

Cláudia Cristine Vidal Chaves

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE DE
CATECOLASE DE COMPLEXOS DE COBRE COM LIGANTES
TRIPODAIS**

Dissertação submetida ao
Programa de Pós Graduação da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do
Grau de Mestre em Química
Orientador: Prof^a Dr^a Rosely A.
Peralta

Florianópolis
2015

Chaves, Cláudia Cristine Vidal

Síntese, caracterização e atividade de catecolase de complexos de cobre com ligantes tripodais / Cláudia Cristine Vidal Chaves; orientadora, Rosely Aparecida Peralta - Florianópolis, SC, 2015.

106 p.: il. 21 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.

Inclui Referências

1. Química. 2. Química Bioinorgânica. 3. Complexos Mononucleares de cobre(II). 4. Ligantes Tripodais. I. Peralta, Rosely Aparecida. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química.

Cláudia Cristine Vidal Chaves

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE DE
CATECOLASE DE COMPLEXOS DE COBRE COM LIGANTES
TRIPODAIS**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Química.

Florianópolis, 19 de fevereiro de 2015.

Prof. Hugo Alejandro Gallardo Olmedo, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a Rosely A. Peralta, Dr.^a
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Fernando Roberto Xavier, Dr.
Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof.^a Maria da Graça Nascimento, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Adailton João Bortoluzzi, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

“Para minha mãe, Sandra.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe Sandra pelo apoio, amor e carinho, e pela compreensão durante mais esta etapa. Por todo o incentivo e dedicação, dedico não só meu amor, mas esta dissertação à você, mama. Agradeço à minha irmã Clara pela amizade, amor e companheirismo, e por ser a melhor irmã do mundo! Agradeço ao Edu, meu companheiro de todas as horas, por todo o amor, carinho, paciência e compreensão.

Agradeço ao meu padrasto Chico, pelo amor e pelo apoio a mim dedicados durante todos estes anos. À Vó Odilla, pelo amor e incentivo, ao meu pai, Marcos e aos meus sogros Lilian e Eduardo, pelo apoio e por me aceitarem como parte da família.

Agradeço à Professora Rosely Peralta pela orientação, confiança e dedicação. Aos Professores Adailton Bortoluzzi, Ademir Neves e Bernardo Souza pelas dicas referentes a este trabalho e pelo incentivo.

Aos amigos “labinquianos”, Sheila, André, Bruna, Thaisy, Rhannanda, Luiza, Bernardo I., Carol, Cláudia P., Sarita, Alexandra, Tiago Pacheco e Renata Osório – pelo apoio, trocas de ideias, incentivo e momentos de descontração.

À Re pela amizade, ajuda, apoio, e por ser a melhor gêmea siamesa que eu poderia encontrar perdida no mundo, nem tenho palavras para te agradecer, muito obrigada! À Gra, pela amizade, confidências, companheirismo, risadas, apoio – adoro você! Ao Marquito por toda a ajuda, paciência, risadas e amizade. E ao meu companheiro de bancada Thiago (Valdeco), por dividir as alegrias e frustrações da nossa querida B3, além de nos proporcionar as “melhores” piadas.

Ao pessoal do Laboratório de Astrofísica, por me aceitarem como parte do grupo e não como intrusa, pela amizade e por manter a zoeira em dia.

Ao Departamento de Química e o Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina pela estrutura oferecida.

A CAPES pela bolsa concedida. Ao CNPq e INCT-Catálise pelo apoio financeiro.

E a todos os amigos queridos que não citei aqui, mas que fizeram parte dessa caminhada e merecem minha dedicação e agradecimento. Vocês também são responsáveis por eu ter chegado até aqui.

“The nitrogen in our DNA, the calcium in our teeth, the iron in our blood, the carbon in our apple pies were made in the interiors of collapsing stars. We are made of starstuff.”

— Carl Sagan, *Cosmos*

RESUMO

Muitas reações importantes para a manutenção dos sistemas biológicos são catalisadas por metaloenzimas. Dentre estas pode-se citar as catecol oxidases, que catalisam a oxidação de *o*-catecóis às correspondentes *o*-quinonas. Diversos complexos metálicos que visam modelar estrutural e/ou funcionalmente essas metaloenzimas têm sido estudados nas últimas décadas, com o objetivo de se elucidar o seu modo de ação.

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados através de métodos espectroscópicos, eletroquímicos, espectrométricos, por condutividade molar e titulação potenciométrica, três novos complexos mononucleares de cobre(II) empregando-se três novos ligantes tripodais contendo átomos N,O doadores: Hbpaa-H - 2-((2-hidróxibenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida, Hbpaa-CH₃ - 2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida e Hbpaa-Br - 2-((2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida. O complexo **1** teve sua estrutura cristalina parcialmente resolvida por difratometria de raios X. Além disso, os complexos **1**, **2** e **3** foram testados frente à oxidação do substrato modelo 3,5-di-*terc*-butilcatecol, revelando que estes podem ser considerados como modelos funcionais para as catecol oxidases.

Palavras-chave: Catecol oxidase. Complexos mononucleares de cobre(II). Ligantes Tripodais.

ABSTRACT

Several vital reactions for biological systems are catalyzed by metalloenzymes. Among these is the catechol oxidase, which catalyze the oxidation of a broad range of *o*-diphenols to *o*-quinones. Metal complexes mimicking structural and/or functional properties of these metalloenzymes have been studied in the last decades, aiming to elucidate the mechanistic pathway of the catalytic reactions.

This work reports the syntheses and characterization via electronic spectroscopy, electrochemistry, mass spectrometry, molar conductivity and potentiometric titration of three new mononuclear copper(II) complexes, using the new tripodal ligands which contains N,O-donor atoms: Hbpaa-H – 2-((2-hydroxybenzyl)(2-pyridylmethyl)amine)acetamide, Hbpaa-CH₃ – 2-((2-hydroxy-5-methylbenzyl)(2-pyridylmethyl)amine)acetamide and HbpaaBr – 2-((2-hydroxy-5-bromobenzyl)(2-pyridylmethyl)amine)acetamide. The structure of the complex **1** was partially determined by X-ray crystallography. Moreover, complexes **1**, **2** and **3** were tested against the oxidation of the model substrate 3,5-di-*tert*-butylcatechol, and were considered as functional models for catechol oxidase.

Keywords: Catechol oxidase. Mononuclear copper(II) complexes. Tripodal ligands.

SUMÁRIO

1. REVISÃO DA LITERATURA	23
1.1 INTRODUÇÃO	23
1.2 QUÍMICA REDOX	24
1.3 PROTEÍNAS DE COBRE	25
1.4 CATECOL OXIDASE	26
1.5 COMPOSTOS MODELO PARA CATECOL OXIDASE	30
2. OBJETIVOS	33
2.1 OBJETIVO PRINCIPAL	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 MATERIAIS	35
3.2 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO	35
3.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	35
3.2.2 Espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-Vis)	35
3.2.3 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio – RMN ¹ H	36
3.2.4 Espectrometria de massas	36
3.2.5 Eletroquímica	36
3.2.6 Titulação Potenciométrica	37
3.2.7 Difratometria de raios X	37
3.2.8 Condutividade molar	38
3.2.9 Testes Cinéticos	38
3.3 SÍNTESES	40
3.3.1 Sínteses dos <i>pró-ligantes</i>	40
3.3.1.1 Síntese do <i>N</i> -(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)amina – Hbpa ...	40
3.3.1.2 Síntese do <i>N</i> -(2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amina – Hbpa-CH ₃	42
3.3.1.3 Síntese do <i>N</i> -(2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amina – Hbpa-Br	44
3.3.2 Sínteses dos <i>Ligantes</i>	46
3.3.2.1 Síntese do 2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida – Hbpaa-H	47
3.3.2.2 Síntese do 2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2- piridilmetil)amino)acetamida – Hbpaa-CH ₃	49
3.3.2.3 Síntese do 2-((2-hidróxi-5-bromobenzil)(2- piridilmetil)amino)acetamida – Hbpaa-Br	51
3.3.3 Sínteses dos <i>complexos</i>	53
3.3.3.1 Síntese do cloreto de 2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2- piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II) – 1	53

3.3.3.2 Síntese do cloreto de (2-((2-hidróxibenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II) - 2	54
3.3.3.3 Síntese do complexo cloreto de (2-((2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II) - 3	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1 CARACTERIZAÇÕES DOS LIGANTES.....	57
4.1.1. Espectroscopia no Infravermelho – IV	57
4.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio – RMN ¹ H	58
4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS	59
4.2.1. Espectroscopia no infravermelho - IV	59
4.2.2. Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis.....	62
4.2.3 Condutividade molar	68
4.2.4. Espectrometria de Massa	68
4.2.5 Eletroquímica.....	74
4.2.6 Titulação Potenciométrica	79
4.2.7. Determinação da estrutura cristalina	81
4.2.8 Reatividade	84
4.2.8.1 Efeito do pH na oxidação do 3,5-DTBC.....	85
4.2.8.2 Efeito da concentração do substrato na reação de oxidação do 3,5-DTBC.....	87
5. CONCLUSÕES.....	93
6. PERSPECTIVAS.....	95
7. REFERÊNCIAS.....	97
APÊNDICE 1	103

LISTA DE ESQUEMAS E FIGURAS

Esquema 1 Oxidação catalisada pela catecol oxidase	27
Figura 1 Representação esquemática da estrutura dimensional da catecol oxidase, encontrada na batata doce <i>Ipomoeas batatas</i>	28
Figura 2 Representação esquemática do sítio ativo da catecol oxidase da <i>Ipomoeas batatas</i> em seu estado oxidado	28
Figura 3 Proposta mecanística da reação de oxidação de <i>o</i> -difenóis promovida pela enzima catecol oxidase	30
Figura 4 Complexos mononucleares de cobre reportados por (a) Panda e colaboradores, (b) Marion e colaboradores e (c) Westrup	32
Esquema 2 Representação esquemática das sínteses dos pró-ligantes realizadas neste trabalho.	40
Figura 5 Espectro no IV do Hbpa em pastilha de KBr.	41
Figura 6 Espectro de RMN ¹ H do Hbpa em CDCl ₃ (200 MHz).	42
Figura 7 Espectro no IV do Hbpa-CH ₃ em pastilha de KBr.	43
Figura 8 Espectro de RMN ¹ H do Hbpa-CH ₃ em CDCl ₃ (200 MHz)	44
Figura 9 Espectro no IV do Hbpa-Br em pastilha de KBr.	45
Figura 10 Espectro de RMN ¹ H do Hbpa-Br em CDCl ₃ (200 MHz).	46
Esquema 3 Representação esquemática das sínteses dos ligantes realizadas neste trabalho	46
Figura 11 Espectro no IV do ligante Hbpaa-H em pastilha de KBr.	48
Figura 12 Espectro de RMN ¹ H do ligante Hbpaa-H em CDCl ₃ (200 MHz)...	48
Figura 13 Espectro de IV do ligante Hbpaa-CH ₃ em pastilha de KBr.	50
Figura 14 Espectro de RMN ¹ H do Hbpaa-CH ₃ em CDCl ₃ (200 MHz).	51
Figura 15 Espectro de IV do Hbpaa-Br em pastilha de KBr.	52
Figura 16 Espectro de RMN ¹ H do Hbpaa-Br em DMSO-d ₆ (200 MHz).	53
Figura 17 Espectro de IV do complexo 1 em pastilha de KBr	54
Figura 18 Espectro de IV do complexo 2 em pastilha de KBr	55
Figura 19 Espectro de IV do complexo 3 em pastilha de KBr	56

Figura 20 Sobreposição dos espectros no IV dos complexos com os seus respectivos ligantes.....	60
Figura 21 Espectro eletrônico do complexo 1	64
Figura 22 Espectro eletrônico do complexo 2	65
Figura 23 Espectro eletrônico do complexo 3	66
Figura 24 Comparação entre os máximos de absorção da banda <i>d-d</i> vs constantes de Hammett (σ_p).....	67
Figura 25 Espectro de massa ESI-MS do complexo 1 em CH ₃ CN.....	70
Figura 26 Espectro de massa ESI-MS do complexo 2 em CH ₃ CN.....	71
Figura 27 Espectro de massa ESI-MS do complexo 3 em CH ₃ CN.....	73
Figura 28 Voltamogramas para o complexo 1	75
Figura 29 Voltamogramas para o complexo 2	76
Figura 30 Voltamogramas para o complexo 3	77
Figura 31 Gráfico de distribuição de espécies para os complexos 1, 2 e 3 em função do pH.....	80
Figura 32 Proposta para o equilíbrio observado para o complexo 1 em solução.	81
Figura 33 Proposta para o equilíbrio observado para os complexos 2 e 3 em solução.	81
Figura 34 Representação da estrutura parcial do complexo 1	83
Esquema 4 Oxidação do 3,5-DTBC na presença de O ₂	84
Figura 35 Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-DTBC com o pH para os complexos 1, 2 e 3	85
Figura 36 Dependência da velocidade de reação do 3,5-DTBC com a concentração do substrato para os complexos 1, 2 e 3	88
Figura 37 Voltamogramas para o complexo 1 em H ₂ O.....	103
Figura 38 Voltamogramas para o complexo 2 em H ₂ O.....	104
Figura 39 Voltamogramas para o complexo 3 em H ₂ O.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Exemplos de enzimas que contêm ou necessitam de elementos inorgânicos.....	23
Tabela 2 Potenciais de redução para algumas enzimas e proteínas redox selecionadas.....	25
Tabela 3 Principais bandas e atribuições dos espectros no infravermelho para os compostos Hbpaa-H, Hbpaa-CH ₃ e Hbpaa-Br.....	57
Tabela 4 Deslocamentos químicos, em ppm, observados nos espectros de RMN ¹ H para os compostos Hbpaa-H, Hbpaa-CH ₃ e Hbpaa-Br.....	58
Tabela 5 Principais bandas e atribuições dos espectros no infravermelho para os complexos 1 , 2 e 3	60
Tabela 6 Dados de espectroscopia eletrônica para os complexos 1 , 2 e 3 .	63
Tabela 7 Resultados da condutivimetria para os complexos 1 , 2 e 3 .	68
Tabela 8 Dados de eletroquímica para os complexos 1 , 2 e 3 .	75
Tabela 9 Valores de pK _a para a desprotonação do fenol e das moléculas de água para os complexos 1 , 2 e 3 .	80
Tabela 10 Dados Cristalográficos da estrutura parcial do complexo 1 .	82
Tabela 11 Valores de pK _a para umas das moléculas de água coordenadas ao centro de cobre(II) para os complexos 1 , 2 e 3 .	87
Tabela 12 Comparação dos parâmetros cinéticos de alguns complexos selecionados e da catecol oxidase da <i>Ipomoea batatas</i> .	90
Tabela 13 Dados de eletroquímica para os complexos 1 , 2 e 3 .	103

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ϵ	Coeficiente de absorvidade molar
ν	Estiramento (IV)
δ	Deformação angular (IV)
δ_{H}	Deslocamento químico do hidrogênio (RMN ^1H)
$\lambda_{\text{máx}}$	Comprimento de onda, no máximo de absorção
Λ_{M}	Condutividade molar
3,5-DTBC	3,5-di- <i>terc</i> -butilcatecol
3,5-DTBQ	3,5-di- <i>terc</i> -butilquinona
1	(2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II)
2	(2-((2-hidróxibenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II)
3	(2-((2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II)
Å	Angstrom
DNA	Ácido desoxirribonucleico
E	Eficiência Catalítica
ENH	Eletrodo normal de hidrogênio
E_{pc}	Potencial de pico catódico
ESI-MS	Espectrometria de massa com ionização via eletrospray
Et_3N	Trietilamina
Hbpa-H	<i>N</i> -(2-hidróxibenzil)(2-piridilmetil)amina
Hbpa- CH_3	<i>N</i> -(2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amina
Hbpa-Br	<i>N</i> -(2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amina
Hbpaa-H	2-((2-hidróxibenzil)(2-piridilmetil)amina
Hbpaa- CH_3	2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amina
Hbpaa-Br	2-((2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amina
IV	Infravermelho
K_{ass}	Constante de associação
K_{cat}	Constante catalítica
K_{M}	Constante de Michaelis-Menten
MeOH	Metanol
MES	Ácido 2-[<i>N</i> -morfolino]etanossulfônico
MM	Massa molar
P.F.	Ponto de fusão
pH	Potencial hidrogeniônico

ppm	Partes por milhão
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
S	Substrato
T	Tampão
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
TRIS	Tris(hidroxi metil) aminometano
UV-Vis	Espectroscopia na região do ultravioleta-visível
V	Volts
v ₀	Velocidade inicial
v _{máx}	Velocidade máxima

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade o Homem busca por meios de assegurar uma melhor qualidade de vida e conforto no ambiente em que vive. A descoberta de que reações catalisadas são muito mais rápidas que aquelas não catalisadas fez com que um grande número de pesquisadores voltasse sua atenção para este campo de estudo, especialmente quando da descoberta da existência de catalisadores naturais presentes nos organismos vivos – as enzimas.

Nos sistemas biológicos, enzimas são moléculas complexas que atuam como catalisadores de diversas reações necessárias para a manutenção dos organismos vivos. As enzimas atuam como mediadores da transformação de uma forma de energia em outra, sendo seu poder catalítico e sua alta especificidade suas mais notáveis características (BERG, TYMOCZKO, STRYER, 2002). As enzimas são formadas por sequências de aminoácidos que se organizam de modo a formar um ambiente químico favorável às reações de catálise. Estas ocorrem em um lugar específico da enzima, chamado de sítio ativo, onde a mesma liga-se ao substrato ou reagente por meio de diversas forças intermoleculares (LEHNINGER, NELSON, COX, 2000). A Tabela 1 cita algumas metaloenzimas, bem como os metais presentes em seus sítios ativos.

Tabela 1 Exemplos de enzimas que contêm ou necessitam de elementos inorgânicos (KAIM, SCHWEDERSKI, 1994; COWAN, 1993).

Metal	Enzimas e proteínas
Fe ²⁺ ou Fe ³⁺	Citocromo oxidase, catalase, peroxidase
Cu ²⁺	Citocromo oxidase, tirosinase, catecol oxidase
Zn ²⁺	Anidrase carbônica, álcool desidrogenase
Ni ²⁺	Urease

No intuito de se estudar mais acerca da atuação das enzimas no sistema biológico, suas propriedades físico-químicas e seu mecanismo de ação – e devido a elevada complexidade destas

biomoléculas – surgiu a necessidade de se sintetizar compostos modelo de baixa massa molecular que se assemelhem a estas, sendo estes denominados de compostos biomiméticos (BERG, TYMOCZKO, STRYER, 2002).

Desde o início do desenvolvimento de pesquisas envolvendo metais em sistemas biológicos, a investigação de complexos modelo tem contribuído com importantes resultados para o entendimento da reatividade química nos organismos.

O propósito mais importante na modelagem de compostos é, primeiramente, ter em mente os aspectos estruturais, espectroscópicos, eletrônicos e magnéticos das metaloenzimas de interesse. Informações cruciais a respeito da dependência estrutural e funcional de uma enzima podem ser obtidas de forma mais eficiente através da variação sistemática de ligantes e da coordenação dos análogos sintéticos do que através do estudo da enzima em si.

Assim, numerosas aplicações com potencial prático para complexos biomiméticos com atividade catalítica podem ser idealizadas. Elas variam desde a hidrólise de proteínas e ácidos nucleicos com aplicação tecnológica, até questões ambientais, como a remoção de contaminantes do meio ambiente e técnicas de oxidações seletivas em sínteses de fármacos (KREBS, 1997).

1.2 QUÍMICA REDOX

Reações de transferência de elétrons tem sido uma contínua fonte de fascinação para os químicos e mostraram-se muito importantes no desenvolvimento da química de coordenação moderna. Por este motivo, proteínas e enzimas com propriedades redox situam-se entre as mais amplamente estudadas e bem caracterizadas pelos químicos bioinorgânicos (COWAN, 1993).

Existem dois tipos de metaloenzimas e proteínas com propriedades redox, as que são responsáveis pelo transporte de elétrons, conduzindo-os entre um átomo doador e um átomo aceptor, e aquelas responsáveis pela catálise de reações redox combinando uma função de aceptor-doador de elétrons com uma transformação química global.

Nos casos de enzimas que catalisam reações de oxirredução, o cofator redox deve possuir, em pelo menos um estado de oxidação, um sítio de coordenação disponível para a ligação com o substrato. A estrutura eletrônica do cofator também promove a

fácil coordenação ao substrato e a posterior liberação do produto. Frequentemente, este sítio de coordenação vago está ocupado por uma molécula de água fracamente coordenada que pode ser rapidamente substituída pelo substrato. Exemplos incluem os sítios de cobre em um variado número de oxidases ou redutases, o centro heme alto spin penta coordenado na citocromo P-450, ou o centro lábil de ferro nos clusters de Fe_4S_4 na aconitase (COWAN, 1993).

Muitos dos centros redox comuns podem ser classificados de acordo com seus potenciais de redução, uma vez que os potenciais de redução relativos de uma série de enzimas redox serve para definir a direção do fluxo de elétrons. A Tabela 2 lista os potenciais de redução de vários centros redox.

Tabela 2 Potenciais de redução para algumas enzimas e proteínas redox selecionadas (COWAN, 1993).

Proteína	Cofator Redox	E° (mV vs. NHE)
Plastocianina	$\text{Cu}^{2+/1+}$	370
Citocromo c	Heme ($\text{Fe}^{3+/2+}$)	260
Azurina	$\text{Cu}^{2+/1+}$	250
Stelacianina	$\text{Cu}^{2+/1+}$	180
Citocromo b	Heme ($\text{Fe}^{3+/2+}$)	60
Mioglobina	Heme ($\text{Fe}^{3+/2+}$)	50
Citocromo c peroxidase	Heme ($\text{Fe}^{3+/2+}$)	-194
Citocromo P-450	Heme ($\text{Fe}^{3+/2+}$)	-300
Flavodoxina	Flavina	-420

Dessa forma, para o cobre, potenciais positivos indicam que o estado reduzido do cofator é mais estável, e assim o Cu^{2+} irá retirar elétrons de (ou oxidar) uma molécula de substrato. O contrário é aplicado para o centro redox da flavina (COWAN, 1993).

1.3 PROTEÍNAS DE COBRE

Apesar do caráter bioessencial do cobre ser conhecido há muito tempo (COMBA *et al.*, 2012), sua relevância biológica só foi esclarecida nas últimas quatro décadas. Várias enzimas contêm íons de cobre e estão envolvidas em diferentes processos nos sistemas vivos. Devido a fácil acessibilidade do par redox I/II e a sua biodisponibilidade, o cobre possui várias funções na natureza, a maioria envolvendo transferência de elétrons, ligação com O_2 ,

redução de NO_2^- e N_2O , e ativação de substratos (SOLOMON *et al.*, 2014). Inicialmente, os centros de cobre contidos nos sistemas biológicos foram separados em três grupos, baseando-se em suas características espectroscópicas, sendo estes: tipo I, tipo II e tipo III (KOVAL *et al.*, 2006).

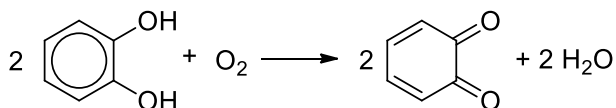
As enzimas de cobre do tipo I, também chamadas de enzimas azuis de cobre, estão presentes em proteínas que promovem transferência de elétrons tais como a plastocianina e a azurina. As enzimas do tipo I apresentam centros mononucleares de cobre(II) com geometria tetraédrica distorcida contendo uma ligação cobre-cisteína (CisS–Cu(II)) resultando num espectro eletrônico característico com um máximo em 600 nm ($\epsilon > 2000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), sendo este atribuído a uma transição de transferência de carga do tipo S(cisteína) \rightarrow Cu(II). As enzimas de cobre do tipo II, também chamadas de enzimas normais de cobre, podem ser encontradas em oxidases tal como a galactose oxidase e em oxigenases, tal como a dopamina- β -monooxigenase. As enzimas do tipo II apresentam centros mononucleares de cobre(II) e são caracterizadas por uma esfera de coordenação quadrado planar, e em seu estado oxidado estas proteínas apresentam uma coloração azul pouco intensa, originada das transições *d-d* do íon cobre(II). A hemocianina é uma proteína de cobre do tipo III, e as enzimas tirosinase e catecol oxidase são classificadas como enzimas de cobre do tipo III. Estas contêm centros binucleares de cobre acoplados em seus sítios ativos. Uma característica das proteínas com este sítio ativo é a sua habilidade de se ligar reversivelmente à molécula de oxigênio em condições ambientes. A hemocianina é uma proteína responsável pelo transporte de oxigênio em certos moluscos e artrópodes, enquanto a tirosinase e a catecol oxidase utilizam a molécula de oxigênio para realizar a oxidação de substratos fenólicos a catecóis. Há ainda centros de cobre trinucleares, encontrados na enzima ascorbato oxidase e classificados como tipo IV, os centros binucleares presentes na N_2O redutase e citocromo *c* oxidase são designados de Cu_A e há ainda os centros multinucleares designados de Cu_Z (KOVAL, 2006; GERDEMANN, 2002; KLABUNDE, 1998).

1.4 CATECOL OXIDASE

As catecol oxidases, também chamadas de *o*-difenol oxidases ou polifenol oxidases, formam o terceiro membro do grupo

conhecido como proteínas de cobre do tipo III. Estas enzimas tem a capacidade de catalisar reações de oxidação envolvendo a transferência de dois elétrons de uma ampla variedade de o-difenóis às respectivas o-quinonas, levando à redução do oxigênio à água (Esquema 1), num processo chamado de atividade de catecolase. As quinonas resultantes altamente reativas sofrem então auto polimerização, formando um pigmento polifenólico marrom (melanina) – um processo que supostamente serve para proteger um tecido danificado de patógenos ou insetos (KOVAL, 2006; GERDEMANN, 2002; KLABUNDE, 1998).

Esquema 1 Oxidação catalisada pela catecol oxidase (GERDEMANN, 2002).



A primeira catecol oxidase foi isolada em 1937, sendo posteriormente obtida e purificada a partir de uma variada gama de vegetais e frutas – como por exemplo batata, espinafre, maçã e uva. As catecóis oxidases estão presentes em plantas, insetos e crustáceos e suas principais funções incluem a fotossíntese, a coloração de flores e a proteção contra ataques patogênicos (GERDEMANN, EICKEN, KREBS, 2002). A enzima tem uma massa molar que varia de 38 a 45 kDa e possui uma forma elipsoidal com dimensões de 55 x 45 x 45 Å, apresentando uma estrutura secundária dominada por regiões de α -hélices (GERDEMANN, EICKEN, KREBS, 2002), como mostra a Figura 1.

A estrutura tridimensional da catecol oxidase, extraída da batata doce *Ipomoeas batatas*, foi resolvida nas formas oxidada Cu(II)-Cu(II) e reduzida Cu(I)-Cu(I) (EICKEN, 1998; SOLOMON, 2014). O centro catalítico binuclear de cobre encontra-se acomodado na região dominada por α -hélices e é circundado por algumas folhas β curtas (GERDEMANN, EICKEN, KREBS, 2002). A Figura 2 mostra a representação da forma oxidada do sítio ativo da enzima.

Figura 1 Representação esquemática da estrutura dimensional da catecol oxidase, encontrada na batata doce *Ipomoeas batatas*. Os átomos de cobre estão mostrados em laranja, alfa hélices em azul, folhas beta em verde e ligações dissulfeto em amarelo (GERDEMANN, EICKEN, KREBS, 2002).

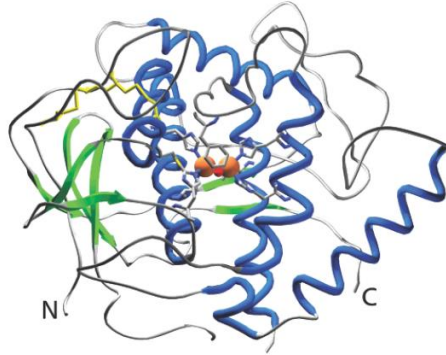
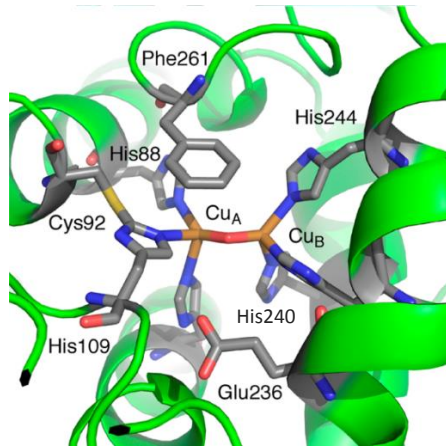


Figura 2 Representação esquemática do sítio ativo da catecol oxidase da *Ipomoeas batatas* em seu estado oxidado (SOLOMON *et al.*, 2014). Em laranja os átomos de cobre, em vermelho o átomo de oxigênio da ponte exógena μ -hidróxido. A imagem mostra também os anéis dos resíduos de histidina presentes neste sítio ativo.



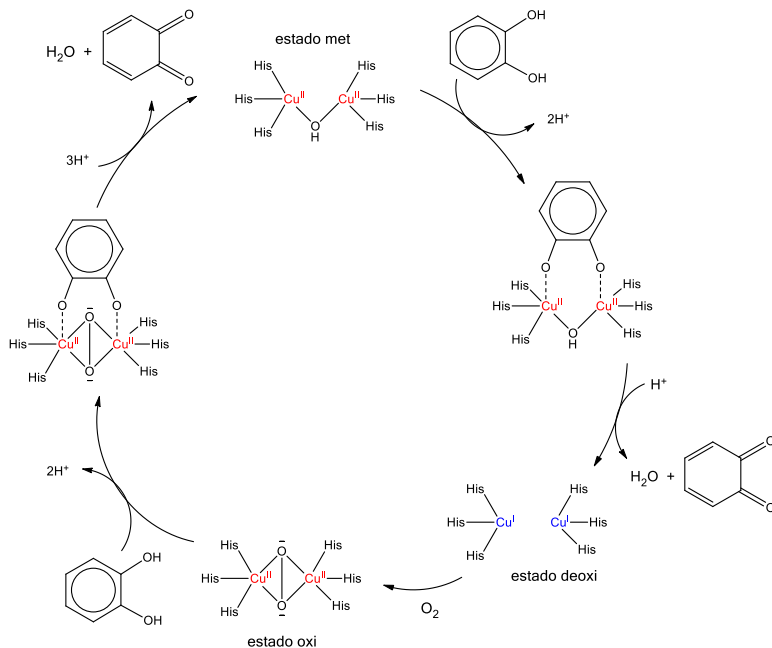
A enzima catecol oxidase em sua forma oxidada (*met*) apresenta os átomos de cobre separados por uma distância de 2,9 Å. Cada átomo de cobre do centro metálico encontra-se coordenado por três nitrogênios histidínicos e por uma ponte μ -hidróxido, determinado pelo mapa de densidade eletrônica ($\text{Cu}_A\text{-O}$ 1,9 Å, $\text{Cu}_B\text{-O}$ 1,8 Å). A esfera de coordenação de cada átomo de cobre

pode ser descrita como pirâmide trigonal, onde os grupos His109 e His240 encontram-se na posição apical dos dois centros de cobre, respectivamente (Figura 2). Já em sua forma reduzida (*deoxi*) esta distância passa a ser de 4,4 Å. Um fator que leva a esse aumento na distância entre os centros metálicos é a ausência de uma ponte entre os dois sítios de Cu(I). A esfera de coordenação do centro de Cu_A passa a apresentar uma geometria de pirâmide trigonal distorcida, estando este coordenado por três resíduos de histidina e uma molécula de água, enquanto o centro de Cu_B passa a apresentar uma geometria quadrado planar, com um sítio de coordenação livre, estando este coordenado por três resíduos de histidina somente (KLABUNDE, 1998; KOVAL, 2006, SOLOMON, 2014).

O ciclo catalítico da catecol oxidase ainda não está totalmente elucidado. Em 1996 Solomon propôs o mecanismo mais aceito atualmente. Em sua proposta, Solomon indica que o substrato coordena-se à enzima de forma bidentada, tanto na forma *met* quanto na forma *deoxi*, formando durante o ciclo catalítico, duas moléculas da respectiva quinona e água.

A Figura 3 apresenta uma proposta mecanística para a atividade de catecolase em um trabalho de Gerdemann e colaboradores (GERDEMANN, 2002), a qual, segundo os autores, foi baseada nas propostas iniciais de Solomon e colaboradores. O mecanismo inicia-se com a catecol oxidase em seu estado *met* ou *oxi*. O substrato *o*-difenoil liga-se ao estado *met* da catecol oxidase de forma bidentada, seguido da reação de oxidação, resultando no produto *o*-quinona e na formação do estado reduzido (*deoxi*) da enzima. O estado *deoxi* ao ligar-se com uma molécula de O₂, gera um estado denominado *oxi*, o qual sofre um ataque de uma segunda molécula de substrato. A oxidação desta segunda molécula de *o*-difenoil regenera a forma catalítica da enzima (estado *met*) e o ciclo catalítico pode ser reiniciado (GERDEMANN, 2002).

Figura 3 Proposta mecanística da reação de oxidação de *o*-difenóis promovida pela enzima catecol oxidase (GERDEMANN, 2002).



Assim, com a determinação da estrutura de raio X da enzima catecol oxidase isolada da batata doce em 1998, uma grande variedade de compostos modelo de baixa massa molar têm sido reportados, numa tentativa de se elucidar a geometria do sítio ativo e as propriedades eletrônicas da metaloenzima, bem como mimetizar sua reatividade catalítica (GERDEMANN, 2002; COMBA, 2012; PANDA, 2011).

1.5 COMPOSTOS MODELO PARA CATECOL OXIDASE

O desenvolvimento de análogos sintéticos tem contribuído de maneira notável no entendimento das propriedades químicas e estruturais da enzima catecol oxidase. O principal interesse encontra-se na investigação da atividade de catecolase de complexos de coordenação de cobre com distintos parâmetros estruturais e características eletrônicas em torno dos íons de cobre. Nestes estudos, complexos de cobre mono ou binucleares

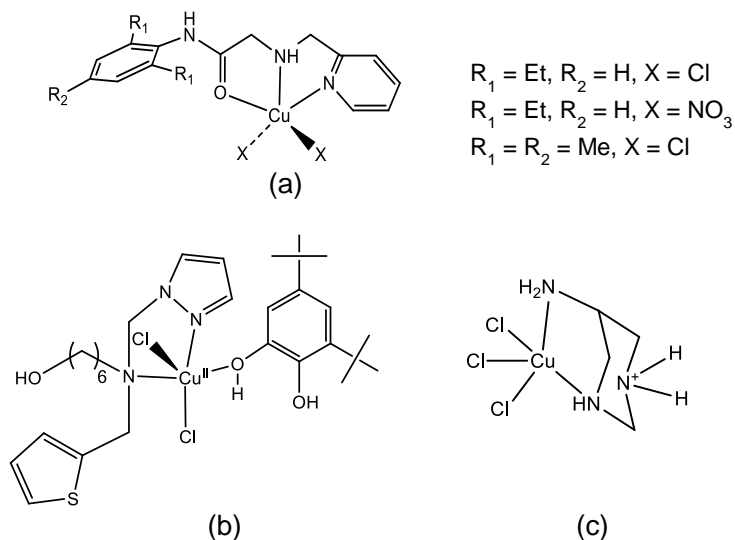
são empregados, variando-se as propriedades de ligantes quelatos, com respeito à arquitetura, ao número e à natureza do átomo doador (THAN, 1999; FERNANDES, 2001; KOVAL, 2006; BANU, 2008; PANDA, 2011; COMBA, 2012; MARION, 2012).

OISHI e colaboradores observaram que, geralmente, compostos mononucleares de cobre(II) quadrado-planares exibem pequena atividade catalítica (OISHI, 1983), enquanto uma geometria não planar ao redor do centro metálico para compostos mononucleares de cobre(II) é capaz de ativar estes complexos frente a reação de oxidação de catecóis. A atividade catalítica de complexos mononucleares pode ser adaptada ao se variar a geometria e os efeitos estéricos ao redor do centro metálico (PANDA, 2011).

Embora alguns padrões gerais referentes a estrutura e reatividade tenham sido encontrados, a química de oxidação de complexos de cobre estruturalmente bem caracterizados ainda não está bem esclarecida, principalmente com respeito aos parâmetros que afetam a atividade de catecolase (THAN, 1999; PANDA, 2011).

Inúmeros mecanismos e investigações teóricas têm sido reportados para diferentes modelos binucleares de catecol oxidases, enquanto o mesmo para seus equivalentes mononucleares permanece escasso (PANDA, 2011). A Figura 4 apresenta exemplos de complexos modelo para a catecol oxidase, como os complexos reportados por Panda e colaboradores (a), ao apresentarem a síntese e investigação catalítica frente a oxidação de catecóis de uma série de complexos contendo uma unidade piridínica e uma unidade benzênica tri-substituída, com variações em seus substituintes (PANDA, 2011). Outro exemplo é uma série de complexos contendo anéis piridínicos, pirazólicos, benzênicos e tiofeno apresentando atividade de catecolase reportados por Marion e colaboradores (b) (MARION, 2012). Ainda, Westrup reporta a síntese de um complexo mononuclear de cobre(II) com ligantes triamínicos cíclicos, que apresentou atividade de catecolase (c) (WESTRUP, 2011).

Figura 4 Complexos mononucleares de cobre reportados por (a) Panda e colaboradores, (b) Marion e colaboradores e (c) Westrup (PANDA, 2011; MARION, 2012; WESTRUP, 2011).



Dentre a vasta gama de ligantes reportados na literatura, ligantes tripodais têm sido amplamente estudados devido a sua facilidade de preparação e previsíveis mudanças nas propriedades dos complexos metálicos conforme variações nas estruturas dos ligantes são aplicadas (MALACHOWSKI *et al.*, 1995).

Assim, é objetivo deste trabalho a síntese de complexos mononucleares de cobre(II), modelos para catecol oxidase. Pretende-se avaliar o efeito do uso de ligantes tripodais com substituintes elétron-doadores e elétron-retiradores nas propriedades físico-químicas e espectroscópicas, bem como na reatividade dos complexos sintetizados.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

- Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade de catecolase de novos complexos de cobre(II) com diferentes ligantes Tripodais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar, purificar e caracterizar via espectroscopia no IV e de RMN ^1H os ligantes 2-((2-hidróxibenzil)(2-piridilmetil)amina, 2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amina e 2-((2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amina, Hbpaa-H, Hbpaa-CH₃ e Hbpaa-Br, respectivamente;
- Sintetizar e caracterizar por análises espectroscópicas (IV, UV-Vis e raios X), eletroquímicas (voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada), titulação potenciométrica e por espectrometria de massa os complexos de cobre(II) com os ligantes Hbpaa-H, Hbpaa-CH₃ e Hbpaa-Br;
- Realizar estudos cinéticos de atividade de catecolase dos complexos citados frente ao substrato modelo para reações de oxidação de catecóis 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5 – DTBC).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Os reagentes e solventes utilizados foram obtidos de fontes comerciais e empregados sem purificação ou tratamento: acetonitrila UV/HPLC e LC/MS, metanol UV/HPLC e LC/MS, diclorometano UV/HPLC (Tedia), 2-hidróxi-5-bromobenzaldeído, 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído, acetona, acetonitrila p.a., etanol p.a., diclorometano p.a., perclorato de cobre(II), 2-cloroacetamida, cloreto de cobre(II) di-hidratado, metanol p.a., acetato de etila, tolueno, isopropanol, sulfato de sódio anidro (Aldrich), gás argônio (grau analítico 5.0), gás O₂ (grau analítico 2.8), bicarbonato de sódio (Vetec), clorofórmio, clorofórmio deuterado 99%+, dimetilsulfóxido deuterado, ferroceno e borohidreto de sódio (Aldrich). Os reagentes trietilamina, 2-(aminometil)piridina e o 2-hidroxibenzaldeído foram destilados para uso e o 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído foi purificado através de cromatografia de adsorção (tamanho da coluna: 1 m; fase estacionária: sílica 70/230 mesh; eluente: CH₂Cl₂).

3.2 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

3.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram coletados num espectrofotômetro Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR na região de 4000 a 400 cm⁻¹, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. As amostras foram preparadas por dispersão da amostra em KBr de grau espectroscópico e prensadas (~9 toneladas), formando pastilhas com cerca de 1 cm de diâmetro e 0,5 mm de espessura. Estas pastilhas foram introduzidas no caminho óptico do equipamento para leitura do percentual de transmitância (%T).

3.2.2 Espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta, visível e infravermelho próximo foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo Lambda-750, no Laboratório de

Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. As análises em solução foram realizadas utilizando-se solventes de grau espectroscópico e cubetas de quartzo com capacidade para 1 mL e 1 cm de caminho óptico. Experimentos no estado sólido (refletância difusa) foram realizados no mesmo equipamento (através de módulo acoplável) onde as amostras foram dispersas em pastilha de KBr espectroscópico.

3.2.3 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio – RMN ¹H

Os espectros de RMN de ¹H foram obtidos em um espectrofotômetro Bruker – AC 200, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC, em 200 MHz. Os deslocamentos químicos de hidrogênio foram registrados em ppm utilizando como referência interna tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm) e como solventes CDCl₃ e DMSO – d₆.

3.2.4 Espectrometria de massas

Os compostos sintetizados (ligantes e complexos) foram estudados via espectrometria de massa com ionização via eletrospray (ESI-MS). Os espectros foram medidos pelas técnicas Elis Rosa e Martina, sendo obtidos no equipamento Amazon - Ion Trap MS do Centro de Biologia Molecular Estrutural – UFSC.

A análise foi realizada a partir das soluções dos ligantes e complexos em CH₃CN grau MS com concentração de aproximadamente 500 ppb e fluxo de 180 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. A temperatura do capilar foi mantida entre 180 e 200 °C e a voltagem do capilar entre -400 e -500 V.

3.2.5 Eletroquímica

O comportamento redox dos complexos foi investigado por voltametria cíclica e de onda quadrada em um potenciostato/galvanostato modelo BAS Epsilon no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. Os experimentos foram realizados em MeOH/H₂O (1:1), com $[C] = 3,5 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, sob atmosfera de argônio. Foi utilizado como eletrólito suporte, LiClO₄ (0,05 mol.L⁻¹) em pH 8,5 (Tampão TRIS 0,5 mol.L⁻¹) e uma célula eletrolítica contendo um eletrodo de

referência comercial de Ag/AgCl (BASi), um eletrodo de trabalho de carbono vítreo e um eletrodo auxiliar de platina.

3.2.6 Titulação Potenciométrica

Os estudos de equilíbrio em solução foram realizados no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC, utilizando um titulador automatizado Metrohm, modelo Titrino Plus 848, acoplado e um eletrodo combinado de vidro (referência Ag/AgCl) calibrado para leitura direta do pH ($\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$).

O sistema foi calibrado utilizando dados obtidos de uma titulação potenciométrica de um volume conhecido a partir de uma solução padrão de HCl $0,010169 \text{ mol.L}^{-1}$, solução padrão de KOH $0,097056 \text{ mol.L}^{-1}$ e força iônica ajustada com KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em MeOH/H₂O 50:50 v/v em uma célula termostatizada a $25,00 \pm 0,05^\circ\text{C}$. O pK_w da solução MeOH/H₂O 50:50 v/v contendo $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de KCl utilizado para os cálculos foi 14,30 (previamente refinado) (COTISEL *et al.*, 1999). As medidas foram realizadas em uma célula termostatizada a $25,00 \pm 0,05^\circ\text{C}$ contendo uma solução do complexo (0,025 – 0,03 mmol) em 50 mL de solução MeOH/H₂O (50:50 v/v) e força iônica ajustada para $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ com KCl, sob fluxo de argônio para eliminar a presença de CO₂ atmosférico. As soluções de complexos tiveram o pH ajustado para próximo de 3,0 pela adição de 40 - 50 μL de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, resultando em um volume final de 50,04 – 50,05 mL, e foram tituladas com uma solução padrão de KOH $0,097056 \text{ mol.L}^{-1}$ com a adição de 0,03 mL até $\text{pH} \approx 12,0$. As titulações foram realizadas em duplicata e os valores apresentados referem-se à média dos dois experimentos. As constantes de equilíbrio foram calculadas com o programa BEST7 (MARTELL, 1992) e os diagramas de distribuição das espécies presentes em solução em função do pH foram obtidos com o programa SPECIES.

3.2.7 Difractometria de raios X

A análise por difração de raios X em monocristal do complexo **1** foi realizada na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os dados foram coletados em um difratômetro Bruker APEX II DUO usando radiação gerada por um tubo de molibdênio ($\text{MoK}\alpha \lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e monocromador de grafite, em temperatura

de 173,11 K. A estrutura cristalina foi resolvida através dos métodos diretos e parcialmente refinada pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa, utilizando-se os programas SIR-97 (ALTOMARE *et al.*, 1999) e SHELXL-97 (SHELDRICK, 1997) respectivamente. Também foi utilizada a correção SQUEEZE devido a presença de uma molécula de solvente altamente desordenada na célula unitária. A representação gráfica da estrutura molecular foi gerada utilizando o programa Mercury (MACRAE *et al.*, 2006).

3.2.8 Condutividade molar

As medidas condutivimétricas dos complexos **1** a **3** foram realizadas no aparelho Metrohm 856, do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. Os complexos foram dissolvidos em CH₃CN com concentração 1×10^{-3} mol.L⁻¹. O aparelho foi calibrado com uma solução padrão de KCl 0,1 mol.L⁻¹ cuja condutividade é de 100 µS/cm em água a 25°C.

3.2.9 Testes Cinéticos

A atividade catalítica dos complexos foi avaliada através da reação de oxidação do substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-DTBC). Os experimentos cinéticos foram realizados em duplicata sob condições de excesso de substrato monitorando-se espectrofotometricamente, em um espectrômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatizado, a variação de absorvância ocorrida em 400 nm ($\epsilon = 1645$ L.mol⁻¹.cm⁻¹), devido a formação da 3,5-di-*terc*-butilquinona (3,5-DTBQ). As reações foram monitoradas até de 2 a 5 % de conversão de substrato a produto e os dados foram tratados pelo método das velocidades iniciais, que foram obtidas diretamente do gráfico da concentração de substrato *versus* o tempo.

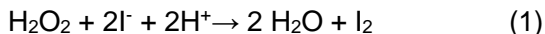
Os estudos em função do pH para a atividade de catecolase dos complexos **1**, **2**, e **3**, os quais visam a obtenção do pH ótimo de atividade frente à oxidação do substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol, foram realizados pela variação da concentração de substrato em uma faixa de pH entre 5,5 e 9,0 a 25°C.

Utilizaram-se cubetas de vidro óptico com capacidade para 4000 µL e caminho óptico de 1 cm, fechadas com tampa de teflon,

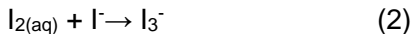
nas quais foram adicionados 50 μL de solução aquosa ($[\text{T}]_{\text{final}} = 2,94 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) dos tampões: (MES pH 5,5 a 6,5 e TRIS pH 7,0 a 9,0), 1550 a 1300 μL de metanol saturado com oxigênio e 50 a 300 μL de uma solução metanólica do substrato ($[\text{S}]_{\text{final}} = 5,88 \times 10^{-4} - 7,06 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). A reação foi iniciada com a adição de 50 μL de uma solução metanólica do complexo ($[\text{C}]_{\text{final}} = 2,94 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e monitorada durante 10 minutos. Em todos os experimentos, o volume final da mistura reacional na cubeta foi de 1,7 mL. Correções da oxidação espontânea do substrato 3,5 – DTBC foram realizadas sob condições idênticas, sem a adição do complexo. As velocidades iniciais foram obtidas da inclinação da curva da absorvância *versus* o tempo nos primeiros minutos da reação, pelo método das velocidades iniciais.

A formação de peróxido de hidrogênio nas reações de oxidação do 3,5-DTBC catalisadas pelos complexos **1**, **2** e **3** foi detectada por uma modificação do método da iodometria (NEVES, 2002). Uma mistura reacional foi preparada da mesma forma que nos experimentos cinéticos, ou seja: concentração de complexo $[\text{C}]_{\text{final}} = 2,94 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH = 8,5 e concentração de substrato $[\text{S}]_{\text{final}} = 5,88 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Após uma hora de reação, igual volume de água foi adicionado e a quinona foi extraída com diclorometano. A camada aquosa foi acidificada com ácido sulfúrico ($[\text{ácido}] = 5 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) a pH \cong 2, para interromper a reação de oxidação e 1 mL de solução aquosa de iodeto de potássio ($[\text{iodeto}] = 0,3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) foram adicionados.

Na presença de peróxido de hidrogênio ocorre a seguinte reação:



e em excesso de iodeto ocorre a formação do íon tri-iodeto,



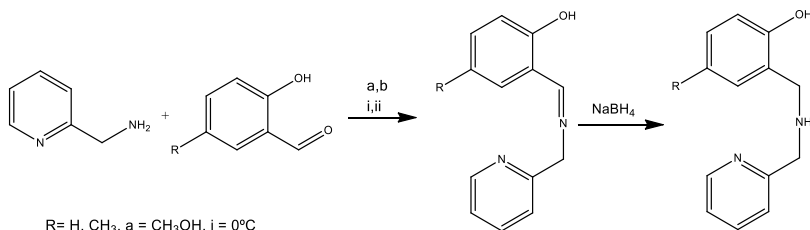
Esta reação geralmente é lenta, mas em meio ácido torna-se praticamente instantânea. A formação do I_3^- pode ser monitorada espectrofotometricamente devido ao surgimento de uma banda característica em 353 nm ($\epsilon = 26000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).

3.3 SÍNTESES

3.3.1 Sínteses dos pró-ligantes

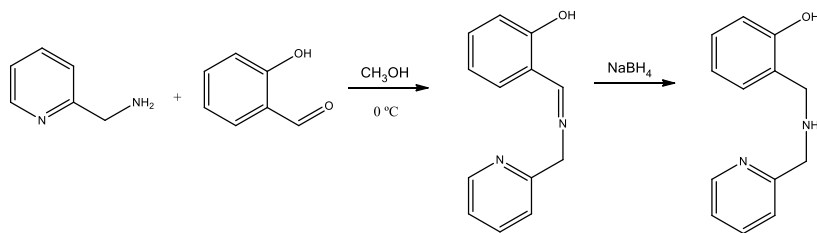
As sínteses dos pró-ligantes seguem resumidas no Esquema 2.

Esquema 2 Representação esquemática das sínteses dos pró-ligantes realizadas neste trabalho.



3.3.1.1 Síntese do *N*-(2-hidroxi-benzil)(2-piridil)metilamina – Hbpa

O Hbpa foi sintetizado através do procedimento descrito na literatura (NEVES *et al.*, 1992).

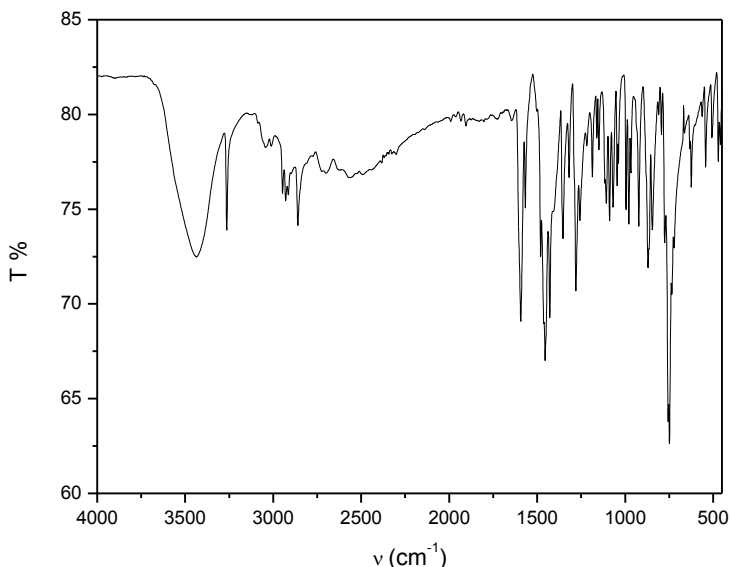


A uma solução metanólica de 3,16 mL de 2-hidróxi-benzaldeído (30 mmol; 122,12 g.mol⁻¹; 1,16 g.mL⁻¹) adicionaram-se, sob agitação magnética e banho de gelo, 3,12 mL de 2-(aminometil)piridina (30 mmol; 108,14 g.mol⁻¹; 1,04 g.mL⁻¹). Deixou-se a mistura reacional sob agitação à temperatura ambiente por mais 60 minutos e, em seguida, adicionaram-se 1,14 g de borohidreto de sódio, em pequenas porções. Deixou-se reagir por mais uma hora e então ajustou-se o pH, com HCl (2,0 mol.L⁻¹), para 6,0. O solvente foi retirado no rotaevaporador e ao óleo restante adicionou-se 80 mL de clorofórmio. Esta solução

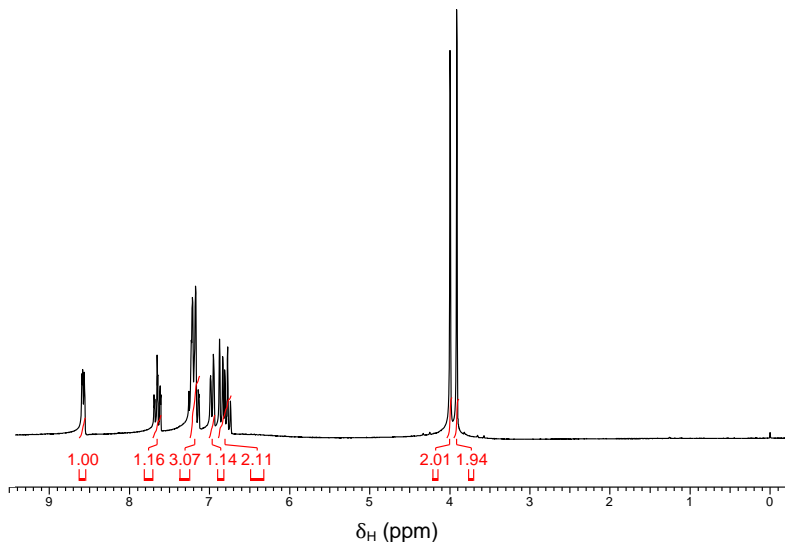
foi lavada por oito vezes (8X50 mL) com uma solução saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi retirado no rotaevaporador. O óleo castanho restante foi transferido para um bquer e deixado em dessecador com sílica sob vácuo, onde com a perda do solvente o produto se solidifica. O sólido branco foi lavado com isopropanol gelado e filtrado sob vácuo, obtendo-se no total 4,5 g de Hbpa (20 mmol; 214,27 g.mol⁻¹), com rendimento de 70% em relação ao 2-hidróxibenzaldeído. O Hbpa foi caracterizado por IV (Figura 5) e RMN ¹H (Figura 6).

IV (KBr) em cm⁻¹: ν (O-H) 3445; ν (N-H) 3260; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3046-2857; ν (C=N e C=C) 1596-1429; ν (C-O) 1258; δ (C-H_{ar}) 758.

Figura 5 Espectro no IV do Hbpa em pastilha de KBr.

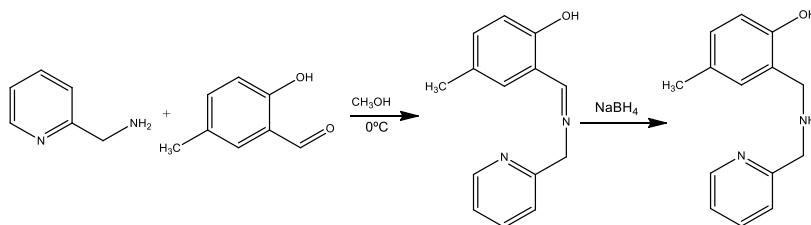


RMN ¹H, δ_H (200 MHz; CDCl₃), em ppm: 3,91 (s, 2H_{CH2}); 4,00 (s, 2H_{CH2}); 6,74 – 6,88 (m, 2H_{ar}); 6,95 – 6,99 (m, 1H_{ar}); 7,13 – 7,23 (m, 3H_{ar}); 7,61 – 7,69 (dt, 1H_{ar}); 8,57 – 8,60 (d, 1H_{py}).

Figura 6 Espectro de RMN ^1H do Hbpa em CDCl_3 (200 MHz).

3.3.1.2 Síntese do *N*-(2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amina – Hbpa- CH_3

O ligante Hbpa- CH_3 foi sintetizado conforme descrito na literatura (PERALTA *et al.*, 2010).

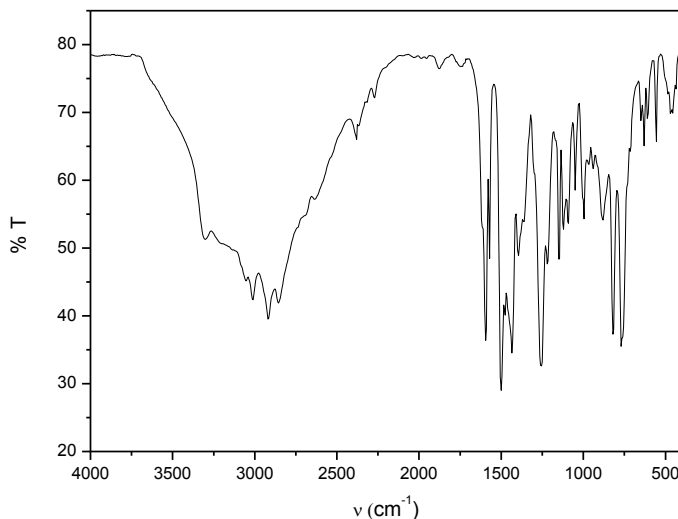


A uma solução metanólica contendo 4,08 g de 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (30 mmol; $136,12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) adicionaram-se, sob agitação magnética e banho de gelo 3,24 g de 2-(aminometil)piridina (30 mmol; $108,14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; $1,049 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$). A reação foi mantida sob agitação magnética por três horas e, a seguir, adicionaram-se 1,14 g de borohidreto de sódio (30 mmol; $37,82 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) em pequenas porções por uma hora. O pH foi então ajustado para 6 com uma solução aquosa de HCl ($3,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e o

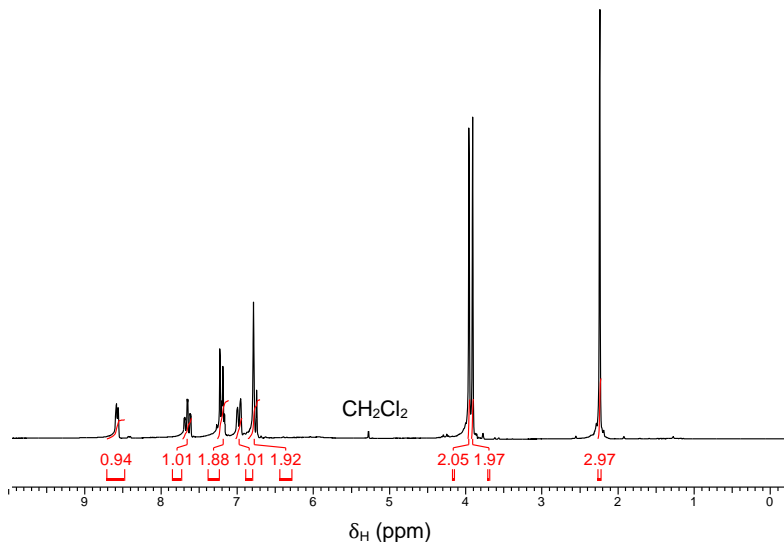
solvente foi evaporado a pressão reduzida e ao óleo restante adicionou-se 25 mL de CH_2Cl_2 . Esta solução foi lavada por oito vezes (8X40 mL) com uma solução saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi retirado no rotaevaporador. Formou-se um óleo denso levemente amarelado com rendimento de 74% em relação ao 2-hidroxi-5-metilbenzaldeído. O Hbpa- CH_3 foi caracterizado por IV (Figura 7) e RMN ^1H (Figura 8).

IV (KBr) em cm^{-1} : ν (N-H) 3445; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3090-2813; ν (C=N e C=C) 1595-1429; ν (C-O) 1254; ν (C-N) 1146; δ (C-H_{ar}) 770.

Figura 7 Espectro no IV do Hbpa- CH_3 em pastilha de KBr.

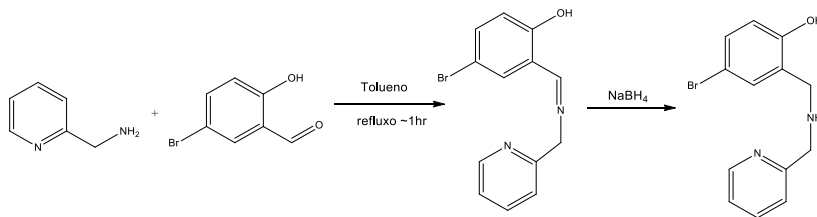


RMN ^1H , δ_{H} (200 MHz; CDCl_3), em ppm: 2,24 (s, 3H_{CH3}); 3,91 (s, 2H_{CH2}); 3,96 (s, 2H_{CH2}); 6,76 (d, 2H_{ar}); 6,95 – 7,01 (d, 1H_{ar}); 7,16 – 7,24 (dd, 2H_{ar}); 7,27 (s, CDCl_3); 7,62 – 7,79 (dt, 1H_{ar}); 8,58 (d, 1H_{py}).

Figura 8 Espectro de RMN ^1H do Hbpa- CH_3 em CDCl_3 (200 MHz).

3.3.1.3 Síntese do *N*-(2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amina – Hbpa-Br

O ligante Hbpa-Br foi sintetizado conforme descrito na literatura (PERALTA *et al.*, 2010).

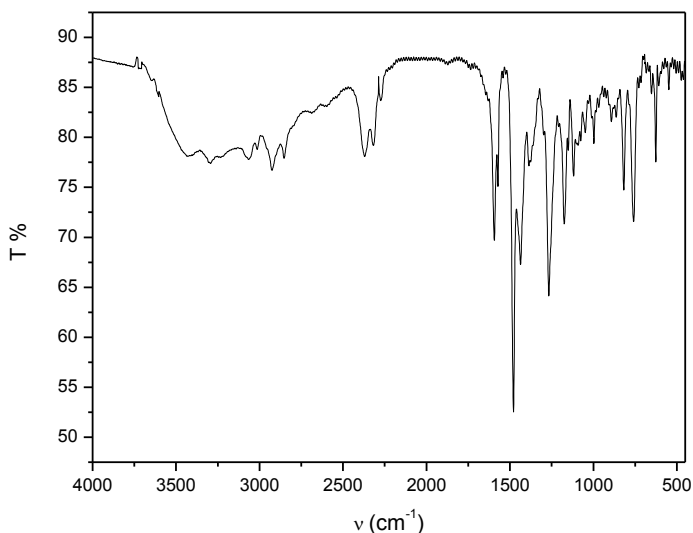


Em um balão de 125 mL contendo 50 mL de tolueno, foram adicionados 2,01 g de 2-hidróxi-5-bromobenzaldeído (10 mmol; 201,07 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) seguidos de 1,084 g de 2-(aminometil)piridina (10 mmol; 108,14 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 1,049 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), sob agitação magnética, obtendo-se uma solução amarela. Ao sistema foi acoplado um Dean-Stark e a solução foi refluxada por uma hora. Após esse período deixou-se a solução resfriar até atingir a temperatura ambiente e adicionou-se lentamente 0,37 g de

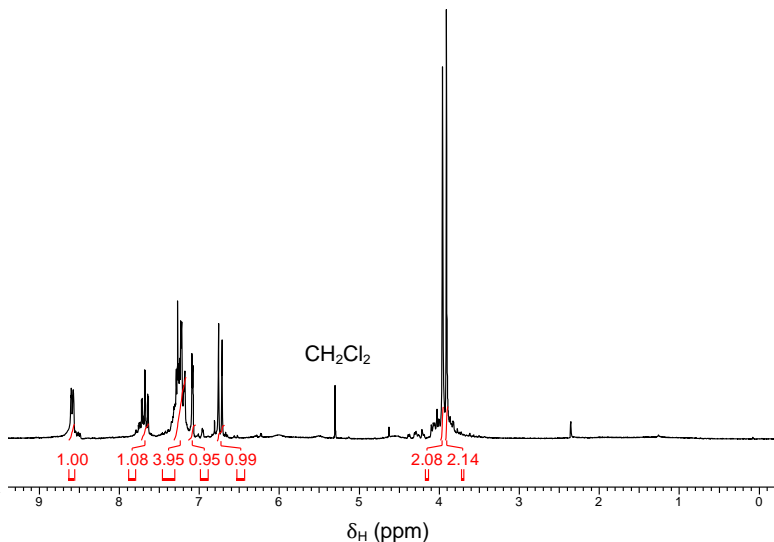
borohidreto de sódio (10 mmol; 37,38 g.mol⁻¹) e deixou-se a solução em agitação *overnight*. Após ajustou-se o pH entre 6 e 7 pela adição de uma solução aquosa de HCl 3mol.L⁻¹. Retirou-se o solvente em rotaevaporador e adicionou-se ao óleo castanho restante 40 mL de CH₂Cl₂. A solução foi lavada 4 vezes (4X30 mL) com uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após o solvente foi retirado em rotaevaporador. Foram obtidos 2,90 g de Hbpa-Br (9,8 mmol; 293,16 g.mol⁻¹) como um óleo amarelo e rendimento quantitativo. O Hbpa-Br foi caracterizado por IV (Figura 9) e RMN ¹H (Figura 10).

IV (KBr) em cm⁻¹: ν (O-H) 3418; ν (N-H) 3286; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3062-2843; ν (C=N e C=C) 1593-1477; δ (O-H) 1381; ν (C-O) 1265; ν (C-N) 1173; δ (C-H_{ar}) 756.

Figura 9 Espectro no IV do Hbpa-Br em pastilha de KBr.



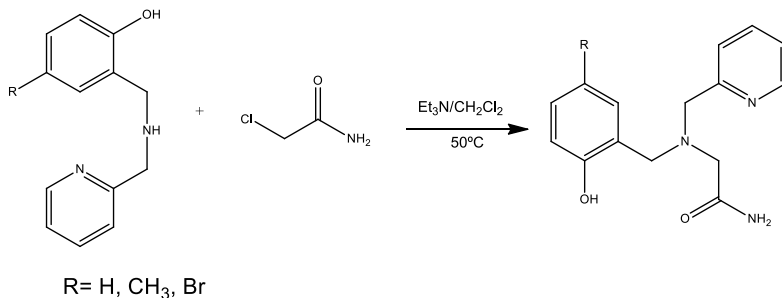
RMN ¹H, δ _H (200 MHz; CDCl₃), em ppm: 3,91 (s, 2H_{CH₂}); 3,96 (s, 2H_{CH₂}); 6,74 (d, 1H_{ar}); 7,09 (d, 1H_{ar}); 7,18 – 7,29 (m, 3H_{ar}); 7,27 (s, CDCl₃); 7,64 – 7,72 (td, 1H_{ar}); 8,59 (d, 1H_{py}).

Figura 10 Espectro de RMN ^1H do Hbpa-Br em CDCl_3 (200 MHz).

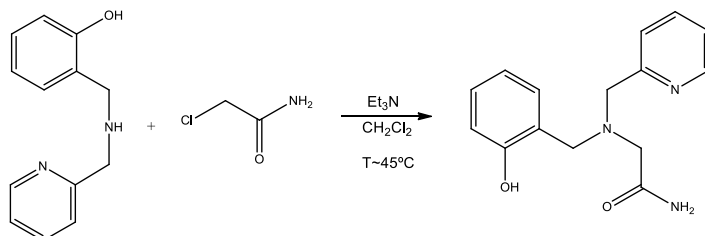
3.3.2 Sínteses dos Ligantes

As sínteses dos ligantes estão apresentadas no Esquema 3. As caracterizações de RMN de ^1H e infravermelho serão discutidas na seção 4.1 deste trabalho.

Esquema 3 Representação esquemática das sínteses dos ligantes realizadas neste trabalho.



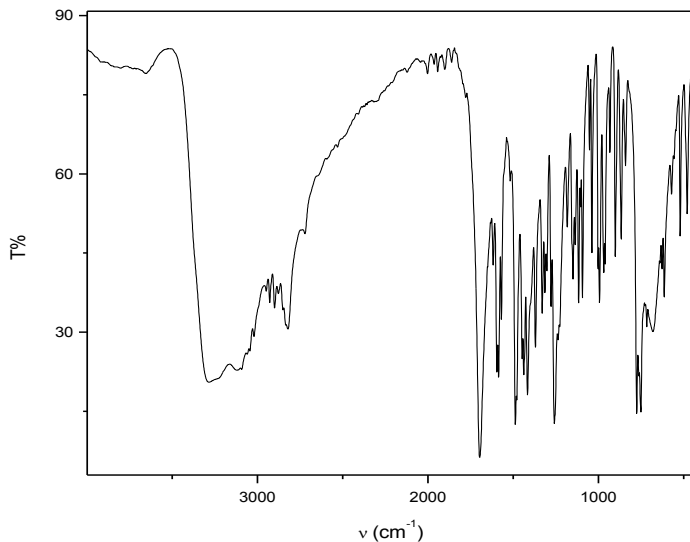
3.3.2.1 Síntese do 2-((2-hidróxibenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida – Hbpaa-H



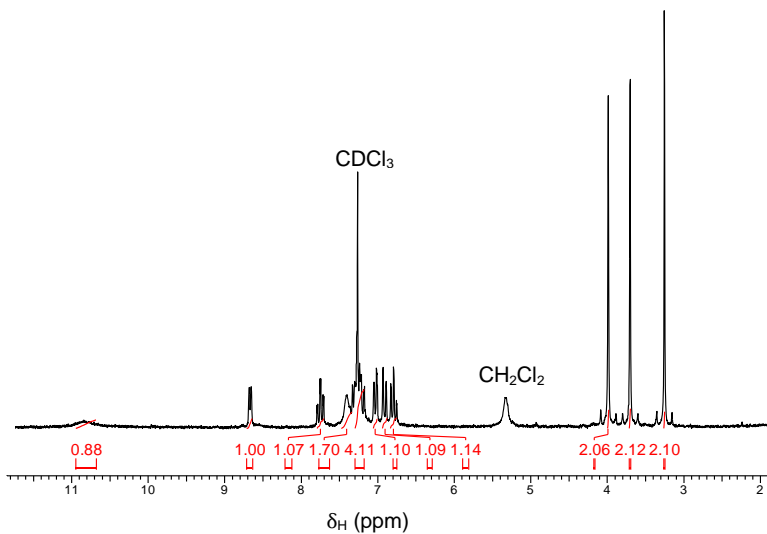
Em um balão de 125 mL adicionou-se 0,43g de Hbpa (2 mmol; 214,27 g.mol⁻¹) sendo o mesmo dissolvido em 50 mL de CH₂Cl₂. Após, adicionaram-se à solução 2,23 mL de trietilamina (16 mmol; 101,18 g.mol⁻¹; 0,726 g.mL⁻¹), e logo em seguida 0,75 g de 2-cloroacetamida (8 mmol; 93, 51 g.mol⁻¹). O sistema foi então mantido sob refluxo a uma temperatura de aproximadamente 45°C, por 6 dias. A seguir o solvente foi retirado em rotaevaporador. Ao óleo castanho denso restante adicionaram-se 40 mL de CH₂Cl₂ e a solução foi lavada 7 vezes (7X30 mL) com uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi separada e seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi retirado em rotaevaporador. O sólido laranja formado foi então filtrado à vácuo e lavado com CHCl₃ gelado, obtendo-se 0,29g de produto sólido de cor branca com rendimento de 54% em relação ao Hbpa. Hbpaa-H (1,07 mmol; 271,31 g.mol⁻¹). P.F.: 152 – 154°C. O composto Hbpaa-H foi caracterizado por IV (Figura 11) e por RMN ¹H (Figura 12).

IV (KBr) em cm⁻¹: ν (O-H_{fenol}) 3263; ν (N – H_{amida}) 3126-3225; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3090-2820; ν (C=O) 1696; ν (C=N e C=C) 1597-1417; ν (C-O) 1256; ν (C-N) 1117; δ (C-H_{ar}) 776.

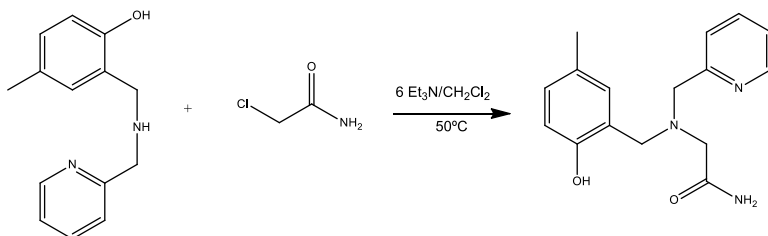
Figura 11 Espectro no IV do ligante Hbpaa-H em pastilha de KBr.



RMN ^1H , δ_{H} (200 MHz; CDCl_3), em ppm: 3,25 (s, 2 H_{CH_2}); 3,70 (s, 2 H_{CH_2}); 3,99 (s, 2 H_{CH_2}); 6,75 – 6,79 (td, 1 H_{ar}); 6,89 – 6,93 (dd, 1 H_{ar}); 7,01 – 7,05 (dd, 1 H_{ar}); 7,17 – 7,33 (m, 3 H_{ar}); 7,27 (s, CDCl_3); 7,41 (s, NH_2); 7,71 – 7,79 (td, 1 H_{ar}); 8,55 – 8,68 (d, 1 H_{py}); 10,81 (s, OH).

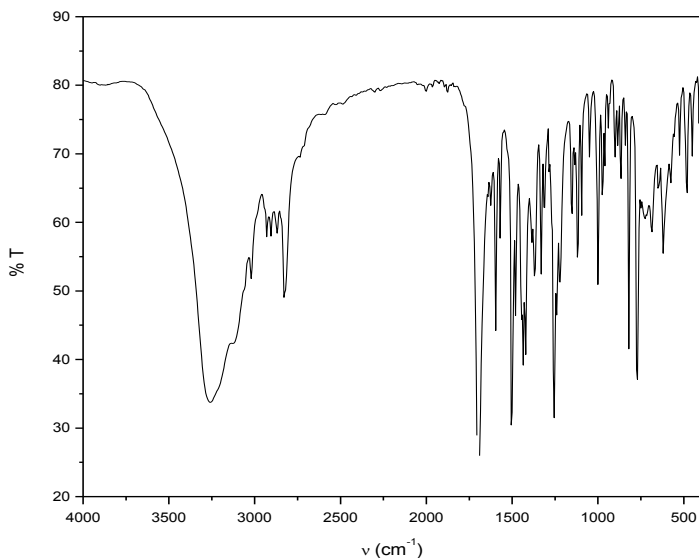
Figura 12 Espectro de RMN ^1H do ligante Hbpaa-H em CDCl_3 (200 MHz).

3.3.2.2 Síntese do 2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida – Hbpaa-CH₃



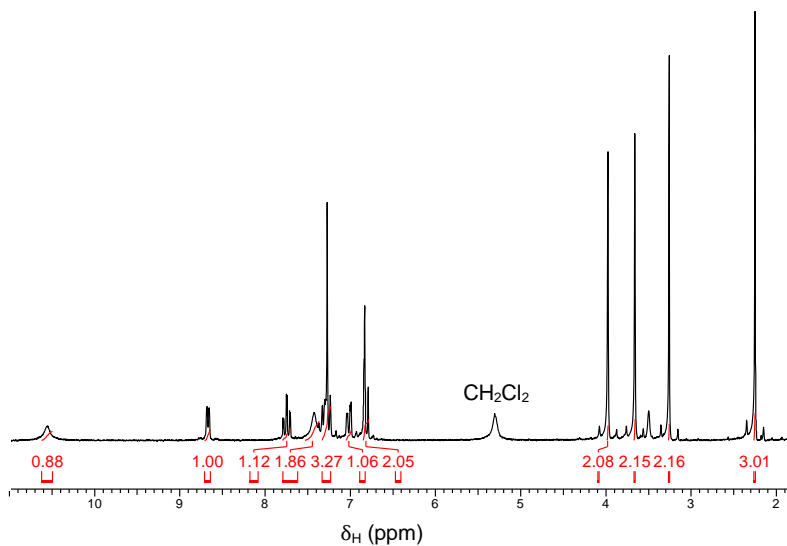
Em um balão de 250 mL contendo 3,43 g de Hbpa-CH₃ (15 mmol; 228,3 g.mol⁻¹) adicionaram-se 70 mL de CH₂Cl₂, seguido de 12,5 mL de trietilamina (90 mmol; 101,18 g.mol⁻¹; 0,726 g.mL⁻¹), sob argônio. Após, adicionou-se 4,21 g de 2-cloroacetamida (45 mmol; 93, 51g.mol⁻¹) e o sistema foi refluxado. Após 4 dias o sistema foi retirado do refluxo e o solvente foi retirado em rotaevaporador. Ao óleo castanho restante adicionaram-se 40 mL de CH₂Cl₂ e a solução foi lavada 6 vezes (6X45 mL) com uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi então seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi retirado em rotaevaporador. Ao sólido laranja formado adicionou-se 10 mL de éter e 20 mL de CH₂Cl₂, havendo a formação de um precipitado branco. O mesmo foi filtrado a vácuo, sendo lavado com éter gelado. Obtiveram-se 2,86 g de produto sólido de cor branca com rendimento de 67% em relação ao Hbpa-CH₃. Hbpaa-CH₃ (10 mmol; 285,34 g.mol⁻¹). P.F.: 161 – 163°C. O composto Hbpaa-CH₃ foi caracterizado por IV (Figura 13) e RMN ¹H (Figura 14).

IV (KBr) em cm⁻¹: ν (O-H_{fenol}) 3261; ν (N – H_{amida}) 3121-3210; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3019-2826; ν (C=O) 1700; ν (C=N e C=C) 1595-1422; δ (O-H) 1364; ν (C-O) 1256; ν (C-N) 1156; δ (C-H_{ar}) 773-821.

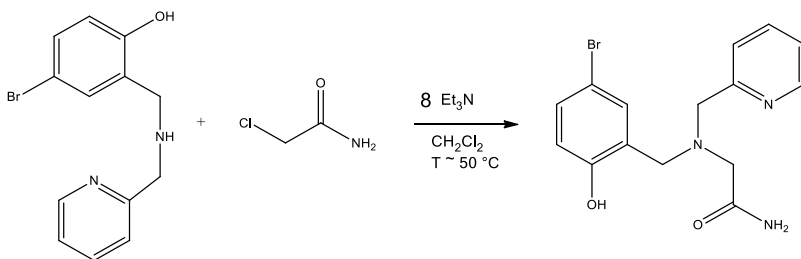
Figura 13 Espectro de IV do ligante Hbpaa-CH₃ em pastilha de KBr.

RMN ¹H, δ_H (200 MHz; CDCl₃), em ppm: 2,25 (s, 3H_{CH3}); 3,25 (s, 2H_{CH2}); 3,66 (s, 2H_{CH2}); 3,98 (s, 2H_{CH2}); 5,30 (s, CH₂Cl₂); 6,79 (d, 2H_{ar}); 6,99 (td, 1H_{ar}); 7,23 (s, 1H_{ar}); 7,26 (s, CHCl₃); 7,29 – 7,33 (dd, 1H_{ar}); 7,44 (s, NH₂); 7,72 – 7,79 (td, 1H_{ar}); 8,65 – 8,68 (d, 1H_{py}); 10,57 (s, OH).

Figura 14 Espectro de RMN ^1H do Hbpaa-CH $_3$ em CDCl_3 (200 MHz).



3.3.2.3 Síntese do 2-((2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida – Hbpaa-Br

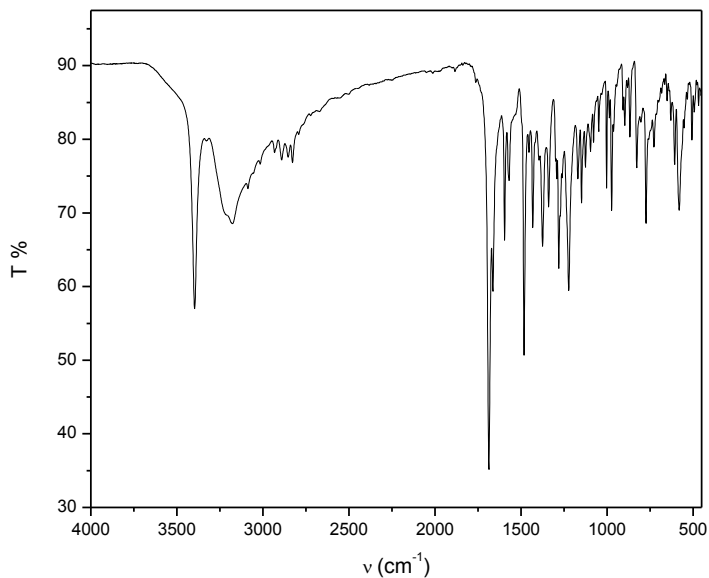


Em um balão de 125 mL contendo 1,47 g de Hbpaa-Br (5 mmol; $293 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) adicionou-se 45 mL de CH_2Cl_2 e em seguida adicionaram-se 4,05 g de trietilamina (40 mmol; $101,18 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; $0,726 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Após adicionaram-se 1,87 g de 2-cloroacetamida (20 mmol; $93,51 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) e o sistema foi mantido sob refluxo. Após 7 dias o sistema foi retirado do refluxo e o solvente foi removido em rotaevaporador. Ao óleo castanho restante adicionaram-se 40 mL de CH_2Cl_2 e a solução foi lavada 5 vezes (5X45 mL) com uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi então seca com sulfato de sódio anidro e o solvente

foi retirado em rotaevaporador. Ao sólido laranja formado adicionaram-se 10 mL de acetato de etila gelado, houve a precipitação de um sólido branco, sendo o mesmo filtrado a vácuo em funil de placa porosa. Obteve-se 0,84 g de produto sólido de cor branca com rendimento de 48% em relação ao Hbpa-Br. Hbpaa-Br (2,4 mmol; 350,21 g.mol⁻¹). P.F.: 169 – 171°C. O composto Hbpaa-Br foi caracterizado por IV (Figura 15) e RMN ¹H (Figura16).

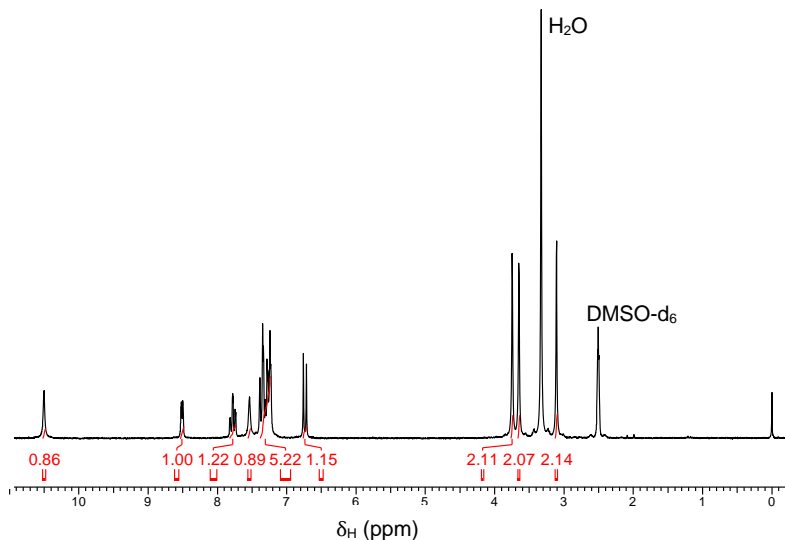
IV (KBr) em cm⁻¹: ν (O-H) 3396; ν (N-H) 3221-3177; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3086-2828; ν (C=O) 1687; ν (C=N e C=C) 1598-1483; δ (O-H) 1373; ν (C-O) 1228; ν (C-N) 1148; δ (C-H_{ar}) 770.

Figura 15 Espectro de IV do Hbpaa-Br em pastilha de KBr.



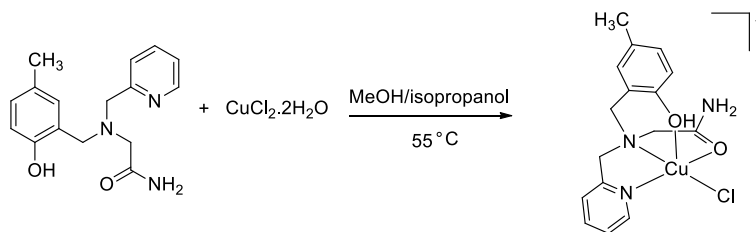
RMN ¹H, δ _H (200 MHz; DMSO-d₆), em ppm: 2,50 (m, DMSO-d₆); 3,10 (s, 2H_{CH2}); 3,33 (s, H₂O); 3,65 (s, 2H_{CH2}); 3,74 (s, 2H_{CH2}); 6,71 – 6,75 (d, 1H_{ar}); 7,23 – 7,38 (m, 5H_{ar}); 7,53 (s, 1H_{ar}); 7,73 – 7,82 (td, 1H_{ar}); 8,50 – 8,52 (d, 1H_{py}); 10,50 (s, OH).

Figura 16 Espectro de RMN ^1H do Hbpaa-Br em DMSO- d_6 (200 MHz).



3.3.3 Sínteses dos complexos

3.3.3.1 Síntese do cloreto de (2-((2-hidróxi-5-metilbenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II) – 1

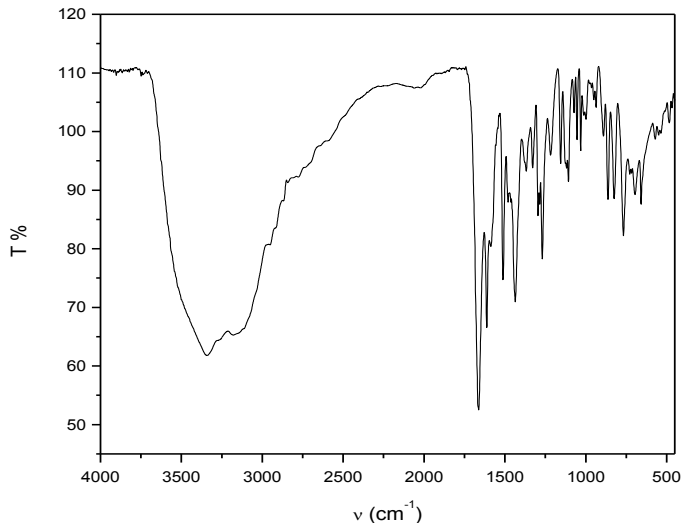


Em um béquer contendo 0,057 g de Hbpaa- CH_3 (0,2 mmol; 285,34 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$) adicionou-se uma mistura (1:1) de 2 mL de isopropanol e 2 mL de metanol sob agitação e aquecimento. Após adicionou-se ao béquer uma solução de 2 mL de isopropanol e 2 mL de metanol (1:1) contendo 0,034g de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,2mmol; 170,48 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$). A solução de metal foi adicionada gota-a-gota. A solução do complexo adquiriu uma coloração verde azulada e foi mantida sob aquecimento e agitação por 20 min. Após 10 dias

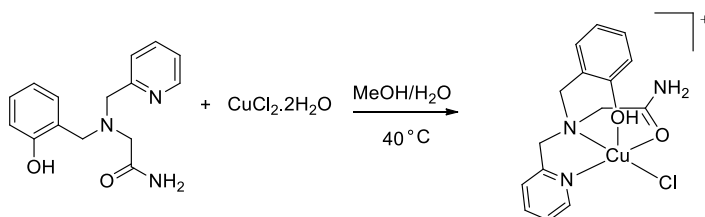
houve a formação de cristais verdes. Foram obtidos 0,052 g do complexo **1** (0,12 mmol; 420,8 g.mol⁻¹) com rendimento de 62 %.

IV (KBr) em cm⁻¹: ν (O-H) 3339; ν (N-H_{amida}) 3265-3177; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 2956-2778; ν (C=O) 1667; ν (C=N e C=C) 1509-1429; δ (O-H) 1328; ν (C-O) 1216; δ (C-H_{ar}) 770.

Figura 17 Espectro de IV do complexo **1** em pastilha de KBr.



3.3.3.2 Síntese do cloreto de (2-((2-hidróxibenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II) - **2**

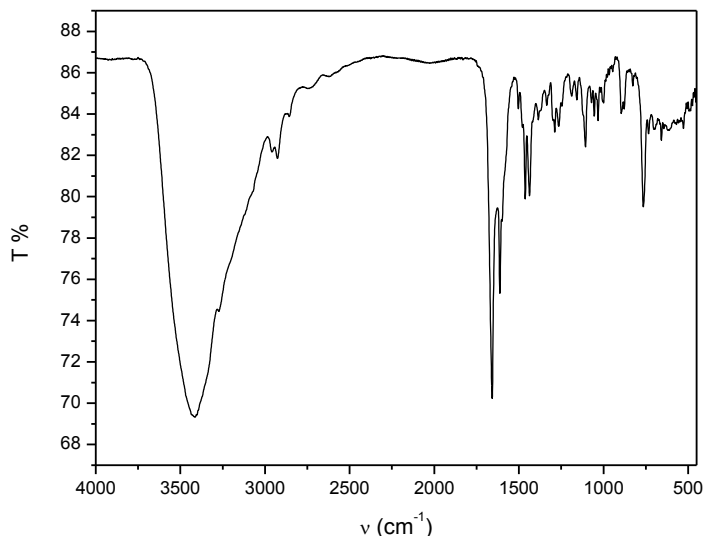


Em um béquer de 25 mL contendo uma solução aquosa de 0,0341g CuCl₂·2H₂O (0,2 mmol; 170,48 g.mol⁻¹) adicionou-se uma solução metanólica contendo 0,0542g de Hbpaa-H (0,2mmol; 271,31 g.mol⁻¹) sob agitação e aquecimento brando. A solução adquiriu uma coloração verde. A solução permaneceu sob agitação e aquecimento por 15 min., sendo então filtrada por gravidade para um béquer de 10 mL. Após 10 dias houve

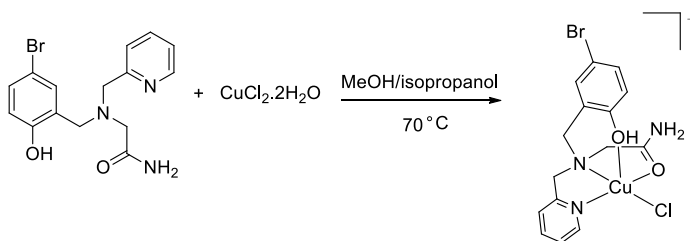
a formação de 0,07 g de um pó cristalino verde com rendimento de 86% em relação ao ligante Hbpaa-H. Complexo **2** (0,17 mmol; 405,77 g.mol⁻¹).

IV (KBr) em cm⁻¹: ν (O-H) 3418; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 2966-2856; ν (C=O) 1655; ν (C=N e C=C) 1463-1418; δ (O-H) 1335; ν (C-N) 1106; δ (C-H_{ar}) 770.

Figura 18 Espectro de IV do complexo **2** em pastilha de KBr.



3.3.3.3 Síntese do complexo cloreto de (2-((2-hidróxi-5-bromobenzil)(2-piridilmetil)amino)acetamida)cobre(II) – **3**

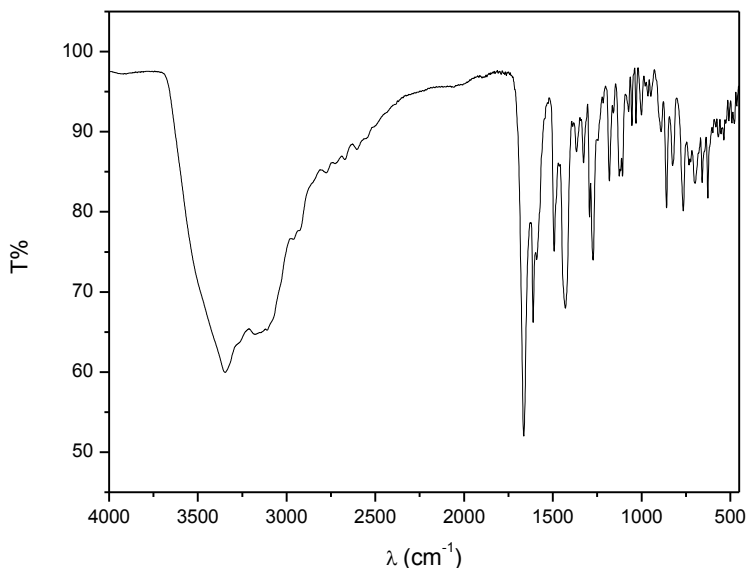


Em um béquer de 25 mL contendo uma solução metanólica de 0,070 g de Hbpaa-Br (0,2 mmol; 350,21 g.mol⁻¹) adicionou-se, gota-a-gota, uma solução metanólica contendo 0,034 g de

$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Após adicionou-se o equivalente de isopropanol (MeOH/Isopropanol 1:1) e a solução ficou sob agitação e aquecimento por 30 minutos, então a solução verde foi filtrada por gravidade. Após 6 dias houve a formação de cristais verdes com rendimento quantitativo. Complexo **3** (0,2 mmol; 449,21 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$).

IV (KBr) em cm^{-1} : ν (O-H) 3347; ν (N-H_{amida}) 3260-3176; ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 2963-2606; ν (C=O) 1663; ν (C=N e C=C) 1494-1430; δ (O-H) 1326; ν (C-O) 1271; ν (C-N) 1113; δ (C-H_{ar}) 855 – 766

Figura 19 Espectro de IV do complexo **3** em pastilha de KBr,



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÕES DOS LIGANTES

Na realização deste trabalho foram sintetizados três ligantes tripodais inéditos: Hbpaa-H, Hbpaa-CH₃ e Hbpaa-Br. As rotas sintéticas apresentam-se descritas na seção 3.3.1. Os três ligantes apresentaram grau de pureza adequado para a utilização destes nas sínteses inorgânicas e foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

4.1.1. Espectroscopia no Infravermelho – IV

Todos os ligantes foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho e as principais bandas foram atribuídas por semelhança, de modo a serem utilizadas para acompanhar a formação dos compostos em cada etapa da reação. A Tabela 3 apresenta as principais bandas e atribuições para os ligantes Hbpaa-H, Hbpaa-CH₃, Hbpaa-Br

Tabela 3 Principais bandas e atribuições dos espectros no infravermelho para os compostos Hbpaa-H, Hbpaa-CH₃ e Hbpaa-Br (SILVERSTEIN, WEBSTER, 2000).

Atribuições, cm ⁻¹	Hbpaa-H	Hbpaa-CH ₃	Hbpaa-Br
v (O-H) _{fenol}	3263	3261	3396
v (N-H) _{amida}	3126-3225	3121-3210	3177-3221
v (C-H) _{ar} e C-H _{alif}	3090-2820	3019-2826	3086-2828
v (C=O)	1696	1700	1687
v (C=N e C=C)	1597-1417	1595-1422	1598-1483
δ (O-H) _{fenol}	1369	1364	1373
v (C-O) _{fenol}	1256	1256	1228
v (C-N)	1117	1156	1148
δ (C-H) _{ar}	776	773-821	770

A Tabela 3 mostra as bandas referentes aos estiramentos e deformações angulares das ligações C=C, C-O e C-H dos fenóis e C=N, C=C e C-H das piridinas, bem como o estiramento da

ligação C=O das amidas. Estas encontram-se na mesma região do espectro no infravermelho para os ligantes Hbpaa-H e Hbpaa-CH₃, havendo um deslocamento para regiões de maior frequência da banda de O-H do fenol para o ligante Hbpaa-Br. Esta apresenta-se como uma banda estreita, e indica a presença de ligações O-H livres (SILVERSTEIN, WEBSTER, 2000). Para os ligantes Hbpaa-H e Hbpaa-CH₃ as bandas de estiramento da ligação O-H encontram-se deslocadas para regiões de menor frequência devido às ligações de hidrogênio entre o átomo de hidrogênio do fenol e o átomo de oxigênio da carbonila. Estes dados são concordantes com os da literatura (PAVIA, 2009).

4.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio – RMN ¹H

Todos os ligantes foram caracterizados por ressonância magnética nuclear de hidrogênio. A Tabela 4 apresenta os valores de deslocamento químico (δ_H em ppm), o número de átomos de hidrogênio correspondentes e as atribuições dos sinais para os ligantes Hbpaa-H, Hbpaa-CH₃ e Hbpaa-Br (SILVERSTEIN, WEBSTER, 2000).

Tabela 4 Deslocamentos químicos, em ppm, observados nos espectros de RMN ¹H para os compostos Hbpaa-H, Hbpaa-CH₃ e Hbpaa-Br.

Atribuições	Hbpaa-H	Hbpaa-CH ₃	Hbpaa-Br
CH ₃	-	2,25(s, 3H)	-
Ar-CH ₂ -N	3,70(s ^a , 2H)	3,66(s, 2H)	3,65(s, 2H)
	3,99(s, 2H)	3,98(s, 2H)	3,74(s, 2H)
R-CH ₂ -N	3,25(s, 2H)	3,25(s, 2H)	3,10(s, 2H)
C-H _{ar}	6,75-	6,79(d ^b , 2H)	6,71-
	6,79(t ^c d, 1H)	6,99(td, 1H)	6,75(d, 1H)
	6,89-	7,23(s, 1H)	7,23-
	6,93(dd, 1H)	7,29-	7,38(m ^d , 5H)
	7,01-	7,33(dd, 1H)	7,53(s, 1H)
	7,05(dd, 1H)	7,44(s, NH ₂)	7,73-
7,17-7,33(m, 3H)	7,41(s, NH ₂)	7,82(td, 1H)	

7,71-7,79(td,1H)	7,72- 7,79(td,1H)	8,50- 8,52(d,1H)
8,55- 8,68(d,1H _{py})	8,65- 8,68(d,H _{py})	10,50(OH)
10,81(OH)	10,57(OH)	

^a s – singlete ^c t - tripleto
^b d – dubleto ^d m – multiplete

Para todos ligantes, a presença de um singlete entre 3,10 e 3,25 ppm nos espectros de RMN ¹H, relativos aos dois hidrogênios do metileno da amida, ausentes nos espectros dos pró-ligantes, indicam a formação dos ligantes finais Hbpaa-H, Hbpaa-CH₃ e Hbpaa-Br.

4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

4.2.1. Espectroscopia no infravermelho - IV

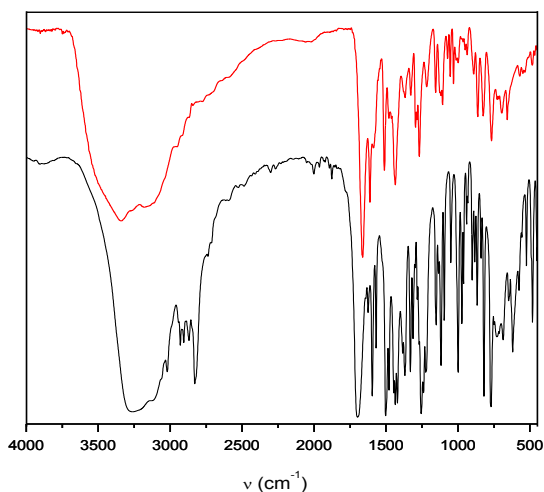
A espectroscopia no IV é geralmente utilizada como uma análise preliminar e mostrou-se muito útil na caracterização inicial dos complexos (SILVERSTEIN, WEBSTER, 2000), uma vez que a formação dos mesmos pode ser acompanhada pela presença das bandas características de cada ligante, indicando a presença do mesmo nos compostos isolados, bem como variações nas frequências de absorção dos complexos em relação aos ligantes livres. A Tabela 5 apresenta as principais bandas e respectivas atribuições para os complexos **1** – **3**.

Tabela 5 Principais bandas e atribuições dos espectros no infravermelho para os complexos **1**, **2** e **3** (SILVERSTEIN, WEBSTER, 2000).

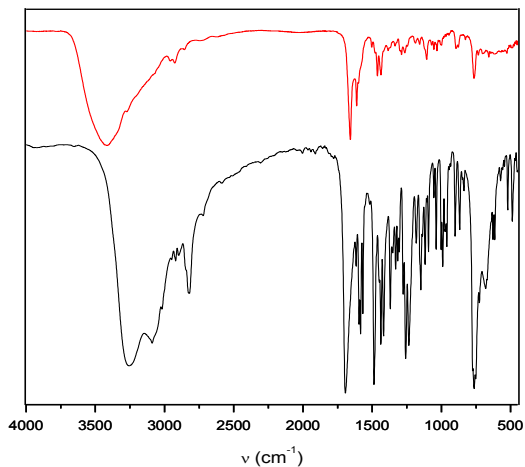
Atribuições, cm ⁻¹	Complexo 1	Complexo 2	Complexo 3
ν (O-H)	3339	3418	3347
ν (N-H _{amida})	3265-3177	-	3260-3176
ν (C-H _{ar} e C-H _{alif})	2956-2778	2966-2856	2963-2606
ν (C=O)	1667	1655	1663
ν (C=N e C=C)	1509-1429	1463-1418	1494-1430
δ (O-H) _{fenol}	1328	1335	1326
ν (C-O) _{fenol}	1216	-	1271
ν (C-N)	-	1106	1113
δ (C-H _{ar})	770	770	855 – 766

A Figura 20 ilustra uma sobreposição dos espectros na região do infravermelho dos ligantes livres com os dos complexos **1** a **3**, onde podem ser observadas as similaridades e diferenças entre esses compostos.

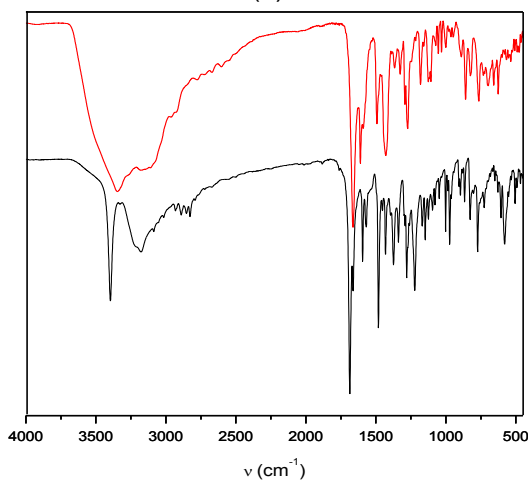
Figura 20 Sobreposição dos espectros no IV dos complexos com os seus respectivos ligantes. (a): Hbpaa-CH₃ e **1**; (b) Hbpaa-H e **2** e (c) Hbpaa-Br e **3**. (— ligantes; — complexos).



(a)



(b)



(c)

A presença da banda de média intensidade em torno de 1330 cm^{-1} no espectro dos complexos **1**, **2** e **3**, observada nos respectivos ligantes livres, devido à deformação angular fora do plano da ligação $\text{O-H}_{\text{fenol}}$, indica a coordenação dos fenóis na forma protonada do ligante nesses complexos. Os três complexos apresentam deslocamento para regiões de mais baixa frequência referente à ligação C=O da carbonila em relação aos ligantes livres

(1655 – 1667 cm^{-1} para os complexos e 1687 – 1700 cm^{-1} para os ligantes), indicando a coordenação desta com o metal.

Os três complexos apresentam ainda bandas na região entre 3339 e 3418 cm^{-1} , referentes à banda de estiramento O-H do fenol além da umidade presente na matriz (KBr) (NAKAMOTO, 1977).

4.2.2. Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis

O comportamento eletrônico dos complexos **1**, **2** e **3** foi estudado, utilizando-se como solventes diclorometano e Et_3N (devido à baixa solubilidade dos complexos no mesmo) e metanol. Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 6.

O íon cobre(II) livre possui configuração d^9 , possuindo nove elétrons distribuídos em cinco orbitais d degenerados. Estes sofrem um desdobramento em diferentes níveis de energia quando submetidos à influência de um campo ligante, possibilitando a ocorrência de transições eletrônicas do tipo $d-d$, sendo a energia de desdobramento desses orbitais fortemente influenciada pela natureza dos ligantes (HATHAWAY, 1970; HUHEEY, 1993).

O espectro eletrônico para os complexos **1**, **2** e **3** em diclorometano mostra uma banda alargada centrada na região de 700 nm, típica de transições $d-d$ do íon Cu(II) , com baixos coeficientes de absorção molar. No estado sólido os complexos **1** e **3** apresentam uma banda larga na região de 730 nm, característica de transições $d-d$, além de um ombro na região de 330 nm, enquanto o complexo **2** apresenta duas bandas pouco definidas numa região de baixa energia ($\lambda_{\text{máx}} = 760$ e 624 nm) e uma banda mais definida na região de 520 nm atribuídas a transições $d-d$, além de uma banda mais intensa numa região de mais alta energia ($\lambda_{\text{máx}} = 320$ nm). Em metanol, o espectro eletrônico dos complexos **1**, **2** e **3** mostra uma banda alargada na região de 750 nm com baixos coeficientes de absorção molar e um ombro na região de 440 nm, sendo este tentativamente atribuído a uma banda de transferência de carga fenolato $\rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$ (SCARPELLINI, 2001; PERALTA, 2005), indicando que em solução há a presença de espécies onde o fenol encontra-se desprotonado e coordenado ao centro metálico, e também espécies em que o fenol encontra-se protonado, consistente com a estrutura parcial de raios X obtida para o complexo **1** (seção 4.2.7). A partir desta observação, estudos espectroscópicos

qualitativos foram realizados para os três complexos a partir da adição de base ($\text{NaOH } 0,02 \text{ mol.L}^{-1}$) a uma solução metanólica dos complexos, levando à desprotonação do fenol, na tentativa de se observar a presença da banda de transferência de carga ligante \rightarrow metal na região de 450 nm.

Os espectros eletrônicos dos complexos **1** a **3** no estado sólido e em solução são apresentados nas Figuras 21, 22 e 23.

Tabela 6 Dados de espectroscopia eletrônica para os complexos **1**, **2** e **3**.

Complexo	Sólido ^a $\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	CH_2Cl_2 $\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{mol.L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	MeOH $\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{mol.L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)
1	740	719(65)/ 397(ombro)	746(53)/ 443(ombro)
2	520/760/624/ 320	710(75)/ 390(ombro)	740(71)/ 445(ombro)
3	728	700(65)/ 397(ombro)	755(57)/ 447(ombro)

^a em KBr.

Figura 21 Espectro eletrônico do complexo 1. (a) (— MeOH; — CH₂Cl₂) estado sólido no canto superior direito. CH₂Cl₂ e Et₃N ([C] = 4,6x10⁻³ mol.L⁻¹), MeOH ([C] = 4,0 x 10⁻³ mol.L⁻¹); (b) Adição de NaOH 0,02 mol.L⁻¹ mostrando a presença da banda de transferência de carga fenolato → Cu^{II}. [C] = 1,5x10⁻³ mol.L⁻¹.

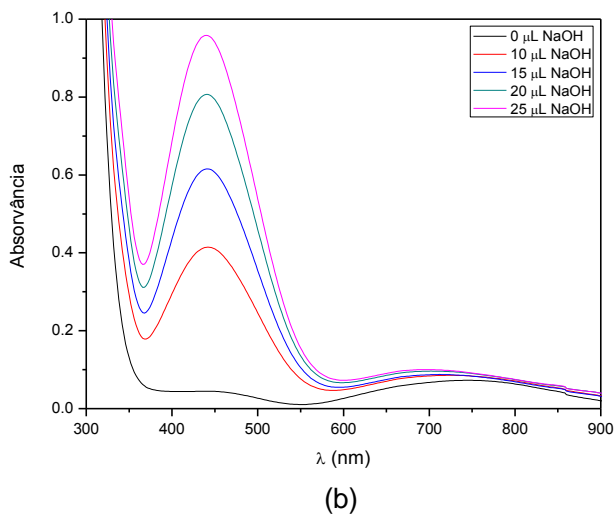
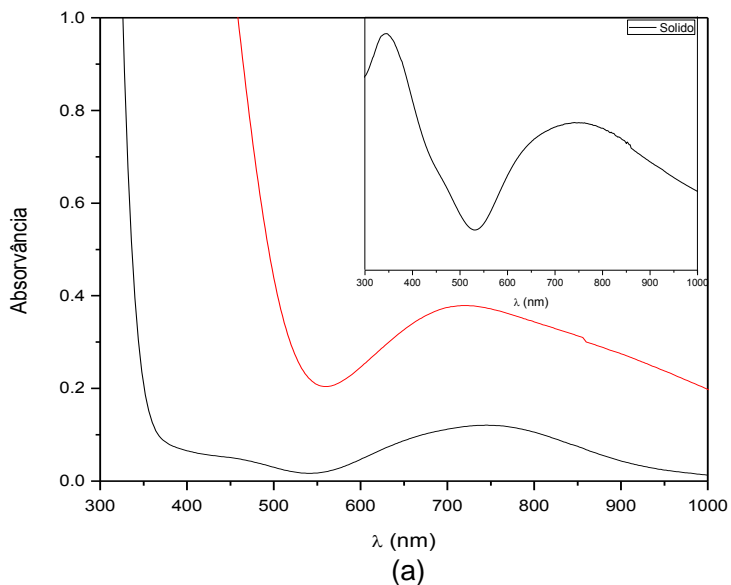
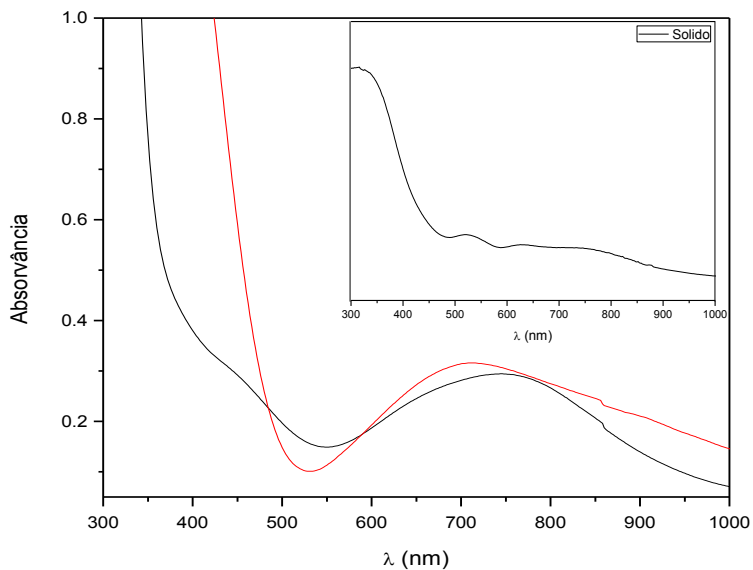
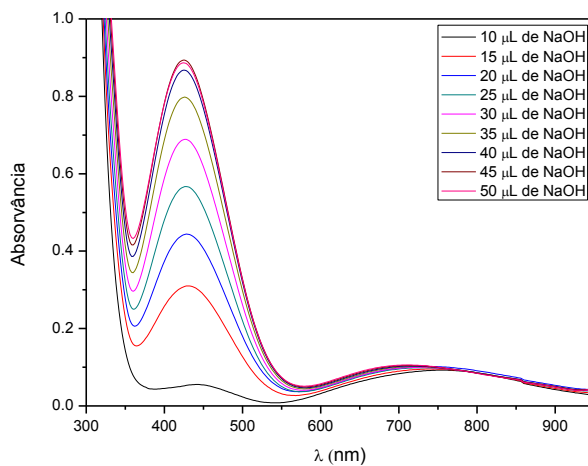


Figura 22 Espectro eletrônico do complexo **2**. (a) (— MeOH; — CH₂Cl₂), estado sólido no canto superior direito. CH₂Cl₂ e Et₃N ([C] = 4,6x10⁻³ mol.L⁻¹), MeOH ([C] = 2,27 x 10⁻³ mol.L⁻¹); (b) Adição de NaOH 0,02 mol.L⁻¹ mostrando a presença da banda de transferência de carga fenolato → Cu^{II}. [C] = 1,5 x 10⁻³ mol.L⁻¹.

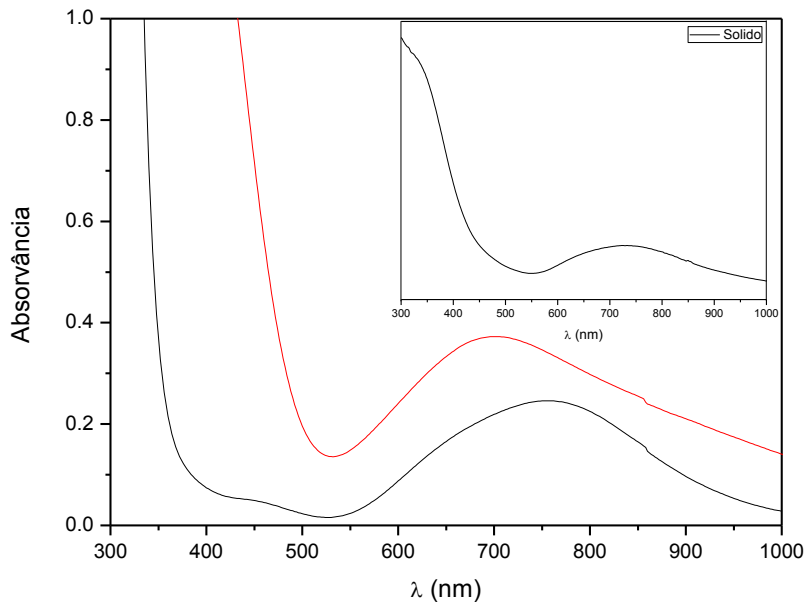


(a)

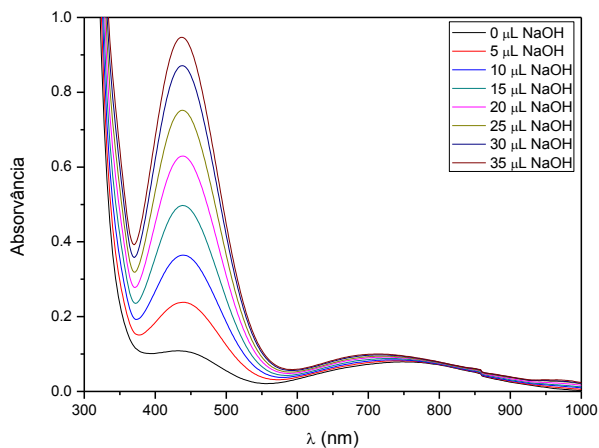


(b)

Figura 23 Espectro eletrônico do complexo **3**. (a) (— MeOH; — CH₂Cl₂) estado sólido no canto superior direito. CH₂Cl₂ e Et₃N ([C] = 4,6x10⁻³ mol.L⁻¹), MeOH ([C] = 4,5 x 10⁻³ mol.L⁻¹); (b) Adição de NaOH 0,02 mol.L⁻¹ mostrando a presença da banda de transferência de carga fenolato → Cu^{II}. [C] = 1,5 x 10⁻³ mol.L⁻¹.



(a)

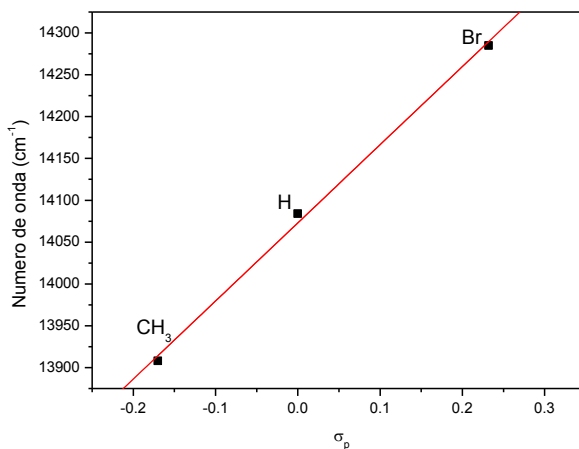


(b)

Como observado nas Figuras 21, 22 e 23, o estudo com adição de base (NaOH) em solução metanólica mostra que conforme a base é adicionada, esta desprotona o fenol coordenado ao centro de Cu(II), resultando na presença de uma banda de transferência de carga fenolato \rightarrow Cu^{II} em aproximadamente 450 nm nos espectros dos complexos **1**, **2**, e **3**.

A Figura 24 mostra a correlação linear entre o número de onda *versus* constantes de Hammett (σ_p) para os complexos **1**, **2** e **3**, onde observa-se um deslocamento hipsocrômico, ou seja, para maior energia, nos valores de $\lambda_{\text{máx}}$ considerando-se do substituinte doador de elétrons por efeito indutivo (CH₃), para o retirador de elétrons por efeito indutivo (Br) (PERALTA, 2010). Esta correlação de Hammett pode ser observada em CH₂Cl₂ por se tratar de um solvente não coordenante, mantendo a esfera de coordenação do centro metálico intacta. Já em solução metanólica, esta correlação não é observada, uma vez que o metanol é um solvente coordenante, que altera a esfera de coordenação do centro metálico, e conseqüentemente a geometria do mesmo. No estado sólido também não é observada a correlação de Hammett, o que sugere que no estado sólido os complexos **1**, **2** e **3** assumem estruturas diferentes.

Figura 24 Comparação entre os máximos de absorção da banda *d-d* vs constantes de Hammett (σ_p) em CH₂Cl₂.



4.2.3 Condutividade molar

Medidas de condutividade molar foram efetuadas em soluções recém preparadas dos complexos com concentrações de $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Os complexos **1**, **2** e **3** foram analisados em soluções de CH_3CN . Os resultados de condutividade molar (Λ_M) para os complexos **1**, **2** e **3** são apresentados na Tabela 7. Através dos valores obtidos nenhuma conclusão pode ser obtida com respeito ao tipo de eletrólito presente em solução para os complexos **1**, **2** e **3**, uma vez que em CH_3CN a faixa de valores de condutividade molar que caracteriza eletrólitos do tipo 1:1 encontra-se entre $120 - 160 \text{ } \Omega^{-1}.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^2$. Assim, os valores de condutividade molar obtidos para os complexos **1**, **2** e **3** podem ser referentes a presença de uma mistura de espécies protonadas/desprotonadas em solução, como observado no estudo de espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis (seção 4.2.2).

Tabela 7 Resultados da condutivimetria para os complexos **1**, **2** e **3**.

Complexo	$\Lambda_M (\Omega^{-1}.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^2)$
1	55,77
2	61,80
3	45,46

4.2.4. Espectrometria de Massa

Os espectros de massa dos complexos **1** a **3**, bem como os respectivos espectros simulados, são apresentados nas Figuras 25, 26 e 27. Para a realização das medidas dos três complexos, os mesmos foram solubilizados em MeOH e posteriormente diluídos em CH_3CN devido à baixa solubilidade dos complexos em acetonitrila.

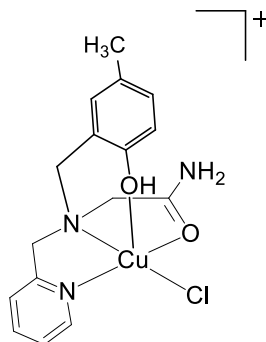
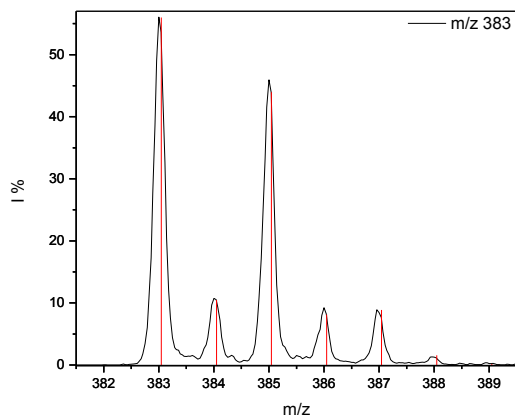
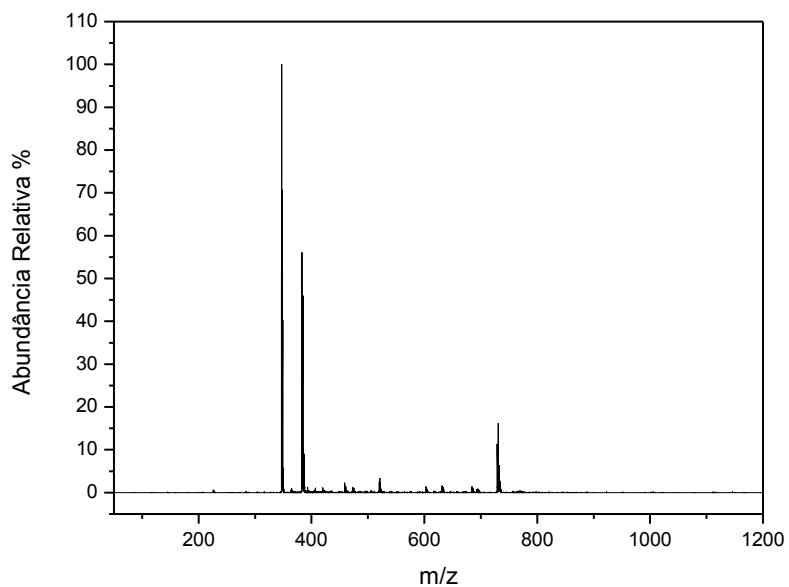
O complexo **1** apresenta um grupo de picos em razão massa/carga 383, o qual pode ser atribuído à espécie $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl})]^+$, indicando que o ligante permanece intacto ao se coordenar ao átomo de cobre – com o fenol permanecendo protonado – além da coordenação de um átomo de cloro ao centro metálico. Outro grupo de picos foi observado em razão massa/carga 729, o qual pode ser atribuído à espécie dimérica $[(\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_4)\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{Cl})]^+$, onde os grupos fenólicos permaneceriam

desprotonados e o átomo de cloro faria a ponte entre os dois centros metálicos.

O complexo **2** apresenta um grupo principal de picos na razão massa/carga de 369, o qual pode ser atribuído à espécie $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl})]^+$, apresentando o mesmo comportamento observado em **1**, onde o fenol permanece protonado e há a possível coordenação de um átomo de cloro ao centro metálico. Outro grupo de picos em razão massa/carga 411 pode ser atribuído à espécie $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl})]^+$, onde além do átomo de cloro, sugere-se que uma molécula do solvente acetonitrila também coordena-se ao átomo de cobre. Um terceiro grupo de picos em razão massa/carga 701 pode ser atribuído à espécie dimérica $[(\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_4)\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{Cl})]^+$, apresentando o mesmo comportamento do complexo **1**, onde os grupos fenólicos permaneceriam desprotonados e o átomo de cloro atuaria como uma possível ponte entre os dois centros metálicos.

Já o complexo **3** apresenta um grupo principal de picos em razão massa/carga 350,04, o qual pode ser atribuído à espécie $[(\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{BrN}_3\text{O}_2)]^+$, ou seja, ao ligante HbpaaBr protonado (M+1). O grupo de picos em razão massa/carga 410,91 pode ser atribuído à espécie $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2)]^+$, indicando que o fenol encontra-se desprotonado e, diferentemente dos outros dois complexos, não observa-se a presença de um átomo de cloro coordenado ao centro metálico.

Figura 25 Espectro de massa ESI-MS do complexo 1 em CH_3CN . Simulação das espécies (a) m/z 383 $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl})]^+$; (b) m/z 729 $[(\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_4)\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{Cl})]^+$. (— Experimental), (— Simulado).



$m/z = 383$

(a)

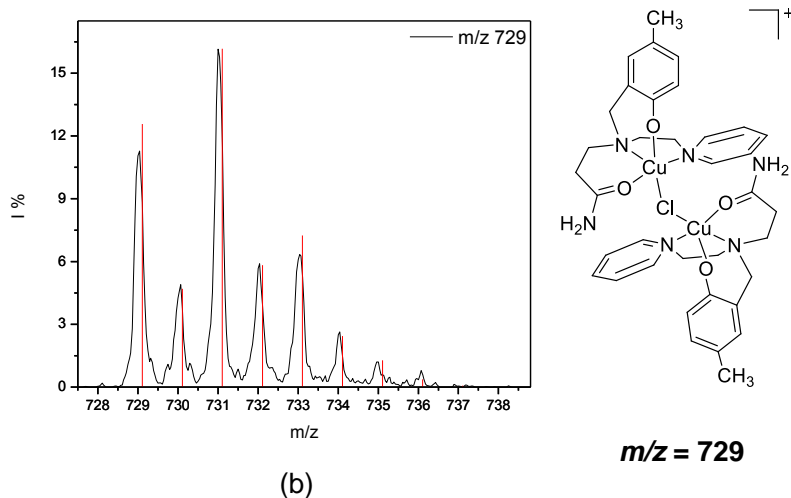
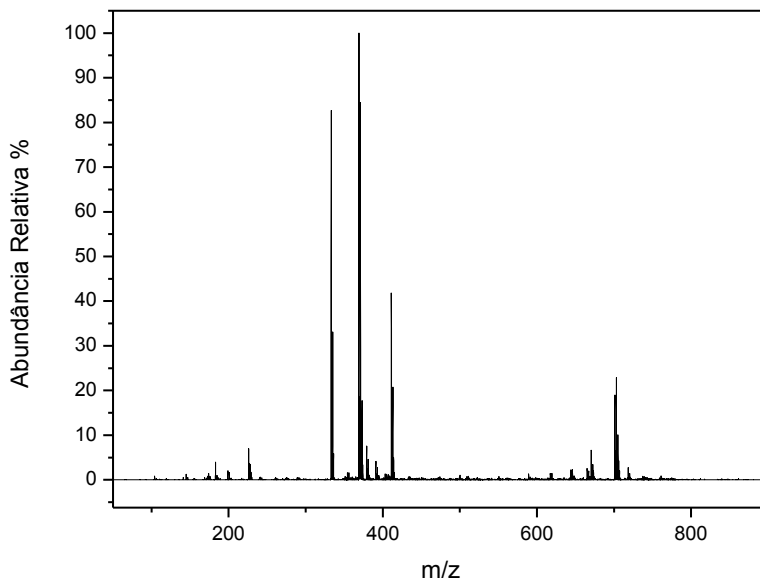
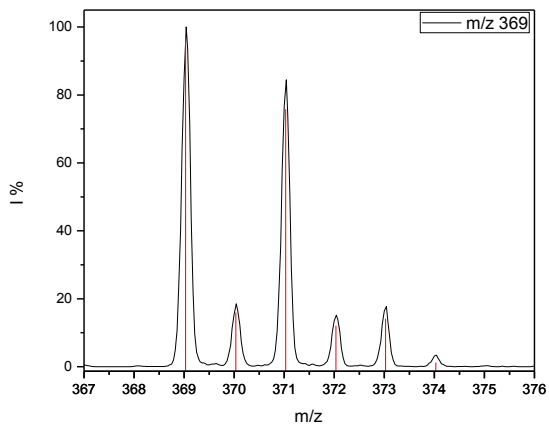
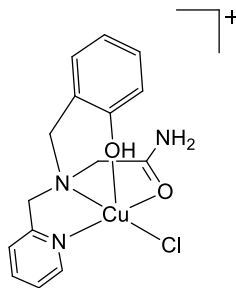
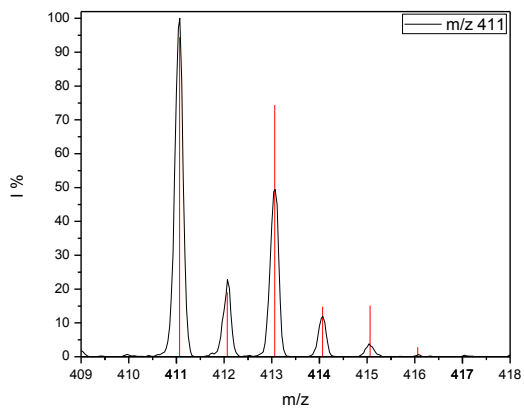


Figura 26 Espectro de massa ESI-MS do complexo **2** em CH_3CN . Simulação das espécies (a) m/z 369 $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl})]^+$; (b) m/z 411 $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl})]^+$; (c) m/z 701 $[(\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_4)\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{Cl})]^+$. (— Experimental), (— Simulado).

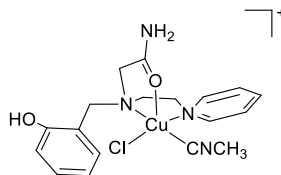




(a)

 $m/z = 369$ 

(b)

 $m/z = 411$

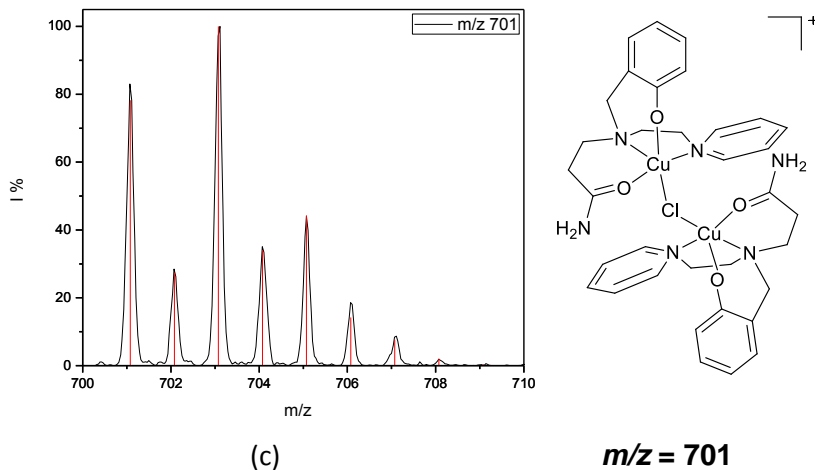
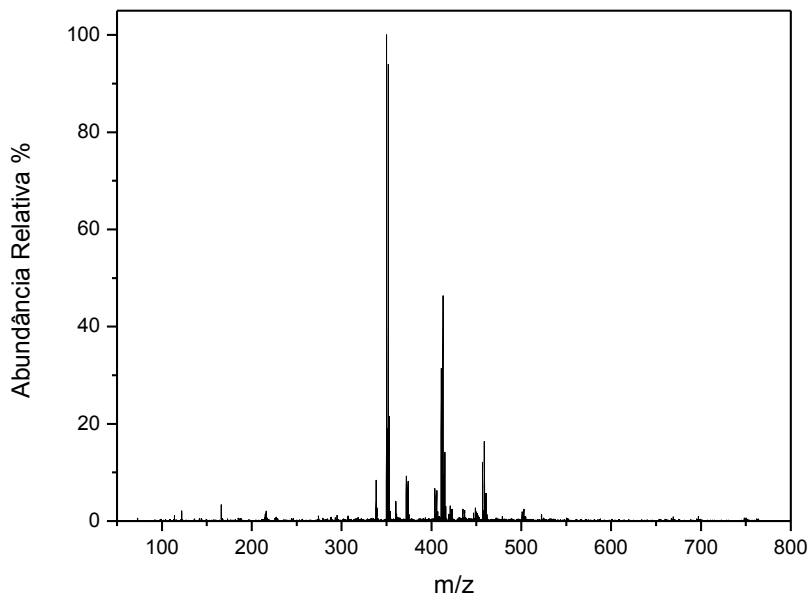
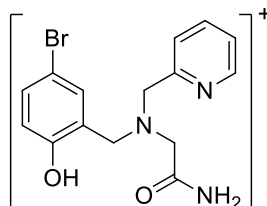
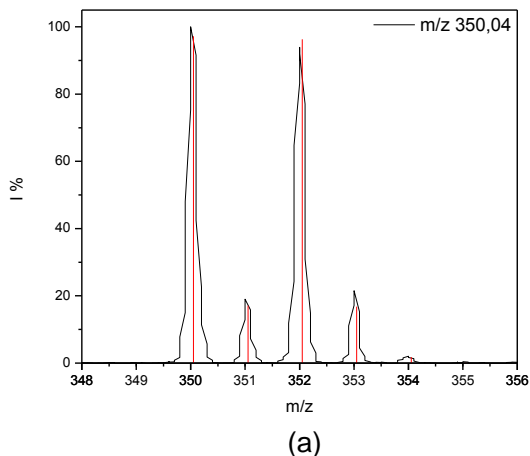
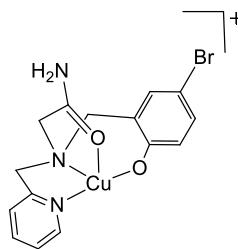
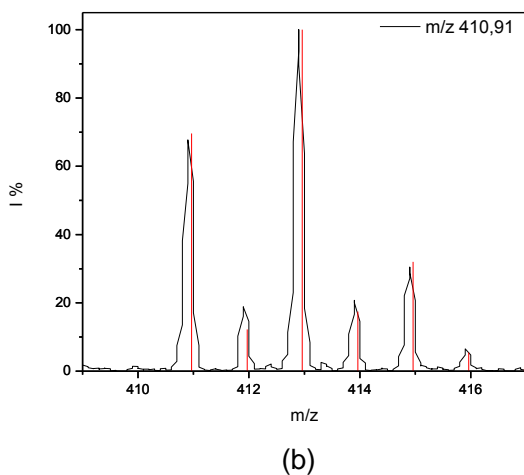


Figura 27 Espectro de massa ESI-MS do complexo **3** em CH_3CN . Simulação das espécies (a) m/z 350,04 $[(\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{BrN}_3\text{O}_2)]^+$; (b) m/z 410,91 $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{BrN}_3\text{O}_2)]^+$. (— Experimental), (— Simulado).





m/z = 350,04



m/z = 410,91

4.2.5 Eletroquímica

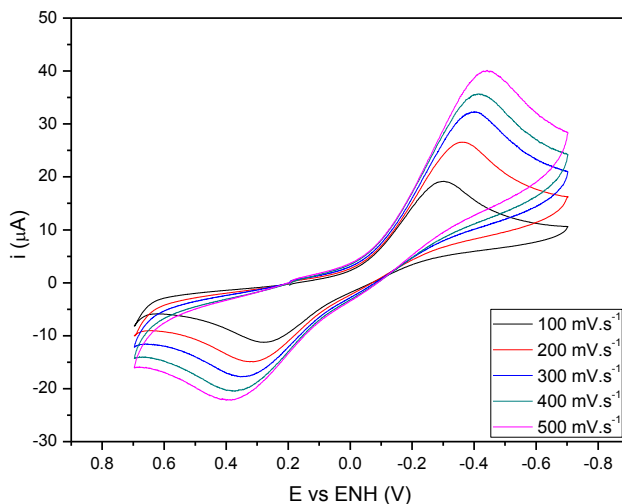
O comportamento eletroquímico dos complexos foi investigado através da técnica de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada em solução MeOH/H₂O (1:1) na presença de tampão e LiClO₄ (meio da cinética de oxidação – seção 4.2.8.2), onde o LiClO₄ serviu como eletrólito suporte. Os potenciais de redução foram referenciados ao eletrodo normal de hidrogênio (ENH) pelo uso do eletrodo de referência comercial Ag/AgCl (BASi). O

comportamento eletroquímico dos complexos também foi estudado em pH ácido, e os resultados e discussão encontram-se no Apêndice 1 deste trabalho. Os voltamogramas obtidos para os complexos são apresentados nas Figuras 28, 29 e 30, e os potenciais catódicos (E_{pc}) para os processos eletroquímicos na Tabela 8.

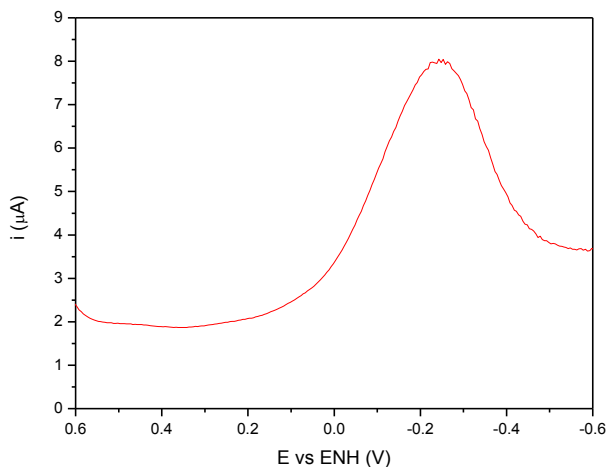
Tabela 8 Dados de eletroquímica para os complexos 1, 2 e 3.

Complexo	Meio	E_{pc} V vs ENH	pH
1	cinético	-0,243	8,5
2	cinético	-0,273	8,5
3	cinético	-0,175	8,5

Figura 28 Voltamogramas para o complexo 1 ($3,5 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹), em MeOH/H₂O. Eletrodo de trabalho: Carbono; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito suporte: LiClO₄ 0,05 mol.L⁻¹. Tampão (0,5 mol.L⁻¹); pH 8,5 (Tampão TRIS) (a) Voltametria Cíclica e (b) Voltametria de onda quadrada (pulso – 25 mV, frequência = 15 Hz).

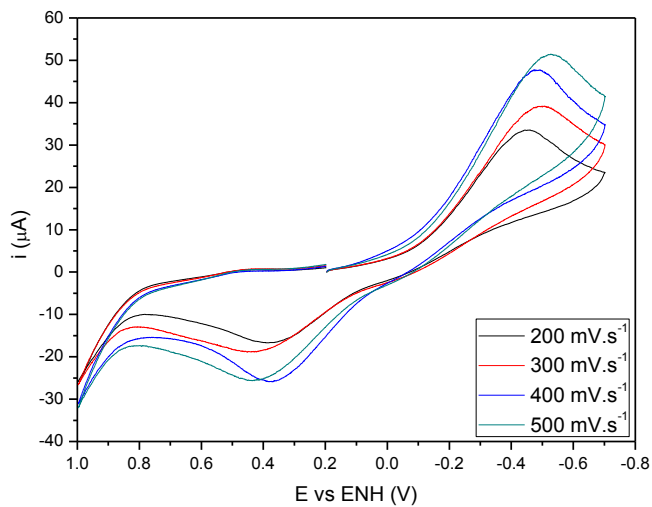


(a)

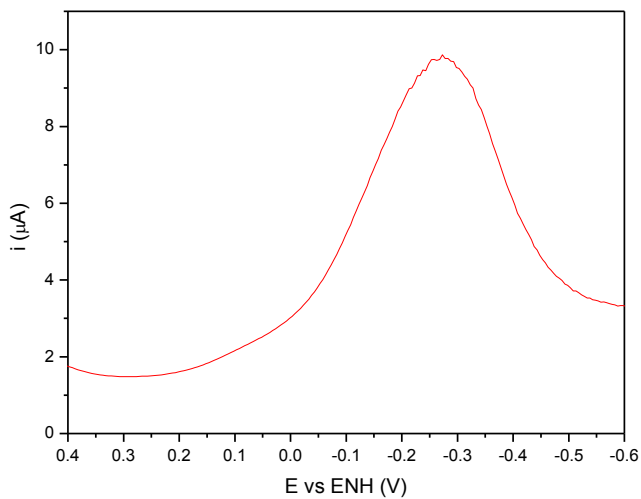


(b)

Figura 29 Voltamogramas para o complexo **2** ($3,5 \times 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$), em MeOH/H $_2$ O. Eletrodo de trabalho: Carbono; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito suporte: LiClO $_4$ 0,05 mol.L $^{-1}$. Tampão (0,5 mol.L $^{-1}$); pH 8,5 (Tampão TRIS) (a) Voltametria Cíclica e (b) Voltametria de onda quadrada (pulso – 25 mV, frequência = 15 Hz).

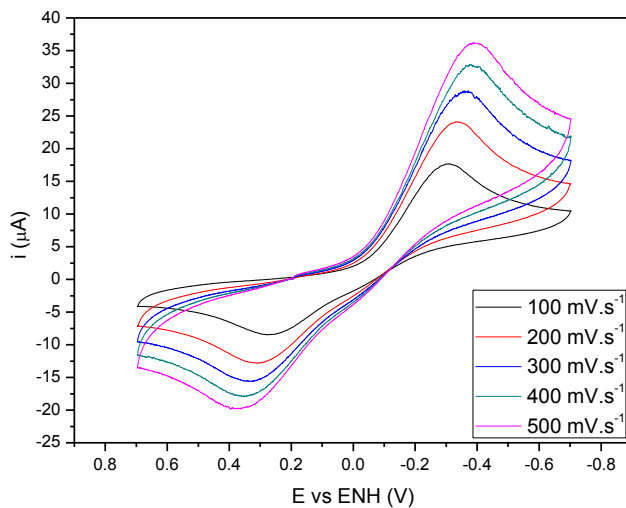


(a)

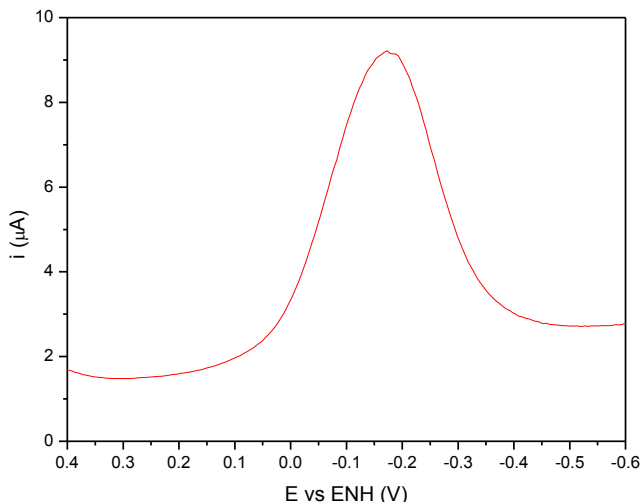


(b)

Figura 30 Voltamogramas para o complexo **3** ($3,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$), em MeOH/ H_2O . Eletrodo de trabalho: Carbono; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito suporte: LiClO_4 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$. Tampão ($0,5 \text{ mol.L}^{-1}$); pH 8,5 (Tampão TRIS) (a) Voltametria Cíclica e (b) Voltametria de onda quadrada (pulso – 25 mV, frequência = 15 Hz).



(a)



(b)

Como pode ser observado nas Figuras 28, 29 e 30, os complexos **1**, **2** e **3** apresentam um comportamento parecido tanto para a voltametria cíclica quanto para a voltametria de onda quadrada. Na voltametria de onda quadrada, pode-se observar uma onda de redução a -0,243, -0,273 e -0,175 para os complexos **1**, **2** e **3** respectivamente, sendo estas atribuídas ao processo redox $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}$. A onda de oxidação observada entre os potenciais 0,2 a 0,5 para os três complexos na voltametria cíclica pode ser atribuída à deposição de cobre(0) na superfície do eletrodo, o que gera uma característica típica de um processo de redissolução durante a varredura no sentido reverso. Os valores de E_{pc} em pH 8,5 para os complexos **1** e **2** em potenciais mais negativos são consistentes com os valores obtidos por Oliveira em seu trabalho, onde o mesmo apresenta um complexo mononuclear de cobre com o ligante HL¹ (OLIVEIRA *et al.*, 2005), o qual possui duas unidades piridínicas, além de um fenol com um grupo metil substituído na posição para. Uma análise comparativa entre os voltamogramas obtidos para os complexos mostra o deslocamento anódico do processo $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}$ para os complexos **1** e **3**, devido à diminuição da densidade eletrônica, pelo grupo Br, sobre o centro de cobre(II), uma vez que o grupo Br é elétron retirador, o que leva à uma maior estabilização da espécie reduzida (PERALTA, 2005).

4.2.6 Titulação Potenciométrica

Os estudos de titulação Potenciométrica dos complexos **1** a **3** foram realizados em solução metanol/água (1:1 v/v). Esses experimentos foram realizados para avaliar a presença das moléculas de água coordenadas ao centro metálico quando os complexos se encontram em solução. Isto é possível devido à labilidade dos ânions cloreto em solução. Para os complexos **2** e **3** as curvas de equilíbrio potenciométrico revelaram um consumo de três mols de base por mol de complexo na região de pH entre 3,00 e 12,00. Já para o complexo **1**, as curvas de equilíbrio potenciométrico revelaram o consumo de dois mols de base por mol de complexo na região de pH entre 3,00 e 12,00. O tratamento destes dados levou à obtenção de três constantes de desprotonação para os complexos **2** e **3**, e de duas constantes de desprotonação para o complexo **1**, cujos valores são apresentados na Tabela 9 e os gráficos de distribuição de espécies podem ser vistos na Figura 31.

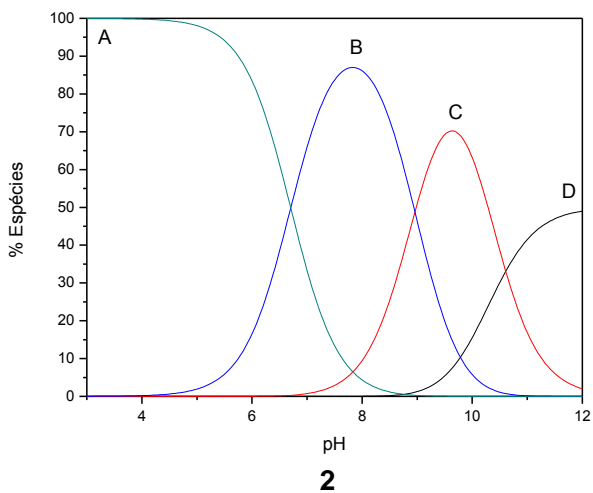
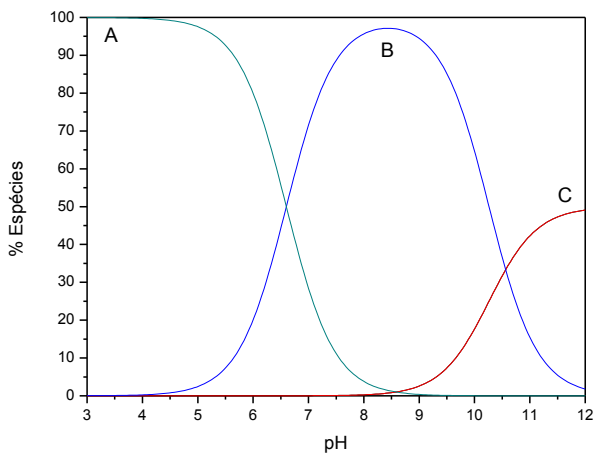
Para os complexos **1**, **2** e **3**, a primeira constante pode ser atribuída à desprotonação do grupo fenol (NEVES, 2002; PERALTA, 2005; OLIVEIRA, 2009). Considerando-se o efeito do grupo substituinte para os complexos **1**, **2** e **3**, a retirada de densidade eletrônica sobre o anel fenólico provoca um aumento de sua acidez, diminuindo assim o valor encontrado para a primeira constante de desprotonação, já substituintes elêtron-doadores provocam o efeito contrário. Desta forma, o complexo **1**, que possui um grupo metila (elêtron indutor) apresenta o maior valor de pK_a , quando comparado com os valores obtidos para o complexo **2** (5,70) e **3** (4,86) (PERALTA, 2005). A segunda constante de desprotonação obtida para os complexos **2** e **3** é atribuída à desprotonação de uma molécula de água coordenada ao átomo de cobre (OLIVEIRA, 2009).

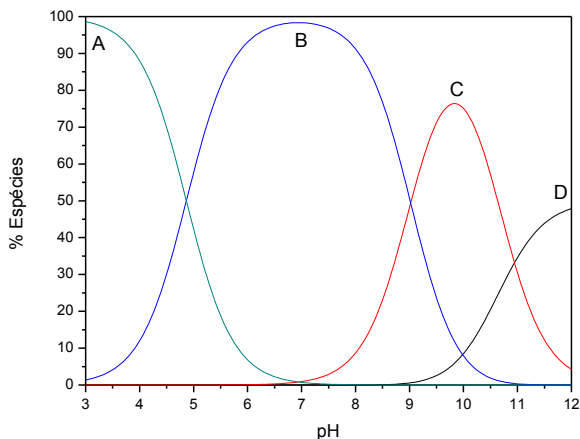
Para o complexo **1**, a segunda, e para os complexos **2** e **3** a terceira constante, pode ser atribuída à uma segunda molécula de água coordenada ao átomo de cobre, ou à formação de um dímero em valores de pH mais elevados.

Tabela 9 Valores de pK_a para a desprotonação do fenol e das moléculas de água para os complexos **1**, **2** e **3**.

Complexo	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}
1	$6,60 \pm 0,2$	-	$10,56 \pm 0,06$
2	$5,70 \pm 0,02$	$8,96 \pm 0,04$	$10,60 \pm 0,05$
3	$4,86 \pm 0,1$	$9,02 \pm 0,03$	$10,94 \pm 0,06$

Figura 31 Gráfico de distribuição de espécies para os complexos **1**, **2** e **3** em função do pH com força iônica de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ KCl à $25 \text{ }^\circ\text{C}$.





3

Uma proposta para os equilíbrios observados em solução para o complexo **1** pode ser vista na Figura 32, e para os complexos **2** e **3** na Figura 33.

Figura 32 Proposta para o equilíbrio observado para o complexo **1** em solução.

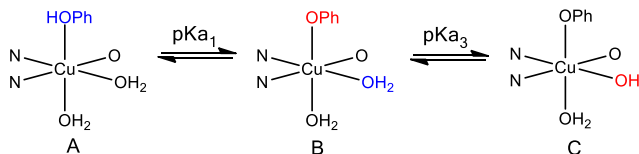
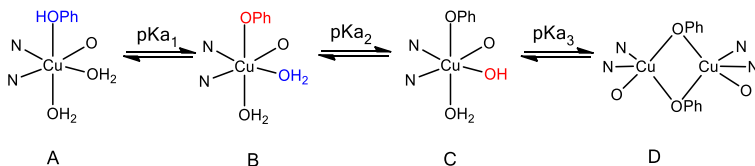


Figura 33 Proposta para o equilíbrio observado para os complexos **2** e **3** em solução.



4.2.7. Determinação da estrutura cristalina

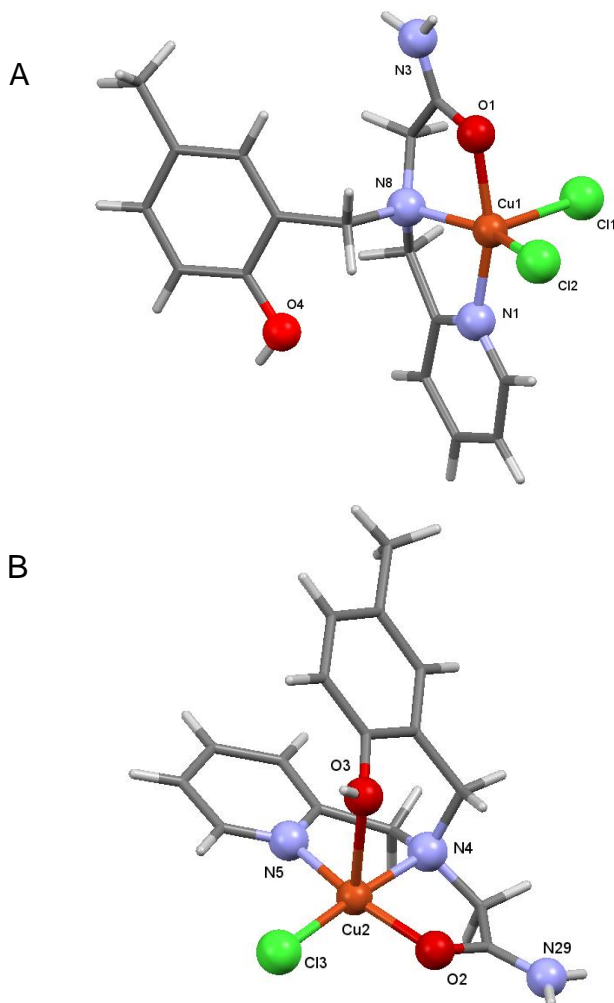
A estrutura cristalina parcial do complexo **1** foi obtida através da análise de difração de raios X por monocristal. Os dados cristalográficos obtidos para este complexo estão sumarizados na Tabela 10.

Tabela 10 Dados Cristalográficos da estrutura parcial do complexo 1.

	Complexo 1
Temperatura (K)	173(2)
Sistema cristalino	Triclinico
Grupo espacial	P-1
a	12.1062(6) Å
b	12.8743(6) Å
c	16.2935(7) Å
α	83.083(2)°
β	82.983(2)°
γ	74.820(2)°
Volume, Å ³	2422.13(19)

Por apresentar várias moléculas de solvente na cela unitária, dificultando assim o refinamento da estrutura cristalina, apenas o modo de coordenação do complexo foi obtido. A cela unitária revelou a presença de duas moléculas do complexo, cada uma com um modo de coordenação diferente referente ao átomo de oxigênio do fenol presente no complexo. A Figura 34 mostra a representação da estrutura cristalina para o complexo 1.

Figura 34 Representação da estrutura parcial do complexo **1**. A) Estrutura com fenol não coordenado ao centro metálico e B) Estrutura mostrando o fenol protonado coordenado ao centro metálico.



O complexo **1** cristaliza na forma de monocristais verdes pertencentes ao sistema cristalino triclinico e grupo espacial P-1. Os dados obtidos da resolução da estrutura revelam duas unidades mononucleares. Os centros de cobre Cu1 e Cu2 estão pentacoordenados. A esfera de coordenação do complexo **1** em A

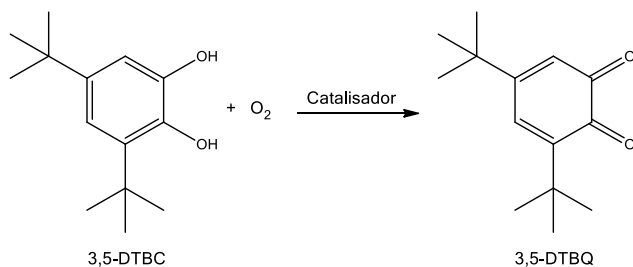
é composta de dois átomos de nitrogênio provenientes da piridina e da amina terciária, de um átomo de oxigênio proveniente da amida e, completando a esfera de coordenação, dois átomos de cloro. Em B, a esfera de coordenação do complexo **1** é composta de dois átomos de nitrogênio provenientes da piridina e da amina terciária, de um átomo de oxigênio proveniente da amida, de um átomo de oxigênio proveniente do fenol, e de um átomo de cloro. Em ambas as moléculas, o átomo de oxigênio do fenol encontra-se protonado, onde observa-se que em B o fenol encontra-se coordenado ao átomo de cobre em sua posição axial.

4.2.8 Reatividade

Os complexos **1**, **2** e **3** apresentaram a característica de possuírem sítios lábeis, indicando que possam ser testados quanto a suas atividades oxidativas. Assim, experimentos cinéticos foram realizados para investigar a capacidade dos complexos **1**, **2** e **3** de promover a oxidação do substrato modelo 3,5-di-*tert*-butilcatecol (3,5-DTBC), que tem como produto a 3,5-di-*tert*-butilquinona (3,5-DTBQ), segundo a equação apresentada no Esquema 4, e que em 400 nm, possui um $\epsilon = 1645 \text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Este substrato foi escolhido por apresentar um baixo potencial redox, o que facilita a formação da 3,5-DTBQ, além dos substituintes volumosos impedirem que ocorram reações como a abertura do anel (BANU *et al.*, 2008; PANDA *et al.*, 2011; MARION *et al.*, 2012).

Esquema 4 Oxidação do 3,5-DTBC na presença de O_2 .



Assim, nesses estudos foram investigados os efeitos do pH e da concentração do substrato sobre a velocidade de oxidação do 3,5-DTBC catalisada pelos complexos **1**, **2** e **3**.

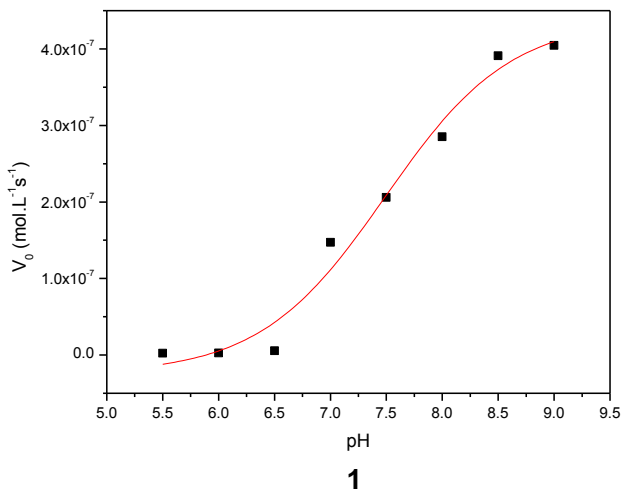
4.2.8.1 Efeito do pH na oxidação do 3,5-DTBC

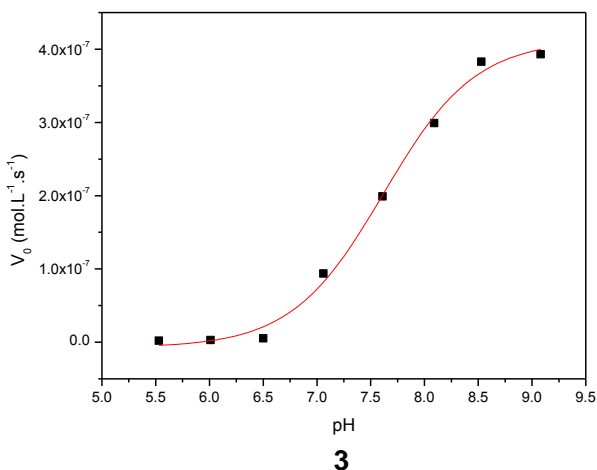
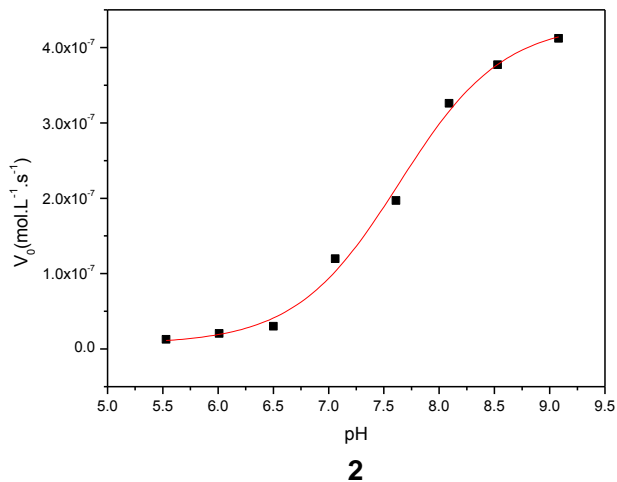
O estudo do efeito do pH sobre a velocidade da reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC catalisada pelos complexos **1**, **2** e **3** foi realizado com o intuito de se analisar a influência do pH para cada sistema, encontrando o valor de pH ótimo para a reação. De forma semelhante, é de grande interesse determinar o pK_a cinético para cada reação, em que pode-se comparar os valores obtidos para este com o estudo de equilíbrio químico em solução, possibilitando assim se determinar a espécie responsável pela atividade de oxidação.

A atividade de oxidação do substrato 3,5-DTBC foi investigada em uma faixa de pH entre 5,5 e 9,0, em que observa-se duas regiões onde a velocidade da reação é independente do pH e uma faixa intermediária em que a mesma é influenciada com o aumento do pH.

A Figura 35 apresenta os gráficos de velocidade inicial (v_0) em função do pH obtidos para os complexos **1**, **2** e **3**.

Figura 35 Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-DTBC com o pH para os complexos **1**, **2** e **3**. Condições: $[C] = 2,94 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $[3,5\text{-DTBC}] = 7,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{Tampões}] = 2,94 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 5,5 – 6,5 MES; pH 7,0 -9,0 TRIS); solução MeOH/H₂O (30:1) a 25 °C.





Os dados obtidos pelo estudo do efeito de pH foram ajustados pelo modelo de Boltzmann, por apresentarem um perfil sigmoidal, de maneira que o ponto de inflexão das curvas forneceu os valores de pK_a cinético podem ser atribuídos à desprotonação do próprio substrato 3,5 – DTBC.

Tabela 11 Valores de pK_a para umas das moléculas de água coordenadas ao centro de cobre(II) para os complexos **1**, **2** e **3**.

Complexo	pH ótimo	pK_a cinético	pK_a potenciométrico
1	$\geq 8,5$	7,50	-
2	$\geq 8,5$	7,64	8,96
3	$\geq 8,5$	7,62	9,02

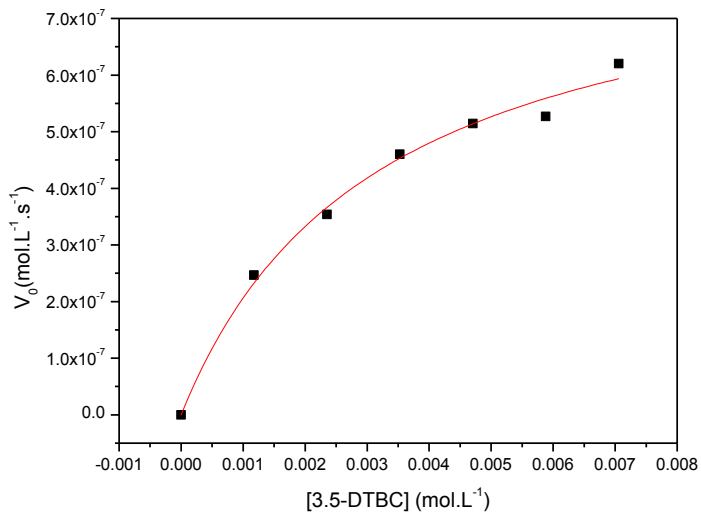
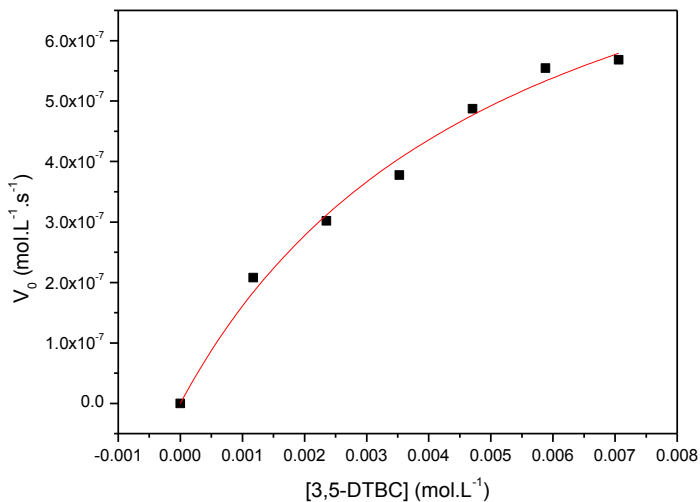
4.2.8.2 Efeito da concentração do substrato na reação de oxidação do 3,5-DTBC

Com o objetivo de se determinar os parâmetros cinéticos da reação de oxidação do 3,5-DTBC catalisada pelos complexos **1**, **2** e **3**, estudos da influência da concentração do substrato 3,5-DTBC sobre a velocidade de oxidação do mesmo foram investigados em pH 8,5.

A Figura 36 apresenta os gráficos de velocidade inicial (v_0) em função da concentração do 3,5-DTBC para os complexos **1**, **2** e **3**.

Observa-se, na Figura 34, que com o aumento da concentração do substrato, as curvas tendem a um perfil de saturação. Esta dependência da velocidade com a concentração do substrato sugere que a reação de oxidação ocorre com a formação de um intermediário complexo-substrato. Assim, o modelo de Michaelis-Menten pôde ser aplicado para os três sistemas. Os parâmetros cinéticos estão apresentados na Tabela 12.

Figura 36 Dependência da velocidade de reação do 3,5-DTBC com a concentração do substrato para os complexos **1**, **2** e **3**. Condições: $[C] = 2,94 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $[3,5\text{-DTBC}] = 1,2\text{-}7,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{Tampão}] = 2,94 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ (TRIS, pH 8,5) em solução MeOH/H₂O (30:1) a 25 °C.

**1****2**

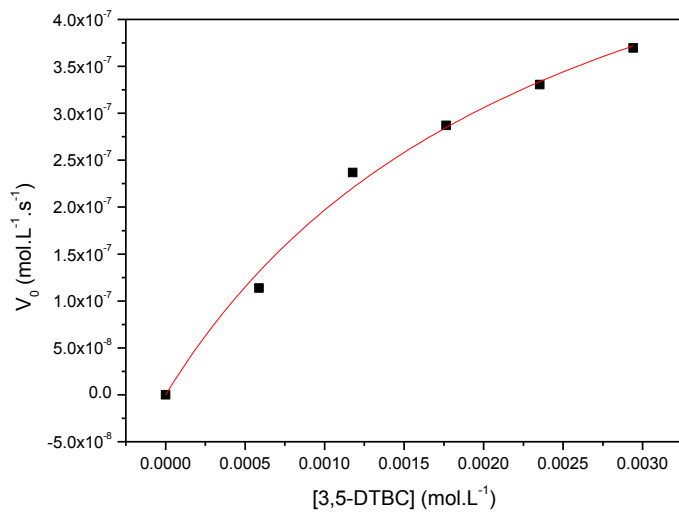
**3**

Tabela 12 Comparação dos parâmetros cinéticos de alguns complexos selecionados e da catecol oxidase da *Ipomoea batatas*. Ref.: ^a(EICKEN , ZIPPEL, *et al.*, 1998); ^b(OSÓRIO, 2007); ^c(PANDA *et al.*, 2011).

	$V_{om\acute{a}x}$ (mol.L. ⁻¹ .s ⁻¹)	K_{cat} (s ⁻¹)	K_m (mol.L. ⁻¹)	K_{ass} (L.mol ⁻¹)	$E=K_{cat}/K_m$ (L.mol ⁻¹ .s ⁻¹)
Catecol Oxidase ^a	-	2293,0	$2,5 \times 10^{-3}$	400	$9,17 \times 10^5$
A^b	$5,58 \times 10^{-7}$	0,023	$2,66 \times 10^{-3}$	375,2	8,75
2b^c	$5,98 \times 10^{-7}$	$1,6 \times 10^{-3}$	$2,70 \times 10^{-3}$	370,4	0,59
1	$(9,18 \pm 0,58) \times 10^{-7}$	$0,031 \pm 0,21$	$(3,50 \pm 0,33) \times 10^{-3}$	$288,3 \pm 27,18$	$8,95 \pm 0,28$
2	$(9,99 \pm 0,15) \times 10^{-7}$	$0,034 \pm 0,05$	$(4,56 \pm 0,75) \times 10^{-3}$	$225,4 \pm 37$	$7,63 \pm 1,15$
3	$(3,75 \pm 0,07) \times 10^{-7}$	$0,013 \pm 0,03$	$(1,37 \pm 0,1) \times 10^{-3}$	$733,8 \pm 53,6$	$9,32 \pm 0,5$

De acordo com a Tabela 12, a presença dos grupos substituintes nos complexos **1**, **2** e **3** não influenciou de maneira significativa a atividade catalítica dos complexos na oxidação do substrato 3,5-DTBC, sendo que estes apresentaram valores de eficiência catalítica muito parecidos. Entretanto estes mostraram-se mais eficientes frente à oxidação de catecóis quando comparados com outro complexo mononuclear de cobre(II) com ligantes contendo unidades N,O doadoras (**2b**) reportado por Panda e colaboradores (PANDA, 2011). Também os três complexos apresentaram valores de eficiência catalítica próximos do obtido por um complexo binuclear de cobre(II) (**A**) com ligantes contendo grupos *tert*-butil substituídos no anel fenólico (OSÓRIO, 2007).

Para fins de esclarecimento do mecanismo desempenhado pelo complexo na oxidação do substrato 3,5-DTBC, foi realizado um teste de detecção de peróxido. Através de modificação do método de iodometria, foi estudada a formação de peróxido de hidrogênio durante a reação de oxidação do 3,5-DTBC catalisada pelos complexos **1**, **2** e **3**. O teste foi positivo para a presença de H₂O₂, que foi confirmado pela reação com iodeto gerando I₃⁻ (NEVES, ROSSI *et al.*, 2002), de forma que a oxidação dos complexos ocorra seguindo a estequiometria 3,5-DTBC + O₂ → 3,5-DTBQ + H₂O₂.

Embora a detecção de peróxido de hidrogênio já tenha sido reportada na literatura, o mecanismo exato da formação de H₂O₂ na reação de oxidação de substratos modelo ainda não foi completamente esclarecido (KOVAL, 2006). Para complexos mononucleares, um dos mecanismos em discussão, é que somente um elétron deve ser transferido resultando na formação de um intermediário Cu(I)-semiquinona. Em sequência, a reação desta espécie com oxigênio deve resultar na redução de dois elétrons da molécula O₂. Este processo resultaria na reoxidação do centro de cobre, na liberação da molécula de quinona e na formação do peróxido de hidrogênio, sendo que somente uma molécula de quinona estaria se formando por ciclo catalítico. Outra característica deste mecanismo proposto é que um intermediário radicalar estaria se formando (KAIZER, 2002).

De acordo com os resultados obtidos, a proposta de um mecanismo pelo qual os complexos **1**, **2** e **3** estariam oxidando o substrato modelo 3,5-DTBC ao seu correspondente produto quinona torna-se bastante especulativa. A fim de sugerir um mecanismo catalítico, mais estudos devem ser realizados na

tentativa de se determinar o que ocorre em solução. Assim, um estudo de efeito da concentração de complexo sobre o substrato 3,5-DTBC poderia esclarecer a questão se é o próprio complexo mononuclear que possui atividade catalítica, ou se são duas unidades de complexo que estariam se juntando para realizar a catálise. Já estudos de EPR em solução na presença deste substrato poderiam indicar tanto a formação de uma espécie binuclear, quanto detectar a presença de um radical, caso este esteja se formando durante o ciclo catalítico.

5 CONCLUSÕES

Os pró-ligantes Hbpa-CH₃, Hbpa-H e Hbpa-Br, bem como os três novos ligantes tripodais Hbpaa-CH₃, Hbpaa-H e Hbpaa-Br, foram sintetizados com rendimentos satisfatórios e com grau de pureza adequados, sendo caracterizados por técnicas de IV e RMN ¹H.

Foram sintetizados três novos complexos de cobre(II) com os ligantes Hbpaa-CH₃, Hbpaa-H e Hbpaa-Br. Estes foram caracterizados por análises espectroscópicas e eletroquímicas. O complexo **1** apresentou duas moléculas de complexo na cela unitária, conforme a difração parcial de raios X.

A espectroscopia na região do UV-Vis demonstrou a presença de bandas *d-d* em regiões de mais baixa energia características para os três complexos, além de se observar a presença de uma banda de transferência de carga fenolato → Cu^{II} na região de 450 nm quando da adição de NaOH às soluções de complexo, promovendo a desprotonação do fenol coordenado ao centro metálico.

A eletroquímica revelou que os grupos substituintes presentes no anel fenólico dos ligantes tripodais apresentam um deslocamento no sentido anódico, ou seja, potenciais mais positivos, em relação ao grupo doador de elétrons (CH₃).

Os complexos mostraram-se ativos frente à oxidação do substrato 3,5-DTBC, obtendo-se valores de eficiência catalítica de $8,95 \pm 0,28 \text{ L.mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ para o complexo **1**, $7,63 \pm 1,15 \text{ L.mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ para o complexo **2** e de $9,32 \pm 0,5 \text{ L.mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ para o complexo **3**. Não foi observado uma grande influência com relação aos grupos substituintes frente à oxidação de catecóis visto que os três complexos apresentaram valores de eficiência catalítica similares.

6 PERSPECTIVAS

- I. Obtenção das estruturas cristalinas para os complexos **1**, **2** e **3**.
- II. Análise elementar dos complexos **1**, **2** e **3**.
- III. Estudo de efeito da concentração de complexo sobre o substrato 3,5-DTBC para a elucidação do mecanismo da reação de oxidação promovida pelos complexos **1**, **2** e **3**.
- IV. Realizar experimentos cinéticos na ausência de oxigênio, com o objetivo de se investigar o papel do O₂ no ciclo catalítico.
- V. Estudos cinéticos, em diferentes temperaturas, com objetivo de se obter a energia de ativação da reação de oxidação do substrato 3,5 – DTBC para os três complexos.
- VI. Estudos de reatividade dos complexos **1**, **2** e **3** frente ao DNA.

7 REFERÊNCIAS

ALTOMARE, A., et al. SIR97: a new tool for crystal structure determination and refinement. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, p. 115-119, 1999.

BANU, K. S. *et al.* Catechol Oxidase Activity of a Series of New Dinuclear Copper(II) Complexes with 3,5-DTBC and TCC as Substrates: Syntheses, X-Ray Crystal Structures, Spectroscopic Characterization of the Adducts and Kinetics Studies. **Inorganic Chemistry**. 2008, V. 47, p. 7083-7093.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Biochemistry**, 5^a ed., New York: W. H. Freeman, 2002. 974p

COMBA, P., MARTIN, B., MURUGANANTHAM, A., STRAUB, J. Structure, Bonding, and Catecholase Mechanism of Copper Bispidine Complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 51, p. 9214-9225, 2012.

COWAN, J. A. **Inorganic Biochemistry – an introduction**. 2a Ed. New York: Ed. Wiley-VCH, 1993.

EICKEN, C., ZIPPEL, F., BÜLDT-KARENTZOPOULOS, K., KREBS, B. Biochemical and spectroscopic characterization of catechol oxidase from sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) containing a type-3 dicopper center, **FEBS Letters**, v. 436, p. 293-299, 1998.

FERNANDES, C. *et al.* A new dinuclear unsymmetric copper(II) complex as model for the active site of catechol oxidase. **Inorganica Chimica Acta**, 2001, v. 320, p. 12-21.

GEARY, W.J. Characterization of coordination compounds. **Coordination Chemical Reviews**, v.7, p. 81-122, 1971.

GERDEMANN, C., EICKEN, C., KREBS, B. The Crystal Structure of Catechol Oxidase: New Insight into the Function of Type-3 Copper proteins, **Accounts of Chemical Research**, v. 35, p. 183-191, 2002.

HATHAWAY, B. J., BILLING, D. E. The electronic properties and stereochemistry of mono-nuclear complexes of the copper(II) ion. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 5, p. 143-207, 1970.

HUHHEY, J. E. **Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity**. 4^a ed. New York, Harper Collins. 1993

KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B. **Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of life An Introduction and Guide**, Ed. John Willey & Sons, New York, 1994. 401p

KAIM, W., RALL, J. Copper – **A “modern” bioelement**. *Angewandte Chemie International Edition in English*, v. 35, p. 43-60, 1996.

KAIZER, J., PAP, J., SPEIER, G., PÁRKÁNYIC, L., KORECZC, L., ROCKENBAUER, A. Synthesis, structure and catecholase activity of dinuclear copper and zinc complexes with an N₃-ligand. **Journal of Inorganic Biochemistry**. 2002, v. 91, p.190-198.

KLABUNDE, T.; EICKEN, C.; SACCHETTINI, J. C.; KREBS, B. Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center, **Nature Structural Biology**, v. 5, p. 1084-1090, 1998.

KOVAL, I. A., GAMEZ, P., BELLE, C., SELMECZI, K., REEDJIK, J. Synthetic models of the active site of catechol oxidase: mechanistic studies. **Chemical Society Reviews**, v.32, p.814-840, 2006.

KREBS, B. **Bioinorganic chemistry Transition Metals in Biology and their Coordination Chemistry**. Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1997. 756p

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 3^a ed. New York: Worth Publishers, 2000. 1152

LINDER, M.C., GOODE, C. A. **Biochemistry of Copper**; New York: Plenum, 1991

MACRAE, C. F.; EDINGTON, P. R.; MCCABE, P. *et al.* Mercury: visualization and analysis of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v.39, p.453-457, 2006.

MALACHOWSKI, M. R., HUYNH, H. B., TOMLINSON, L. J., KELLY, R. S., FURBEE, J. W. Comparative Study of the Catalytic Oxidation of Catechols by Copper(II) Complexes of Tripodal Ligands. **Journal of the Chemical Society Dalton Transactions**. 1995, p. 31-36.

MARION, R., SALEH, N. M., POUL, N. L., FLONER, D., LAVASTRE, O., GENESTE, F. Rate enhancement of the catechol oxidase activity of a series of biomimetic monocopper(II) complexes by introduction of non-coordinating groups in N-tripodal ligands. **New Journal of Chemistry, Royal Society of Chemistry**, 2012, 36, pp.1828-1835.

MARTELL, A. E., MOTEKAITIS, R. J. **Determination and use of stability constants**. VCH, New York, 2^a ed, 1992.

MONZANI, E., QUINTI, L., PEROTTI, A., CASELLA, L., GULOTTI, M., RANDACCIO, L., GEREMIA, S., NARDIN, G., FALESCHINI, P., TABBÌ, G., Tyrosinase Models. Synthesis, Structure, Catechol Oxidase Activity, and Phenol monooxygenase Activity of a Dinuclear Copper Complex Derived from a Triamino Pentabenzimidazole Ligand. **Inorganic Chemistry**, v. 37, p. 553-562, 1999.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and coordination compounds**. 3^a ed. John Wiley & Sons, 1977, 448p

NEVES, A.; ERTHAL, S. M. D.; DRAGO, V.; GRIESAR, K., HAASE, W. A new N,O-donor binucleating ligand and its first iron(III) complex as a model for the purple acid phosphatase. **Inorganica Chimica Acta**, v. 197, p. 121-124, 1992.

NEVES, A., ROSSI, L.M., BORTOLUZZI, A.J., SZPOGANICZ, B., WIEZBICKI, C., SCHWINGEL, E., Catecholase Activity of a Series of Dicopper(II) Complexes with Variable Cu-OH(phenol) Moieties, **Inorganic Chemistry**, v. 41, p. 1788-1794, 2002.

OISHI, N., NISHIDA, Y., IDA, K., KIDA, S., Bull. **The Chemical Society of Japan**. V. 53, p. 2847, 1980.

OLIVEIRA, M. C. B. *et al.* Hydrolytic Protein Cleavage Mediated by Unusual Mononuclear Copper(II) Complexes: X-ray Structures and Solution Studies. **Inorganic Chemistry**, 2005, v.44, p.921-929.

OLIVEIRA M. C. B. *et al.* Mononuclear Cu^{II} – Phenolate Bioinspired Complex is Catalytically Promiscuous: Phosphodiester and Peptide Amide Bond Cleavage. **Inorganic Chemistry Communication**, 2009, v. 48, p. 2711-2713.

OSÓRIO, R. M. Novos ligantes e Complexos Binucleares de cobre(II) promíscuos: modelos miméticos para as enzimas catecol oxidase hidrolases/nucleases sintéticas. **Dissertação de Mestrado em Química**, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

PANDA, M. K., SHAIKH, M. M., BUTCHER, R. J., GHOSH, P. Functional mimics of catechol oxidase by mononuclear copper complexes of sterically demanding [NNO] ligands. **Inorganica Chimica Acta**, 2011, v. 372, p. 145-151.

PAVIA, Donald L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

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 em Química**, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

PERALTA, R. A., *et al.* Electronic Structure and Spectro-Structural Correlations of Fe III Zn II Biomimetics for Purple Acid Phosphatases: Relevance to DNA Cleavage and Cytotoxic Activity. **Inorganic Chemistry**, 2010, v. 49, p. 11421-11438.

SCARPELLINI, M. Síntese, caracterização e reatividade de novos complexos de ferro e de cobre com ligantes imidazólicos de relevância bioinorgânica. **Tese de Doutorado em Química**,

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2001

SHELDRICK, G. M. **SHELXL-97: program for the refinement of crystal structures**. University of Göttingen, Germany, 1997.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6ª ed. Rio de Janeiro (RJ): LTC, 2000, 460p

SOLOMON, E. I. *et al.* Copper Active Sites in Biology. **Chemical Reviews** 2014, v. 114, p. 3659-3853.

THAN, R., FELDMANN A., KREBS, B. Structural and functional studies on model compounds of purple acid phosphatases and catechol oxidases, **Coordination Chemistry Reviews**, 1999, v. 182, p 211-241

TORELLI, S., BELLE, C., GAUTIER-LUNEAU, I., PIERRE, J.-L., SAINT-AMAN, E., LATOUR, J. M., LE PAPE, L., LUNEAU, D., pH-Controlled Change of the Metal 175Coordination in a Dicopper Complex of the Ligand H-BPMP: Crystal Structures, Magnetic Properties, and Catecholase Activity, **Inorganic Chemistry**, 2000, v. 39, p. 3526-3536

WESTRUP, K. C. M.; Síntese, Caracterização e Estudo da Reatividade de Complexos Mononucleares de Cobre(II) como Sistemas Modelos para Hidrolases/Nucleases e Catecolases. 2011. v. 1. **Dissertação de Mestrado em Química**, Departamento de Química Universidade Federal de Santa Catarina

APÊNDICE 1

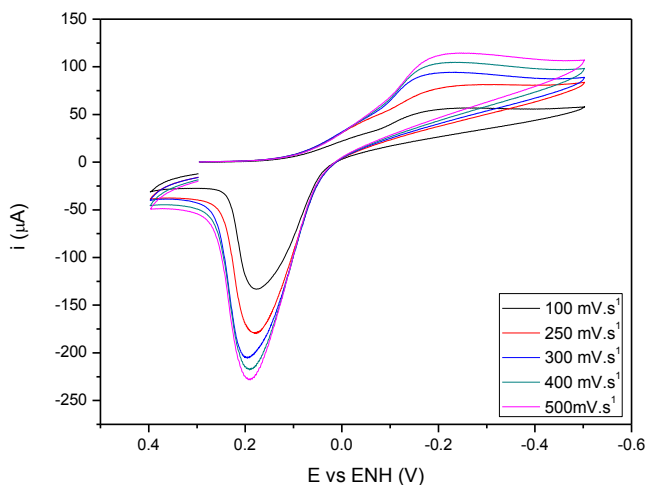
Estudo eletroquímico dos complexos 1, 2 e 3 em pH ácido

O comportamento eletroquímico dos complexos foi investigado através da técnica de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada em solução aquosa. Os potenciais de redução foram referenciados ao eletrodo normal de hidrogênio (ENH) pelo uso do eletrodo de referência comercial Ag/AgCl (BASi). Os voltamogramas obtidos para os complexos são apresentados nas Figuras 37, 38 e 39, e os potenciais catódicos (E_{pc}) para os processos eletroquímicos na Tabela 8.

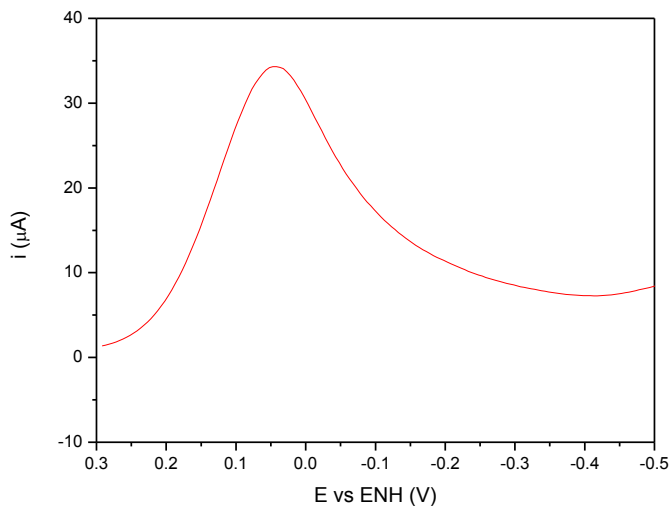
Tabela 13 Dados de eletroquímica para os complexos 1, 2 e 3.

Complexo	E_{pc} V vs ENH	pH
1	+ 0,043	3,50
2	- 0,037	3,47
3	- 0,307	3,33

Figura 37 Voltamogramas para o complexo 1 em H₂O. Eletrodo de trabalho: Carbono; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito suporte: NaCl 0,1 mol.L⁻¹. (a) Voltametria Cíclica e (b) Voltametria de onda quadrada (pulso – 20 mV, frequência = 15 Hz).

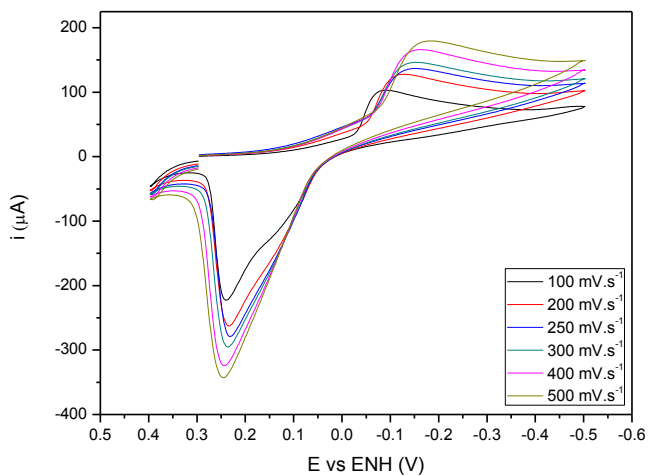


(a)

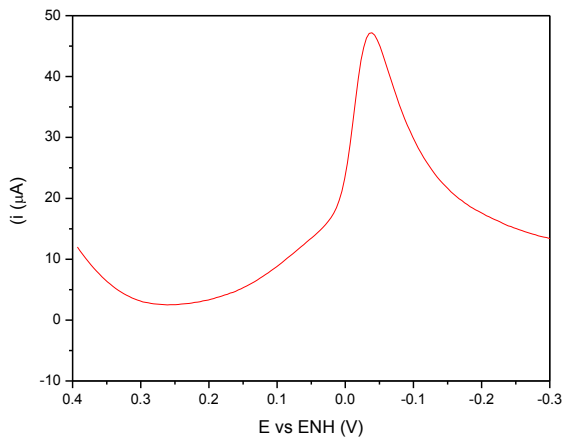


(b)

Figura 38 Voltamogramas para o complexo **2** em H_2O . Eletrodo de trabalho: Carbono; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito suporte: NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. (a) Voltametria Cíclica e (b) Voltametria de onda quadrada (pulso = 20 mV, frequência = 15 Hz).

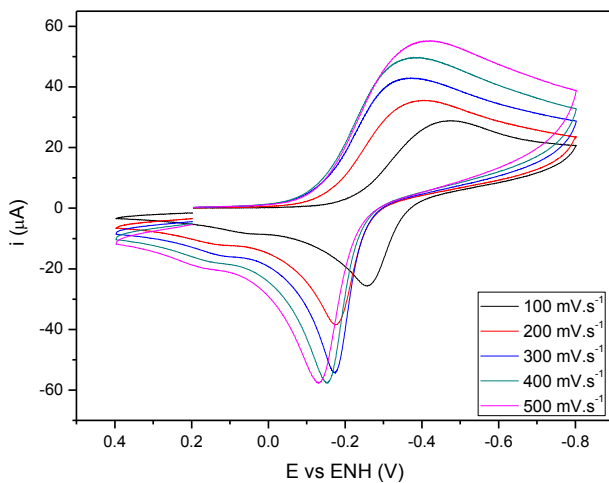


(a)

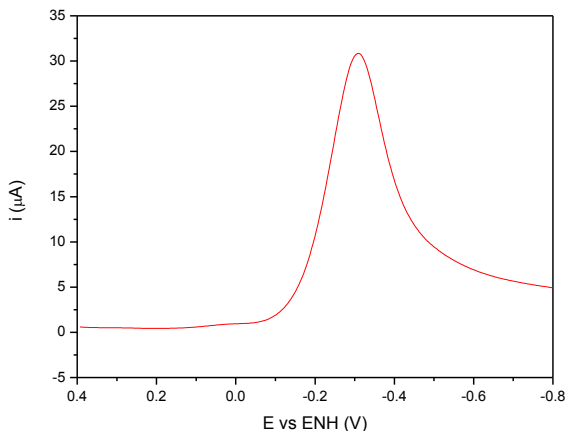


(b)

Figura 39 Voltamogramas para o complexo **3** em H₂O. Eletrodo de trabalho: Carbono; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito suporte: NaCl 0,1 mol.L⁻¹. (a) Voltametria Cíclica e (b) Voltametria de onda quadrada (pulso = 25 mV, frequência = 15 Hz).



(a)



(b)

Como pode ser observado nas Figuras 37, 38 e 39, os complexos **1**, **2** e **3** apresentam um comportamento parecido tanto para a voltametria cíclica quanto para a voltametria de onda quadrada. Na voltametria de onda quadrada, pode-se observar uma onda de redução +0,043, -0,037 e -0,307 para os complexos **1**, **2** e **3** respectivamente, sendo estas atribuídas ao processo redox $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}$. A onda de oxidação observada entre os potenciais 0,25 a 0,23 para os três complexos na voltametria cíclica pode ser atribuída à deposição de cobre(0) na superfície do eletrodo, o que gera uma característica típica de um processo de redissolução durante a varredura no sentido reverso. Os valores de E_{pc} em pH ácido (aproximadamente 3,5) para os complexos **1** e **2** em potenciais mais positivos é consistente com o valor obtido por Oliveira em seu trabalho, onde o mesmo apresenta um complexo mononuclear de cobre com o ligante HL¹ (OLIVEIRA *et al.*, 2005), o qual possui duas unidades piridínicas, além de um fenol com um grupo metil substituído na posição para. Comparando-se os valores obtidos para os potenciais de redução dos complexos **1**, **2** e **3** em pH ácido com os valores de pK_a referentes à desprotonação do grupo fenólico para os três complexos (seção 4.2.6), observa-se que em pH próximo de 3,5 há apenas a presença de espécies protonadas em solução, indicando que neste valor de pH o grupo fenol estabiliza a espécie Cu^{II} para o complexo **3**, sugerindo-se uma menor densidade eletrônica sobre o centro metálico.