

Anderson Bastos Pires

**ESTABILIZAÇÃO DO HNO E O₂ POR COMPLEXOS
MACROCÍCLICOS RECEPTORES BINUCLEARES**

Dissertação submetida ao
Programa de Pós-graduação em
Química da Universidade Federal de
Santa Catarina – UFSC, como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Química, sob orientação do
Prof. Dr. Bruno Szpoganicz

Florianópolis/SC

2015

Anderson Bastos Pires

**ESTABILIZAÇÃO DO HNO E O₂ POR COMPLEXOS
MACROCÍCLICOS**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para obtenção do título de **Mestre** em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 26 de Fevereiro de 2015.

Prof. Dr. Hugo Gallardo
Coordenador do Curso

Banca Examinadora

Prof. Dr. Bruno Szpoganicz - Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a, Dr.^a Neiva Deliberali Rosso
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof.^a Dr.^a Hérica A. Magosso Volpato
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a Marilde Terezinha Bordignon Luiz
Universidade Federal de Santa Catarina

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Fires, Anderson Bastos
ESTABILIZAÇÃO DO HNO E O₂ POR COMPLEXOS MACROCÍCLICOS
RECEPTORES BINUCLEARES / Anderson Bastos Fires ;
orientador, Bruno Szpoganicz - Florianópolis, SC, 2015.
78 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, . Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. complexos macrocíclicos . 3. HNO . 4.
Dioxigênio. 5. Equilíbrio Químico. I. Szpoganicz, Bruno .
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Química. III. Título.

Este trabalho é dedicado a Deus, aos meus pais e a todos que me ajudaram nesta caminhada.

AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais Paulo Cesar Bastos Pires e Tamara Moreira, professores, que sempre me inspiraram, a minha eterna gratidão pela vida e pelo amor;
- Ao meu orientador Bruno Szpoganicz, mais que um professor, um grande amigo durante esses anos de iniciação científica e mestrado;
- Ao grande jornalista Sérgio Lino pela ajuda;
- Ao pessoal do Laboratório de Equilíbrio Químico: Thiago, Siara, Suéli, Mariani, Mateus, Bruna, Juliano (in memoriam), Alexandre e Geovandro;
- Ao pessoal do LABINC que sempre me apoiaram nos experimentos deste trabalho;
- Ao Laboratório de Catálise Biomimética pelas análises de UV-Vis;
- À Central de Análises e aos técnicos que colaboraram para obtenção dos resultados;
- Ao CNPq e CAPES pelo apoio financeiro;
- Ao Departamento de Química da UFSC pelo suporte estrutural;
- E a todos os professores e pessoas que de alguma maneira estiveram me apoiando neste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Os equilíbrios de formação dos complexos de HNO formados pelo ligante 3,6,9,17,20,23 - hexazatriciclo[23.3.1.1^{11,15}]triantena⁻¹(29), 11(30), 12, 14,25(26),27-hexene (BMXD) e os íons metálicos Cu(II), Co(II), Zn(II) e Ni(II) foram caracterizados por espectroscopia no UV-Vis e titulação potenciométrica. As constantes de equilíbrio de complexação entre os íons metálicos e o ligante BMXD na presença do HNO foram determinados por potenciometria. Nos complexos de Zn(II) e Ni(II) o HNO mantém a sua forma protonada na faixa de pH de 6 a 9,5. Por outro lado, com o íon Co(II), o HNO coordena na forma desprotonada (NO⁻) em toda a faixa de pH estudada. E para os complexos de Cu(II), o HNO permanece protonado apenas na faixa ácida. A espectroscopia no UV-Vis para o sistema Ni-BMXD na presença do ácido de Piloty's (AP) mostrou duas bandas bem características em 350 nm e 580 nm. O sistema Co₂BMXD na presença do ácido de Piloty's apresentou pouca diferença com relação ao sistema Co₂BMXD sozinho. Já o sistema Cu₂BMXD na presença do ácido de Piloty's mostrou claramente que o complexo de Cu(II) é reduzido para Cu(I). Esta reação de oxirredução pode ser acompanhada pelo desaparecimento da banda em 650 nm. Concomitantemente com a diminuição desta banda, uma banda em 476 nm foi observada. Esta banda é uma característica única do sistema Cu(II)-(NO⁻)-BMXD.

Os equilíbrios de formação dos complexos dinucleares μ -peroxo-Cu₂ do ligante macrocíclico BMXD foram caracterizados por titulação potenciométrica e espectroscopia do UV-Vis. Os estudos de equilíbrio do sistema na presença e na ausência de dióxigênio e 4-metoxi-1,2-fenilendiamina foram realizados e as constantes de equilíbrio dos complexos formados foram calculadas. Os resultados permitiram a construção de gráficos de distribuição das espécies, mostrando as concentrações das espécies individuais em função do pH. Diferente do sistema Co(II), o íon cobre(I) tetracoordenado requer que no mínimo um nitrogênio do ligante esteja protonado para que o substrato possa coordenar ao centro bimetálico. A diamina aromática 4-metoxi-1,2-fenilendiamine (S) coordena-se na cavidade de complexo μ -peroxo estabilizando o arranjo binuclear. As constantes de associação da diamina com os complexos diCu-BMXD-O₂ e a distribuição das espécies nesse sistema foram calculadas. As espécies detectadas foram confirmadas por espectrometria de massa eletrospray.

Palavras Chave: Macrocíclico, HNO, equilíbrio, dióxigênio, complexos.

ABSTRACT

The equilibriums formation of HNO complexes with BMXD ligand (3,6,9,17,20,23-hexaazatricyclo[23.3.1.1^{11,15}]-triaconta-1(29,11,(30), 12, 14,25 (26),27 – hexaene) and the metal ions Cu(II), Co(II), Zn(II) and Ni(II) were characterized by UV-Vis spectroscopy and potentiometric titration. The equilibrium constants involving the metal ions and BMXD ligand, in the presence of HNO, were determined by potentiometric measurements. In the Zn(II) and Ni(II) complexes, HNO is protonated in the pH range 6.0 to 9.5. On the other hand, in the Co(II) system, HNO is deprotonated (NO^-) in the pH range studied. And for the Cu(II) system, HNO stay protonated only in acidic pH values. The UV-Vis spectroscopy for Ni-BMXD system in the presence of Piloty's acid (PA) showed two characteristic bands at 350 nm and 580 nm. The Co_2BMXD system in the presence of Piloty's acid showed very little difference with respect to Co_2BMXD system alone. The Cu_2BMXD system in presence of Piloty's acid showed clearly that Cu(II) complex is reduced to Cu(I). This redox reaction may be accompanied by the disappearance of the band at 650 nm. Concomitantly with the decrease of this band, a band at 476 nm was observed. This band is a unique feature of the system Cu(II)-(NO^-)-BMXD.

The formation equilibriums of dinuclear μ -peroxo- Cu_2 complexes of the macrocyclic ligand BMXD was characterized by potentiometric measurements. The equilibrium studies of the BMXD- Cu(I)_2 system in the presence and absence of dioxygen and 4-methoxy-1,2-phenylenediamine were carried out and the equilibrium constants were determined. Unlike a Co(II) system, the tetra coordinated copper(I) ion in the diCu(I)-BMXD-O_2 system requires at least one nitrogen of the ligand to be protonated for the substrate be able to bind to the bimetallic center. The aromatic diamine 4-methoxy-1,2-phenylenediamine (S) coordinates to the cavity of μ -peroxo- Cu(I) stabilizing the binuclear array. The association constants of diamine and the diCu-BMXD-O_2 complexes were calculated and the species distribution were calculated. The species detected in solution were confirmed by electrospray ionization mass spectrometry.

Keywords: Macrocyclic, HNO, equilibrium, dioxygen, complexes.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dados estruturais do HNO	23
Figura 2. Ligantes macrocíclicos com bases de Schiff	32
Figura 3. Síntese templatado do macrocíclico base de Schiff [1+1] e 2+2]	33
Figura 4. Ligante BMXD	34
Figura 5. Rota sintética do ligante BMXD	38
Figura 6. Espectro de RMN ¹ H do ligante BMXD.6HBr em D ₂ O.	40
Figura 7. Curvas de titulação potenciométricas de soluções contendo 0,05 mmol de BMXD, 0,05 mmol de BMXD e 0,05 mmol de Zn ²⁺ , na ausência e na presença de ácido de Piloty's.	41
Figura 8. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Zn ²⁺ -BMXD na proporção 1:1(M:L). $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$, KCl e T = 25,0°C.	43
Figura 9. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Zn ²⁺ -BMXD na presença do ácido de Piloty's na proporção 1:1:1. $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$, KCl e T = 25,0°C.	44
Figura 10. Curva de titulação potenciométricas de soluções contendo 0,05 mmol de BMXD, 0,05 mmol de BMXD e 0,05 mmol de Ni ²⁺ na ausência e na presença de ácido de Piloty's.	45
Figura 11. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Ni ²⁺ -BMXD na proporção 1:1 (M:L). $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$ KCl e T = 25,0°C.	47
Figura 12. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Zn ²⁺ -BMXD na presença do ácido de Piloty's na proporção 1:1:1 (M:HNO:L) $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, T = 25,0°C.	48
Figura 13. Curvas de titulação potenciométricas de soluções	49

contendo 0,05 mmol de BMXD, 0,05 mmol de BMXD e 0,10 mmol de Co^{2+} , na ausência e na presença de ácido de Piloty's.

Figura 14. Diagrama de distribuição de espécies detectadas para o sistema Co^{2+} -BMXD na proporção 2:1 (M:L). $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ e $T = 25,0^\circ\text{C}$. **51**

Figura 15. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Co^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's na proporção 2:1:1 (M:AP:L) $\mu = 0,10 \text{ mol/L KCl}$, $T = 25,0^\circ\text{C}$. **52**

Figura 16. Curvas de titulação potenciométricas de soluções contendo 0,05 mmol de BMXD, 0,05 mmol de BMXD e 0,10 mmol de Cu^{2+} na ausência e na presença de ácido de Piloty's. **53**

Figura 17. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Cu^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's na proporção 2:1:1 (M:AP:L) $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $T = 25,0^\circ\text{C}$. **54**

Figura 18. Comparação entre as curva de titulação do ligante BMXD e para os sistemas Zn(II)BMXD e Ni(II)BMXD na ausência e presença do ácido de Piloty's. **55**

Figura 19. Espectros de UV-vis Espectros de UV-vis para o sistema Cu_2BMXD na presença do ácido de Piloty's e Cu_2BMXD na presença de óxido nítrico em $\text{pH} = 8,0$. $T = 25^\circ\text{C}$ e $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$. **57**

Figura 20. Espectro de UV-Vis em para o sistema Co_2BMXD , Co_2BMXD na presença do ácido de Piloty's e Co_2BMXD na presença de dioxigênio $\text{pH} 8,0$ a 25°C e $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$. **58**

Figura 21. Espectros de UV-vis para o sistema Ni(II)-BMXD (.....) e Ni(II)-BMXD na presença do ácido de Piloty's (—) em $\text{pH} = 10,30$. $T = 25^\circ\text{C}$ e $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$. **59**

Figura 22. Curvas de titulação potenciométrica das soluções: 0,03 mmol BMXD(a); 0,03 mmol BMXD e 0,06 mmol Cu(I) na ausência (b) e na presença (c) de dioxigênio; 0,03mmol BMXD, 0,06 mmol Cu(I) e 0,03 mmol 4-metoxi-1,2-fenilenodiamina na **60**

presença de dióxigênio (d) á 5⁰C e $\mu = 1,00\text{mol L}^{-1}$ KCl.

Figura 23. Distribuição das espécies em solução aquosa contendo 0,001 molL⁻¹BMXD (L) e 0,002molL⁻¹ Cu(I) na presença de oxigênio em função de $-\text{Log}[\text{H}^+]$ á 5⁰C e $\mu = 1,00\text{molL}^{-1}$ (KCl). **61**

Figura 24. Estrutura proposta para o complexo de μ -peroxo-dicobre-BMXD. **61**

Figura 25. Distribuição das espécies em solução aquosa contendo BMXD (L) (0,001molL⁻¹) - Cu(I) - 4-metoxi⁻¹,2-fenilenodiamina (S) em proporção 1:2:1 na presença de oxigênio em função de $-\log[\text{H}^+]$ á 5⁰C e $\mu = 1,00 \text{ mol/ L KCl}$. **62**

Figura 26. Espectros de UV-Visível das soluções contendo 0,01mmol BMXD e 0,02mmol Cu(I) (a); 0,01mmol BMXD e 0,02mmol Cu(II) (b) na presença de H₂O₂ (c) e oxigênio. pH=8,5, T= 5⁰C, $\mu = 1,00 \text{ mol L}^{-1}$ KCl. **63**

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Tabela de valores de RMN ^1H (200MHz, D_2O) para o ligante BMXD, à 25°C e $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl. **40**
- Tabela 2.** Logaritmo das constantes de protonação BMXD (L), a 25°C e $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$ KCl. **41**
- Tabela 3.** Logaritmo das constantes de formação para os sistemas Zn(II)-BMXD (Zn-L) e Zn(II)-HNO-BMXD (Zn-HNO-L) a 25°C e $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$ KCl. **42**
- Tabela 4.** Logaritmo das constantes de formação para os sistemas Ni(II)-BMXD (Ni-L) e Ni(II)-BMXD na presença de AP a 25°C e $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$. **46**
- Tabela 5.** Constantes de formação para o sistema Co(II)-BMXD e Co(II)-BMXD na presença do Ácido de Piloty's. **50**
- Tabela 6.** Logaritmo das constantes de estabilidade para o sistema L-Cu(II)-Y a 25°C e $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$. (Y = NO^-). **53**
- Tabela 7.** Logaritmos das constantes de equilíbrio de formação de Cu(I)-BMXD (Cu-L), T = 5°C , $\mu = 1,00 \text{ mol L}^{-1}$ (KCl). **60**
- Tabela 8.** Logaritmos das constantes de equilíbrio para μ -peroxo-diCu(II) complexos, T = 5°C , $\mu = 1,00 \text{ mol/L}$ (KCl). **61**
- Tabela 9.** Logaritmos das constantes de equilíbrio de estabilização de μ -peroxo-diCu(II) complexos de BMXD (L) pela 4-metoxi $^{-1}$,2-fenilenodiamina (S), T = 5°C , $\mu = 1,00 \text{ mol L}^{-1}$ KCl. **62**

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Equação química para a reação de dimerização do HNO.	24
Esquema 2. Decomposição do sal de Angeli.	25
Esquema 3. Decomposição do ácido de Piloty's pelo O ₂ .	25
Esquema 4. Decomposição do ácido de Piloty's em meio alcalino.	26
Esquema 5. Reação do HNO com tióis.	27
Esquema 6. Reações químicas do HNO e NO com grupos tióis.	27

LISTA DE ABREVIATURAS

AP - Ácido de Piloty's

HNO - Oxinitrato de hidrogênio

NO - Óxido nítrico

Mb - Mioglobina

RMN ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

μ - Força Iônica

pH - potencial hidrogênionico

BMXD - 3,6,9,17,20,23-hexaazatriciclo[23.3.1.1^{11,15}] - triacontal(29),11(30),12,14,25(26),27 hexaene.

SGC - Guanilato ciclase solúvel

GSH - Glutathione

HT29 - células adenocarcinoma de colón

S - 4-metoxi-1,2-fenilendiamina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	23
1.0.1 Oxinitrato de Hidrogênio (HNO)	23
1.0.2 HNO in-situ	24
1.0.2.1 Sal de Angeli	24
1.0.2.2 Ácido de Piloty's	25
1.0.3 Diferenças entre NO e HNO	26
1.0.4 pKa, potenciais e complexos	27
1.0.5 Detecção do HNO	28
1.0.6 Complexos de dioxigênio	29
1.0.7 Ligantes macrocíclicos	29
1.0.8 Ligantes macrocíclicos poliazas de bases de Schiff	30
1.1 Objetivos	34
1.1.1 Objetivos gerais	34
1.1.2 Objetivos Específicos	34
2. REAGENTES, MÉTODO E INSTRUMENTAÇÃO	35
2.1 Metodologia e instrumentação	35
2.1.1 Titulações potenciométricas	35
2.1.2 Programa BEST7	36
2.2 Espectroscopia no UV-Vis	37
2.3 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H)	38
2.4 Síntese do ligante BMXD	38
3.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.2 Complexos de HNO/NO ⁻	39
3.2.1 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H)	39
3.2.1 Titulações potenciométricas	40
3.2.2.1 Ligante BMXD	40
3.2.2.2 Estudos potenciométricos dos sistemas mononucleares BMXD-Zn ²⁺ e BMXD-Zn ²⁺ na presença do ácido de Piloty's	42

3.2.2.3 Estudos potenciométricos dos sistemas mononucleares Ni^{2+} -BMXD e Ni^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's	44
3.2.2.4 Estudos potenciométricos dos sistemas binucleares Co^{2+} -BMXD e Co^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's	48
3.2.2.5 Estudos potenciométricos dos sistemas binucleares Cu^{2+} -BMXD e Cu^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's	51
3.2.3 Espectroscopia no UV-Vis	55
3.3 Complexos de dioxigênio	58
3.3.1 Titulações potenciométricas	58
3.3.2 Espectrometria UV-Vis	63
4. CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

1. Introdução

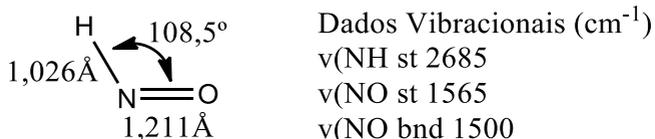
1.0.1 Oxinitrato de hidrogênio (HNO)

Por diversas décadas, óxidos de nitrogênio (NO, ONOO⁻, NO₂) são estudados por pesquisadores dos quatro cantos do globo terrestre. E suas descobertas, principalmente entre 1986 e 1987, mostram que tais moléculas atuam nos processos de vasodilatação em mamíferos, sendo o óxido nítrico, NO, uma molécula chave nesses processos.^{1,2,3} Tal molécula é sintetizada a partir do aminoácido arginina pela ação catalisadora da enzima NO sintetase.⁴ Entretanto, nas últimas décadas, tem sido observado que a forma reduzida (de um elétron) e protonada do NO (HNO), também participa dos processos de vasodilatação, alimentando a sede da comunidade científica na busca para desenvolver novas drogas com potenciais terapêuticos.^{5,6}

A história do HNO (Oxinitrato de hidrogênio, IUPAC) remonta ao início do século passado, mais precisamente em 1902 e 1903, com a publicação de estudos feitos por Angeli que identificaram esta molécula como intermediária em uma série de reações fotoquímicas.⁷ Apesar de ser conhecida há mais de cem anos, foi apenas a partir da metade do século XX que está intrigante molécula começou a ter suas propriedades espectroscópicas e estruturais desvendadas por grupos de pesquisa, como podemos ver na Figura 1.^{8,9,10,11}

Esta molécula ganha cada vez mais atenção por apresentar características biológicas muito peculiares, especialmente em sistemas que envolvem o processo de vasorelaxação, por ativar a enzima guanilato ciclase solúvel (SGC), que é uma das enzimas envolvidas nesse processo.¹² Uma importante descoberta relativamente recente demonstra que HNO pode ser convertido em NO, em sistemas biológicos, pela ação de oxidantes como o próprio dióxido de nitrogênio, superóxido dismutase e flavinas.¹³ Isto, de certa forma, pode fornecer a elucidação do mecanismo de atuação e formação do NO.

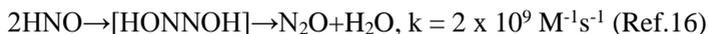
Figura 1- Dados estruturais e vibracionais^{10, 11}



Embora o HNO apresente um grande potencial farmacológico, alguns estudos têm demonstrado que esta molécula é tóxica. Recentemente, pesquisadores constataram que o HNO gerado pelo sal de Angeli é citotóxico para as células HT29 (células adenocarcinoma de colón), A549 (células tumorais de pulmão), e linfócitos, tanto em condições fracamente ácidas como em pH fisiológico. Como também é tóxico para células sadias.^{14, 15} Isso pode limitar o uso do HNO (de seus compostos geradores) no futuro. Mesmo assim, é muito cedo para fazer tal afirmação, uma vez que esta molécula ainda é relativamente “desconhecida”, carecendo de um estudo bioquímico definitivo.

1.0.2 HNO in-situ

Apesar de grandes avanços, há poucos estudos a respeito do HNO, em relação com a vasta literatura envolvendo o óxido nítrico. E, para muitos pesquisadores, tal molécula ainda é um tanto misteriosa. Isso se deve ao fato de que o HNO é uma molécula muito reativa, sendo impossível estocá-la como um reagente qualquer. Quando observamos a sua constante de dimerização, é da ordem de $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, Esquema 1.¹⁶ Com uma constante desta ordem, se faz necessário um sistema que estabilize esta molécula logo que ela seja formada.



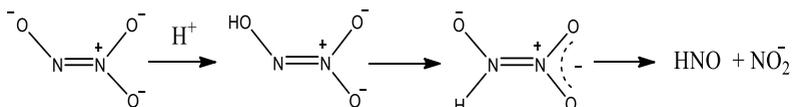
Esquema 1- Equação química para a reação de dimerização do HNO.

Atualmente, esta dificuldade de se trabalhar com o HNO está sendo superada, pelo menos em parte, devido ao uso de compostos precursores, ou seja, pela geração in-situ do HNO. Este campo de pesquisa tem aumentado bastante nos últimos anos devido à busca por fármacos. Há um bom tempo os compostos mais utilizados para estes fins são o sal de Angeli e o ácido de Piloty's.^{17, 18}

1.0.2.1 Sal de Angeli

O sal de Angeli (trioxodinitrato de sódio, $\text{Na}_2\text{N}_2\text{O}_3$) é um dos compostos mais conhecidos e antigos para geração in-situ do HNO, sendo o mais estudado em termos de estrutura, termodinâmica e mecanismos de decomposição. Este sal inorgânico possui uma decomposição dependente do pH, sendo que, em pH abaixo de 4, a

velocidade de decomposição aumenta. E acima de pH 9, diminui, refletindo os pKas de 2,5 e 9,7 do ácido oxihiponitroso, $\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_3$.¹⁹ O Esquema 2 mostra uma proposta de mecanismo para a decomposição do sal de Angeli. A decomposição deste sal pode ser inibida pelo excesso de nitrito, mostrando que a reação do Esquema 2 pode ser reversível.²⁰ ²¹ O mecanismo proposto pelo Esquema 2 é fortemente suportado por modelos teóricos, que predizem que a protonação ocorre no oxigênio do grupo nitroso, seguido da tautomerização e da clivagem heterolítica entre os dois átomos de nitrogênio.²²



Esquema 2. Decomposição do sal de Angeli.

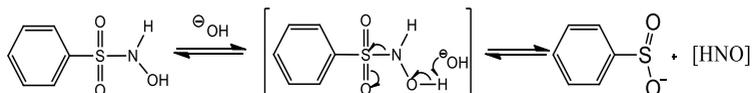
1.0.2.1 Ácido de Piloty's (N-Hidroxobenzenosulfonamida)

Como alternativa ao sal de Angeli, o ácido de Piloty's tem sido amplamente utilizado como fonte de HNO. Apesar de ter seu uso restrito a ambientes anaeróbicos, muitos trabalhos tem feito uso deste composto.²³ Como podemos observar no Esquema 3, o ácido de Piloty's é oxidado facilmente formando NO, ao invés de HNO, o que restringe o seu uso a ambientes com atmosfera inerte.²⁴



Esquema 3. Decomposição do ácido de Piloty's pelo O_2 . (Ref. 24)

Contudo, o ácido de Piloty's possui muitas similaridades com o sal de Angeli, como, por exemplo, a decomposição dependente do pH, que ocorre preferencialmente em pH alcalino, $\text{pH} > 8$. Em pH 13 tem uma constante de velocidade de decomposição de $4,2 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ a 25°C e $1,8 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ a 35°C .^{25, 26} A reação descrita no Esquema 4 ilustra o mecanismo de decomposição deste ácido orgânico em meio alcalino.



Esquema 4 - Decomposição do ácido de Piloty's em meio alcalino.²⁵

Com um pKa de 9,29, a decomposição inicia-se com a desprotonação do oxigênio ligado ao nitrogênio, seguido por uma quebra heterolítica na ligação S-N para formar HNO e ácido sulfínico como produtos.²⁷

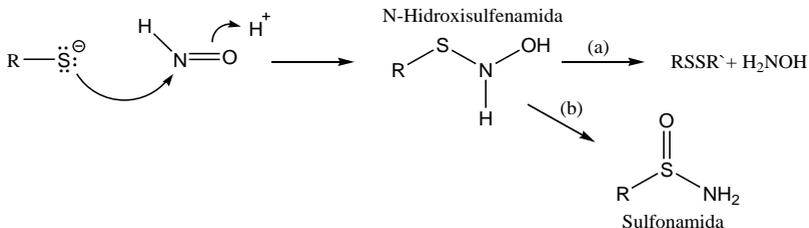
Na busca por compostos que liberam o HNO, muitos derivados do ácido de Piloty's tem sido sintetizados. Substituições no anel benzênico por grupos retiradores de elétrons, tem dado bons resultados.^{27, 28} Essas modificações na estrutura do ácido de Piloty's também tem como objetivo fazer com que sua decomposição aconteça em uma faixa de pH mais ampla, bem como em pH fisiológico.

1.0.3 Diferenças entre NO e HNO

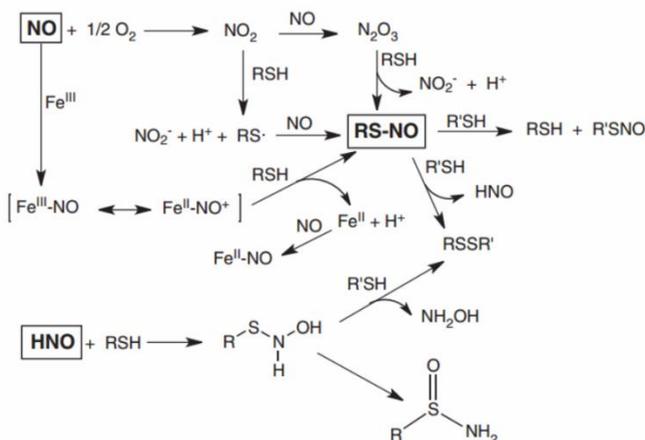
Um olhar desatento levaria um pesquisador a achar que o NO e o HNO possuem uma química semelhante, devido à aparente estrutura dessas duas moléculas. Entretanto, estas duas pequenas espécies químicas possuem características bem distintas.

A primeira característica bastante evidente é que o óxido nítrico não dimeriza com tanta facilidade, em comparação com o HNO. A dimerização do NO ocorre apenas em baixas temperaturas.²⁹

Uma surpreendente diferença na reatividade entre NO e HNO é que este último reage rapidamente com tióis para formar hidroxilamina ou uma sulfonamida (Esquema 5). Neste caso, o HNO sofre um ataque nucleofílico do grupo tiol.^{30, 31, 32} Esta reação é bastante importante devido ao HNO inibir a enzima aldeído desidrogenase através da sua reação com um grupo tiol presente nesta enzima, tornando-a inativa.^{33, 34} Entretanto, a reação de um tiol com o NO para formar um S-nitrosotiol, requer que o NO seja convertido no íon nitrosônio (NO^+) ou que o grupo tiol seja reduzido a RS^{\cdot} (Esquema 6).³⁵



Esquema 5. Reação do HNO com tióis. ³³



Esquema 6. Reações químicas do HNO e NO com grupos tióis. ³³

1.0.4 pKa, potenciais e complexos de HNO

Uma das características que revelam o lado “misterioso” do HNO é o seu valor de pKa, que mesmo hoje em dia ainda não foi devidamente determinado. Assim, existem hoje três valores de pKa para o HNO, um de 4,7 outro de 7,2. E o mais aceito atualmente, é com valor de 11,7. ^{36, 37, 38} Como podemos observar, estes valores são bem diferentes. Sendo que o primeiro valor de pKa praticamente exclui concentrações apreciáveis de HNO em pH fisiológico.

Estes diferentes valores de pKa podem ser explicados pela mudança de spin que ocorre quando o HNO desprotona. O₂ e NO⁻ são isoeletrônicos, o que nos leva a crer que o ânion nitroxil tem um estado fundamental triplete, ³NO⁻. Em contra partida, o estado fundamental do HNO tem um estado singlete, ¹HNO. Esta mudança de estado do spin é

proibida pela mecânica quântica, o que faz com que exista uma grande barreira cinética que impede o estabelecimento de um equilíbrio ácido-base.³⁹

Hoje em dia há poucos complexos estáveis de HNO caracterizados, se compararmos com a infinidade de complexos de NO. Assim, geralmente as rotas sintéticas destes complexos de HNO são obtidas pela utilização de hidreto, protonação ou redução do NO coordenado ao centro metálico.^{40, 41, 42} A primeira estrutura cristalina de um complexo de HNO foi obtida apenas em 1970, quando se utilizou o complexo $\text{OsCl}(\text{CO})(\text{NO})(\text{PPh}_3)$ na presença de HCl, embora, sua estrutura tenha sido apenas resolvida em 1979.^{43, 44} Recentemente, Farmer e coautores apresentaram o primeiro complexo de HNO sintetizado a partir de compostos doadores de HNO. Neste caso, foi utilizado o sal de Angeli (AS) e o composto metilsulfonilhidroxilamina (MSHA).⁴⁵

O comportamento eletroquímico do óxido nítrico tem sido realizado a partir de cálculos teóricos e físicos, e mostra um valor de potencial de redução do NO para ${}^3\text{NO}^-$ de $-0,80\text{V}$ (1M vs NHE), o que é um valor bastante baixo, se comparado com o O_2 . Assim, isto sugere que a formação de ${}^3\text{NO}^-$ é bem mais difícil em um ambiente fisiológico.^{38, 46} A redução do óxido nítrico para ${}^1\text{NO}^-$ ($-1,7 (\pm 0,2)\text{V}$ a 1M vs NHE) é praticamente inacessível em meio fisiológico.³⁸ Assim, com estes potenciais de redução, a formação direta de NO^- pelo ganho de um elétron, em meio fisiológico, é praticamente impossível uma vez que é muito difícil alguma molécula biológica ter um potencial de redução desta magnitude.

1.0.5 Detecção do HNO

A detecção do HNO não é tarefa trivial de se fazer, devido às dificuldades experimentais como já mencionado acima. Hoje em dia, métodos indiretos de detecção do HNO são os mais utilizados. Um deles acompanha a formação de N_2O (vide Esquema 1) por cromatografia gasosa.⁴⁷ Contudo, este método não é muito específico, uma vez que em sistemas biológicos o óxido nítrico pode ser formado sem a participação do HNO.⁴⁸ Técnicas de EPR também são bem vindas quando o HNO forma espécies ativas com complexos metálicos.⁴⁹ Também aproveitando-se do fato de que o HNO reage prontamente com grupos tióis, diferentemente do NO, é comum fazer a detecção dos produtos desta reação. Como exemplo, a reação entre HNO e glutatona (GSH),

acompanhada por HPLC, gera produtos distintos em comparação com a reação entre GSH e NO.⁵⁰ Este método é uma poderosa ferramenta para estudar a bioquímica do HNO in vivo.⁵⁰ Um dos trabalhos mais recentes na caracterização do HNO foi elaborado por Farmer e co-autores. Neste experimento, o HNO coordenado a mioglobina foi caracterizado por RMN-¹H a partir de um pico bem distinto em 14,8 ppm associado ao hidrogênio do HNO.⁵¹

Contudo, mesmo com avanços significativos nos últimos anos, existe ainda uma carência de um método realmente eficiente, específico e direto para a detecção de HNO.⁵²

1.0.6 Complexos de dioxigênio.

Ao longo dos anos, muita importância tem sido dada aos complexos de dioxigênio. E de fato, complexos de dioxigênio de Cu(I) são de grande importância, pois estão envolvidos no transporte de O₂ em artrópodes e moluscos (hemocianina), transferência de átomos de O em enzimas como a tirosinase e na formação de H₂O₂ ou H₂O a partir da redução do O₂ como, por exemplo, heme-cobre oxidases.^{53, 54} Assim, o uso de ligantes macrocíclicos para mimetizar o sítio ativo de oxihemocianina e tirosinase é conveniente devido à flexibilidade deles relativamente pequena e à estrutura bem organizada. Estas características dos ligantes macrocíclicos permitem os íons Cu(I) ocupar posições apropriadas que favorecem à formação de ligações com oxigênio em solução.⁵⁵ Diversos modelos de hemocianina e tirosinase baseados nos ligantes macrocíclicos binucleantes tem sido de interesse e estudados pelo Prof. A.E. Martell.⁵⁶⁻⁶⁴

Entretanto, há uma grande dificuldade de se trabalhar com o Cu(I) devido a sua forte tendência a oxidar ($E^0(\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}) = 0.168\text{V}$)⁶⁵ e desproporcionar: $2\text{Cu}^+ \rightleftharpoons \text{Cu}^{2+} + \text{Cu}^0$. Isto, justifica por que a maioria dos estudos em solução aquosa envolve o Cu(II) e não o Cu(I). Uma das formas de estabilizar o estado de oxidação I é pelo uso de ligantes específicos, mudando o solvente e trabalhando com uma força iônica mais forte, como descrito por Peter May.⁶⁵ Temperaturas mais baixas também favorecem a formação de complexos Cu(II)-peroxo.^{66, 67, 68}

1.0.7 Ligantes macrocíclicos

Ligantes macrocíclicos tem um papel de extrema importância dentro da química e da bioquímica. Este tipo de ligante se caracteriza por ter uma estrutura polidentada, com seus átomos doadores incorporados no ciclo, e muitas vezes incorporados ao ciclo como doadores pendentes.⁶⁹

Na natureza podemos encontrar diversos ligantes macrocíclicos em uma infinidade de sítios ativos de enzimas e proteínas, atuando como catalisadores de diversas reações como, por exemplo, no processo de fotossíntese, no mecanismo de transporte de oxigênio em mamíferos e em outros sistemas respiratórios.^{70, 71} Assim, o que pode justificar a preferência desses compostos pelos sistemas bioquímicos é em grande parte a sua maior estabilidade cinética e termodinâmica, quando comparados com seus complexos lineares análogos.^{72, 73} As constantes de formação de complexos macrocíclicos são visivelmente mais elevadas, quando comparadas a seus análogos de cadeia aberta. O que certamente justifica este comportamento, é que ligantes macrocíclicos tem seus átomos doadores mais próximos uns dos outros, o que proporciona um número restrito de moléculas de água que podem solvatar os átomos.⁷⁴

Como resultado, a formação de um complexo macrocíclico requer uma energia de solvatação menor quando comparadas, por exemplo, com poliaminas abertas análogas. Outra vantagem dos ligantes macrocíclicos sobre seus análogos de cadeia aberta é a sua pré-organização, ou seja, os macrocíclicos já possuem uma estrutura mais rígida, e poucas mudanças na sua conformação são necessárias para formar o complexo metálico. Isso resulta numa variação de entropia menor, contribuindo para uma constante de formação mais forte.⁷⁵

Outro ponto importante que envolve a química dos macrocíclicos é a seletividade que este tipo de estrutura oferece devido à variação no tamanho da cavidade. Assim, um ligante macrocíclico com uma cavidade interna pequena irá complexar mais fortemente íons metálicos ou orgânicos pequenos. Tal seletividade é muito explorada, por exemplo, em colunas cromatográficas.^{76, 77}

Com isso, devido a todas estas características, optamos neste trabalho pela utilização de um ligante macrocíclico de base de Schiff, com capacidade de abrigar em sua cavidade até dois íons metálicos.

1.0.8 Ligantes macrocíclicos poliaza de bases de Schiff

Ligantes macrocíclicos poliaza com bases de Schiff (Figura 2) pertencem a um grupo de ligantes macrocíclicos muito importante. Estes compostos desempenham um papel muito importante dentro do estudo da bioquímica devido a suas estruturas semelhantes aos compostos encontrados em sistemas vivos, servindo de modelo para estudo de reações biológicas que envolvem macrocíclicos como metaloporfirinas, corinas e antibióticos.⁷⁸

A síntese de compostos macrocíclicos não é nada fácil, e geralmente não fornece bons rendimentos. Estratégias usando altas diluições são utilizadas com frequência na tentativa de diminuir a oligomerização e aumentar a ciclização.^{78, 79} Outras estratégias muito utilizadas fazem uso de compostos, como íons metálicos, que podem servir como templates. Neste caso, a entalpia favorável proporcionada pela coordenação do íon metálico ao ligante, supera a entropia desfavorável de ordenação do ligante em torno do íon metálico, tornando favorável à ciclização. Outros métodos incluem uso de solventes adequados e o uso eficiente de compostos protetores e abandonadores.⁷⁸ Assim, a síntese efetiva de macrocíclicos de bases de Schiff envolve reações de condensação entre um composto dicarbonil, uma diamina primária e o uso de um íon metálico apropriado para direcionar o curso da reação (Figura 3).^{79, 80}

Figura 2. Ligantes macrocíclicos com base e Schiff. 78, 79, 80, 81

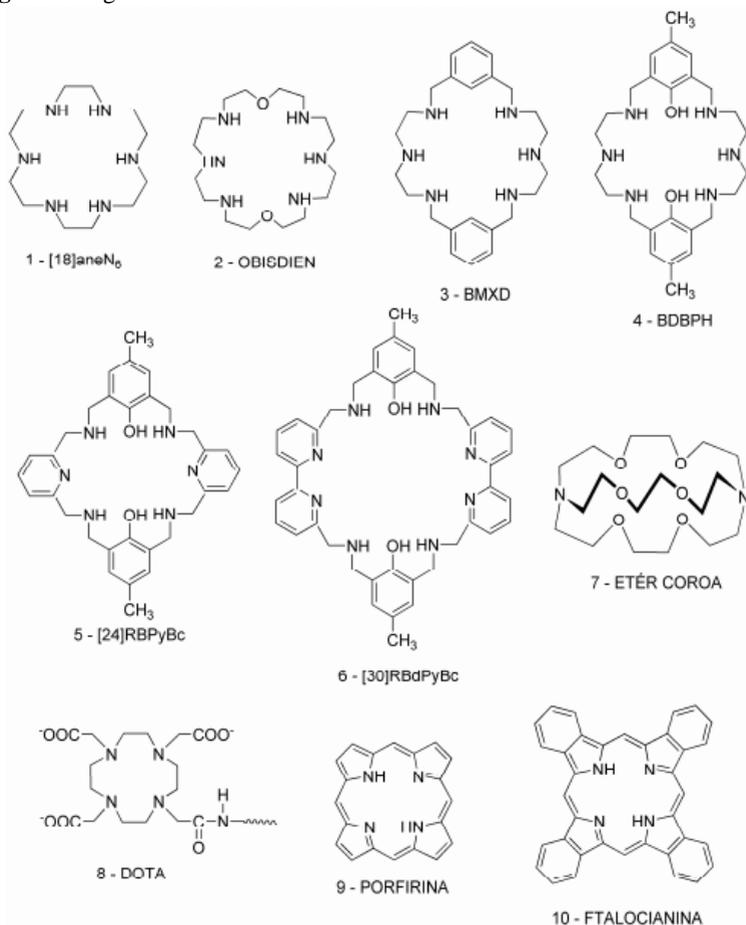
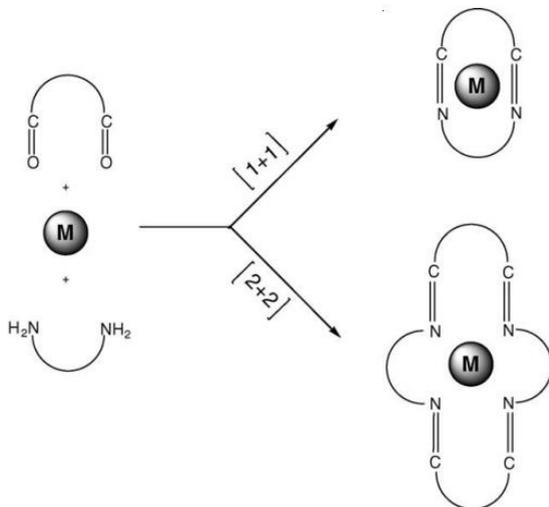
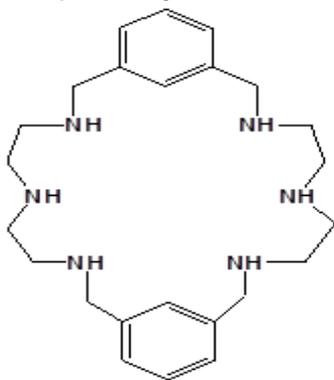


Figura 3. Síntese templatada de macrocíclico base de Schiff [1+1] e [2+2].⁷⁸



O ligante macrocíclico BMXD (Figura 4), 3,6,9,17,20,23-hexaazatriciclo[23.3.1.1^{11,15}] - triaconta⁻¹(29),11(30),12,14,25(26),27 hexaene, um ligante formado por bases de Schiff, foi primeiramente sintetizado por Rached Menif e co-autores, através da condensação (2:2) entre o isoftaldeído com dietilenotriamina,⁸¹ resultando em um ligante polidentado com dois sítios de coordenação, podendo formar complexos binucleares pela inclusão de dois cátions metálicos na cavidade interna da molécula. O BMXD pode ainda complexar com substratos adicionais como, por exemplo, diaminas, dependendo do arranjo formado pela disposição dos íons metálicos coordenados ao ligante.⁸² Quando comparado a outros ligantes macrocíclicos como o OBISDIEN (Figura 2) suas constantes de formação com íons metálicos são menores, devido à presença dos dois anéis benzênicos que confere ao ligante uma certa rigidez.⁸³ A vantagem deste ligante é a sua facilidade em ser sintetizado, não sendo necessária a utilização de um íon metálico como templatado.

Figura 4. Ligante BMXD. ⁸¹



1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivos Gerais

Caracterizar a coordenação dos substratos HNO e O₂ na cavidade de complexos macrocíclicos binucleares formados pelo ligante BMXD a partir de estudos de equilíbrio e espectroscopia de UV-Vis.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Estabilizar o HNO utilizando complexos macrocíclicos binucleares de Ni(II), Zn(II), Cu(II) e Co(II).
- Determinar através de titulação potenciométrica as constantes de associação do HNO com os respectivos complexos mono e binucleares.
- Identificar por espectroscopia de UV-Vis a coordenação do HNO aos respectivos complexos mono e binucleares.
- Estabilizar complexos do dioxigênio na cavidade binuclear do diCu(I)-BMXD.
- Determinar as constantes dos equilíbrios de formação dos complexos do dioxigênio nos sistemas: cobre(I)-BMXD e diamina-Cu(I)-BMXD.
- Usar a técnica de UV-Vis para caracterizar a coordenação na forma μ -peroxo do dioxigênio no centro binuclear do complexo de Cu(I)-BMXD.

2. Reagentes, métodos e instrumentação.

Os reagentes, materiais, gases e solventes empregados na síntese e nas análises foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação ácido de Piloty's (Sigma), ácido clorídrico 37% (Carlo Herba), isoftaldeído (Sigma), borohidreto de sódio (Sigma), ácido bromídrico (Sigma), dietilenotriamina (Sigma), hidróxido de potássio livre de CO₂ em ampolas da Backer Dilut-It, argônio (White Martins), oxigênio (White Martins), ftalato ácido de potássio (Reagen S.A.), dimetil sulfoxido e diclorometano (Nuclear QMC Ltda), acetonitrila (Sigma), cloreto de cobalto(II) hexahidratado (Vetec), cloreto de potássio (Carlo Herba), acetonitrila (Sigma), cloreto de cobre(I) e cobre(II) (Sigma), Nitrato de Zinco (Vetec), cloreto de níquel (Vetec), Clorofórmio (Vetec).

2.1 Métodos e instrumentação.

2.1.1 Titulações potenciométricas.

A técnica de titulação potenciométrica é bastante empregada para determinação de constantes de equilíbrio químico de forma segura. A riqueza desta técnica consiste justamente na facilidade de manuseio do equipamento, alta reprodutibilidade e baixo custo, se comparado a outras técnicas utilizadas para os mesmos fins.

Basicamente, o aparato é composto de um eletrodo de vidro para medição das concentrações de íons hidrogênio e um pHmetro para leitura do pH. Assim, se acompanha a variação do pH à medida que incrementos de volume conhecidos de uma base padronizada são adicionados a uma solução composta pela amostra, que no caso pode ser um complexo metálico. A potenciometria fornece com segurança as espécies químicas formadas em solução. Para confirmação de tais espécies pode ser utilizada a poderosa técnica de ESI-MS ou técnicas espectroscópicas como UV-Vis, RMN ¹H e EPR. As titulações foram realizadas com um titulador automático Metrohm 848 Titrimo Plus acoplado a um eletrodo combinado Ag/AgCl, calibrado na célula de titulação, com soluções diluídas de HCl para a leitura direta do pH ($\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$). As medidas foram feitas a partir de soluções de 30 mL contendo 0,05 mmol de L (BMXD) e na presença de íons metálicos na proporção 1:1 e 1:2. Para as medidas potenciométricas dos respectivos complexos na presença de ácido de Piloty's (AP) obedeceu-

se a proporção de 1:1:1 (L:M:AP), 1:2:1 (L:M:AP) e 1:2:2 (L:M:AP). Os experimentos foram realizados em uma célula de 60 mL de capacidade, termostatizada a 25°C e refrigerada mecanicamente por um banho de circulação termostatizado (Microquímica Ind. Com. Ltda). As soluções experimentais de todos os complexos neste trabalho foram tituladas com alíquotas de solução de $\text{KOH}_{(\text{aq})}$ ($0,100 \text{ mol.L}^{-1}$) isenta de CO_2 previamente padronizada com biftalato de potássio. Todos os experimentos foram realizados com a força iônica constante ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ KCl), sob atmosfera inerte, a partir de um fluxo constante de argônio purificado e em triplicata, sendo que os valores apresentados referem-se à média dos experimentos. O pK_w da água contendo $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ de $\text{KCl}_{(\text{aq})}$ utilizado para os cálculos foi de 13,78.⁸⁴ As soluções de Co(II), Cu(II), Ni(II) e Zn(II) foram preparadas e padronizadas como consta na literatura, com água bidestilada com permanganato de potássio.⁸⁵

Para o estudo de equilíbrio dos complexos de oxigênio foram realizados estudos potenciométricos do BMXD na ausência e presença de cobre(I), dióxigênio e 4-metoxi-1,2-fenilenodiamina em água bidestilada e fervida, à 5°C. A proporção utilizada foi de 2:1 (M:L) quando sistema binário e 1:2:1 (L:M:S) quando sistema ternário. O volume de ambos os sistemas foi de 20,0 mL. A força iônica foi ajustada com $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ de KCl. O pK_w da água a 5°C e $\mu = 1,00 \text{ mol L}^{-1}$ foi determinada igual a 13,95.

Todos os sistemas foram estudados sob condições anaeróbicas, sendo borbulhado argônio (purificado com pirogalol e KOH), para excluir oxigênio e CO_2 . Os sistemas também foram estudados em condições aeróbicas, sendo mantido sob oxigênio purificado.

Como abaixo de pH 2 e acima de pH 11, íons hidrogênio e íons hidróxido se tornam responsáveis por frações apreciáveis da condutância, fazendo com que ocorram diferenças significativas do potencial de junção líquida, a faixa de pH que foi estudada está compreendida entre 2 e 11.

2.1.2 Programa BEST7.

As constantes foram calculadas através do programa BEST7⁸⁴ e os diagramas de distribuição de espécies presentes em solução, em função do pH, foram obtidos com o programa SPECIES.⁸⁶ O programa BEST7 utiliza curvas de titulação para determinar as constantes de estabilidade e/ou as constantes de protonação dos ligantes e complexos, bem como a correta concentração do ligante utilizado. A entrada de

dados para o programa consiste em fornecer o número de milimoles de cada componente, as constantes de equilíbrio inicialmente estimadas de todas as espécies que podem ser formadas a partir dos componentes da solução. E o perfil de pH determinado experimentalmente versus a composição da solução (HCl ou KOH adicionado). O programa emprega equações de balanço de massa para todas as espécies presentes a cada incremento de ácido adicionado e resolve a concentração de cada espécie presente. As espécies sugeridas são aquelas adquiridas ou observadas a partir de evidências espectrofotométricas e que podem ser justificadas com base em princípios estabelecidos na química de coordenação em solução. Convencionalmente, este programa emprega constantes globais de protonação e de formação de complexos metálicos, designadas por β . Nos cálculos, deve-se sempre buscar a minimização do desvio padrão (ajuste s) do sistema entre os valores experimentais de pH determinados na titulação e os calculados. O desvio padrão é calculado como um fator de peso de modo a aumentar a sensibilidade dos cálculos computacionais nas regiões de tamponamento do sistema, e diminuir a importância das inflexões.

2.2 Espectroscopia no UV-Vis.

As medidas espectroscópicas de UV-Vis para os complexos BMXD-Ni²⁺, BMXD-Co²⁺ e BMXD-Cu²⁺ na presença do ácido de Piloty's foram feitas com o auxílio de um espectrômetro Cary 50. As soluções experimentais foram preparadas pela dissolução de 0,012 mmols de BMXD, 0,011 mmols para sistemas mononucleares e 0,02 para sistemas binucleares, para cada metal. O ácido de piloty's foi adicionado na proporção 1:1:1 (L-M-AP) em 30 ml de água bidestilada (KMnO₄) em uma célula termostatizada à 25°C e $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Após a purga das soluções com argônio purificado durante 1 hora, o pH foi ajustado com KOH_(aq) para 8,50 para posterior leitura das medidas espectroscópicas.

Para os complexos de dioxigênio, as medidas de UV-Visível foram realizadas com o auxílio de um espectrofotômetro (Spectrophotometer U-3000 da Hitachi) equipado com eletrodo combinado Ananlion 620 calibrado com solução padronizada de HCl. Soluções experimentais foram preparadas pela dissolução de 0,011mmols de BMXD e 0,020mmols de CuCl em 25,0ml de água bidestilada (KMnO₄) em uma célula termostatizada à 5°C, $\mu = 1 \text{ mol L}^{-1}$. Inicialmente o pH da solução de Cu(I) e BMXD foi mantido 3,80

durante 2 horas, na atmosfera inerte de argônio, para remover o oxigênio dissolvido na solução. Depois o pH foi ajustado até 8,50 e a mistura foi deixada para reagir com dióxigênio durante 3 horas, formando complexos μ -peroxo. Para efeito da comparação foi realizado o mesmo experimento com 0,020mmols de Cu(II) e 0,020 mmols de peróxido de hidrogênio. As soluções dos sistemas foram preparadas em uma célula termostatizada equipada com um eletrodo combinado e uma bureta Gilmont. A atmosfera no interior da célula foi mantida sob argônio ou oxigênio à uma pressão ligeiramente acima da pressão atmosférica. O pH da solução foi ajustado adicionando pequenos incrementos de $\text{KOH}_{(\text{aq})}$ ou $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ $1,00\text{mol L}^{-1}$ com ajuda de uma bureta Gilmont.

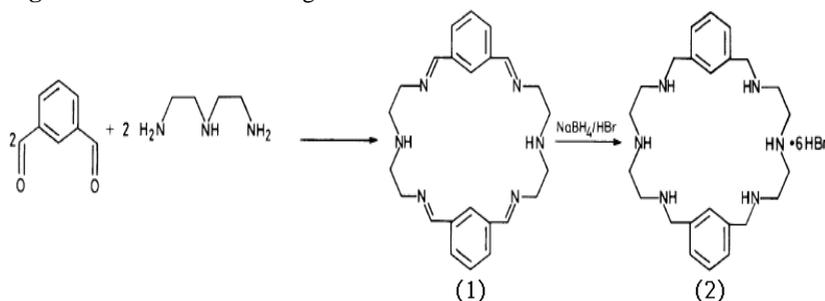
2.3 Ressonância Magnética de Hidrogênio (RMN ^1H)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio foram obtidos em um espectrômetro Varian (200MHz), na central de análises do Departamento de Química – UFSC. Utilizando como referência interna tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm), e D_2O como solvente.

2.4 Síntese do ligante BMXD.

O ligante BMXD foi preparado conforme consta na literatura, através da condensação entre a triamina com o dialdeído.⁵⁷ A Figura 5 mostra a rota sintética do ligante.

Figura 5. Rota sintética do ligante $\text{BMXD}\cdot 6\text{HBr}$



Uma solução de isoftaldeído (2,019 g; 15 mmol) em 400 mL de acetonitrila foi adicionada lentamente, gota a gota, sob agitação a uma

solução de dietilenotriamina (1,62 mL; 15 mmol) em 400 mL de acetonitrila por 2 horas. Um precipitado branco se forma e é recristalizado em diclorometano/acetonitrila (1:1), composto (1). Rendimento: 2,19g (72%), à temperatura ambiente. A suspensão do composto (1), (2,19 g) em etanol absoluto (50,0 mL), foi reduzida com borohidreto de sódio. Quando a reação é completada, o solvente é removido sob pressão reduzida e o produto é extraído com diclorometano em água (120:10 mL). Um óleo incolor é obtido sobre o diclorometano removido sob pressão reduzida. Cerca de 3,0 mL de HBr 48% foram adicionados ao produto oleoso. O precipitado branco formado foi recristalizado em uma mistura de metanol/água (25:5 mL), pelo período de 48 horas à 0°C, obtendo-se os cristais do ligante BMXD.6HBr – composto (2). Rendimento: (89%). O ligante BMXD foi caracterizado por potenciometria e RMN ¹H.

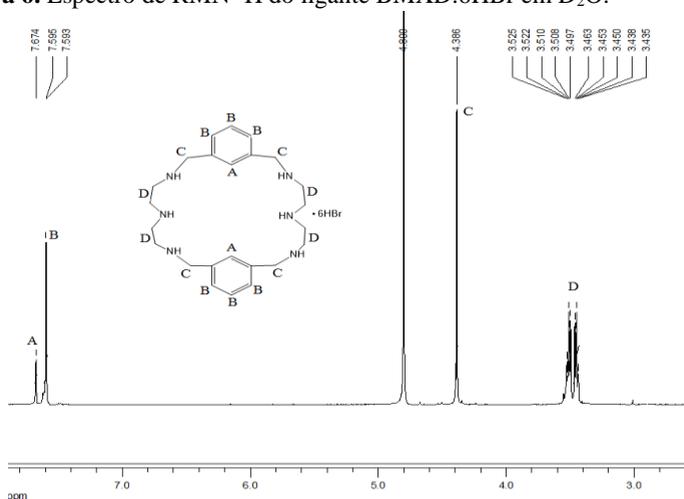
3.1 Resultados e Discussão

3.2 Complexos de HNO/NO⁻

3.2.1 Ressonância Magnética de Hidrogênio RMN ¹H

A técnica espectroscópica de RMN ¹H é uma excelente técnica para caracterizar compostos orgânicos. Com a integração dos sinais e os respectivos valores de deslocamento químico no espectro de RMN ¹H é possível com muita clareza, em boa parte dos casos, determinar o número de hidrogênios presentes no composto em estudo. Aqui, a técnica de RMN ¹H foi utilizada para confirmar a estrutura e a pureza do ligante BMXD (Figura 6).

Figura 6. Espectro de RMN ^1H do ligante BMXD.6HBr em D_2O .



A Tabela 1 mostra um comparativo entre os picos de RMN ^1H para o ligante BMXD sintetizado em nosso laboratório com os picos fornecidos pela literatura.

Tabela 1. Tabela de valores de RMN ^1H (200MHz, D_2O) para o ligante BMXD, à 25°C e $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}(\text{KCl})$. (^a) Ver Figura 6. (^{*}) Referencia 81

	A, B (^a)	C(^a)	D(^a)
BMXD (^a)	7,56, 7,65	4,38	3,45-3,48 3,49-3,52
BMXD ([*])	7,51, 7,59	4,31	3,3-3,4

3.2.2 Titulações potenciométricas.

3.2.2.1 Ligante BMXD

As curvas potenciométricas são mostradas na Figura 7. Cada região tamponada pode fornecer informações qualitativas sobre possíveis espécies presentes em solução ao longo da faixa de pH estudada. Na Figura 7, a curva 1 representa a curva de titulação do ligante BMXD e mostra que a neutralização do ligante macrocíclico ocorre na faixa de pH entre 3 e 11. As constantes de protonação do

ligante foram calculadas a partir dos dados potenciométricos, e os valores de log de K podem ser comparados com valores da literatura na Tabela 2. Os dois valores ácidos de pKa 3,73 e 3,26, são atribuídos os prótons dos grupos aminos centrais das porções de dietilenotriamina no macrocíclico que são fortemente influenciados por efeitos coulombianos dos dois grupos aminos adjacentes protonados.

Figura 7. Curva de titulação potenciométrica de soluções contendo 0,05 mmol de BMXD (Curva 1), 0,05 mmol de BMXD e 0,05 mmol de Zn^{2+} na ausência (curva 2) e na presença de ácido de Piloty's (Curva 3).

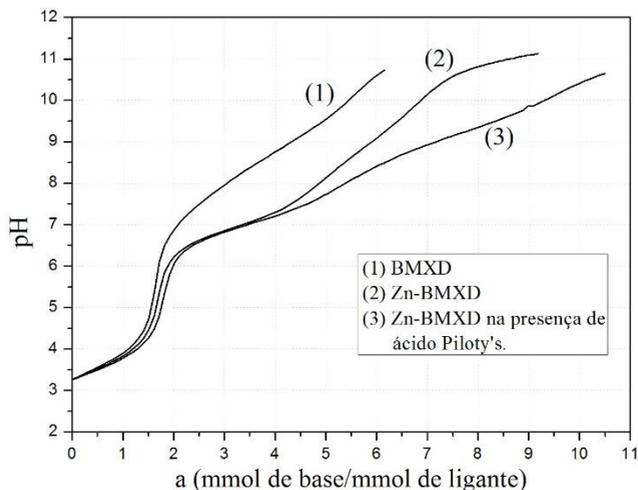


Tabela 2. Logaritmo das constantes de protonação BMXD (L), a 25 °C e $\mu = 0.100 \text{ mol l}^{-1}$ (KCl). (*) Referencia 81.

Quociente de equilíbrio	Log K	Log K ^(*)
$[HL^+]/[H^+][L]$	9,50	9,51
$[H_2L^{2+}]/[HL^+][H^+]$	8,93	8,95
$[H_3L^{3+}]/[H_2L^{2+}][H^+]$	8,09	8,11
$[H_4L^{4+}]/[H_3L^{3+}][H^+]$	7,23	7,22
$[H_5L^{5+}]/[H_4L^{4+}][H^+]$	3,73	3,72
$[H_6L^{6+}]/[H_5L^{5+}][H^+]$	3,26	3,25

Observa-se na Tabela 2, dois valores de pKas bem distintos dos demais. Um com valor de 3,26, e outro com 3,73. Estes dois pKas são associados aos dois grupos aminos centrais das duas porções da dietilenotriamina, uma vez que esses grupos são fortemente influenciados por efeitos eletrostáticos dos grupos aminos protonados adjacentes. À medida que os grupos aminos vão sendo desprotonados, os efeitos eletrostáticos diminuem devido ao aumento da distância entre eles, fazendo com que o último pKa seja de 9,5, que por sua vez, é um valor de pKa típico de um grupamento amina. Assim, podemos observar que há uma boa concordância entre as regiões tamponadas apresentados na curva de titulação do ligante (Figura 7, curva azul) com os valores de pKa calculados pelo programa BEST7.

3.2.2.2 Estudos potenciométricos dos sistemas mononucleares BMXD-Zn²⁺ e BMXD-Zn²⁺ na presença do ácido de Piloty's

A curva de titulação potenciométrica do ligante BMXD na presença do íon Zn²⁺ (Figura 7, curva preta 2) na proporção 1:1 (M:L) mostra que a complexação do íon metálico pelo ligante inicia-se em torno de pH 6, visto que há formação de uma região tamponada abaixo da curva do ligante (Figura 7, curva azul) a partir deste pH. Ou seja, há um consumo de 2 mmol de KOH (a > 2) por mol de ligante para que a reação de complexação ocorra. As constantes de equilíbrio para este sistema foram determinadas e são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3. Logaritmo das constantes de formação e dissociação para os sistemas Zn(II)-BMXD (Zn-L) e Zn(II)-HNO-BMXD (Zn-HNO-L) a 25°C e $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$.

Quociente de equilíbrio	log K
$[\text{ZnL}^{2+}]/[\text{Zn}^{2+}][\text{L}]$	7,78
$[\text{ZnHL}^{3+}]/[\text{ZnL}^{2+}][\text{H}^+]$	8,37
$[\text{ZnH}_2\text{L}^{4+}]/[\text{ZnHL}^{3+}][\text{H}^+]$	6,83
$[\text{Zn}(\text{OH})\text{L}^+][\text{H}^+]/[\text{ZnL}^{2+}]$	-9,13
$[\text{Zn}(\text{OH})_2\text{L}][\text{H}^+]/[\text{Zn}(\text{OH})\text{L}^+]$	-11,28
$[\text{Zn}(\text{HNO})\text{L}^{2+}]/[\text{HNO}][\text{ZnL}^{2+}]$	4,19
$[\text{Zn}(\text{HNO})(\text{H})\text{L}^{3+}]/[\text{Zn}(\text{HNO})\text{L}^{2+}][\text{H}^+]$	8,54

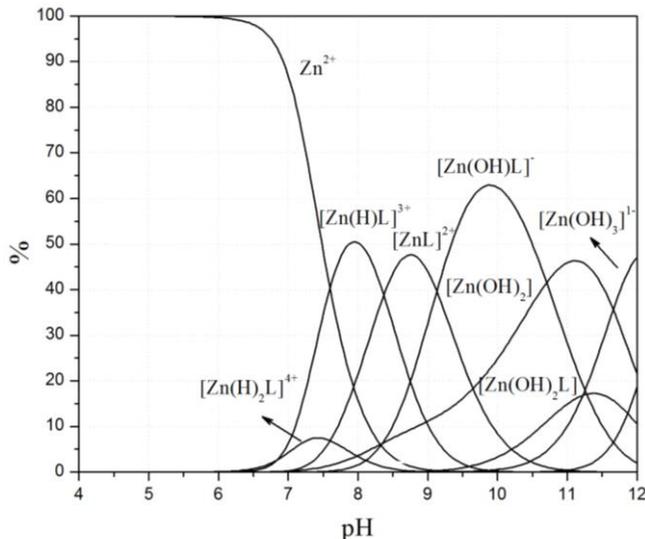
Continua.

Continuação

$[Zn(HNO)(H)_2L^{4+}]/[Zn(HNO)(H)L^{3+}][H^+]$	5,26
$[Zn(HNO)L^{2+}][H^+]/[Zn(HNO)(OH)L^+]$	-9,12
$[Zn(NO^-)(OH)L][H^+]/[Zn(HNO)(OH)L^+]$	-9,46
$[Zn(NO^-)(OH)_2L^-][H^+]/[Zn(NO^-)(OH)L]$	-10,84

As curvas de distribuição de espécies para o sistema BMXD-Zn²⁺ são mostradas na Figura 8. Como já mencionado, a complexação do íon zinco começa em pH > 6 e as espécies mono e diprotonada aparecem na faixa de pH de 6,5 a 9,4. Assim, a espécie diprotonada [Zn(H)₂L]⁴⁺ alcança sua formação máxima em pH 7,5, com 8%. E a espécie monoprotonada [Zn(H)L]³⁺ atinge um máximo de 50% em pH 7,8. As espécies mono e dihidróxida, [Zn(OH)L]⁻ e [Zn(OH)₂L] respectivamente, predominam entre pH 10 a 12. A espécie [ZnL]²⁺ atinge o máximo de sua formação em pH 8,7.

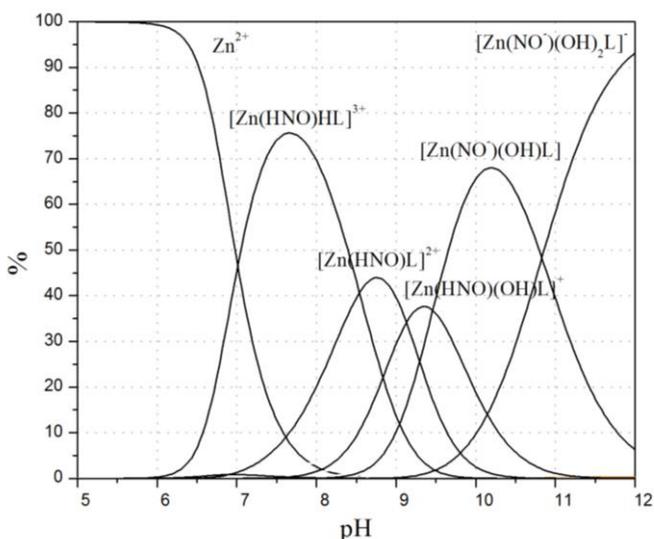
Figura 8. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Zn²⁺-BMXD na proporção 1:1(M:L). μ = 0,100 mol L⁻¹ KCl, T = 25,0°C.



A curva de titulação potenciométrica para o sistema Zn²⁺-BMXD na presença do ácido de Piloty's é apresentada na Figura 7, curva 3. Como pode ser observado, ocorre a formação de uma região tamponada

mais forte a partir de pH 7, indicando que a complexação do HNO pelo complexo de Zn^{2+} ocorre. As constantes de formação para este sistema são mostradas na Tabela 3. A curva de distribuição de espécies para este sistema é apresentada na Figura 9. O aspecto mais notável para este sistema é que complexos Zn^{2+} -BMXD são estabilizados na presença do HNO gerado pela decomposição do ácido de Piloty's. A espécie monoprotonada, $[Zn(HNO)HL]^{3+}$, está presente em solução a partir de pH 6,5 a 9,5 e a sua formação máxima é de 76% em pH 7,6. A espécie $[Zn(HNO)L]^{2+}$, em pH 8,7, atinge o máximo de sua formação com 45%. As espécies desprotonadas predominam entre pH 9,3 e 12 com um máximo de 48% para a espécie $[Zn(HNO)(OH)L]^+$, em pH 9,4, 68% para a espécie $[Zn(NO^-(OH)L]$, em pH 10,3, e 93% para a espécie $[Zn(NO^-(OH)_2L]^-$, em pH 12.

Figura 9. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Zn^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's na proporção 1:1:1. $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $T = 25,0^\circ\text{C}$.

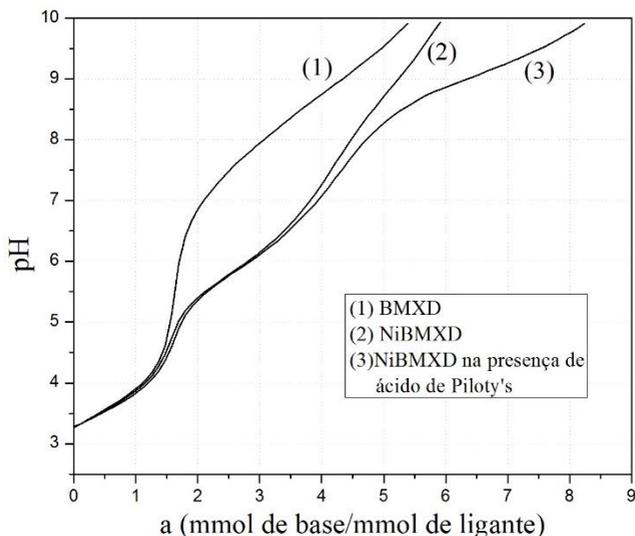


3.2.2.3 Estudo potenciométricos dos sistemas mononucleares Ni^{2+} -BMXD e Ni^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's:

As curvas de titulação potenciométrica para este estudo são mostradas na Figura 10. A curva 1 da Figura 10 representa o ligante BMXD. Na figura 9, observa-se que a reação de complexação do íon

Ni^{2+} com o ligante BMXD inicia partir de pH 4,5. Diferentemente do complexo Zn^{2+} -BMXD, o complexo de níquel é formado em um valor de pH mais ácido, indicando uma maior afinidade do ligante BMXD pelo íon Ni^{2+} . A Tabela 4 apresenta os resultados dos cálculos realizados com o programa BEST7, a partir dos dados potenciométricos.

Figura 10. Curva de titulação potenciométrica de soluções contendo 0,05 mmol de BMXD (Curva 1), 0,05 mmol de BMXD e 0,05 mmol de Ni^{2+} na ausência (curva 2) e na presença de AP (Curva 3).



As curvas de distribuição de espécies detectadas para este sistema (Ni^{2+} -BMXD), estão apresentadas na Figura 11. À medida que o pH aumenta, a concentração de íons Ni^{2+} livre diminui. Em pH levemente ácido, em torno de 6, tem-se a formação de uma espécie triprotonada, $[\text{NiH}_3\text{L}]^{3+}$, e sua formação é bem tímida, não chegando a 5%. Em pH 6,8, a espécie diprotonada $[\text{NiH}_2\text{L}]^{4+}$ atinge 55% de sua formação. A espécie monoprotônica $[\text{NiHL}]^{3+}$ em pH 8,3 alcança o máximo de sua formação em torno de 70%. A espécie totalmente desprotonada $[\text{NiL}]^{2+}$ é a de maior formação, com um máximo de 90% em pH 10. Com o aumento do pH, surge a espécie monohidroxida $[\text{Ni}(\text{OH})\text{L}]^+$, com 40% de sua formação em pH 11,5.

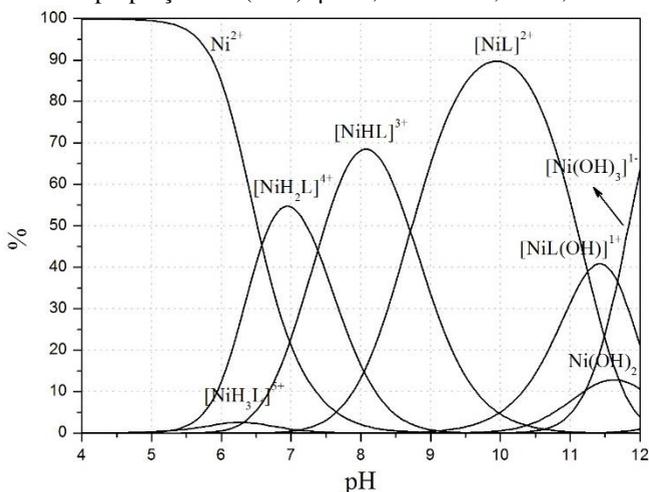
A curva 3 da Figura 10 mostra a curva e titulação potenciométrica para o sistema Ni^{2+} -BMXD na presença do ácido de

Piloty's (AP). A complexação do HNO gerado pelo AP começa em pH 6,5 uma vez que, a partir deste pH, a curva para este sistema começa a ficar abaixo da curva para o sistema Ni²⁺-BMXD (Curva 2) devido à formação de uma região tamponante mais acentuada.

Tabela 4. Logaritmo das constantes de formação para os sistemas Ni²⁺-BMXD (Ni-L) e Ni²⁺-BMXD na presença de AP a 25°C e μ= 0,100 mol.L⁻¹.

Quociente de equilíbrio	log K
$[\text{NiL}^{2+}]/[\text{Ni}^{2+}][\text{L}]$	8,94
$[\text{NiHL}^{3+}]/[\text{NiL}^{2+}][\text{H}^+]$	8,77
$[\text{NiH}_2\text{L}^{4+}]/[\text{NiHL}^{3+}][\text{H}^+]$	7,47
$[\text{NiH}_3\text{L}^{5+}]/[\text{NiH}_2\text{L}^{4+}][\text{H}^+]$	5,29
$[\text{Ni}(\text{OH})\text{L}^+][\text{H}^+]/[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})\text{L}^{2+}]$	-11,38
$[\text{Ni}(\text{HNO})\text{L}^{2+}]/[\text{HNO}][\text{NiL}^{2+}]$	3,07
$[\text{Ni}(\text{HNO})\text{HL}^{3+}]/[\text{Ni}(\text{HNO})\text{L}^{2+}][\text{H}^+]$	9,45
$[\text{Ni}(\text{HNO})\text{H}_2\text{L}^{4+}]/[\text{Ni}(\text{HNO})\text{HL}^{3+}][\text{H}^+]$	8,36
$[\text{Ni}(\text{HNO})\text{H}_3\text{L}^{5+}]/[\text{Ni}(\text{HNO})\text{H}_2\text{L}^{4+}][\text{H}^+]$	6,54
$[\text{Ni}(\text{NO}^-)\text{L}^+][\text{H}^+]/[\text{Ni}(\text{HNO})\text{L}^{2+}]$	-8,53
$[\text{Ni}(\text{NO}^-)(\text{OH})\text{L}^+][\text{H}^+]/[\text{Ni}(\text{NO}^-)\text{L}^+]$	-10,49

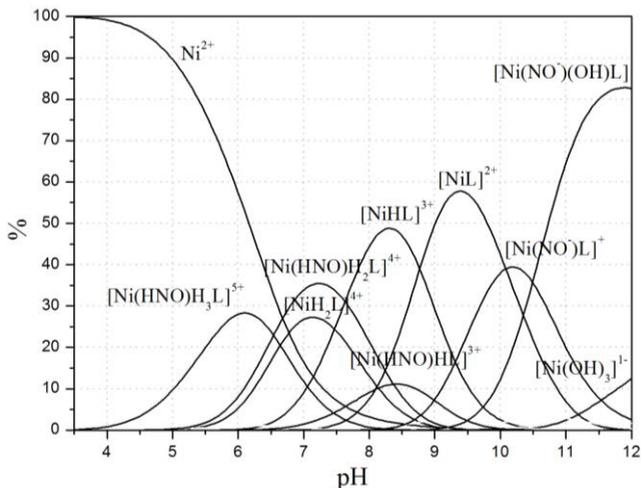
Figura 11. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Ni^{2+} -BMXD na proporção 1:1 (M:L). $\mu = 0,100 \text{ M KCl}$, $T=25,0^\circ\text{C}$.



A Tabela 4 apresenta o logaritmo das constantes de formação calculadas a partir dos dados potenciométricos do sistema Ni^{2+} -BMXD na presença do AP. Assim, a partir dos dados, foi calculado o diagrama de espécies detectadas em solução. As curvas podem ser vistas na Figura 12.

Como podemos observar, o diagrama de espécies da Figura 12 apresenta uma maior número de espécies formadas em relação ao sistema Zn^{2+} -BMXD na presença de AP (Figura 9). As espécies $[\text{Ni(HNO)H}_3\text{L}]^{5+}$, $[\text{Ni(HNO)H}_2\text{L}]^{4+}$ e $[\text{Ni(HNO)HL}]^{3+}$ se formam entre valores de pH que vão de 4,5 a 9,5 com formações de 40%, 44% e 15%, respectivamente. A espécie $[\text{Ni(NO}^-)\text{L}]^+$ aparece acima de pH 9 com um máximo de 40% em pH 10,3. Acima deste pH, a espécie $[\text{Ni(NO}^-)\text{(OH)L}]$ se forma e alcança um máximo de 88% em pH 11,7. A espécie $[\text{Ni(HNO)L}]^{2+}$ se forma em pH 9,3 e atinge um máximo de 6%.

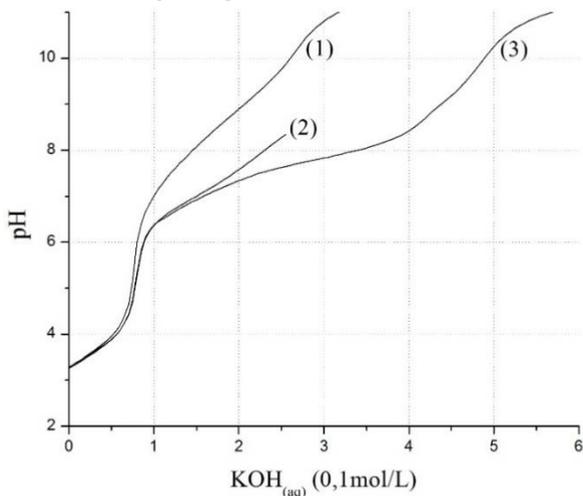
Figura 12. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Ni^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's na proporção 1:1:1 (M:HNO:L) $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, $T = 25,0^\circ\text{C}$.



3.2.2.4 Estudo potenciométrico dos sistemas binucleares $(\text{Co}^{2+})_2$ -BMXD e $(\text{Co}^{2+})_2$ -BMXD na presença do ácido de Piloty's.

As curvas obtidas através das titulações potenciométricas são mostradas na Figura 13 e podem ser comparadas entre si. A curva 1 é a do ligante BMXD. A curva 2 corresponde à titulação do ligante na presença do cobalto(II), na proporção 1:2. E apresenta uma região tamponada mais forte em relação à primeira curva, mostrando a coordenação do metal pelo BMXD a partir de pH em torno de 6.

Figura 13. Curvas de titulação potenciométricas de soluções contendo 0,05 mmol de BMXD (Curva 1), 0,05 mmol de BMXD e 0,20 mmol de Co^{2+} na ausência (curva 2) e na presença de AP (Curva 3).



A titulação foi feita até pH 8,5 devido à precipitação do metal na forma de hidróxido. A curva 3 apresenta um tampão mais proeminente, mostrando que a coordenação da espécie gerada in-situ pelo AP ocorre em valores de pH acima de 7, estabilizando o arranjo binuclear.

A Tabela 5 mostra as constantes de formação do ligante na presença do metal Co(II) e podem ser comparadas com as informadas pela literatura. E as do sistema BMXD-Co_2 em presença do Ácido de Piloty's. A partir destes valores foi calculada as porcentagens das espécies em solução, em função do pH, que podem ser vistas nas Figuras 14 e 15.

Tabela 5. Constantes de formação para o sistema $\text{Co}^{2+}\text{-BMXD}$ e $\text{Co}^{2+}\text{-BMXD}$ na presença do Ácido de Piloty's. (*) Referência 82.

Quociente do de equilíbrio	Log K	Log K*
$[\text{LCo}^{2+}]/[\text{L}][\text{Co}^{2+}]$	5,45	5,40
$[\text{HLCO}^{3+}]/[\text{LCo}^{2+}][\text{H}^+]$	9,31	9,26
$[\text{H}_2\text{LCo}^{4+}]/[\text{HLCO}^{3+}][\text{H}^+]$	7,29	7,26

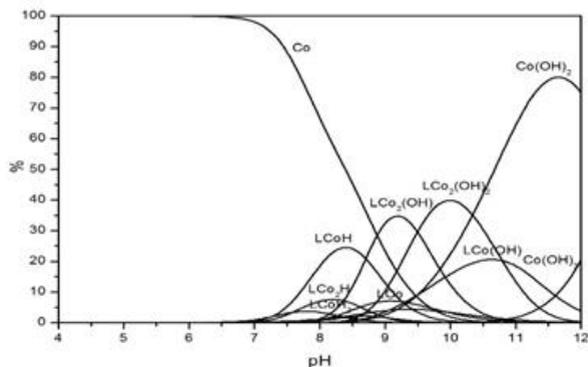
Continua

Continuação

$[\text{LCo}(\text{OH})^+][\text{H}^+]/[\text{CoL}^{2+}]$	-9,27	-9,30
$[\text{HLCo}_2^{5+}]/[\text{LCo}_2^{4+}][\text{H}^+]$	8,98	9,00
$[\text{LCo}_2(\text{OH})^{3+}][\text{H}^+]/[\text{LCo}_2^{4+}]$	-7,72	-7,72
$[\text{LCo}_2(\text{OH})_2^{2+}][\text{H}^+]/[\text{LCo}_2(\text{OH})^{3+}]$	-9,49	-9,49
$[\text{Co}_2(\text{HNO})\text{L}^{4+}]/[\text{Co}_2\text{L}^{4+}][\text{HNO}]$	4,32	
$[\text{Co}_2(\text{HNO})(\text{OH})\text{L}^{3+}][\text{H}^+]/[\text{Co}_2(\text{HNO})\text{L}^{4+}]$	-7,34	
$[\text{Co}_2(\text{NO}^-)(\text{OH})\text{L}^{2+}][\text{H}^+]/[\text{Co}_2(\text{HNO})(\text{OH})\text{L}^{3+}]$	-7,76	
$[\text{Co}_2(\text{NO}^-)(\text{OH})_2\text{L}^+][\text{H}^+]/[\text{Co}_2(\text{NO}^-)(\text{OH})\text{L}^{2+}]$	-9,05	

Na Figura 14 o diagrama de espécies do ligante na presença do metal mostra que a coordenação do metal pelo ligante inicia somente em pH 7. Logo em seguida, formam-se as espécies mono-hidroxida $[\text{LCo}_2(\text{OH})]^{3+}$, e di-hidroxida $[\text{LCo}_2(\text{OH})_2]$, com 35% em pH 9,1 e 45% em pH 10, respectivamente. Pode-se observar que a precipitação do metal na forma de hidróxido $\text{Co}(\text{OH})_2$ ocorre a partir de pH acima de 8,5.

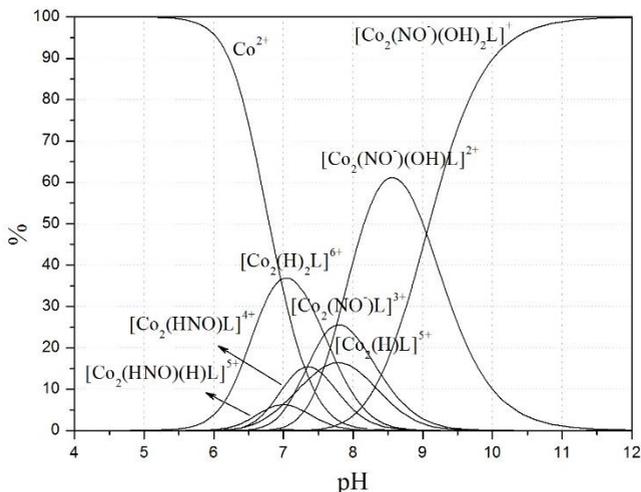
Figura 14. Diagrama de distribuição de espécies detectadas para o sistema Co^{2+} -BMXD na proporção 2:1 (M:L), $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $T=25,0^\circ\text{C}$.



Na Figura 15 é mostrado o diagrama de espécies para o sistema Co_2 -BMXD na presença do AP, respectivamente. O complexo LCo_2 começa a coordenar com o HNO acima de pH 7,0. A espécie $[\text{LCo}_2(\text{HNO})^{4+}]$ forma-se muito pouca e foi omitida do diagrama de distribuição de espécies. A espécie $[\text{Co}_2(\text{NO}^-)\text{L}]^{3+}$ se forma em valores de pH acima de 7, atingindo um máximo em pH 8,0. A espécie

monohidróxida, $[\text{Co}_2(\text{NO})(\text{OH})\text{L}]^{2+}$ forma-se em pH mais elevado, com um máximo em pH 8,8. Esta espécie descrece em valores de pH mais altos, dando espaço à formação da espécie dihidróxida, $[\text{Co}_2(\text{NO})(\text{OH})_2\text{L}]^+$.

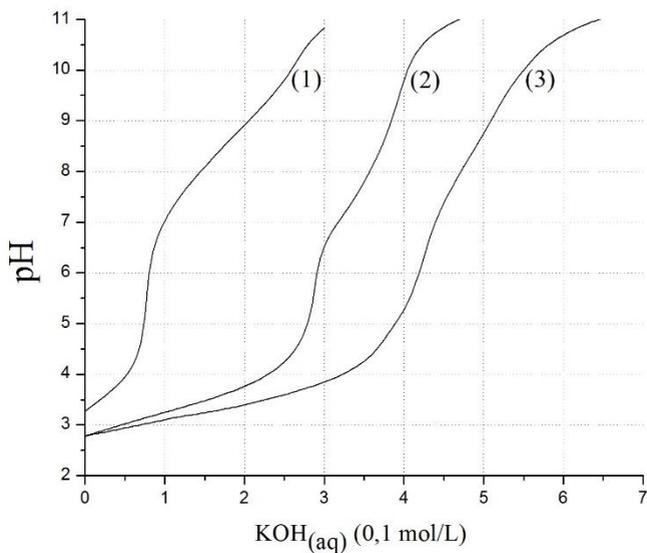
Figura 15. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Co^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's na proporção 2:1:1 (M:AP:L) $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, $T = 25,0^\circ\text{C}$.



3.2.2.5 Estudo potenciométricos dos sistemas binucleares $(\text{Cu}^{2+})_2$ -BMXD e $(\text{Cu}^{2+})_2$ -BMXD na presença do ácido de Piloty's.

As curvas de titulação potenciométrica do sistema Cu^{2+} -BMXD (Figura 16, curva 2) e Cu^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's (Figura 16, curva 3) são mostradas na Figura 16. Observa-se que a formação do complexo de Cu(II) inicia-se em pH ácido. A inclinação maior da curva 3 mostra que o HNO gerado pelo ácido de Piloty's estabiliza o complexo e, como resultado, aparece uma região tamponante mais acentuada na faixa de pH de 3,3 a 11,5.

Figura 16. Curvas de titulação potenciométricas de soluções contendo 0,05 mmol de BMXD (Curva 1), 0,05 mmol de BMXD e 0,10 mmol de Cu^{2+} na ausência (Curva 2) e na presença de AP (Curva 3).

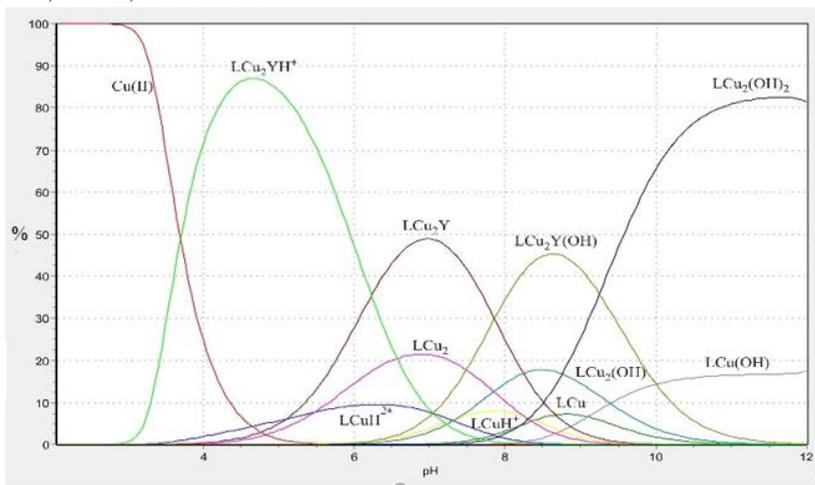


A Tabela 6 mostra as constantes de equilíbrio calculadas a partir das titulações potenciométricas para o sistema Cu^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's. A partir destes valores foram calculadas as porcentagens das espécies em função do pH, como mostra a Figura 17.

Tabela 6. Logaritmo das constantes de estabilidade para o sistema L-Cu(II)-HNO a 25°C e $\mu = 0,100 \text{ mol L}^{-1}$.

Quociente do equilíbrio	log K
$[\text{Cu}_2(\text{HNO})\text{L}^{4+}]/[\text{Cu}_2\text{L}^{4+}][\text{HNO}]$	12.60
$[\text{Cu}_2(\text{NO}^-)\text{L}^{3+}]/[\text{Cu}_2(\text{HNO})\text{L}^{4+}][\text{H}^+]$	6.23
$[\text{Cu}_2(\text{OH})(\text{NO}^-)\text{L}^{2+}][\text{H}^+]/[\text{LCu}_2(\text{NO}^-)^{3+}]$	-7.78

Figura 17. Diagrama de distribuição de espécies para o sistema Cu^{2+} -BMXD na presença do ácido de Piloty's na proporção 2:1:1 (M:AP:L) $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, $T = 25,0^\circ\text{C}$. $Y = \text{NO}^-$

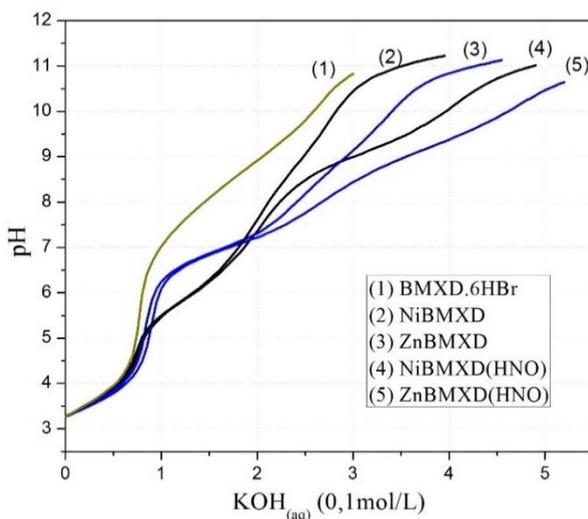


As curvas de distribuição das espécies da Figura 17 mostra que diferentemente do sistema Co(II)-BMXD , os complexos Cu(II)-BMXD complexão com o HNO já em pH ácido. A espécie protonada, LCu_2YH^+ ($Y = \text{NO}^-$) tem a sua formação máxima em pH 4,7 com 87%. A espécie LCu_2Y atinge um máximo de 49% em pH 7,0. A formação da espécie monohidróxida, $\text{LCu}_2\text{Y(OH)}$, ocorre em valores de pH mais altos, alcançando um máximo de 45% em pH 8,7, e a espécie dihidróxida predomina em valores acima de 9,2.

É importante observar que, comparando as constantes de formação entre o ligante e os respectivos íons metálicos Ni(II) e Zn(II) , observamos que o logaritmo da constante de formação é maior para o Ni(II) com 8,94 contra 7,78 para o íon Zn(II) . Estes resultados estão em completo acordo com a série de Irving-Williams. Esta série relaciona as constantes de formação com o raio dos íons metálicos. Em geral, para íons metálicos com raio pequeno as constante de formação para um mesmo ligante são maiores. Já quando comparamos os logaritmos das constantes de formação para os sistemas mononucleares na presença do ácido de Piloty's, ($\log K = 4,19$ para o íon Zn(II) e $\log K = 3,07$ para o íon Ni(II)) podemos observar que o complexo de Zn(II) consegue estabilizar o HNO mais fortemente que o Ni(II) . Isso nos leva a propor um modelo que nas condições experimentais trabalhadas, o complexo de

Ni(II) tenha uma preferência por assumir uma geometria tetraédrica. Isso, de certa forma, dificulta a coordenação com o HNO, uma vez que o ligante BMXD preenche os sítios de coordenação do íon Ni(II). A Figura 18 compara as curvas de titulação entre estes dois sistemas na presença e ausência do ácido de Piloty's. Assim, quando comparamos as curvas 2 e 3 da Figura 18, constata-se que o íon Ni(II) complexa em pH mais baixo com o ligante BMXD em relação ao íon Zn(II), o que é um reflexo de sua constante mais forte.

Figura 18. Comparação entre as curvas de titulação do ligante BMXD e para os sistemas Zn(II)BMXD e Ni(II)BMXD na ausência e presença do ácido de Piloty's.

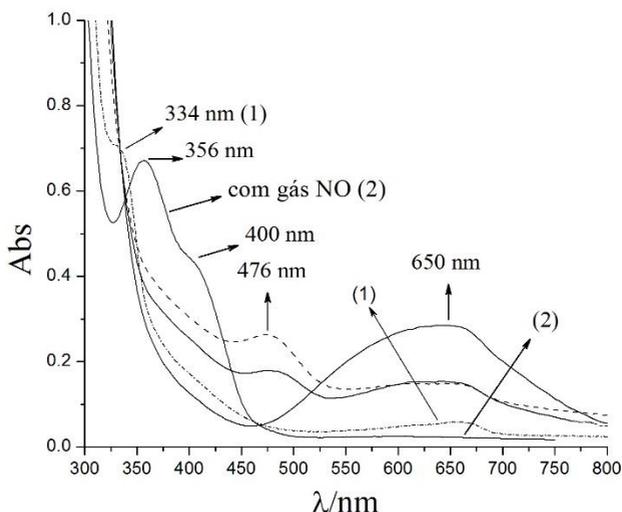


3.2.3 Espectroscopia no UV-Vis.

Os sistemas Ni(II)BMXD, Cu(II)₂BMXD e Co(II)₂BMXD na presença do ácido de Piloty's foram estudados através da espectroscopia no UV-Vis. Os complexos de Cu(II)₂BMXD na presença do ácido de Piloty's mostraram um comportamento espectroscópico interessante (Figura 19). À medida que a reação ocorre, a banda característica do complexo de Cu(II)₂BMXD de 635 nm começa a desaparecer, indicando que uma reação química está ocorrendo. Junto com o desaparecimento deste comprimento de onda, pode-se observar o aparecimento de uma segunda banda em 476 nm. O desaparecimento da banda em 635 nm é

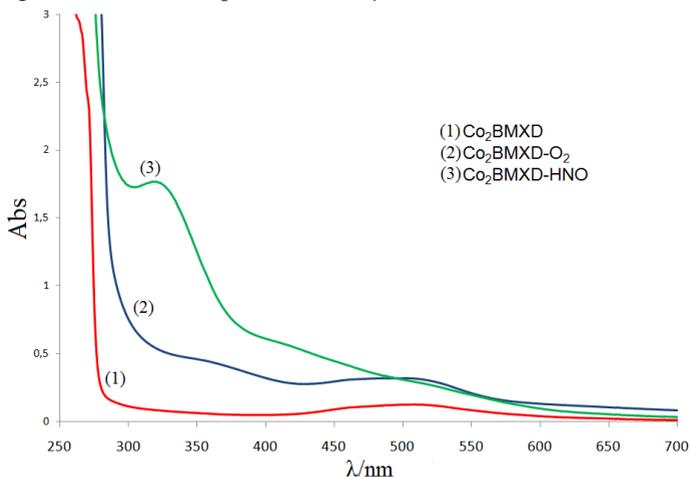
uma forte evidência que está ocorrendo uma reação de oxirredução, em que o íon Cu(II) é reduzido a Cu(I) pelo NO^- (neste pH a potenciometria indica que o HNO está desprotonado) uma vez que o íon Cu(I) é incolor, não apresentando bandas no espectro visível. A segunda conclusão é que a banda em 476 nm pode caracterizar a complexação do NO^- pelo sistema Cu(II)-BMXD . Após este experimento, a mesma solução foi deixada exposta ao ar por mais de 10 horas, e um ombro em 334 nm foi observado (Figura 19, (1)). Embora não possamos afirmar com certeza, propomos que uma nova banda é resultado da reação entre o complexo de Cu(I) e o dióxigênio da atmosfera, formando uma ponte μ -peroxo. A título de comparação, foi realizado um experimento nas mesmas condições, com a diferença de que em vez de usar o ácido de Piloty's, foi utilizado gás NO . O resultado deste segundo experimento (Figura 19, (2)) mostrou um comportamento espectroscópico diferente, com uma banda em 356 nm, e um ombro em 400 nm. A reação de oxirredução ocorre da mesma forma que o experimento anterior, realizado com AP comprovando a capacidade tanto do HNO/NO^- e NO para reduzir o íon Cu(II) .

Figura 19. Espectros de UV-vis para o sistema Cu_2BMXD na presença do ácido de Piloty's e Cu_2BMXD na presença de óxido nítrico em $\text{pH} = 8,0$. $T = 25^\circ\text{C}$ e $\mu = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$.



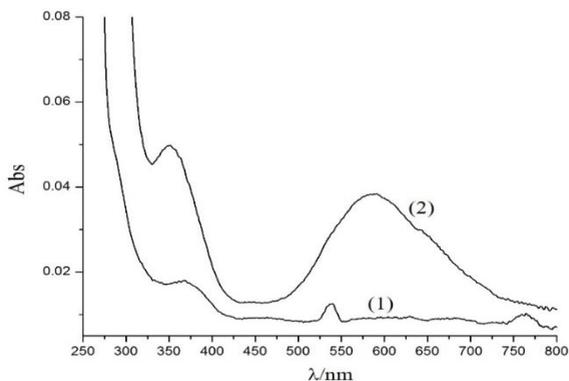
A Figura 20 mostra a comparação entre os espectros de UV-Vis para o sistema $\text{Co}_2\text{BMXD-O}_2$, $\text{Co}_2\text{BMXD-NO}^-$ e Co_2BMXD . Tendo em vista que a molécula de O_2 é isoeletrônica ao HNO , poderia se esperar um comportamento análogo, mas, o que foi observado através do espectro, é que há pouca diferença entre o Co_2BMXD e o $\text{Co}_2\text{BMXD-NO}^-$ quando comparado ao complexo $\text{Co}_2\text{BMXD-O}_2$.

Figura 20. Espectro de UV-Vis para o sistema Co_2BMXD (Curva 1), Co_2BMXD na presença do ácido de Piloty's (Curva 3) e Co_2BMXD na presença de dióxigênio (Curva 2) em pH 8 a 25°C e $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (KCl).



Os complexos de Ni(II)-BMXD são visivelmente incolores na faixa de pH estudada. Já na presença do ácido de Piloty's o complexo ganha uma cor azul a partir de pH 8,0. Isto sugere a coordenação do HNO ao centro metálico. Através do diagrama de espécie em função do pH (Figura 12) podemos observar que o HNO está na forma NO^- . A Figura 21 mostra o espectro de UV-vis do complexo Ni-BMXD sozinho (Figura 21, curva 1) e na presença do ácido de Piloty's (Figura 21, curva 2) em pH 10,30. A curva (2) (Figura 21) mostra duas bandas bastante intensas uma em 586 nm e outra em 350 nm. Estas transições nós estamos atribuindo a transições entre orbitais d-d do íon metálico. Assim, o HNO gerado pelo AP provoca um aumento na diferença do Δ_0 tornando as bandas mais intensas.

Figura 21. Espectros de UV-vis para o sistema NiBMXD (Curva 1) e NiBMXD na presença do ácido de Piloty's (Curva 2) em pH = 10,0. T = 25°C e $\mu=0,10$ mol L⁻¹.



3.3 Complexos de dioxigênio

3.3.2 Titulações potenciométricas

As constantes de protonação do ligante BMXD a 5°C e força iônica 1,00 mol L⁻¹ estão incluídas na Tabela 7. E podem ser comparadas com os dados da literatura para $\mu=0,10$ mol L⁻¹ e T = 25°C, Tabela 2.⁸¹ Os valores de log K determinados a 5°C e $\mu = 1,00$ mol L⁻¹ são um pouco maiores dos que os determinados a 25°C. Este tipo de comportamento está de acordo com o fato de que valores de protonação aumentam quando a temperatura diminui.⁸⁷ Assim, a diferença entre os valores das constantes de equilíbrio obtidas neste trabalho e as informadas na literatura podem ser explicadas em termos de condições experimentais.^{57, 82, 88, 89}

A curva potenciométrica para o ligante BMXD.6HBr é ilustrada na Figura 22, curva a. A curva do ligante na presença de Cu(I) (Figura 20, curva b) na proporção 1:2 (L:M) está abaixo da curva do ligante sozinho, mostrando que a reação de complexação com o ligante macrocíclico ocorre na presença de argônio. As constantes de equilíbrio para este sistema foram determinadas. E os valores estão na Tabela 7.

Figura 22 - Curvas de titulação potenciométrica das soluções: 0,03mmol BMXD(a); 0,03mmol BMXD e 0,06mmol Cu(I) na ausência (b) e na presença (c) de dioxigênio; 0,03mmol BMXD, 0,06mmol Cu(I) e 0,03mmol 4-metoxi⁻¹,2-fenilenodiamina na presença de dioxigênio (d) á 5°C e $\mu=1,00\text{molL}^{-1}$ (KCl).

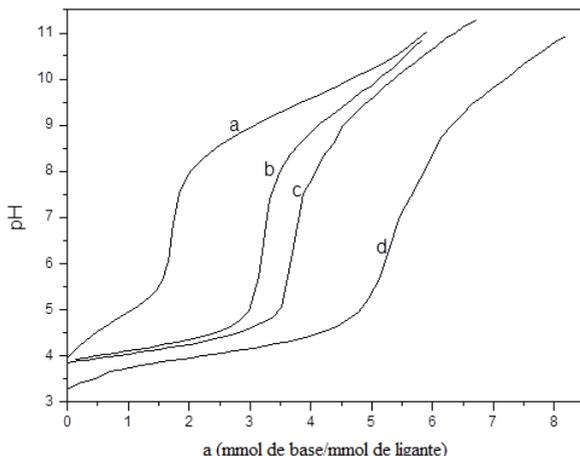
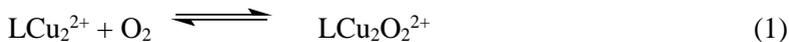


Tabela 7. Logaritmos das constantes de equilíbrio de formação de Cu(I)-BMXD (Cu-L), T=5°C, $\mu=1,00\text{molL}^{-1}$ (KCl).

Quociente do equilíbrio	Log K
$[\text{HL}^+]/[\text{L}][\text{H}^+]$	9,88
$[\text{H}_2\text{L}^{2+}]/[\text{HL}^+][\text{H}^+]$	9,38
$[\text{H}_3\text{L}^{3+}]/[\text{H}_2\text{L}^{2+}][\text{H}^+]$	8,83
$[\text{H}_4\text{L}^{4+}]/[\text{H}_3\text{L}^{3+}][\text{H}^+]$	8,15
$[\text{H}_5\text{L}^{5+}]/[\text{H}_4\text{L}^{4+}][\text{H}^+]$	4,65
$[\text{H}_6\text{L}^{6+}]/[\text{H}_5\text{L}^{5+}][\text{H}^+]$	4,23
$[\text{LCu}_2^{2+}] / [\text{LCu}^+][\text{Cu}^+]$	2,2
$[\text{HLCu}_2^{3+}] / [\text{LCu}_2^{2+}][\text{H}^+]$	10,42
$[\text{H}_2\text{LCu}_2^{4+}] / [\text{HLCu}_2^{3+}][\text{H}^+]$	9,28

O sistema foi estudado na presença de dioxigênio (Figura 22, curva c). Complexos de dioxigênio começam a se formar em valores de

pH acima de 6 (Figura 22). Dois equilíbrios importantes foram detectados: a formação da espécie monoprotionada e a formação da espécie μ -peroxo-dinuclearCu(I)-BMXD. Estes equilíbrios são definidos pelas equações 1 e 2. E os seus valores estão na Tabela 8.



$$K_1 = \frac{[\text{LCu}_2\text{O}_2^{2+}]}{[\text{LCu}_2^{4+}] \text{P}_{\text{O}_2}}$$



$$K_2 = \frac{[\text{HLCu}_2\text{O}_2^{3+}]}{[\text{HLCu}_2^{3+}] \text{P}_{\text{O}_2}}$$

Tabela 8. Logaritmos das constantes de equilíbrio para μ -peroxo-diCu(II) complexos, T = 5°C, μ = 1,00 mol L⁻¹ (KCl).

Quociente de equilíbrio	Log K
$[\text{LCu}_2\text{O}_2^{2+}]/[\text{LCu}_2^{4+}]\text{P}_{\text{O}_2}$	2,04 (1)
$[\text{HLCu}_2\text{O}_2^{3+}]/[\text{HLCu}_2^{3+}]\text{P}_{\text{O}_2}$	1,22 (2)

A curva potenciométrica dos complexos de dioxigênio na presença da 4-metoxi⁻¹,2-fenilenodiamina (Figura 22 curva d) está abaixo da curva obtida na ausência da diamina. Ocorre uma estabilização do arranjo binuclear dos complexos μ -peroxo pela diamina. Este mesmo comportamento foi detectado por N. D. Rosso et al. (1999).⁹⁰ As constantes de equilíbrio para os complexos de dioxigênio na presença da diamina são apresentadas na Tabela 9. E são definidas pelas equações 3 e 4. Onde o substrato S é a 4-metoxi⁻¹,2-fenilenodiamina, na forma completamente desprotonada.



$$K^S = \frac{[\text{HLCu}_2\text{O}_2\text{S}^{3+}]}{[\text{HLCu}_2\text{O}_2^{3+}][\text{S}]}$$



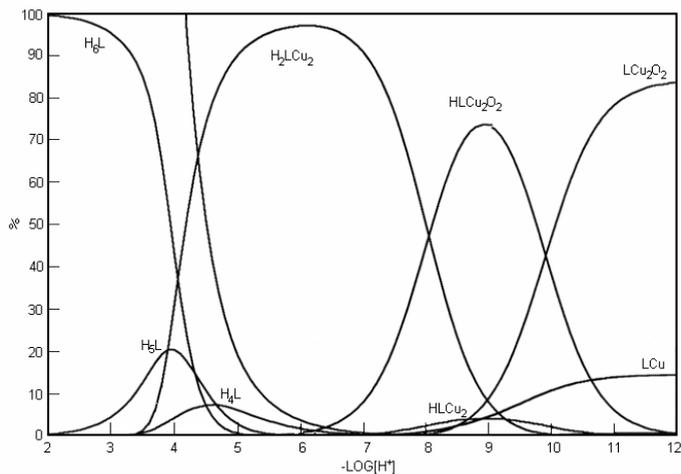
$$\beta = \frac{[\text{H}_2\text{LCu}_2\text{O}_2\text{S}^{4+}]}{[\text{L}] [\text{Cu}^+]^2 [\text{S}] [\text{H}^+]^2 \text{P}_{\text{O}_2}}$$

Tabela 9. Logaritmos das constantes de equilíbrio de estabilização de μ -peroxo-diCu(II) complexos de BMXD (L) pela 4-metoxi-1,2-fenilenodiamina (S), T = 5°C, $\mu = 1,00 \text{ mol L}^{-1}$ (KCl).

Quociente de equilíbrio	Log K
$[\text{HLCu}_2\text{O}_2\text{S}^{2+}]/[\text{HLCu}_2\text{O}_2^{3+}] [\text{S}^-]$	2,4 (3)
$[\text{H}_2\text{LCu}_2\text{O}_2\text{S}^{3+}]/[\text{L}] [\text{Cu}^+]^2 [\text{S}^-] [\text{H}^+]^2 \text{P}_{\text{O}_2}$	38,22 (4)

A curva de distribuição de espécies para o sistema cobre(I)-BMXD-dioxigênio na ausência e presença da diamina em função do pH é apresentada na Figura 23 e 25, respectivamente. O complexo de dioxigênio monoprotonado, $[\text{HLCu}_2\text{O}_2]^{3+}$, se forma em solução aquosa em valores de pH acima de 6, e atinge o máximo de sua formação com 74% em pH 9,0. O complexo $[\text{LCu}_2\text{O}_2]^{2+}$ aparece em valores de pH acima de 8,0 e torna-se a espécie predominante acima de pH 9,8. No sistema ternário (Figura 25) a formação do complexo de dioxigênio diprotonado com o substrato (diamina), $[\text{H}_2\text{LCu}_2(\text{S})\text{O}_2]^{4+}$, inicia-se em valores de pH acima de 3,5 com formação máxima de 80% em pH 6,5. O complexo monoprotonado, $[\text{HLCu}_2(\text{S})\text{O}_2]^{3+}$, aparece em valores de pH mais elevados com um máximo de apenas 15% em pH 9,6. Assim, em valores de pH altos, maiores que 9, os complexos de dioxigênio sem o substrato coordenado predominam.

Figura 23. Distribuição das espécies em solução aquosa contendo $0,001\text{molL}^{-1}$ BMXD (L) e $0,002\text{molL}^{-1}$ Cu(I) na presença de oxigênio em função de $-\text{Log}[\text{H}^+]$ à 5°C e $\mu = 1,00\text{molL}^{-1}$ (KCl).



A diamina, um substrato biquelante, não pode coordenar complexo bimetalico de dioxigênio devido a geometria tetracoordenada do íon Cu(I) que está sendo ocupada pelos nitrogênios do ligante. Todavia, quando dois nitrogênios de cada lado do ligante BMXD estão protonados, Figura 24, há uma posição livre em cada íon metálico de Cu(I). E o substrato pode coordenar. Como resultado, a diamina estabiliza este arranjo e a espécie $[\text{H}_2\text{LCu}_2(\text{S})\text{O}_2]^{4+}$ torna-se majoritária.

Figura 24. Estrutura proposta para o complexo de μ -peroxo-dicobre-BMXD.

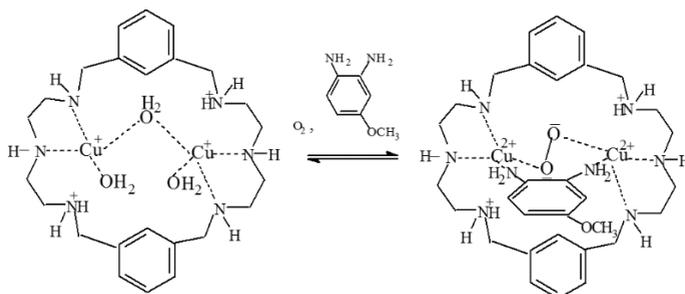
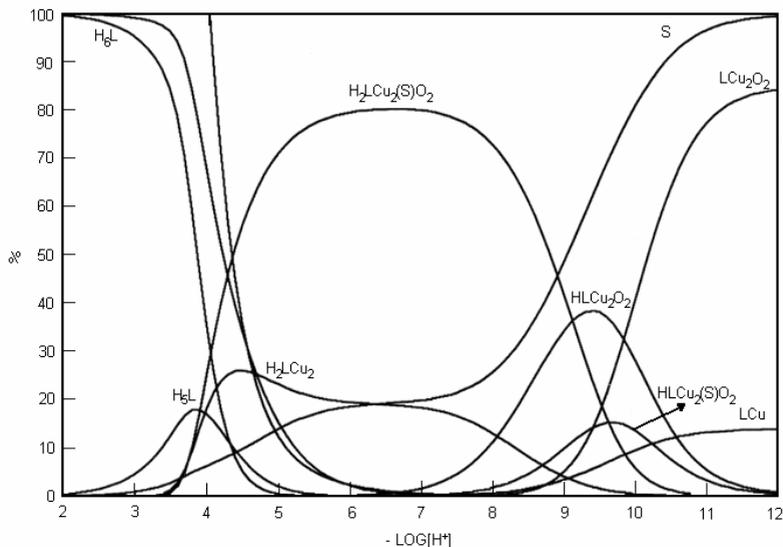


Figura 25. Distribuição das espécies em solução aquosa contendo BMXD (L) ($0,001\text{molL}^{-1}$) - Cu(I) - 4-metoxi⁻¹,2-fenilendiamina (S) em proporção 1:2:1 na presença de oxigênio em função de $-\text{Log}[\text{H}^+]$ á 5°C e $\mu = 1,00\text{mol L}^{-1}$ (KCl).



3.3.3 Espectroscopia UV-Vis.

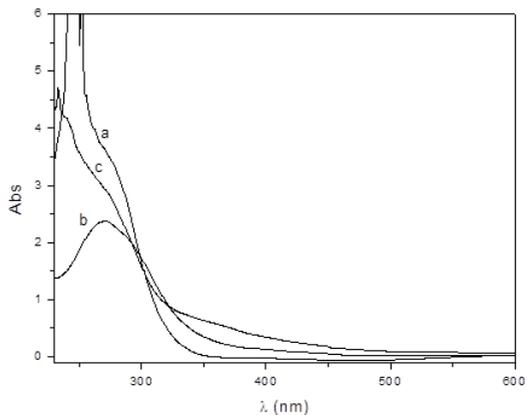
Para caracterização dos complexos de dioxigênio foi utilizada a técnica espectroscópica UV-Vis. Para este experimento, a temperatura foi mantida a 5°C e com força iônica de $1,00\text{ mol L}^{-1}$ (KCl).

As mudanças espectrais foram monitoradas por um período de 8 horas. O maior pico aparece na UV- região, aproximadamente 270nm como ombro, e não pode ser medida precisamente devido à elevada absorção. (Figura 26, a) Os μ -fenoxo e μ -hidroxio complexos binucleares de Cu(II) com BMXD apresentam em MeCN pico de absorção em 362nm e uma banda fraca perto de 620nm ⁹¹. Estas bandas não aparecem em nosso sistema.

Em uma experiência adicional, H_2O_2 foi introduzido na solução do complexo binuclear de Cu(II)-BMXD. (Figura 26, b) O espectro eletrônico da solução final (Figura 26, c) é similar ao espectro obtido durante oxigenação do diCu(I)-BMXD. A similaridade dos espectros do diCu(I)-BMXD + O_2 (a, Fig.2) e diCu(II) – BMXD + H_2O_2 (Figura 26, c) permite concluir que a curva “a” (Figura 26) deve-se ao complexo de

dioxigênio de diCu(I)- BMXD. As diferenças em posição e intensidade dos máximos de absorção, comparando com a literatura ^{58, 91, 92}, podem refletir as diferenças em tipos de ligação do dioxigênio, coordenação dos ligantes e solventes usados.

Figura 26. Espectros de UV-Visível das soluções contendo 0,01mmol BMXD e 0,02mmol Cu(I) (a); 0,01mmol BMXD e 0,02mmol Cu(II) (b) na presença de H₂O₂ (c) e oxigênio. pH=8,5, T= 5°C, $\mu=1,00\text{molL}^{-1}$ (KCl).



4. Conclusão

Neste trabalho o HNO gerado pelo ácido de Piloty's foi estabilizado em solução por ligantes macrocíclicos mono e binucleares. A forma desprotonada NO^- foi também identificada pelo estudo de equilíbrio químico. Tal estudo revelou que a afinidade do HNO pelo complexo formado pelo íon cobre(II) é mais forte se comparados aos complexos formados de Ni(II), Zn(II) e Co(II). O fato interessante é que assim que são formados em solução, estes complexos metálicos complexam o HNO gerado pelo ácido de Piloty's independente do pH. Assim, está claro que a decomposição do ácido de Piloty's está em equilíbrio e na presença de um complexo metálico este equilíbrio pode ser deslocado.

Estudos espectroscópicos do UV-Vis foram realizados para caracterizar os complexos de Ni(II), Co(II) e Cu(II). Para o sistema Cu(II)-BMXD na presença de AP, os estudos mostram que ocorre uma reação de oxirredução pelo acompanhamento da perda de intensidade da banda em 650 nm. A banda em 476 nm evidencia a coordenação do NO^- (no pH estudado o HNO está desprotonado) ao centro binuclear de cobre. Esta característica permitiu diferenciar o NO^- do gás NO, uma vez que o sistema Cu_2 -BMXD na presença deste gás, mostrou um comportamento diferente, com uma banda em 356 nm e um ombro em 400 nm. Para os complexos de Ni(II) na presença do AP as duas bandas bem intensas em 586 nm e 350 nm são atribuídas às transições eletrônicas d-d do íon Ni(II). Estas bandas não aparecem para o sistema Ni(II)-BMXD. Dessa forma, o íon Ni(II) pode atuar como uma sonda para detectar HNO/ NO^- com segurança. Para os complexos de Co(II) houve pouca diferença se compararmos o espectro do complexo Co_2 BMXD com este na presença do AP. Assim, uma possível identificação do HNO através de espectroscopia no UV-Vis, usando o íon Co(II) não seria indicado.

Com relação aos complexos de dióxigênio, o estudo mostrou que o dióxigênio coordena-se na cavidade do complexo macrocíclico binuclear de Cu(I), formando uma ponte μ -peroxo.

Os complexos μ -peroxo-dicobre-BMXD foram caracterizados pela espectroscopia do UV-Vis. Estudos de equilíbrio de formação dos complexos foram realizados por titulação potenciométrica e as constantes de formação determinadas possibilitaram montar gráficos de distribuição das espécies detectadas e caracterizadas.

A constante de oxigenação é maior para formação do complexo normal LCu_2O_2 em comparação com a espécie monoprotonada $HLCu_2O_2$. O substrato (diamina orto-aromática), coordena-se no centro bimetalico, ficando muito próximo ao grupo peroxo do sistema.

Assim, os resultados demonstram que a coordenação da diamina estabiliza o arranjo binuclear do complexo binuclear de cobre.

O complexo de dioxigênio em presença do redutor diamina pode ser obtido a partir tanto de dicobre(I)-BMXD em presença do dioxigênio, como do dicobre(II)-BMXD em presença do peróxido de hidrogênio.

Referências Bibliográficas:

1. PALMER, R. M. J.; ASHTON, D. S.; MONCADA, S.; Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**. London, v. 333, p. 664, 1998.
2. IGNARRO, L. J.; BUGA, G. M.; WOOD, K. S.; BYRNES, R. E.; CHAUDHURI, G.; **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. USA. v. 84, p. 9265, 1987.
3. SCHMIDT, H. H. H. W. et al. Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide. **European Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 2, p. 213–216, set. 1988.
4. FELDMAN, P. L.; GRIFFITH, O. W.; STUEHR, D. J.; The surprising life of nitric oxide. **Chemical and Engineering News**. v. 71, p. 26, 1993.
5. PAOLOCCI, N. et al. Nitroxyl anion exerts redox-sensitive positive cardiac inotropy in vivo by calcitonin gene-related peptide signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 18, p. 10463–8, 28 ago. 2001.
6. SWITZER, C. H. et al. The emergence of nitroxyl (HNO) as a pharmacological agent. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1787, n. 7, p. 835–40, jul. 2009.
7. A. ANGELI, **Chemisches Zentralblatt**. V. 73 p. 691, 1902.
8. LUNA, A. et al. A theoretical analysis of the lowest excited states in HNO / NOH and HPO / POH. **Chemical Physics** v. 196, p. 437–445, 1995.
9. MORDAUNT, D. H. et al. The dissociation of HNO. I. Potential energy surfaces for the \tilde{X}^1A' , \tilde{A}^1A'' , and \tilde{a}^3A'' states. **The Journal of Chemical Physics**, v. 107, n. 17, p. 6603, 1997.

10. Clough, P N, and B A Thrush. "And D.A. RAMSAY and J.G. STAMPER. **Chemical Physics Letters** v.23, n. 2, p. 7-8, 1973.
11. Johns, J. W. C., and a. R. W. McKellar. "Laser Stark Spectroscopy of the Fundamental Bands of HNO (v2 and v3) and DNO (v1 and v2). **The Journal of Chemical Physics**, v.66, n.3, p. 1217, 1977.
12. FUKUTO, J.; HOBBS, A.; IGNARRO, L. Conversion of nitroxyl (HNO) to nitric oxide (NO) in biological systems: the role of physiological oxidants and relevance to the biological activity ofHNO. **Biochemical and biophysical research ...**, v. 196, p. 707– 713, 1993.
13. AUGUSTYNIAK, A.; SKOLIMOWSKI, J.; BŁASZCZYK, A. Chemico-Biological Interactions Cytotoxicity of nitroxyl (HNO/NO⁻) against normal and cancer human cells. **Chemico-Biological Interactions**, v 206, n. 2, p. 262-271, 2013.
14. WINK, D. A et al. The cytotoxicity of nitroxyl: possible implications for the pathophysiological role of NO. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 351, n. 1, p. 66–74, 1998.
15. CHAZOTTE-AUBERT, L. et al. Cytotoxicity and Site-specific DNA Damage Induced by Nitroxyl Anion (NO⁻) in the Presence of Hydrogen Peroxide: IMPLICATIONS FOR VARIOUS PATHOPHYSIOLOGICAL CONDITIONS. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 30, p. 20909–20915, 23 jul. 1999.
16. BAZYLINSKI, D. A.; HOLLOCHER, T. C. Evidence from the reaction between trioxodinitrate(II) and nitrogen-¹⁵-labeled nitric oxide that trioxodinitrate(II) decomposes into nitrosyl hydride and nitrite in neutral aqueous solution. **Inorganic Chemistry**, v. 24, n. 25, p. 4285–4288, dez. 1985.
17. PILOTY, O. Ueber eine Oxydation des Hydroxylamins durch Benzolsulfochlorid. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 29, n. 2, p. 1559–1567, maio 1896.

18. HAWTHORNE, M. F. aci-Nitroalkanes. II. The Mechanism of the Nef Reaction 1. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, n. 10, p. 2510–2515, maio 1957.
19. BONNER, F. T.; RAVID, B. Thermal decomposition of oxyhyponitrite (sodium trioxodinitrate(II)) in aqueous solution. **Inorganic Chemistry**, v. 14, n. 3, p. 558–563, mar. 1975.
20. HUGHES, M. N.; WIMBLEDON, P. E. The chemistry of trioxodinitrates. Part 2. The effect of added nitrite on the stability of sodium trioxodinitrate in aqueous solution. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 17, p. 1650, 1 jan. 1977.
21. AKHTAR, M. J.; LUTZ, C. A.; BONNER, F. T. Decomposition of sodium trioxodinitrate (Na₂N₂O₃) in the presence of added nitrite in aqueous solution. **Inorganic Chemistry**, v. 18, n. 9, p. 2369–2375, set. 1979.
22. DUTTON, A. S.; FUKUTO, J. M.; HOUK, K. N. Mechanisms of HNO and NO production from Angeli's salt: density functional and CBS-QB3 theory predictions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 12, p. 3795–800, 31 mar. 2004.
23. SIRSALMATH, K. et al. The pH of HNO donation is modulated by ring substituents in Piloty's acid derivatives: azanone donors at biological pH. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 118, p. 134–9, jan. 2013.
24. ZAMORA, R. et al. Oxidative release of nitric oxide accounts for guanylyl cyclase stimulating, vasodilator and anti-platelet activity of Piloty's acid: A comparison with Angeli's salt. **Biochemical Journal**, v. 312, n. 2, p. 333–339, 1995.
25. BONNER, F. T.; KO, Y. Kinetic, isotopic, and nitrogen-¹⁵ NMR study of N-hydroxybenzenesulfonamide decomposition: an nitrosyl hydride (HNO) source reaction. **Inorganic Chemistry**, v. 31, n. 12, p. 2514–2519, jun. 1992.
26. SEEL, F.; BLIEFERT, C. Der Mechanismus der Zersetzung des Natriumsalzes der Benzolsulphhydroxamsäure in wäbriger Lösung.

- Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie**, v. 394, n. 1-2, p. 187–196, nov. 1972.
27. AIZAWA, K. et al. Piloty's acid derivative with improved nitroxyl-releasing characteristics. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 23, n. 8, p. 2340–3, 15 abr. 2013.
 28. AIZAWA*, K. et al. Synthesis of Piloty's acid derivatives and evaluation of their HNO and NO releasing activities. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, p. S141–S142, set. 2012.
 29. FUKUTO, J. M. et al. 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.
 30. PINO, R. Z.; FEELISCH, M. Bioassay discrimination between nitric oxide (NO₂) and nitroxyl (NO⁻) using L-cysteine. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 201, n. 1, p. 54–62, 30 maio 1994.
 31. FUKUTO, J. M. et al. Examining nitroxyl in biological systems. **Methods in enzymology**, v. 440, p. 411–31, jan. 2008.
 32. DONZELLI, S. et al. Discriminating formation of HNO from other reactive nitrogen oxide species. **Free radical biology & medicine**, v. 40, n. 6, p. 1056–66, 15 mar. 2006.
 33. NAGASAWA, H. T. et al. Evidence for nitroxyl in the catalase-mediated bioactivation of the alcohol deterrent agent cyanamide. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, n. 12, p. 3120–3122, dez. 1990.
 34. DEMASTER, E. G.; REDFERN, B.; NAGASAWA, H. T. Mechanisms of Inhibition of Aldehyde Dehydrogenase by Nitroxyl, the Active Metabolite of the Alcohol Deterrent Agent Cyanamide. **Biochemical Pharmacology**, v. 55, n. 12, p. 2007–2015, jun. 1998.

35. IRVINE, J. C. et al. Nitroxyl (HNO): the Cinderella of the nitric oxide story. **Trends in pharmacological sciences**, v. 29, n. 12, p. 601–8, dez. 2008.
36. BARTBERGER, M. D.; FUKUTO, J. M.; HOUK, K. N. On the acidity and reactivity of HNO in aqueous solution and biological systems. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, p. 2194–2198, 2001.
37. GRATZEL, M., TANIGUCHI, S., HENGLEIN, A. A pulse radiolytic study of short-lived byproducts on nitric oxide reduction in aqueous solution. **Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.**, v. 74, p. 1003–1010, 1970.
38. BARTBERGER, M. D. et al. The reduction potential of nitric oxide (NO) and its importance to NO biochemistry. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 17, p. 10958–63, 20 ago. 2002.
39. SHAFIROVICH, V.; LYMAR, S. V. Spin-forbidden deprotonation of aqueous nitroxyl (HNO). **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 21, p. 6547–52, 28 maio 2003.
40. SOUTHERN, J. S. et al. 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(NH=O)(PR₃)₂ or the cationic hydride complex [trans,trans-ReH(CO)₂(NO)(PPh₃)₂ +][SO₃CF₃⁻]. **Inorganic Chemistry**, v. 40, n. 8, p. 6039–6046, 2001.
41. MURPHY, W. R. et al. Mechanism of reduction of bound nitrite to ammonia. **Inorganic Chemistry**, v. 25, n. 9, p. 1041–1053, 1986.

42. RHODES, M. R.; BARLEY, M. H.; MEYER, T. J. Electrocatalytic reduction of nitrite ion by edta complexes of iron(II) and ruthenium(II). **Inorganic Chemistry**, v. 30, p. 629–635, 1991.
43. GRUNDY, K. R.; REED, C. A.; ROPER, W. R. Hydrogen transfer from HCl to the nitrosyl ligand. Examples of coordinated HNO, NHOH-, and NH₂OH. **Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications**, n. 22, p. 1501, 1970.
44. WILSON, R. D.; IBERS, J. A. Coordinated nitrosyl hydride: structural and spectroscopic study of dichlorocarbonyl(nitrosyl hydride)bis(triphenylphosphine)osmium(II). **Inorganic Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 336–343, fev. 1979.
45. SULC, F. et al. Efficient Trapping of HNO by Deoxymyoglobin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 7, p. 1096–1101, 2004.
46. 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 of the United States of America**, v. 99, n. 11, p. 7340–5, 28 maio 2002.
47. WONG, P. S. Y. et al. Reaction between S-Nitrosothiols and thiols: Generation of nitroxyl (HNO) and subsequent chemistry. **Biochemistry**, v. 37, n. 97, p. 5362–5371, 1998.
48. CHO, J. Y. et al. Oxidation of N-hydroxyguanidines by copper(II): Model systems for elucidating the physiological chemistry of the nitric oxide biosynthetic intermediate N-hydroxyl-L-arginine. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 417, p. 65–76, 2003.
49. XIA, Y. et al. Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy With N- Methyl-D-Glucamine Dithiocarbamate Iron Complexes

- Distinguishes Nitric Oxide and Nitroxyl Anion in a Redox-Dependent Manner: Applications in Identifying Nitrogen Monoxide Products From Nitric Oxide Syn. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 29, n. 8, p. 793–797, 2000.
50. DONZELLI, S. et al. Discriminating formation of HNO from other reactive nitrogen oxide species. **Free radical biology & medicine**, v. 40, n. 6, p. 1056–66, 15 mar. 2006.
 51. FARMER, P. J.; SULC, F. Coordination chemistry of the HNO ligand with hemes and synthetic coordination complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, p. 166–184, 2005.
 52. MICHAEL GRAHAMESPEY, KATRINAM. MIRANDA, DOUGLASD. THOMAS, ANDDAVIDA. W. Ingress and reactive chemistry of nitroxyl-derived species within human cells. **Free radical biology & medicine**, v. 33, n. 6, p. 827–834, 2002.
 53. HOLM, R. H.; KENNEPOHL, P.; SOLOMON, E. I. Structural and Functional Aspects of Metal Sites in Biology. **Chemical reviews**, v. 96, n. 7, p. 2239–2314, 7 nov. 1996.
 54. LU, Y. et al. Design of functional metalloproteins. **Nature**, v. 460, n. August, p. 855–862, 2009.
 55. VIES, G. DA; EL-SAYED, M. A. Some Aspects of Aprotic Copper(I)-Dioxygen Systems. **Comments on Inorganic Chemistry**, v. 4, n. 3, p. 151–162, 13 dez. 2006.
 56. NGWENYA, M. P.; MARTELL, A. E.; REIBENSPIES, J. Template synthesis of a novel macrobicyclic ligand and the crystal structure of its unique dinuclear copper(I) complex. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 17, p. 1207, 1 jan. 1990.
 57. MENIF, R. et al. New hexaaza macrocyclic binucleating ligands. Oxygen insertion with a dicopper(I) Schiff base

- macrocyclic complex. **Inorganic Chemistry**, v. 29, n. 23, p. 4723–4729, nov. 1990.
58. NGWENYA, M. P. et al. Oxygenation of a Copper(I) Complex of a Binucleating Macrocyclic Schiff Base Ligand Derived from 1,4,7-Triazaheptane and Furan-2,5-dicarboxaldehyde. **Inorganic Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 2732–2736, 1991.
59. ROCKCLIFFE, D.; MARTELL, A. Oxidation reactions of a macrocyclic dinuclear copper (I) dioxygen complex and a dinuclear copper (II) complex. **Inorganic Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 3143–3152, 1993.
60. ROCKCLIFFE, D. A.; MARTELL, A. E.; REIBENSPIES, J. H. Copper-(I) and -(II) complexes of a macrocycle derived from 2:2 condensation of pyridine-2,6-dicarbaldehyde and 4-azaheptane⁻¹,7-diamine; oxygenation of the copper(I) complex. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 2, p. 167, 1 jan. 1996.
61. ROCKCLIFFE, D. A.; MARTELL, A. E. Stoichiometric and catalytic oxidation by a dinuclear copper(I) dioxygen complex and a dinuclear copper(II) complex of a macrocyclic ligand derived from the 2:2 condensation of pyridine-2,6-dicarboxaldehyde and 1,4,7-triazaheptane. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 99, n. 2, p. 101–114, jun. 1995.
62. MARTELL, A. E. et al. Catalytic oxidation with dinuclear Cu(I) macrocyclic dioxygen complexes as intermediates. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 117, n. 1-3, p. 205–213, mar. 1997.
63. LLOBET, A.; MARTELL, A. E.; MARTÍNEZ, M. A. Cu(I) and Cu(II) dinuclear complexes of a New Hexaaza Schiff base dinucleating macrocyclic ligand and their oxygenation chemistry. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 129, n. 1, p. 19–26, mar. 1998.

64. ROCKCLIFFE, D. A.; MARTELL, A. E. The stoichiometric and catalytic oxidation of various substrates with a novel macrocyclic binuclear copper(I) dioxygen complex as an intermediate. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 24, p. 1758, 1 jan. 1992.
65. HEFTER, G.; MAY, P. M.; SIPOS, P. A general method for the determination of copper(I) equilibria in aqueous solution. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 22, p. 1704, 1 jan. 1993.
66. K. D. Karlin, A. D. Zuber, in: J. Reedijk, E. Bouwman (Eds), *Bioinorganic Catalysis*, 2nd ed., Marcel Dekker, New York, 1999, 469-534.
67. SORRELL, T. N. Synthetic models for binuclear copper proteins. **Tetrahedron**, v. 45, n. 1, p. 3–68, jan. 1989.
68. ISMAIL, K. Z. et al. Transmetalation of targets $(\mu\text{-Y})\text{N}_4\text{Cu}_2\text{ICu}_2\text{IICl}_4$ and $(\mu\text{-Y},\mu\text{-O})\text{N}_4\text{Cu}_4\text{Cl}_4$ (Y=3,4,5,6-tetrachlorocatecholate) with $\text{M}(\text{NS})_2$ reagents. **Inorganica Chimica Acta**, v. 217, n. 1-2, p. 85–92, mar. 1994.
69. MELSON, G. A. *Coordination Chemistry of Macrocyclic Compounds*, p.02-35, Plenum Press, London, 1979.
70. KAL, S.; AYENSU-MENSAH, L.; DINOLFO, P. H. Evidence for catalytic water oxidation by a dimanganese tetrakis-Schiff base macrocycle. **Inorganica Chimica Acta**, v. 423, p. 201–206, nov. 2014.
71. ILIOUDIS, C. A., STEED, J., W., Organic Macrocyclic polyamine-based receptors for anions, **Journal of Supramolecular Chemistry**, v.1, p. 165–187, 2001.
72. CABBINESS, D. K., MARGERUM, D. W., Macrocyclic effect on the stability of copper(II) tetramine complexes, *Journal of the American Chemical Society* v. 91, p. 6540-41, 1969.

73. MARTELL, A. E., ANDERSON, F., BASMAN, D. G. The Design and Synthesis of Chelating Agents, Elsevier/North-Holland, New York, p. 67, 1981.
74. COSTAMAGNA, J., et al. Complexes of macrocycles with pendant arms as models for biological molecules, **Coordination Chemistry Reviews**, v.196, p.125-164, 2000.
75. MARTELL, A. E.; HANCOCK, R. D.; MOTEKAITIS, R. J. Factors affecting stabilities of chelate, macrocyclic and macrobicyclic complexes in solution. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 133, p. 39-65, 1994.
76. BERTHOD, A. Chromatographic Separations and Analysis: Macrocyclic Glycopeptide Chiral Stationary Phases. **Comprehensive Chirality**, v. 8, p. 227-262, 2012.
77. JIANG, H. et al. Determination of molindone enantiomers in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using macrocyclic antibiotic chiral stationary phases. **Journal of chromatography. A**, v. 1192, n. 2, p. 230-8, 30 maio 2008.
78. RADECKA-PARYZEK, W., PATRONIAK, V., LISOWSKI, Metal complexes of polyaza and polioxaaza Schiff base macrocycles, **Coordination Chemistry Reviews**, v. 249, p. 2156-2175, 2005.
79. RADECKA-PARYZEK, W. et al. New supramolecular dinuclear Schiff base complexes of yttrium and lanthanides. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 323-324, p. 173-176, 2001.
80. RADECKA-PARYZEK, W. et al. New supramolecular dinuclear rare earth Schiff base podates. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 6, p. 26-29, 2003.
81. SHANGGUAN, G., MARTELL, A. E. et al. The synthesis, crystal structure and metal complexes of a new macrocyclic

- dinucleating ligand,3,6,9,17,20,23-hexaaza-29-30-dihydroxy⁻¹3,27-dimethyltricyclo[23,3,1,1^{11,15}] triaconta⁻¹(28),11,13,15(30),25,25-hexaene. **Inorganica Chimica Acta**, v.299, p.47-58, 2000.
82. AIRES, V. V. E. et al. Dioxygen dinuclear complex formation of Co(II) with the macrocyclic ligand 3,6,9,17,20,23-hexaazatricyclo[23.3.1.1^{11,15}]-triaconta⁻¹(29),11(30),12,14,25,26,27-hexaene. **Inorganica Chimica Acta**, v. 353, p. 82–88, 2003.
83. MARTELL, A. E. et al. Phosphate anion binding by macrocyclic dinucleating ligands and their metal complexes. **Polyhedron**, v. 18, p. 3203–3218, 1999.
84. MARTELL, A. E., MOTEKAITIS, R. J. Determination and Use of Stability Constants. 2ed., New York: VCH Publishers, 200p. 1992.
85. SCHWARZENBACH, G., FLASCHKA, H., Complexometric Titrations, Methuen & Co., London, 1969.
86. MOTEKAITIS, R. J.; MARTELL, A. E.:BEST – A new program for rigorous calculation of equilibrium parameters of complex multicomponent systems, **Canadian Journal of Chemistry**, v. 82, p.299-308, 1985.
87. R. M. Smith, A. E. Martell, R. J. Motekaitis, Critical Stability Constants of Metal Complexes, **NIST-Database** 46, Gaithersburg, MD, 2001.
88. ROSS, E.; MOTEKAITIS, R. J.; MARTELL, A. E. The interaction of BMXD and its copper(II) complexes with glycine, aspartic acid, and histidine. **Inorganica Chimica Acta**, v. 286, n. 1, p. 55–61, mar. 1999.
89. BASALLOTE, M. G. et al. Stability and kinetics of decomposition of binuclear Cu(II) complexes with a symmetrical hexaaza macrocycle: the effect of SCN⁻ as ancillary ligand. **Polyhedron**, v. 20, n. 1-2, p. 75–82, jan. 2001.

90. ROSSO, N. D.; SZPOGANICZ, B.; MARTELL, E. Equilibrium studies of 1,2_diaminobenzene and 3,4_diaminobenzoate anion with dinuclear cobalt(II) 1,4,7,13,16,19-hexaaza⁻¹⁰,22-dioxacyclotetracosane. **Inorganica Chimica Acta**, v. 1693, n. 94, 1994.
91. MARTÍNEZ, A. et al. Dinuclear copper complexes with imidazole derivative ligands: a theoretical study related to catechol oxidase activity. **The journal of physical chemistry. B**, v. 116, n. 28, p. 8038–44, 19 jul. 2012.
92. MANDAL, S. et al. Modeling tyrosinase and catecholase activity using new m-Xylyl-based ligands with bidentate alkylamine terminal coordination. **Inorganic chemistry**, v. 51, n. 24, p. 13148–61, 17 dez. 2012.