

Renata da Silva Heying

**INVESTIGAÇÃO INÉDITA DA ATIVIDADE DE COMPLEXOS
MONONUCLEARES DE Fe^{III} NA HIDRÓLISE DE ÉSTERES DE
FOSFATO**

Tese submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau
de doutora em Química
Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves
Coorientador: Prof.^a Dr.^a Rosely
Aparecida Peralta

Florianópolis
2019

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

Heying, Renata da Silva

Investigação Inédita Da Atividade De Complexos
Mononucleares De FeIII Na Hidrólise De Ésteres De Fosfato /
Renata da Silva Heying ; orientador, Ademir Neves,
coorientador, Rosely Aparecida Peralta, 2019.

164 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa
de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Química. 2. Complexo de ferro(III). 3. Complexos
bioinspirados de Fe e Zn. 4. Hidrolase. 5. Monoesterase. I.
Neves, Ademir. II. Peralta, Rosely Aparecida. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Química. IV. Título.

Renata da Silva Heying

**INVESTIGAÇÃO INÉDITA DA ATIVIDADE DE COMPLEXOS
MONONUCLEARES DE Fe^{III} NA HIDRÓLISE DE ÉSTERES DE
FOSFATO**

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutora em Química” e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química

Florianópolis, 29 de abril de 2019.

Prof. Vanderlei Gageiro Machado, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Ademir Neves, Dr.
Orientador - Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Rosely Aparecida Peralta, Dr.^a
Coorientadora - Universidade Federal de Santa Catarina

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

Prof. Bernardo Almeida Iglesias, Dr.
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Josiel Domingos, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

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

Este trabalho é dedicado aos meus
professores, aos meus amigos e a
minha querida família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente aos meus pais, Walter (*in memoriam*) e Mary Stela que sempre foram a minha base, pelo amor, educação e apoio nos momentos difíceis, ensinando-me a persistir nos meus objetivos e ajudando a alcançá-los. Em especial minha mãe, que acompanhou cada passo que dei nos anos dedicados ao doutorado e foi minha fortaleza nos momentos difíceis.

Às minhas irmãs Stephany e Caroline pelo carinho e amizade, pelos abraços e por compartilharem cada momento da minha vida. A todas as pessoas que me deram suporte emocional durante esse período e aos meus colegas e amigos do IFC que não mediram esforços para que meu afastamento se tornasse possível.

Ao prof. Ademir Neves agradeço pela orientação e oportunidade de realizar este trabalho em seu grupo de pesquisa. A prof. Rosely Aparecida Peralta, que nunca negou nenhum esforço para auxiliar na conclusão deste trabalho, mesmo antes de se tornar minha coorientadora.

Ao Instituto Federal Catarinense, *Campus* Araquari, por tornar possível me dedicar ao doutorado enquanto servidora da instituição.

Agradeço ao povo do LABINC, por ajudar a superar todas as dificuldades do trabalho experimental e pela companhia de cada dia de trabalho. Em especial ao Marcos, que compartilhou das angústias de conciliar trabalho e doutorado, além de sempre me auxiliar no projeto e de ser companheiro na vida de atleta. É um agradecimento mais do que especial a Cacau, que realmente foi companheira cada dia desses anos de trabalho, nas matérias, no NMR, nos estresses, nas conversas e nas risadas.

Agradeço aos demais professores do laboratório, prof. Bernardo e. em especial, ao professor Adailton por todos os conselhos pessoais e profissionais ao longo desses anos.

Por fim, agradeço à UFSC, ao CNPq, à CAPES e ao INCT-catálise, à FAPESC e FINEP pelo apoio financeiro.

“Mais cedo ou mais tarde, a teoria sempre
acaba assassinada pela experiência”
(Albert Einstein)

RESUMO

Hidrolases sintéticas chamam a atenção por sua potencial aplicação como medicamentos antitumorais e antibióticos. Atualmente, objetiva-se o desenvolvimento de modelos mais eficientes e, principalmente, seletivos na clivagem do DNA. Para isso, várias estratégias vêm sendo aplicadas. Neste trabalho, uma nova frente de pesquisa foi aberta envolvendo o estudo de complexos mononucleares de ferro(III) como modelo de hidrolase que mostra atividade na hidrólise de diésteres de fosfato, assim como capacidade de interação com DNA com constantes de ligação significativas. Novos ligantes foram desenvolvidos para síntese de complexos binucleares de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$, contendo em sua estrutura, grupos intercalantes, substituintes naftil (H_2Lnaf) e pirenil (H_2Lpir). Os complexos binucleares **1a** e **2a** foram obtidos a partir dos ligantes H_2Lnaf e H_2Lpir . Nos estudos de caracterização e de atividade catalítica dos complexos observou-se que, em meio aquoso, os mesmos formavam espécies mononucleares de ferro(III) e zinco(II). A partir das análises via ESI-MS, observou-se que essas espécies mononucleares eram responsáveis pela atividade na hidrólise do substrato modelo 2,4-BDNPP. Para compreender melhor o funcionamento desses sistemas, sínteses de complexos mononucleares de ferro(III) com os ligantes H_2Lnaf (**1b**) e H_2Lpir (**2b**) foram sintetizadas e os complexos foram caracterizados via espectroscopia de IR, espectrometria ESI-MS, espectrofotometria de UV-Vis, titulação espectrofotométrica e eletroquímica e a estrutura do complexo **1b** foi obtida através de difratometria de raios X. Estudos cinéticos de hidrólise do 2,4-BDNPP na presença dos complexos mostraram constantes catalíticas próximas a valores obtidos para complexos binucleares de ferro(III), além de atividade monoesterase utilizando o substrato modelo 2,4-DNPP. Com base nos resultados obtidos neste trabalho, será possível o desenvolvimento de uma nova família de compostos modelo para hidrolases, objetivando esclarecer melhor a forma de atuação dos mesmos e obter compostos mais ativos e seletivos na hidrólise de ésteres de fosfato.

Palavras-chave: Complexo de ferro(III), complexos bioinspirados de Fe e Zn, hidrolase, monoesterase.

ABSTRACT

Synthetic hydrolases get attention for their potential application as antitumor drugs and antibiotics. The development of more efficient and more selective models for DNA cleavage has increased significantly and a range of strategies have been applied for this goal. Herein a non-classical approach involving mononuclear iron(III) complexes as hydrolase models that shows activity in the hydrolysis of phosphate diesters and are capable of interact with DNA with high binding constants is presented. New ligands were developed for the synthesis of dinuclear $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ complexes, containing in their structure, innocent intercalating groups, radicals naphthyl (H_2Lnaf) and pyrenyl (H_2Lpir). The dinuclear complexes **1a** and **2a** were obtained from H_2Lnaf and H_2Lpir ligands, respectively. During characterization and catalytic activity studies of these complexes, it was observed that, in presence of water, mononuclear iron(III) and zinc(II) species were formed. From ESI-MS analysis was observed that these mononuclear species were responsible for the activity in hydrolysis of 2,4-BDNPP substrate. To better understand the system behavior, mononuclear compounds were synthesized with the H_2Lnaf (**1b**) and H_2Lpir (**2b**) ligands and were characterized by IR spectroscopy, ESI-MS, UV-Vis spectrophotometry and electrochemistry and the **1b** X-ray structure was obtained. Kinetic studies on the hydrolysis of 2,4-BDNPP substrate in presence of the complexes revealed k_{cat} values similar to those obtained for iron(III) dinuclear complexes besides being a monoesterase model as revealed studies on 2,4-DNPP hydrolysis. Through this work results, it will be possible the development of a new family of model compounds for hydrolases, with the purpose of clarify the mode of action of those new mononuclear iron(III) complexes and pursue more active and selective compounds for phosphate esters hydrolysis.

Keywords: Fe^{III} complex, bioinspired Fe and Zn complexes hydrolase, diesterase, monoesterase.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Mecanismo proposto para a PAP na hidrólise de ésteres de fosfato. Fonte: KLABUNDE, 1996.....	30
Esquema 2. Proposta de mecanismo de associação do substrato para hidrólise dos substratos 2,4-BDNPP e 2,4-DNPP catalisada pelo complexo diférrico com ponte μ -oxo. Fonte: COMBA; et al., 2012.....	33
Esquema 3. Representação esquemática de intercalação e fotoclivagem do DNA utilizando o complexo de rutênio. Fonte: CHENG; et al., 2018.....	40
Esquema 4. Rota sintética dos ligantes H ₂ Lnaf e H ₂ Lpir.....	65
Esquema 5. Equilíbrios propostos para os complexos 1b e 2b em mistura CH ₃ CN/H ₂ O.....	109
Esquema 6. Reação de hidrólise do substrato modelo 2,4-BDNPP.....	120
Esquema 7. Ataque nucleofílico interno ao substrato 2,4-BDNPP realizado pelos complexos mononucleares de ferro(III).....	134

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação estrutural do sítio ativo das PAPs (SCHENK; et al., 2000).....	29
Figura 2. Isômeros posicionais de Fe-TPP funcionalizados com grupos amida. Fonte: NICHOLS; et al., 2018.....	32
Figura 3. Pareamento AT e CG, com duas e três ligações de hidrogênio, respectivamente.....	34
Figura 4. Representação da dupla hélice do DNA (esquerda) (Fonte: WATSON; CRICK, 1953) e as quatro bases do DNA (direita), mostrando a conectividade ao esqueleto açúcar-fosfato.....	35
Figura 5. Estrutura química do complexo CuGGHK-Acr. Fonte: YU; HAN; COWAN, 2015.....	38
Figura 6. $[Ru(Me_4phen)_2dppz]^{2+}$ modelado no interior de estruturas cristalinas de DNA duplex. Esquerda: Metaloinserção no sítio de DNA com erros de pareamento através do sulco menor (em laranja são representadas as bases com pareamento falho). Direita: intercalação no sítio corretamente pareado através do sulco maior. Fonte: BOYTON; MARCÉLIS; BARTON, 2016.....	39
Figura 7. Estrutura do ligante N,O doador desenvolvido por Piovezan (2010) com braço inocente benzil.....	41
Figura 8. Estrutura dos ligantes H_2L_{naf} e H_2L_{pir}	66
Figura 9. Espectro de 1H NMR (200 MHz) em $CDCl_3$ do H_2L_{naf}	69
Figura 10. Espectro de 1H NMR (200 MHz) em $CDCl_3$ do H_2L_{pir}	69

Figura 11. Espectro de ^{13}C NMR (100 MHz) em CDCl_3 do H_2Lnaf	71
Figura 12. Espectro de ^{13}C NMR (100 MHz) em CDCl_3 do H_2Lpir	71
Figura 13. Espectro de ESI-MS do ligante H_2Lnaf e a respectiva simulação da distribuição isotópica.....	72
Figura 14. Espectro de ESI-MS do ligante H_2Lpir e a respectiva simulação da distribuição isotópica.....	73
Figura 15. Estrutura do complexo 3 desenvolvido por Piovezan (2010).....	74
Figura 16. Estruturas propostas para os complexos 1a (esquerda) e 2a (direita) de acordo com os espectros de massas e estrutura de complexo com ligante similar apresentada por PIOVEZAN (2010, p. 85).....	75
Figura 17. Espectros na região do IR do ligante H_2Lnaf (preto) e do complexo 1a (vermelho).....	78
Figura 18. Espectros na região do IR do ligante H_2Lpir (preto) e do complexo 2a (vermelho).....	78
Figura 19. Espectro de ESI-MS do complexo 1a e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	80
Figura 20. Estrutura proposta para o complexo 1a de acordo com a composição química proposta segundo espectro de ESI-MS e com base em estrutura de compostos similares.....	80
Figura 21. Espectro de ESI-MS do complexo 2a e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	81

Figura 22. Estrutura proposta para o complexo 2a de acordo com a composição química proposta segundo espectro de ESI-MS e com base em estrutura de compostos similares.....	81
Figura 23. Espectro eletrônico do complexo 2a em acetonitrila. $[C] = 2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	82
Figura 24. Espectros eletrônicos dos complexos 1a (acima) e 2a (abaixo). Solução – $[C] = 3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	84
Figura 25. Estrutura do ligante H_2Lmet e estrutura proposta para o complexo Cmet (WECKER, 2018).....	85
Figura 26. Espectro de massas para o complexo 1a em pH 7,0 em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	86
Figura 27. Espectro de massas para o complexo 2a em pH 7,0 em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	87
Figura 28. Espectro de massas para o complexo 1a em pH 10,0 em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	88
Figura 29. Espectro de massas para o complexo 2a em pH 10,0 em acetonitrila/água (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	89
Figura 30. Espectro de massas para o complexo 3 (PIOVEZAN, 2010) em pH 7,0 em acetonitrila/água (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	90
Figura 31. Espectro de massas para o complexo 3 (PIOVEZAN, 2010) em pH 10,0 em acetonitrila/água (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	91

Figura 32. Dados de ESI-MS para o complexo 1a na presença do substrato 2,4-BDNPP em CH ₃ CN/H ₂ O (1:1, v/v) em pH 7,0. [Complexo] = 4 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ ; [Substrato] = 3 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	92
Figura 33. Dados de ESI-MS para o complexo 2a na presença do substrato 2,4-BDNPP em CH ₃ CN/H ₂ O (1:1, v/v) em pH 7,0. [Complexo] = 4 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ ; [Substrato] = 3 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	93
Figura 34. Dados de ESI-MS para o complexo 1a na presença do substrato 2,4-BDNPP em CH ₃ CN/H ₂ O (1:1, v/v) em pH 10,0. [Complexo] = 4 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ ; [Substrato] = 3 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	94
Figura 35. Dados de ESI-MS para o complexo 2a na presença do substrato 2,4-BDNPP em CH ₃ CN/H ₂ O (1:1, v/v) em pH 10,0. [Complexo] = 4 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ ; [Substrato] = 3 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	94
Figura 36. Estruturas propostas para os complexos 1b (esquerda) e 2b (direita) de acordo com os espectros de massas e estrutura de complexo.....	95
Figura 37. ORTEP (FARRUGIA, 1997) da unidade assimétrica do cátion complexo 1b ([Fe(L _{naf})(OH ₂) ₂] ¹⁺).....	96
Figura 38. Sobreposição dos espectros na região do IR do ligante H ₂ L _{naf} (preto) e do complexo 1b (vermelho).....	99
Figura 39. Sobreposição dos espectros na região do IR do ligante H ₂ L _{pir} (preto) e do complexo 2b (vermelho).....	99
Figura 40. Espectro de ESI-MS do complexo 1b e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	102
Figura 41. Espectro de ESI-MS do complexo 2b e respectiva simulação da distribuição isotópica.....	103
Figura 42. Espectros eletrônicos dos complexos 1b (acima) e 2b (abaixo). Solução – [C] = 3,3 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	105

Figura 43. Espectro eletrônico do complexo 2b em acetonitrila. [C] = $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	106
Figura 44. Diagrama de distribuição de espécies para o complexo 1b em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v).....	108
Figura 45. Diagrama de distribuição de espécies para o complexo 1b em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (2:1, v/v).....	108
Figura 46. Titulação espectrofotométrica do complexo 1b feita em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) a 25°C , $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em KCl; [C] = $2,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	111
Figura 47. Titulação espectrofotométrica do complexo 2b feita em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (2:1, v/v) a 25°C , $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em KCl; [C] = $2,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	114
Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada para os complexos 1b (acima) e 2b (abaixo) em pH 4,5, 7,0 e 9,0. Condições: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v), [C] = $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, I = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiClO_4	119
Figura 49. Dependência da velocidade inicial dos complexos (A) 1b e (B) 2b com o pH para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP. Condições: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v); [Complexo] = $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [Substrato] = $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão] = $5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$; I = $5 \times 10^{-2} \text{ LiClO}_4 \text{ mol L}^{-1}$	122
Figura 50. Dados de ESI-MS para o complexo 1b na presença do substrato 2,4-BDNPP em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) em pH 7,5. [Complexo] = $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [Substrato] = $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	123
Figura 51. Dados de ESI-MS para o complexo 2b na presença do substrato 2,4-BDNPP em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) em pH 7,5. [Complexo] = $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [Substrato] = $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	123

Figura 52. Dependência da velocidade de reação do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para os complexos 1b (■) e 2b (●). Condições: [Complexo] = $4,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ ; [Tampão] = 0,05 mol L ⁻¹ (HEPES, pH = 7,5); I = 0,05 mol L ⁻¹ (LiClO ₄) em solução H ₂ O/CH ₃ CN (1:1, v/v) à 25 °C.....	124
Figura 53. Estrutura proposta para o complexo FeZnH ₂ LHex (HEYING, 2014).....	128
Figura 54. Estrutura proposta para o complexo FeZnLP1 (CAMARGO, 2013).....	128
Figura 55. Espectros eletrônicos de acompanhamento da reação entre o complexo 1b e o substrato 2,4-DNPP em CH ₃ CN/H ₂ O (1:1, v/v), pH 7,5. [C] = $1,5 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ ; [2,4-DNPP] = $1,5 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹	130
Figura 56. Espectros eletrônicos de acompanhamento da reação entre o complexo 2b e o substrato 2,4-DNPP em CH ₃ CN/H ₂ O (2:1, v/v), pH 7,5. [C] = $1,5 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ ; [2,4-DNPP] = $1,5 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹	130
Figura 57. Comparação da dependência da velocidade de reação do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para os complexos (A) 1b e (B) 2b em CH ₃ CN/H ₂ O (1:1, v/v) (■) e CH ₃ CN/D ₂ O (1:1, v/v) (●). Condições: [Complexo] = $4,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ ; [Tampão] = 0,05 mol L ⁻¹ (HEPES, pH = 7,5); I = 0,05 mol L ⁻¹ (LiClO ₄) à 25 °C.....	133
Figura 58. Titulação do complexo 1b via espectroscopia eletrônica a partir de adições sucessivas de CT-DNA. [C] = $6,4 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ em CH ₃ CN/H ₂ O (1:2, v/v).....	136

Figura 59. Titulação do complexo 1b via espectroscopia eletrônica a partir de adições sucessivas de CT-DNA. $[C] = 2,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:2, v/v).....	137
Figura 60. Titulação do complexo 2b via espectroscopia eletrônica a partir de adições sucessivas de CT-DNA. $[C] = 7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v).....	137
Figura 61. Titulação do complexo 2b via espectroscopia eletrônica a partir de adições sucessivas de CT-DNA. $[C] = 3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v).....	138
Figura 62. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do CMFF.....	153
Figura 63. Espectro de IR em KBr do CMFF.....	153
Figura 64. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do nafpma.....	154
Figura 65. Espectro de IR (ATR) do nafpma.....	154
Figura 66. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do pirpma.....	155
Figura 67. Espectro de IR (ATR) do pirpma.....	155
Figura 68. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do nafpmamff.....	156
Figura 69. Espectro de IR (ATR) do nafpmamff.....	156
Figura 70. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do pirpmamff.....	157
Figura 71. Espectro de IR (ATR) do pirpmamff.....	157
Figura 72. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do Hpy ₂ naf.....	158
Figura 73. Espectro de IR (ATR) do Hpy ₂ naf.....	158

Figura 74. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do Hpy_2pir	159
Figura 75. Espectro de IR (ATR) do Hpy_2pir	159
Figura 76. Espectro de IR (ATR) do H_2Lnaf	160
Figura 77. Espectro de IR (ATR) do H_2Lpir	160

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de onda das bandas referentes aos movimentos vibracionais dos principais grupos funcionais dos ligantes H ₂ Lnaf e H ₂ Lpir.....	67
Tabela 2. Deslocamentos químicos (δ_H) dos espectros de ¹ H NMR para os ligantes finais.....	68
Tabela 3. Deslocamentos químicos (δ_C) dos espectros de ¹³ C NMR para os ligantes finais.....	70
Tabela 4. Porcentagens obtidas na análise elementar com seus respectivos valores experimentais e teóricos.....	75
Tabela 5. Número de onda das bandas referentes aos movimentos vibracionais dos principais grupos funcionais dos ligantes H ₂ Lnaf e H ₂ Lpir e dos complexos 1a e 2a	76
Tabela 6. Dados dos espectros eletrônicos para os complexos 1a e 2a	83
Tabela 7. Principais distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação para o complexo 1b	97
Tabela 8. Porcentagens obtidas na análise elementar com seus respectivos valores experimentais e teóricos.....	98
Tabela 9. Número de onda das bandas referentes aos movimentos vibracionais dos principais grupos funcionais dos ligantes H ₂ Lnaf e H ₂ Lpir e dos complexos 1b e 2b	100
Tabela 10. Dados dos espectros eletrônicos para os complexos 1b e 2b	104
Tabela 11. Valores de pK _a para os complexo 1b e 2b	107
Tabela 12. Potenciais de pico catódicos vs. NHE para os complexos 1b , 2b , Cmet e FeZnH₂LHex	118

Tabela 13. Comparação dos valores de pK_a potenciométrico e cinético na hidrólise do 2,4-BDNPP.....	121
Tabela 14. Parâmetros cinéticos para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP promovida pelos complexos 1b e 2b em pH 7,5, à 25°C em meio CH ₃ CN/H ₂ O (1:1, v/v).....	125
Tabela 15. Constantes de interação obtidas a partir das titulações com DNA-CT para os complexos 1b , 2b , FeZnLP1 e FeZnLP2.....	135
Tabela 16. Dados do cristal e de refinamento da estrutura para o complexo 1b	161
Tabela 17. Distância [Å] e ângulos [°] de ligação para o complexo 1b	162

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,4-BDNPP	Bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato
2,4-DNP	2,4-dinitrofenolato
2,4-DNPP	2,4-dinitrofenilfosfato
[C]	Concentração do catalisador
[S]	Concentração do substrato
δ_H	Deslocamento químico do hidrogênio (NMR)
δ_C	Deslocamento químico do carbono (NMR)
Δ	Deformação angular simétrica ou assimétrica (IR)
E	Coeficiente de absorção
Λ	Comprimento de onda
V	Estiramento de ligação
D	Dupleto
dd	Duplo dupleto
dt	Duplo tripleto
M	Multiplete
s	Simpleto
sb	Simpleto alargado
CHES	Ácido <i>N</i> -ciclohexil-2-aminoetanosulfônico
CMFF	2-clorometil-4-metil-6-formilfenol
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
CT-DNA	DNA Calf-thymus
$E_{1/2}$	Potencial de meia onda
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por eletrospray; do inglês <i>electrospray ionization – mass spectrometry</i>
H ₂ Lnaf	2-hidroxi-3-(((2-hidroxi-5-metil-3-((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzil)(piridin-2-ilmetil)amino)metil)-5-metilbenzaldeído

H ₂ Lpir	2-hidroxi-3-(((2-hidroxi-5-metil-3-(((piren-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzil)(piridin-2-ilmetil)amino)metil)-5-metilbenzaldeído
HEPES	Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanosulfônico
Hpy ₂ naf	4-metil-2-(((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)-6-(((piridin-2-ilmetil)amino)metil)fenol
Hpy ₂ pir	4-metil-2-(((piren-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)-6-(((piridin-2-ilmetil)amino)metil)fenol
<i>I</i>	Força iônica no meio
IR	Infravermelho; do inglês <i>Infrared</i>
<i>k_{cat}</i>	Constante catalítica
<i>K_M</i>	Constante de Michaelis-Menten
<i>k_{nc}</i>	Constante da reação não catalisada
LMCT	Transferência de carga ligante-metal; do inglês <i>ligand-metal charge transfer</i>
MES	Ácido 2-(<i>N</i> -morfolino)etanossulfônico
Nafpma	1-(naftalen-1-il)- <i>N</i> -(piridin-3-ilmetil)metanamina
nafpmamff	2-hidroxi-5-metil-3-(((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzaldeído
NHE	Eletrodo normal de hidrogênio; do inglês <i>Normal hydrogen electrode</i>
NMR	Ressonância magnética nuclear; do inglês <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
PAP	Fosfatase ácida púrpura, do inglês <i>Purple Acid Phosphatase</i>
pirpma	1-(piren-1-il)- <i>N</i> -(piridin-3-ilmetil)metanamina
pirpmamff	2-hidroxi-5-metil-3-(((piren-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzaldeído
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
1.1	FOSFATASES ÁCIDAS PÚRPURAS	28
1.2	COMPLEXOS BIOMIMÉTICOS	30
1.2.1	Segunda esfera de coordenação	31
1.3	DNA E SUAS INTERAÇÕES	34
1.3.1	Intercalantes de DNA	36
1.4	COMPLEXOS MODELOS COMO HIDROLASES ARTIFICIAIS.....	40
2	OBJETIVOS	43
2.1	OBJETIVO GERAL.....	43
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
3	EXPERIMENTAL.....	45
3.1	MATERIAIS	45
3.2	MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO	45
3.2.1	Espectrofotometria na região do Infravermelho (IR) 45	
3.2.2	Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear (NMR) 46	
3.2.3	Espectrofotometria na região do Ultravioleta-visível (UV-Vis) 46	
3.2.4	Espectrometria de massas com ionização via eletrospray (ESI-MS) 46	
3.2.5	Análise Elementar de C, H e N	47
3.2.6	Difratometria de raios X	47
3.2.7	Eletroquímica 47	
3.2.8	Condutividade molar	47
3.2.9	Titulação Espectrofotométrica.....	48
3.2.10	Medidas de reatividade na hidrólise de ésteres de fosfato 48	
3.2.11	Estudos de interação com DNA.....	51

3.3	SÍNTESES.....	52
3.3.1	Síntese dos ligantes.....	52
3.3.1.1	Síntese do 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol (CMFF)..	52
3.3.1.2	Síntese do 1-(naftalen-1-il)-N-(piridin-3-ilmetil)metanamina (nafpma).....	53
3.3.1.3	Síntese do 1-(piren-1-il)-N-(piridin-3-ilmetil)metanamina (pirpma) 54	
3.3.1.4	Síntese de 2-hidroxi-5-metil-3-(((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzaldeído (nafpmamff)....	55
3.3.1.5	Síntese do 2-hidroxi-5-metil-3-(((piren-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzaldeído (pirpmamff).....	56
3.3.1.6	Síntese do 4-metil-2-(((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)-6-(((piridin-2-ilmetil)amino)metil)fenol (Hpy ₂ naf)	57
3.3.1.7	Síntese do 4-metil-2-(((piren-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)-6-(((piridin-2-ilmetil)amino)metil)fenol (Hpy ₂ pir) 58	
3.3.1.8	Síntese do 2-hidroxi-3-(((2-hidroxi-5-metil-3-(((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzil)(piridin-2-ilmetil)amino)metil)-5-metilbenzaldeído (H ₂ Lnaf).....	59
3.3.1.9	Síntese do 2-hidroxi-3-(((2-hidroxi-5-metil-3-(((piren-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzil)(piridin-2-ilmetil)amino)metil)-5-metilbenzaldeído (H ₂ Lpir).....	60
3.3.2	Síntese dos complexos	61
3.3.2.1	Síntese do [Fe ^{II} (μ-OAc)Zn ^{II} (Lnaf)](ClO ₄) ₂ – Complexo 1a	61
3.3.2.2	Síntese do [Fe ^{III} (μ-OAc)Zn ^{II} (Lpir)](ClO ₄) ₂ – Complexo 2a	62
3.3.2.3	Síntese do [Fe ^{III} (Lnaf)(OH ₂) ₂](BF ₄) ₂ – Complexo 1b	62
3.3.2.4	Síntese do [Fe ^{III} (Lpir)(OH ₂) ₂](BF ₄) ₂ – Complexo 2b	63
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES	65
4.2	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS 1a	
e 2a		73

4.2.1	Análise Elementar de C, H e N	75
4.2.2	Espectrofotometria na região do infravermelho	76
4.2.3	Condutividade molar	79
4.2.4	Análise de espectrometria de massas	79
4.2.5	Espectrofotometria eletrônica na região do UV-Vis	82
4.2.6	Análise de espectrometria de massas em acetoneitrila/água (50:50, v/v)	85
4.3	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS MONONUCLEARES DE Fe ^{III} 1b E 2b	95
4.3.1	Difração de Raios X	96
4.3.2	Análise Elementar de C, H e N	98
4.3.3	Espectrofotometria na região do infravermelho	98
4.3.4	Espectrometria de massas	101
4.3.5	Espectrofotometria eletrônica na região do UV-Vis	104
4.3.6	Estudos de equilíbrio químico por titulação e espectrofotométrica	107
4.3.7	Eletroquímica	117
4.4	ESTUDOS DE REATIVIDADE FRENTE A HIDRÓLISE DO SUBSTRATO 2,4-BDNPP	120
4.4.1	Efeito do pH na hidrólise do 2,4-BDNPP	120
4.4.2	Estudos de ESI-MS dos complexos na presença do 2,4-BDNPP	122
4.4.3	Efeito do substrato na hidrólise do 2,4-BDNPP	124
4.4.4	Teste de reatividade dos complexos frente a hidrólise do monoéster 2,4-DNPP	129
4.4.5	Proposta Mecanística	131
4.4.6	Estudos de interação com DNA-CT	135
5	CONCLUSÃO	139
	REFERÊNCIAS	141

APÊNDICE A – ESPECTROS DE ^1H NMR e IR DAS ETAPAS DE SÍNTESE DOS LIGANTES H_2Lnaf E H_2Lpir.....	153
APÊNDICE B – DADOS CRISTALOGRÁFICOS	161

1 INTRODUÇÃO

A química inorgânica se conecta a biologia em diversas áreas, sendo algumas substâncias inorgânicas vitais para os organismos, desempenhando funções como transporte, especiação, mineralização de materiais inorgânicos, tendo aplicação inclusive em tratamentos medicinais e diagnósticos. Especificamente, esse ramo da química é denominado de Química Bioinorgânica, uma área multidisciplinar que permeia a química, física, biologia, medicina, dentre outras e objetiva estudar o papel de metais nos organismos vivos (BERTINI; et al., 1994; KAIM; SCHWEDERSKI; KLEIN, 2013; REHDER, 2008).

A maioria dos metais são encontrados nos organismos vivos em concentrações muito baixas, como é o caso de elementos-traços (Fe, Zn, Cu, etc.) que são encontrados em quantidades de 0,1 a 5 g (em uma massa corpórea um homem referência de 70 kg), e ultramicrotraços (V, Mn, Ni, Cr, Co, etc.) que chegam a concentrações inferiores a 10 mg / 70 kg. Vários desses elementos são definidos como essenciais a vida (ZORODDU; *et al.*, 2019). Assim, só foi possível detectar sua presença com os avanços tecnológicos que permitiram o desenvolvimento de equipamentos analíticos mais sensíveis, capazes de detectar analitos nessas concentrações (KAIM; SCHWEDERSKI; KLEIN, 2013).

Dentro da vasta área que é a bioinorgânica, um dos campos de atuação é no estudo de processos biológicos específicos que algumas proteínas realizam. As metaloproteínas possuem centros metálicos em sua estrutura e algumas têm função catalítica em organismos vivos, denominadas então, metaloenzimas (BERTINI; et al., 1994; KAIM; SCHWEDERSKI; KLEIN, 2013). Metaloenzimas são biopolímeros formados por cadeias de aminoácidos e possuem em seu sítio ativo metais que desempenham papel fundamental na atividade catalítica da mesma. Cerca de 30 % das enzimas possuem íons metálicos responsáveis pela função que as mesmas exercem. Enzimas são catalisadores naturais bastante seletivos e eficientes, atuando de forma bastante complexa e sinérgica para promoverem reações que em condições normais não ocorreriam ou ocorreriam de forma muito lenta e assim, tornam-se foco de interesse dentro da indústria e medicina (LINDSTRÖM; PETTERSSON, 2003). Trabalhos comparando valores de velocidades de reações na

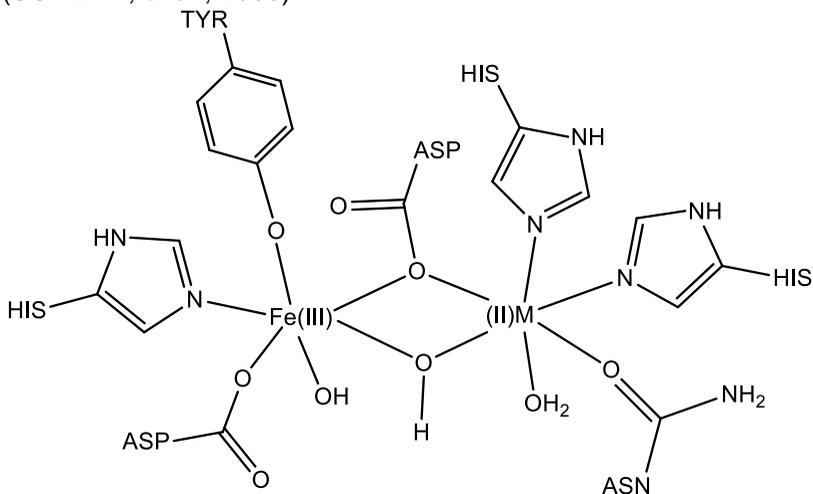
presença de enzimas e as não catalisadas evidenciam o potencial catalítico enzimático (WOLFENDEN, 2011).

1.1 FOSFATASES ÁCIDAS PÚRPURAS

As fosfatases ácidas púrpuras (PAPs) são enzimas capazes de catalisar a hidrólise de ésteres de fosfato e anidridos em pH ácido ($4 \leq \text{pH} \leq 7$) e têm a característica coloração púrpura de sua forma inativa (KLABUNDE; KREBS, 1997; SCHENK; et al., 2013; THAN; FELDMANN, 1999). Encontrada em plantas, animais e em alguns organismos bacterianos, as PAPs pertencem à família das metalohidrolases dinucleares, com um sítio ativo binuclear de valência mista, contendo um centro de ferro(III) e um metal (M) com estado e oxidação 2+ (M = Fe em animais, Mn ou Zn em plantas) (SCHENK; et al., 2013).

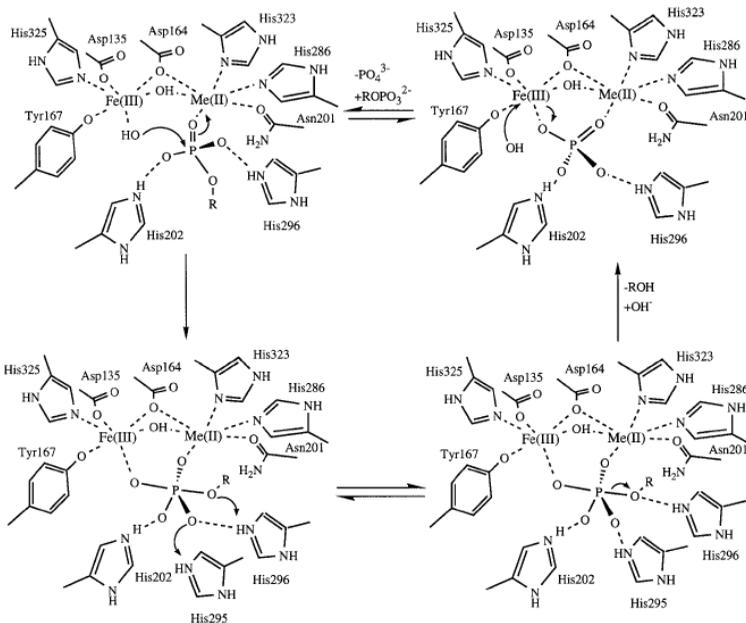
A PAP do feijão vermelho (kidney bean – *kbPAP*) foi a primeira a ter sua estrutura resolvida por difratometria de raios X e hoje uma gama de estruturas já foram resolvidas de PAPs de diferentes organismos vivos (KLABUNDE; et al., 1996; STRÄTER; et al., 1995; UPPENBERG; et al., 1999). Diferenças substanciais entre as PAPs encontradas nos diferentes reinos são observadas, seja em tamanho, estrutura quaternária e sequência de aminoácidos. No entanto, o sítio cataliticamente relevante é altamente preservado, com sete aminoácidos invariantes coordenados aos centros metálicos de ferro(III) e metal(II) como apresentado na Figura 1 (SCHENK; et al., 2000).

Figura 1. Representação estrutural do sítio ativo das PAPs (SCHENK; et al., 2000).



A disposição dos metais no sítio ativo rege o mecanismo de atuação das fosfatases ácidas púrpuras e, com as estruturas das mesmas resolvidas, propostas de mecanismo começaram a surgir. O mecanismo foi inicialmente proposto por Klabunde e colaboradores (1996) e considera a hidrólise assistida por metal pelo mecanismo de substituição nucleofílica do tipo S_N2 para a *kbPAP* (Esquema 1). Em sequência, Lindqvist e colaboradores (1999), propuseram mecanismos similares ao proposto por Klabunde. A acidez do metal trivalente gera o nucleófilo, a espécie Nu^- (grupo hidróxido), a partir da entrada de uma molécula água em sua esfera de coordenação e sua subsequente desprotonação. O substrato se coordena ao metal(II) em uma posição lábil de sua esfera de coordenação e é posicionado adequadamente para sofrer o ataque do nucleófilo.

Esquema 1. Mecanismo proposto para a PAP na hidrólise de ésteres de fosfato. Fonte: KLABUNDE, 1996.



As funções exercidas pelas PAPs nos organismos vivos são diversas e ainda não absolutamente esclarecidas, atuando na reabsorção óssea, morte microbiana, transporte de ferro em animais e aquisição de fosfato em plantas. Além disso, está envolvida em diversos processos, desde a geração de ROS (espécies reativas de oxigênio) até a participação no sistema de defesa imunológico (McGEARY; SCHENK; GUDDAT, 2014). Com as últimas descobertas em relação as PAPs, geraram-se novas linhas de pesquisa com interesse no desenvolvimento de quimioterápicos para tratamento de osteoporose (MITIC; et al., 2006; SCHENK; et al. 2013).

1.2 COMPLEXOS BIOMIMÉTICOS

A maior limitação da aplicação das enzimas em si está no processo de isolamento e purificação das mesmas por ter um alto custo e uma complexa execução. Criou-se, então, um interesse no desenvolvimento de compostos de baixa massa molecular capazes de exercer a mesma função em catálise. Assim,

iniciaram-se os estudos de desenvolvimento de compostos biomiméticos capazes de reproduzir propriedades eletrônicas, estruturais e com funções catalíticas através de mecanismos semelhantes ou até iguais às enzimas análogas. Atualmente essa área de pesquisa já é amplamente conhecida, porém a atividade catalítica dos compostos biomiméticos desenvolvidos ainda é absurdamente baixa quando comparada a da enzima.

1.2.1 Segunda esfera de coordenação

As enzimas possuem uma cadeia de aminoácidos com estrutura altamente definida no espaço, resultado de uma infinidade de interações existentes ao longo dessa cadeia. Todas essas interações de fragmentos não pertencentes ao sítio ativo das enzimas atuam de forma sinérgica com o sítio ativo para promoverem o processo catalítico, conferindo as características de alta atividade catalítica e a seletividade observada nas mesmas. Chama-se “Segunda Esfera de Coordenação” o conjunto de resíduos de aminoácidos que não estão ligados diretamente ao metal responsável pela catálise, mas que possuem função indispensável na eficiência e seletividade das enzimas (MANN; et al., 2018).

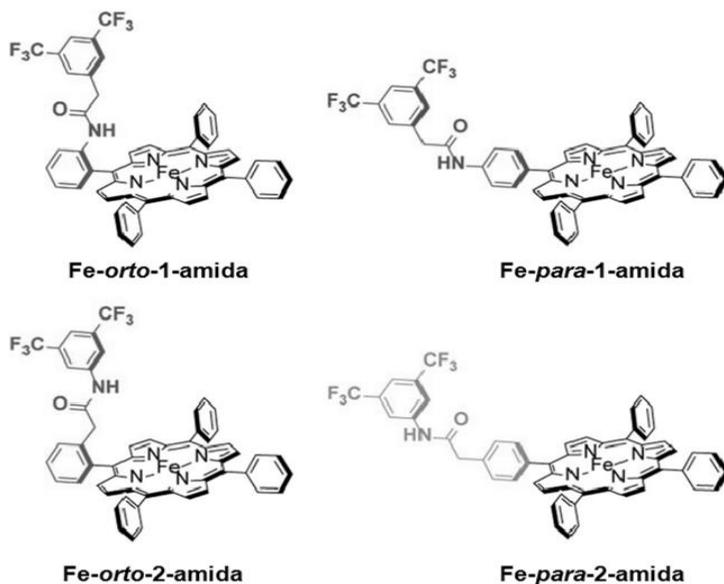
A segunda esfera de coordenação tem papel na seletividade e melhor afinidade da enzima em relação ao substrato, estabiliza o estado de transição, é muitas vezes responsável pela geração da espécie ativa na catálise e por fim, ainda pode atuar na estabilização do grupo de saída. As contribuições na atividade catalítica se dão por interações intermoleculares como: forças de van der Waals, efeitos hidrofóbicos, ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas (LINDSTRÖM; PETERSON, 2003; SPAN; et al. 2017).

Baseado nos estudos acerca da função da segunda esfera de coordenação das enzimas no processo catalítico é que se iniciou os estudos de segunda esfera de coordenação em modelos biomiméticos visando a melhoria da atividade catalítica e seletividade dos mesmos (COOK; HILL; BOROVNIK, 2015; MANN; et al., 2018; SHOOK; BOROVNIK, 2008). Atualmente, diversas estratégias são utilizadas para simular a segunda esfera de coordenação em modelos, sendo as mais abordadas: utilização de polímeros, dendrímeros, grupos laterais funcionais, dispositivos supramoleculares, nanoestruturas, cadeias proteicas e, para

nucleases, agentes intercaladores ligados covalentemente aos complexos (CAMARGO; et al., 2018; LINDSTRÖM; PETERSON, 2003; SIMMONS; et al., 2014; NEVES; et al., 2007; REBILLY; et al., 2015; SILVA, et al., 2017; ZHAO; et al., 2013).

Porfirinas de ferro são estudadas como modelos de catalisador para redução eletroquímica de dióxido de carbono. Utilizando a adição do grupo lateral funcional como estratégia para simular a segunda esfera de coordenação, inspirados pelo sítio catalítico da Ni-Fe CO dehydrogenase, Nichols e colaboradores (2018) desenvolveram uma série de complexos isômeros derivados do Fe-tetrafenilporfirina (Fe-TPP), com braços amida (Figura 2) que apresentaram grandes melhoras na associação com o CO₂ e também no número de *turnovers* quando comparados ao Fe-TPP através de interações de hidrogênio da amida com o substrato chegando a um aumento de 7 vezes na constante de ligação com o CO₂ para o complexo **Fe-ortho-1-amida** e de 1500 vezes no k_{cat} da reação para o complexo **Fe-ortho-2-amida**.

Figura 2. Isômeros posicionais de Fe-TPP funcionalizados com grupos amida. Fonte: NICHOLS; et al., 2018.



Com o desenrolar deste trabalho, observou-se uma contribuição como efeito de segunda esfera de coordenação de grupo amino protonado sobre a atividade dos complexos desenvolvidos. Na literatura encontram-se descritos alguns modelos usando essa estratégia, não apenas para catalisadores em reações de hidrólise, mas também em reações envolvendo transferência de elétron (FENG; et al., 2005; MACBETH; et al., 2000; BHATTACHARYA; PROKOPCHUK; MOCK, 2017; SIMMONS et al., 2014; ZHAO et al., 2013). Peter Comba e colaboradores (2012) desenvolveram o primeiro modelo para PAP com atividade monoesterase descrito na literatura, um complexo binuclear de ferro(III) a partir de um ligante baseado em uma plataforma ciclam protonada conectada a dois sítios de coordenação tridentados. O ciclam é capaz de posicionar e ativar a ligação ferro(III)-substrato, atuando segundo o mecanismo proposto na Esquema 2. O complexo foi capaz de promover a aceleração da hidrólise do substrato 2,4-DNPP (2,4-dinitrofenilfosfato) com constante catalítica k_{cat} de $2,7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.

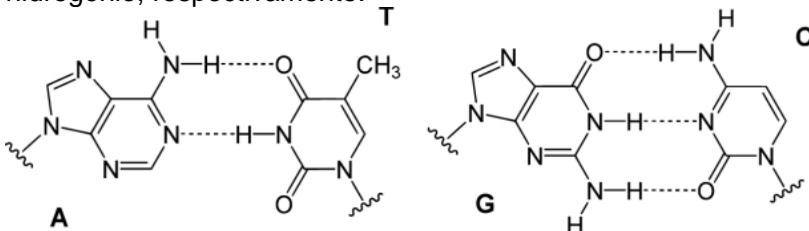
Esquema 2. Proposta de mecanismo de associação do substrato para hidrólise dos substratos 2,4-BDNPP e 2,4-DNPP catalisada pelo complexo diférrico com ponte μ -oxo. Fonte: COMBA; et al., 2012.



1.3 DNA E SUAS INTERAÇÕES

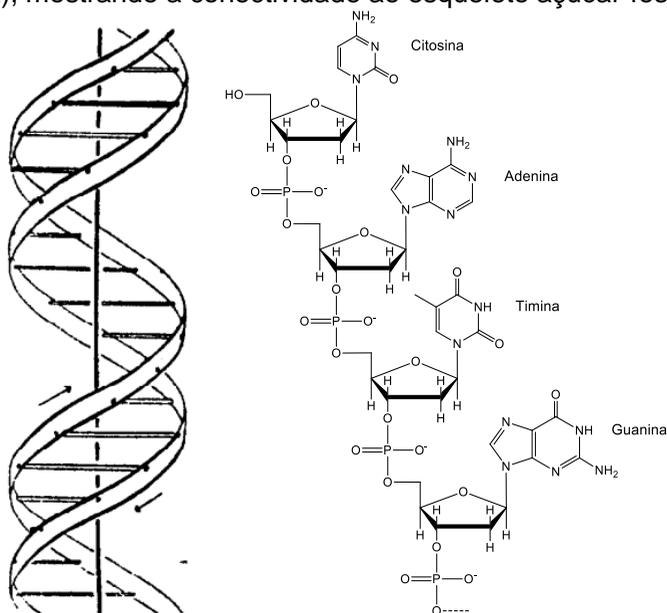
Em 1953, Watson e Crick propuseram a estrutura do DNA como duas fitas constituídas de grupos diéster de fosfato ligados a resíduos desoxirribose (Figura 6) mantendo-se unidas através de interações de quatro bases nitrogenadas. A interação entre essas bases obedece a regra de Chargaff (1950), na qual uma base deve ser uma purina (adenina (A) ou Guanina (G)) e a outra deve ser uma pirimidina (timina (T) ou citosina (C)), formando 2 ou 3 ligações de hidrogênio entre si, como representado na Figura 3.

Figura 3. Pareamento AT e CG, com duas e três ligações de hidrogênio, respectivamente.



As duas fitas se organizam em uma estrutura tridimensional helicoidal, criando cavidades (sulcos) maiores e menores com as bases pareadas de cada uma das fitas ocupando um mesmo plano (Figura 4) (NELSON; COX, 2013). A altíssima estabilidade do DNA se dá pelo esqueleto polianiónico das ligações fosfodiéster que dificultam a aproximação de nucleófilos ao centro de fósforo, por isso a necessidade de nucleases que catalisem a clivagem e reparos necessários de fitas de DNA por serem capazes de ativar a ligação P-O e ainda promoverem a geração de nucleófilos aquosos que fazem o ataque (ADAMS; KNOWLER; LEADER, 1986).

Figura 4. Representação da dupla hélice do DNA (esquerda) (Fonte: WATSON; CRICK, 1953) e as quatro bases do DNA (direita), mostrando a conectividade ao esqueleto açúcar-fosfato.



Existem três modos de interação de metalomoléculas com o DNA (ADAMS; KNOWLER; LEADER, 1986; PAGES; et al., 2015; REHA; et al., 2002; RICHARDS; RODGER, 2007): (1) associação externa não específica através de interação eletrostática de moléculas metálicas positivamente carregadas com o esqueleto de fosfato aniônico, gerando de estruturas condensadas difíceis de separar, o que dificulta a regeneração do DNA; (2) ligação pelos sulcos de moléculas com tamanho, flexibilidade, potencial eletrostático e hidrofobicidade adequados, geralmente tendendo a se ligar ao sulco menor – esse tipo de interação exerce pouco efeito sobre a estrutura do DNA; e (3) intercalação entre as bases de DNA por espécies de natureza química e tamanho apropriados como, por exemplo, espécies policíclicas, aromáticas e planares.

Esses três tipos de interação servem como base para o desenvolvimento de modelos para nucleases que interagem com DNA, objetivando sempre uma maior seletividade e eficiência (PAGES; et al., 2015; SIEGEL; et al, 2018).

1.3.1 Intercalantes de DNA

As enzimas hidrolases incluem um grupo denominado nucleases, que são enzimas capazes de clivar ligações de fosfodiésteres entre nucleotídeos, tanto no DNA quanto no RNA (NISHINO; MORIKAWA, 2002). O interesse em desenvolver hidrolases que atuem mais especificamente como nucleases está do desenvolvimento de fármacos antitumorais. O intuito inicial desse trabalho era o desenvolvimento de modelos biomiméticos para PAPs com a introdução de grupos poliaromáticos, com potencial de intercalação, para estudos de interação e clivagem de DNA. Embora o trabalho tenha tomado rumos diferentes, uma busca na literatura acerca do uso de intercalantes se torna relevante para futuros desdobramentos e perspectivas desta pesquisa.

No estudo de nucleases, a estratégia que utiliza intercalantes em compostos biomiméticos tem tido muita atenção dentro da química bioinorgânica. A intercalação do DNA ocorre quando uma molécula interage com dois pares de bases adjacentes na dupla hélice do DNA, formando um “sanduíche” (MAINWARING; et al. 1982). Essa intercalação é resultado de um conjunto de interações de diferentes forças dependentes da estrutura do intercalador que, após sua ligação com o DNA, é capaz de esticar e desenrolar o esqueleto do DNA, sendo estabilizado por interações do tipo π -stacking com as bases (RICHARDS; RODGER, 2007).

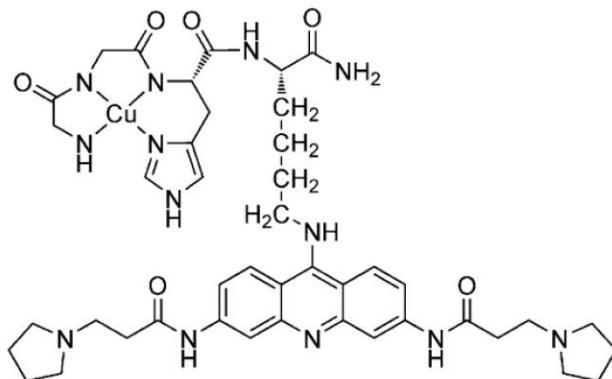
Intercalantes conhecidos são o brometo de etídio e a proflavina, que desenovelam o DNA aproximadamente 26° e 17°, respectivamente. Essas mudanças estruturais podem levar à mudanças funcionais no DNA e por isso, compostos intercalantes mostram aplicabilidade em tratamentos quimioterápicos para inibir a replicação do DNA em células tumorais que se desenvolvem rapidamente. Os efeitos dos intercalantes na estrutura do DNA são totalmente reversíveis após a remoção dos mesmos se a estrutura duplex do DNA não for destruída durante o processo de remoção. O maior problema enfrentado hoje na quimioterapia do câncer, é a citotoxicidade limitada da dose dos fármacos pela falta de seletividade no ataque a células tumorais (RICHARDS; RODGER, 2007).

O desenvolvimento de fármacos fotoativáveis ganharam destaque frente às limitações encontradas no uso de quimioterápicos. Intercaladores aromáticos como acridina e pireno são de grande interesse para a pesquisa em diferentes campos como carcinogênese, quimioterapia, reconhecimento molecular e nanomedicina. Tem se dado atenção especial ao uso de compostos intercalantes como sondas que se ligam seletivamente a sítios discrepantes de DNA, sendo úteis para detecção de alteração na sequência do DNA através de propriedades fotoquímicas desses intercalantes (BOYTON; MARCÉLIS; BARTON, 2016; HÄFLIGER; et al., 2005; JIANG; et al., 2010; LAIB; et al., 2005; UZUMCU; GUNAY; OKAY, 2018).

Já há algumas décadas são realizados estudos que mostram a superioridade de modelos capazes de intercalar DNA quando comparados aos seus análogos que interagem com DNA por outras vias (BOSEGGIA; et al., 2004; CAMARGO; et al., 2018; RAMMO; et al, 1996; SHAO; et al, 2015). Um estudo utilizando lantanídeos na clivagem de DNA por mecanismo hidrolítico foi descrito por Rammo e colaboradores (1996) que utilizaram ligantes nucleofílicos éter de coroa e intercalantes contendo naftaleno. O uso de Eu(III) mostrou uma ação catalítica do mesmo com um valor de k_{cat} de $4,2 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, com um fator de aceleração em relação a reação não catalisada de 7×10^6 vezes. O modelo contendo o ligante com o grupo intercalante naftaleno apresentou um valor de k_{cat} dez vezes maior do que o metal isolado. Nas condições otimizadas, o metal isolado e o complexo com intercalante mostraram uma conversão do DNA da Forma I para a Forma II de 40 e 60 %, respectivamente.

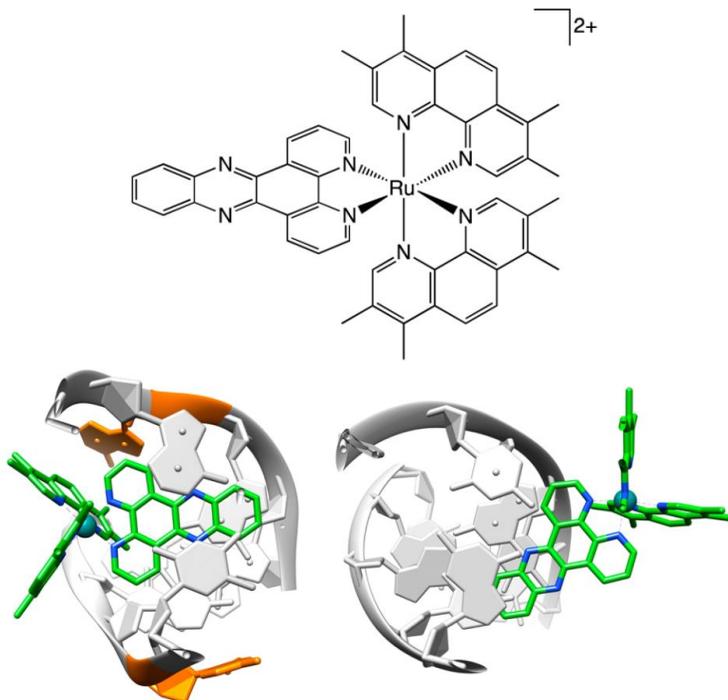
Yu e colaboradores (2015) desenvolverem um complexo mononuclear de cobre contendo acridina como grupo intercalante (CuGGHK-Acr) (Figura 5). Pela presença da acridina, o ligante possibilita o posicionamento da fração contendo o centro metálico próximo ao DNA telomérico G4, promovendo a clivagem seletiva do mesmo. Estudos recentes sugerem que uma maior quantidade de DNA G4 é formado na etapa de divisão celular do que nas fases G_0 e G_1 do ciclo celular. Assim, células tumorais devem ser mais vulneráveis a fármacos G4-direcionadas como resultado de sua frequente divisão celular.

Figura 5. Estrutura química do complexo CuGGHK-Acr. Fonte: YU; HAN; COWAN, 2015.



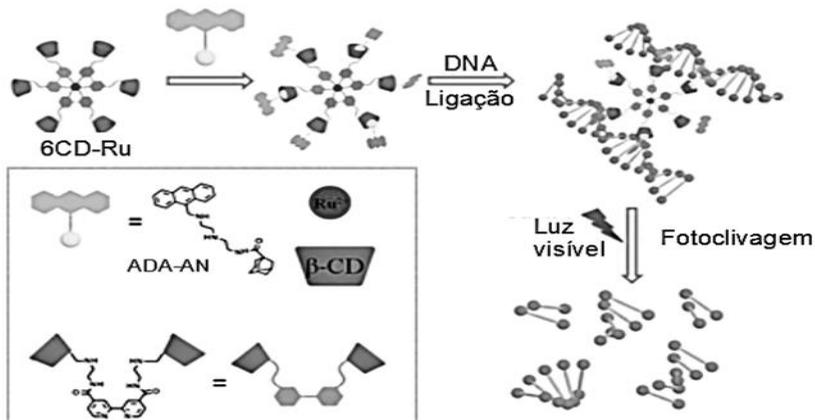
Mais recentemente, foi desenvolvido um complexo de rutênio(II) capaz de possibilitar um potencial diagnóstico precoce de câncer, detectando deficiências no reparo de incompatibilidades no DNA. (BOYTON; MARCÉLIS; BARTON, 2016). O complexo $[Ru(Me_4phen)_2dppz]^{2+}$ ($Me_4phen = 3,4,7,8$ -tetrametil-1,10-fenantrolina; $dppz =$ dipiridofenazina) se liga ao DNA com falhas no reparo de mal pareamentos por metaloinserção e com o DNA corretamente pareado, por intercalação (Figura 6). O composto tem uma afinidade 26 vezes maior pelo DNA com falhas quando comparado ao DNA corretamente pareado, e o tempo de meia vida de emissão do estado excitado ligado ao DNA com falhas de replicação é de 160 ns contra 35 ns quando ligado aos sítios pareados corretamente. Com isso, há um aumento preferencial da luminescência do sistema em sua interação do complexo com o DNA com falhas no reparo de pareamento, permitindo sua identificação.

Figura 6. $[\text{Ru}(\text{Me}_4\text{phen})_2\text{dppz}]^{2+}$ modelado no interior de estruturas cristalinas de DNA duplex. Esquerda: Metaloinserção no sítio de DNA com erros de pareamento através do sulco menor (em laranja são representadas as bases com pareamento falho). Direita: intercalação no sítio corretamente pareado através do sulco maior. Fonte: BOYTON; MARCÉLIS; BARTON, 2016.



Um trabalho mais recente (CHENG; et al., 2018) traz o uso de estratégia supramolecular para o aumento da interação e habilidade de fotoclivagem do DNA de um complexo de rutênio(II) pendurado a unidade de β -ciclodextrina (CD) (Esquema 3). O complexo consiste em um sistema *host-guest* auto-organizado usando polipiridil rutênio fixado a 6 unidades de β -ciclodextrina que acomodam unidades de antraceno modificado com adamantano. A presença das unidades de CD conferem a boa solubilidade do complexo em água e as unidades de antraceno aumentam a força de ligação do complexo com o DNA por intercalação, e com isso aumenta a habilidade do núcleo de rutênio de fotoclivar o DNA quando irradiado com luz visível.

Esquema 3. Representação esquemática de intercalação e fotoclivagem do DNA utilizando o complexo de rutênio. Fonte: CHENG; et al., 2018.



1.4 COMPLEXOS MODELOS COMO HIDROLASES ARTIFICIAIS

O planejamento e síntese de novos ligantes polidentados simétricos e não-simétricos se estabelecem como condição fundamental para a obtenção de complexos biomiméticos para PAPs, assim como para outras metaloenzimas. No caso das PAPs, isso garante ambientes quimicamente distintos em torno de centros de Fe^{3+} e M^{2+} , sendo uma característica essencial para as propriedades catalíticas do complexo modelo. O desenvolvimento de modelos para PAPs já é bastante explorado, com uma gama de compostos biomiméticos que reproduzem bem a primeira esfera de coordenação da enzima (JARENMARK; et al, 2011; MITIC; et al., 2006; MUXEL; et al., 2014; NEVES; et al., 2007; PATHAK; et al., 2017; PATHAK; et al., 2018; PIOVEZAN; et al., 2010; SMITH; et al., 2012; SOUZA; et al., 2013).

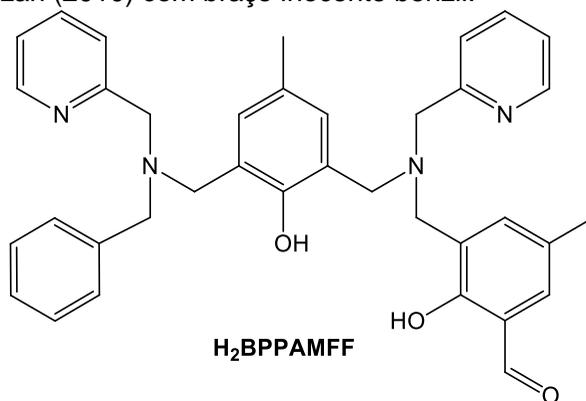
O estudo de complexos modelos capazes de clivar ligações de ésteres de fosfato têm atraído muito a atenção por sua importância na elucidação de estrutura e mecanismo da enzima correspondente e por seu potencial de aplicação desses complexos como medicamento terapêuticos dirigido a tipos

específicos de DNA (ácido desoxirribonucleico) e RNA (ácido ribonucleico) e uso como antibióticos (DESBOUIS; et al, 2012).

O desenvolvimento e síntese de modelos capazes de clivar ligações de ésteres de fosfato por via hidrolítica tem sido matéria de pesquisa de muitos grupos nas últimas duas décadas (ADHIKARY; et al., 2017; CAMARGO; et al., 2018; DAUMANN; et al., 2014; DEBOUIS; et al., 2012; HORN Jr.; et al, 2018; MANCIN; SCRIMIN; TECILLA, 2012; PATHAK; GANGWAR; GHOSH, 2018; MITIC; et al., 2006; REBILLY; et al., 2015; XAVIER; NEVES, 2016; YU; COWAN, 2018).

Piovezan (2010) desenvolveu um complexo biomimético de $Fe^{III}Zn^{II}$ para PAPs contendo ligante N,O doador com braço inocente (Figura 7), o $H_2BPPAMFF$ com a finalidade de avaliar o efeito da presença de um ponto de coordenação lábil na esfera de coordenação do metal(II). Esse trabalho motivou o desenvolvimento dos ligantes que serão apresentados nesse trabalho, com modificações que promovessem interações de segunda esfera de coordenação e avanços em estudos modelos para hidrólise de substrato modelo fosfodiéster e clivagem de DNA. Como desdobramento desse trabalho, como será explicado no decorrer dessa tese, complexos mononucleares de ferro(III) foram sintetizados com a finalidade de estudar a atuação como hidrolase sintética e, como perspectiva, potencialmente como nuclease sintética.

Figura 7. Estrutura do ligante N,O doador desenvolvido por Piovezan (2010) com braço inocente benzil.



A maioria dos estudos reportados para hidrolases são relacionados a sistemas binucleares $M^II M^II$, $M^III M^II$ e $M^III M^III$ (sendo $M^III = Fe$ e $M^II = Zn$ e Cu , majoritariamente), embora alguns sistemas mononucleares de Cu^II também já tenham sido descritos (DEAL; BURSTYN, 1996; OLIVEIRA; et al., 2009). Complexos mononucleares de ferro(III) que possam atuar como hidrolase não foram encontrados na literatura. Não obstante, alguns complexos mononucleares de ferro(III) empregados em estudos de clivagem de DNA por vias oxidativas foram reportados (ROELFES; et al., 2000; SILVER; TROGLER, 1995).

O trabalho desenvolvido por Silver e colaboradores (1995) consiste na síntese de complexos mononucleares de ferro(III) com ligantes derivados do triazaciclononano que apresentam eficácia na clivagem de DNA através de mecanismo oxidativo em concentração bastante baixas (aproximadamente $0,5 \mu M$), isso em temperatura e pH fisiológicos.

Apesar do grande avanço na construção de modelos bioinspirados, as atuais pesquisas objetivam tornar os modelos mais eficientes e seletivos, porém ma nova frente se abre, com a possibilidade de desenvolvimento de hidrolase sintéticas baseadas em sistemas mononucleares de ferro(III), que inclui a necessidade de entendimento da atuação da primeira esfera de coordenação e que já traz uma boa perspectiva para a área de modelagem enzimática com os resultados que serão apresentados ao longo deste trabalho.

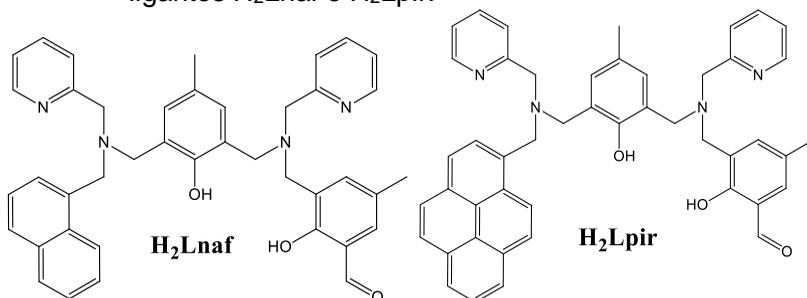
2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo sintetizar complexos heterobinucleares de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ e mononucleares de Fe^{III} com os novos ligantes não simétricos contendo grupos aromáticos policíclicos (naftil e pirenil) em sua estrutura e testar sua capacidade de catalisar a hidrólise de ésteres de fosfato.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar e caracterizar por IR, ^1H NMR e ESI-MS os ligantes H_2Lnaf e H_2Lpir .



2. Sintetizar e caracterizar os complexos de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ com os ligantes citados por análises espectroscópicas (IR e UV-Vis), análise elementar e espectrometria de massas e condutividade molar.
3. Sintetizar os complexos mononucleares de Fe^{III} com os mesmos ligantes e caracterizar por análises espectroscópicas (IR e UV-Vis), análise elementar, espectrometria de massas titulação espectrofotométrica e eletroquímicas (voltametrias).
4. Investigar a reatividade dos complexos obtidos frente à hidrólise dos substratos 2,4-BDNPP e 2,4-DNPP.
5. Investigar o modo de interação com DNA via espectroscopia eletrônica.

3 EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS

Os seguintes reagentes, materiais, gases e solventes, empregados nas sínteses e análises, foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia: hidróxido de sódio, ácido clorídrico 37 %, sulfato de sódio anidro, hidróxido de potássio, trietilamina, bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, boro-hidreto de sódio, hidróxido de lítio, brometo de potássio grau espectroscópico, cloreto de potássio, tampões biológicos 2-ácido (N-morfolino)etanosulfônico (MES), ácido 2-[4-(2-hidroxi-2-etil)-piperazin-1-il]etanosulfônico (HEPES), ácido N-ciclohexil-2-aminoetanosulfônico (CHES), perclorato de lítio, carvão ativo, sílica gel azul, perclorato de ferro(III) nona-hidratado, tetrafluoroborato de ferro(II) hexa-hidratado, acetato de zinco(II) di-hidratado, hexacianoferrato(III) de potássio, fluoreto de tetrabutilamônio hidratado, perclorato de lítio, argônio 5.0, hidrogênio, nitrogênio 2.0, clorofórmio deuterado, água deuterada, clorofórmio PA, acetonitrila PA, diclorometano PA, isopropanol PA, metanol PA, tetra-hidrofurano PA, etanol absoluto, éter etílico PA, acetona PA, acetonitrila grau espectroscópico.

Foram purificados antes de utilizados os seguintes reagentes: 2-piridilcarboxialdeído (destilado à pressão reduzida), 2-(aminometil)piridina (destilada à pressão reduzida), piridina (destilada), 2,4-dinitrofenol (recristalizado em clorofórmio). O composto bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP) foi sintetizado, purificado e caracterizado de acordo com procedimento descrito na literatura (BUNTON ; FARBER, 1969). O composto 2,4-dinitrofenilfosfato (2,4-DNPP) foi sintetizado, purificado e caracterizado de acordo com procedimento descrito na literatura (RAWJI; MILBURN, 1981).

3.2 MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.2.1 Espectrofotometria na região do Infravermelho (IR)

Os espectros na região do IR foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer FT-IR Spectrum 100, na região de 4000 a 400 cm^{-1} . As amostras foram analisadas em pastilha de

KBr (grau espectroscópico) ou por reflectância total atenuada (ATR).

3.2.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear (NMR)

Os espectros de ^1H NMR 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 CDCl_3 como solvente.

3.2.3 Espectrofotometria na região do Ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos da região do UV-Vis foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Lambda 750 no Laboratório de Química Bioinorgânica e Cristalografia, no Departamento de Química da UFSC. As análises foram realizadas utilizando soluções do solvente em grau espectroscópico e cubetas de quartzo, com capacidade para 1,5 mL e 1 cm de caminho óptico. Os complexos foram dissolvidos em CH_3CN e $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) com concentração adequada para a análise.

3.2.4 Espectrometria de massas com ionização via eletrospray (ESI-MS)

Os compostos sintetizados (ligantes e complexos) foram analisados via ESI-MS no modo positivo. Os espectros foram medidos pela técnica Vanessa Almeida de Oliveira, obtidos no equipamento Amazon – Ions Trap MS do Centro de Biologia Molecular Estrutural – UFSC. As análises foram realizadas a partir das soluções dos ligantes e dos complexos em CH_3CN grau MS com concentração de aproximadamente 500 ppb e fluxo de $180 \mu\text{L min}^{-1}$. A temperatura do capilar foi mantida entre 180 e 200 °C e a voltagem do capilar entre -3500 e -4500 V.

3.2.5 Análise Elementar de C, H e N

As medidas para a determinação dos percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio para os complexos sintetizados foram realizadas em um analisador elementar de C, H, N e S – Perkin-Elmer 2400 usando uma balança Perkin-Elmer AD-4 Autobalance e cápsula de estanho, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo – USP.

3.2.6 Difratometria de raios X

A análise por difração de raios X em monocristal do complexo **1b** foi realizada pelo professor Adailton João Bortoluzzi na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os dados foram coletados em um difratômetro 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 200 K. Correção de absorção semi-empírica (APEX2) foi aplicada a todas as intensidades medidas com fatores de transmissão máximo e mínimo de 0,7453 e 0,6806. A estrutura cristalina foi resolvida através dos métodos diretos e refinada pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa em F^2 (SHELDRICK, 2015). A representação gráfica da estrutura molecular foi gerada utilizando o programa ORTEP (FARRUGIA, 1997).

3.2.7 Eletroquímica

O comportamento redox dos complexos foi investigado por voltametria de onda quadrada em um potenciostato/galvanostato modelo BAS Epsilon. Os experimentos foram feitos em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v), com $[\text{C}] = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Foi utilizado como eletrólito de suporte LiClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e uma célula eletrolítica contendo um eletrodo de referência Ag/Ag^+ , um eletrodo de trabalho de carbono vítreo e um eletrodo auxiliar de platina. Foi utilizado como padrão interno o hexacianoferrato de potássio (par $\text{Fe(III)}/\text{Fe(II)}$) ($E_{1/2} = 369 \text{ mV vs NHE}$) para correção do eletrodo de referência (ROCK, 1966).

3.2.8 Condutividade molar

As medidas condutimétricas dos complexos **1a** e **2a** foram realizadas no aparelho Metrohm 856, do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia – UFSC. Os compostos de coordenação foram dissolvidos em CH₃CN, com concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. O aparelho foi calibrado com uma solução padrão de KCl cuja condutividade é de 100 µS em água a 25 °C.

3.2.9 Titulação Espectrofotométrica

As constantes de protonação foram determinadas por titulação espectrofotométrica no Laboratório de Química Bioinorgânica e Cristalografia – UFSC. Os experimentos foram realizados em CH₃CN/H₂O (1:1, v/v), pK_w = 15,40 (HERRADOR; GONZÁLEZ, 2002). Cada titulação foi realizada em uma cela termoestabilizada a $25,00 \pm 0,01$ °C, controlada por um banho da Visomes Plus. As medidas foram feitas em volume de solução final de 25 mL, com concentração aproximada de $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de complexo. A força iônica foi ajustada com KCl à 0,1 mol L⁻¹ e o sistema foi titulado com KOH 1,0 mol L⁻¹. Todas as soluções foram preparadas com água bidestilada e fervida sob atmosfera de argônio pré-purgado em solução de KOH.

As medidas de pH foram feitas utilizando pHmetro Oakton pH 2700. Alíquotas de aproximadamente 1 mL foram removidas a cada ponto e o espectro de UV/Vis obtido em um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Lambda 750. Após cada medida a alíquota era devolvida para a solução titulada. As curvas foram ajustadas com uma curva sigmoideal e os valores de pK_a obtidos do ponto de inflexão. Os diagramas de espécies presentes em solução em funções do pH foram obtidos com o programa SPECIES.

3.2.10 Medidas de reatividade na hidrólise de ésteres de fosfato

A atividade catalítica dos complexos foi avaliada através da reação de hidrólise do substrato bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP), o qual foi sintetizado de acordo com o método descrito por Bunton e Farber (1969). Os experimentos cinéticos foram realizados em triplicata sob condições de excesso de substrato monitorando-se espectrofotometricamente, em um

espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatizado, sendo a variação de absorvância ocorrida em 400 nm ($\text{pH}/\epsilon \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1} = 3,5/2125; 4,0/3408; 4,5/7182; 5,0/10078; 5,5/11405; 6,0/12004; 6,5-10,0/12100$) referente a liberação do ânion 2,4-dinitrofenolato (PERALTA et al, 2010), como produto da reação de hidrólise. As reações foram monitoradas até 5 % de conversão de substrato a produto e os dados foram tratados pelo método das velocidades iniciais.

O gráfico das velocidades iniciais (v_0) em função do pH permitiu a obtenção dos valores de $\text{p}K_a$ para as espécies em equilíbrio e pH ótimo (valor de pH onde a atividade catalítica é máxima). A determinação das velocidades iniciais em função da concentração do substrato foi realizada no pH ótimo sob mesmas condições descritas para o estudo de influência do pH, resultando em cinéticas de saturação com comportamento de Michaelis-Menten. Através desse experimento determinou-se a velocidade máxima (v_{MAX}) e a constante de Michaelis-Menten (K_M). Através de cálculos simples, determinou-se a constante catalítica ($k_{\text{cat}} = v_{\text{MAX}}/[C]$), o fator catalítico, pré-definido somente para a reação de hidrólise, definido pela razão entre a constante catalítica e a constante da reação não catalisada, além da eficiência catalítica ($E = k_{\text{cat}}/K_M$).

Os estudos em função do pH para atividade de hidrólise foram realizados em uma faixa de pH entre 4,0 e 9,5 a 25 °C. Utilizaram-se cubetas de vidro com capacidade para 4,0 mL e caminho óptico de 1 cm, nas quais foram adicionados 750 μL de solução aquosa de tampão 0,1 mol L^{-1} MES (pH 4,0 a 6,5), HEPES (pH 7,0 a 8,0) e CHES (9,0 a 9,5) com força iônica mantida constante ($I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, LiClO_4), 100 μL de uma solução em acetonitrila do complexo ($[C]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), e 400 μL de acetonitrila. A reação foi iniciada com a adição de 250 μL de uma solução em acetonitrila do substrato ($[S]_{\text{final}} = 3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Os experimentos cinéticos em condições de excesso de substrato para determinação dos parâmetros cinéticos foram realizados nas mesmas condições, porém alterando o volume de acetonitrila e de solução de substrato mantendo a proporção $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v), para que a concentração de substrato variasse de $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Correções de hidrólise espontânea do substrato 2,4-BDNPP foram realizadas sob condições idênticas, sem a adição do complexo.

A determinação do número de moléculas de substrato hidrolisadas por molécula de complexo foi realizada pelo acompanhamento espectrofotométrico em 445 nm ($\epsilon = 3600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) na condição de 50 vezes de excesso do substrato ($[\text{S}]_{\text{final}} = 2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) em relação ao complexo ($[\text{C}]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) à temperatura de 25 °C durante 24 h. Realizou-se também o acompanhamento da reação estequiométrica em 400 nm entre os complexos e o substrato ($[\text{C}]_{\text{final}} = [\text{S}]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) durante 50 horas a 50°C. Em todos os experimentos cinéticos a correção da hidrólise espontânea do substrato foi realizada e os mesmos foram realizados no pH de atividade máxima dos complexos.

O estudo do efeito isotópico de deutério na hidrólise do 2,4-BDNPP pelos complexos **1b** e **2b** foi realizado através da determinação das velocidades iniciais em função da concentração do substrato. Foi realizado em pD = 7,5 (corrigido) sob mesmas condições descritas em meio $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, apenas substituindo H_2O por D_2O no preparo da solução tampão HEPES. Em todos os experimentos cinéticos a correção da hidrólise espontânea do substrato foi realizada.

A interações dos complexos com o substrato 2,4-BDNPP foram analisados via espectrometria de massa com ionização via eletrospray (ESI-MS). Os espectros foram medidos pela técnica Vanessa Almeida de Oliveira obtidos no equipamento Amazon – Ions Trap MS do Centro de Biologia Molecular Estrutural – UFSC. As análises foram realizadas a partir das soluções dos complexos na presença de substrato em meio $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) nos pHs 7,0 e 10 (aferidos com tira universal de pH após adição do substrato) e concentrações de complexo e substrato iguais as utilizadas nos estudos do efeito do pH na atividade catalítica dos complexos. Utilizou-se solventes em grau MS ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1, v/v) para diluição da solução de estudo. A temperatura do capilar foi mantida entre 180 e 200 °C e a voltagem do capilar de -3000 V.

Foram realizados testes qualitativos acerca da atividade catalítica dos complexos 1b e 2b na reação de hidrólise do substrato 2,4-dinitrofenilfosfato (2,4-DNPP) para avaliar a capacidade dos mesmo de catalisar a reação de hidrólise de monoésteres. Os estudos foram realizados monitorando-se espectrofotometricamente, em um espectrofotômetro UV-Vis

Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostático, a variação espectral decorrente da hidrólise do 2,4DNPP, devido a liberação do 2,4-DNP durante a reação. Nas cubetas de vidro adicionaram-se 1000 μL de solução aquosa de tampão 0,1 mol L^{-1} HEPES (pH 7,5) com força iônica mantida constante ($I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, LiClO_4), 450 μL de uma solução em acetonitrila do complexo ($[\text{C}]_{\text{final}} = 1,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), e 1550 μL de acetonitrila. A reação foi iniciada com a adição de 15 μL de uma solução em DMSO do substrato ($[\text{S}]_{\text{final}} = 1,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e acompanhada por 7 horas com intervalo entre as leituras de 1 hora.

3.2.11 Estudos de interação com DNA

Foi realizado um teste de interação via espectroscopia na região do UV-vis utilizando-se uma solução 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CT-DNA em solução aquosa de tampão 0,1 mol L^{-1} HEPES (pH 7,5) com força iônica 0,1 mol L^{-1} de LiClO_4 . A concentração final da solução de DNA-CT foi obtida através da absorbância em 260 nm ($\epsilon = 6660 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Utilizaram-se cubetas de quartzo com capacidade para 1,5 mL e caminho óptico de 1 cm, nas quais foram adicionados solução aquosa de tampão 0,1 mol L^{-1} HEPES (pH 7,5) com força iônica mantida constante ($I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, LiClO_4), volume adequado de acetonitrila e uma solução em acetonitrila do complexo para obter-se um meio $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ e concentração adequada do complexo para os estudos. Os complexos foram titulados com adições sucessivas de alíquotas de DNA-CT e o espectro obtido em cada ponto em um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Lambda 750. Os valores de absorbância foram corrigidos para a diluição e a constante de ligação K_b foi obtida por ajustar os valores à equação (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013):

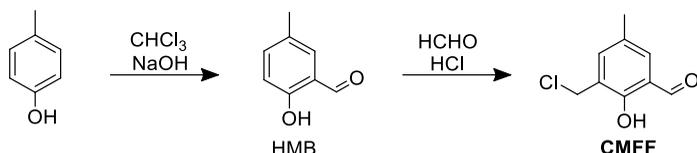
$$\frac{[DNA]}{\epsilon a - \epsilon f} = \frac{[DNA]}{\epsilon b - \epsilon f} + \frac{1}{K_b(\epsilon b - \epsilon f)}$$

Em que ϵf e ϵb são os coeficientes de absorção do complexo livre e completamente ligado, respectivamente, e ϵa , o coeficiente de absorção após cada adição.

3.3 SÍNTESES

3.3.1 Síntese dos ligantes

3.3.1.1 Síntese do 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol (CMFF)



Inicialmente preparou-se o 2-hidroxi-5-metilbenzaldeído (HMB) através de uma reação de formilação do *p*-cresol (THOER et. al 1988). Em um balão de 3 bocas de 5000 mL, equipado com um agitador mecânico e um condensador, adicionou-se o *p*-cresol (21,6 g, 200 mmol, $108,14 \text{ g mol}^{-1}$) em 1,5 L de clorofórmio. A solução foi mantida sob agitação com temperatura controlada entre $56 - 60 \text{ }^\circ\text{C}$ com um banho. Iniciou-se então a adição de NaOH (60 g, 1,5 mmol, $40,00 \text{ g mol}^{-1}$), solubilizado em 100 mL de água destilada, em pequenas porções durante 3 horas. A reação foi mantida por mais uma hora e então deixou-se o sistema resfriar a temperatura ambiente. Adicionou-se aproximadamente 500 mL de água destilada e, sob agitação, acidificou-se com HCl concentrado até $\text{pH} = 2$. A fase orgânica foi separada, lavada com água destilada, seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi retirado em rotaevaporador. O produto foi então destilado à pressão reduzida. Obteve-se o HMB como um sólido branco. O sólido foi solubilizado em um mínimo de diclorometano e purificado com coluna cromatográfica em sílica, utilizando diclorometano como eluente. O solvente foi retirado à pressão reduzida e obteve-se um sólido cristalino.

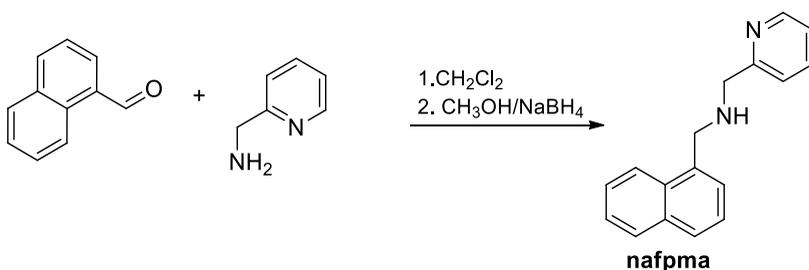
Em um balão de 500 mL adicionou-se o HMB (6,4 g, 47 mmol, $136,15 \text{ g mol}^{-1}$), formaldeído 37% (3,81 g, 94 mmol) e ácido clorídrico concentrado (25 mL). O sistema foi mantido sob refluxo e agitação por 30 minutos e, na sequência, resfriado a $0 \text{ }^\circ\text{C}$, formando um precipitado compacto no fundo do balão, que foi triturado, filtrado sob vácuo e recristalizado a quente em diclorometano. Obteve-se um sólido branco, que foi deixado no dessecador com sílica sob vácuo para secar. P.F.: $94-96 \text{ }^\circ\text{C}$ com

rendimento de 85% (7,4 g, 40 mmol, 184,62 g mol⁻¹) em relação ao HMB.

¹H NMR, 200 MHz (CDCl₃): δ/ppm: 2,35 (s, 3H); 4,67 (s, 2H); 7,35 (s, 1H); 7,46 (s, 1H); 9,86 (s, 1H); 11,25 (s, 1H)

IR (KBr) em cm⁻¹: ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3028-2850; ν (C-H_{ald}) 2746; ν (C=O) 1663; ν (C=C) 1600-1470; δ (O-H_{fenol}) 1372; ν (C-O_{fenol}) 1256; δ (C-H_{ar}) 703; ν (C-Cl) 612.

3.3.1.2 Síntese do 1-(naftalen-1-il)-N-(piridin-3-ilmetil)metanamina (nafpma)

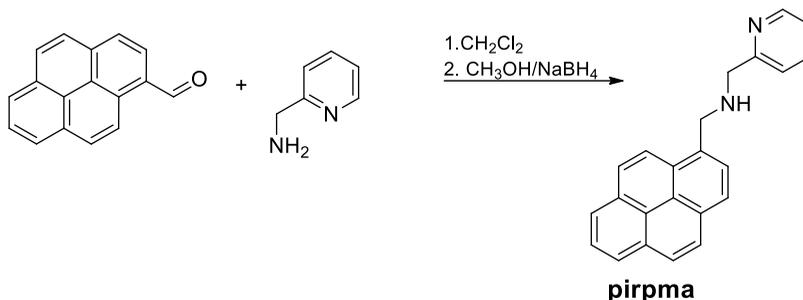


Nafpma foi sintetizado a partir de uma modificação de um procedimento já descrito na literatura (AMENDOLA et al. 1998). 1-naftaldeído (1,56 g, 10 mmol) foi dissolvido em 20 mL de diclorometano e 2-aminometilpiridina (1,08 g, 10 mmol) foi adicionado à solução, sob atmosfera de argônio. A mistura reacional foi agitada por 24 h sob refluxo e atmosfera de argônio. Depois de tratamento com sulfato de sódio anidro, a solução foi filtrada e o solvente foi evaporado em rotaevaporador. O óleo resultante foi dissolvido em metanol e foi adicionado borohidreto de sódio (2,0 g, 53 mmol) em pequenas porções com o sistema resfriado a 0°C em um banho de gelo durante 30 minutos. A mistura foi mantida sob refluxo por 18 h e o solvente foi então removido a pressão reduzida. Uma suspensão foi formada a partir da adição de 40 mL de água e a mesma foi extraída com diclorometano (3 x 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi retirado a pressão reduzida para obter-se um óleo amarelo (Rendimento: 89 % em relação ao 1-naftaldeído).

$^1\text{H NMR}$, 200 MHz (CDCl_3): δ /ppm – 2,49 (1H, sb), 4,05 (2H, s), 4,30 (2H, s), 7,16 (1H, dd), 7,35 (1H, dd), 7,39-7,57 (4H, m), 7,64 (1H, dt), 7,79 (1H, d), 7,88 (1H, m), 8,18 (1H, d), 8,58 (1H, d).

IR (ATR), em cm^{-1} : ν (N-H) 3302; ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3054-2806; ν (C=N e C=C) 1592-1428; ν (C-N) 1146; δ (C-H_{Ar}) 772.

3.3.1.3 Síntese do 1-(piren-1-il)-N-(piridin-3-ilmetil)metanamina (pirpma)

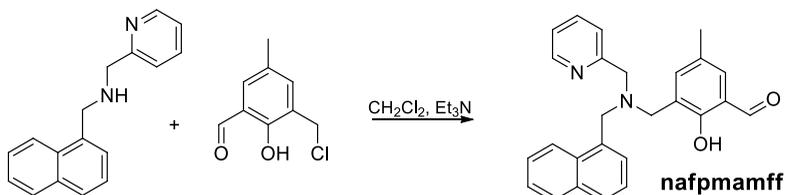


Pirlpma foi sintetizado de forma análoga ao Nafpma. 1-pirenocarboxaldeído (2,30 g, 10 mmol) foi dissolvido em 20 mL de diclorometano e 2-aminometilpiridina (1,08 g, 10 mmol) foi adicionado sob atmosfera de argônio. A solução foi agitada por 24 h sob refluxo e atmosfera de argônio. Depois de tratamento com sulfato de sódio anidro, a solução foi filtrada e o solvente foi evaporado em rotaevaporador. O óleo resultante foi dissolvido em metanol e foi adicionado borohidreto de sódio (2,0 g, 53 mmol) em pequenas porções com o sistema resfriado a 0°C em um banho de gelo. A mistura foi mantida sob refluxo por 18 h e o solvente foi removido a pressão reduzida. Uma suspensão foi formada a partir da adição de 40 mL de água e a mesma foi extraída com diclorometano (3 x 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi retirado a pressão reduzida para obter-se um óleo amarelo (Rendimento: 88 % em relação ao 1-pirenocarboxaldeído).

$^1\text{H NMR}$, 200 MHz (CDCl_3): δ /ppm – 2,41 (1H, sb), 4,10 (2H, s), 4,53 (2H, s), 7,17 (1H, dd), 7,35 (1H, dd), 7,63 (1H, dt), 7,95-8,22 (8H, m), 8,39 (1H, d), 8,61 (1H, d).

IR (ATR), em cm^{-1} : ν (N-H) 3312; ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3044-2820; ν (C=N e C=C) 1587-1468; ν (C-N) 1139; δ (C-HAr) 751.

3.3.1.4 Síntese de 2-hidroxi-5-metil-3-(((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzaldeído (nafpmamff)

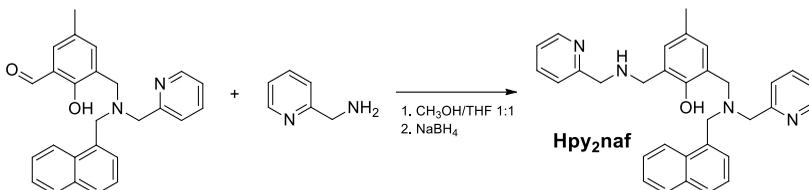


Nafpmamff foi sintetizado a partir de uma modificação de procedimento já descrito na literatura (NEVES et al. 2007). Nafpma (1,90 g, 7,6 mmol) foi dissolvido em diclorometano (40 mL). O sistema foi resfriado a 0 °C em banho de gelo e foram adicionados 0,77 g de trietilamina (7,6 mmol). Em seguida, 40 mL de uma solução de diclorometano contendo 1,41 g (7,6 mmol) de cmff foi adicionado ao sistema. A solução permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 2,5 h. O solvente foi retirado a pressão reduzida e o produto resultante foi redissolvido em diclorometano e a solução orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (6 x 30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido a pressão reduzida. Um sólido amarelo foi obtido e o rendimento da reação foi de 98 % em relação ao nafpma.

^1H NMR, 200 MHz (CDCl_3): δ /ppm – 2,26 (3H, s), 3,82 (2H, s), 3,88 (2H, s), 4,13 (2H, s), 7,18 (1H, dd), 7,26 (1H, m), 7,30 (1H, dd), 7,37-7,50 (4H, m), 7,56 (1H, d), 7,63 (1H, dt), 7,74 (1H, d), 7,81 (1H, m), 8,03 (1H, d), 8,59 (1H, d), 10,26 (1H, s).

IR (ATR), em cm^{-1} : ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3048-2810; ν (C=O) 1675; ν (C=N e C=C) 1595-1436; δ (O-H) 1378; ν (C-O) 1269; ν (C-N) 1149; δ (C-H_{Ar}) 747.

3.3.1.6 Síntese do 4-metil-2-(((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)-6-(((piridin-2-ilmetil)amino)metil)fenol (Hpy₂naf)

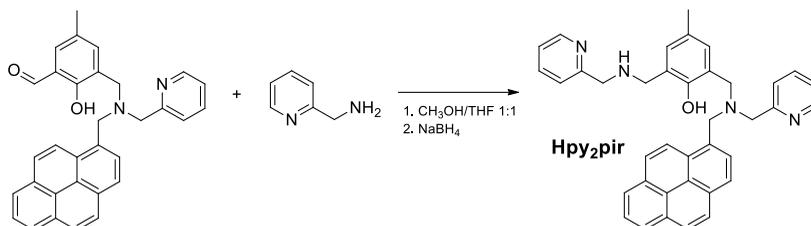


Hpy₂naf foi sintetizado a partir de uma modificação de procedimento já descrito na literatura (PIOVEZAN et al. 2010). 2-aminometilpiridina (0,81 g, 7,6 mmol) foi adicionada a uma solução de 2,99 g de nafpmamff (7,5 mmol) em metanol/tetrahidrofurano (1:1, v/v) (60 mL) e a mistura permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 3 horas. O sistema foi resfriado a 0 °C em banho de gelo e adicionaram-se lentamente durante 30 minutos 0,83 g de borohidreto de sódio (21,9 mmol). A solução foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente, por 1 hora. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e ao óleo resultante foi adicionado 40 mL de diclorometano e a solução foi lavada com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (6 x 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido a pressão reduzida, resultando em um óleo marrom escuro (Rendimento: 87 % em relação ao nafpmamff).

¹H NMR, 200 MHz (CDCl₃): δ/ppm – 2,24 (3H, s), 3,79 (2H, s), 3,84 (2H, s), 3,91 (2H, s), 3,95 (2H, s), 4,13 (2H, s), 6,91 (2H, s), 7,16 (2H, dd), 7,31 (1H, d), 7,43 (3H, m), 7,60 (3H, m), 7,77 (2H, m), 7,99 (1H, m), 8,56 (2H, m).

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3058-2804; ν(C=N e C=C) 1592-1433; δ (O-H) 1362; ν (C-O) 1230; ν (C-N) 1150; δ (C-H_{Ar}) 749.

3.3.1.7 Síntese do 4-metil-2-(((piren-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)-6-(((piridin-2-ilmetil)amino)metil)fenol (Hpy₂pir)

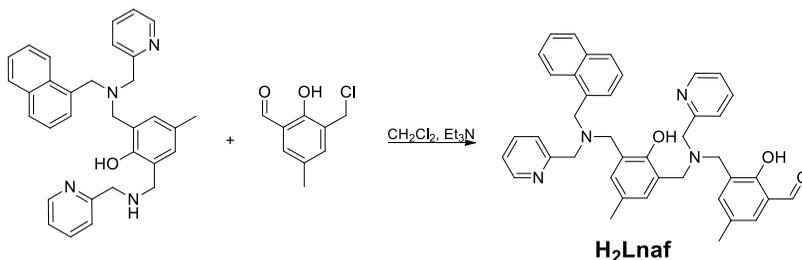


Hpy₂pir foi preparado de forma análoga ao Hpy₂naf. 2-aminometilpiridina (0,82 g, 7,6 mmol) foi adicionada a uma solução de 3,55 g de pирpmamff (7,5 mmol) em metanol/tetrahidrofurano (1:1, v/v) (60 mL) e a mistura permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 3 horas. O sistema foi resfriado a 0 °C em banho de gelo e adicionou-se lentamente durante 30 minutos 0,84 g de borohidreto de sódio (22 mmol). A solução foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 1 hora. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e ao óleo resultante foram adicionados 40 mL de diclorometano e a solução foi lavada com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (6 x 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido a pressão reduzida, resultando em um óleo marrom escuro (Rendimento: 98 % em relação ao pирpmamff).

¹H NMR, 200 MHz (CDCl₃): δ/ppm – 2,27 (3H, s), 3,84 (2H, s), 3,88 (2H, s), 3,96 (2H, s), 3,98 (2H, s), 4,37 (2H, s), 6,96 (2H, d), 7,12 (2H, dd), 7,29 (2H, dd), 7,56 (2H, dt), 7,93-8,18 (8H, m), 8,24 (1H, d), 8,52 (1H, d), 8,58 (2H, d).

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3042-2809; ν(C=N e C=C) 1593-1431; δ (O-H) 1365; ν (C-O) 1229; ν (C-N) 1150; δ (C-H_{Ar}) 749.

3.3.1.8 Síntese do 2-hidroxi-3-(((2-hidroxi-5-metil-3-(((naftalen-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzil)(piridin-2-ilmetil)amino)metil)-5-metilbenzaldeído (H₂Lnaf)



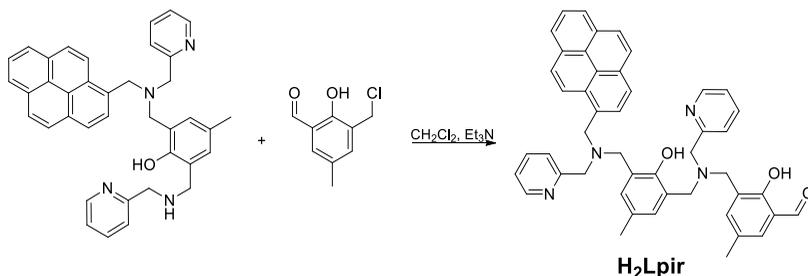
H₂Lnaf foi sintetizado a partir de uma modificação de procedimento já descrito na literatura (PIOVEZAN et al. 2010). Hpy₂naf (2,57 g, 5,3 mmol) e trietilamina (0,72 g, 7,1 mmol) foram adicionados a 60 mL de diclorometano. Adicionaram-se então 0,98 g de cmff (5,3 mmol) e a reação permaneceu sob agitação e refluxo por 5 dias. Em seguida o solvente foi removido a pressão reduzida e o óleo obtido foi dissolvido em 60 mL de diclorometano e lavado com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (4 x 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto foi obtido na forma de uma espuma marrom claro (Rendimento: 91 % em relação ao Hpy₂naf).

¹H NMR, 200 MHz (CDCl₃): δ/ppm – 2,22 (6H, s), 3,73-3,91 (10H, s), 4,11 (2H, s), 6,92 (2H, s), 7,17 (2H, m), 7,28-7,45 (7H, m), 7,58 (3H, m), 7,73 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 7,99 (1H, dd), 8,58 (2H, m), 10,22 (1H, s).

¹³C NMR, 100 MHz (CDCl₃): δ/ppm – 19,8; 20,1; 53,1; 54,0; 54,8; 55,7; 56,0; 58,8; 121,6; 121,7; 121,8; 122,6; 122,9; 123,9; 124,6; 124,7; 125,1; 125,4; 127,0; 127,4; 127,5; 127,6; 128,0; 128,1; 130,0; 130,2; 131,9; 133,3; 133,6; 136,1; 137,0; 148,3; 153,4; 157,5; 158,1; 158,7; 192,0

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3049-2819; ν(C=O) 1678; ν(C=N e C=C) 1594-1431; δ (O-H) 1377; ν (C-O) 1264; ν (C-N) 1148; δ (C-H_{Ar}) 751.

3.3.1.9 Síntese do 2-hidroxi-3-(((2-hidroxi-5-metil-3-(((piren-1-ilmetil)(piridin-3-ilmetil)amino)metil)benzil)(piridin-2-ilmetil)amino)metil)-5-metilbenzaldeído (H₂Lpir)



H₂Lpir foi preparado de forma análoga ao ligante H₂Lnaf. Hpy₂pir (4,17 g, 7,4 mmol) e trietilamina (0,75 g, 7,4 mmol) foram adicionados a 60 mL de diclorometano. Adicionaram-se então 1,37 g de cmff (7,4 mmol) e a reação permaneceu sob agitação e refluxo por 5 dias. Em seguida o solvente foi removido a pressão reduzida e o óleo obtido foi dissolvido em 60 mL de diclorometano e lavado com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (4 x 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto foi obtido na forma de uma espuma marrom claro (Rendimento: 90 % em relação ao Hpy₂pir).

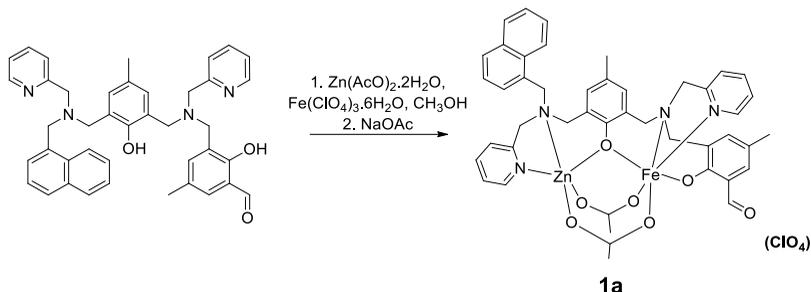
¹H NMR, 400 MHz (CDCl₃): δ/ppm – 2,23 (3H, s), 2,40 (3H, s), 3,74-3,94 (10H, s), 4,37 (2H, s), 7,06 (2H, s), 7,11 (1H, t), 7,18 (2H, m); 7,31-7,37 (3H, m), 7,47 (1H, dt), 7,59 (1H, dt), 7,99-8,02 (4H, m), 8,11 (2H, s), 8,15 (2H, t), 8,29 (1H, d), 8,63 (1H, dd), 8,71 (1H, dd), 10,33 (1H, s).

¹³C NMR, 100 MHz (CDCl₃): δ/ppm – 19,9; 20,3; 53,2; 54,1; 54,6; 55,8; 56,1; 58,9; 121,7; 122,9; 122,9; 123,1; 123,3; 124,1; 124,3; 124,5; 124,6; 125,5; 126,8; 127,0; 127,1; 127,6; 128,0; 28,2; 129,4; 130,2; 130,4; 130,8; 131,5; 136,1; 137,0; 148,4; 153,5; 157,6; 158,2; 158,8; 192,1

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3045-2827; ν(C=O) 1676; ν(C=N e C=C) 1592-1429; δ (O-H) 1370; ν (C-O) 1262; ν (C-N) 1147; δ (C-H_{Ar}) 753.

3.3.2 Síntese dos complexos

3.3.2.1 Síntese do $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{Lnaf})](\text{ClO}_4)_2$ – Complexo **1a**

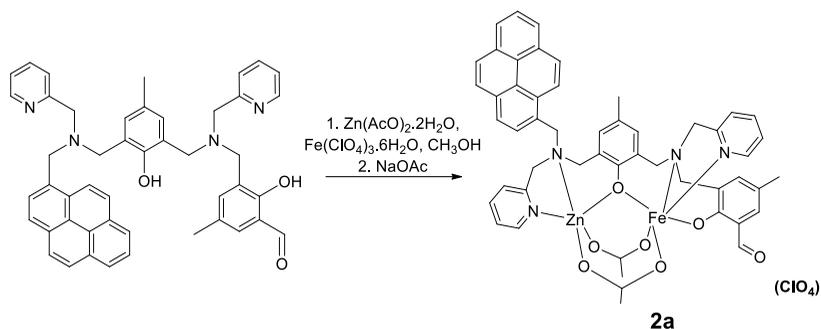


O ligante H_2Lnaf (0,637 g, 1,0 mmol), $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,220 g, 1,0 mmol) e $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0,516 g, 1,0 mmol) foram dissolvidos em 40 mL de metanol. 0,136 g de NaOAc (1,0 mmol) foram adicionados ao sistema. A mistura permaneceu sob agitação a 40-50 °C por 15 minutos. O solvente foi evaporado até volume final de 10 mL e a solução foi deixada cristalizar. O sólido resultante foi coletado e lavado com água gelada e éter etílico gelado. Rendimento: 65 % em relação ao ligante.

IR (ATR), em cm^{-1} : $\nu(\text{C-H}_{\text{Ar}}$ e C-H_{Alif}) 2915; $\nu(\text{C=O})$ 1646; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1607-1465; $\nu_{\text{ass}}(\text{OAc})$ 1590; $\nu_{\text{sim}}(\text{OAc})$ 1440; $\nu(\text{C-O})$ 1230; $\nu(\text{Cl-O})$ 1090; $\delta(\text{C-H}_{\text{Ar}})$ 765.

Anal. Calcd: $\text{FeZnC}_{45}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{ClO}_{11} + 1,5 \text{H}_2\text{O} + \text{CH}_3\text{OH} + 0,6 \text{NaClO}_4$: C 49,95; H 4,65; N 5,07; Experimental: C 49,95; H 4,56; N 5,05 %. MM = 1106,06 g mol^{-1}

3.3.2.2 Síntese do $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{Lpir})](\text{ClO}_4)_2$ – Complexo **2a**

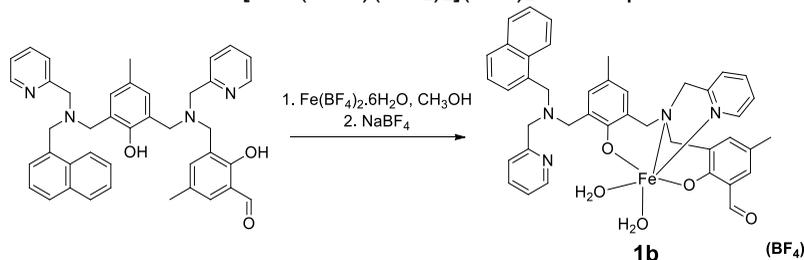


O ligante H_2Lpir (0,711 g, 1,0 mmol), $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,220 g, 1,0 mmol) e $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0,516 g, 1,0 mmol) foram dissolvidos em 40 mL de metanol. 0,136 g de NaOAc (1,0 mmol) foram adicionados ao sistema. A mistura permaneceu sob agitação a 40-50 °C por 15 minutos. O solvente foi evaporado até volume final de 10 mL e a solução foi deixada cristalizar. O sólido resultante foi coletado e lavado com água gelada e éter etílico. Rendimento: 73 % em relação ao ligante.

IR (ATR), em cm^{-1} : $\nu(\text{C-H}_{\text{Ar}}$ e C-H_{Alif}) 3035-2850; $\nu(\text{C=O})$ 1663; $\nu(\text{C=N}$ e $\text{C=C})$ 1606-1465; $\nu_{\text{ass}}(\text{OAc})$ 1586; $\nu_{\text{sim}}(\text{OAc})$ 1430; $\nu(\text{C-O})$ 1231; $\nu(\text{Cl-O})$ 1085; $\delta(\text{C-H}_{\text{Ar}})$ 760.

Anal. Calcd: $\text{FeZnC}_{51}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{ClO}_{11} + 2 \text{H}_2\text{O} + 0,5 \text{CH}_3\text{OH} + 0,4 \text{NaClO}_4$: C 53,85; H 4,56; N 4,88; Experimental: C 53,65; H 4,49; N 4,75 %. MM = 1148,64 g mol^{-1}

3.3.2.3 Síntese do $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Lnaf})(\text{OH}_2)_2](\text{BF}_4)_2$ – Complexo **1b**

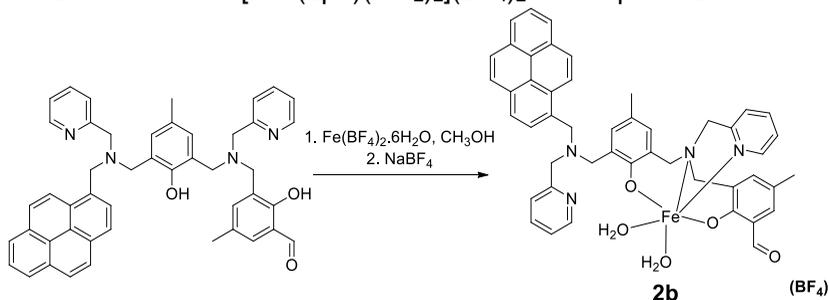


O ligante H₂Lnaf (0,64 g, 1,0 mmol) foi dissolvido em 50 mL de metanol. 0,34 g de Fe(BF₄)₂·6H₂O (1,0 mmol) e 0,10 g de NaBF₄ (1,0 mmol) foram adicionados ao sistema e o mesmo permaneceu sob agitação a 40-50 °C por 20 minutos. O solvente foi evaporado até volume final de 15 mL e o sistema foi deixado cristalizar. O sólido resultante foi coletado e lavado com água gelada e éter etílico. Rendimento: 70 %.

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 3045-2858; ν (C=O) 1610; ν (C=N e C=C) 1572-1440; δ (O-H) 1384; ν (C-O_{fenol}) 1258; ν (C-N) 1159; ν (B-F) 1052; δ (C-H_{Ar}) 762.

Anal. Calcd: FeC₄₁H₄₂N₄O₅BF₄ + 0,75 (CH₃CH₂)₂O + 0,5 NaBF₄: C 57,13; H 5,41; N 6,08; Experimental: C 57,20; H 5,40; N 6,06 %. MM = 923,93 g mol⁻¹

3.3.2.4 Síntese do [Fe^{III}(Lpir)(OH₂)₂](BF₄)₂ – Complexo **2b**



O ligante H₂Lpir (0,71 g, 1,0 mmol) foi dissolvido em 50 mL de . 0,34 g de Fe(BF₄)₂·6H₂O (1,0 mmol) e 0,10 g de NaBF₄ (1,0 mmol) foram adicionados ao sistema e o mesmo permaneceu sob agitação a 40-50 °C por 20 minutos. O solvente foi evaporado até volume final de 15 mL e o sistema foi deixado cristalizar. O sólido resultante foi coletado e lavado com água gelada e éter etílico. Rendimento: 68 % em relação ao ligante.

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 2998-2852; ν (C=O) 1606; ν (C=N e C=C) 1574-1422; δ (O-H) 1385; ν (C-O_{fenol}) 1256; ν (C-N) 1157; ν (B-F) 1054; δ (C-H_{Ar}) 761.

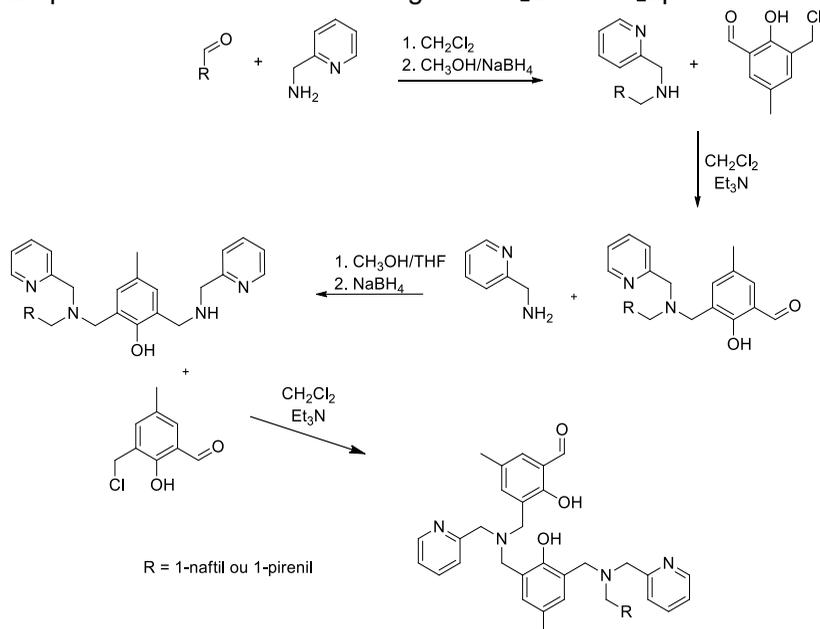
Anal. Calcd: FeC₄₇H₄₄N₄O₅BF₄ + 0,3 (CH₃CH₂)₂O + 1,1 NaBF₄: C 55,58; H 4,55; N 5,28; Experimental: C 55,61; H 4,42; N 5,12 %. MM = 923,93 g mol⁻¹

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES

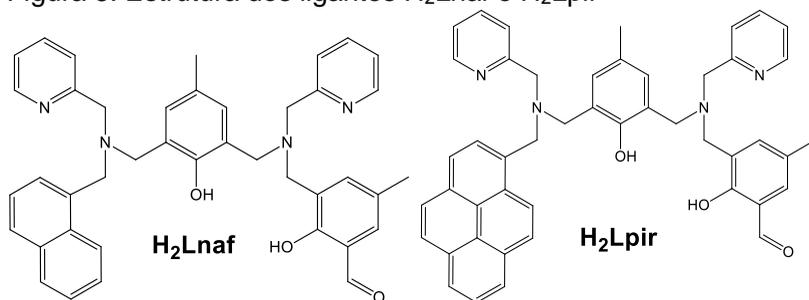
Obeve-se com grau de pureza adequado e bons rendimentos cada um dos precursores e os ligantes H₂Lnaf e H₂Lpir de acordo com os procedimentos descritos na seção experimental (Esquema 4). Todos os produtos foram caracterizados por ¹H NMR e espectrometria de IR (espectros apresentados no Apêndice A) e os ligantes finais foram também caracterizados por ¹³C NMR e espectrometria de massas (ESI-MS).

Esquema 4. Rota sintética dos ligantes H₂Lnaf e H₂Lpir.



Os ligantes deste trabalho (Figura 8) são hexadentados com um braço bidentado macio para coordenação preferencial do zinco por meio dos átomos de nitrogênio de uma piridina e de uma amina terciária como átomos doadores. O lado mais duro dos ligantes contém um oxigênio do fenol terminal e os nitrogênios de uma piridina e uma amina alifática que coordenam preferencialmente ao centro de ferro(III). O fenol central atua como ponte entre os dois metais, garantindo a distância necessária para a atividade catalítica do complexo sobre o substrato modelo utilizado neste trabalho, o 2,4-BDNPP. Os ligantes possuem um centro de coordenação a menos ao centro M(II) em comparação a outros ligantes descritos na literatura para o desenvolvimento de biomiméticos heterobinucleares como modelo para PAPs (NEVES et al 2007; PATHAK et al, 2017; PIOVEZAN et al. 2010). Além da parte coordenante, foi adicionado ao ligante um braço não coordenante contendo grupos hidrocarboneto poliaromáticos (naftaleno e pireno) que potencialmente podem atuar como segunda esfera de coordenação a partir de interações não covalentes com o substrato e também como DNA. Essa estratégia é relatada em alguns poucos modelos da literatura (BOSEGGIA et al. 2004; CAMARGO et al. 2018).

Figura 8. Estrutura dos ligantes H_2L_{naf} e H_2L_{pir}



Os ligantes H_2L_{naf} e H_2L_{pir} foram sintetizados a partir de modificações de procedimentos já descritos na literatura (PIOVEZAN et al. 2010), sendo a última etapa uma reação de substituição nucleofílica bimolecular entre Hpy_2naf ou Hpy_2pir e o

cmff na presença de uma base fraca, trietilamina, para favorecer o ataque nucleofílico da amina ao grupo metileno do cmff.

Os dados referentes as bandas observadas para os ligantes H₂Lnaf e H₂Lpir estão dispostos na Tabela 1. Nota-se a presença da banda relativa ao estiramento da ligação C=O em ca. 1670 cm⁻¹, referente ao grupo funcional aldeído presente no fenol terminal. As bandas de deformação angular da ligação O—H e de estiramento da ligação C—O, características de fenóis são observadas em ca. 1370 e 1260 cm⁻¹, respectivamente. Bandas de estiramento das ligações C=N e C=C dos anéis aromáticos são também observadas.

Tabela 1. Número de onda das bandas referentes aos movimentos vibracionais dos principais grupos funcionais dos ligantes H₂Lnaf e H₂Lpir.

Bandas	H₂Lnaf (cm⁻¹)	H₂Lpir (cm⁻¹)
v (C-H _{Ar} e C-H _{Alif})	3049-2819	3045-2827
v (C=O)	1678	1676
v (C=N e C=C)	1594-1431	1592-1429
δ (O-H _{fenol})	1377	1370
v (C-O _{fenol})	1264	1262
v (C-N)	1148	1147
δ (C-H _{Ar})	751	753

Na Tabela 2 estão apresentados os valores de deslocamento químico dos sinais observados nos espectros de ¹H NMR. A formação dos ligantes finais é atestada pela presença de mais três átomos de Hidrogênio do anel aromático do cmff adicionado na última etapa da síntese, assim como o Hidrogênio do grupo aldeído. Na região entre 3,7 e 4,1, observam-se simpletos atribuídos aos seis grupos metilenos existentes nos ligantes. Na região referente aos grupos aromáticos, observam-se dezenove átomos de Hidrogênio para o ligante H₂Lnaf, sendo oito atribuídos aos átomos de Hidrogênios das duas piridinas, quatro atribuídos aos átomos de Hidrogênio dos dois grupos fenóis e por fim, sete referentes ao grupo naftaleno. Já para o ligante H₂Lpir, são vinte e um átomos de Hidrogênio na região aromática, alterando apenas o número de hidrogênios do grupo substituinte

pireno em relação ao ligante H₂Lnaf. As Figuras 9 e 10 apresentam os espectros de ¹H NMR dos ligantes H₂Lnaf e H₂Lpir, respectivamente.

Tabela 2. Deslocamentos químicos (δ_H) dos espectros de ¹H NMR para os ligantes finais.

	H ₂ Lnaf	H ₂ Lpir
CH₃	2,22 (6H, s)	2,23 (3H, s) 2,40 (3H, s)
CH₂	3,73 – 3,91 (10H, s) 4,11 (2H, s)	3,74-3,94 (10H, s) 4,37 (2H, s) 7,06 (2H, s) 7,11 (1H, t) 7,18 (2H, m)
CH_{Ar}	6,92 (2H, s) 7,17 (2H, m) 7,28-7,45 (7H, m) 7,58 (3H, m) 7,73 (1H, d, J = 7,6 Hz) 7,80 (1H, dd, J = 7,6 Hz) 7,99 (1H, dd, J = 8,6 Hz) 8,58 (2H, m)	7,31-7,37 (3H, m) 7,47 (1H, dt, J = 7,6 Hz) 7,59 (1H, dt, J = 7,6 Hz) 7,99-8,02 (4H, m) 8,11 (2H, s) 8,15 (2H, t, J = 7,6 Hz) 8,29 (1H, d, J = 8,3 Hz) 8,63 (1H, dd, J = 5,0 Hz) 8,71 (1H, dd, J = 5,0 Hz) 10,33 (1H, s)
CH_{Ald}	10,22 (1H, s)	10,17 (1H, s)

Figura 9. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do H_2Lnaf .

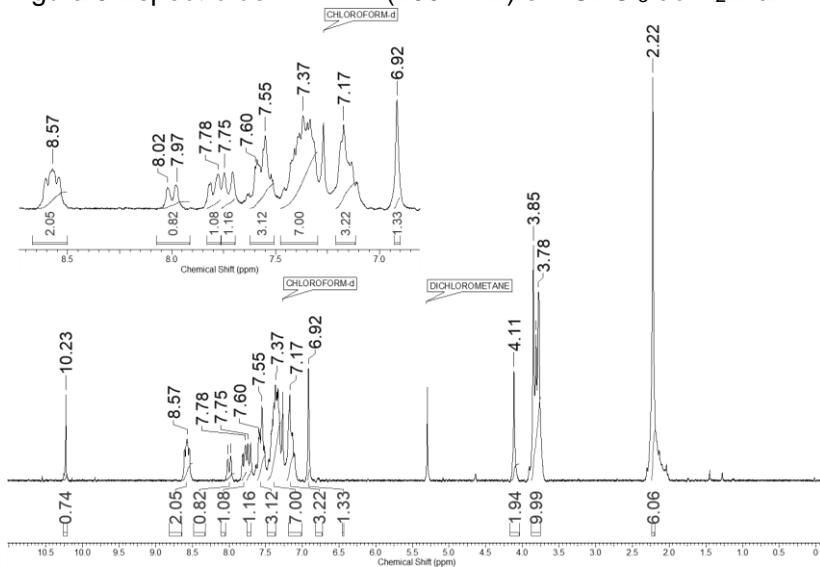
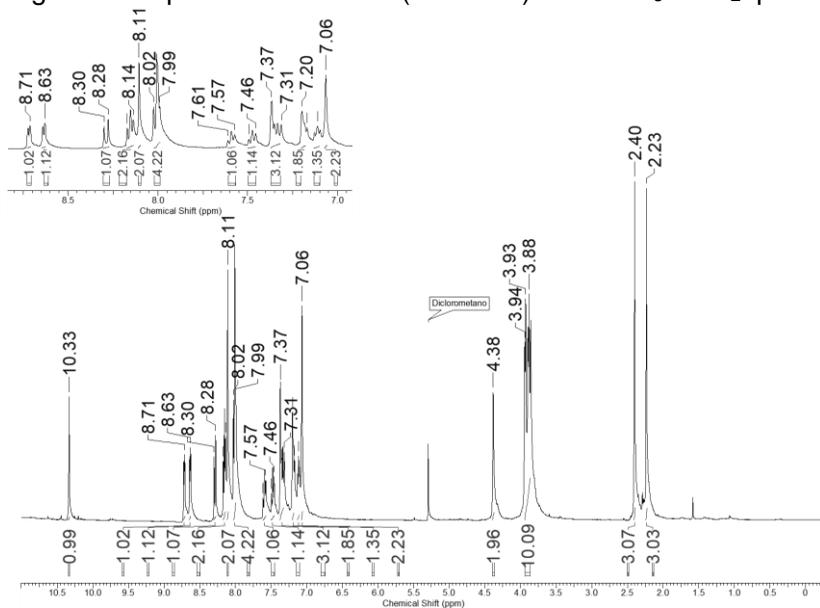


Figura 10. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do H_2Lpir .



Além de análises via espectroscopia de ^1H NMR, espectros de ^{13}C NMR (Figura 11 e 12) foram obtidos para os ligantes finais, com os deslocamentos químicos mostrados na Tabela 3. Nos espectros de ambos os ligantes, observam-se dois sinais próximos a 20 ppm referentes aos carbonos das metilas e seis sinais próximos a 55 ppm atribuídos aos carbonos dos grupos metileno. Na região entre 120 e 160 ppm são observados vinte e oito sinais referentes aos carbonos pertencentes aos sistemas aromáticos para os ligantes H_2Lnaf e H_2Lpir . Há a sobreposição de sinais atribuídos aos carbonos aromáticos devido a grande quantidade dos mesmos (32 para o ligante H_2Lnaf e 38 para o ligante H_2Lpir). Em 192 ppm observa-se o sinal referente ao carbono do grupo aldeído orto-substituído no fenol terminal.

Tabela 3. Deslocamentos químicos (δ_c) dos espectros de ^{13}C NMR para os ligantes finais.

Atribuição	H_2Lnaf	H_2Lpir
C(metila)	19,8; 20,1	19,9; 20,3
C(metileno)	53,1; 54,0; 54,8; 55,7; 56,0; 58,8	53,2; 54,1; 54,6; 55,8; 56,1; 58,9
C(aromático)	121,6; 121,7; 121,8; 122,6; 122,9; 123,9; 124,6; 124,7; 125,1; 125,4; 127,0; 127,4; 127,5; 127,6; 128,0; 128,1; 130,0; 130,2; 131,9; 133,3; 133,6; 136,1; 137,0; 148,3; 153,4; 157,5; 158,1; 158,7	121,7; 122,9; 122,9; 123,1; 123,3; 124,1; 124,3; 124,5; 124,6; 125,5; 126,8; 127,0; 127,1; 127,6; 128,0; 128,2; 129,4; 130,2; 130,4; 130,8; 131,5; 136,1; 137,0; 148,4; 153,5; 157,6; 158,2; 158,8
C(aldeído)	192,0	192,1

Espectrometria de massas com ionização por eletrospray se mostra uma técnica bastante útil na caracterização de ligantes e complexos, pois o modo de ionização é mais brando, gerando íons a partir da protonação ou desprotonação da molécula no caso de ligantes, e os complexos mantêm-se mais estáveis em estado gasoso, sendo possível detectar as espécies em solução (KEITH-ROACH, 2010; SCHAUMLÖFFEL; et al., 2003). Os espectros dos ligantes (Figuras 13 e 14) mostraram apenas a presença do aduto $[H_2Lnaf+H^+]^+$ com m/z de 637,32 para o H_2Lnaf e $[H_2Lpir+H^+]^+$ com m/z de 711,35 para o H_2Lpir .

Figura 13. Espectro de ESI-MS do ligante H_2Lnaf e a respectiva simulação da distribuição isotópica.

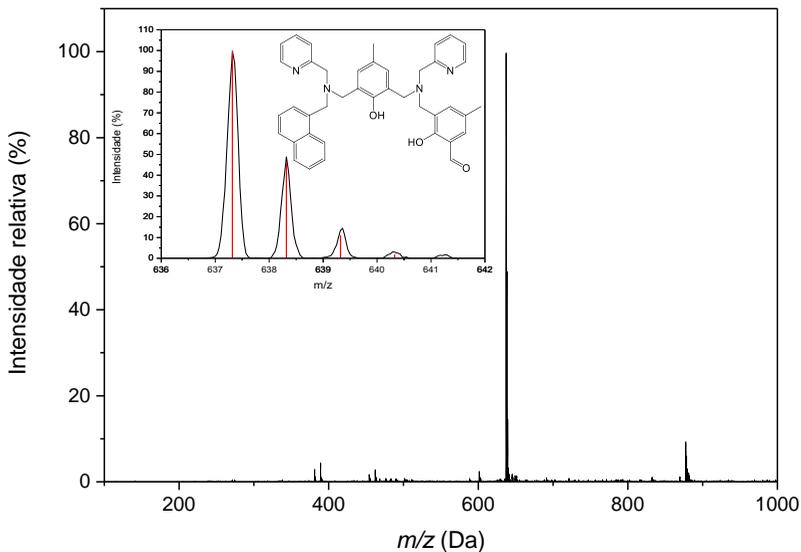
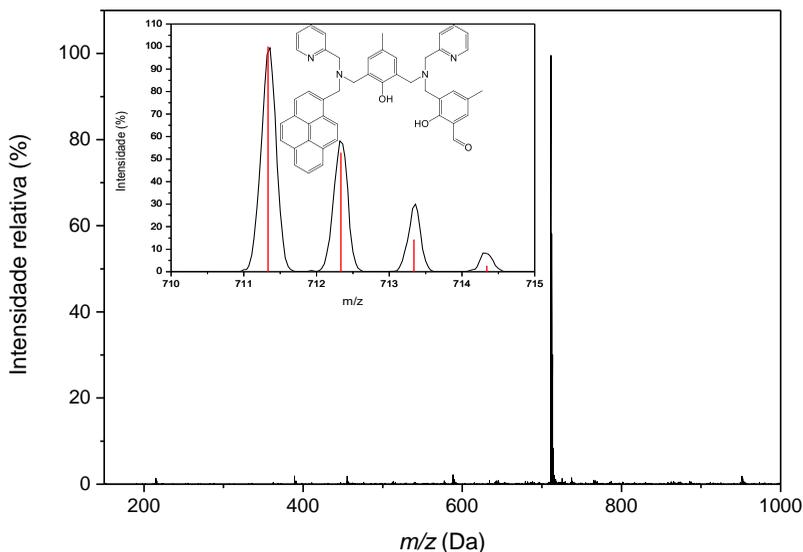


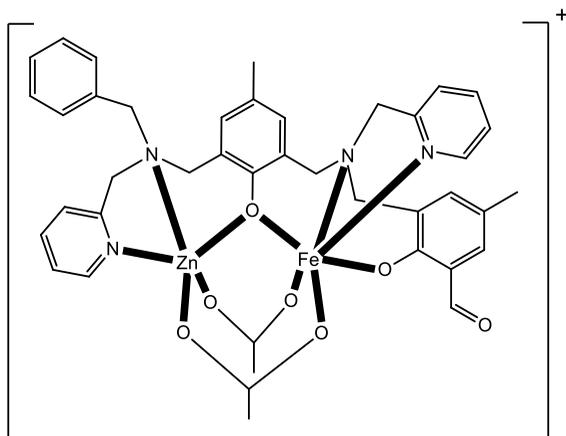
Figura 14. Espectro de ESI-MS do ligante H₂Lpir e a respectiva simulação da distribuição isotópica.



4.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS **1a** e **2a**

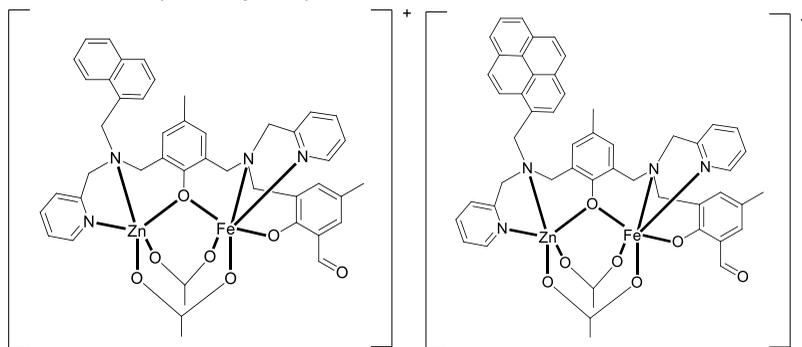
Inicialmente, a proposta deste trabalho era desenvolver biomiméticos para PAPs através da síntese de complexos heterobinucleares de valência mista (Fe^{III}Zn^{II}) com os ligantes H₂Lnaf e H₂Lpir. O objetivo inicial era o de compreender a influência de grupos substituintes poliaromáticos na atividade catalítica destes complexos frente a hidrólise de ésteres de fosfato e clivagem de DNA, em paralelo ao trabalho já anteriormente desenvolvido por Piovezan (2010), que desenvolveu o complexo **3** (Figura 15), com ligante bastante similar aos projetados neste trabalho.

Figura 15. Estruturas do complexo **3** desenvolvido por Piovezan (2010).



Dessa forma, os complexos **1a** (Figura 16 - esquerda) e **2a** (Figura 16 - direita) foram sintetizados a partir dos ligantes H_2L_{naf} e H_2L_{pir} , respectivamente, e dos sais de perclorato de ferro(III) e acetato de zinco em proporções 1:1:1 (Ligante/ Fe^{III} / Zn^{II}) na presença de acetato de sódio para garantir a coordenação de dois grupos acetatos atuando como ponte entre os dois centros metálicos e auxiliar na desprotonação dos fenóis. Ambos os complexos foram caracterizados por espectrofotometria de IR, análise elementar, ESI-MS, espectrofotometria de UV-Vis e condutimetria.

Figura 16. Estruturas propostas para os complexos **1a** (esquerda) e **2a** (direita) de acordo com os espectros de massas e estrutura de complexo com ligante similar apresentada por PIOVEZAN (2010, p. 85).



4.2.1 Análise Elementar de C, H e N

A análise elementar é utilizada para determinar as porcentagens de determinados elementos químicos em uma amostra através da combustão da mesma. Através dos resultados dessa análise é possível obter a fórmula mínima de compostos em relação aos elementos analisados e, assim, avaliar a composição do composto sintetizado (SILVERSTEIN, 1994).

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados obtidos através de análise elementar para os complexos **1a** e **2a**. Os valores teóricos e experimentais estão em concordância, indicando propostas apropriadas de composição quando analisadas com as demais técnicas de caracterização. Os valores foram calculados com base nas seguintes fórmulas: $\text{FeZnC}_{45}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{ClO}_{11} + 1,5 \text{ H}_2\text{O} + \text{CH}_3\text{OH} + 0,6 \text{ NaClO}_4$ (**1a**) e $\text{FeZnC}_{51}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{ClO}_{11} + 2 \text{ H}_2\text{O} + 0,5 \text{ CH}_3\text{OH} + 0,4 \text{ NaClO}_4$ (**2a**).

Tabela 4. Porcentagens obtidas na análise elementar com seus respectivos valores experimentais e teóricos.

Complexo	% C exp.	% C teo.	% H exp.	% H teo.	% N exp.	% N teo.
1a	49,95	49,95	4,56	4,65	5,05	5,07
2a	53,65	53,85	4,49	4,56	4,75	4,88

Tais resultados indicam que os complexos deveriam ter sido lavados mais vigorosamente com água para eliminar o perclorato de sódio em excesso e submetido a retirada do solvente metanol. Como a análise elementar só pode ser realizada após todos os estudos com os complexos por indisponibilidade do equipamento para análise, optou-se por manter os resultados com as amostras na forma que utilizadas ao longo desse trabalho.

4.2.2 Espectrofotometria na região do infravermelho

A partir do espectro de IR obtém-se informações acerca da formação do complexo devido às alterações de certos modos vibracionais das ligações do ligante quando há a coordenação ao centro metálico provenientes de mudanças de densidade eletrônica. Pode-se observar deslocamentos e desaparecimento de bandas do ligante e também o aparecimento de bandas referentes a contra-íons e ligantes exógenos (NAKAMOTO, 1978; SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 1994).

Observa-se semelhança entre os espectros dos complexos e seus respectivos ligantes, indicativo de que os ligantes se mantiveram nos complexos.

Tabela 5. Número de onda das bandas referentes aos movimentos vibracionais dos principais grupos funcionais dos ligantes H₂Lnaf e H₂Lpir e dos complexos **1a** e **2a**.

Bandas	H ₂ Lnaf (cm ⁻¹)	1a (cm ⁻¹)	H ₂ Lpir (cm ⁻¹)	2a (cm ⁻¹)
ν (C-H _{Ar} e C-H _{Alif})	3049-2819	2915	3045-2827	3035-2850
ν (C=O)	1678	1646	1676	1663
ν (C=N e C=C)	1594-1431	1607-1465	1592-1429	1606-1465
ν_{ass} (OAc)	-	1590	-	1586
ν_{sim} (OAc)	-	1440	-	1430
δ (O-H _{fenol})	1377	-	1370	-
ν (C-O _{fenol})	1264	1230	1262	1231
ν (C-N)	1148	1159	1147	1157
ν (Cl-O)	-	1090	-	1085
δ (C-H _{Ar})	751	765	753	760

Através dos espectros de IR dos complexos **1a** (Figura 17) e **2a** (Figura 18), observou-se a coordenação do metal ao ligante, uma vez que notam-se apenas deslocamentos das bandas referentes aos ligantes, bem como alteração de intensidade das mesmas (Tabela 5). A maioria das bandas dos ligantes são deslocadas para menor energia após coordenação ao centro metálico devido ao direcionamento de densidade eletrônica em direção ao centro metálico, diminuindo a energia necessária para alterar o modo de vibração das ligações nas proximidades do centro metálico (NAKAMOTO, 1978). Há uma redução na intensidade relativa das bandas de estiramento das ligação C=N da piridina e não é possível observar a presença da banda de deformação angular da ligação O-H de fenol, próximo a 1370 cm^{-1} , que estava presente nos espectros dos ligantes, indicando desprotonação dos fenóis na coordenação aos centros metálicos, que é consequência de coordenação do fenolato ao lado “duro” do ligante ao centro de Fe^{III} e de ponte fenoxo entre os centros metálicos. A banda referente ao estiramento da ligação C=O sofre pouco deslocamento e assim como há pouca variação de intensidade relativa da banda em comparação as demais bandas do ligante. Esses resultados estão de acordo com complexos semelhantes já sintetizados (CAMARGO; et al., 2015; HEYING, 2014; MUXEL; et al., 2013; PERALTA, 2012)

Figura 17. Espectros na região do IR do ligante H_2Lnaf (preto) e do complexo **1a** (vermelho).

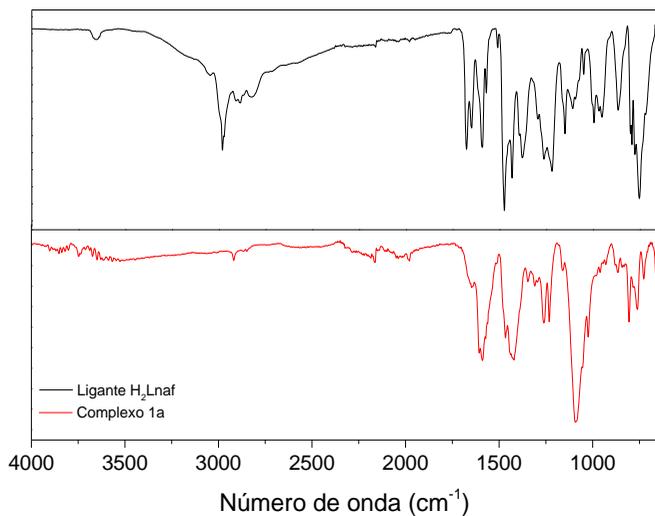
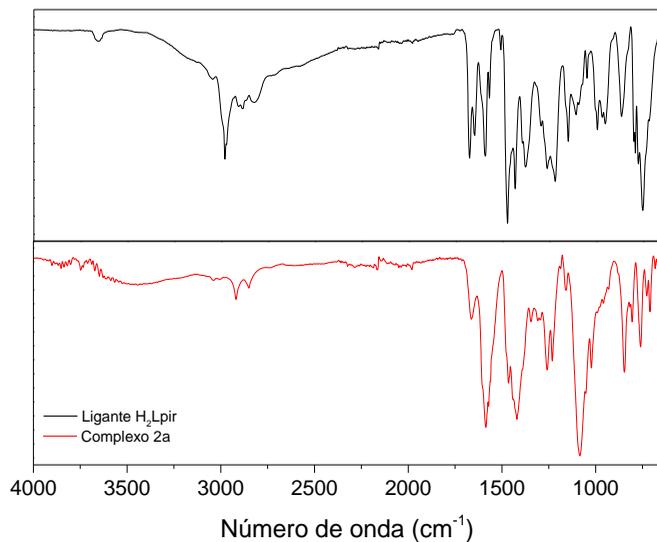


Figura 18. Espectros na região do IR do ligante H_2Lpir (preto) e do complexo **2a** (vermelho).



A banda presente em aproximadamente 1090 cm^{-1} em ambos os espectros é característica de um estiramento axial da ligação Cl—O do contra-íon perclorato. Duas bandas mais intensas são observadas nas regiões de 1590 e 1440 cm^{-1} relativas aos estiramentos simétrico e assimétrico dos grupos acetato coordenados como ponte entre os centros metálicos, atestados pela diferença de 150 cm^{-1} entre os estiramentos (NAKAMOTO, 1978). Nos espectros (Figura 17 e 18) não são observadas as bandas referentes a água de hidratação, tão comuns a esses compostos.

4.2.3 Condutividade molar

A condutimetria dos complexos foi realizada em acetonitrila com concentração de $1 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ de complexo. O complexo **1a** mostrou uma condutividade molar de $185,5\ \mu\text{S mol}^{-1}$ que, quando comparada com a literatura (GEARY, 1971), indica a uma proporção de 1:1 (complexo/contra-íon), inferindo a presença de um contra-íon perclorato e um complexo de carga +1. O complexo **2a** apresentou uma condutividade molar de $137,2\ \mu\text{S mol}^{-1}$, atestando a proporção 1:1 complexo/contra-íon perclorato. Estes dados estão de acordo com as propostas de estrutura para ambos os complexos em acetonitrila (Figura 20 e 22), como apresentado na próxima seção.

4.2.4 Análise de espectrometria de massas

A partir do espectro de massas teve-se uma composição química proposta para os complexos **1a** e **2a** em solução de acetonitrila. Com base em trabalhos da literatura com compostos similares (LANZMASTER, 2003; PERALTA, 2010; PIOVEZAN, 2010), propôs-se a estrutura para ambos os complexos. Em ambos os espectros observou-se apenas o íon molecular referente a espécie $[\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})_2\text{Zn}^{\text{II}}(\text{L})]^+$ ($\text{L} = \text{L}_{\text{af}}$ para **1a** e L_{pir} para **2a**) com distribuição isotópica de acordo com sua composição. O espectro de **1a** (Figura 19) apresentou um sinal com m/z 872,19 Da e o de **2a** (Figura 21), um sinal com m/z 946,20 Da. Ambos os conjuntos de sinais apresentam um distanciamento m/z de 1,00, referente a espécies monovalentes. As estruturas propostas estão apresentadas nas Figuras 20 e 22.

Figura 19. Espectro de ESI-MS do complexo **1a** e respectiva simulação da distribuição isotópica.

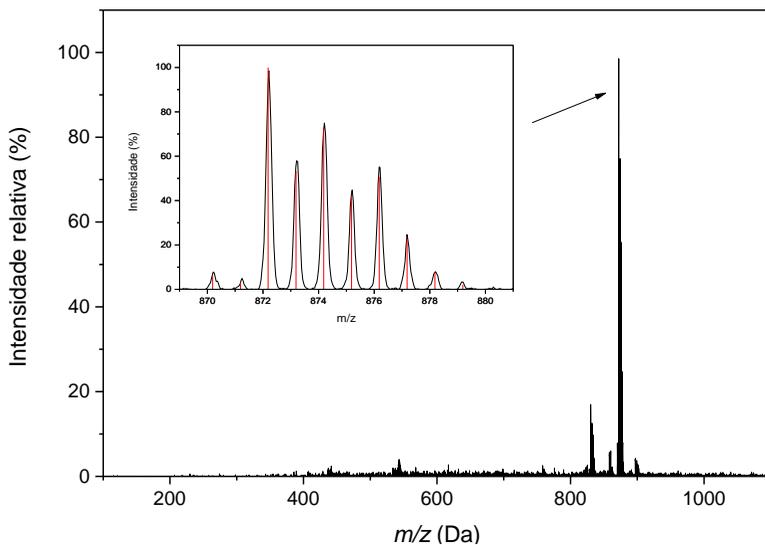


Figura 20. Estrutura proposta para o complexo **1a** de acordo com a composição química proposta segundo espectro de ESI-MS e com base em estrutura de compostos similares.

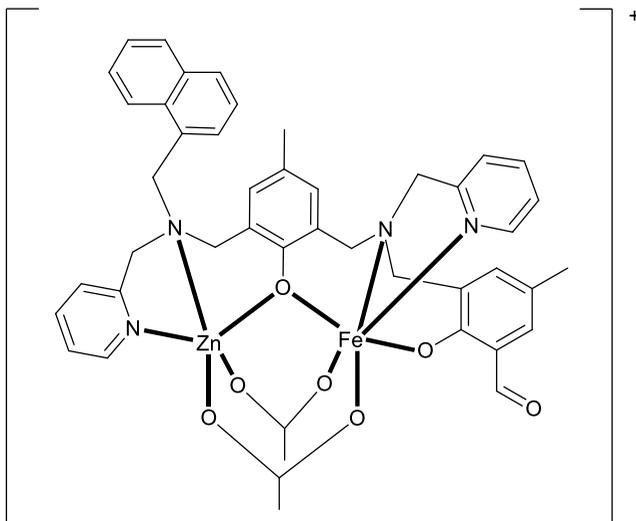


Figura 21. Espectro de ESI-MS do complexo **2a** e respectiva simulação da distribuição isotópica.

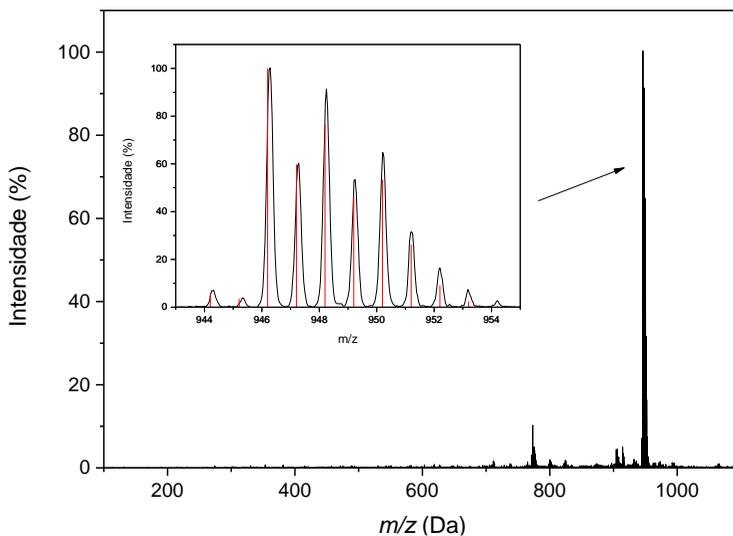
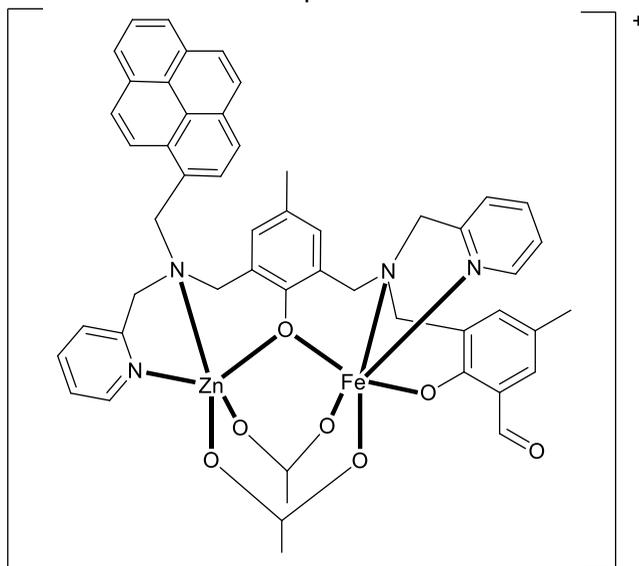


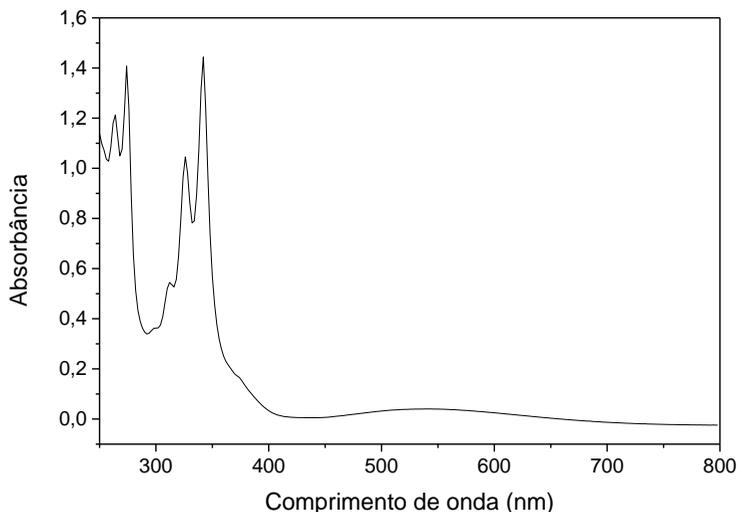
Figura 22. Estrutura proposta para o complexo **2a** de acordo com a composição química proposta segundo espectro de ESI-MS e com base em estrutura de compostos similares.



4.2.5 Espectrofotometria eletrônica na região do UV-Vis

Os espectros de absorção na região do UV-Vis para os complexos **1a** e **2a** foram obtidos na faixa entre 250 e 800 nm. O complexo **1a** apresentou bandas entre 250 e 300 nm, atribuídas às transições intraligantes dos anéis piridina e fenólicos. O complexo **2a**, apresenta as bandas característica do grupo pirenil, com uma banda bastante intensa em 342 nm (coeficiente de absorção de aproximadamente $58000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ em acetonitrila) relativa a transição $\pi\text{-}\pi^*$ do grupo pireneno (Figura 23).

Figura 23. Espectro eletrônico do complexo **2a** em acetonitrila. $[C] = 2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.



Sistemas contendo ferro(III) coordenados a ligantes contendo grupos fenolatos coordenados ao mesmo apresentam uma banda de transferência de carga ligante \rightarrow metal (LMCT) envolvendo os orbitais $p\pi$ do fenolato e os orbitais $d\pi^*$ do ferro(III) (GABER et al. 1974). Uma transição similar é observada na PAP, atribuída a LMCT O(tirosinato) \rightarrow ferro(III) (KLABUNDE; KREBS, 1997). Para os complexos **1a** (Figura 24 - acima) e **2a** (Figura 24 - abaixo), essa banda foi observada na região de 500 nm com valores exatos de comprimento de onda máximo e coeficiente de absorção dispostos na Tabela 6. Esses resultados estão de

acordo com outros complexos da literatura, podendo se destacar a similaridade do comprimento de onda máximo em meio acetonitrila (~540 nm) com os complexos **3** (PIOVEZAN, 2010) e **[Fe^{III}Zn^{II}L1(OAc)₂]ClO₄** (LANZNASTER, 2002), dois complexos binucleares de Fe^{III}Zn^{II} contendo duas pontes acetato entre os centros metálicos, sendo o primeiro com ligante possuindo também braço inocente, bastante similar aos desenvolvidos nesse trabalho.

Para o complexo **1a** observa-se ainda uma banda em aproximadamente 350 nm que é referente a LMCT envolvendo os orbitais $\pi\pi$ do fenolato e os orbitais $d\sigma^*$ do ferro(III). Para o complexo **2a**, essa banda não pode ser distinguida pois é encoberta pela banda de grande intensidade do grupo pirenil em 342 nm.

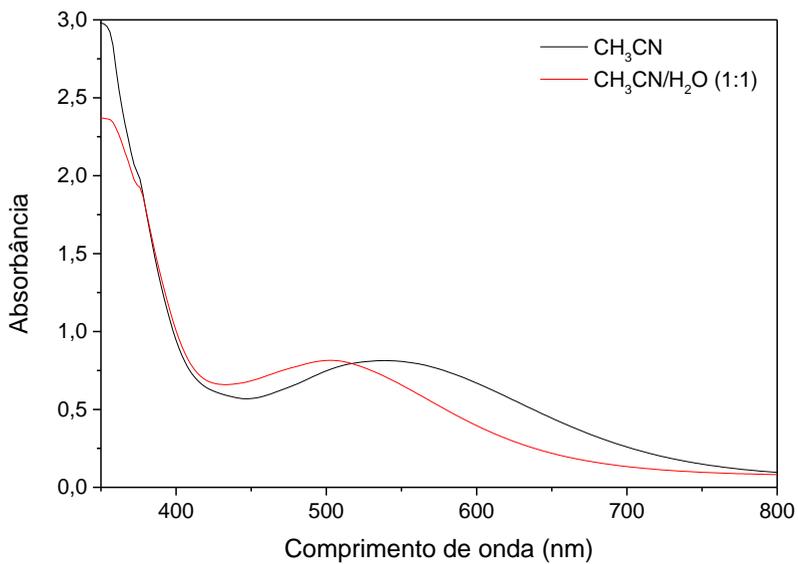
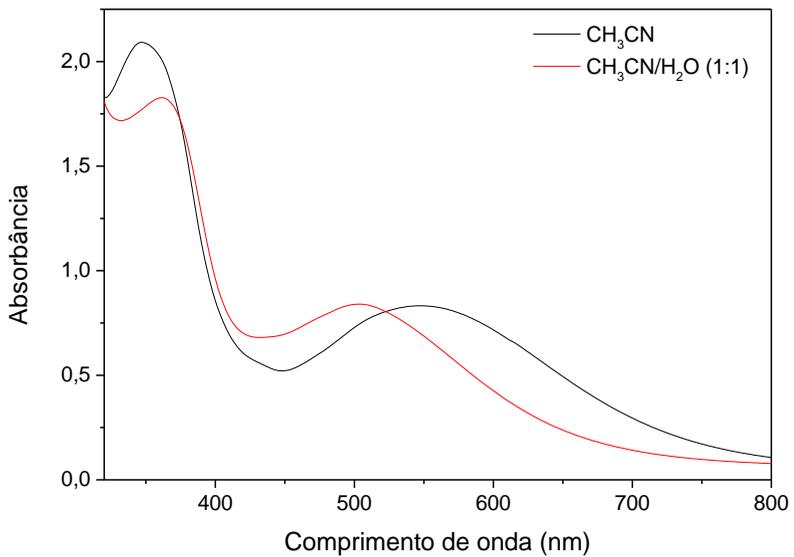
Para ambos os complexos, a transição $\pi\pi$ fenolato $\rightarrow d\pi^*$ ferro(III) apresenta forte dependência com o meio, como esperado, devido a mudança de solvatação pelo meio e pela presença das pontes acetato entre os centros metálicos que são hidrolisadas em meio CH₃CN/H₂O (1:1, v/v), levando a um deslocamento hipsocrômico da banda. Além disso, é observado uma diminuição no coeficiente de absorção quando em meio CH₃CN/H₂O (1:1, v/v), indicando que a probabilidade dessa transição ocorrer é diminuída com o aumento da polaridade do meio. Esse comportamento também é observado para outros complexos contendo transferência de carga fenolato \rightarrow ferro(III) (CAMARGO, 2013; HEYING, 2014; SILVA, 2017) e se estende para a banda de transferência de carga de maior energia (ϵ (Lmol⁻¹cm⁻¹): ~6300 (CH₃CN) e 5500 (CH₃CN/H₂O)).

Tabela 6. Dados dos espectros eletrônicos para os complexos **1a** e **2a**.

Complexo	λ_{\max} (nm) / ϵ (Lmol ⁻¹ cm ⁻¹)	
	CH ₃ CN	CH ₃ CN/H ₂ O 1:1
1a	548 / 2476	503 / 2379
2a	539 / 2294	503 / 2193
3^a	540 / 1630	
FeZnL1(OAc)₂^b	540 / 3800	

^a PIOVEZAN, 2010; ^b **[Fe^{III}Zn^{II}L1(OAc)₂]ClO₄** (H₂L1 = 2-[N-bis-(2-piridilmetil)amino]-4-metil-6-[N-(2-hidroxibenzil)(2-piridilmetil)aminometil]fenol), LANZNASTER, 2002.

Figura 24. Espectros eletrônicos dos complexos **1a** (acima) e **2a** (abaixo). Solução – $[C] = 3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

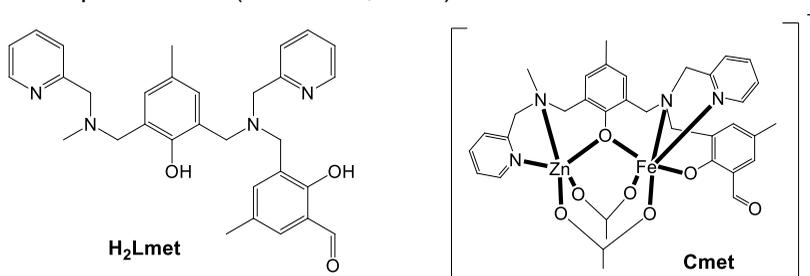


Os dados encontrados na espectroscopia eletrônica na região de UV-Vis para o complexo **1a** e **2a** em acetonitrila estão de acordo com os valores típicos de comprimento de onda e coeficiente de absorção para esses sistemas contendo grupo fenolato coordenado a centro de ferro(III), assim como da própria enzima PAP (PERALTA, 2005, p. 142; PIOVEZAN, 2010, p. 85; SOUZA, 2005, p. 61).

4.2.6 Análise de espectrometria de massas em acetonitrila/água (50:50, v/v)

Durante o trabalho de conclusão de curso realizado por Wecker (2018) no nosso grupo de pesquisa com outro ligante contendo braço inocente, H_2Lmet (Figura 25), notou-se que, na tentativa de sintetizar o complexo binuclear de $Fe^{III}Zn^{II}$ sem excesso de acetato para garantir a formação da ponte dupla entre os centros metálicos, o mesmo nem chegava a se formar, obtendo-se diretamente o complexo mononuclear de ferro(III) (**Cmet**), dando um indício de que apenas a presença da ponte acetato é capaz de manter o centro binuclear do complexo com esse tipo de ligante. Em testes de síntese realizados posteriormente, com excesso de acetato, o complexo binuclear foi obtido com sucesso (estudos em andamento).

Figura 25. Estrutura do ligantes H_2Lmet e estrutura proposta para o complexo **Cmet** (WECKER, 2018)



Segundo estudos realizados por Lanznaster (2003, pág. 92), complexos binucleares com ponte acetato entre os centros

metálicos, quando em meio aquoso, têm essa ponte hidrolisada e uma ponte μ -hidroxo é formada. Considerando os resultados obtidos na síntese com o ligante Cmet, surgiu o questionamento se esses sistemas com ligante com braço inocente seriam capazes de manter os centros metálicos com a hidrólise da ponte acetato. Análises dos complexos em mistura $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) foram realizados via ESI-MS para evidenciar quais as espécies existentes em meio aquoso, após hidrólise dessa ponte acetato. Para os complexos sintetizados neste trabalho, porém, o comportamento foi diferente do esperado e nas análises realizadas em diferentes valores de pH foi possível observar majoritariamente espécies mononucleares de ferro(III) ou de zinco(II) (Figuras 26 a 29), sugerindo que, com a hidrólise da ponte acetato, o ligante não é capaz de manter o sistema binuclear $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ devido ao menor número de átomos doadores no lado macio do ligante.

Figura 26. Espectro de massas para o complexo **1a** em pH 7,0 em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.

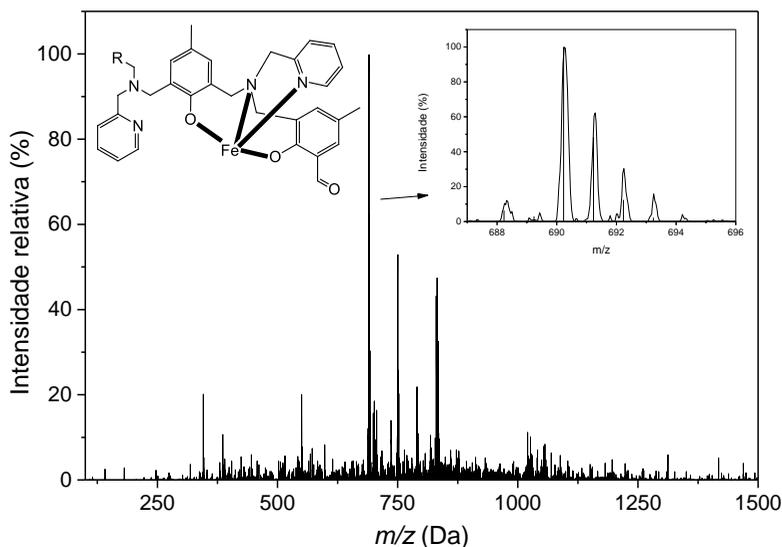
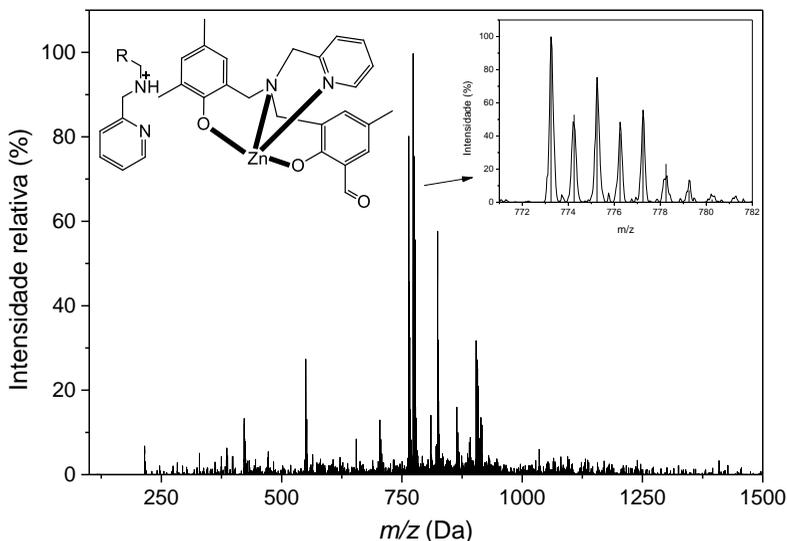
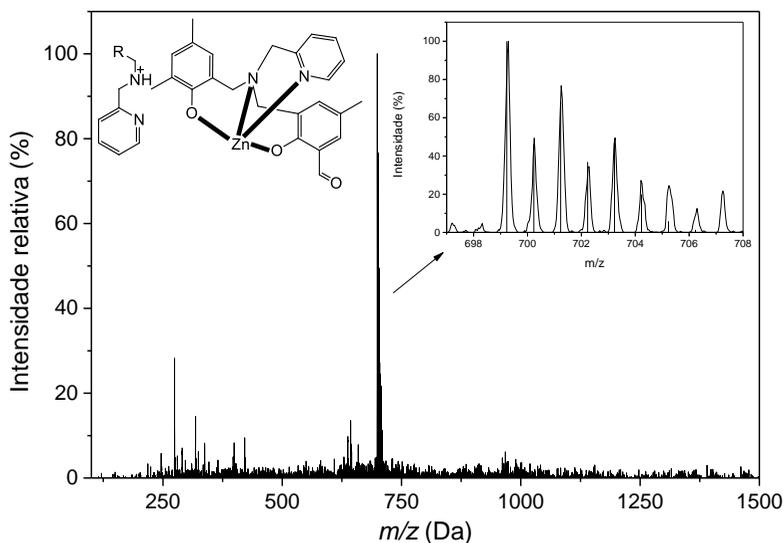


Figura 27. Espectro de massas para o complexo **2a** em pH 7,0 em CH₃CN/H₂O (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.



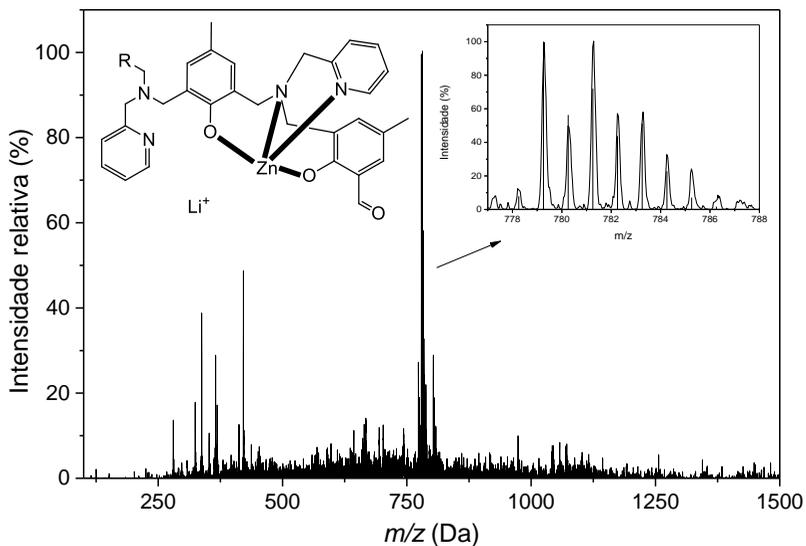
Em pH 7,0 observa-se, para ambos os complexos, a presença de um sinal referente a espécie $[\text{Fe}(\text{L})]^+$, sendo esse o sinal base para o complexo **1a** (Figura 26). Os valores de m/z desses sinais são de 690,19 Da (complexo **1a**) e 764,33 Da (complexo **2a**). Para o complexo **2a**, o sinal base do espectro é referente a espécie mononuclear de zinco(II) $[\text{Zn}(\text{HL})]^+$ (Figura 27).

Figura 28. Espectro de massas para o complexo **1a** em pH 10,0 em CH₃CN/H₂O (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.



Já em pH 10,0, observa-se como sinal base e praticamente único, um sinal referente a espécie mononuclear de zinco. Para o complexo **1a** (Figura 28), esse sinal possui m/z de 699,28, referente a espécie $[\text{Zn}(\text{HL})]^+$. O complexo **2a** apresenta o sinal com m/z de 779,18 Da, referente ao aduto $\text{Li}^+ + [\text{Zn}(\text{L})]^{2+}$ (Figura 29).

Figura 29. Espectro de massas para o complexo **2a** em pH 10,0 em acetonitrila/água (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.

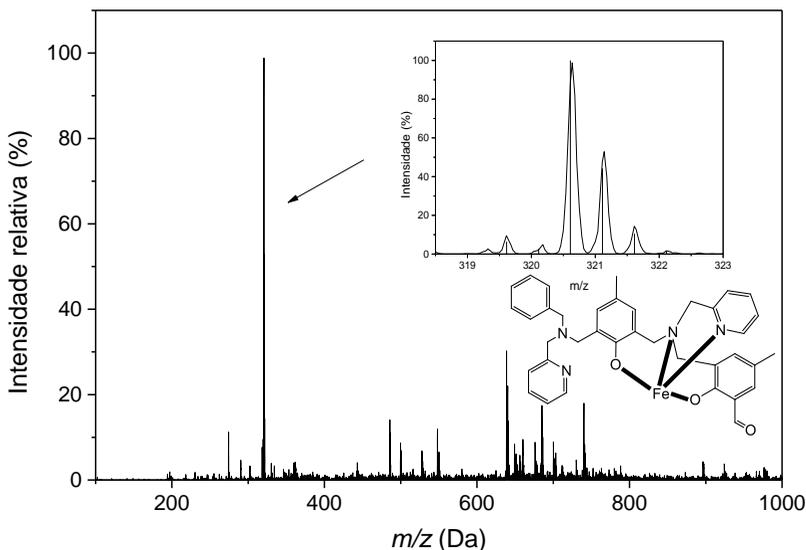


Considerando que durante a análise de massas podem se formar novas espécies existentes apenas em condições de alta temperatura e com aplicação de potencial elétrico e que apenas a análise de massas e absorção atômica mostravam a presença de zinco no meio, sem garantir que a coordenação do mesmo ao ligante tinha de fato ocorrido, questionamentos surgiram quanto a existência dessas espécies mononucleares nos estudos de caracterização e de atividade catalítica dos complexos, assim como a real formação do complexo binuclear com ponte acetato durante a síntese.

Duas evidências reforçaram que realmente a espécie em estado sólido, assim como em meio orgânico seria a espécie binuclear e que, na presença de água, haveria a formação de espécies mononucleares: (1) Estudos com complexo binuclear de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ com ponte acetato com ligante similar, $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$

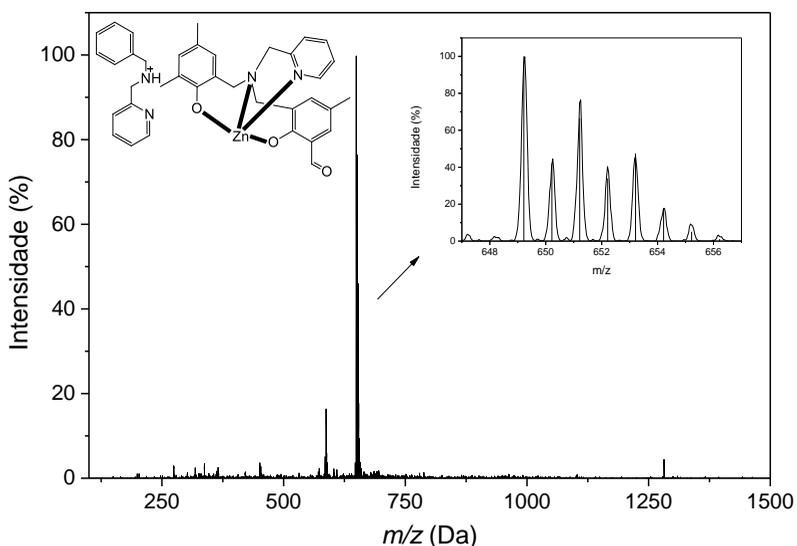
(Figura 15), foram realizados por Piovezan (2010), obtendo-se estrutura cristalina do complexo binuclear com duas pontes acetato entre os centros metálicos. Com amostras do complexo sintetizado por Piovezan (2010), foram realizadas análises de ESI-MS nas mesmas condições que os complexos **1a** e **2a**, mostrando a presença das mesmas espécies mononucleares observada para os esses complexos, indicando que a formação das espécies não ocorre de forma randômica durante a análise de ESI-MS e sim, que se trata, provavelmente, do comportamento apresentado por essa série de complexos em solução na presença de água; (2) Estudos realizados através de ESI-MS dos complexos na presença do substrato 2,4-BDNPP em meio $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) em pH 7,0 mostraram a presença da espécie formada pela coordenação do substrato ao complexo contendo apenas ferro na estrutura ($[\text{Fe}(\text{HL})(\text{Substrato})]^+$) para todos os complexos, como mostrado ao final da seção. Já em pH 10,0, observa-se que o substrato se coordena a espécie mononuclear de zinco.

Figura 30. Espectro de massas para o complexo **3** (PIOVEZAN, 2010) em pH 7,0 em acetonitrila/água (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.



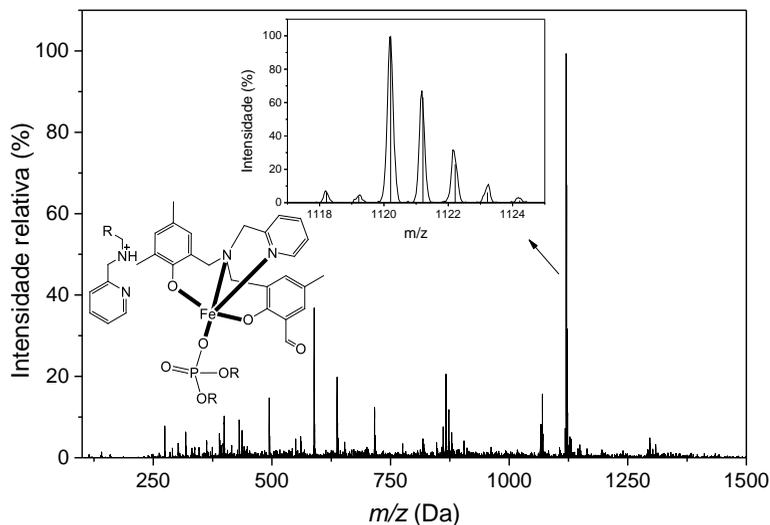
No espectro apresentado na Figura 30, nota-se que, para o complexo **3**, desenvolvido por Piovenzan (2010), em pH 7,0, há a presença da espécie bivalente $[\text{Fe}(\text{HL})]^{2+}$, com m/z 320,65 Da. Em pH 10,0, o espectro apresenta um sinal de m/z 649,25 Da referente a espécie $[\text{Zn}(\text{HL})]^+$ (Figura 31).

Figura 31. Espectro de massas para o complexo **3** (PIOVEZAN, 2010) em pH 10,0 em acetonitrila/água (1:1, v/v) e respectiva simulação da distribuição isotópica.



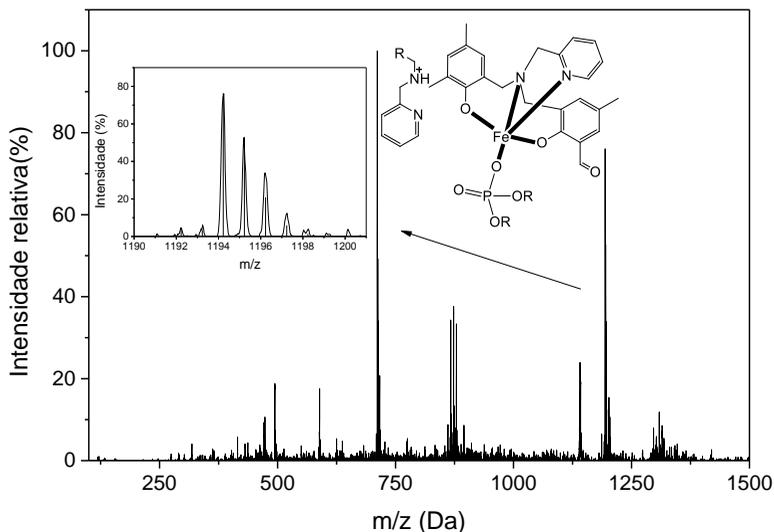
Os estudos dos complexos na presença do substrato foram realizados através de análise via ESI-MS nas condições dos estudos cinéticos. Devido a sensibilidade do espectrofotômetro de massas a presença do tampão utilizado nos estudos cinéticos, o pH das soluções foi ajustado apenas com NaOH e o pH foi aferido com fita de pH após adição do substrato. O objetivo desses estudos foi esclarecer quais espécies estavam envolvidas na atividade catalítica dos complexos **1a** e **2a**.

Figura 32. Dados de ESI-MS para o complexo **1a** na presença do substrato 2,4-BDNPP em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) em pH 7,0. [Complexo] = 4×10^{-5} mol L^{-1} ; [Substrato] = 3×10^{-4} mol L^{-1} .



Nos estudos em pH 7,0 para os compostos binucleares **1a** e **2a**, observa-se apenas a presença do sinal referente a espécie mononuclear de ferro(III) associada ao substrato. Para o composto **1a** esse sinal possui m/z de 1120,17 Da e para o complexo **2a**, m/z de 1194,20 Da, referente a espécie $[\text{Fe}(\text{HL})(\text{BDNPP})]^+$ (Figuras 32 e 33).

Figura 33. Dados de ESI-MS para o complexo **2a** na presença do substrato 2,4-BDNPP em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) em pH 7,0. $[\text{Complexo}] = 4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Substrato}] = 3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



Como para os complexos **1a** e **2a** observou-se, nas análises de ESI-MS em meio $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v), a presença de espécie mononuclear de zinco(II) em pH 10, estudos na presença de substrato foram realizados nesse mesmo pH para esses complexos (Figuras 34 e 35). De fato, o substrato se apresenta coordenado a uma espécie mononuclear de zinco(II) para ambos os complexos, evidenciado pela presença dos sinais de baixa intensidade (associação do substrato ao complexo é prejudicada em pH alto devido à menor labilidade do grupo hidroxilo coordenado) em m/z 1129,08 Da para o complexo **1a** e m/z 1203,21 Da para o complexo **2a**. Esses sinais são referentes às espécies $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{L})(\text{BDNPP})]^+$. Todas as informações obtidas reforçam a complexidade do sistema e dificuldade de analisá-lo em sua integridade.

Figura 34. Dados de ESI-MS para o complexo **1a** na presença do substrato 2,4-BDNP em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) em pH 10,0. [Complexo] = $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [Substrato] = $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

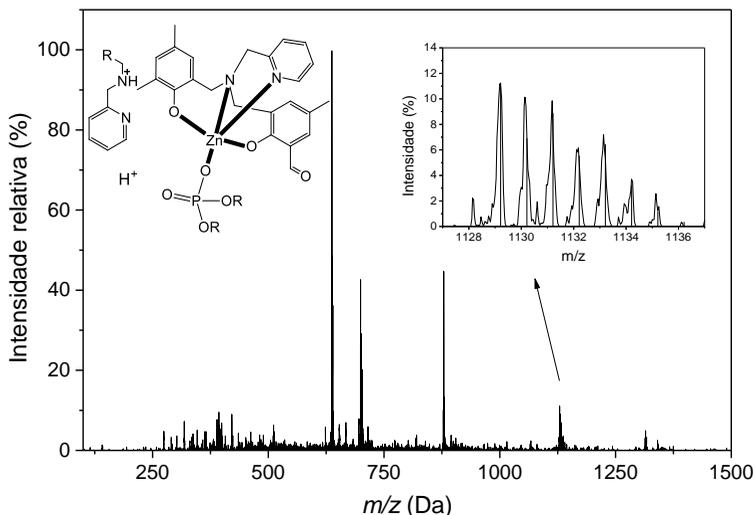
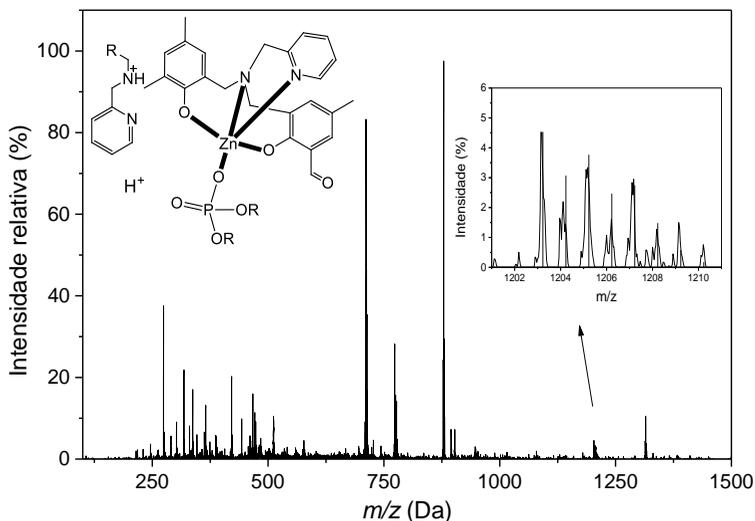


Figura 35. Dados de ESI-MS para o complexo **2a** na presença do substrato 2,4-BDNP em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) em pH 10,0. [Complexo] = $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [Substrato] = $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

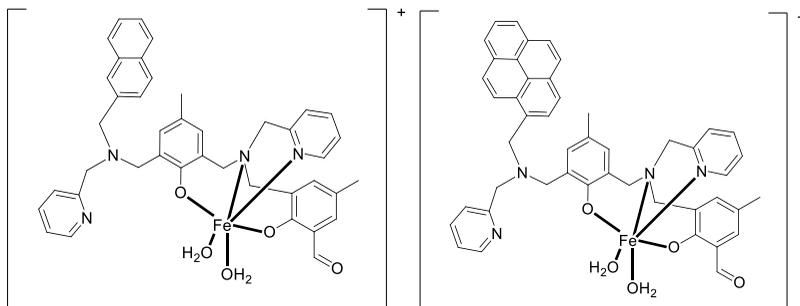


Tendo em vista a complexidade do sistema $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ em meio aquoso, estudos cinéticos e demais caracterizações não serão discutidas neste trabalho, uma vez que não foi possível estabelecer todos os equilíbrios envolvidos. Por fim, decidiu-se sintetizar complexos mononucleares de ferro(III) com os ligantes H_2Lnaf e H_2Lpir para esclarecer a atuação de complexos mononucleares de ferro(III) na hidrólise de ésteres de fosfato, sendo que não há na literatura modelos de ferro(III) aplicados nesse tipo de catálise, sendo sua investigação inédita.

4.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS MONONUCLEARES DE Fe^{III} **1b** E **2b**

Os complexos **1b** (Figura 36 - esquerda) e **2b** (Figura 36 - direita) foram sintetizados a partir dos ligantes H_2Lnaf e H_2Lpir , respectivamente. O sal de ferro utilizado foi o tetrafluoroborato de ferro(II) que, na presença de ligantes que contém grupos fenóis e em meio metanólico que contém uma certa quantidade de água, facilmente se oxida a ferro(III), formando o complexo desejado. A proporção entre metal e ligante foi 1:1 para a formação de um complexo mononuclear de ferro(III). A esfera de coordenação do centro metálico é preenchida com a coordenação de duas moléculas de água. O complexos foram caracterizados através de espectroscopia na região do IR, ESI-MS, eletroquímica, titulação espectrofotométrica. Obteve-se monocristal do complexo **1b** adequado para análise de difratometria de raios X para solução da estrutura cristalina do mesmo.

Figura 36. Estruturas propostas para os complexos **1b** (esquerda) e **2b** (direita) de acordo com os espectros de massas e estrutura de complexo.



4.3.1 Difração de Raios X

A estrutura cristalina do complexo **1b** foi obtida pela análise do monocristal do complexo por difração de raios X. A representação gráfica da estrutura está apresentada na Figura 37 e os demais dados cristalográficos são apresentados no Apêndice B. Na Tabela 7 estão listados os principais comprimentos e ângulos de ligação. A partir da estrutura obtida para o composto **1b**, observa-se que o ligante H_2L_{naf} se coordena ao centro metálico através de seu lado duro, mantendo livre o lado macio do ligante. O íon ferro(III) se apresenta hexacoordenado e sua esfera de coordenação consiste em dois átomos de oxigênio provenientes dos grupos fenolato do ligante, dois átomos de nitrogênio, um de uma piridina e outro da amina terciária do ligante. Para fechar a esfera octaédrica do centro metálico, há a coordenação de duas moléculas de água ao mesmo. Nota-se uma interação entre a unidade do naftaleno e a piridina livre através de uma interação π -stacking. A disposição *cis* das moléculas de água favorece a atuação do complexo como catalisador na reação de hidrólise de ésteres de fosfato.

Figura 37. ORTEP (FARRUGIA, 1997) da unidade assimétrica do cátion complexo **1b** $[Fe(L_{naf})(OH_2)_2]^{1+}$.

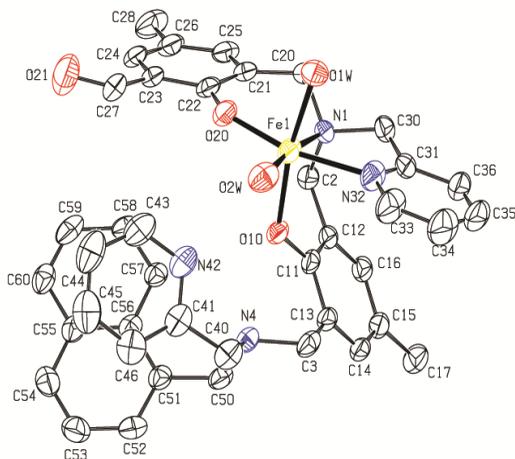


Tabela 7. Principais distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação para o complexo **1b**.

Fe-O _{fenolato terminal}	1,896(4)	Fe-O _{água1}	2,046(4)
Fe-O _{fenolato central}	1,961(3)	Fe-N _{piridina}	2,164(5)
Fe-O _{água2}	2,037(4)	Fe-N _{amina}	2,180(5)
O _{fenolato terminal} -Fe-O _{fenolato central}	103,03(15)		
O _{fenolato terminal} -Fe-O _{água2}	97,34(17)		
O _{fenolato central} -Fe-O _{água2}	85,43(15)		
O _{fenolato terminal} -Fe-O _{água1}	88,76(16)		
O _{fenolato central} -Fe-O _{água1}	167,84(15)		
O _{água2} -Fe-O _{água1}	90,16(17)		
O _{fenolato terminal} -Fe-N _{piridina}	164,4(2)		
O _{fenolato central} -Fe-N _{piridina}	85,76(16)		
O _{água2} -Fe-N _{piridina}	96,1(2)		
O _{água1} -Fe-N _{piridina}	83,44(17)		
O _{fenolato terminal} -Fe-N _{amina}	89,36(16)		
O _{fenolato central} -Fe-N _{amina}	90,21(15)		
O _{água2} -Fe-N _{amina}	172,68(16)		
O _{água1} -Fe-N _{amina}	92,94(16)		
N _{piridina} -Fe-N _{amina}	77,6(2)		

Na estrutura cristalina se observa que as moléculas de água se encontram *trans* a amina terciária e ao fenol central do ligante. As distâncias de ligação entre o ferro(III) e os oxigênios dos fenóis do ligante são próximas a 1,9 Å, indicando que os mesmos encontram-se desprotonados em sua estrutura cristalina. Distâncias maiores que 2,0 Å são observadas entre o ferro e o oxigênio das duas moléculas de água coordenadas ao metal, sendo consideradas lâbeis facilitam a entrada no substrato na catálise. A amina terciária livre do ligante está desprotonada na estrutura cristalina, indicando que sua protonação ocorre apenas em solução aquosa. Os ângulos de ligação formados entre o centro de ferro e os átomos coordenados ao mesmo mostram um octaedro levemente distorcido, sendo as maiores distorções observadas nos ângulos de ligação envolvendo o nitrogênio da piridina e o centro de ferro, chegando ao valor mínimo de 77,6 ° para as ligações N_{piridina}-Fe-N_{amina}, valor similar ao encontrado para

sistemas similares de coordenação (LANZMASTER, 2003, pág. 75). As duas moléculas de água estabelecem entre si um ângulo exato de 90°.

4.3.2 Análise Elementar de C, H e N

Os resultados obtidos através de análise elementar de C, H e N para os complexos **1b** e **2b** estão listados na Tabela 8. Os valores teóricos e experimentais estão em concordância, indicando propostas apropriadas de composição quando analisadas com as demais técnicas de caracterização. Os valores foram calculados com base nas seguintes fórmulas: $\text{FeC}_{41}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_5\text{BF}_4 + 0,75 (\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O} + 0,5 \text{NaBF}_4$ (**1b**) e $\text{FeC}_{47}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_5\text{BF}_4 + 0,3 (\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O} + 1,1 \text{NaBF}_4$ (**2b**).

Tabela 8. Porcentagens obtidas na análise elementar com seus respectivos valores experimentais e teóricos.

Complexo	% C exp.	% C teo.	% H exp.	% H teo.	% N exp.	% N teo.
1b	57,20	57,13	5,40	5,41	6,06	6,08
2b	55,61	55,58	4,42	4,55	5,12	5,28

Tais resultados indicam que, assim como os complexos **1a** e **2a**, os complexos mononucleares não foram lavados suficientemente, restando impurezas na amostra e solvente que deveria ter sido evaporado. Para esses complexos, a análise elementar só pode ser realizada após todos os estudos terem sido feitos.

4.3.3 Espectrofotometria na região do infravermelho

Nos espectros de IR dos complexos **1b** (Figura 38) e **2b** (Figura 39) observam-se alterações das bandas referentes aos ligantes indicando coordenação ao centro metálico (Tabela 9). A banda de deformação angular da ligação O-H de fenol próximo a 1380 cm^{-1} está presente no espectro de IR dos complexos – com baixa intensidade para o complexo **1b** – indicando que possivelmente há uma parcela da amostra que se apresenta com grupo fenol terminal protonado.

Figura 38. Sobreposição dos espectros na região do IR do ligante H_2Lnaf (preto) e do complexo **1b** (vermelho).

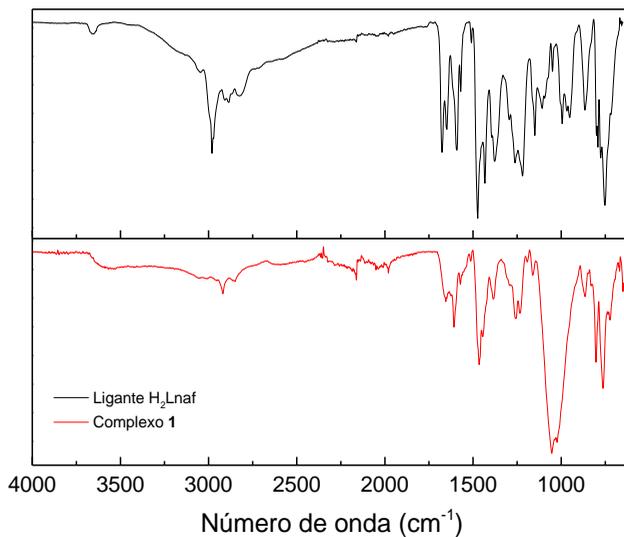
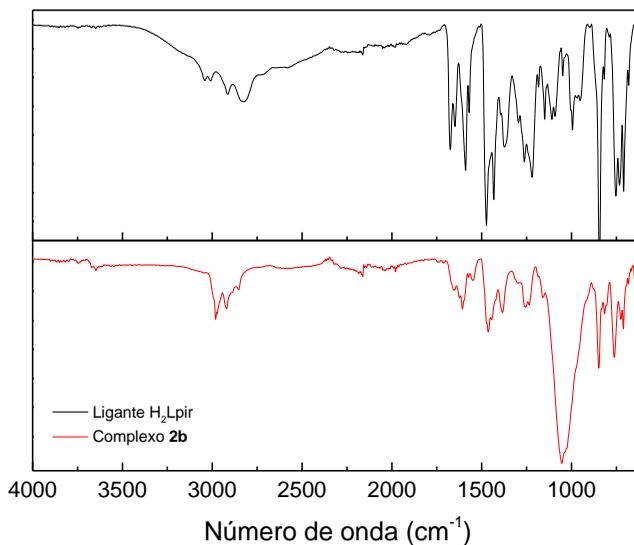


Figura 39. Sobreposição dos espectros na região do IR do ligante H_2Lpir (preto) e do complexo **2b** (vermelho).



O contra-íon dos complexos **1b** e **2b** é o tetrafluoroborato e a banda intensa presente em aproximadamente 1050 cm^{-1} é característica do estiramento axial da ligação B—F (BECK; SÜNKEL, 1988).

Tabela 9. Número de onda das bandas referentes aos movimentos vibracionais dos principais grupos funcionais dos ligantes H_2Lnaf e H_2Lpir e dos complexos **1b** e **2b**.

Bandas	H_2Lnaf (cm^{-1})	1b (cm^{-1})	H_2Lpir (cm^{-1})	2b (cm^{-1})
ν (C-H _{Ar} e C-H _{Air})	3049-2819	3045-2858	3045-2827	2998-2852
ν (C=O)	1678	1660	1676	1650
ν (C=N e C=C)	1594-1431	1572-1440	1592-1429	1606-1422
δ (O-H _{fenol})	1377	1384	1370	1385
ν (C-O _{fenol})	1264	1258	1262	1256
ν (C-N)	1148	1159	1147	1157
ν (B-F)	-	1052	-	1054
δ (C-H _{Ar})	751	762	753	761

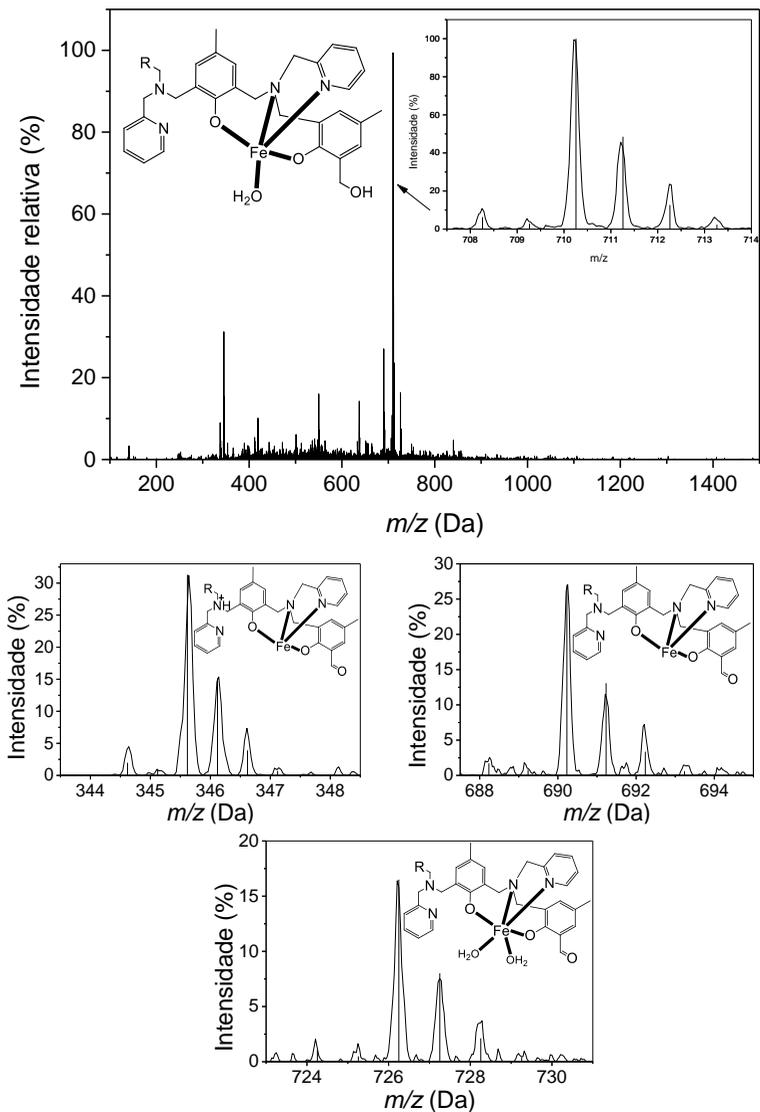
A principal diferença observada entre os complexos binucleares **1a** e **2a** e os complexos mononucleares **1b** e **2b** é a banda referente a deformação angular da ligação O-H de fenol em aproximadamente 1380 cm^{-1} , presente apenas para os complexos mononucleares. Além disso, observam-se diferenças nas bandas referentes a contra-íon (perclorato para os complexos binucleares e tetrafluoroborato para os complexos mononucleares) e, no caso dos complexos **1a** e **2a**, a presença das bandas características da ponte exógena acetato existente entre os centros de ferro(III) e zinco(II).

Em todos os espectros de IR dos complexos não foi possível observar bandas referentes a solventes e água coordenada, embora a presença dessas moléculas tenha sido comprovadas para o complexo **1b**, através da estrutura obtida por difração de raios X.

4.3.4 Espectrometria de massas

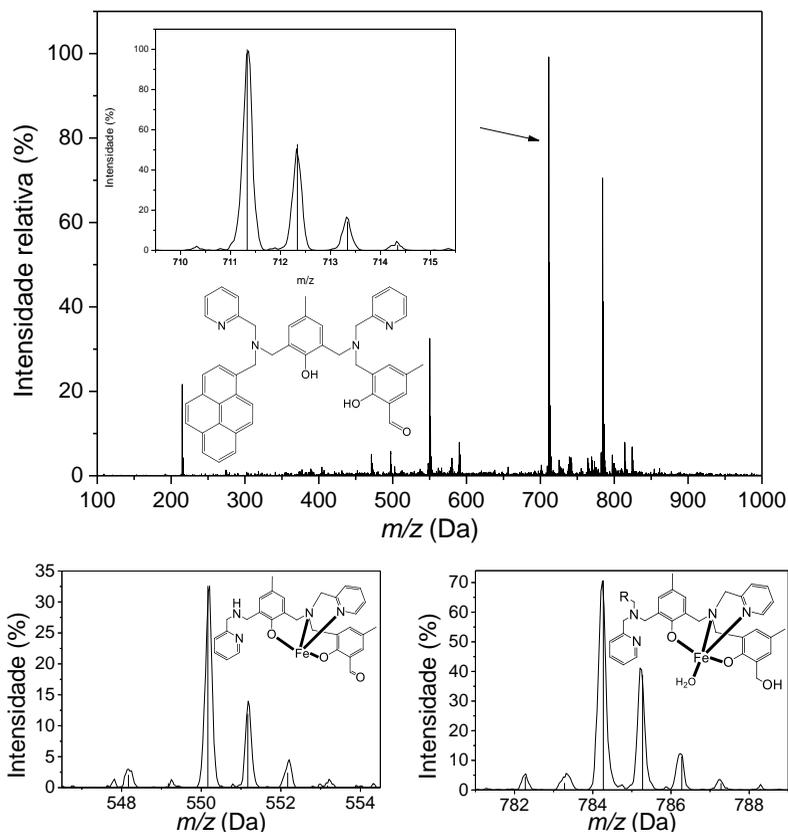
Os espectros de massas dos complexos **1b** e **2b** foram obtidos em acetonitrila e apresentaram alguns sinais referentes aos complexos (Figura 40 e 41). Para o complexo **1b**, o sinal base $[M]^+$, com m/z 710,26 Da, é referente a espécie $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Lnaf}_{\text{red}})(\text{OH}_2)]^+$, sendo $\text{Lnaf}_{\text{red}}^{2-}$ o ligante Lnaf^{2-} com o grupo aldeído reduzido a álcool. Em m/z 690,23 Da aparece um sinal com distribuição isotópica de acordo com a espécie monovalente $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Lnaf})]^+$. Outro sinal observado possui m/z de 726,25 Da referente a espécie $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Lnaf})(\text{OH}_2)_2]^+$ e corresponde a estrutura obtida para o complexo **1b** através de difratometria de raios X (Seção 4.3.1). Além disso, a espécie bivalente $[\text{Fe}(\text{HLnaf})]^{2+}$ é observada através do sinal m/z 345,62 Da. É possível observar que a estrutura $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Lnaf})]$ permanece estável em fase gasosa, tendo alteração na esfera de coordenação do ferro(III) apenas em relação as moléculas de água coordenadas ao centro metálico.

Figura 40. Espectro de ESI-MS do complexo **1b** e respectiva simulação da distribuição isotópica.



Para o complexo **2b**, o sinal base possui m/z de 711,35 Da, atribuído ao aduto $[H_2Lpir+H]^+$. O sinal com m/z de 784,26 Da é referente a espécie $[Fe^{III}(Lpir_{red})(OH_2)]^+$. Além disso, observa-se a presença de um espécie contendo o ferro(III) e o ligante totalmente desprotonado sem a unidade de pireno em m/z 550,21 Da. O espectro de massas de **2b** mostra que o mesmo não é muito estável nas condições de análise.

Figura 41. Espectro de ESI-MS do complexo **2b** e respectiva simulação da distribuição isotópica.



4.3.5 Espectrofotometria eletrônica na região do UV-Vis

Na Tabela 8 encontram-se os valores de comprimento de onda máximo e coeficiente de absorção da banda de LMCT $p\pi_{\text{fenolato}} \rightarrow d\pi^*_{\text{ferro(III)}}$. Para ambos os complexos, a LMCT fenolato \rightarrow ferro(III) de maior energia ($p\pi_{\text{fenolato}} \rightarrow d\sigma^*_{\text{ferro(III)}}$) aparece apenas como um ombro, quase imperceptível para o complexo **2b** pelas mesmas razões já citadas para o complexo **2a** na Seção 4.2.5.

Tabela 10. Dados dos espectros eletrônicos para os complexos **1b** e **2b**.

Complexo	λ_{max} (nm) / ϵ (Lmol ⁻¹ cm ⁻¹)	
	CH ₃ CN	CH ₃ CN/H ₂ O 1:1
1b	511 / 2215	512 / 2326
2b	512 / 1444	515 / 1524
8^a	547 / 2195	500 / 1830
FeZnH₂LHex^b	520 / 2282	511 / 2249
FeZnLAB^c	553 / 2180	524
FeZnLP1^c	512 / 2100	506

^a PERALTA, 2005; ^b HEYING, 2014; ^c CAMARGO, 2013

H₂LHex = 2-(((3-((6-aminohexil)amino)metil)-2-hidroxi-5-metilfenil)metil)(piridin-2-ilmetil)amino)metil)-6-[[bis(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol

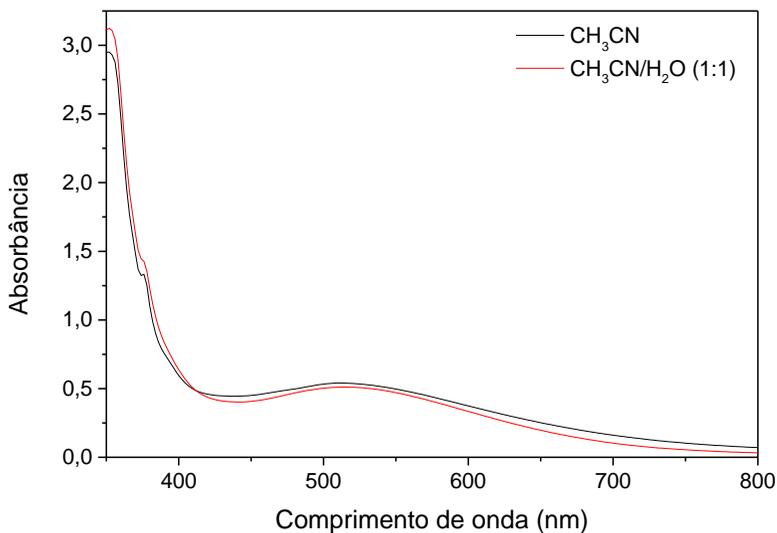
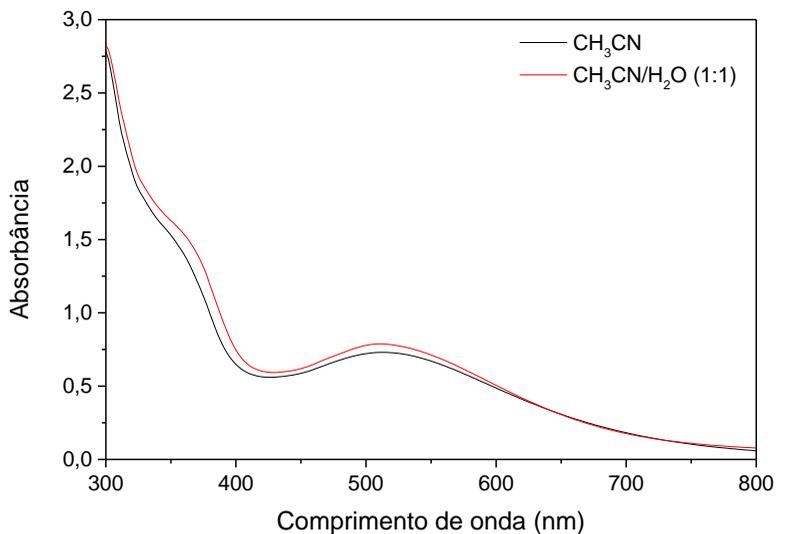
H₂LAB = 2-(((3-((4-aminobutil)amino)metil)-2-hidroxi-5-metilfenil)metil)(piridin-2-ilmetil)amino)metil)-6-[[bis(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol

H₂LP1 = 2-[[bis(piridin-2-ilmetil)amino]metil)-6-[[{2-hidroxi-5-metil-3-[[4-((piren-1-ilmetil)amino)butil]amino)metil]fenil)metil)(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol

A banda em 500 nm praticamente não sofre alteração com a mudança do meio de CH₃CN para CH₃CN/H₂O, indicando que a esfera de coordenação do ferro nesses dois meios não sofre alteração (Figura 42). O valor encontrado de comprimento de onda máximo em ambos os meios são muito similares aos valores obtidos para os complexos **1a** e **2a** em presença de água, sugerindo uma esfera de coordenação bastante similar entre os complexos em pH de solução. Diferentemente dos complexos **1a** e **2a**, o coeficiente de absorção aumenta no meio mais polar.

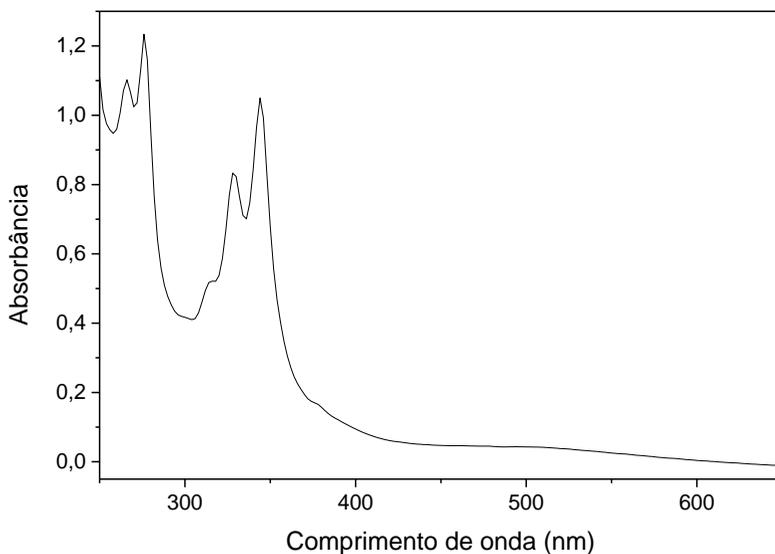
Cálculos computacionais poderiam auxiliar na compreensão dos processos de transição eletrônica destes complexos e é uma perspectiva desse trabalho.

Figura 42. Espectros eletrônicos dos complexos **1b** (acima) e **2b** (abaixo). Solução – $[C] = 3,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



Para o complexo **2b**, a banda relativa a transição $\pi-\pi^*$ do grupo pireno em 342 nm mostrou coeficiente de absorção de cerca de $30000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ em acetonitrila, bem inferior ao valor usual observado para essa transição que é em torno de $55000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Figura 43). Além disso, é observada uma supressão dessa banda em comparação a banda em 275 nm, que para o para o composto pireno, possui coeficiente de abosrção próximo ao da banda em 342 nm. Para o complexo **2a**, essa proporção é mantida, vide Seção 4.2.4.

Figura 43. Espectro eletrônico do complexo **2b** em acetonitrila. $[C] = 3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.



O comportamento similar desses complexos na interação com a radiação na região do UV-Vis com complexos binucleares de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ é justificado pelo comportamento do zinco(II) frente a essa radiação, sendo que o mesmo não apresenta transições eletrônicas na região de estudo e pelo ausência de acoplamento entre os centros de ferro(III) e zinco(II). Como mostrado na Tabela 10, os valores se aproximam bastante de complexos diversos complexos binucleares da literatura, principalmente quando em meio $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$.

4.3.6 Estudos de equilíbrio químico por titulação e espectrofotométrica

Para os complexos desenvolvidos nesse trabalho, a titulação espectrofotométrica teve como objetivo determinar os valores de pK_a das águas coordenadas aos centros metálicos e estabelecer as espécies existentes em equilíbrio, associando esses resultados com a atividade catalítica do complexo frente a hidrólise do substrato 2,4-BDNPP. Com o uso da titulação espectrofotométrica é possível obter os valores de pK_a a partir do deslocamento hipsocrômico sofrido pela banda de LMCT fenolato \rightarrow ferro(III) de menor energia com o aumento do pH devido ao aumento da densidade eletrônica sobre o átomo de ferro(III) quando ocorre a desprotonação dos ligantes aquo a hidroxido que estão coordenados aos centros metálicos. Esse aumento de densidade eletrônica sobre o ferro(III) leva a um distanciamento entre os orbitais π e π^* do metal (HORN et al, 2010).

A partir dos resultados obtidos da titulação espectrofotométrica (espectros das Figuras 46 e 47) foram encontrados os valores de pK_a para os complexos **1b** e **2b**. Para o complexo **2b**, a análise foi realizada em mistura $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (2:1, v/v), diferente da utilizada para os demais compostos. Por essa razão são apresentados valores aproximados, apenas evidenciar que o comportamento de ambos os complexos é o mesmo com a variação do pH. A modificação do meio para o complexo **2b** se deu devido a baixa solubilidade do mesmo em meio contendo água no intervalo de pH maior que 6,5.

Tabela 11. Valores de pK_a para os complexos **1b** e **2b**.

	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a3}
1b	$4,20 \pm 0,02$	$6,77 \pm 0,02$	$8,64 \pm 0,02$	$12,25 \pm 0,11$
2b	4,1	6,1	8,0	12,6
3^a	4,94	6,87	8,33	-

^a PIOVEZAN, 2010

A titulação espectrofotométrica resultou em quatro valores de pK_a para ambos os complexos (Tabela 11) e os gráficos de distribuição de espécies para os complexos **1b** e **2b** são apresentados nas Figuras 44 e 45, respectivamente.

Figura 44. Diagrama de distribuição de espécies para o complexo **1b** em CH₃CN/H₂O (1:1, v/v).

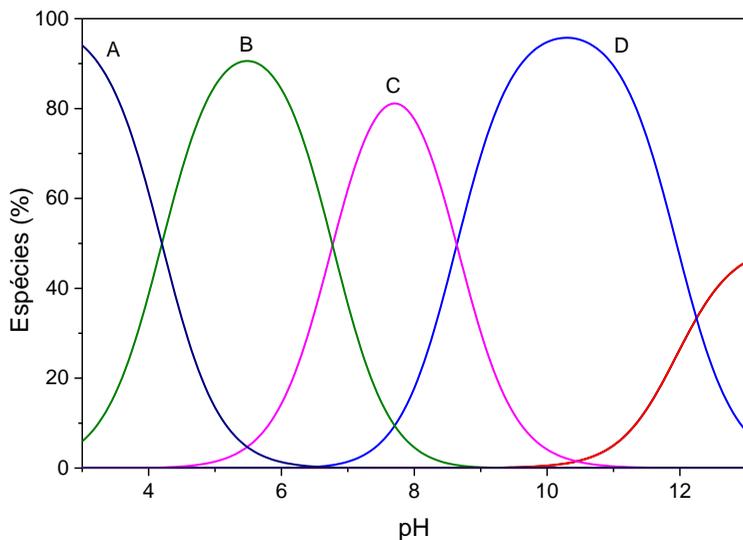
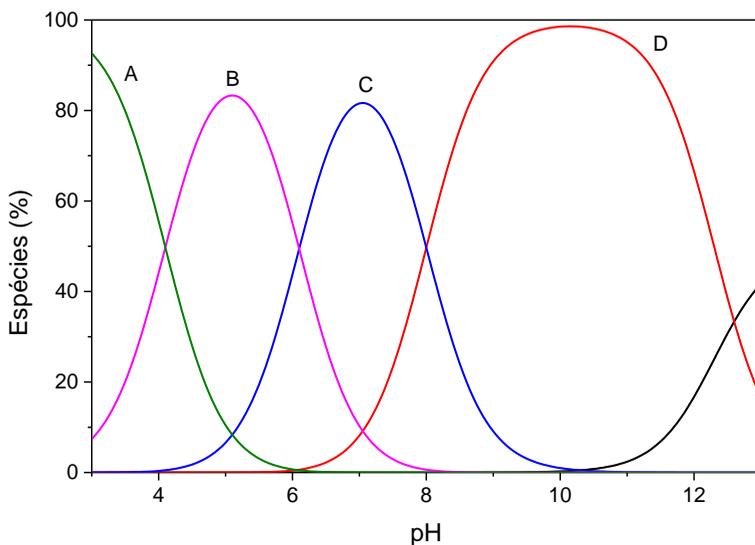
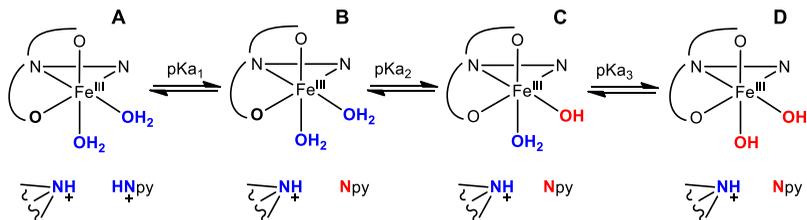


Figura 45. Diagrama de distribuição de espécies para o complexo **1b** em CH₃CN/H₂O (2:1, v/v).



Esquema 5. Equilíbrios propostos para os complexos **1b** e **2b** em mistura $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$.



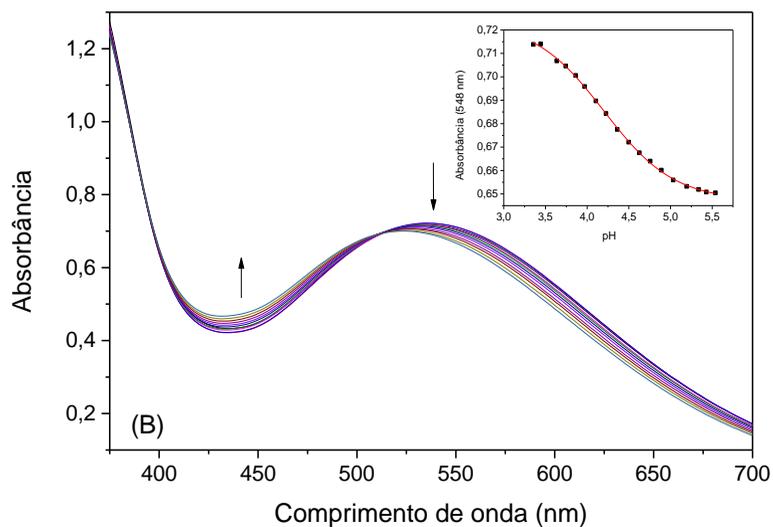
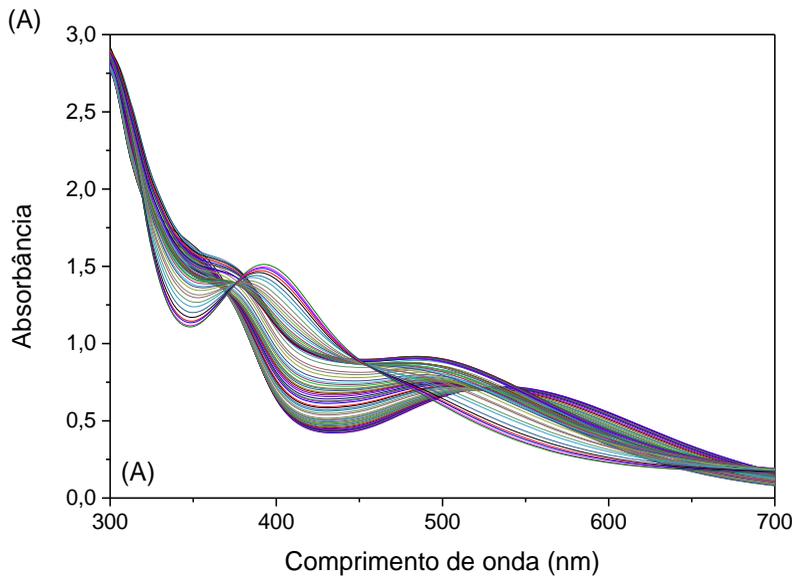
A primeira constante (pK_{a1}) pode ser atribuída a desprotonação do grupo piridinium não coordenado do ligante (equilíbrio entre estruturas A e B apresentado no Esquema 5). O pK_a de piridina relatado na literatura é próximo de 5,0 e pode variar um pouco dependendo das interações que estabelece com seus arredores (BINTEIN; DEVILLERS, 1994). A partir da estrutura obtida para o complexo **1b**, apresentada na Figura 37, da Seção 4.3.1, nota-se uma proximidade entre a piridina livre do ligante a uma das águas coordenadas ao centro de ferro (representada pelo átomo O2W). Essa proximidade permite que haja, após desprotonação do piridinium, ligação de hidrogênio entre o nitrogênio da piridina e um hidrogênio dessa água coordenada. A partir dessa interação, há um pequeno aumento na densidade de carga do ferro(III), levando ao pequeno deslocamento hipsocrômico da banda em 550 nm observado na Figuras 46B e 47B. Na sequência, a Figuras 46C e 47C mostra a variação espectral sofrida quando a primeira molécula de água coordenada ao ferro(III) é desprotonada (equilíbrio entre estruturas B e C), resultando novamente em um deslocamento hipsocrômico da banda de transferência de carga fenolato \rightarrow ferro(III) de menor energia. A partir desse equilíbrio estabelecido, foi obtido o valor do pK_{a2} . O pK_{a3} é atribuídos ao equilíbrio de protonação/desprotonação da segunda molécula de água coordenadas ao centro de ferro(III) (equilíbrio entre estruturas C e D (Figuras 46D e 47D)).

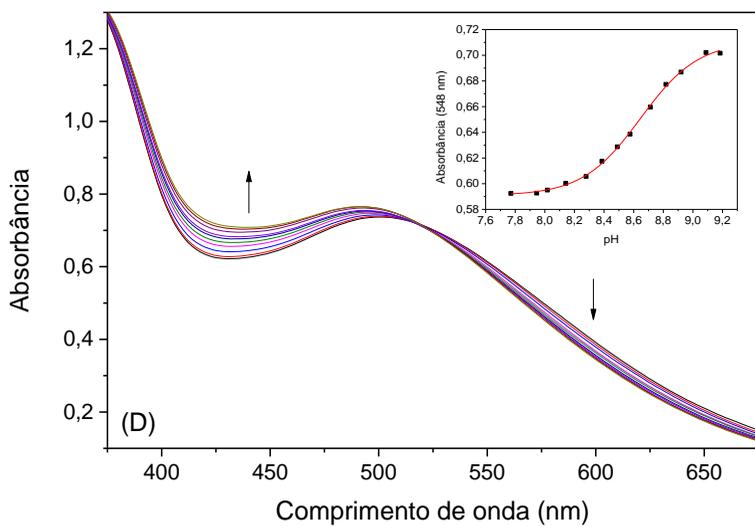
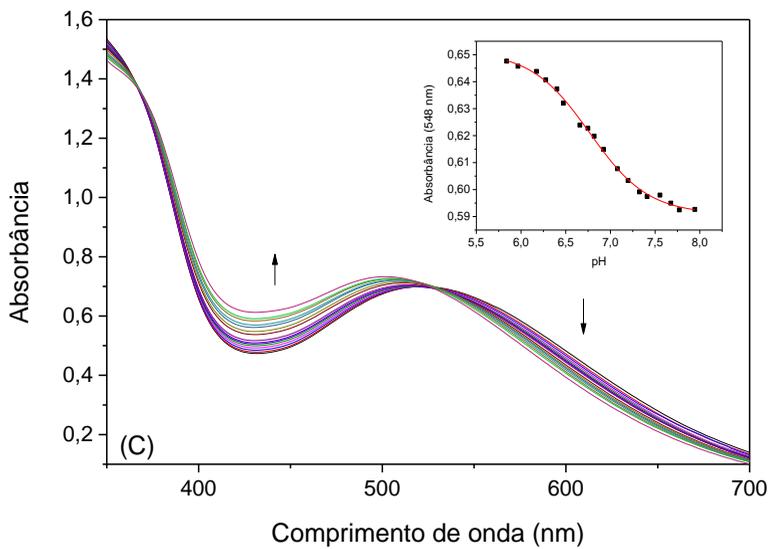
Mesmo na mistura $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (2:1, v/v), observou-se a precipitação do complexo **2b**, aumentando gradualmente a partir de pH 6,5 (observado com o aumento da turbidez da solução). A

partir de pH 12, observou-se que com o aumento do pH a solução foi se tornando mais límpida novamente. Nos espectros esse evento também está evidente, em que inicialmente há um aparente aumento na absorção do complexo, mas que na verdade é reflexo do espalhamento da radiação pelas partículas sólidas formadas (Figura 47D). A medida que essas partículas vão novamente sendo solubilizadas, o espalhamento da radiação é reduzido e a absorção aparente do complexo diminui (Figura 47E). Nessa faixa de pH começa a ser formada a espécie $[\text{Fe}(\text{HL})(\text{OH})_2]^0$ (Espécie D), que chega a porcentagem máxima de existência em pH ~ 10 e depois começa a ser consumida. Essa espécie neutra é que possui baixa solubilidade e faz com que ocorra a precipitação nessa faixa de pH. Para o complexo **1b**, esse fenômeno também é observado através do espalhamento da radiação pelas partículas sólidas (Figura 46E), porém não foi observado visualmente durante a realização do experimento pois a solubilidade do complexo contendo o grupo naftil é maior que a do complexo contendo o grupo pirenil, que é altamente hidrofóbico, comprometendo a solubilidade do complexo **2b** quando neutro.

O quarto pK_a provavelmente reflete algum equilíbrio em que há uma grande mudança de coordenação ao centro de ferro(III) considerando a mudança significativa no espectro de absorção dentro dessa faixa de pH (Figuras 46F e 47F). A desprotonação da amina terciária seguida de sua coordenação ao ferro é um evento plausível para ser atribuído a esse pK_a .

Figura 46. Titulação espectrofotométrica do complexo **1b** feita em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) a $25\text{ }^\circ\text{C}$, $0,1\text{ mol L}^{-1}$ em KCl; $[\text{C}] = 2,7 \times 10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$.





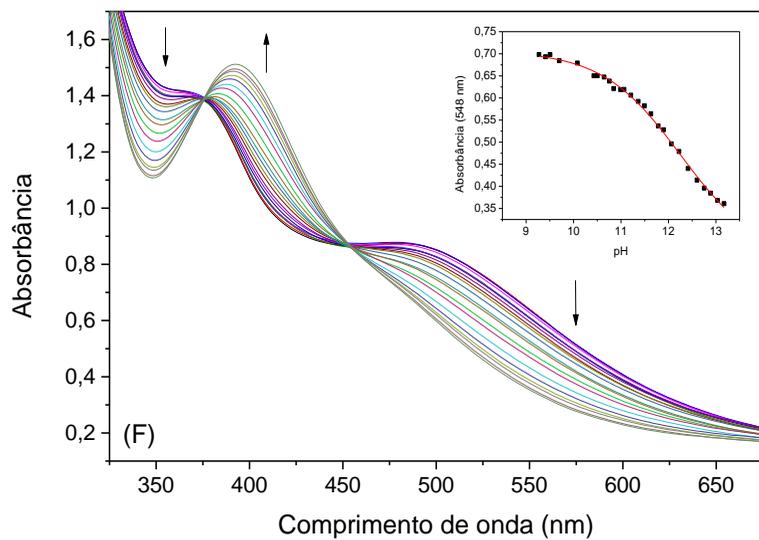
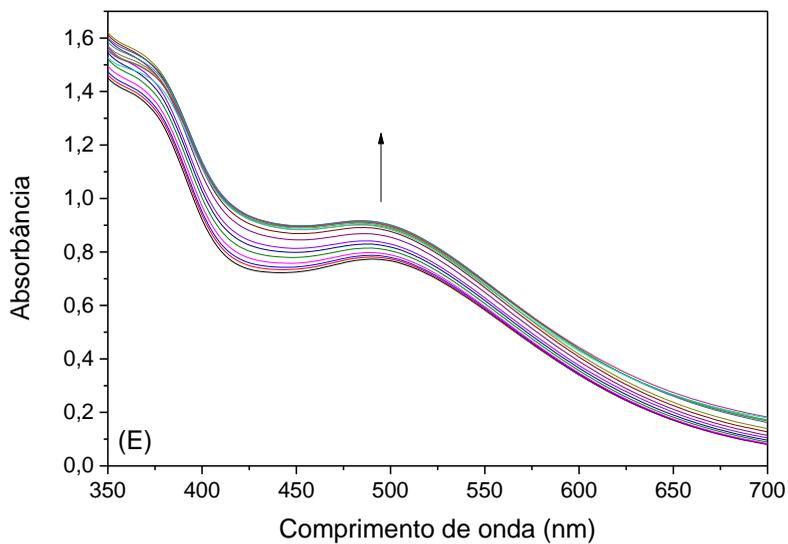
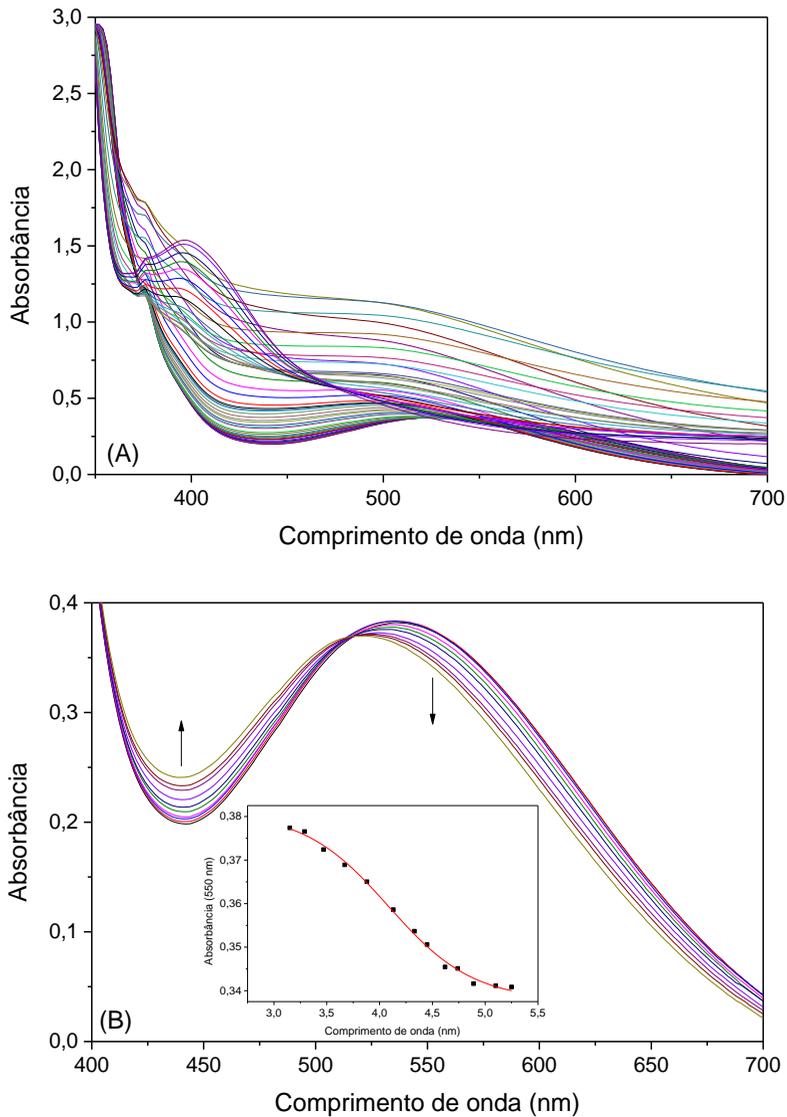
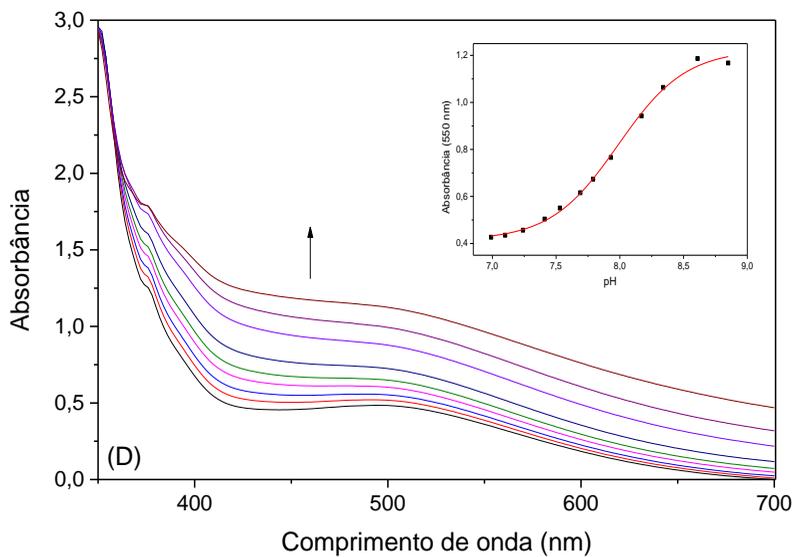
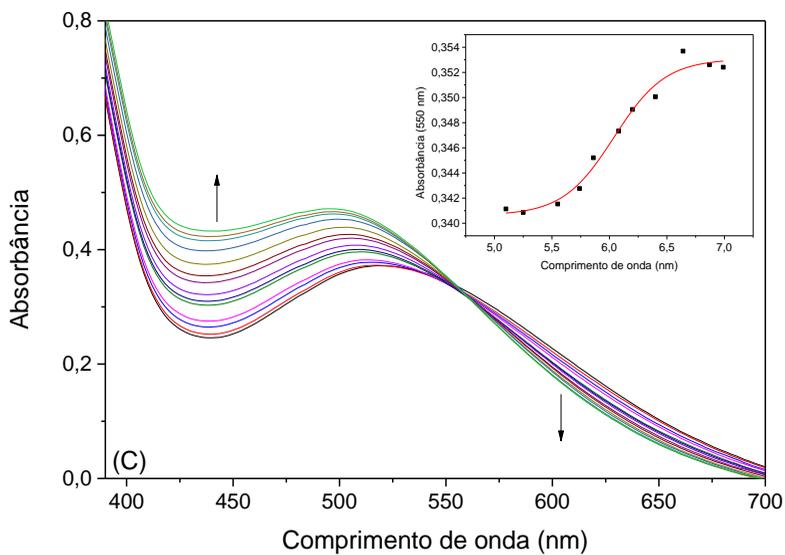
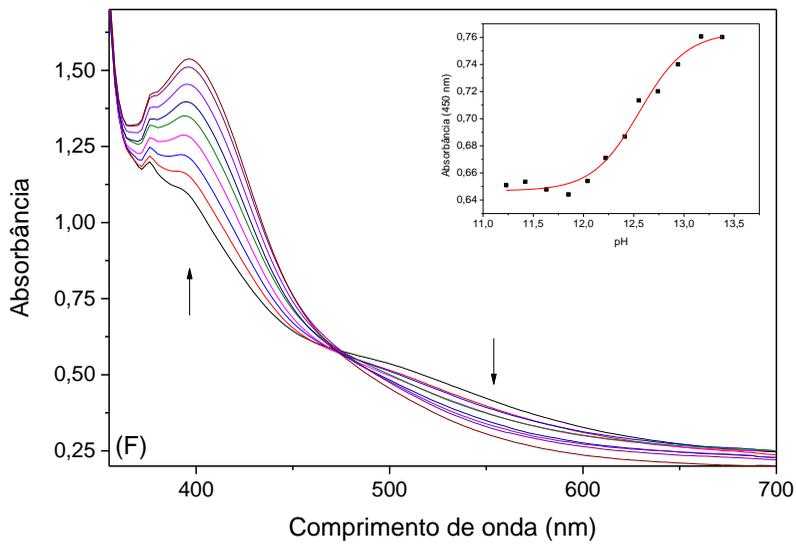
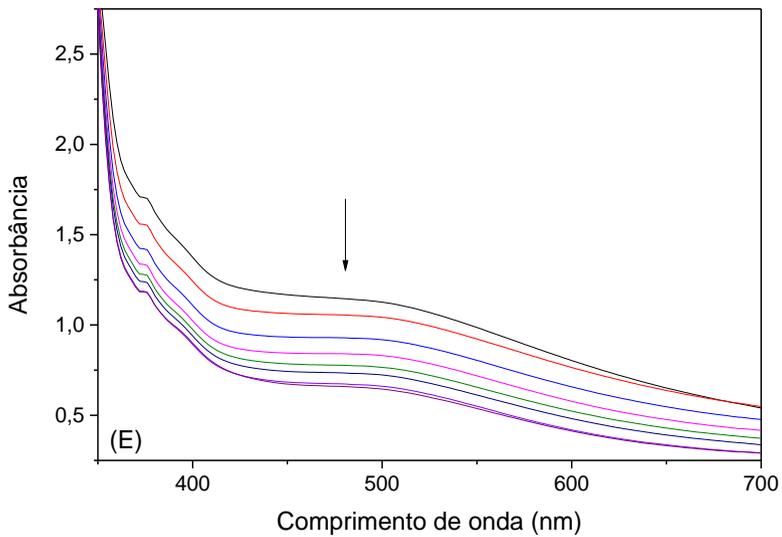


Figura 47. Titulação espectrofotométrica do complexo **2b** feita em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (2:1, v/v) a 25 °C, 0,1 mol L⁻¹ em KCl; $[\text{C}] = 2,6 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.







4.3.7 Eletroquímica

Nos estudos eletroquímicos dos complexos, visa-se observar o comportamento do processo redox $\text{Fe}^{\text{III}} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{\text{II}}$, que é altamente dependente do pH da solução. Por essa razão, foram realizados estudos em diferentes valores de pH (Figura 48).

Os estudos de voltametria de onda quadrada para os complexos **1b** e **2b** foram realizados nas mesmas condições que cinética, acompanhando o processo $\text{Fe}^{\text{III}} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{\text{II}}$ em pH 4,5, 7,5 e 9,0.

Uma variação na densidade eletrônica do ferro(III) é observada com a mudança de pH devido a variações na esfera de coordenação do metal. A desprotonação de ligantes *aquo* coordenados ao centro metálico aumenta a densidade eletrônica sobre o ferro(III), levando a um deslocamento do potencial redox do mesmo para valores mais negativos, estabilizando o estado de oxidação 3+, quando comparado com as espécies protonadas. Ambos os complexos apresentam esse comportamento, de acordo com os valores de potenciais observados na Tabela 12.

Os valores obtidos apresentam similaridade com valores obtidos para complexos binucleares de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ que possuem amina livre no ligante, estando essa protonada nos valores de pH estudados e portanto interagindo através de ligações de hidrogênio com a primeira esfera de coordenação do centro de ferro(III) (HEYING, 2014; SILVA, et al., 2017). A interação de ligantes hidroxó com a amina protonada geram um deslocamento do potencial para valores mais positivos quando comparados com complexos que não possuem essa fonte de interação, devido a diminuição da densidade eletrônica no centro metálico com essa interação. Nesses trabalhos citados, os estudos foram realizados em meio EtOH/H₂O e com pequenas variações nos valores de pH de estudo, o que explica as estreitas diferenças observadas nos valores obtidos. Essa similaridade com complexos binucleares é novamente explicado pela ausência de resposta do zinco(II) à técnica na faixa de estudo e da falta de acoplamento entre o ferro(III) e o zinco(II).

Tabela 12. Potenciais de pico catódicos vs. NHE para os complexos **1b**, **2b**, **Cmet** e **FeZnH₂LHex**.

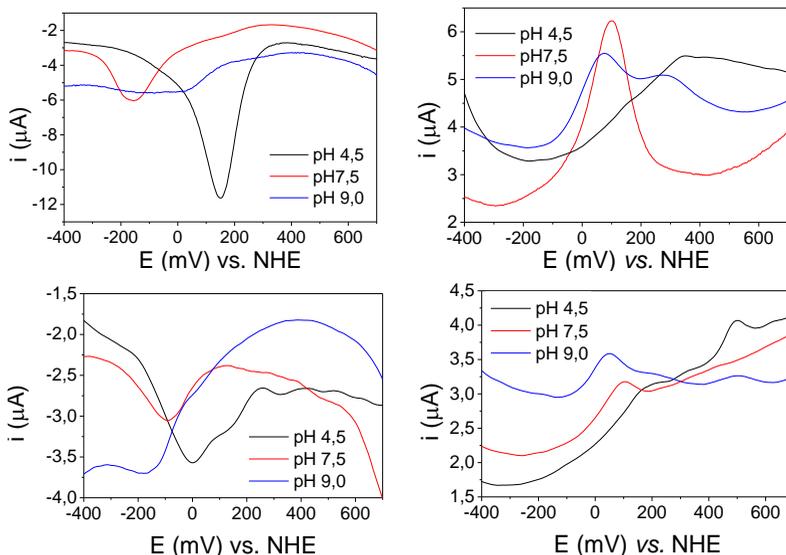
	pH 4,5	pH 7,5	pH 9,0
1b	150	?/-150	16/-150
2b	120/15	-90	15/-173
Cmet	123		-140
FeZnH₂LHex	162 (pH 4,11)	-202 (pH 7,95)	

^a WECKER, 2018; ^b HEYING, 2014

O processo observado em 150 mV para **1b** e 120 mV para **2b** em pH 4,5 é atribuído ao par redox $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}/[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})_2]^{1+}$. Em pH 7,5, o complexo **1b** apresenta um processo encoberto pela onda em -150 mV. O par redox $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^{1+}/[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{HL})(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]^0$ está relacionado com esse processo encoberto, que para o complexo **2b** aparece em -90 mV. O processo que ocorre em -150 mV para **1b** e -173 mV para **2b** é referente ao par redox $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{HL})(\text{OH})_2]^0/[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{HL})(\text{OH})_2]^-$. Esses dados estão em concordância com os dados da titulação espectrofotométrica *vide supra*.

O complexo **Cmet** (WECKER, 2018), que traz um ambiente de coordenação para o ferro(III) bastante semelhante, apresenta valores próximos aos obtidos para os complexos deste trabalho. Comparações com o complexo **3** (PIOVEZAN, 2010) não foram possíveis pois os estudos realizados foram em meios diferentes (estudos eletroquímicos realizados em CH_2Cl_2 para o complexo **3**).

Figura 48. Voltamogramas de onda quadrada para os complexos **1b** (acima) e **2b** (abaixo) em pH 4,5, 7,0 e 9,0. Condições: CH₃CN/H₂O (1:1, v/v), [C] = 1 x 10⁻³ mol L⁻¹, I = 0,1 mol L⁻¹ de LiClO₄.



Para ambos os complexos **1b** e **2b** observa-se um segundo processo em pH 9,0, próximo a 15 mV, que não é facilmente atribuído, uma vez que após a desprotonação da segunda molécula de água coordenada ao ferro(III), valores mais negativos seriam esperados devido a maior densidade de carga conferida ao ferro pelo grupo hidróxido coordenado ao mesmo (PERALTA, et al. 2010).

4.4 ESTUDOS DE REATIVIDADE FRENTE A HIDRÓLISE DO SUBSTRATO 2,4-BDNPP

O uso de substratos modelos ativados que possuam ligações fosfodiéster que simulem o grupo funcional presente na cadeia de RNA e DNA é uma das estratégias utilizadas para o estudo da atividade catalítica de biomiméticos na hidrólise de ésteres de fosfato. O substrato modelo empregado neste trabalho foi o bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP), utilizado para analisar a capacidade catalítica dos complexos desenvolvidos. A atividade catalítica para os complexos frente à hidrólise do substrato (Esquema 6) foi avaliada a 25 °C, com excesso de substrato, seguindo uma cinética de pseudo-primeira ordem.

Esquema 6. Reação de hidrólise do substrato modelo 2,4-BDNPP.



4.4.1 Efeito do pH na hidrólise do 2,4-BDNPP

Estudos para determinar o efeito do pH na atividade catalítica dos complexos mononucleares de ferro (III) foram realizados, determinando-se o pH de atividade máxima na reação de hidrólise do 2,4-BDNPP. Obtiveram-se também os valores de pK_a cinético para cada um dos compostos, que foram comparados com os valores obtidos no estudo de equilíbrio químico, o que auxiliou na determinação das espécies responsáveis pela atividade catalítica.

A faixa de pH estudada foi de 4,0 a 9,5 e a dependência de v_0 em função do pH apresentou um perfil de sino para ambos os complexos (Figura 49). O pH ótimo observado foi de 7,5 para os complexos **1b** e **2b**. Os complexos mononucleares **1b** e **2b** apresentam semelhança com o complexo mononuclear de ferro(III) (**Cmet**) desenvolvido por Wecker (2018).

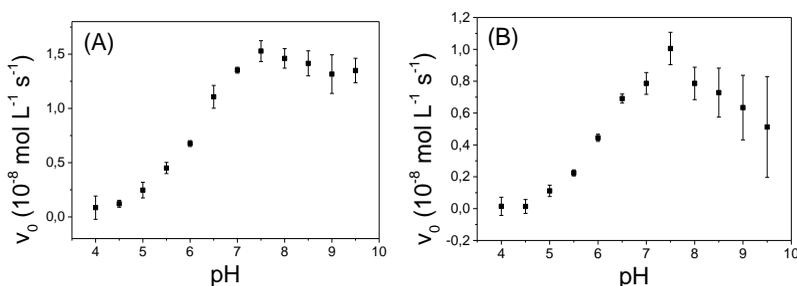
Tabela 13. Comparação dos valores de pK_a potenciométrico e cinético na hidrólise do 2,4-BDNPP.

	pK_a Espectrofotométrico	pK_a Cinético
1b	6,77 ± 0,02	6,34 ± 0,14
2b	6,1	6,10 ± 0,09
3^a	4,94	5,38
Cmet^b	5,55	6,32

^a PIOVEZAN, 2010; ^b WECKER, 2018

Os valores de pK_a cinético obtidos para os complexos (Tabela 13) se assemelham aos valores de pK_{a2} para os complexos **1b** e **2b**, o que permite concluir que a espécie ativa na catálise é a espécie mononuclear $[Fe^{III}(HL)(OH_2)(OH)]^{1+}$ (Espécie C – Esquema 5). A distribuição de espécies ao longo da faixa de pH analisada justifica o perfil de sino observado. Inicialmente tem-se a espécie $[Fe^{III}(HL)(OH_2)_2]^{2+}$ (Espécie B – Esquema 5), que, apesar de ter dois sítios lábeis para a entrada do substrato, não possui nucleófilo forte suficiente para que a catálise seja muito eficiente. Com o aumento do pH, a espécie ativa é formada ($[Fe^{III}(HL)(OH_2)(OH)]^{1+}$ (Espécie C), sendo que essa possui o sítio lábil para a entrada do substrato (molécula de água coordenada) e também o nucleófilo proposto (hidroxo coordenado), chegando em sua atividade máxima em pH 7,5. A partir desse pH, a espécie ativa começa a ser consumida para a formação da espécie $[Fe^{III}(HL)(OH)_2]^0$ (Espécie D – Esquema 5), que não possui mais uma molécula de água que tenha sua troca facilitada para a entrada do substrato, dificultando a associação do mesmo e limitando a atividade catalítica. Esse comportamento é similar ao observado para sistemas binucleares que possuem o nucleófilo hidroxilo em um dos centros metálicos e o ligante aquo lábil, facilitando a sua substituição para entrada do substrato (CAMARGO; *et al.*, 2015; MITIĆ; *et al.*, 2006; LANZMASTER, 2002).

Figura 49. Dependência da velocidade inicial dos complexos (A) **1b** e (B) **2b** com o pH para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP. Condições: CH₃CN/H₂O (1:1, v/v); [Complexo] = 4 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; [Substrato] = 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹; [tampão] = 5 x 10⁻² mol L⁻¹; I = 5 x 10⁻² LiClO₄ mol L⁻¹.



4.4.2 Estudos de ESI-MS dos complexos na presença do 2,4-BDNPP

Estudos dos complexos na presença do substrato foram realizados através de análise via ESI-MS nas condições dos estudos cinéticos realizados. Devido a sensibilidade da massa a presença do tampão utilizado nos estudos cinéticos, o pH das soluções foi ajustado apenas com NaOH e o pH foi aferido com fita de pH após adição do substrato.

O objetivo desses estudos foi esclarecer quais espécies estavam envolvidas na atividade catalítica dos complexos **1b** e **2b** e também buscar informações acerca do mecanismo de atuação desses complexos mononucleares, porém apenas comprovações da coordenação do substrato ao complexo foram obtidas uma vez que sem o tamponamento adequado do meio, a reação ocorre muito lentamente.

Nos estudos em pH 7,5 para os compostos binucleares **1b** e **2b**, observa-se apenas a presença do sinal referente a espécie mononuclear de ferro(III) associada ao substrato. Para o composto **1b** esse sinal possui m/z de 1120,17 e para o complexo **2b**, m/z de 1194,20, referente a espécie [Fe(HL)(BDNPP)]⁺ (Figuras 50 e 51). Essas espécies são equivalentes as observadas para os complexos binucleares **1a** e **2a**, apresentados na Seção 4.2.6.

Figura 50. Dados de ESI-MS para o complexo **1b** na presença do substrato 2,4-BDNPP em CH₃CN/H₂O (1:1, v/v) em pH 7,5. [Complexo] = 4×10^{-5} mol L⁻¹; [Substrato] = 3×10^{-4} mol L⁻¹.

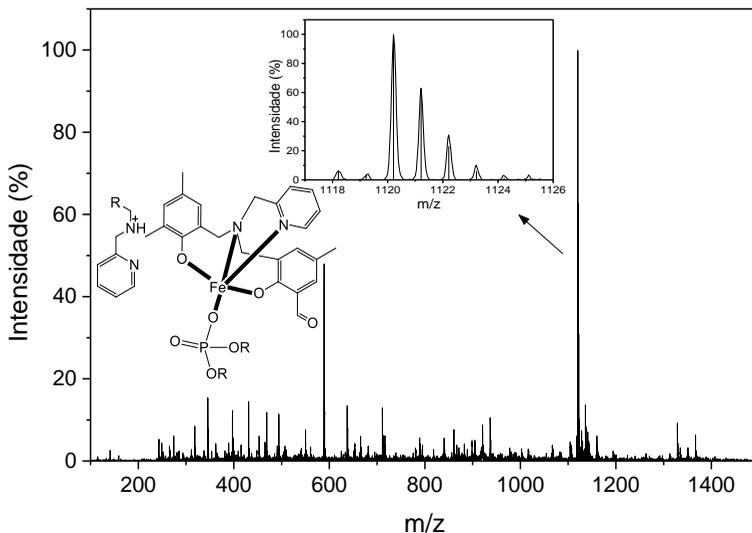
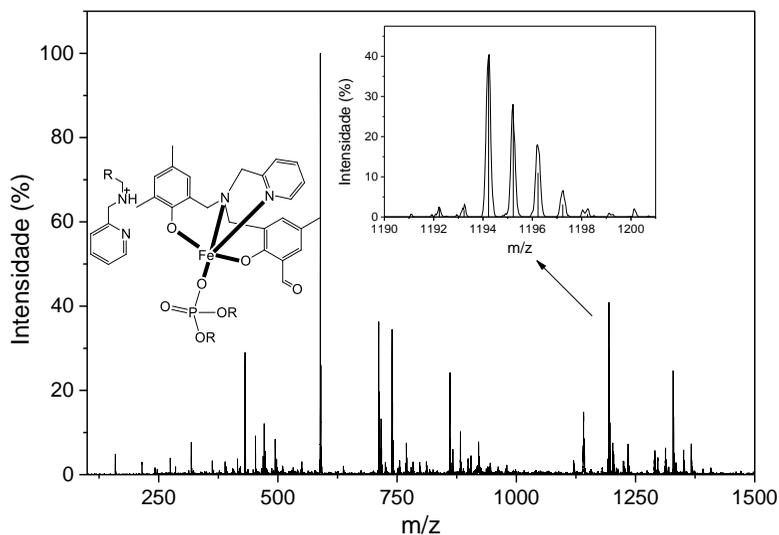


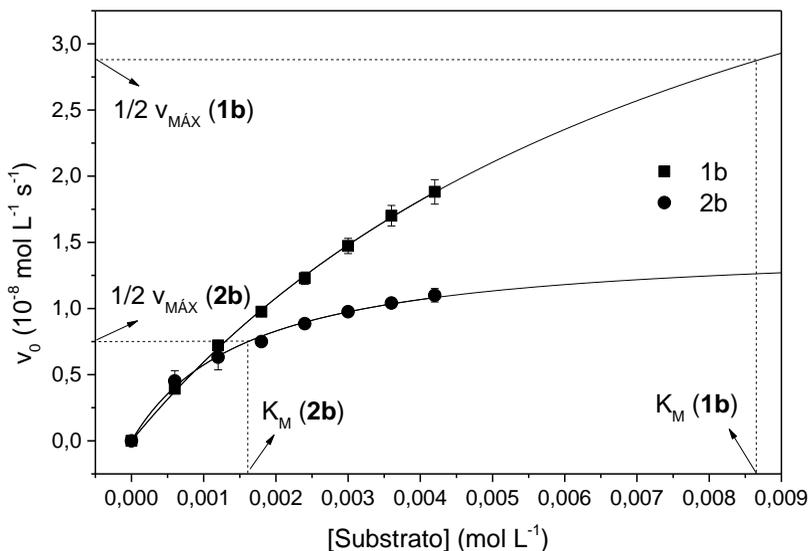
Figura 51. Dados de ESI-MS para o complexo **2b** na presença do substrato 2,4-BDNPP em CH₃CN/H₂O (1:1, v/v) em pH 7,5. [Complexo] = 4×10^{-5} mol L⁻¹; [Substrato] = 3×10^{-4} mol L⁻¹.



4.4.3 Efeito do substrato na hidrólise do 2,4-BDNPP

O efeito da concentração do substrato na hidrólise do mesmo foi estudado no pH de atividade máxima de cada complexo (7,5). A dependência da velocidade de reação com a concentração de 2,4-BDNPP apresentou um perfil de saturação (Figura 52) e os dados foram tratados com a equação não linear de Michaelis-Menten, obtendo-se os fatores cinéticos para cada complexo como apresentado na Tabela 14. Devido a solubilidade do substrato em acetonitrila, a concentração máxima possível do mesmo é de $4,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e não é possível realizar medidas de v_0 até a concentração do K_M para o composto **1b**. Por isso foi feita uma extrapolação do ajuste da equação até valores de concentração de substrato superiores ao K_M , como apresentado na Figura 52.

Figura 52. Dependência da velocidade de reação do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para os complexos **1b** (■) e **2b** (●). Condições: [Complexo] = $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [Tampão] = $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (HEPES, pH = 7,5); I = $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (LiClO_4) em solução $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1, v/v) à 25 °C.



Apesar da esfera de coordenação ao redor do centro de ferro (III) bastante similar proposta para os complexos **1b** e **2b**, assim como pK_a cinético próximo e mesma espécie ativa atuante, os mesmos apresentaram valores de k_{cat} bastante diferentes, sendo que o complexo **1b** atua frente a hidrólise do 2,4-BDNPP com um valor de constante catalítica aproximadamente quatro vezes maior que o complexo **2b**. Em ambos os complexos, a amina terciária encontra-se protonada no pH de estudo. Interações de segunda esfera desse grupo catiônico e também com potencial de atuação através de ligação de hidrogênio com o substrato, pode auxiliar ao longo do caminho reacional, estabilizando estados de transição, intermediários de reação e auxiliando na liberação do grupo de saída, levando a um aumento da atividade catalítica do modelo. A partir do valor obtido, acredita-se que o complexo **1b**, por conter o grupo substituinte menos volumoso (naftil), consegue uma maior aproximação da amina protonada a primeira esfera do complexo, auxiliando na catálise e refletindo em um maior valor de k_{cat} quando comparado com o análogo **2b** que contém o substituinte pireno.

Tabela 14. Parâmetros cinéticos para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP promovida pelos complexos **1b** e **2b** em pH 7,5, à 25°C em meio CH₃CN/H₂O (1:1, v/v).

	k_{cat} (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	K_M (10 ⁻³ mol L ⁻¹)	k_{cat}/K_M (L mol ⁻¹ s ⁻¹)	k_{cat}/k_{nc}
1b	14,3	8,65	0,17	7520
2b	3,7	1,61	0,23	1950
Cmet ^a	15,5	5,29	0,29	8610
3 ^b	1,5	1,66	0,09	840
FeZnH₂LHex ^c	2,02	2,22	0,09	1050
FeZnLP1 ^d	3,1	1,20	0,25	1640
4 ^e	12,1	7,20	0,17	6370

^a WECKER, 2018; ^b PIOVEZAN, 2010; ^c HEYING, 2014; ^d CAMARGO, 2013; ^e CAMARGO; et al., 2015; k_{nc} 1,89x10⁻⁷ s⁻¹

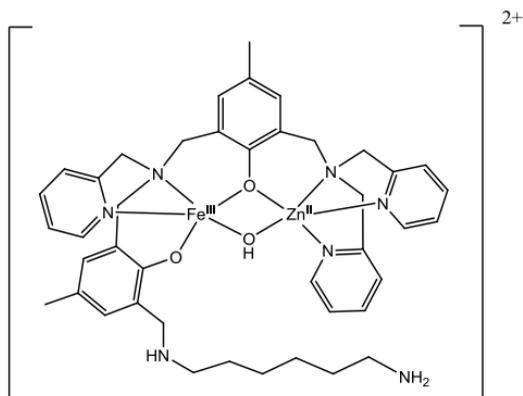
Os valores obtidos de K_M sugerem que a amina protonada não é determinante na associação do substrato assim como parece auxiliar no aumento da velocidade de reação. O complexo **2b** possui a melhor associação complexo-substrato, com um valor de K_M cinco vezes menor que o complexo **1b**. Esse resultado pode estar relacionado com a magnitude da interação π -stacking entre substrato e ligante (grupo naftil e pirenil), sendo mais intensa para o complexo **2b** através do substituinte pirenil.

É importante ressaltar que não foram encontrados modelos mononucleares de ferro(III) retratados na literatura em estudos de hidrólise de ésteres de fosfato. Portanto o comparativo se deu com complexos binucleares, sendo que os complexos mononucleares apresentaram eficiência catalítica similar a diversos modelos descritos na literatura (BERNHARDT; et al., 2015; COMBA; et al., 2012; KANTACHA; et al., 2011), inclusive o complexo **4** (Tabela 12), desenvolvido em nosso grupo de pesquisa (CAMARGO; et al., 2015).

Em destaque, na Tabela 14 são apresentados complexos com alguma similaridade com os complexos **1b** e **2b**. O complexo **C_{met}** (WECKER, 2018), complexo mononuclear de ferro(III) com ligante bastante similar aos complexos **1b** e **2b**, que possui apenas uma metila substituída na amina terciária na qual encontram-se os substituintes naftil e pirenil, apresenta uma constante catalítica mais alta que os complexos **1b** e **2b**, sendo mais um indicativo de que diminuindo o volume do grupo ligado a amina terciária protonada facilita a interação da mesma com o sistema complexo-substrato, conduzindo a um aumento da velocidade. O complexo **FeZnH₂LHex** (Figura 53) (HEYING, 2014) é um complexo binuclear de Fe^{III}Zn^{II} com ligante contendo uma cadeia lateral com amina terminal protonada no pH de atividade máxima do complexo. A baixa constante catalítica (k_{cat}) desse complexo em comparação ao análogo sem essa cadeia lateral (SOUZA, 2010), foi justificada como resultado de um fator organizacional do sistema devido a mobilidade da cadeia lateral (SOUZA, 2013), evidenciada por estudos de parâmetros de ativação do sistema que mostraram maior entropia de ativação em comparação ao sistema sem a cadeia lateral. Os ligantes desenvolvidos nesse trabalho tem menor grau de mobilidade (sistema majoritariamente aromático, contendo apenas alguns grupos metileno e grupos amina com capacidade de rotação) e interações (π -stacking entre

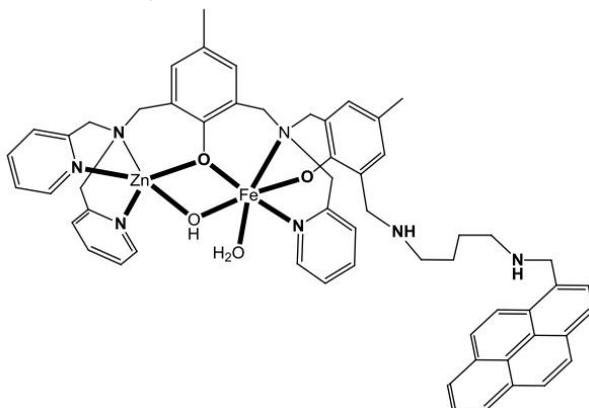
piridina não coordenada e substituinte poliaromático – como evidenciado na estrutura de raios X) que auxiliam numa organização mais rápida desse sistema após a formação do complexo catalisador-substrato.

Figura 53. Estrutura proposta para o complexo **FeZnH₂LHex** (HEYING, 2014).



Por fim, o complexo **FeZnLP1** é um complexo binuclear que possui um ligante com uma diamina como cadeia lateral, com um grupo pirenil ligado a amina terminal (Figura 54). A amina vizinha ao grupo pirenil também se encontra protonada em pH ótimo de atividade desse complexo e, assim como acontece para o complexo **2b**, a aproximação da amina protonada ao substrato também é dificultada devido ao volume do grupo poliaromático e há a contribuição do mesmo na associação do substrato através da interação π -stacking do grupo pirenil com o substrato.

Figura 54. Estrutura proposta para o complexo **FeZnLP1** (CAMARGO, 2013).



Os resultados obtidos são interessantes visto que sistemas mononucleares de ferro(III) apresentam potencial na atividade de hidrólise de ésteres de fosfato próximo ao de sistemas binucleares, permitindo o desenvolvimento de sistemas estruturalmente mais simples que apresentem as mesmas propriedades catalíticas.

Como pré-requisito para um catalisador, o mesmo deve se regenerar ao fim de cada ciclo catalítico, repetindo o processo. Para verificar se os complexos **1b** e **2b** possuíam essa característica, os mesmos foram submetidos a um estudo em que a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP foi acompanhada em pH 7,5 com um excesso de 50 vezes do substrato em relação ao complexo durante 24 horas a 25 °C. Nesse período, o complexo **1b** foi capaz de hidrolisar 10,5 equivalentes de substrato e o complexo **2b**, 5,7 equivalentes. Esses valores são superiores a muitos dos complexos binucleares Fe^{III}Zn^{II} relatados, que apresentam valores entre 2 e 4 (LANZMASTER, 2003; PERALTA, 2005; HEYING, 2014). O complexo binuclear de ferro(III) (**4**), estudado por Camargo e colaboradores (2015) apresentou número de turnover seis. Isso mostra que sistemas puramente de metal(III) são aparentemente menos suscetíveis a inibição pelo fosfato (monoéster ou inorgânico) formado na hidrólise do substrato.

4.4.4 Teste de reatividade dos complexos frente a hidrólise do monoéster 2,4-DNPP

Inicialmente, avaliou-se a capacidade dos complexos **1b** e **2b** de hidrolisar o monoéster gerado pela primeira hidrólise do 2,4-BDNPP. Para isso, os complexos foram submetidos a uma reação estequiométrica entre o complexo e o substrato 2,4-BDNPP. Após um período de 50 horas a 50 °C, observou-se que ambos os complexos foram capazes de gerar dois equivalentes do 2,4-dinitrofenolato, indicando que os complexos são capazes de hidrolisar também o monoéster gerado a partir da hidrólise do diéster.

Para confirmar esse resultado, a atividade na presença de substrato modelo, o monoéster 2,4-DNPP (2,4-dinitrofenilfosfato), também foi avaliada. A reação dos complexos com o substrato foi acompanhada por 7 horas em paralelo ao acompanhamento da auto-hidrólise do substrato, a fim de avaliar qualitativamente a capacidade dos mesmos de hidrolisar o monoéster. Nas Figuras 55 e 56, observa-se que a auto-hidrólise do substrato causa uma variação espectral na região de 400 nm (região em que o produto 2,4-DNP absorve a radiação) muito menor quando comparada a do monoéster na presença dos complexos **1b** e **2b**. Além disso, é possível observar que o complexo o complexo **1b** se mostrou mais ativo que o complexo **2b** na hidrólise do monoéster.

Figura 55. Espectros eletrônicos de acompanhamento da reação entre o complexo 1b e o substrato 2,4-DNPP em CH₃CN/H₂O (1:1, v/v), pH 7,5. [C] = 1,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; [2,4-DNPP] = 1,5 x 10⁻³ mol L⁻¹.

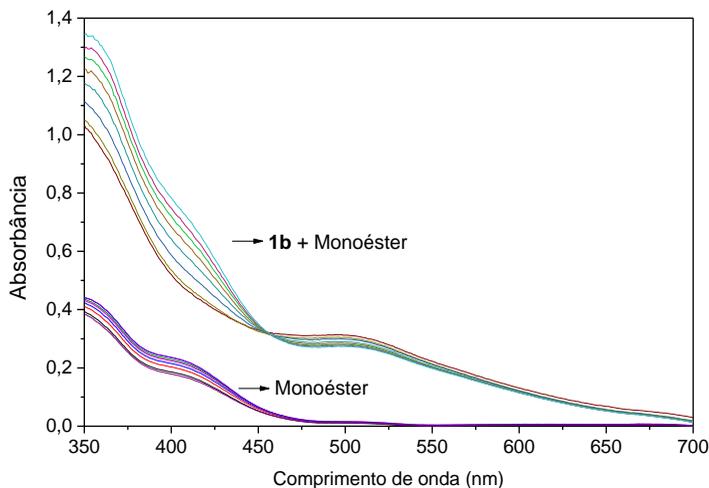
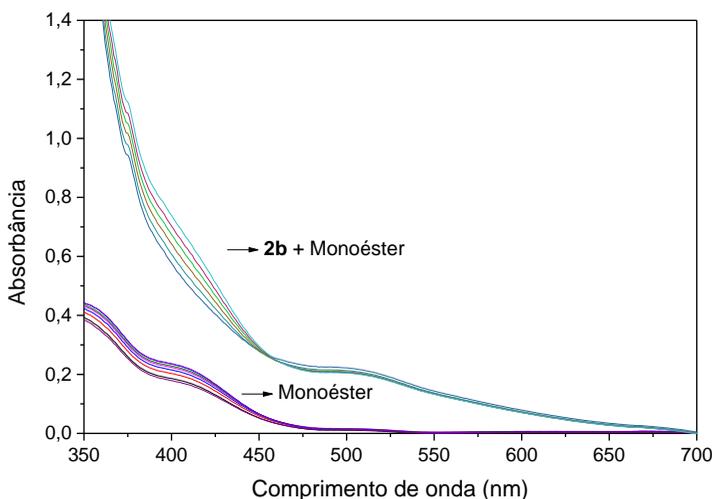


Figura 56. Espectros eletrônicos de acompanhamento da reação entre o complexo 2b e o substrato 2,4-DNPP em CH₃CN/H₂O (2:1, v/v), pH 7,5. [C] = 1,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; [2,4-DNPP] = 1,5 x 10⁻³ mol L⁻¹.



Estudos quantitativos para estabelecer parâmetros cinéticos (constante catalítica e K_M) para os complexos na hidrólise do 2,4-DNPP são perspectivas deste trabalho.

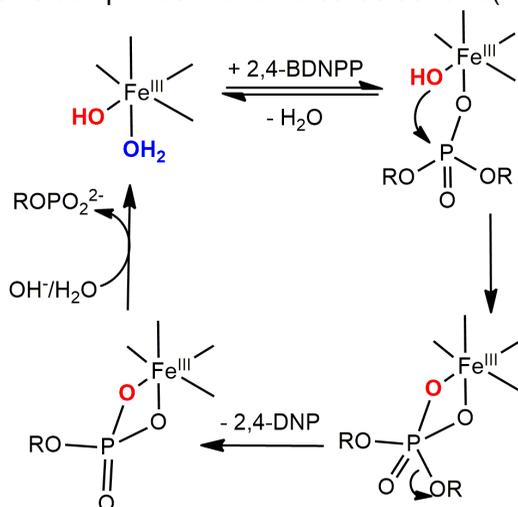
4.4.5 Proposta Mecanística

É importante avaliar o mecanismo pelo qual o processo catalítico ocorre, ainda mais quando proposto complexos diferentes dos já bem relatados na literatura. A partir do conjunto de informações obtidas ao longo deste trabalho, propostas de atuação dos complexos foram feitas.

O mecanismo de atuação da primeira esfera de coordenação de complexos heterobinucleares modelos para PAPs já é bem descrito (LANZMASTER, 2003; PERALTA, 2005; CAMARGO, 2013; SOUZA, 2013, SILVA; et al., 2017), assim como da própria enzima, apesar de mais de uma proposta ser aceita, principalmente quanto ao nucleófilo atuante (KLABUNDE, 1996; LINDQVIST, 1999). No caso de complexos mononucleares, acredita-se que o mecanismo não se distancie muito do proposto para sistemas binucleares, excetuando que o sítio lábil para coordenação do substrato e o nucleófilo estariam centrados no mesmo centro metálico (OLIVEIRA; et al, 2009; MUXEL, 2014).

É difícil assegurar o mecanismo pelo qual a reação ocorre. Entretanto, com todos os estudos de caracterização acrescidos da avaliação da influência do pH sobre a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP, sugere-se que a espécie ativa desse complexo é a espécie $[\text{Fe}(\text{HL})(\text{OH}_2)(\text{OH})]^{1+}$, que possui uma molécula de água lábil para troca pelo substrato e um grupo hidróxido atuando como nucleófilo (Esquema 7). Sabe-se que estruturalmente é muito difícil haver a coordenação da espécie de fósforo tetraédrica coordenada de forma bidentada ao centro de ferro(III), então a descoordenação de um dos oxigênios do substrato após o ataque do nucleófilo, não é descartada.

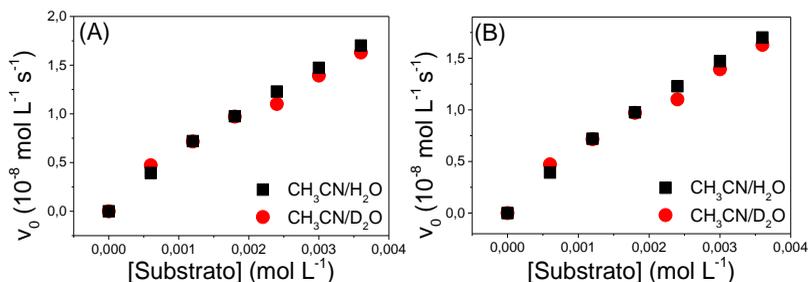
Esquema 7. Ataque nucleofílico interno ao substrato 2,4-BDNPP realizado pelos complexos mononucleares de ferro(III).



Experimento de efeito isotópico de deutério na velocidade de hidrólise do 2,4-BDNPP são utilizados para avaliar se o ataque nucleofílico ao fósforo do substrato ocorre com transferência de próton na etapa determinante da reação ou não. Realizaram-se estudos de efeito de substrato para os complexos **1b** e **2b** em meio CH₃CN/D₂O (1:1, v/v) no pH de atividade máxima dos mesmos (Figura 57). A razão k_H/k_D para o complexo **1b** foi de 1,25 e para o complexo **2b**, de 1,30, sugerindo que não existe transferência de próton na etapa determinante da velocidade de reação ($0,80 < k_H/k_D < 1,50$) (DEAL; HENGGE; BURSTYN, 1996). Esses resultados reforçam a atuação como nucleófilo do ligante hidroxilo coordenado ao centro de ferro(III) ao qual o substrato se coordena. Esse comportamento é diferente da maioria dos complexos desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa e de complexos mononucleares que, em alguns casos, mostram a formação de dímeros em solução que são responsáveis pela atividade catalítica dos mesmos (CAMARGO; et al., 2007; DEAL; BURSTYN; 1995). Nenhum evidência de formação de dímero foi observada para os complexos em estudo nesse trabalho, levando a um novo caminho dentro da pesquisa para desenvolvimento de nucleases sintéticas uma vez que estudos de complexos mononucleares de ferro(III)

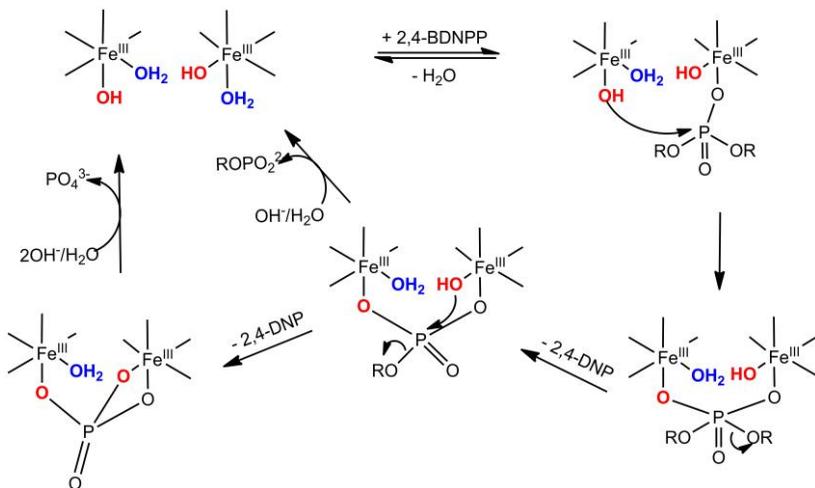
como hidrolase não foram encontrados na literatura. Estudos de efeito da concentração de complexo seria ideal para maiores afirmações acerca do mecanismo de atuação desses complexos, porém, devido a baixa solubilidade desses complexos em sistema $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ no pH de atividade máxima, esse estudo não foi viável. O desenvolvimento de sistemas mononucleares de ferro(III) com estrutura mais simples, sem efeitos de segunda esfera e com maior solubilidade é fundamental para compreender esse sistema.

Figura 57. Comparação da dependência da velocidade de reação do 2,4-BDNP com a concentração do substrato para os complexos (A) **1b** e (B) **2b** em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v) (■) e $\text{CH}_3\text{CN}/\text{D}_2\text{O}$ (1:1, v/v) (●). Condições: $[\text{Complexo}] = 4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Tampão}] = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (HEPES, pH = 7,5); $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (LiClO_4) à 25 °C.



Estudos com o monoéster 2,4-DNPP indicam que talvez ocorre um mecanismo cooperativo entre duas moléculas do complexo concomitantemente (Esquema 7) a reação com a espécie mononuclear, porém de forma minoritária, sendo a velocidade de reação regida pelo mecanismo da espécie mononuclear isolada. Esse mecanismo é proposto pois, se ocorresse apenas a atuação do complexo mononuclear isolado ao substrato, após a hidrólise do primeiro grupo 2,4-DNP, o substrato se encontraria coordenado de forma bidentada ao centro de ferro(III) e não haveria nucleófilo disponível para realizar novo ataque ao monoéster produzido.

Esquema 7. Proposta de mecanismo para os complexos mononucleares de ferro(III) baseado na hidrólise do 2,4-BDNPP e do 2,4-DNPP gerado em sua hidrólise.



Por meio desse mecanismo cooperativo, propõe-se que o substrato se coordene a uma unidade de complexo e que uma segunda unidade realize o ataque através de seu ligante hidróxido. O substrato estaria como ponte entre as duas unidades de complexo e após a saída do primeiro equivalente de 2,4-DNP, um ligante hidróxido ainda estaria disponível para realizar o ataque ao monoéster coordenado.

Maiores estudos com os substratos 2,4-BDNPP e 2,4-DNP são necessários para compreender melhor esse sistema e definir um mecanismo de atuação. Os mecanismos apresentados neste trabalho são bastante especulativos e baseadas mais em sistemas binucleares do que em evidências experimentais devido a complexidade dos sistemas, então não se descarta atuação bastante distinta das propostas.

4.4.6 Estudos de interação com DNA-CT

A espectroscopia eletrônica é um dos métodos mais eficazes para detectar a interação de moléculas pequenas com DNA (REHMAN; *et al.* 2015). A formação de um complexo DNA-fármaco acarreta em variações espectrais tanto do complexo quanto do DNA. A partir dessa técnica, é possível também obter constantes de ligação (K_B) entre compostos de coordenação com DNA (BARTON; DANISHEFSKY; GOLDBERG, 1984), que podem resultar em um hipocromismo, hiperromismo ou deslocamento batocrômico das bandas de transferência de carga e de transições internas de ligantes (SUNITA; *et al.*, 2017). Esse comportamento foi observado para ambos os complexos (Figura 58 a 61).

Foram realizados estudos de interação através das bandas de transferência de carga de maior energia e das bandas referentes a transições do ligante para os complexos **1b** e **2b**. Os valores de K_B encontrados mostram que há tanto interação via metal quanto via ligante, sendo que para o complexo **1b**, interações com o ligante se mostram mais fortes e para o **2b** são as interações com o metal que mostram maior força (Tabela 15). A interação do complexo **2b** via ligante se assemelha bastante ao complexo desenvolvido por Camargo (2013) contendo uma unidade de pireno (FeZnLP1), enquanto valores maiores de K_B foram observados para o complexo contendo duas unidades (FeZnLP2).

Tabela 15. Constantes de interação obtidas a partir das titulações com DNA-CT para os complexos **1b**, **2b**, FeZnLP1 e FeZnLP2.

	K_B ($10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ L}$)	K_B ($10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ L}$)
1b	5,0 (380 nm)	11,1 (265 nm)
2b	35,4 (380 nm)	3,5 (340 nm)
FeZnLP1^a	-	2,4 (340 nm)
FeZnLP2^a	-	12,1 (340 nm)

^aCAMARGO, 2013

Os experimentos de interação dos complexos com DNA mostraram em todos os casos, hipocromismo, sendo esse efeito maior para o complexo **1b** (Figuras 58 e 59). O hipocromismo é

indicativo de que a ligação do complexo ao DNA pode ser devido a efeito eletrostático ou intercalação que estabiliza a dupla fita de DNA (SHAHABADI; FALSAFI; MAGHSUDI, 2016), diferentemente do hipercromismo que é geralmente associado a danos à estrutura terciária do DNA com a desnaturação do mesmo e pode ser resultado de danos gerais inclusive a estrutura secundária do DNA (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). Além disso, o complexo **1b** apresentou também batocromismo, bastante evidente na Figura 59. Esse tipo de variação espectral (hipo e batocromismo simultaneamente) está associado a um modo de interação por intercalação que resulta em um acoplamento do orbital π^* do ligante intercalante com o orbital π dos pares de bases do DNA, diminuindo a energia de transição π - π^* (GAO; *et al.*, 2010). Para o complexo **2b** (Figura 60 e 61), nota-se o hipocromismo sem que ocorra o batocromismo com a adição de DNA, indicativo de que não há intercalação do DNA e que a interação deve ser dar através dos sulcos e que possa ocorrer uma inserção parcial de grupos aromáticos do ligante H_2Lpir nos pares de bases do DNA (DARABI, *et al.*, 2013).

Figura 58. Titulação do complexo **1b** via espectroscopia eletrônica a partir de adições sucessivas de CT-DNA. $[C] = 6,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:2, v/v).

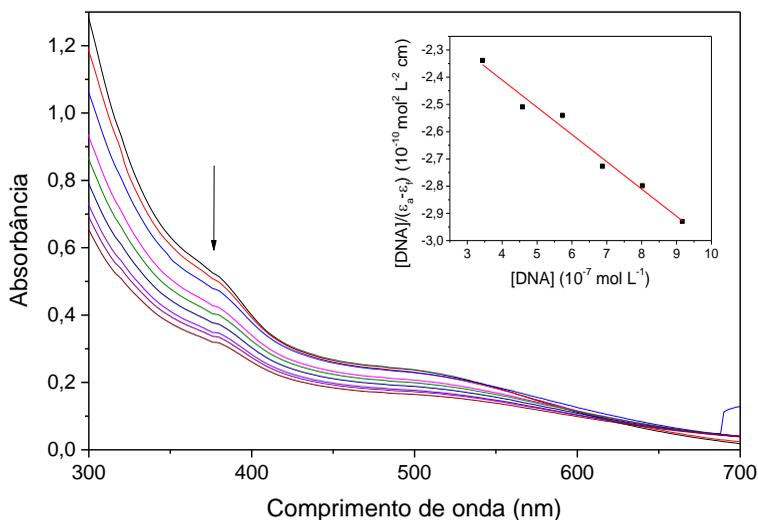


Figura 59. Titulação do complexo **1b** via espectroscopia eletrônica a partir de adições sucessivas de CT-DNA. $[C] = 2,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:2, v/v).

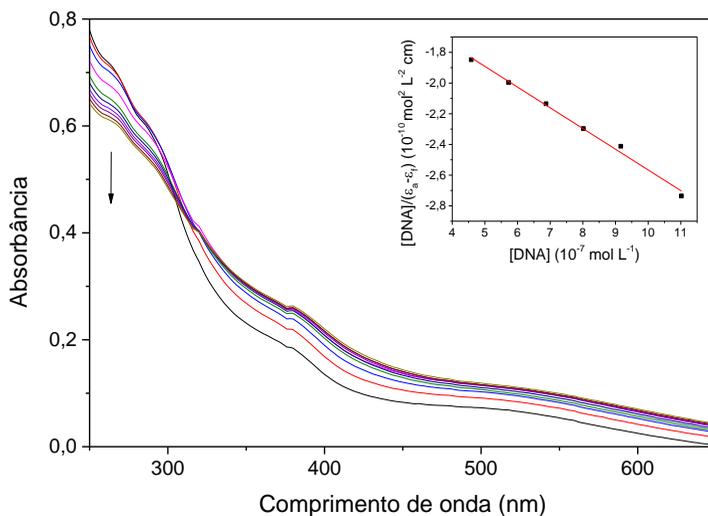


Figura 60. Titulação do complexo **2b** via espectroscopia eletrônica a partir de adições sucessivas de CT-DNA. $[C] = 7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v).

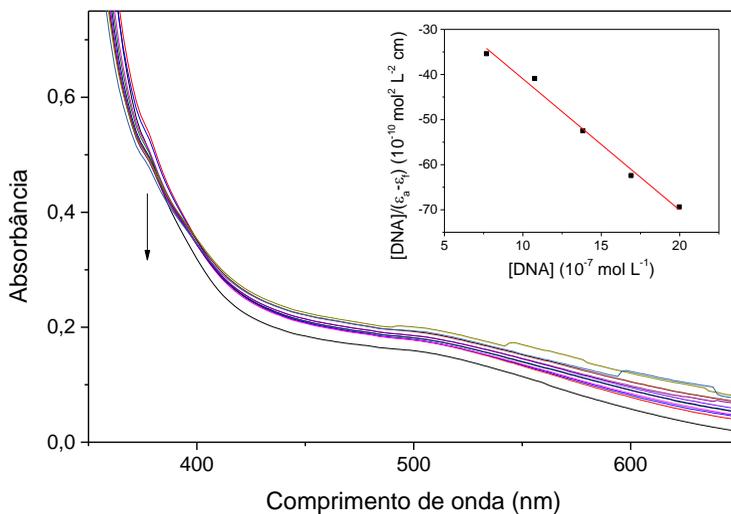
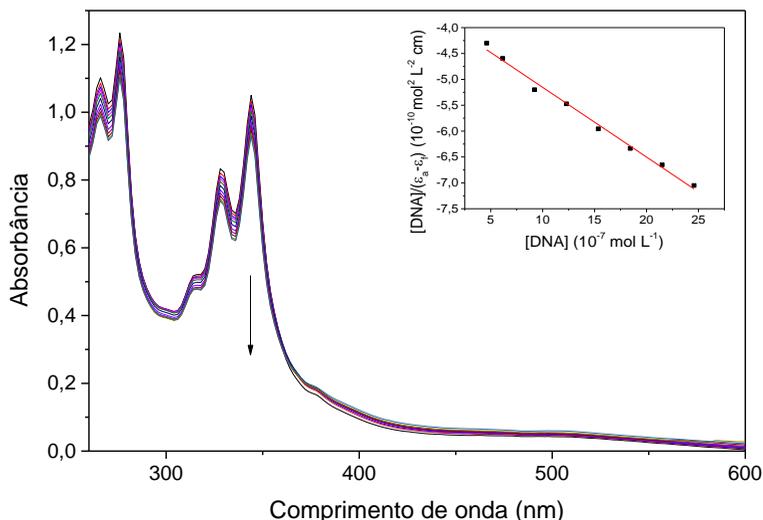


Figura 61. Titulação do complexo **2b** via espectroscopia eletrônica a partir de adições sucessivas de CT-DNA. $[C] = 3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v).



Estudos mais aprofundados de interação com DNA e clivagem do mesmo estão em andamento para compreender melhor a natureza da interação desses complexos com o mesmo. Embora o complexo atue na hidrólise de ésteres de fosfato, permanece o questionamento de seu mecanismo de atuação na clivagem de DNA, se através de mecanismo hidrolítico, ou oxidativo como outros complexos mononucleares de ferro(III) apresentados na literatura ROELFES; et al., 2000; SILVER; TROGLER, 1995.

5 CONCLUSÃO

Os ligantes H₂Lnaf e H₂Lpir foram obtidos com rendimento satisfatório e pureza adequada para dar sequência à síntese dos complexos binucleares **1a** e **2a**. Para os complexos **1a** e **2a**, as caracterizações estão em concordância com estruturas similares da literatura e, quando em meio aquoso, as caracterizações conduziram a concluir que os mesmos formam espécies mononucleares de ferro(III) na faixa de pH de maior atividade de hidrolase.

Dessa forma, foram sintetizados os complexos mononucleares de ferro(III) **1b** e **2b**. A partir de um monocristal do complexo **1b**, obteve-se a estrutura cristalina do composto, que mostra coordenação do ligante H₂Lnaf ao centro de ferro(III) através do lado duro tetradentado e a esfera octaédrica do metal é completada por duas moléculas de água *cis*-orientadas.

A partir dos resultados obtidos da titulação espectrofotométrica, determinaram-se os valores de pK_a e propuseram-se os equilíbrios estabelecidos pelos complexos que estão de acordo com o comportamento cinético dos mesmos com a variação de pH. Pelos estudos eletroquímicos foi possível observar as ondas referentes ao processo redox do centro de ferro dos complexos.

Como primeiros complexos de ferro(III) com atuação como hidrolase, estudos cinéticos frente à hidrólise do substrato 2,4-BDNPP foram realizados, revelando constantes catalíticas similares a modelos binucleares, com valores de $3,7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ para o complexo **2b** e $14,3 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ para o complexo **1b**. Os complexos **1b** e **2b** apresentaram ainda capacidade de atuação como monoesterase, hidrolisando o substrato modelo 2,4-DNPP. Estudos de interação dos complexos **1b** e **2b** com o DNA, nota-se a capacidade dos mesmos de interagir via metal quanto via ligante, com altas constantes de ligação, chegando a valores de K_B de $1,1 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ L}$ para o complexo **1b** e $3,5 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ L}$ para o complexo **2b**. A partir das variações espectrais observadas, tem-se o indicativo que não ocorre intercalação do complexo **2b** ao DNA e que essa interação deve ocorrer com inserção nos sulcos. Já para o complexo **1b**, o hipocromismo associado a batocromismo observados nas bandas do complexo quando na presença de DNA indicam interação por intercalação.

Mais estudos são necessários para compreender precisamente o mecanismo de atuação de complexos mononucleares de ferro(III) na hidrólise de ésteres de fosfato, sendo o estudo de sistemas mais simples uma prioridade como perspectiva para este trabalho.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. L. P.; KNOWLER, J. T.; LEADER, D. P., **The biochemistry of the nucleic acids**, University Press, Cambridge, 3^a Ed., p. 87-114, 1986.

ADHIKARY, J.; et al., Thiocyanate mediated structural diversity in phenol based “end-off” compartmental ligand complexes of group 12 metal ions: Studies on their photophysical properties and phosphatase like activity, **Spectrochim. Acta A**, v. 178, p. 114-124, 2017

AMENDOLA, V.; et al., A ditopic tetradentate pyridyl amine ligand containing an anthracene fragment: fluorescence intensity and ‘closed’ vs. ‘open’ species formation in the presence of Cu²⁺, as a function of pH, **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, p. 2053-2057, 1998.

APEX2, SAINT and SADABS. Version 2011.8-0; Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.

BARTON, J. K.; DANISHEFSKY, A. T.; GOLDBERG, J. M., Tris(phenanthroline)ruthenium(II): Stereoselectivity in Binding to DNA, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 106, p. 2172-2176, 1984.

BATISTA, S. C.; et al., Highly efficient phosphate diester hydrolysis and DNA interaction by a new unsymmetrical Fe^{III} Ni^{II} model complex, **Inorg. Chem. Commun.**, v. 6, p. 1161-1165, 2003.

BECK, W.; SÜNKEL, K., Metal Complexes of Weakly Coordinating Anions. Precursors of Strong Cationic Organometallic Lewis Acids, **Chem. Rev.**, v. 88, p. 1405-1421, 1988.

BERNHARDT, P. V.; et al., An Approach to More Accurate Model Systems for Purple Acid Phosphatases (PAPs), **Inorg. Chem.**, v. 54, p. 7249-7263, 2015.

BERTINI, I.; GRAY, H. B.; LIPPARD, S. J.; VALENTINE, J. S., **Bioinorganic Chemistry**. University Science Book. Mill Valley, 1^a Ed., 1994, 611 p.

BHATTACHARYA, P.; PROKOPCHUK, D. E.; MOCK, M. T., Exploring the role of pendant amines in transition metal complexes for the reduction of N₂ to hydrazine and ammonia, **Coord. Chem. Rev.**, v. 334, 67-83, 2017.

BINTEIN, S.; DEVILLERS, J., QSAR for organic Chemical sorption in soils and sediments, **Chemosphere**, v. 28, p. 1171-1188, 1994.

BOSEGGIA, E. et al., Toward Efficient Zn(II)-Based Artificial Nucleases, **J. Am. Chem. Soc.**, v.126, p. 4543-4549, 2004.

BOYTON, A. N.; MARCÉLIS, L., BARTON, J. K., [Ru(Me₄phen)₂dppz]²⁺, a Light Switch for DNA Mismatches, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 138, p. 5020-5023, 2016.

BUNTON, C. A.; FARBER, S. J., The hydrolysis of bis(2,4-dinitrophenyl)phosphate, **J. Org. Chem.**, v. 34, p. 767-772, 196.

CAMARGO, M. A.; et al., New Gadolinium Complex with Efficient Hydrolase-like Activity: A 100-Million-Fold Rate Enhancement in Diester Hydrolysis, **Inorg. Chem.**, v.47, p. 2919-2921, 2008.

CAMARGO, T. P., **Desenvolvimento de complexos heterobinucleares de Fe “Zn” a partir de ligantes contendo o grupo pireno para estudo de interação com ésteres de fosfato e ácidos nucleicos**. Tese de Doutorado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

CAMARGO, T. P.; et al., Synthesis, characterization, hydrolase and catecholase activity of a dinuclear iron (III) complex: Catalytic promiscuity, **J. Inorg. Biochem.**, v. 146, p. 77-88, 2015.

CAMARGO, T. P.; et al., Second-Sphere Effects in Dinuclear Fe^{III}Znⁿ Hydrolase Biomimetics: Tuning Binding and Reactivity Properties, **Inorg. Chem.**, v. 57, p. 187-203, 2018.

CHAGARFF, E.; et al., The Composition of the Desoxyribose Nucleic Acids of Thymus and Spleen, **J. Biol. Chem.**, v. 177, p. 405-416, 1949.

CHENG, N.; et al., Enhanced DNA Binding and Photocleavage Abilities of β -Cyclodextrin Appended Ru(II) Complex through Supramolecular Strategy, **Bioconjugate Chem.**, v. 29, p. 1829-1833, 2018.

COMBA, P.; et al., Spectroscopic Characterization of the Active Fe^{III}Fe^{III} and Fe^{III}Fe^{II} Forms of a Purple Acid Phosphatase Model System, **Inorg. Chem.**, v. 51, p. 12195-12209, 2012.

COOK, S. A.; HILL, A.; BOROVIK, A. S., Lessons from Nature: A Bio-Inspired Approach to Molecular Design, **Biochemistry**, v. 54, p. 4167-4180, 2015.

DAUMANN, L. J.; et al., Spectroscopic and mechanistic studies of dinuclear metallohydrolases and their biomimetic complexes, **Dalton Trans.**, v. 43, p. 910-928, 2014.

DEAL, K. A; BURSTYN, J. N., Mechanism Studies of Dichloro(1,4,7-triazacyclononane)copper(II)-Catalyzed Phosphate Diester Hydrolysis, **Inorg. Chem.**, v. 35, p. 2792-2798, 1996.

DEAL, K. A.; HENGGE, A. C.; BURSTYN, J. N., Characterization of Transition States in Dichloro(1,4,6-triazacyclononane)copper(II)-Catalyzed Activated Phosphate Diester Hydrolysis, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 118, p. 1713-1718, 1996.

DESBOUIS, D.; et al., Copper(II), zinc(II) and nickel(II) complexes as nucleases mimetics. **Coord. Chem. Rev.**, v. 256, p. 897-937, 2012.

FARRUGIA, L. J., ORTEP3 for Windows, **J. Appl. Cryst.**, v. 30, p. 565, 1997.

FENG, G.; et al., A Highly Reactive Mononuclear Zn(II) Complex for Phosphodiester Cleavage, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 127, p. 13470-13471, 2005.

GABER, B. P.; et al., Resonance Raman scattering from iron(III)- and copper(II)-transferrin and an iron(III) model compound. Spectroscopic interpretation of the transferrin binding site, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 96, p. 6868-6873, 1974.

GEARY, W.J., Characterization of coordination compounds, **Coord. Chem. Rev.**, v.7, p. 81-122, 1971.

GONZÁLEZ-ALVAREZ, M.; et al., Copper-mediated DNA photocleavage by tetrapyridoacridine (tpac) ligand, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p. 3286-3290, 2008.

HÄFLIGER, P.; et al., Induction of DNA-Double-Strand Breaks by Auger Electrons from ^{99m}Tc Complexes with DNA-Binding Ligands, **ChemBioChem.**, v.6, p. 414-421, 2005.

HEYING, R. S. **Síntese, Caracterização e Atividade Diesterase de Novos Modelos Biomiméticos com Efeitos de Segunda Esfera de Coordenação para Fosfatases Ácidas Púrpuras.** Dissertação de Mestrado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, **2014**.

HERRADOR, M. A.; GONZÁLEZ, G., Potentiometric titrations in acetonitrile—water mixtures: evaluation of aqueous ionisation constant of ketoprofen, **Talanta**, v.56, p. 769-775, 2002.

HORN, Jr., A.; et al., Synthesis, Magnetic Properties, and Catalytic Properties, and Catalytic Properties of a Nickel(II)-Dependent Biomimetic of Metallohydrolases, **Frontiers in Chemistry**, v. 6, p. 1-14 (Artigo 441), 2018.

HORN Jr., A.; VENCATO, I.; et al., Synthesis, crystal structure and properties of dinuclear iron(III) complexes containing terminally coordinated phenolate/H₂O/OH⁻ groups as models for

purple acid phosphatases: efficient hydrolytic DNA cleavage, **Inorg. Chim. Acta**, v. 358, p. 339-351, 2010.

JARENMARK, M.; et al., Synthesis, Characterization, and Reactivity Studies of Heterodinuclear Complexes Modeling Active Sites in Purple Acid Phosphatases, **Inorg. Chem.**, v. 50, p. 3866-3887, 2011.

JIANG, Z.; et al., Study on Intercalations between Doubled-Stranded DNA and Pyrene by Single-Molecule Force Spectroscopy: Toward the Detection of Mismatch in DNA, **Langmuir**, v. 26, p. 13773-13777, 2010.

SOUZA, R. J. **Síntese, caracterização e avaliação da promiscuidade catalítica de complexos binucleares bioinspirados**. Tese de Doutorado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B.; KLEIN, A., Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry Life. John Wiley & Sons, New York, 2^a Ed., 2013, 426 p.

KANTACHA, A.; et al. Phosphate ester cleavage promoted by a tetrameric iron(III) complex, **J. Biol. Inorg. Chem.**, v. 16, p. 25-32, 2011.

KEITH-ROACH, M. J., A review of recent trends in electrospray ionisation-mass spectrometry for the analysis of metal-organic ligand complexes, **Anal. Chim. Acta**, v. 678, p. 140-148, 2010.

KLABUNDE, T.; et al., Mechanism of Fe(III)-Zn(II) Purple Acid Phosphatase Based on Crystal Structure, **J. Mol. Biol.**, v. 259, p. 737-748, 1996.

KLABUNDE, T.; KREBS, B., The Dimetal Center in Purple Acid Phosphatases, **Struct. and Bond.**, v. 89, p. 177-198, 1997.

LAIB, S.; et al., DNA-intercalation on pyrene modified surface coatings, **Chem. Commun.**, p. 5566-5568, 2005.

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

LI, Q.; et al., Mononuclear Fe(II)-N4Py complexes in oxidative DNA cleavage: structure, activity and mechanism, **Dalton Trans.**, v. 39, p. 8012-8021, 2010.

LINDQVIST, Y.; et al., Three-dimensional Structure of a Mammalian Purple Acid Phosphatase as 2.2 Å Resolution with a μ -(Hydr)oxo Bridged Di-iron Center, **J. Mol. Biol.**, v. 291, p. 135-147, 1999.

LINDSTRÖM, B.; PETTERSON, L. J., A Brief History of Catalysis, **CATTECH**, v. 7, p. 130-138, 2003.

MACBETH, B.; et al., O₂ Activation by Non-heme Iron Complexes: A Monomeric Fe(III)-Oxo Complex Derived from O₂, **Science**, v.289, p. 938-941, 2000.

MAINWARING, W. I. P.; et al., **Nucleic Acid Biochemistry and Molecular Biology**, Editora Oxford: Blackwell Scientific, 1982. 557 p.

MANCIN, F.; SRIMIN, P.; TECILLA, P., Progress in artificial metallonucleases, **Chem. Commun.**, v. 48, p. 5545-5559, 2012.

MANN, S. I.; et al., Coordination chemistry within a protein host: regulation of the secondary coordination sphere, **Chem. Commun.**, v. 54, p. 4413-4416, 2018.

MITIĆ, N.; et al., The Catalytic Mechanisms of Binuclear Metallohydrolases, **Chem. Rev.**, v. 106, p. 3338-3363, 2006.

MUXEL, A. A.; et al., New La(III) Complex Immobilized on 3-Aminopropyl-Functionalized Silica as an Efficient and Reusable Catalyst for Hydrolysis of Phosphate Ester Bond, **Inorg. Chem.**, v. 53, p. 2943-2952, 2014.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and coordination compounds**. Wiley-Interscience, New York, 3^a Ed. p.317, 1977.

NELSON, D. L.; COX, M. M., **Princípios de Bioquímica de Lehninger**, W. H. Freeman, New York, 5^a Ed., p. 134-192, 2004.

NEVES, A., M.; et al., An Unprecedented Fe^{III}(μ -OH)Zn^{II} Complex that Mimics the Structural and Functional Properties of Purple Acid Phosphatases., **J. Am. Chem. Soc.**, v. 129, p. 7486-7487, 2007.

NICHOLS, E. M.; et al., Positional effects of second-sphere amide pendants on electrochemical CO₂ reduction catalyzed by iron porphyrins, **Chem. Sci.**, v. 9, p. 20952-2960, 2018.

NISHINO, T.; MORIKAWA, K., Structure and function of nucleases in DNA repair: shape, grip and blade of the DNA scissors, **Nature**, v. 21, p. 9022-9032, 2002.

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

PAGES, B. J.; et al., Metal complex interactions with DNA, **Dalton Trans.**, v. 44, p. 3205-3526, 2015.

PATHAK, C.; et al., Modeling the Active Site of the Purple Acid Phosphatase Enzyme with Hetero-Dinuclear Mixed Valence M(II)-Fe(III) [M = Zn, Ni, Co, and Cu] Complexes Supported over a [N₆O] Unsymmetrical Ligand, **ACS Omega**, v. 2, p. 4737-4750, 2017.

PATHAK, C.; et al., Heterodinuclear Zn(II)-Fe(III) and Homodinuclear M(II)-M(II) [M = Zn and Ni] complexes of a Bicompartamental [N₆O] ligand as synthetic mimics of the hydrolase family of enzymes, **J. Inorg. Biochem.**, v. 185, p. 30-42, 2018.

PATHAK, C.; GANGWAR, M. K.; GHOSH, P., Homodinuclear [Fe(III)-Fe(III)] and [Zn(II)-Zn(II)] complexes of a binucleating [N₄O₃] symmetrical ligand with purple acid phosphatase(PAP) and zinc phosphoesterase like activity, **Polyhedron**, v. 145, p. 88-100, 2018.

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, **Inorg. Chem.**, v. 49, p. 11421-11438, 2010.

PIOVEZAN, C., **Novos Complexos Binucleares Homo e Heterobimetálicos Homogêneo e Heterogêneo como Modelos Miméticos para as Hidrolases**. Tese de Doutorado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

PIOVEZAN, C.; et al., Heterodinuclear Fe^{III}Zn^{II}-Bioinspired Complex Supported on 3-Aminopropyl Silica. Efficient Hydrolysis of Phosphate Diester Bonds, **Inorg. Chem.**, v. 49, p. 2580-2582, 2010.

RAMMO, J.; et al., Catalysis of DNA cleavage by lanthanide complexes with nucleophilic or intercalating ligands and their kinetic characterization, **Chem. Commun.**, p. 105-107, 1996.

RAWJI, G.; MILBURN, R. M., 2,4-Dinitrophenyl Dihydrogen Phosphate: A New Synthesis of Its Mono-2,6-lutidinium Salt, **J. Org. Chem.**, v.46, p. 1205-1206, 1981.

REBILLY, J.-N.; et al., Biomimetic cavity-based metal complexes, **Chem. Soc. Rev.**, v. 44, p. 467-489, 2015.

REHA, D.; et al., Intercalators. 1. Nature of Stacking Interactions between Intercalators (Ethidium, Daunomycin, Ellipticine, and 4',6-Diaminide-2-phenylidole) and DNA Base Pairs. *Ab Initio* Quantum Chemical, Density Functional Theory, and Empirical Potential Study, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 124, 3366-3376, 2002.

REHDER, D., **Introduction to Bioinorganic Chemistry**. University of Lund. Lecture Notes, 2008.

RICHARDS, A. D.; RODGER, A., Synthetic metallomolecules as agents for the control of DNA structure, **Chem. Soc. Rev.**, v. 36, p. 471-483, 2007.

ROCK, P. A., The Standard Oxidation Potential of the Ferrocyanide Electrode at 25° and the Entropy of Ferrocyanide Ion, **J. Phys. Chem**, v. 70, p. 576-580, 1966.

ROELFES, G.; et al., Efficient DNA Cleavage with an Iron Complex without Added Reductant, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 122, p. 11517-11518, 2000.

SHAHABADI; FALSAFI; MAGHSUDI, 2016; REHMAN; *et al.* 2015; SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013; GAO; *et al.*, 2010; DARABI, *et al.*, 2013

SCHAUMLÖFFEL, D.; et al., Speciation of nickel in the latex of a hyperaccumulating tree *Sebertia acuminata* by HPLC and CZE with ICP MS and electrospray MS-MS detection, **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 18, p. 120-127, 2003.

SHELDRIK, G. M., Crystal structure refinement with SHELXL, **Acta Cryst.**, v. C71, p. 3-8, 2015.

SCHENK, G.; et al., Identification of mammalian-like purple acid phosphatases in a wide range of plants. **Gene**, v. 250, p. 117-225, 2000.

SCHENK, G.; et al., Purple acid phosphatase: A journey into the function and mechanism of colorful enzyme, **Coord. Chem. Rev.**, v. 257, p. 473-482, 2013.

SHAO, D.; et al., Synthesis, Crystal Structure, DNA Binding, Cleavage and Docking Studies of a Novel Dinuclear Schiff Base Copper(II) Complex, **Z. Anorg. Allg. Chem.**, v. 641, p. 454-459, 2015.

SHOOK, R. L.; BOROVNIK, A. S., The effects of hydrogen bonds on metal-mediated O₂ activation and related processes, **Chem. Commun.**, p. 6095-6107, 2008.

SIEGEL, A.; et al., **Metal Ions in Life Science Vol 18. – Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents**, Walter de Gruyter, GmbH, Berlin/Boston, 1^a Ed., 2018, 589p.

SILVA, G. A. S., **Estudo da influência do tamanho do anel quelato e da segunda esfera de coordenação na hidrólise do fosfato de bis(2,4-dinitrofenila) e ácido desoxirribonucleico catalisada por compostos de Fe^{III}Zn^{II}**, Tese de Doutorado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2017.

SILVA, G. A. S.; et al., Synthesis and characterization of Fe^{III}(μ-OH)Zn^{II} complexes: effects of a second coordination sphere and increase in the chelate ring size on the hydrolysis of a phosphate diester and DNA, **Dalton Trans.**, v. 46, p. 11380-11394, 2017.

SILVER, G. C.; TROGLER, W. C., Efficient Cleavage of DNA by Iron(III) Triazacyclononane Derivatives, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 117, p. 3983-3993, 1995.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C., **Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos**, Editora LTC, Traduzido por ALENCASTRO, R. B., WIRCKER, L., GIL, R. A. S., 5^a ed, 1994. 387 p.

SIMMONS, T. R.; et al., Mimicking hydrogenases: From biomimetics to artificial enzymes, **Coord. Chem. Rev.**, v. 270-271, p. 127-150, 2014.

SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADASHAH, A., Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **J. Photochem. Photobio. B**, v. 124, p. 1-19, 2013.

SMITH, S. J.; et al., Spectroscopic and Catalytic Characterization of a Functional Fe^{III}Fe^{II} Biomimetic for the Active Site of Uteroferrin and Protein Cleavage, **Inorg. Chem.**, v. 51, p. 2065-2078, 2012.

SPAN, E. A.; et al., The Role of the Secondary Coordination Sphere in a Fungal Polysaccharide Monooxygenase, **ACS Chem. Biol.**, v. 12, p. 1095-1103, 2017.

SOUZA, B.; et al., Second-Coordination-Sphere Effects Increase the Catalytic Efficiency of an Extended Model for Fe^{III}Mn^{II} Purple Acid Phosphatases. **Inorg. Chem.**, v.52, p. 3594-3596, 2013.

SOUZA, R. J., **Síntese e Caracterização de Novos Complexos Modelos para o Sítio Ativo das Fosfatases Ácidas Púrpuras**. Dissertação de Mestrado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

STRÄTER, N.; et al., Crystal Structure of a Purple Acid Phosphatase Containing a Dinuclear Fe(III)-Zn(II) Active Site, **Science**, v. 268, p. 1489-1492, 1995.

SUNITA, M.; Anupama, B. USHAIAH, B.; KUMARI, C. G., Synthesis, characterization, DNA binding and cleavage studies of mixed-ligand copper (II) complexes, **Arabian J. Chem.**, v. 10, p. S3367-S3374, 2017.

THAN, R.; FELDMANN, A. A., et al, Structural and functional studies on model compounds of purple acid phosphatases and catechol oxidases, **Coord. Chem. Rev.**, v. 182, p. 211-241, 1999.

THOER, A.; et al., The Reimer-Tiemann reaction in slightly hydrated solid-liquid medium: a new method for the synthesis of formyl and diformyl phenols, **Synth. Commun.**, v. 18, p. 2095-2101, 1988.

UPPENBERG, J.; et al., Crystal Structure of a Mammalian Purple Acid Phosphatase, **J. Mol. Biol.**, v. 290, p. 201-211, 1999.

UZUMCU, A. T.; GUNEY, O.; OKAY, O., Monitoring the Instant Creation of a New Fluorescent Signal for Evaluation of DNA Conformation Based on Intercalation Complex, **J. Fluoresc.**, v. 28, p. 1325-1332, 2018.

YU, Z.; COWAN, J. A., Metal complexes promoting catalytic cleavage of nucleic acids – biochemical tools and therapeutics, **Curr. Opin. Chem. Biol.**, v. 43, p. 37-42, 2018.

YU, Z.; HAN, M.; COWAN, J. A., Toward the Design of a Catalytic Metallodrug: Selective Cleavage of Quadruplex Telomeric DNA by an Anticancer Copper-Acridine-ATCUN Complex, **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 54, p. 1901-1905, 2015.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. C., Molecular Structure of Nucleic Acids, **Nature**, v. 171, p. 737-738, 1953.

WECKER, G. S., **Síntese, Caracterização e Atividade de Hidrolase de Complexo Mononuclear de Ferro(III) com Ligante NO-Doador**. Trabalho de Conclusão de Curso de Bacharelado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2018.

XAVIER, F. R.; NEVES, A., Synthesis, physicochemical properties and *in vitro* catalytic activity of a dinuclear nickel(II) complex with a N₅O-hexadentate ligand: A functional model for phosphohydrolase, **Polyhedron**, v. 109, p. 59-66, 2016.

ZHAO, M.; et al., Insights into metalloenzyme microenvironments: biomimetic metal complexes with a functional second coordination sphere, **Chem. Soc. Rev.** v. 42, p. 8360-8375, 2013.

ZORODDU, M. A.; *et al.*, The essential metals for humans: a brief overview, **J. Inorg. Biochem.**, v. 195, p. 120-129, 2019.

APÊNDICE A – ESPECTROS DE ^1H NMR e IR DAS ETAPAS DE SÍNTESE DOS LIGANTES H_2Lnaf E H_2Lpir

Figura 62. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do CMFF.

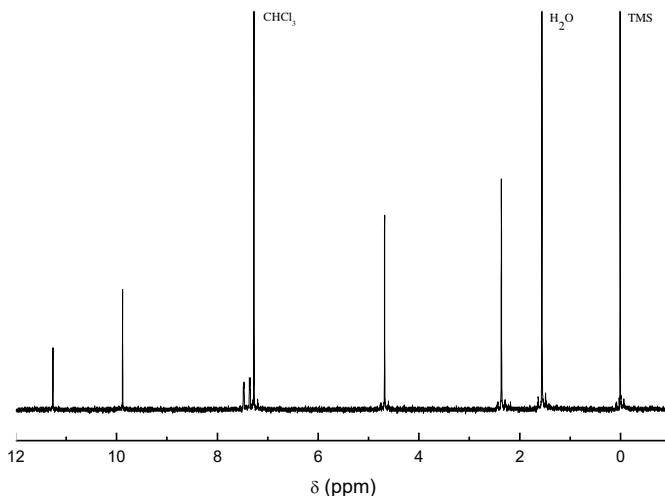


Figura 63. Espectro de IR em KBr do CMFF.

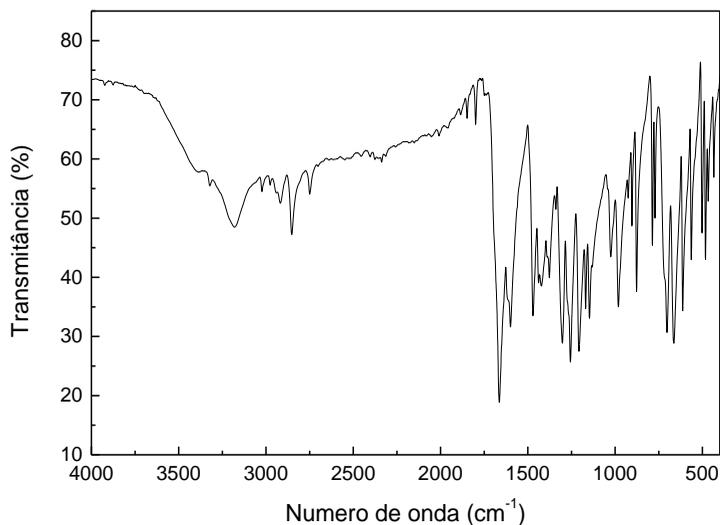


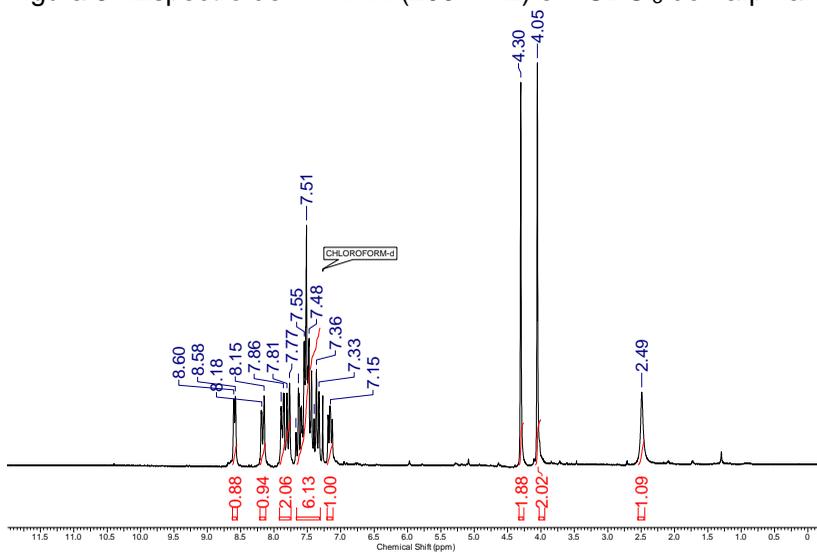
Figura 64. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do nafpma.

Figura 65. Espectro de IR (ATR) do nafpma.

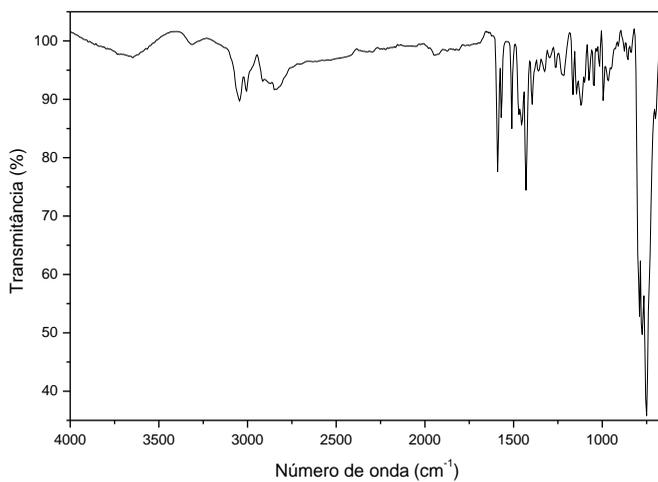


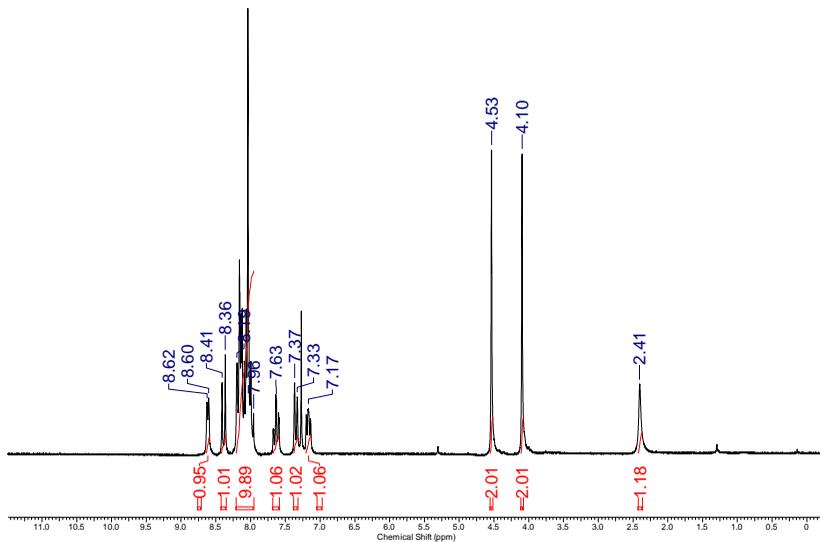
Figura 66. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do pirpma.

Figura 67. Espectro de IR (ATR) do pirpma.

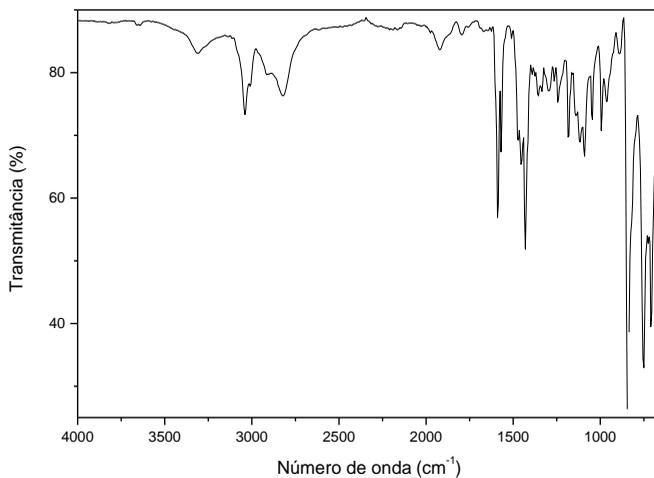


Figura 68. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do nafpmamff.

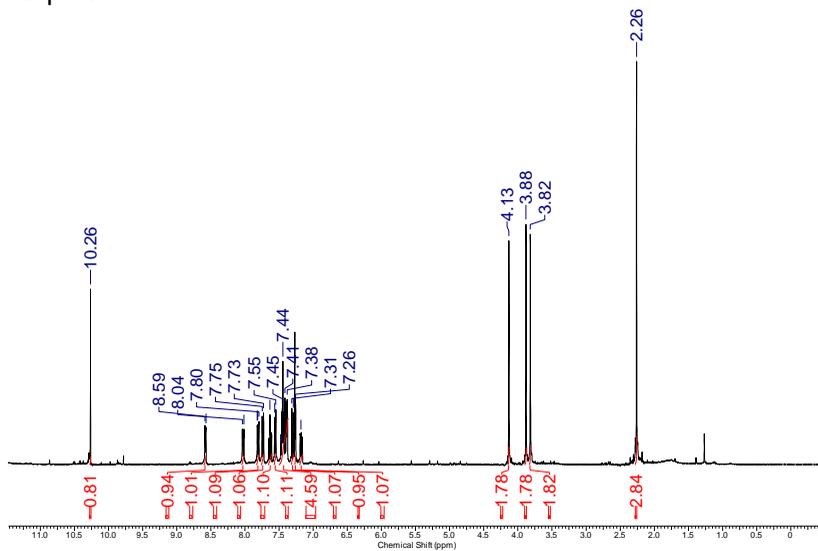


Figura 69. Espectro de IR (ATR) do nafpmamff.

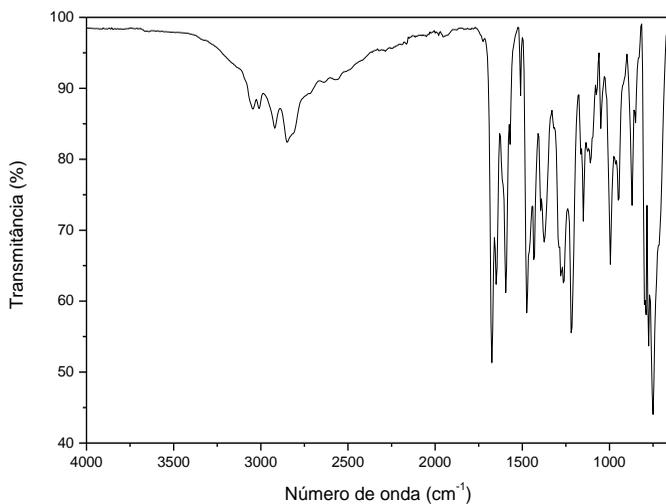


Figura 70. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do pirpmamff.

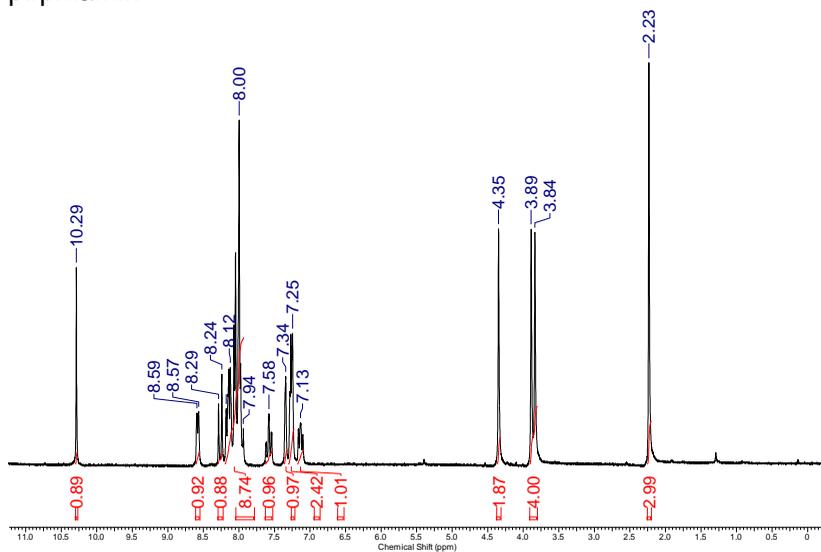


Figura 71. Espectro de IR (ATR) do pirpmamff.

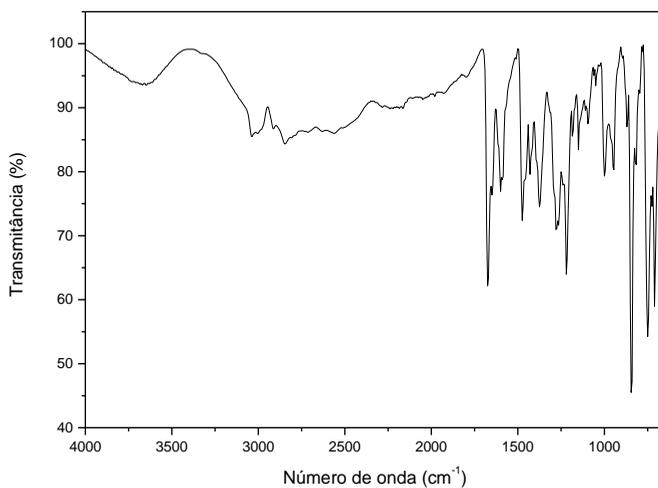


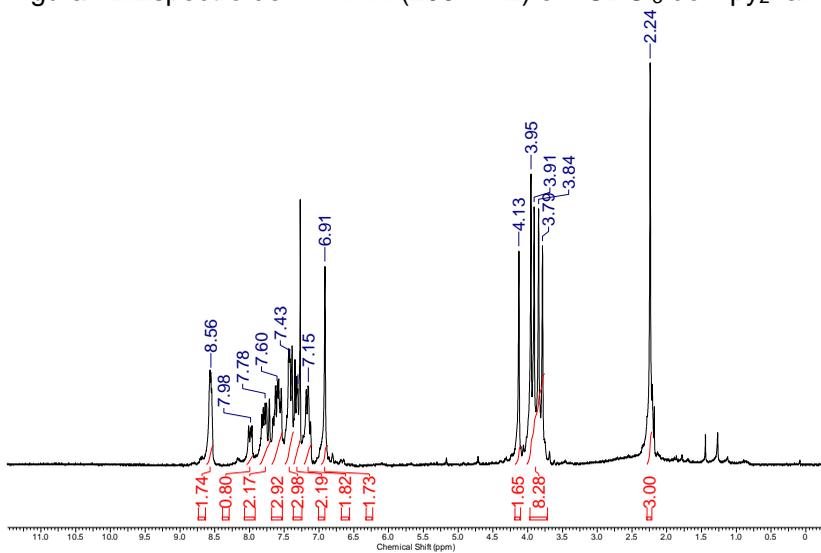
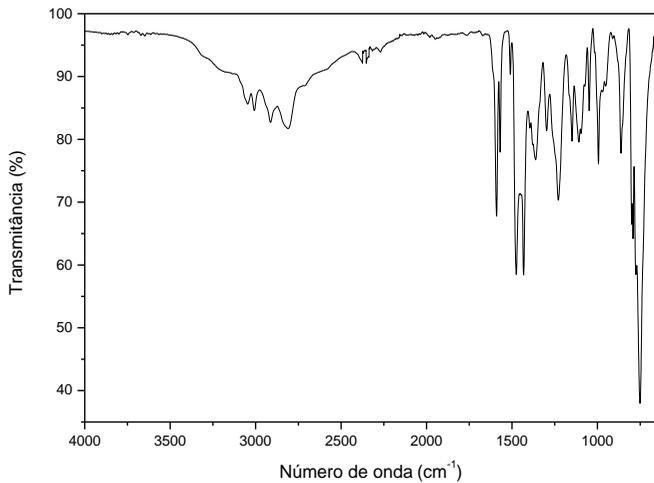
Figura 72. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do Hpy₂naf.Figura 73. Espectro de IR (ATR) do Hpy₂naf.

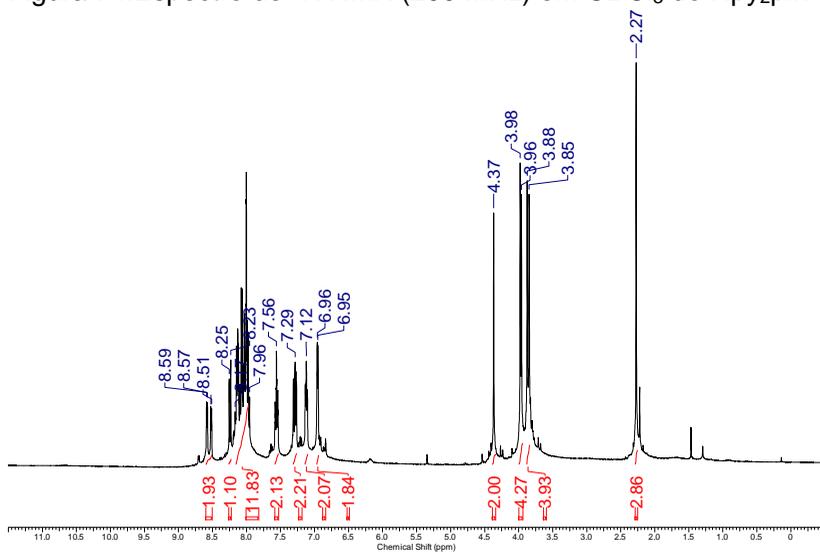
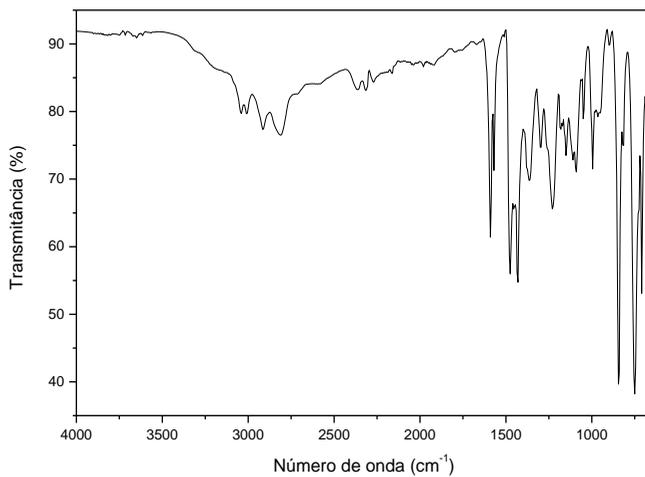
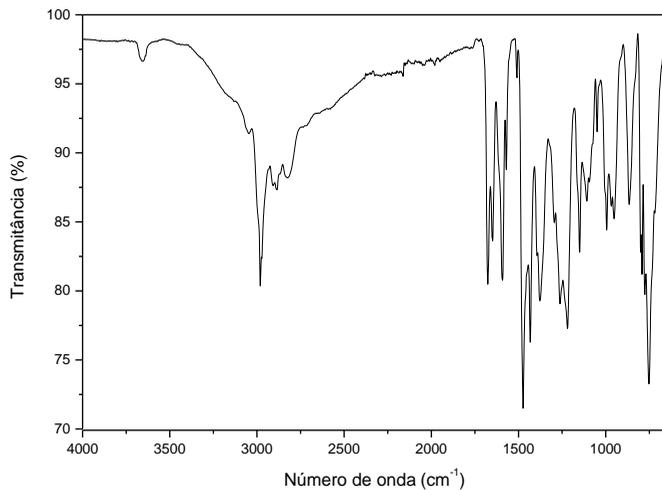
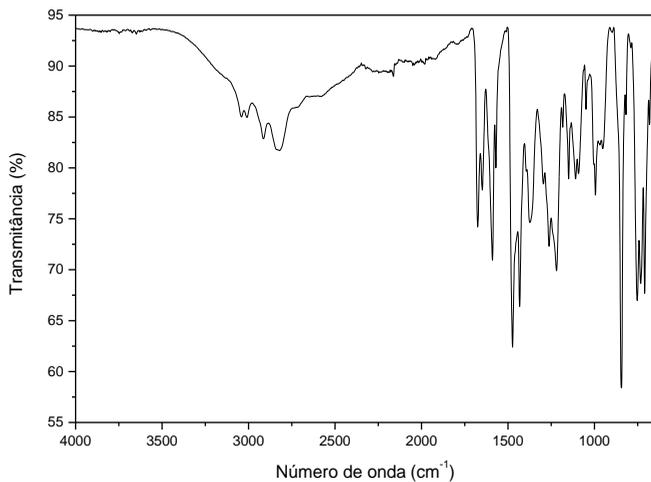
Figura 74. Espectro de ^1H NMR (200 MHz) em CDCl_3 do Hpy₂pir.Figura 75. Espectro de IR (ATR) do Hpy₂pir.

Figura 76. Espectro de IR (ATR) do H₂Lnaf.Figura 77. Espectro de IR (ATR) do H₂Lpir.

APÊNDICE B – DADOS CRISTALOGRAFICOS

Tabela 16. Dados do cristal e de refinamento da estrutura para o complexo **1b**.

Fórmula empírica	C ₄₁ H ₄₂ BF ₄ FeN ₄ O ₅	
Massa molecular	813,44	
Temperatura	200(2) K	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema cristalino	Triclínico	
Grupo espacial	P -1	
Dimensões célula unitária	a = 11,2818(9) Å b = 11,4730(9) Å c = 18,5084(14) Å	$\alpha = 92,329(2)^\circ$. $\beta = 106,608(2)^\circ$. $\gamma = 102,152(2)^\circ$.
Volume	2231,2(3) Å ³	
Z	2	
Densidade (calculada)	1,211 Mg/m ³	
Coefficiente de absorção	0,398 mm ⁻¹	
$F(000)$	846	
Tamanho cristal	0,360 x 0,160 x 0,060 mm ³	
Faixa de Theta para coleta de dados	1,826 to 24,999°.	
Faixa de índices	-13 ≤ h ≤ 13, -13 ≤ k ≤ 13, -21 ≤ l ≤ 21	
Reflexões coletadas	21217	
Reflexões independentes	7841 [R(int) = 0.0342]	
Completeness de theta = 24,999°	99,9 %	
Correção da absorção	Semi-empírica das equivalentes	
Max. e min. transmissão	0,7453 and 0,6806	
Método de refinamento	Matriz completa mínimos-quadrados em F ²	
Dados / <u>restrições</u> / <u>parâmetros</u>	7841 / 21 / 478	
Goodness-of-fit on F ²	1,026	
Índices finais R [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0798, wR2 = 0,2196	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,1291, wR2 = 0,2582	
Coefficiente de extinção	n/a	
Maior dif. pico e vazio	1,180 and -0,744 e.Å ⁻³	

Tabela 17. Distância [Å] e ângulos [°] de ligação para o complexo **1b**.

Fe1-O20	1,896(4)	O2W-Fe1-N32	96,1(2)
Fe1-O10	1,961(3)	O1W-Fe1-N32	83,44(17)
Fe1-O2W	2,037(4)	O20-Fe1-N1	89,36(16)
Fe1-O1W	2,046(4)	O10-Fe1-N1	90,21(15)
Fe1-N32	2,164(5)	O2W-Fe1-N1	172,68(16)
Fe1-N1	2,180(5)	O1W-Fe1-N1	92,94(16)
		N32-Fe1-N1	77,6(2)
O20-Fe1-O10	103,03(15)	C11-O10-Fe1	123,7(3)
O20-Fe1-O2W	97,34(17)	C22-O20-Fe1	134,5(3)
O10-Fe1-O2W	85,43(15)	C2-N1-Fe1	110,4(3)
O20-Fe1-O1W	88,76(16)	C20-N1-Fe1	110,0(3)
O10-Fe1-O1W	167,84(15)	C30-N1-Fe1	109,8(4)
O2W-Fe1-O1W	90,16(17)	C31-N32-Fe1	116,7(4)
O20-Fe1-N32	164,4(2)	C33-N32-Fe1	123,3(5)
O10-Fe1-N32	85,76(16)		
O10-C11	1,350(6)	C24-C25	1,378(8)
O20-C22	1,346(6)	C25-C26	1,388(8)
N1-C30	1,497(6)	C25-C28	1,502(9)
N1-C2	1,503(6)	C27-O21	1,248(7)
N1-C20	1,504(6)	C30-C31	1,491(9)
C2-C12	1,504(7)	C31-N32	1,308(8)
C3-C13	1,487(8)	C31-C36	1,406(8)
C3-N4	1,525(6)	N32-C33	1,348(9)
N4-C40	1,512(7)	C33-C34	1,379(10)
N4-C50	1,525(6)	C34-C35	1,355(13)
C11-C12	1,399(7)	C35-C36	1,390(12)
C11-C13	1,413(7)	C40-C41	1,502(8)
C12-C16	1,392(7)	C41-N42	1,348(8)
C13-C14	1,380(7)	C41-C46	1,377(9)
C14-C15	1,385(8)	N42-C43	1,334(8)
C15-C16	1,390(7)	C43-C44	1,373(11)
C15-C17	1,512(7)	C44-C45	1,384(11)
C20-C21	1,497(7)	C45-C46	1,388(10)
C21-C26	1,388(8)	C50-C51	1,501(7)
C21-C22	1,403(8)	C51-C52	1,369(8)
C22-C23	1,414(7)	C51-C56	1,424(7)
C23-C24	1,396(8)	C52-C53	1,410(8)
C23-C27	1,455(8)	C53-C54	1,340(8)

C54-C55	1,412(8)	C22-C23-C27	119,7(5)
C55-C60	1,413(8)	C25-C24-C23	122,4(5)
C55-C56	1,416(7)	C24-C25-C26	117,4(5)
C56-C57	1,419(7)	C24-C25-C28	121,8(6)
C57-C58	1,370(7)	C26-C25-C28	120,8(6)
C58-C59	1,398(8)	C21-C26-C25	123,1(6)
C59-C60	1,356(9)	O21-C27-C23	121,4(6)
B1-F4	1,339(13)	C31-C30-N1	112,3(5)
B1-F2	1,376(13)	N32-C31-C36	122,5(7)
B1-F1	1,385(13)	N32-C31-C30	116,9(5)
B1-F3	1,393(13)	C36-C31-C30	120,5(7)
		C31-N32-C33	119,6(6)
C30-N1-C2	110,4(4)	N32-C33-C34	121,6(9)
C30-N1-C20	108,1(4)	C35-C34-C33	118,7(8)
C2-N1-C20	108,1(4)	C34-C35-C36	120,8(7)
N1-C2-C12	112,1(4)	C35-C36-C31	116,7(8)
C13-C3-N4	111,3(4)	C41-C40-N4	110,2(4)
C40-N4-C50	112,6(4)	N42-C41-C46	123,3(6)
C40-N4-C3	112,4(4)	N42-C41-C40	114,4(5)
C50-N4-C3	109,6(4)	C46-C41-C40	122,2(6)
O10-C11-C12	121,2(4)	C43-N42-C41	117,0(6)
O10-C11-C13	119,6(5)	N42-C43-C44	124,1(7)
C12-C11-C13	119,2(4)	C43-C44-C45	118,0(7)
C16-C12-C11	119,5(5)	C44-C45-C46	119,5(7)
C16-C12-C2	122,0(5)	C41-C46-C45	118,1(7)
C11-C12-C2	118,5(4)	C51-C50-N4	115,1(4)
C14-C13-C11	119,2(5)	C52-C51-C56	119,4(5)
C14-C13-C3	122,6(5)	C52-C51-C50	119,5(5)
C11-C13-C3	118,2(4)	C56-C51-C50	121,0(5)
C13-C14-C15	122,5(5)	C51-C52-C53	121,0(5)
C14-C15-C16	117,6(5)	C54-C53-C52	120,2(6)
C14-C15-C17	122,1(5)	C53-C54-C55	121,3(6)
C16-C15-C17	120,3(5)	C54-C55-C60	121,6(5)
C15-C16-C12	121,9(5)	C54-C55-C56	119,0(5)
C21-C20-N1	113,3(4)	C60-C55-C56	119,4(5)
C26-C21-C22	118,5(5)	C55-C56-C57	118,4(5)
C26-C21-C20	119,8(5)	C55-C56-C51	119,0(5)
C22-C21-C20	121,6(5)	C57-C56-C51	122,5(5)
O20-C22-C21	121,0(5)	C58-C57-C56	120,6(5)
O20-C22-C23	119,5(5)	C57-C58-C59	120,1(6)
C21-C22-C23	119,5(5)	C60-C59-C58	121,0(5)
C24-C23-C22	118,8(5)	C59-C60-C55	120,4(5)
C24-C23-C27	121,6(5)	F4-B1-F2	116,7(12)

F4-B1-F1	111,5(12)	F2-B1-F3	106,5(11)
F2-B1-F1	106,8(11)	F1-B1-F3	109,1(11)
F4-B1-F3	106,0(11)		