

Rafael Jovito Souza

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA
PROMISCUIDADE CATALÍTICA DE COMPLEXOS
BINUCLEARES BIOINSPIRADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Inorgânica
Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves

Florianópolis

2010

RAFAEL JOVITO SOUZA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA
PROMISCUIDADE CATALÍTICA DE COMPLEXOS
BINUCLEARES BIOINSPIRADOS**

Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de **Doutor em Química** no **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 03 de setembro de 2010.

Prof. Dr. Almir Spinelli
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Mauricio Lanznaster
UFF – Relator

Prof. Dr. Ademir Neves
UFSC – Orientador

Prof. Dr. Sergio de Paula
Machado – UFRJ

Prof. Dr. Hugo Gallardo - UFSC

Prof. Dr. Bruno Szpoganicz –
UFSC

Prof. Dr. Giovanni Finoto
Caramori – UFSC

“Life is no less wonderful when science solves some of the mysteries of its origin.”

Michael J. Russel

AGRADECIMENTOS

Meu mais sincero agradecimento aqueles que possibilitaram a concretização deste trabalho. Com certeza sem a ajuda e o sincero carinho de vocês nada disso teria se tornado possível.

Aos meus pais, Antonio e Naide, pelo apoio incondicional;

Aos meus irmãos, Leonardo, Eduardo e Natália, e a todos os meus familiares pelo estímulo e compreensão;

Ao professor Dr. Ademir Neves pela atenção, orientação e ensinamentos dispensados nesses muitos anos;

Aos colegas do LABINC pela convivência e colaborações em todos esses anos;

Aos professores Dr. Adailton J. Bortoluzzi do Departamento de Química da UFSC e Dr. Eduardo Ernesto Castellano do Departamento de Física da Universidade de São Paulo – São Carlos pelas análises de raios X;

Aos meus grandes amigos, Léo, Siri e Cláudio, que com sua amizade fizeram parte desta jornada;

A Dr^a Rosely Peralta, por toda amizade e colaboração prestadas, sem as quais este trabalho não se concretizaria;

A todos os professores e funcionários do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina;

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e aos demais órgãos de fomento que viabilizam a produção científica no país.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	4
SUMÁRIO	5
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS E ESQUEMAS	10
LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	12
RESUMO	14
ABSTRACT	16
1. INTRODUÇÃO	17
1.1. METALOENZIMAS	18
1.2. AS FOSFATASES ÁCIDAS PÚRPURAS - PAPS	20
1.3. NUCLEASES QUÍMICAS	24
1.4. PROMISCUIDADE CATALÍTICA	27
2. OBJETIVOS	30
3. PARTE EXPERIMENTAL	31
3.1. MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO	31
3.1.1. Materiais.....	31
3.2. MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO	32
3.2.1. Espectroscopia no Infravermelho – IV.....	32
3.2.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio - RMN ¹ H.....	32
3.2.3. Espectroscopia eletrônica – UV-Vis-NIR.....	32
3.2.4. Eletroquímica.....	33
3.2.5. Difratomia de Raios X	33
3.2.6. Titulação Potenciométrica	34
3.2.7. Reatividade	
Hidrólise.....	35
Oxidação.....	36
3.3. SÍNTESE DOS LIGANTES.....	38
3.3.1. Síntese do 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol – cmff.....	38
3.3.2. Síntese do <i>N</i> -bis-(2-piridilmetil)amina – bpma.....	40
3.3.3. Síntese do 2-[<i>N</i> -bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-formilfenol – bpmamff.....	41
3.3.4. Síntese do 2-[<i>N</i> -bis-(2 – piridilmetil) aminometil] – 4 – metil-6-[<i>N</i> -(2-piridilmetil) aminometil]fenol – Hpy ₃	42

3.3.5.	Síntese do Ligante 2-[<i>N</i> -bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-[<i>N</i> -(2-hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)aminometil]fenol – H ₂ py ₃ mff.....	43
3.4.	SÍNTESE DOS COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO	44
3.4.1.	Síntese do complexo Perclorato de μ -hidroxo 2-[<i>N</i> -bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-[<i>N</i> -(2-hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)aminometil]fenol Fe(III) Zn(II) - Fe ^{III} (μ -OH)Zn ^{II} (py ₃ mff)(H ₂ O)](ClO ₄) ₂ · H ₂ O – 1.....	44
3.4.2.	Síntese do complexo Perclorato de μ -hidroxo 2-[<i>N</i> -bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-[<i>N</i> -(2-hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)aminometil]fenol Fe(III) Cu(II) - Fe ^{III} (μ -OH)Cu ^{II} (py ₃ mff)(H ₂ O)](ClO ₄) ₂ – 2.....	45
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1.	CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES	47
4.1.1.	Espectroscopia no Infravermelho.....	47
4.1.2.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio – RMN ¹ H.....	48
4.2.	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS	51
4.2.1.	Espectroscopia no Infravermelho – IV.....	51
4.2.2.	Estrutura Cristalina por Difração de raios X.....	53
4.2.3.	Espectroscopia Eletrônica.....	60
4.2.4.	Eletroquímica.....	63
4.2.5.	Titulação.....	64
4.2.6.	Atividade de Fosfatase.....	66
4.3.	AVALIAÇÃO DA PROMISCUIDADE CATALÍTICA DE COMPLEXOS BIOINSPIRADOS – Fe ^{III} Fe ^{II} (μ OAC) ₂ BPBPMP (3) E Fe ^{III} Fe ^{III} (μ OAC) ₂ BPBPMP (4)	73
4.3.1.	Titulação.....	75
4.3.2.	Atividade de Fosfatase.....	81
4.3.3.	Atividade de catecolase.....	85
4.4.	AVALIAÇÃO DA PROMISCUIDADE CATALÍTICA DE COMPLEXOS BIOINSPIRADOS – Fe ^{III} Cu ^{II} (μ -OH)BPBPMP (5), Fe ^{III} Cu ^{II} (μ -OH)BPBPMP-CH ₃ (6)	88
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	94
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação para os sítios ativos de hidrolases binucleares contendo ponte hidróxido: A – Arginase; B – Fosfatase Ácida Púrpura (PAP); C - Metionina Aminopeptidase; D - Calcineurina; E - Urease; F - Leucina Aminopeptidase.....	19
Figura 2 Diversidade de propostas mecanísticas para metaloenzimas binucleares: (a) PAPs, (b) Urease, (c) Leucina Amino-Peptidase, (d) Fosfatase Alcalina, (e) Endonuclease, (f), Inositol Monofosfatase (g) Fosfotriesterase e (h) EcoRV Endonuclease.....	20
Figura 3 Estruturas cristalinas dos sítios ativos das PAPs: (a) kbPAP(STRÄTER, 1995), (b) rbTRAP(LINDQVIST, 1999), (c) ufPAP(GUDDAT, 1999) e (d) spPAP(SCHENK, 2005).....	22
Figura 4 Intermediários propostos para a hidrólise de ésteres de fosfato promovida pelas PAP's. A – Klabunde e colaboradores (KLABUNDE, 1996); B – Merx e colaboradores (MERKX,1999); C – Que e colaboradores (WANG,1999; TWITCHETT, 1999), e D – Schenk e colaboradores (SCHENK, 1999; LANZMASTER, 2005).....	23
Figura 5 Estrutura geral para ligantes binucleantes, onde R ¹ a R ⁴ correspondem aos braços pendentes contendo os grupos N,O-doadores.....	26
Figura 6 Estrutura química do ligante não simétrico H ₂ bpmp.....	26
Figura 7 Esquema do ligante H ₂ py ₃ mff.....	29
Figura 8 Esquema de síntese do cmff (KARSTEN, 2002).....	38
Figura 9 Esquema de síntese do bpma (NEVES, 1996).....	40
Figura 10 Esquema de síntese do bpmamff (KARSTEN, 2002).....	41
Figura 11 Esquema de síntese do Hpy ₃ (GREATTI, 2004).....	42
Figura 12 Esquema de síntese do H ₂ py ₃ mff (PIOVEZAN, 2010).....	43
Figura 13 Espectro no Infravermelho do complexo 1 , em pastilha de KBr.....	45
Figura 14 Espectro no Infravermelho do complexo 2 , em pastilha de KBr.....	46
Figura 15 Espectro de RMN ¹ H para o ligante H ₂ py ₃ mff, em CDCl ₃	50
Figura 16 Sobreposição dos espectros na região do infravermelho para o ligante H ₂ py ₃ mff e o complexo 1 (esquerda) e 2 (direita).....	52
Figura 17 Desenhos esquemáticos representando as estruturas cristalinas dos cátions complexos 1 e 2	54
Figura 18 Representação ORTEP do cátion complexo da estrutura cristalina de 1	58
Figura 19 Representação ORTEP para o cátion complexo 2	59

Figura 20 Espectro eletrônico dos complexos 1 e 2 [Complexo] = $3,0 \times 10^{-4}$ mol.L ⁻¹ , em solução de acetonitrila.....	61
Figura 21 Voltamogramas cíclicos (100, 200 e 300 mV.s ⁻¹) e de onda quadrada (inserido) para o complexo 1 . Condições: etanol/água 70:30% V/V. Eletrólito: 0,1 mol.L ⁻¹ de NaClO ₄ ; eletrodo trabalho: carbono vítreo; referência: Ag/Ag ⁺ ; contra-eletrodo: fio de platina; padrão interno: hexacianoferrato de potássio, pH 6,8.....	63
Figura 22 Diagrama de distribuição de espécies em acetonitrila/água 50:50% V/V. A -(H ₂ O)Fe ^{III} (μ-OH ₂)M ^{II} (OH ₂), B -(H ₂ O)Fe ^{III} (μ-OH)M ^{II} (OH ₂), C -(HO)Fe ^{III} (μ-OH)M ^{II} (OH ₂)e D -(HO)Fe ^{III} (μ-OH)M ^{II} (OH). (a)Complexo 1 ; (b) Complexo 2	65
Figura 23 Proposta de equilíbrio para os complexos 1 e 2	66
Figura 24 Dependência da velocidade de reação do 2,4-bdnpp (V ₀) com o pH para os complexos 1 e 2 . Condições: [Complexo] = $2,0 \times 10^{-5}$ mol.L ⁻¹ ; [2,4-bdnpp] = $2,0 \times 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ ; [Tampões] = 0,05 mol.L ⁻¹ (MES, HEPES, CHES); I = 0,05 mol.L ⁻¹ (LiClO ₄) em solução H ₂ O/CH ₃ CN (50%V/V) a 25°C.....	67
Figura 25 Comparação entre os dados Eletroquímicos (E _{1/2} para o par redox Fe ^{III} /Fe ^{II}) e cinéticos (k _{cat} obtido para hidrólise do 2,4 bdnpp) para complexos Fe ^{III} Zn ^{II} e Fe ^{III} Cu ^{II} com o ligante H ₂ bpbpmp e derivados.....	69
Figura 26 Dependência da velocidade de reação do 2,4-bdnpp com a concentração do substrato para os complexos 1 e 2 . Condições: [Complexo] = $2,0 \times 10^{-5}$ mol.L ⁻¹ ; [Tampão] = 0,05 mol.L ⁻¹ (HEPES, pH = 7,00); I = 0,05 mol. L ⁻¹ (LiClO ₄) em solução H ₂ O/CH ₃ CN (50% V/V) a 25°C.....	71
Figura 27 Mecanismo proposto para a hidrólise do diester de fosfato 2,4 – bdnpp pelos complexos 1 e 2	73
Figura 28 Zortep do cátion complexo 3	75
Figura 29. Diagrama de distribuição de espécies para os complexos 3 (esquerda) e 4 (direita).....	77
Figura 30 Proposta de equilíbrio para o complexo 3	77
Figura 31 Proposta de equilíbrio para o complexo 4	78
Figura 32 Variações espectrais no complexo 3 durante a titulação espectrofotométrica. Os espectros foram medidos em solução de CH ₃ CN:H ₂ O 1:1 em pHs sucessivos. [3] = 3×10^{-4} mol.L ⁻¹ . Faixas de pH a : 3,3 – 3,8; b : 3,9 – 5,3; c : 5,8 – 6,9; d : 7,2 – 10,2.....	80
Figura 33 Variações espectrais da banda de transferência de carga do complexo 4 , durante a titulação espectrofotométrica. Os espectros foram medidos em solução de CH ₃ CN:H ₂ O 1:1 em pHs sucessivos. [4] = $3 \times$	

10^{-4} mol L ⁻¹ . Faixas de pH a : 2,4 – 3,7; b : 3,6 – 4,7; c : 5,5 – 8,1; d : 8,1 – 10,9.....	81
Figura 34 Dependência da velocidade de reação com o pH, sob as condições: Atmosfera de argônio, sistema solvente H ₂ O/CH ₃ CN 1:1, [3]= 1.3×10^{-5} mol L ⁻¹ , [2,4-bdnpp]= 2.5×10^{-3} mol L ⁻¹ , [Tampão]= 5.0×10^{-2} mol L ⁻¹ (Tampão = MES, HEPES, CHES), I = 0,05 mol L ⁻¹ (LiClO ₄)...	82
Figura 35 Dependência da concentração de substrato na velocidade da reação catalisada pelo complexo 3 , sob as seguintes condições: H ₂ O/CH ₃ CN 1:1 em ajustado pH 5,6, tampão MES 0,05 mol.L ⁻¹ ; I = 0,05 mol.L ⁻¹ (LiClO ₄); [3]= 4.0×10^{-5} mol.L ⁻¹ ; [2,4-bdnpp]= $3.2 - 16.0 \times 10^{-4}$ mol.L ⁻¹ ; T=25°C.....	83
Figura 36 Dependência da concentração de substrato na velocidade da reação catalisada pelo complexo 4 , sob as seguintes condições: H ₂ O/CH ₃ CN 1:1 em ajustado pH 5,6 tampão MES 0,05 mol.L ⁻¹ , I = 0.05 mol.L ⁻¹ (LiClO ₄); [4]= 4.0×10^{-5} mol.L ⁻¹ ; [2,4-bdnpp]= $3.2 - 16.0 \times 10^{-4}$ mol.L ⁻¹ ; T=25°C.....	84
Figura 37 Velocidades iniciais versus pH para a reação de oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada pelo complexo 3	86
Figura 38 Dependência da concentração do substrato 3,5-dtbc catalisada por 3 (▲), 4 (■) e pelo complexo gerado in situ (complexo 3 oxidado com um equivalente de H ₂ O ₂) (●): pH 6.0, solução metanol/água (3:2). Condições: [3]= 1.5×10^{-5} mol L ⁻¹ ; [3,5-dtbc]= $0.5 - 5.5 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ , [MES]= 3.3×10^{-2} mol L ⁻¹	87
Figura 39 Mecanismo proposto para a oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada por 3	88
Figura 40 Dependência do pH nas velocidades iniciais da reação de oxidação do substrato 3,5-dtbc catalisada pelos complexos 5 e 6	90
Figura 41 Dependência da concentração do substrato 3,5-dtbc, catalisada por 5 (esquerda) e 6 (direita).....	91
Figura 42 Mecanismo proposto para a oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada por 5 e 6	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Principais bandas observadas no espectro na região do infravermelho dos pró-ligantes e do ligante H ₂ py ₃ mff, em número de onda (cm ⁻¹).....	48
Tabela 2 Deslocamentos químicos (ppm) observados nos espectros de RMN ¹ H para os pró-ligantes e para o ligante final H ₂ py ₃ mff.....	49
Tabela 3 Principais bandas e suas respectivas atribuições em cm ⁻¹ , dos espectros no infravermelho dos complexos.....	53
Tabela 4 Dados Cristalográficos selecionados e refinamento da estrutura para os complexos 1 e 2	55
Tabela 5 Comprimentos [Å] e ângulos [°] de ligação selecionados para o complexo 1 , 2 , [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbmp)](ClO ₄) ₂ , [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbmp)](ClO ₄) ₂ , 5 - [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbmp-CH ₃)](ClO ₄) ₂ e 6 - [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbmp-CH ₃)](ClO ₄) ₂	57
Tabela 6 Distâncias Fe ^{III} -M ^{II} [Å] e distâncias médias das esferas de coordenação para os complexos 1 , 2 , [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbmp)](ClO ₄) ₂ , [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbmp)](ClO ₄) ₂ , 5 - [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbmp-CH ₃)](ClO ₄) ₂ e 6 - [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbmp-CH ₃)](ClO ₄) ₂	60
Tabela 7 Máximos de absorção e coeficientes de absorção molar (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹) para os complexos 1 , 2 , [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbmp)] ²⁺ , [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbmp)] ²⁺ , [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbmp-CH ₃)] ²⁺ e [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbmp-CH ₃)] ²⁺	62
Tabela 8 Valores de pK _a , correspondentes à desprotonação de moléculas de água coordenadas, para os complexos 1 e 2	64
Tabela 9 Valores de pH _{ótimo} de atividade, pK _a cinéticos e pK _a potenciométricos para os complexos 1 , 2 , [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbmp)] ²⁺ , [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbmp)] ²⁺ , [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbmp-CH ₃)] ²⁺ e [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbmp-CH ₃)] ²⁺	68
Tabela 10 Potenciais redox para o par Fe ^{III} /Fe ^{II} e constantes catalíticas para complexos heterobimetálicos Fe ^{III} /M ^{II} com o ligante H ₂ bpbmp e H ₂ bpbmp-X.	70
Tabela 11 Parâmetros cinéticos para a reação de hidrólise do 2,4-bdnp promovida pelos complexos 1 e 2 em pH = 7,00 a 25°C.....	72
Tabela 12. pK _{as} dos complexos 3 e 4 , determinados via titulação potenciométrica e espectrofotométrica em acetonitrila água 1:1 (NEVES, 2010).	76
Tabela 13 Parâmetros cinéticos para os complexos 3 e 4	84
Tabela 14 pK _{as} determinados para os complexos 3 e 4	86

Tabela 15 Parâmetros cinéticos obtidos da reação de oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada por 3 , 4 e pela espécie oxidada <i>in situ</i>	87
Tabela 16 Parâmetros cinéticos na oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada pelos complexos 5 e 6	92

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

ϵ	coeficiente de absorvidade molar
ν	estiramento (IV)
δ	deformação angular (IV)
δ_{H}	deslocamento químico do hidrogênio (RMN ^1H)
$\lambda_{\text{máx}}$	comprimento de onda, no máximo de absorção
2,4-bdnp	bis(2,4-dinitrofenil)fosfato
2,4-dnpp	2,4-dinitrofenil fosfato
CH_3CN	Acetonitrila
CHES	ácido 2-[N-cicloexilamino]etanosulfônico
CMFF	2-clorometil-4-metil-6-formilfenol
DNA	ácido desoxirribonucleico
E	Eficiência catalítica
NHE	Eletrodo normal de hidrogênio
MeOH	Metanol
F	fator catalítico
HEPES	ácido 2-[4-(2-Hidroxietil)-1-piperazino]-etanosulfônico
I	Força iônica
IUBMB	União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular
IV	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho
K_{ass}	Constante de associação
kbPAP	Fosfatase ácida púrpura de feijão vermelho
k_{cat}	Constante catalítica
k_{unc}	Constante da reação não catalisada
K_{M}	Constante de Michaelis-Menten
MeOH	Metanol
MÊS	Ácido 2-[N-Morfolino]etanosulfônico
NaBPh_4	Tetrafenilborato de sódio
NaOAc	Acetato de sódio
P. F.	Ponto de fusão
PAPs	Fosfatases Ácidas Púrpuras
pH	Potencial hidrogeniônico
RMN ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono
RPE	Ressonância paramagnética eletrônica
TMS	Tetrametilsilano
ufPAP	Fosfatase ácida púrpura de fluido uterino de suínos

UV-Vis	espectroscopia na região do ultravioleta-visível- infravermelho próximo
V_0	velocidade inicial
$V_{\text{máx}}$	velocidade máxima

RESUMO

Desde a descoberta da atuação de íons metálicos para o correto funcionamento de inúmeras enzimas, os químicos de coordenação têm sintetizado e caracterizado compostos que possam mimetizar tanto a estrutura quanto a função dessas enzimas. Neste trabalho foram sintetizados dois novos complexos binucleares com o ligante 2-[*N*-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[*N*-(2-hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)aminometil]fenol (H_2py_3mff), $[(H_2O)Fe^{III}(\mu-OH)Zn^{II}(py_3mff)](ClO_4)_2$ (**1**) e $[(H_2O)Fe^{III}(\mu-OH)Zn^{II}(py_3mff)](ClO_4)_2$ (**2**). O novo ligante foi caracterizado por espectroscopias na região do infravermelho e de ressonância magnética nuclear de hidrogênio. Os complexos **1** e **2** foram caracterizados por várias técnicas incluindo, espectroscopia no infravermelho, espectroscopia eletrônica, eletroquímica, titulação potenciométrica e difração de raios X em monocristal. Os dados estruturais levaram a considerar os complexos **1** como modelo estrutural para o sítio ativo da fosfatase ácida púrpura de feijão vermelho, com a unidade $[(H_2O)Fe^{III}(\mu-OH)Zn^{II}]$. Os complexos também foram testados na atividade de fosfatase, frente à hidrólise do substrato bis(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-bdnpp). Estes estudos revelaram que os complexos podem ser considerados como modelos funcionais das fosfatases com fatores catalíticos de cerca de 5 mil e 10 mil vezes a reação não catalisada, respectivamente. Destaca-se ainda que o ligante H_2py_3mff possui um grupo aldeído como substituinte, o que permite o ancoramento em suportes sólidos ou ainda em peptídeos.

Uma propriedade importante que algumas enzimas apresentam é a promiscuidade catalítica, que é a capacidade de catalisar mais de um tipo de reação química. A promiscuidade catalítica apresenta um papel fundamental na evolução e acredita-se que esteja envolvida na biosíntese de metabólitos secundários.

Devido a dificuldade em se obter grandes quantidades e cristais adequados dessas metaloenzimas e metaloproteínas, o uso de compostos modelos de baixa massa molar que sejam miméticos estruturais e/ou funcionais para estas biomoléculas tem contribuído na elucidação das suas propriedades físico-químicas e mecanismos de reação.

Tendo em vista que o conteúdo metálico dos complexos é muito mais exposto que o das enzimas acredita-se que os mesmos possam apresentar promiscuidade catalítica, podendo então ter seu uso de particularmente aumentado.

Assim, foi testada a promiscuidade catalítica de compostos já sintetizados e caracterizados $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{bpbmp})](\text{ClO}_4)_2$ (**3**), $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})_2\text{Fe}^{\text{III}}(\text{bpbmp})](\text{ClO}_4)_3$ (**4**), que mostraram ser promíscuos na catálise de hidrólise do substrato bis(2,4-dinitrofenil)fosfato e na oxidação do substrato 3,5-di-*terc*butilcatecol. Foi testada ainda a promiscuidade dos complexos $[(\text{H}_2\text{O})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp})](\text{ClO}_4)_2$ (**5**) e $[(\text{H}_2\text{O})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)](\text{ClO}_4)_2$ (**6**). Estes dois últimos complexos já haviam sido testados na hidrólise do substrato bis(2,4-dinitrofenil)fosfato e no presente trabalho foi testada a atividade de oxidação do substrato 3,5-di-*terc*butilcatecol. O complexo **6** foi mais reativo que o complexo **5**, mostrando que quanto menor a diferença entre os potenciais redox dos dois centros metálicos maior a atividade catalítica do mesmo.

São abertas, através do presente trabalho, novas perspectivas de pesquisa, que a partir da derivatização de ligantes pode possibilitar outras aplicações, seja pelo ancoramento de compostos em sílica, nanopartículas magnéticas e nanopartículas de ouro, seja pela utilização de compostos previamente desenhados para certo tipo de atividade catalítica em outras reações, frente a outros substratos de interesse.

ABSTRACT

Enzymes are protein molecules with a three-dimensional globular shape. Their main functions are to accelerate chemical reactions in cells, and for that reason are often called biological catalysts. About a third of the enzymes and proteins with known structure have at least one metal ion in its constitution.

An important property is that some enzymes show catalytic promiscuity, which is the ability to catalyze more than one type of chemical reaction. Promiscuity has a catalytic role in the evolution and is believed to be involved in the biosynthesis of secondary metabolites.

Due to difficulty in obtaining suitable crystals and large amounts of these metalloenzymes and metalloproteins, the use of model complexes of low molecular weight that are structural and / or functional mimetics for these biomolecules has contributed to the elucidation of their physical-chemical properties and reaction mechanisms .

Moreover, these compounds can be used as bioinspired catalysts of great interest in Medicine and Biotechnology.

This work describes the synthesis, characterization and study of catalytic promiscuity bioinspired complex in hydrolytic enzymes.

Thus, we synthesized two new complexes with the ligand H_2py_3mff (2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminomethyl]-4-methyl-6-[N-(2-hydroxy-3-formyl-5-methylbenzyl) (2-piridilmetil) aminomethyl] phenol) $FeIII(\mu-OH)ZnII(py_3mff)(H_2O)](ClO_4)_2$ - complex 1 and $FeIII(\mu-OH)CuII(py_3mff)(H_2O)](ClO_4)_2$ - complex 2. Both complexes had their X-ray structure determined showing that they are isostructural.

The new complexes were characterized by electrochemical and spectroscopic techniques. pKa values for the coordinated water molecules were obtained by potentiometric titration.

Trying to evaluate the catalytic promiscuity of binuclear complexes, the phosphatase and catecholase activities of complexes 1 and 2, and other complexes described in the literature $FeIII(FeII)bbpmp$ (complex 3), $FeIII(FeIII)bbpmp$ (complex 4), $FeIII(\mu-OH)CuII$ bpbpmp (complex 5), $Fe^{III}(\mu-OH)Cu^{II}$ bpbpmp- CH_3 (complex 6) were studied using the substrates 2,4-bdnpp and 3,5-dtbc.

1. INTRODUÇÃO

Com a descoberta da presença de íons metálicos em sistemas biológicos, a ciência tem se preocupado em avaliar o envolvimento dos mesmos em processos essenciais à vida dos mais variados organismos. Cerca de um terço das enzimas e proteínas com estrutura conhecida apresentam pelo menos um íon metálico na sua constituição. Por exemplo, sabe-se que a hemoglobina (responsável pelo transporte de oxigênio no sangue) contém ferro em sua estrutura. O entendimento do papel desses íons metálicos nos processos biológicos aos quais estão associados tem sido objeto de diversos estudos (KAIM, 1994).

Apesar dos inúmeros estudos com as enzimas, a maior parte delas ainda não tem as suas estruturas determinadas, e dessa forma, suas funções e mecanismos de ação ainda não são completamente elucidados, tendo justamente em vista, o alto grau de complexidade dessas estruturas. Em vista desta dificuldade, o estudo de complexos modelos tem contribuído de forma significativa para a obtenção de informações acerca da estrutura e funções das metaloenzimas de interesse pela comparação das propriedades físico-químicas desses complexos com as propriedades conhecidas das enzimas, o que permite inferir a estrutura e funções das mesmas.

Devido à abundância dos íons metálicos na natureza, parece natural que organismos que habitam um meio essencialmente inorgânico desenvolvam mecanismos para utilização de alguns destes compostos. (REEDIJK, 1993; KAIM, 1994) Dentre os estudos em Química bioinorgânica, são destacáveis algumas subáreas: Ambiente de coordenação em metaloproteínas, ácidos nucleicos; mecanismos de reações nos centros metálicos das enzimas; análogos sintéticos para os sítios ativos das metaloenzimas; drogas contendo metais para a cura e a prevenção de doenças (síntese e mecanismo de ação); remoção e transporte de íons e compostos metálicos para/e dos sistemas vivos (desintoxicação); Processos de biomineralização. Em todas estas subáreas, tanto o metal quanto o ambiente de coordenação que o envolve são de extrema importância para a estrutura, a estabilidade e os processos regulados e/ou catalisados por espécies metálicas.

Além de servirem para o estudo das metaloenzimas, os complexos modelos podem apresentar aplicações em potencial, tais como atividade farmacológica e catalisadores em processos industriais. Estudos dessa natureza são de grande importância para o desenvolvimento científico e tecnológico do país, possibilitando a

formação de recursos humanos e infra-estrutura destinados à pesquisa aplicada e criação de novas tecnologias.

1.1. Metaloenzimas

Enzimas são biopolímeros, formados por seqüências de aminoácidos, que se organizam de tal forma que suas cadeias laterais criam microambientes capazes de favorecer determinadas reações químicas. Para desempenhar suas atividades, algumas enzimas não requerem nenhum outro grupo químico além de seus resíduos de aminoácidos, enquanto outras necessitam de componentes químicos adicionais conhecidos como cofatores, os quais podem ser íons inorgânicos e/ou moléculas orgânicas (coenzima). Quando o cofator liga-se covalentemente à parte protéica da enzima, este recebe a denominação de grupo prostético (NELSON, 2000).

Desta forma, as metaloenzimas são aquelas enzimas que apresentam como grupo prostético um ou mais íons metálicos. Propriedades como acidez de Lewis, potencial redox e capacidade de coordenação, únicas dos metais, muitas vezes possibilitam ou aceleram reações de um modo que enzimas que não contêm metais não seriam capazes de fazê-lo. Cerca de 1/3 das enzimas contêm metais, muitas vezes diretamente envolvidos na catálise realizada. O papel dos íons metálicos na catálise pode se restringir, por exemplo, a uma transferência de elétrons, a uma complexa reação redox ou a uma simples reação de ácido-base. A presença do metal, em um sítio particular, usualmente resulta em reações de ativação de substratos pelo metal e ligantes que o rodeiam. Exemplos bem conhecidos de tais enzimas são a Citocromo c Oxidase, Ferredoxinas, Anidrase Carbônica e Álcool Desidrogenase (REEDIJK, 1993; WILKINS, 1997).

As enzimas são internacionalmente classificadas (NC-IUBMB, 2003), de acordo com as reações por elas catalisadas. Dentre estas classes, as hidrolases (catálise de reações de hidrólise) e as oxidases (catálise de reações de transferência de elétrons) são de destacável interesse, tanto do ponto de vista científico quanto por razões comerciais e ambientais (JOHANNES, 2006; MITIC, 2006).

As hidrolases são enzimas capazes de clivar de modo hidrolítico uma série de ligações químicas, tais como: amidas, ésteres, éteres, nitrilas, entre outras. Propõe-se para muitas hidrolases, incluindo a Arginase, a Urease, a Aminopeptidase e inúmeras fosfatases, um arranjo

estrutural do tipo Metal(μ -OH)Metal em seu sítio ativo, como mostrado na Figura 1 (SMOUKOV, 2002).

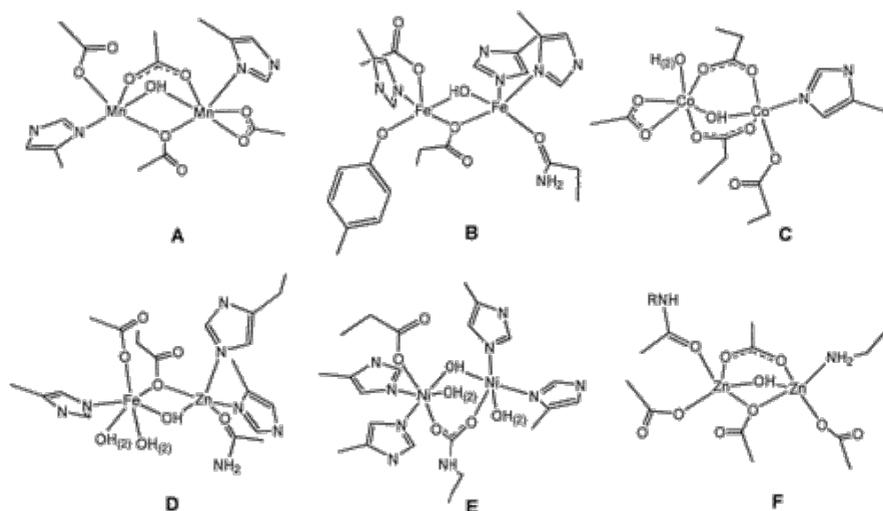


Figura 1 Representação para os sítios ativos de hidrolases binucleares contendo ponte hidróxido: A – Arginase; B – Fosfatase Ácida Púrpura (PAP); C - Metionina Aminopeptidase; D - Calcineurina; E - Urease; F - Leucina Aminopeptidase.

É interessante notar que essas enzimas têm em comum a presença de posições lábeis, que em condições adequadas, diferentes para cada enzima, são capazes de gerar sítios de ativação para o substrato e/ou gerar os nucleófilos necessários a reação (WILCOX, 1996), conforme pode ser observado na Figura 2.

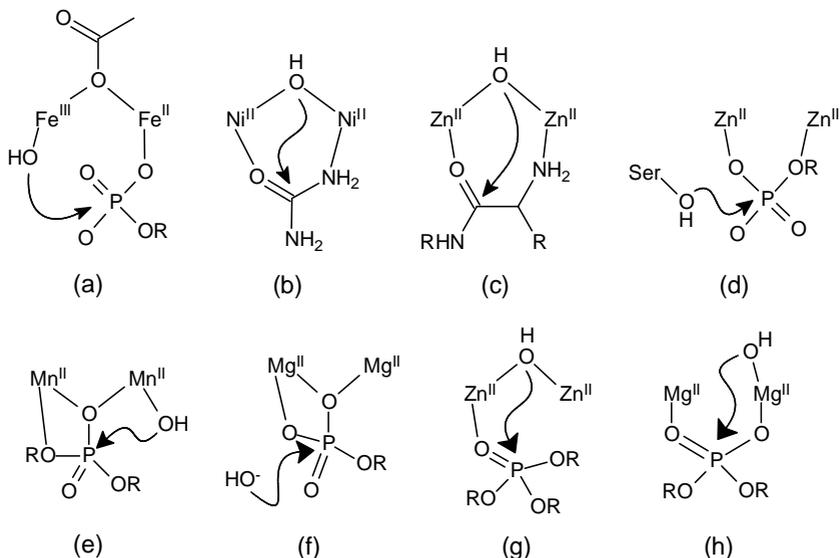


Figura 2 Diversidade de propostas mecanísticas para metaloenzimas binucleares: (a) PAPs, (b) Urease, (c) Leucina Amino-Peptidase, (d) Fosfatase Alcalina, (e) Endonuclease, (f), Inositol Monofosfatase (g) Fosfotriesterase e (h) EcoRV Endonuclease.

Muitas dessas enzimas são alvos para o desenvolvimento de drogas úteis ao tratamento de várias doenças, incluindo osteoporose, câncer, fibrose cística e depressão, ou são significativas em bioremediação, já que podem ser modificadas para degradar pesticidas ou gases organofosforados que atuam no sistema nervoso, como o gás neurotóxico sarin. (MITIC, 2006)

1.2. As Fosfatases Ácidas Púrpuras - PAPs

Fosfatases ácidas púrpuras são hidrolases que contêm em seu sítio ativo dois centros metálicos e catalisam a clivagem hidrolítica de vários

ésteres e anidridos fosfóricos em uma faixa de pH entre 4 e 7. As PAPs são as únicas metalohidrolases que necessitam de um sítio ativo heterovalente $\text{Fe}^{\text{III}}\text{M}^{\text{II}}$ (onde M^{II} é Fe, Zn ou Mn) para a que a catálise seja estabelecida. (NEVES, 2007) As PAPs foram isoladas de uma variedade de fontes incluindo leveduras, fluido uterino de suínos (ufPAP), baço de bovinos (bsPAP), macrófagos, lisossomos humanos, ossos de ratos, plantas e bactérias. (STRÄTER, 1996; THAN, 1999; SCHENK, 1999; KLABUNDE, 1997; DOI, 1998; GANI, 1997)

As PAPs isoladas de fontes animais – porcos, bovinos, ratos e humanos (CHEN, 1973; CAMPBELL, 1973; CAMPBELL, 1978; ROBINSON, 1980; HAYMAN, 1989; JANCKILA, 1992) – são proteínas monoméricas de alta similaridade com massa molar em torno de 35 kDa (SCHENK, 2000). O sítio ativo das PAPs extraídas de animais apresentam dois átomos de ferro em dois estados de oxidação acessíveis: o cataliticamente inativo, $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ (de coloração púrpura - $\lambda_{\text{max}} = 550$ nm, $\epsilon = 4000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) e outro, ativo, $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (forma rosa - $\lambda_{\text{max}} = 505$ nm, $\epsilon = 4000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Essas bandas foram atribuídas a processos de transferência de carga do tipo tirosinato $\rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$. (DOI, 1998; GANI, 1997; ANTANAITIS, 1982) Várias são as estruturas cristalinas resolvidas para as PAPs, sendo que algumas são mostradas na

Figura 3.

Além das PAPs encontradas em mamíferos, foram isoladas as enzimas diméricas de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ (feijão vermelho) ou $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{II}}$ (batata doce), conforme mostrado na Figura 3. As PAPs isoladas de plantas apresentam características cromóforas semelhantes à forma ativa das PAPs de mamíferos, mas não têm sua atividade afetada por mudanças no estado de oxidação (MITIC, 2006; SCHENK, 2000).

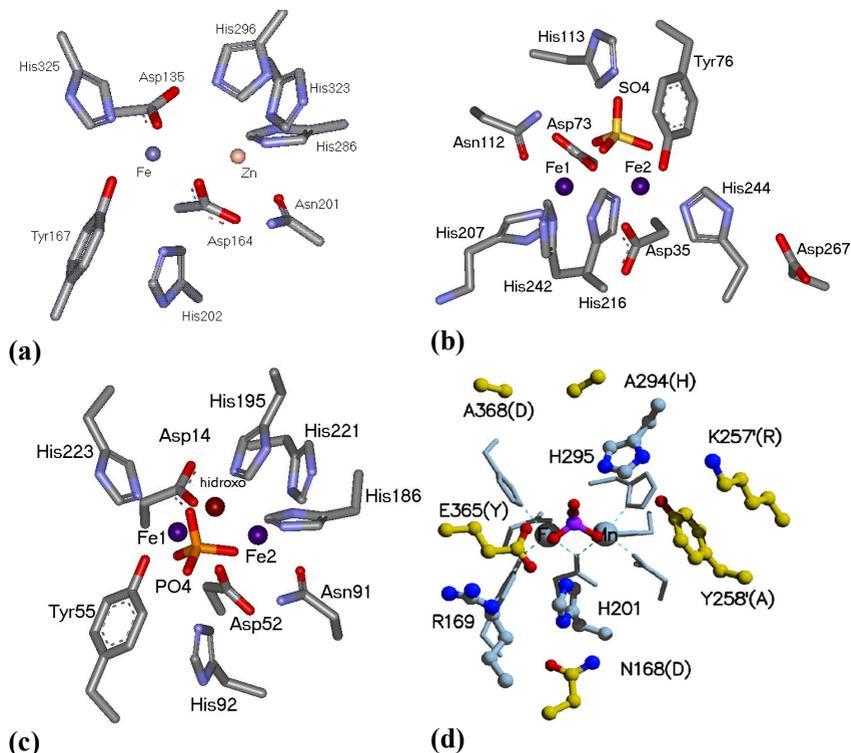


Figura 3 Estruturas cristalinas dos sítios ativos das PAPs: (a) kbPAP(STRÄTER, 1995), (b) rbTRAP(LINDQVIST, 1999), (c) ufPAP(GUDDAT, 1999) e (d) spPAP(SCHENK, 2005).

Com base nos dados reportados, foram propostos alguns mecanismos de ação para as PAPs, os quais sempre partem de um sítio ativo comum (Figura 4). Baseado na estrutura da kbPAP, Klabunde e colaboradores propuseram um mecanismo de ação onde, em uma primeira etapa ocorre a coordenação do substrato pelo deslocamento de uma molécula de água do metal com estado de oxidação II. Esta coordenação torna o átomo de fósforo mais suscetível ao ataque nucleofílico, que é então realizado por um hidróxido coordenado ao íon Fe^{III} , cuja formação é facilitada pela acidez de Lewis do metal (KLABUNDE, 1996) (FIGURA 4A).

Outras propostas mecanísticas têm como grandes variantes, em relação à proposta de Klabunde, a origem do nucleófilo e o modo de coordenação do substrato (Figura 4).

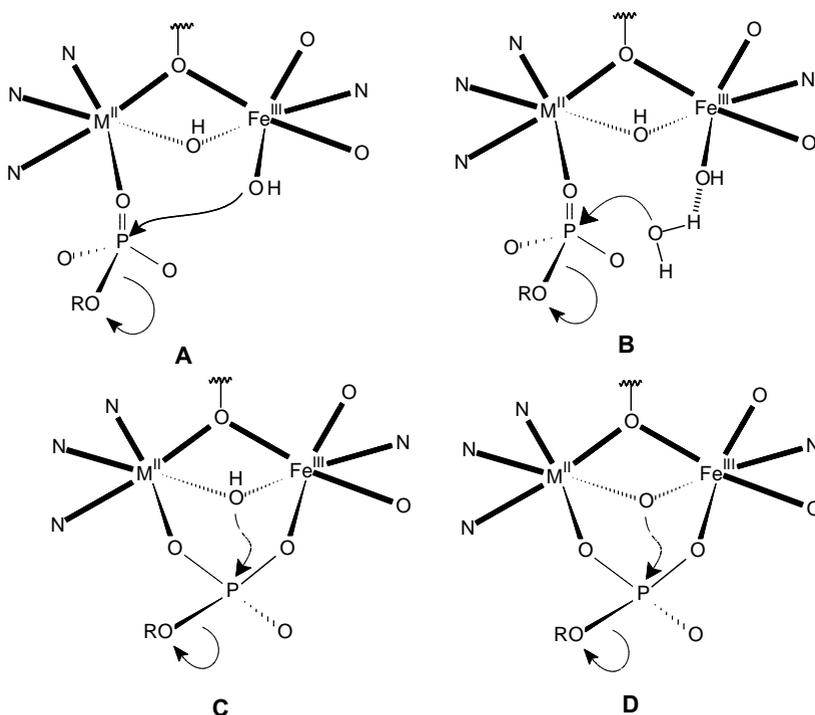


Figura 4 Intermediários propostos para a hidrólise de ésteres de fosfato promovida pelas PAP's. A – Klabunde e colaboradores (KLABUNDE, 1996); B – Merkx e colaboradores (MERKX,1999); C – Que e colaboradores (WANG,1999; TWITCHETT, 1999), e D – Schenk e colaboradores (SCHENK, 1999; LANZMASTER, 2005).

Merkx e colaboradores propuseram que o hidróxido terminal, coordenado ao centro de Fe^{III} , desprotona uma molécula de água da segunda esfera de coordenação, e esta então seria o nucleófilo da reação (Figura 4B). Baseado na suposição de que o substrato coordena-se ao centro dinuclear de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ da ufpAP de modo bidentado (WANG,1999), outra proposta mecanística considera o hidróxido ponte como nucleófilo (Figura 4C). A menor nucleofilicidade do hidróxido ponte em relação ao hidróxido terminal seria “compensada” pela diminuição do pK_a associado a formação desta espécie ativa (NEVES, 2007).

Ainda supondo uma coordenação bidentada do substrato, recentemente foi reportada a presença de uma ponte do tipo oxo entre os

metais da spPAP em pH = 4,9 (SCHENK, 1999). Em conjunto com os resultados de Neves e colaboradores, que mostram via EXAFS um complexo modelo com Fe^{III} pentacoordenado em solução, foi proposto outro mecanismo de ação, onde o nucleófilo é a ponte oxo (LANZMASTER 2005) (Figura 4D). Para este mecanismo proposto, foi citada como uma evidência o estudo de um complexo modelo.

O uso de compostos de baixa massa molar que mimetizem o sítio ativo das metaloenzimas tem contribuído na elucidação de propriedades e mecanismos de ação de enzimas. Além disso, esses compostos modelos podem ser utilizados como catalisadores bioinspirados. Dentre os sistemas biomiméticos sintéticos de interesse na medicina e biotecnologia, estão as nucleases sintéticas. A habilidade de clivar ácidos nucleicos eficientemente, de modo não degradativo, e com alto nível de seletividade por sítio ou estrutura oferece muitas aplicações para a manipulação genética, no desenvolvimento de sondas estruturais, novas drogas e terapias.

Diante desse contexto, a modelagem da reatividade de metalonucleases é assim uma área de intenso interesse dos pesquisadores (COWAN, 2001).

1.3. Nucleases Químicas

Os blocos de construção dos ácidos nucleicos poliméricos (DNA e RNA) são ligados através de grupos funcionais fosfodiéster. Os tempos de meia vida do DNA e do RNA, quando extrapoladas as condições fisiológicas, são estimados em 10⁶ e 10³ anos, respectivamente. A existência de ligações tão resistentes à hidrólise nesses biopolímeros torna evidente a necessidade natural de se manter o código genético durante todo o processo evolutivo. Por outro lado, essa notável estabilidade hidrolítica torna necessária a intervenção das nucleases naturais ou enzimas de restrição, para a quebra dessas cadeias *in vivo*. (WESTHEIMER, 1987; HEGG, 1998).

Deste modo, complexos metálicos sintéticos que visem imitar a atividade das nucleases naturais devem promover um aumento de 14 ordens de magnitude na velocidade de reação, no caso do DNA, em condições fisiológicas. A hidrólise do RNA é relativamente facilitada devido ao grupo 2'-Hidroxil presente na ribose, que facilita a reação de transesterificação intramolecular, porém ainda requer um significativo aumento de velocidade promovido pelo catalisador.

Diante dessa extraordinária estabilidade dos ácidos nucleicos, não é surpreendente que agentes que promovam clivagem eficiente sob condições fisiológicas sejam difíceis de ser obtidos. A clivagem de fosfodiésteres é dificultada principalmente pela alta carga negativa das cadeias polianiônicas, sendo a neutralização dessas cargas por cofatores metálicos um dos muitos mecanismos usados pelas nucleases naturais (COWAN, 2001).

As primeiras nucleases químicas sintéticas obtidas ficaram conhecidas como agentes oxidativos, pois esses compostos de coordenação clivavam ácidos nucleicos, sob condições fisiológicas, por ataque oxidativo sobre o anel ribose (SIGMAN, 1990). O primeiro composto de coordenação que demonstrou ter uma eficiente atividade nucleolítica foi um complexo de cobre com o ligante 1,10-fenantrolina. Outros exemplos de nucleases químicas oxidativas surgiram e são derivados de Fe-EDTA, várias metaloporfirinas, complexos octaédricos com 4,7-difenil-1,10-fenantrolina e Bleomicina (SIGMAN, 1990; SIGMAN, 1993). Embora os agentes de clivagem oxidativa sejam muito eficientes, sua aplicação é limitada uma vez que, frequentemente, geram radicais livres que os tornam inespecíficos. Além disto, a clivagem oxidativa também produz fragmentos que não podem ser enzimaticamente religados, o que limita sua utilização em biologia molecular (HEGG, 1998). Logo, complexos metálicos capazes de catalisar a clivagem hidrolítica do DNA tornam-se de especial interesse.

Vários são os tipos e o número de íons metálicos utilizados nesses sistemas, sendo os mais estudados complexos com Ni^{II} , Cu^{II} , Zn^{II} , Co^{II} , Fe^{III} e alguns lantanídeos (CHIN, 1991; BLASKÓ, 1999; WILLIAMS, 1999).

Inspirados nas PAPs, Neves e colaboradores têm reportado complexos binucleares capazes de hidrolisar o diéster de fosfato bis(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP) e o DNA (NEVES, 2007; LANZMASTER, 2005; KARSTEN, 2002; SMITH, 2007; SCHENK 2008; BATISTA, 2003; NEVES, 1995). Para tanto, utilizaram ligantes baseados em unidades centrais fornecedoras de pontes μ -alcoxo e, principalmente, μ -fenoxo, mostrados na Figura 5.

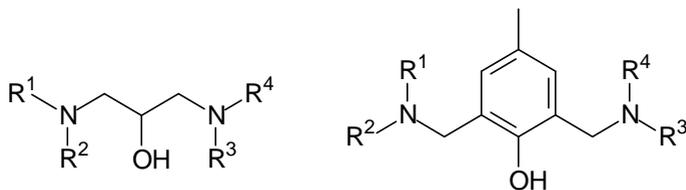


Figura 5 Estrutura geral para ligantes binucleantes, onde R¹ a R⁴ correspondem aos braços pendentes contendo os grupos N,O-doadores.

Em especial, Neves e colaboradores têm estudado sistemas baseados no ligante não simétrico 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[N-(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)aminometil]fenol – H₂bpbmp, mostrado na Figura 6 (NEVES, 1995).

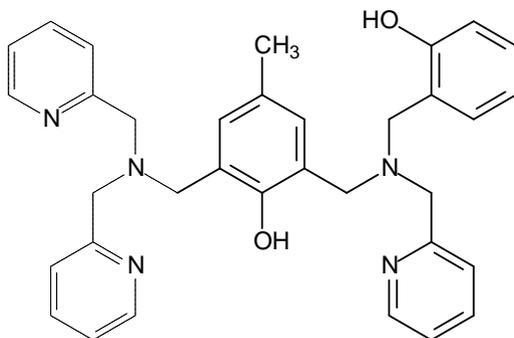


Figura 6 Estrutura química do ligante não simétrico H₂bpbmp.

Avanços significativos quanto à adequação estrutural e ao entendimento da reatividade dos modelos com relação às PAPs, foram obtidos através da variação dos centros metálicos - Fe^{III}Fe^{II} (NEVES, 1995;); Fe^{III}Zn^{II} (NEVES, 2007), Fe^{III}Cu^{II} (LANZNASTER, 2005), Fe^{III}Mn^{II} (KARSTEN, 2002), Fe^{III}Ni^{II} (BATISTA, 2003) e de variações neste ligante base, como a introdução de grupos substituintes no fenol do braço pendente (PERALTA, 2006; PERALTA 2005).

Atualmente, novos desafios se impõem aos químicos na síntese de hidrolases sintéticas. A promoção de uma catálise mais eficiente passa agora pela seletividade quanto às posições de clivagem da dupla fita do DNA e pelo controle total do tipo de reação química (hidrólise *versus* oxidação) pelo qual os compostos atuam. Para tanto, é primordial a evolução dos ligantes, que não se atenham somente à reprodução do sítio catalítico da enzima. Muitas vezes o controle do tipo de reação catalisada

parece inalcançável, porém, vale ressaltar que muitas vezes as próprias enzimas podem atuar por mecanismos diferentes daquele ao qual estão normalmente associadas (O'BRIEN, 1999; HULT, 2007).

1.4. Promiscuidade Catalítica

Livros texto de bioquímica descrevem as enzimas como específicas para os substratos e as reações que catalisam. As enzimas que de alguma maneira divergem desta afirmação são chamadas de promíscuas. Tem sido sugerido que esse relaxamento das especificidades desempenha papel importante na evolução das enzimas e dos seres vivos. Quando uma enzima é promíscua quanto ao tipo de reação que realiza, passa-se a utilizar o termo promiscuidade catalítica. Tentativas de explorar a promiscuidade catalítica em aplicações sintéticas são recentes.

A promiscuidade catalítica pode ser acidental ou induzida, a qual abre grandes possibilidades na projeção e no desenvolvimento de novas funções catalíticas, para catálise de reações que não apresentam outras opções viáveis disponíveis (O'BRIEN, 1999; HULT, 2007).

Como exemplo, tem sido demonstrado que a cloroperoxidase dependente de Vanádio mostra atividade de fosfatase quando não há vanadato presente, indicando que seu sítio catalítico é muito similar ao apresentado pelas fosfatases ácidas (HEMRIKA, 1997). Por outro lado, foi isolada uma fosfatase ácida de plantas que apresenta atividade de cloroperoxidase (e perde sua atividade de fosfatase) quando ortovanadato é adicionado a forma apo da enzima (YONEYAMA, 2004). Embora essas atividades se deem por caminhos de reação diferentes, eles envolvem ligações enzima-substrato estruturalmente relacionadas. Além disso, tem sido demonstrado que a fosfatase ácida púrpura (PAP) isolada do tomate pode agir como uma enzima bifuncional que opera na hidrólise de ésteres de fosfato e também apresenta significativa atividade de peroxidase alcalina, com o envolvimento de espécies reativas de oxigênio (BOZZO, 2002). De fato, muitas PAPs de vegetais tem sido expressas em resposta a um ataque patogênico ou a um tratamento indutor (KENTON, 1999; JAKOBEK, 2002). No entanto, não foi encontrada atividade de catecolase para nenhuma das PAPs já descritas.

Enquanto muitas enzimas que exibem promiscuidade catalítica tem sido objeto de investigação (KAZLAUSKAS, 2005; TAGLIEBER, 2007; BORNSCHEUER, 2004; O'BRIAN, 1999; OLGUIN, 2008; ZALATAN, 2006), existem poucos exemplos de biomiméticos sintéticos

que mostram tal atividade multifuncional (OLIVEIRA, 2005; REY, 2007; DECK, 2002; HEGG, 1995; HEGG, 1996; PARRILHA, 2008).

Espera-se que, sem todo o conteúdo protéico que envolve o sítio catalítico nas metaloenzimas, metalobiomiméticos sejam muito mais suscetíveis às mudanças de condições e acessíveis a uma maior variedade de substratos. Esses fatos, que são considerados empecilhos na busca de melhores modelos e de maiores reatividades, podem tornar compostos inspirados em um sistema protéico, catalisadores eficientes para outras reações. Assim, o estudo da atividade destes compostos frente a substratos, para os quais não foram planejados, pode servir para o entendimento de como se processa a promiscuidade catalítica nas metaloenzimas.

Como mencionado anteriormente, a modelagem biomimética de hidrolases, como as Fosfatases Ácidas Púrpuras é de grande interesse tendo em vista as potencialidades que esses compostos podem apresentar.

A obtenção de compostos modelos para enzimas tem sido o principal campo de estudo do grupo de pesquisa de Neves e colaboradores, sendo a qualidade dos trabalhos realizados na área reconhecida em todo o meio acadêmico e atestada pela numerosa produção de artigos em revistas de considerável fator de impacto (MITIC, 2006; NEVES, 2007; LANZNASTER, 2005; KARSTEN, 2002; SMITH, 2007; SCHENK, 2008; BATISTA, 2003; NEVES, 1995; PERALTA 2005; PERALTA 2006; NEVES, 1992; GREATTI, 2008; JOVITO, 2005). Apesar de muito ter se avançado na construção de modelos biomiméticos, ainda há muito que ser melhorado. Dentre as evoluções possíveis estão a obtenção de ligantes que facilitem a ligação do substrato ao metal, com manutenção da estabilidade do complexo metálico, e de ligantes que contenham grupos capazes de tornar a clivagem de ácidos nucleicos sítio-dirigida além da imobilização dos complexos em suportes sólidos, como sílica e nanopartículas. Esta estratégia é de grande importância quando se pensa na aplicação dos catalisadores obtidos.

Neste contexto, utilizando a experiência do grupo de pesquisa na síntese de ligantes não simétricos que possibilitem a obtenção de complexos heterobimetálicos heterovalentes, realizou-se no presente trabalho a síntese de um ligante que possui um grupo aldeído no fenol do braço tridentado da molécula do H_2bpbmp . A presença deste grupo possibilita a derivatização do ligante e imobilização dos compostos em suportes sólidos e de seus primeiros compostos de coordenação (Figura 7).

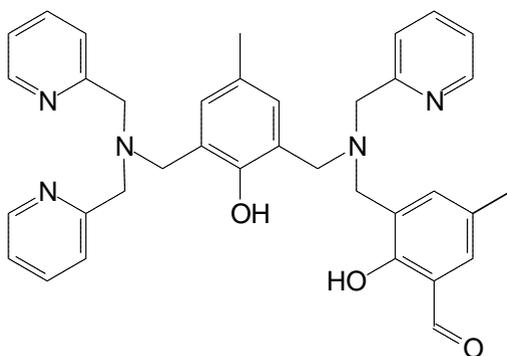


Figura 7 Esquema do ligante H_2py_3mff .

Paralelamente, realizou-se o estudo da promiscuidade catalítica de complexos do tipo $Fe^{III}M^{II}$ ($FeFe$ e $FeCu$), obtendo-se assim mais informações sobre seus modos de atuação em catálise e buscando novas perspectivas de aplicação para os mesmos.

2. OBJETIVOS

Como primeira abordagem, objetivou-se realizar a síntese e caracterização de um novo ligante bioinspirado e seus primeiros compostos de coordenação heterobimetálicos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$, avaliando-os como modelos para Fosfatases Ácidas Púrpuras. Esse ligante foi planejado para ser capaz de, futuramente, gerar uma nova linha de compostos, a partir de derivatização e/ou ancoramento, visando influenciar a segunda esfera de coordenação, aumentar a especificidade dos compostos de coordenação frente a ácidos nucléicos e facilitar a administração desses complexos como drogas, entre outras possibilidades.

A investigação da reatividade de compostos em reações de hidrólise e de oxidação, com a avaliação de possível promiscuidade catalítica dos mesmos, também se apresenta como objetivo deste trabalho, já que abre novas perspectivas quanto à aplicação científica e tecnológica dos mesmos. Para tanto, tem-se os seguintes objetivos específicos associados:

- Síntese e caracterização de um ligante N,O doador $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$, contendo o grupo pendente aldeído, capaz de interferir na catálise via segunda esfera de coordenação e/ou estabilização do estado de transição, além de oferecer várias possibilidades de derivatização.

- Síntese, caracterização e reatividade frente ao diéster de fosfato bis(2,4-dinitrofenil)fosfato dos complexos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ obtidos a partir do novo ligante.

- Estudos de titulação potenciométrica e espectrofotométrica, e da promiscuidade catalítica dos complexos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ com o ligante H_2bpbpmp através da avaliação da hidrólise do substrato bis(2,4-dinitrofenil)fosfato e da oxidação do substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol promovida na presença dos complexos.

- Avaliação da promiscuidade catalítica dos complexos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ com os ligantes H_2bpbpmp e $\text{H}_2\text{bpbpmp-CH}_3$, por meio de estudos da oxidação do substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.1. Materiais

Os seguintes reagentes, materiais, gases e solventes, empregados nas sínteses e análises foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia, a menos que especificado: p-cresol (Aldrich), 2-aminometilpiridina (Aldrich), trietilamina (destilada previamente), hidróxido de sódio (Vetec), formaldeído 37% (Vetec), bicarbonato de sódio (Vetec), paládio/carbono 5% (Aldrich), ácido clorídrico 37% (Vetec), bicarbonato de sódio (Vetec), carbonato de sódio (Vetec), cloreto de amônio (Vetec), sulfato de sódio anidro (Vetec), argônio 5.0 (White Martins), hidrogênio (White Martins), borohidreto de sódio (Aldrich), hidróxido de lítio (Aldrich), clorofórmio deuterado (Aldrich), brometo de potássio de grau espectroscópico (Aldrich), cloreto de potássio (Vetec), oxocloreto de fósforo (destilado em coluna microcapilar – Merck), piridina (destilada - Vetec), perclorato de ferro(III) (Aldrich), perclorato de zinco(II) (Aldrich), preclorato de cobre(II) (Aldrich), perclorato de lítio monohidratado (Aldrich), tampões biológicos MES, TRIS, HEPES, CHES (Aldrich), acetonitrila espectroscópica (Tedia), acetonitrila PA (Vetec), diclorometano PA (Vetec), etanol absoluto (Merck, Vetec), éter etílico (Vetec), 2-piridinocarboxialdeído (destilado à pressão reduzida – Aldrich), 2,4-dinitrofenol (recristalizado em clorofórmio – Aldrich), 3,5-di-tercbutilcatecol (Aldrich). O substrato modelo bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato foi sintetizado, purificado e caracterizado de acordo com procedimentos descritos na literatura. (BUNTON, 1969) Os complexos $[\text{Fe}^{\text{III}}(\square\text{OAc})_2\text{Fe}^{\text{II}}\text{bpbmp}]^+$ (**3**), $[\text{Fe}^{\text{III}}(\square\text{OAc})_2\text{Fe}^{\text{III}}\text{bpbmp}]^{2+}$ (**4**), $[\text{Fe}^{\text{III}}(\square\text{OH})\text{Cu}^{\text{II}}\text{bpbmp}]^{2+}$ (**5**) e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\square\text{OH})\text{Cu}^{\text{II}}\text{bpbmp-CH}_3]^{2+}$ (**6**) foram sintetizados de acordo com o reportado na literatura (NEVES, 1995; NEVES, 1996; LANZMASTER, 2003; CASELLATO, 2007).

3.2. MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.2.1. Espectroscopia no Infravermelho - IV

Os espectros de infravermelho foram realizados em um espectrofotômetro Perkin Elmer FTIR – 2000, na região de 4000 a 450 cm^{-1} . As amostras sólidas foram preparadas por dispersão em KBr de grau espectroscópico, com o qual se trabalha sob uma lâmpada de 200 W em ambiente com umidade controlada, e prensadas (10 toneladas) formando pastilhas com cerca de 1 cm de diâmetro e 0,5 mm de espessura. Estas pastilhas são postas diretamente no caminho óptico do equipamento, analisando-se então o percentual de transmitância (%T) da luz. Já para a análise de amostras não sólidas foram preparadas pastilhas de KBr do mesmo modo já descrito e sobre elas adicionou-se gotas de uma solução do composto dissolvido em diclorometano. Após a evaporação do solvente as pastilhas foram analisadas do mesmo modo como o descrito para as amostras sólidas.

3.2.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio - RMN ^1H

Os espectros de RMN ^1H foram obtidos em um espectrofotômetro Varian 400 MHz, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. As amostras foram acondicionadas em tubo de quartzo de 5 mm e solubilizadas em 0,5 mL de solvente deuterado. Os deslocamentos químicos de hidrogênio foram registrados em ppm utilizando como referência interna tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm), o qual foi adicionado ao solvente com o qual as amostras foram preparadas (CDCl_3).

3.2.3. Espectroscopia eletrônica – UV-Vis-NIR

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta, visível e infravermelho próximo foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo Lambda-19, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. As análises foram realizadas utilizando-se solventes de grau espectroscópico e celas de

quartzo com capacidade para 4 mL e 1 cm de caminho óptico. Experimentos no estado sólido (reflectância difusa) foram realizados no mesmo equipamento utilizando pastilha de KBr contendo as amostras dispersas nas mesmas.

3.2.4. Eletroquímica

O comportamento redox dos complexos foi investigado por voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada em um potenciostato-galvanostato EPSILON, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. Os experimentos foram realizados em solução de etanol /água 70:30 % V/V, com concentração de aproximadamente $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹, contendo 0,1 mol.L⁻¹ de LiClO₄, utilizando-se eletrodo de carbono vítreo, como eletrodo de trabalho, Ag/Ag⁺ como referência e fio de platina como contra-eletrodo. Hexacianoferrato de potássio foi utilizado como padrão interno.

3.2.5. Difractometria de Raios X

A análise de difração de raios X de monocristal para o complexo **1** foi realizada na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os dados foram coletados em um difratômetro Enraf-Nonius CAD-4 equipado com um tubo de molibdênio (MoK α $\lambda = 0,71073$ Å) e monocromador de grafite a temperatura ambiente. A estrutura cristalina foi obtida através de métodos diretos, com a utilização do programa SHELXS97 (SHELDRICK, 1990) e refinados pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa. Para tanto, foi usado o programa SHELXL97 (SHELDRICK, 1997). Utilizou-se também a correção SQUEEZE (VAN DER SLUIS, 1990) com o programa PLATON (SPEK, 1997), devido à alta desordem apresentada por moléculas de solvente de cristalização. As representações gráficas das estruturas moleculares foram geradas utilizando o programa ZORTEP. (ZSOLNAI, 1997). A coleta de dados e a resolução das estruturas foram realizadas pelo Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi.

Já a estrutura cristalina do complexo **2** foi obtida com a análise de difração de raios X realizada no Departamento de Física da Universidade de São Paulo, em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD equipado com monocromador de grafite e tubo de molibdênio (MoK α $\lambda = 0,71073$

Å) e a temperatura foi mantida em 120 K. As estruturas cristalinas foram resolvidas através de métodos diretos com a utilização do programa (SHELDRICK, 1997). Utilizou-se também a correção SQUEEZE (VAN DER SLUIS, 1990) com o programa PLATON (SPEK, 1997). As representações gráficas da estruturas moleculares foram geradas utilizando o programa ZORTEP (ZSOLNAI, 1997). As coletas foram realizadas pelo Prof. Dr Eduardo Ernesto Castellano do Departamento de Física da Universidade de São Paulo – São Carlos.

3.2.6. Titulação Potenciométrica

As constantes de protonação para os complexos **1** e **2** foram determinadas por titulação potenciométrica no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. Estes experimentos foram realizados em solução acetoneitrila/água (50:50 % V/V) devido à baixa solubilidade dos complexos em água. Utilizou-se um pHmetro acoplado a um eletrodo de vidro combinado (Ag/AgCl), calibrado com uma solução de HCl (0,010 mol.L⁻¹) e uma solução padrão de KOH (0,100 mol.L⁻¹). As soluções foram preparadas com água bidestilada, na presença de KMnO₄, e depois fervida, e acetoneitrila de grau espectroscópico. As medidas foram realizadas em uma célula termostatizada a 25,00 ± 0,05 °C. Utilizou-se uma solução do complexo (0,05 mmol) em 50 mL de solução acetoneitrila/água (50:50 % V/V), com a força iônica ajustada para 0,100 mol.L⁻¹ com KCl, sob fluxo de argônio para eliminar a presença de CO₂ atmosférico. As soluções de complexos tiveram o pH ajustado para próximo de 3,0 pela adição de, aproximadamente, 2,0 mL de HCl 0,10 mol.L⁻¹, resultando em um volume final aproximado de 52 mL. Estas soluções foram tituladas com uma solução padrão de KOH 0,100 mol.L⁻¹ com a adição de alíquotas de 0,05 mL até pH ~ 12,5, com o auxílio de uma bureta Schott modelo T 80/20. As adições sucessivas de base foram realizadas após a obtenção de valores constantes de pH. O pK_w da solução acetoneitrila/água 50:50 % V/V contendo 0,100 mol.L⁻¹ de KCl utilizado para os cálculos, foi 15,40 (HERRADOR, 2002) As titulações foram realizadas em duplicata e os valores apresentados referem-se à média dos dois experimentos. As constantes de equilíbrio foram calculadas com o programa BEST7 (MARTELL, 1992) diagramas de distribuição das espécies presentes em solução em função do pH foram obtidos com os programas SPE (MARTELL, 1992) e SPEPLOT (MARTELL, 1992).

3.2.7. Reatividade

Hidrólise

A atividade catalítica dos complexos **1** e **2** foi avaliada através da reação de hidrólise do substrato bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato [2,4-BDNPP], o qual foi sintetizado de acordo com o método descrito por Bunton (BUNTON, 1969). Os experimentos cinéticos foram realizados em triplicata sob condições de excesso de substrato. Monitorou-se espectrofotometricamente, em um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatizado, a variação de absorbância ocorrida em 400 nm, já que a atividade dos complexos está relacionada à liberação do ânion 2,4-dinitrofenolato (400 nm), como produto da reação de hidrólise. A concentração de 2,4-dinitrofenolato formada foi calculada a partir do coeficiente de extinção molar em 400 nm ($\epsilon = 12100 \text{ L. mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) previamente determinado em pH = 6,50, 7,00 e 9,00 (BATISTA, 2003). As reações foram monitoradas entre 2 a 5% de conversão de substrato a produto e os dados foram tratados pelo método das velocidades iniciais, obtidas diretamente do gráfico da concentração de 2,4-dinitrofenolato *versus* o tempo.

Os estudos em função do pH, os quais visam a obtenção do pH ótimo de atividade e pK_a cinético para cada complexo, foram realizados em uma faixa de pH entre 3,50 e 12,00 em condições de 100 vezes de excesso do substrato a 25°C utilizando cubetas de quartzo e/ou vidro óptico com capacidade para 4 mL e caminho óptico de 1 cm com tampa de teflon, nas quais foram adicionados 1,5 mL de solução aquosa (0,1 mol.L⁻¹) do tampão (MES pH 3,50 a 6,50; HEPES pH 7,00 a 8,50; CHES pH 9,00 a 10,00) com força iônica mantida constante ($I = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) com a adição de perclorato de lítio, 0,100 mL de uma solução estoque do complexo (3,0x10⁻⁴ mol.L⁻¹ em acetonitrila), 0,300 mL de uma solução estoque do substrato (1,0x10⁻² mol.L⁻¹ em acetonitrila), e acetonitrila para completar o volume final de 3,0 mL da mistura reacional. Portanto, as concentrações finais utilizadas de complexo e de substrato foram 2,0x10⁻⁵ mol.L⁻¹ e 1,0x10⁻³ mol.L⁻¹, respectivamente.

Os experimentos em função da concentração do substrato foram realizados a 25 °C utilizando o tampão adequado para que se trabalhe no valor de pH ótimo obtido para cada complexo. Adicionou-se 1,5 mL de tampão (0,1 mol.L⁻¹ em água), 0,100 mL de uma solução estoque do complexo (3,0x10⁻⁴ mol.L⁻¹ em acetonitrila), quantidades adequadas de soluções estoque de substrato de 0,060 mL a 0,600 mL (1,0x10⁻² mol.L⁻¹

em acetonitrila) para os estudos realizados com os complexos **1**, **2** e **3**, respectivamente, e acetonitrila para completar o volume final de 3,0 mL da mistura reacional.

O estudo do efeito isotópico de deutério na hidrólise do 2,4-BDNPP pelos complexos foi realizado pelo acompanhamento de duas reações paralelas onde as soluções tampões MES, HEPES, CHES pH e pD = 6,50 e 7,00 foram previamente preparadas em H₂O e D₂O. As reações foram monitoradas, sob condições de 100 vezes de excesso do substrato, em 400 nm.

Para a atividade de fosfatase do complexo **3**, uma solução estoque do complexo foi preparada em acetonitrila, sob argônio, com concentração $2,04 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹ (obtida através da medida do espectro visível da solução onde $A = 0,9320$, utilizando-se $\epsilon = 4560$ mol⁻¹.L.cm⁻¹). Preparou-se também 25 mL de uma solução estoque do substrato 2,4-bdnpp em acetonitrila sob argônio, com concentração $2,0 \cdot 10^{-2}$ mol.L⁻¹ pesando-se 0,255 g de 2,4-bdnpp. Adicionaram-se à cubeta 2,000 mL de tampão e 1,250 mL de acetonitrila, que foi selada e purgada com argônio durante 20 min. Então, com auxílio de uma seringa Hamilton de 250 μ L, adicionou-se 0,250 mL do complexo **3** seguido por 0,500 mL do substrato e iniciou-se a aquisição dos dados. Simultaneamente a reação de hidrólise do substrato foi acompanhada sob condições similares, sem a presença do complexo: adicionou-se à cubeta 2,000 mL de tampão, 1,500 mL de acetonitrila e 0,500 mL de substrato.

Oxidação

A atividade de catecolase dos complexos **3** [(Fe^{III}Fe^{II}(μ -OAc)₂bpbpmp)]⁺, **4** [(Fe^{III}Fe^{III}(μ -OAc)₂bpbpmp)]²⁺, **5** [(Fe^{III}Cu^{II}(μ -OH)bpbpmp)]²⁺ e **6** [(Fe^{III}Cu^{II}(μ -OH)bpbpmp-CH₃)]²⁺ foi avaliada através da oxidação do substrato modelo 3,5-di-*tert*-butilcatecol (3,5-dtbc). Os experimentos foram seguidos espectrofotometricamente em um espectrômetro Varian Cary50 Bio, conectado a um computador, monitorando-se o aumento da absorção em 400 nm, posição na qual ocorre uma absorção característica da 3,5-di-*tert*-butil-quinona produzida na reação. A velocidade da reação pode então ser avaliada, usando o coeficiente de absorvidade molar = 1760 L mol⁻¹ cm⁻¹, determinado para as condições do experimento (3:2 v/v MeOH/H₂O), para 3,5-di-*tert*-butilquinona e a concentração inicial do complexo.

Os experimentos foram realizados do seguinte modo: Uma solução estoque ($4,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) do complexo em metanol saturado de

argônio foi preparada com o mínimo de 16 horas de antecedência. Durante este intervalo de tempo foi feito acompanhamento da mudança no espectro eletrônico nas condições reacionais e verificou-se que o equilíbrio em solução do complexo foi alcançado. Uma solução estoque ($[3,5\text{-dtbc}] = 8,26 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) do substrato em metanol também foi preparada. Em uma cubeta de 4 mL, adicionaram-se 100 μL de solução tampão e 100 μL da solução estoque do complexo, ambas saturadas com argônio. Na sequência, adicionou-se metanol saturado com O_2 , água desionizada e substrato (20-200 μL), completando 3,0 mL de solução na proporção de 1,8 mL de metanol e 1,2 mL de água (3:2 v/v).

As velocidades iniciais foram obtidas pelo coeficiente angular dos gráficos de absorvância *vs* tempo para os primeiros 5% de reação. Cada experimento foi realizado em triplicata e os resultados avaliados pelo método das velocidades iniciais. Utilizou-se no tratamento de dados para obtenção dos parâmetros cinéticos o tratamento não linear de Michaelis–Menten.

A influência do pH na catálise de oxidação do 3,5-di-*terc*-butilcatecol foi determinada para a faixa de pHs de 4,4 a 9,0. As reações foram realizadas sob as seguintes condições: MeOH/ H_2O 3:2 v/v; [complexo] = $1,39 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[3,5\text{-dtbc}] = 2,77 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; [Tampão] = $3,3 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (Tampão = MES ou TRIS). A relação entre a velocidade de reação e a concentração de 3,5-di-*terc*-butilcatecol foi determinada em pH 6,0, na condição de solvente metanol:água (3:2 v/v). Condições: [complexo] = $1,46 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[3,5\text{-dtbc}] = 0,5\text{-}5,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; [Tampão] = $3,3 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (Tampão = MES).

Para determinar qual das espécies de oxigênio reduzido é formada pela reação (peróxido de hidrogênio ou água), foram preparadas misturas reacionais semelhantes às utilizadas nos experimentos cinéticos. Depois de 1 h de reação um volume igual de H_2SO_4 ($5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foi acrescentado. A quinona foi então lavada 2 vezes com 3 mL de diclorometano. Em uma alíquota de 2 mL da fase aquosa acrescentou-se 1 mL de uma solução 0,30 mol.L⁻¹ de KI. Finalmente, foi adicionada quantidade catalítica (2 gotas) de molibdato de amônio, a fim de acelerar a formação I_3^- que ocorre na presença de H_2O_2 . Esta formação é acompanhada pelo surgimento de uma banda de absorção do íon I_3^- em 353 nm ($\epsilon = 26.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) no espectro eletrônico. Preparou-se também um experimento com as mesmas proporções de solventes e reagentes, porém na ausência de O_2 (soluções saturadas com argônio). Neste experimento não ocorreu qualquer tipo de alteração na região de 400nm do espectro eletrônico, evidenciando que não houve a formação de quinona.

Uma solução estoque do complexo **3** foi preparada em metanol, saturado de Argônio, com concentração $4,18 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Preparou-se também 5 mL de uma solução estoque do substrato em metanol, com concentração $8,31 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$, pesando-se 0,0927 g de 3,5-dtbc. Adicionou-se a cubeta 0,100 mL de tampão saturado de Argônio e 0,100 mL do complexo. Após esse procedimento, foram acrescentados volumes adequados de metanol saturado de O_2 , água desionizada e 0,100 mL do substrato completando o volume de 3,0 mL, dos quais 1,8 mL eram de metanol e/ou soluções metanólicas e 1,2 mL de água (incluindo o tampão). Simultaneamente a reação de oxidação do substrato pelo meio foi acompanhada sob condições similares, exceto pela ausência do complexo. O acompanhamento da reação foi iniciado imediatamente após a adição do substrato a cubeta, através do incremento da absorvância em 400 nm, com o ϵ para o produto determinado como $1760 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, através de curva de calibração realizada nas condições do experimento.

3.3. SÍNTESE DOS LIGANTES

3.3.1. Síntese do 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol – cmff

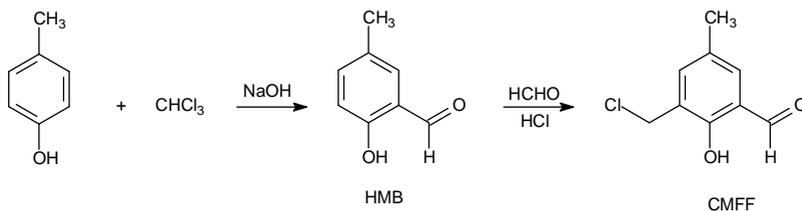


Figura 8 Esquema de síntese do cmff (KARSTEN, 2002).

O núcleo básico cmff foi preparado em duas etapas. Em uma primeira etapa preparou-se o 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (HMB) através de uma reação de formilação do *p*-cresol baseada no procedimento descrito na literatura para a reação de Reimer-Tiemann (THOER, 1988). Em um balão de 3 bocas com capacidade para 5000 mL, equipado com condensador e agitador mecânico, adicionaram-se 1500 mL de clorofórmio e *p*-cresol (21,6 g, 200 mmol). O balão foi colocado em um banho com temperatura controlada entre 56 – 60°C e, sob agitação, iniciou-se a adição de NaOH (60 g, 150 mmol),

solubilizado em 100 mL de água destilada, em pequenas porções durante as 3 primeiras horas de reação. A reação foi mantida por mais 1 hora e após este período deixou-se resfriar até a temperatura ambiente. A seguir, adicionou-se então cerca de 500 mL de água destilada e, sob agitação, iniciou-se a acidificação com HCl concentrado, até pH = 2. A seguir, a fase orgânica foi separada, lavada com água destilada, seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. O material restante (óleo preto viscoso) foi destilado à pressão reduzida com auxílio de uma coluna de vigreux de 40 cm (55 – 65°C a 0,1 mm Hg). Obteve-se o 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (Hmb) como um sólido branco. Este sólido foi solubilizado em um mínimo de diclorometano e purificado com coluna cromatográfica em sílica 70-230 mesh, utilizando diclorometano como eluente. Foram obtidos 13 g (92 mmol) do Hmb como sólido cristalino. Rendimento de 46% em relação ao p-cresol. P.F.: 56°C.

IV (KBr), em cm⁻¹: ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3024-2864; ν (C-H_{ald}) 2738; ν (C=O) 1658; ν (C=C) 1590-1484; δ (O-H) 1372; ν (C-O_{fenol}) 1282; δ (C-H_{ar}) 742.

RMN ¹H - δ_H (200 MHz; CDCl₃), em ppm: 2,34 (s, 3 H, CH₃); 6,90 (d, 1 H, CH_{ar}); 7,34 (dd, 2 H, CH_{ar}); 9,85 (s, 1 H, CH_{ald}); 10,84 (s, 1 H, OH_{fenol}).

A segunda etapa de síntese do cmff é descrita a seguir: Em um balão de 250 mL adicionou-se 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (6,4 g, 47 mmol), formaldeído 37% (3,81 g, 94 mmol) e ácido clorídrico concentrado (25 mL). Esta mistura foi refluxada durante 30 minutos sob agitação magnética e, na sequência, resfriada até 0°C, formando um precipitado compacto no fundo do balão, que foi triturado, filtrado sob vácuo e recristalizado em diclorometano a quente. O sólido obtido foi deixado secar em dessecador com sílica sob vácuo por 12 horas e estocado sob argônio a temperatura inferior a -10°C. O produto, 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol (cmff), foi obtido como sólido branco. P.F.: 95-96°C com rendimento de 90% em relação ao Hmb (42 mmol).

IV (KBr) em cm⁻¹: ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3048-2852; ν (C-H_{ald}) 2749; ν (C=O) 1664; ν (C=C) 1600-1470; δ (O-H) 1378; ν (C-O_{fenol}) 1257; δ (C-H_{ar}) 703; ν (C-Cl) 613.

RMN ¹H - δ_H (200 MHz; CDCl₃), em ppm: 2,35 (s, 3 H, CH₃); 4,67 (s, 2 H, CH₂); 7,35 (s, 1 H, CH_{ar}); 7,46 (s, 1 H, CH_{ar}); 9,86 (s, 1 H, CH_{ald}); 11,25 (s, 1 H, OH_{fenol}).

ATENÇÃO: Durante essa reação forma-se o composto bis-(clorometil) éter, altamente tóxico e comprovadamente um potente agente carcinogênico. Portanto, essa reação deve ser realizada em capela com boa exaustão, utilizando-se máscara e luvas, e todo o material utilizado deve ser lavado com solução alcalina (etanol/água/NaOH: 60 mL/40 mL/5 g, na capela), pois o bis-(clorometil)éter é rapidamente hidrolisado a formaldeído na presença de base. A solução reacional e todos os resíduos devem ser descartados somente após correção do pH ($pH > 9,0$) por adição de hidróxido de sódio ou potássio.

3.3.2. Síntese do N-bis-(2-piridilmetil)amina – bpma

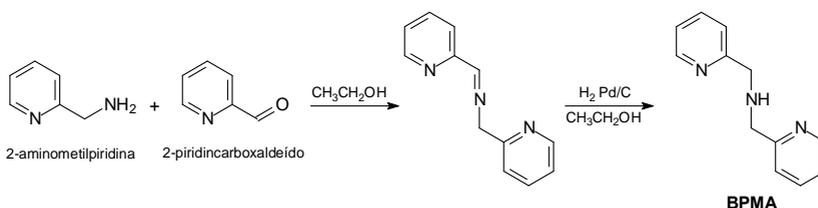


Figura 9 Esquema de síntese do bpma (NEVES, 1996).

O composto bpma foi sintetizado de acordo com a rota sintética já apresentada na literatura (NEVES, 1996). A reação de aminação redutiva foi realizada pela adição lenta (e a 0°C) de uma solução metanólica (50 mL) contendo 10,7 g de 2-piridincarboxaldeído (100 mmol) à uma solução metanólica de 2-(2-aminometil)piridina (10,8 g, 100 mmol). Após a adição, retirou-se o banho de gelo e a reação permaneceu sob agitação por 1 hora. A solução foi então transferida para um recipiente apropriado contendo 1,0 g de paládio/carbono 5%, sob atmosfera de hidrogênio a 60 psi e agitada durante 15 horas. A mistura foi filtrada para separar o catalisador e o solvente foi evaporado a pressão reduzida a 40°C . O balão contendo o produto desejado foi deixado sob vácuo (0,1 mm Hg por 12 horas) aquecido a 40°C para retirada de todo solvente. O produto bpma foi obtido como um óleo amarelo com rendimento quantitativo (19,7 g, 98 mmol) e foi caracterizado por infravermelho e RMN ^1H .

IV (KBr) em cm^{-1} : ν (N-H) 3300; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3062-2828; ν (C=N e C=C) 1592-1434; ν (C-N) 1148; δ (C-H_{ar}) 758.

RMN ^1H - δ_{H} (400 MHz; CDCl_3), em ppm: 2,90 (s, 1 H, NH); 3,99 (s, 4 H, CH_2); 7,15 (dd, 2 H, CH_{ar}); 7,35 (d, 2H, CH_{ar}); 7,63 (dt, 2H, CH_{ar}); 8,56 (d, 2 H, CH_{ar}).

3.3.3. Síntese do 2-[N-bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-formilfenol – bpmamff

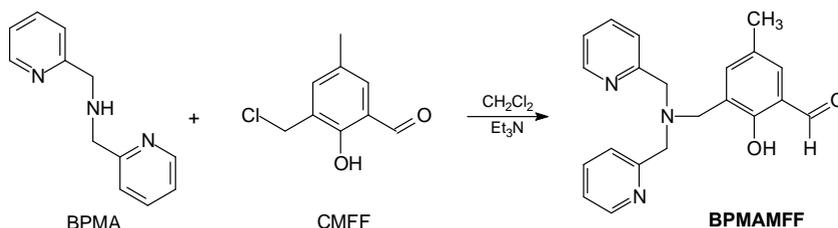


Figura 10 Esquema de síntese do bpmamff (KARSTEN, 2002).

Realizou-se uma reação de substituição nucleofílica do cloreto do cmff pela amina secundária do bpma, formando 2-[bis-(piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-formil-fenol (bpmamff), de acordo com a rota descrita por Karsten e colaboradores (KARSTEN, 2002).

Em um balão de 250mL, foram adicionados 5,6g de cmff (30 mmol, $184,62\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) dissolvidos em 80mL de diclorometano. Sob agitação e a 0°C , foram adicionados lentamente, 80 mL de uma solução em diclorometano contendo 6,0g de bpma (30 mmol, $199,26\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Completada a adição, o banho de gelo foi removido e a mistura reacional foi deixada sob agitação por 12 horas a temperatura ambiente. Após esse período, a solução foi transferida para um funil de separação e lavada por 8 x 40 mL com uma solução aquosa de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado até a secura sob vácuo a 40°C , restando um óleo amarelado que foi dissolvido em 40mL de isopropanol a quente e transferido para um béquer. Após algumas horas, formou-se um precipitado cristalino que foi lavado com isopropanol gelado e filtrado. Foram obtidos 8,0g de bpmamff ($23,1$ mmol, $347,42\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) com rendimento de 77%.

IV (KBr), em cm^{-1} : ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3038-2849; ν (C=O) 1680; ν (C=N e C=C) 1591-1437; δ ($\text{O-H}_{\text{fenol}}$) 1378; ν ($\text{C-O}_{\text{fenol}}$) 1276; ν (C-N) 1114; δ (C-H_{Ar}) 773.

RMN ^1H - δ_{H} (400 MHz; CDCl_3), em ppm: 2,30 (s, 3 H); 3,74 (s, 2 H); 3,94 (s, 4 H); 7,18-7,30 (m, 3 H); 7,40-7,47 (m, 3 H); 7,64-7,72 (m, 2 H); 8,60 (d, 2 H); 10,45 (s, 1H).

3.3.4. Síntese do 2-[N-bis-(2 - piridilmetil) aminometil] - 4 - metil-6-[N-(2-piridilmetil) aminometil]fenol - Hpy₃

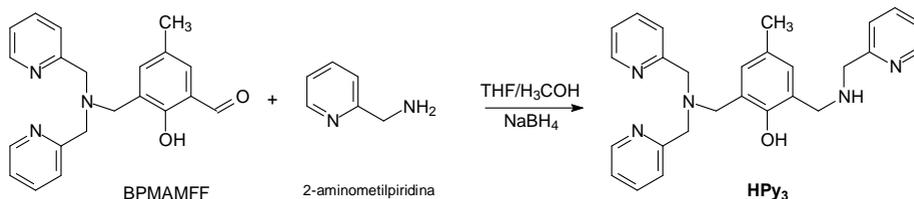


Figura 11 Esquema de síntese do Hpy₃ (GREATTI, 2004).

O composto Hpy₃ foi sintetizado como descrito na literatura (GREATTI, 2004).

Em um balão de 250 mL foram dissolvidos em 80 mL de $\text{CH}_3\text{OH}/\text{THF}$ 50% V/V 3,16 g (9,1 mmol) do aldeído bpmamff. Á esta solução, adicionaram-se 2,1 g de 2-(2-aminometil)piridina (9,1 mmol) formando uma solução amarela intensa, que foi deixada sob agitação por 1 hora. Em seguida iniciou-se a redução da imina pela adição lenta (cerca de 1 hora) de borohidreto de sódio (0,38 g, 10 mmol) obtendo ao final da adição uma solução amarela clara. A mistura reacional permaneceu sob agitação por mais uma hora e então ajustou-se o pH entre 6 e 7 pela adição de HCl 2 mol.L⁻¹. Em seguida evaporou-se o solvente sob vácuo a 40 °C. Ao óleo resultante adicionou-se 80 mL de diclorometano e, com o auxílio de um funil de separação, lavou-se 6 vezes a solução resultante com uma solução aquosa de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente evaporado até secura sob vácuo, a 40 °C, resultando um óleo amarelo claro o qual foi deixado sob pressão reduzida (0,1 mm Hg) por 6 horas. Rendimento 98 % (3,92 g, 8,9 mmol) em relação ao bpmamff. O ligante Hpy₃ foi caracterizado por Infravermelho e RMN ^1H .

IV(filme), em cm^{-1} : ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3061-2824; ν (C=N e C=C) 1592-1434; δ (O-H_{fenol}) 1364; ν (C-O_{fenol}) 1233; ν (C-N) 1149; δ (C-H_{Ar}) 761.

RMN ^1H - δ_{H} (400 MHz; CDCl_3), em ppm: 2,22 (s, 3H, CH_3); 3,73 (s, 2H, CH_2); 3,86 (s, 4H, CH_2), 3,94 (s, 4H, CH_2); 6,88 (s, 1H, CH_{ar}); 6,94 (s, 1H, CH_{ar}); 7,16 (dd, 3H, CH_{ar}); 7,36 (d, 3H, CH_{ar}), 7,60 (td, 3H, CH_{ar}), 8,55 (d, 3H, CH_{ar}).

3.3.5. Síntese do Ligante 2-[N-bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-[N-(2-hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)aminometil] fenol – H₂py₃mff

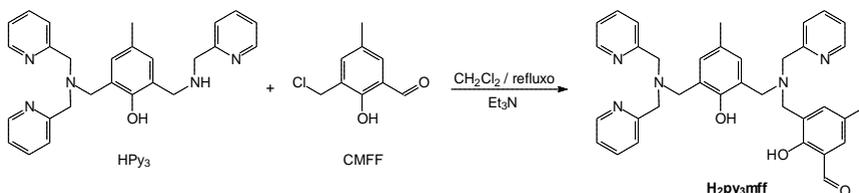


Figura 12 Esquema de síntese do H₂py₃mff (PIOVEZAN, 2010).

Em um balão de 250 mL adicionaram-se 80 mL de diclorometano, 4,39 g (10 mmol) de 2-[N-bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil]fenol (Hpy₃) (10 mmol) e trietilamina (1,7 mL, 12 mmol). À esta solução, foram adicionados 1,85 g de 3-(clorometil)-2-hidroxi-5-metilbenzaldeído (10 mmol). A mistura reacional permaneceu sob agitação e refluxo por cinco dias. Após este período a solução foi extraída com uma solução aquosa de (10%) de NH₄Cl (5x40mL). A fase aquosa foi basificada a pH 10 com solução aquosa saturada de Na₂CO₃ foi extraída com porções de CH₂Cl₂ (5 X 30 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e concentrado sob pressão reduzida a 40°C e um sólido amarelo foi obtido. Rendimento 90%.

IV (KBr), em cm^{-1} : ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3060-2854; ν (C=O), 1678, ν (C=N e C=C), 1590-1439; ν (C-O) 1265; δ (C-H_{ar}) 749.

RMN ^1H , \square H em ppm (400 MHz; CDCl_3): 10,29 [1H, aldeído], 8,55 [2H, py]; 8,53 [1H, py], 7,59-6,86 [13H, ar]; 3,90-3,75 [12H, CH_2], 2,23 [3H, CH_3] 2,21 [3H, CH_3].

% CHN calculados para C₃₆H₃₇N₅O₃ (587,72 g.mol⁻¹): C_{73,57} H_{6,35} N_{11,92}

% CHN obtidos: C_{72,18} H_{6,85} N_{12,02}

3.4. Síntese dos compostos de coordenação

3.4.1. Síntese do complexo Perclorato de μ -hidroxo 2-[N-bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-[N-(2-hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)aminometil] fenol Fe(III) Zn(II) - Fe^{III}(μ -OH)Zn^{II}(py₃mff)(H₂O)](ClO₄)₂ · H₂O – 1

O complexo [Fe^{III}Zn^{II}(μ -OH)(H₂O)(py₃mff)](ClO₄)₂ foi sintetizado de maneira análoga ao descrito na literatura (NEVES, 2007). A 20 mL de uma solução metanólica, contendo 1 mmol ligante H₂py₃mff, adicionaram-se, sob agitação e leve aquecimento, 1 mmol de Zn(ClO₄)₂·6H₂O. Em seguida adicionaram-se, gota a gota, 80 mL de uma solução metanólica contendo 1 mmol de Fe(ClO₄)₃·9H₂O. A agitação e o aquecimento foram mantidos por aproximadamente 15 minutos. Em seguida, adicionaram-se 3,0 mL de NaOH 1 mol.L⁻¹, gota a gota, 1 mmol de NaClO₄, filtrou-se e deixou-se em repouso. Após cerca de 10 minutos, à temperatura ambiente, houve a formação de um precipitado púrpura, o qual foi filtrado e lavado com água e éter etílico gelados. O pó foi recristalizado em metanol e houve a formação de monocristais púrpura. Rendimento: 56% (0,56 mmol), baseado no ligante H₂py₃mff.

% CHN calculados para FeZnC₃₆H₄₀N₅O₁₃Cl₂ ·H₂O (960,89 g.mol⁻¹):

C_{45,00} H_{4,41} N_{7,29}

% CHN obtidos: C_{46,32} H_{4,95} N_{7,22}

A Figura 13 apresenta o espectro no IV para o complexo **1**. IV (KBr), em cm⁻¹: ν (OH) 3426; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3039-2861; ν (C=O), 1655, ν (C=N e C=C), 1610-1437; ν (C-O) 1276; ν (Cl-O) 1097; δ (C-H_{ar}) 767.

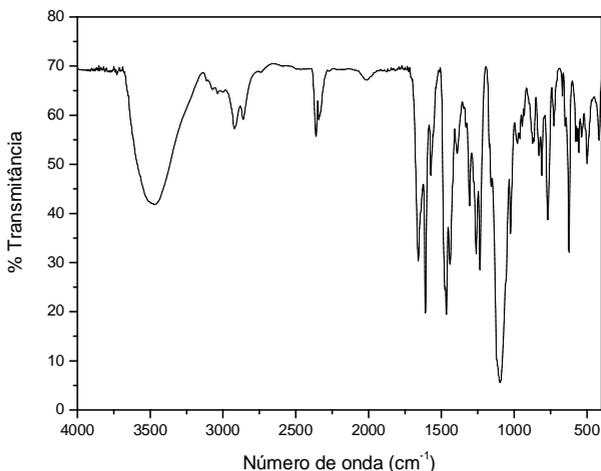


Figura 13 Espectro no Infravermelho do complexo **1**, em pastilha de KBr.

3.4.2. Síntese do complexo Perclorato de μ -hidroxo 2-[*N*-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[*N*-(2-hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)aminometil]fenol Fe(III) Cu(II) - Fe^{III}(μ -OH)Cu^{II}(py₃mff)(H₂O)](ClO₄)₂ - 2

O complexo [Fe^{III}Cu^{II}(μ -OH)(H₂O)(py₃mff)](ClO₄)₂ foi sintetizado de maneira análoga ao complexo **1**. A uma solução metanólica, contendo 1 mmol do ligante H₂py₃mff, adicionou-se 1 mmol de Cu(ClO₄)₂.6H₂O. A solução resultante foi mantida solução sob agitação e leve aquecimento por aproximadamente 15 minutos, para então ser iniciada a adição, gota a gota, de uma solução metanólica, contendo 1 mmol de Fe(ClO₄)₃.9H₂O. Em seguida, adicionaram-se 3,0 mL de uma solução aquosa de NaOH 1 mol.L⁻¹, 1 mmol de NaClO₄, filtrou-se e deixou-se em repouso. Após cerca de 5 dias, houve a formação de cristais vermelhos.

Rendimento: 52% (0,52 mmol), baseado no ligante H₂py₃mff.

% CHN calculados para FeCuC₃₆H₄₀N₅O₁₃Cl₂.H₂O (957,08 g.mol⁻¹):

C_{45,95} H_{4,28} N_{7,44}

% CHN obtidos: C_{48,26} H_{4,65} N_{7,11}

A Figura 14 apresenta o espectro no IV para o complexo **2**. IV (KBr), em cm^{-1} : ν (OH) 3450; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3050-2800 ν (C=O), 1650, ν (C=N e C=C), 1610-1440; ν (C-O) 1276; ν (Cl-O) 1094; δ (C-H_{ar}) 767.

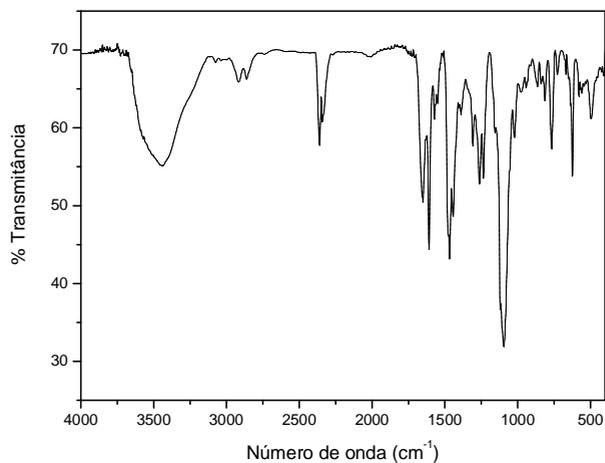


Figura 14 Espectro no Infravermelho do complexo **2**, em pastilha de KBr.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES

Os precursores e os ligantes sintetizados neste trabalho foram caracterizados através de espectroscopia no infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H). Os valores das principais bandas encontradas nos espectros na região do infravermelho e as suas respectivas atribuições podem ser encontrados juntamente com os procedimentos experimentais de síntese de cada composto.

4.1.1. Espectroscopia no Infravermelho

A espectroscopia no infravermelho é geralmente utilizada como uma primeira análise para a verificação da formação de cada ligante em cada etapa de síntese. Assim, as principais bandas foram atribuídas com base em semelhança, de modo a serem utilizadas para acompanhar a formação dos compostos em cada etapa da reação, por meio do acompanhamento da presença ou ausência de bandas características.

Conforme apresentado na Tabela 1, observa-se que as bandas referentes aos estiramentos e deformações angulares das ligações C=C, C-O e C-H dos fenóis e C=N, C=C e C-H das piridinas, encontram-se na mesma região do espectro no infravermelho para ligantes semelhantes (NAKAMOTO, 1978; NEVES, 1995; HORN, 2001; KARSTEN, 2002; ROSSI, 2002; GREATTI, 2004; PERALTA, 2006).

Os compostos Hmb, cmff e $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$ apresentam uma banda intensa em torno de 1670 cm^{-1} atribuída ao estiramento da ligação C=O, característica de aldeídos. A presença da banda em 613 cm^{-1} no espectro do cmff quando comparado ao do Hmb, atribuída ao estiramento da ligação C-Cl evidenciou a formação do produto cmff.

Tabela 1 Principais bandas observadas no espectro na região do infravermelho dos pró-ligantes e do ligante H₂py₃mff, em número de onda (cm⁻¹).

Atribuições	Hmb	cmff	bpma	bpmamff	Hpy ₃	H ₂ py ₃ mff
$\nu(\text{C-H}_{\text{ar}})$	3024	3048	3062	3038	3061	3060
e C-H_{alif}	a	a	a	a	a	a
	2864	2852	2828	2849	2824	2854
$\nu(\text{C-H}_{\text{ald}})$	2738	2749	-	-	-	2716
$\nu(\text{C=O})$	1658	1664	-	1680	-	1678
$\nu(\text{C=N})$	1590	1600	1592	1591	1592	1590
e C=C	a	a	a	a	a	a
	1484	1470	1434	1437	1434	1439
$\nu(\text{O-H}_{\text{fenol}})$	1372	1378	-	1378	1364	1369
$\nu(\text{C-O}_{\text{fenol}})$	1282	1257	-	1276	1233	1265
$\nu(\text{C-N})$	-	-	1148	1114	1149	1115
$\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$	742	703	758	773	761	749
$\nu(\text{C-Cl})$	-	613	-	-	-	-

4.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio – RMN ¹H

A espectroscopia de RMN ¹H também foi uma ferramenta bastante útil para a caracterização de cada composto sintetizado. A integração dos sinais registrados nos espectros de RMN ¹H e seus deslocamentos químicos permitiram a distinção entre os átomos de hidrogênio metílicos, metilênicos e aromáticos e, conseqüentemente, determinar o número de hidrogênios presentes em cada ligante. Estas informações permitiram confirmar a obtenção e a pureza dos ligantes sintetizados. Os valores de deslocamento químico (δ_{H} em ppm), o número de hidrogênios correspondentes e as atribuições dos sinais estão sumarizados na Tabela 2. O espectro referente ao ligante H₂py₃mff está apresentado na Figura 15.

Tabela 2 Deslocamentos químicos (ppm) observados nos espectros de RMN ^1H para os pró-ligantes e para o ligante final $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$.

Atribuição	cmff	bpma	Bpmamff	Hpy ₃	H ₂ py ₃ mff
CH ₃	2,35 (s, 3H)	-	2,28 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)	2,20 (s, 1H)
CH ₂	4,67 (s, 2H)	3,99 (s, 4H)	3,80 (s, 2H) 3,89 (s, 4H)	3,73 (s, 2H) 3,86 (s, 4H) 3,94 (s, 4H)	3,20 (s, 2H) 3,66 (s, 2H) 3,80 (s, 2H) 3,83 (s, 2H) 3,87 (s, 2H) 3,89 (s, 2H)
CH _{aldeído}	9,86 (s, 1H)	-	9,98 (s, 1H)	-	10,29 (s, 1H)
OH _{fénol}	11,25 (s, 1H)	-	11,04 (s, 1H)	-	-
CH _{ar}	7,35 (s, 1H) 7,46 (s, 1H)	7,15 (dd, 2 H) 7,35 (d, 2H) 7,63 (dt, 2H) 8,56 (d, 2 H)	6,78-7,30 (m, 9H)	6,88 (s, 1H) 6,94 (s, 1H) 7,16 (dd, 3H) 7,36 (d, 3H) 7,60 (td, 3H) 8,55 (d, 3H)	6,69-6,88 (m, 4H) 7,04-7,36 (m, 6H) 7,56-7,74 (m, 2H) 8,58 (dd, 2H)

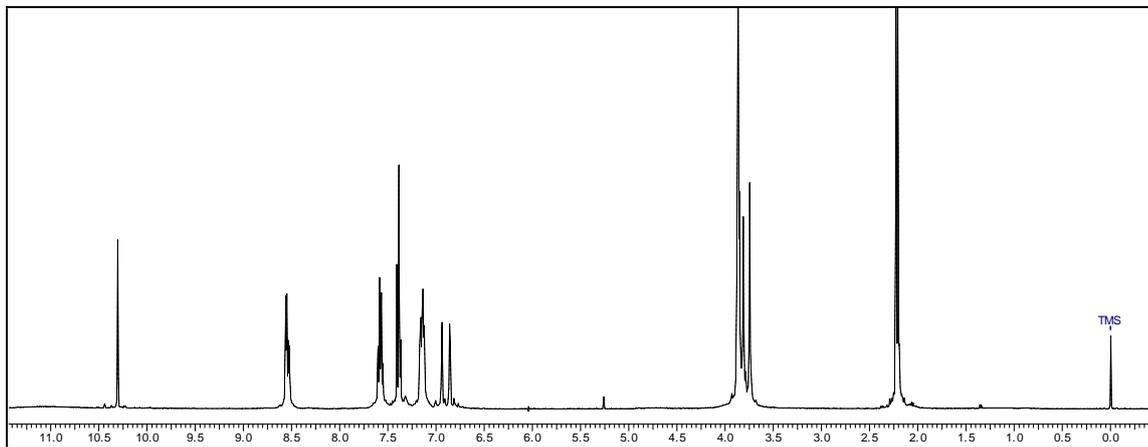


Figura 15 Espectro de RMN ^1H para o ligante $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$, em CDCl_3 .

4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

4.2.1. Espectroscopia no Infravermelho - IV

Também para o acompanhamento inicial da formação dos complexos a espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada. Os espectros dos complexos nesta região são bastante similares àqueles obtidos para o ligante livre, indicando sua presença nos compostos isolados.

Apresenta-se na Figura 16, o espectro do ligante livre H_2py_3mff sobreposto aos seus respectivos complexos (**1** e **2**). A partir da comparação dos espectros do ligante livre e dos complexos foi possível a comparação das bandas características e seus deslocamentos quando da formação dos complexos, além da presença de bandas adicionais, com destaque às bandas referentes ao contra-íon perclorato. Na Tabela 3 estão apresentadas as principais bandas e atribuições para os complexos **1** e **2** (NAKAMOTO, 1978)

Figura 16 Sobreposição dos espectros na região do infravermelho para o ligante H_2Py_3mff e o complexo **1** (esquerda) e **2** (direita).

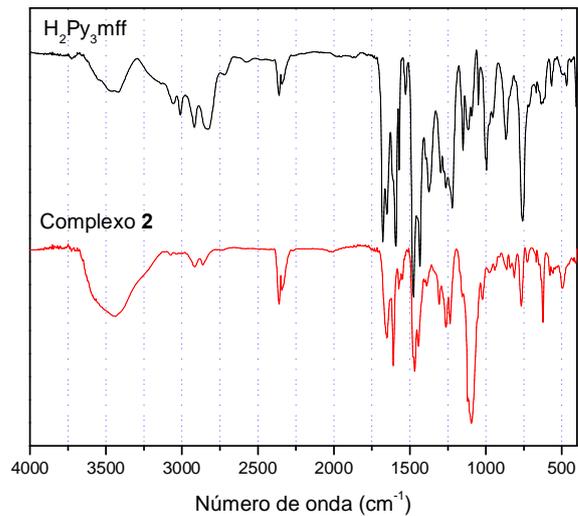
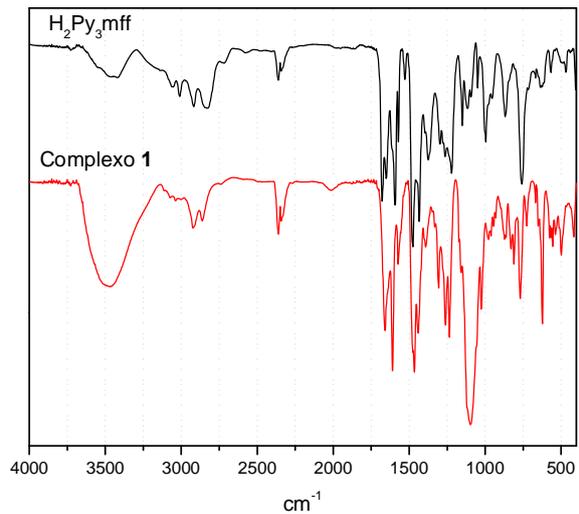


Tabela 3 Principais bandas e suas respectivas atribuições em cm^{-1} , dos espectros no infravermelho dos complexos.

Atribuição	1	2
$\nu(\text{O-H})$	3373	3426
$\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$	3055-2920	3044-2924
$\nu(\text{C=O}_{\text{aldeido}})$	1658	1643
$\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$	1608-1444	1610-1484
$\nu(\text{C-O})$	1280	1277
$\nu(\text{Cl-O})$	1087	1104
$\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$	769	766

O ligante $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$ apresenta bandas intensas entre 1600 e 1400 cm^{-1} , referentes aos estiramentos das ligações C=N e C=C dos anéis aromáticos. Nos complexos **1** e **2** estas bandas também são observadas com intensidades relativas similares. Outra banda característica do ligante e também presente nos complexos, é a referente ao estiramento da ligação C=O em 1678 cm^{-1} , também presente nos complexos, em 1658 cm^{-1} e 1643 cm^{-1} , respectivamente.

A ausência da banda de média intensidade em 1368 cm^{-1} , nos espectros dos complexos, presente no ligante livre, atribuída à deformação angular fora do plano da ligação $\text{H-O}_{\text{fenol}}$, indica a complexação dos metais aos fenóis na forma desprotonada, coordenando como fenolato terminal, além da ponte fenoxo nos complexos.

Outra banda comum aos espectros dos complexos **1** e **2** é a presente em cerca de 1090 cm^{-1} referente ao estiramento Cl-O do contra-íon perclorato, reforçando ainda mais a formação dos complexos.

4.2.2. Estrutura Cristalina por Difração de raios X

As estruturas cristalinas dos complexos $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{py}_3\text{mff})\text{H}_2\text{O}](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**1**) e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{py}_3\text{mff})\text{H}_2\text{O}](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**2**), foram obtidas por meio das análises de monocristais dos respectivos complexos pelo método de difração de raios X.

As representações gráficas das estruturas são apresentadas nas páginas seguintes, juntamente com um desenho esquemático apresentado na Figura 17, elaborado para facilitar a visualização e comparação entre os diferentes compostos, e as tabelas contendo as principais distâncias interatômicas e ângulos de ligação.

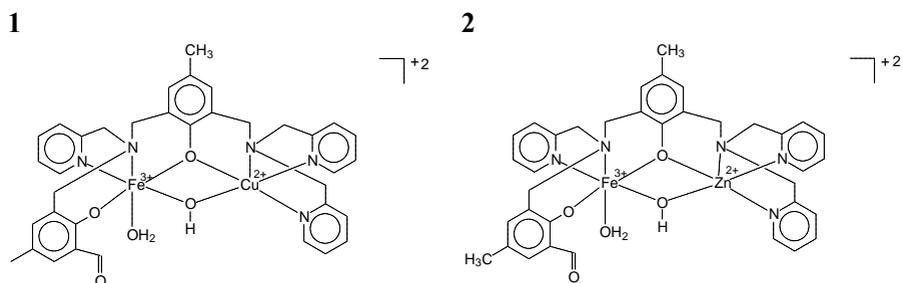


Figura 17 Desenhos esquemáticos representando as estruturas cristalinas dos cátions complexos **1** e **2**.

Alguns dados cristalográficos selecionados podem ser encontrados na Tabela 4 e na

Tabela 5 podem ser encontrados alguns comprimentos e ângulos de ligação selecionados, apresentados de maneira que os complexos em estudo possam ser diretamente comparados entre si e com os complexos descritos na literatura, como os complexos $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmpp})](\text{ClO}_4)_2$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmpp})](\text{ClO}_4)_2$.

Os complexos **1** e **2** apresentam uma estrutura heterodinuclear onde cada íon metálico encontra-se coordenado por uma das metades do ligante heptadentado $(\text{py}_3\text{mff})^{2-}$, e ponteados pelos grupos fenolato 2,4,6-substituído e um grupo hidroxio exógeno. Há ainda na cela unitária dois ânions perclorato como contra-íons e uma molécula de água de cristalização.

Tabela 4 Dados Cristalográficos selecionados e refinamento da estrutura para os complexos **1** e **2**.

	Complexo 1	Complexo 2
Fórmula empírica	$\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{Cl}_2\text{FeN}_5\text{O}_{14}\text{Zn}$	$\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{Cl}_2\text{CuFeN}_5\text{O}_{14}$
massa molar	958,85 g/mol	957,02 g/mol
sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico
grupo espacial	P 21/n	P 21/n
cela unitária	a = 10.664(4) Å b = 20.656(5) Å c = 18.732(3) Å $\beta = 101.52(2)^\circ$	a = 10.6927(6) Å b = 20.5980(10) Å c = 18.6984(8) Å $\beta = 101.503(3)^\circ$
Volume	4043,1(19) Å ³	4035,6(3) Å ³
Z	4	4

Densidade	1,575 g/cm ³	1,575 g/cm ³
reflexões coletadas	7405	22932
Únicas	7116	7014
Rinterno	0,0310	0,0606
parâmetros refinados	528	534
“goodness-of-fit”	1,043	1,091
índices finais	R1 = 0,1688	R1 = 0,0753
[I>2σ(I)]	wR2 = 0,2539	wR2 = 0,2211

Tabela 5 Comprimentos [Å] e ângulos [°] de ligação selecionados para o complexo **1**, **2**, [Fe^{III}(μ-OH)Zn^{II}(bpbpmp)](ClO₄)₂, [Fe^{III}(μ-OH)Cu^{II}(bpbpmp)](ClO₄)₂, **5** - [Fe^{III}(μ-OH)Zn^{II}(bpbpmp-CH₃)](ClO₄)₂ e **6** - [Fe^{III}(μ-OH)Cu^{II}(bpbpmp-CH₃)](ClO₄)₂

LIGAÇÕES	1	2	[Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} bpbpmp]	[Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} bpbpmp] ²⁺	5	6
Fe-M ^{II}	3,055(16)	3,053(11)	3,0404(14)	3,0403(11)	3,0862(18)	3,0692(7)
Fe-O _{fenolato terminal}	1,925(5)	1,911(4)	1,924(6)	1,920(4)	1,893(3)	1,886(3)
Fe-O _{fenolato ponte}	2,032(5)	2,001(4)	2,027(5)	2,003(4)	2,053(3)	2,010(3)
Fe-O _{hidroxo ponte}	1,912(6)	1,937(5)	1,934(6)	1,942(4)	1,920(7)	1,928(3)
Fe-O _{água terminal}	2,082(6)	2,070(5)	2,054(6)	2,035(5)	2,112(3)	2,103(3)
Fe-N _{amina}	2,163(7)	2,189(5)	2,177(7)	2,188(5)	2,186(3)	2,192(3)
Fe-N _{piridina}	2,132(7)	2,147(5)	2,136(7)	2,168(5)	2,137(8)	2,140(4)
M ^{II} -O _{fenolato ponte}	2,079(5)	2,101(4)	2,059(5)	2,087(4)	2,101(3)	2,091(3)
M ^{II} -O _{hidroxo ponte}	1,978(6)	1,929(4)	1,966(5)	1,914(4)	1,969(6)	1,910(3)
M ^{II} -N _{amina}	2,149(6)	2,006(5)	2,140(7)	1,999(5)	2,152(7)	1,998(3)
M ^{II} -N _{piridina}	2,044(8)	2,053(6)	2,050(7)	2,079(5)	2,056(8)	2,079(4)
M ^{II} -N _{piridina trans fenolato}	2,062(8)	2,006(5)	2,067(7)	2,022(5)	2,073(8)	2,011(4)
M ^{II} -O _{fenolato ponte-Fe}	96,0(2)	96,15(16)	96,2(2)	96,02(16)	95,96(13)	96,88(11)
N _{amina} -Fe-N _{piridina}	77,8(3)	78,0(2)	77,9(2)	77,00(18)	78,0(11)	78,22(12)
N _{amina} -Fe-O _{fenolato terminal}	92,1(2)	91,88(18)	92,5(2)	92,92(18)	92,23(7)	92,03(12)
N _{amina} -M ^{II} -N _{piridina 1}	81,4(3)	83,8(2)	81,0(3)	83,5(2)	80,8(3)	83,66(13)
N _{amina} -M ^{II} -N _{piridina 2}	80,6(3)	83,0(2)	80,7(3)	82,34(19)	79,6(3)	82,19(14)

[Fe^{III}(μ-OH)Zn^{II}(bpbpmp)]²⁺ (NEVES, 2007); [Fe^{III}(μ-OH)Cu^{II}(bpbpmp)]²⁺ (CASELLATO, 2007); [Fe^{III}(μ-OH)Zn^{II}(bpbpmp-CH₃)]²⁺ (PERALTA, 2005); [Fe^{III}(μ-OH)Cu^{II}(bpbpmp-CH₃)]²⁺ (CASELLATO, 2007)

Para ambos os complexos, a coordenação do ligante no centro de Fe^{III} ocorre de maneira facial envolvendo o braço duro do ligante contendo a série de átomos doadores N_2O . Dessa forma, ao centro de Fe^{III} estão coordenados os átomos de nitrogênio provenientes da amina terciária e da piridina. A esfera N_2O_4 é completada pelos átomos de oxigênio provenientes da ponte fenoxo, da ponte exógena hidróxido, do fenolato terminal, além de uma molécula de água. Neste arranjo, a ponte fenoxo encontra-se *trans* ao fenolato terminal, a ponte hidróxido está *trans* ao nitrogênio da amina terciária, e a molécula de água, está *trans* ao nitrogênio piridínico.

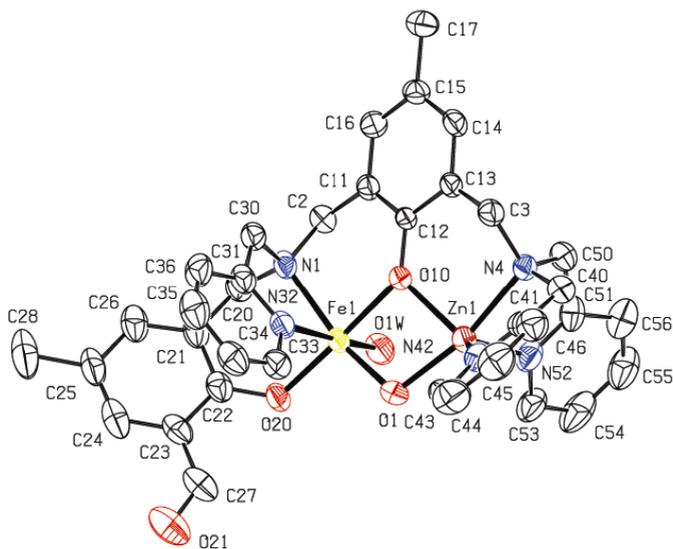


Figura 18 Representação ORTEP do cátion complexo da estrutura cristalina de **1**.

O centro de Zn^{II} presente no complexo **1** (Figura 18), está pentacoordenado com uma geometria de bipirâmide trigonal distorcida, conforme evidenciado pelo parâmetro de Addison $\tau = 0,73$ (ADDISON, 1984). Nas posições axiais estão o oxigênio da ponte hidróxido, e o nitrogênio da amina terciária. No plano equatorial estão coordenados os átomos de nitrogênio piridínico além do átomo de oxigênio da ponte fenolato.

Desta forma, o complexo pode ser considerado como modelo estrutural para a kbPAP, pois contém apenas um grupo fenolato terminal, uma ponte hidróxido e uma molécula de água ligada ao sítio de Fe^{III} .

O Complexo **2** (Figura 19), além do centro de Fe^{III} com coordenação semelhante ao já descrito para **1**, possui o centro Cu^{II} coordenado ao lado macio do ligante, pentacoordenado, com uma geometria de bipirâmide trigonal distorcida. Esta é denotada pelo valor do parâmetro de Addison encontrado ($\tau = 0,756$) (ADDISON, 1984). Nas posições axiais estão o oxigênio da ponte hidróxido, e o nitrogênio da amina terciária. No plano equatorial estão coordenados os átomos de nitrogênio piridínico além do átomo de oxigênio da ponte fenolato.

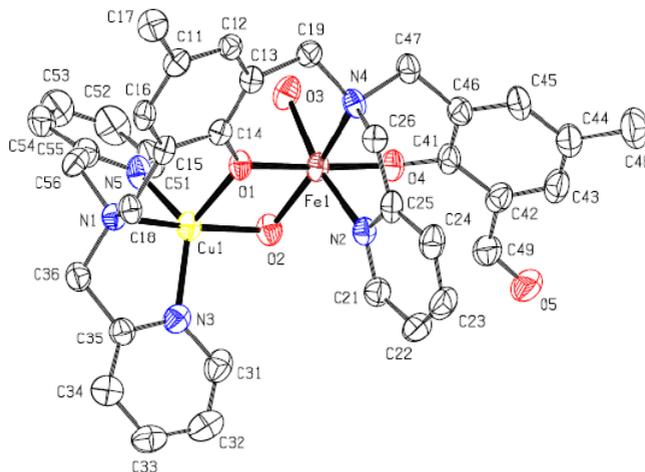


Figura 19 Representação ORTEP para o cátion complexo **2**.

As distâncias médias das ligações envolvendo os metais nos complexos **1** e **2** são similares àquelas observadas para os correspondentes complexos de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ contendo o ligante bpbmp^{2-} e bpbmp-CH_3^{2-} , apresentados na Tabela 6 (NEVES, 2007), (PERALTA, 2005), (CASELLATO, 2007). Finalmente, pode-se observar nas estruturas dos complexos **1** e **2**, que o grupamento carbonila no fenolato terminal encontra-se idealmente posicionado para a realização de reações químicas adicionais e pode, dessa forma, ser utilizado para o desenvolvimento de novos protocolos para o ancoramento covalente do catalisador em materiais sólidos como, por exemplo, 2-aminopropil sílica ou sondas fluorescentes como acridina ou outros compostos químicos que possam reagir com essa função química. (PIOVEZAN, 2010).

Tabela 6 Distâncias Fe^{III}-M^{II} [Å] e distâncias médias das esferas de coordenação para os complexos **1**, **2**, [Fe^{III}(μ-OH)Zn^{II}(bpbpmp)](ClO₄)₂, [Fe^{III}(μ-OH)Cu^{II}(bpbpmp)](ClO₄)₂, **5** - [Fe^{III}(μ-OH)Zn^{II}(bpbpmp-CH₃)](ClO₄)₂ e **6** - [Fe^{III}(μ-OH)Cu^{II}(bpbpmp-CH₃)](ClO₄)₂

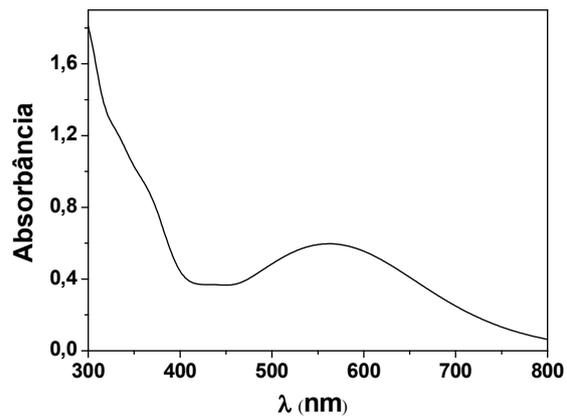
Complexos	Distância Fe ^{III} -M ^{II}	Distâncias Médias Fe ^{III} -	Distâncias Médias M ^{II} -
1	3,055	2,041	2,062
2	3,053	2,042	2,019
[Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbpmp)] ²⁺	3,0403	2,042	2,056
[Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbpmp)] ²⁺	3,0404	2,043	2,020
[Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbpmp-CH ₃)] ²⁺	3,0862	2,050	2,070
[Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbpmp-CH ₃)] ²⁺	3,0692	2,043	2,018
[Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbpmp)] ²⁺ (NEVES, 2007); [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbpmp)] ²⁺ (CASELLATO, 2007); [Fe ^{III} (μ-OH)Zn ^{II} (bpbpmp-CH ₃)] ²⁺ (PERALTA, 2005); [Fe ^{III} (μ-OH)Cu ^{II} (bpbpmp-CH ₃)] ²⁺ (CASELLATO, 2007)			

4.2.3. Espectroscopia Eletrônica

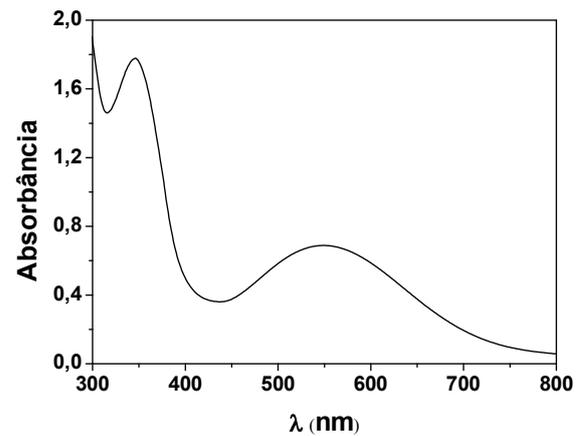
Os espectros eletrônicos dos complexos (Figura 20) foram investigados na região entre 300 e 850 nm em acetonitrila. Os valores dos comprimentos de onda máximo e dos coeficientes de absorvidade molar estão sumarizados na Tabela 7.

Figura 20 Espectro eletrônico dos complexos **1** e **2** [Complexo] = $3,0 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, em solução de acetonitrila.

1



2



O espectro UV-Vis do complexo **1** apresenta uma banda centrada em 562 nm ($\epsilon=2080 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), atribuída a um processo de transferência de carga do tipo ligante \rightarrow metal (TCLM) dos orbitais π do fenolato do ligante para os orbitais $d\pi^*$ do íon Fe^{III} . Um segundo processo de transferência de carga do tipo ligante-metal aparece como um ombro na região próxima a 350 nm, e é atribuída como sendo uma transição entre os orbitais π do fenolato e $d\sigma^*$ do Fe^{III} . O complexo **2** apresenta as mesmas bandas, com mesma atribuição, sendo a banda em menor energia centrada em 546 nm ($\epsilon=2100 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), a banda em maior energia, em 345 nm ($\epsilon=5030 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Tabela 7 Máximos de absorção e coeficientes de absorção molar ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) para os complexos **1**, **2**, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$

Complexos	λ_{Max} (nm) / ϵ ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)
1	562 / 2080; 350 (ombro)
2	546 / 2100; 345 / 5030
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$	544 / 2800
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$	534 / 2300
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$	547 / 2195; 318 (ombro)
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$	555 / 3310

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$ (NEVES, 2007); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$ (CASELLATO, 2007); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$ (PERALTA, 2005); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$ (CASELLATO, 2007)

Comparando-se os espectros dos dois complexos houve um deslocamento para menor energia (batocrômico) para as bandas do complexo **2** devido ao acoplamento entre os sítios de Fe^{III} e Cu^{II} , o que não ocorre para o complexo **1**. O mesmo deslocamento foi encontrado para complexos isoestruturais de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ (LANZMASTER, 2003) e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ (CASELLATO, 2007) com o ligante H_2bpbmp , onde os máximos de absorção em acetonitrila foram de 544 nm para 534 nm para a banda de transferência de carga ($\pi_{\text{fenolato}} \rightarrow d\pi^*_{\text{Fe-III}}$).

4.2.4. Eletroquímica

O comportamento eletroquímico do complexo **1** foi investigado por voltametria cíclica e por voltametria de onda quadrada. Os voltamogramas cíclicos e de onda quadrada para os complexos foram obtidos em solução etanol/água 70:30, de modo a facilitar a dissolução dos compostos e evitar o uso de solventes coordenantes. Estes são capazes de competir com a água pelas posições de coordenação livres presentes nos complexos, gerando maior número de espécies em solução e dificultando a interpretação dos resultados.

Os voltamogramas cíclicos e de onda quadrada para o complexo **1** são apresentados na Figura 21.

Os voltamogramas do complexo **1** apresentam somente um processo *quasi*-reversível em -252 mV em pH = 6,0 atribuído ao par $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$, mostrando claramente a pureza da espécie heteronuclear.

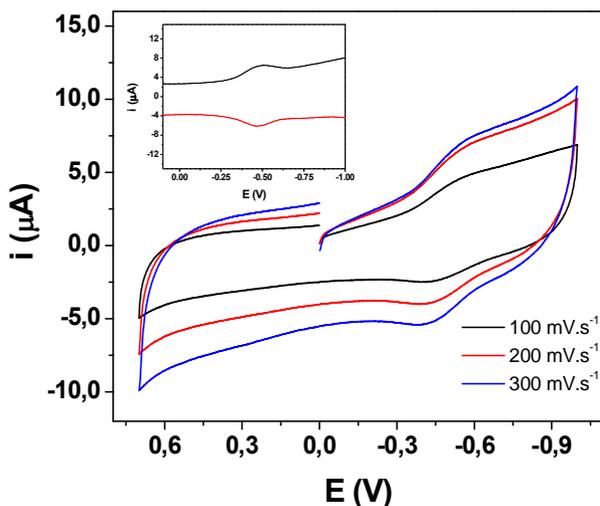


Figura 21 Voltamogramas cíclicos (100, 200 e 300 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$) e de onda quadrada (inserido) para o complexo **1**. Condições: etanol/água 70:30% V/V. Eletrólito: $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaClO_4 ; eletrodo trabalho: carbono vítreo; referência: Ag/Ag^+ ; contra-eletródo: fio de platina; padrão interno: hexacianoferrato de potássio, pH 6,8.

O valor obtido para o processo centrado no sítio de Fe^{III} concorda com o reportado por Lanznaster (-180 mV *vs* NHE) e por Peralta (-197 mV *vs* NHE) para complexos com os ligantes H_2bpbpmp e $\text{H}_2\text{bpbpmp-CH}_3$, respectivamente (LANZNASTER, 2003), (PERALTA, 2005). O

deslocamento catódico de ~50-70 mV observado em **1** com respeito aos complexos $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbpmp-CH}_3)]^{2+}$ provavelmente se deve à presença do grupo carbonila em **1**. Para o complexo **2** a voltametria cíclica e a voltametria de onda quadrada (dados não mostrados) apresentaram um potencial *quasi*-reversível para o par redox $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$ centrado em -473 mV *vs* NHE e um processo irreversível, em -965 mV *vs* NHE atribuído à redução $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$. Na verdade, esse comportamento é similar ao observado para o complexo **1**, porém com deslocamentos catódicos mais acentuados (60-90 mV) para **2** quando comparado aos sistemas isoestruturais $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp-CH}_3)]^{2+}$. É bem provável que tal fato esteja de alguma forma, associado ao grau de acoplamento antiferromagnético entre os íons Fe^{III} e Cu^{II} nesses complexos. Por exemplo, a constante de acoplamento antiferromagnética J determinada para o complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]$ é de $-58,3 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$, indicando que o acoplamento entre os íons Fe^{III} e Cu^{II} é relativamente forte, afetando assim a acidez de Lewis dos centros metálicos (NEVES, 2010b).

4.2.5. Titulação

Experimentos de titulação potenciométrica foram realizados para avaliar as constantes de desprotonação das moléculas de água coordenadas aos centros metálicos. Os resultados obtidos para os compostos **1** e **2** mostraram a neutralização de 3 mol de KOH por mol de complexo na região de pH entre 3,00 e 11,00. O tratamento destes dados levou à obtenção de três constantes de desprotonação, cujos valores são apresentados na Tabela 8 e os gráficos de distribuição das espécies podem ser vistos na Figura 22.

Tabela 8 Valores de pK_a , correspondentes à desprotonação de moléculas de água coordenadas, para os complexos **1** e **2**.

	1	2	$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$	$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$
pK_{a1}	3,33	3,12	2,93	2,72
pK_{a2}	5,07	5,26	4,81	5,23
pK_{a3}	8,21	8,45	8,30	7,82

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$ (NEVES, 2007); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$ (CASELLATO, 2007)

A primeira constante de desprotonação pode ser atribuída à formação de uma espécie contendo uma ponte hidróxido entre os centros metálicos. A segunda constante é atribuída a uma desprotonação de uma molécula de água coordenada ao centro de Fe^{III} . A terceira constante é atribuída à desprotonação de uma molécula de água coordenada ao centro de M^{II} ($\text{M} = \text{Zn}$ ou Cu).

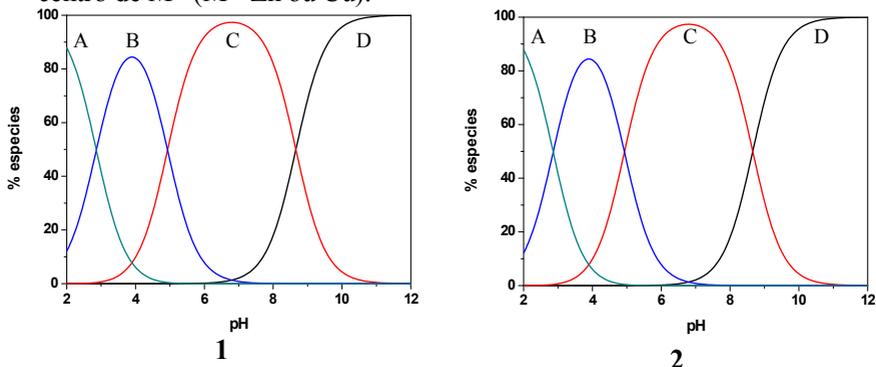


Figura 22 Diagrama de distribuição de espécies em acetonitrila/água 50:50% V/V. **A**- $(\text{H}_2\text{O})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH}_2)\text{M}^{\text{II}}(\text{OH}_2)$, **B**- $(\text{H}_2\text{O})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{OH}_2)$, **C**- $(\text{HO})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{OH}_2)$ e **D**- $(\text{HO})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{OH})$.(a)Complexo **1**; (b) Complexo **2**.

Os valores encontrados para os complexos **1** e **2** estão em concordância, mas ligeiramente maiores, quando comparados aos complexos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ reportados por Neves e colaboradores (NEVES, 2007) e Casellato (CASELLATO, 2007) com o ligante H_2bpbmp .

O aumento da densidade eletrônica sobre o centro de Fe^{III} nos complexos com o ligante $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$, devido aos substituintes metil e aldeído, provoca uma menor acidez de Lewis do centro de Fe^{III} aumentando o $\text{pK}_{\text{a}2}$ e desta forma este resultado concorda com os obtidos para os potenciais redox observados para o acoplamento $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$, onde se observou um deslocamento catódico de 60-90 mV para os complexos **1** e **2** (vide-supra) quando comparados com os correspondentes complexos $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$.

Uma proposta para os equilíbrios observados em solução pode ser vista na Figura 23.

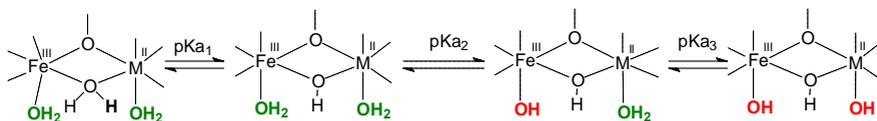


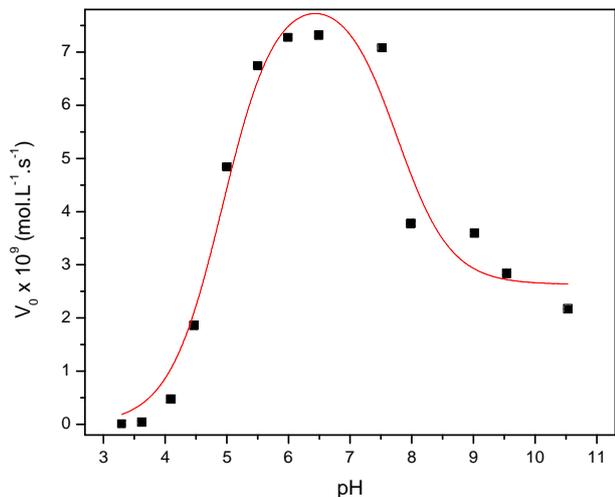
Figura 23 Proposta de equilíbrio para os complexos **1** e **2**.

4.2.6. Atividade de Fosfatase

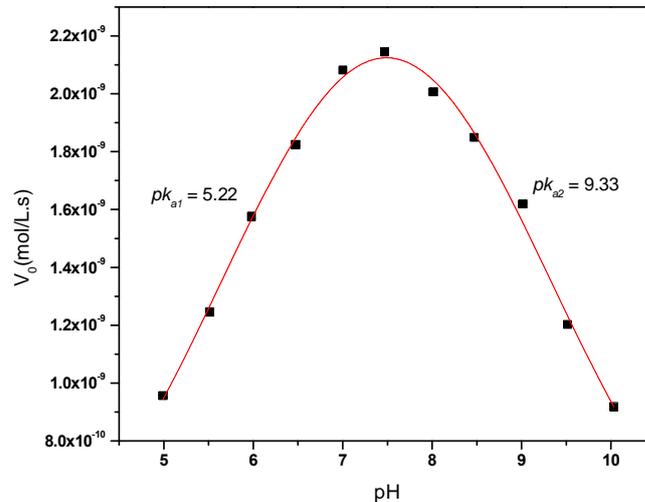
Uma das áreas de grande interesse da química bioinorgânica é a obtenção de hidrolases e nucleases sintéticas.

Os complexos sintetizados no presente trabalho apresentam a característica de possuírem sítios lábeis para a coordenação do substrato e também apresentam uma molécula de água coordenada ao centro de Fe^{III} , que em pH adequado fornece o nucleófilo para o ataque ao átomo de fósforo do substrato modelo bis(2,4-dinitrofenil)fosfato. Os valores de pK_{as} das moléculas de água coordenadas ao centro de Fe^{III} (determinados via titulação potenciométrica) são levemente ácidos, como os da enzima fosfatase ácida púrpura. Sendo assim, experimentos cinéticos foram realizados para investigar a capacidade dos complexos **1** e **2** de promover a hidrólise do fosfodiéster modelo 2,4-bdnpp (BUNTON, 1969).

Inicialmente foram realizados estudos do efeito do pH sobre a atividade catalítica dos complexos na reação de hidrólise, visando a determinação do pH de atividade máxima na hidrólise do 2,4-bdnpp, promovida pelos complexos **1** e **2**. Os gráficos obtidos podem ser vistos na Figura 24 e os pK_{as} cinéticos estão sumarizados na Tabela 9.



1



2

Figura 24 Dependência da velocidade de reação do 2,4-bdnpp (V_0) com o pH para os complexos **1** e **2**. Condições: [Complexo] = $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; [2,4-bdnpp] = $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; [Tampões] = $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ (MES, HEPES, CHES); $I = 0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ (LiClO_4) em solução $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ (50%V/V) a 25°C .

Tabela 9 Valores de $pH_{\text{ótimo}}$ de atividade, pK_a cinéticos e pK_a potenciométricos para os complexos **1**, **2**, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmpp-CH}_3)]^{2+}$ e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmpp-CH}_3)]^{2+}$.

Complexos	$pH_{\text{ótimo}}$	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}
	Cinéticos	Potenciométricos				
1	7,0	4,9	7,9	3,33	5,07	8,21
2	7,0	5,22	9,33	3,12	5,26	8,45
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$	7,0	5,2	8,1	3,01	4,66	8,25
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$	7,0	5,3	8,6	2,72	5,23	7,82
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmpp-CH}_3)]^{2+}$	6,5	5,6	8,7	3,28	4,88	8,43
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmpp-CH}_3)]^{2+}$	7,0	5,38	8,42	2,03	5,18	8,14

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$ (NEVES, 2007); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$ (CASELLATO, 2007); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmpp-CH}_3)]^{2+}$ (PERALTA, 2005); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmpp-CH}_3)]^{2+}$ (CASELLATO, 2007)

A atividade dos complexos **1** e **2** na hidrólise do 2,4-bdnpp mostrou-se fortemente dependente do pH. O perfil dos gráficos das velocidades iniciais (V_0) *versus* o pH tem formato de sino, com pH ótimo em torno de 6,5 para **1** e 7,0 para **2**. O perfil de sino obtido através do estudo da variação do pH reforça a atribuição das desprotonações de duas moléculas de água: uma coordenada ao centro de Fe^{III} que catalisa a reação e outra ao centro metálico M^{II} , onde M é Zn ou Cu e inibe a reação. Assim, confirma-se que a desprotonação da molécula de água coordenada ao centro de Fe^{III} nos complexos **1** e **2** deva ocorrer para gerar a espécie cataliticamente ativa, ou seja, $[(\text{HO})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})]^{+}$. O mesmo comportamento foi observado por Neves e colaboradores (NEVES, 2007), Lanznaster (LANZNASTER, 2003) e Casellato (CASELLATO, 2007), para complexos com o ligante H_2bpbpmp .

O ajuste sigmoidal da curva de velocidades iniciais em função do pH revelou pK_{as} de 4,9 e 7,9 para o complexo **1** e 5,22 e 9,33 para o complexo **2**, que estão em boa concordância com os valores encontrados

($pK_{a2} = 5,07$, e $pK_{a3}=8,21$ para o complexo **1** e $pK_{a2} = 5,26$ e $pK_{a3}= 8,45$ encontrados para o complexo **2**), respectivamente, a partir da titulação potenciométrica conforme dados sumarizados na Tabela 9.

De acordo com as informações obtidas a partir das medidas cinéticas e dos dados de eletroquímica, espectroscopia UV-Vis, o complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{py}_3\text{mff})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ apresenta k_{cat} aproximadamente duas vezes maior que o correspondente complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{py}_3\text{mff})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ pelo fato de possuir um grupamento nucleófilo mais forte ($\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OH}$) o qual é o iniciador da reação de hidrólise do diéster 2,4-bdnpp. Vale aqui ressaltar que a diferença de reatividade observada para os complexos FeZn e FeCu contendo o ligante H_2bpbmp é similar àquela observada entre os complexos **1** e **2** mas com o complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{py}_3\text{mff})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ sendo ligeiramente mais reativo que o correspondente complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ o que está de acordo com os dados eletroquímicos obtidos para os dois complexos conforme pode ser observado na relação linear de energia livre (k_{cat} vs. $E^{1/2}$) apresentada na Figura 25 (dados sumarizados na Tabela 10).

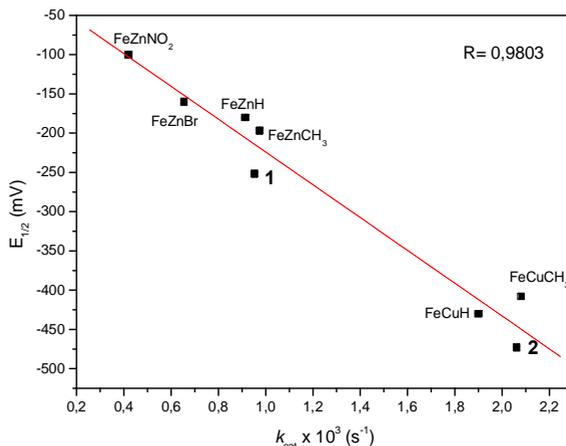


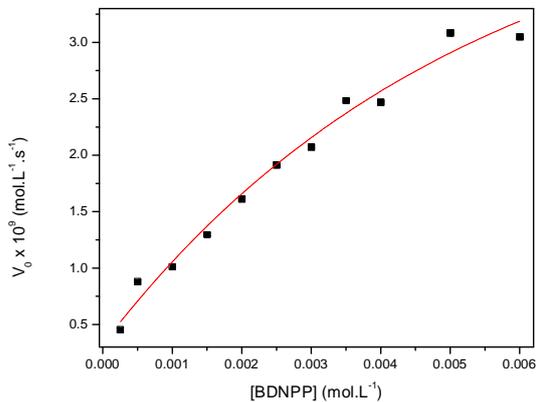
Figura 25 Comparação entre os dados Eletroquímicos ($E_{1/2}$ para o par redox $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$) e cinéticos (k_{cat} obtido para hidrólise do 2,4 bdnpp) para complexos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Zn}^{\text{II}}$ e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Cu}^{\text{II}}$ com o ligante H_2bpbmp e derivados

Tabela 10 Potenciais redox para o par $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$ e constantes catalíticas para complexos heterobimetálicos $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{M}^{\text{II}}$ com o ligante H_2bpbmp e $\text{H}_2\text{bpbmp-X}$.

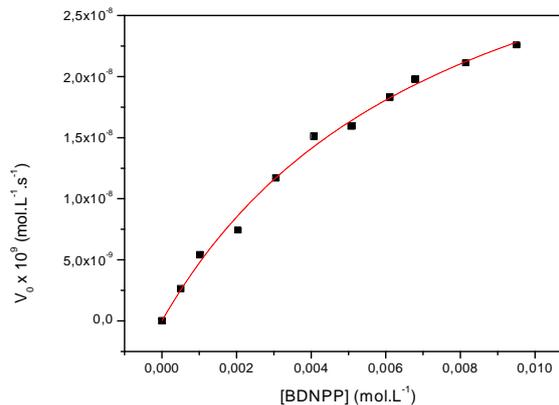
Complexos	$E_{1/2}$ (mV)	k_{cat} (10^{-3}s^{-1})
1	-252	0,952
2	-473	2,06
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$	-180	913
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$	-197	974
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-Br})]^{2+}$	-160	0,665
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-NO}_2)]^{2+}$	-100	0,42
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$	-430	1,9
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$	-408	2,08

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$ (NEVES, 2007); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$ (PERALTA, 2005); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-Br})]^{2+}$ (PERALTA, 2005); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp-NO}_2)]^{2+}$ (PERALTA, 2005); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$ (CASELLATO, 2007); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbmp-CH}_3)]^{2+}$ (CASELLATO, 2007)

Como proposto por Neves e colaboradores para o complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbmp})]^{2+}$ (NEVES, 2007), estes resultados demonstram que a espécie $[(\text{OH})\text{Fe}(\mu\text{-OH})\text{Zn}(\text{OH}_2)]$ é a cataliticamente ativa na hidrólise do substrato 2,4-bdnpp. Nesta espécie, o substrato substitui uma molécula de água coordenada ao centro de Zn^{II} e o íon hidróxido coordenado ao centro de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OH}$ atua como nucleófilo. A diminuição da atividade em $\text{pH} > 7,0$ deve-se à presença da espécie $[(\text{OH})\text{Fe}(\mu\text{-OH})\text{Zn}(\text{OH})]$, cuja substituição do hidróxido coordenado ao centro de Zn^{II} é mais difícil. A avaliação do efeito da concentração do substrato, 2,4-bdnpp, sobre a velocidade de hidrólise do mesmo, promovida pelos complexos foi investigada no pH ótimo obtido. A dependência da velocidade da reação de hidrólise com a concentração do substrato foi realizada pelo método das velocidades iniciais (Figura 26) revelou um perfil de saturação.



1



2

Figura 26 Dependência da velocidade de reação do 2,4-bdnpp com a concentração do substrato para os complexos **1** e **2**. Condições: [Complexo] = $2,0 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹; [Tampão] = 0,05 mol.L⁻¹ (HEPES, pH = 7,00); $I = 0,05$ mol. L⁻¹ (LiClO₄) em solução H₂O/CH₃CN (50% V/V) a 25°C.

Os dados foram tratados com a equação não linear de Michaelis-Menten, obtendo-se assim os fatores cinéticos para cada complexo. Estes valores estão sumarizados na Tabela 11.

Sob as condições experimentais, os complexos **1** e **2** apresentaram, respectivamente, fatores de aceleração de 5040 vezes e 11000 vezes em relação à reação não catalisada ($k=1,89 \times 10^{-7} \text{s}^{-1}$) (BUNTON, 1969).

Tabela 11 Parâmetros cinéticos para a reação de hidrólise do 2,4-bdnpp promovida pelos complexos **1** e **2** em pH = 7,00 a 25°C

Complexo	V_{max} (mol.L ⁻¹ .s ⁻¹)	K_M (mol.L ⁻¹)	k_{cat} (s ⁻¹)	f
1	$18,5 \times 10^{-9}$	$3,55 \times 10^{-3}$	$9,02 \times 10^{-4}$	5040
2	$7,71 \times 10^{-8}$	$12,4 \times 10^{-3}$	$2,06 \times 10^{-3}$	11000
[Fe^{III}(μOH)Zn^{II}bpbpmp]²⁺	$3,50 \times 10^{-8}$	$4,20 \times 10^{-3}$	$9,13 \times 10^{-4}$	4800
[Fe^{III}(μOH)Cu^{II}bpbpmp]²⁺	$7,68 \times 10^{-8}$	$8,52 \times 10^{-3}$	$1,90 \times 10^{-3}$	10100
$[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$ (NEVES, 2007); $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]^{2+}$ (CASELLATO, 2007)				

Esses valores são ligeiramente maiores que os encontrados para os complexos $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]$ (NEVES, 2007) e $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Cu}^{\text{II}}(\text{bpbpmp})]$ (CASELLATO, 2007), mostrando que a acidez de Lewis do centro de Fe^{III} é diretamente afetada pela natureza do substituinte na posição *para* ao fenol terminal coordenado ao centro metálico. Este fato também foi observado por Peralta e por Casellato com os substituintes CH₃, Br e NO₂ a ligantes derivados do H₂bpbpmp (PERALTA, 2005), (CASELLATO, 2007).

Com base nos resultados obtidos pode-se propor o seguinte mecanismo para a reação de hidrólise do substrato modelo 2,4-bdnpp, catalisada por **1** e **2**:

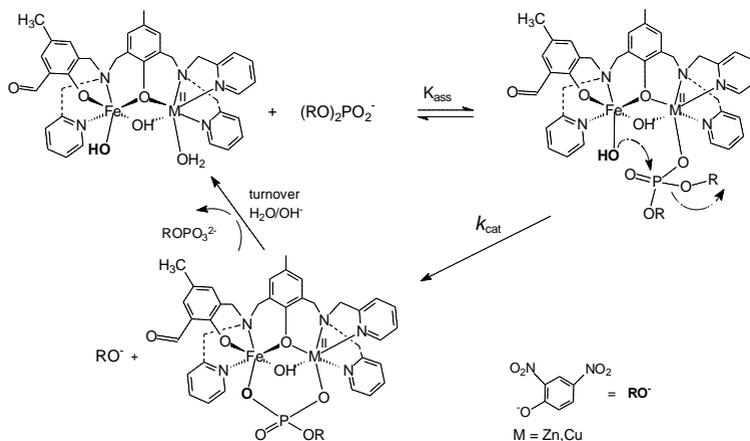


Figura 27 Mecanismo proposto para a hidrólise do diester de fosfato 2,4 – bdnp pelo complexos **1 2**.

É importante ressaltar que com a posição aldeído livre no complexo foi possível ancorá-lo em suporte sólido (3-aminopropil sílica modificada) e o complexo ainda foi ativo na hidrólise do substrato 2,4-bdnp, conforme reportado por Piovezan e colaboradores (PIOVEZAN, 2010). Assim, existe a possibilidade de ancorar o mesmo em proteínas (amino terminal) para o estudo do modo de ação do complexo com as mesmas.

Os compostos se mostraram eficientes não só na clivagem do substrato modelo, mas também são ativos frente ao DNA, como reportado por Piovezan e colaboradores (PIOVEZAN, 2010).

4.3. AVALIAÇÃO DA PROMISCUIDADE CATALÍTICA DE COMPLEXOS BIOINSPIRADOS – $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\mu\text{OAc})_2\text{bpbpmp}$ (**3**) E $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{OAc})_2\text{bpbpmp}$ (**4**)

Os estudos sobre as enzimas têm mostrado que existe uma relação clara entre a evolução enzimática com a propriedade de promiscuidade catalítica que elas podem apresentar. Promiscuidade catalítica significa, em sentido mais amplo, a habilidade de um dado sítio ativo, natural ou não, catalisar mais do que uma transformação química. Com isto, o desenvolvimento de sistemas biomiméticos capazes de atuar de modo

promíscuo, como as enzimas, mostrou-se como um novo desafio para os químicos bioinorgânicos.

Várias são as possibilidades de reações a serem estudadas. Nos últimos anos, tem sido dada atenção considerável à síntese, estrutura de raios X e caracterização físico-química de miméticos estruturais e funcionais para hidrolases do tipo $\text{Fe}^{\text{III}}\text{M}^{\text{II}}$ (MITIC, 2006; GRAVILOVA, 2004; GAHAM, 2009). Em particular, o grupo de pesquisa de Neves e colaboradores desenvolveu com sucesso um método geral para a preparação de complexos de Valencia mista homo e hetero-binucleares $\text{M}^{\text{III}}\text{M}^{\text{II}}$, usando o ligante não simétrico H_2bpbmp . Aproveitando a experiência adquirida pelo grupo de pesquisa de Neves e colaboradores, decidiu-se trabalhar com testes de reatividade de catecolase para complexos inspirados no sítio ativo das Fosfatases Ácidas Púrpuras.

Já esta demonstrado na literatura que o complexo $[(\text{bpbmp})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})_2\text{Fe}^{\text{II}}](\text{ClO}_4)\cdot\text{H}_2\text{O}$ – complexo **3** – é um bom modelo para as propriedades eletroquímicas da PAP isolada do útero de suínos – uFPAP, com um potencial de redução para o par $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}} / \text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ de 380 mV *versus* NHE. Este é comparável aos 344 mV medidos para uFPAP em pH 4,1, via eletroquímica direta, e aos 367 mV encontrados em pH 5 por microcoulometria (YONEYAMA, 2004; BERNHARDT, 2004; WANG, 1991). Também foi reportado que o complexo **3** e o composto oxidado correspondente $[(\text{bpbmp})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})_2\text{Fe}^{\text{III}}]^{2+}$, complexo **4**, são bons modelos para as propriedades de Raman ressonante das formas oxidada e reduzida das PAPs isoladas a partir de mamíferos (GONÇALVES, 2006). Além disso, a compreensão dos perfis espectrais dos centros binucleares e a relação destes com as PAPs FeFe, espectroscopia, estudos computacionais e parte dos resultados obtidos neste trabalho (espectroeletróquímica e a reatividade de fosfatase) para o íon complexo **3** foram também descritos (SMITH, 2010). Recentemente este complexo foi usado como um sensor biomimético para determinação de compostos fenólicos (DE OLIVEIRA, 2008). Assim, por este complexo estar bem caracterizado o sistema binuclear de ferro com o ligante H_2bpbmp foi escolhido para os estudos de promiscuidade catalítica.

A síntese do ligante e dos complexos previamente relatados foi realizada e as propriedades determinadas por análise elementar, espectroscopia UV-Vis e análise eletroquímica concordam com a composição previamente proposta para os mesmos (NEVES, 1995).

A estrutura cristalina do complexo **3** foi descrita por Horn e reportada recentemente por Neves e colaboradores (NEVES, 2010). A

unidade assimétrica encontrada consiste de um cátion complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{bpbmp})(\mu\text{-OAc})_2\text{Fe}^{\text{II}}]^+$, ânions perclorato como contra-íons e uma molécula de água de cristalização. Uma representação ORTEP do cátion complexo pode ser observada na Figura 28.

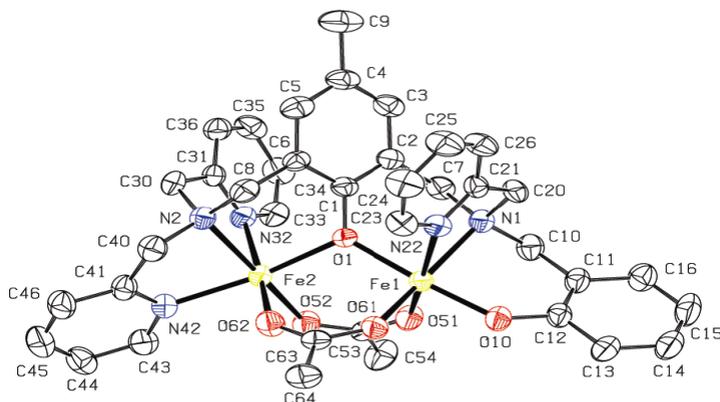


Figura 28 Zortep do cátion complexo **3**.

A estrutura do complexo é semelhante a vários outros complexos isoestruturais já obtidos a partir do mesmo ligante (NEVES, 1995; KARSTEN, 2002; BATISTA, 2003; LANZMASTER, 2005; NEVES, 2007; SMITH, 2007; SCHENK 2008), todos possuindo o mesmo arranjo mostrado pelos complexos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ sintetizados no presente trabalho (**1** e **2**). A distância intermetálica, assim como os ângulos de ligação têm valores similares aos complexos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{M}^{\text{II}}$ isoestruturais citados acima.

Apesar de não haver estrutura cristalina resolvida para o complexo **4**, os resultados de caracterização disponíveis permitem afirmar que este complexo apresenta o mesmo arranjo estrutural que o complexo **3**.

4.3.1. Titulação

Experimentos de titulação potenciométrica foram realizados no presente trabalho para avaliar as constantes de desprotonação das moléculas de água coordenadas aos centros metálicos quando **3** e **4** são dissolvidos em meio aquoso (acetonitrila:água 1:1). Os resultados

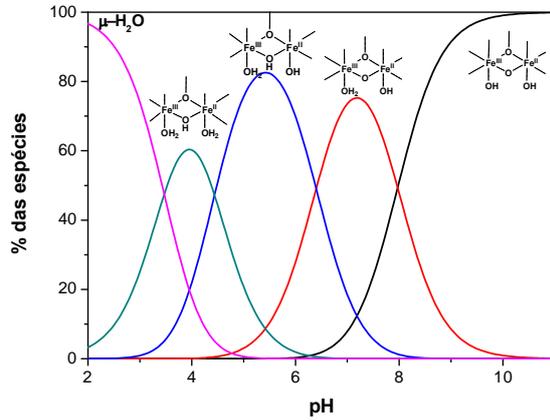
obtidos para os compostos **3** e **4** mostraram a neutralização de 4 mol de KOH por mol de complexo na região de pH entre 2,40 e 11,00. O tratamento destes dados levou à obtenção de quatro constantes de desprotonação, cujos valores são apresentados na Tabela 12 e os gráficos de distribuição das espécies podem ser vistos na

Figura 29 e uma proposta para os equilíbrio do complexo **3** em solução é mostrado na Figura 30.

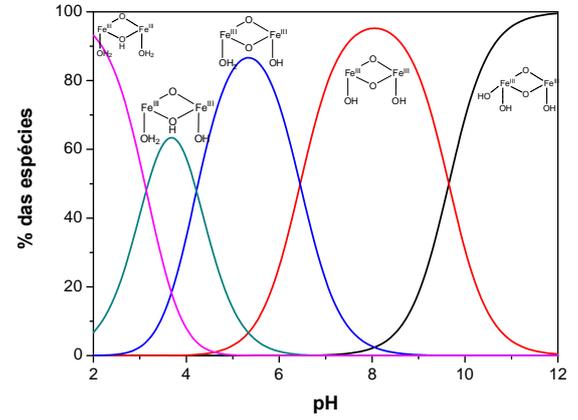
Tabela 12. pK_{as} dos complexos **3** e **4**, determinados via titulação potenciométrica e espectrofotométrica em acetonitrila água 1:1 (NEVES, 2010).

Complexo 3		Complexo 4	
pK_{as} Potenciométrico	pK_{as} Espectrofotométrico	pK_{as} Potenciométrico	pK_{as} Espectrofotométrico
3,02	3,47	*	*
4,13	4,44	3,14	Nd
5,76	6,47	4,22	3,95
7,53	7,97	6,45	6,56
-	-	9,65	9,22

Já é bem relatado que em complexos binucleares do tipo $M^{III}(\mu-OAc)_2M^{II}$ grupos carboxilato ponte podem se dissociar em solução aquosa, formando espécies $M^{III}-OH/OH_2$. Assim, quando o complexo **3** é colocado em solução há a formação da espécie $[(OH_2)Fe^{III}(\mu-OH_2)M^{II}(OH_2)]^{3+}$ (KARSTEN, 2002), (BATISTA, 2003), (LANZNASTER, 2005), (NEVES, 2007), (SMITH, 2007), (SCHENK 2008).



3



4

Figura 29. Diagrama de distribuição de espécies para os complexos 3 (esquerda) e 4 (direita).

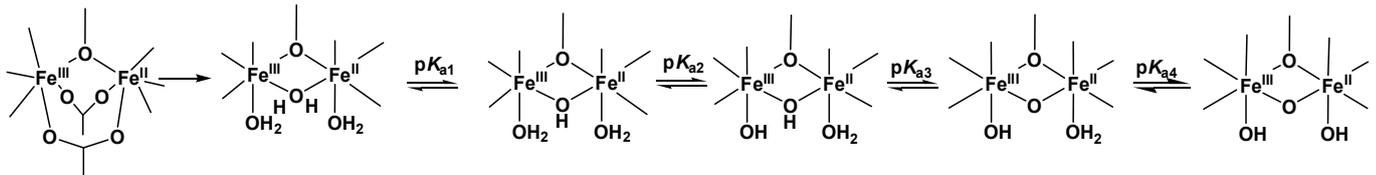


Figura 30 Proposta de equilíbrio para o complexo 3.

A primeira constante de desprotonação foi atribuída à formação da ponte hidroxio (pK_{a1} 3,02) formando a espécie $[(OH_2)Fe^{III}(\mu-OH)Fe^{II}(OH_2)]^{2+}$. A segunda constante foi atribuída à desprotonação de uma molécula de água coordenada ao centro de Fe^{III} , formando a espécie $[(OH)Fe^{III}(\mu-OH)Fe^{II}(OH_2)]^+$ (pK_{a2} 4,13). A terceira constante de desprotonação, atribuída à formação da espécie $[(OH)Fe^{III}(\mu-O)Fe^{II}(OH_2)]$ (pK_{a3} 5,73) com a formação da ponte oxo. Finalmente, a quarta constante (pK_{a4} 7,53) é atribuída à desprotonação de uma molécula de água coordenada ao centro de Fe^{II} , com a formação da espécie $[(OH)Fe^{III}(\mu-O)Fe^{II}(OH)]^{-1}$.

Também para o complexo **4**, assume-se que em solução os grupos carboxilatos são liberados e em pH 2,4, está presente a espécie $[(OH_2)Fe^{III}(\mu-OH_2)Fe^{III}(OH_2)]$. Uma proposta de equilíbrio para o complexo **4** é apresentada na Figura 31.

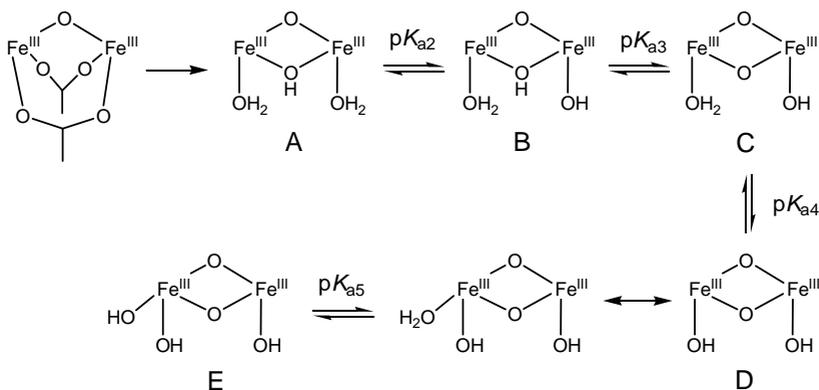


Figura 31 Proposta de equilíbrio para o complexo **4**.

A desprotonação da molécula de água coordenada ao centro de ferro ligado ao lado macio do ligante (uma amina e duas piridinas como ligantes terminais), devido a menor quantidade de carga sobre esse metal, seria a primeira a ser desprotonada ($pK_{a2} = 3,14$), formando-se assim uma espécie $[(OH_2)Fe^{III}(\mu-OH)Fe^{III}(OH)]^{2+}$. Esta observação se baseia no fato de que o centro de Fe^{III} ligado a três nitrogênios do ligante $bbpmp^{2-}$ é um ácido de Lewis mais forte do que o centro de Fe^{III} coordenado pelo braço pendente N_2O , que contém o grupo fenolato terminal. O pK_{a3} de 4,22 é atribuído à dissociação do grupo ponte $\mu-OH$, resultando desta a formação de uma espécie do tipo

$[(\text{OH}_2)\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})]^+$, proposta como uma das espécies cataliticamente ativas na oxidação de catecóis. (Ver seção 4.3.3). Esse valor de pK_a é aproximadamente 1,5 unidades de pH mais baixo que o determinado para o complexo de valência mista $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ correspondente (complexo **3**) e pode ser explicado pela maior acidez de Lewis exercida pelos dois centros de Fe^{III} sobre o grupo ponte $\mu\text{-OH}$ do complexo **4**, em relação a acidez de Lewis exercida pelo complexo de valência mista **3**. A desprotonação da molécula de água coordenada ao centro de Fe^{III} contido no lado mais duro do ligante ocorre então com $pK_{a4} = 6,45$, levando à formação de uma espécie $[(\text{OH})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})]$. Novamente, observa-se um valor de pK_a menor (aproximadamente uma unidade de pH) que o apresentado pelo complexo **3** para formação da espécie correspondente. Como no caso anterior, este fato pode ser bem explicado pela maior acidez de Lewis de um sistema binuclear $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ em relação a um sistema $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Além disso, é importante notar que o valor encontrado tem boa concordância com o valor de pK_a de 7,0, determinado para a dissociação da segunda molécula de água ligada a átomos de Fe^{III} em complexos binucleares contendo ligantes N,O doadores semelhantes, (NEVES, 2007; LANZMASTER, 2005; KARSTEN, 2002; BATISTA, 2003; NEVES; PERALTA 2005; PERALTA 2006) tal como a espécie $[(\text{OH}_2)\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})]^+$ aqui proposta. Finalmente, um quarto equilíbrio de protonação/desprotonação foi observado ($pK_{a5} = 9,65$), apesar da espécie de partida $[(\text{OH})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})]$ não aparentar possuir mais prótons ionizáveis nas condições experimentais aplicadas. Este fato sugere que o complexo não se mantenha íntegro, podendo, por exemplo, ocorrer a substituição de um dos nitrogênios piridínicos coordenados por uma molécula de água do meio e o pK_a determinado ser referente a desprotonação desta molécula (NEVES, 2010).

A espectroscopia UV-visível é outra ferramenta empregada para identificar espécies em equilíbrio e pode ser muito útil para assinalar quais as espécies cataliticamente ativas em solução. Além disso, o fato dos complexos **3** e **4** possuírem processos de transferência de carga ligante-metal (TCLM) torna a espectroscopia eletrônica extremamente útil para os estudos desses em solução, já que processos de transferência de carga são extremamente sensíveis a qualquer mudança do ambiente eletrônico em torno dos centros metálicos.

Os complexos **3** e **4** também foram titulados espectrofotometricamente, nas mesmas condições da titulação potenciométrica e os valores das constantes de desprotonação estão

sumarizadas na Tabela 12. Os valores obtidos a partir da titulação espectrofotométrica do complexo **3** são comparáveis aos obtidos por titulação potenciométrica. Em geral, deslocamentos hipsocrômicos são detectados (Figura 32) quando o pH é aumentado, sugerindo que a substituição de uma molécula de água ($\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OH}_2$) por um íon hidróxido ($\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OH}$), ou ainda de uma ponte hidróxido ($\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Fe}^{\text{III}}$) por uma ponte oxo ($\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}$), em sistemas em equilíbrio afetam a energia das bandas de transferência de carga. Isto se deve, provavelmente, a uma diminuição da acidez de Lewis dos centros de Fe^{III} quando doadores mais fortes estão coordenados, tal que os orbitais t_{2g} nestas espécies estão em maior energia que os orbitais t_{2g} nos complexos com a espécie $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OH}_2$.

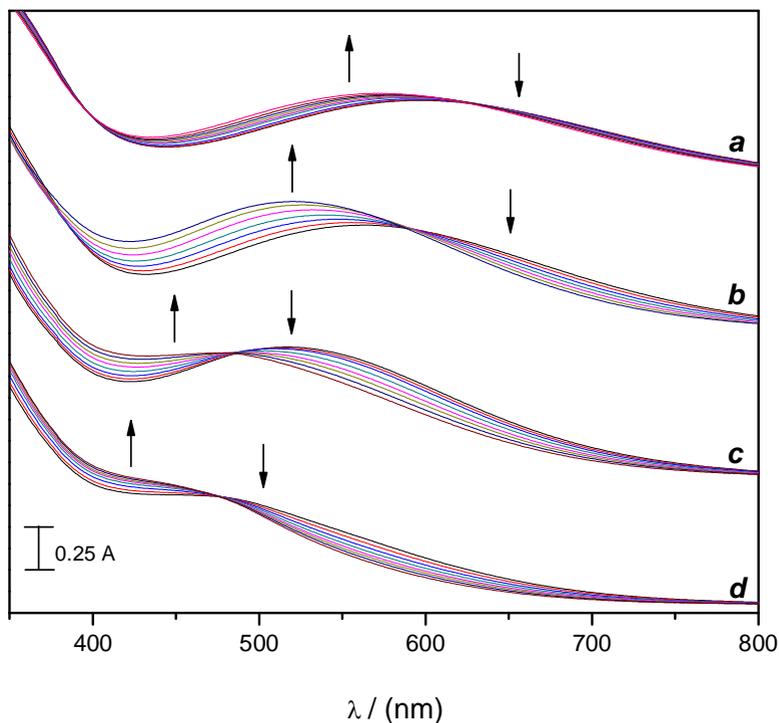


Figura 32 Variações espectrais no complexo **3** durante a titulação espectrofotométrica. Os espectros foram medidos em solução de $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1 em pHs sucessivos. $[\mathbf{3}] = 3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Faixas de pH **a**: 3,3 – 3,8; **b**: 3,9 – 5,3; **c**: 5,8 – 6,9; **d**: 7,2 – 10,2.

De maneira similar, a titulação espectrofotométrica do complexo **4** também demonstrou forte influência do valor do pH no valor da energia (λ_{max}) da banda de transferência de carga (Figura 33). No entanto, foram obtidos três valores de pK_a na faixa entre 2,4-10,9, que estão em boa concordância com os obtidos via titulação potenciométrica.

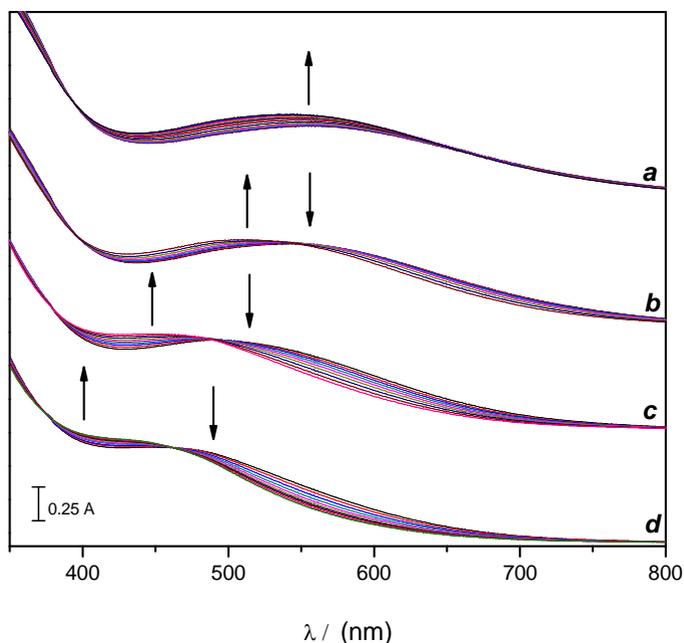


Figura 33 Variações espectrais da banda de transferência de carga do complexo **4**, durante a titulação espectrofotométrica. Os espectros foram medidos em solução de $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1 em pHs sucessivos. $[\mathbf{4}] = 3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Faixas de pH **a**: 2,4 – 3,7; **b**: 3,6 – 4,7; **c**: 5,5 – 8,1; **d**: 8,1 – 10,9.

4.3.2. Atividade de Fosfatase

Para avaliar os complexos **3** e **4** na hidrólise de ésteres de fosfato, utilizou-se dos mesmos procedimentos descritos previamente, acompanhando espectrofotometricamente, em condições de pseudo-ordem, a hidrólise do substrato modelo bis-(2,4-dinitrofenilfosfato) (2,4-bdnp). Em alguns casos tem de se ressaltar que foi necessário trabalhar

sob atmosfera inerte, já que o complexo **3**, quando em solução, se mostrou sensível a presença de oxigênio (NEVES, 2010).

A fim de determinar o pH ótimo de trabalho para os complexos, fez-se um estudo de variação da velocidade de reação com o pH (Figura 34).

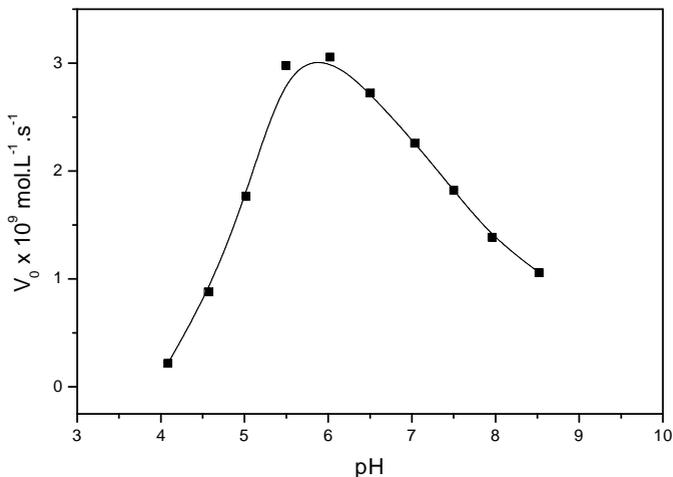


Figura 34 Dependência da velocidade de reação com o pH, sob as condições: Atmosfera de argônio, sistema solvente $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 1:1, $[\mathbf{3}] = 1,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $[2,4\text{-bdnpp}] = 2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Tampão}] = 5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (Tampão = MES, HEPES, CHES), $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (LiClO_4).

Pode-se, a partir deste gráfico, atribuir ao composto **3** dois $\text{p}K_{\text{a}}$ s cinéticos, em pHs 5,06 e 7,22, e um pH ótimo de trabalho de 5,6. Neste pH foram realizados os experimentos de variação da concentração de substrato, visando obter parâmetros cinéticos para a reação, através do tratamento dos dados com a equação de Michaelis-Menten (Figura 35).

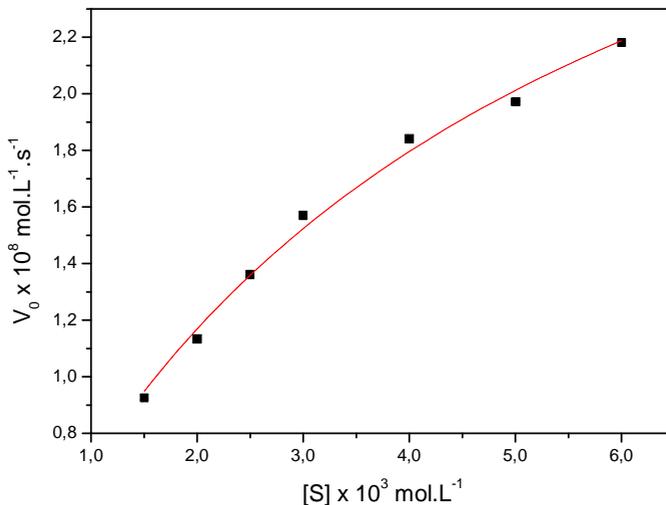


Figura 35 Dependência da concentração de substrato na velocidade da reação catalisada pelo complexo **3**, sob as seguintes condições: H₂O/CH₃CN 1:1 em ajustado pH 5,6, tampão MES 0,05 mol.L⁻¹; I = 0,05 mol.L⁻¹ (LiClO₄); [3]=4,0x10⁻⁵ mol.L⁻¹; [2,4-bdnpp]=3,2 – 16,0 x10⁻⁴ mol.L⁻¹; T=25°C.

A atividade do complexo **4**, frente ao substrato 2,4bdnpp, também foi avaliada nas mesmas condições do complexo **3**, (pH = 5,6). O gráfico de velocidades iniciais (V₀) vs concentração de substrato (Figura 36) teve um comportamento semelhante ao observado para complexo **3**, e os dados foram então tratados através da equação de Michaelis-Menten. Os parâmetros cinéticos para os dois complexos podem ser encontrados na Tabela 13.

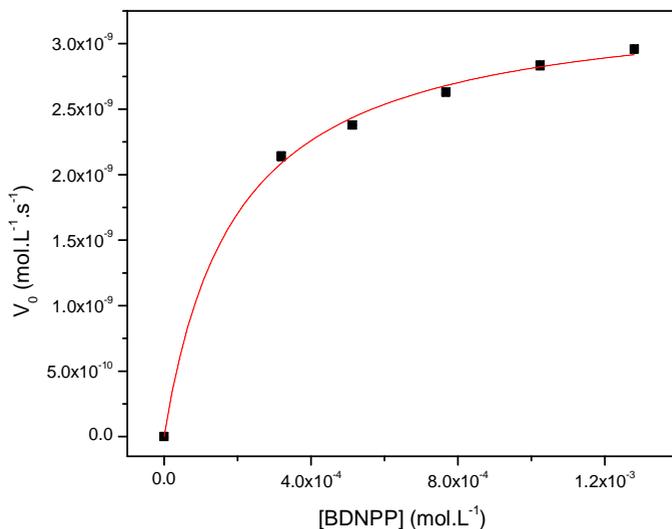


Figura 36 Dependência da concentração de substrato na velocidade da reação catalisada pelo complexo **4**, sob as seguintes condições: H₂O/CH₃CN 1:1 em ajustado pH 5,6 tampão MES 0,05 mol.L⁻¹, I = 0,05 mol.L⁻¹ (LiClO₄); [4]=4,0x10⁻⁵ mol.L⁻¹; [2,4-bdnpp]=3,2 – 16,0 x10⁻⁴ mol.L⁻¹; T=25°C.

Tabela 13 Parâmetros cinéticos para os complexos **3** e **4**.

Parâmetros	3	4
V _{max} (mol L ⁻¹ s ⁻¹)	6,58x10 ⁻⁸	3,36x10 ⁻⁹
k _{cat} (s ⁻¹)	1,64x10 ⁻³	8,4x10 ⁻⁵
K _m (mol L ⁻¹)	5,23x10 ⁻³	1,9x10 ⁻⁴
E (L mol ⁻¹ s ⁻¹)	0,31	0,44
F	8770	467

O tratamento dos dados para o complexo **4** forneceu uma constante catalítica $k_{\text{cat}} = 8,40 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, que representa 5,49% do valor encontrado para o complexo análogo **3** ($k_{\text{cat}} = 1,53 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) e um $K_{\text{ass}} \cong 1/K_m = 5260 \text{ M}^{-1}$, o que indica que o substrato se liga ao centro de Fe^{III} não cromofórico com maior afinidade do que no centro de Fe^{II} ($K_{\text{ass}} \cong 1/K_m = 190 \text{ M}^{-1}$) do sistema de valência mista Fe^{III}Fe^{II}. Esse resultado pode ser tomado como uma indicação de que a enzima e o modelo aqui obtido eventualmente possam estar atuando através de um mecanismo

semelhante, haja visto que a enzima oxidada $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ do baço de bovinos também possui uma pequena reatividade (~5%) quando comparada a sua forma ativa $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$. Ref. (DIETRICH, 1991). No entanto, uma ligação bidentada do substrato aos dois sítios de Fe^{III} na forma oxidada e posterior ataque nucleofílico da ponte hidróxo/oxo também não pode ser completamente descartada.

4.3.3. Atividade de catecolase

A partir do gráfico de velocidades iniciais vs pH (Figura 37), para o processo de oxidação de 3,5-dtbc pelo complexo **3**, pode-se atribuir os valores de pK_a s cinéticos – 5,0 e 6,7 (Tabela 14). Observa-se na Figura 37 que há dois comportamentos cinéticos distintos indicando a presença de diferentes espécies cataliticamente ativas. Inicialmente, as velocidades iniciais aumentam levemente e alcançam um plateau na faixa de pH entre 6,0-6,5. Um novo aumento nas velocidades iniciais é observado em um perfil quase que ininterrupto, sugerindo que uma segunda espécie atua como catalisador. Entretanto, dos pontos de inflexão da curva, os pK_a s 5,0 e 6,7 são apenas tentativamente atribuídos dado o pequeno aumento na atividade entre os pHs 4,3-6,5 e a pobre definição do plateau em pH 7,0. Mesmo assim, os valores são concordantes com os valores encontrados a partir da titulação potenciométrica e espectrofotométrica (4,2 e 6,5), sugerindo que a espécie $[(\text{OH}_2)\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})]^+$ e $[(\text{OH})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})]$ são, muito provavelmente, as espécies cataliticamente ativas na oxidação do 3,5-dtbc. De fato, a dependência observada em função do pH da reação pode ser devido a duas desprotonações sucessivas de moléculas de água coordenadas ao centro de Fe^{III} e provavelmente $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OH}$ são capazes de interagir com o catecol promovendo a desprotonação do substrato e concomitante coordenação aos centros metálicos.

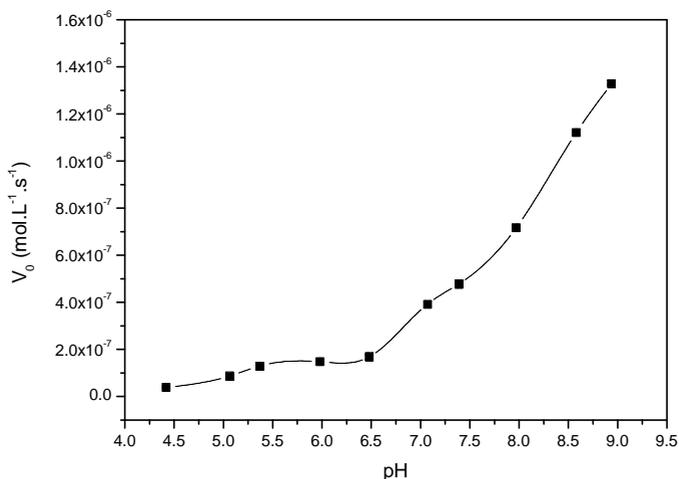


Figura 37 Velocidades iniciais *versus* pH para a reação de oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada pelo complexo **3**.

Tabela 14 pK_{as} determinados para os complexos **3** e **4**.

Potenciométrico	Cinético	Cinético
3	4	(hidrólise)
		(oxidação)
3,02	*	-
4,13	3,14	-
5,76	4,22	4,74
7,53	6,45	7,54
-	9,65	-

A dependência das velocidades iniciais com a concentração do substrato 3,5-dtbc, catalisada por **3** foi investigada em pH 6,0 a 25°C e revelou um perfil de saturação com comportamento de Michalis-Menten (Figura 38).

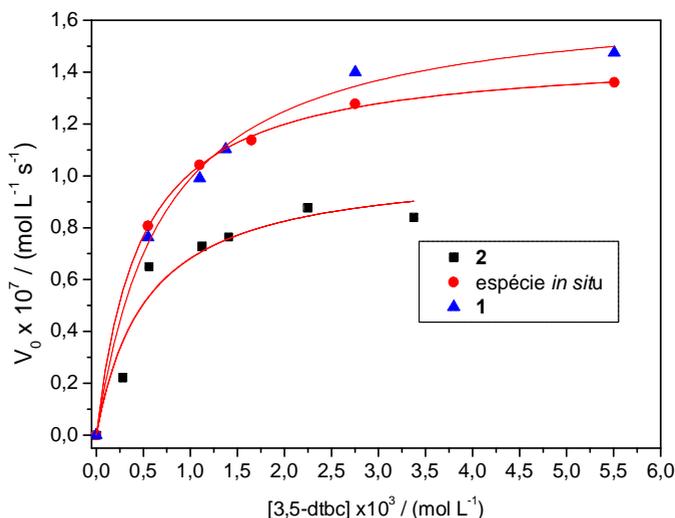


Figura 38 Dependência da concentração do substrato 3,5-dtbc catalisada por **3**(▲), **4**(■) e pelo complexo gerado *in situ* (complexo **3** oxidado com um equivalente de H₂O₂) (●): pH 6,0, solução metanol/água (3:2). Condições: [3]=1,5x10⁻⁵ mol L⁻¹; [3,5-dtbc]=0,5-5,5x10⁻³ mol L⁻¹, [MES]=3,3x10⁻² mol L⁻¹.

Os parâmetros cinéticos ($V_{\max}=1,69 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ s⁻¹, $K_M=7,1 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ and $k_{\text{cat}}=11,6 \times 10^{-3}$ s⁻¹) para o complexo **3** foram obtidos a partir do tratamento dos dados com a equação não linear de Michaelis-Menten (V_0 vs [3,5-dtbc]) (Tabela 15).

Tabela 15 Parâmetros cinéticos obtidos da reação de oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada por **3**, **4** e pela espécie oxidada *in situ*.

	3	4	3 +H ₂ O ₂ (1:1)
$V_{\max}/(\text{mol L}^{-1} \text{ s}^{-1})$	$1,69 \times 10^{-7}$	$1,04 \times 10^{-7}$	$1,48 \times 10^{-7}$
$k_{\text{cat}}/(\text{s}^{-1})$	$11,6 \times 10^{-3}$	$6,34 \times 10^{-3}$	$9,63 \times 10^{-3}$
$K_M/(\text{mol L}^{-1})$	$7,1 \times 10^{-4}$	$5,3 \times 10^{-4}$	$4,7 \times 10^{-4}$
$k_{\text{cat}}/K_M/(\text{L mol}^{-1} \text{ s}^{-1})$	16,33	11,96	20,48

Os parâmetros cinéticos da reação catalisada pelo complexo **4** estão na mesma ordem de grandeza dos valores encontrados pelo complexo **3** na presença de oxigênio ou H₂O₂ (Tabela 15), suportando a

proposta mecanística de que a espécie $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ deve estar presente para o início do ciclo catalítico. Além disso, a confirmação do acúmulo de H_2O_2 durante os ciclos catalíticos por meio do experimento acelerado por molibdato (I_3^-), o qual indica que a reoxidação da espécie $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$ dá origem novamente à espécie ativa $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ com a estequiometria 1:1 (O_2 :3,5-dtbc) e concomitante formação de peróxido de hidrogênio.

Vale ressaltar que os parâmetros cinéticos obtidos para o complexo **3** ou **4** estão na mesma ordem de grandeza dos valores encontrados para complexos binucleares de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}$ com ligantes similares, mas são ativos em pHs mais baixos (6,0 vs 8-9). Isto se deve ao fato da maior acidez de Lewis do íon Fe^{III} quando comparado ao íon Cu^{II} .

Considerando todos os experimentos, o seguinte mecanismo pode ser proposto (Figura 39):

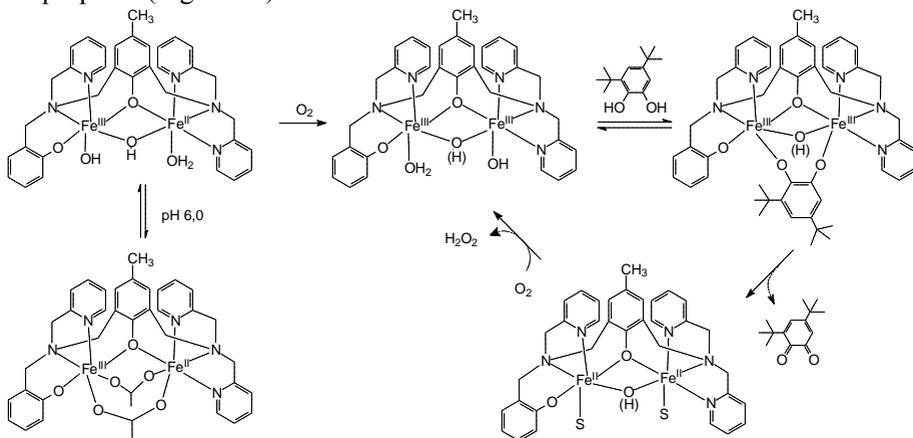


Figura 39 Mecanismo proposto para a oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada por **3**.

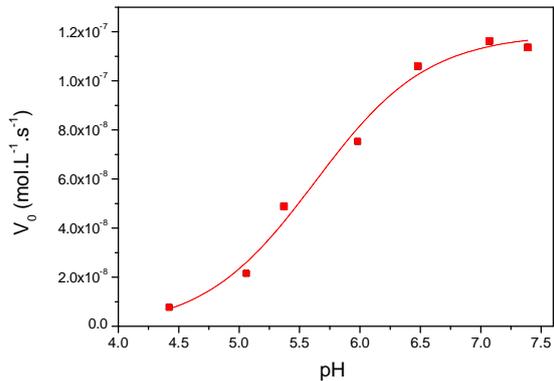
4.4. AVALIAÇÃO DA PROMISCUIDADE CATALÍTICA DE COMPLEXOS BIOINSPIRADOS – $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}(\mu\text{-OH})\text{bpbpmp}$ (**5**), $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}(\mu\text{-OH})\text{bpbpmp-CH}_3$ (**6**)

Foi reportada para os complexos **5** e **6** a atividade de fosfatase, além das propriedades físico químicas dos mesmos (NEVES, 1995; NEVES, 1996; NEVES, 2010). Com o objetivo de avaliar a

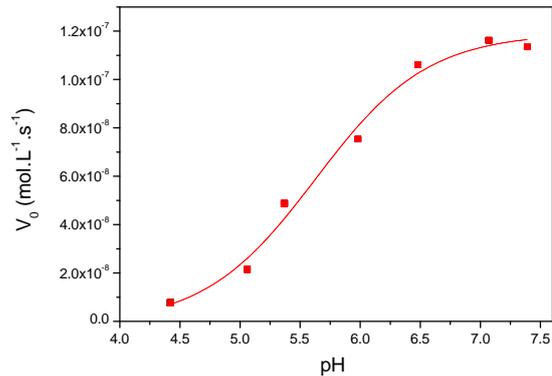
promiscuidade catalítica desses complexos, o substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-dtbc) foi oxidado a sua respectiva quinona (3,5-dtbq) na presença dos complexos **5** e **6** em solução metanol/água previamente saturada com oxigênio. Primeiramente, o estudo do efeito do pH foi realizado com o intuito de analisar a influência nas velocidades iniciais de cada sistema e determinar o pK_a cinético, além de encontrar o pH ótimo para a reação de oxidação (Figura 37).

A dependência com o pH das velocidades iniciais mostrou comportamento sigmoidal, obtendo-se pK_{as} de 5,6 e 6,0 respectivamente, para os complexos **5** e **6**. Estas curvas revelam que as espécies ativas dos complexos são $[Fe^{III}(bpbmp-X)(\mu-OH) Cu^{II}(OH)]$ (onde $X = H, CH_3$), pois os PK_{as} determinados cineticamente estão em boa concordância com o pK_{a2} determinado por Casellato (pK_{as} 5,23 e 5,18, respectivamente) (CASELLATO, 2007).

Ambos os complexos apresentaram perfil de saturação para as velocidades iniciais (V_0) em função da concentração do substrato 3,5-dtbc (Figura 41), consistente com a coordenação do catecol aos complexos metálicos. Os dados foram ajustados com a equação não linear de Michaelis-Menten e os parâmetros cinéticos obtidos estão sumarizados na Tabela 16.



5



6

Figura 40 Dependência do pH nas velocidades iniciais da reação de oxidação do substrato 3,5-dtbc catalisada pelos complexos 5 e 6.

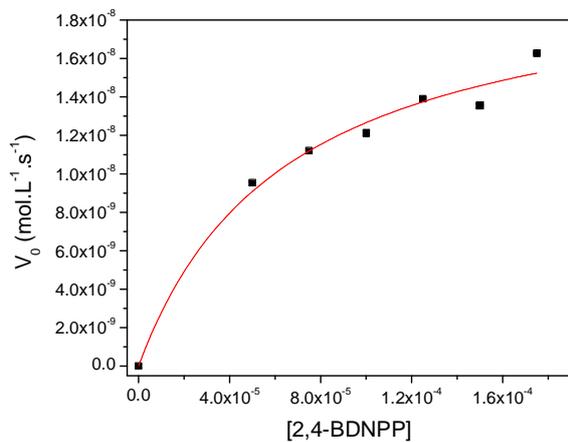
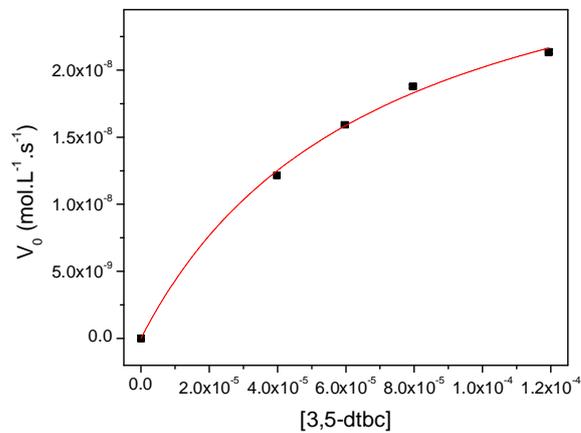
**5****6**

Figura 41 Dependência da concentração do substrato 3,5-dtbc, catalisada por **5** (esquerda) e **6** (direita).

O valor de k_{cat} aumenta discretamente do complexo **5** para o **6**. O complexo **6**, que apresenta na posição *para* ao fenol terminal o grupo doador de elétrons metila, apresenta a maior atividade catalítica. O mesmo comportamento foi reportado por Peralta e colaboradores em recente trabalho com complexos de cobre (PERALTA, 2010), indicando que o caráter doador/aceptor de elétrons do ligante influencia a densidade eletrônica dos centros metálicos, o que é refletido nos parâmetros cinéticos.

Tabela 16 Parâmetros cinéticos na oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada pelos complexos **5** e **6**.

Parâmetros	5	6
V_{max} (mol L ⁻¹)	$2,27 \times 10^{-8}$	$3,42 \times 10^{-8}$
K_M (mol L ⁻¹)	8×10^{-5}	7×10^{-5}
k_{cat} (s ⁻¹)	$4,64 \times 10^{-3}$	$5,25 \times 10^{-3}$
E	58	75
$\Delta E_{1,2}$ (mV)	30	28

Comparando-se os potenciais redox dos metais nos complexos **5** e **6** (H para CH₃) há uma diminuição da diferença dos potenciais redox (ΔE)_{1,2} de apenas 2 mV entre os centros de Fe^{III} e Cu^{II} para **5** e **6** e, conseqüentemente, a atividade catalítica tem um aumento discreto, já que a mesma depende da transferência simultânea de dois elétrons para a oxidação do substrato 3,5-dtbc. Esta tendência foi reportada por Peralta e colaboradores e Neves e colaboradores que demonstraram que a diferença na reatividade k_{cat}/K_M dentro de uma série de compostos binucleares de cobre depende na diferença entre os potenciais dos dois metais (ΔE)_{1,2} (PERALTA, 2010; NEVES, 2002). O mecanismo proposto para a reação está mostrado na

Figura 42.

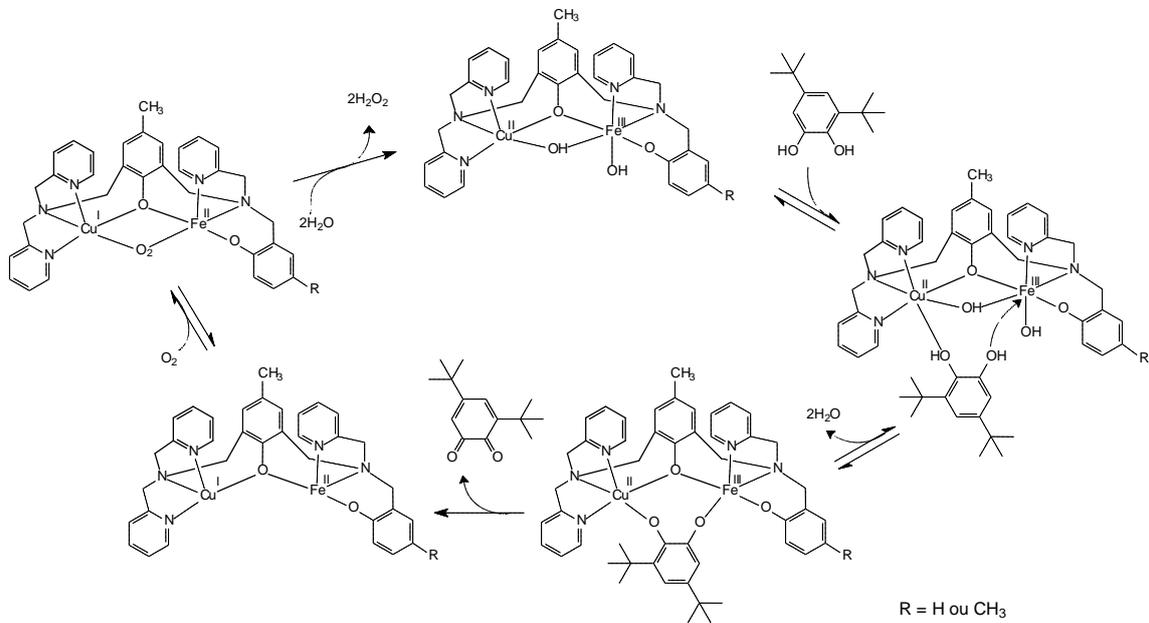


Figura 42 Mecanismo proposto para a oxidação do substrato 3,5-dtbc, catalisada por **5** e **6**.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Ligante 2-[*N*-bis-(2-piridilmetil) aminometil]-4-metil-6-[*N*-(2-hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)aminometil] fenol – H₂py₃mff foi sintetizado e devidamente caracterizado. Este possui as características coordenantes que tornaram o ligante H₂bpbpmp o melhor sistema para obtenção de biomiméticos para Paps já descrito e um grupamento aldeído, que permite reações de condensação. Estão abertas assim inúmeras possibilidades de derivatização e ancoramento dos compostos, algumas das quais já estão sendo realizadas com sucesso.

Os primeiros compostos de coordenação com o novo ligante H₂py₃mff foram obtidos e caracterizados. As estruturas cristalinas por difração de raios-X foram coletadas, mostrando que a inserção do grupo aldeído não causou mudanças estruturais significativas, quando estes são comparados aos complexos similares obtidos a partir dos ligantes H₂bpbpmp e H₂bpbpmp-CH₃, fato que pode ser comprovado pela pouca variação nas distâncias médias de ligação em torno dos centros metálicos, menores que 0,01Å. Não ocorrem também alterações importantes nas propriedades físico químicas. Foram determinados para os novos complexos fatores de aceleração de 5400 vezes (1) e 11000 vezes (2) para a hidrólise do 2,4-bdnpp, um pouco maiores que os fatores relatados para os complexos similares obtidos a partir do ligante H₂bpbpmp, mostrando que não há grande influência da adição do grupamento aldeído no ligante sobre sua atividade. Se por um lado o aldeído não tem interação relevante na segunda esfera de coordenação, por outro temos esse grupo livre e em posição adequada para reações químicas, podendo-se então utilizar o próprio complexo para realizar derivatizações, mantendo-se assim a esfera de coordenação original em compostos maiores, aumentando a possibilidade de controle da esfera de coordenação dos compostos de coordenação a serem obtidos. Uma derivatização do ligante para posterior complexação pode ser bem mais trabalhosa, ainda mais se for pretendida a condensação do aldeído com compostos que possuam átomos doadores de pares de elétrons. Deste modo foi realizado o ancoramento de complexos em sílica 3-aminopropil modificada (PIOVEZAN, 2010) e pode se pensar na adição a qualquer grupamento amina, inclusive em proteínas.

O sistema binuclear de ferro com o ligante H₂bpbpmp teve sua capacidade catalítica avaliada quanto a hidrólise de ésteres de fosfato, atividade exibida pela enzima para qual é um modelo biomimético, e

quanto a oxidação de ortocatecóis. Para que os resultados fossem interpretados, realizaram-se também titulações potenciométrica e espectrofotométrica, através das quais se propõe a formação de ponte oxo entre os átomos de ferro, em pHs no intervalo entre 6 à 8. A hidrólise do substrato modelo bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato pelo complexo $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ (**4**) tem como constante catalítica de $8,4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, um valor de aproximadamente 5% daquele encontrado para o complexo $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ (**3**), $1,64 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, o que também foi reportado nos estudos da formas oxidada e reduzida da PAP (DIETRICH, 1991). Este fato confirma o quanto os complexos com o ligante H_2bpbpmp e seus derivados são adequados para obtenção de compostos modelos para as PAPs e leva a crer que os mecanismos de ação destes complexos são semelhantes aos da enzima.

Os compostos binucleares de ferro com o ligante H_2bpbpmp mostraram ser cataliticamente promíscuos, com uma apreciável atividade na oxidação de catecóis. Os valores das constantes catalíticas determinadas são da mesma ordem dos valores encontrados para complexos binucleares de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}$ com ligantes similares, mas em valores de pH mais baixos (6,0 vs 8-9), o que pode ser uma vantagem quanto a aplicabilidade como catalisadores. Mostram-se assim, cataliticamente promíscuos. É notável que, partindo-se de **3** ou de **4** a espécie catalítica ativa na oxidação do 3,5-di-*terc*-butilcatecol é a mesma, .

Para o sistema FeCu foram estudados os complexos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ com o ligante H_2bpbpmp (**5**) e $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ com o ligante $\text{H}_2\text{bpbpmp}-\text{CH}_3$ (**6**) na oxidação do substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol, demonstrando que ambos possuem promiscuidade catalítica e que, do mesmo modo que acontece para os complexos $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}$ tradicionalmente usados para produção de agentes oxidativos, quanto menor for a diferença entre os potenciais redox dos metais, maior será a atividade catalítica.

Ficam aqui como perspectivas futuras novas utilizações destes compostos, já que inúmeras são as possibilidades. O ancoramento dos catalisadores, a inserção de grupos que possam atuar na segunda esfera de coordenação (inclusive proteínas e pequenos peptídeos comerciais) ou sejam capazes de dar especificidade ao catalisador e o ancoramento em partículas magnéticas são alguns dos trabalhos que podem ser ou já estão sendo levados adiante. Também se deve testar os inúmeros compostos já relatados na literatura na catalise de reações para os quais não foram planejados, podendo-se ocorrer gratas surpresas quanto aos usos e aplicações dos mesmos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDISON, A. W.; RAO, T. N.; REEDIJK, J.; VANRIJN, J., VERSCHOOR, G. C. Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen-sulfur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, p. 1349, **1984**.

ANTANAITIS, B. C., STREKAS, T. and AISEN P. J. Journal of Biological Chemistry, v. 257, p. 3766, **1982**.

AQUINO, M. A. S. and SYKES G. Redox reactivity of the binuclear iron active site of porcine purple acid phosphatase (Uteroferrin). Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, p. 683, **1994**.

AQUINO, M. A. S., LIM, J. -S. and SYKES, G. Mechanism of the reaction of phosphate with purple acid phosphatase. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, p. 2135, **1992**.

AQUINO, M. A. S., LIM, J. -S. and SYKES, G. Mechanism of the reaction of different phosphatases with iron(II)iron(III) form of purple acid phosphatase from porcine uteri (Uteroferrin). Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, p. 429, **1994**.

AVERILL, B. A., DAVIS, J. C., BURMAN, S. *et al.* G. Spectroscopic and magnetic studies of the purple acid phosphatases from bovine spleen. Journal American Chemical Society, v. 109, p. 3760, **1987**.

BACON, Allyn. Química Bioinorganica – una introducion. Barcelona: Editorial Reverté S.A., **1985**.

BATISTA, S. C.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. J.; VENCATO, I.; PERALTA, R. A.; SZPOGANICZ, B.; AIRES, V. E.; SEVERINO, P. A.; Highly efficient phosphate diester hydrolysis and DNA interaction by a new unsymmetrical FeIIINiII model complex, Inorganic Chemistry Communications, v. 6, p. 1161, **2003**.

BEINERT, H. Bioinorganic Chemistry: A new field or discipline? Words, meanings and reality. The Journal of Biological Chemistry, v. 227, n. 41, p. 37967, **2002**.

BLASKÓ, A. and BRUICE, T. C. Recent studies of nucleophilic, general-acid, and metal ion catalysis of phosphate diester hydrolysis. Accounts of Chemical Research, v. 32, p. 475, **1999**.

BORNSCHEUER, W. T.; KAZLAUSKAS, R. J. Catalytic Promiscuity in Biocatalysis: Using Old Enzymes to Form New Bonds and Follow New Pathways. Angewandte Chemie, 43, 6032, **2004**.

BOZZO, G. G.; RAGHOTHAMA, K. G.; PLAXTON, W. C. Purification and characterization of two secreted purple acid phosphatase isozymes from phosphate-starved tomato (*Lycopersicon esculentum*) cell cultures European Journal of Biochemistry, 269, 6278, **2002**.

CAMPBELL, H. D.; ZERNER, B. A low-molecular-weight acid phosphatase which contains iron, Biochemical and Biophysical Research Communications, v.54, p. 1498, **1973**.

CAMPBELL, H. D.; DYONISIUS, D. A.; KEOUGH, D. T.; WILSON, B. E.; JERSEY, J.; ZERNER, B. Iron-containing acid phosphatases: Comparison of the enzymes from beef spleen and pig allantoic fluid, Biochemical and Biophysical Research Communications, v.82, p. 615, **1978**.

CHEN, T. T.; FULLER, W. B.; CETORELLI, J. J.; POLLARD, W. E.; ROBERTS, R. M. Purification and Properties of a Progesterone-induced Basic Glycoprotein from the Uterine Fluids of Pigs, Journal of Biological Chemistry, v.248, p.8560, **1973**.

CHIN, J. Developing artificial hydrolytic metalloenzymes by a unified mechanistic approach. Accounts of Chemical Research, v. 24, p. 145, **1991**.

COWAN, J. A. Chemical Nucleases. Current Opinion in Chemical Biology, v. 5, p. 634, **2001**.

CROWDER, M. W., VINCENT, J. B. and AVERILL, B. A. Electron paramagnetic resonance studies on the high-salt form of bovine spleen purple acid phosphatases. Biochemistry, v. 31, p. 9603, **1992**.

DEBRUNNER, P. G., HENDRICH, M. P., JERSEY, J. *et al.* Mössbauer and EPR study of the binuclear iron centre in purple acid phosphatase. Biochimica et Biophysica Acta, v. 745, p. 103, **1983**.

DECK, K. M.; TSENG, T. A.; BURSTYN, J. N. Triisopropyltriazacyclononane Copper(II): An Efficient Phosphodiester Hydrolysis Catalyst and DNA Cleavage Agent. Inorganic Chemistry, 41, 669, **2002**.

DIETRICH M, MÜNSTERMANN D, SUERBAUM H, AND WITZEL H. Purple acid phosphatase from bovine spleen: interactions at the active site in relation to the reaction mechanism. European Journal of Biochemistry, 199, 105, **1991**.

DOI, K., ANTANAITIS, B. C. and AISEN, P. The binuclear iron centers of uteroferrin and the purple acid phosphatases. Structure and Bonding, v. 70, p. 1, **1988**.

DUBOC-TOIA, C.; MÉNAGE, S.; VINCENT, J.; AVERBUCH-POUCHOT, M. T. and FONTECAVE, M. Structure of a (μ -oxo)dihydroxo)diiron(III) complex and iron(II)iron(III) complexes as a models for Purple Acid Phosphatase. European Journal of Inorganic Chemistry, p. 1457, **2001**.

ELDHO, N. V.; SAMINATHAN, M.; RAMAIAH, D. One Pot Synthesis of Acridinylalkanoic Acids and Novels Bisacridines, Synthetic Communications, v.29, p4007, **1999**.

GANI, D. and WILKIE, J. Metal ions in the mechanism of enzyme-catalyzed phosphate monoester hydrolyses. Structure and Bonding, v. 89, p. 133, **1997**.

GEHRING, S., FLEISCHHAUER, P., BEHLENDORF, M. *et al.* Magnetic susceptibility studies on the diiron forms of the metalloprotein purple acid phosphatase from bovine spleen and kidney bean. Inorganica Chimica Acta, v. 252, p. 13, **1996**.

GLASSNER, M. E.; GERLT, J. A.; BABBITT, P. C. Evolution of enzyme superfamilies, Current Opinion in Chemical Biology, V.10, P.492, **2006**.

GREATTI, A.; SCARPELLINI, M.; PERALTA, R. A.; CASELLATO, A.; BORTOLUZZI, A. J.; XAVIER, F. R.; JOVITO, R.; de BRITO, M. A.; SZPOGANICZ, B.; TOMKOWICZ, Z.; RAMS, M.; HAASE, W.; NEVES, A. Synthesis, Structure, and Physicochemical Properties of Dinuclear NiII Complexes as Highly Efficient Functional Models of Phosphohydrolases Inorganic Chemistry, v. 47, n° 3, p. 1107, **2008**.

GUDDAT, L. W., McALPINE, A. S., HUME, D. *et al.* Crystal structure of mammalian purple acid phosphatase. Structure, v. 7, n. 7, p. 757, **1999**.

HAYMAN, R.; WARBURTON, M. J.; PRINGLE, J. A.; COLES, B.; CHAMBERS, T. J., Purification and characterization of a tartrate-resistant acid phosphatase from human osteoclastomas, Biochemichal Journal, v.261, p.201, **1989**.

HEGG, E. L. and BURSTYN, J. N. Copper(II) macrocycles cleave single-stranded and double-stranded DNA under both aerobic and anaerobic conditions. Inorganic Chemistry, v. 35, p. 7474, **1996**.

HEGG, E. L. and BURSTYN, J. N. Towards the development of metal-based synthetic nucleases and peptidases: a rationale and progress report in applying the principles of coordination chemistry. Coordination Chemical Reviews, v. 173, p. 133, **1998**.

HEGG, E. L.; BURSTYN, J. N. Hydrolysis of Unactivated Peptide Bonds by a Macrocyclic Copper(II) Complex: Cu([9]aneN3)Cl₂ Hydrolyzes Both Dipeptides and Proteins. Journal American Chemical Society, 117, 7015, **1995**.

Hemrika, W.; Renirie, R.; Dekker, H. L.; Barnett, P.; Wever, R. From phosphatases to vanadium peroxidases: A similar architecture of the active site. Proceedings of the National Academy of Sciences, 94, 2145, **1997**.

HENDRY, P. and SARGESON, A. M. Metal ion promoted phosphate derivatives. In LIPPARD, S. J. Progress in Inorganic Chemistry: Bioinorganic Chemistry, v. 38, p. 201, **1990**.

HENDRY, P. and SARGESON, A. M. Metal ion promoted phosphate ester hydrolysis. Intramolecular attack of coordinated hydroxide ion. Journal of the American Chemical Society, v. 111, p. 2521, **1989**.

HULT, K.; BERGLUND, P. Enzyme promiscuity: mechanism and applications, Trends in Biotechnology, v.25, p.231, **2007**.

JAKOBEK, J. L.; LINDGREN, P. B. Expression of a bean acid phosphatase cDNA is correlated with disease resistance. Journal of Experimental Botany, 53, 387, **2002**.

JANCKILA, A. J.; WOODFORD, T. A.; LAM, K. W.; LI, C. Y.; YAM, L. T. Protein-tyrosine phosphatase activity of hairy cell tartrate-resistant acid phosphatase, Leukemia, v.6, p.199, **1992**.

JOHANNES, T. W.; ZHAO H. Directed evolution of enzymes and biosynthetic pathways, Current Opinion in Microbiology, V.9, p. 261, **2006**.

JOVITO, R.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. J.; LANZMASTER, M.; DRAGO, V.; HAASE, W. A new unsymmetrical dinucleating ligand and its first Fe^{III}Zn^{II} complex: Structure and solid state properties of an unexpected tetranuclear Fe^{III}₂Zn^{II}₂ complex containing the [Fe^{III}(□-OH)₂Fe^{III}] structural motif, Inorganic Chemistry Communications, v.8, p.323, **2005**.

KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B. Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in The Chemistry of Life – An Introduction and Guide. New York: John Wiley & Sons. p. 1, **1994**.

KARSTEN, P.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.; DRAGO, V. and LANZMASTER, M. Synthesis, Structure, Properties, and Phosphatase-Like Activity of the First Heterodinuclear Fe^{III}Mn^{II} Complex with the Unsymmetric ligand H₂BPBPMP as a model for the PAP in Sweet Potato, Inorganic Chemistry, v. 41, p. 4624, **2002**.

KAZLAUSKAS, R. J. Enhancing catalytic promiscuity for biocatalysis Current Opinion on Chemical Biology, 9, 195, **2005**.

KENTON, P.; MUR, L. A. J.; DRAPER, J. A requirement for calcium and protein phosphatase in the jasmonate-induced increase in tobacco leaf acid phosphatase specific activity Journal of Experimental Botany, 50, 1331, **1999**.

KLABUNDE, T. and KREBS, B. The dimetal center in purple acid phosphatases. Structure and Bonding, v. 89, p. 177-198, 1997.

KLABUNDE, T.; STRÄTER, N.; FRÖHLICH R.; WITZEL, H.; KREBS, B. Mechanism of Fe(III)-Zn(II) purple acid phosphatase based on crystal structures. Journal of Molecular Biology, v. 259, p. 737, **1996**.

LANZNASTER, M. Desenvolvimento De Novos Modelos Estruturais e Funcionais para as Fosfatases Ácidas Púrpuras, Tese de doutorado em Química – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, **2003**.

LANZNASTER, M. NEVES, A. BORTOLUZZI, A. J., AIRES, V. V. E., SZPOGANICZ, B., TERENZI, H., SEVERINO, P. C., FULLER, J. M., DREW, S. C., GAHAN, L. R., HANSON, G. R., RILEY, M. J., SCHENK, G. A new heterobinuclear FeIIICuII complex with a single terminal FeIII–O(phenolate) bond. Relevance to purple acid phosphatases and nucleases. Journal of Biological Inorganic Chemistry, v. 10, p. 319, **2005**.

LAUFFER, R. B., ANTANAITIS, B. C., AISEN, P. *et al.* ¹H NMR studies of porcine uteroferrin. Magnetic interactions and active site structure. The Journal of Biological Chemistry, v. 258, n. 23, p. 14212, **1983**.

LINDQVIST, Y., JOHANSSON, E., KAIJA, H. *et al.* Three-dimensional structure of a mammalian purple acid phosphatase at 2.2 Å resolution with a μ -(hydroxo) bridged di-iron center. Journal of Molecular Biology, v. 291, p. 135, **1999**.

MARTIN, W.; RUSSELL, M. On the origins of cells: a hypothesis for the evolutionary transitions from abiotic geochemistry to chemoautotrophic prokaryotes, and from prokaryotes to nucleated cells,

Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, V.358, p.1429, **2003**.

MERKX, M. and AVERILL, B. A. Probing the role of the trivalent metal in phosphate ester hydrolysis: preparation and characterization of Purple Acid Phosphatases containing $\text{Al}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ and $\text{In}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ active sites, including the first example of an active aluminum enzyme. Journal of the American Chemical Society, v. 121, n. 28, p. 6683, **1999**.

MITIC, N.; SMITH, S. J.; NEVES, A.; GUDDAT, L. W.; GAHAN, L. R.; SCHENCK, G. The Catalytic Mechanisms of Binuclear Metallohydrolases. Chemical Reviews, v. 106(8), p. 3338, **2006**.

MUELLER, E. G., CROWDER, M. W., AVERILL, B. A. *et al.* Purple acid phosphatase: a diiron enzyme that catalyzes a direct phospho group transfer to water. Journal of the American Chemical Society, v. 115, p 2974, **1993**.

NELSON, D. L. and COX, M. M. Lehninger principles of biochemistry, New York: Worth Publishers, 3th ed., p. 243, **2000**.

NAKAMOTO, K. Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds. 3. Ed. New York : John Wiley & Sons, **1978**.

NEVES, A., BRITO, M. A., VENCATO, I., *et al.*, $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ and $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}$ complexes as synthetic analogues for the oxidized and reduced forms of purple acid phosphatases. Inorganic Chemistry, v. 35, p. 2360, **1996**.

NEVES, A.; BRITO, M. A.; DRAGO, V.; GRIESAR, K. and HAASE, W. A new asymmetric N_5O_2 -donor binucleating ligand and its first $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}$ complex as a model for de redox properties of uteroferrin. Inorganica Chimica Acta, v. 237, p. 131, **1995**.

NEVES, A.; ERTHAL, S. M. D.; DRAGO, V.; GRIESAR, K. and HAASE, W. A new N,O-donor binucleating ligand and its first iron(III) complex as a model for the purple acid phosphatase. Inorganica Chimica Acta, v. 197, p. 121, **1992**.

NEVES, A.; ROSSI, L. M.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; WIEZBICKI, C.; SCHWINGEL, E.; HAASE, W.; OSTROVSKY, S.

Catecholase activity of a series of dicopper complexes with variable Cu-OH(phenol) moieties Inorganic Chemistry, 41, 1788, **2002**.

NEVES, A.; LANZMASTER, M.; BORTOLUZZI, A. J.; PERALTA, R. A.; CASELLATO, A.; CASTELLANO E. E.; HERRALD, P.; RILEY, M. J.; SCHENCK, G. An Unprecedented FeIII(\square -OH)ZnII Complex that Mimics the Structural and Functional Properties of Purple Acid Phosphatases. Journal of American Chemical Society, v. 129, p. 7486, **2007**.

NEVES, A ; BORTOLUZZI, A. J. ; JOVITO, R.; PERALTA, R.A. ; SOUSA, B. ; SZPOGANICZ, B.; JOUSSEF, A. C. ; TERENCEZI, H. ; SEVERINO, P. C. ; FISCHER, F. L. ; SCHENK, G ; RILEY, M. J. ; SMITH, S. J. ; GAHAN, L. R. . Catalytic Promiscuity: Catecholase-like Activity and Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a Mixed-Valence FeIII/FeII Complex. Journal of the Brazilian Chemical Society, **2010**

NEVES, A.; HAASE, W.; LANZMASTER, M.; TOMKOWICZ, Z. manuscrito em preparação, (**2010b**).

Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB)
<http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/enzyme/>, maio/**2008**

NORLANDER, E., THAPPER, A., KING, J. *et al.* Iron 1995. Coordination Chemistry Reviews, v. 172, p. 3, **1998**.

O'BRIEN, P. J. Catalytic Promiscuity and the Divergent Evolution of DNA Repair Enzymes Chemical Reviews, 106, 720, **2006** and references therein.

O'BRIEN, P. J.; HERSCHLAG, D. Catalytic promiscuity and the evolution of new enzymatic activities, Chemistry and Biology, v.6, p.91, **1999**.

OLGUIN, L. F.; ASKEW, S. E.; O'DONOGHUE, A. C.; HOLLFELDER, F. Efficient Catalytic Promiscuity in an Enzyme Superfamily: An Arylsulfatase Shows a Rate Acceleration of 10^{13} for Phosphate Monoester Hydrolysis Journal of American Chemical Society, 130, 16547, **2008**.

OLIVEIRA, M. C. B.; SCARPELLINI, M.; NEVES, A.; TERENCEZI, H.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; GREATTI, A.; MANGRICH, A. S.; SOUZA, E. M.; FERNANDEZ, P. M.; SOARES, M.; Inorganic Chemistry, 44, 921, **2005**.

PARRILHA, G. L.; FERNANDES, C.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, M. S.; PICH, C. T.; TERENCEZI, H.; HORN, A., Jr. Inorganic Chemistry Communication, 11, 643, **2008**.

PERALTA, R. A. Novos Complexos Binucleares de Cobre (II) e de Ferro(III) Zinco(II): Biomiméticos Sintéticos para a Catecol Oxidase e para Fosfatases Ácidas Púrpuras, Tese de doutorado em Química – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, **2005**.

PERALTA, R. A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. J.; DOS ANJOS, A.; XAVIER, F. R.; SZPOGANICZ, B.; TERENCEZI, H.; OLIVEIRA, M. C. B.; CASTELLANO, E.; FRIEDERMAN, G. R.; MANGRICH, A. S.; NOVAK, M. A. New unsymmetric dinuclear $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}$ complexes and their relevance to copper(II) containing metalloenzymes and DNA cleavage, Journal of Inorganic Biochemistry, v.100, p.992, **2006**.

PERALTA, R.A.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; BRANDÃO T. A. S.; CASTELLANO, E.; OLIVEIRA, M.C.B.; SEVERINO, P. C.; TERENCEZI, H.; NEVES, A. Catecholase and DNase Activities of Copper(II) Complexes Containing Phenolate-type Ligands. Journal of Physical Organic Chemistry, no prelo, **2010**

PRIGGEMEYER, S., BORKENSTEIN, P. E., AHLERS, F. *et al.* XAS investigations on the iron-zinc center of purple acid phosphatase from red kidney beans. Inorganic Chemistry, v. 34, p. 1445, **1995**.

REEDIJK, J. Introduction to bioinorganic chemistry. In REEDIJK, J. Bioinorganic Catalysis, New York: Marcel Dekker, Inc., p. 1, **1993**.

REY, N. A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. J.; PICH, C. T.; TERENCEZI, H. Catalytic Promiscuity in Biomimetic Systems: Catecholase-like Activity, Phosphatase-like Activity, and Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a New Dicopper(II) Hydroxo-Bridged Complex. Inorganic Chemistry, 46, 348, **2007**.

ROBINSON, D. B.; GLEW, R. H. A Tartrate-resistant Acid Phosphatase from Gaucher Spleen, Journal of Biological Chemistry, v.255, p.5864, **1980**.

RODRIGUEZ, J. H., OK, H. N., XIA, Y.-M. *et al.* Mössbauer spectroscopy of the spin-coupled Fe³⁺-Fe²⁺ center of reduced uteroferrin. Journal of Physical Chemistry, v. 100, p. 6849, **1996**.

RUSSELL, M. First Life, American Scientist, V.94, n.1, p.32-39, **2006**.

SCARROW, R. C., PYRZ, J. W. and QUE, Jr. L. NMR studies of the dinuclear iron site in reduced uteroferrin and its oxoanion complexes. Journal of the American Chemical Society, v. 112, p.657, **1990**.

SCHENK, G.; GAHAN, L. R.; CARRINGTON, L. E.; MITIC, N.; VALIZADEH, M.; HAMILTON, S. E.; JERSEY, J.; GUDDAT, L. W. Phosphate forms an unusual tripod complex with the Fe-Mn center of sweet potato purple acid phosphatase, Proceedings of the National Academy of Sciences, v.102, p.273, **2005**.

SCHENK, G., GE, Y., CARRINGTON, L. E. *et al.* Binuclear metal centers in plant purple acid phosphatases: Fe-Mn in sweet potato and Fe-Zn in soybean. Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 370, n. 2, p. 183, **1999**.

SCHENK, G.; GUDDAT, L. W.; GE, Y.; CARRINGTON, L. E.; HUME, D. A.; HAMILTON, S.; JERSEY, J. Identification of mammalian-like purple acid phosphatases in a wide range of plants, Gene, v.250, p.117, **2000**.

SCHENK, G.; PERALTA, R. A.; BATISTA, S. C.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B. DICK, A. K.; HERRALD, P. HANSON, G. R. SZILAGYI, R. K.; RILEY, M. J.; GAHAN, L. R.; NEVES, A. Probing the role of the divalent metal ion in uteroferrin using metal ion replacement and a comparison to isostructural biomimetics. Journal of Biological Inorganic Chemistry, v. 13, p. 139, **2008**.

SIGMAN, D. S. Chemical nucleases. Biochemistry, v. 29, n. 39, p. 9097, **1990**.

SIGMAN, D. S.; MAZUMDER, A. and PERRIN, D. M. Chemical nucleases. Chemical Reviews, v. 93, p. 2295, **1993**.

SILVA, G. F. Z.; MING, L. Catechol Oxidase Activity of Di-Cu²⁺-Substituted Aminopeptidase from *Streptomyces griseus*, Journal of the American Chemical Society, v. 127, p. 16380, **2005**.

SMITH, S. J.; CASELLATO, A.; HADLER, K. S.; MITIĆ, N.; RILEY, M. J.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; SCHENCK, G.; NEVES, A.; GAHAN, L. The reaction mechanism of the Ga(III)Zn(II) derivative of uteroferrin and corresponding biomimetics. Journal of Biological Inorganic Chemistry, v.12, p.1207, **2007**.

SMOUKOV, S. K.; QUARONI, L.; WANG, X.; DOAN, P. E.; HOFFMAN, B. M.; QUE Jr., L. Electron – Nuclear Double Resonance Spectroscopic Evidence for a Hydroxo-Bridge Nucleophile Involved in Catalysis by a Dinuclear Hydrolase. Journal of the American Chemical Society, v. 124, n. 11, p. 2595, **2002**.

STRÄTER, N., KLABUNDE, T., TUCKER, P. *et al.* Crystal-structure of a purple acid-phosphatase containing a dinuclear Fe(III)-Zn(II) active-site. Science, v. 268, p. 1489, **1995**.

STRÄTER, N., LIPSCOMB, W. N., KLABUNDE, T. *et al.* Two-metal ion catalysis in enzymatic acyl- and phosphoryl-transfer reactions. Angewandte Chemie International Edition in English, v. 35, p. 2024, **1996**.

TAGLIEBER, A.; HÖBENREICH, H.; CARBALLEIRA, J. D.; MONDIÈRE, R. J. G.; REETZ, M. T. Alternate-Site Enzyme Promiscuity, Angewandte Chemie, 46, 8597, **2007**.

THAN, R., FELDMANN, A. A. and KREBS, B. Structural and functional studies on model compounds of purple acid phosphatases and catechol oxidases. Coordination Chemistry Reviews, v. 182, p. 211, **1999**.

TRUE, A. E., SCARROW, R. C., RANDALL, C. R. *et al.* EXAFS studies of uteroferrin and its anion complexes. Journal of the American Chemical Society, v. 115, p.4246, **1993**.

TWITCHETT, M. B., SYKES, A. G. Structure, Properties and Reactivity of the $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}$ and $\text{Zn}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}$ Purple Acid Phosphatases. European Journal of Inorganic Chemistry, p. 2105, **1999**.

UREY, H.C. On the Early Chemical History of the Earth and the Origin of Life, Proceedings of the National Academy of Sciences, V.38, p.351, **1952**.

WAHNON, D., HYNES, R. C. and CHIN, J. Dramatic ligand effect in copper(II) complex promoted transesterification of a phosphate diester. Journal of Chemical Society, Chemical Communication, p. 1441, **1994**.

WANG, X.; RAYMOND, Y. N. H.; WHITING, A. K.; QUE Jr., L. Spectroscopic Characterization of a Ternary Phosphate-Substrate-Fluoride Complex. Mechanistic Implications for Dinuclear Hydrolases. Journal of the American Chemical Society, v. 121, p. 9235, **1999**.

WANG, D. L., HOLZ, R. C., DAVID, S. S. *et al.* Electrochemical properties of the diiron core of uteroferrin and its anion complexes. Biochemistry, v. 30, p. 8187, **1991**.

WESTHEIMER, F. H. Why nature chose phosphate. Science, v. 235, p. 1173, **1987**.

WILCOX, D. E. Binuclear hydrolases. Chemical Reviews, v. 96, p. 2435, **1996**.

WILKINS, P. C., WILKINS, R. G., Inorganic chemistry in biology, New York, Oxford Chemistry Primers, **1997**.

WILLIAMS, N. H., TAKASAKI, B., WALL, M. *et al.* Structure and nuclease activity of simple dinuclear metal complexes: quantitative dissection of the role of metal ions. Accounts of Chemical Research, v. 32, p. 485, **1999**.

YONEYAMA, T.; SHIOZAWA, M.; NAKAMURA, M.; SUZUKI, T.; SAGANE, Y. KATO, Y.; WATANABE, T.; OHYAMA, T. Characterization of a Novel Acid Phosphatase from Embryonic Axes of Kidney Bean Exhibiting Vanadate-dependent Chloroperoxidase Activity, Journal of Biological Chemistry, 279, 37477, **2004**.

ZALATAN, J. G.; HERSCHLAG, D. Alkaline Phosphatase Mono- and Diesterase Reactions: Comparative Transition State Analysis, Journal of the American Chemical Society, 128, 1293, **2006**.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.