutênio poderia ser a força motriz da reação observada entre $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$ e os complexos $\text{trans}-[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OR})_3)]^{3+}$. Não existem dados da estrutura de raios-X para o complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPP}]$ ou $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]$, portanto o comparativo da distância de ligação não pôde ser efetuado.

4.2.5 Análise do sólido obtido para a reação entre $\text{trans}-[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$

Esforços foram empregados para o isolamento do complexo binuclear. A reação entre o complexo $\text{trans}-[\text{Ru}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$ levou a obtenção de um sólido que poderia corresponder ao complexo binuclear em questão. Este foi isolado fazendo-se soluções concentradas dos reagentes e misturando-as sob fluxo de argônio na proporção 1:1. O rendimento desta reação foi inferior a 5%. Obteve-se um sólido azul escuro, que foi analisado por EPR e espectroscopia de emissão atômica induzida por plasma (ICP-OS) para a análise de Fe e Ru. A Figura 24 mostra o espectro de EPR para tal espécie.

Figura 24 – Espectro de EPR para o sólido isolado da reação entre $trans\text{-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^+)(\text{NH}_3)_4(\text{P}(\text{OEt})_3)]^{3+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{TPPS}]$. Frequência de micro-ondas = 9,784 GHz; amplitude de modulação: 1G. T = 10K. Insert: região de 900 a 1500 Gauss ampliada 6 vezes.

Nota-se dois conjuntos de sinais, um região de 1100 Gauss ($g = 4,3$) e outro na região de 3400 Gauss ($g = 2,03$). O primeiro sinal (Figura 24, Insert) é relativo a espécies de Fe(III) de alto spin¹⁰⁵ e o segundo a espécie $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)\text{TPPS}]$, podendo ser observado o desdobramento hiperfino (3 linhas) do acoplamento do elétron desemparelhado com o nitrogênio do NO.

A presença do $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)\text{TPPS}]$ não pode ser explicada pela transferência de NO entre o complexo de rutênio e o centro metálico de ferro, visto que neste caso a espécie final é $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)\text{TPPS}]$ e não $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^0)\text{TPPS}]$. Nota-se também pelo espectro que não há presença de Ru(III) no sólido, indicando que caso este tenha sido formado, permaneceu em solução. Em tempo, a sua presença na “solução mãe” foi detectada, mas em baixa concentração.

A análise de ICP-OS também não foi conclusiva, mostrando que a proporção Ru:Fe no sólido é de 1 para 3. No entanto, o rutênio remanescente no sólido não é paramagnético, uma vez que caso houvesse Ru(III), este seria observado por EPR.

Até o momento, não há uma explicação plausível para este sólido. É importante ressaltar que esta reação só ocorre quando as concentrações dos reagentes são superiores a $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

4.2.6 Conclusões Parciais

Para esta etapa do trabalho concluiu-se que os nitrosilo complexos de rutênio *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(L)]³⁺, onde L = P(OMe)₃ e P(OEt)₃, transferem NO diretamente ao centro metálico de espécies de Fe(III), tais como [Fe^{III}(H₂O)TPPS], Hb e met-Mb, gerando como principais produtos as espécies *trans*-[Ru^{III}(H₂O)(NH₃)₄(L)]³⁺ e [Fe^{II}(NO⁺)(L₂)]. Pôde ser identificada eletroquimicamente a formação de um complexo binuclear ligado pelo NO em ponte como intermediário da reação. Esta reação se processa em duas etapas e os valores das velocidades específicas de reação possuem correlação com os potenciais $E^{0'}_{(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})}$. A força motriz da reação poderia ser correlacionada com a maior estabilidade do nitrosilo de Fe se comparado ao nitrosilo de rutênio. A transferência direta de NO a centros de Fe(III) pode ser uma nova forma de ativar Heme proteínas *in vivo*, principais alvos do NO e responsáveis pelas suas funções farmacológicas.

5. Considerações Finais e Perspectivas

O trabalho aqui apresentado mostra a versatilidade e potencial de aplicabilidade dos nitrosilo complexos de rutênio como modelos de complexos doadores de NO, HNO e como agentes nitrosilante, pela reação de transferência de NO. Fica evidente a importância do ligante *trans* posicionado para a reatividade destes compostos, pois, conforme pôde ser observada, a mudança de N-heterocíclicos por ésteres de fósforo modula a reatividade destes compostos, seja no tocante da formação de HNO coordenado, seja nas reações de transferência de óxido nítrico.

O estudo sistemático das reações de redução e o estudo dos estados de spin abrem caminho para o entendimento da química fundamental destes sistemas e, portanto permite baseado nos dados aqui apresentados, modelar novos compostos com potenciais de redução $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO})]^{2+} / [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NO}^-)]^+$, velocidade de liberação de NO e HNO mais adequados as aplicações biológicas pretendidas. Além disso, a química fundamental e aplicada de doadores de HNO envolvendo metais de transição é quase inexplorada, sendo este um tópico onde muito se pode avançar. Outro ponto fundamental é a detecção e quantificação de HNO, como foi discutido ao longo deste trabalho. O método eletroquímico apresentado neste trabalho, embora indireto como todos os métodos descritos na literatura, representa um método alternativo aos já descrito visto que pode ser utilizada a presença de redutores em solução, o que não é possível na maioria dos demais métodos, visto que estes indicadores reagem com redutores. Esforços para desenvolver um método eletroquímico para a quantificação de HNO via N_2O está em curso neste Laboratório. De forma geral, a química do HNO, representa um grande desafio, seja na síntese de compostos doadores, identificação e quantificação e compreensão de sua química básica.

Um dos alvos do óxido nítrico em sistemas biológicos são as heme proteínas, como por exemplo, a guanilato ciclase, responsável pelo mecanismo de vasodilatação. Compostos doadores

Considerações Finais

de óxido nítrico têm sido buscados, objetivando o controle da concentração desta molécula em situações específicas no organismo. No tocante dos nitrosilo complexos metálicos testados como liberadores de NO, até o momento havia necessidade de ativação para a liberação de NO (química ou fotoquímica) ou de alguns compostos que liberam NO de forma espontânea. A possibilidade da transferência de NO, de forma direta, a centros de Fe(III) indica que este poderia ser mais uma possibilidade de nitrosilar heme proteínas sem a necessidade de ativação prévia dos compostos de coordenação.

Os compostos utilizados neste estudo, principalmente os que possuem os ésteres de fósforo P(OMe)_3 e P(OEt)_3 , possuem o inconveniente de serem passíveis a ataque nucleofílico em pH próximo a 7,0, dificultando assim o estudo da reação de transferência de NO neste pH. Como perspectivas têm-se o desenvolvimento de outros compostos que possam transferir o óxido nítrico, modulando-se o potencial e o efeito e influência *trans* dos ligantes *trans* posicionado ao NO.

6. Referências Bibliográficas

1 TAUBE, H. Ruthenium(II) ammines - a reactivity study. **Survey of Progress in Chemistry**, v. 6, p. 1-46, 1973.

2 FORD, P.C. Properties and reactions of ruthenium(ii) ammine complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 5, p. 75-99, 1970.

3 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**, v. 236, p. 57-69, 2003.

4 LIMA NETO, B.S.; NASCIMENTO, J.C.; FRANCO, D.W. trans-effect and trans-influence in ruthenium(ii) tetraammines: imidazole as a probe ligand. **Polyhedron**, v. 15, p. 1965-1970, 1995.

5 McCLEVERTY, J.A. Reactions of nitric oxide coordinated to transition metals. **Chemical Reviews**, v. 79, p. 53-76, 1979.

6 LOPES, L.G.F.; CASTELLANO, E.E.; FERREIRA, A.G.; DAVANZO, C.U.; CLARKE, M.J.; FRANCO, D.W. Reactivity of *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃NO]X₃ (X = PF₆⁻; CF₃COO⁻) modulation of the release of NO by the trans-effect. **Inorganica Chimica Acta**, v. 359, p. 2883-2889, 2005.

7 TOLEDO, J.C.; LIMA NETO, B.S.; FRANCO, D.W. Mutual effects in the chemical properties of the ruthenium metal center and ancillary ligands upon coordination. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 249, p. 419-431, 2005.

8 BORGES, S.S.S.; DAVANZO, C.U.; CASTELLANO, E. E.; SCHPECTOR, J. Z.; SILVA, S.C.; FRANCO, D. W. Ruthenium nitrosyl complexes with n-heterocyclic ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 37, p. 2670-2677, 1998.

9 ENEMARK, J.H.; FELTHAM, R.D. Principle of structure, bonding and reactivity of metal nitrosyl complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 13, p. 339-406, 1974.

10 OSTI, R.Z.; FRANCO, D.W. Aspects of nitrite association with *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃H₂O]²⁺. **Polyhedron**, v. 26, p. 4746-4750, 2007.

Referências Bibliográficas

- 11 RONCAROLI, F.; GUZZI, M.E.R.; FRANCO, D.W.; ESTIU, G. L.; OLABE, J.A. Kinetic, mechanistic, and DFT study of the electrophilic reactions of nitrosyl complexes with hydroxide. **Inorganic Chemistry**, v. 41, p. 5760-5769, 2002.
- 12 METZKER, G.; TOLEDO, J.C.; LIMA, F.C.A.; MAGALHÃES, A.; CARDOSO, D. R.; FRANCO, D.W. Nitric oxide as an activation agent for nucleophilic attack in *trans*-[Ru(NO)(NH₃)₄{P(OEt)₃}] (PF₆)₃. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 1266-1273, 2010.
- 13 SILVA, J. J.N.; OSAKABE, A.L.; PAVANELLI, W.; SILVA, J.S.; FRANCO, D.W. In vitro and in vivo antiproliferative and trypanocidal activities of ruthenium NO donors. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, p. 112-121, 2007.
- 14 PEREIRA, J.C.M.; CARREGARO, V.; COSTA, D.L.; SILVA, J.S.; CUNHA, F.Q.; FRANCO, D.W. Antileishmanial activity of ruthenium(II)tetraammine nitrosyl complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 4180-4187, 2010.
- 15 TFOUNI, E.; DORO, F.G.; FIGUEIREDO, L.E.; PEREIRA, J.C.M.; METZKER, G.; FRANCO, D.W. Tailoring NO donors metallopharmaceuticals: ruthenium nitrosyl amines and aliphatic tetraazamacrocycles. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 3643-3657, 2010.
- 16 TFOUNI, E.; TRUZZI, D.R.; TAVARES, A.; GOMES, A.J.; FIGUEIREDO, L.E.; FRANCO, D.W. Biological activity of ruthenium nitrosyl complexes. **Nitric Oxide**, v. 26, p. 38-53, 2012.
- 17 OSTI, R.Z. **Nitrosilo complexos de rutênio. Equilíbrio químico, envolvimento em sistemas vegetais e citotoxicidade em modelos de cancer**. 2008. 168 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- 18 GARCIA, A.C.; FREITAS, C.S.; CUNHA, F.Q.; FRANCO, D.W. Analgesic activity of nitrosyl ruthenium complexes. In: 8th International Congress of Pharmaceutical Science (CIFARP-2011), 2011, Ribeirão Preto, São Paulo, 2011. CD-Rom.
- 19 MA, X.L.; GAO, F.; LIU, G.L.; LOPEZ, B.L.; CHRISTOPHER, T.A.; FUKUTO, J.M.; WINK, D.A.; FEELISCH, M. Opposite effects of nitric oxide and nitroxyl on postischemic myocardial injury. **Proceedings of the National Academy of Science of U.S.A.**, v. 96, p. 14617-14622, 1999.

Referências Bibliográficas

- 20 SWITZER, C.H.; FLORES-SANTANA, W.; MANCARDI, D.; DONZELLI, S.; BASUDHAR, D.; RIDNOUR, L.A.; MIRANDA, K.M.; FUKUTO, J.M.; PAOLOCCI, N.; WINK, D.A. The emergence of nitroxyl (HNO) as a pharmacological agent. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1787, p. 835-840, 2009.
- 21 IRVINE, J.C.; RITCHIE, R.H.; FAVALORO, J.L.; ANDREWS, K.L.; WIDDOP, R.E.; KEMP-HARPER, B.K. Nitroxyl (HNO): the cinderella of the nitric oxide story. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 29, p. 601-608, 2008.
- 22 FAVALORO, J.L.; KEMP-HARPER, B.K. The nitroxyl anion (HNO) is a potent dilator of rat coronary vasculature. **Cardiovascular Research**, v. 73, p. 587-596, 2007.
- 23 FUKUTO, J.M.; BIANCO, C.L.; CHAVEZ, T.A. Nitroxyl (HNO) signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, p. 1318-1324, 2009.
- 24 STOYANOVSKY, D.A.; SCHOR, N.F.; NYLANDER, K.D.; SALAMA, G. Effects of pH on the cytotoxicity of sodium trioxodinitrate (Angeli's salt). **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 210-217, 2004.
- 25 WINK, D.A.; MITCHELL, J.B. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 25, p. 434-456, 1998.
- 26 SHAFIROVICH, V.; LYMAR, S.V. Nitroxyl and its anion in aqueous solutions: spin states, protic equilibria, and reactivities toward oxygen and nitric oxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.**, v. 99, p. 7340-7345, 2002.
- 27 WANSTALL, J.; JEFFERY, T.; GAMBINO, A.; LOVREN, F.; TRIGGLE, C. Vascular smooth muscle relaxation mediated by nitric oxide donors: a comparison with acetylcholine, nitric oxide and nitroxyl ion. **British Journal of Pharmacology**, v. 134, p. 463-472, 2001.
- 28 FUKUTO, J.M.; CARRINGTON, S.J.; TANTILLO, D.J.; HARRISON, J.G.; IGNARRO, L.J.; FREEMAN, B.A.; CHEN, A. WINK, D.A. Small molecule signaling agents: the integrated chemistry and biochemistry of nitrogen oxides, oxides of carbon, dioxygen, hydrogen sulfide, and their derived species. **Chemical Research in Toxicology**, v. 25, p. 769-793, 2012.

Referências Bibliográficas

- 29 MIRANDA, K.M. The chemistry of nitroxyl (HNO) and implications in biology. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 249, p. 433-455, 2005.
- 30 BAZYLINSKI, D.A.; HOLLOCHER, T.C.; Evidence from the reaction between trioxodinitrate(II) and ^{15}NO that trioxodinitrate(II) decomposes into nitrosyl hydride and nitrite in neutral aqueous solution. **Inorganic Chemistry**, v. 24, p. 4285-4288, 1985.
- 31 FUKUTO, J.M.; CARRINGTON, S.J. HNO signaling mechanisms. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 14, p. 1649-1657, 2011.
- 32 GUTHRIE, D.A.; KIM, N.Y.; SIEGLER, M.A.; MOORE, C.D.; TOSCANO, J.P. Development of N-substituted hydroxylamines as efficient nitroxyl (HNO) donors. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, p. 1962-1965, 2012.
- 33 BONNER, F.T.; RAVID B. Thermal-decomposition of oxyhyponitrite (sodium trioxodinitrate(II)) in aqueous-solution. **Inorganic Chemistry**, v. 14, p. 558-563, 1975.
- 34 PAOLOCCI, N.; JACKSON, M.I.; LOPEZ, B.E.; MIRANDA, K.; TOCCHETTI, C.G.; WINK, D.A.; HOBBS, A.J.; FUKUTO, J.M. The pharmacology of nitroxyl (HNO) and its therapeutic potential: not just the janus face of NO. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 113, p. 442-458, 2007.
- 35 BULLEN, M.L.; MILLER, A.A.; ANDREWS, K.L.; IRVINE, J.C.; RITCHIE, R.H.; SOBEY, C.G.; KEMP-HARPER, B.K. Nitroxyl (HNO) as a vasoprotective signaling molecule. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 14, p. 1675-1686, 2011.
- 36 WANAT, A.; SCHNEPPENSIEPER, T.; STOCHEL, G.; VAN ELDIK, R.; BILL, E.; WIEGHARDT, K. Kinetics, mechanism, and spectroscopy of the reversible binding of nitric oxide to aquated iron(II). An undergraduate text book reaction revisited. **Inorganic Chemistry**, v. 41, p. 4-10, 2010.
- 37 BROWN, C.A.; PAVLOVSKY, M.A.; WESTRE, T.E.; ZHANG, Y.; HEDMAN, B.; HODGSON, K.O.; SOLOMON, E.I. Spectroscopic and theoretical description of the electronic structure of $S = 3/2$ iron-nitrosyl complexes and their relation to O_2 activation by non-heme iron enzyme active sites. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, p. 715-732, 1995.

Referências Bibliográficas

- 38 PELLEGRINO, J.; BARI, S.E.; BIKIEL, D.E.; DOCTOROVICH, F. Successful stabilization of the elusive species $\{\text{FeNO}\}^8$ in a heme model. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, p. 989-995, 2010.
- 39 SERRES, R.G.; GRAPPERHAUS, C.A.; BOTHE, E.; BILL, E.; WEYHERMÜLLER, T.; NEESE, F.; WIEGHARDT, K. Structural, spectroscopic, and computational study of an octahedral, non-heme $\{\text{Fe-NO}\}^{6-8}$ series: $[\text{Fe}(\text{NO})(\text{cyclam-ac})]^{2+/+0}$. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, p. 5138–5153, 2004.
- 40 PATRA, A.K.; DUBE, K.S.; SANDERS, B.C.; PAPAETHYMIOU, G.C.; CONRADIE, J.; GHOSH, A.; HARROP, T.C. A thermally stable $\{\text{FeNO}\}^8$ complex: properties and biological reactivity of reduced MNO systems. **Chemical Science**, v. 3, p. 364–369, 2012.
- 41 SELLMANN, D.; GOTTSCHALK-GAUDIG, T.; HAUSSINGER, D.; HEINEMANN, F.W.; HESS, B.A.; $[\text{Ru}(\text{HNO})(\text{'py}^{\text{bu}}\text{S}_4)]$, the first HNO complex resulting from hydride addition to a NO complex ($\text{'py}^{\text{bu}}\text{S}_4^{2-}$ =2,6-Bis(2-mercapto- 3,5-di-*tert*-butylphenylthio)dimethylpyridine(2-)). **Chemistry European Journal**, v. 7, p. 2099-2103, 2001.
- 42 MARCHENKO, A.V.; VEDERNIKOV, A.N.; DYE, D.F.; PINK, M.; ZALESKI, J.M.; CAULTON, K.G. An electron-excessive nitrosyl complex: reactivity of a ligand-centered radical leading to coordinated HNO. **Inorganic Chemistry**, v. 41, p. 4087-4089, 2002.
- 43 MARCHENKO, A.V.; VEDERNIKOV, A.N.; DYE, D.F.; PINK, M.; ZALESKI, J.M.; CAULTON, K.G. Reactivity of the hydrido/nitrosyl radical $\text{MHCl}(\text{NO})(\text{CO})(\text{P}(\text{iPr})_3)_2$, M = Ru, Os. **Inorganic Chemistry**, v. 43, p. 351–360, 2004.
- 44 LEE, J.; RICHTER-ADDO, G.B. A nitrosyl hydride complex of a heme model $[\text{Ru}(\text{ttp})(\text{HNO})(1\text{-MeIm})]$ (ttp=tetratolylporphyrinato dianion). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98 p. 1247-1250, 2004.
- 45 GRUNDY, K.R.; REED, C.A.; ROPER, W.R. Hydrogen transfer from HCl to the nitrosyl ligand. Examples of co-ordinated HNO, NHOH⁺, and NH₂OH. **Journal of the Chemical Society D**, 1501-1502, 1970.
- 46 WILSON, R.D.; IBERS, J.A. Coordinated nitrosyl hydride: structural and spectroscopic study of $[\text{OsCl}_2(\text{CO})(\text{HNO})(\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3)_2]$. **Inorganic Chemistry**, v.18, p.336-343, 1979.

Referências Bibliográficas

- 47 MELENKIVITZ, R.; SOUTHERN, J.S.; HILLHOUSE, G.L.; CONCOLINO, T.E.; LIABLE-SANDS, L.M.; RHEINGOLD, A.L. A new route to coordination complexes of nitroxyl (HN=O) via insertion reactions of nitrosonium triflate with transition-metal hydrides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, p.12068-12069, 2002.
- 48 SOUTHERN, J.S.; GREEN, M.T.; HILLHOUSE, G.L.; GUZEL, I.A.; RHEINGOLD, A.L. Chemistry of coordinated nitroxyl. reagent-specific protonations of *trans*-[Re(CO)₂(NO)(PR₃)₂] (R = Ph, Cy) that give the neutral nitroxyl complexes *cis,trans*-[ReCl(CO)₂(NHO)(PR₃)₂] or the cationic hydride complex *trans,trans*-[ReH(CO)₂(NO)(PPh₃)₂]⁺[SO₃CF₃]⁻. **Inorganic Chemistry**, v. 40, p. 6039-6046, 2001.
- 49 SOUTHERN, J.S.; HILLHOUSE, G.L.; RHEINGOLD, A.L.; Preparation of a nitroxyl (HNO) complex of rhenium by selective oxidation of coordinated hydroxylamine. **Journal of the American Chemical Society**, v. 119, p. 12406-12407, 1997.
- 50 L. HANNIBAL, C.A. SMITH, D.W. JACOBSEN, N.E. BRASCH. Nitroxylcob(III)alamin: Synthesis and X-ray Structural Characterization **Angewandth Chemie International Edition**, v. 46, p.5140-5143, 2007.
- 51 SCHEIDT, W.R.; HOARD, J.L. Stereochemistry of low-spin cobalt porphyrins. I. Structure and bonding in a nitrosylcobalt porphyrin and their bearing on one rational model for the oxygenated protoheme. **Journal of the American Chemical Society**, v. 95, p. 8281-8288, 1973.
- 52 WOLAK, M.; ZAHL, A.; SCHNEPPENSIEPER, T.; STOCHER, G.; VAN ELDIK, R. Kinetics and mechanism of the reversible binding of nitric oxide to reduced cobalamin B_{12r} (Cob(II)alamin). **Journal of the American Chemical Society**, v. 123, p. 9780-9791, 2001.
- 53 SNYDER, D.A.; WEAVER, D.L. Crystal and molecular structure of *trans*-chloronitrosylbis(ethylenediamine)cobalt(III) perchlorate. **Inorganic Chemistry**, v. 9, p. 2760-2767, 1970.
- 54 CLARKSON, S.G.; BASOLO, F. Reaction of some cobalt nitrosyl complexes with oxygen **Inorganic Chemistry**, v. 12, p. 1528-1534, 1973.
- 55 ARDON, M.; COHEN, S. Structure and bonding of pentaquanitrosylchromium(2+) sulfate **Inorganic Chemistry**, v. 32, p. 3241-3243, 1993.

Referências Bibliográficas

- 56 LEVINA, A.; TURNER, P.; LAY, P.A. X-ray absorption spectroscopic studies of chromium nitroso complexes. Crystal and molecular structure of $(\text{Ph}_4\text{P})_3[\text{Cr}(\text{NO})(\text{NCS})_5] \cdot 2.4(\text{CH}_3)_2\text{CO}$. **Inorganic Chemistry**, v. 42, p. 5392-5398, 2003.
- 57 SONG, W.; ELLERN, A.; BAKAC, A. Electron-transfer reactions of nitrosyl and superoxo metal complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 47, p. 8405-8411, 2008.
- 58 E.S. PETERSON, R.D. LARSEN, E.H. ABBOT, Crystal and molecular structures of potassium aquatetrakis(nitrito)nitrosylplatinate(IV), a blue, mononuclear platinum complex with a bent nitrosyl group, and of potassium trichlorobis(nitrito)nitrosylplatinate(IV). **Inorganic Chemistry**, v. 27, p. 3514-3518, 1988.
- 59 COLLMAN, J.P.; HOFFMAN, N.W.; MORRIS, D.E. Oxidative additions and catalysis of olefin hydrogenation by tris(triphenylphosphine)nitrosyl rhodium. **Journal of the American Chemical Society**, v. 91, p. 5659-5660, 1969.
- 60 YANG, L.; FANG, W.; ZHANG, Y. Metal centre effects on HNO binding in porphyrins and the electronic origin: metal's electronic configuration, position in the periodic table, and oxidation state. **Chemical Communications**, v. 48, p. 3842-3844, 2012.
- 61 MONTENEGRO, A.C.; BARI, S.E.; OLABE, J.A. Reactivity of iron(II)-bound nitrosyl hydride (HNO, nitroxyl) in aqueous solution. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 118, p. 108-114, 2013.
- 62 WANG, B.; LI, X. Electrocatalytic properties of nitrous oxide and its voltammetric detection at palladium electrodeposited on a glassy carbon electrode. **Analytical Chemistry**, v. 70, p. 2181-2187, 1998.
- 63 WINK, D.A.; FEELISCH, M. Formation and Detection of Nitroxyl and Nitrous Oxide, em: Methods in Nitric Oxide Research (Editores: Feelisch, M.; Stamler, J.S.). John Wiley & Sons, Chichester, p. 403-412, 1996.
- 64 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**, v. 171, p. 185-212, 1998.
- 65 SULC, F.; IMMOOS, C.E.; PERVITSKY, D.; FARMER, P.J. Efficient trapping of HNO by deoxymyoglobin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, p. 1096-1101, 2004.

Referências Bibliográficas

- 66 MARTI, M.A.; BARI, S.E.; ESTRIN, D.A.; DOCTOROVICH, F. Discrimination of nitroxyl and nitric oxide by water-soluble Mn(III) porphyrins. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, p. 4680-4684, 2005.
- 67 REISZ, J.A.; ZINK, C.N.; KING, S.B. Rapid and selective nitroxyl (HNO) trapping by phosphines: kinetics and new aqueous ligations for HNO detection and quantitation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, p. 11675-11685, 2011.
- 68 APFEL, U.F.; BUCCELLA, D.; WILSON, J.J.; LIPPARD, S.J. Detection of Nitric Oxide and Nitroxyl with Benzoresorufin-Based Fluorescent Sensors. **Inorganic Chemistry**, v. 52, p. 3285–3294, 2013.
- 69 CLINEA, M.R.; TOSCANO, J.P. Detection of nitroxyl (HNO) by a prefluorescent probe. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 24, p. 993-998, 2011.
- 70 BUTLER, A.R.; ELKINS-DAUKES, S.; PARKIN, D.; WILLIAMS, D.L.H. Direct NO group transfer from *S*-nitrosothiols to iron centres. **Chemical Communications**, p. 1732–1733, 2001.
- 71 WILLIAMS, D.L.H. The Chemistry of S-Nitrosothiols. **Accounts of Chemical Research**, v. 32, p. 869-876, 1999.
- 72 CAULTON, K.G. Nitrosyl transfer reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 95, p. 4076-4077, 1973.
- 73 UNGERMANN, C.B.; CAULTON, K.G. Nitrosyl transfer reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 98, p. 3862-3868, 1976.
- 74 FRANZ, K.J.; LIPPARD, S.J. Nitrosyl transfer from manganese to iron in tropocoronand complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 39, p. 3722-3723, 2000.
- 75 PERRIN, D.D.; ARMAREGO, W.L.F.; PERRIN, D.R. 5d ed. **Purification of laboratory chemicals**. Elmsford: Pergamon Press, 1980, 609 p.
- 76 SHRIVER, D.F. 2d ed. **The manipulation of air-sensitive compound**. New York: McGraw-Hill, 1969, 326 p.

Referências Bibliográficas

- 77 KANNER, J.; HAREL, S.; RINA, G. Nitric oxide as an antioxidant. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 289, p. 130-136, 1991.
- 78 ANTONINI, E.; BRUNORI, M. **Hemoglobin and myoglobin in their reactions with ligands**. Amsterdam : North-Holland, 1971. 436 p.
- 79 SENOFF, C.V.; ALLEN, A.D. Preparation and infrared spectra of some ammine complexes of ruthenium(II) and ruthenium(III). **Canadian Journal of Chemistry**, v. 45, p. 1337-1341, 1965.
- 80 VOGT JR., L.H.; KATZ, J.L.; WIBERLEY, S.E. The crystal and molecular structure of ruthenium-sulfur dioxide coordination compounds. I. Chlorotetraammine(sulfur dioxide)ruthenium (II) chloride. **Inorganic Chemistry**, v. 4, p. 1157-1163, 1965.
- 81 TOLEDO JUNIOR, J.C. **Aspectos da reatividade de complexos de rutênio contendo óxido nítrico como ligante**. 2004. 123 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - - Instituto de Química de São Carlos , Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- 82 FRANCO, D.W. Ruthenium ammine complexes of group VB donor ligands. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 119, p. 199-225, 1992.
- 83 FLEISCHER, E.B.; PALMER, J.M.; SRIVASTAVA, T.S.; CHATTERJEE, A. Thermodynamic and kinetic properties of an iron-porphyrin system. **Journal of the American Chemical Society**, v. 93, p. 3162-3167, 1971.
- 84 FRISCH, M.J.; TRUCKS, G.W.; SCHLEGEL, H.B.; SCUSERIA, G.E.; ROBB, M.A.; CHEESEMAN, J.R.; MONTGOMERY JR., J.A.; VREVEN, T.; KUDIN, K.N.; BURANT, J.C.; MILLAM, J.M.; IYENGAR, S.S.; TOMASI, J.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; COSSI, M.; SCALMANI, G. ; REGA, N.; PETERSSON, G.A.; NAKATSUJI, H.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; KLENE, M.; LI, X.; KNOX, J.E.; HRATCHIAN, H.P.; CROSS, J.B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERTS, R.; STRATMANN, R.E.; YAZYEV, O. ; AUSTIN, A.J.; CAMMI, R. ; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J.W.; AYALA, P.Y.; MOROKUMA, K.; VOTH, G.A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J.J.; ZAKRZEWSKI, V.G.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A.D.; STRAIN, M.C.; FARKAS, O. MALICK, D.K.; RABUCK, A.D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J.B.; ORTIZ, J.V.; CUI, Q.; BABOUL, A.G.; CLIFFORD, S.; CIOSLOWSKI, J.; STEFANOV, B. B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; MARTIN, R.L.; FOX, D.J.; KEITH, T.; AL-LAHAM, M.A.; PENG, C.Y.; NANAYAKKARA, A.; CHALLACOMBE, M.; GILL, P. M.W.; JOHNSON, B.; CHEN, W.; WONG, M.W.; GONZALEZ, C.; POPL, J.A. **Gaussian v.03**. Wallingford, 2004. Programa de computador.

Referências Bibliográficas

85 KOHN, W.; SHAM, L.J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. **Physical Review**, v. 140, p. A1133-A1138, 1965.

86 LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G., Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, p. 785-789, 1988.

87 BECKE, A.D. Density-functional thermochemistry III. The role of exact exchange. **Journal of Chemical Physics**, v. 98, p. 5648-5652, 1993.

88 HAY, P.J.; WADT, W.R.; *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg. **Journal of Chemical Physics**, v. 82, p. 270-284, 1985.

89 WADT, W.R.; HAY, P.J. *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for main group elements Na to Bi. **Journal of Chemical Physics**, v. 107, p. 3032-3047, 1997.

90 HAY, P.J.; WADT, W.R. *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals. **Journal of Chemical Physics**, v. 82, p. 299-311, 1985.

91 GLENDENING, E.D.; BADENHOOP, J.K.; REED, A.E.; CARPENTER, J.E.; BOHMANN, J.A.; MORALES, C.M.; WEIHOLD, F. **NBO 3.0**; Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, 2001. Programa de computador.

92 MENNUCCI, B.; CANCÈS, E.; TOMASI, J. evaluation of solvent effects in isotropic and anisotropic dielectrics and in ionic solutions with a unified integral equation method: Theoretical bases, computational implementation, and numerical applications. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 101, p. 10506-10517, 1997.

93 REED, A.E.; CURTISS, L.A.; WEINHOLD, F. Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor-acceptor view point. **Chemical Review**, v. 88, p. 899-926, 1988.

94 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**, v. 395, p. 765-769, 2013.

Referências Bibliográficas

- 95 STEFANELI, E.V. **Sobre a redução do óxido nítrico em complexos de tetraamina de rutênio**. 2007. 104 f. Dissertação de Mestrado (Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- 96 LOVRIC, M.; KOMORSKY-LOVRIC, S. Square-wave voltammetry of an adsorbed reactant. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 248, p. 239-253, 1988.
- 97 MONTENEGRO, A.C.; AMOREBIETA, V.T.; SLEP, L.D.; MARTIN, D.F.; RONCAROLI, F.; MURGIDA, D.H.; BARI, S.E.; OLABE, J.A. Three redox states of nitrosyl: NO^+ , $\text{NO}^\bullet$ and NO^-/HNO interconvert reversibly on the same pentacyanoferrate(II) platform. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, p. 4213-4215, 2009.
- 98 FORD, P.C.; RUDD, F.P.; GAUNDER, R.; TAUBE, H. Synthesis and properties of pentaamminepyridineruthenium (II) and related pentaammineruthenium complexes of aromatic nitrogen heterocycles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, p. 1187-1194, 1968.
- 99 JOHNSON, C.R.; SHEPHERD, R.E. The pK_a of pyraziniumpentacyanoruthenate(II), $(\text{CN})_5\text{Ru}(\text{pzH})$. **Inorganic Chemistry**, v. 22, p. 1117-1123, 1983.
- 100 TFOUNI, E.; FORD, P.C. Thermal and photochemical properties of some trans-disubstituted tetraammineruthenium(II) complexes of aromatic nitrogen heterocycles, *trans*- $\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{LL}'^{n+}$. **Inorganic Chemistry**, v. 19, p. 72-76, 1980.
- 101 BLACKLEDGE, J.; HUSH, N.S. Mechanism of the $\text{Zn}^{\text{II}}/\text{Zn}(\text{Hg})$ exchange. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 5, p. 420-434, 1963.
- 102 KOLTHOFF, I.M. **Polarography**. New York: Interscience Publishers, 1952, 990 p.
- 103 PEREIRA, J.C.M.; LIMA, F.C.A.; FRANCO, D.W. Nitric Oxide and Nitroxyl as Products of the Reaction of L-cysteine with Ruthenium Nitrosyl. Manuscrito em Preparação.
- 104 SULC, F.; IMMOOS, C.E.; PERVITSKY, D.; FARMER, P.J. Efficient Trapping of HNO by Deoxymyoglobin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, p. 1096-1101, 2004.
- 105 HOSHINO, M.; OZAWA, K.; SEKI, H.; FORD, P.C. Photochemistry of Nitric Oxide Adducts of Water-Soluble Iron(III) Porphyrin and Ferrihemoproteins Studied by Nanosecond Laser Photolysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, p. 9568-9575, 1993.

Referências Bibliográficas

- 106 FLEISCHER, E.B.; PALMER, J.M.; SRIVASTAVA, T.S.; CHATTERJEE, A. Thermodynamic and Kinetic Properties of an Iron-Porphyrin System. **Journal of the American Chemical Society**, v.93, p.3162-3167, 1971
- 107 REZENDE, N.M.S.; MARTINS, S.C.; MARINHO, L.A.; SANTOS, J.A.V.; TABAK, M.; PERUSSI, J.R.; FRANCO, D.W. Triethyl Phosphite as a Ligand on Ru(III). Synthesis, Characterization and Properties of *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃(H₂O)](CF₃SO₃)₃. **Inorganica Chimica Acta**, v.182, p.87-92, 1992.
- 108 LOGAN, S.R. **Fundamentals of Chemical Kinetics**. New York: Prentice Hall, 1996, 280 p.
- 109 WILKINS, R.G. 2d ed. **Kinetics and Mechanism of Reactions of Transition Metal Complexes**. Darmstadt: Wiley-VCH, 1991, 486 p.
- 110 DOYLE, M.P.; VAN DOORNIK, F.J.; FUNCKES, C.L. Nitrosyl Transfer to Metalloproteins. Selective Intermolecular Transfer of the Nitrosyl Group from Cobalt Nitrosyls to Hemoglobin and Myoglobin. **Inorganica Chimica Acta**, v.46, p.L111-L113, 1980.
- 111 BARLEY, M.H.; TAKEUCHI, K.J.; MEYER, T.J. Electrocatalytic Reduction of Nitrite to Ammonia Based on a Water-Soluble Iron Porphyrin. **Journal of the American Chemical Society**, v.108, p.5876-5885, 1986.
- 112 GISPERT, J.R. **Coordination Chemistry**. Darmstadt: Wiley-VCH, 2008, 600 p.

Apêndice I

Apêndice I: Tratamento cinético para obtenção das constantes específicas de velocidade.

A fim de obter-se as constantes de velocidade específica para a reação entre os íons complexos *trans*-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OR)₃)]³⁺ e [Fe^{III}(H₂O)TPPS] foi resolvido um sistema de equações diferenciais proposto segundo o conjunto de reações proposto abaixo, considerando a formação de um intermediário binuclear, [Ru^{II}-(μNO)-Fe^{III}].

$$\frac{dI}{dt} = k_1 A_0 (B_0 - D) - k_2 I \quad (1)$$

$$\frac{dD}{dt} = k_2 I \quad (2)$$

$$-dB = dD \quad (3)$$

Onde *trans*-[Ru^{II}(NO)(NH₃)₄(P(OR)₃)]³⁺ é representado por **A**, [Fe^{III}(L)] é representado por **B**, o intermediário binuclear [(NH₃)₄P(OR)₃Ru^{II}(μ-NO)Fe^{III}(L)] por **I**, e o produto da reação [Fe^{II}(NO⁺)] é representado por **D**. Resolvendo-se este sistema de equações analiticamente, pode-se obter a seguinte expressão para formação da espécie [Fe^{II}(NO⁺)]:

Apêndice I

$$\text{Abs(D)t} = \frac{e^{-1/2(k_2 + \alpha)t}}{2\alpha} \left[k_2(1 - e^{\alpha t}) - \alpha(1 + e^{\alpha t} - 2e^{1/2(k_2 + \alpha)t}) \right] \quad (4)$$

$$\alpha = \left[k_2(k_2 - 4A_0k_1) \right]^{1/2} \quad (5)$$

O valor de k_2 foi ajustado simultaneamente pelas diversas concentrações de excesso de $\text{trans-[Ru}^{\text{II}}(\text{NO})(\text{NH}_3)_4(\text{P(OR)}_3)]^{3+}$, não variando portanto com a concentração do complexo.

A partir da Eq.4, pode-se efetuar o ajuste não linear para a formação da espécie $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NO}^+)]$, curvas estas normalizadas e obtidas através dos dados de UV-Vis. O parâmetro α foi obtido após o ajuste não linear, diretamente relacionado com os valores das constantes específicas de velocidade k_1 e k_2 , mostrados nas Eqs. 5. Da Eq. 5, graficando-se A_0k_1 vs. C_{Ru} pode-se obter o valor de k_1

Apêndice II

Apêndice II: Curvas de absorvância em função do tempo para a reação entre o complexo

trans-[Ru^{II}(NO⁺)(NH₃)₄(P(OMe)₃)]³⁺ e espécies de Fe(III).

[Fe^{III}(H₂O)TPPS]³⁻ C_[Fe^{III}(H₂O)TPPS] = 4,4×10⁻⁶ mol L⁻¹ - Fe : Ru: (■):1:25; (●):1:30; (▼):1:35; (▲):1:40.

met-Mb – C_{met-Mb} = 3,15×10⁻⁵ mol L⁻¹ - Fe : Ru: (■):1:20; (●):1:25; (▼):1:30; (▲):1:35.

Apêndice III

Apêndice III: Exemplo de ajuste não linear para a obtenção das constantes específicas de velocidade.

Complexo: $trans-[Ru^{II}(NO^+)(NH_3)_4(P(OEt)_3)]^{3+}$

$[Fe^{III}(H_2O)TPPS]$

met-Mb

Dos valores de coeficiente angular, obtem-se k_1 ; os valores de k_2 , constantes para os diversos valores de concentração de rutênio (C_{Ru}), são obtidos diretamente do ajuste não linear das curvas de absorbância normalizadas.

Apêndice IV

Apêndice IV: Superfícies de contorno para os orbitais LUMO e LUMO+1 para a espécie binuclear $[\text{Ru}^{\text{II}}(\mu\text{-NO})\text{Fe}^{\text{III}}]$.

LUMO

LUMO+1