

Bernardo de Souza

**ESTUDO DE NOVOS CATALISADORES BIOMIMÉTICOS
COM EFEITOS DE SEGUNDA ESFERA DE COORDENAÇÃO:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E CATÁLISE.**

Tese submetida ao Programa de Pós
Graduação em Química da Universidade
Federal de Santa Catarina para a
obtenção do Grau de Doutor em
Química

Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves.

Co-orientador: Prof. Dr. Josiel B.
Domingos.

Florianópolis
2013

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

de Souza, Bernardo

ESTUDO DE NOVOS CATALISADORES BIOMIMÉTICOS COM EFEITOS DE SEGUNDA ESFERA DE COORDENAÇÃO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E CATÁLISE. / Bernardo de Souza ; orientador, Ademir Neves ; co-orientador, Josiel Barbosa Domingos. - Florianópolis, SC, 213.

174 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. catálise. 3. complexos modelo. 4. hidrólise de fosfato. 5. segunda esfera de coordenação. I. Neves, Ademir. II. Barbosa Domingos, Josiel. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

Bernardo de Souza

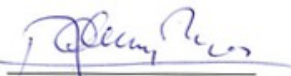
**ESTUDO DE NOVOS CATALISADORES BIOMIMÉTICOS
COM EFEITOS DE SEGUNDA ESFERA DE COORDENAÇÃO:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E CATÁLISE.**


Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutor em Química”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.


Florianópolis, 1 de Novembro de 2013.


Prof. Dr. Hugo Gallardo
Coordenador do Curso

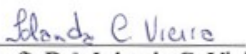
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Ademir Neves
Orientador
UFSC

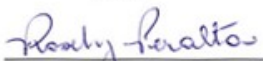

Prof. Dr.ª Liane M. Rossi
USP


Prof.ª Dr.ª Elene C. P. Maia
UFMG


Prof. Dr. Faruk Nome
UFSC


Prof. Dr.ª Iolanda C. Vieira
UFSC


Prof. Dr. José R. Bertolino
UFSC


Prof. Dr.ª Rósely A. Peralta
UFSC

Dedico este trabalho à minha mãe,
Maria Salete da Silva,
pelo imenso esforço
e por todo o amor do mundo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de ter chego até aqui, mesmo em meio à tantas improbabilidades. Eu realmente não imaginava tanto.

Agradeço também à minha família pelo apoio em todos estes anos: finalmente eu saio da escola!

Agradeço à minha nova família, incluída pela minha maravilhosa esposa Fran e agradeço especialmente a ela pela paciência comigo e por todo o carinho.

Agradeço também aos colegas de trabalho de todo este tempo, por todas as discussões e confusões destes anos. Espero poder retribuir um dia toda a ajuda sem a qual este trabalho nunca teria saído.

Neste sentido, agradeço especialmente ao meu Orientador, Prof. Dr. Ademir Neves, por todos os ensinamentos preciosos destes anos e ao meu Co-orientador, Prof. Dr. Josiel Domingos pela ajuda nesta última parte do caminho.

Agradeço também ao Prof. Dr. Adailton J. Bortoluzzi pelas resoluções das estruturas obtidas por difratometria de raios-X.

Agradeço à UFSC e ao Programa de Pós-Graduação em Química pela oportunidade de formação e por todos os funcionários que contribuem para a existência e a continuidade desta instituição.

Por fim agradeço ao CNPq e à CAPES pelas bolsas e por me permitir através delas chegar até o fim desta estrada.

*Pedras no caminho?
Guardo todas,
Um dia vou construir um castelo!
(autor desconhecido)*

RESUMO

Este trabalho consiste no estudo da síntese, caracterização e nos estudos cinéticos de novos complexos catalíticos biomiméticos que incluem o efeito da segunda esfera de coordenação. Neste trabalho foram sintetizados novos complexos heterobinucleares de FeCu, GaCu e GaZn, bem como complexos homobinucleares de Zn para este fim. Os complexos heterobinucleares foram ligados covalentemente ao polímero polietilenoimina, enquanto os complexos homobinucleares foram preparados a partir de um ligante-dendrímero com massa molecular variável. A caracterização dos ligantes e dos complexos foi realizada com sucesso a partir de medidas de RMN, infravermelho e difratometria de Raios-X. Medidas cinéticas diversas frente à hidrólise de diésteres de fosfato ajudaram a elucidar os mecanismos de catálise mediada pelos complexos, bem como o efeito da segunda esfera de coordenação na energia do estado de transição. Uma tendência geral observada é que a adição de um modelo de segunda esfera por muitas vezes diminui a constante catalítica de primeira ordem k_{cat} em função de mudanças nos parâmetros de ativação da reação. Entretanto, a constante de associação tende a ser aumentada. Por meio da obtenção dos parâmetros de ativação dos complexos foi possível propor novas modificações nos polímeros que devem auxiliar no aumento da atividade catalítica. Concluiu-se ser possível a mimetização dos efeitos da segunda esfera de coordenação enzimática através do uso destes sistemas, sem a modificação dos mecanismos correspondentes, apenas causando mudanças nos parâmetros de ativação.

Palavras-chave: catálise, segunda esfera de coordenação, complexos heterobinucleares, complexos homobinucleares.

ABSTRACT

This work consists on the sythesis, characterization and kinetic studies of new biomimetic catalytic complexes possessing second coordination sphere effects. New heterobinuclear complexes of FeCu, GaCu and GaZn were synthetized, as well as homobinuclear complexes of Zn. The heterobinuclear complexes were covalently bound to polyethyleneimine and the homobinuclear were prepared from dendrimer-ligands with varied molecular weights. The characterization of the ligands and complexes was sucessfully achieved through NMR, infrared spectroscopy and X-Ray difratometry. Full kinetic analysis on phosphate diester hydrolysis were performed to help on the elucidation of the catalytic mechanisms by the complexes and their second coordination sphere effects on transition state energies. The general behavior is that the inclusion of second sphere models can lower the first order catalytic constante k_{cat} due to undesired changes on the activation parameters. However, the association constant is most of times raised. It is concluded that the mimetization of the enzymatic second coordination sphere effects through polymers was possible, without modification of the corresponding mechanisms and only causing changes on the activation parameters.

Keywords: catalysis, second coordination sphere, heterobinuclear complexes, homobinuclear complexes.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de energia de reação para uma reação não catalisada (linha cheia) em comparação ao de uma reação catalisada (linha pontilhada).....	29
Figura 2 - Representação do sítio ativo da Catecol Oxidase (esquerda) e de um complexo modelo (direita) sintetizado por Koval (KOVAL et al., 2006).....	31
Figura 3 - Exemplos de catalisadores com alguma seletividade por DNA e peptídeos. Acima, o conjugado PNA-ciclen sintetizado por Wang et al e abaixo, alguns dos complexos que clivam peptídeos, sintetizados por Suh et al.....	33
Figura 4 - Estrutura do sítio ativo da enzima binuclear de Zn(II) Allantoato amidohidrolase evidenciando alguns resíduos da segunda esfera de coordenação do sítio (AGARWAL; BURLEY; SWAMINATHAN, 2007).....	34
Figura 5 - Representação de algumas metodologias encontradas na literatura utilizadas para aumento da atividade catalítica: ligação a grupos laterais, ligação a polímeros, a nanoestruturas e a cadeia proteicas.....	36
Figura 6 - Catalisador de transfosforilação ligado ao dendrímero como publicado por Scrimin e o substrato modelo de RNA 2-hidroxiopropil-(4-nitrofenil)fosfato (HPNP).....	38
Figura 7 - Complexo de Ni-terpiridina ligado à PEI (esquerda) e PEI modificada com piridoxamina (direita) sintetizados por Suh e Liu.....	39
Figura 8 - Complexos formados com ligante H ₂ bpbpmp (esquerda) e complexo Fe(III)Zn(II) com ligante derivado ligado à sílica funcionalizada (direita) como publicado por Piovezan e colaboradores.....	40
Figura 9 - Espectro no infravermelho do precursor bmpaNH ₂ feito em pastilha de KBr.....	49
Figura 10 - Espectro de RMN do precursor bmpaNH ₂ em CDCl ₃	50
Figura 11 - Espectro no infravermelho do ligante bmpPraTz feito em pastilha de KBr.....	52
Figura 12 - Espectro de ¹ H RMN do ligante mpaPraTz feito em CDCl ₃	53
Figura 13 - Espectro no infravermelho do ligante bmpPraTzen feito em pastilha de KBr.....	55
Figura 14 - Espectro de RMN de ¹ H do ligante bmpPraTzen em CDCl ₃	

.....	56
Figura 15 - Espectro de RMN de ^{13}C do ligante bmpPraTzen em CDCl_3 .	57
.....	57
Figura 16 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G0,5 feito em pastilha de KBr.....	59
Figura 17 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G1 feito em pastilha de KBr.....	61
Figura 18 - Espectro de RMN de ^1H do ligante bra_G1 em CDCl_3	62
Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C do ligante bra_G1 em CDCl_3	63
Figura 20 - Espectro de RMN de ^{13}C do ligante bra_G1 expandido feito em CDCl_3	64
Figura 21 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G2 feito em pastilha de KBr.....	66
Figura 22 - Espectro de RMN de ^1H do ligante bra_G2 feito em CDCl_3 .	67
.....	67
Figura 23 - Espectro de RMN de ^{13}C do ligante bra_G2 feito em CDCl_3 .	68
.....	68
Figura 24 - Espectro de ^{13}C RMN do ligante bra_G2 expandido feito em CDCl_3	69
Figura 25 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G3 feito em pastilha de KBr.....	71
Figura 26 - Espectro de ^1H RMN do ligante bra_G3 feito em CDCl_3	72
Figura 27 - Espectro de ^{13}C do ligante bra_G3 feito em CDCl_3	73
Figura 28 - Espectro de ^{13}C RMN do ligante bra_G3 expandido feito em CDCl_3	74
Figura 29 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G4 feito em pastilha de KBr.....	76
Figura 30 - Espectro de ^1H RMN do ligante bra_G4 feito em CDCl_3	77
Figura 31 - Espectro de ^{13}C RMN do ligante bra_G4 feito em CDCl_3	78
Figura 32 - Espectro de ^{13}C RMN expandido do ligante bra_G5 feito em CDCl_3	79
Figura 33 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G5 feito em pastilha de KBr.....	81
Figura 34 - Espectro de ^{13}C RMN do ligante bra_G5 feito em $\text{CD}_3\text{OH}/\text{D}_2\text{O}$	82
Figura 35 - Espectro no infravermelho do substrato HPNP feito em pastilha de KBr.....	84

Figura 36 - Espectro de ^1H RMN do substrato HPNP feito em D_2O	85
Figura 37 - ESI/MS do complexo $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (acima) com a simulação do espectro (abaixo) da espécie $[\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{CuFeN}_5\text{O}_4]^{2+}$.	87
Figura 38 - ESI/MS do complexo $\text{GaZn}(\text{OAc})\text{L}_{\text{ald}}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (acima) com a simulação do espectro (abaixo) para $\text{C}_{40}\text{H}_{41}\text{GaN}_5\text{O}_7\text{Zn}$. Os outros picos são todos relacionados à espécies derivadas do complexo.	91
Figura 39 - Representação ORTEP da estrutura molecular do cátion complexo $[\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{CuL}_{\text{ald}}]$, com o esquema de numeração dos átomos. Os elipsoides são mostrados com 40% de probabilidade.....	96
Figura 40 - Estrutura cristalina do complexo Ga_4Zn_2 , evidenciando as ligações entre os metais e os ligantes.....	99
Figura 41 - Espectro no infravermelho do ligante $\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$ e dos complexos 1-4 feitos em pastilha de KBr.....	102
Figura 42 - Espectro no UV/Vis dos complexos 1 (linha tracejada) e 2 (linha cheia) em CH_3CN	104
Figura 43 - Diagrama de espécies para o complexo $\text{GaCuL}_{\text{ald}}$ titulado em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 50/50 v:v.....	105
Figura 44 - Efeito do pH na atividade do complexo $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ em H_2O (1 – quadrados) sobreposto à distribuição da espécie $(\text{OH})\text{Fe}(\mu\text{OH})\text{Cu}(\text{OH}_2)$ (linha) obtido por titulação potenciométrica. $[\text{C}] = 25 \mu\text{molL}^{-1}$; $[\text{S}] = 1 \text{mmolL}^{-1}$; $[\text{T}] = 40 \text{mmolL}^{-1}$; $[\text{I}] = 1 \text{molL}^{-1}$ a 323 K.....	108
Figura 45 - Efeito do pH na atividade do complexo $\text{GaCuL}_{\text{ald}}$ em H_2O (2 – quadrados) sobreposto à distribuição da espécie $(\text{OH})\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{Cu}(\text{OH}_2)$ (linha) obtido por titulação potenciométrica. $[\text{C}] = 25 \mu\text{molL}^{-1}$; $[\text{S}] = 1 \text{mmolL}^{-1}$; $[\text{T}] = 40 \text{mmolL}^{-1}$; $[\text{I}] = 1 \text{molL}^{-1}$ a 323 K.....	109
Figura 46 - Efeito da concentração do substrato na hidrólise do BDNPP em H_2O para os complexos $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ (1 - círculo) e $\text{GaCuL}_{\text{ald}}$ (2 - quadrado) com as curvas de Michaelis-Menten ajustadas (linha cheia) para cada pH_{max} . $[\text{C}] = 25 \mu\text{molL}^{-1}$; $[\text{T}] = 40 \text{mmolL}^{-1}$; $[\text{I}] = 1 \text{molL}^{-1}$ a 323 K.....	111
Figura 47 - Mecanismo proposto para a hidrólise do BDNPP pelos complexos $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ e $\text{GaCuL}_{\text{ald}}$ (PERALTA, 2005).....	113
Figura 48 - Aparecimento da banda de imina em 420 nm em uma solução $2 \times 10^{-5} \text{molL}^{-1}$ do ligante $\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$ quando 1 equivalente de PEI é	

adicionado em pH 7 (acima). Desaparecimento do pico do aldeído do H_2L_{ald} em 10,30 ppm feito em CD_3OD . O espectro da frente foi feito antes da adição e o segundo após 24hs (abaixo).	115
Figura 49 - Aparecimento da banda de imina em 420 nm em uma solução $2 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ do complexo 4 quando 1 equivalente de PEI é adicionado em pH 7.....	116
Figura 50 - Desaparecimento do pico do aldeído do $GaZn(OAc)L_{ald}$ em 9,5 ppm feito em um RMN de 200 MHz em solvente CD_3OD	117
Figura 51 - Efeito da concentração da força iônica na atividade autônoma da PEI sobre a hidrólise do BDNPP em CH_3CN/H_2O , $[PEI] = 1 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. ■ - força iônica 10 mmolL^{-1} , ● - força iônica 1 molL^{-1} .	118
Figura 52 - Diferença de atividade entre a reação catalisada por 1-PEI e somente PEI em CH_3CN/H_2O sob as mesmas condições. ■ - 1-PEI, ● - PEI. $[C] = 5 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$; $[T] = 40 \text{ mmolL}^{-1}$; $[I] = 1 \text{ molL}^{-1}$ a 323 K.....	119
Figura 53 - Titulação espectrofotométrica do complexo 1 (acima) e do 1-PEI (abaixo) feita em CH_3CN/H_2O 1/1 v:v a 25 °C, $0,1 \text{ molL}^{-1}$ em KCl. $[C] = 1 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	120
Figura 54 - Efeito de pH para os complexos 1 (quadrados) e 1-PEI (círculos) em CH_3CN/H_2O , ajustados com a Equação 1. $[1] = 25 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$; $[1-PEI] = 5 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$; $[T] = 40 \text{ mmolL}^{-1}$; $[I] = 1 \text{ molL}^{-1}$ a 323 K.....	122
Figura 55 - Efeito de substrato comparado dos complexos 1 (quadrados, pH 7) e 1-PEI (círculos, pH 6) nos seus respectivos pHs de atividade máxima e ajustados com a equação de Michaelis-Menten. $[1] = 25 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$; $[1-PEI] = 5 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$ a 323 K.....	123
Figura 56 - Variação da constante de primeira ordem k_{cat} em função da temperatura ajustada segundo a equação de Eyring para os complexos 1 (quadrados) e 1-PEI (círculos). $[1] = 25 \text{ } \mu\text{M}$; $[1-PEI] = 5 \text{ } \mu\text{M}$; $[T] = 40 \text{ mM}$; $[I] = 1 \text{ M}$ à 323 K.....	125
Figura 57 - Proposta de interação da cadeia da PEI com o complexo 1 ligado ao substrato.....	127
Figura 58 - Representação ORTEP da estrutura molecular do complexo $ZnZnbra_Cl$, com o esquema de numeração dos átomos. Os elipsoides são mostrado com 40% de probabilidade.....	134
Figura 59 - Curvas de atividade de hidrólise do HPNP em função da concentração de Zn(II) em CH_3CN . bra_G0 – esquerda, bra_G5 – direita. $[L] = 5 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ a 323 K.....	137

Figura 60 - Reação de transesterificação do substrato HPNP.....	137
Figura 61 - Curvas de velocidade inicial em função do pH para os complexos bra_G0 a G5. Em ordem crescente de massa molecular, os máximos se deslocaram para baixo e para a esquerda.....	138
Figura 62 - Parâmetros cinéticos para o complexo bra_G0 em função do pH. (a): k_{cat} com os valores de pK_a encontrado a partir do ajuste da Equação 1. (b): K_M ajustado com uma equação sigmoidal indicando o ponto de inflexão. $[C] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $[T] = 50 \text{ mmol L}^{-1}$, $[I] = 50 \text{ mmol L}^{-1}$ a 298 K.....	140
Figura 63 - Mecanismo proposto para a hidrólise do HPNP pelos complexos ZnZnbra_Gx.....	142
Figura 64 - Gráfico dos valores de k_{cat} e K_M para os ligantes bra_Gx obtidos nos respectivos pHs máximos (Tabela 16) de atividade em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 50:50 v/v. ■ - k_{cat} e ● - K_M . $[\text{complexo}] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O simbolo Cl refere-se ao ligante bmpPraTz e os números de 0 a 5 representam as gerações do dendrímero. $[C] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $[T] = 50 \text{ mmol L}^{-1}$, $[I] = 50 \text{ mmol L}^{-1}$ a 298 K.....	143
Figura 65 - Estrutura obtida a partir de um cálculo de dinâmica molecular estabilizada a 300 K com o campo de força MM2. O complexo está evidenciado na forma de “bastão e bola” enquanto a cadeia como bastões finos.....	145
Figura 66 - Gráfico dos valores de ΔS^\ddagger (acima) e ΔG^\ddagger (abaixo) obtidos para a série de complexo bra_Gx na hidrólise do HPNP.	146
Figura 67 - Efeito isotópico de deutério (k_H/k_D) em função da massa molecular dos complexos.....	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados cristalográficos e de refinamento das estruturas de 2 e 3.....	95
Tabela 2 - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 2.....	97
Tabela 3 - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 3.....	100
Tabela 4 - Principais bandas (cm ⁻¹) e atribuições dos espectros no infravermelho dos complexo 1-4.....	103
Tabela 5 - Comparação entre valores de pKa deste trabalho com o de sistemas similares da literatura.....	107
Tabela 6 - Comparativo entre os valores de pKa encontrados potenciometricamente e cineticamente para os complexos 1 e 2.....	110
Tabela 7 - Comparativo das constantes cinéticas obtidas para os complexos 1 e 2 a partir da equação de Michaelis-Menten.....	111
Tabela 8 - Comparativo entre os valores de pKa potenciométricos e espectrofotométricos para os complexo 1 e 1-PEI.....	121
Tabela 9 - Comparativo entre as constantes catalíticas obtidas para o complexo 1 e 1-PEI nos seus pHs de atividade máxima.....	124
Tabela 10 - Parâmetros de ativação obtidos a partir da Equação 2.....	125
Tabela 11 - Principais bandas e suas atribuições nos espectros dos ligantes citados (em cm ⁻¹).....	130
Tabela 12 - Sinais referentes ao ¹³ C RMN dos ligantes estudados com as devidas atribuições.....	131
Tabela 13 - Massas moleculares calculadas e obtidas por espectrometria de massas usando um espectrômetro de massas ESI-TOF.....	132
Tabela 14 - Dados cristalográficos e de refinamento da estrutura do ZnZnbra_Cl.....	134
Tabela 15 - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo ZnZnbra_Cl.....	135
Tabela 16 - Comparativo entre os pKas obtidos a partir do ajuste da Equação 1 para os complexos citados.....	139
Tabela 17 - Constantes cinéticas obtidas para a série bra_Gx.....	144
Tabela 18 - Parâmetros termodinâmicos obtidos para a hidrólise do HPNP.....	147
Tabela 19 - Dados do efeito isotópico de deutério, para a série bra_Gx em CH ₃ CN/H ₂ O 50/50 v:v.....	150

Tabela 20 - Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo 2. $U(\text{eq})$ é definido como 1/3 do traço do tensor U_{ij} ortogonalizado.....	165
Tabela 21 - Parâmetros térmicos de deslocamento anisotrópico para o complexo 2. O fator exponencial do deslocamento anisotrópico tem a forma $-2p^2[h^2a*2U^{11}+...+2hka*b*U^{12}]$	166
Tabela 22 - Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo 3. $U(\text{eq})$ é definido como 1/3 do traço do tensor U_{ij} ortogonalizado.....	168
Tabela 23 - Parâmetros térmicos de deslocamento anisotrópico para o complexo 3. O fator exponencial do deslocamento anisotrópico tem a forma $-2p^2[h^2a*2U^{11}+...+2hka*b*U^{12}]$	170
Tabela 24 - Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo ZnZnbmpPratz . $U(\text{eq})$ é definido como 1/3 do traço do tensor U_{ij} ortogonalizado.....	172
Tabela 25 - Parâmetros térmicos de deslocamento anisotrópico para o complexo ZnZnbmpPratz. O fator exponencial do deslocamento anisotrópico tem a forma $-2p^2[h2a*2U^{11}+...+2hka*b*U^{12}]$	173
Tabela 26 - Ligações de hidrogênio para o complexo ZnZnbmpPratz (Å e o).....	175

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNPP	bis-(2,4-dinitrofenil)-fosfato
bmpa-NH2	N,N'-bis(piridilmetil)-1,3-propanodiamina
bmpPraTz	2,4-[N,N'-bis(piridilmetil)-1,3-propanodiamino]-6-cloro-1,3,5-triazina
bmpPraTzen	2,4-[N,N'-bis(piridilmetil)-1,3-propanodiamino]-6-etilenodiamino-1,3,5-triazina
CHES	ácido N-ciclohexil-2-aminoetanosulfônico
DFT	density functional theory
ϵ	constante de absorvidade molar
EDTA	ácido etilenodiaminotetraacético
H₂L_{ald}	2-bis[{(2-piridilmetil)aminometil} -6- {(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)} aminometil]-4-metil-fenol
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanosulfônico
HPNP	2-hidroxipropil-p-nitrofenilfosfato
k_{cat}	constante de velocidade de primeira ordem
K_M	constante de Michaelis
k_{uncat}	constante da reação não catalisada
MES	ácido 2-(N-morfolino)etanosulfônico
PAMAM	poli(amidoamina)
PEI	polietilenoimina
RMN	ressonância magnética nuclear
UV/Vis	ultravioleta/visível
[T]	concentração do tampão
[C]	concentração do catalisador
[S]	concentração do substrato
[I]	força iônica do meio

SUMÁRIO

1INTRODUÇÃO.....	29
1.1 Do desenvolvimento da catálise.....	29
1.2 A contribuição da Bioquímica.....	30
1.3 Compostos modelo.....	30
1.4 À procura da seletividade.....	32
1.5 O efeito da “segunda esfera”.....	34
1.6 Modelando o ambiente enzimático.....	35
1.7 Catalisadores ligados A polímeros (ou poliméricos).....	37
1.8 Proposta deste trabalho.....	39
1.8.1 Catalisadores para a hidrólise do BDNPP.....	39
1.8.2 Catalisadores para a hidrólise do HPNP.....	41
2OBJETIVOS.....	42
2.1 Objetivos gerais.....	42
2.2 Objetivos específicos.....	42
3EXPERIMENTAL.....	43
3.1 Materiais, Métodos e Instrumentação.....	43
3.1.1 Materiais.....	43
3.2 Métodos e instrumentação.....	43
3.2.1 Espectroscopia no Infravermelho.....	43
3.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio.....	44
3.2.3 Espectroscopia eletrônica UV/Vis.....	44
3.2.4 Difratometria de Raios X.....	44
3.2.5 Métodos computacionais.....	44
3.2.6 Titulação pontenciométrica e espectrofotométrica.....	45
3.2.7 Purificação por diálise.....	45
3.2.8 Medidas de reatividade na hidrólise de fosfatos.....	46
3.3 Síntese do precursor - N,N'-bis(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina – bmpa-NH ₂	48
3.4 Síntese do ligante 2,4-[N,N'-bis(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamino]-6-cloro-1,3,5-triazina – bmppratz.....	51
3.5 Síntese do ligante 2,4-[N,N'-bis(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamino]-6-Etilenodiamino-1,3,5-triazina – bmpprätzen (ou bra_G0).....	54
3.6 Síntese do ligante com o dendrímero pamam de primeira geração.....	

na posição 6 – bmppratz_G1 (ou bra_g1).....	58
3.7 Síntese do ligante com o dendrímero pamam de segunda geração na posição 6 – bmppratz_G2 (ou bra_g2).....	65
3.8 Síntese do ligante com o dendrímero pamam de terceira geração na posição 6 – bmppratz_G3 (ou BRA_G3).....	70
3.9 Síntese do ligante com o dendrímero pamam de quarta geração na posição 6 – bmppratz_G4 (ou BRA_G4).....	75
3.10 Síntese do ligante com o dendrímero pamam de quinta geração na posição 6 – bmppratz_G5 (ou BRA_G5).....	80
3.11 Síntese do substrato 2-hidroxiopropil-4-nitrofenilfosfato de bário (hnp).....	83
3.12 Síntese dos complexos derivados do 2-bis[{(2-piridilmetil)aminometil}-6- {(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)} aminometil]-4-metil-fenol (H2L _{ald}).....	86
3.12.1 Síntese do complexo perclorato de (μ-hidroxo){2-bis[{(2-piridilmetil)aminometil}-6- {(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)} aminometil]-4-metil-fenolato} de Ferro(III) e Cobre(II) - Fe(μOH)CuL _{ald} .2ClO ₄ .H ₂ O (1).....	86
3.12.2 Síntese do complexo perclorato de (μ-hidroxo){2-bis[{(2-piridilmetil)aminometil}-6- {(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)} aminometil]-4-metil-fenolato} de Gálio(III) e Cobre(II) - Ga(μOH)CuL _{ald} .ClO ₄ .H ₂ O (2).....	88
3.12.3 Síntese do complexo Ga ₄ Zn ₂ L _{ald} (3).....	89
3.12.4 Síntese do complexo perclorato de bis(μ-acetato){2-bis[{(2-piridilmetil)aminometil}-6- {(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)} aminometil]-4-metil-fenolato} de Gálio(III) e Zinco(II) - Ga(μOAc)2ZnL _{ald} .ClO ₄ (4).....	90
3.13 Síntese do complexo ZnZnbmpPratz derivado do ligante 2,4-[N,N'-bis(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamino]-6-cloro-1,3,5-TRIAZINA.....	92
3.14 Síntese dos complexos de zinco derivados dos ligantes dendriméricos.....	93

4DO ESTUDO DOS COMPLEXOS DERIVADOS DO LIGANTE

H2Lald E SUA LIGAÇÃO COM A POLIETILENOIMINA.....	94
4.1 Síntese e caracterização dos complexos.....	94
4.1.1 Difractometria de Raios-X de monocristal.....	94
4.1.2 Espectroscopia vibracional no infravermelho.....	102

4.1.3 Espectroscopia no Ultravioleta e visível (UV/Vis).....	104
4.1.4 Estudos de equilíbrio químico por titulação potenciométrica	105
4.1.5 Estudos de reatividade dos complexo 1 e 2 frente à hidrólise do diéster BDNPP.....	107
4.2 Estudos dos efeitos de segunda esfera de coordenação a partir da ligação na polietilenoimina (PEI).....	113
4.2.1 Síntese do sistema com inclusão do modelo de segunda esfera de coordenação - ligação à PEI.....	114
4.2.2 Controle da reatividade da polietilenoimina frente ao BDNPP.....	117
4.2.3 Titulação espectrofotométrica do complexo 1 e de 1-PEI	119
4.2.4 Estudos de reatividade do sistema 1-PEI frente à hidrólise do diéster BDNPP.....	121
4.2.4.1 Efeito do pH na reatividade.....	121
5DO ESTUDO DOS COMPLEXOS DERIVADOS DOS LIGANTES COM A UNIDADE 1,3,5-TRICLORO TRIAZINA.....	128
5.1 Síntese e caracterização dos ligantes.....	129
5.1.1 Espectroscopia vibracional no infravermelho.....	129
5.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	130
5.1.3 Espectrometria de massas.....	131
5.2 Síntese e caracterização dos complexos.....	132
5.2.1 Difratomia de Raios X de monocristal.....	133
5.2.2 Síntese dos complexos <i>in situ</i>	136
5.2.3 Estudos de reatividade dos complexos frente ao substrato HPNP.....	137
5.2.4 Efeitos do tamanho da cadeia na segunda esfera de coordenação.....	142
6CONCLUSÕES.....	151
7PERSPECTIVAS.....	152
8REFERÊNCIAS.....	153
9ANEXOS.....	165
ANEXO I – Dados cristalográficos do complexo 2	165
ANEXO II – Dados cristalográficos do complexo 3	168
ANEXO III – Dados cristalográficos do ZnZn mp Pratz.....	172

1 INTRODUÇÃO

1.1 DO DESENVOLVIMENTO DA CATÁLISE

Desde que, em 1835, Jöns Jacobs Berzelius definiu o conceito de catalisador como “substância que promove uma reação sem ser afetada por ela”, muito foi percorrido no campo da catálise e de suas implicações para a Química (BERZELIUS, 1835). O que em princípio parecia ser uma propriedade especial de metais, como a Platina, e de ácidos simples, como o Ácido Sulfúrico, historicamente acabou por se revelar um fenômeno bem complexo e nada macroscópico. Um fenômeno que depende mais de interações fracas entre moléculas do que o grande químico esperava (LINDSTRÖM; PETTERSSON, 2003).

O desenvolvimento da Catálise (e da Química) foi muito acelerado em função da fabricação de armas e mantimentos durante as Guerras Mundiais. Com o desenvolvimento das técnicas espectroscópicas, a partir de então chegou-se a um consenso sobre o papel geral dos catalisadores: diminuir a energia de ativação necessária para que a reação se complete, assim acelerando-a (Figura 1). Novas descobertas, então, levaram à fabricação de diversos catalisadores para todo tipo de reação e possibilitaram que, atualmente, 90% da produção da Indústria Química seja baseada na catálise, por motivos práticos, econômicos e (mais recentemente) ambientais (HABER, 2009).

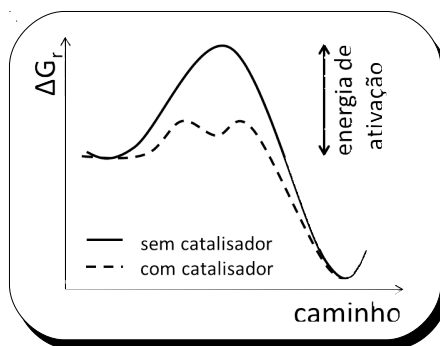


Figura 1 - Diagrama de energia de reação para uma reação não catalisada (linha cheia) em comparação ao de uma reação catalisada (linha pontilhada).

1.2 A CONTRIBUIÇÃO DA BIOQUÍMICA

Ao mesmo tempo em que os Químicos avançavam em seu conhecimento de Catálise, os Bioquímicos descobriam que a vida também depende da existência de catalisadores naturais, as enzimas, que além de serem muito mais rápidos que seus concorrentes artificiais, são bem mais específicos para suas reações (KOSHLAND, 2006). Enzimas são cadeias proteicas (ou de RNA e DNA, no caso das ribozimas e deoxirribozimas) especificamente sintetizadas para promover algumas reações importantes nos organismos vivos. Essas atuam pelo mesmo princípio de diminuição da energia de ativação, só que com muito mais eficiência. Naturalmente, com o tempo, enzimas foram e são aplicadas em muitos processos onde não é possível ou não vale a pena se utilizar de um catalisador artificial, e a catálise enzimática passou a ser cada vez mais valorizada.

Recentemente, a engenharia enzimática através de modificação de códons tem levado a uma seletividade e/ou reatividade ainda maior, e compostos importantes que nem são sintetizados pela Natureza podem ser obtidos por intermédio destes novos biocatalisadores (BORNSCHEUER et al., 2012). Diversas teorias foram desenvolvidas para explicar o aumento tão significativo da velocidade das reações pelas enzimas, mas o entendimento aprofundado da incrível eficiência da catálise enzimática em termos moleculares ainda tem sido um dos desafios da Bioquímica no último meio século (BRUICE; BENKOVIC, 2000). De qualquer forma é possível afirmar que esse aumento na atividade não vem de um simples fator presente na cadeia, mas sim da sinergia de todo o conjunto cadeia proteica+sítio ativo atuando sobre seu(s) substrato(s).

1.3 COMPOSTOS MODELO

Na busca de um melhor entendimento de tais sistemas e na tentativa de reproduzir os excelentes resultados obtidos, compostos bioinspirados capazes de imitar a atividade enzimática têm sido preparados desde o descobrimento das primeiras enzimas. Diversas moléculas projetadas a partir do sítio ativo destas, de fato, apresentaram propriedades similares e algumas têm sido sugeridas como substitutas, dado que o isolamento e purificação destas proteínas é um processo caro

e trabalhoso. Em especial, complexos metálicos têm sido utilizados para modelar as chamadas metaloenzimas, que possuem pelo menos um átomo de metal catalítico em sua estrutura e que compõem um terço das enzimas dos organismos vivos (Figura 2).

O desenvolvimento destes chamados “complexos modelo” levou a um grande aumento no conhecimento da relação estrutura-atividade das metaloenzimas, bem como ao entendimento de propriedades espectroscópicas e da formação de intermediários incomuns. Algumas enzimas, como a *Galactose Oxidase* – cujo sítio ativo mononuclear de cobre que forma um radical tirosil estável por semanas –, pareciam possuir características muito fora do esperado, quase sem explicação, mas que foram elucidadas a partir do desenvolvimento de complexos modelo (WHITTAKER; CHUANG; WHITTAKER, 1993).

Entretanto, apesar do avanço crescente da síntese de catalisadores artificiais, a diferença de atividade destes e dos naturais ainda é bastante discrepante, em média centenas de milhões de vezes. Por exemplo, os modelos sintéticos da enzima *Catecol Oxidase*, responsável pela oxidação de catecóis às suas respectivas quinonas (Figura 2), mesmo que apresentando propriedades estruturais e eletrônicas bastante similares as da enzima, atualmente só conseguem oxidar catecóis ativados, como o 3,5-di-tercbutil catecol, com constantes catalíticas (k_{cat}) na faixa de 10^{-2} a 10^{-3} s $^{-1}$ (HAMMES; BENKOVIC; HAMMES-SCHIFFER, 2011), enquanto a enzima binuclear de cobre(II) oxida o substrato não ativado com constantes na faixa de 100-200 s $^{-1}$ (KOVAL et al., 2006).

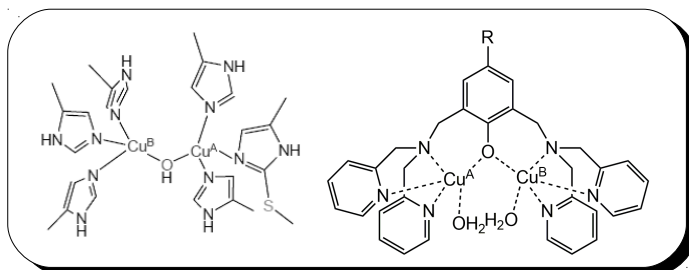


Figura 2 - Representação do sítio ativo da Catecol Oxidase (esquerda) e de um complexo modelo (direita) sintetizado por Koval (KOVAL et al., 2006).

1.4 À PROCURA DA SELETIVIDADE

Durante praticamente todo o último século, o foco no desenvolvimento da catálise esteve na busca de compostos que fossem os mais ativos possíveis para diversas reações, com esta atividade sendo avaliada pelo número de ciclos que estes poderiam fazer num determinado tempo (a frequência de *turnovers*) ou no fator de aumento da velocidade da reação (k_{cat}/k_{uncat}). Baseados nesses estudos, diversos catalisadores que atuam com grande eficiência foram sintetizados e o conhecimento geral sobre “como desenvolver um catalisador para determinada reação” ficou relativamente bem estabelecido. Por isso, atualmente, o alvo do desenvolvimento de novos catalisadores vem mudando para uma catálise cada vez mais refinada, onde é desejável obter seletividade e controle sobre a formação dos produtos, evitando reações paralelas e subprodutos indesejados como misturas racêmicas, polimerizações e etc., à semelhança das enzimas (FARRAUTO; HECK, 2000; TORELLI et al., 2000).

Do ponto de vista dos catalisadores de interesse bioquímico, é imprescindível este controle quando se pensa em desenvolver compostos capazes de quebrar proteínas ou DNA à luz das respectivas enzimas. Diversos catalisadores descritos na literatura são capazes de efetuar a hidrólise de peptídeos e ácidos nucleicos, a exemplo das proteases e nucleases, porém quase nenhum possui a seletividade necessária para aplicação em proteômica ou genômica como a Tripsina ou a *EcoRI* (NOYORI, 2002; OLIVEIRA et al., 2009). A primeira enzima é utilizada para identificação da estrutura primária de proteínas exatamente por sua seletividade: cliva somente peptídeos que contêm os aminoácidos lisina e arginina (YOO et al., 2005). E a segunda é uma enzima de restrição, que corta entre a Guanina e a Adenina na sequência 5' GAATTC, utilizada para diversas aplicações, entre elas, remoção de seções de DNA *in vitro* (OLSEN; ONG; MANN, 2004).

Até recentemente, atividade catalítica seletiva como demonstrada acima não era comumente encontrada em compostos modelo devido à falta das unidades de reconhecimento de sequências de peptídeos e/ou DNA, como as encontradas nas enzimas. Entretanto, alguns trabalhos já demonstraram que, de fato, é possível efetuar clivagem seletiva, se a parte catalítica estiver acoplada a algum grupo de

reconhecimento. Um exemplo destes compostos é o PNA-ciclen (Figura 3), capaz de clivar DNA plasmidial sem a presença de metal e especificamente o nucleotídeo 5'-OH-CCCTATATAGGG-3'-OH gerando o produto 5'-OH-ATAGGG-3'-OH (KURPIEWSKI et al., 2004). Outros exemplos são os complexos de Suh e colaboradores, capazes de clivar diversas proteínas importantes de forma seletiva e em lugares específicos através do reconhecimento dos grupos ligados ao metal. Neste último caso, vale ressaltar que tais grupos foram escolhidos a partir de uma biblioteca de substituições e somente os mais ativos foram selecionados num processo também bioinspirado de pseudo-evolução (WANG et al., 2011).

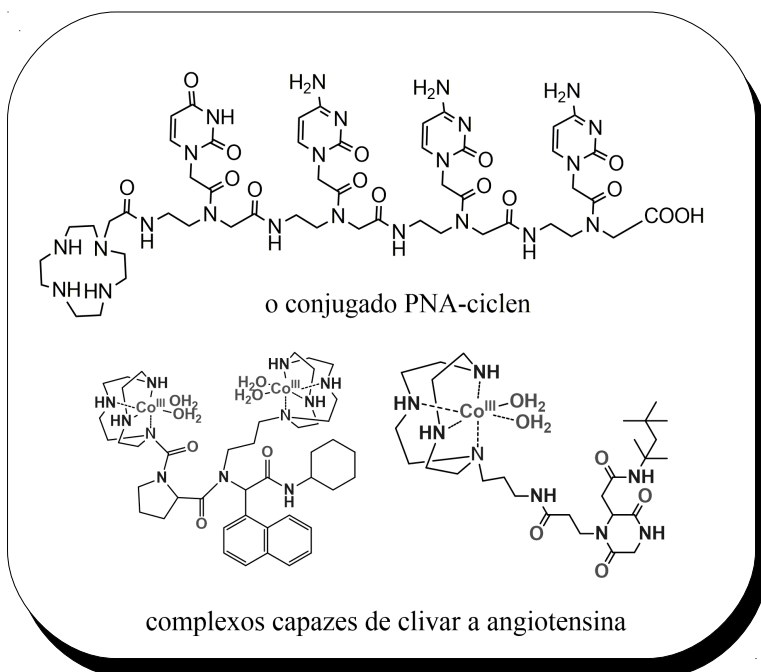


Figura 3 - Exemplos de catalisadores com alguma seletividade por DNA e peptídeos. Acima, o conjugado PNA-ciclen sintetizado por Wang *et al* e abaixo, alguns dos complexos que clivam peptídeos, sintetizados por Suh *et al*.

1.5 O EFEITO DA “SEGUNDA ESFERA”

Como é possível se obter seletividade para determinado substrato? E como é possível aumentar a atividade de um catalisador artificial a um patamar enzimático? Trabalhos recentes (descritos a seguir) indicam que a resposta para ambas perguntas reside na “segunda esfera” do catalisador: os grupos expectadores, que ficam próximos do sítio catalítico e que podem participar indiretamente desta.

Do ponto de vista da seletividade, isto é mais evidente. Para que haja algum tipo de reconhecimento por parte do catalisador, é necessário que junto ao sítio da catálise existam partes de moléculas que possam interagir preferencialmente com o substrato através de ligações não covalentes fortes, como ligações de hidrogênio e de dipolo. Este efeito é exemplificado na Figura 4, onde se pode observar o peptídeo Allantoato coordenado ao sítio binuclear de zinco(II) da enzima *Allantoato amidohidrolase*, ligação que é fortemente estabilizada pelas interações intramoleculares ao seu entorno (AGARWAL; BURLEY; SWAMINATHAN, 2007). Estas ligações proveem estabilidade, no sentido de aumentar a constante de equilíbrio de formação do complexo enzima-substrato, mas também seletividade frente a outros substratos similares pela influência na energia de interação específica para com o mesmo. Este princípio de reconhecimento já é muito utilizado na síntese de inibidores para determinadas enzimas, a partir das interações não covalentes mais importantes.

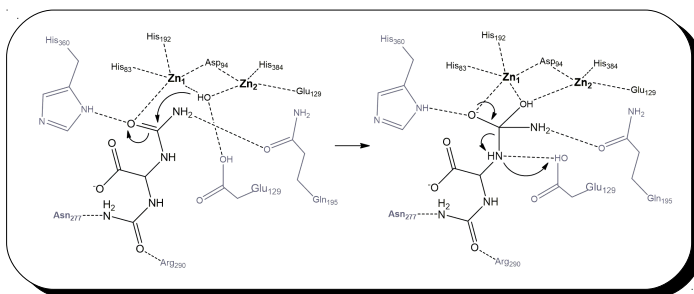


Figura 4 - Estrutura do sítio ativo da enzima binuclear de Zn(II) *Allantoato amidohidrolase* evidenciando alguns resíduos da segunda esfera de coordenação do sítio (AGARWAL; BURLEY; SWAMINATHAN, 2007).

A grande influência dos grupos laterais na atividade também está relacionada às interações intermoleculares entre estes e o substrato, principalmente pela estabilização de estados transição e intermediários e pelo auxílio nas transferências de próton necessárias. Na mesma Figura 4, no lado direito, está representado o primeiro intermediário da hidrólise do peptídeo alvo. Como é possível observar, os resíduos His₃₆₀, Glu₁₂₉ e Gln₁₉₅ têm um papel fundamental na estabilização do intermediário (e presumivelmente no estado de transição que leva a ele), contribuindo para sua formação; e, ainda, o resíduo ácido do Glu₁₂₉ serve como doador de prótons para auxiliar a saída do grupo amino.

Em diversas metaloenzimas, a grande influência da segunda esfera de coordenação está em auxiliar a estabilização de espécies instáveis sob condições normais. Exemplos mais comuns são a *Ribonucleotídeo Redutase*, que apresenta uma tirosina na forma radicalar que é estável à temperatura ambiente; a *Metano Monooxigenase*, que como forma ativa tem um sítio de Fe(IV)-Fe(IV); e a própria *Catecol Oxidase* citada acima, que é capaz de estabilizar um complexo de Cu(II)- μ (O-O)-Cu(II) também a temperatura ambiente, quando modelos só o fazem por pouco tempo e a -80 °C.

Interações como estas são da ordem de 10-20 kcal, ou até mais, o que gera uma grande diferença no ΔG_r e ΔG^\ddagger e, conseqüentemente, fazem com que a reação seja muito mais rápida e específica do que seria sem nenhum efeito externo. Este efeito é muitas vezes tão forte que mutações de um destes resíduos importantes diminuem a atividade das enzimas em várias ordens de grandeza, ou mesmo as torna inativas (LI et al., 2008; LIU et al., 1993; ROGERS et al., 2007).

1.6 MODELANDO O AMBIENTE ENZIMÁTICO

A partir do reconhecimento do efeito significativo dos “grupos expectadores” na atividade do catalisador, diversas metodologias vêm sendo desenvolvidas a fim de se modelar além do sítio da catálise, como no caso da ligação dos catalisadores a grupos de reconhecimento (acima, seção 1.4). Dentre as várias abordagens para se melhorar a atividade de um catalisador à luz da contrapartida enzimática podemos citar: adição de grupos laterais cataliticamente ativos (BONOMI et al., 2009; TJIOE et al., 2011, 2012); utilização de polímeros e/ou dendrímeros para criar o

ambiente químico adequado (AVENIER et al., 2007; PRINS; SCRIMIN, 2009); ligação de catalisadores à nanoestruturas (BONOMI et al., 2008; ZAUPA et al., 2011); e até a ligação de um sítio modelo a proteínas não catalíticas para gerar enzimas artificiais (DEUSS et al., 2011). Cada uma destas abordagens representadas na Figura 5 tem mostrado vantagens e desvantagens. A abordagem utilizada neste trabalho será a de utilização de polímeros/dendrimeros como modelo da segunda esfera.

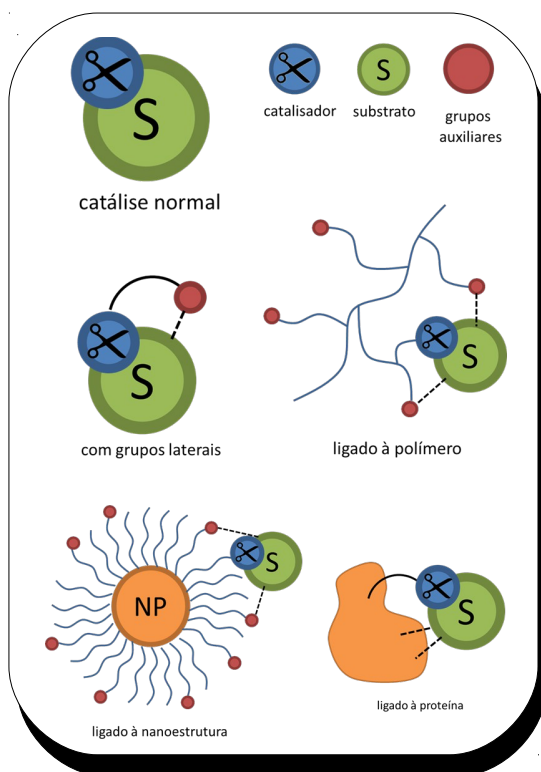


Figura 5 - Representação de algumas metodologias encontradas na literatura utilizadas para aumento da atividade catalítica: ligação a grupos laterais , ligação a polímeros, a nanoestruturas e a cadeia proteicas.

1.7 CATALISADORES LIGADOS A POLÍMEROS (OU POLIMÉRICOS)

Seguindo a tendência metodológica descrita na seção 1.6, se a presença de um único grupo lateral pode influenciar na atividade catalítica ajudando a estabilizar um estado de transição, quanto mais a presença de vários destes grupos. Ao ligar um catalisador em uma cadeia polimérica (ou fazer desta um catalisador), é possível simular em um nível mais aprofundado o efeito da cadeia proteica na catálise, tanto no sentido de conceber um ambiente químico diferente do solvente, quanto na possibilidade de colocar diferentes grupos laterais para que efeitos sinérgicos possam se manifestar (AVENIER et al., 2007; HOLLFELDER; KIRBY; TAWFIK, 2001).

Trabalhos recentes do grupo do professor Scrimin com o ligante tacn ligado a dendrímeros corroboram esta sugestão. Num primeiro trabalho, a atividade na catálise de transfosforilação do substrato 2-hidroxiopropil-(4-nitrofenil)fosfato (HPNP) na presença do complexo tacn-Zn(II) ligado a um dendrímero (Figura 6) foi avaliada. A síntese do complexo foi feita *in situ* com adição de zinco sobre o ligante, e obteve-se um k_{obs} para o sistema dendrímero de $1,9 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, 270 vezes maior do que o k_{obs} para o complexo livre ($7 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$). O aumento na atividade, neste caso, é atribuído à cooperatividade entre complexos próximos, ligados à cadeia (MARTIN et al., 2007). Em outro trabalho, ao ligar este mesmo dendrímero a uma resina insolúvel (para posterior reutilização), foi possível constatar que o k_{cat} para a reação caiu pela metade devido aos processos de difusão de entrada do substrato e saída do produto; mas o K_M diminuiu em torno de 30%, indicando uma melhor associação deste com o catalisador e fazendo com que a eficiência catalítica (k_{cat}/K_M) não fosse tão alterada (ZAUPA; PRINS; SCRIMIN, 2009).

Outros trabalhos onde complexos cataliticamente ativos foram ligados a polímeros também demonstraram aumento de atividade sob algumas condições. Por exemplo, o complexo Ni-terpiridina publicado por Suh (Figura 7), quando ligado à polietilenoimina (PEI) modificada com grupos dodecil, apresenta um aumento de 9 vezes no k_{cat} de transfosforilação do HPNP em relação ao complexo livre em pH 7. Porém, neste trabalho, o autor faz uma constatação importante: a simples modificação do ligante com a PEI não aumenta a atividade do

complexo, na verdade ela até a diminui. É a modificação com os grupos apolares dodecila que torna possível o aumento da atividade catalítica (SUH; HONG, 1998).

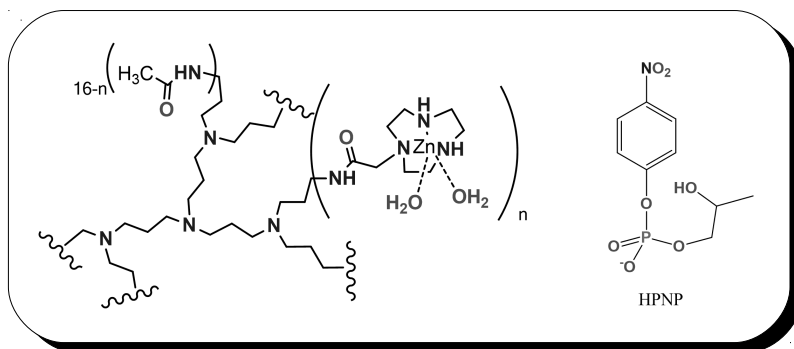


Figura 6 - Catalisador de transfosforilação ligado ao dendrímero como publicado por Scrimin e o substrato modelo de RNA 2-hidroxipropil-(4-nitrofenil)fosfato (HPNP).

O trabalho publicado por Liu e Breslow também conclui algo na mesma direção. Eles prepararam uma PEI modificada com piridoxamina (Figura 7), a fim de mimetizar as enzimas dependentes da Vitamina B6, e observaram que seu polímero catalítico era 6700 vezes mais rápido para a síntese da alanina a partir do ácido pirúvico do que a piridoxamina livre em pH 5. Neste trabalho os autores também avaliaram o efeito dos grupos alquílicos variando o tamanho da cadeia de C1 até C18 e observaram uma diferença de mais de 10 vezes entre as cadeias mais curtas e as mais longas (LIU; BRESLOW, 2002).

Este efeito da polaridade do polímero tem a ver com a blindagem do nucleófilo presente na cadeia e é muito importante no desenho de novos catalisadores por esta abordagem. Quanto mais cercado de ligações de hidrogênio o nucleófilo está, menos ativo ele é. Essa influência do ambiente na ativação do nucleófilo já foi proposta e demonstrada em publicações específicas, e tem papel fundamental no desenho de novos catalisadores que utilizam esta abordagem (CHEN; BRAUMAN, 2008; HONG; SUH, 2000).

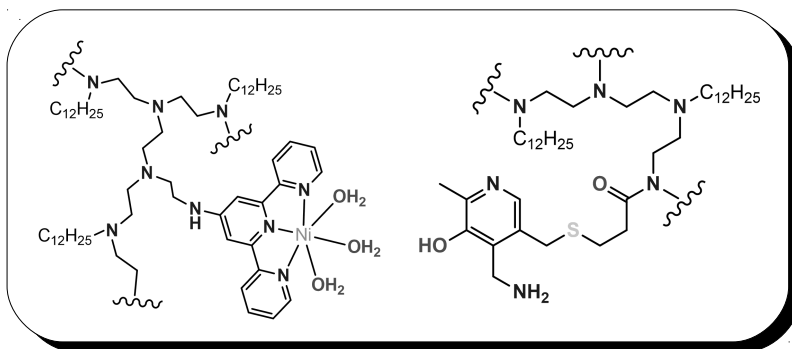


Figura 7 - Complexo de Ni-terpiridina ligado à PEI (esquerda) e PEI modificada com piridoxamina (direita) sintetizados por Suh e Liu.

1.8 PROPOSTA DESTE TRABALHO

A reatividade de complexos metálicos frente à catálise de substratos modelo tem sido o objeto de estudo de diferentes grupos de pesquisa. Propõe-se então neste trabalho a síntese e a caracterização de novos complexos catalíticos onde seja possível incluir os efeitos de segunda esfera através da utilização de polímeros e/ou dendrímeros. Para tanto, a ideia é partir-se de sistemas já relativamente conhecidos em termos dos seus mecanismos para facilitar as análises posteriores. Seguem abaixo alguns exemplos relacionados aos complexos utilizados neste trabalho.

1.8.1 Catalisadores para a hidrólise do BDNPP

Dentre os diversos complexos modelo já sintetizados na literatura, destacam-se para a hidrólise de fosfatos e DNA os complexos heterobinucleares, modelos das *Fosfatases Ácidas Púrpuras*, derivados do ligante 2-{{bis(piridina-2-ilmetil)amino}metil}-6-{{(2-hidroxibenzil)(piridina-2-ilmetil)amino}metil}4-metilfenol H₂bbpmp, Figura 8 à esquerda). Estes apresentam propriedades espectroscópicas e eletrônicas bastante similares às enzimas que se propõem a mimetizar e possuem uma alta eficiência, além de ter seu mecanismo de ação bem elucidado.

(NEVES et al., 1996, 2007; PERALTA et al., 2010).

O composto Fe(III)Zn(II), por exemplo, é capaz de hidrolisar o diéster de fosfato bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (BDNPP) a 25°C em pH ótimo 6,5 com $k_{\text{cat}} = 9,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ e $K_M = 4,2 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$, o que representa um fator de 5000 vezes sobre a reação não catalisada (NEVES et al., 2007). Ele também possui uma boa atividade frente à hidrólise de DNA plasmidial, com $k_{\text{cat}} = 2,09 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ (aumento de 5×10^5 vezes) e atividade citotóxica em células neoplásicas, como as da linhagem K562, com $\text{IC}_{50} = 6,2 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$ (PERALTA et al., 2010). O mecanismo de clivagem de diésteres deste complexo foi extensamente discutido e isso se torna uma enorme vantagem quando se pensa em ligar um catalisador a algum tipo de macroestrutura (que já é um sistema complexo em si).

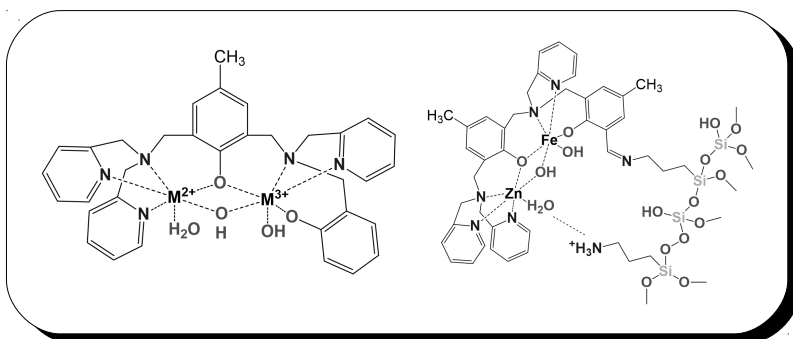


Figura 8 - Complexos formados com ligante H2bpbmp (esquerda) e complexo Fe(III)Zn(II) com ligante derivado ligado à sílica funcionalizada (direita) como publicado por Piovezan e colaboradores.

Recentemente, o mesmo grupo sintetizou um ligante derivado do H2bpbmp com um aldeído presente no fenol lateral, o que permite a reação deste com diversos outros compostos e suportes como a sílica 3-aminopropil funcionalizada (Figura 8 à direita) (PIOVEZAN, 2012; PIOVEZAN et al., 2010). O complexo Fe(III)Zn(II) imobilizado na sílica apresentou $k_{\text{cat}} = 1,42 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, menor do que o complexo livre e $K_M = 1,54 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$, também menor, indicando uma diminuição na força do nucleófilo (talvez devido à estabilização deste por ligações de

hidrogênio) com um aumento da constante de associação catalisador-substrato, como normalmente acontece com catalisadores imobilizados (ZAUPA; PRINS; SCRIMIN, 2009). Neste caso, foi possível reutilizar o catalisador várias vezes sem que ele perdesse a atividade, um ganho significativo apesar da perda na eficiência. Estes complexos citados servem como bons candidatos à ligação com a polietilenoimina (PEI) e por isto foram utilizados neste trabalho.

1.8.2 Catalisadores para a hidrólise do HPNP

Os complexos modelo com atividade funcional de RNAase são geralmente testados na hidrólise do substrato 2-hidroxiopropil-4-nitrofenilfosfato (HPNP). Estes são em sua maioria complexos homobinucleares de Zn(II) feitos com ligantes que possuam poucos átomos de oxigênio como doador, a fim de se aumentar a acidez de Lewis dos metais (GAO et al., 2011; MOHAMED; NEVEROV; BROWN, 2009; SELMECZI et al., 2007). Alguns estudos com modificações pontuais dos ligantes já foram realizados para a hidrólise deste substrato, mas nenhum estudo com uma macromolécula como segunda esfera do complexo foi realizado (BONOMI et al., 2009).

A fim de sintetizar ligantes homobinucleantes N doadores adequados à síntese de complexos capazes de hidrolisar o HPNP, partiu-se da ideia de utilizar a 1,3,5-triclorotriazina como centro. Alguns trabalhos na literatura já mostram que este centro é bastante útil na síntese de ligantes devido à sua fácil reatividade. O primeiro cloreto reage à 0 °C, o segundo à 25 °C e o terceiro só em temperaturas acima de 60 °C, o que permite um bom controle da reatividade (DA SILVA, 2012; OLIVEIRA, 2013).

Partiu-se então de um ligante homobinucleante com uma posição livre para a síntese de ligantes onde fosse possível se construir um dendrímero. Pela facilidade de síntese e caracterização, escolheu-se o dendrímero poli(aminoamida) (PAMAM), que já é utilizado em diversas aplicações de catálise em geral (KRISHNAN; THOMAS; SREEKUMAR, 2009; YU et al., 2013).

Mais discussões sobre aspectos específicos de cada sistema seguem nos respectivos capítulos do texto.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Este trabalho tem como objetivo a síntese e a caracterização de novos complexos metálicos catalíticos ligados a cadeias poliméricas/dendriméricas que possam atuar como modelo da segunda esfera de coordenação e contribuir para a sua atividade.

Como consequência disto, segue também como objetivo geral o entendimento da influência dos grupos laterais (ou não) na ativação dos substratos e/ou liberação dos produtos durante a catálise.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese e caracterização de novos complexos modelo de Fosfatases Ácidas derivados do ligante 2-bis[$\{(2\text{-piridilmetil})\text{aminometil}\}-6-\{(2\text{-hidroxibenzil})(2\text{-piridilmetil})\}\text{aminometil}\}$]-4-metil-fenol ($\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$).
- Ligação do ligante e destes complexos à polietilenoimina (PEI).
- Avaliação da atividade catalítica dos complexos isolados e dos complexos com modelo de segunda esfera na hidrólise do substrato bis(2,4-dinitrofenil)fosfato (BDNPP).
- Obtenção das constantes cinéticas e dos parâmetros termodinâmicos para estes sistemas e estudo de seu mecanismo de atuação.
- Síntese e caracterização de novos ligantes com cadeia dendrimérica de poli(amidoamina) (PAMAM) e seus complexos homobinucleares derivados da 1,3,5-triclorotriazina.
- Caracterização cinética dos sistemas frente à catálise de transfosforilação do substrato HPNP.
- Obtenção dos parâmetros cinéticos e termodinâmicos para estes sistemas como tentativa de racionalizar o efeito do tamanho da segunda esfera na atividade catalítica dos complexos.

3 EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.1 Materiais

Os seguintes solventes, materiais e reagentes foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia: Água Deuterada, Acetona, Acrilonitrila, CHES, Cloreto cianúrico, Cloreto de Cobre(II), Cloreto de Potássio, Cloreto de Zinco(II), Diclorometano, 2,4-dinitrofenilfosfato de Sódio, di-isopropil-etilamina, Etanol, Haney-Nickel, HEPES, Hidróxido de Amônio, Hidróxido de Bário, Hidróxido de Sódio, Hidróxido de Lítio, Isopropanol, Metanol, MES, Nitrato de Gálio(III), Óxido de Propileno, Perclorato de Cobre(II), Perclorato de Lítio, Perclorato de Ferro(III), Perclorato de Zinco(II), e Polietilenoimina (PEI) 1200 gmol^{-1} .

O ligante 2-bis[$\{(2\text{-piridilmetil})\text{aminometil}\}$]-6- $\{(2\text{-hidroxibenzil})\text{(2-piridilmetil)}\}$ aminometil]-4-metil-fenol ($\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$) foi sintetizado conforme procedimento publicado por Piovezan (PIOVEZAN et al., 2010). O substrato bis-(2,4-dinitrofenil)-fosfato (BDNPP) foi sintetizado e purificado segundo Bunton (BUNTON; FARBER, 1969) e o substrato 2-hidroxipropil-4-nitrofenilfosfato de bário (HPNP) foi sintetizado segundo Brown (BROWN; USHER, 1965).

3.2 MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.2.1 Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer FTIR-S100, na região de 4000 à 500 cm^{-1} no Laboratório de Química Bioinorgânica e Cristalografia no Departamento de Química da UFSC. As amostras sólidas foram analisadas em pastilha de KBr (grau espectroscópico).

3.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

Os espectros de RNM ^1H e ^{13}C para os compostos orgânicos e complexos foram obtidos em um espectrômetro Bruker modelo Avance 200 de 200 MHz, na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC. Os deslocamentos químicos de hidrogênio foram registrados em ppm utilizando como referência o tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0$ ppm) ou segundo o solvente. Os espectros de carbono foram referenciados pelo pico do solvente.

3.2.3 Espectroscopia eletrônica UV/Vis

Os espectros eletrônicos da região do visível e do ultravioleta foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Lambda 750 no Laboratório de Química Bioinorgânica e Cristalografia, no Departamento de Química da UFSC. As análises foram realizadas utilizando-se cubetas de quartzo com caminho ótico de 1 cm.

3.2.4 Difratometria de Raios X

As análises de difratometria de Raios-X foram realizadas na Central de Análises da Universidade Federal de Santa Catarina em um equipamento APEX II DUO da Bruker. Os cristais foram analisados à 173 K, com o feixe de Mo de $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$. A coleta foi realizada através do pacote de softwares próprio da Bruker, o refinamento e a checagem foram feitos com o auxílio do programa SHELX (SHELDRICK, 2008) e as figuras com o programa PLATON.

3.2.5 Métodos computacionais

Os cálculos de DFT foram realizados no Grupo de Estrutura Eletrônica Molecular – GEEM, com auxílio do Prof. Dr. Giovanni F. Caramori, através do software ORCA (NEESE, 2012). Foi utilizado o funcional BP86 e a aproximação RI para as integrais de 4 elétrons. As estruturas foram pré-otimizadas com a base SVP e depois refinadas com a base Def2-TZVPP. As geometrias minimizadas foram checadas através das medidas de frequência.

O cálculo de dinâmica molecular foi realizado com o campo de força MM2, como implementado no programa ChemDraw 3D.

3.2.6 Titulação potenciométrica e espectrofotométrica

As constantes de protonação foram determinadas por titulação potenciométrica no Laboratório de Química Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química da UFSC. Os experimentos foram realizados em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, $\text{pK}_w = -15,19$ (MITRA; PETERS; SCOTT, 2007). Cada titulação foi realizada em uma cela termoestabilizada a $25,00 \pm 0,01$ °C, controlada por um banho da Microquímica Ind. Com. Ltda. Foi utilizado um titulador automatizado Metrohm modelo Titrino Plus 848 acoplado a um eletrodo combinado com referência de Ag/AgCl , calibrado com soluções diluídas de HCl. As medidas foram feitas em um volume de solução final de 50 mL, com aproximadamente 3×10^{-5} mol dos compostos presentes. A força iônica foi ajustada com KCl à $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e o sistema foi titulado com KOH $0,1 \text{ molL}^{-1}$. Todas as soluções foram preparadas com água bidestilada e fervida e sob atmosfera de Argônio pré-purgado em solução de KOH.

As titulações espectrofotométricas foram feitas sob as mesmas condições das potenciométricas. As medidas de pH foram feitas no mesmo eletrodo, porém a adição de base foi feita de forma manual. Aliquotas de aproximadamente 500 μL foram removidas a cada ponto e o espectro no UV/Vis obtido em um Cary Bio 50 da Varian. Após as medidas as alíquotas eram devolvidas para a solução que estava sendo titulada. As curvas foram ajustadas com uma curva sigmoideal e os valores de pK_a obtidos do ponto de inflexão.

3.2.7 Purificação por diálise

A purificação dos ligantes com dendrímero na posição 6 com massa molecular maior que 3000 gmol^{-1} foi realizada através da diálise de uma solução metanólica dos mesmos (30 mL), em 500 mL de MeOH. O solvente foi trocado a cada 24 horas por pelo menos três vezes, ou até não se observar mais variação na condutividade do meio.

3.2.8 Medidas de reatividade na hidrólise de fosfatos

Os estudos de reatividade para a hidrólise dos fosfatos foram realizado em um espectrofotômetro UV/Vis Varian Cary Bio 50, acoplado a um banho termoequilizado.

3.2.8.1 Reatividade como Fosfatase

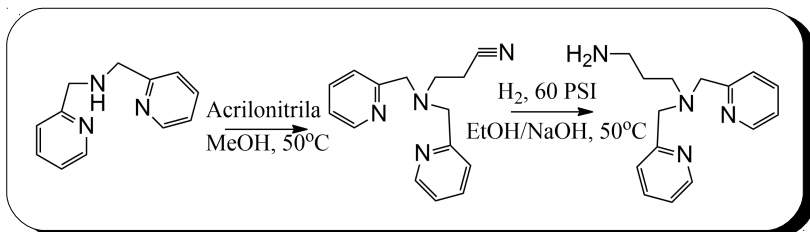
A atividade de diesterase e monoesterase dos complexos heterobinucleares em água foi determinada usando o substrato ativado bis-(2,4-dinitrofenil)-fosfato de piridínio (BDNPP) e seu monoéster 2,4-dinitrofenil-fosfato de lutidínio (DNPP) (BUNTON; FARBER, 1969), seguindo o aparecimento do dinitrofenolato em 400 nm ($\epsilon = 9900 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, determinado a 50°C e a $[\text{LiClO}_4] = 1 \text{ molL}^{-1}$ em H_2O , $\text{pK}_a = 4,34$). O valor do ϵ aparente foi calculado em cada pH e considerado em todas as medidas. Soluções tampão de MES (pH 4-6,5), HEPES (pH 7-8) e CHES (pH 9) foram usadas para manter o pH constante e a concentração final de tampão foi mantida em 40 mmolL⁻¹. O alto valor de força iônica foi escolhido para inibir a atividade da PEI sozinha em alguns pHs. Num experimento típico, 400 μL de tampão foram adicionados em uma cubeta de 1,5 mL, seguido pela adição de 0-500 μL do substrato e/ou uma solução aquosa 2 molL⁻¹ em LiClO_4 para se obter uma força iônica final de 1 molL⁻¹. Depois de cinco minutos de incubação à temperatura desejada, 100 μL de uma solução do catalisador foram adicionados e o aumento da absorbância foi medido para se obter a velocidade inicial da reação. A concentração final do catalisador no caso do complexo + PEI foi mantida em 5 μmolL^{-1} a fim de se evitar precipitação no sistema após a adição do substrato. Durante as medidas deste sistema, uma segunda reação só com a PEI e o substrato foi medida para se corrigir a auto-hidrólise e a contribuição do polímero.

3.2.8.2 Reatividade como RNAase

A atividade RNAse dos complexos de zinco em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 50/50 v:v foi determinada usando o substrato modelo 2-hidroxi-propil-p-nitrofenilfosfato (HPNP) (BROWN; USHER, 1965), seguindo o aparecimento do nitrofenolato em 400 nm ($\epsilon = 18000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\text{pK}_a =$

8,08). O valor do ϵ aparente foi determinado em cada pH e o valor obtido usado em cada medida. Nas corridas abaixo de pH 6,5, uma alíquota de 200 μL da reação era diluída em 800 μL de um tampão carbonato $0,5 \text{ molL}^{-1} + 5 \text{ mmolL}^{-1}$ em ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) e o valor máximo do ϵ foi utilizado. Os mesmos tampões utilizados nas medidas de atividade de fosfatase foram utilizados, em uma concentração final de 25 mmolL^{-1} . Em um experimento típico, 500 μL do tampão eram adicionados a uma cubeta de 3 mL, seguidos de 500 μL de CH_3CN , 500 μL da solução do complexo e de 0-500 μL de substrato e/ou água. Os complexos foram preparados previamente a partir de soluções dos ligantes e de uma solução padronizada por absorção atômica de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$. A variação de absorbância foi medida e os valores de velocidade inicial das reações obtidos.

3.3 SÍNTESE DO PRECURSOR - N,N'-BIS(2-PIRIDILMETIL)-1,3-PROPANODIAMINA – BMPA-NH₂



O precursor BMPA-NH₂ foi sintetizado segundo Terra (TERRA, 2012).

Em 50 mL de metanol (MeOH) foram dissolvidos 5,97g de bis(metilpiridil)amina (NEVES et al., 1992) (30 mmol, 199,2 gmol⁻¹). Em seguida foram adicionados 3,97 mL de acrilonitrila (60 mmol, 53,06 gmol⁻¹, d = 0,810 gml⁻¹) e a mistura foi mantida a 50 °C por 24 horas. Após este período, o solvente foi removido sob pressão reduzida e 6,98g de bmpaCN (27,6 mmol, 252,31 gmol⁻¹) na forma de um óleo amarelado foram obtidos com um rendimento de 92%.

Em um recipiente adequado para a hidrogenação catalítica, foram adicionados 7,18g (28,4 mmol, 252,31 gmol⁻¹) do precursor bpmaCN, dissolvido em 50 mL de EtOH. Em seguida foram adicionados 7,2 g do catalisador Raney-Nickel e 3,6 g de LiOH. Após 15 horas sob agitação à 60 PSI de H₂, a solução foi retirada, filtrada e o solvente foi retirado sob pressão reduzida. O produto seco foi dissolvido em CHCl₃, filtrado para a remoção do excesso de LiOH e lavado três vezes com uma solução aquosa saturada de NaHCO₃. Após a secagem da fase orgânica por rotaevaporação, foram obtidos 6,78g do ligante bmpa-NH₂ (26,44 mmol, 256,35 gmol⁻¹) na forma de um óleo amarelo-escuro com 93% de rendimento em relação ao bmpaCN. Os espectros de infravermelho e RMN são mostrados respectivamente nas Figuras 9 e 10.

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3285; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 3050-2820; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1570-1475; $\nu(\text{C-N})$ 1370; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 760.

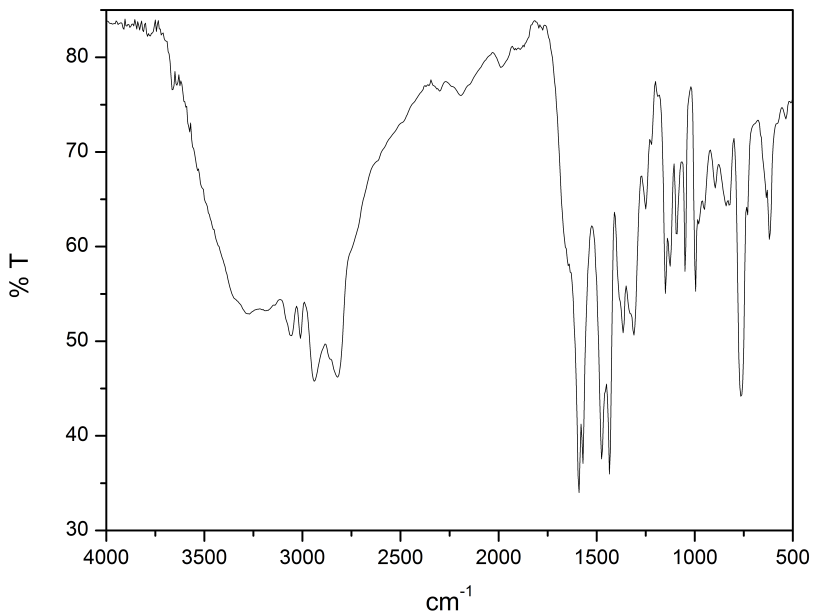


Figura 9 - Espectro no infravermelho do precursor bmpaNH₂ feito em pastilha de KBr

RMN ^1H – δ_{H} (200MHz; CDCl_3), em ppm: 1,68 (q, $2\text{H}_{\text{alif.}}$); 2,17 (N-H); 2,58 (t, $2\text{H}_{\text{alif.}}$); 2,71 (t, 2H_{CH_2}); 3,78 (s, 4H_{CH_2}); 7,15 (t, 2H_{py}); 7,48 (d, 2H_{py}); 7,64 (t, 2H_{py}); 8,54 (d, 2H_{py}).

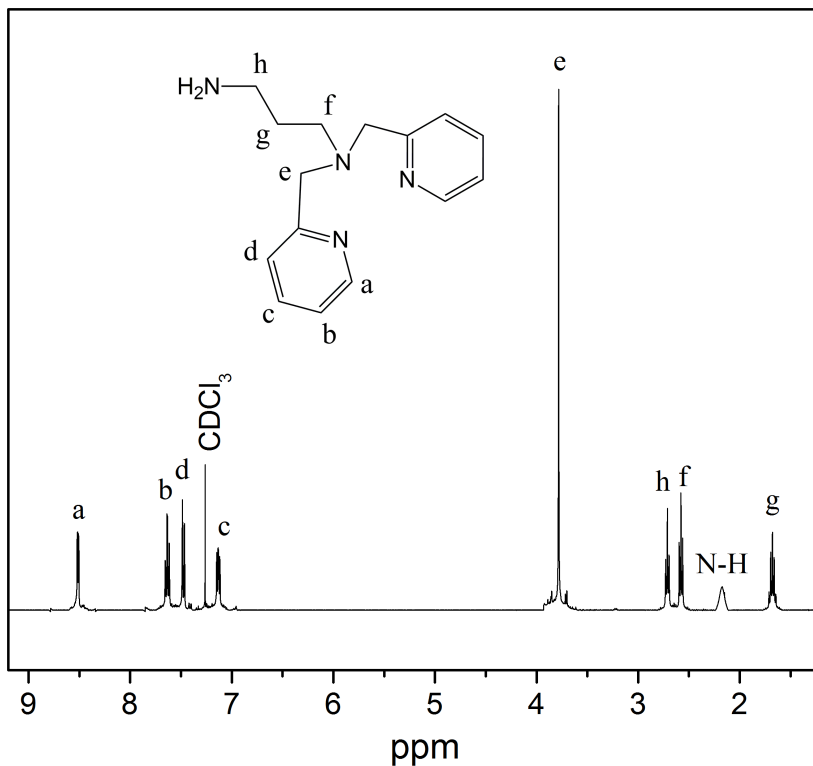
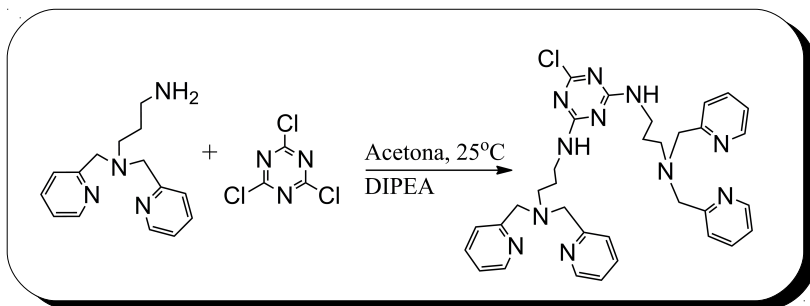


Figura 10 - Espectro de RMN do precursor bmpaNH_2 em CDCl_3 .

3.4 SÍNTESE DO LIGANTE 2,4-[N,N'-BIS(2-PIRIDILMETIL)-1,3-PROPANODIAMINO]-6-CLORO-1,3,5-TRIAZINA BMPPRATZ



Em um balão de 250mL dissolveram-se 2,56g de bmpaNH₂ (10 mmol, 256,35 gmol⁻¹) em 20mL de acetona. Foram adicionados 1,74mL de DIPEA (10,0 mmol, 129,24 gmol⁻¹; d = 0,742 gmL⁻¹) e a mistura foi resfriada com banho de gelo à temperatura entre -5°C e 0°C. Após atingir a temperatura desejada, 0,922g de 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina (5,0 mmol; 184,41gmol⁻¹) foram adicionados à reação durante um período de 1h. O banho foi retirado após a adição e a solução permaneceu sob agitação por mais 1h. O solvente foi removido sob pressão reduzida a, no máximo, 40°C, redissolvido em CH₂Cl₂ e extraído cinco vezes com H₂O e solução de NaHCO₃. O solvente foi então removido mais uma vez e o ligante foi purificado por uma coluna cromatográfica de sílica, com MeOH/CH₂Cl₂ 20/80 v:v como eluente (R_f ~ 0,5). Foram obtidos 1,96g do ligante bmpPraTz (3,14 mmol, 624,18 gmol⁻¹) na forma de um óleo laranja-escuro com 63% de rendimento. O ligante foi caracterizado por infravermelho (Figura 11), RMN de ¹H (Figura 12) e espectrometria de massas. m/z(M+H⁺) = 624,30 gmol⁻¹. A síntese deste ligante já foi publicada por Silva (DA SILVA, 2012).

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3260; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2950-2815; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1580-1435; $\nu(\text{C-N})$ 1145; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 760.

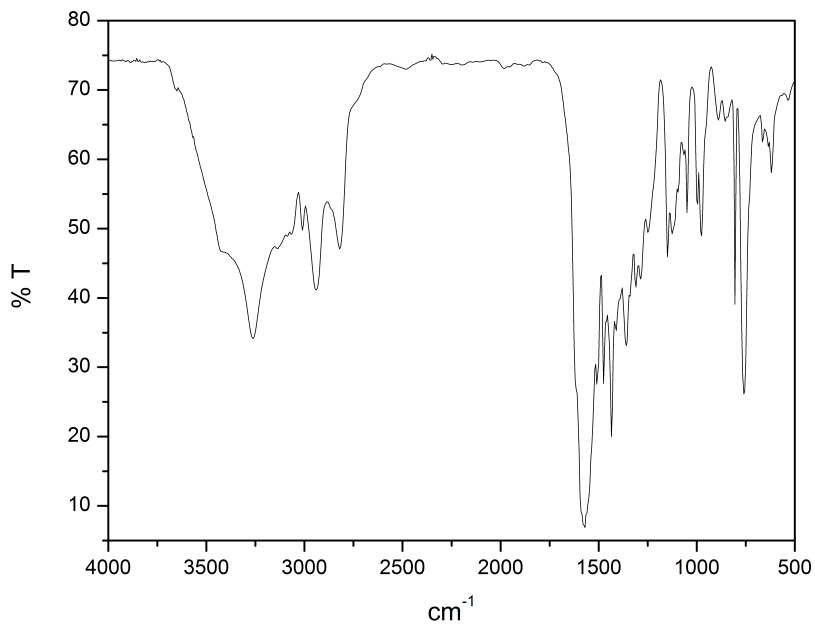


Figura 11 - Espectro no infravermelho do ligante bmpPraTz feito em pastilha de KBr

RMN ^1H – δ_{H} (200MHz; CDCl_3), em ppm: 1,61 (m, 4H_{CH_2}); 2,43 (m, 4H_{CH_2}); 3,20 (m, 4H_{CH_2}); 3,59 (d, 8H_{CH_2}); 4,30 ($\text{H}_{\text{N-H}}$); 6,90 (t, 4H_{py}); 7,39 (d, 4H_{py}); 7,54 (t, 4H_{py}); 8,34 (d, 4H_{py}).

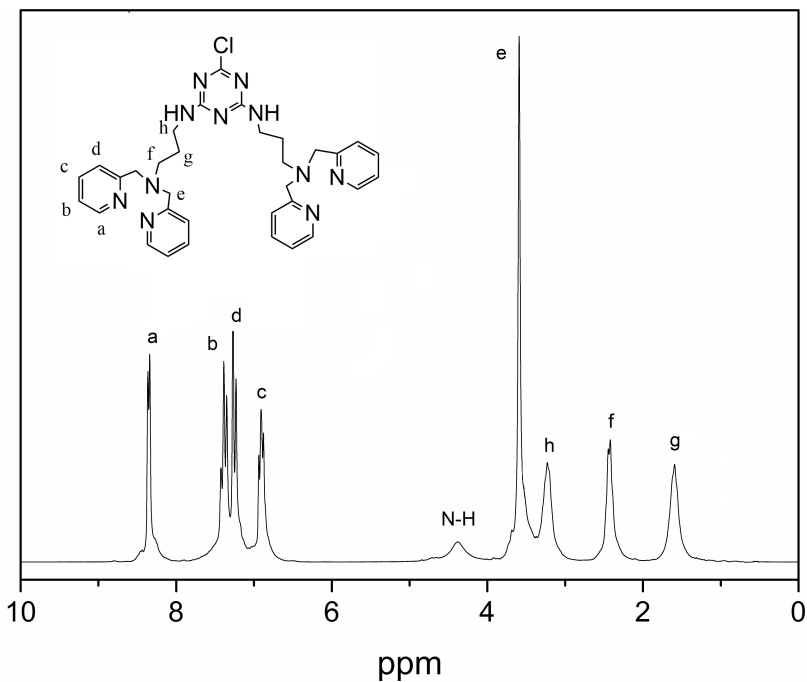
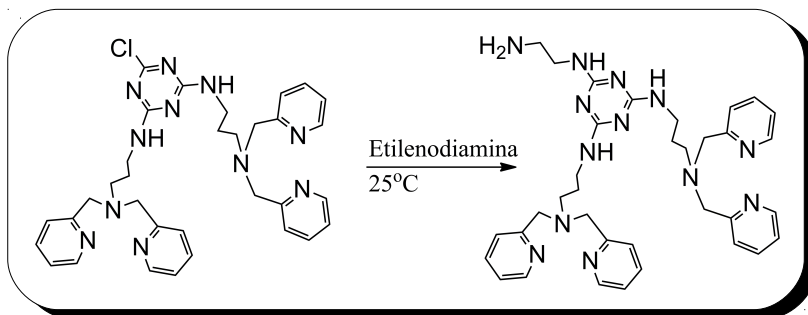


Figura 12 - Espectro de ^1H RMN do ligante mpaPraTz feito CDCl_3 .

3.5 SÍNTESE DO LIGANTE 2,4-[N,N'-BIS(2-PIRIDILMETIL)-1,3-PROPANODIAMINO]-6-ETILENODIAMINO-1,3,5-TRIAZINA – BMPPRATZEN (OU BRA_G0)



Em um balão de 50 mL, 3,12g do ligante bmpPraTz (5 mmol, 624,18 gmol⁻¹) foram adicionados a 5 mL de etilenodiamina (74 mmol, 60,1 gmol⁻¹, d = 0,90 gmL⁻¹) e a suspensão ficou sob agitação à temperatura ambiente por 16h. Após esse tempo, 40 mL de CH₂Cl₂ foram adicionados à reação e a mistura foi extraída cinco vezes com 30 mL de solução aquosa saturada de NaHCO₃. O solvente foi reduzido à pressão reduzida em um rotaevaporador e 3,08g do ligante bmpPraTzen (4,75 mmol, 647,82 gmol⁻¹) foram obtidos na forma de uma espuma amarelo-clara. O produto é bastante higroscópico e logo se torna um óleo em contato com o ar. O rendimento da reação é de 95% e o produto foi analisado por infravermelho, RMN de ¹H e ¹³C, como mostrado nas Figuras 13-15.

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3279; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2936-2813; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1582-1439; $\nu(\text{C-N})$ 1145; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 759.

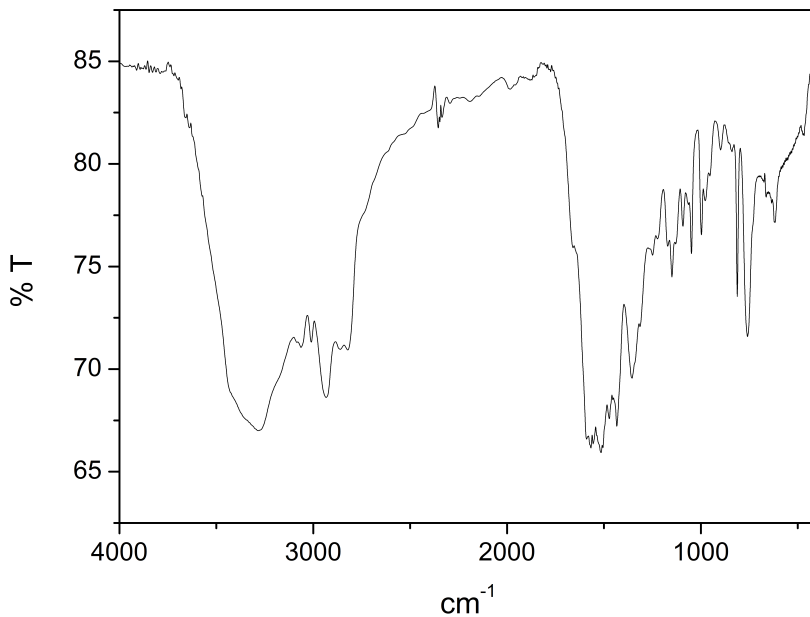


Figura 13 - Espectro no infravermelho do ligante bmpPraTzen feito em pastilha de KBr.

RMN ^1H – δ_{H} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 1,73 (t, 4H_{CH_2}); 2,22 ($1\text{H}_{\text{N-H}}$); 2,59 (t, 4H_{CH_2}); 2,78 (t, 2H_{CH_2}); 3,35 (m, 6H_{CH_2}); 3,76 (s, 8H_{CH_2}); 7,07 (t, 4H_{py}); 7,47 (d, 4H_{py}); 7,56 (t, 4H_{py}); 8,51 (d, 4H_{py}).

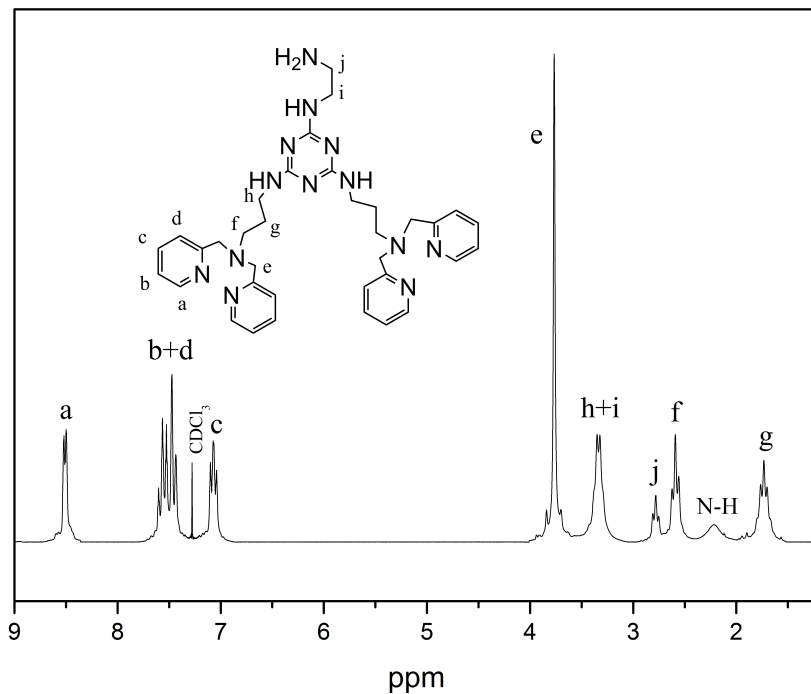


Figura 14 - Espectro de RMN de ^1H do ligante bmpPraTzen em CDCl_3 .

RMN ^{13}C – δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 27,1 (CH_2); 38,9 (CH_2); 42,0 (CH_2); 43,5 (CH_2); 52,1 (CH_2); 60,14 (CH_2); 121,9 (CH); 123,0 (CH); 136,0 (CH); 149,1 (CH); 159,7 (CH); 166,1 (CH); 166,3 (CH).

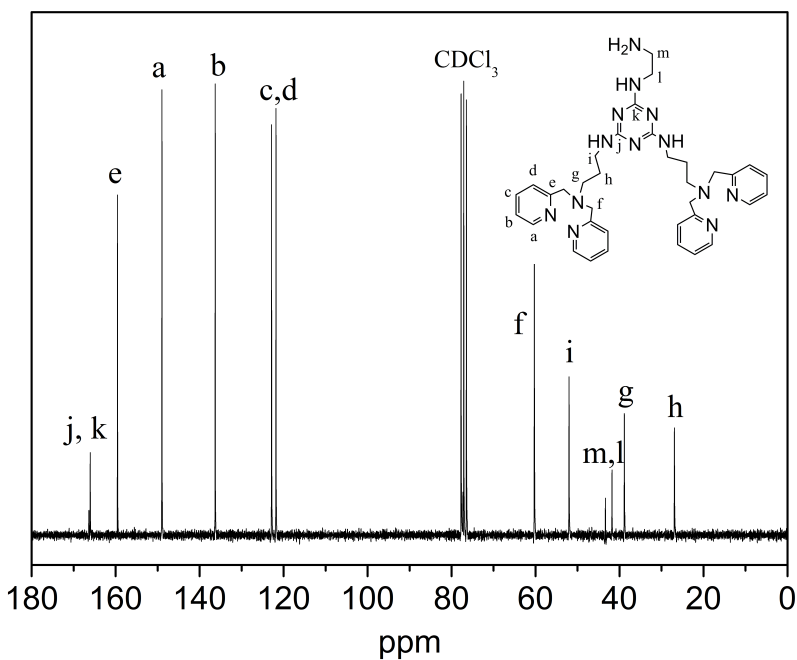
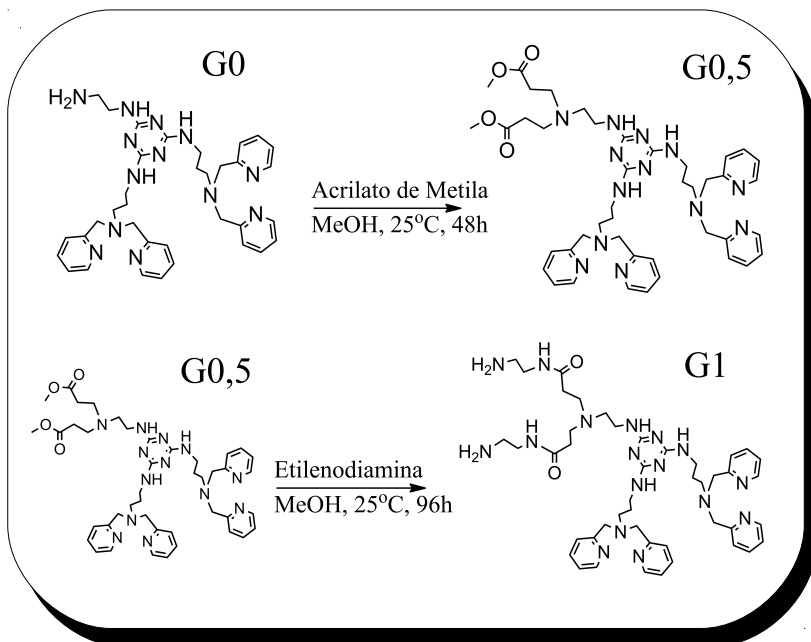


Figura 15 - Espectro de RMN de ^{13}C do ligante bmpPratzen em CDCl_3 .

3.6 SÍNTESE DO LIGANTE COM O DENDRÍMERO PAMAM DE PRIMEIRA GERAÇÃO NA POSIÇÃO 6 – BMPPRATZ_G1 (OU BRA_G1)



O ligante bra_G1 foi sintetizado de forma inspirada na síntese do dendrímtero poli(amidoamina) (PAMAM) (WU et al., 2011), porém tendo como ponto de partida a etilenodiamina ligada à triazina. A reação se deu pela adição de Michael do acrilato de metila sobre a amina, seguida por uma amidação do éster metílico em excesso de Etilenodiamina, como descrito a seguir.

Em um balão de 125 mL, 3,08g do ligante bmpPraTzen ($4,75 \text{ mmol}$, $647,82 \text{ g mol}^{-1}$) foram dissolvidos em 30 mL de MeOH e a mistura foi colocada em banho de gelo. Após o resfriamento, 1,72 mL de Acrilato de Metila ($4x$ de excesso por amina, 19 mmol , $86,09 \text{ g mol}^{-1}$, $d = 0,95 \text{ g mL}^{-1}$) foram adicionados em um período de 1h. O banho de gelo foi retirado e a reação continuou por 48h. Depois de completo o tempo

da reação, o solvente foi removido à pressão reduzida. Mais metanol foi adicionado e removido por três vezes ou até desaparecer completamente o cheiro característico do acrilato de metila. O produto foi então seco em bomba de alto vácuo para garantir a remoção de todo o éster e foram obtidos 3,70g do produto bra_G0,5 (4,51 mmol, 820 g mol^{-1}) na forma de um óleo viscoso amarelo claro. O produto foi caracterizado por infravermelho como mostrado na Figura 16 com rendimento superior a 95%.

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3279 e 3415; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2955-2826; $\nu(\text{C=O})$ 1737; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1589-1426; $\nu(\text{C-N})$ 1145; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 760.

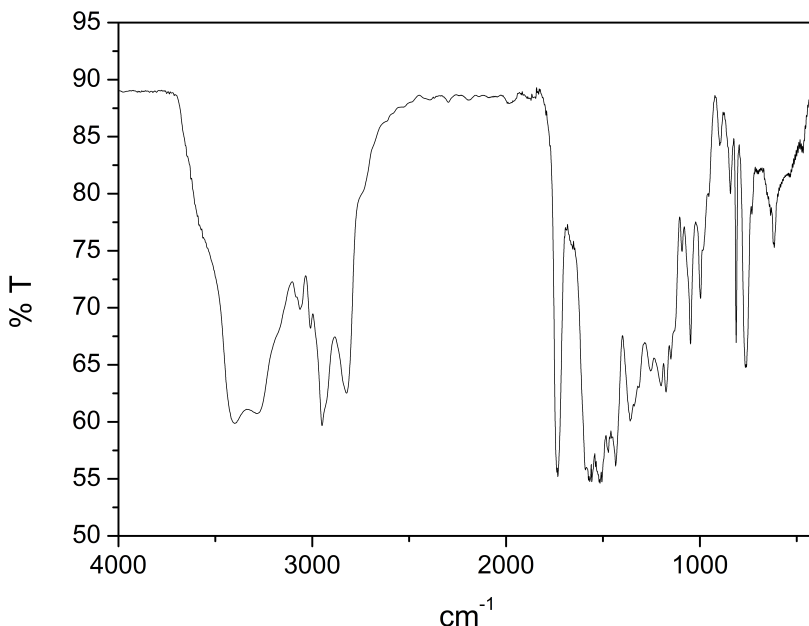


Figura 16 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G0,5 feito em pastilha de KBr.

Após a secagem do ligante na forma éster, 3,70g de bra_G0,5 (4,51 mmol, 820 g mol^{-1}) foram dissolvidos em 20 mL de MeOH em um balão de 125 mL e a mistura foi colocada em banho de gelo. A esta mistura resfriada, 2,40 mL de etilenodiamina (4x de excesso por éster, 36 mmol, 60,1 g mol^{-1} , $d = 0,9 \text{ g mL}^{-1}$) dissolvidos em 20 mL de MeOH foram adicionados em um período de 1h. A reação ficou por mais 96h à temperatura ambiente. O solvente foi então removido sob pressão reduzida em um rotaevaporador. Para remover a etilenodiamina restante, foi necessário adicionar e secar uma mistura de MeOH/Tolueno 90/10 v:v por várias vezes. Quando a mistura estava praticamente livre da amina, foi possível dissolver o ligante em um pouco de metanol e adicionar éter para “precipitar” a etilenodiamina e separá-la do ligante que ficou dissolvido. Desta forma, 3,71 g do produto bra_G1 (4,24 mmol, 876,11 g mol^{-1}) foram obtidos na forma de uma espuma branca bastante higroscópica. O ligante bra_G1 foi caracterizado por infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C , como mostrado nas Figuras 17-20 com rendimento final de 94%. Os picos de RMN referentes à parte que se refere ao dendrímero estão de completo acordo com valores já publicados na literatura para o PAMAM (PETERSON et al., 2003).

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3305; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2955-2826; $\nu(\text{C=O})$ 1647; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1582-1439; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 753.

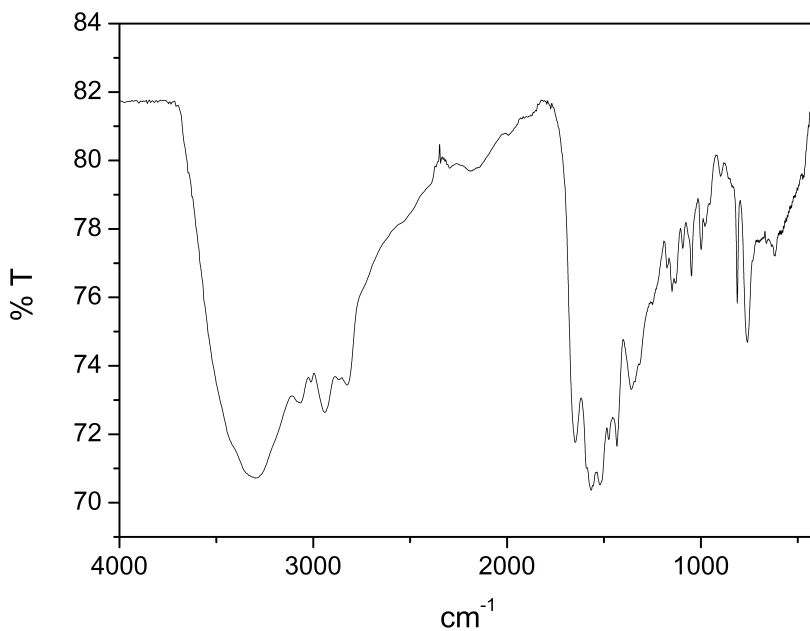


Figura 17 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G1 feito em pastilha de KBr.

RMN ^1H – δ_{H} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 1,72 (t, 4H_{CH_2}); 2,21 (m, H_{CH_2}); 2,45-2,95 (m, H_{CH_2}); 3,29 (m, 6H_{CH_2}); 3,75 (s, 8H_{CH_2}); 7,07 (t, 4H_{py}); 7,45 (d, 4H_{py}); 7,55 (t, 4H_{py}); 7,70 (m, $\text{H}_{\text{N-H}}$); 8,50 (d, 4H_{py}).

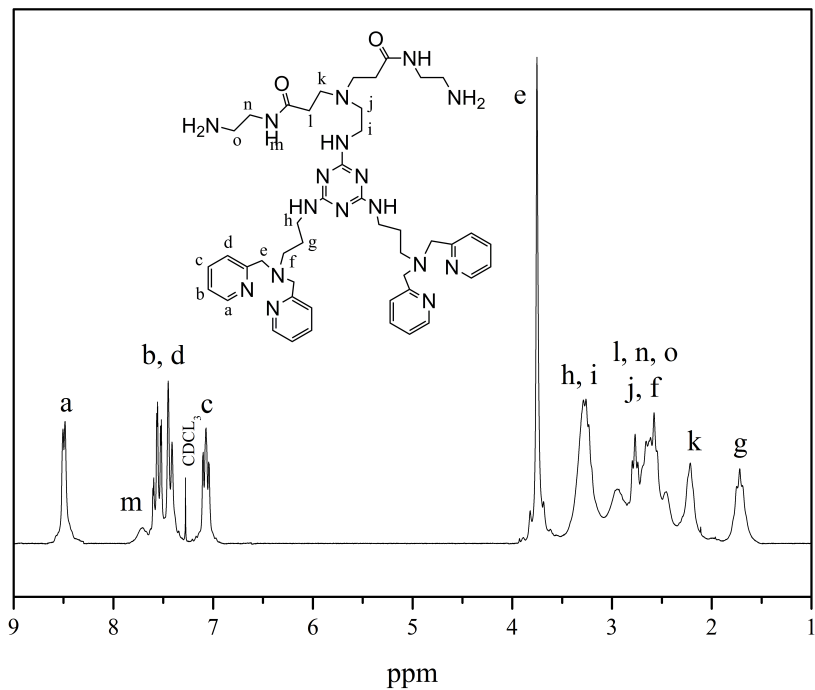


Figura 18 - Espectro de RMN de ^1H do ligante bra_G1 em CDCl_3 .

RMN ^{13}C – δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 26,9 (CH_2); 34,7 (CH_2); 38,8 (CH_2); 41,1 (CH_2); 42,2 (CH_2); 50,8 (CH_2); 52,0 (CH_2); 60,2 (CH_2); 121,9 (CH); 123,0 (CH); 136,3 (CH); 149,0 (CH); 159,5 (CH); 166,1 (CH); 166,3 (CH); 172,9 (C=O).

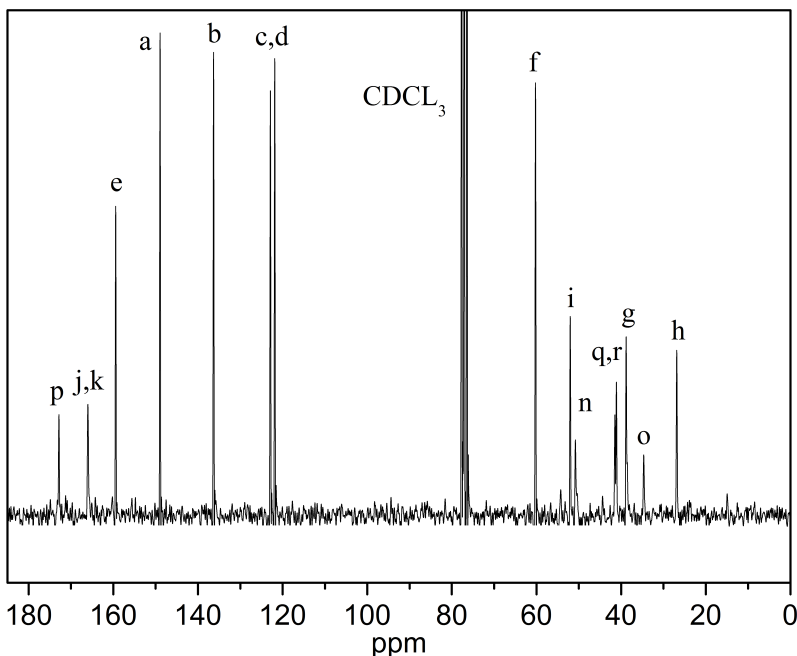


Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C do ligante bra_G1 em CDCl_3 .

As atribuições do espectro acima são as mesmas do ligante bmpPraTzen descrito anteriormente, com as letras correspondentes à parte do dendrímero representadas na Figura 20. Os picos relacionados à unidade etilenodiamina ligada à triazina não aparecem nesta escala pois tem tempo de relaxação muito baixo e, portanto, apresentam intensidades muito baixas.

RMN ^{13}C – δC (200MHz; CDCl_3) em ppm: 26,9 (CH_2); 34,7 (CH_2); 38,8 (CH_2); 41,1 (CH_2); 42,2 (CH_2); 50,8 (CH_2); 52,0 (CH_2); 60,2 (CH_2);

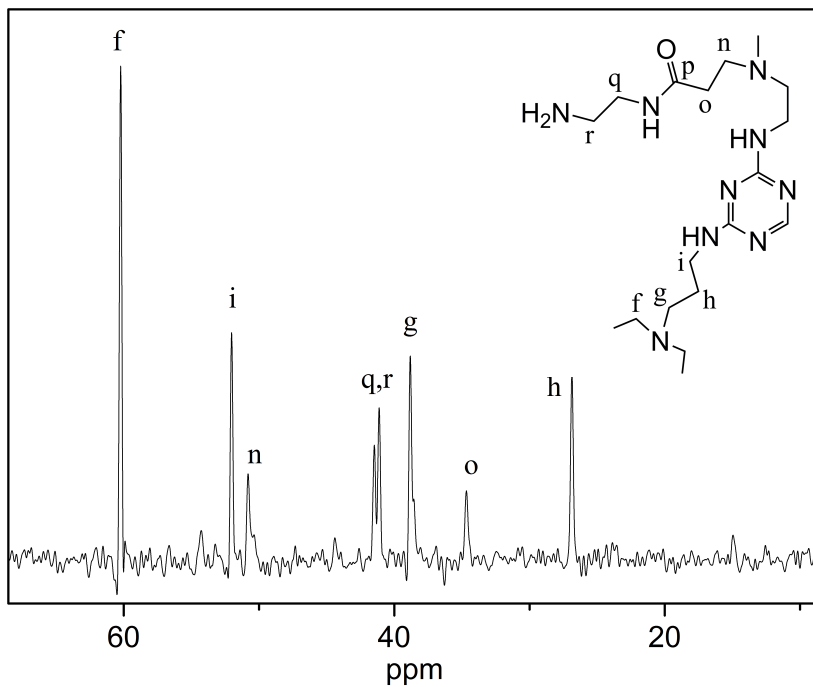
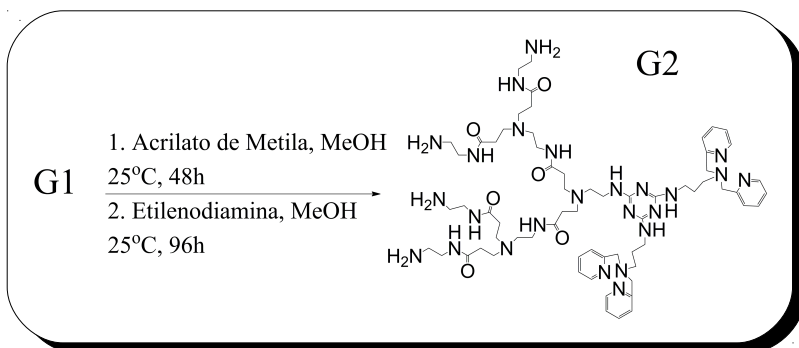


Figura 20 - Espectro de RMN de ^{13}C do ligante bra_G1 expandido feito em CDCl_3 .

3.7 SÍNTESE DO LIGANTE COM O DENDRÍMERO PAMAM DE SEGUNDA GERAÇÃO NA POSIÇÃO 6 – BMPPRATZ_G2 (OU BRA_G2)



O ligante foi sintetizado de forma bastante similar à descrita acima, com adição do acrilato de metila seguida de amidação com etilenodiamina. Os rendimentos foram da mesma ordem, com mais de 95% e os produtos foram purificados por evaporação do excesso do reagente, da mesma forma. A massa molecular calculada do produto foi de 1332,69 g mol^{-1} e as análises de infravermelho, de RMN de ^1H e ^{13}C para o ligante bra_G2 são apresentados nas Figuras 21-24.

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3292 e 3487; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2949-2813; $\nu(\text{C=O})$ 1653; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1581-1439; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 754.

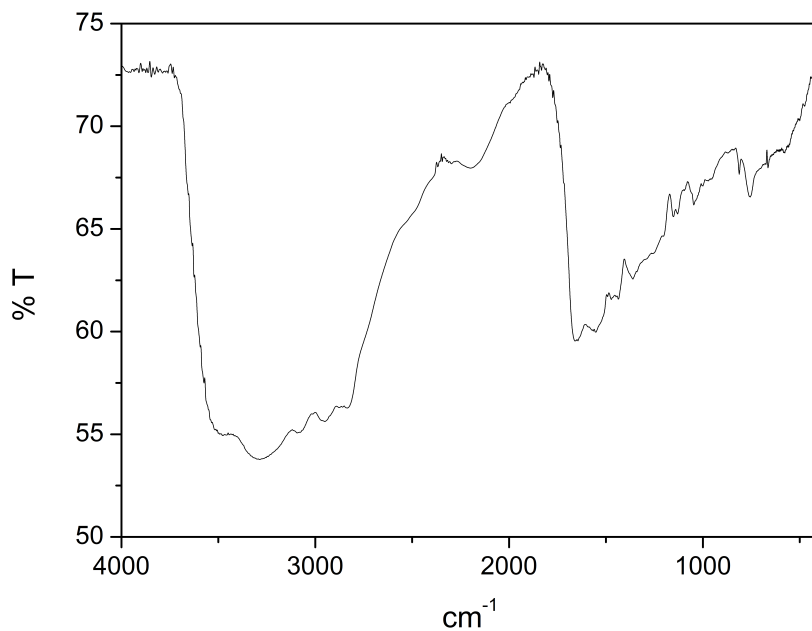


Figura 21 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G2 feito em pastilha de KBr.

RMN ^1H – δ_{H} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 1,66 ($4\text{H}_{\text{ligante}}$); 2,24, 2,66 e 3,15 (H_{PAMAM}); 3,71 (s, $8\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,03 (m, $4\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,38 (m, $4\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,51 (m, $4\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,84 (m, $\text{H}_{\text{N-H}}$); 8,42 (m, $4\text{H}_{\text{ligante}}$).

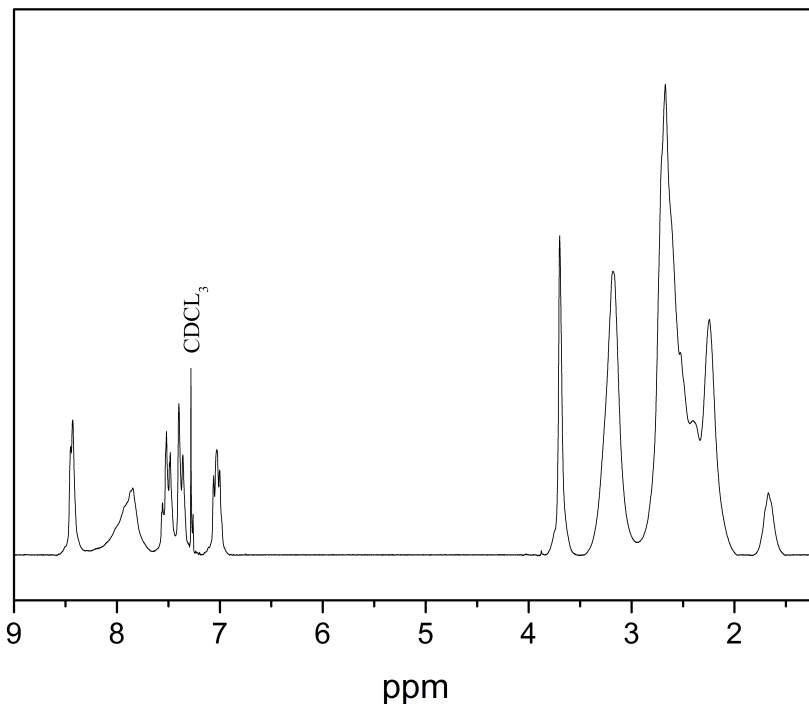


Figura 22 - Espectro de RMN de ^1H do ligante bra_G2 feito em CDCl_3 .

É importante notar que os picos correspondentes aos hidrogênios do dendrímero vão aumentando de intensidade e dominando o espectro na parte alifática, tornando impossível a integração completa como feita para o ligante isolado. O espectro de ^{13}C abaixo deixa mais claro a estrutura do mesmo.

RMN ^{13}C – δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 27,0 (CH_2); 34,1 (CH_2); 37,9 (CH_2); 38,5 (CH_2); 41,2 (CH_2); 41,7 (CH_2); 50,5 (CH_2); 52,1 (CH_2); 52,6 (CH_2); 60,3 (CH_2); 121,8 (CH); 123,0 (CH); 136,5 (CH); 149,1 (CH); 159,4 (CH); 165,9 (CH); 166,0 (CH); 172,5 ($\text{C}=\text{O}$); 173,0 ($\text{C}=\text{O}$).

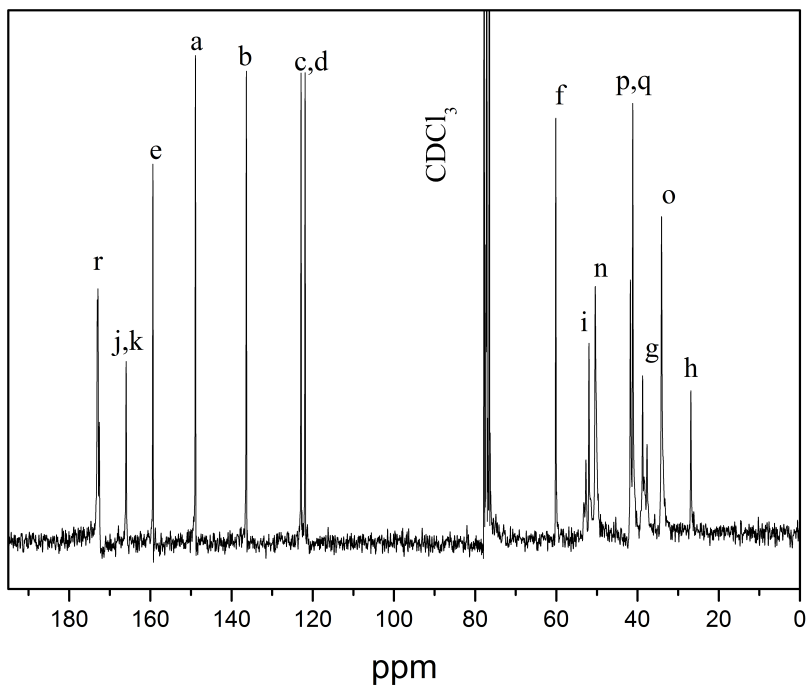


Figura 23 - Espectro de RMN de ^{13}C do ligante bra_G2 feito em CDCl_3 .

As atribuições neste espectro são as mesmas descritas previamente para o ligante bra_G1. A partir da segunda geração, dois picos diferentes mas bastante próximos são observados para as carbonilas.

RMN ^{13}C – δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 27,0 (CH_2); 34,1 (CH_2); 37,9 (CH_2); 38,5 (CH_2); 41,2 (CH_2); 41,7 (CH_2); 50,5 (CH_2); 52,1 (CH_2); 52,6 (CH_2); 60,3 (CH_2).

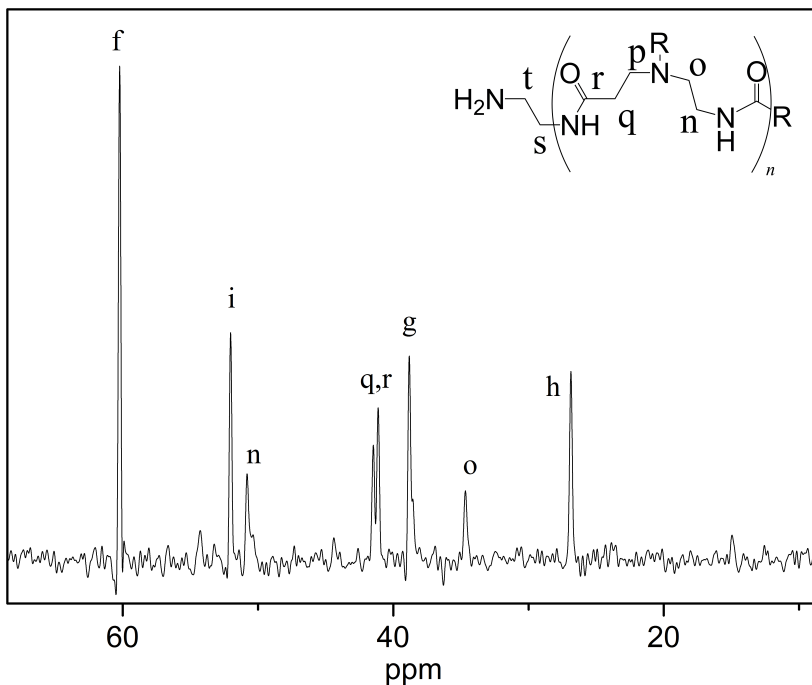
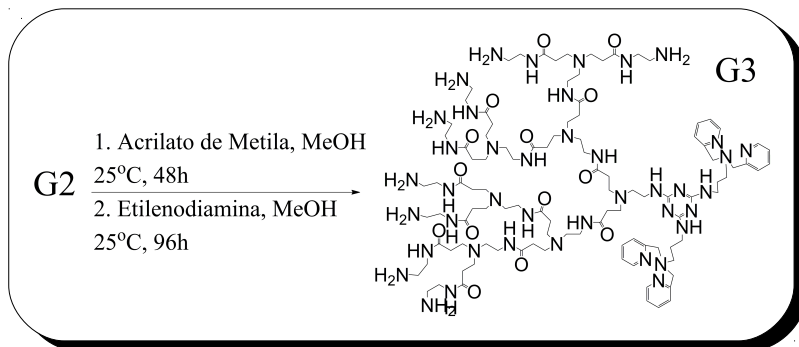


Figura 24 - Espectro de ^{13}C RMN do ligante *bra_G2* expandido feito em CDCl_3 .

3.8 SÍNTESE DO LIGANTE COM O DENDRÍMERO PAMAM DE TERCEIRA GERAÇÃO NA POSIÇÃO 6 – BMPPRATZ_G3 (OU BRA_G3)



O ligante foi sintetizado de forma similar à descrita acima, com adição do acrilato de metila seguida de amidação com Etilenodiamina. Os rendimentos foram da mesma ordem, com mais de 95% e os produtos foram purificados por evaporação do excesso do reagente, da mesma forma. A massa molecular calculada do produto foi de 2245,86 gmol^{-1} e as análises de infravermelho, de RMN de ^1H e ^{13}C para o ligante bra_G3 estão abaixo nas Figuras 25-28.

A partir do ligante bra_G3, os ligantes ainda foram purificados em membrana de diálise Spectrum Pro com massa de corte de 1000 gmol^{-1} .

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3295 e 3482; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2950-2813; $\nu(\text{C=O})$ 1652; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1581-1439; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 754.

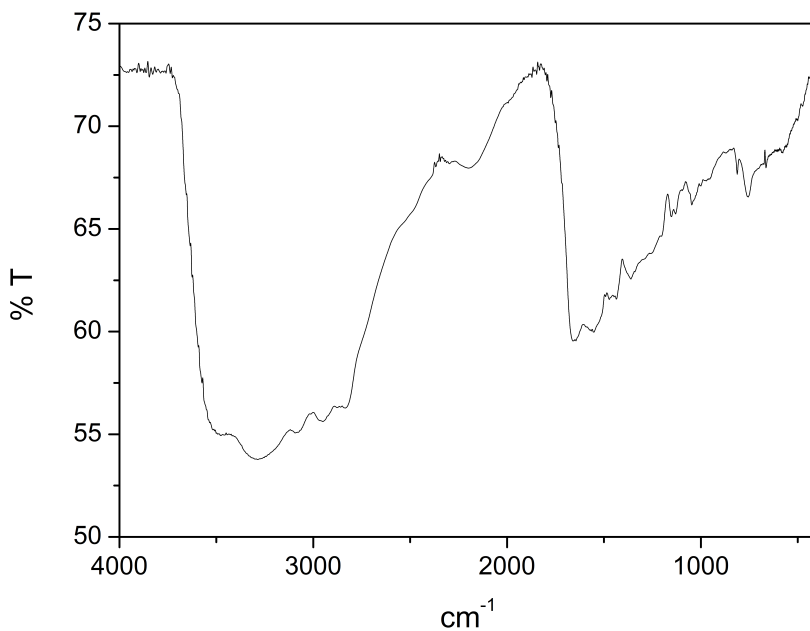


Figura 25 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G3 feito em pastilha de KBr.

RMN ^1H – δ_{H} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 1,59 ($\text{H}_{\text{ligante}}$); 2,00, 2,15, 2,61 e 3,07 (H_{PAMAM}); 3,60 (s, $\text{H}_{\text{ligante}}$); 6,94 (m, $4\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,31 (m, $4\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,43 (m, $4\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,85 (m, $\text{H}_{\text{N-H}}$); 8,33 (m, $4\text{H}_{\text{ligante}}$).

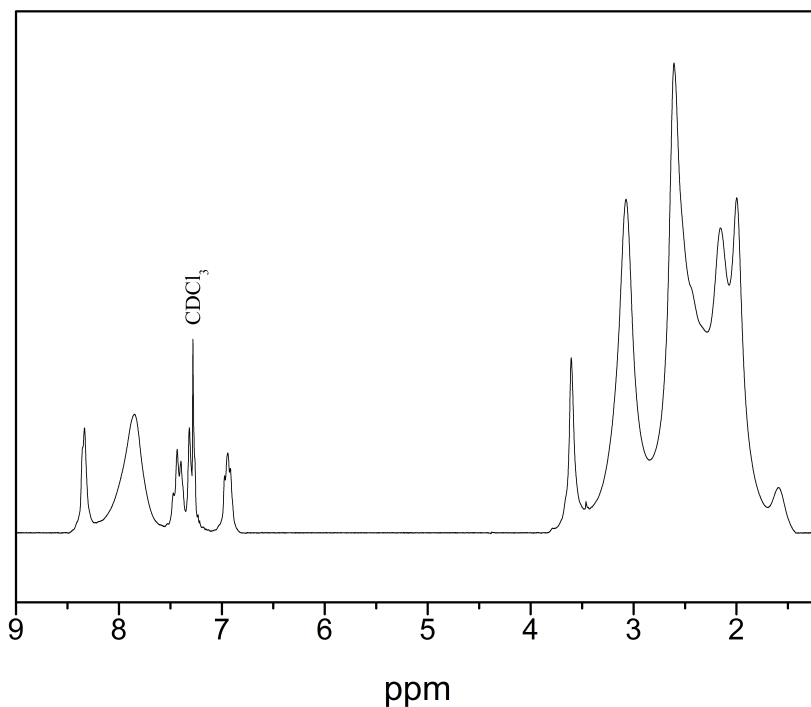


Figura 26 - Espectro de ^1H RMN do ligante bra_G3 feito em CDCl_3 .

RMN ^{13}C – δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 26,8 (CH_2); 33,9 (CH_2); 37,7 (CH_2); 38,8 (CH_2); 41,5 (CH_2); 42,0 (CH_2); 50,2 (CH_2); 51,9 (CH_2); 52,9 (CH_2); 60,0 (CH_2); 121,6 (CH); 122,7 (CH); 136,3 (CH); 148,8 (CH); 159,2 (CH); 165,7 (CH); 166,0 (CH); 172,2 (C=O); 172,8 (C=O).

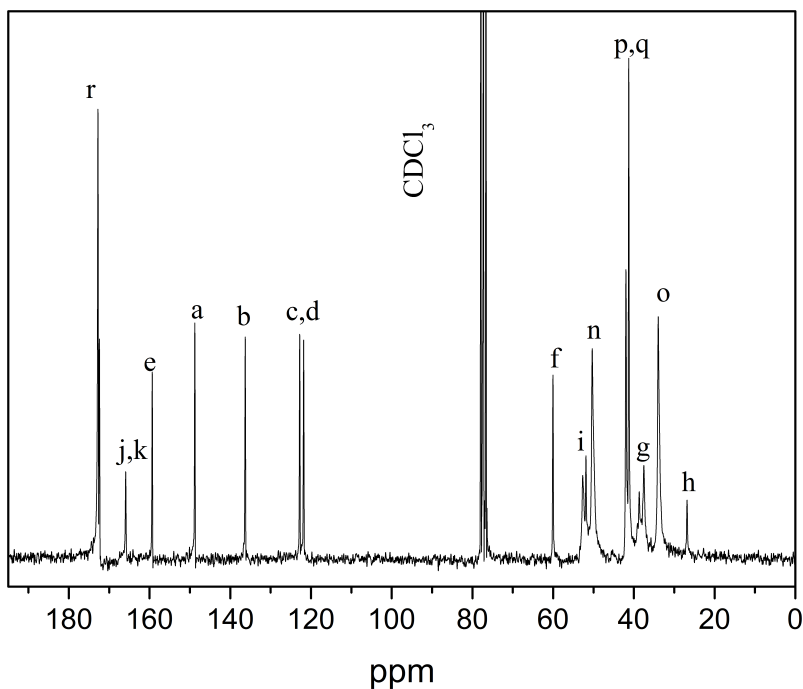


Figura 27 - Espectro de ^{13}C do ligante bra_G3 feito em CDCl_3 .

RMN ^{13}C - δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 26,8 (CH_2); 33,8 (CH_2); 37,5 (CH_2); 38,7 (CH_2); 41,2 (CH_2); 41,9 (CH_2); 50,2 (CH_2); 51,9 (CH_2); 52,6 (CH_2); 60,1 (CH_2).

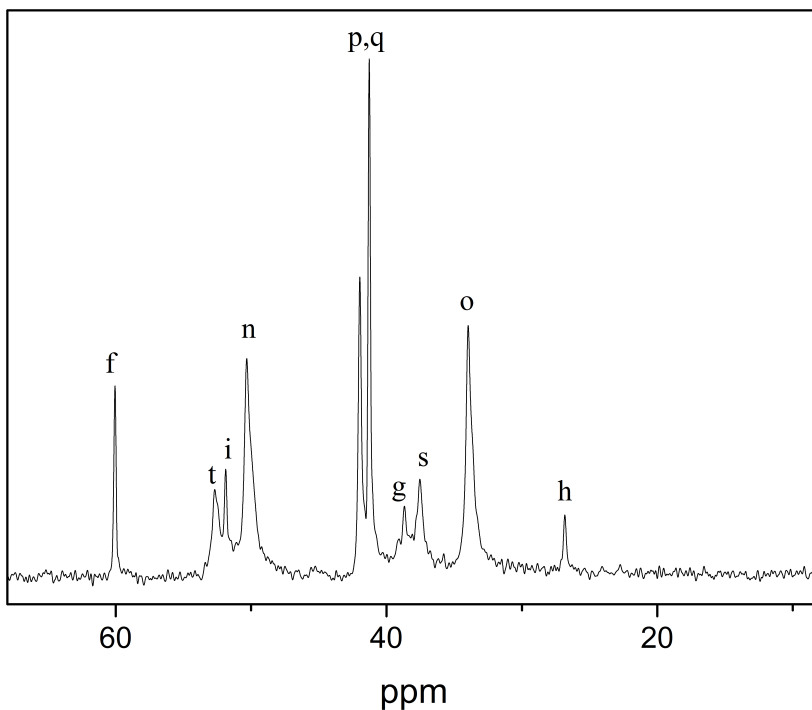
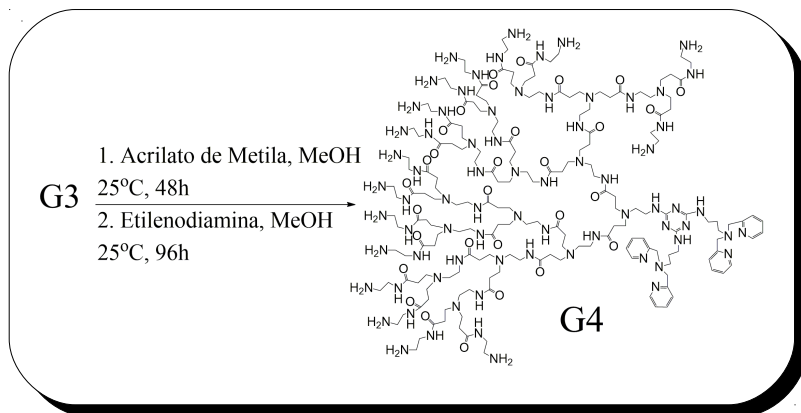


Figura 28 - Espectro de ^{13}C RMN do ligante bra_G3 expandido feito em CDCl_3 .

3.9 SÍNTESE DO LIGANTE COM O DENDRÍMERO PAMAM DE QUARTA GERAÇÃO NA POSIÇÃO 6 – BMPPRATZ_G4 (OU BRA_G4)



O ligante foi sintetizado de forma similar à descrita acima, com adição do Acrilato de Metila seguida de amidação com Etilenodiamina. Os rendimentos forma da mesma ordem, maior que 95% e os produtos foram purificados por evaporação do excesso do reagente, da mesma forma. A massa molecular calculada do produto foi de $4073,17 \text{ g mol}^{-1}$ e as análises de infravermelho e de RMN de ^1H e ^{13}C para o ligante bra_G4 estão mostradas nas Figuras 29-32.

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3273 e 3525; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2950-2813; $\nu(\text{C=O})$ 1653 e 1549; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1439.

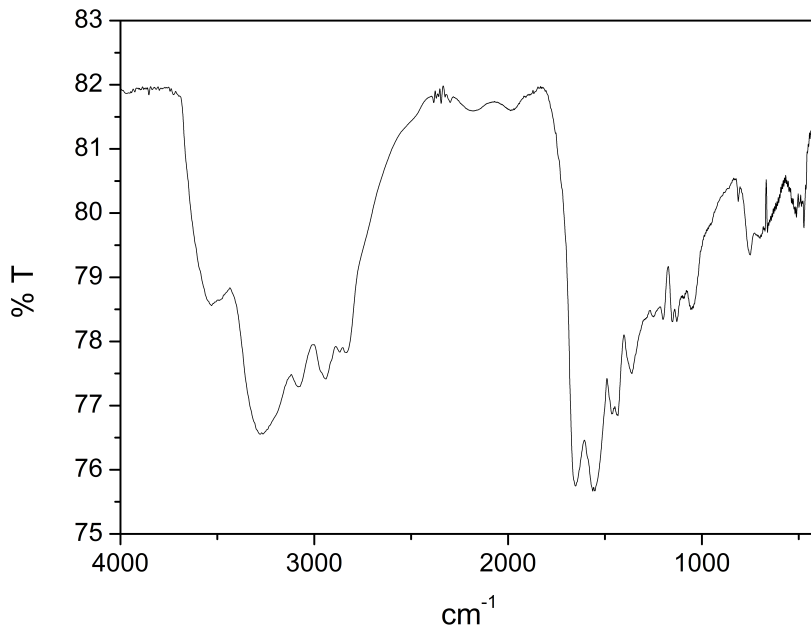


Figura 29 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G4 feito em pastilha de KBr.

RMN ^1H – δ_{H} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 1,68, 2,19, 2,63 e 3,10 (H_{PAMAM}); 3,63 (s, $\text{H}_{\text{ligante}}$); 6,97 (t, $\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,34 (d, $\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,46 (t, $\text{H}_{\text{ligante}}$); 7,83 (m, $\text{H}_{\text{N-H}}$); 8,37 (d, $\text{H}_{\text{ligante}}$).

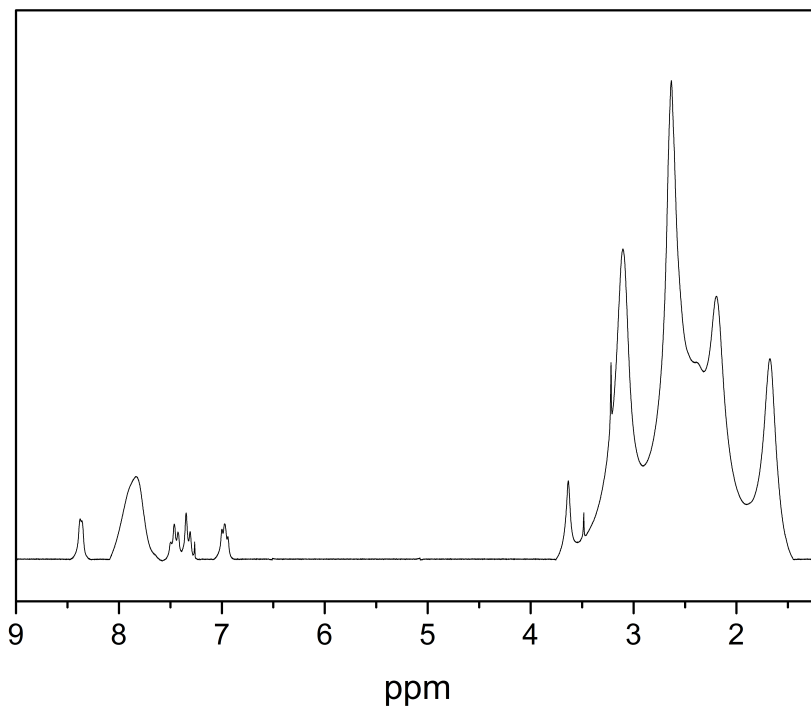


Figura 30 - Espectro de ^1H RMN do ligante bra_G4 feito em CDCl_3 .

RMN ^{13}C – δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 26,8 (CH_2); 33,9 (CH_2); 37,2 (CH_2); 38,8 (CH_2); 41,0 (CH_2); 42,1 (CH_2); 50,3 (CH_2); 51,9 (CH_2); 52,4 (CH_2); 60,1 (CH_2); 121,6 (CH); 122,7 (CH); 136,3 (CH); 148,8 (CH); 159,2 (CH); 165,7 (CH); 166,0 (CH); 172,2 ($\text{C}=\text{O}$); 172,8 ($\text{C}=\text{O}$).

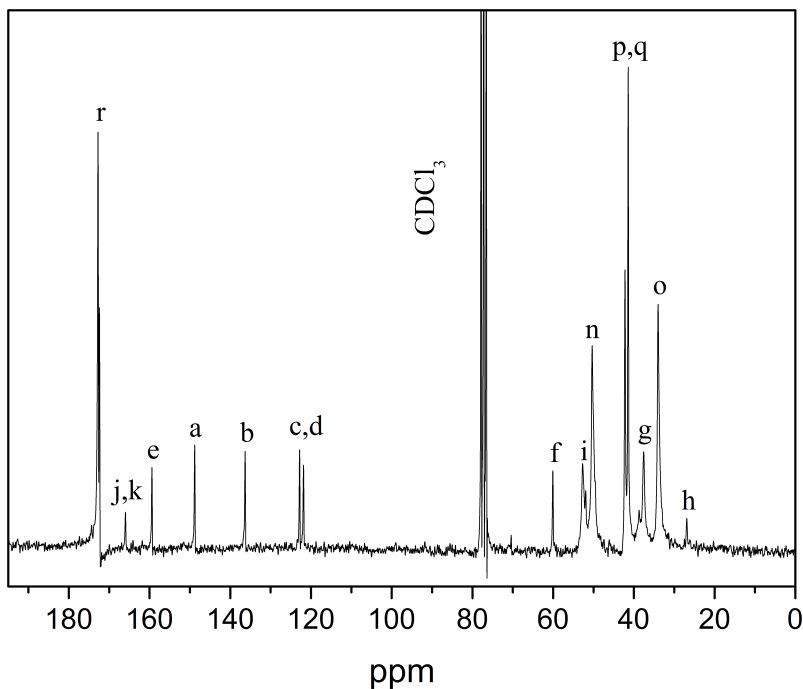


Figura 31 - Espectro de ^{13}C RMN do ligante bra_G4 feito em CDCl_3 .

RMN ^{13}C – δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 26,8 (CH_2); 33,9 (CH_2); 37,6 (CH_2); 38,8 (CH_2); 41,5 (CH_2); 42,1 (CH_2); 50,2 (CH_2); 51,9 (CH_2); 52,7 (CH_2); 60,1 (CH_2).

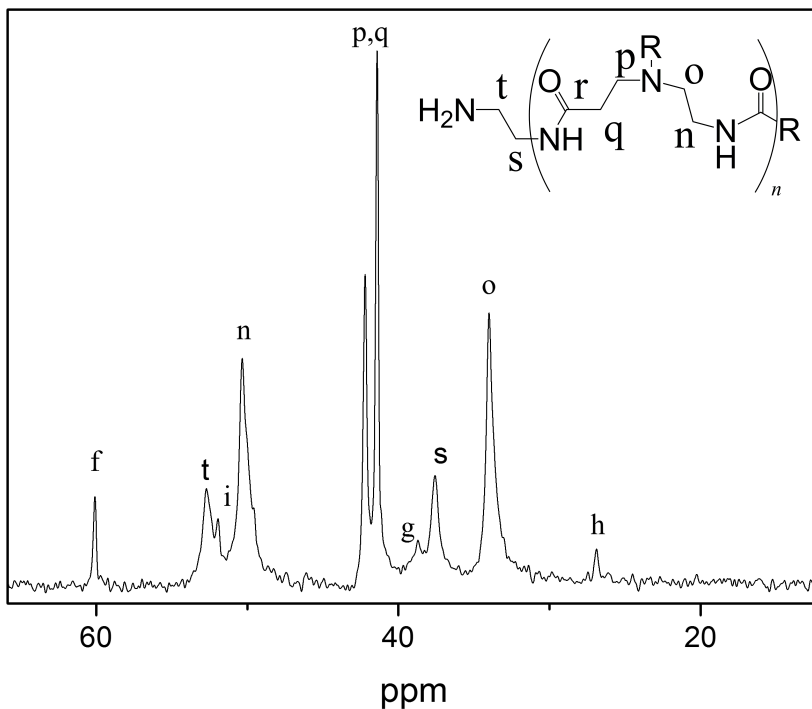
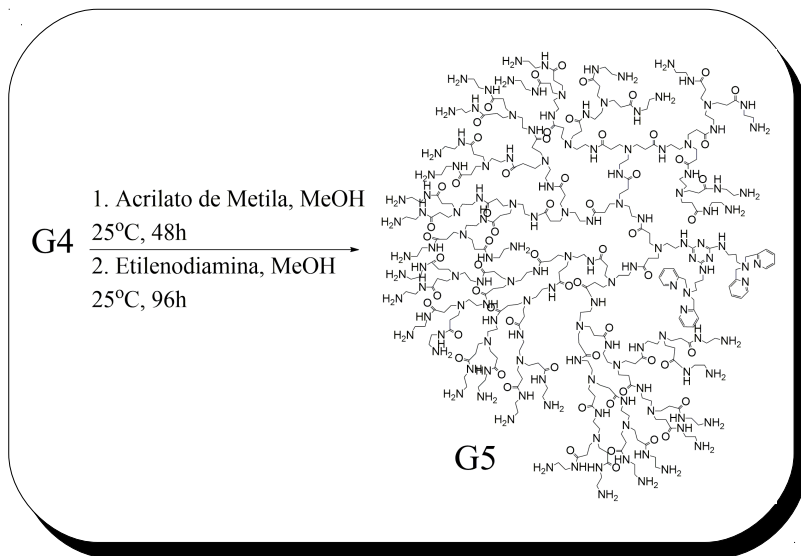


Figura 32 - Espectro de ^{13}C RMN expandido do ligante bra_G5 feito em CDCl_3 .

3.10 SÍNTESE DO LIGANTE COM O DENDRÍMERO PAMAM DE QUINTA GERAÇÃO NA POSIÇÃO 6 – BMPPRATZ_G5 (OU BRA_G5)



O ligante foi sintetizado de forma similar à descrita acima, com adição do Acrilato de Metila seguida de amidação com Etilenodiamina. Os rendimentos foram da mesma ordem, com mais de 95% e os produtos foram purificados por evaporação do excesso do reagente, da mesma forma. A massa molecular calculada do produto foi de 7725,84 $gmol^{-1}$ e as análises de infravermelho e de RMN de ^{13}C para o ligante bra_G5 estão apresentadas nas Figuras 33-34.

Neste caso, o composto não foi mais solúvel em $CDCl_3$, então foi necessário o uso de CD_3OD e D_2O para solubilizá-lo. Por causa disto e da pequena quantidade de “ligante” efetivo por molécula de ligante+dendrímico o RMN de 1H ficou bastante obscurecido pelos picos do solvente. Somente o RMN de ^{13}C apresentou informações relevantes e, portanto, será o único apresentado.

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3292 e 3460; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2950-2813; $\nu(\text{C=O})$ 1647 e 1549; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1581-1439.

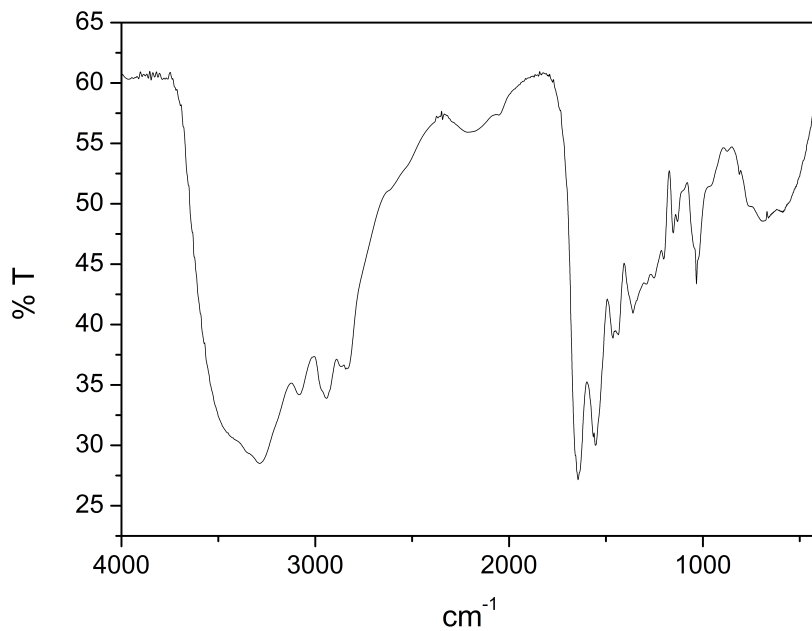


Figura 33 - Espectro no infravermelho do ligante bra_G5 feito em pastilha de KBr.

RMN ^{13}C – δ_{C} (200MHz; CDCl_3) em ppm: 33,5 (CH_2); 37,2 (CH_2); 37,2 (CH_2); 40,7 (CH_2); 41,6 (CH_2); 48,8 (CH_2); 52,2 (CH_2); 122,0 (CH); 123,1 (CH); 136,9 (CH); 147,9 (CH); 159,1 (CH); 173,0 ($\text{C}=\text{O}$); 173,5 ($\text{C}=\text{O}$).

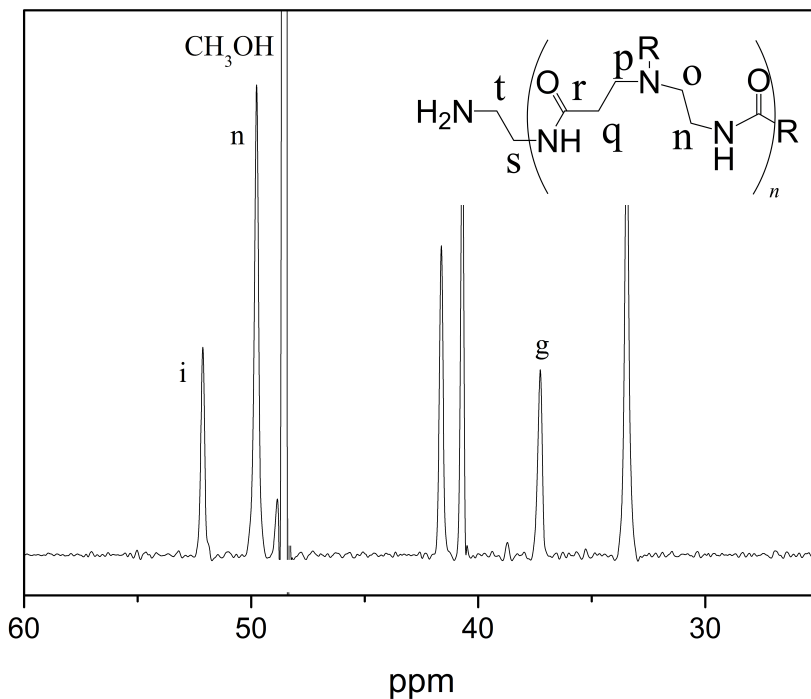
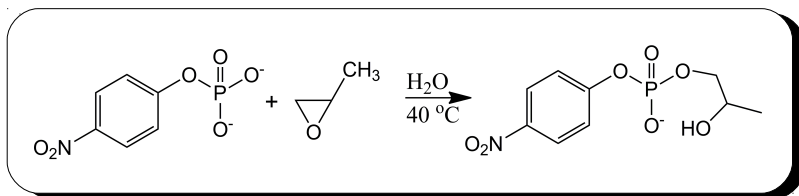


Figura 34 - Espectro de ^{13}C RMN do ligante bra_G5 feito em $\text{CD}_3\text{OH}/\text{D}_2\text{O}$.

3.11 SÍNTESE DO SUBSTRATO 2-HIDROXIPROPIL-4-NITROFENILFOSFATO DE BÁRIO (HPNP)



O 2-hidroxiopropil-4-nitrofenilfosfato foi sintetizado de acordo com o procedimento já descrito na literatura (BROWN; USHER, 1965). Uma solução de 4-nitrofenilfosfato de sódio hexahidratado (1,32 g, 3,55 mmol, 371,14 g mol^{-1}) em água (10 mL) foi passada através de uma coluna de troca iônica saturada com H^+ e o eluído foi neutralizado com uma solução diluída de NH_4OH até pH 8. A água foi removida sob pressão reduzida até o volume de aproximadamente 10 mL, a solução foi transferida para um balão de 50 mL e 20 mL de Óxido de propileno foram adicionados. A mistura reacional ficou sob agitação a 40 °C por 40h. Ao fim deste período, o epóxido foi removido no rotaevaporador e a solução aquosa novamente passada através de uma coluna de troca iônica saturada com H^+ . O pH desta solução foi ajustado para 6,5 com uma solução concentrada de BaOH e novamente a água foi removida em baixa temperatura (no máximo 50 °C) até um volume de 10 mL. À esta solução aquosa, 20 mL de EtOH foram adicionados para precipitar o 4-nitrofenilfosfato não reagido que precipitou na forma de um sólido branco. O filtrado teve seu volume diminuído até um mínimo, novamente em baixa temperatura e adicionado lentamente à 30 mL de acetona a -5 °C sob forte agitação. O precipitado branco foi lavado com acetona gelada e éter e seco. O ponto de fusão obtido para o produto foi de 183,5-184,5 °C e ele foi caracterizado por infravermelho e ^1H RMN como mostrado nas Figuras 35 e 36.

IV (KBr) em cm^{-1} : $\nu(\text{O-H})$ 3402; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 2981-2838; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1517-1589; $\nu(\text{N=O}$ e $\text{N-O})$ 1342-1264.

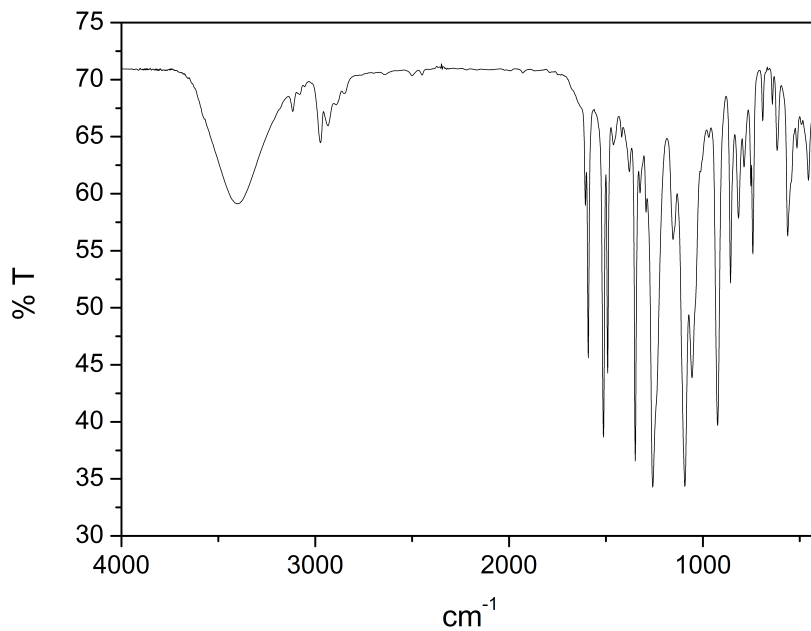


Figura 35 - Espectro no infravermelho do substrato HPNP feito em pastilha de KBr.

RMN ^1H – δ_{H} (200MHz; D_2O) em ppm: 1,12 (d, 3H_{CH_3}); 3,79 e 3,90 (m, 3H_{CH_2} e CH); 7,31 (d, 2H_{ar}); 8,23 (d, 2H_{ar}).

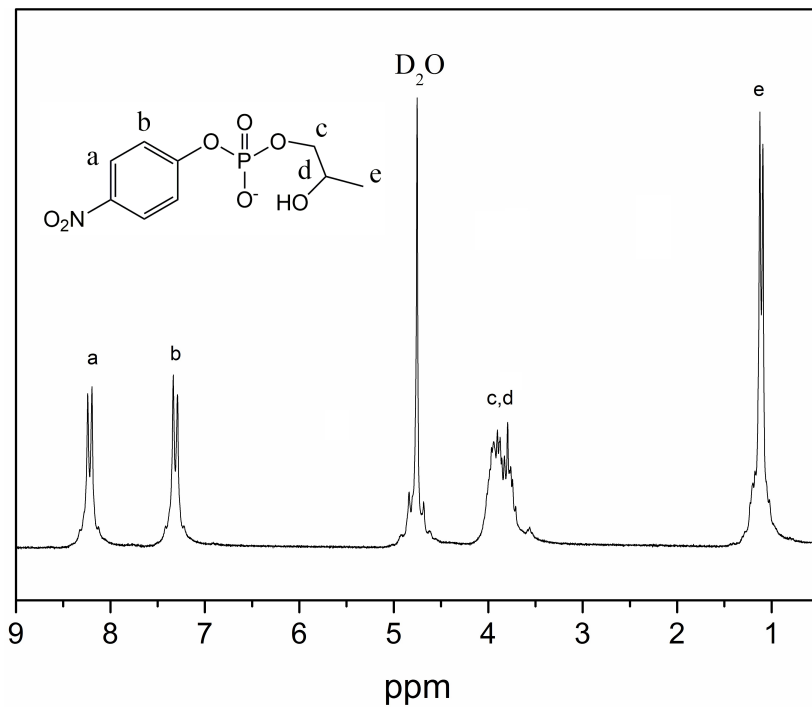
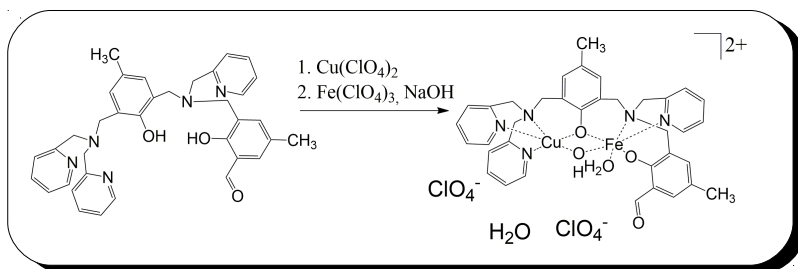


Figura 36 - Espectro de ^1H RMN do substrato HPNP feito em D_2O .

3.12 SÍNTESE DOS COMPLEXOS DERIVADOS DO 2-BIS[{(2-PIRIDILMETIL)AMINOMETIL}-6-{(2-HIDROXIBENZIL)(2-PIRIDILMETIL)} AMINOMETIL]-4-METIL-FENOL (H_2L_{ALD})

3.12.1 Síntese do complexo perclorato de (μ -hidroxo){2-bis[{(2-piridilmetil)aminometil}-6-{(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)}aminometil]-4-metil-fenolato} de Ferro(III) e Cobre(II) - $Fe(\mu OH)CuL_{ald}.2ClO_4.H_2O$ (I)



A uma solução de 0,2938 g do H_2L_{ald} (0,5 mmol, $587,71 \text{ gmol}^{-1}$) em 20 mL de MeOH a 40°C foram adicionados 0,1853 g de $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (0,5 mmol, $370,54 \text{ gmol}^{-1}$). Após 15 minutos de agitação, uma solução de 0,2084 g de $Fe(ClO_4)_3 \cdot 9H_2O$ (0,5 mmol, $416,75 \text{ gmol}^{-1}$) em 50 mL de MeOH foi adicionada durante uma noite com o auxílio de um funil de adição. No outro dia, 0,06 g de NaOH (1,5 mmol, 40 gmol^{-1}) dissolvidos em 5 mL de água foram adicionados. Após uma semana de evaporação, foram obtidos microcristais que foram caracterizados por UV/Vis, infravermelho e espectrometria de massas (Figura 37). Rendimento 52%. Sintetizado segundo (JOVITO, 2010).

UV/Vis (CH_3CN , ϵ em $Lmol^{-1}cm^{-1}$): 345 nm (5030), 545 nm (2100).

IV (KBr), em cm^{-1} : $\nu(OH)$ 3450; $\nu(C-H_{ar}$ e $C-H_{alif})$ 3050-2800 $\nu(C=O)$, 1650, $\nu(C=N$ e $C=C)$, 1610-1440; $\nu(C-O)$ 1276; $\nu(Cl-O)$ 1094; $\delta(C-H_{ar})$ 767.

Massa total do complexo $C_{36}H_{40}Cl_2CuFeN_5O_{14}$: $957,02 \text{ gmol}^{-1}$.
 $m/z(M^{2+}) = 360,47 \text{ gmol}^{-1}$.

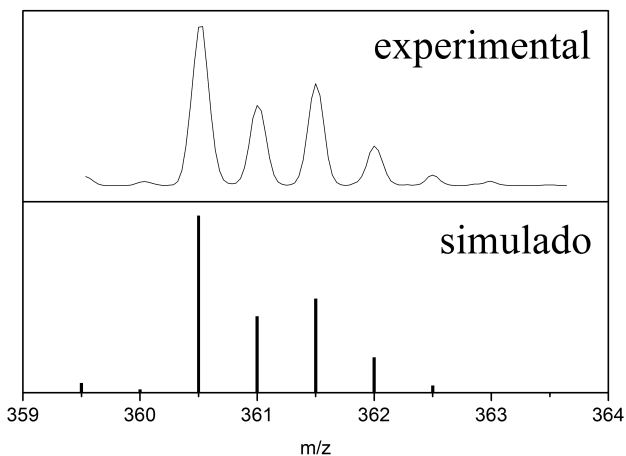
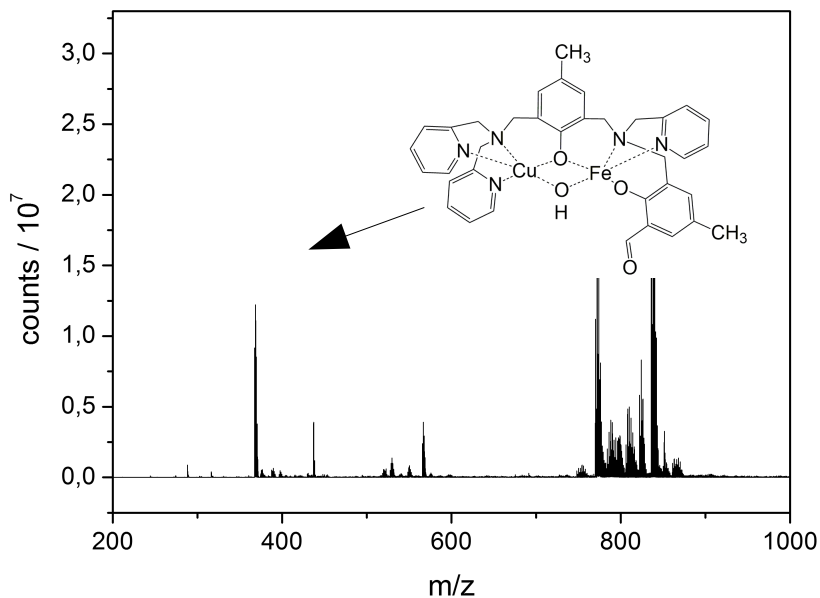
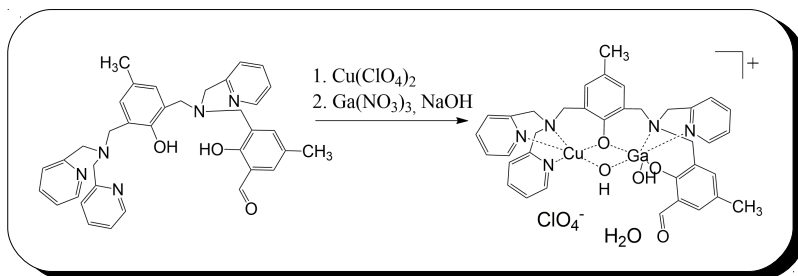


Figura 37 - ESI/MS do complexo $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (acima) com a simulação do espectro (abaixo) da espécie $[\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{CuFeN}_5\text{O}_4]^{2+}$.

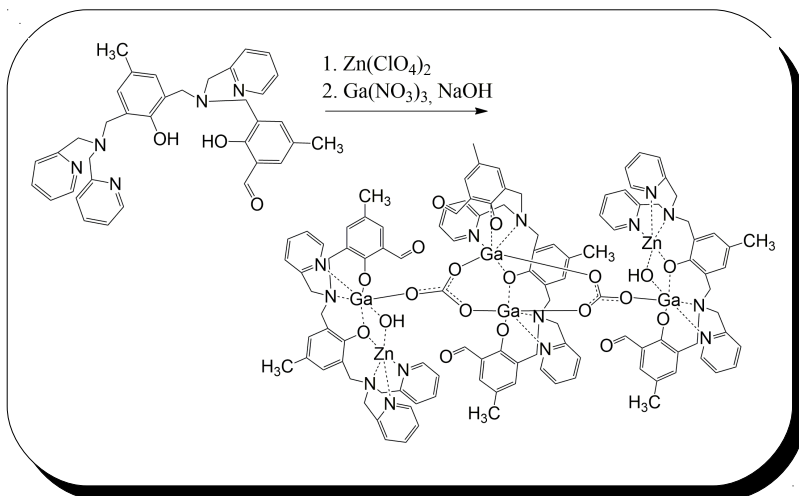
3.12.2 Síntese do complexo perclorato de $(\mu\text{-hidroxo})\{2\text{-bis}\{(2\text{-piridilmetil})\text{aminometil}\}-6\text{-}\{(2\text{-hidroxibenzil})(2\text{-piridilmetil})\}\text{aminometil}\}-4\text{-metil-fenolato}\}$ de Gálio(III) e Cobre(II) - $\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{CuL}_{\text{ald}}\cdot\text{ClO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ (2)



O complexo $\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{CuL}_{\text{ald}}$ foi sintetizado de forma bastante similar ao complexo anterior. A uma solução de 0,2938 g do $\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$ (0,5 mmol, $587,71 \text{ g mol}^{-1}$) em 20 mL de MeOH a 40°C foram adicionados 0,1853 g de $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol, $370,54 \text{ g mol}^{-1}$). Após 15 minutos de agitação, uma solução de 0,2088 g de $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol, $417,74 \text{ g mol}^{-1}$) em 50 mL de MeOH foi adicionada durante uma noite com o auxílio de um funil de adição. No outro dia, 0,06 g de NaOH (1,5 mmol, 40 g mol^{-1}) dissolvidos em 5 mL de água foram adicionados. Após uma semana de evaporação, foram obtidos cristais adequados para resolução por cristalografia de raios-X que foram também caracterizados por UV/Vis e infravermelho. Rendimento 67%.

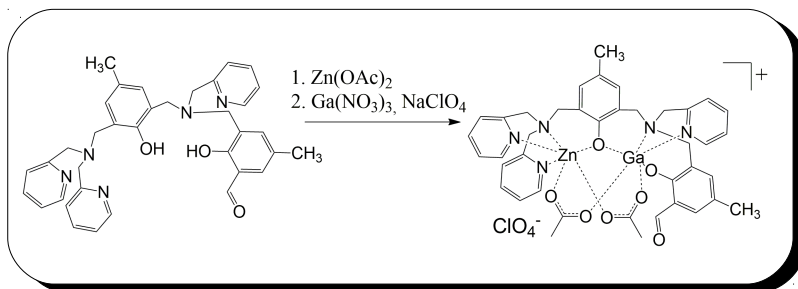
UV/Vis (CH_3CN , ϵ em $\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 365 nm (6086), 820 nm (166).

IV (KBr), em cm^{-1} : $\nu(\text{OH})$ 3433; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 3031-2920 $\nu(\text{C=O})$, 1669, $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$, 1615-1754; $\nu(\text{Cl-O})$ 1092; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 765.

3.12.3 Síntese do complexo $\text{Ga}_4\text{Zn}_2\text{L}_{\text{ald}}$ (3)

O complexo $\text{Ga}_4\text{Zn}_2\text{L}_{\text{ald}}$ foi sintetizado de forma bastante similar ao complexo anterior. A uma solução de 0,2938 g do $\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$ (0,5 mmol, $587,71 \text{ g mol}^{-1}$) em 20 mL de MeOH a 40 °C foram adicionados 0,1862 g de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol, $372,38 \text{ g mol}^{-1}$). Após 15 minutos de agitação, uma solução de 0,2088 g de $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol, $417,74 \text{ g mol}^{-1}$) em 50 mL de MeOH foi adicionada durante uma noite. No outro dia, 0,06 g de NaOH (1,5 mmol, 40 g mol^{-1}) dissolvidos em 5 mL de água foram adicionados. Após uma semana de evaporação, foram obtidos cristais adequados para resolução por cristalografia de raios-X. Este complexo não foi caracterizado de outras formas por não se apresentar adequado para o desenvolvimento deste trabalho.

3.12.4 Síntese do complexo perclorato de bis(μ -acetato){2-bis[(2-piridilmetil)aminometil]-6-[(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)]aminometil]-4-metil-fenolato} de Gálio(III) e Zinco(II) - $\text{Ga}(\mu\text{OAc})_2\text{ZnL}_{\text{ald}}\cdot\text{ClO}_4$ (**4**)



O complexo foi sintetizado de forma análoga ao complexo $\text{Fe}(\mu\text{OAc})_2\text{CuL}$ publicado por Lanznaster (LANZNASTER et al., 2005). A uma solução de 0,2938 g do $\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$ (0,5 mmol, 587,71 g mol^{-1}) em 20 mL de MeOH a 40 °C foram adicionados 0,0917 g de $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ (0,5 mmol, 183,48 g mol^{-1}). Após 15 minutos de agitação, foram adicionados 0,2088 g de $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol, 417,74 g mol^{-1}) e mais 0,1224 g de NaClO_4 (1,0 mmol, 122,44 g mol^{-1}). Após alguns dias de evaporação do solvente, um pó cristalino branco pode ser obtido. O produto foi caracterizado por infravermelho e espectrometria de massas. Rendimento: 80%.

IV (KBr), em cm^{-1} : $\nu(\text{OH})$ 3448; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 3076-2918 $\nu(\text{C=O})$, 1670, $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$, 1604-1473; $\nu(\text{C-O})$ 1277; $\nu(\text{Cl-O})$ 1094; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 760.

Massa total do complexo $\text{C}_{40}\text{H}_{45}\text{ClGa}_5\text{O}_{12}\text{Zn}$: 957,02 g mol^{-1} . $M/Z(\text{M}^{2+}) = 838,17 \text{ g mol}^{-1}$.

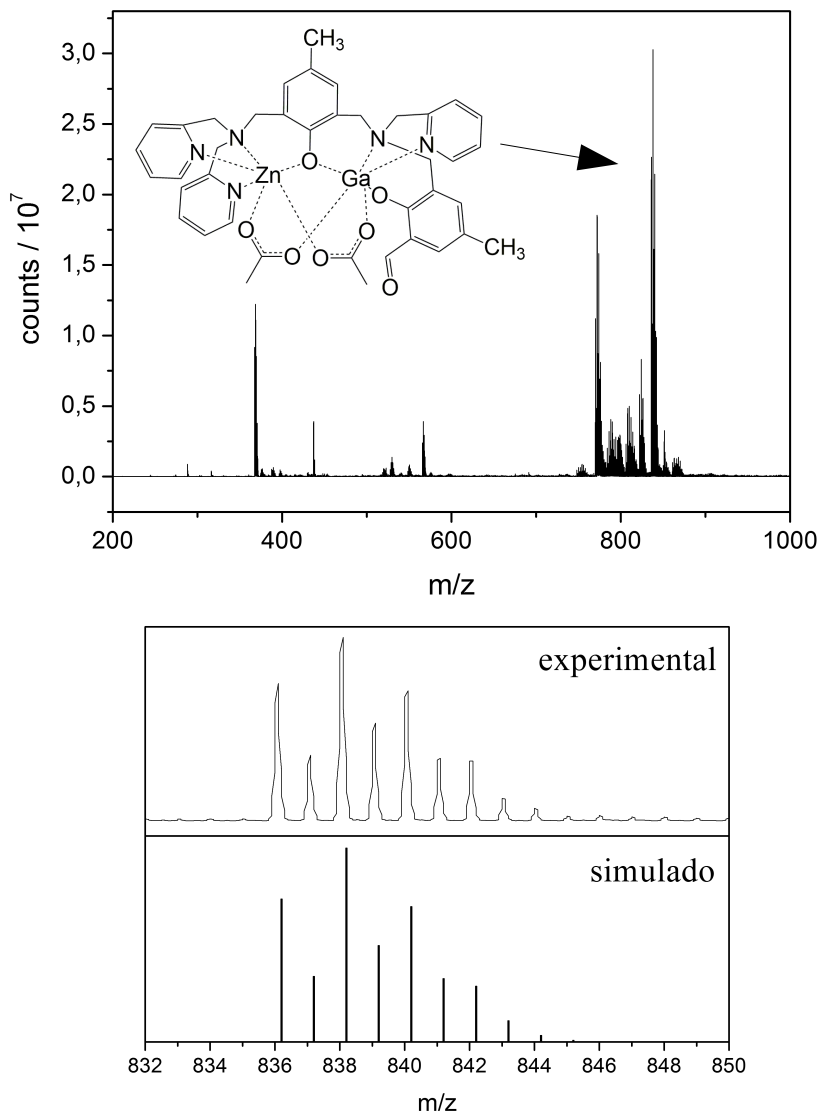
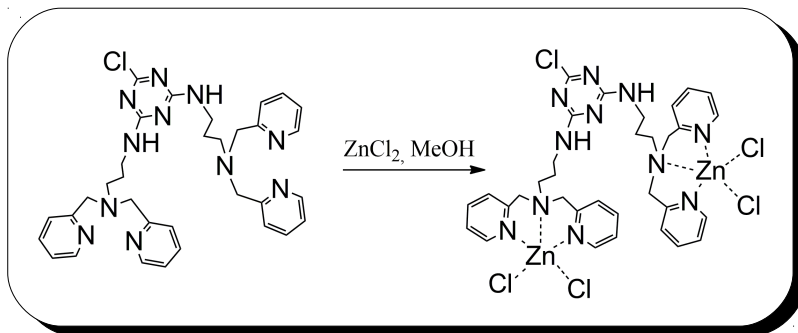


Figura 38 - ESI/MS do complexo $\text{GaZn(OAc)L}_{\text{ald}}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (acima) com a simulação do espectro (abaixo) para $\text{C}_{40}\text{H}_{41}\text{GaN}_5\text{O}_7\text{Zn}$. Os outros picos são todos relacionados à espécies derivadas do complexo.

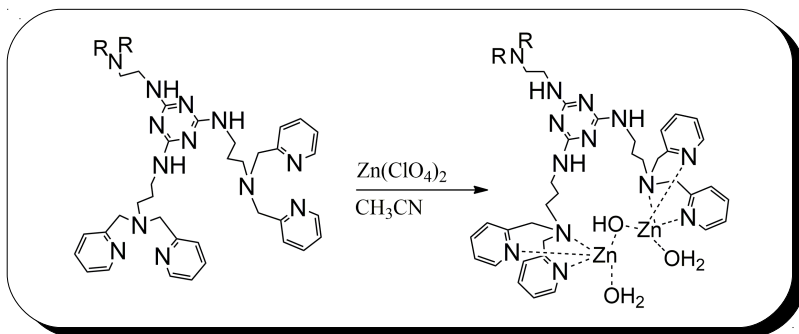
3.13 SÍNTESE DO COMPLEXO ZNZNBMPPRATZ DERIVADO DO LIGANTE 2,4-[N,N'-BIS(2-PIRIDILMETIL)-1,3-PROPANODIAMINO]-6-CLORO-1,3,5-TRIAZINA



Em uma solução de 0,3121g do ligante (0,5 mmol, 624,18 g mol^{-1}) dissolvidos em 20 mL de MeOH, 0,1362 g de ZnCl_2 (1 mmol, 136,31 g mol^{-1}) foram adicionados e a solução ficou sob agitação por 30 min. Após uma semana, foram obtidos cristais incolores adequados à resolução por cristalografia de Raios-X e o produto foi caracterizado por infravermelho. Rendimento: 30%.

IV (KBr), em cm^{-1} : $\nu(\text{OH})$ 3448; $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 3076-2918 $\nu(\text{C=O})$, 1670, $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$, 1604-1473; $\nu(\text{C-O})$ 1277; $\nu(\text{Cl-O})$ 1094; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 760.

3.14 SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE ZINCO DERIVADOS DOS LIGANTES DENDRIMÉRICOS



Os complexos derivados dos ligantes dendriméricos bra_Gx (sendo x de 0 à 5), foram sintetizados *in situ*, com sua formação confirmada a partir de medidas da atividade de transesterificação do complexo no pH de atividade máxima, como é de costume na literatura para complexos similares (MARTIN et al., 2007; MOHAMED; NEVEROV; BROWN, 2009). A solução de perclorato de zinco foi preparada a partir do sal e padronizada por medidas de absorção atômica. Tipicamente, soluções estoque de concentração $5 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ do ligante desejado eram preparadas e a solução do complexo era preparada previamente em uma concentração de $4 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. Os gráficos mostrando a variação da atividade de hidrólise do HPNP em função da concentração do metal se encontram no respectivo capítulo de discussão.

4 DO ESTUDO DOS COMPLEXOS DERIVADOS DO LIGANTE H_2L_{ald} E SUA LIGAÇÃO COM A POLIETILENOIMINA

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

Os complexos **1-4** foram sintetizados a partir do ligante H_2L_{ald} , com adição de um equivalente de cada metal em MeOH. O metal trivalente foi adicionado lentamente para evitar a formação do complexo homobinuclear. Os complexos **1-3** foram sintetizados a partir de sais com contra-íons não coordenantes como o ClO_4^- e o NO_3^- , com a adição de NaOH para a desprotonação dos ligantes e da ponte hidróxido. É interessante ressaltar que o complexo inédito **2**, $GaCuL_{ald}$, apresentou também um hidróxido coordenado de forma terminal e não uma água como normalmente encontrado nestes complexos (JOVITO, 2010; PIOVEZAN et al., 2010), já indicando um baixo valor de pKa terminal para o Gálio (ver seção 4.1.4).

Já o complexo **4** foi sintetizado a partir de um sal de $Zn(OAc)_2$ para garantir a presença da ponte acetato. O sal $NaClO_4$ foi adicionado para auxiliar na precipitação do complexo.

Durante a evaporação do solvente, os complexos **1-3** formaram monocristais adequados à resolução por difratometria de Raios-X diretamente da solução de síntese, sem a necessidade de recristalização. O complexo **4** precipitou na forma de um pó branco cristalino, porém não foi possível se obter cristais adequados para a resolução por difratometria.

Os complexos **1-4** são solúveis em solventes orgânicos como MeOH e CH_3CN e também em misturas destes solvente com água, desde que a solução seja preparada já a partir de uma solução em meio orgânico.

4.1.1 Difratometria de Raios-X de monocristal

Os complexos **2** e **3** tiveram as suas estruturas resolvidas por difratometria de Raios-X. Os dados cristalográficos encontram-se na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1 - Dados cristalográficos e de refinamento das estruturas de **2** e **3**.

	Ga(μ OH)CuL _{ald} (2)	Ga ₄ Zn ₂ (3)
Fórmula empírica	C _{36,30} H _{36,40} ClCuGaN ₅ O ₉	C ₁₁₃ H ₁₀₇ Cl ₂ Ga ₄ N ₁₄ O ₂₇ Zn ₂
Massa molecular (g mol ⁻¹)	855,41	2573,65
Temperatura (K)	173(2)	293(2)
Comprimento de onda (Å)	1,54178	0,71073
Sistema cristalino	Monoclinico	Monoclinico
Grupo espacial	C 2/c	C 2/c
Dimensões da célula unitária	a = 39,216(2) Å b = 9,7799(7) Å c = 23,7082(11) Å $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 121,377(3)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$	A = 34,7671(11) Å b = 20,8467(6) Å c = 23,5760(8) Å $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 129,5990(10)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Volume (Å ³)	7763,0(8)	13166,2(7)
Z	8	4
Densidade calculada (g cm ⁻³)	1,464	1,298
Coefficiente de absorção (mm ⁻¹)	2,658	1,276
F(000)	3506	5268
Tamanho do cristal (mm)	0,20 x 0,08 x 0,01	-
Intervalo de θ (°)	2,64 to 60,78	1,95 to 30,20
Intervalo de índice	-42<=h<=42, -4<=k<=11, -23<=l<=26	-46<=h<=49, -29<=k<=29, - 32<=l<=32
Reflexões coletadas / únicas	8499	32810
Correção de absorção	semi-empírica	-
Máx. e mín. de transmissão	0,9739 and 0,6185	-
Método de refinamento	Mínimos quadrados – Matriz completa em F ²	
Dados / Restrições / parâmetros	5543 / 0 / 490	18213 / 0 / 729
Godness-of-fit (F ²)	1,090	1,384
Índice F final [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0523, wR2 = 0,1603	R1 = 0,1352, wR2 = 0,3868
Índice R	R1 = 0,0595	R1 = 0,1869
(todos os dados)	wR2 = 0,1679	wR2 = 0,4282

As estruturas dos dois complexos foram resolvidas por métodos diretos e refinadas pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa em F^2 (SHELDRICK, 2008). Em ambos também foi aplicada a correção Squeeze (SPEK, 2009). O complexo **2** teve a sua estrutura resolvida de forma parcial devido a desordens no sistema e também ao fato que 70% das moléculas possuem ponte hidróxido enquanto as outras 30% possuem pontes metóxido. O complexo **3** também teve a sua estrutura resolvida somente de forma parcial devido à complexidade do sistemas (ver seção 4.1.1.2).

4.1.1.1 Estrutura cristalina do complexo $\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{CuL}_{\text{ald}}$ (**2**)

O complexo **2** cristaliza na forma de monocristais verdes pertencentes ao sistema cristalino monoclinico, no grupo espacial $C2/c$. A estrutura cristalina consiste de um cátion complexo $[\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{CuL}_{\text{ald}}]^+$, apresentado na Figura 39, com um ânion perclorato atuando como contra-íon. Os principais comprimentos e ângulos de ligação estão apresentados na Tabela 2.

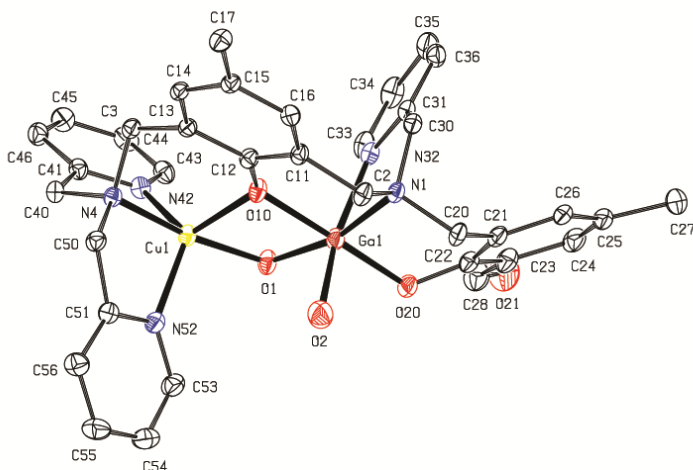


Figura 39 - Representação ORTEP da estrutura molecular do cátion complexo $[\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{CuLald}]^+$, com o esquema de numeração dos átomos. Os elipsoides são mostrados com 40% de probabilidade.

Tabela 2 - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 2.

Cu(1)-O(1)	1,916(3)	N(42)-Cu(1)-N(52)	125,86(14)
Cu(1)-N(4)	2,007(3)	O(10)-Cu(1)-N(52)	110,03(13)
Cu(1)-N(42)	2,027(4)	O(2)-Ga(1)-O(1)	95,24(16)
Cu(1)-O(10)	2,036(3)	O(2)-Ga(1)-O(20)	90,13(16)
Cu(1)-N(52)	2,080(4)	O(1)-Ga(1)-O(20)	96,25(13)
Cu(1)-Ga(1)	3,0019(7)	O(2)-Ga(1)-O(10)	92,12(16)
Ga(1)-O(2)	1,925(4)	O(1)-Ga(1)-O(10)	79,47(11)
Ga(1)-O(1)	1,930(3)	O(20)-Ga(1)-O(10)	175,33(13)
Ga(1)-O(20)	1,944(3)	O(2)-Ga(1)-N(1)	92,31(16)
Ga(1)-O(10)	1,991(3)	O(1)-Ga(1)-N(1)	166,08(13)
Ga(1)-N(1)	2,098(3)	O(20)-Ga(1)-N(1)	95,42(13)
Ga(1)-N(32)	2,160(4)	O(10)-Ga(1)-N(1)	88,59(12)
		O(2)-Ga(1)-N(32)	169,41(15)
O(1)-Cu(1)-N(4)	170,70(13)	O(1)-Ga(1)-N(32)	94,67(14)
O(1)-Cu(1)-N(42)	99,91(14)	O(20)-Ga(1)-N(32)	85,08(13)
N(4)-Cu(1)-N(42)	83,08(13)	O(10)-Ga(1)-N(32)	93,36(13)
O(1)-Cu(1)-O(10)	78,66(11)	N(1)-Ga(1)-N(32)	78,78(13)
N(4)-Cu(1)-O(10)	92,28(12)	Cu(1)-O(1)-Ga(1)	102,61(14)
N(42)-Cu(1)-O(10)	122,23(13)	Ga(1)-O(10)-Cu(1)	96,39(12)
O(1)-Cu(1)-N(52)	103,25(14)	N(4)-Cu(1)-N(52)	81,68(13)

A análise por difração de Raios-X revelou que o íon Ga(III) encontra-se hexacoordenado aos átomos N1, N32, O20 e O10 do ligante, mais ao oxigênio O1 da ponte e ao O2 do hidróxido terminal em uma geometria octaédrica. O íon Cu(II) encontra-se coordenado aos átomos N4, N42, N52 e O10 do ligante, mais ao oxigênio O1 da ponte em uma geometria de bipirâmide trigonal, como mostrado na Figura 39.

Esta geometria para o átomo de cobre pode ser confirmada através da utilização do parâmetro de Addison, τ , sendo $\tau = 1$ para bipirâmide trigonal perfeita e $\tau = 0$ para uma pirâmide de base quadrada. Neste complexo, $\tau = 0,75$, o que indica uma geometria bipiramidal levemente distorcida (ADDISON et al., 1984).

O comprimento médio de ligação Ga-N encontrado foi 2,129 Å, e o comprimento Ga-O, 1,947 Å, bastante similar ao de outros complexos de Gálio da literatura (JONATHAN, 1991; OZAROWSKI et al., 1993). Ao redor do átomo de Cu(II), o comprimento de ligação médio foi 2,013 Å, também similar ao de outros complexos da literatura (PERALTA, 2005; PIOVEZAN et al., 2010). O que chama a atenção nesta estrutura é a presença de um hidróxido terminal ligado ao M(III) e não uma água como em todos os outros complexos similares. Embora os hidrogênio não tenham sido modelados, este ligante hidróxido deve ser assumido tendo em vista a carga total do cátion $[\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{CuL}_{\text{ald}}]^+$ e a presença de somente um perclorato como contra-íon.

4.1.1.2 Estrutura cristalina do complexo $\text{Ga}_4\text{Zn}_2(\mathbf{3})$

O complexo **3** cristaliza na forma de monocristais vermelho-alaranjados pertencentes ao sistema cristalino monoclinico, no grupo espacial C2/c. A estrutura cristalina consiste de uma molécula de complexo hexanuclear Ga_4Zn_2 , formada a partir da junção de três complexos binucleares através de pontes carbonato (Figura 40).

A molécula central é de um complexo binuclear de Ga(III) formado a partir de um ligante oriundo do desmanche do ligante inicial, embora ainda não se tenha uma explicação para este fato. Este ligante é a versão simétrica do ligante $\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$, onde nos dois lados se encontram o braço tridentado contendo amina-piridina-fenol. O carbonato presente na estrutura não foi adicionado e provavelmente foi formado a partir da reação do complexo com o CO_2 dissolvido no meio. Este tipo de estrutura não é incomum em complexos de metais mais duros como o Ga(III) e o Zn(II) e já foi observado em complexos de ligantes semelhantes (XAVIER, 2010). Os dois átomos de Gálio nesta estrutura estão hexacoordenados à duas piridinas e dois fenolatos do ligante (um como ponte), bem como a dois carbonatos-ponte ligados de forma bidentada.

As moléculas das extremidades são os complexos heterobinucleares de Ga(III) e Zn(II) esperados em princípio, com uma geometria bastante similar à do complexo GaCuL_{ald} descrito acima. Os átomos de Gálio estão hexacoordenados em uma geometria octaédrica e os átomos de Zinco estão pentacoordenados em uma geometria de bipirâmide distorcida. O complexo possui pontes hidróxido e fenoxo, mais uma ponte carbonato que liga-o ao complexo central, através de uma ligação com o Ga(III), onde deveria estar o hidróxido terminal. Os comprimentos de ligação para esta molécula também são similares à outras descritas na literatura (JONATHAN, 1991; OZAROWSKI et al., 1993; XAVIER, 2010). A Tabela 3 apresenta os principais comprimentos e ângulos de ligação, sendo que nesta descrição os átomos Zn(1) e Ga(1) referem-se aos complexos heterobinucleares e os átomos Ga(2) aos átomos da molécula simétrica central.

Por causa desta estrutura complexa, da mistura de estruturas e da falta de posições lábeis para coordenação do substrato, o complexo não foi levado adiante em termos de caracterização e aplicações.

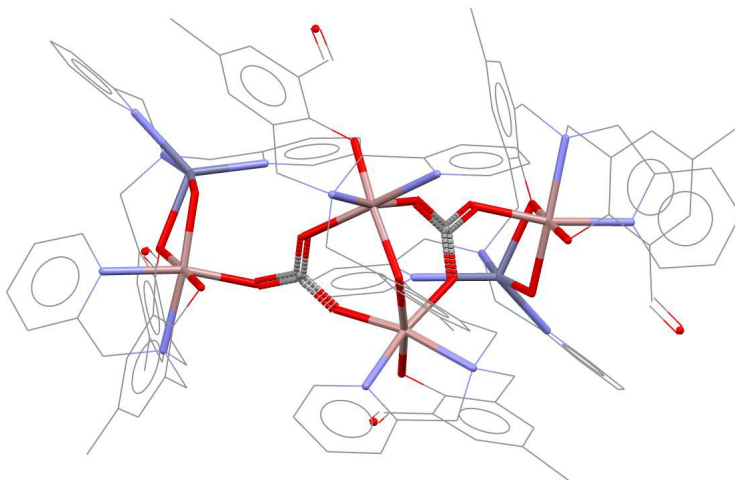


Figura 40 - Estrutura cristalina do complexo Ga₄Zn₂, evidenciando as ligações entre os metais e os ligantes.

Tabela 3 - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 3.

Zn(1)-O(1)	2,013(4)	O(61)-Ga(2)-O(80)	173,1(4)
Zn(1)-O(10)	2,036(4)	O(2)-Ga(2)-O(80)	95,3(3)
Zn(1)-N(42)	2,040(7)	O(61)-Ga(2)-O(3)#1	89,0(4)
Zn(1)-N(52)	2,070(6)	O(2)-Ga(2)-O(3)#1	96,7(3)
Zn(1)-N(4)	2,171(6)	O(80)-Ga(2)-O(3)#1	92,4(2)
Zn(1)-Ga(1)	3,0029(10)	O(61)-Ga(2)-N(5)	95,1(4)
Ga(1)-O(1)	1,911(4)	O(2)-Ga(2)-N(5)	169,0(3)
Ga(1)-O(20)	1,933(5)	O(80)-Ga(2)-N(5)	91,6(2)
Ga(1)-O(4)	1,940(5)	O(3)#1-Ga(2)-N(5)	91,5(3)
Ga(1)-O(10)	2,027(5)	O(61)-Ga(2)-N(72)	93,9(3)
Ga(1)-N(32)	2,084(7)	O(2)-Ga(2)-N(72)	92,6(3)
Ga(1)-N(1)	2,115(5)	O(80)-Ga(2)-N(72)	85,8(2)
Ga(2)-O(61)	1,740(9)	O(3)#1-Ga(2)-N(72)	170,6(3)
Ga(2)-O(2)	1,953(8)	N(5)-Ga(2)-N(72)	79,3(3)
Ga(2)-O(80)	1,985(4)	O(20)-Ga(1)-O(4)	92,8(2)
Ga(2)-O(3)#1	2,030(5)	O(1)-Ga(1)-O(10)	82,33(18)
Ga(2)-N(5)	2,130(9)	O(20)-Ga(1)-O(10)	176,1(3)
Ga(2)-N(72)	2,135(6)	O(4)-Ga(1)-O(10)	91,0(2)
Ga(2)-Ga(2)	3,337(4)	O(1)-Ga(1)-N(32)	98,2(2)
O(1)-Zn(1)-O(10)	79,66(17)	O(20)-Ga(1)-N(32)	85,8(2)
O(1)-Zn(1)-N(42)	93,2(2)	O(4)-Ga(1)-N(32)	168,1(2)
O(10)-Zn(1)-N(42)	115,6(2)	O(10)-Ga(1)-N(32)	90,5(2)
O(1)-Zn(1)-N(52)	113,4(2)	O(1)-Ga(1)-N(1)	169,1(2)
O(10)-Zn(1)-N(52)	114,6(2)	O(20)-Ga(1)-N(1)	93,86(19)
N(42)-Zn(1)-N(52)	126,3(2)	O(4)-Ga(1)-N(1)	88,1(2)

O(1)-Zn(1)-N(4)	166,1(2)	O(10)-Ga(1)-N(1)	86,88(19)
O(10)-Zn(1)-N(4)	92,45(18)	N(32)-Ga(1)-N(1)	80,2(2)
N(42)-Zn(1)-N(4)	79,8(2)	O(61)-Ga(2)-O(2)	77,9(4)
N(52)-Zn(1)-N(4)	80,3(2)	O(61)-Ga(2)-O(80)	173,1(4)
O(1)-Ga(1)-O(20)	96,80(19)	O(2)-Ga(2)-O(80)	95,3(3)
O(1)-Ga(1)-O(4)	93,7(2)	O(61)-Ga(2)-O(3)#1	89,0(4)
O(20)-Ga(1)-O(4)	92,8(2)	O(2)-Ga(2)-O(3)#1	96,7(3)
O(1)-Ga(1)-O(10)	82,33(18)	O(80)-Ga(2)-O(3)#1	92,4(2)
O(20)-Ga(1)-O(10)	176,1(3)	O(61)-Ga(2)-N(5)	95,1(4)
O(4)-Ga(1)-O(10)	91,0(2)	O(2)-Ga(2)-N(5)	169,0(3)
O(1)-Ga(1)-N(32)	98,2(2)	O(80)-Ga(2)-N(5)	91,6(2)
O(20)-Ga(1)-N(32)	85,8(2)	O(3)#1-Ga(2)-N(5)	91,5(3)
O(4)-Ga(1)-N(32)	168,1(2)	O(61)-Ga(2)-N(72)	93,9(3)
O(10)-Ga(1)-N(32)	90,5(2)	O(2)-Ga(2)-N(72)	92,6(3)
O(1)-Ga(1)-N(1)	169,1(2)	O(80)-Ga(2)-N(72)	85,8(2)
O(20)-Ga(1)-N(1)	93,86(19)	O(3)#1-Ga(2)-N(72)	170,6(3)
O(4)-Ga(1)-N(1)	88,1(2)	N(5)-Ga(2)-N(72)	79,3(3)
O(10)-Ga(1)-N(1)	86,88(19)	O(20)-Ga(1)-O(4)	92,8(2)
N(32)-Ga(1)-N(1)	80,2(2)	O(1)-Ga(1)-O(10)	82,33(18)
O(61)-Ga(2)-O(2)	77,9(4)	O(20)-Ga(1)-O(10)	176,1(3)

4.1.2 Espectroscopia vibracional no infravermelho

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho apresentou-se como uma técnica importante de caracterização preliminar dos complexos, indicando a presença dos ligantes e de certos contra-íons. Os espectros do ligante e dos complexos **1-4** estão colocados em sobreposição abaixo na Figura 41 e uma tabela com as principais vibrações associadas segue na Tabela 4.

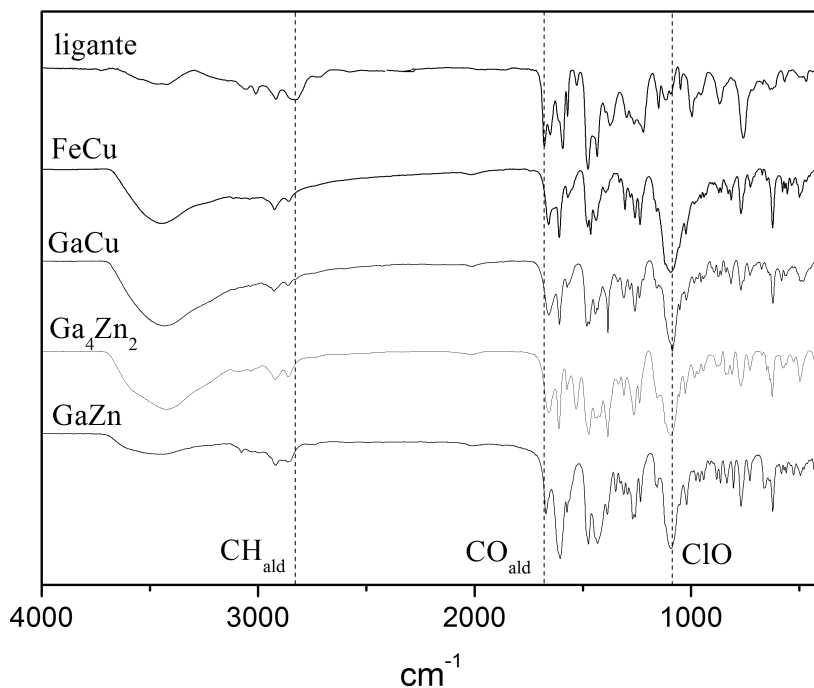


Figura 41 - Espectro no infravermelho do ligante H₂L_{ald} e dos complexos **1-4** feitos em pastilha de KBr.

Tabela 4 - Principais bandas (cm^{-1}) e atribuições dos espectros no infravermelho dos complexo **1-4**.

Atribuição	1	2	3	4
$\nu(\text{O-H})$	3464	3433	3422	3434
$\nu(\text{CH}_{\text{ar}}$ e $\text{CH}_{\text{alif}})$	2920-3051	2920-3031	2926-3097	2916-3074
$\nu(\text{CH}_{\text{aldeído}})$	2852	2862	2858	2860
$\nu(\text{C=O}_{\text{aldeído}})$	1659	1669	1659	1669
$\nu(\text{C=C}$ e $\text{C=N})$	1564-1615	1574-1615	1570-1610	1572-1605
$\nu(\text{C=O}_{\text{carbonato}})$	-	-	1530 e 1478	-
$\nu(\text{C-O}_{\text{acetato}})$	-	-	-	1607-1429
$\nu(\text{Cl-O})$	1093	1092	1092	1094
$\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$	766	765	767	768

É importante notar a semelhança entre os espectros dos complexos e do ligante como mostrados na Figura 41, o que demonstra a integridade do mesmo no complexo e ajuda a identificar inicialmente os cristais e o pó formados.

Em todos os complexos se pode observar a diminuição na frequência de estiramento da vibração relativa à carbonila do aldeído, originalmente em 1678 cm^{-1} (JOVITO, 2010). Essa diminuição ocorre quando há coordenação devido a um deslocamento da densidade eletrônica para o fenolato, o que enfraquece a ligação dupla. Também foi possível observar uma diminuição na frequência da vibração C-H do aldeído em todos os casos. É importante ressaltar que em nenhum caso o deslocamento foi muito grande, o que significa que em nenhum deles houve coordenação da carbonila, que então permaneceu disponível para reagir posteriormente.

O complexo Ga_4Zn_2 (**3**) apresentou as bandas típicas de um carbonato coordenado na forma de ponte como é encontrado na estrutura e o complexo GaZnOAc (**4**) também apresentou bandas características para o ligante acetato (NAKAMOTO, 1977).

4.1.3 Espectroscopia no Ultravioleta e visível (UV/Vis)

Os complexos **1** e **2** foram estudados através de espectroscopia UV/Vis entre 1000 e 300 nm em CH₃CN por apresentarem transições d-d e transferências de carga relevantes.

O complexo GaCuL_{ald} apresentou uma banda de transferência de carga intraligante em 365 nm ($\epsilon = 6086 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) e uma transição d-d do Cu(II) em 820 nm ($\epsilon = 166 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Os valores de comprimento de onda e coeficiente de absorção encontrados foram os típicos para estes sistemas, com o cobre em uma geometria de bipirâmide trigonal (LEVER, 1984). No complexo FeCuL_{ald} foram observadas duas bandas intensas, em 345 nm ($\epsilon = 5030 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) e em 545 nm ($\epsilon = 2100 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), atribuídas à transferências de carga do tipo fenolato-Fe(III) (NEVES et al., 2007). Não foi possível identificar as transições d-d do metal neste caso porque estas ficaram sobrepostas pela transferência de carga ligante-metal em 545 nm. Os espectros são apresentados abaixo na Figura 42.

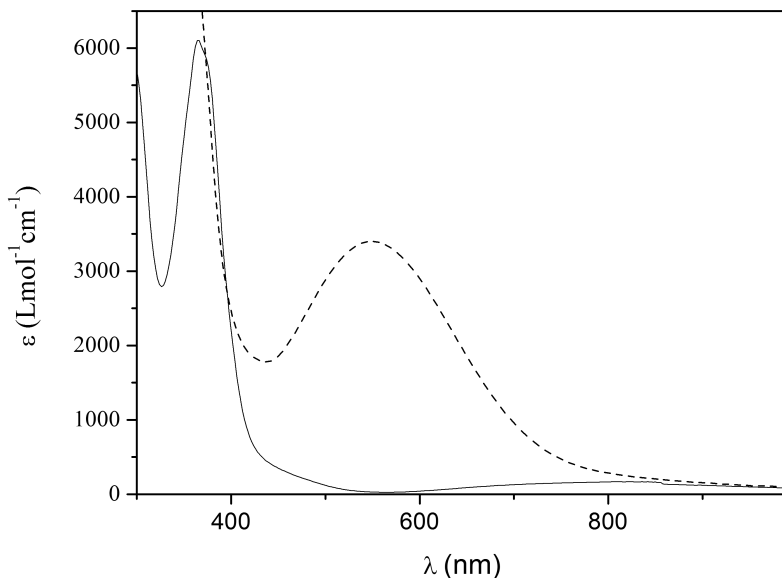


Figura 42 - Espectro no UV/Vis dos complexos **1** (linha tracejada) e **2** (linha cheia) em CH₃CN.

4.1.4 Estudos de equilíbrio químico por titulação potenciométrica

Os equilíbrios químicos em solução aquosa para o complexo **2** foram determinados via titulação potenciométrica em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 50/50 v:v. O objetivo deste experimento foi determinar os valores de $\text{p}K_a$ para as águas coordenadas aos centros metálicos, comparar estes valores com os de **1** (JOVITO, 2010) e com os valores obtidos através das medidas cinéticas. A escolha de uma mistura de solventes diferente do meio reacional onde foi estudada a reatividade teve que ser usada devido à baixa solubilidade dos complexos na concentração necessária para estes experimentos. O diagrama de espécies com algumas atribuições para o complexo está na Figura 43 abaixo.

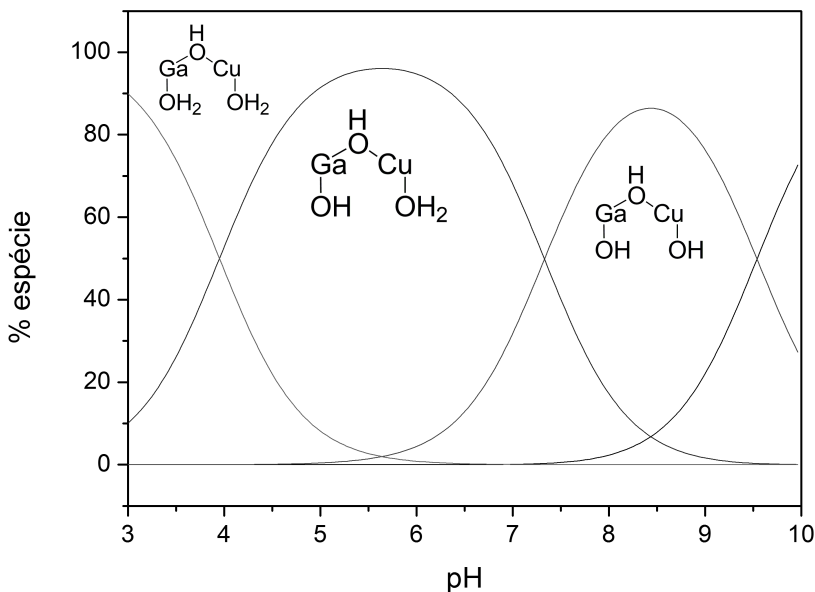


Figura 43 - Diagrama de espécies para o complexo GaCuL_{ald} titulado em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 50/50 v:v.

Os pK_{as} encontrados para o complexo $FeCuL_{ald}$ (**1**) foram 3,12, 5,26 e 8,45 (JOVITO, 2010), semelhantes aos valores obtidos para o complexo análogo de Fe e Zn (NEVES et al., 2007; PIOVEZAN et al., 2010). Estes pK_{as} foram atribuídos respectivamente à formação da ponte hidróxido, à desprotonação da água ligada no centro de Fe(III) e à subsequente desprotonação da água ligada no Cu(II), como representado na Figura 43.

Já para o complexo $GaCuL_{ald}$ (**2**), os valores de pK_a encontrados foram 3,95, 7,33 e 9,54. Neste caso, o pK_a da ponte hidróxido aparentemente acabou ficando tão baixo que não foi possível observá-lo na faixa titulada e o primeiro pK_a provavelmente deve estar relacionado à desprotonação de um hidróxido terminal. Essa suposição se baseia nos resultados obtidos na cinética (ver seção 4.1.5.1) e também no fato de que a estrutura obtida para este complexo por difratometria de Raios-X já apresentou um hidróxido terminal coordenado. O segundo pK_a deve ser então relacionado à desprotonação da água ligada ao Cu(II) e o terceiro pK_a ficou como incerto, podendo ser relativo à desprotonação de mais uma molécula de água ligada ao complexo ou à formação de um complexo polinuclear em pHs mais altos (JOVITO et al., 2005).

A mesma diminuição nos valores de pK_a das águas ligadas ao metal acontece na substituição de Ga(III) por Fe(III) na enzima Fosfatase Ácida Púrpura, com uma variação de 0,5 unidades de pK_a (MERKX; AVERILL, 1998). Esta variação em princípio parece estranha em relação à diferença de acidez dos complexos hexaaquo destes metais: o $Ga^{III}(H_2O)_6$ possui um pK_a de 3,1 enquanto o $Fe^{III}(H_2O)_6$ possui pK_a de 2,7 (SMITH et al., 2007); porém ela pode ser explicada em termos das cargas de Mülliken calculadas para os complexos. Um simples cálculo de DFT usando o funcional BP86 e a base Def2-TZVPP mostrou que, no complexo com água ligada ao metal, a carga no Ga(III) é de +0,88, enquanto que para o Fe(III) a carga obtida é de +0,69. Essa diferença se mantém quando a carga foi calculada para o complexo com hidróxido terminal, o que provavelmente justifica a diferença nos valores de pK_a encontrados no complexo e na enzima. O raio iônico do Ga(III) é praticamente o mesmo do Fe(III), mas com uma carga nuclear mais elevada e essa diferença de razão r/z provavelmente é a origem da diferença destas cargas. A Tabela 5 traz uma comparação entre pK_{as} de alguns sistemas similares da literatura.

Tabela 5 - Comparação entre valores de pKa deste trabalho com o de sistemas similares da literatura.

	pKa ₁	pKa ₂	pKa ₃	pKa ₄	referência
FeZnL _{ald}	3,33	5,07	8,21	-	(PIOVEZAN et al., 2010)
FeCuL _{ald}	3,12	5,26	8,45	-	(JOVITO, 2010)
FeZn _(enzima)	-	5,4	7,1	-	(MERKX; AVERILL, 1998)
GaZn _(enzima)	-	4,8	6,7	-	(MERKX; AVERILL, 1998)
GaCuL _{ald}	< 3	3,95	7,33	9,54	Este trabalho

4.1.5 Estudos de reatividade dos complexo **1** e **2** frente à hidrólise do diéster BDNPP

Tendo sido devidamente caracterizados e com a especiação discutida, os complexos modelo das PAPs foram então avaliadas em sua capacidade de atuar como catalisadores de reações de hidrólise de diésteres de fosfato, particularmente do substrato ativado BDNPP. Estas reações de hidrólise foram medidas em solução de água pura, sem a mistura de solventes orgânicos, diferentemente do que é costumeiro à estes sistemas (NEVES et al., 2007; PIOVEZAN et al., 2010). Isto porque o objetivo final era ligar estes catalisadores à polietilenoimina (PEI) e este polímero possui grande solubilidade em água, porém não é muito solúvel em CH₃CN.

O substrato BDNPP é bastante estudado para este fim por ser de fácil preparação, possuir boa estabilidade ($t_{1/2}$ = 1200 h a pH 7 e 298 K) e por ser convertido em um produto de fácil acompanhamento por espectroscopia UV/Vis, o 2,4-dinitrofenolato. Nestes experimentos, a força iônica foi mantida em 1 molL⁻¹ e a temperatura de 50 °C, também em função das condições necessárias para se trabalhar com a PEI (ver abaixo).

4.1.5.1 Efeito do pH na reatividade

O primeiro estudo feito com os complexos **1** e **2** foi verificar o efeito do pH na atividade catalítica. Estes experimentos são importantes a fim de se descobrir o pH onde a atividade é máxima, mas também no

sentido de discutir a especiação do sistema e, portanto, seu mecanismo a partir da descoberta das espécies ativas na catálise. As velocidades iniciais das reações foram medidas entre pH 4 a 9 e o gráfico foi ajustado com a Equação (1), adaptada de (SMITH et al., 2007). Os dados obtidos a partir deste ajuste são mostrados na Tabela 6.

$$V_0 = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[H^+]}{K_1} + \frac{K_2}{[H^+]}} \quad (1)$$

Nestes experimentos, a concentração do substrato ($[S]$) foi fixada em $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ e a concentração do complexo ($[C]$) em $2,5 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. Os perfis de atividade em função do pH (pontos), junto com a espécie ativa coincidente do diagrama de espécies (linha) estão plotados na Figuras 44 e 45 abaixo.

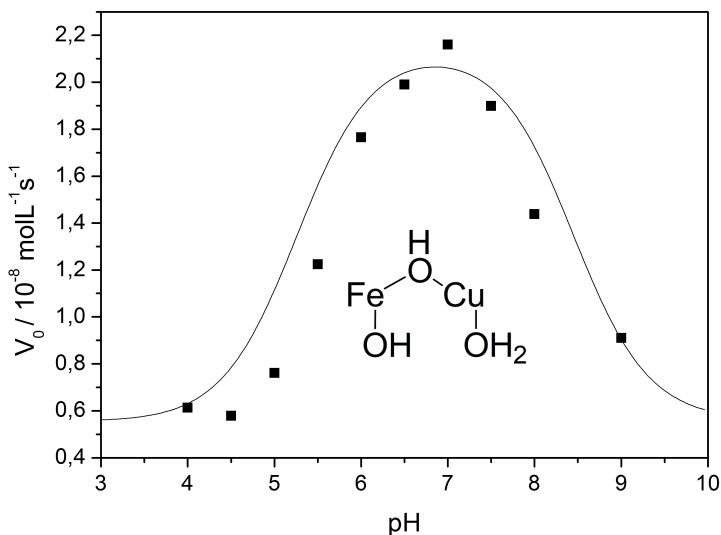


Figura 44 - Efeito do pH na atividade do complexo $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ em H_2O (1 – quadrados) sobreposto à distribuição da espécie $(\text{OH})\text{Fe}(\mu\text{OH})\text{Cu}(\text{OH}_2)$ (linha) obtido por titulação potenciométrica. $[C] = 25 \mu\text{molL}^{-1}$; $[S] = 1 \text{ mmolL}^{-1}$; $[T] = 40 \text{ mmolL}^{-1}$; $[I] = 1 \text{ molL}^{-1}$ a 323 K.

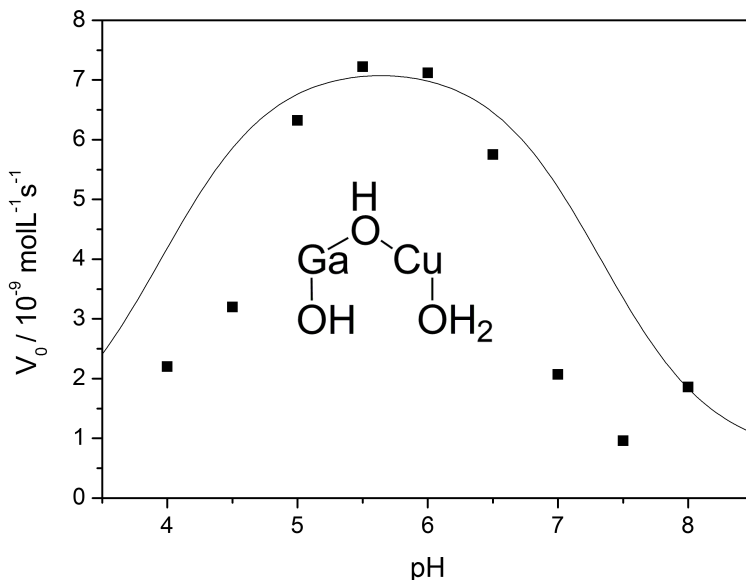


Figura 45 - Efeito do pH na atividade do complexo $\text{GaCuL}_{\text{ald}}$ em H_2O (2 – quadrados) sobreposto à distribuição da espécie $(\text{OH})\text{Ga}(\mu\text{OH})\text{Cu}(\text{OH}_2)$ (linha) obtido por titulação potenciométrica. $[\text{C}] = 25 \mu\text{molL}^{-1}$; $[\text{S}] = 1 \text{ mmolL}^{-1}$; $[\text{T}] = 40 \text{ mmolL}^{-1}$; $[\text{I}] = 1 \text{ molL}^{-1}$ a 323 K.

Os perfis de atividade para os dois complexos são similares, apresentando um máximo na velocidade da reação próximo ao valor de pH neutro. O mesmo perfil é encontrado nas enzimas equivalentes (MERKX; AVERILL, 1998) e é atribuído à formação da espécie ativa $(\text{OH})\text{M}^{\text{III}}(\mu\text{OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{OH}_2)$ nos pHs de atividade máxima. O mecanismo mais reconhecido para as PAPs é aquele no qual o substrato liga-se ao $\text{M}(\text{II})$, enquanto o hidróxido formado no $\text{M}(\text{III})$ ataca o fósforo ativado (MITIĆ et al., 2006; NEVES et al., 2007) e, por isso, a espécie ativa é aquela na qual o metal trivalente deve estar com um hidróxido terminal.

A sobreposição do perfil de atividade com a distribuição de espécies confirma que a espécie ativa provavelmente se trata da mesma proposta para as enzimas. O valor de pH para a atividade máxima do complexo **2** é baixo em função de seu menor valor de $\text{p}K_{\text{a}}$ para a formação do hidróxido terminal.

Os valores de pK_a obtidos por titulação potenciométrica e pelo ajuste da Equação 1 nas curvas cinéticas estão comparados na Tabela 6 abaixo.

Tabela 6 - Comparativo entre os valores de pK_a encontrados potenciometricamente e cineticamente para os complexos **1** e **2**.

	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}
FeCu			
cinético	-	5,10	8,82
potenciométrico	3,12	5,26	8,45
GaCu			
cinético	-	4,60	6,67
potenciométrico	-	3,95	7,33

4.1.5.2 Determinação dos parâmetros cinéticos

A partir do conhecimento do pH de atividade máxima dos complexos **1** e **2**, fez-se um estudo da atividade em função da concentração do substrato a fim de se obter as constantes cinéticas dos sistemas. Os gráficos relacionados são mostrados abaixo na Figura 46.

Os dois complexos apresentaram comportamento de saturação, típico de sistemas enzimáticos, onde há um pré-equilíbrio de associação do catalisador com o substrato antes da atividade em si. Este tipo de sistema pode ser tratado com a equação derivada por Michaelis e Menten (JOHNSON; GOODY, 2011) para se obter a constante de primeira ordem, k_{cat} e a constante K_M , que é aproximadamente igual à constante de dissociação do complexo catalisador-substrato.

A constantes obtidas pelo ajuste da equação às curvas estão listadas abaixo na Tabela 7.

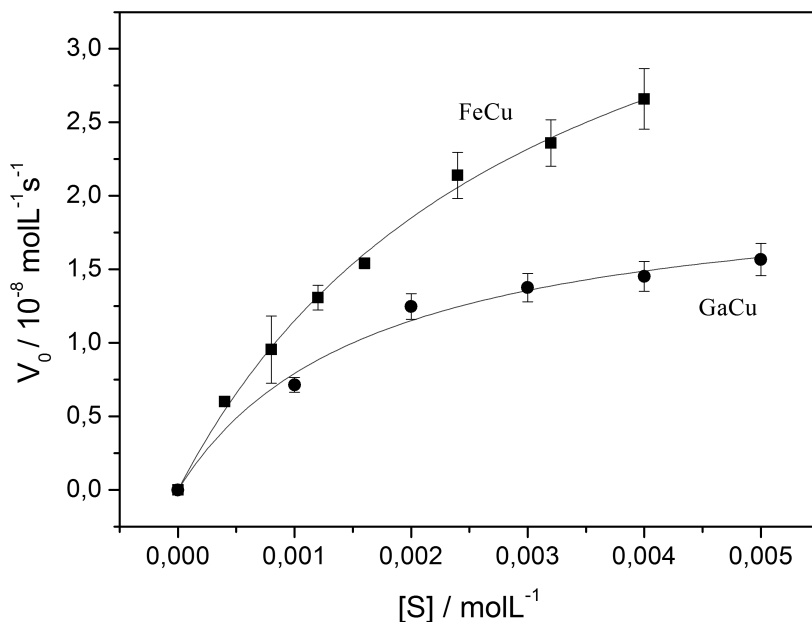


Figura 46 - Efeito da concentração do substrato na hidrólise do BDNPP em H₂O para os complexos FeCuL_{ald} (1 - círculo) e GaCuL_{ald} (2 - quadrado) com as curvas de Michaelis-Menten ajustadas (linha cheia) para cada pHmax. [C] = 25 μmolL⁻¹; [T] = 40 mmolL⁻¹; [I] = 1 molL⁻¹ a 323 K.

Tabela 7 - Comparativo das constantes cinéticas obtidas para os complexos 1 e 2 a partir da equação de Michaelis-Menten.

	k_{cat} /10 ⁻⁴ s ⁻¹	K_M / 10 ⁻³ molL ⁻¹	k_2^a /molL ⁻¹ s ⁻¹	k_{cat}/k_{noncat}
FeCu	18,7±0,10	3,08±0,30	0,607	705
GaCu	8,42±0,64	1,66±0,30	0,507	318

^a k_{cat}/K_M

Não foi possível comparar os valores absolutos de k_{cat} obtidos porque, em todos os complexos similares da literatura, as medidas de hidrólise do BDNPP são feitas em solução de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$. Porém os valores de K_{M} obtidos estão de acordo com valores típicos para estes complexos (LANZNASTER et al., 2005; NEVES et al., 2007; PIOVEZAN et al., 2010). Da mesma forma que em complexos similares onde o Ga(III) substituiu o Fe(III) a atividade acabou sendo um pouco menor para os complexos de Ga, provavelmente pelo nucleófilo mais fraco devido à carga mais alta neste átomo (CASELLATO, 2003).

O que se pode observar é que os valores de k_{cat} medidos neste trabalho em água pura são bem mais baixos do que os observados em misturas com solventes orgânicos. Este efeito provavelmente tem a ver com a alta constante dielétrica do meio que pode estabilizar demais o catalisador, aumentando relativamente o valor de ΔG^\ddagger (HONG; SUH, 2000).

4.1.5.3 Mecanismo

A partir dos resultados discutidos acima, é possível deduzir que o mecanismo de hidrólise do BDNPP para os complexo **1** e **2** é bastante similar aos já publicados na literatura. Para o complexo FeCu, ainda foram realizados mais alguns estudos que serão discutidos nas próximas sessões e que ajudam a confirmar esta proposição.

Baseado no efeito de pH na atividade dos catalisadores, pode-se concluir que a espécie ativa é, de fato, a $(\text{OH})\text{M}^{\text{III}}(\mu\text{OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{OH}_2)$. Neste caso, o BDNPP provavelmente liga-se inicialmente ao metal divalente, deslocando uma molécula de água coordenada e logo segue-se a etapa de hidrólise, onde o hidróxido terminal ataca o fosfato coordenado (DE SOUZA et al., 2013). Como a reação foi medida na presença de excesso de substrato, o BDNPP desloca o monoéster formado como produto da hidrólise inicial e a inicia-se um novo ciclo catalítico (MITIĆ et al., 2006; NEVES et al., 2007; PIOVEZAN et al., 2010). Uma ilustração do provável mecanismo para estes sistemas está representado abaixo na Figura 47.

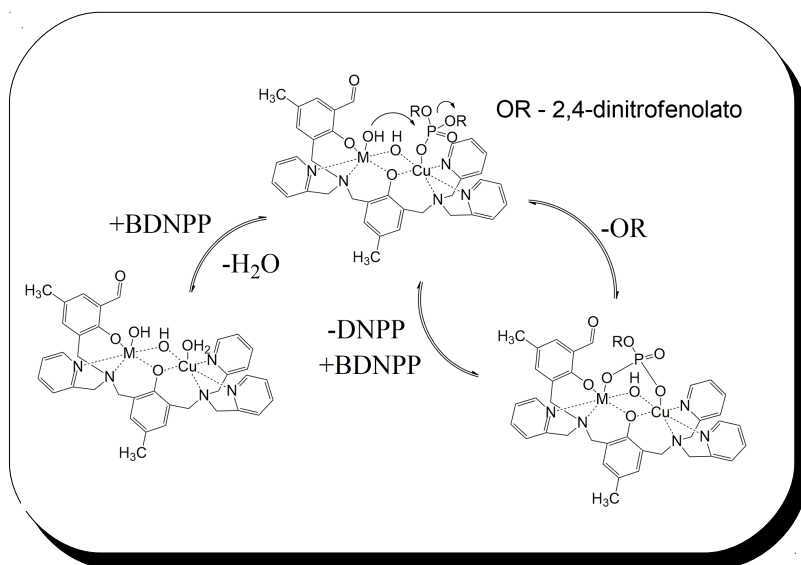


Figura 47 - Mecanismo proposto para a hidrólise do BDNPP pelos complexos $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ e $\text{GaCuL}_{\text{ald}}$ (PERALTA, 2005).

4.2 ESTUDOS DOS EFEITOS DE SEGUNDA ESFERA DE COORDENAÇÃO A PARTIR DA LIGAÇÃO NA POLIETILENOIMINA (PEI)

O grande objetivo deste trabalho foi a síntese de catalisadores bioinspirados que pudessem incluir o efeito da segunda esfera de coordenação presente nas enzimas. Para tanto, um das abordagens foi a utilização do polímero polietilenoimina (PEI) como modelos das histidinas mais próximas do sítio das fosfatases ácidas. A influências destas histidinas da segunda esfera já foram estudadas na enzima, e foi possível se observar uma enorme influência das mesmas na atividade catalítica da biomolécula (RETEGAN; MILET; JAMET, 2010; TWITCHETT et al., 2002). A partir desta seção e até o final deste capítulo, serão mostrados os resultados obtidos e já publicados na inclusão destes efeitos no complexo $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ (DE SOUZA et al., 2013).

4.2.1 Síntese do sistema com inclusão do modelo de segunda esfera de coordenação - ligação à PEI

O primeiro experimento necessário para se trabalhar com este novo sistema foi garantir a ligação entre o complexo e o polímero. Para tal, primeiramente a ligação do ligante à PEI foi investigada e, em seguida, a ligação do complexo **1** bem como do complexo de referencia **4** ($\text{FeZnOAcL}_{\text{ald}}$). O ligante $\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$ possui um grupo aldeído não-coordenante que já se mostrou útil na ligação de complexos em sistemas heterogêneos como a 3-aminopropil-sílica e por isto foi utilizado neste trabalho (PIOVEZAN, 2012; PIOVEZAN et al., 2010)

4.2.1.1 Ligação do ligante $\text{H}_2\text{L}_{\text{ald}}$

A adição da polietilenoimina à uma solução do ligante se mostrou o método mais simples de ligação de ambos, através da formação de uma imina entre as aminas primárias do polímero e a carbonila disponível (GODOY-ALCÁNTAR; YATSIMIRSKY; LEHN, 2005). Esta ligação pode ser acompanhado de duas formas, via UV/Vis e via ^1H RMN.

O aparecimento da banda em 420 nm que é comum às iminas conjugadas pode ser observada imediatamente após a adição do polímero à uma solução do ligante como mostrado na Figura 48. Da mesma forma, o desaparecimento do pico relacionado ao hidrogênio no ^1H RMN do ligante em 10,3 ppm (Figura 48) demonstra claramente a formação da base de Schiff. O pico desaparece imediatamente após à adição da PEI e, mesmo após uma semana, não foi possível observar o reaparecimento do sinal do aldeído.

A polietilenoimina é um polímero super-ramificado que possui em média 25% de aminas primárias, 50% de aminas secundárias e 25% de aminas terciárias. Neste caso, como a massa do polímero utilizado era de 1200 g mol^{-1} , havia uma média de 27 monômero por cadeia, ou seja, em torno de 7 aminas primárias para cada macromolécula. Como a proporção ligante/caída foi de 1:1, a proporção ligante/amina primária foi de 1:7, um grande excesso de amina, o que pode explicar a velocidade da reação e a estabilidade do produto.

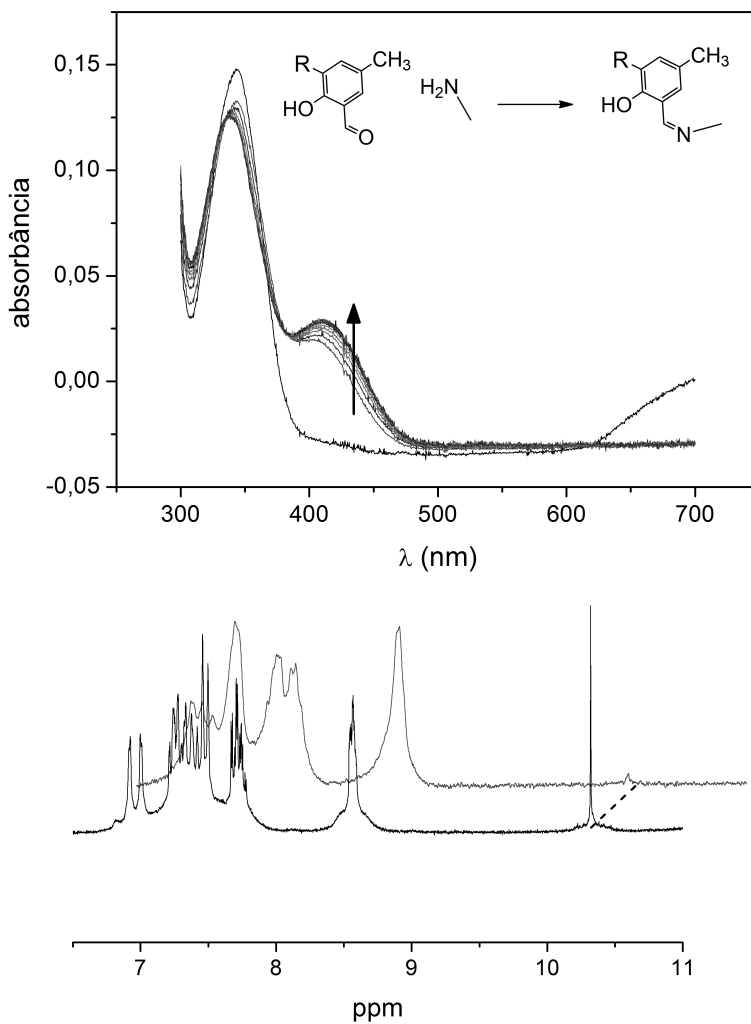


Figura 48 - Aparecimento da banda de imina em 420 nm em uma solução 2×10^{-5} molL⁻¹ do ligante H₂L_{ald} quando 1 equivalente de PEI é adicionado em pH 7 (acima). Desaparecimento do pico do aldeído do H₂L_{ald} em 10,30 ppm feito em CD₃OD. O espectro da frente foi feito antes da adição e o segundo após 24hs (abaixo).

4.2.1.2 Ligação do complexo $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ e do complexo $\text{GaZnOAcL}_{\text{ald}}$ a polietilenoimina (PEI)

De forma semelhante à que foi feita para o ligante, a simples adição de um equivalente de PEI ao complexo mostrou-se um método eficaz de ligação. No experimento de UV/Vis, após feito um branco com o complexo, também pode-se observar o aparecimento da banda da imina em torno de 420 nm (Figura 49). E mais importante, não houve desaparecimento da banda de transferência de carga do complexo em 545 nm, o que demonstra que o polímero não interferindo esqueleto estrutural principal do complexo ou seja, a 1ª esfera de coordenação dos metais deve ser basicamente a mesma que no complexo na ausência da PEI.

A mudança no espectro cessa em torno de 30 minutos após a adição do polímero, por isso o sistema complexo+polímero foi sempre preparado com pelo menos 2h de antecedência das medidas cinéticas.

O gráfico apresenta o espectro de absorção diferencial (Δabs) em função do comprimento de onda (λ em nm) para o complexo 4. O eixo horizontal varia de 300 a 600 nm, e o eixo vertical varia de 0.00 a 0.04. Há duas curvas principais: uma em preto (base) e uma em azul (com PEI). Ambas as curvas exibem uma banda de absorção profunda em torno de 360 nm e uma banda de absorção mais fraca em torno de 545 nm. A curva azul mostra o surgimento de uma nova banda de absorção em 420 nm, indicada por uma seta vertical. Além disso, a curva azul apresenta um aumento na absorção na região de 400-450 nm em comparação com a curva preta.

Figura 49 - Aparecimento da banda de imina em 420 nm em uma solução 2×10^{-5} molL⁻¹ do complexo 4 quando 1 equivalente de PEI é adicionado em pH 7.

Para o experimento de ^1H RMN, o complexo diamagnético $\text{GaZnOAcL}_{\text{ald}}$ foi utilizado como comparativo. Neste complexo foi possível observar o desaparecimento do pico relacionado ao hidrogênio da carbonila não coordenada em aproximadamente 9,5 ppm da mesma forma como no ligante. Um espectro foi obtido 24h após e outra após uma semana e não houve reaparecimento do pico relativo ao aldeído (Figura 50).

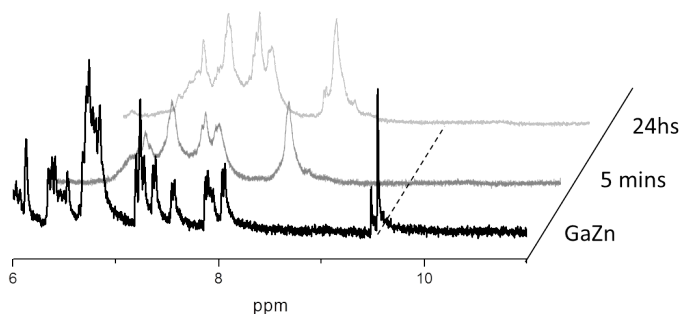


Figura 50 - Desaparecimento do pico do aldeído do $\text{GaZn(OAc)L}_{\text{ald}}$ em 9,5 ppm feito em um RMN de 200 MHz em solvente CD_3OD .

4.2.2 Controle da reatividade da polietilenoimina frente ao BDNPP

A PEI é um polímero catiônico bastante carregado em pHs próximos da neutralidade, com aproximadamente 75% de seus grupos amina protonados (CREA et al., 2007). Por esta razão, a própria cadeia polimérica já é capaz de promover a catálise de algumas reações como a de hidrólise de grupos acila (ARCELLI, 1999). Também pode-se verificar durante este trabalho que a PEI apresenta capacidade de catalisar a reação de hidrólise do BDNPP, principalmente em pHs mais ácidos (Figura 51), o que em princípio não era desejado. A fim de se poder estudar o real efeito da segunda esfera, é necessário que o polímero modelo possua o mínimo de atividade por si só, de outra forma fica difícil separar o aumento da atividade no sistema polímero+complexo da atividade da cadeia polimérica.

Com o objetivo de minimizar essa atividade autônoma da

PEI, foi utilizada uma alta força iônica no meio reacional para neutralizar o efeito das cargas positivas. O gráfico mostrado na Figura 51 demonstra claramente o grande efeito da redução neste atividade em função da concentração do contra-íon perclorato e, por causa disto, o valor de força iônica 1 molL^{-1} foi escolhido como o padrão para todas as medidas cinéticas. Dessa forma foi possível reduzir a atividade catalítica da PEI a menos de 5% de seu valor original em pH 6, por exemplo.

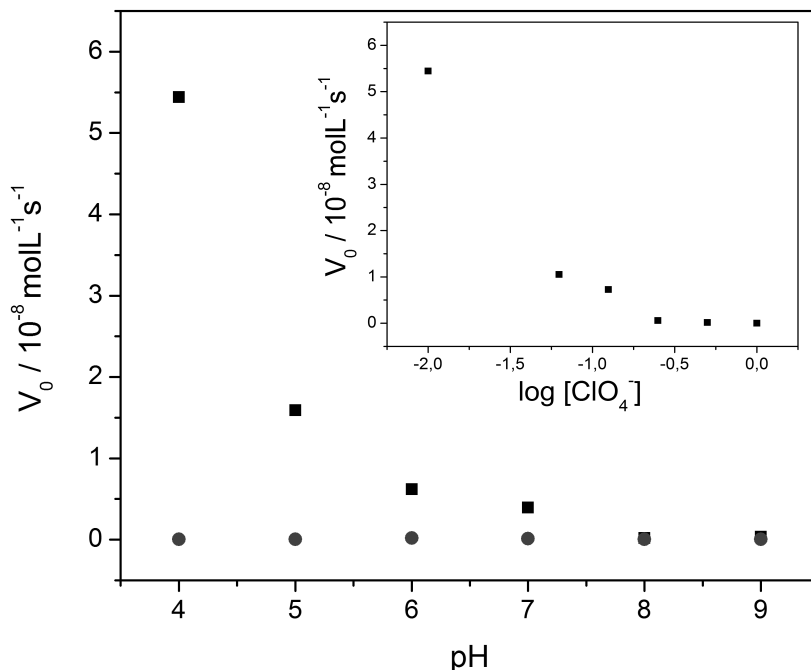


Figura 51 - Efeito da concentração da força iônica na atividade autônoma da PEI sobre a hidrólise do BDNPP em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, $[\text{PEI}] = 1 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. ■ - força iônica 10 mmolL^{-1} , ● - força iônica 1 molL^{-1} .

De qualquer forma, como garantia, em todas as medidas cinéticas foi feito um “branco” com a PEI + BDNPP nas mesmas condições de corrida para garantir a baixa atividade. A Figura 52 mostra um exemplo típico de uma destas medidas.

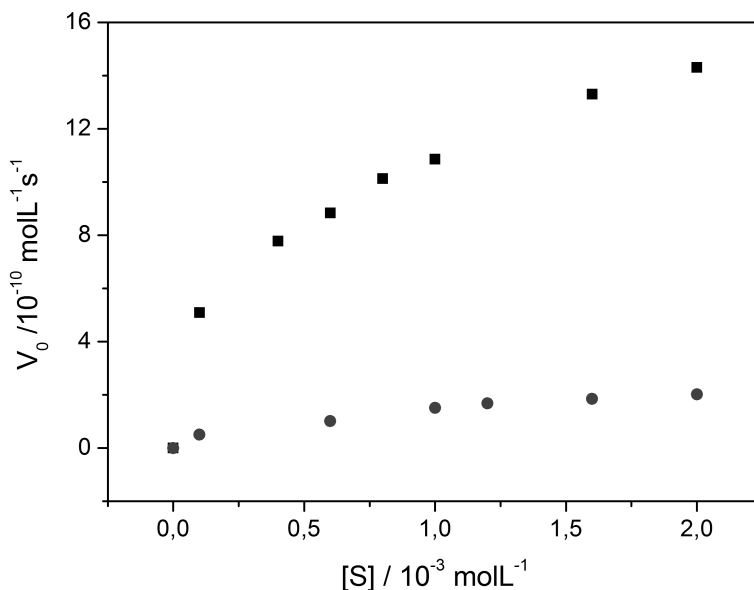


Figura 52 - Diferença de atividade entre a reação catalisada por **1-PEI** e somente PEI em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ sob as mesmas condições. ■ - **1-PEI**, ● - PEI. $[\text{C}] = 5 \mu\text{molL}^{-1}$; $[\text{T}] = 40 \text{ mmolL}^{-1}$; $[\text{I}] = 1 \text{ molL}^{-1}$ a 323 K.

4.2.3 Titulação espectrofotométrica do complexo **1** e de **1-PEI**

Para garantir a integridade do complexo no sistema **1-PEI**, bem como para estudar o efeito da cadeia polimérica nos valores de $\text{p}K_a$ do complexo $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ foram realizadas titulações espectrofotométricas para os dois sistemas. A partir da variação de banda de transferência de carga fenolato- Fe^{III} foi possível obter valores de $\text{p}K_a$ bastante próximos aos obtidos potenciométricamente para o complexo **1**, validando assim a técnica para este sistema. A titulação do sistema **1-PEI** foi então realizada e valores de $\text{p}K_a$ semelhantes foram obtidos (Figura 53).

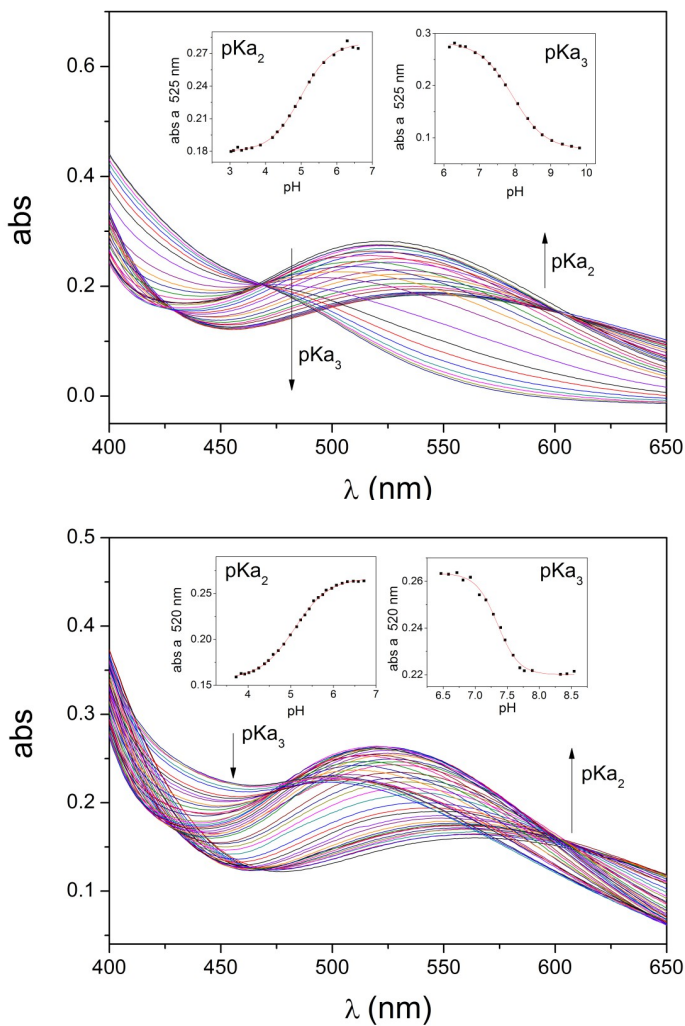


Figura 53 - Titulação espectrofotométrica do complexo **1** (acima) e do **1-PEI** (abaixo) feita em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1/1 v:v a 25 °C, 0,1 molL⁻¹ em KCl. $[\text{C}] = 1 \times 10^{-4}$ molL⁻¹.

Tabela 8 - Comparativo entre os valores de pKa potenciométricos e espectrofotométricos para os complexo **1** e **1-PEI**.

	pKa ₁	pKa ₂	pKa ₃
1^a	3,12±0,05	5,26±0,03	8,45±0,04
1^b		5,00±0,01	8,00±0,01
1-PEI^b		5,09±0,01	7,35±0,01

^apotenciométrico ^bespectrofotométrico

Os valores de pKa encontrados para o complexo **1-PEI** indicaram que o efeito da cadeia, pelo menos em termos de pKas, não foi tão significativo para a ligação Fe(III)-OH₂, mas principalmente ao redor do Cu(II). O menor valor de pKa encontrado implica em um perfil diferente na distribuição de espécies para o complexo **1-PEI**, o que faz com que a atividade máxima ocorra em valor de pH menor como de fato acontece na enzima (TWITCHETT et al., 2002).

4.2.4 Estudos de reatividade do sistema **1-PEI** frente à hidrólise do diéster BDNPP

Após as caracterizações do sistema **1-PEI** citadas acima, foram realizadas medidas de atividade deste na hidrólise do diéster BDNPP. Os experimentos foram feitos sob condições similares às de **1** como descrito nas sessões anteriores deste capítulo. A única diferença foi que a concentração total do catalisador teve de ser reduzida para 5 μmolL⁻¹ pois ocorria precipitação quando na presença do substrato e em concentrações maiores de **1-PEI**.

4.2.4.1 Efeito do pH na reatividade

O efeito do pH na atividade do sistema **1-PEI** foi similar à do complexo **1**, com um perfil de sino típico de um sistema catalítico com dois pKas (NEVES et al., 2007; PIOVEZAN et al., 2010). A atividade máxima para o complexo **1-PEI** foi uma unidade de pH menor do que para o complexo livre, provavelmente por causa do efeito da cadeia nos valores de pKa como discutido acima (Figura 54).

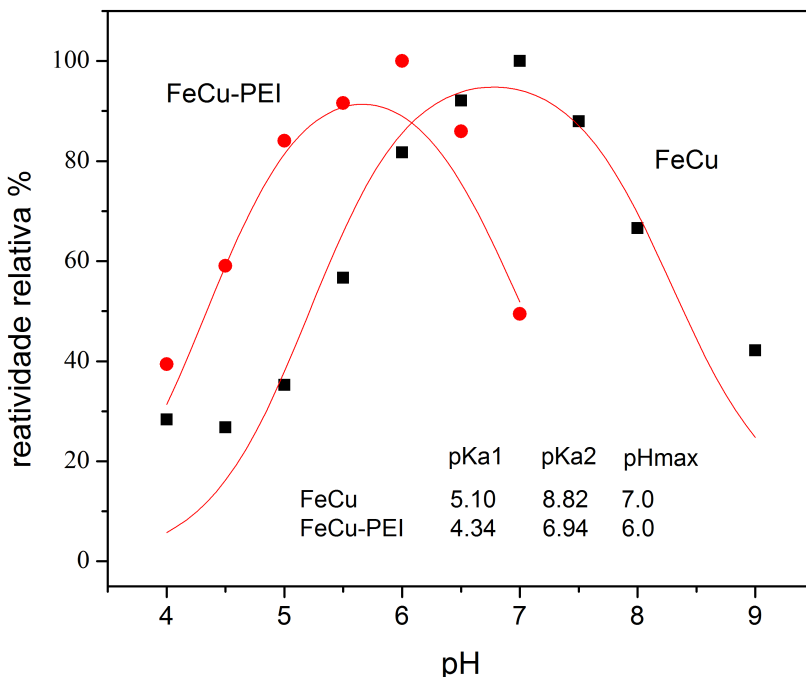


Figura 54 - Efeito de pH para os complexos **1** (quadrados) e **1-PEI** (círculos) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, ajustados com a Equação 1. $[\mathbf{1}] = 25 \mu\text{molL}^{-1}$; $[\mathbf{1-PEI}] = 5 \mu\text{molL}^{-1}$; $[\text{T}] = 40 \text{mmolL}^{-1}$; $[\text{I}] = 1 \text{molL}^{-1}$ a 323 K.

Os valores de pKa encontrados plotando-se a Equação 1 para este sistema foram 4,34 e 6,94. É possível que primeiro pKa cinético não se relacione com o pKa₂ obtido pela titulação espectrofotométrica por causa das cargas positivas da PEI que diminuem o valor de K_M para o sistema e, portanto, aumentam o valor da velocidade inicial para a mesma concentração de substrato. Isto aumenta o valor de k_2 na região ácida e torna a avaliação dos pKas a partir de medidas de V_0 bastante errôneas. A maneira mais correta de corrigir este erro seria determinar os valores de k_{cat} e K_M em todos os pHs estudados, mas isso não foi possível devido à baixa reatividade do complexo em condições mais ácidas.

Este estudo do efeito de pH indica que o efeito da segunda esfera de coordenação na regulação do pH máximo de atividade da enzima se dá principalmente através de sua influência no pKa das moléculas de água coordenadas aos metais e não tanto pela mudança de mecanismo ou influência nas constantes catalíticas do sistema.

4.2.4.2 Determinação dos parâmetros cinéticos

O sistema **1-PEI** também apresentou um perfil de saturação no perfil de atividade em função da concentração do substrato como mostrado na Figura 55.

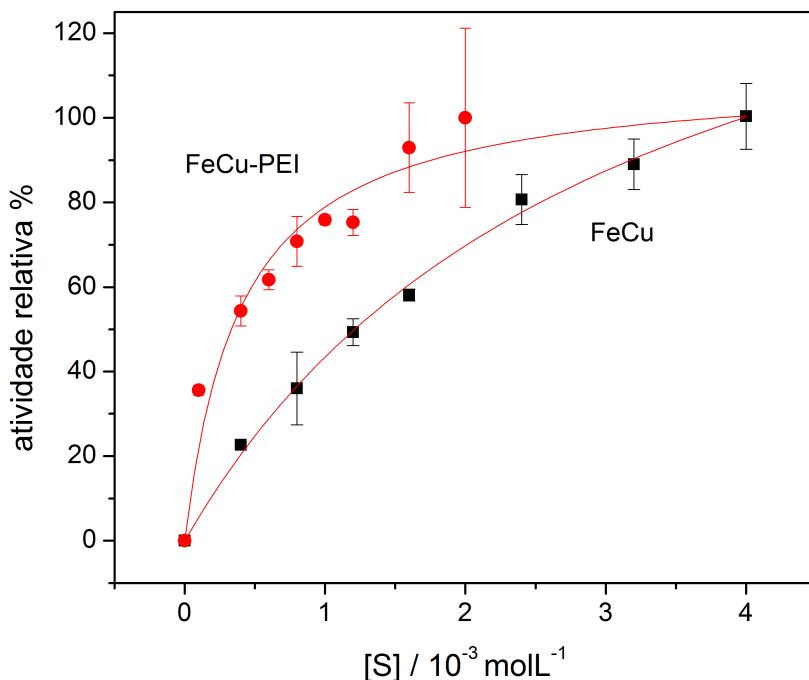


Figura 55 - Efeito de substrato comparado dos complexos **1** (quadrados, pH 7) e **1-PEI** (círculos, pH 6) nos seus respectivos pHs de atividade máxima e ajustados com a equação de Michaelis-Menten. $[1] = 25 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[1\text{-PEI}] = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$ a 323 K.

Na presença do polímero como modelo da segunda esfera de coordenação o valor da constante K_M diminui significativamente, em aproximadamente 10 vezes. Isto significa um grande aumento na constante de associação do substrato pelo catalisador, o que era esperado tendo em vista o aumento local de carga e a rede de ligações de hidrogênio que pode se formar entre a PEI e o BDNPP.

Já a constante de primeira ordem k_{cat} foi também diminuída para o sistema **1-PEI**, o que não é desejável e pode ser em parte explicado por fatores entrópicos como discutido na seção 4.2.4.3. De qualquer forma, a constante de segunda ordem para o sistema ($k_2 = k_{cat}/K_M$) aumentou, o que indica uma melhora na eficiência catalítica global do sistema. As constantes catalíticas do sistema com polímero e do complexo isolado estão listadas na Tabela 9 abaixo.

Tabela 9 - Comparativo entre as constantes catalíticas obtidas para o complexo **1** e **1-PEI** nos seus pHs de atividade máxima.

	k_{cat} / $10^{-4} s^{-1}$	K_M / $10^{-3} molL^{-1}$	k_2^c / $molL^{-1}s^{-1}$
FeCu^a	18,8±0,11	3,08±0,03	0,610
FeCu-PEI^b	4,00±0,25	0,40±0,13	1,00

^apH 7 ^bpH 6 ^c k_{cat}/K_M

4.2.4.3 Determinação dos parâmetros termodinâmicos para a catálise promovida por **1** e **1-PEI**

Com o intuito de esclarecer ainda mais os dados obtidos acima, foram realizadas medidas das constantes catalíticas em várias temperaturas. A constante de primeira ordem k_{cat} foi plotada na equação de Eyring (Equação 2) (EYRING, 1935),

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}} \quad (2)$$

e a partir de um gráfico de $\ln k_{\text{cat}}/T$ por $1/T$ foi possível se obter os valores de ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger e ΔS^\ddagger . Estes valores foram então comparados com os valores obtidos por Bunton para o substrato (BUNTON; FARBER, 1969). Os gráficos de $\ln k_{\text{cat}}/T$ por $1/T$ estão na Figura 56 e os valores obtidos na Tabela 10.

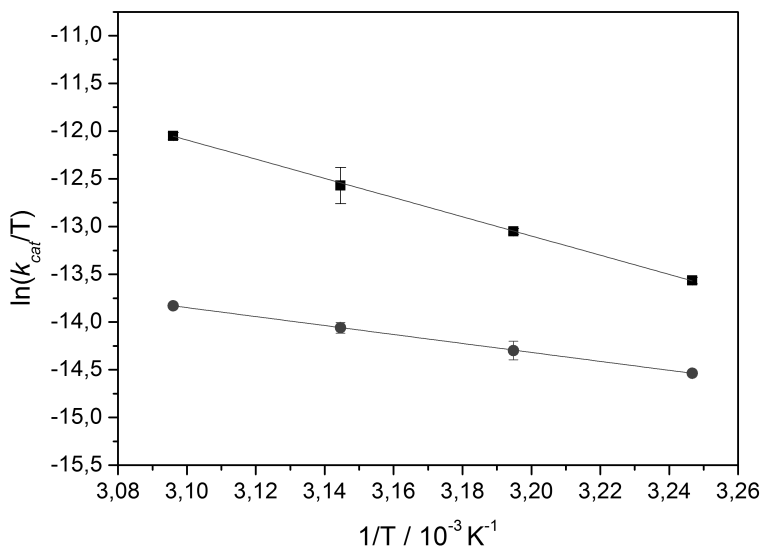


Figura 56 - Variação da constante de primeira ordem k_{cat} em função da temperatura ajustada segundo a equação de Eyring para os complexos **1** (quadrados) e **1-PEI** (círculos). $[1] = 25 \mu\text{M}$; $[1\text{-PEI}] = 5 \mu\text{M}$; $[T] = 40 \text{ mM}$; $[I] = 1 \text{ M}$ à 323 K.

Tabela 10 - Parâmetros de ativação obtidos a partir da Equação 2.

	ΔH^\ddagger / kJ mol^{-1}	$T\Delta S^\ddagger$ ^a / kJ mol^{-1}	ΔG^\ddagger ^a / kJ mol^{-1}
H₂O ^b	79,4	-34,4	113,8
1 ^c	83,6±0,4	-12,6±0,4	96,2±0,5
1 - PEI ^d	39,1±0,1	-61,9±0,1	101±0,1

^a323 K ^b(BUNTON; FARBER, 1969) ^cpH 7 ^dpH 6

A partir dos parâmetros termodinâmicos obtidos (Tabela 10), foi possível concluir que, em primeiro lugar, o efeito do complexo isolado $\text{FeCuL}_{\text{ald}}$ (**1**) se dá principalmente na mudança da entropia de ativação do sistema (ΔS^\ddagger) e não tanto na entalpia (ΔH^\ddagger). Este resultado indica que a atuação do complexo é no sentido de aproximar o substrato do nucleófilo e reduzir a molecularidade da reação, de um valor de ΔS^\ddagger bimolecular para um valor essencialmente unimolecular (KIRBY; VARVOGLIS, 1967), diminuindo assim o ΔG^\ddagger .

Esta afirmação é coerente com o mecanismo proposto onde uma etapa de pré-associação aproxima o substrato do nucleófilo que está ligado ao M(III). O ataque segue então de forma unimolecular levando aos produtos. Apesar da polarização do fosfato ligado ao M(II), provavelmente não há mudanças significativas na entalpia de transição pelo fato de o nucleófilo também estar menos carregado do que quando livre.

Já o efeito observado para o sistema **1-PEI** foi significativamente diferente. Neste caso, o ΔH^\ddagger caiu para a metade do valor da hidrólise pelo solvente, indicando que as ligações de hidrogênio e as interações de carga da PEI contribuíram para a estabilização do estado de transição. Porém o valor final do ΔG^\ddagger não diminuiu como esperado em função da piora na contribuição do polímero para a entropia de ativação. Esta grande diminuição no valor de ΔS^\ddagger está provavelmente associado à falta de organização do polímero, que necessita se reorganizar em torno do estado de transição a cada ciclo catalítico.

Nas enzimas a rede formada na segunda esfera de coordenação é bem mais rígida e os valores de ΔS^\ddagger são mais altos. De fato, se o valor de ΔS^\ddagger para o complexo **1-PEI** fosse similar ao valor de **1**, com o ΔH^\ddagger reduzido pelas interações intermoleculares, o complexo teria um k_{cat} no valor de 8000 s^{-1} , o que se encaixa muito bem na escala enzimática.

Estes resultados indicam que, embora a adição do modelo de segunda esfera não tenha aumentado a atividade de **1** de forma expressiva, potencialmente é possível se conseguir catalisadores artificiais com atividade tão grande quanto as encontradas nas enzimas. Surge a necessidade de modelos de segunda esfera de coordenação mais rígidos, onde o ΔS^\ddagger não tenha tanta influência. Um destes possíveis modelos é tratado no próximo capítulo.

4.2.4.4 Mecanismo

O mecanismo proposto para o complexo **1-PEI** é essencialmente o mesmo proposto para o complexo **1** (Figura 47), com a diferença que a PEI age na segunda esfera de coordenação do substrato e influencia na estabilização do estado de transição (Figura 57). Uma medida do efeito isotópico de deutério em D_2O , k_H/k_D , resultou em um valor de 1,52 para o complexo **1** e 1,21 para o complexo **1-PEI**, indicando que não há transferência de prótons na etapa determinante da reação, eliminando a possibilidade de um molécula de solvente atuar como nucleófilo em ambos os casos.

Os complexos **1** e **1-PEI** realizaram 7 e 22 ciclos catalíticos respectivamente, em 24h a 50 °C e $2 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de substrato, indicando que o excesso de substrato realmente é capaz de deslocar o monoéster formado após a primeira hidrólise. Estudos de reatividade como o monoéster DNPP (BUNTON; FARBER, 1969) não apresentaram atividade significativa dos complexos sobre este substrato, demonstrando a atividade exclusiva de diesterases para estes sistemas.

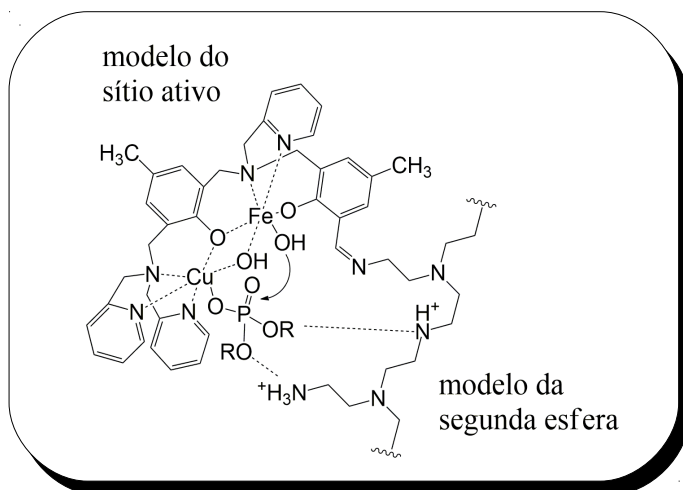


Figura 57 - Proposta de interação da cadeia da PEI com o complexo **1** ligado ao substrato.

5 DO ESTUDO DOS COMPLEXOS DERIVADOS DOS LIGANTES COM A UNIDADE 1,3,5-TRICLORO TRIAZINA

Os estudos com o ligante H_2L_{ald} e a PEI como descritos acima foram importantes no sentido de demonstrar a viabilidade da modelagem da segunda esfera de coordenação através da utilização de um polímero. Entretanto, alguns problemas surgiram no caminho que poderiam atrapalhar o desenvolvimento de sistemas mais complexos, como a precipitação da PEI na presença do substrato, a alta atividade da cadeia isolada e a dificuldade de caracterização do sistema PEI+complexo. Por se tratar de um polímero, a PEI não tem massa exata e possui alguma polidispersidade, o que dificulta uma análise mais detalhada por RMN e espectrometria de massas, por exemplo (RIVERA-TIRADO; WESDEMIOTIS, 2011).

Por estes e outros motivos ainda, procurou-se um sistema que fosse mais seguro para o desenvolvimento deste tipo de trabalho, que já possui tantas variáveis complexas. Dentre as opções da literatura surgiu a possibilidade de se trabalhar com o dendrímero poli(amidoamina) (PAMAM), reconhecido por sua grande estabilidade, por possuir uma massa exata e pela facilidade de síntese e caracterização (TOMALIA et al., 1986). Ainda verificou-se que o PAMAM não apresentou nenhuma atividade catalítica frente ao substrato HPNP escolhido, mesmo em concentrações tão altas como $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$.

Nesta abordagem, para melhorar ainda mais a caracterização do sistema, o ligante e/ou complexo não foi ligado ao polímero já pronto, mas um novo ligante foi sintetizado onde conseguiu-se construir a cadeia dendrímica por partes. Desta forma, cada etapa pode ser bem caracterizada e o efeito do tamanho da cadeia também foi considerado na modelagem da segunda esfera. A síntese e caracterização destes ligantes e complexos, bem como os estudos de reatividade para estes sistemas estão descritos a seguir.

5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES

Os ligantes derivados da 1,3,5-triclorotriazina tiveram sua síntese inspirada no trabalho já publicado por Oliveira (OLIVEIRA, 2013). Em primeiro lugar, a unidade precursora bmpa-NH₂ foi sintetizada segundo Terra (TERRA, 2012), e foi caracterizada por ¹H-RMN e espectroscopia no infravermelho. Em seguida esta unidade estrutural foi ligada na 1,3,5-triclorotriazina, se utilizando das propriedades de reatividade deste heterociclo como descrito por Silva (DA SILVA, 2012). O ligante bmpPraTz foi então purificado por coluna cromatográfica e reagido com a Etilenodiamina a fim de se obter uma amina primária livre para se poder então iniciar o crescimento do dendrímero.

O ligante bmpPraTzen, ou bra_G0 para se referir à geração do dendrímero ligado ao ligante, foi purificado por extração e devidamente caracterizado. Os ligantes de maior geração foram então sintetizados de forma bastante simples e de baixo custo, através da adição de Michael do Acrilato de Metila às aminas primárias seguido da amidação em excesso de Etilenodiamina (TOMALIA et al., 1986). Todas as reações de formação do dendrímero foram feitas à temperatura ambiente, e a purificação necessária foi somente a remoção do excesso de reagentes utilizados. A partir do ligante bra_G3, os compostos foram purificados através de membranas de diálise com massa molecular de corte de 1000 gmol⁻¹.

5.1.1 Espectroscopia vibracional no infravermelho

Os ligantes foram caracterizados por espectroscopia vibracional no infravermelho a fim de se acompanhar a formação dos compostos em cada etapa. A Tabela 11 apresenta as principais bandas e suas atribuições (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). Os ligantes apresentaram as bandas típicas de amina secundária ao redor de 3300 cm⁻¹, de amida em 1650 cm⁻¹ e de deformação angular fora do plano das piridinas em 760 cm⁻¹, como esperado. Na medida que a massa molecular do dendrímero aumentava, também aumentava a intensidade das bandas de amida sobre as bandas do ligante, indicando a prevalência das características do mesmo.

Tabela 11 - Principais bandas e suas atribuições nos espectros dos ligantes citados (em cm^{-1}).

ligante	$\nu\text{N-H}_{\text{amina}}$	$\nu\text{N-H}_{\text{amida}}$	$\nu\text{C-H}_{\text{alif}}$	$\nu\text{C=O}_{\text{amida}}$	$\delta\text{C-H}_{\text{Ar}}$
bmpPraTz	3260	-	2950-2815	-	760
bra_G0	3279	-	2936-2813	-	759
bra_G1	*	3305	2955-2826	1647	753
bra_G2	3292	3487	2949-2820	1653	754
bra_G3	3295	3482	2950-2813	1652	754
bra_G4	3273	3525	2950-2813	1653 e 1549	*
bra_G5	3292	3460	2950-2813	1647 e 1549	*

*bandas sobrepostas

5.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Uma das principais formas de caracterização utilizadas para estes compostos foram as análises de ^1H e ^{13}C RMN. A Tabela 12 apresenta os valores de deslocamento químico e atribuições dos picos relativos ao ligante e à parte do dendrímero no ^{13}C RMN (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). A análise por RMN de carbono se mostrou a mais esclarecedora nos ligantes dendriméricos pois o espectro de ^1H RMN ficava bastante encoberto pelos picos do dendrímero e não era possível caracterizar corretamente o sistema. É importante notar que em nenhum dos espectros se observou a presença dos reagentes colocados em excesso.

Os deslocamentos químicos dos espectros de ^{13}C RMN se apresentaram praticamente idênticos àqueles reportados para o dendrímero PAMAM isolado (HUNG et al., 2011; PETERSON et al., 2003). Os picos referentes à unidade de ligação etilenodiamina não apareceram nos espectros dos ligantes de maior massa porque o sinal tem tempo de relaxação muito baixo e seria necessário um tempo de coleta muito grande para observá-los

Tabela 12 - Sinais referentes ao ^{13}C RMN dos ligantes estudados com as devidas atribuições.

Atribuição	bra_G0	bra_G1	bra_G2	bra_G3	bra_G4	bra_G5
CH_2 lig braço	27,1	26,9	27,0	26,8	26,8	*
	38,9	38,8	41,2	37,7	37,2	
	52,1	52,0	52,1	51,9	51,9	
CH_2 lig piridina	60,14	60,2	60,3	60,0	60,1	*
CH piridina	121,9	121,9	121,8	121,6	121,6	*
	123,0	123,0	123,0	122,7	122,7	
	136,0	136,3	136,5	136,3	136,3	
	149,1	149,0	149,1	148,8	148,8	
	159,7	159,5	159,4	159,2	159,2	
C triazina	166,1	166,1	165,9	165,7	165,7	*
	166,3	166,3	166,0	166,0	166,0	
CH_2 etilenodiamina	42,0	*	*	*	*	*
	43,5					
CH_2 PAMAM	-	34,7	34,1	33,9	33,9	33,5
		41,1	37,9	38,8	38,8	37,2
		42,2	38,5	41,5	41,0	40,7
		50,8	41,7	42,0	32,1	41,6
			50,5	50,2	50,3	48,8
			52,6	52,9	52,4	52,2
$\text{C}=\text{O}$ PAMAM	-	172,9	172,5	172,2	172,2	173,0
			173,0	172,8	172,8	173,5

* sinais muito fracos

5.1.3 Espectrometria de massas

Os ligantes também foram caracterizados por espectrometria de massas usando espectrômetros do tipo ESI-TOF. As massas das moléculas foram medidas em um espectrômetro de alta resolução com erros de massa observados na quarta casa decimal.

A Tabela 13 abaixo mostra os dados obtidos e faz uma comparação entre a massa teórica e a massa obtida para os ligantes. Os picos de fragmentação observados nos espectros foram típicos e

confirmam a estrutura do dendrímero (PETERSON et al., 2003).

Tabela 13 - Massas moleculares calculadas e obtidas por espectrometria de massas usando um espectrômetro de massas ESI-TOF.

	Fórmula Molecular	carga	M_m teo. (gmol⁻¹)	M_m exp. (gmol⁻¹)	Erro (ppm)
bmpPraTz	C ₃₃ H ₃₃ ClN ₁₁	+1	624,3078	624,3073	0,8
G0	C ₃₅ H ₄₅ N ₁₃	+1	648,3992	648,3994	0,3
G1	C ₄₅ H ₆₅ N ₁₇ O ₂	+1	876,5571	876,5580	1,0
G2	C ₆₅ H ₁₀₅ N ₂₅ O ₆	+2	666,9407	666,9413	0,9
G3	C ₁₀₅ H ₁₈₅ N ₄₁ O ₁₄	+2	1123,7610	1123,7599	1,0
G4	C ₁₈₅ H ₃₄₄ N ₇₂ O ₃₁	+4	1018,6925	1018,6900	2,45
G5	C ₃₄₅ H ₆₆₄ N ₁₃₆ O ₆₃	+7	1104,55	1104,0	0,04%

5.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

A escolha dos complexos a serem sintetizados teve relação com dois principais fatores, a facilidade de síntese e a reatividade frente ao substrato escolhido. Em função de algumas complicações observadas para o BDNPP, como a precipitação do substrato na presença do dendrímero, o substrato alvo também foi modificado e o escolhido foi o diéster de fosfato HPNP (BROWN; USHER, 1965).

Este composto foi utilizado na forma de seu sal de bário por ser solúvel em água, possuir constante de auto-hidrólise muito baixa, além de se poder evitar complicações sobre qual é o nucleófilo da reação. O substrato HPNP já possui um nucleófilo interno que atua em uma reação intramolecular bastante favorecida.

Os complexos escolhidos para este estudo foram os complexos homobinucleares de Zinco(II) formados a partir do ligante central bmpPraTz. A escolha foi feita pelo fato deste tipo de complexo ser reconhecidamente ativo no substrato alvo (MEYER, 2006; MOHAMED; NEVEROV; BROWN, 2009; SELMECZI et al., 2007) e

pela facilidade de síntese *in-situ* de complexos homobinucleares contendo unidades dendriméricas.

O complexo do ligante mais simples ZnZnbmpPraTz foi sintetizado a partir da mistura de dois equivalentes de ZnCl₂ com um equivalente do ligante em MeOH. Com a evaporação do solvente, alguns cristais formaram-se na parede do béquer e um pó cristalino formou-se ao fundo.

Os complexos dos ligantes dendriméricos foram sintetizados *in situ* pela adição de uma solução padrão de Zn(ClO₄)₂ sobre os ligantes. As medidas de formação destes complexos são discutidas abaixo. Todos são bastante solúveis em água, porém a cinética foi realizada em uma mistura de CH₃CN/H₂O para evitar a precipitação do bra_G5 na presença do substrato.

5.2.1 Difractometria de Raios X de monocristal

O complexo com o ligante mais simples ZnZnbmpPraTz ou (ZnZnbra_Cl) cristalizou na forma de cristais transparentes e teve sua estrutura resolvida por difratometria de Raios-X (Figura 58). A estrutura foi resolvida por métodos diretos e refinada pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa em F² (SHELDRICK, 2008). Também foi aplicada a correção Squeeze (SPEK, 2009). Os dados cristalográficos e de refinamento estão colocados na Tabela 14.

Os cristais se formaram no sistema cristalino Ortorrômico e no grupo espacial P2₁2₁2₁. A estrutura consiste de uma molécula neutra do complexo, onde cada átomo de zinco está pentacoordenado a um “braço” tridentado N-doador do ligante, com dois átomos de cloro completando a esfera de coordenação. Os átomos de Zn(II) assumem uma geometria de pirâmide de base quadrada levemente distorcida, com um parâmetro de Addison (ADDISON et al., 1984) $\tau = 0,10$ para o Zn1 e 0,24 para o Zn2. Os comprimentos de ligação médios são Zn-N = 2,167 Å e Zn-Cl = 2,297 Å, típicos para complexos com estas ligações (GULTNEH et al., 1996, 1999).

Uma observação importante sobre a estrutura é o fato que o nitrogênio da amina secundária ligada na triazina não está coordenado ao metal. Isto de fato era esperado (OLIVEIRA, 2013) e foi o motivo pelo qual o ligante foi sintetizado com um espaçador entre os braços e o

anel. O ângulo ao redor dos nitrogênios ligados ao anel é, em média, 120,0 °C, o que indica uma forte hibridização sp^2 neste átomo. Esta configuração provavelmente surge por causa do fato de o anel triazínico ser muito π -ácido, portanto conjuga com o par eletrônico livre e inibe a coordenação deste átomo.

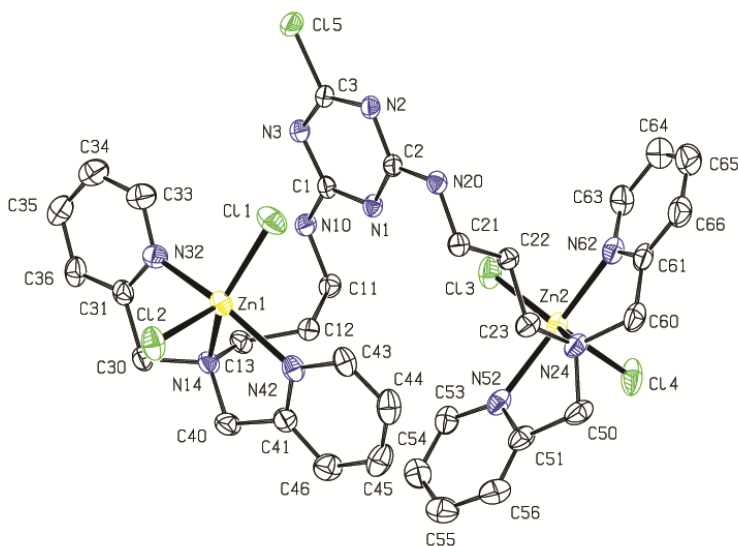


Figura 58 - Representação ORTEP da estrutura molecular do complexo ZnZnbra_Cl, com o esquema de numeração dos átomos. Os elipsoides são mostrados com 40% de probabilidade.

Os principais comprimentos e ângulos de ligação para esta estrutura estão listados na Tabela 15.

Tabela 14 - Dados cristalográficos e de refinamento da estrutura do ZnZnbra_Cl.

ZnZnbra_Cl			
Fórmula empírica	$C_{33}H_{38}Cl_5N_{11}Zn_2$	Tamanho do cristal (mm)	0,22 x 0,18 x 0,10

Massa molecular (gmol ⁻¹)	896,73	Intervalo de θ (°)	1,95 a 30,51
Temperatura (K)	180(2)	Intervalo de índice	-17 \leq h \leq 17, -22 \leq k \leq 27, -28 \leq l \leq 21
Comprimento de onda (Å)	0,71073	Reflexões coletadas / únicas	36291
Sistema cristalino	Ortorrômbico	Correção de absorção	Semi-empírica
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	Máx. e mín. de transmissão	0,8761 and 0,7542
Dimensões da célula unitária	A = 12,2523(7) Å b = 19,0087(13) Å c = 19,8750(13) Å $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	Método de refinamento	Mínimos quadrados – Matriz completa em F ²
Volume (Å ³)	4628,9(5)	Dados / Restrições / parâmetros	13825 / 0 / 460
Z	4	Godness-of-fit (F ²)	0,969
Densidade calculada (gm ⁻³)	1,287	Índice F final [I>2 σ (I)]	R1 = 0,0333, wR2 = 0,0779
Coefficiente de absorção (mm ⁻¹)	1,359	Índice R	R1 = 0,0493
F(000)	1832	(todos os dados)	wR2 = 0,0817

Tabela 15 - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo ZnZnbra_Cl.

Zn(1)-N(42)	2,1424(19)	N(32)-Zn(1)-Cl(1)	98,30(5)
Zn(1)-N(32)	2,1522(18)	N(14)-Zn(1)-Cl(1)	144,08(5)
Zn(1)-N(14)	2,2068(17)	N(42)-Zn(1)-Cl(2)	99,43(5)
Zn(1)-Cl(1)	2,2749(6)	N(32)-Zn(1)-Cl(2)	97,22(5)
Zn(1)-Cl(2)	2,3203(6)	N(14)-Zn(1)-Cl(2)	103,33(5)
Zn(2)-N(62)	2,1373(19)	Cl(1)-Zn(1)-Cl(2)	112,57(3)
Zn(2)-N(52)	2,158(2)	N(62)-Zn(2)-N(52)	151,70(7)
Zn(2)-N(24)	2,2079(18)	N(62)-Zn(2)-N(24)	77,79(7)

Zn(2)-Cl(3)	2,2955(6)	N(52)-Zn(2)-N(24)	75,13(7)
Zn(2)-Cl(4)	2,2981(6)	N(62)-Zn(2)-Cl(3)	97,11(5)
		N(52)-Zn(2)-Cl(3)	98,40(5)
		N(24)-Zn(2)-Cl(3)	140,24(5)
N(42)-Zn(1)-N(32)	150,07(7)	N(62)-Zn(2)-Cl(4)	95,72(5)
N(42)-Zn(1)-N(14)	76,67(6)	N(52)-Zn(2)-Cl(4)	99,02(5)
N(32)-Zn(1)-N(14)	75,39(7)	N(24)-Zn(2)-Cl(4)	104,95(5)
N(42)-Zn(1)-Cl(1)	98,01(5)	Cl(3)-Zn(2)-Cl(4)	114,80(3)

5.2.2 Síntese dos complexos *in situ*

Os complexos derivados dos ligantes dendriméricos bra_G0-5 foram sintetizados a partir de uma solução do ligante com a adição do do metal. Este é um procedimento bastante comum na literatura para complexos de Zinco(II) que possuam ligantes similares (BONOMI et al., 2008; GRUBER et al., 2011; MOHAMED; NEVEROV; BROWN, 2009; WONG; FRIEDLE; LIPPARD, 2009).

O critério usado para a formação do complexo binuclear foi a medida da atividade do sistema em função da concentração de Zinco(II). A Figura 59 demonstra os resultados destas medidas para os complexos bra_G0 e bra_G5, os dois casos mais extremos. Todos os outros complexos apresentaram o mesmo perfil de atividade, com saturação quando a proporção de Zinco(II) para ligante chegou em 2:1.

É importante notar que, mesmo no caso do ligante bra_G5 quando há uma grande quantidade de dendrímero disponível a preferência de ligação é no ligante central derivado da 1,3,5 triclortriazina. As constantes de formação do PAMAM com metais não são altas ($\log K \sim 3,5$ para o Cu(II)), e geralmente a coordenação acontece no “core” central que não está disponível neste caso (DIALLO et al., 2005). Já as constantes de formação para este tipo de ligante, por causa do efeito quelato, são em torno de 10^{13} para o primeiro metal e 10^9 para o segundo, o que garante a formação do complexo com segurança (MARTELL; HANCOCK, 1996; WONG; FRIEDLE; LIPPARD, 2009).

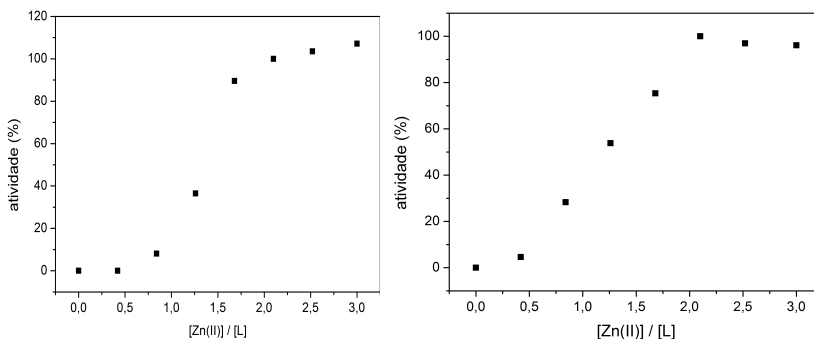


Figura 59 - Curvas de atividade de hidrólise do HPNP em função da concentração de Zn(II) em CH₃CN. bra_G0 – esquerda, bra_G5 – direita. [L] = 5 x 10⁻⁵ molL⁻¹ a 323 K.

5.2.3 Estudos de reatividade dos complexos frente ao substrato HPNP

Tendo sido caracterizados, os complexos foram estudados em termos da sua capacidade de catalisar a reação de transesterificação do substrato modelo de RNA, o HPNP. Esta reação consiste no ataque do grupo hidróxido do substrato ao átomo de fósforo central, levando à liberação do produto colorido 4-nitrofênolato (Figura 60) mais um fosfato cíclico.

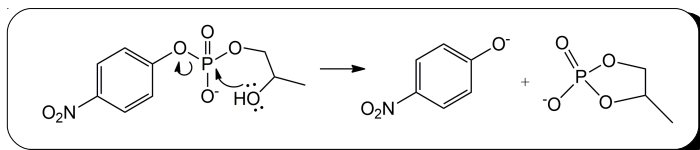


Figura 60 - Reação de transesterificação do substrato HPNP

Este substrato teve seus valores de absorvância medidos para cada valor de pH nas condições cinéticas, o que resultou em um pKa experimental de 8,08, com um coeficiente de absorção molar limite de 19717 Lmol⁻¹cm⁻¹ em 400 nm, valores similares aos descritos na literatura (KIRBY; VARVOGLIS, 1967).

5.2.3.1 Atividade dos complexos em função do pH

Em uma primeira caracterização geral, os complexos tiveram sua atividade medida em função do pH, na forma das velocidades iniciais. Todos os complexos apresentaram um perfil de sino, indicando um sistema com dois valores de pK_a . Os dados estão mostrados na Figura 61, onde as curvas foram ajustadas segundo a Equação 1.

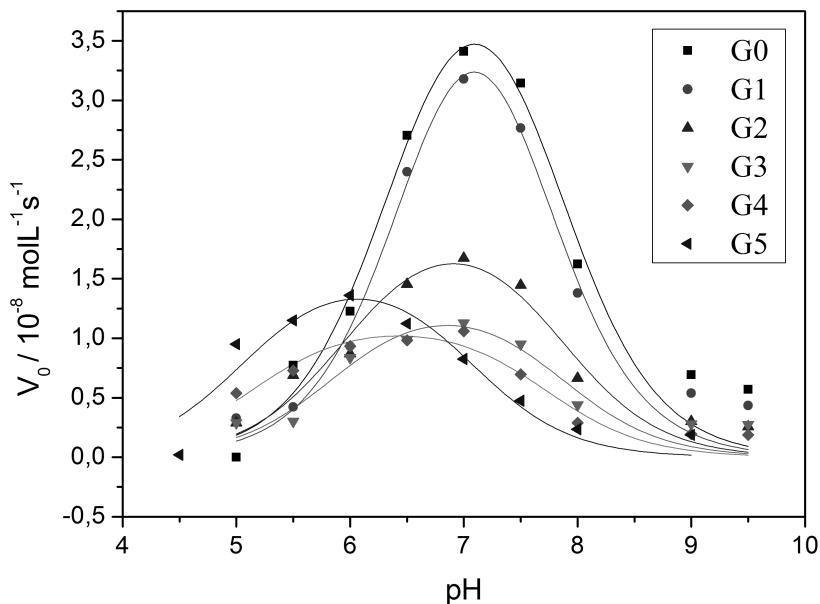


Figura 61 - Curvas de velocidade inicial em função do pH para os complexos G0 a G5. Em ordem crescente de massa molecular, os máximos se deslocaram para baixo e para a esquerda.

É possível se observar na Figura 61 que houve um padrão de deslocamento dos máximos de atividade em função da massa molecular do dendrímero. Na verdade, houve um deslocamento do valor do pK_{a1} do complexo, com pouco deslocamento do pK_{a2} como mostrado na Tabela 16. A mudança no valor de V_{\max} indicou uma provável mudança do valor de k_{cat} para os complexos, mas não necessariamente uma

mudança de mecanismo para a catálise já que os perfis de atividade ficaram bastante similares.

Tabela 16 - Comparativo entre os pKas obtidos a partir do ajuste da Equação 1 para os complexos citados.

ligante	M_m (gmol ⁻¹)	pKa ₁	ΔpH_1	pKa ₂	ΔpH_2	pH _{max}
bra_G0	647,82	6,41	0	7,78	0	7,10
bra_G1	876,11	6,57	0,16	7,60	-0,18	7,09
bra_G2	1332,69	5,96	-0,45	7,85	0,07	6,89
bra_G3	2245,86	5,85	-0,56	7,85	0,07	6,85
bra_G4	4073,17	5,13	-1,28	7,72	-0,06	6,43
bra_G5	7725,84	5,06	-1,35	7,06	-0,72	6,03

5.2.3.2 Parâmetros cinéticos do complexo de referência bra_G0 em função do pH e proposição do mecanismo de catálise

O complexo bra_G0 foi escolhido como referência para maior elucidação do mecanismo, assumindo que este se mantenha na série. Seus parâmetros cinéticos foram determinados em vários pHs e ajustados com a equação de Michaelis-Menten. Em todos os casos se observou um perfil de saturação típico de mecanismos enzimáticos. Um gráfico com os valores de k_{cat} e K_M em função o pH pode ser encontrado na Figura 62.

Os valores de pKa encontrados a partir do ajuste de uma equação análoga à Equação 1 foram 6,70 e 7,70, similar aos valores de 6,41 e 7,78 encontrados em função de V_0 (Tabela 16). O “pKa” encontrado a partir da curva do K_M foi 8,35.

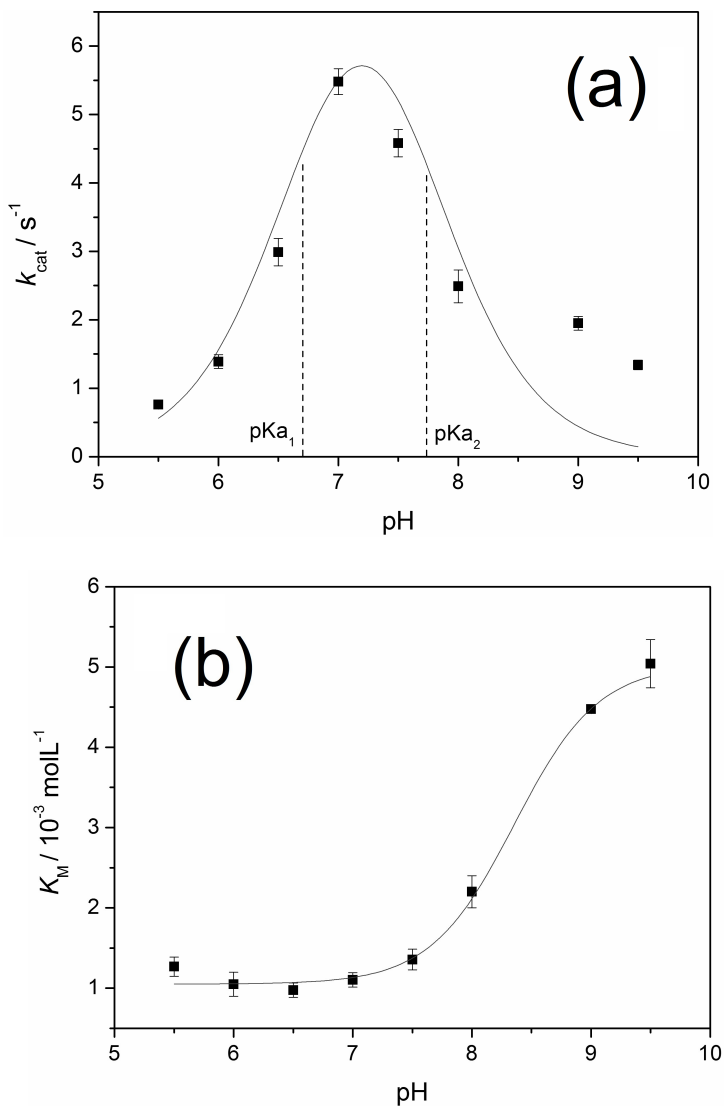


Figura 62 - Parâmetros cinéticos para o complexo bra_G0 em função do pH. (a): k_{cat} com os valores de pKa encontrado a partir do ajuste da Equação 1. (b): K_M ajustado com uma equação sigmoideal indicando o ponto de inflexão. $[C] = 1 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $[T] = 50 \text{ mmolL}^{-1}$, $[I] = 50 \text{ mmolL}^{-1}$ a 298 K.

O que se pode concluir da Figura 62a é que de fato existem pelo menos três espécies envolvidas, a primeira com baixa atividade, a segunda mais ativa formada a partir do pK_{a1} e uma terceira menos ativa formada a partir do pK_{a2} . Este perfil de sino na atividade já foi encontrado em outros complexos binucleares do tipo e é reflexo da natureza dos pK_{as} encontrados (MOHAMED; NEVEROV; BROWN, 2009; SELMECZI et al., 2007).

Um valor pK_a tão baixo como 6,70 para um complexo de Zinco(II) só pode ser explicado como sendo relacionado à formação de uma ponte hidróxido (ou H_3O_2) entre os dois metais, já que o pK_a de formação de uma água terminal em um complexo mononuclear é no mínimo maior que 8 (LIVIERI et al., 2004) e o pK_a do Zn(II) livre é 8,96 (MEYER, 2006). O segundo pK_a também é típico de sistemas binucleares e provavelmente está relacionado à formação de um hidróxido terminal ou a uma segunda ponte hidróxido, o que não é incomum (CHAUDHURI et al., 1992).

Propõe-se então que a espécie $Zn(\mu OH)ZnL$ seja a espécie ativa para esta série de complexos e que o mecanismo se dê de forma similar ao de outros complexos já reportados (GAO et al., 2011; LIU; NEVEROV; BROWN, 2008; MOHAMED; NEVEROV; BROWN, 2009)(Figura 63). Neste mecanismo, o substrato coordena-se à espécie com ponte $Zn(\mu OH)Zn$, que se abre e desprotona o álcool terminal. O nucleófilo então ataca o fósforo polarizado pela coordenação aos metais, forma o fosfato cíclico e elimina o 4-nitrofenolato. Em condições de excesso de substrato, o HPNP desloca o fosfato cíclico e o ciclo catalítico recomeça.

A forma de ligação do substrato pode ser corroborada através de cálculos teóricos para este sistema. Usando o funcional BP86 e uma função de base Def2-TZVPP, testaram-se algumas possibilidades de coordenação e os respectivos valores de energia de ligação indicaram que a forma mais estável é aquela onde o substrato está como ponte entre os dois metais e o hidróxido se apresenta de forma terminal. Esta estrutura está aproximadamente 50 kJmol^{-1} abaixo em energia da estrutura com ponte hidróxido e coordenação bidentada do substrato.

A perda da atividade a partir do pK_{a2} deve ser devido à diminuição da acidez de Lewis dos metais ou a incapacidade de abertura da ponte num sistema mais rígido bis- $\mu(OH)$.

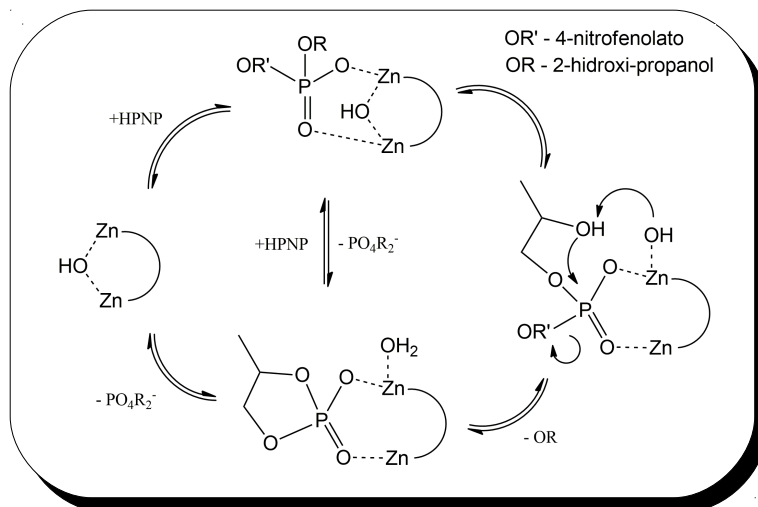


Figura 63 - Mecanismo proposto para a hidrólise do HPNP pelos complexos ZnZnbra_Gx.

Por fim, o grande aumento no valor do K_M a partir do pH 8 deve estar relacionado ao pK_a da amina primária presente no ligante. Conforme mencionado anteriormente, a desprotonação de uma água terminal Zn-OH₂ também tem pK_a acima de 7,5 e também deve contribuir para o aumento do K_M . Com a desprotonação da amina, a carga positiva extra e possíveis ligações de hidrogênio são eliminadas e a associação com o substrato deve diminuir. O pK_a encontrado pela inflexão da curva, 8,35, está razoavelmente de acordo com o valor médio de 9 para aminas primárias (MCMURRY, 2012).

5.2.4 Efeitos do tamanho da cadeia na segunda esfera de coordenação

Os ligantes dendriméricos foram sintetizados com o intuito de se avaliar o tamanho da cadeia num modelo de segunda esfera nas propriedades catalíticas de um complexo. Seguem agora os resultados relacionados por massa molecular de dendrímero presente no ligante. A partir daqui assume-se que o mecanismo discutido acima se mantenha

até o ligante bra_G5, baseado nos resultados da Figura 61 e no fato que, como o HPNP tem um mecanismo de hidrólise relativamente simples, não há muito o que se discutir em termos de mudança do nucleófilo e da forma do ataque.

5.2.4.1 Variação do k_{cat} e do K_M em função do tamanho da cadeia.

Todos os complexos sintetizados derivados do ligante bra_G0-5 apresentaram um perfil de saturação na V_0 quando a concentração do substrato era aumentada e foram tratados segundo o mecanismo de Michaelis-Mentem (JOHNSON; GOODY, 2011). Os dados obtidos estão relacionados na Tabela 17 e um gráfico de duplo eixo Y com o k_{cat} à esquerda e o K_M à direita está colocado na Figura 64 abaixo.

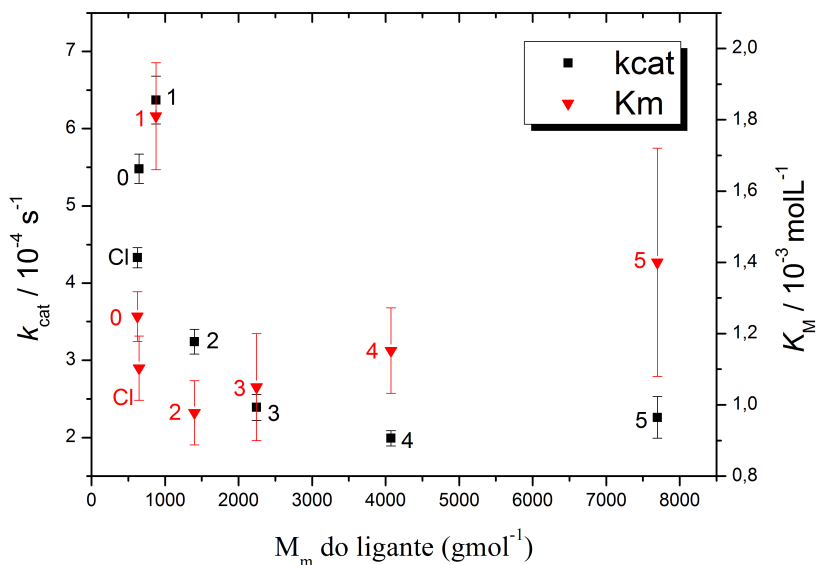


Figura 64 - Gráfico dos valores de k_{cat} e K_M para os ligantes bra_Gx obtidos nos respectivos pHs máximos (Tabela 16) de atividade em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 50:50 v/v. ■ - k_{cat} e ● - K_M . $[\text{complexo}] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O símbolo Cl refere-se ao ligante bmpPraTz e os números de 0 a 5 representam as gerações do dendrímero. $[\text{C}] = 1 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $[\text{T}] = 50 \text{ mmolL}^{-1}$, $[\text{I}] = 50 \text{ mmolL}^{-1}$ a 298 K.

A partir dos dados obtidos, foi possível observar uma diminuição no valor de k_{cat} com o aumento do tamanho da cadeia, de forma similar à observada no complexo **1-PEI**. A constante de primeira ordem aumenta até o complexo formado pelo ligante bra_G1 e em seguida diminui. Esta redução no k_{cat} parece apresentar uma “saturação” a partir do ligante bra_G4, o que provavelmente significa que os efeitos de segunda esfera de coordenação no estado de transição são constantes a partir da inclusão de uma cadeia maior que 4000 gmol^{-1} .

Já o valor da constante de Michaelis, K_M , aumenta no início, tem seu valor mínimo no ligante bra_G2 e em seguida volta a crescer. O efeito observado no bra_G2 (1332 gmol^{-1}) provavelmente é o mesmo observado para o complexo **1-PEI**, onde a constante de associação do complexo foi aumentada por interações de carga e ligações de hidrogênio com o substrato. O que se pode presumir para o diminuição na associação que se segue é que a incorporação do complexo dentro da cadeia dendrímica deve atrapalhar a coordenação do substrato. De qualquer forma, o aumento no valor absoluto de K_M não é tão grande e o complexo continua a ter uma boa interação com o substrato.

Tabela 17 - Constantes cinéticas obtidas para a série bra_Gx.

Ligante	Mm / gmol^{-1}	k_{cat} / 10^{-4} s^{-1}	K_M / 10^{-3} moll^{-1}	k_2 / $10^{-4} \text{ moll}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/k_{\text{noncat}}^*$
bra_Cl	624,18	4,33±0,13	1,25±0,07	0,347	24956
bra_G0	647,82	5,48±0,19	1,10±0,09	0,497	31585
bra_G1	876,11	6,37±0,31	1,81±0,16	0,35	36714
bra_G2	1332,69	3,24±0,16	0,98±0,09	0,331	18674
bra_G3	2245,86	2,39±0,17	1,05±0,15	0,227	13775
bra_G4	4073,17	1,99±0,10	1,15±0,12	0,17	11469
bra_G5	7725,84	2,26±0,27	1,40±0,32	0,16	13025

* k_{noncat} determinado nas condições deste trabalho = $1,735 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$, similar aos da literatura (AVENIER et al., 2007).

Um cálculo de dinâmica molecular usando o campo de força MM2 foi realizado para o complexo bra_G5 a fim de se ter uma melhor ideia da estrutura deste complexo. Como mostrado na Figura 65, o complexo com a cadeia do dendrímero como modelo de segunda esfera, aparece mais no interior da cadeia da poliamida e este é o provável motivo para o K_M não ter diminuído tanto quanto no **1-PEI**.

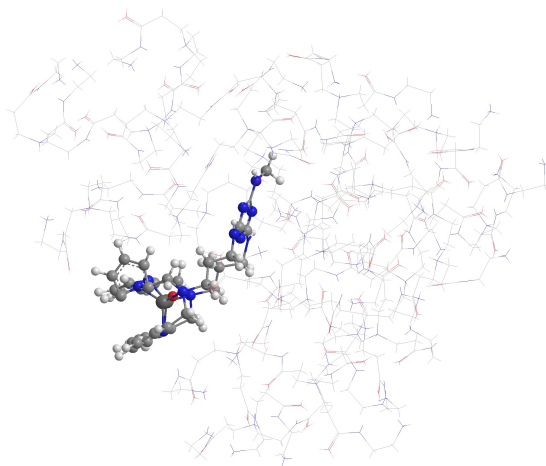


Figura 65 - Estrutura obtida a partir de um cálculo de dinâmica molecular estabilizada a 300 K com o campo de força MM2. O complexo está evidenciado na forma de “bastão e bola” enquanto a cadeia como bastões finos.

5.2.4.2 Variação dos parâmetros termodinâmicos na série bra_Gx

Os parâmetros cinéticos descritos acima foram medidos a 35, 40, 45 e 50 °C para todos os complexos da série e estes resultados ajustados segundo a Equação de Eyring (2). Os valores de ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger e ΔS^\ddagger foram obtidos e plotados em função da massa molecular do polímero para se avaliar o efeito deste na energia do estado de transição.

A Figura 66 apresenta um gráfico para o ΔS^\ddagger e outro para o valor de ΔG^\ddagger . O gráfico de ΔH^\ddagger por massa molecular é bastante similar ao de entropia de transição.

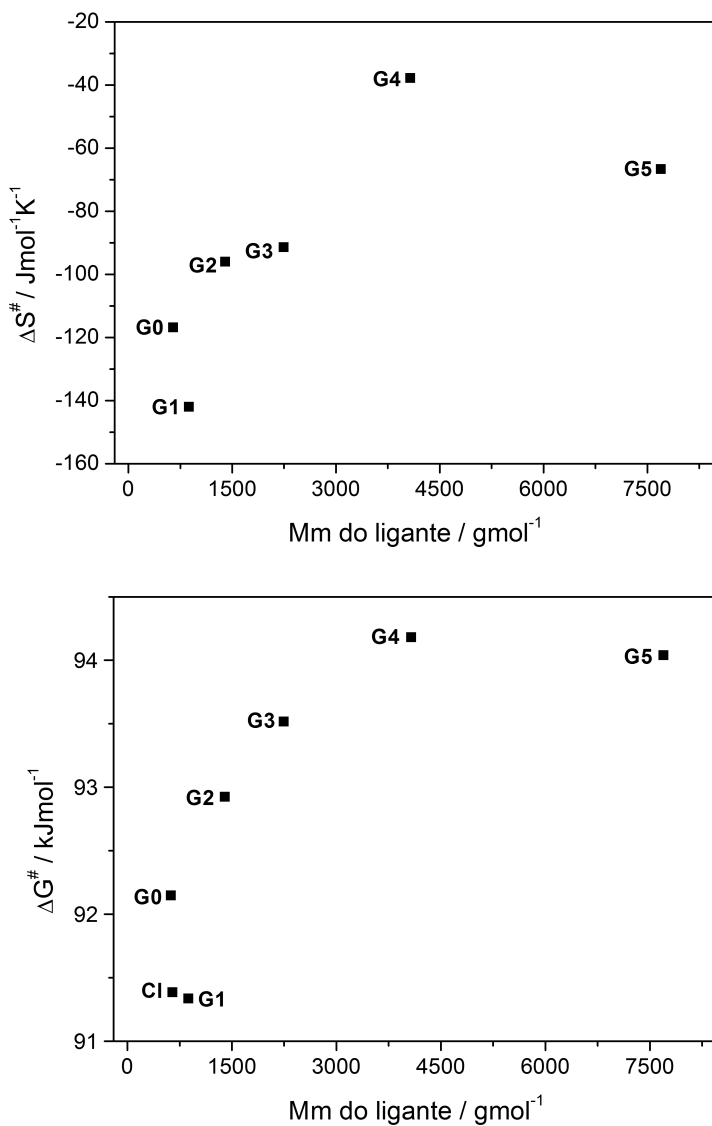


Figura 66 - Gráfico dos valores de ΔS^{\ddagger} (acima) e ΔG^{\ddagger} (abaixo) obtidos para a série de complexo bra_Gx na hidrólise do HPNP.

A partir dos dados obtidos, foi possível observar novamente um perfil de saturação dos parâmetros a medida que a massa molecular do ligante aumentava, significando que o efeito da segunda esfera de coordenação sob o estado de transição do substrato atinge um valor limite a partir de 4000 g mol^{-1} de dendrímico. Este valor é importante para se ter uma noção do quanto é necessário se incluir de elementos da segunda esfera de coordenação para que o sistema seja corretamente modelado.

A Tabela 18 contém os resultados obtidos para todos os complexos estudados, bem como o valor calculado para substrato nas mesmas condições.

Tabela 18 - Parâmetros termodinâmicos obtidos para a hidrólise do HPNP.

Composto	Mm / g mol^{-1}	ΔS^\ddagger / $\text{JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$	ΔH^\ddagger / kJmol^{-1}	ΔG^\ddagger / kJmol^{-1}
H ₂ O		-109,16	84,72	117,25
bra_G0	647,82	-116,81	56,58	91,39
bra_G1	876,11	-141,92	49,04	91,34
bra_G2	1332,69	-95,94	64,33	92,92
bra_G3	2245,86	-91,37	66,29	93,52
bra_G4	4073,17	-37,74	82,93	94,18
bra_G5	7725,84	-66,59	74,20	94,04

Os dados acima e a Figura 66 mostram que o ΔG^\ddagger aumenta na séries bra_Gx com o aumento da massa molecular (daí a diminuição do k_{cat}) e que este aumento é devido principalmente ao aumento no valor de ΔH^\ddagger em relação ao bra_G0, já que o ΔS^\ddagger diminui à quase metade do valor inicial.

Neste caso, diferentemente do que acontece no complexo **1-PEI** o aumento da entropia de transição acontece somente até o complexo bra_G1 (876,11 g mol^{-1}). Nos complexos de maior massa molecular este parâmetro diminui e é o principal fator para impedir o aumento do ΔG^\ddagger . Esta vantagem obtida na entropia de ativação em função do acréscimo

na massa molecular do complexo era esperada tendo em vista que o dendrímero PAMAM é uma poliamida, bem mais rígido que a poliamina PEI e pelo fato de uma maior massa resultar em menos movimentação das partes mais internas da cadeia. A diminuição nos graus de liberdade leva naturalmente à um aumento na entropia de ativação e este foi um ponto positivo neste sistema.

Entretanto, a entalpia de transição foi aumentando com o crescimento da cadeia e este foi um ponto bastante negativo, o que fez com que o ΔG^\ddagger não diminuísse muito e o k_{cat} não fosse aumentado. Isto provavelmente se deu por uma maior estabilidade do complexo catalisador-substrato em uma etapa inicial da catálise, ou ainda pode estar relacionado com mudanças na transferências de prótons durante as etapas determinantes do mecanismo (ver abaixo). Se o valor de ΔH^\ddagger para o complexo bra_G5 fosse o mesmo do complexo bra_G1, o k_{cat} obtido seria de $0,25 \text{ s}^{-1}$ e aumento na velocidade da reação seria de 14 milhões de vezes, novamente demonstrado o potencial destes modelos de segunda esfera.

5.2.4.3 Análise do efeito isotópico de deutério e discussão do mecanismo

Como uma última forma de caracterização do sistema, mediu-se o efeito isotópico de solvente $k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$ para os complexos dendriméricos nos valores de pH de atividade máxima. O valor do efeito isotópico também foi plotado em função da massa molecular e este gráfico encontra-se abaixo na Figura 67. A Tabela 19 mostra os valores obtidos, bem como o valor da literatura para o substrato em condições similares.

Como é possível se observar pelos dados, o valor de $k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$ começa em quase 8 para o complexo bra_G0 e vai caindo exponencialmente até um valor mais próximo da reação espontânea em água que é 2 (PIATEK; GRAY; ANSLYN, 2004). Este fenômeno tem algumas explicações possíveis, dentre elas, pode ter havido uma variação no pH máximo de atividade em função de mudanças de pKa (ORTH et al., 2012), ou ocorreu uma mudança no perfil do estado de transição.

A primeira não é tão provável neste caso pois o pH máximo de atividade depende dos pKas do complexo, que não são tão alterados em

função do deutério (YANG et al., 2005). É possível se observar na Tabela 16 que mesmo com uma diferença de 0,6 unidades de pKa entre o bra_G0 e o bra_G3, o pH máximo de atividade varia apenas 0,25 unidades de pH, o que não justificaria uma diferença tão grande.

A segunda possibilidade, então a mais provável, é que o número de transferências de próton envolvidas no estado de transição tenha mudado em função do tamanho da cadeia. De fato, sabe-se que para o substrato HPNP, que possui $k_H/k_D = 2$, existe somente uma transferência de próton importante no estado de transição, que é caracterizado pela formação da ligação $O_{\text{álcool}}-P$. Para complexos similares, o estado de transição é alterado e é mais concertado, com mais influência da saída do grupo fenolato (HUMPHRY et al., 2008).

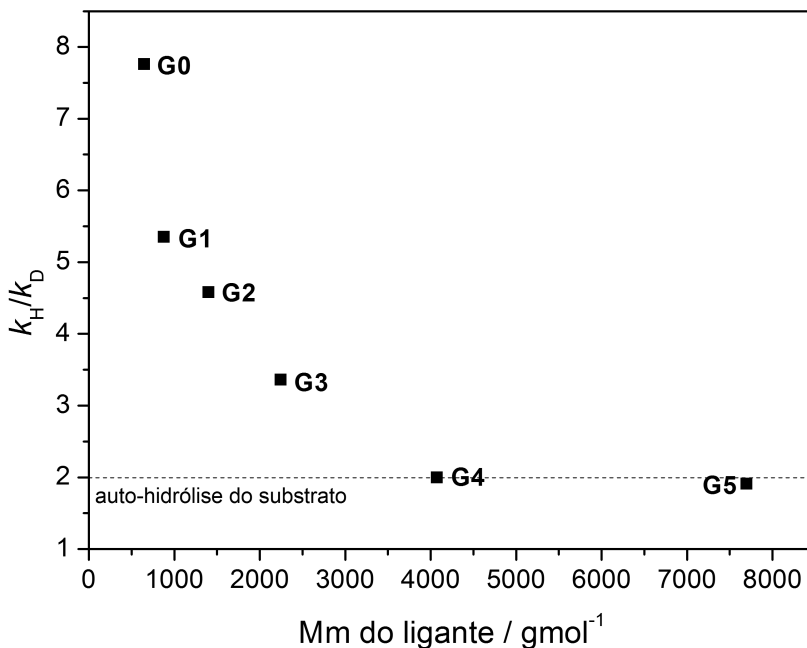


Figura 67 - Efeito isotópico de deutério (k_H/k_D) em função da massa molecular dos complexos.

Tabela 19 - Dados do efeito isotópico de deutério, para a série bra_Gx em CH₃CN/H₂O 50/50 v:v.

Ligante	Mm / g mol ⁻¹	k _H /k _D
HPNP	344,82	2*
bra_G0	647,82	7,76
bra_G1	876,11	5,35
bra_G2	1332,69	4,58
bra_G3	2245,86	3,36
bra_G4	4073,17	1,99
bra_G5	7725,84	1,91

*(PIATEK; GRAY; ANSLYN, 2004)

No caso do complexo bra_G0 em particular, o valor de $k_H/k_D = 7,76$ indica que há pelo menos duas transferências de prótons importantes, baseado em um efeito isotópico similar da literatura (PIATEK; GRAY; ANSLYN, 2004). O que provavelmente está sendo observado na Figura 67 é a mudança de duas transferências importantes para uma transferência no estado de transição do complexo com maior massa molecular de segunda esfera. Esta mudança é bastante plausível dado a mudança na constante dielétrica local e é coerente com o valor diminuído de ΔS^\ddagger , indicando menor movimentação dos átomos no estado de transição.

O mecanismo dos complexos com o maior modelo de segunda esfera pode ser descrito como essencialmente o mesmo dos complexos menores, porém com mudanças nas transferências de próton do estado de transição. Como a saída do fenolato se torna um etapa mais importante no complexo do que no substrato isolado, são necessárias modificações no polímero de forma que este possua grupos ácidos no pH de atividade máxima e isto pode trazer a diminuição no valor de ΔH^\ddagger desejada para aumentar a constante de primeira ordem da reação catalisada.

6 CONCLUSÕES

- I. Foram realizadas com sucesso a síntese e a caracterização de três novos complexos derivados do ligante H_2L_{ald} : $GaCuL_{ald}$, $Ga_4Zn_2L_{ald}$ e $GaZnOAcL_{ald}$.
- II. A atividade de hidrólise do diéster de fosfato BDNPP através dos complexos $FeCuL_{ald}$ e $GaCuL_{ald}$ em H_2O foi estudada e as espécies ativas e o mecanismo elucidados.
- III. O ligante H_2L_{ald} e o complexo $FeCuL_{ald}$ foram ligados à PEI com sucesso e sem degradação do complexo pelo polímero.
- IV. A atividade do sistema **$FeCuL_{ald}$ -PEI** foi estudada em H_2O e com a obtenção dos parâmetros cinéticos e termodinâmicos foi possível se identificar o mecanismo e a forma como o polímero atuou na segunda esfera de coordenação do complexo.
- V. Foram sintetizados sete novos ligantes derivados da 1,3,5-triclorotriazina, com quantidades variáveis do dendrímero PAMAM ligado na posição 6.
- VI. Os complexos homobinucleares de $Zn(II)$ destes ligantes foram caracterizados e tiveram a sua atividade frente à hidrólise do HPNP em CH_3CN/H_2O estudada.
- VII. A obtenção dos parâmetros cinéticos e termodinâmicos para esta série permitiu um estudo mais detalhado da influência do tamanho da segunda esfera de coordenação na atividade catalítica dos complexos.

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, foi possível concluir que a modelagem da segunda esfera de coordenação enzimática através da utilização de polímeros/dendrímeros é viável. Alguns problemas foram encontrados no caminho como a precipitação de alguns sistemas sob certas condições e a diminuição da constante de primeira ordem dos catalisadores. Entretanto estes problemas podem ser contornados por modificações dos polímeros escolhidos e possivelmente pela modificação destas cadeias com futuras reações.

Ficou demonstrado através dos parâmetros termodinâmicos que em princípio é possível se obter constantes catalíticas de algumas ordens de grandeza maiores do que as dos modelos atuais, porém mais estudos ainda se fazem necessários.

7 PERSPECTIVAS

Como perspectivas, ficam a síntese e novos ligantes com maior constante de associação (por exemplo, macrociclos) a fim de ampliar a possibilidade de metais coordenados e um estudo detalhado da modificação dos polímeros/dendrímeros utilizados. Diversos trabalhos recentes onde foi feita uma modificação sistemática dos modelos de segunda esfera demonstraram que modificações deste tipo podem levar a um aumento de ordens de grandeza na atividade catalítica.

É claro, também é importante testar a metodologia proposta na catálise de outras reações importantes e avaliar a amplitude destes modelos de segunda esfera em outros sistemas catalíticos. Diversas reações modelo ainda podem ser testadas e, principalmente, reações em “condições reais” devem também ser avaliadas.

Testes na hidrólise de DNA do sistema FeCu-PEI estão descritos no artigo referido já publicado e mais estudos de atividade biológica também são bastante relevantes tendo em visto o grande potencial da PEI e do PAMAM como agentes de transfecção largamente utilizados para este fim. A habilidade destes polímeros de interagir especialmente com células cancerígenas torna os complexos sintetizados potenciais agentes terapêuticos.

Enfim, a partir da metodologia descrita neste trabalho de inclusão da segunda esfera, especialmente no caso do dendrímero onde foi possível variar o tamanho da cadeia, é possível se construir uma infinidade de novos catalisadores e complexos com atividade aumentada e de características selecionadas a partir dos grupos laterais incluídos.

8 REFERÊNCIAS

ADDISON, A. W. et al. Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen–sulphur 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**, n. 7, p. 1349–1356, 1 jan. 1984.

AGARWAL, R.; BURLEY, S. K.; SWAMINATHAN, S. Structural Analysis of a Ternary Complex of Allantoate Amidohydrolase from *Escherichia coli* Reveals its Mechanics. **Journal of Molecular Biology**, v. 368, n. 2, p. 450–463, Abril 2007.

ARCELLI, A. Polyelectrolyte-Catalyzed Acetyl Transfer Reactions. Aminolysis of Phenyl Acetates by Poly(ethylenimine): Catalytic, Inhibition, and Solvent Effects and Thermodynamic Parameters. **Macromolecules**, v. 32, n. 9, p. 2910–2919, maio 1999.

AVENIER, F. et al. Polyethylene Imine Derivatives (“Synzymes”) Accelerate Phosphate Transfer in the Absence of Metal. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 24, p. 7611–7619, jun. 2007.

BERZELIUS, J. J. Årsberättelsen om framsteg i fysik och kemi. 1835.

BONOMI, R. et al. Phosphate Diester and DNA Hydrolysis by a Multivalent, Nanoparticle-Based Catalyst. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 47, p. 15744–15745, 26 nov. 2008.

BONOMI, R. et al. Insights on Nuclease Mechanism: The Role of Proximal Ammonium Group on Phosphate Esters Cleavage. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 32, p. 11278–11279, Agosto 2009.

BORNSCHEUER, U. T. et al. Engineering the third wave of biocatalysis. **Nature**, v. 485, n. 7397, p. 185–194, Maio 2012.

BROWN, D. M.; USHER, D. A. 1207. Hydrolysis of hydroxyalkyl phosphate esters: effect of changing ester group. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, p. 6558, 1965.

BRUCE, T. C.; BENKOVIC, S. J. Chemical Basis for Enzyme Catalysis. **Biochemistry**, v. 39, n. 21, p. 6267–6274, maio 2000.

BUNTON, C. A.; FARBER, S. J. Hydrolysis of bis(2,4-dinitrophenyl) phosphate. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 34, n. 4, p. 767–772, Abril 1969.

CASELLATO, A. **SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E REATIVIDADE DE COMPLEXOS MODELOS PARA AS PAPS GÁLIO SUBSTITUIDAS**. Tese de Doutorado—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

CHAUDHURI, P. et al. Mono-and dinuclear zinc (II) complexes of biological relevance. Crystal structures of $[L_2Zn](PF_6)_2$, $[L'_2Zn(O_2CPh)_2(H_2O)]$, $[L'_2Zn_2(\mu-OH)_2](ClO_4)_2$, and $[L'_2Zn_2(\mu-OH)(\mu-CH_3CO_2)_2](ClO_4) \cdot H_2O$ ($L = 1, 4, 7$ -triazacyclononane, $L' = 1, 4, 7$ -trimethyl-1, 4, 7-triazacyclononane). **Inorganic Chemistry**, v. 31, n. 8, p. 1451–1457, 1992.

CHEN, X.; BRAUMAN, J. I. Hydrogen Bonding Lowers Intrinsic Nucleophilicity of Solvated Nucleophiles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 45, p. 15038–15046, 12 nov. 2008.

CREA, F. et al. Thermodynamic Study for the Protonation of Branched Poly(ethylenimine) in NaCl(aq) and Its Dependence on Ionic Strength. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 52, n. 1, p. 279–285, jan. 2007.

DA SILVA, M. P. **SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS CINÉTICOS DE UM NOVO COMPLEXO BINUCLEAR DE COBRE(II) COM O LIGANTE TRIAZÍNICO 2py-(brac)**. Trabalho de Conclusão de Curso—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, Agosto de 2012.

DE SOUZA, B. et al. Second-Coordination-Sphere Effects Increase the Catalytic Efficiency of an Extended Model for FeIIIMII Purple Acid Phosphatases. **Inorganic Chemistry**, v. 52, n. 7, p. 3594–3596, Abril 2013.

DEUSS, P. J. et al. Bioinspired Catalyst Design and Artificial Metalloenzymes. **Chemistry – A European Journal**, v. 17, n. 17, p. 4680–4698, 2011.

DIALLO, M. S. et al. Dendrimer enhanced ultrafiltration. 1. Recovery of Cu (II) from aqueous solutions using PAMAM dendrimers with ethylene diamine core and terminal NH₂ groups. **Environmental science & technology**, v. 39, n. 5, p. 1366–1377, 2005.

EYRING, H. The Activated Complex in Chemical Reactions. **The Journal of Chemical Physics**, v. 3, n. 2, p. 107, 1935.

FARRAUTO, R. J.; HECK, R. M. Environmental catalysis into the 21st century. **Catalysis Today**, v. 55, n. 1–2, p. 179–187, 5 jan. 2000.

GAO, H. et al. Dinuclear Zn(II) Complex Catalyzed Phosphodiester Cleavage Proceeds via a Concerted Mechanism: A Density Functional Theory Study. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 9, p. 2904–2915, 9 mar. 2011.

GODOY-ALCÁNTAR, C.; YATSIMIRSKY, A. K.; LEHN, J.-M. Structure-stability correlations for imine formation in aqueous solution. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 18, n. 10, p. 979–985, out. 2005.

GRUBER, B. et al. Vesicles and Micelles from Amphiphilic Zinc(II)–Cyclen Complexes as Highly Potent Promoters of Hydrolytic DNA Cleavage. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 51, p. 20704–20707, 28 dez. 2011.

GULTNEH, Y. et al. Synthesis, reactions and structure of a hydroxo-bridged dinuclear Zn (II) complex: modeling the hydrolytic zinc

enzymes. **Inorganica chimica acta**, v. 241, n. 2, p. 31–38, 1996.

GULTNEH, Y. et al. Syntheses and structures of and catalysis of hydrolysis by Zn (II) complexes of chelating pyridyl donor ligands. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 75, n. 1, p. 7–18, 1999.

HABER, J. The Role of Catalysis in Determining Men's Quality of Life. **Topics in Catalysis**, v. 52, n. 8, p. 970–981, 1 jul. 2009.

HAMMES, G. G.; BENKOVIC, S. J.; HAMMES-SCHIFFER, S. Flexibility, Diversity, and Cooperativity: Pillars of Enzyme Catalysis. **Biochemistry**, v. 50, n. 48, p. 10422–10430, Dezembro 2011.

HOLLFELDER, F.; KIRBY, A. J.; TAWFIK, D. S. On the Magnitude and Specificity of Medium Effects in Enzyme-like Catalysts for Proton Transfer. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 66, n. 17, p. 5866–5874, Agosto 2001.

HONG, I. S.; SUH, J. Acceleration of Acid-Catalyzed Transesterification of 2-Hydroxypropyl-p-nitrophenyl Phosphate by Organic Solvents. **Organic Letters**, v. 2, n. 3, p. 377–380, Fevereiro 2000.

HUMPHRY, T. et al. Altered Transition State for the Reaction of an RNA Model Catalyzed by a Dinuclear Zinc(II) Catalyst. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 52, p. 17858–17866, Dezembro 2008.

HUNG, W.-I. et al. Synthesis and electroactive properties of poly(amidoamine) dendrimers with an aniline pentamer shell. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 4581–4587, 8 mar. 2011.

JOHNSON, K. A.; GOODY, R. S. The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis–Menten Paper. **Biochemistry**, v. 50, n. 39, p. 8264–8269, 4 out. 2011.

JONATHAN, P. L. Structure and solution stability of indium and

gallium complexes of 1, 4, 7-triazacyclononanetriacetate and of yttrium complexes of 1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecanetetraacetate and related ligands: kinetically stable complexes for use in imaging and radioimmunotherapy. X-ray molecular structure of the indium and gallium complexes of 1, 4, 7-triazacyclononane-1, 4, 7-triacetic acid. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n. 1, p. 87–99, 1991.

JOVITO, R. **SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA PROMISCUIDADE CATALÍTICA DE COMPLEXOS BINUCLEARES BIOINSPIRADOS**. Tese de Doutorado—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

KIRBY, A. J.; VARVOGLIS, A. G. The reactivity of phosphate esters. Monoester hydrolysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 89, n. 2, p. 415–423, 1967.

KOSHLAND, D. E. The Active Site and Enzyme Action. In: NORD, F. F. (Ed.). **Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology**. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 2006. p. 45–97.

KOVAL, I. A. et al. Synthetic models of the active site of catechol oxidase: mechanistic studies. **Chemical Society Reviews**, v. 35, n. 9, p. 814–840, 23 ago. 2006.

KRISHNAN, G. R.; THOMAS, J.; SREEKUMAR, K. Organocatalysis by poly (amidoamine) dendrimers; Knoevenagel and Mannich reactions catalyzed in water. **Arkivoc**, v. 10, p. 106–120, 2009.

KURPIEWSKI, M. R. et al. Mechanisms of Coupling between DNA Recognition Specificity and Catalysis in EcoRI Endonuclease. **Structure**, v. 12, n. 10, p. 1775–1788, Outubro 2004.

LANZMASTER, M. et al. A new heterobinuclear FeIII CuII complex with a single terminal FeIII–O(phenolate) bond. Relevance to purple acid phosphatases and nucleases. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 319–332, 21 abr. 2005.

LEVER, A. B. P. **Inorganic Electronic Spectroscopy**, 2^a Ed. **Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., 1984, p.553-572**. 2. ed. Amsterdã: Elsevier Science Publishers B. V., 1984.

LI, L. et al. Second-Sphere Amino Acids Contribute to Transition-State Structure in Bovine Purine Nucleoside Phosphorylase†. **Biochemistry**, v. 47, n. 8, p. 2577–2583, Fevereiro 2008.

LINDSTRÖM, B.; PETTERSSON, L. J. A Brief History of Catalysis. **CATTECH**, v. 7, n. 4, p. 130–138, 1 ago. 2003.

LIU, C. T.; NEVEROV, A. A.; BROWN, R. S. Biomimetic Cleavage of RNA Models Promoted by a Dinuclear Zn(II) Complex in Ethanol. Greater than 30 kcal/mol Stabilization of the Transition State for Cleavage of a Phosphate Diester. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 49, p. 16711–16720, 10 dez. 2008.

LIU, L.; BRESLOW, R. A Potent Polymer/Pyridoxamine Enzyme Mimic. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 18, p. 4978–4979, Maio 2002.

LIU, S. et al. Second-sphere electrostatic effects in the active site of glutathione S-transferase. Observation of an on-face hydrogen bond between the side chain of threonine 13 and the π -cloud of tyrosine 6 and its influence on catalysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, n. 17, p. 7910–7911, Agosto 1993.

LIVIERI, M. et al. Multiple functional group cooperation in phosphate diester cleavage promoted by Zn(ii) complexes. **Chemical Communications**, n. 24, p. 2862, 2004.

MARTELL, A. E.; HANCOCK, R. D. **Metal complexes in aqueous solutions**. New York: Plenum Press, 1996.

MARTIN, M. et al. Metallo dendrimers as transphosphorylation catalysts. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 22, p. 6982–6983, 2007.

MCMURRY, J. **Organic chemistry**. Belmont, CA: Brooks/Cole, Cengage Learning, 2012.

MERKX, M.; AVERILL, B. A. Ga³⁺ as a Functional Substitute for Fe³⁺: Preparation and Characterization of the Ga³⁺Fe²⁺ and Ga³⁺Zn²⁺ Forms of Bovine Spleen Purple Acid Phosphatase. **Biochemistry**, v. 37, n. 23, p. 8490–8497, 1 jun. 1998.

MEYER, F. Clues to Dimetallohydrolase Mechanisms from Studies on Pyrazolate-Based Bioinspired Dizinc Complexes – Experimental Evidence for a Functional Zn–O₂H₃–Zn Motif. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2006, n. 19, p. 3789–3800, out. 2006.

MITIĆ, N. et al. The Catalytic Mechanisms of Binuclear Metallohydrolases. **Chemical Reviews**, v. 106, n. 8, p. 3338–3363, ago. 2006.

MITRA, R.; PETERS, M. W.; SCOTT, M. J. Synthesis and reactivity of a C₃-symmetric trinuclear zinc(ii) hydroxide catalyst efficient at phosphate diester transesterification. **Dalton Transactions**, n. 35, p. 3924, 2007.

MOHAMED, M. F.; NEVEROV, A. A.; BROWN, R. S. Investigation of the Effect of Oxy Bridging Groups in Dinuclear Zn(II) Complexes that Catalyze the Cleavage of a Simple Phosphate Diester RNA Analogue. **Inorganic Chemistry**, v. 48, n. 23, p. 11425–11433, 7 dez. 2009.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 3. ed. Hoboken, N.J.: Wiley, 1977.

NEESE, F. **ORCA**. Alemanha: [s.n.].

NEVES, A. et al. Fe^{III}Fe^{III} and Fe^{II}Fe^{III} Complexes as Synthetic Analogues for the Oxidized and Reduced Forms of Purple Acid Phosphatases. **Inorganic Chemistry**, v. 35, n. 8, p. 2360–2368, 1 jan. 1996.

NEVES, A. et al. An Unprecedented Fe^{III} (μ-OH)Zn^{II} Complex that Mimics the Structural and Functional Properties of Purple Acid Phosphatases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 24, p. 7486–7487, jun. 2007.

NOYORI, R. Asymmetric Catalysis: Science and Opportunities (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 12, p. 2008–2022, 2002.

OLIVEIRA, J. A. F. **OXIDAÇÃO DE CATECÓIS PROMOVIDA POR COMPLEXOS BINUCLEARES DE COBRE(II): CATÁLISE HOMOGÊNEA E HETEROGÊNEA**. Dissertação de Mestrado—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

OLIVEIRA, M. C. B. et al. Mononuclear CuII–Phenolate Bioinspired Complex is Catalytically Promiscuous: Phosphodiester and Peptide Amide Bond Cleavage. **Inorganic Chemistry**, v. 48, n. 7, p. 2711–2713, Abril 2009.

OLSEN, J. V.; ONG, S.-E.; MANN, M. Trypsin Cleaves Exclusively C-terminal to Arginine and Lysine Residues. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 3, n. 6, p. 608–614, 1 jun. 2004.

ORTH, E. S. et al. Reactions of substituted aspirins with amino acids. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 25, n. 11, p. 939–945, 2012.

OZAROWSKI, A. et al. X-ray structure, EPR, and magnetic susceptibility of gallium (III) tris (3, 5-di-tert-butyl-1, 2-semibenzoquinonate), a main group triradical complex. **Inorganic Chemistry**, v. 32, n. 6, p. 841–847, 1993.

PERALTA, R. A. **Novos complexos binucleares de cobre(II) e de ferro(III) zinco(II): biomiméticos sintéticos para catecol oxidase e para fosfatases ácidas púrpuras**. Tese de Doutorado—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

PERALTA, R. A. et al. Electronic Structure and Spectro-Structural Correlations of FeIII ZnII Biomimetics for Purple Acid Phosphatases: Relevance to DNA Cleavage and Cytotoxic Activity. **Inorganic Chemistry**, v. 49, n. 24, p. 11421–11438, Dezembro 2010.

PETERSON, J. et al. Structural deviations in poly(amidoamine) dendrimers: a MALDI-TOF MS analysis. **European Polymer Journal**, v. 39, n. 1, p. 33–42, jan. 2003.

PIĄTEK, A. M.; GRAY, M.; ANSLYN, E. V. Guanidinium Groups Act as General-Acid Catalysts in Phosphoryl Transfer Reactions: A Two-Proton Inventory on a Model System. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 32, p. 9878–9879, ago. 2004.

PIOVEZAN, C. et al. Heterodinuclear FeIII ZnII-Bioinspired Complex Supported on 3-Aminopropyl Silica. Efficient Hydrolysis of Phosphate Diester Bonds. **Inorganic Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2580–2582, 15 mar. 2010.

PIOVEZAN, C. **Novos complexos binucleares homo e heterobimetalicos bioinspirados e seu estudo da reatividade em meio homogêneo e heterogêneo como modelos miméticos para as hidrolases**. Tese de Doutorado—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

RETEGAN, M.; MILET, A.; JAMET, H. Comparative Theoretical Studies of the Phosphomonoester Hydrolysis Mechanism by Purple Acid Phosphatases. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 114, n. 26, p. 7110–7116, 8 jul. 2010.

RIVERA-TIRADO, E.; WESDEMIOTIS, C. Characterization of polyethylenimine by electrospray ionization and matrix-assisted laser desorption/ionization: Characterization of PEI by ESI and MALDI. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 46, n. 9, p. 876–883, set. 2011.

ROGERS, M. S. et al. The Stacking Tryptophan of Galactose Oxidase: A Second-Coordination Sphere Residue that Has Profound Effects on

Tyrosyl Radical Behavior and Enzyme Catalysis^{†,‡}. **Biochemistry**, v. 46, n. 15, p. 4606–4618, Abril 2007.

SELMECZI, K. et al. Structural, Kinetic, and Theoretical Studies on Models of the Zinc-Containing Phosphodiesterase Active Center: Medium-Dependent Reaction Mechanisms. **Chemistry - A European Journal**, v. 13, n. 32, p. 9093–9106, 5 nov. 2007.

SHELDRICK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallographica Section A**, v. 64, n. 1, p. 112–122, 2008.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2005.

SMITH, S. J. et al. The reaction mechanism of the Ga(III)Zn(II) derivative of uteroferrin and corresponding biomimetics. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 1207–1220, 15 ago. 2007.

SPEK, A. L. Structure validation in chemical crystallography. **Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography**, v. 65, n. 2, p. 148–155, 20 jan. 2009.

SUH, J.; CHO, Y.; LEE, K. J. Macrocyclic metal complexes built on polyethylenimine. **Journal of the American Chemical Society**, v. 113, n. 11, p. 4198–4202, Maio 1991.

SUH, J.; HONG, S. H. Catalytic Activity of Ni(II)–Terpyridine Complex in Phosphodiester Transesterification Remarkably Enhanced by Self-Assembly of Terpyridines on Poly(ethylenimine). **Journal of the American Chemical Society**, v. 120, n. 48, p. 12545–12552, Dezembro 1998.

TERRA, G. G. **Novos complexos mononucleares de Ga III e In III com ligantes não-simétricos: potenciais agentes quimioterápicos e radiofármacos**. Tese de Doutorado—Florianópolis: Universidade

Federal de Santa Catarina, 2012.

TJIOE, L. et al. Synthesis, Structure, and DNA Cleavage Properties of Copper(II) Complexes of 1,4,7-Triazacyclononane Ligands Featuring Pairs of Guanidine Pendants. **Inorganic Chemistry**, v. 50, n. 2, p. 621–635, 17 jan. 2011.

TJIOE, L. et al. Phosphodiester Cleavage Properties of Copper(II) Complexes of 1,4,7-Triazacyclononane Ligands Bearing Single Alkyl Guanidine Pendants. **Inorganic Chemistry**, v. 51, n. 2, p. 939–953, 16 jan. 2012.

TOMALIA, D. A. et al. Dendritic macromolecules: synthesis of starburst dendrimers. **Macromolecules**, v. 19, n. 9, p. 2466–2468, 1986.

TORELLI, S. et al. pH-Controlled Change of the Metal Coordination in a Dicopper(II) Complex of the Ligand H-BPMP: Crystal Structures, Magnetic Properties, and Catecholase Activity. **Inorganic Chemistry**, v. 39, n. 16, p. 3526–3536, Agosto 2000.

TWITCHETT, M. B. et al. Reactivity of M^{II} Metal-Substituted Derivatives of Pig Purple Acid Phosphatase (Uteroferrin) with Phosphate. **Inorganic Chemistry**, v. 41, n. 22, p. 5787–5794, nov. 2002.

WANG, M.-Q. et al. Site-selective DNA hydrolysis induced by a metal-free peptide nucleic acid–cyclen conjugate. **Chemical Communications**, v. 47, n. 39, p. 11059–11061, 27 set. 2011.

WHITTAKER, M. M.; CHUANG, Y. Y.; WHITTAKER, J. W. Models for the redox active site in galactose oxidase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, n. 22, p. 10029–10035, 1993.

WONG, B. A.; FRIEDLE, S.; LIPPARD, S. J. Solution and Fluorescence Properties of Symmetric Dipicolylamine-Containing Dichlorofluorescein-Based Zn^{2+} Sensors. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 20, p. 7142–7152, 27 maio 2009.

WU, H. M. et al. A serum-resistant polyamidoamine-based polypeptide dendrimer for gene transfection. **Biomaterials**, v. 32, n. 6, p. 1619–1634, fev. 2011.

XAVIER, F. R. **Desenvolvimento de complexos heterobinucleares a partir de ligantes binucleantes contendo braços macrocíclicos, piridínicos e fenólicos como modelos de hidrolases/nucleases químicas**. Tese de Doutorado—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

YANG, M.-Y. et al. Solvent Deuterium Isotope Effects on Phosphodiester Cleavage Catalyzed by an Extraordinarily Active Zn(II) Complex. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 4, p. 1064–1065, Fevereiro 2005.

YOO, S. H. et al. Artificial Metalloprotease with Active Site Comprising Aldehyde Group and Cu(II)Cyclen Complex. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 26, p. 9593–9602, 1 jul. 2005.

YU, T. et al. Exceptional Dendrimer-Based Mimics of Diiron Hydrogenase for the Photochemical Production of Hydrogen. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, n. 21, p. 5631–5635, 17 maio 2013.

ZAUPA, G. et al. Catalytic Self-Assembled Monolayers on Au Nanoparticles: The Source of Catalysis of a Transphosphorylation Reaction. **Chemistry – A European Journal**, v. 17, n. 17, p. 4879–4889, 2011.

ZAUPA, G.; PRINS, L. J.; SCRIMIN, P. Resin-supported catalytic dendrimers as multivalent artificial metallonucleases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 14, p. 3816–3820, 15 jul. 2009.

ZHENG, Y.; DUANMU, C.; GAO, Y. A Magnetic Biomimetic Nanocatalyst for Cleaving Phosphoester and Carboxylic Ester Bonds under Mild Conditions. **Organic Letters**, v. 8, n. 15, p. 3215–3217, 1 jul. 2006.

9 ANEXOS

ANEXO I – DADOS CRISTALOGRAFÍCOS DO COMPLEXO 2

Tabela 20 - Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo 2. $U(\text{eq})$ é definido como 1/3 do traço do tensor U_{ij} ortogonalizado.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
Cu(1)	1269(1)	9146(1)	4679(1)	39(1)
Ga(1)	1048(1)	8309(1)	3311(1)	42(1)
O(1)	928(1)	9670(3)	3773(1)	47(1)
O(2)	732(1)	6888(4)	3382(2)	77(1)
O(10)	1497(1)	8004(3)	4234(1)	41(1)
O(20)	606(1)	8758(4)	2432(1)	50(1)
N(1)	1321(1)	6930(3)	2990(2)	36(1)
C(2)	1462(1)	5696(4)	3427(2)	42(1)
C(3)	2073(1)	8243(4)	5616(2)	38(1)
N(4)	1682(1)	8463(3)	5580(2)	35(1)
C(11)	1793(1)	5956(4)	4132(2)	37(1)
C(12)	1776(1)	7043(4)	4504(2)	37(1)
C(13)	2063(1)	7113(4)	5182(2)	35(1)
C(14)	2368(1)	6135(4)	5459(2)	35(1)
C(15)	2400(1)	5110(4)	5085(2)	37(1)
C(16)	2109(1)	5044(4)	4420(2)	38(1)
C(17)	2747(1)	4131(5)	5401(2)	48(1)
C(20)	999(1)	6440(5)	2318(2)	44(1)
C(21)	832(1)	7554(5)	1816(2)	43(1)
C(22)	646(1)	8680(5)	1910(2)	46(1)
C(23)	506(1)	9760(5)	1440(2)	54(1)
C(24)	521(2)	9592(6)	861(2)	58(1)
C(25)	680(1)	8470(5)	752(2)	50(1)
C(26)	851(1)	7481(5)	1251(2)	44(1)
C(27)	670(2)	8249(7)	111(2)	66(2)
C(28)	370(2)	11024(6)	1566(3)	70(2)
O(21)	267(2)	12022(5)	1210(2)	97(1)
C(30)	1654(1)	7543(4)	2963(2)	38(1)
C(31)	1629(1)	9072(4)	2911(2)	36(1)
N(32)	1391(1)	9682(4)	3082(2)	40(1)

C(33)	1350(2)	11039(5)	3031(2)	53(1)
C(34)	1554(2)	11827(5)	2829(2)	63(1)
C(35)	1814(2)	11204(5)	2677(2)	62(1)
C(36)	1848(1)	9812(5)	2709(2)	47(1)
C(40)	1729(1)	9589(4)	6042(2)	39(1)
C(41)	1721(1)	10949(4)	5748(2)	40(1)
N(42)	1496(1)	10998(3)	5086(2)	40(1)
C(43)	1456(1)	12207(5)	4783(2)	46(1)
C(44)	1633(2)	13379(5)	5131(2)	51(1)
C(45)	1865(2)	13321(5)	5806(2)	51(1)
C(46)	1915(1)	12098(5)	6127(2)	47(1)
C(50)	1543(1)	7203(4)	5740(2)	41(1)
C(51)	1093(1)	7215(4)	5412(2)	41(1)
N(52)	898(1)	7949(4)	4862(2)	42(1)
C(53)	499(1)	7879(5)	4515(2)	54(1)
C(54)	288(2)	7096(6)	4704(3)	63(1)
C(55)	486(2)	6376(6)	5282(3)	65(1)
C(56)	902(2)	6436(5)	5651(3)	55(1)
Cl(1)	2125(1)	4876(1)	2461(1)	43(1)
O(1P)	2305(1)	6175(4)	2517(2)	67(1)
O(2P)	2287(1)	3879(4)	2228(2)	59(1)
O(3P)	1704(1)	4963(4)	2010(2)	69(1)
O(4P)	2199(1)	4498(4)	3098(2)	67(1)
C(1S)	557(6)	10380(20)	3476(8)	67(5)

Tabela 21 - Parâmetros térmicos de deslocamento anisotrópico para o complexo **2**. O fator exponencial do deslocamento anisotrópico tem a forma $-2p^2[h^2a^*2U^{11}+...+2hka^*b^*U^{12}]$.

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
Cu(1)	41(1)	40(1)	29(1)	3(1)	15(1)	4(1)
Ga(1)	42(1)	50(1)	30(1)	3(1)	16(1)	5(1)
O(1)	50(2)	53(2)	31(1)	3(1)	16(1)	14(1)
O(2)	87(3)	82(3)	67(2)	-8(2)	44(2)	-21(2)
O(10)	47(2)	39(2)	29(1)	0(1)	13(1)	10(1)
O(20)	40(2)	66(2)	34(2)	2(1)	14(1)	7(2)
N(1)	38(2)	38(2)	25(2)	2(1)	10(1)	-1(1)
C(2)	48(2)	37(2)	30(2)	2(2)	12(2)	-2(2)
C(3)	37(2)	40(2)	31(2)	1(2)	14(2)	-2(2)
N(4)	38(2)	33(2)	31(2)	1(1)	16(1)	0(1)
C(11)	43(2)	36(2)	29(2)	3(2)	16(2)	-4(2)
C(12)	37(2)	36(2)	32(2)	5(2)	15(2)	2(2)

C(13)	34(2)	35(2)	32(2)	1(2)	16(2)	-3(2)
C(14)	31(2)	37(2)	30(2)	2(2)	11(2)	-1(2)
C(15)	35(2)	36(2)	35(2)	2(2)	15(2)	-2(2)
C(16)	43(2)	34(2)	37(2)	5(2)	21(2)	3(2)
C(17)	43(2)	44(3)	48(3)	-1(2)	18(2)	9(2)
C(20)	47(2)	46(3)	26(2)	-2(2)	10(2)	-6(2)
C(21)	36(2)	49(3)	30(2)	1(2)	8(2)	-2(2)
C(22)	37(2)	56(3)	33(2)	2(2)	10(2)	0(2)
C(23)	47(3)	57(3)	41(2)	2(2)	11(2)	8(2)
C(24)	49(3)	69(3)	38(2)	16(2)	10(2)	-3(2)
C(25)	43(3)	64(3)	35(2)	3(2)	16(2)	-8(2)
C(26)	35(2)	57(3)	31(2)	-2(2)	11(2)	-6(2)
C(27)	66(3)	91(4)	43(3)	10(3)	29(3)	-5(3)
C(28)	69(4)	71(4)	57(3)	13(3)	24(3)	15(3)
O(21)	110(4)	85(3)	83(3)	27(3)	41(3)	33(3)
C(30)	38(2)	41(2)	31(2)	-1(2)	15(2)	1(2)
C(31)	37(2)	39(2)	26(2)	-1(2)	12(2)	1(2)
N(32)	44(2)	38(2)	31(2)	-3(1)	14(2)	3(2)
C(33)	64(3)	44(3)	40(2)	-3(2)	20(2)	8(2)
C(34)	87(4)	36(3)	50(3)	-3(2)	25(3)	3(2)
C(35)	83(4)	52(3)	50(3)	0(2)	35(3)	-18(3)
C(36)	55(3)	49(3)	37(2)	0(2)	24(2)	-5(2)
C(40)	45(2)	39(2)	31(2)	-1(2)	19(2)	1(2)
C(41)	43(2)	42(2)	37(2)	1(2)	22(2)	6(2)
N(42)	47(2)	35(2)	40(2)	2(1)	24(2)	3(2)
C(43)	52(3)	46(3)	45(2)	9(2)	29(2)	9(2)
C(44)	65(3)	35(2)	67(3)	6(2)	43(3)	3(2)
C(45)	61(3)	38(3)	58(3)	-5(2)	33(3)	-3(2)
C(46)	53(3)	47(3)	43(2)	-7(2)	26(2)	-4(2)
C(50)	38(2)	43(2)	36(2)	5(2)	15(2)	2(2)
C(51)	44(2)	37(2)	42(2)	-2(2)	22(2)	0(2)
N(52)	40(2)	45(2)	37(2)	-1(2)	17(2)	1(2)
C(53)	44(3)	61(3)	47(3)	1(2)	16(2)	3(2)
C(54)	43(3)	70(3)	72(3)	-5(3)	27(3)	-6(2)
C(55)	54(3)	67(3)	81(4)	4(3)	39(3)	-11(3)
C(56)	56(3)	49(3)	59(3)	9(2)	30(2)	-2(2)
Cl(1)	45(1)	40(1)	39(1)	-4(1)	18(1)	-2(1)
O(1P)	78(2)	49(2)	66(2)	5(2)	32(2)	-13(2)
O(2P)	54(2)	63(2)	60(2)	-10(2)	29(2)	8(2)
O(3P)	43(2)	79(3)	68(2)	-26(2)	17(2)	1(2)
O(4P)	85(3)	72(2)	51(2)	2(2)	41(2)	-4(2)
C(1S)	76(12)	83(13)	44(9)	3(8)	33(9)	17(10)

ANEXO II – DADOS CRISTALOGRAFICOS DO COMPLEXO 3

Tabela 22 - Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo 3. $U(\text{eq})$ é definido como 1/3 do traço do tensor U_{ij} ortogonalizado.

	x	y	z	U(eq)
Zn(1)	8695(1)	1445(1)	2277(1)	55(1)
Ga(1)	8280(1)	382(1)	1168(1)	64(1)
Ga(2)	10020(1)	-737(1)	1811(1)	93(1)
C(1)	9282(4)	26(3)	1799(4)	81(3)
C(2)	8197(3)	934(3)	-78(4)	58(2)
C(3)	8189(3)	2669(3)	1451(3)	63(2)
C(6)	10695(4)	-1883(4)	2450(4)	85(3)
C(11)	8180(2)	1609(3)	120(4)	59(2)
C(12)	8212(2)	1794(3)	719(3)	57(2)
C(13)	8213(2)	2438(3)	875(4)	60(2)
C(14)	8195(3)	2899(3)	409(4)	63(2)
C(15)	8177(3)	2745(4)	-174(4)	68(2)
C(16)	8146(3)	2087(4)	-328(4)	65(2)
C(17)	8135(4)	3244(4)	-684(5)	93(3)
C(20)	7988(3)	-193(3)	-213(4)	63(2)
C(21)	7734(3)	-723(3)	-129(4)	54(2)
C(22)	7891(3)	-873(3)	572(4)	70(2)
C(23)	7656(4)	-1379(3)	661(5)	74(2)
C(24)	7276(4)	-1727(4)	17(5)	77(2)
C(25)	7116(3)	-1580(4)	-676(6)	84(3)
C(26)	7357(3)	-1068(4)	-735(5)	73(2)
C(27)	6684(4)	-1927(6)	-1383(7)	120(5)
C(28)	7770(5)	-1508(4)	1336(6)	95(3)
C(30)	7405(3)	628(4)	-397(4)	61(2)
C(31)	7209(3)	362(4)	-32(4)	71(2)
C(33)	7390(4)	105(4)	1080(5)	90(3)
C(34)	6908(4)	-60(4)	707(5)	88(3)
C(35)	6559(4)	-15(5)	-61(5)	98(3)
C(36)	6705(3)	193(5)	-446(5)	79(2)
C(40)	8590(3)	2695(3)	2754(4)	62(2)
C(41)	8282(3)	2226(3)	2795(4)	65(2)
C(43)	8076(3)	1165(3)	2776(4)	63(2)
C(44)	7788(4)	1311(5)	2944(5)	83(3)
C(45)	7753(5)	1927(5)	3063(6)	90(3)

C(46)	7993(4)	2394(4)	2981(5)	81(3)
C(50)	9101(3)	2749(4)	2389(4)	66(2)
C(51)	9527(3)	2300(3)	2838(3)	62(2)
C(53)	9807(3)	1243(3)	3090(3)	58(2)
C(54)	10296(2)	1445(4)	3493(4)	59(2)
C(55)	10418(3)	2096(4)	3589(4)	72(2)
C(56)	10024(3)	2526(3)	3245(4)	63(2)
C(60)	10882(4)	-1099(4)	1908(5)	100(4)
C(61)	10733(3)	-534(4)	1401(4)	68(2)
C(62)	10339(3)	-199(4)	1157(4)	59(2)
C(63)	10271(4)	386(5)	783(4)	98(4)
C(64)	10632(5)	513(5)	687(4)	86(3)
C(65)	10987(4)	109(7)	919(6)	89(3)
C(66)	11057(5)	-388(6)	1282(6)	96(3)
C(67)	11357(5)	151(9)	748(7)	140(6)
C(68)	9894(6)	849(7)	461(6)	129(5)
C(70)	10162(3)	-1787(4)	1116(4)	90(3)
C(71)	9610(3)	-1829(4)	793(3)	63(2)
C(73)	8983(4)	-1402(4)	697(4)	107(4)
C(74)	8657(4)	-1890(4)	250(4)	92(3)
C(75)	8826(4)	-2375(5)	73(5)	88(3)
C(76)	9318(4)	-2347(5)	351(5)	90(3)
C(81)	10000	-1904(5)	2500	74(4)
C(82)	9672(3)	-2239(4)	2560(4)	72(2)
C(83)	9696(4)	-2908(4)	2549(4)	85(3)
C(84)	10000	-3261(5)	2500	86(4)
C(85)	10000	-3964(9)	2500	114(5)
N(1)	7942(2)	446(2)	41(3)	50(1)
N(4)	8645(2)	2484(3)	2213(3)	54(1)
N(5)	10468(3)	-1439(3)	1819(3)	85(2)
N(32)	7531(3)	323(3)	698(3)	66(2)
N(42)	8335(2)	1606(3)	2688(3)	58(2)
N(52)	9431(2)	1668(3)	2786(3)	61(2)
N(72)	9458(3)	-1376(3)	978(3)	77(2)
O(1)	8560(2)	495(2)	2170(2)	61(1)
O(1P)	7392(4)	-1131(5)	3087(3)	141(4)
O(2)	9527(3)	-107(3)	1599(3)	95(3)
O(2P)	7603(4)	-397(6)	2562(6)	156(4)
O(3)	9367(3)	-246(3)	2353(3)	104(3)
O(3P)	7165(5)	-95(6)	2921(6)	178(5)
O(4)	8923(2)	414(2)	1396(2)	60(1)
O(4P)	6822(4)	-811(5)	1912(4)	157(5)
O(10)	8247(2)	1353(2)	1163(2)	61(1)
O(20)	8272(2)	-545(2)	1168(2)	68(2)

O(21)	7631(4)	-1932(3)	1477(5)	112(3)
O(61)	9979(3)	-231(4)	1188(4)	121(3)
O(62)	9865(4)	1415(5)	215(5)	123(3)
O(80)	10000	-1252(3)	2500	76(3)
Cl(1)	7262(1)	-640(1)	2616(1)	97(1)

Tabela 23 - Parâmetros térmicos de deslocamento anisotrópico para o complexo **3**. O fator exponencial do deslocamento anisotrópico tem a forma $-2p^2[h^2a^*2U^{11}+...+2hka^*b^*U^{12}]$.

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
Zn(1)	60(1)	33(1)	42(1)	2(1)	19(1)	-6(1)
Ga(1)	77(1)	36(1)	39(1)	3(1)	18(1)	-16(1)
Ga(2)	88(1)	35(1)	52(1)	2(1)	-4(1)	-5(1)
C(1)	87(6)	26(3)	43(4)	-9(3)	0(4)	-9(3)
C(2)	57(4)	53(4)	49(3)	13(3)	27(3)	-3(3)
C(3)	63(4)	41(3)	43(3)	11(2)	15(3)	-3(3)
C(6)	102(6)	54(4)	41(3)	-4(3)	19(4)	3(4)
C(11)	52(3)	49(4)	47(3)	6(3)	19(3)	-6(3)
C(12)	50(3)	50(4)	43(3)	9(3)	16(3)	-11(3)
C(13)	40(3)	38(3)	66(4)	8(3)	17(3)	-10(3)
C(14)	60(4)	33(3)	70(4)	8(3)	30(3)	-18(3)
C(15)	67(4)	50(4)	68(4)	14(3)	34(4)	-9(3)
C(16)	61(4)	56(4)	49(3)	7(3)	21(3)	-9(3)
C(17)	96(6)	56(5)	88(6)	26(4)	40(5)	-21(4)
C(20)	68(4)	42(3)	50(3)	-2(3)	24(3)	-6(3)
C(21)	67(4)	42(3)	61(4)	0(3)	45(3)	-6(3)
C(22)	97(6)	30(3)	62(4)	-3(3)	40(4)	-13(3)
C(23)	94(6)	35(4)	81(5)	-10(3)	51(5)	-10(4)
C(24)	91(6)	55(5)	93(6)	-30(4)	62(5)	-36(4)
C(25)	81(5)	47(4)	101(7)	-26(4)	47(5)	-12(4)
C(26)	72(5)	54(4)	74(5)	-20(4)	37(4)	-15(4)
C(27)	79(6)	93(8)	136(9)	-66(7)	45(6)	-31(6)
C(28)	163(10)	46(5)	104(7)	-7(4)	98(8)	-16(5)
C(30)	53(3)	49(4)	44(3)	-1(3)	13(3)	0(3)
C(31)	80(5)	47(4)	63(4)	-9(3)	35(4)	-22(4)
C(33)	124(8)	48(4)	73(5)	2(4)	52(5)	-39(5)
C(34)	135(8)	61(5)	92(6)	-10(4)	83(7)	-38(5)
C(35)	102(7)	98(8)	78(6)	-13(5)	50(6)	-49(6)
C(36)	77(5)	69(5)	70(5)	-6(4)	37(4)	-16(4)
C(40)	77(4)	36(3)	49(3)	2(2)	29(3)	5(3)
C(41)	74(4)	42(4)	50(3)	2(3)	27(3)	-4(3)

C(43)	77(5)	32(3)	65(4)	0(3)	39(4)	3(3)
C(44)	101(6)	63(5)	94(6)	6(5)	67(6)	8(5)
C(45)	125(8)	60(5)	128(8)	13(5)	102(8)	4(5)
C(46)	101(6)	61(5)	96(6)	15(4)	70(6)	26(5)
C(50)	57(4)	49(4)	53(4)	2(3)	17(3)	-11(3)
C(51)	59(4)	43(4)	45(3)	2(2)	16(3)	-8(3)
C(53)	60(4)	47(4)	36(3)	7(2)	17(3)	8(3)
C(54)	38(3)	56(4)	52(3)	-2(3)	15(3)	1(3)
C(55)	53(4)	77(6)	52(4)	-2(3)	19(3)	-15(4)
C(56)	63(4)	36(3)	54(4)	-2(3)	21(3)	-5(3)
C(60)	80(5)	51(5)	86(6)	1(4)	14(5)	-6(4)
C(61)	87(6)	57(4)	59(4)	-21(3)	46(4)	-27(4)
C(62)	51(4)	96(6)	42(3)	-5(3)	35(3)	-4(4)
C(63)	107(7)	82(6)	35(3)	-13(4)	13(4)	32(6)
C(64)	127(8)	73(6)	45(4)	-17(4)	49(5)	-44(6)
C(65)	95(7)	109(9)	68(5)	-30(6)	53(5)	-10(7)
C(66)	108(8)	84(7)	71(6)	-31(5)	46(6)	-32(6)
C(67)	135(11)	199(17)	85(7)	-34(9)	71(8)	-43(11)
C(68)	152(11)	112(10)	75(7)	29(6)	49(7)	0(8)
C(70)	96(6)	61(5)	41(3)	6(3)	11(4)	-33(4)
C(71)	66(4)	59(4)	39(3)	3(3)	21(3)	-20(3)
C(73)	96(6)	40(4)	58(4)	7(3)	-11(4)	-6(4)
C(74)	97(6)	49(5)	58(4)	0(3)	15(4)	-21(4)
C(75)	80(6)	78(6)	81(6)	-19(5)	40(5)	-26(5)
C(76)	108(7)	80(6)	61(5)	-8(4)	44(5)	-15(5)
C(81)	72(6)	36(5)	36(4)	0	-2(4)	0
C(82)	80(5)	43(4)	45(3)	-3(3)	17(3)	1(4)
C(83)	93(6)	42(4)	63(4)	-4(3)	24(4)	-9(4)
C(84)	132(11)	32(5)	96(9)	0	74(9)	0
N(1)	56(3)	34(3)	46(3)	2(2)	26(2)	-12(2)
N(4)	50(3)	40(3)	48(3)	3(2)	21(2)	-4(2)
N(5)	86(4)	56(4)	48(3)	3(3)	12(3)	-25(3)
N(32)	87(4)	47(3)	47(3)	1(2)	34(3)	-20(3)
N(42)	59(3)	45(3)	55(3)	-1(2)	30(3)	7(3)
N(52)	57(3)	46(3)	39(2)	5(2)	11(2)	-7(2)
N(72)	84(4)	41(3)	48(3)	-1(2)	15(3)	-8(3)
O(1)	80(3)	32(2)	42(2)	4(2)	25(2)	-1(2)
O(1P)	167(8)	134(7)	54(3)	4(4)	39(4)	-73(6)
O(2)	103(5)	39(3)	46(3)	-1(2)	3(3)	13(3)
O(2P)	149(8)	145(9)	153(9)	15(7)	87(7)	-38(7)
O(3)	116(5)	45(3)	37(2)	12(2)	-6(3)	-8(3)
O(3P)	233(13)	135(9)	146(9)	-38(7)	112(10)	-27(9)
O(4)	60(3)	33(2)	52(2)	7(2)	19(2)	-12(2)
O(4P)	174(8)	134(8)	58(4)	-11(4)	26(5)	-82(7)

O(10)	68(3)	33(2)	42(2)	5(2)	18(2)	-12(2)
O(20)	88(3)	29(2)	45(2)	5(2)	22(2)	-16(2)
O(21)	177(8)	52(4)	156(7)	-4(4)	128(7)	-25(4)
O(61)	132(7)	83(5)	84(5)	7(4)	38(5)	16(5)
O(62)	157(8)	106(7)	124(7)	19(5)	98(6)	10(6)
O(80)	100(5)	26(3)	34(3)	0	11(3)	0
Cl(1)	130(2)	81(2)	56(1)	-14(1)	47(1)	-46(2)

ANEXO III – DADOS CRISTALOGRAFÍCOS DO COMPLEXO **ZNZNBMPPratz**

Tabela 24 - Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo **ZnZnbmpPratz**. $U(\text{eq})$ é definido como 1/3 do traço do tensor U_{ij} ortogonalizado.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
Zn(1)	3723(1)	3951(1)	8093(1)	35(1)
Zn(2)	1250(1)	-210(1)	7878(1)	35(1)
Cl(1)	2304(1)	3992(1)	8830(1)	54(1)
Cl(2)	4053(1)	5028(1)	7583(1)	49(1)
Cl(3)	2599(1)	-189(1)	8678(1)	49(1)
Cl(4)	1000(1)	-1281(1)	7364(1)	62(1)
N(1)	2258(1)	2121(1)	9167(1)	28(1)
N(2)	1373(1)	2678(1)	10108(1)	31(1)
N(3)	3295(1)	2465(1)	10134(1)	33(1)
C(1)	3191(1)	2170(1)	9508(1)	28(1)
C(2)	1377(2)	2389(1)	9475(1)	27(1)
C(3)	2361(2)	2694(1)	10374(1)	32(1)
N(10)	4103(1)	1895(1)	9234(1)	31(1)
C(11)	4102(2)	1580(1)	8569(1)	32(1)
C(12)	4028(2)	2129(1)	8014(1)	33(1)
C(13)	5073(2)	2554(1)	7978(1)	32(1)
N(14)	4998(1)	3263(1)	7664(1)	32(1)
N(20)	430(1)	2382(1)	9147(1)	29(1)
C(21)	340(2)	2187(1)	8448(1)	30(1)
C(22)	226(2)	1394(1)	8345(1)	30(1)
C(23)	131(2)	1250(1)	7594(1)	36(1)
N(24)	26(1)	491(1)	7413(1)	35(1)
C(30)	6024(2)	3645(1)	7816(1)	35(1)
C(31)	6020(2)	3861(1)	8551(1)	35(1)

N(32)	5038(1)	3993(1)	8810(1)	36(1)
C(33)	4963(2)	4182(1)	9464(1)	48(1)
C(34)	5887(2)	4255(1)	9861(1)	50(1)
C(35)	6897(2)	4131(1)	9584(1)	47(1)
C(36)	6968(2)	3920(1)	8919(1)	42(1)
C(40)	4769(2)	3232(1)	6936(1)	42(1)
C(41)	3560(2)	3146(1)	6820(1)	36(1)
N(42)	2899(1)	3427(1)	7284(1)	35(1)
C(43)	1809(2)	3351(1)	7213(1)	39(1)
C(44)	1357(2)	3002(1)	6670(1)	50(1)
C(45)	2034(2)	2732(1)	6185(2)	54(1)
C(46)	3153(2)	2795(1)	6258(1)	47(1)
C(50)	245(2)	401(2)	6693(1)	46(1)
C(51)	1470(2)	513(1)	6565(1)	40(1)
N(52)	2115(1)	325(1)	7082(1)	37(1)
C(53)	3200(2)	441(1)	7023(1)	40(1)
C(54)	3651(2)	728(1)	6453(1)	47(1)
C(55)	2971(2)	909(1)	5924(2)	54(1)
C(56)	1866(2)	800(1)	5985(1)	49(1)
C(60)	-1057(2)	221(1)	7608(1)	44(1)
C(61)	-1057(2)	-65(1)	8319(1)	39(1)
N(62)	-100(1)	-306(1)	8552(1)	38(1)
C(63)	-69(2)	-607(1)	9158(1)	48(1)
C(64)	-991(2)	-655(2)	9568(2)	60(1)
C(65)	-1960(2)	-376(2)	9330(2)	64(1)
C(66)	-1989(2)	-82(1)	8704(2)	51(1)
Cl(5)	2435(1)	3087(1)	11167(1)	50(1)

Tabela 25 - Parâmetros térmicos de deslocamento anisotrópico para o complexo **ZnZnbmpPratz**. O fator exponencial do deslocamento anisotrópico tem a forma $-2p^2[h^2a^*2U^{11}+...+2hka^*b^*U^{12}]$.

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
Zn(1)	29(1)	35(1)	40(1)	2(1)	3(1)	0(1)
Zn(2)	28(1)	31(1)	46(1)	-10(1)	-5(1)	0(1)
Cl(1)	45(1)	58(1)	58(1)	2(1)	21(1)	3(1)
Cl(2)	37(1)	42(1)	67(1)	16(1)	-9(1)	-5(1)
Cl(3)	37(1)	50(1)	60(1)	9(1)	-16(1)	-8(1)
Cl(4)	36(1)	45(1)	106(1)	-39(1)	16(1)	-10(1)
N(1)	21(1)	29(1)	33(1)	-3(1)	-1(1)	0(1)
N(2)	24(1)	32(1)	35(1)	-6(1)	2(1)	-5(1)
N(3)	23(1)	43(1)	33(1)	-4(1)	1(1)	-5(1)

C(1)	22(1)	29(1)	32(1)	2(1)	0(1)	-4(1)
C(2)	25(1)	25(1)	32(1)	-2(1)	1(1)	-3(1)
C(3)	28(1)	37(1)	32(1)	-6(1)	1(1)	-9(1)
N(10)	23(1)	38(1)	32(1)	-4(1)	-1(1)	0(1)
C(11)	30(1)	30(1)	37(1)	-7(1)	1(1)	1(1)
C(12)	30(1)	37(1)	31(1)	-2(1)	0(1)	-4(1)
C(13)	22(1)	39(1)	36(1)	0(1)	6(1)	2(1)
N(14)	23(1)	42(1)	31(1)	4(1)	1(1)	-3(1)
N(20)	21(1)	32(1)	36(1)	-4(1)	1(1)	1(1)
C(21)	27(1)	31(1)	34(1)	1(1)	-2(1)	1(1)
C(22)	26(1)	33(1)	30(1)	-2(1)	-1(1)	2(1)
C(23)	32(1)	38(1)	37(1)	-5(1)	-4(1)	6(1)
N(24)	28(1)	42(1)	36(1)	-13(1)	-6(1)	3(1)
C(30)	27(1)	44(1)	34(1)	5(1)	1(1)	-9(1)
C(31)	38(1)	29(1)	37(1)	9(1)	-2(1)	-8(1)
N(32)	39(1)	34(1)	34(1)	2(1)	2(1)	2(1)
C(33)	59(2)	43(1)	41(1)	-1(1)	2(1)	4(1)
C(34)	74(2)	36(1)	39(1)	4(1)	-6(1)	0(1)
C(35)	64(2)	33(1)	45(2)	6(1)	-20(1)	-7(1)
C(36)	41(1)	36(1)	51(2)	11(1)	-12(1)	-10(1)
C(40)	29(1)	65(2)	32(1)	1(1)	3(1)	-2(1)
C(41)	32(1)	41(1)	35(1)	7(1)	-2(1)	-2(1)
N(42)	29(1)	34(1)	43(1)	7(1)	0(1)	0(1)
C(43)	27(1)	35(1)	54(2)	9(1)	0(1)	2(1)
C(44)	34(1)	43(1)	73(2)	11(1)	-15(1)	-1(1)
C(45)	52(1)	51(2)	57(2)	-1(1)	-24(1)	-3(1)
C(46)	45(1)	55(2)	42(1)	4(1)	-4(1)	5(1)
C(50)	34(1)	67(2)	38(1)	-18(1)	-8(1)	9(1)
C(51)	38(1)	43(1)	39(1)	-15(1)	-4(1)	8(1)
N(52)	34(1)	36(1)	42(1)	-12(1)	-6(1)	4(1)
C(53)	32(1)	34(1)	53(2)	-11(1)	0(1)	4(1)
C(54)	42(1)	39(1)	62(2)	-6(1)	10(1)	4(1)
C(55)	63(2)	51(2)	46(2)	-2(1)	10(1)	9(1)
C(56)	54(1)	54(2)	39(1)	-7(1)	-3(1)	12(1)
C(60)	29(1)	47(1)	54(2)	-14(1)	-8(1)	-3(1)
C(61)	32(1)	36(1)	50(1)	-15(1)	-3(1)	-7(1)
N(62)	34(1)	34(1)	47(1)	-9(1)	-3(1)	-2(1)
C(63)	47(1)	41(1)	56(2)	0(1)	-1(1)	-10(1)
C(64)	58(2)	63(2)	60(2)	-5(1)	2(1)	-14(1)
C(65)	43(1)	79(2)	70(2)	-17(2)	10(1)	-15(1)
C(66)	33(1)	55(2)	64(2)	-18(1)	0(1)	-5(1)
Cl(5)	32(1)	76(1)	42(1)	-24(1)	5(1)	-14(1)

Tabela 26 - Ligações de hidrogênio para o complexo **ZnZnbmpPratz** (Å e °).

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(10)-H(10)...N(2)#1	0,83	2,37	3.178(2)	166
N(20)-H(20)...N(3)#2	0,86	2,15	2.994(2)	164

Operações de simetria utilizadas para gerar átomos equivalentes #1 $x+1/2,-y+1/2,-z+2$ #2 $x-1/2,-y+1/2,-z+2$