



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS CINÉTICOS DE
NOVOS COMPLEXOS MONONUCLEARES DE COBRE(II):
MODELOS PARA HIDROLASE E CATECOLASE**

Daniele Cocco Durigon

Florianópolis
2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Daniele Cocco Durigon

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS CINÉTICOS DE
NOVOS COMPLEXOS MONONUCLEARES DE COBRE(II):
MODELOS PARA HIDROLASE E CATECOLASE.**

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

Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Rosely A. Peralta

Florianópolis
2019

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

Durigon, Daniele

Síntese, caracterização e estudos cinéticos de novos complexos mononucleares de cobre(II): modelos para hidrolase e catecolase. / Daniele Durigon; orientador, Ademir Neves, coorientador, Rosely Peralta, 2019.

151 p.

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

Inclui referências.

1. Química. 2. Química Bioinorgânica. 3. Atividade catecolase. 4. Hidrolases sintéticas. 5. Cobre (II). I. Neves, Ademir. II. Peralta, Rosely. III.

Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

Daniele Cocco Durigon

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS CINÉTICOS DE
NOVOS COMPLEXOS MONONUCLEARES DE COBRE(II):
MODELOS PARA HIDROLASE E CATECOLASE.**

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

Florianópolis, 18 de fevereiro de 2019.

Prof., Dr. Vanderlei Gageiro
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

Prof^a., Dr^a. Rosely A. Peralta - UFSC
Coorientadora

Prof., Dr. Adailton João Bortoluzzi - UFSC

Prof., Dr. Fernando Roberto Xavier - Udesc

Aos meus pais e meu irmão,
pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Rosane e Romildo, e ao meu irmão Marcos, pelo incessante apoio para avançarmos mais esta etapa da minha formação. Mesmo com a distância, o afeto e as vibrações positivas nunca faltaram. Vocês são a base e a motivação de tudo!

Ao meu companheiro de estudos e de vida, Tiago Tizziani, sem teu apoio, tua força, teu carinho e principalmente tua paciência essa dissertação não seria possível. Obrigada!!

Ao meu orientador Professor Ademir Neves, pelo brilhante exemplo e inspiração profissional além do direcionamento deste trabalho. À minha coorientadora Professora Rosely Peralta pelas contribuições finais e durante essa trajetória. Aos professores membros da banca: Adailton Bortoluzzi e Fernando Xavier pela disposição e contribuições para este trabalho. Meus sinceros agradecimentos!

Ao professor Antônio Luiz Braga e seu grupo de pesquisa Labselen, pelo apoio total durante esse trabalho tanto na concessão de materiais quanto nas amizades construídas nesse período de laboratório. Ao Marcos Maragno, pela colaboração e ajuda nas sínteses orgânicas e também nas correções deste trabalho. Além disso a Lari, brinde mineiro nessa estadia no Labselen, obrigada pela dose extra de animação diária. Lu, Flávio, Roberth, enfim, pra toda galera do selênio que muito me ajudaram seja na química ou nas comemorações sexta a tarde, valeu gurizada!

Aos colegas da bioinorgânica, Labinc, pelos ensinamentos e dicas, aprendi muito neste laboratório durante este período. Em especial ao Andrei pela parceria desde o primeiro dia de mestrado. Ao Marcos, meu companheiro de bancada (mesmo nós nunca estarmos nela juntos), que dedicou um bom tempo me ajudando. Valeu!!

Aos demais amigos que este curto tempo em Floripa me trouxe, também aos amigos da graduação ou de Pinhal, vocês foram essenciais!

Por fim, ao Departamento de Química e o Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina pela estrutura oferecida. Ao CNPq e INCT-Catálise pelo apoio financeiro.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*
(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

A química bioinorgânica investiga a presença e o entendimento de espécies metálicas em sistemas biológicos, bem como busca a síntese de complexos metálicos inspirados nestes sistemas, desenvolvendo os chamados compostos miméticos.

Enzimas são estruturas proteicas que desempenham diversas funções catalíticas no meio biológico e quando estas são constituídas por cofatores metálicos, tem-se as chamadas metaloenzimas.

As metaloenzimas Fosfatases Ácidas Purpuras e a Catecol Oxidase são responsáveis por reações hidrolíticas e oxidativas no meio biológico, respectivamente, e vem sendo ponto de partida para o desenvolvimento de novos complexos modelos, sendo que estes podem expressar características estruturais e/ou funcionais das metaloenzimas.

Tendo em vista tamanha importância biológica destas estruturas enzimáticas, foram sintetizados dois ligantes: bis[2-(selenofenil)etil]amina - L_{Se} e bis[2-(tiofenil)etil]amina - L_S . A partir destes foram sintetizados C_{Se} e C_S , complexos mononucleares e pentacoordenados de Cu(II), possuindo geometria piramidal de base quadrada, sendo que os ligantes estão coordenados de maneira tridentada (Se, N, Se e S, N, S), possuindo dois ligantes cloro em orientação *cis* completando a esfera de coordenação. Estas estruturas foram devidamente caracterizadas por técnicas espectroscópicas, espectrométricas e eletroquímicas. Foi explorada a influência de átomos maiores, o selênio e enxofre, buscando um efeito comparativo com ligantes mais duros, por exemplo nitrogenados e oxigenados já reportados na literatura.

A atividade hidrolítica, clivagem de diésteres de fosfato, foi avaliada através de ensaios cinéticos utilizando o substrato modelo ativado 2,4-BDNPP. Da mesma forma, a atividade catecolase, oxidação de *o*-difenois, foi investigada frente ao substrato 3,5-DTBC. Ambos os complexos são ativos para a atividade hidrolase quanto catecolase, podendo ser considerados biomiméticos sintéticos promíscuos.

Palavras chave: cobre, catecolase, hidrolase, promiscuidade catalítica.

ABSTRACT

The bioinorganic chemistry investigates the presence and understanding of metallic species in biological systems, as well as search for the synthesis of metal complexes inspired in these systems, developing so-called mimetic compounds.

Enzymes are protein structures that perform several catalytic functions in the biological environment, when these are constituted by metallic cofactors, we have the so-called metalloenzymes.

The metalloenzymes Purple Acid phosphatase and Catechol Oxidase are responsible for hydrolytic and oxidative reactions in the biological environment, respectively, and have been the starting point for the development of new complexes, these may express structural and / or functional characteristics of the metalloenzymes.

In view of such biological importance of these enzymatic structures, two ligands were synthesized: bis[2-(selenophenyl)ethyl]amine - L_{Se} and bis[2-(thiophenyl)ethyl]amine - L_S . From these were synthesized C_{Se} and C_S , Cu(II) mononuclear and pentacoordinate complexes, having square base pyramidal geometry, the ligands being coordinated in a tridentate manner (Se, N, Se and S, N, S), having two chlorine ligands in *cis* orientation completing the coordination sphere. These structures were adequately characterized by spectroscopic, spectrometric and electrochemical techniques. The influence of larger atoms, selenium and sulfur, was explored, seeking a comparative effect with harder ligands, for example nitrogen and oxygenates already reported in the literature.

The hydrolytic activity, cleavage of phosphate diesters, was assessed by kinetic assays using the activated substrate model 2,4-BDNPP. Similarly, the catecholase activity, *o*-diphenols oxidation, was investigated against the 3,5-DTBC substrate. Both complexes are active for the hydrolase and catecholase activity, and may be considered promiscuous synthetic biomimetics.

Keywords: copper, catecholase, hydrolase, catalytic promiscuity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da enzima catecol oxidase, encontrada na batata doce <i>Ipomoeas batatas</i>	41
Figura 2. Estrutura de Raios X da enzima catecol oxidase no estado <i>met</i>	42
Figura 3. Esquematização da conformação do DNA.	44
Figura 4. Estrutura cristalina do sítio ativo da PAP possuindo centro metálico Fe ^{III} Zn ^{II}	46
Figura 5. Complexos mononucleares de cobre.....	52
Figura 6. Complexo reportado por Kumar e colaboradores, contendo ligante organocalcogenado tridentado <i>Se, N, Se</i>	53
Figura 7. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) do dissulfeto de difenila em CDCl ₃	72
Figura 8. Espectro de RMN de ¹³ C (50MHz) do dissulfeto de difenila em CDCl ₃	72
Figura 9. Cromatograma de íons totais (GC-MS) do material de partida.	73
Figura 10. Espectro de massas de baixa resolução do dissulfeto de difenila.....	73
Figura 11. Espectro de RMN de ¹ H (200MHz) do disseleneto de difenila em CDCl ₃	74
Figura 12. Espectro de RMN de ¹³ C (50MHz) do disseleneto de difenila em CDCl ₃	75
Figura 13. Cromatograma de íons totais (GC-MS) do disseleneto de difenila.....	75
Figura 14. Espectro de massas de baixa resolução do disseleneto de difenila.....	76

Figura 15. Ligantes sintetizados neste trabalho.	76
Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (400MHz) do ligante L_{Se} em CDCl_3	77
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (400MHz) do ligante L_{S} em CDCl_3	78
Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (100MHz) do ligante L_{Se} em CDCl_3	79
Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C (100MHz) do Ligante L_{S} em CDCl_3 .	80
Figura 20. Espectro IV do ligante L_{Se} em pastilha de KBr.	82
Figura 21. Espectro IV do ligante L_{S} em pastilha de KBr.	82
Figura 22 Espectro ESI - MS do ligante L_{Se} em MeOH	83
Figura 23 Espectro ESI - MS do ligante L_{S} em MeOH	84
Figura 24. Complexos sintetizados neste trabalho.	84
Figura 25. IV do Ligante L_{Se} , em vermelho, e do C_{Se} , em preto, ambos feitos em pastilha de KBr espectroscópico.	85
Figura 26. Espectro L_{S} , em vermelho, e o complexo C_{S} , em preto ambos feitos em pastilha de KBr espectroscópico.	86
Figura 27. Espectro de massas do complexo C_{Se} em MeOH grau MS e seus fragmentos: (a) $[\text{Cu}(\text{L}_{\text{Se}})\text{Cl}]^+$ e (b) L_{Se} . Onde a linha vermelha representa a distribuição isotópica simulada, e a linha preta representa o espectro a distribuição encontrada.	88
Figura 28. Espectro de massas do complexo C_{S} em MeOH e seus fragmentos (a) $[\text{Cu}(\text{L}_{\text{S}})]^+$ e (b) $[\text{Cu}(\text{L}_{\text{S}})\text{Cl}]^+$. Onde a linha vermelha representa a distribuição isotópica simulada, e a linha preta representa o espectro e a distribuição encontrada	89
Figura 29. Arranjo estrutural molecular do complexo C_{Se} . Elipsóides com 40% de probabilidade. (SPEAK, 2009)	93

Figura 30. Empacotamento cristalino para o complexo C_{Se} . (MACRAE <i>et al.</i> , 2008)	95
Figura 31. Arranjo da estrutura molecular do complexo C_s . Elipsoides com 40% de probabilidade. (SPEAK, 2009).....	96
Figura 32. Empacotamento cristalino do complexo C_s . (MACRAE <i>et al.</i> , 2008)	97
Figura 33. Espectro de reflectância difusa em KBr para o complexo C_s	99
Figura 34. Espectro de reflectância difusa em KBr para o complexo C_{Se}	99
Figura 35. Espectro eletrônico do complexo C_{Se} em MeOH ($C = 2 \times 10^{-1}$ mol L ⁻¹) e em MeCN ($C = 1,2 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹).....	100
Figura 36. Espectros eletrônicos do complexo C_s em MeOH ($C = 7,8 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹) e MeCN ($C = 1,2 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹).	100
Figura 37. Desdobramento dos orbitais <i>d</i> em diferentes geometrias...	102
Figura 38. Voltametria cíclica do complexo C_{Se} em MeOH / H ₂ O 97:3% v:v em pH 7 (tampão TRIS) na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).....	106
Figura 39. Voltametria cíclica do complexo C_s em MeOH / H ₂ O 97:3% v:v em pH 7 (tampão TRIS) na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).....	106
Figura 40. Gráfico de k_{obs} em função do pH referente ao complexo C_{Se} para a reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP a 25°C. Solução MeCN /H ₂ O 1:1; [complexo] = 8×10^{-5} mol L ⁻¹ ; [substrato] = $3,5 \times 10^{-3}$	

mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. (MES - pH 4,0, a 6,5, HEPES - pH 7,0 a 8,5 e CHES - pH 9,0 a 9,5); I= 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄). 109

Figura 41. Gráfico de k_{obs} em função do pH referente ao complexo C_s para a reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP a 25°C. Solução MeCN /H₂O 1:1; [complexo] = 9,4 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; [substrato] = 3,5 x 10⁻³ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. (MES - pH 4,0, a 6,5, HEPES - pH 7,0 a 8,5 e CHES - pH 9,0 a 9,5); I= 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄). 109

Figura 42. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo C_{Se} a 25°C e pH 6,5. Solução MeCN /H₂O 1:1; [complexo] = 7,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; [substrato] = 4,0 x 10⁻⁴ a 6,0 x 10⁻³ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. I= 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄). 112

Figura 43. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo C_s a 25°C e pH 6,5. Solução MeCN /H₂O 1:1; [complexo] = 7,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; [substrato] = 4,0 x 10⁻⁴ a 6,0 x 10⁻³ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. I= 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄). 112

Figura 44. Estado transição proposto referente ao ataque nucleofílico intramolecular do hidróxido coordenado ao cobre, gerando uma espécie pentacoordenado de fósforo. 113

Figura 45. Variação espectral observada durante a reação de oxidação do substrato 3,5 DTBC promovida pelo complexo C_s. Condições: pH 7; 25 °C; solução MeOH / H₂O (97 :3 % v / v); [complexo] = 3,3 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹; [substrato] = 2,4 x 10⁻³ mol.L⁻¹; [tampão] = 0,03 mol.L⁻¹. 118

Figura 46. Gráfico de k_{obs} em função do pH referente ao complexo C_{Se} para a reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC a 25°C. Solução MeOH /H₂O 97:3 % v/v; [complexo] = 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; [substrato] =

2,4 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 0,03 mol L ⁻¹ . (MES - pH 5,5, a 6,5, TRIS - pH 7,0 a 10,0).	119
Figura 47. Gráfico de k _{obs} em função do pH referente ao complexo C _S para a reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC a 25°C. Solução MeOH /H ₂ O 97:3 % v/v; [complexo] = 2,0 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ ; [substrato] = 2,4 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 0,03 mol L ⁻¹ . (MES - pH 5,5, a 6,5, TRIS - pH 7,0 a 10,0).	119
Figura 48. Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-DTBC com a concentração do substrato para o complexo C _{Se} a 25°C e pH 7. Solução MeOH /H ₂ O 97:3% v/v; [complexo] = 2,0 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ ; [substrato] = 9,0 x 10 ⁻⁴ a 1,6 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 0,03 mol L ⁻¹ .	121
Figura 49. Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5 -DTBC com a concentração do substrato para o complexo C _{Se} a 25°C e pH 7. Solução MeOH /H ₂ O 97:3% v / v; [complexo] = 2,0 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ ; [substrato] = 9,0 x 10 ⁻⁴ a 1,6 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 0,03 mol L ⁻¹	121
Figura 50. Parâmetros cinéticos para a reação de oxidação do substrato 3,5 – DTBC pelos complexos C _{Se} e C _S	122
Figura 51. Detecção da banda em 353 nm referente a presença de peróxido de hidrogênio.....	123
Figura 52. Voltametria cíclica do complexo C _{Se} em MeOH na presença de TBAPF6 0,1 mol.L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno (E _{1/2} vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).	147
Figura 53 Voltametria cíclica do complexo C _S em MeOH na presença de TBAPF6 0,1 mol.L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como	

padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).	147
Figura 54. Voltametria de onda quadrada (passo da varredura: 4 mV; Frequência 15 Hz) referente ao complexo C_S em MeOH na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol.L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).	148
Figura 55. Voltametria cíclica do complexo C_S em DCM na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).	148
Figura 56. Voltametria cíclica do complexo C_{Se} em DCM na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol.L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).	149
Figura 57. Voltametria de onda quadrada (Frequencia: 15 HZ; pulso: 4mV) referente ao complexo C_{Se} em MeOH / H ₂ O 97: 3% v:v em pH 7 (tampão TRIS) na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol.L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).....	149
Figura 58. Voltametria cíclica do complexo C_{Se} em MeCN na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol.L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V)(GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).	150
Figura 59. Voltametria de onda quadrada (frequência: 15 HZ; pulso: 4mV) referente ao complexo C_{Se} em MeCN na presença de TBAPF ₆ 0,1	

mol.L⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs
ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980). 150

Figura 60. Voltametria cíclica do complexo C_S em MeCN na presença
de TBAPF₆ 0,1 mol.L⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão
interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).
..... 151

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de algumas metaloenzimas com seus respectivos cofatores metálicos.....	37
Tabela 2. Características dos complexos de cobre.....	39
Tabela 3. Condições para o efeito de pH.....	62
Tabela 4. Principais sinais e suas atribuição dos espectros de RMN de ^1H (400MHz) dos ligantes L_{Se} e L_{S} , bem como o comparativo oriundo da literatura.....	78
Tabela 5. Principais sinais do RMN de ^{13}C (100 MHz), bem como seus deslocamentos, em comparação com a literatura.	80
Tabela 6. Principais bandas (cm^{-1}) e atribuições dos espectros de infravermelho dos ligantes L_{S} e L_{Se}	81
Tabela 7. Principais bandas (cm^{-1}) presentes no ligante L_{Se} e no complexo C_{Se}	86
Tabela 8. Principais bandas (cm^{-1}) e suas atribuições para o ligante L_{S} e seu complexo C_{S}	87
Tabela 9. Tabela com os principais fragmentos encontrados para os complexos C_{Se} e C_{S}	90
Tabela 10. Resultados de condutivimetria em MeOH para os complexos sintetizados.....	91
Tabela 11. Dados cristalográficos para os complexos C_{Se} e C_{S}	92
Tabela 12. Principais comprimentos (Å) e ângulos ($^{\circ}$) para o complexo C_{Se}	93
Tabela 13. Parâmetros geométricos (Å e $^{\circ}$) das ligações de hidrogênio encontradas para o complexo C_{Se}	95

Tabela 14. Principais comprimentos (Å) e ângulos (°) para o complexo C_S	96
Tabela 15. Parâmetros geométricos (Å e °) das ligações de hidrogênio encontradas para o complexo C_S	97
Tabela 16. Porcentagens de C, H e N para os complexos sintetizados via análise elementar (calculada/ encontrada).	98
Tabela 17. Dados dos espectros eletrônicos dos complexos sintetizados neste trabalho.	101
Tabela 18. Parâmetros eletroquímicos (vs ENH) para os complexos C_{Se} e C_S a 100 mV.s ⁻¹	104
Tabela 19. Valores de pK _a 's cinéticos obtidos para os complexos sintetizados neste trabalho em MeCN :H ₂ O 50% v:v.	110
Tabela 20. Parâmetros cinéticos calculados a 25 °C e pH 6,5 para as reações de hidrólise do substrato 2,4 – BDNPP catalisadas pelos complexos C_{Se} e C_S	113
Tabela 21. Relação entre os valores de ângulo de ligação X - Cu - X, onde X = Cl, de diferentes complexos reportados na literatura com seus respectivos valores de k_{cat} bem como o meio cinético em que os dados foram obtidos.	114
Tabela 22. Tabela comparativa de valores de pK _a s cinéticos para os complexos sintetizados neste trabalho e complexos mononucleares de cobre (II) reportados na literatura.	120
Tabela 23. Comprimentos [Å] e ângulos [°] de ligação para C_{Se}	141
Tabela 24. Ângulos de torção [°] para o complexo C_{Se}	143
Tabela 25. Comprimentos [Å] e ângulos [°] de ligação para o complexo C_S	144
Tabela 26. Ângulos de torção [°] para o complexo C_S	146

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Proposta mecanística da reação de oxidação de <i>o</i> -difenois promovida pela enzima catecol oxidase.....	43
Esquema 2. Mecanismo proposto para a hidrólise de ésteres de fosfato promovida pelas PAPs.	47
Esquema 3. Rota sintética para obtenção do disseleneto de difenila.....	65
Esquema 4. Síntese do ligante final L_{se}	66
Esquema 5. Esquema reacional para obtenção do material de partida dissulfeto de difenila.	67
Esquema 6. Rota sintética para a síntese do ligante final L_s	68
Esquema 7. Esquema reacional para a síntese do complexo C_{se}	69
Esquema 8. Esquema reacional para a síntese do complexo C_s	70
Esquema 9. Esquema reacional referente a hidrólise do substrato modelo ativado 2,4-BDNPP.....	108
Esquema 10. Proposta de equilíbrio das espécies pertencentes aos complexos C_{se} e C_s em solução aquosa.	110
Esquema 11. Proposta mecanística para a clivagem catalítica do substrato ativado 2,4 - BDNPP promovida pelos complexos sintetizados neste trabalho	116
Esquema 12. Esquemática da reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC.....	117
Esquema 13. Proposta mecanística para a oxidação do substrato 3,5-DTBC promovida pelos complexos reportados neste trabalho.	125

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- v - Modo vibracional de estiramento na região do infravermelho
- δ - deslocamento químico (RMN)
- 2,4-BDNPP - bis(2,4-dinitrofenil) fosfato
- 2,4-DNP - 2,4-dinitrofenolato
- 3,5-DTBC - 3,5-di-*terc*-butilcatecol
- 3,5-DTBQ - 3,5-di-*terc*-butilquinona
- A Absorvância
- CCD - Cromatografia em camada delgada
- CG-EM - Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas
- CHES - ácido 2-(N-cicloexilamino) etanossulfônico
- COx - Catecol Oxidase
- C_S - Cloreto de bis[2-(tiofenil) etil]amina cobre(II)
- C_{Se} - Cloreto de bis[2-(selenofenil) etil]amina cobre(II)
- d - Duplete
- DCM - diclorometano
- DMSO - dimetilsulfóxido
- DNA - ácido desoxirribonucléico
- E_{1/2} - potencial de meia onda
- ENH - eletrodo normal de hidrogênio
- E_{pa} - potencial de pico anódico
- E_{pc} - potencial de pico catódico
- ESI-MS - Espectrometria de massas com ionização por *electrospray*
- EtOH - Etanol
- ϵ - coeficiente de absorvidade
- f - fator catalítico
- Fc/Fc⁺ - par redox ferroceno/ferrocínio
- HEPES - ácido 2-[4-(2-hidroxietil)-1-piperazino]etanossulfônico
- IV - Espectroscopia na região do infravermelho
- J - constante de acoplamento magnético
- K_{ass} - constante de associação
- k_{cat} - constante catalítica
- K_M - constante de Michaelis-Menten
- k_{nc} - constante de hidrólise da reação não catalisada
- k_{obs} - constante de velocidade
- L_S - Síntese do Bis [2- (tiofenil) etil]amina
- L_{Se} - Síntese do Bis [2- (selenofenil) etil]amina
- m - multiplete

MeCN - Acetonitrila
MeOH - Metanol
MES - ácido 2-[N-morfolino]etanossulfônico ácido
PAP's - Fosfatases Acidas Púrpuras
pKa - constante de dissociação ácida em escala logarítmica
ppm - Partes por milhão
RMN de ^{13}C - ressonância magnética nuclear de carbono
RMN de ^1H - ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s - Simpleto
t - Tripleto
TBAPF₆ - hexafluorofosfato de tetrabutílamônio
TCLM - transferência de carga ligante → metal
TCML - transferência de carga metal → ligante
THF - Tetrahidrofurano
UV-Vis - Espectroscopia na região do ultravioleta - visível
V₀ - velocidade inicial
V_{max} - velocidade máxima
δ - Estiramento axial na região do infravermelho
I - força iônica
TMS - tetrametilsilano
λ - Comprimento de onda (nm)
E - Eficiência catalítica
MM - Massa molar

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
LISTA DE TABELAS.....	41
LISTA DE ESQUEMAS	43
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	45
SUMÁRIO	47
1. INTRODUÇÃO	35
1.1 METALOENZIMAS.....	35
1.2 IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA DO COBRE.....	38
1.3 CATECOL OXIDASE (COx).....	40
1.4 NUCLEASES/HIDROLASES	44
1.5 PROMISCUIDADE ENZIMÁTICA.....	48
1.6 QUÍMICA DOS CALCOGÊNIOS.....	49
1.7 COMPLEXOS MODELOS RELEVANTES PARA ESTE TRABALHO	51
2. OBJETIVOS.....	55
2.1 OBJETIVO GERAL.....	55
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	55
3. EXPERIMENTAL	57
3.1 MATERIAIS	57
3.2 MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO.....	58
3.2.1 <i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho-IV</i> 58	
3.2.2 <i>Ponto de fusão.....</i>	58
3.2.3 <i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de</i> <i>Hidrogênio e Carbono – RMN de ¹H e ¹³C</i>	58
3.2.4 <i>Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas</i> 59	
3.2.5 <i>Espectrometria de Massas - ESI (Electron Spray Ionization)</i> 59	
3.2.6 <i>Condutividade Molar</i>	59

3.2.7	<i>Difratometria de Raios X</i>	60
3.2.8	<i>Análise elementar C, H e N</i>	60
3.2.9	<i>Espectroscopia eletrônica – UV/Vis</i>	60
3.2.10	<i>Eletroquímica</i>	60
3.2.11	<i>Reatividade</i>	61
3.2.11.1	Atividade hidrolase	61
3.2.11.2	Atividade Catecolase.....	63
3.3	SÍNTESE DOS LIGANTES	65
3.3.1	<i>Síntese do ligante L_{Se}</i>	65
3.3.1.1	Síntese do material de partida disseleneto de difenila.....	65
3.3.1.2	Síntese do bis[2-(selenofenil)etil] amina L_{Se}	66
3.3.2	<i>Síntese do ligante - L_S</i>	67
3.3.2.1	Preparação do material de partida dissulfeto de difenila.....	67
3.3.2.2	Síntese do bis[2-(tiofenil)etil] amina - L_S	68
3.4	SÍNTESE DOS COMPLEXOS	69
3.4.1	<i>Síntese do Complexo Cloreto de bis[2-(selenofenil)etil] amina cobre (II) - $Cu(L_{Se})Cl_2 - C_{Se}$</i>	69
3.4.2	<i>Síntese do Complexo Cloreto de bis[2-(tiofenil)etil] amina cobre (II) - $Cu(L_S)Cl_2 - C_S$</i>	70
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
4.1	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS DE PARTIDA ...	71
4.1.1	<i>Caracterização do dissulfeto de difenila</i>	71
4.1.2	<i>Caracterização do disseleneto de difenila</i>	74
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES	76
4.2.1	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio – RMN 1H</i>	77
4.2.2	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono - RMN ^{13}C</i>	79
4.2.3	<i>Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho</i> . ..	81
4.2.4	<i>Espectrometria de Massas – ESI-MS</i>	83
4.3	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS	84
4.3.1	<i>Espectroscopia na região do Infravermelho</i>	85
4.3.2	<i>Espectrometria de Massas</i>	87
4.3.3	<i>Condutivimetria</i>	91
4.3.4	<i>Difração de Raios X</i>	91
4.3.4.1	Estrutura cristalina do complexo $Cu(L_{Se})Cl_2 - C_{Se}$...	93
4.3.4.2	Estrutura do complexo $Cu(L_S)Cl_2 - C_S$	95
4.3.5	<i>Análise elementar C, H e N</i>	98
4.3.6	<i>Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis</i>	98

4.3.7	<i>Eletroquímica</i>	103
4.4	REATIVIDADE.....	107
4.4.1	<i>Cinética de Hidrólise do substrato 2,4-BDNPP</i>	107
4.4.1.1	Efeito do pH na reação de hidrólise	108
4.4.1.2	Efeito da concentração de substrato na reação de hidrólise	111
4.4.1.3	Proposta de mecanismo para a reação de hidrólise ..	115
4.4.2	<i>Cinética de Oxidação do 3,5 DTBC</i>	117
4.4.2.1	Efeito do pH na reação de oxidação	118
4.4.2.2	Efeito da concentração do substrato	120
4.4.2.3	Proposta mecanística para a reação de oxidação	123
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO	127
6.	PERSPECTIVAS	129
	REFERÊNCIAS	131
	APÊNDICE	141
	APÊNDICE I - DADOS CRISTALOGRAFICOS SUPLEMENTARES PARA O COMPLEXO C _{SE}	141
	APÊNDICE II - DADOS CRISTALOGRAFICOS SUPLEMENTARES PARA O COMPLEXO C _S	144
	APÊNDICE III – GRÁFICOS DA ELETROQUÍMICA	147

1. INTRODUÇÃO

A composição da biosfera é dada majoritariamente pelos elementos H, C, N, O, P, Si, S e Cl e alguns metais representativos como K, Mg, Na e Ca, enquanto os metais de transição aparecem apenas em menores concentrações, no entanto, sua presença em estruturas importantes para a manutenção da vida os torna essenciais. Um exemplo de presença destes metais é em cofatores de estruturas enzimáticas, gerando as chamadas metaloenzimas, estruturas macromoleculares responsáveis por reações químicas fundamentais. O entendimento dessas estruturas se dá por meio de estudos sob as mesmas ou, outra tática é a síntese de complexos que reproduzam especificidades estruturais, espectroscópicas ou catalíticas das mesmas os chamados compostos miméticos. Uma das linhas de pesquisa da química bioinorgânica é a investigação destes modelos miméticos (ROAT-MALONE, 2007).

A química bioinorgânica é uma área da ciência que representa a união da química inorgânica, bioquímica, biologia molecular e química medicinal. Dentre outros interesses, esta área envolve o estudo de espécies metálicas em sistemas biológicos, embora tenha tido um grande avanço a partir dos anos 70, no entanto já em meados dos anos 30, Keili e Hartree já haviam evidenciado a presença de cobre na citocromo C oxidase e, na metade do século, zinco e molibdênio foram encontrados em proteínas (BEINERT, 2005).

O súbito avanço da bioinorgânica foi consequência direta da determinação estrutural de diversas biomoléculas via difração de raios x, juntamente com o desenvolvimento de poderosas ferramentas espectroscópicas a evolução da engenharia e a possibilidade de síntese de proteínas com alta pureza, além da síntese de compostos miméticos, que ajudam a elucidar o mecanismo de atuação destas estruturas (GRAY, 2003).

1.1 METALOENZIMAS

Enzimas são proteínas que apresentam extraordinária eficiência catalítica em diversos sistemas biológicos, podendo aumentar a velocidade reacional geralmente na ordem de 10^3 a 10^8 quando

comparada às reações não catalisadas, tornando, assim, viáveis as transformações que, na ausência da enzima, não ocorreriam ou levariam anos para acontecer (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2006; WOLFENDEN; SNIDER, 2001).

Esses biopolímeros são formados por uma determinada sequência de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, são conhecidos 20 aminoácidos diferentes que dão origem as mais diversas estruturas proteicas. As enzimas são classificadas em 6 grandes grupos, e estão distribuídas de acordo com a sua atuação catalítica no meio biológico: (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2002; NELSON; COX; LEHNINGER, 2005):

1. Oxirredutases: catalisam reações de oxidação-redução envolvendo transferência de elétrons;
2. Transferases: catalisam a transferência de grupos orgânicos de uma molécula doadora para uma acceptora;
3. Hidrolases: capazes de clivar de maneira hidrolítica, ou seja quebram ligações pela adição de água, uma série de ligações químicas como amidas, ésteres, éteres, etc;
4. Liases: catalisam a adição de grupamentos orgânicos a duplas ligações ou a formação de duplas ligações por meio de remoção de grupos;
5. Isomerases: catalisam a transferência de grupos dentro de uma mesma molécula, formando assim isômeros;
6. Ligases: catalisam a formação de novas ligações como C-C, C-S, C-O e C-N.

A atividade catalítica de algumas enzimas depende de pequenas moléculas orgânicas ou íons metálicos chamados cofatores. Na ausência destes, a enzima é chamada de apoenzima e não possui atividade catalítica (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2006).

Quando a atividade catalítica depende de um ou mais centros metálicos tem-se as metaloenzimas, as quais representam um terço das enzimas conhecidas, sendo que muitas reações críticas para a manutenção da vida dependem diretamente destas estruturas como, por exemplo a redução de oxigênio em água, realizada pela ascorbato oxidase (ROSENZWEIG; DOOLEY, 2006; HOLM; KENNEPOHL, SOLOMON, 1996).

Os principais metais presentes nessas estruturas proteicas são magnésio, cálcio, molibdênio, tungstênio, mercúrio e todos os metais da primeira série de transição (excluindo titânio, escândio e cromo). A **Tabela 1** mostra alguns exemplos de metais presentes em algumas metaloenzimas.

Tabela 1. Exemplos de algumas metaloenzimas com seus respectivos cofatores metálicos.

<i>Metal</i>	<i>Metaloenzima</i>
Zn ²⁺	Anidrase carbônica, carboxipeptidase
Ni ²⁺	Urease
Mg ²⁺	EcoRV, piruvato-quinase
Mn ²⁺	Superóxido dismutase
Cu ²⁺	Citocromo oxidase
K ⁺	Piruvato quinase

De maneira geral, pode-se dizer que as metaloenzimas são complexos metálicos com uma grande organização molecular, e conhecer com precisão o comportamento redox, acidez de Lewis bem como a estrutura das mesmas é de extrema importância. Alguns metais como Zn²⁺ não são redox ativos possuindo função de estabilidade, estrutural enquanto Fe e Cu são responsáveis por transferências de elétrons bem como a ativação e redução do O₂. Metais como Mo e W estão envolvidos em reações de oxidação-redução mas envolvendo a transferência direta de oxigênio. Estas descobertas não foram atribuídas exclusivamente pela técnica de difração de raios X, mas também por diversos métodos espectroscópicos, magnéticos e eletroanalíticos como EPR, RMN, Raman, IV, UV, dicroísmo circular, Mössbauer, entre outros (HOLM; KENNEPOHL; SOLOMON, 1996).

É importante também conhecer a esfera de coordenação que circunda o metal. A mesma está composta usualmente por átomos de oxigênio, nitrogênio e enxofre, provenientes de resíduos de aminoácidos, comumente a histidina, cisteína, metionina e tirosina (ROAT-MALONE, 2007).

Outra abordagem para compreender melhor a atuação do sítio ativo de uma metaloenzima é a preparação de compostos miméticos das mesmas que, com menor massa molecular e uma maior simplicidade estrutural, servem muitas vezes, para elucidar com clareza características crucias presentes na escala macromolecular.

1.2 IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA DO COBRE

O cobre é um elemento essencial em humanos e animais, sendo que um humano adulto possui cerca de 100 mg de cobre presente no organismo e faz-se necessário o consumo do mesmo em cerca de 1,5-3 mg/dia sendo que a deficiência deste metal pode causar sérios problemas de saúde ao longo da vida. No entanto, este elemento apenas foi aceito como bioessencial em 1925, após a descoberta estrutural de diversas metaloproteínas (BOST et al., 2016; GARCIA-RICO; LEYVA-PERES; JARA-MARINI, 2007).

Alterações no metabolismo do cobre estão relacionadas com doenças hereditárias como a doença de Wilson e a síndrome de Menke. A primeira foi definida em 1912 como uma deficiência que gera acúmulo de cobre nos rins, fígado e cérebro, sendo letal se não for tratada. A segunda está relacionada com falhas no transporte e armazenamento intracelular do metal e, se não houver rápida suplementação do mesmo, o sistema nervoso central é danificado (HORN et al., 2019; BANDMANN; WEISS; KALER, 2015).

Além disso, a ruptura da homeostase do cobre está relacionada diretamente com a doença de Alzheimer, sendo que níveis elevados deste metal foram detectados em placas β -amiloides, agregados proteicos responsáveis pela doença, enquanto níveis baixos são observados nas proximidades dos mesmos. Descobertas como estas tornam este elemento cada vez mais intrigante, tornando-o alvo de diversos estudos científicos (YOUNG et al., 2018).

O cobre pertence ao grupo 11 da tabela periódica podendo tipicamente adquirir configuração eletrônica d^8 , d^9 ou d^{10} . Outras características deste elemento estão elucidadas na **Tabela 2**. Sua química difere muito dos análogos maiores de seu grupo, a prata e o ouro, que preferem configuração eletrônica d^8 ou d^{10} .

Embora, o estado de oxidação +3 do Cu não seja biologicamente relevante por possuir potencial redox muito elevado, os estados +1 e +2 apresentam potenciais redox que o permitem estarem envolvidos em transferências de elétrons em vários sistemas biológicos (KAIM; RALL, 1996).

Tabela 2. Características dos complexos de cobre.

<i>Estado de oxidação</i>	<i>Configuração eletrônica</i>	<i>Número de coordenação-geometria</i>	<i>Spin</i>
+1	d^{10}	2-linear	0
		3-trigonal	
		4-tetraédrico	
		6-octaédrico	
+2	d^9	4-tetraédrico ou quadrado planar	1/2
		5-pirâmide de base quadrada ou bipirâmide trigonal	
		6-octaédrico	
+3	d^8	6-octaédrico	1

Devido às características supracitadas, inúmeras metaloproteínas contêm cobre e estão geralmente envolvidas em sistemas redox biológicos. Essas enzimas estão divididas em sete principais grupos (SOLOMON; SUNDARAM; MACHONKIN, 1996; SOLOMON *et al.*, 2014):

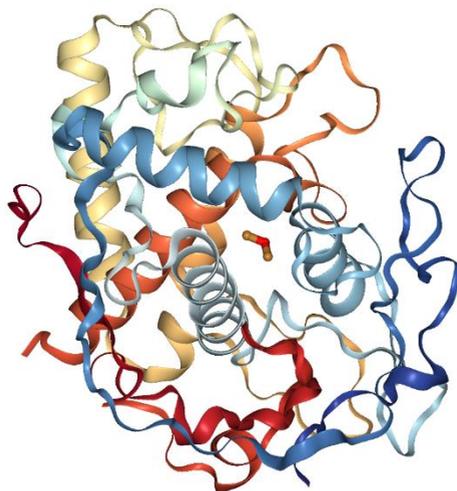
- Tipo 1: são proteínas mononucleares conhecidas também como proteínas de cobre azuis, devido à presença de uma transição Cisteína \rightarrow Cu(II) em 600 nm o que lhes confere a cor característica. Além da cisteína duas histidinas e uma metionina completam sua esfera de coordenação. Participam de sistemas de transferências de elétrons e como exemplo pode-se citar a ascorbato oxidase, nitrito redutase e azurina;
- Tipo 2: proteínas mononucleares ditas como normais, pois apresentam características tradicionais complexos mononucleares de Cu contendo N e O em sua esfera de coordenação primária. No estado oxidado a cor é azul claro, gerada por transferências $d-d$. São observadas geometrias tetragonais distorcidas ou quadrado planares. Nesta classe temos a galactose oxidase, superóxido dismutase e dopamina β -hidrolase, que estão envolvidas em processos catalíticos e também apresentam atividade redox;

- Tipo 3: são enzimas binucleares de cobre rodeados por três resíduos de histidina, e possuem sinal silencioso no EPR evidenciando o acoplamento antiferromagnético. Possuem a capacidade de se ligar reversivelmente ao O₂. A catecol oxidase e a tirosinase são exemplos deste grupo;
- Tipo 4: são caracterizadas pela formação de clusters, composta pelos centros metálicos do tipo 2 e 3, e são responsáveis por uma ampla gama de reações de oxidação. Como exemplo tem-se a lacase;
- Cu A: são binucleares, possuem valência mista e geometria tetraédrica tendo em sua esfera de coordenação duas histidinas e duas cisteínas e, possuem coloração púrpura no estado oxidado;
- Cu Z: formada por clusters, onde quatro íons estão dispostos de maneira tetraédrica, contendo um íon de enxofre e uma hidroxila completando sua estrutura. Os espectros de EPR registram dois tipos de oxidação: Cu₃^ICu^{II} e Cu^ICu₃^{II}. Como exemplo tem-se a nitro óxido redutase, responsável pela redução de N₂O a N₂;
- CuB: representada por um sítio mononuclear de Cu contendo uma vacância na esfera de coordenação, no estado oxidado acopla-se antiferromagneticamente à um íon ferro, localizado próximo de sua estrutura na citocromo C oxidase.

1.3 CATECOL OXIDASE (COx)

A primeira catecol oxidase (COx) foi descoberta em 1937, mas, apenas em 1998, Krebs e colaboradores resolveram a sua estrutura cristalina, ilustrada na **Figura 1**. A COx possui uma massa molar que varia de 38 a 45 kDa, uma forma elipsoidal com dimensões de 55 x 45 x 45 Å e sua estrutura secundária é dominada por regiões de α -hélices (SIEGBAHN; GUELL, 2007; KLABUNDE *et al.*, 1998) É classificada como uma metaloenzima de cobre do tipo 3, ou seja, possui um cofator binuclear de cobre. Está disponível em plantas e frutas como a batata doce, maçã e litchia e também em crustáceos e insetos (GERDEMANN, 2002).

Figura 1. Representação esquemática da enzima catecol oxidase, encontrada na batata doce *Ipomoeas batatas*.

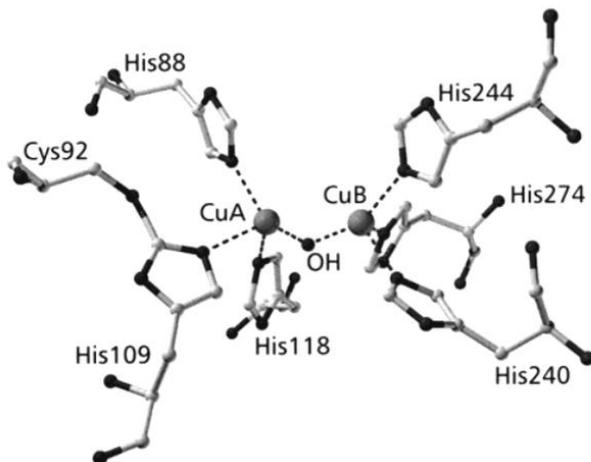


Fonte: PDB acesso 1BT1.

Sua função principal é a conversão de um grande número de catecóis (compostos *orto*-fenólicos) para suas respectivas *o*-quinonas, que após serem oxidadas, sofrem auto polimerização gerando a melanina, pigmento escuro que possui a função de proteção dos organismos. Após a descoberta da estrutura cristalina, pôde-se comprovar que a COx possui dois principais estados de oxidação (KLABUNDE *et al.*, 1998; GERDEMANN, 2002):

- Estado *met*, ou estado nativo, onde ambos os centros de cobre estão no estado de oxidação 2+, havendo um hidróxido fazendo a ponte entre os dois metais. A distância de ligação entre o CuA e o CuB é de 2,9Å, entre o CuA e o OH⁻ é de 1,9 Å enquanto do CuB para o OH⁻ é de 1,8 Å. Ambos os íons cobre estão cercados por resíduos de histidina, completando a esfera de coordenação originando uma geometria piramidal trigonal em cada um dos centros metálicos, como fica esclarecido na **Figura 2**.

Figura 2. Estrutura de Raios X da enzima catecol oxidase no estado *met*.



Fonte: (GERDEMANN, 2002).

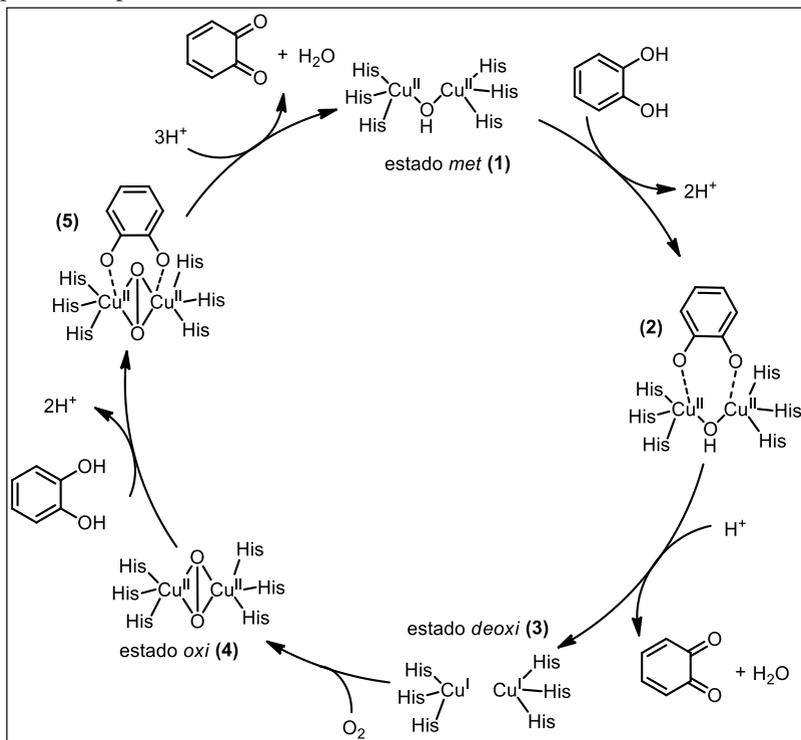
- Estado *deoxi*, ou estado reduzido, onde o estado de oxidação do centro metálico está na sua forma mais reduzida $\text{Cu}^{\text{I}} \text{Cu}^{\text{I}}$, é obtida através da redução do estado *met*. Nesta estrutura a distância de ligação entre os dois cobres aumenta para a ordem de 4,4 Å. O CuA está rodeado por 3 histidinas e uma molécula de água com a distância de 2,2Å do átomo de CuA numa geometria pirâmide trigonal, enquanto o CuB está rodeado por três histidinas numa geometria quadrado planar.

A compreensão dos estados da COx foi de extrema importância para a busca do mecanismo de atuação da enzima frente à oxidação do substrato. Em 1996, Solomon e colaboradores propuseram o mecanismo mais aceito, que está ilustrado no **Esquema 1**, o qual indica que a forma *met* (**1**) reage com um equivalente do substrato, sendo que este último coordena-se à enzima de forma bidentada simultaneamente nos dois centros de Cu(II), originando a estrutura (**2**) e, após o substrato ser oxidado, o estado *deoxi* (**3**) é observado, onde os centros de cobre encontram-se na sua forma mais reduzida.

A estrutura (**4**) é formada após a reoxidação pela molécula de O_2 , coordenando-se em ponte entre os centros de cobre, formando o estado *oxi* (**4**), esta sofre o ataque de uma segunda molécula de substrato o qual sofre oxidação pelo peróxido e a espécie (**1**) é regenerada. Ao final do

ciclo são formados duas molécula da respectiva quinona e água. (SOLOMON; SUNDARAM; MACHONKIN, 1996).

Esquema 1. Proposta mecânica da reação de oxidação de *o*-difenois promovida pela enzima catecol oxidase.



Fonte: (SOLOMON; SUNDARAM; MACHONKIN, 1996)

No entanto, o mecanismo de oxidação desta macromolécula não é totalmente esclarecido. Rotas similares foram propostas, como a publicada por Klabunde e colaboradores, na qual o substrato coordena-se de maneira monodentada ao centro enzimático no estado *met* (KLABUNDE *et al.*, 1998).

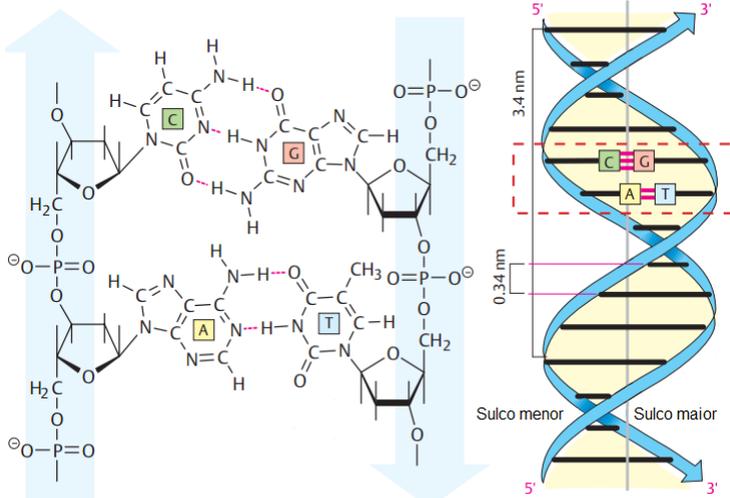
A oxidação de substratos orgânicos com O₂ molecular sob condição ambiente é de extrema importância tanto para aplicações biológicas quanto para a indústria e seus processos sintéticos sendo importante econômica e ambientalmente. Um exemplo é o diagnóstico médico para a presença de catecolaminas como a adrenalina e a noradrenalina. O fato do isolamento e purificação de enzimas possuir

pouca viabilidade econômica, além das lacunas presentes na resolução do ciclo catalítico, aumenta o interesse na síntese de compostos que possam mimetizar a atividade catecolase (NATARAJAN *et al.*, 2019; SIEGBAHN; GUELL, 2007).

1.4 NUCLEASES/HIDROLASES

O ácido desoxirribonucleico (DNA) é um composto orgânico que contém todas as instruções genéticas necessárias para coordenar o desenvolvimento dos seres vivos. Sua função principal é o armazenamento de informações genéticas necessárias para a formação de proteínas. A estrutura tridimensional do DNA foi elucidada por Watson e Crick em 1953. Estes propuseram que se tratava de duas cadeias helicoidais de um polímero longo, que se enrolava em torno de um eixo imaginário formando uma dupla hélice, e com este pareamento de fitas, gera-se um sulco maior e um sulco menor, como representado na **Figura 3**. Este polímero é constituído por nucleotídeos, que por sua vez possuem 3 componentes cruciais: açúcar, fosfato e bases nitrogenadas (NELSON; COX; LEHNINGER, 2005).

Figura 3. Esquematisação da conformação do DNA.



Adaptado de: (KOOLMAN; ROEHM, 2005).

As bases nitrogenadas são as purinas: adenina (A) e guanina (G), e as bases pirimidínicas: citosina (C) e timina (T). Sendo que cada base de uma fita esta pareada no mesmo plano com a base da outra fita, através de interações de hidrogênio que ocorrem entre G e C e também entre A e T, exclusivamente (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2002).

Na formação da fita de DNA, uma base nitrogenada se une a uma pentose por uma ligação covalente glicosídica gerando um nucleosídeo, e o fosfato é esterificado pelas pentoses de dois nucleosídeos formando ligações fosfodiésteres unindo, assim, diferentes nucleotídeos como ilustrado na figura acima. Como resultado, o esqueleto é constituído pelos resíduos fosfato e pentose, enquanto as bases nitrogenadas estão posicionadas como grupos laterais (KOOLMAN; ROEHM, 2005).

Estas ligações fosfodiésteres do DNA possuem tempo de meia vida que ultrapassa em muitos anos o tempo de vida humano, sob condições biológicas. Essa estrutura funciona como um poderoso reservatório de informações genéticas, assegurada principalmente por esta enorme estabilidade química de suas ligações fosfodiéster. No entanto, a quebra do DNA é essencial para a duplicação celular e é realizada de maneira extremamente rápida no meio biológico quando está na presença de enzimas chamadas nucleases, onde muitas delas possuem metais em seu sítio ativo, possibilitando a manutenção da vida (HEGG; BURSTYN, 1998).

Nucleases são enzimas pertencentes a classe das hidrolases, e clivam as ligações fosfodiéster com uma aceleração de 10^{16} vezes frente às mesmas não catalisadas. Essa enorme eficiência catalítica muitas vezes está atrelada à presença de metais como cofatores, geralmente Zn(II), Mn(II) e Fe(III) (BOSEGGIA *et al.*, 2004).

A hidrólise das ligações fosfodiésteres é de importância crítica em vários estágios do ciclo celular. Um exemplo da importância das mesmas é a frutose 1,6-bifosfatase, enzima reguladora na via gliconeogênese, processo no qual precursores são convertidos em glicose, que contém em seu cofator Mn(II) (SREEDHARA; COWAN, 2001).

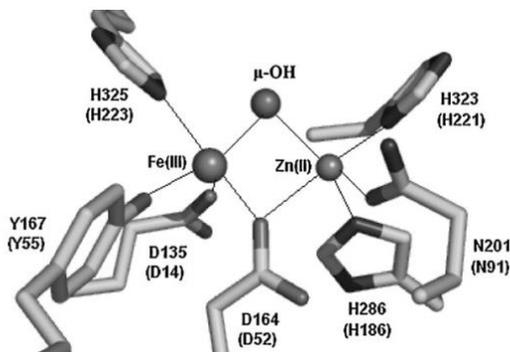
Dentro das hidrolases estão presentes as fosfohidrolases, responsáveis pela clivagem de ligações de ésteres de fosfato, agindo sobre as ligações P-O. Estas enzimas dependem diretamente da ação de seus cofatores metálicos, como é o caso das metaloenzimas Fosfatases Ácidas Púrpuras (PAPs), que contém em seu cofator dois centros metálicos capazes de clivar ésteres de fosfato de maneira hidrolítica na faixa de pH entre 4 e 7. Sua função no meio biológico não é específico,

incluindo hidrolisar ésteres de fosfato como ATP, mononucleotídeos e pirofosfatos inorgânicos (THAN; FELDMANN; KREBS, 1999).

O cofator metálico das PAPs é necessariamente heterovalente do tipo $\text{Fe}^{\text{III}}\text{M}^{\text{II}}$ onde $\text{M} = \text{Fe}, \text{Zn}$ ou Mn , esta combinação de ácidos macios e duros de Pearson gera condições adequadas para que ocorra a geração de um nucleófilo e a ativação do substrato, sendo ambas as etapas necessárias para que a clivagem ocorra. As PAPs isoladas de animais – suínos, bovinos, ratos e humanos possuem centro metálico $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$, enquanto a PAP encontrada no feijão vermelho possui $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ e a da batata doce possui $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{II}}$ (LINDQVIST *et al.*, 1999).

Esta enzima contém sete resíduos de aminoácidos típicos. Em torno do átomo de Fe^{III} , encontram-se um aspartato, uma tirosina e uma histidina, sendo esta última a responsável pela coloração roxa característica dessas metaloenzimas, a qual resulta da transferência de carga ligante-metal $\text{Ty} \rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$ em 550 nm com ϵ entre 3000 a 4000 $\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Em torno do metal bivalente aparecem os outros quatro resíduos de aminoácidos que compõem a esfera de coordenação das PAP's, sendo duas histidinas, uma asparagina e um aspartato, este último está coordenado em forma de ponte entre os dois centros metálicos A **Figura 4** ilustra o que foi descrito acima, representando uma PAPs com cofator metálico $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ (HANSON; COMBA, 2013; WILCOX, 1996).

Figura 4. Estrutura cristalina do sítio ativo da PAP possuindo centro metálico $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$.



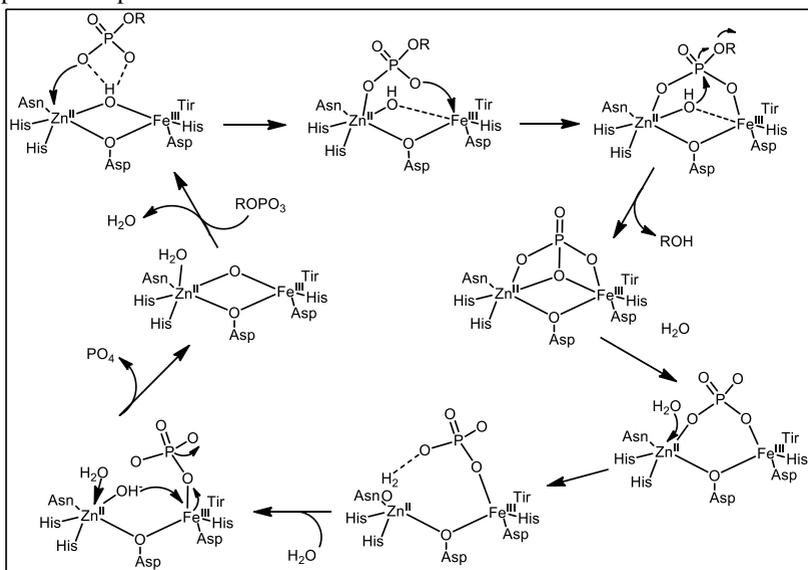
Fonte: (SCHENK *et al.*, 2013).

Apesar da diferença estrutural no cofator metálico, acredita-se que todas as PAP's tenham o mesmo ciclo catalítico, ilustrado no **Esquema 2**. No início do ciclo catalítico, o substrato coordena-se no íon

metálico bivalente, posicionando-se de forma a facilitar o posterior ataque nucleofílico. A identidade deste nucleófilo sofreu várias investigações e, hoje, aceita-se que este nucleófilo é a hidroxila em ponte entre os dois metais. A sua baixa nucleofilicidade quando coordenada bidentada é superada quando ocorre a coordenação do substrato e a hidroxila passa para uma coordenação “quase monodentada” afastando-se do íon $M(II)$. A coordenação do fosfato faz com que o fósforo fique mais eletrofílico, auxiliando no ataque do nucleófilo (SCHENK *et al.*, 2008).

Após o ataque nucleofílico e a saída do grupo RO^- do fosfato, este último permanece ligado ao centro metálico. A etapa menos elucidada do ciclo é o reestabelecimento da forma ativa da enzima, o que requer a saída do íon fosfato e a formação da forma $\mu-OH^-$. O mecanismo mais aceito é a incorporação da molécula de água no metal bivalente que, ao ser desprotonada, interage com o $Fe(III)$, reestabelecendo a ponte hidróxido e, enfraquecendo a ligação com o fosfato, fazendo com que o fosfato seja liberado e a enzima, com seu sítio ativo, seja restaurada (SCHENK *et al.*, 2008).

Esquema 2. Mecanismo proposto para a hidrólise de ésteres de fosfato promovida pelas PAPs.



Adaptado de: (SCHENK *et al.*, 2013).

Apesar de tanto as nucleases quanto as fosfohidrolases agirem com eficiência sobre as ligações fosfodiésteres, sua síntese ou extração não são viáveis para estudo. Um dos desafios da química bioinorgânica é a síntese de pequenas moléculas que possam atuar como hidrolases sintéticas, realizando a clivagem destas ligações em tempo razoável e com boa eficiência catalítica em condições fisiológicas. Estas substâncias precisam adentrar na célula para exercer sua função, mas isso não é facilitado quando a porção orgânica do complexo é hidrofóbica sendo assim, a escolha do ligante também é um desafio para o design dessas moléculas. Além da solubilidade em meio biológico, essas moléculas necessitam serem quimicamente estáveis pois, do contrário, seriam metabolizadas rapidamente, ocasionando toxicidade aos tratamentos terapêuticos (SIGMAN, 2001).

A utilização destas nucleases sintéticas tem uma vasta gama de objetivos, como, manipulação de genes, planejamento de sondas, reagente para *footprinting* de DNA, até novas terapias antineoplásicas. No entanto, estas moléculas precisam ter uma enorme especificidade, reconhecendo com precisão sequências de pares de bases nitrogenadas ou sulcos do DNA (SIGMAN, 2001; MANCIN *et al.*, 2005).

1.5 PROMISCUIDADE ENZIMÁTICA

Enzimas, como mencionado anteriormente, são conhecidas por possuir exímia função catalítica com uma notável especificidade. No entanto, recentemente, descobriu-se que estas não são tão específicas quanto se imaginava, observando que uma estrutura pode apresentar mais de uma função no organismo, não sendo necessariamente catalítica, podendo ser regulatória ou meramente estrutural. Surgiu, assim, o termo promiscuidade enzimática, definida como a habilidade de uma espécie em desenvolver mais de uma função (COPLEY, 2003).

A origem desta promiscuidade intriga a comunidade científica, sendo considerado que as espécies enzimáticas primitivas possuíam uma ampla atuação enzimática e que, com o processo evolutivo tornaram-se específicas para determinada função, sendo que a segunda atividade desempenhada pela espécie promiscua é inferior à sua atividade original. Isto faz com que se busque a compreender como um mesmo sítio ativo, inicialmente específico para uma determinada função biológica, torna-se promíscuo (CARBONI-OERLEMANS *et al.*, 2006; COPLEY, 2017).

Há um amplo número de enzimas que apresentam promiscuidade, como a fosfatase alcalina e a piruvato descarboxilase. A primeira, além de se mostrar eficiente como monofosfatase atua também sobre fosfodiésteres, fosfoamidas, ésteres de sulfato, tiofosfatos e fosfitos. A piruvato descarboxilase tem como função principal descarboxilar o piruvato no entanto, em uma reação secundária, a mesma se liga ao acetaldeído e ao benzaldeído, como uma liase, formando o (*R*)-fenilacetilcarbinol (KHERSONSKY; ROODVELDT; TAWFIK, 2006; BORNSCHEUER; KAZLAUSKAS, 2004).

Hult e colaboradores classificaram a promiscuidade enzimática em três classes: as promíscuas de condição, enzimas que conseguem apresentar atividade em condições reacionais diferentes da sua natural, foram observadas na presença de solventes orgânicos ou mesmo sem solvente, sob altas temperaturas e também sob condições extremas de pH. As promíscuas de substrato, quando uma mesma enzima é capaz de atuar em diferentes substratos semelhantes, como é o caso da monooxigenase capaz de atuar em cerca de 150 substratos. E, por fim, as que apresentam promiscuidade catalítica, estas se mostram ativas frente a diferentes transformações químicas, podendo ser de forma acidental quando ocorre como via secundária pela enzima original, ou induzida quando uma nova reação é estabelecida por mutações, redirecionando a ação catalítica (HULT; BERGLUND, 2007; COPLEY, 2003).

Apesar da promiscuidade enzimática ser alvo de diversos estudos atuais, a busca de análogos sintéticos promíscuos ainda constitui um desafio enorme para a química bioinorgânica. Alguns dos poucos exemplares de biomiméticos promíscuos deriva dos estudos oriundos de Neves e colaboradores (REY *et al.*, 2007; CAMARGO *et al.*, 2015; PERALTA *et al.*, 2012; OSÓRIO *et al.*, 2015).

1.6 QUÍMICA DOS CALCOGÊNIOS

A maior parte dos ligantes estudados em bioinorgânica se resume a compostos oxigenados ou nitrogenados. No entanto ligantes contendo enxofre e, principalmente, selênio, são muito menos estudados (LIVINGSTONE, 1964).

Na natureza, vários sistemas biológicos possuem funções químicas contendo enxofre, inclusive importantes aminoácidos como cisteínas e metioninas, presentes em interessantes sistemas

metaloenzimáticos, como a superóxido dismutase, responsável pela conversão do íon superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio. Inúmeros exemplos podem ser citados, confirmando a importância biológica do enxofre (GALE *et al.*, 2011).

O selênio foi descoberto em 1818 por Berzelius. No entanto, apenas em 1973 descobriu-se a presença deste elemento na enzima Glutationa Peroxidase (GPX), a qual possui importante ação antioxidante, sendo capaz de decompor espécies reativas de oxigênio (EROs), como peróxido, em água e álcool. A partir de então este elemento passou a ser visto com melhores olhos, sendo considerado elemento essencial, e que um humano adulto necessita de cerca de 70 µg/dia. Depois desta descoberta, ocorreu a evidência de uma série de selenoproteínas, as quais possuem ação dehidrogenase, hidrogenase, glicina redutase, entre outras (WIRTH, 2015; MUGESH; MONT; SIES, 2001).

Na química orgânica, o desenvolvimento de organocalcogenados como análogos sintéticos vem sendo realizado com êxito. Como exemplo bem sucedido tem-se o Ebselen, composto mimético a GPX. Por outro lado, na bioinorgânica, o uso desses calcogênios não é tão explorado. A busca de compostos orgânicos contendo calcogênios é muito mais interessante para serem estudados como ligantes ao invés do uso de compostos inorgânicos calcogenados, devido a maior biodisponibilidade dos mesmos (KIMANI; BRUMAGHIM; VANDERVEER, 2010; WIRTH, 2015).

Os ligantes contendo enxofre e selênio, diferenciam-se bastante daqueles contendo nitrogênio e oxigênio, uma vez que Se e S são consideravelmente maiores, possuem elevada polarizabilidade e apresentam eletronegatividade menor, quando comparado ao N e O. Possuem orbitais *d* vazios com energia e simetria adequadas para a formação de ligações $d\pi-d\pi$, principalmente com metais em baixos estados de oxidação e, nas espécies RSe^- ou RS^- , possuem até três pares isolados no átomo de calcogênio, fato que os caracterizam como um doador π (LIVINGSTONE, 1964; KRAATZ *et al.*, 1993; MANDAI *et al.*, 1997).

A diferença de eletronegatividade entre Cl e Br é menor quando comparada ao Br e I assim, não se torna surpresa que ligantes que possuem S e Se não sejam substancialmente diferentes, em relação a sua eletronegatividade (JORDENSEN, 1968).

1.7 COMPLEXOS MODELOS RELEVANTES PARA ESTE TRABALHO

Tanto PAPs quanto COx tornaram-se excelente ponto de partida para a síntese e caracterização de complexos modelos, os quais buscam expressar especificidades espectroscópicas, estruturais ou funcionais destas metaloproteínas. Apesar do sítio ativo destas metaloenzimas serem binucleares, a presença de dois íons metálicos não é exigência para a eficiência dos sistemas miméticos, apesar do número de exemplares mononucleares ainda ser em menor número quando comparado aos binucleares (FENG; MAREQUE-RIVAS; WILLIAMS, 2006; HEYING *et al.*, 2019).

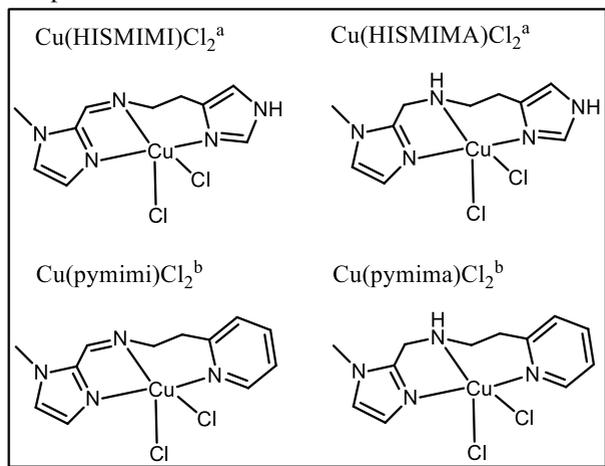
O primeiro composto mononuclear que surgiu na literatura como nuclease sintética é o bis(1,10-fenantrolina)cobre(II). Não se tem muitos detalhes de como este mecanismo ocorre no entanto, sabe-se que possui uma etapa oxidativa. Desde então, o cobre tem sido utilizado com eficiência como centro metálico em diversos miméticos, e muito se desenvolveu acerca dos sistemas mononucleares. Sua estabilidade depende diretamente do número e tipo de átomos doadores presentes na porção orgânica em torno do metal, bem como efeitos estéricos e geometria dos mesmos compostos. Com a combinação certa entre o ligante e o metal, estes modelos se tornam capazes tanto de clivar hidroliticamente substratos ativados contendo ligações P-O, DNA e também de estarem envolvidos em reações de oxidação. (SIGMAN, 1986; PAULY *et al.*, 2000).

Scarpellini e colaboradores reportaram dois complexos mononucleares de Cu (II): Cu(HISMIMI)Cl₂ e Cu(HISMIMA)Cl₂, cujas estruturas estão ilustradas na **Figura 5**. Ambos os complexos são pentacoordenados e possuem ligantes tridentados N₃ imidazólicos. Os complexos se mostraram ativos na clivagem do substrato modelo ativado 2,4-BDNPP e também na clivagem de DNA. Os autores reforçam a presença crucial dos cloretos *cis* orientados presentes na esfera de coordenação do cobre, pois sua posição e labilidade favorecem a aproximação do substrato e posterior ataque hidrolítico (SCARPELLINI *et al.*, 2003).

Da mesma maneira, Ferre e colaboradores reportaram dois complexos, também mononucleares de Cu(II) pentacoordenados: Cu(pymimi)Cl₂ e Cu(pymima)Cl₂, ilustrados na **Figura 5**. Eles possuem ligante tridentado N₃ imidazólicos e dois ligantes cloretos *cis* orientados,

fechando a esfera de coordenação. Estes complexos possuem atividade catalítica na oxidação do substrato 3,5-DTBC, demonstrando sua atividade catecolase, sendo esta superior a complexos binucleares (FERRE *et al.*, 2017).

Figura 5. Complexos mononucleares de cobre.



^a(SCARPELLINI *et al.*, 2003), ^b(FERRE *et al.*, 2017).

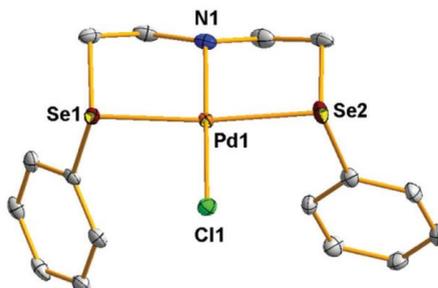
Outros complexos com o mesmo perfil estrutural são encontrados na literatura, possuindo atividade hidrolítica frente a substratos fosforilados ou ao DNA (DEAL; HENGGE; BURSTYN, 1996; HIROHAMA; KURANUKI; EBINA, 2005). Outros são reportados com atividade catecolase (POSADA *et al.*, 2018; NATARAJAN *et al.*, 2019; POSADA *et al.*, 2018). No entanto, complexos mononucleares de Cu(II) promíscuos possuindo atividade hidrolase e catecolase são raros, mesmo esta promiscuidade já tendo sido reportada em binucleares (OSÓRIO *et al.*, 2012; REY *et al.*, 2007).

Oishi e colaboradores concluíram que complexos mononucleares de cobre(II) com estruturas não planares são mais ativos frente a oxidação de catecois quando comparado a complexos planares. Sendo assim modificando a geometria do complexo interfere diretamente na atividade catalítica (OISHI *et al.*, 1980).

Kumar e colaboradores, reportaram a síntese de uma série de ligantes organocalcogenados, que complexaram de maneira tridentada com paládio, formando complexos quadrado planares. Estes mostraram-se eficientes na catálise de acoplamentos C-C do tipo Suzuki-Miyaura e,

sua estrutura está ilustrada na **Figura 6**. Possuindo átomos doadores do tipo *Se,N,Se* e *S,N,S*, foram chamados pelo autor como ligantes em formato de pinça (KUMAR *et al.*, 2013).

Figura 6. Complexo reportado por Kumar e colaboradores, contendo ligante organocalcogenado tridentado *Se, N, Se*.



Fonte: (KUMAR *et al.*, 2013)

Complexos mononucleares de cobre com atividade hidrolase e/ou catecolase com ligantes contendo enxofre em sua esfera de coordenação primária são escassos na literatura, enquanto os que possuem selênio são inexplorados. Diante disto e de outras informações apresentadas, é possível observar que a utilização de ligantes que contém átomos maiores como Se e S, dá acesso a uma química muito pouco explorada e quimicamente muito diferente da realizada até então. Os ligantes reportados por Kumar e colaboradores, descritos acima, mostraram-se interessantes para a obtenção de complexos mononucleares de cobre (II), tendo em vista seus três átomos quelantes.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste projeto consiste na síntese e caracterização de complexos mononucleares de cobre(II), com a utilização de ligantes tridentados contendo calcogênios macios (Se e S) em sua estrutura, visando-se avaliar sua atividade catecolase e hidrolase frente a substratos para as mesmas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Projetar ligantes tridentados contendo o núcleo X, N, X, onde X=Se ou S;
- ii. Sintetizar e caracterizar por técnicas espectroscópicas estes ligantes via IV, RMN de ^1H e de ^{13}C e espectrometria de massas ESI-MS;
- iii. Sintetizar e caracterizar os complexos mononucleares de cobre (II) com os ligantes, previamente sintetizados, por análises espectroscópicas (IV, UV-Vis, Raios X), eletroquímicas (voltametria cíclica, e voltametria de onda quadrada, e condutivimetria) e também por espectrometria de massa;
- iv. Realizar estudos cinéticos dos complexos frente ao substrato modelo para reações de oxidação do catecol 3,5-di-*tert*-butilcatecol (3,5-DTBC);
- v. Realizar ensaios cinéticos dos complexos frente ao substrato modelo de reação de hidrólise bis(2,4-dinitrofenil) fosfato (2,4-BDNPP);

3. EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS

Os reagentes, materiais, gases e solventes a seguir foram empregados nas sínteses e análises, foram adquiridos de fontes comerciais (Sigma Aldrich, Acros e Vetec) e utilizados sem purificação prévia: brometo de fenila, argônio, magnésio, selênio elementar 200 mesh, sulfato de magnésio, tiosulfato de sódio, borohidreto de sódio, tiofenol, iodo, cloreto de cobre (II), iodeto de potássio, bis (2-cloroetil) amina hidrocloreto, ferroceno, perclorato de lítio, brometo de potássio grau espectroscópico, hidróxido de lítio, MES, HEPES, CHES, hexafluorofosfato de tetrabutilamônio recristalizado em etanol, diclorometano PA, acetonitrila grau espectroscópico, metanol grau espectroscópico, ácido sulfúrico, água deuterada, clorofórmio deuterado, álcool isopropílico PA, tetrahydrofuro PA, dimetilsulfóxio PA, etanol PA, acetato de etila PA e hexano PA.

Os solventes orgânicos utilizados para isolamento e purificação também foram obtidos de fontes comerciais (Vetec, Synth e Quimidrol) e, quando necessário, foram purificados utilizando métodos descritos em literatura.

As placas de cromatografia em camada delgada (CCD) provêm de fontes comerciais, gel de Sílica da marca Machrrey-Nagel com 0,25 mm de espessura e partículas entre 5 a 40 μm de diâmetro. Utilizou-se, como método de revelação, luz ultravioleta, cuba de iodo e solução ácida de vanilina, seguido de aquecimento a 110 $^{\circ}\text{C}$.

Para os produtos que foram purificados com o uso de cromatografia em coluna (CC), o material utilizado foi uma coluna de vidro e, como fase estacionária, gel de sílica 0,063-0,2 mesh (Machrrey-Nagel). Como eluente utilizou-se uma mistura de solventes entre hexano e acetato de etila.

O substrato bis (2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP) foi preparado, purificado e caracterizado de acordo com procedimentos descritos na literatura (BUNTON; FARBER, 1969).

O substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-DTBC) foi adquirido comercialmente pela Sigma-Aldrich e recristalizado para uso com éter de petróleo.

3.2 MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

Para elaboração desse trabalho, foi feito uso de equipamentos e técnicas visando caracterizar os compostos obtidos. Os métodos utilizados bem como suas condições estão descritas nessa seção.

3.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho-IV

Os espectros de absorção na região do infravermelho, foram registrados em um espectrofotômetro Bruker modelo Alpha que se encontra na Central de Análises, Departamento de Química-UFSC. Utilizando-se brometo de potássio (KBr) de grau analítico, as amostras foram prensadas (~9 toneladas), formando pastilhas. Estas pastilhas foram introduzidas no caminho óptico do equipamento para leitura do percentual de transmitância (%T).

3.2.2 Ponto de fusão

Os valores de ponto de fusão (P.F.) foram determinados em aparelho MQ APF-301, não aferido, localizado no LabSelen, Departamento de Química-UFSC.

3.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono – RMN de ^1H e ^{13}C

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetros Bruker Avance 200 ou AS-400, operando em 200 e 400 MHz respectivamente, que se encontram na Central de Análises, Departamento de Química - UFSC. As amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl_3), empregando-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos (δ) estão relacionados em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS, colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s = simpleto, d = duplete, t = tripleto e, m = múltiplo), o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa e a constante acoplamento (J) expressa em Hertz (Hz).

3.2.4 Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas

As análises espectrométricas de massas de baixa resolução, foram realizadas através de um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas de baixa resolução (CG-EM) marca Shimadzu modelo QP5050A operando com uma coluna DB-5MS ((5%-fenil) - dimetilpolisiloxano), com 30 m de comprimento e 25 mm de espessura, adquirido com o auxílio do INCT-Catálise. Os dados estão expressos na forma da relação m/z dos fragmentos e, entre parênteses, apresenta-se a intensidade relativa dos picos frente ao pico base (100%).

3.2.5 Espectrometria de Massas - ESI (*Electron Spray Ionization*)

Os espectros de massas de alta resolução dos ligantes foram obtidos a partir de um espectrômetro de massas micrOTOF Q-II marca Bruker Daltonics, do Centro de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME) - UFSC. Tendo como fonte de ionização APPI (*Atmospheric Pressure Photoionization*) operando em modo de íon positivo. Foi utilizado um fluxo constante 1500 $\mu\text{L}/\text{h}$ de solvente, sendo esse metanol de grau MS. Os dados obtidos foram processados em um software Bruker Data Analysis versão 4.0.

As análises de espectrometria de massas com ionização via eletrospray (ESI-MS) dos complexos foram realizadas em um equipamento Amazon - *Íons Trap MS* do Centro de Biologia Molecular Estrutural - UFSC, em metanol em concentrações de 500 ppb e fluxo de 180 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. A temperatura do capilar foi mantida entre 180 e 200 °C e a voltagem do capilar entre -400 e -500 V.

3.2.6 Condutividade Molar

As medidas condutimétricas dos complexos foram realizadas no aparelho Metrohm 856, do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de química - UFSC. Os compostos foram dissolvidos em CH_3OH , com concentração de 0,01 mol L^{-1} . O aparelho foi calibrado com uma solução padrão de KCl 0,1 mol. L^{-1} cuja condutividade é de 1408 μS em água a 25°C.

3.2.7 Difractometria de Raios X

As análises de difração de Raios X de monocristal dos complexos foram realizadas na Central de Análises, Departamento de Química - UFSC, pelo Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi. Os dados foram coletados em um difratômetro Kappa APEX II DUO equipado com um tubo de molibdênio ($\text{MoK}\alpha \lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e monocromador de grafite à 200 K. Todas as estruturas cristalinas foram resolvidas através de métodos diretos com a utilização do programa SHELXS97, e refinadas pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa com a utilização do programa SHELXL97 (SHELDRICK, 2008).

As representações gráficas das estruturas moleculares foram geradas utilizando o programa ORTEP (FARRUGIA, 1997).

3.2.8 Análise elementar C, H e N

A determinação da percentagem de C, H e N nos complexos foram determinadas através de um analisador de massas modelo EA 1110 CHNS-O - CE Instruments, localizado na Central de Análises do Departamento de Química - UFSC.

3.2.9 Espectroscopia eletrônica – UV/Vis

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e visível foram obtidos em um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química - UFSC. As análises foram realizadas utilizando-se cubetas de quartzo com capacidade para 4 mL e 1 cm de caminho óptico.

Experimentos no estado sólido (reflectância difusa) foram realizados no equipamento Perkin Elmer modelo Lambda 750 através de módulo acoplável, onde as amostras foram dispersas em pastilha de KBr espectroscópico.

3.2.10 Eletroquímica

O comportamento redox dos complexos foi investigado por voltametria cíclica e/ou voltametria de onda quadrada em um potenciostato/galvanostato modelo Epsilon BAS (Bioanalytical

Systems, Inc.) localizado no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química - UFSC. Os experimentos foram feitos para ambos os complexos sob atmosfera de argônio, em MeOH, MeCN e DCM além das condições cinéticas de oxidação (pH 7) em MeOH/H₂O (97:3 % v/v).

Foi utilizado como eletrólito suporte, hexafluorofosfato de tetrabutilamônio 0,1 mol.L⁻¹ ou KCl 0,1 mol L⁻¹ e uma célula eletrolítica contendo três eletrodos: um eletrodo de referência de Ag/Ag⁺, um eletrodo de trabalho de carbono vítreo e um eletrodo auxiliar de platina. Foi empregado como padrão interno o composto ferroceno (par Fc⁺/Fc) para correção do eletrodo de referência ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

3.2.11 Reatividade

3.2.11.1 Atividade hidrolase

A atividade hidrolase dos complexos foi avaliada através da reação frente ao substrato ativado bis (2,4-dinitrofenil) fosfato (2,4-BDNPP), todos os experimentos cinéticos foram realizados em triplicata e sob condições de excesso de substrato. Com o auxílio de um espectrofotômetro UV-vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostaticado, monitorou-se a variação de absorvância ocorrida em 400 nm (pH/ϵ L.mol⁻¹cm⁻¹ = 4,0/3408; 4,5/7182; 5,0/10078; 5,5/11405; 6,0/12004; 6,5-10,0/12100), valor este referente a liberação do ânion 2,4-dinitrofenolato como produto da reação de hidrólise. A reação foi monitorada durante 10 minutos e os dados foram tratados pelo método das velocidades iniciais (PERALTA *et al.*, 2010). Em todos os experimentos cinéticos a correção da hidrólise espontânea do substrato foi realizada.

Os estudos em função do pH para atividade de hidrólise foram realizados em uma faixa de pH entre 4 e 9,5 a 25 °C. Utilizaram-se cubetas de vidro com capacidade para 4,0 mL e caminho óptico de 1 cm, foram utilizadas soluções tampão 0,1 mol L⁻¹ MES (pH 4 a 6,5), HEPES (pH 7,0 a 8,0) e CHES (9,0 a 9,5) com força iônica mantida constante ($I = 0,1$ mol L⁻¹, LiClO₄). As condições cinéticas estabelecidas para os complexos C_{Se} e C_S estão na **Tabela 3**.

Tabela 3. Condições para o efeito de pH.

	<i>C_{Se}</i> <i>Volume;</i> <i>Concentração^a</i>	<i>C_s</i> <i>Volume;</i> <i>Concentração^a</i>
Complexo ^b	200 µL; $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	200 µL; $9,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$
Substrato ^b	400 µL; $3,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	400 µL; $3,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
Tampão	850 µL; $0,05 \text{ mol L}^{-1}$	850 µL; $0,05 \text{ mol L}^{-1}$
Solvente	250 µL	250 µL
Volume final	1700 µL	1700 µL

^a Volume final na cubeta, ^b solução de complexo e substrato em MeCN.

O gráfico das velocidades iniciais (V_0) em função do pH permitiu a obtenção dos valores de pK_a cinético para as espécies em equilíbrio e pH ótimo.

O efeito da concentração do substrato foi realizado em pH 6,5 para ambos os complexos. O efeito de substrato foi realizado fixando-se a concentração do complexo e tampão na cubeta reacional, fazendo-se uso das seguintes condições: 850 µL de solução tampão [T_{final}] = 0,05 mol L⁻¹; 200 µL de solução em acetonitrila de complexo [C_{final}] = $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; e concentrações diferentes de substrato que vão de [S_{final}] = de $4,0 \times 10^{-4}$ até $6,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, adicionando-se volumes de MeCN necessários para totalizar um volume de 1700 µL em cada cubeta. O tratamento matemático utilizado para a obtenção dos parâmetros cinéticos foi o ajuste não-linear da equação de Michaelis-Menten.

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 ([S_{final}] = 2×10^{-3} mol L⁻¹) em relação ao complexo ([C_{final}] = 4×10^{-5} mol L⁻¹).

Realizou-se também o acompanhamento da reação estequiométrica em 400 nm entre os complexos e o substrato ([C_{final}] = [S_{final}] = 4×10^{-5} mol L⁻¹) durante 60 horas a 50°C.

O estudo do efeito isotópico de deutério na hidrólise do 2,4-BDNPP pelo complexo C_s foi realizado similarmente ao estudo de dependência do substrato, mudando - se o tampão pH = 6,10 feito com

D₂O. As reações foram monitoradas sob condições de excesso do substrato em 400 nm a 25 °C.

3.2.11.2 Atividade Catecolase

A atividade catecolase dos complexos foi investigada frente à oxidação do substrato modelo 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-DTBC). Os experimentos cinéticos foram realizados em triplicata, com excesso de substrato, monitorando através do espectrômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatizado, a variação espectral em 400 nm ($\epsilon=1645 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), considerando-se referente a absorvidade do produto 3,5-di-*terc*-butilquinona (3,5-DTBQ). As reações foram monitoradas durante 10 minutos, até de 2 a 5 % de conversão de substrato a produto e os dados foram tratados pelo método das velocidades iniciais, que foram obtidas diretamente do gráfico da concentração de substrato *versus* o tempo. Utilizaram-se cubetas de vidro óptico com capacidade para 4000 μL e caminho óptico de 1 cm, fechadas com tampa de teflon.

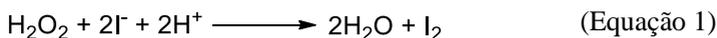
O efeito de pH foi realizado em uma faixa de pH entre 5,5 e 10 (MES pH 5,5 a 6,5, TRIS pH 7,0 a 10), obtendo-se, o pH ótimo para a reação, medido a 25°C. Foram adicionadas nas cubetas: 50 μL de solução tampão [T_{final}] = 0,03 mol L⁻¹; 50 μL de uma solução em metanol de complexo [C_{final}] = 2×10^{-5} mol L⁻¹; 50 μL de uma solução em metanol de substrato [S_{final}] = $2,4 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; 1500 μL de MeOH saturado com oxigênio, totalizando um volume de 1650 μL em cada cubeta, a reação é monitorada durante 10 minutos. Correções da oxidação espontânea do substrato 3,5-DTBC foram realizadas sob condições idênticas, sem a adição do complexo. As velocidades iniciais foram obtidas da inclinação da curva da absorvância *versus* o tempo nos primeiros minutos da reação, pelo método das velocidades iniciais.

O efeito da concentração do substrato foi realizado em pH 7 para todos complexos, sendo realizado de forma semelhante ao efeito de pH, no entanto fixando-se a concentração do complexo e tampão na cubeta reacional, fazendo-se uso das seguintes condições: 50 μL de solução tampão [T_{final}] = 0,03 mol L⁻¹; 50 μL de uma solução de complexo em metanol [C_{final}] = 2×10^{-5} mol L⁻¹; e concentrações diferentes de substrato que vão de [S_{final}] = 9×10^{-4} até $1,6 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹, adicionando-se volumes de MeOH saturado com oxigênio necessários para totalizar um volume de 1650 μL em cada cubeta. O tratamento

matemático utilizado para a obtenção dos parâmetros cinéticos foi o ajuste não-linear da equação de Michaelis-Menten.

A formação de peróxido de hidrogênio nas reações de oxidação do 3,5-DTBC foi investigada por uma modificação do método da iodometria (ACKERMANN *et al.*, 2002).

Uma mistura reacional foi preparada da seguinte maneira: concentração de complexo $[C]_{\text{final}} = 3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, concentração de tampão $[T]_{\text{final}} = 3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, pH = 7,0, e concentração de substrato $[S]_{\text{final}} = 2,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Após uma hora de reação, igual volume de água foi adicionado e a quinona foi extraída com DCM. A camada aquosa foi acidificada com ácido sulfúrico a pH = 2, para interromper a reação de oxidação, e 1 mL de solução aquosa de iodeto de potássio ($[\text{iodeto}] = 0,3 \text{ mol L}^{-1}$) foi adicionado. Na presença de peróxido de hidrogênio ocorre a seguinte reação:



E em excesso de iodeto ocorre à formação do íon tri-iodeto:



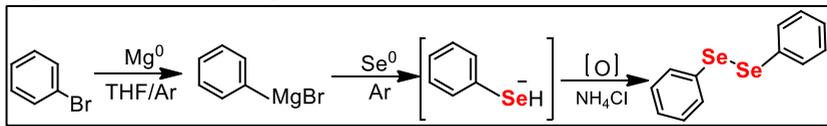
Esta reação geralmente é lenta, mas em meio ácido torna-se praticamente instantânea. A formação do I_3^- pode ser monitorada espectrofotometricamente devido ao surgimento de uma banda característica em 353 nm ($\epsilon = 26000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) (ACKERMANN *et al.*, 2002).

3.3 SÍNTESE DOS LIGANTES

3.3.1 Síntese do ligante L_{Se}

3.3.1.1 Síntese do material de partida disseleneto de difenila

Esquema 3. Rota sintética para obtenção do disseleneto de difenila.



A síntese do material de partida ocorreu de acordo com o **Esquema 3**, esta foi realizada em um balão de duas bocas de 250 mL, com barra de agitação magnética, um funil de adição de líquidos e um condensador de refluxo, no qual foi colocado a entrada de argônio do sistema. (Essas vidrarias foram colocadas na estufa no dia anterior a realização da síntese, para a retirada de quaisquer resquícios de água das mesmas). Retiraram-se as vidrarias da estufa e imediatamente montou-se o sistema reacional.

Com as vidrarias ainda quentes, adicionaram-se 0,96 g magnésio elementar (40 mmol; 24 g mol⁻¹) e flambou-se o sistema sob argônio. Esperou-se o esfriamento do sistema e adicionaram-se 40 mL de THF seco. Com auxílio do funil de adição de líquidos os 4,20 mL do brometo de fenila (40 mmol; 157 g mol⁻¹; 1,5 g cm⁻³) foram então gotejados lentamente sob o conteúdo já existentes no balão de reação.

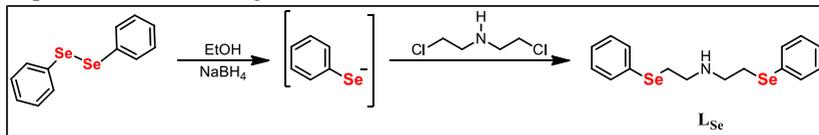
Depois da adição total do haleto, esperou-se cerca de uma hora para início da adição de 3,16 g de selênio elementar (40 mmol; 78,9 g.mol⁻¹) o qual foi feito adicionado lentamente em pequenas porções durante cerca de duas horas. Ao término da adição do selênio, deixou-se reagindo por 12 horas. Após este tempo de reação, adicionaram-se 40 mL de etanol e 40 mL de uma solução de NH₄Cl saturada e deixou-se reagindo por 20 minutos. Deixou-se o sistema aberto oxidando por 4 horas, após realizou-se a extração líquido - líquido com água e acetato de etila (3x30 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ e o solvente foi removido com auxílio do rotaevaporador.

O composto obtido foi recristalizado em hexano. O produto final foi seco sob vácuo e apresentou-se como um sólido amarelo, com

rendimento de 81% (5 g; 312,13 g mol⁻¹, 16 mmol) baseado no bromobenzeno.

3.3.1.2 Síntese do bis[2-(selenofenil)etil] amina **L_{Se}**.

Esquema 4. Síntese do ligante final **L_{Se}**.



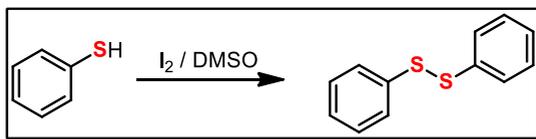
Utilizando uma modificação da metodologia descrita por Kumar e colaboradores, a esquematização reacional se encontra no **Esquema 4**. Para o ligante final, em um balão com duas bocas de 500 mL com condensador de refluxo e barra de agitação magnética, 4,68 g de disseleneto de difenila (15 mmol; 312,13 g mol⁻¹) foram dissolvidos em 150 mL de EtOH, sob atmosfera inerte, 1,13g de NaBH₄ (30 mmol; 37,83 g mol⁻¹), foram adicionado até se observar uma mudança de coloração de amarelo para incolor, evidenciando o consumo de todo disseleneto de difenila. Quando essa mudança ocorreu, 1,78 g do cloreto amínico (10 mmol; 178,5 g mol⁻¹), dissolvidos em 25 mL de EtOH foram adicionados gota a gota. A reação foi deixada em agitação sob banho de óleo à temperatura de 70 °C, *overnight*.

O solvente então foi rotaevaporado e a reação extraída com acetato de etila e água (3 x 30 mL). Removeu-se a fase orgânica no rotaevaporador e purificou-se o ligante final através de coluna cromatográfica, utilizando como eluente um mistura de hexano e acetato de etila 70: 30 % e fase estacionária sílica gel (70-230 mesh), durante a coluna usou-se UV para visualização em CCD. O produto final é um sólido branco e foi seco sob vácuo e apresentando um rendimento de 73% (2,8 g; 7,3 mmol; 383,3 g mol⁻¹) baseado no cloreto amínico (KUMAR *et al.*, 2013).

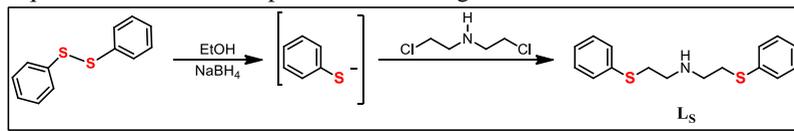
3.3.2 Síntese do ligante - L_S

3.3.2.1 Preparação do material de partida dissulfeto de difenila

Esquema 5. Esquema reacional para obtenção do material de partida dissulfeto de difenila.



Utilizando metodologia descrita por Bettanin e colaboradores, ilustrada no **Esquema 5**, onde em um balão de uma boca de 50 mL, com uma barra de agitação magnética sob atmosfera aberta, foram adicionados: 5,1 mL de tiofenol (50 mmol; 110,2 g.mol⁻¹, 1,08 g.cm⁻³), 2,5 g de iodo molecular (20 mol%; 10 mmol; 253,8 g mol⁻¹) e em seguida lentamente 3,50 mL de DMSO (50 mmol; 78,13 g mol⁻¹, 1,1 g.cm⁻³). Esse sistema reacional permaneceu em agitação durante 4 horas a temperatura ambiente. Após o término da reação, foi feita a extração utilizando-se acetato de etila 3 x 25 mL e uma solução aquosa de 10% em massa de tiosulfato de sódio (NaS₂O₃). A fração orgânica foi separada e seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O composto foi purificado por recristalização em hexano a quente. Um sólido cristalino branco é obtido com 88% de rendimento baseado no tiol (22 mmol; 4,8 g; 218 g mol⁻¹) (BETTANIN *et al.*, 2017).

3.3.2.2 Síntese do bis[2-(tiofenil)etil] amina - **L_s**Esquema 6. Rota sintética para a síntese do ligante final **L_s**

Novamente com uma modificação da metodologia descrita por Kumar e colaboradores, resumido no **Esquema 6**. Em um balão de 500 mL de duas bocas, com condensador de refluxo e sob atmosfera inerte, 4,36 g de Ph₂S₂ (20 mmol; 218 g mol⁻¹) foram dissolvidos em 200 mL de EtOH, após totalmente solubilizado foram adicionados 1,5 g de NaBH₄, (40 mmol; 37,8 g mol⁻¹) em seguida adicionaram-se 2,3 g do cloreto amínico (13,3 mmol; 178,5 g mol⁻¹) dissolvidos em 30 mL de EtOH, a adição é feita lentamente e observa-se ligeiramente a mudança de coloração.

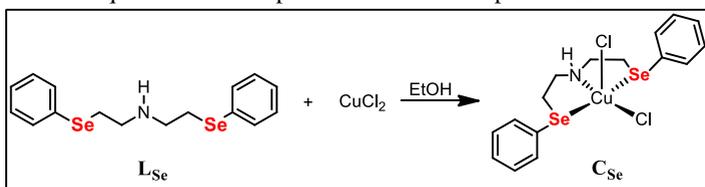
O sistema reacional foi aquecido sob banho de óleo a 70 °C *overnight*. O solvente então removido com auxílio do rotaevaporador, e em seguida a reação foi extraída com acetato de etila e água (3 x 30 mL), a fase orgânica foi seca sob sulfato de magnésio e o solvente foi removido no rota evaporador.

O produto reacional foi purificado por meio de coluna cromatográfica utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila 70:30%, e como fase estacionária utilizou-se sílica gel (70-230 mesh). Durante a coluna fez-se uso do UV para monitoramento em CCD. O produto é um óleo de coloração amarela, contendo 60 % de rendimento baseado no cloreto amínico (2,3 g; 8 mmol; 289,4 g mol⁻¹) (KUMAR *et al.*, 2013).

3.4 SÍNTESE DOS COMPLEXOS

3.4.1 Síntese do Complexo Cloreto de bis[2-(selenofenil)etil] amina cobre (II) - $\text{Cu}(\text{L}_{\text{Se}})\text{Cl}_2 - \text{C}_{\text{Se}}$

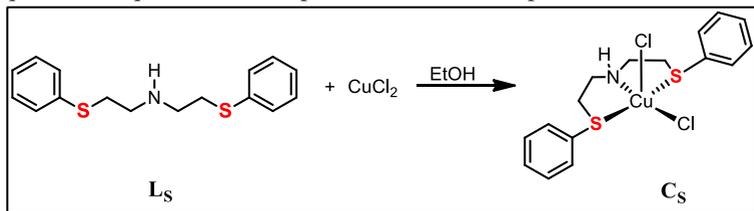
Esquema 7. Esquema reacional para a síntese do complexo C_{Se} .



A síntese do complexo C_{Se} ocorreu conforme apresentado no **Esquema 7**, onde em um balão de 25 mL sob agitação, solubilizaram-se 0,2 g do ligante L_{Se} (0,52 mmol; 383, 3 g mol⁻¹) em 3 mL de EtOH, e em um outro frasco solubilizaram-se 0,07 g de cloreto de cobre (II) (0,52 mmol; 134.45 g mol⁻¹) em 3 mL de EtOH, e gotejou-se o cloreto sobre o ligante. A solução de L_{Se} inicialmente incolor, com a adição do metal forma um precipitado verde escuro, a reação ficou sobre agitação a temperatura ambiente por cerca de 3 horas, após o precipitado foi filtrado, lavado com álcool isopropílico gelado e seco sob vácuo. Rendimento de 89% (0,47 mmol; 0,24 g; 517 g mol⁻¹) baseado no CuCl_2 . Ponto de fusão: 130 °C.

3.4.2 Síntese do Complexo Cloreto de bis[2-(tiofenil)etil] amina cobre (II) - $\text{Cu}(\text{L}_S)\text{Cl}_2 - \text{C}_S$

Esquema 8. Esquema reacional para a síntese do complexo C_S .



A síntese do complexo C_S ocorreu conforme o ilustrado no **Esquema 8**, onde em um balão de 25 mL sob agitação, solubilizaram-se em 4 mL de EtOH 0,35 g do ligante L_S (1,2 mmol; 289,4 g mol⁻¹), e em um outro frasco solubilizaram-se 0,17 g do cloreto de cobre (II) (1,2 mmol; 145,5 g mol⁻¹) em 3 mL de EtOH, e gotejou-se o cloreto de cobre sobre o ligante. A reação ficou sobre agitação a temperatura ambiente por cerca de 3 horas, após o precipitado foi filtrado, lavado com álcool isopropílico gelado e seco sob vácuo. Rendimento de 85% (0,42 g; 1 mmol; 423,88 g mol⁻¹) baseado no CuCl_2 . Ponto de fusão: 119 °C.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS DE PARTIDA

Os materiais precursores para a obtenção dos ligantes finais foram sintetizados seguindo métodos previamente descritos na literatura, sendo que se faz necessário que estes sejam de alto grau de pureza. As caracterizações foram realizadas por diferentes técnicas como RMN de ^1H e ^{13}C e além de CG-EM, e estas estão descritas nesta seção.

4.1.1 Caracterização do dissulfeto de difenila

O precursor foi obtido pelo método descrito na sessão experimental, como um sólido branco cristalino, estável ao ar, possuindo rendimento de 88% baseado no tiofenol, com ponto de fusão de 60 °C.

O RMN de ^1H e ^{13}C estão demonstrados nas **Figuras 7 e 8** possuindo os deslocamentos descritos abaixo, sendo estes compatíveis com a literatura (BETTANIN *et al.*, 2017).

- **RMN ^1H (CDCl_3):** (δ , ppm) 7,50 (m, 4H), 7,28 (m, 6H);
- **RMN ^{13}C (CDCl_3):** (δ , ppm) 137,2, 129,1, 127,6, 127,3.

O cromatograma do mesmo está demonstrado na **Figura 9**, comprovando que não há presença de sulfeto no material de partida, pois a análise apresenta apenas um sinal, confirmado pelo espectro de massas de baixa resolução, **Figura 10**, referente a fórmula molecular e massa calculada de $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{S}_2$: m/z 218 g mol^{-1} ; respectivamente.

Figura 7. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do dissulfeto de difenila em CDCl_3 .

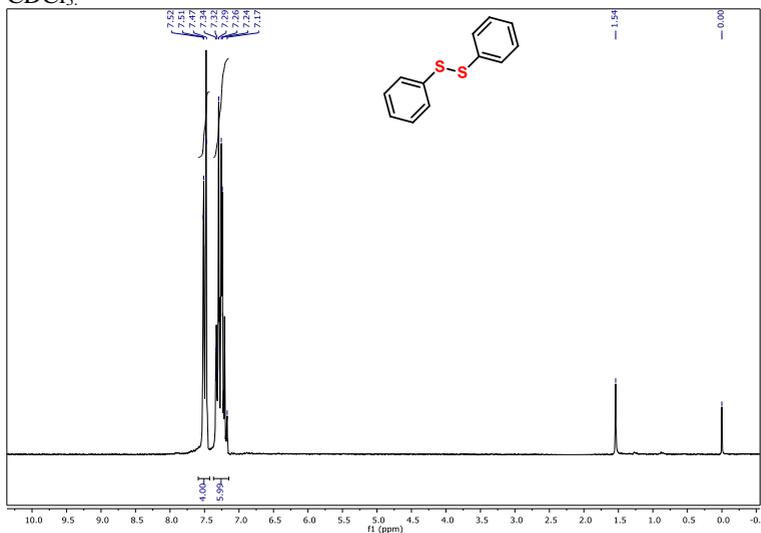


Figura 8. Espectro de RMN de ^{13}C (50MHz) do dissulfeto de difenila em CDCl_3 .

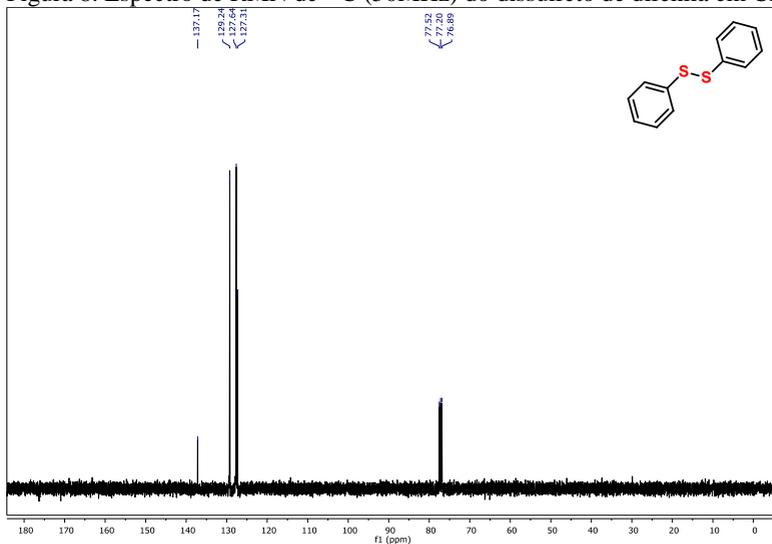


Figura 9. Cromatograma de íons totais (GC-MS) do material de partida.

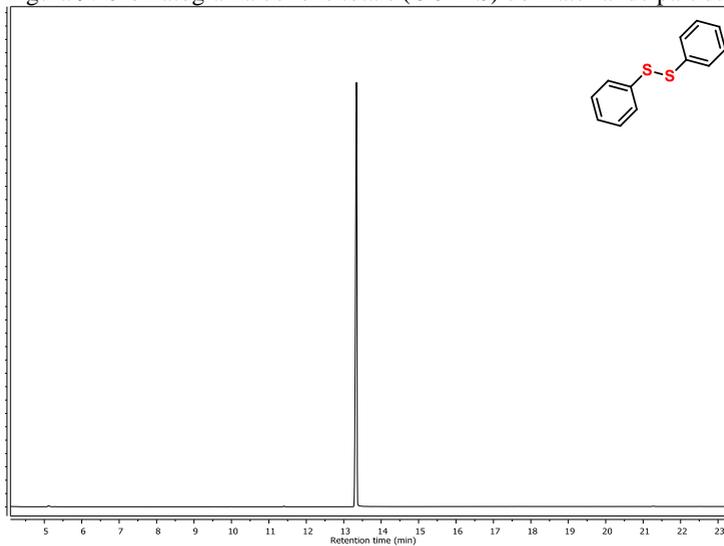
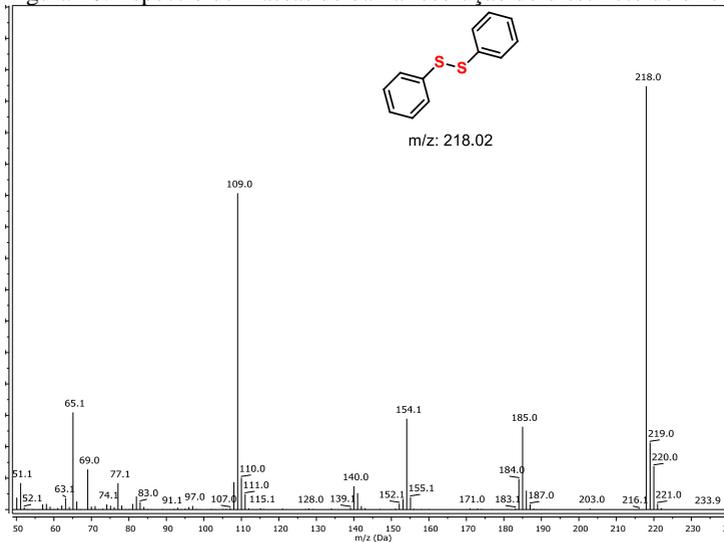


Figura 10. Espectro de massas de baixa resolução do dissulfeto de difenila.



4.1.2 Caracterização do disseleneto de difenila

O material de partida foi obtido de acordo com a sessão experimental, obtendo-se um sólido amarelo cristalino estável ao ar, com rendimento 81%, baseado no bromo benzeno, com ponto de fusão igual a 60°C.

O RMN de ^1H e ^{13}C estão demonstrados nas **Figuras 11 e 12** possuindo os deslocamentos reportados abaixo, sendo estes compatíveis com a literatura (BOTTESELLE *et al.*, 2012).

- **RMN ^1H (CDCl_3):** (σ ,ppm) 7,66 (m, 4H), 7,23(m, 6H);
- **RMN ^{13}C (CDCl_3):** (σ ,ppm) 131,5, 130,9, 129,2, 127,7.

O cromatograma do mesmo está demonstrado na **Figura 13**, mostrando que não há presença de seleneto no material de partida evidenciado por um único sinal nesta análise, sendo que na **Figura 14** apresenta-se o espectro de massas de baixa resolução, com fórmula molecular e massa calculada de $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Se}_2 = 313.9 m/z$; respectivamente.

Figura 11. Espectro de RMN de ^1H (200MHz) do disseleneto de difenila em CDCl_3 .

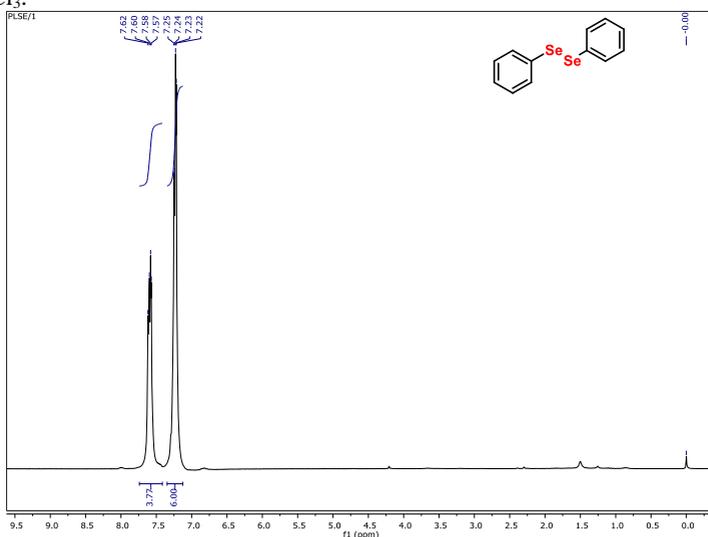


Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C (50MHz) do disseleneto de difenila em CDCl_3

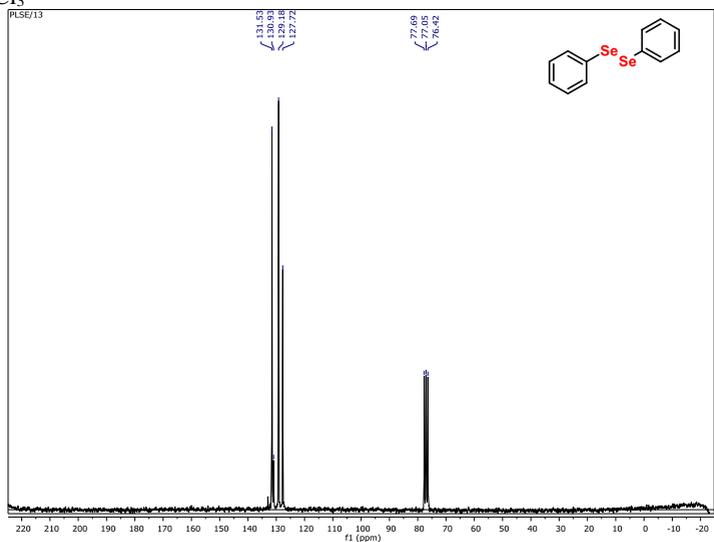


Figura 13. Cromatograma de íons totais (GC-MS) do disseleneto de difenila.

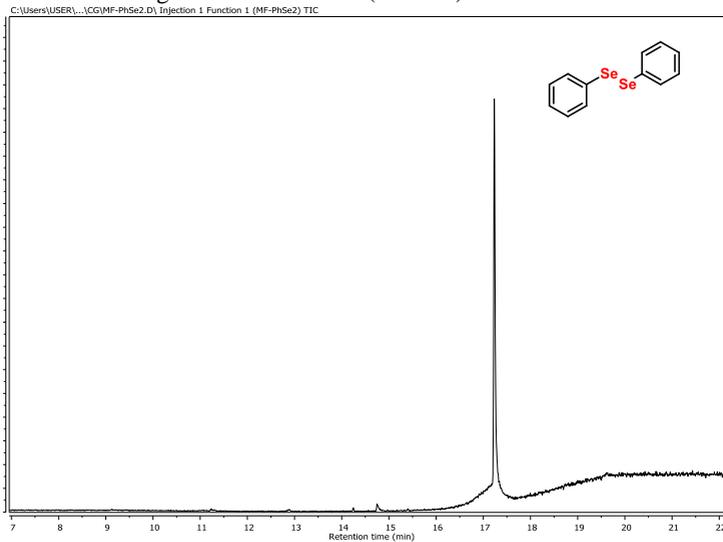
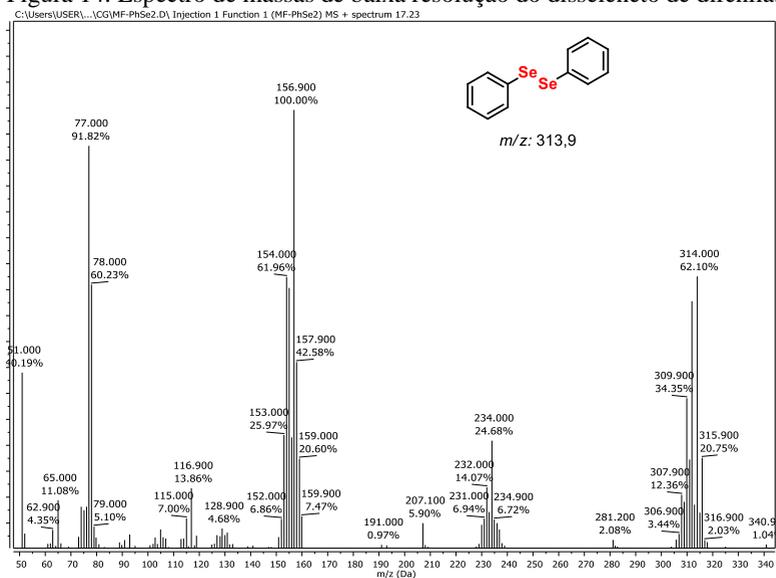


Figura 14. Espectro de massas de baixa resolução do disseleneto de difenila.



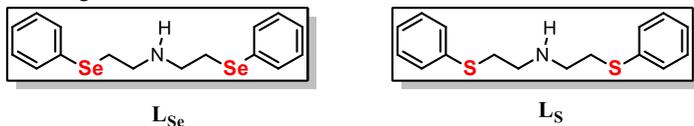
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES

A reação do cloreto amínico com as espécies nucleofílicas geradas *in situ*, PhS^- e PhSe^- , através da clivagem do dissulfeto e disseleneto de difenila com NaBH_4 resulta nos ligantes L_S e L_Se , respectivamente, ilustrados na **Figura 15**.

Tanto os precursores, disseleneto de difenila e dissulfeto de difenila, quanto os ligantes finais, foram obtidos com bons rendimentos e sintetizados de acordo com a sessão experimental.

Os materiais de partida e os ligantes foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C e CG-MS. Os ligantes finais também foram caracterizados por espectroscopia IV e por ESI-MS além de RMN de ^1H e ^{13}C .

Figura 15. Ligantes sintetizados neste trabalho.



4.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio – RMN ^1H

A técnica de RMN de ^1H mostrou-se extremamente útil para a caracterização dos ligantes, devido à similaridade estrutural de ambos. Os espectros evidenciam basicamente as mesmas informações.

Os hidrogênios dos carbonos sp^3 metilênicos aparecem na região de 3 ppm na forma de 2 tripletos possuindo a integral de 4 hidrogênios para cada triplete, sendo esta a principal informação contida nesta análise, pois os respectivos materiais de partida não possuem sinais nesta região.

Os sinais aromáticos são encontrados na região de 7,5 ppm possuindo integral relativa de 10 hidrogênios. Os espectros de RMN de ^1H para ambos os ligantes estão apresentados nas **Figuras 16 e 17**, bem como a **Tabela 4** que apresenta a atribuição de cada sinal e a comparação com a descrição dos mesmos encontrados na literatura (KUMAR *et al.*, 2013).

Devido a simetria estrutural das moléculas, os átomos equivalentes possuem o mesmo deslocamento químico o que pode ser evidenciada através das integrais relativas.

Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (400MHz) do ligante L_{Se} em CDCl_3 .

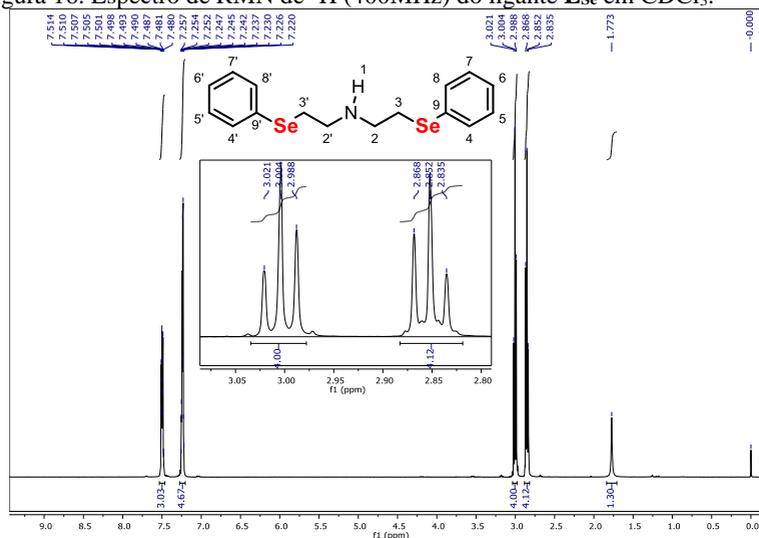
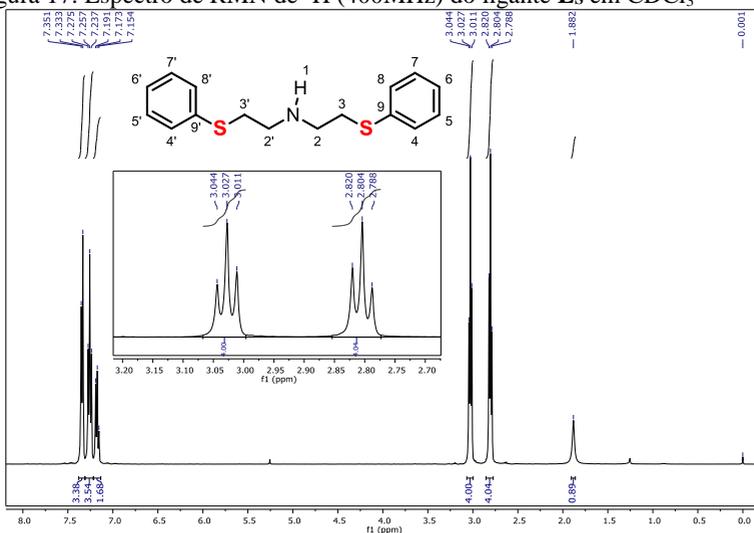
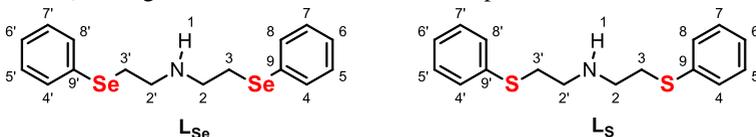


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (400MHz) do ligante L_S em CDCl_3 Tabela 4. Principais sinais e suas atribuição dos espectros de RMN de ^1H (400MHz) dos ligantes L_{Se} e L_S , bem como o comparativo oriundo da literatura.

Atribuição	$\text{L}_{\text{Se}} \sigma_{\text{H}}$ (J , Hz)	Descrito para L_{Se}^a	$\text{L}_\text{S} \sigma_{\text{H}}$ (J , Hz)	Descrito para L_S^a
1	1,77(s, 1H)	-	1,89 (s,1H)	-
2 e 2'	3,00 (t, 6,6 Hz, 4H)	3,21-3,26 (m, 4H)	3,05 (t, $J = 8$ Hz, 4H)	3,03 (t, $J=6,3$ Hz, 4H)
3 e 3'	2,85 (t, $J = 6,6$ Hz, 4H)	3,08 - 3,12 (m, 4H)	2,82 (t, $J = 8$ Hz, 4H)	2,81 (t, $J = 6,9$ Hz, 4H)
4, 8, 4' e 8'	7,48 - 7,51 (m, 3H)	7,49 - 7,53 (m, 4H)	7,34 (m, 3H)	7,15 - 7,36 (m, 10H)
5, 7, 5' e 7'	7,22 - 7,26 (m, 5H)	7,24 - 7,27 (m, 6H)	7,25 (m, 4H)	
6, 6'			7,19 (m, 2H)	

^a(KUMAR *et al.*, 2013)

4.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono - RMN ^{13}C

O RMN de ^{13}C foi uma ferramenta de análise eficiente para elucidar a estrutura dos ligantes, pois foi possível observar 6 sinais, sendo 2 destes característicos de carbonos sp^3 metilênicos, evidenciando a diferença crucial entre o ligante e seu precursor, tendo em vista que este último não possui carbonos metilênicos em sua estrutura. Além disso, foi possível observar 4 sinais referentes a carbonos sp^2 metínicos.

Os espectros estão reportados nas **Figuras 18 e 19**, a **Tabela 5** fornece os deslocamentos, multiplicidades e suas atribuições em comparação com a literatura, comprovando que corroboram com as estruturas de interesse.

Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (100MHz) do ligante L_{Se} em CDCl_3 .

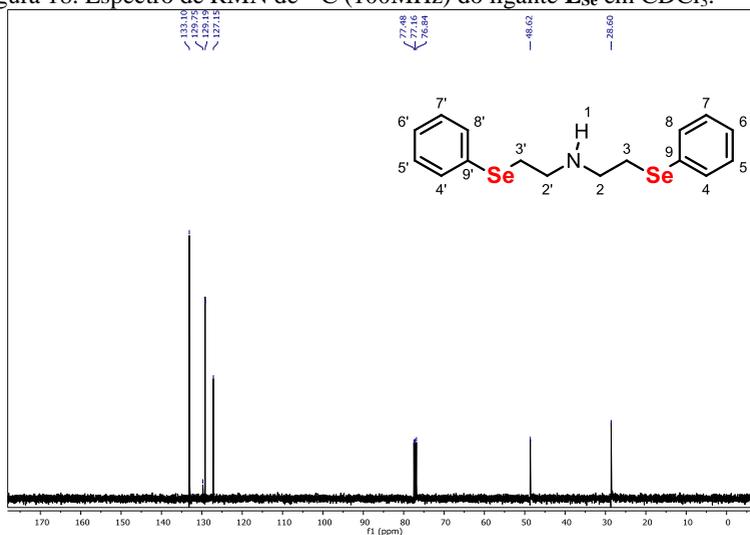
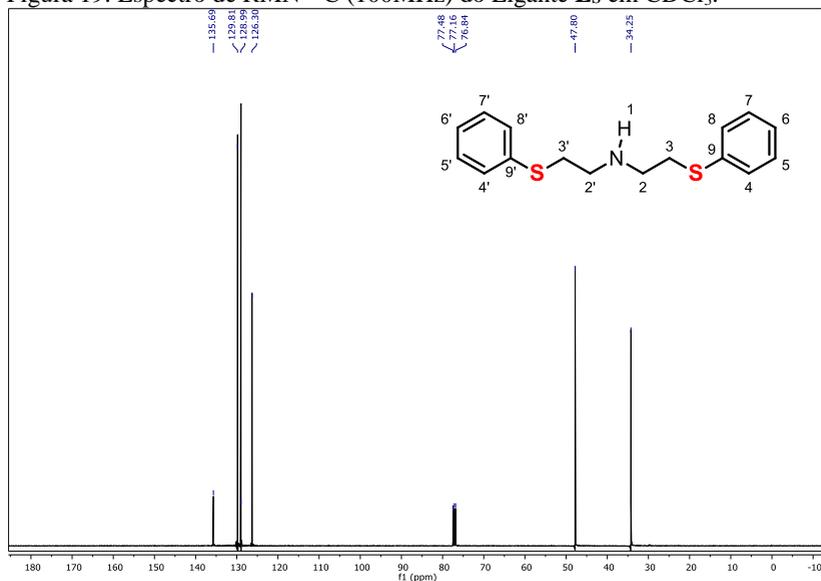
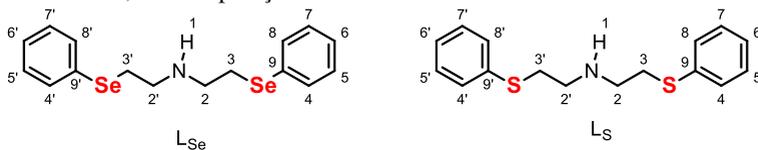


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C (100MHz) do Ligante L_S em CDCl_3 .Tabela 5. Principais sinais do RMN de ^{13}C (100 MHz), bem como seus deslocamentos, em comparação com a literatura.

<i>Atribuição</i>	$L_{Se} \sigma_C$	<i>Descrito para L_{Se}^a</i>	$L_S \sigma_C$	<i>Descrito para L_S^a</i>
2 e 2'	48,6	47,7	47,7	60,6
3 e 3'	28,6	22	34,1	34
4,8, 4' e 8'	133,1	133,1	129,7	129,7
5, 7, 5' e 7'	129,2	129,9	128,9	128,9
6 e 6'	127,2	127,7	126,2	126,2
9 e 9'	129,7	127,6	135,7	135,4

^a(KUMAR *et al.*, 2013)

4.2.3 Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho

Ambos os ligantes foram caracterizados por espectroscopia de absorção no IV, técnica esta muito utilizada na caracterização qualitativa de compostos orgânicos e inorgânicos, pois os mesmos absorvem em frequências de radiação diferentes, que variam conforme a geometria molecular e da massa dos átomos.

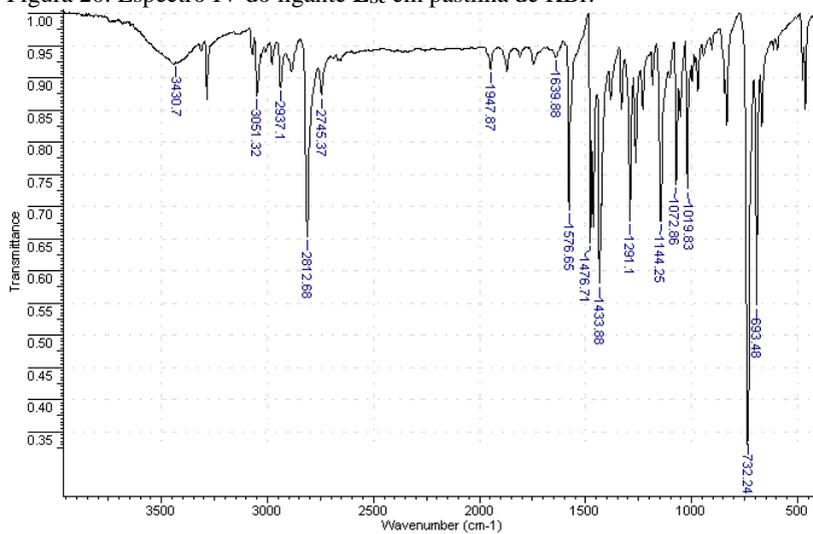
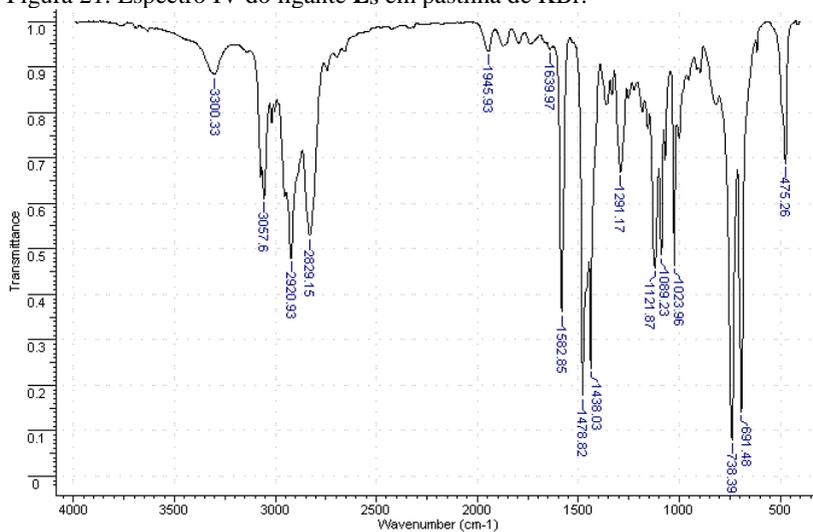
Os espectros no IV para L_{Se} e L_S mostram basicamente as mesmas informações, tendo em vista a grande similaridade das estruturas. O estiramento N-H da amina secundária apresenta-se com uma banda de intensidade fraca em 3342 cm^{-1} para L_{Se} e em 3300 cm^{-1} para L_S , enquanto a banda de deformação N-H aparece em uma intensidade média nas frequências de 1576 cm^{-1} e 1582 cm^{-1} para L_{Se} e L_S , respectivamente.

Os estiramentos C-H de carbonos sp^2 e sp^3 aparecem como bandas de intensidade média em 3051 cm^{-1} e 2812 cm^{-1} para o ligante L_{Se} e numa frequência um pouco maior para o L_S em 3065 cm^{-1} e 2829 cm^{-1} .

Os espectros estão reportados nas **Figuras 20** e **21**, juntamente com a **Tabela 6** onde estão discriminadas as bandas de relevância para esses compostos, todas as bandas foram atribuídas de maneira comparativa. As amostras e o KBr foram secos sob vácuo, evitando assim o surgimento de estiramentos O-H provenientes da água (PAVIA *et al.*, 2008; SILVERSTEIN *et al.*, 2014).

Tabela 6. Principais bandas (cm^{-1}) e atribuições dos espectros de infravermelho dos ligantes L_S e L_{Se} .

<i>Banda</i>	<i>L_{Se} (cm^{-1})</i>	<i>L_S (cm^{-1})</i>
ν (N-H)	3430	3300
$\nu(\text{C-H}_{\text{alif}}$ e C-H_{ar})	3051 - 2812	3065 - 2829
<i>Overtone</i> de aromáticos	1640 - 1947	1650 - 1945
δ (N-H)	1576	1582
δ (C = C) aromáticos	1478	1478
δ (C-H) alif	1433	1438
ν (C-N)	1144	1121
δ (C-H) Aromático Monosubstituído	734 e 693	738 e 691

Figura 20. Espectro IV do ligante L_{Se} em pastilha de KBr.Figura 21. Espectro IV do ligante L_S em pastilha de KBr.

4.2.4 Espectrometria de Massas – ESI-MS

A espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (ESI-MS) é uma importante análise para caracterização dos ligantes em solução, os espectros estão representados para ambos os ligantes nas **Figuras 22 e 23**.

Para ambos os ligantes o pico encontrado corresponde a $[M+H]$, no caso do L_{Se} o íon molecular possui m/z calculado de 385,9926 e o encontrado correspondendo a $m/z = 385,9921$ o equivalente a fórmula $C_{16}H_{19}NSe_2$. Já para o L_S o íon molecular encontrado é $m/z = 290,1029$ representando $[M+H]$ corroborando fielmente com o valor calculado igual a $m/z = 290,1037$ equivalente a fórmula $C_{16}H_{19}NS_2$.

Figura 22 Espectro ESI - MS do ligante L_{Se} em MeOH

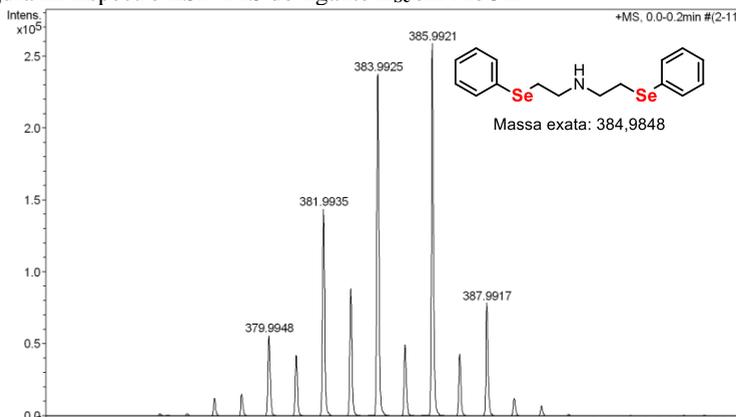
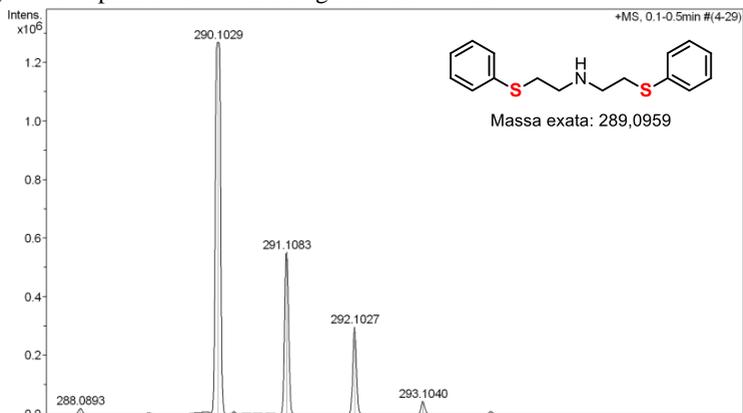


Figura 23 Espectro ESI - MS do ligante Ls em MeOH

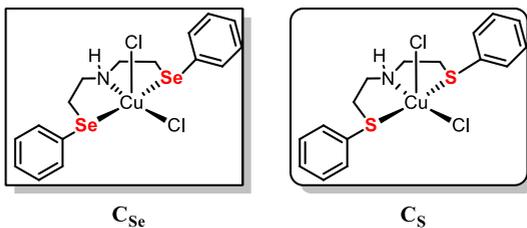


4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

Os complexos sintetizados nesse trabalho são apresentados na **Figura 24**, e foram caracterizados por diversas técnicas tanto no estado sólido (IV, UV-sólido, Raios X) quanto em solução (UV, voltametria cíclica e de onda quadrada, condutivimetria, ESI-MS) visando assim elucidar com clareza tanto o seu arranjo estrutural quanto o seu comportamento em solução.

Tendo em vista que os complexos aqui reportados têm caráter inédito, compreender corretamente o seu perfil estrutural é de extrema importância para a compreensão de suas atividades catalíticas.

Figura 24. Complexos sintetizados neste trabalho.



4.3.1 Espectroscopia na região do Infravermelho

Quando se utiliza a espectroscopia na região do IV, comparando o ligante e o seu respectivo complexo tem como objetivo evidenciar o deslocamento, surgimento ou desaparecimento de bandas buscando compreender a maneira de complexação e o preenchimento da esfera de coordenação do metal.

Como evidenciado nas **Figuras 25 e 26** e também nas **Tabelas 7 e 8**, ocorre um pequeno deslocamento das bandas quando se compara o complexo e seu respectivo ligante, no entanto todas as bandas presentes nos ligantes estão evidenciadas no espectro dos complexos.

Os ligantes L_{Se} e L_S são denominados tridentados e são aminas secundárias, sendo assim percebe-se a banda em torno de $3400 - 3300 \text{ cm}^{-1}$ referente ao estiramento da amina, esta mantém-se presente nos complexos, juntamente com os estiramentos C-H aromáticos e alifáticos presentes entre $3140 - 2810 \text{ cm}^{-1}$, evidenciando assim a presença do ligante no complexo (NAKAMOTO, 1977; SILVERSTEIN *et al.*, 2014).

Figura 25. IV do Ligante L_{Se} , em vermelho, e do C_{Se} , em preto, ambos feitos em pastilha de KBr espectroscópico.

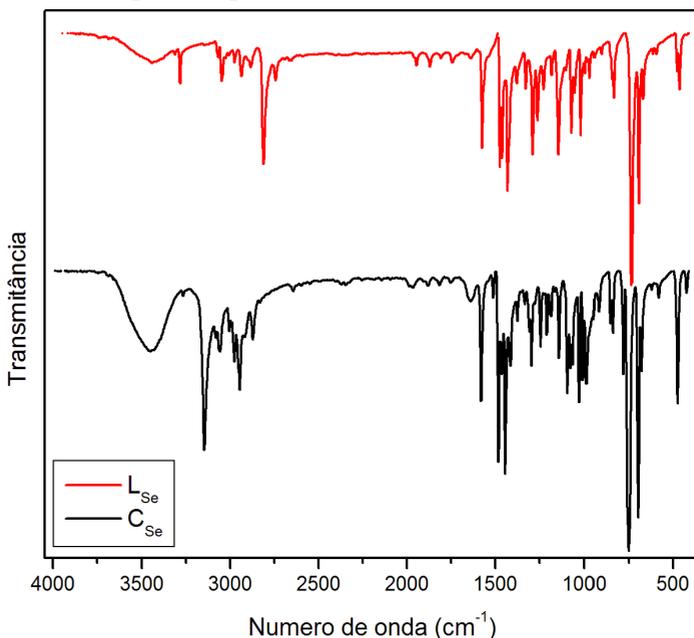


Figura 26. Espectro L_s , em vermelho, e o complexo C_s , em preto ambos feitos em pastilha de KBr espectroscópico.

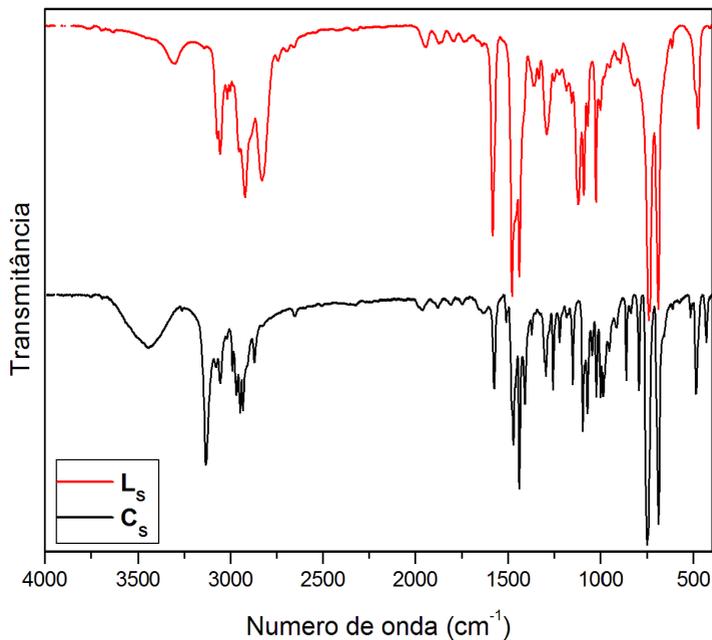


Tabela 7. Principais bandas (cm^{-1}) presentes no ligante L_{Se} e no complexo C_{Se} .

<i>Banda</i>	$L_{Se} (cm^{-1})$	$C_{Se}(cm^{-1})$
ν (N-H)	3430	3450
ν (C-H _{alif} e C-H _{ar})	3051 - 2812	3139 - 2939
<i>Overtone</i> de aromáticos	1947 - 1640	1980 - 1633
δ (N-H)	1576	1574
δ (C = C) aromáticos	1478	1476
δ (C-H) alif	1433	1437
ν (C-N)	1144	1087
δ (C-H) Aromático Monosubstituído	734 e 693	742 - 689

Tabela 8. Principais bandas (cm^{-1}) e suas atribuições para o ligante L_s e seu complexo C_s .

<i>Banda</i>	<i>L_s(cm⁻¹)</i>	<i>C_s(cm⁻¹)</i>
ν (N-H)	3300	3443
ν (C-H _{alif} e C-H _{ar})	3065 - 2829	3133 - 2947
Overtone de aromáticos	1945 - 1650	1960 - 1748
δ (N-H)	1582	1574
δ (C = C) aromáticos	1478	1470
δ (C-H) alif	1438	1438
ν (C-N)	1121	1150
δ (C-H) Aromático Monosubstituído	738 e 691	750 - 689

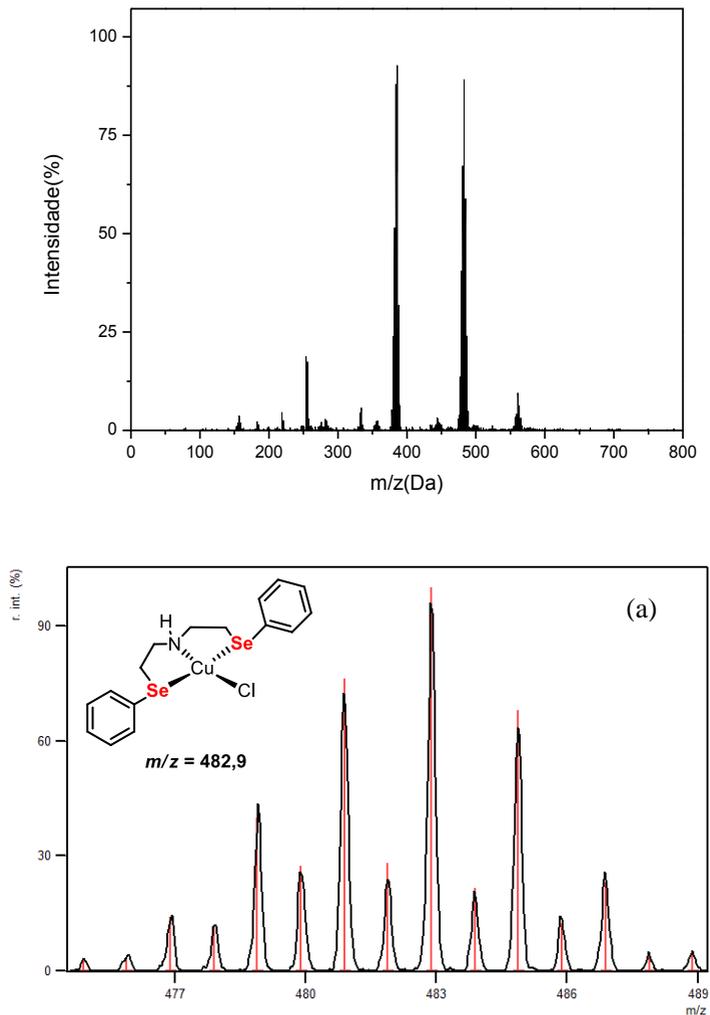
4.3.2 Espectrometria de Massas

As **Figuras 27** e **28** representam os espectros de massas dos complexos sintetizados, em MeOH, bem como o perfil isotópico simulado e experimental dos principais fragmentos. Os fragmentos majoritários foram devidamente identificados e estão resumidos na **Tabela 9**.

Para o complexo C_{se} são encontrados dois sinais majoritários, um possuindo $m/z = 386,0$, equivalente ao ligante L_{se} , o segundo pico corresponde ao fragmento $[\text{Cu}(\text{L}_{se})\text{Cl}]^+$, $m/z = 482,9$.

No espectro para o complexo C_s são identificados dois fragmentos, $[\text{Cu}(\text{L}_s)\text{Cl}]^+$ com $m/z = 387,0$ e também o fragmento com a perda dos dois cloretos $[\text{Cu}(\text{L}_s)]^+$, com $m/z = 352,0$. Esta técnica evidenciou a labilidade dos cloretos ligados ao centro metálico, reportado em estruturas similares encontradas na literatura (FERRE *et al.*, 2017).

Figura 27. Espectro de massas do complexo C_{Se} em MeOH grau MS e seus fragmentos: (a) $[Cu(L_{Se})Cl]^+$ e (b) L_{Se} . Onde a linha vermelha representa a distribuição isotópica simulada, e a linha preta representa o espectro a distribuição encontrada.



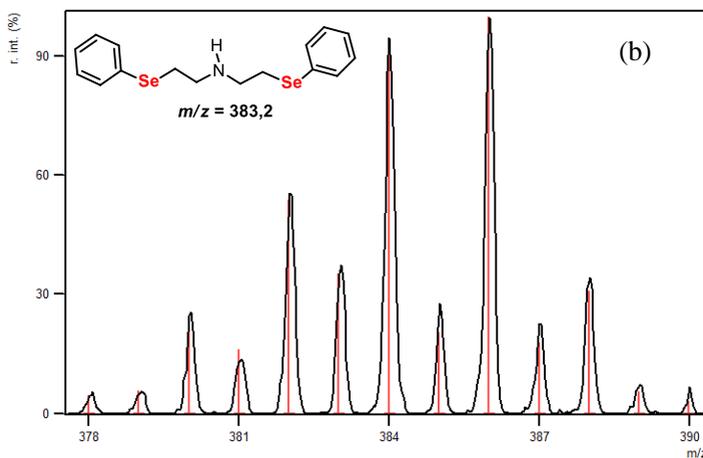
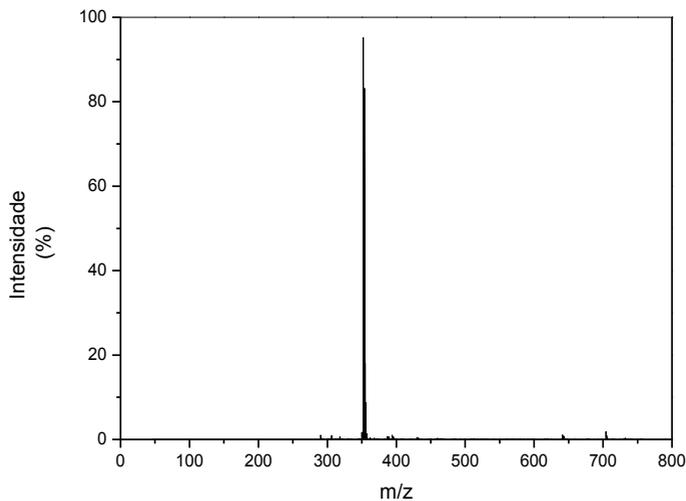


Figura 28. Espectro de massas do complexo C_s em MeOH e seus fragmentos (a) $[Cu(L_S)]^+$ e (b) $[Cu(L_S)Cl]^+$. Onde a linha vermelha representa a distribuição isotópica simulada, e a linha preta representa o espectro e a distribuição encontrada



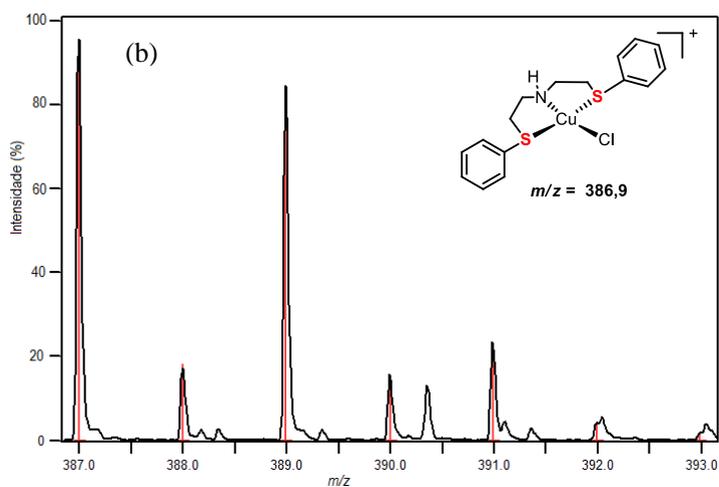
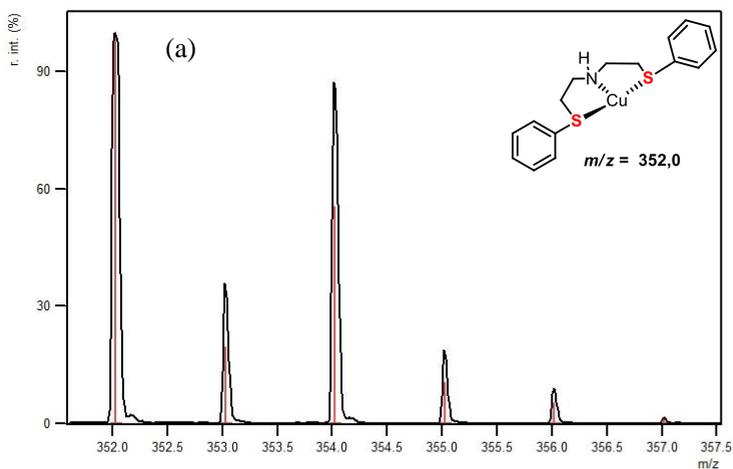


Tabela 9. Tabela com os principais fragmentos encontrados para os complexos C_{Se} e C_S .

<i>Complexo</i>	<i>Espécie</i>	<i>m/z</i>
C_{Se}	$[Cu(L_{Se})Cl]^+$	482,88
C_S	$[Cu(L_S)Cl]^+$	386,90
C_S	$[Cu(L_S)]^+$	352,00

4.3.3 Condutivimetria

As medidas de condutividade molar foram realizadas em MeOH de grau espectroscópico na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, a 25°C , para ambos os complexos. Os valores obtidos para condutividade molar (Λ_M) bem como a sua atribuição dos tipos de eletrólitos para ambos os complexos estão expressos na **Tabela 10** (GEARY, 1971).

Tabela 10. Resultados de condutivimetria em MeOH para os complexos sintetizados.

<i>Complexo</i>	<i>$\Lambda_M (\Omega^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^2)$</i>	<i>Tipo de eletrólito</i>
C_{Se}	82	1:1
C_S	115	1:1

De acordo com Geary e colaboradores quando a condutividade molar do composto em MeOH numa concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ estiver entre $80 - 115 \Omega^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^2$, trata-se de um eletrólito 1:1 a 25°C , corroborando com os fragmentos 1+ encontrados na espectroscopia de massas, evidenciando a labilidade de um dos ligantes cloro ao centro metálico, que em solução são trocadas por moléculas de solvente neutras, originando eletrólitos (GEARY, 1971).

4.3.4 Difração de Raios X

Os complexos **C_{Se}** e **C_S** originaram monocristais sendo possível resolver suas estruturas cristalinas por difratometria de Raios X de monocristais. Os dados cristalográficos e do refinamento da estrutura encontram-se na **Tabela 11**. As estruturas dos dois complexos foram resolvidas por métodos diretos e refinadas pelo método de Mínimos-quadrados / Matriz completa em F^2 (SHELDRICK, 2008).

Tabela 11. Dados cristalográficos para os complexos C_{Se} e C_S .

	C_{Se}	C_S
Fórmula empírica	$C_{16}H_{19}Cl_2CuNSE_2$	$C_{16}H_{19}Cl_2CuNS_2$
Massa molar	517,68	423,88
Sistema cristalino	Ortorrômbico	Ortorrômbico
Grupo espacial	$Pnma$	$Pnma$
Parâmetros de cela unitária	$a = 11,0926(6) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 15,3632(9) \text{ \AA}$ $\beta = 90^\circ$ $c = 10,7113(6) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$	$a = 11,1289(4) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 15,0127(6) \text{ \AA}$ $\beta = 90^\circ$ $c = 10,5764(5) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
Volume \AA^3	1825,40(18)	1767,05(13)
Z, densidade calculada (Mg.cm^{-3})	4 - 1,884	4 - 1,593
Dimensões do cristal (mm^3)	0,400 x 0,100 x 0,060	0,360 x 0,180 x 0,100
Reflexões coletadas	15442	10619
R_{interno}	0,0320	0,0177
Método do refinamento	Mínimo quadrados/ matriz completa em F^2	Mínimo quadrados/ matriz completa em F^2
Dados/ restrições/ parâmetros	2770 / 0 / 106	2664 / 0 / 106
GOOF (F^2)	1,056	1,085
Índice R final [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0272,$ $wR_2 = 0,0555$	$R_1 = 0,0264,$ $wR_2 = 0,0584$
Índice R (todos dados)	$R_1 = 0,0414,$ $wR_2 = 0,0613$	$R_1 = 0,0347,$ $wR_2 = 0,063$

4.3.4.1 Estrutura cristalina do complexo $\text{Cu}(\text{L}_{\text{Se}})\text{Cl}_2 - \text{C}_{\text{Se}}$

O complexo C_{Se} foi obtido na forma de monocristais verdes pertencentes ao sistema cristalino ortorrômbico e ao grupo espacial Pnma . A estrutura consiste em um complexo neutro, a sua projeção bem como os principais comprimentos e ângulos de ligação encontram-se na **Figura 29** e **Tabela 12**.

Figura 29. Arranjo estrutural molecular do complexo C_{Se} . Elipsóides com 40% de probabilidade. (SPEAK, 2009)

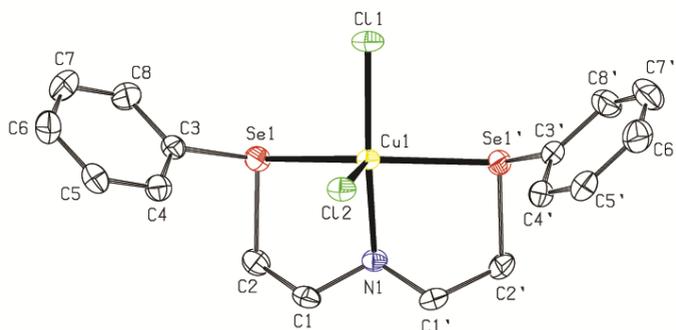


Tabela 12. Principais comprimentos (Å) e ângulos (°) para o complexo C_{Se} .

Cu(1)-N(1)	2,036(3)
Cu(1)-Cl(1)	2,2411(9)
Cu(1)-Cl(2)	2,4076(8)
Cu(1)-Se(1)	2,5196(3)
-	-
N(1)-Cu(1)-Cl(1)	164,62(8)
N(1)-Cu(1)-Cl(2)	96,72(8)
Cl(1)-Cu(1)-Cl(2)	98,66(3)
N(1)-Cu(1)-Se(1)	82,36(3)
Cl(1)-Cu(1)-Se(1)	92,312(13)
Cl(2)-Cu(1)-Se(1)	110,164(10)
Se(1)-Cu(1)-Se(1)*	138,154(19)

* Simetria utilizada para gerar os átomos equivalentes: $1\ x, -y+3/2, z$.

O cobre apresenta-se pentacoordenado, fazendo parte da sua esfera de coordenação o ligante L_{Se} coordenando-se ao centro metálico de maneira tridentada pelos átomos de Se(1), N(1) e Se(1') e completando a esfera de coordenação primária dois ânions cloretos provenientes do sal de cobre utilizado para a síntese do complexo.

A geometria pode ser confirmada empregando-se a equação descrita por Addison e colaboradores, que se aplica a complexos pentacoordenados, definida por $\tau = (\beta - \alpha) / 60$, onde β é o maior ângulo e α é o segundo maior ângulo formado na esfera de coordenação do metal. Segundo a equação uma estrutura trigonal piramidal perfeita apresenta $\tau = 1$ enquanto $\tau = 0$ representa uma geometria piramidal quadrada perfeita (ADDISON *et al.*, 1984).

O centro de cobre apresenta $\tau = 0,44$ apresentando-se como piramidal quadrada distorcida, os ângulos utilizados para este cálculo estão em negrito na Tabela 12. O plano basal da pirâmide é formado pelo Se(1), N(1), Se(1') e Cl(1), sendo que o N(1) está *trans* ao Cl(1) e fechando a esfera de coordenação, na posição axial, tem-se o Cl(2) possuindo um comprimento de ligação de 2,4076 Å, enquanto o comprimento de ligação Cu(1) -Cl(1) 2,2411 Å, este alongamento da ligação na posição axial Cu(1)-Cl(2) ocorre em função ao Efeito Jahn-Teller, sendo este bem pronunciado em complexos com configuração eletrônica d^9 .

O empacotamento de C_{Se} demonstrado na **Figura 30** mostra as interações dos cloretos Cl(1) e Cl(2) com o grupamento amina ao longo do eixo a, não possuindo solvente de cristalização. Neste empacotamento estão presentes ligações de hidrogênio que atuam estabilizando a estrutura cristalina, na **Tabela 13** apresentam-se descritas estas ligações.

Figura 30. Empacotamento cristalino para o complexo C_{se} . (MACRAE *et al.*, 2008)

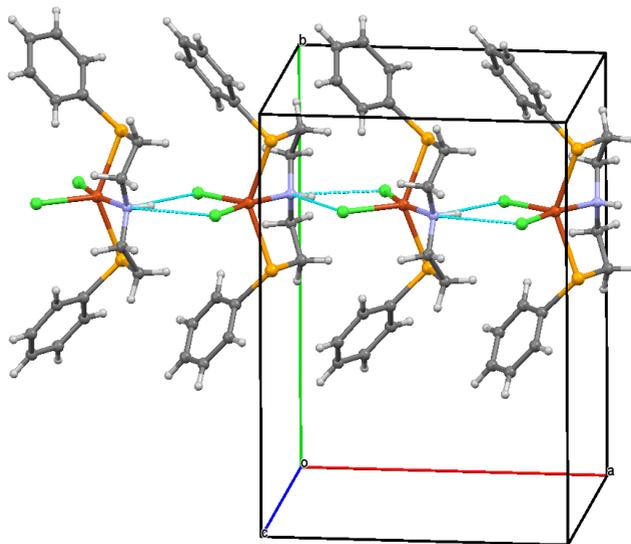


Tabela 13. Parâmetros geométricos (Å e °) das ligações de hidrogênio encontradas para o complexo C_{se} .

$D-H...A$	$d(D-H)$	$d(H...A)$	$d(D...A)$	$\angle(DHA)$
N(1)-H(1)...Cl(1)i	0,87	2,79	3,412(3)	129
N(1)-H(1)...Cl(2)ii	0,87	2,56	3,341(3)	149

Operações de simetria utilizadas para gerar os átomos equivalentes: i $x, -y+3/2, z$; ii $x+1/2, y, -z+3/2$.

4.3.4.2 Estrutura do complexo $Cu(L_S)Cl_2 - C_S$

O complexo C_S apresenta-se como monocristais verdes pertencente ao sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial $Pnma$. A projeção na **Figura 31** mostra o centro de cobre (II) pentacoordenado isoestrutural ao complexo C_{se} , com sua esfera de coordenação composta pelo ligante L_S , de maneira tridentada $S(1)$, $N(1)$ e $S(1')$ e dois ligantes cloro completam as cinco posições de coordenação.

Figura 31. Arranjo da estrutura molecular do complexo Cs. Elipsoides com 40% de probabilidade. (SPEAK, 2009)

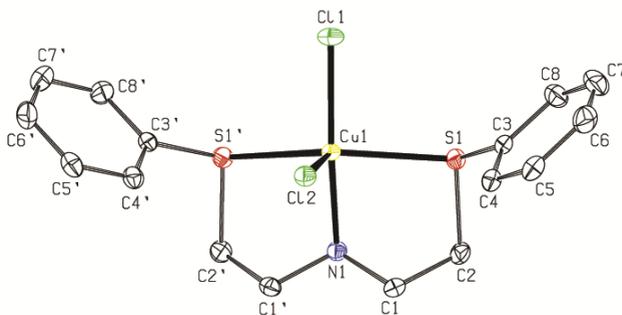


Tabela 14. Principais comprimentos (Å) e ângulos (°) para o complexo Cs.

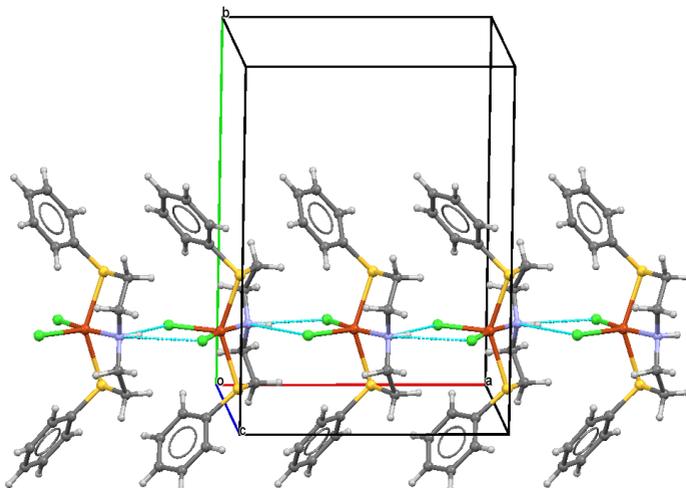
Cu(1) -N(1)	2,0127(18)
Cu(1) -Cl(1)	2,2284(6)
Cu(1) -Cl(2)	2,4100(6)
Cu(1) -S(1)	2,4500(4)
-	-
N(1) -Cu(1) -Cl(1)	164,91(6)
N(1) -Cu(1) -Cl(2)	96,61(6)
Cl(1) -Cu(1) -Cl(2)	98,48(2)
N(1) -Cu(1) -S(1)	81,772(19)
Cl(1) -Cu(1) -S(1)	93,720(12)
Cl(2) -Cu(1) -S(1)	107,228(11)
S(1) -Cu(1) -S(1)*	143,18(2)

*Simetria utilizada para gerar os átomos equivalentes: $1\ x, -y+1/2, z$.

A **Tabela 14** traz os principais comprimentos e ângulos de ligação para o complexo Cs, de posse destes valores e da equação de Addison, o parâmetro τ foi calculado, obtendo $\tau = 0,36$ aproximando - se de uma geometria piramidal de base quadrada. O plano basal desta estrutura é composta pelo ligante **Ls**, e pelo Cl(1), sendo que este está *trans* ao N(1) do ligante. Na posição axial tem-se o Cl (2) com um comprimento de ligação igual a 2,4100 Å, sendo 0,1816 Å mais alongada que a ligação Cu(1)-Cl(1) (ADDISON *et al.*, 1984).

O empacotamento para o complexo C_s demonstrado na Figura 32 mostra as interações dos cloretos Cl(1) e Cl(2) com N(1) ao longo do eixo a. Neste empacotamento estão presentes ligações de hidrogênio reportadas na **Tabela 15**.

Figura 32. Empacotamento cristalino do complexo C_s . (MACRAE *et al.*, 2008)



1

Tabela 15. Parâmetros geométricos (Å e °) das ligações de hidrogênio encontradas para o complexo C_s .

<i>D-H...A</i>	<i>d(D-H)</i>	<i>d(H...A)</i>	<i>d(D...A)</i>	$\angle(DHA)$
N(1)-H(1)...Cl(1)i	0,86	2,79	3,473(2)	137
N(1)-H(1)...Cl(2)ii	0,86	2,61	3,324(2)	141

Operações de simetria utilizadas para gerar os átomos equivalentes i x,-y+1/2,z; ii x+1/2,y,-z+3/2.

O comprimento de ligação Cu-N_{amina} dos complexos C_{se} e C_s apresenta-se ligeiramente mais curta quando comparados a outros complexos mononucleares pentacoordenados de cobre (II): Cu(HISMINA)Cl₂ (**a**) esta ligação possui ordem de 2,0784 Å e para Cu(pymina)Cl₂ (**b**) de 2,064 Å enquanto para C_{se} tem-se 2,036 Å e para o C_s 2,0127 Å. (FERRE *et al.*, 2017; SCARPELLINI *et al.*, 2003).

A ligação Cu-Cl no plano basal apresenta valores de comprimento de ligação concordantes aos reportados por (**a**) 2,2875 Å e (**b**) 2,2692 Å quando para C_{se} tem-se 2,2411 Å e C_s 2,2284 Å. No entanto, no que se refere a distância de ligação Cu-Cl apical C_s (2,4100

Å) e C_{Se} (2,4076 Å) possuem valores relativamente menores quando comparados para (a) 2,9242 Å e para (b) 2,5019 Å.

No entanto os complexos presentes em (a) e (b) possuem ligantes tridentados nitrogenados composto pelo nitrogênio da amina e por dois imidazóis, a distância de ligação Cu-N_{imidazol} possui comprimento em torno de 1,9 Å tanto para (a) quanto para (b), enquanto para C_{Se} e C_S ao invés dos imidazóis tem-se os calcogênios Se e S ligados ao Cu, com um comprimento de ligação muito mais alongado em torno de 2,5196 Å para Cu-Se e 2,4500 Å para Cu-S. Esta significativa diferença no comprimento de ligação pode ser explicada quando se comparam os raios atômicos para N, S e Se sendo 65 pm, 100 pm e 120 pm, respectivamente.

4.3.5 Análise elementar C, H e N

Os complexos C_{Se} e C_S foram caracterizados por análise elementar C, H e N e apresentaram resultados concordantes com as fórmulas moleculares determinadas pela análise de Raios X. A **Tabela 16** mostra a fórmula molecular para ambos os complexos, bem como as porcentagens de C, N e H calculada e a encontrada. As amostras foram secas por 48 horas a fim de evitar a presença de moléculas de água e/ou solvente na análise.

Tabela 16. Porcentagens de C, H e N para os complexos sintetizados via análise elementar (calculada/ encontrada).

Complexo	Fórmula molecular	%C	%H	%N
C_{Se}	$C_{16}H_{19}Cl_2CuNSe_2$	37,12/37,01	3,70/3,53	2,71/2,42
C_S	$C_{16}H_{19}Cl_2CuNS_2$	45,33/46,44	4,52/4,39	3,30/3,07

4.3.6 Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis

O comportamento espectral eletrônico dos complexos C_{Se} e C_S foi investigado em solução (MeOH e MeCN) e também no estado sólido por reflectância difusa (KBr). Os resultados obtidos estão resumidos na **Tabela 17**, os espectros no estado sólido e em solução estão apresentados nas **Figuras 33 a 36**.

Figura 33. Espectro de reflectância difusa em KBr para o complexo Cs.

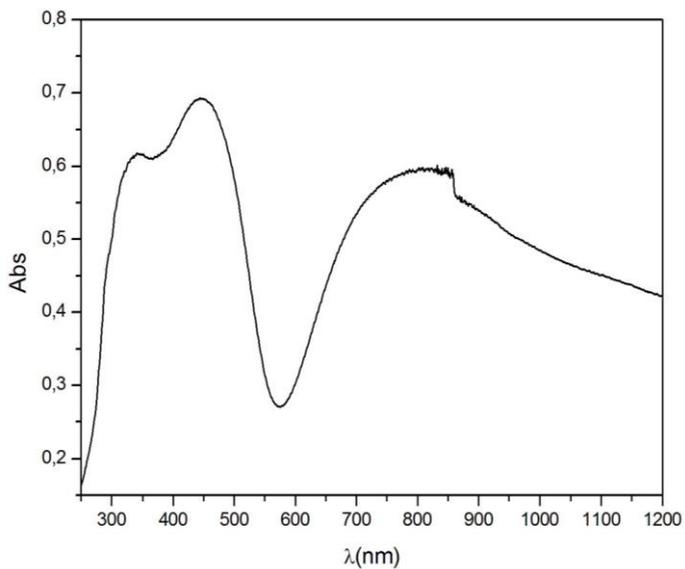
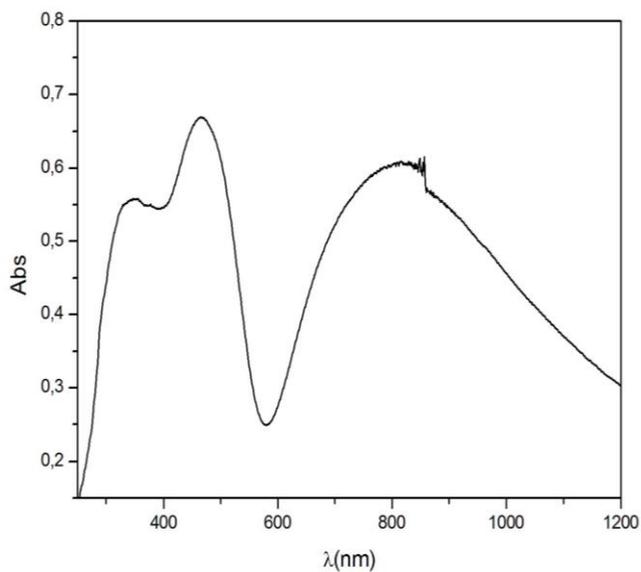
Figura 34. Espectro de reflectância difusa em KBr para o complexo Cs_e.

Figura 35. Espectro eletrônico do complexo C_{Se} em MeOH ($C = 2 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$) e em MeCN ($C = 1,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

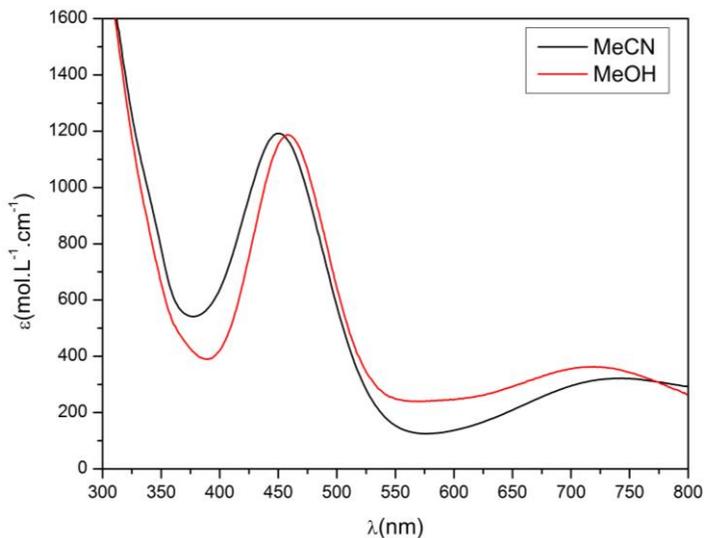


Figura 36. Espectros eletrônicos do complexo C_s em MeOH ($C = 7,8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e MeCN ($C = 1,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

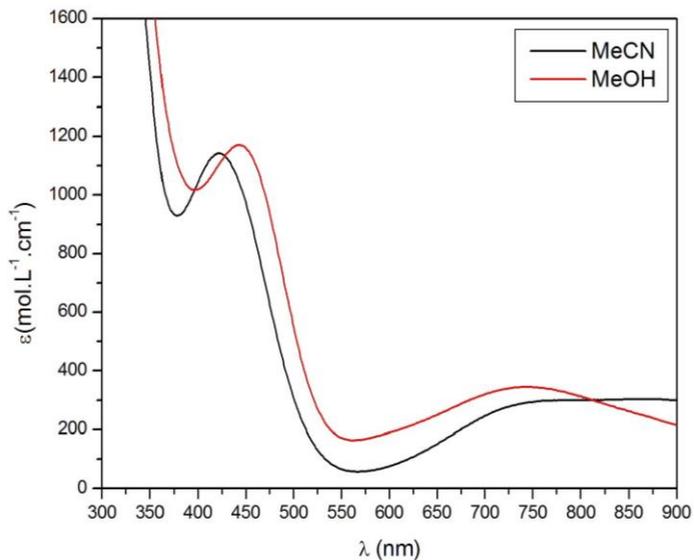


Tabela 17. Dados dos espectros eletrônicos dos complexos sintetizados neste trabalho.

<i>Complexo</i>	<i>Sólido^a</i>	<i>MeOH</i>	<i>MeCN</i>
	λ_{max} (nm)	λ_{max} (nm)/ \mathcal{E} (mol.L ⁻¹ .cm ⁻¹)	λ_{max} (nm)/ \mathcal{E} (mol.L ⁻¹ .cm ⁻¹)
C _{Se}	810/ 465/ 347	720/ 367 – 460 / 1190	740/ 320 – 450/ 1180
C _S	810/ 444/ 340	740/ 345 – 440/ 1170	760/ 297 – 420/ 1141

^a em pastilha de KBr.

O íon cobre (II) livre possui configuração eletrônica d^9 , ou seja possui 9 elétrons distribuídos nos cinco orbitais d degenerados, o que lhe confere o caráter paramagnético, pois possui um elétron desemparelhado obrigatoriamente. Estes orbitais sofrem grande influência da natureza do ligante e da geometria fazendo com que ocorra o desdobramento destes orbitais possibilitando a ocorrência de transições eletrônicas $d-d$, como ilustrado na **Figura 37**, onde é evidenciado o desdobramento dos orbitais d para algumas geometrias. Por isso as propriedades eletrônicas dos complexos de cobre são extremamente sensíveis ao ambiente de coordenação a que estão expostos (HOLM; KENNEPOHL; SOLOMON, 1996).

Compostos pentacoordenados de cobre (II) usualmente possuem geometrias piramidal de base quadrada (PBQ) ou bipirâmide trigonal (BPT), sendo que cada espectro eletrônico destas geometrias possui características bem distintas, devido à variação na simetria da molécula, que passa de um grupo de ponto C_{4v} para complexos PBQ para D_{3h} em compostos BPT. Os complexos PBQ possuem uma banda em alta energia e um ombro na região de menor energia, enquanto BPT possuem uma banda na região de baixa energia e um ombro na de alta (HEGG *et al.*, 1999; FURBEE *et al.*, 1995; HATHAWAY; BILLING, 1970).

Figura 37. Desdobramento dos orbitais d em diferentes geometrias.

$\overline{d_{z^2}}$	$\overline{d_{x^2-y^2}}$	$\overline{d_{z^2}}$ $\overline{d_{x^2-y^2}}$
$\overline{d_{xy}}$ $\overline{d_{x^2-y^2}}$	$\overline{d_{z^2}}$	
$\overline{d_{xz}}$ $\overline{d_{yz}}$	$\overline{d_{xy}}$	
BPT	$\overline{d_{xz}}$ $\overline{d_{yz}}$	$\overline{d_{xy}}$ $\overline{d_{xz}}$ $\overline{d_{yz}}$
	PBQ	Oh

Adaptado de: (HOUSECROFT; SHARPE, 2005).

A origem dos processos é avaliada pelo valor de ϵ (coeficiente de absorção), este é calculado pela equação de Lambert-Beer, dada por: $A = \epsilon \times b \times C$, onde A é absorvância obtida, b o caminho óptico da cubeta e C a concentração da solução em estudo. As bandas de transição $d-d$ são caracterizadas por valores baixos de ϵ devido ao fato de serem proibidas por Laporte, no entanto outras bandas importantes para a caracterização de complexos, como por exemplo as bandas de transferência de carga, seja metal \rightarrow ligante (TCML) ou ligante \rightarrow metal (TCLM), ambas são permitidas, o que lhes confere a característica de valores elevados de ϵ . Sendo assim, os espectros eletrônicos nos dizem muito sobre os compostos de coordenação, principalmente os de cobre (II) (OBERHAUSEN *et al.*, 1989; ATKINS; OVERTON, 2010).

Observando os gráficos nas **Figuras 35 e 36**, percebe-se que a presença de duas bandas, uma de maior intensidade na região de energia mais alta (menor comprimento de onda) e outra banda menos intensa numa região de menor energia (maior comprimento de onda). Este comportamento é típico de compostos de geometria piramidal de base quadrada, e corrobora com os dados obtidos pela difração de Raios X.

Outra evidência de coordenação piramidal de base quadrada é a posição da banda de menor energia. Conforme reportado por Marion e colaboradores, complexos com geometria bipirâmide trigonal apresentam esta banda deslocada para comprimentos de onda em torno de 850 nm, enquanto os complexos piramidais de base quadrada apresentam esta banda $d-d$ deslocada pra uma região de menor

comprimento de onda, próximo a 750 nm. Sendo que as bandas dos complexos C_{Se} e C_S absorvem em torno de 740 nm, reforça a permanência desta coordenação em solução (MARION *et al.*, 2012).

O valor de ϵ na banda da região de 450 nm é atribuída inicialmente a outra transição *d-d*, referente a geometria PBQ, como discutido acima. No entanto outras bandas podem estar sobrepostas, como, por exemplo, a banda referente a transição eletrônica do orbital S ou Se \rightarrow Cu, além da TCLM correspondente a transição $Cl^- \rightarrow Cu$ (FERRE *et al.*, 2017; MANDAI *et al.*, 1997).

Na análise de UV dos complexos em estado sólido percebe-se a presença de um ombro numa região de alta energia, a mesma está relacionada a transições intraligante e pode ser atribuída a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel benzênico ou a transições relacionadas aos orbitais dos calcogênios (KALITA *et al.*, 2015; PAVIA *et al.*, 2008).

4.3.7 Eletroquímica

Estudos eletroquímicos dos complexos são utilizados para estabelecer relações entre a capacidade redox dos mesmos e a sua atividade catalítica, pois há uma faixa de valores de potencial de redução onde os compostos podem ser considerados ativos para processos que envolvem transferências de elétrons. Se o potencial redox for muito negativo, processos de redução seriam improváveis, por outro lado se os valores forem muito altos o sistema seria incapaz de se reoxidar. Sendo visada a atividade catecolase, na qual se estuda a oxidação do substrato catecol, a espécie de cobre utilizada necessita ser reduzida e reoxidada; por esse motivo, o estudo eletroquímico e determinação dos potenciais de redução/oxidação é fundamental. (MALACHOWSKI *et al.*, 1995).

Sendo assim, o comportamento eletroquímico dos complexos foi investigado através da técnica de voltametria cíclica e/ou onda quadrada, com os valores referenciados para o eletrodo normal de hidrogênio (ENH) utilizando-se um padrão interno. Os voltamogramas obtidos encontram-se no **Apêndice III**, nas **Figuras 52 a 60**, enquanto a **Tabela 18** contém os valores de $E_{1/2}$ e os parâmetro de reversibilidade dos complexos em diferentes soluções de estudo (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

Tabela 18. Parâmetros eletroquímicos (*vs* ENH) para os complexos C_{se} e C_s a 100 mV.s⁻¹.

		E_{pc} (V)	E_{pa} (V)	$E_{1/2}$ (V) ^a	ΔE_p (V) ^b	i_p / i_{pa}
C _{se}	MeOH ^b	0,47	0,37	0,42	0,10	1,13
	DCM ^b	0,58	0,27	0,42	0,31	0,88
	MeCN ^b	0,58	0,38	0,48	0,2	0,76
	MeOH – pH 7 ^{b, c}	0,66	0,28	0,47	0,38	1,03
C _s	MeOH ^b	0,62	0,33	0,47	0,29	1,14
	DCM ^b	0,56	0,27	0,41	0,29	0,9
	MeCN ^b	0,56	0,37	0,46	0,19	1,05
	MeOH – pH 7 ^{b, c}	0,68	0,21	0,44	0,47	1,16

^a $E_{1/2} = (E_{pc} + E_{pa})/2$; ^b $\Delta E_p = (E_{pc} - E_{pa})$; ^b Sistema de três eletrodos : referência: Ag / AgCl; auxiliar: platina; trabalho: carbono vítreo. Eletrólito suporte: TBAPF₆. Referência interna: ferroceno. ^c MeOH / H₂O, na proporção 97: 3 % v/v (Tampão 7-TRIS).

A reversibilidade dos processos eletroquímicos é um dos parâmetro avaliados em técnicas eletroquímicas, sendo que os mesmos podem ser reversíveis, *quasi*-reversíveis e irreversíveis. As características de cada um desses processos são (MABBOTT, 1983):

- Reversíveis: o módulo entre o potencial da subtração entre o pico catódico e o anódico $\Delta E_p = |(E_{pc} - E_{pa})|$, deve ser de 0,59 V para processos que envolvem a transferência de um elétron. Além disso a razão entre a corrente de pico catódico sobre a corrente de pico anódico deve ser aproximadamente 1, em qualquer velocidade de varredura de potenciais;
- *Quasi*-reversíveis: Os valores de ΔE_p variam conforme a mudança na velocidade de varredura de potenciais;
- Irreversíveis: o pico de retorno das varreduras, em diferentes velocidades, geralmente não é observado, sendo os potenciais deslocados para regiões catódicas ou anódicas.

O processo registrado pelos espectros diz respeito a transferência de um elétron entre as espécies de Cu^{II} e Cu^I. De acordo com os critérios citados acima e avaliando-se os dados presentes na Tabela 18 é possível perceber que ambos complexos possuem um comportamento *quasi*-reversível, em todos os meios apresentaram pico anódico e catódico.

Para os compostos C_S e C_{Se} são registados apenas um processo com valores relativamente altos de potencial, em torno de 0,4 V *vs* ENH, o que vai de encontro com os valores encontrados para o par redox $Cu^{II}Cu^I$ presente nas metaloenzimas de cobre azuis do tipo I, e também com a tirosinase, metaloenzimas de cobre do tipo 2, estas que, como visto anteriormente, são caracterizadas por estarem envolvidas em processos de transferências de elétrons nos sistemas biológicos, os $E_{1/2}$ destas vão de 0,1 até 0,68 V *vs* ENH (MANDAI *et al.*, 1997; HOLM; KENNEPOHL; SOLOMON, 1996; FURBEE *et al.*, 1995).

Estes altos valores de potencial para os complexos sintetizados neste trabalho diferem dos complexos mononucleares de cobre(II) reportados na literatura, cujas esferas de coordenação possuem fenolatos, ou até mesmo ligantes nitrogenados compostos por iminas e aminas, espécies estas que possuem valores redox deslocados para regiões de potencial negativo (BORTOLUZZI *et al.*, 2003; SCARPELLINI *et al.*, 2004; HIROHAMA; KURANUKI; EBINA, 2005; FERRE *et al.*, 2017; BESSA *et al.*, 2013).

Quando realizada voltametria de onda quadrada para ambos os complexos em meio cinético de oxidação, ou seja, em meio aquoso, percebe-se que há a presença de dois processos, sendo um destes irreversível. Isto é explicado pelo equilíbrio de espécies em solução, onde em pH 7 podem haver espécies de cobre contendo moléculas de água coordenadas, conforme ilustrado nas **Figuras 38 e 39**. No entanto, o melhor entendimento deste equilíbrio se dará com estudos realizados posteriormente.

Figura 38. Voltametria cíclica do complexo C_{Se} em MeOH / H_2O 97: 3% v:v em pH 7 (tampão TRIS) na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = $0,4 \text{ V}$) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

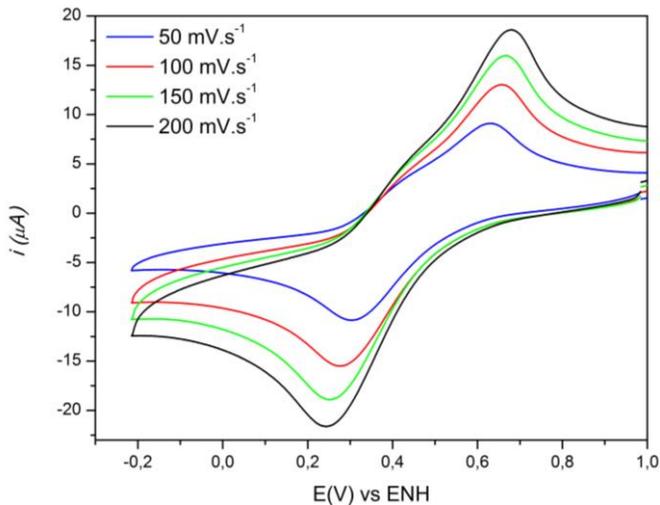
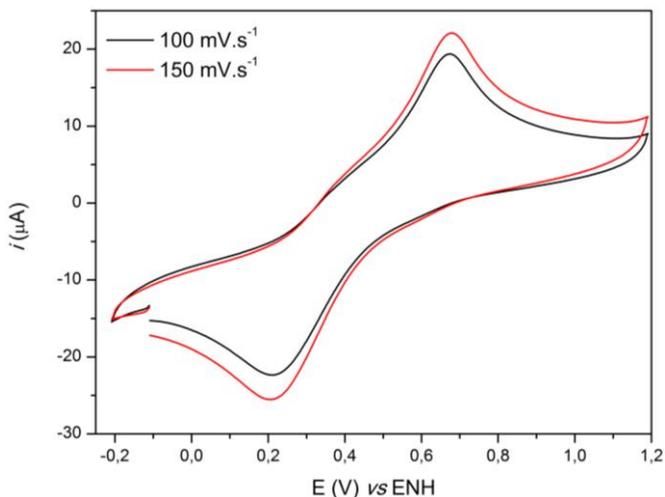


Figura 39. Voltametria cíclica do complexo C_s em MeOH / H_2O 97: 3% v:v em pH 7 (tampão TRIS) na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = $0,4 \text{ V}$) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).



4.4 REATIVIDADE

Tendo em vista que o objetivo principal deste trabalho é o desenvolvimento de novos compostos capazes de exercer atividade catalítica mimética a metaloenzimas, esta seção apresentará os ensaios cinéticos realizados com os complexos C_{Se} e C_S .

4.4.1 Cinética de Hidrólise do substrato 2,4-BDNPP

Uma das principais vertentes da química bioinorgânica é a busca de compostos metálicos que possuam atividade catalítica análoga a das metaloenzimas, compostos estes são chamados de miméticos de função. A quebra de ligações P-O de diésteres de fosfato de maneira catalítica atrai grande interesse da bioinorgânica, devido ao fato destas ligações estarem abundantemente presentes em estruturas de extrema importância biológica como o DNA e RNA, sendo que a quebra destas ligações é um desafio, devido tamanha estabilidade das mesmas, e como visto anteriormente, é desenvolvida com eficiência por metaloenzimas da classe das hidrolases (WOLFENDEN; SNIDER, 2001).

Hendry e colaboradores (HENDRY; SARGESON, 1989; HEGG; BURSTYN, 1998) definiram algumas características que complexos metálicos necessitam possuir para caracterizarem-se como possíveis hidrolases sintéticas:

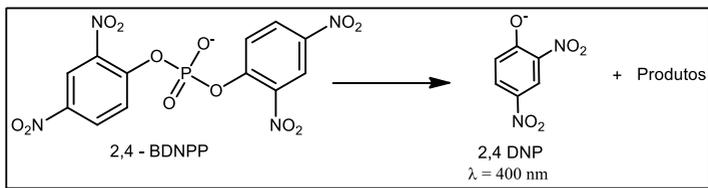
- i. Possuir dois sítios lábeis *cis* orientados;
- ii. Promover a redução do pK_a da molécula de água coordenada ao centro metálico;
- iii. Facilitar a ativação do substrato através de ataque nucleofílico ou estabilização de um estado de transição;
- iv. Liberar o produto com velocidade razoável.

Conforme determinado pela difração de Raios X, os complexos C_{Se} e C_S enquadram-se no requisito estrutural previsto por Hendry, possuindo dois cloretos com orientação *cis*, além da labilidade dos mesmos, evidenciada pelas análises de condutivimetria e ESI-MS. Sendo assim a cinética para a hidrólise de diéster de fosfato foi conduzida.

Para a cinética de hidrólise, o substrato escolhido foi o bis (2,4 dinitrofenil) fosfato (2,4-BDNPP) e, sua reação está apresentada no **Esquema 9**. O 2,4-BDNPP é um fosfato bastante reativo devido à presença de dois grupamentos nitro nas posições *orto* e *para* do anel

aromático, sem estes grupamentos ativantes este substrato seria extremamente pouco reativo (BUNTON; FARBER, 1969; REY *et al.*, 2007; KIRBY; YOUNAS, 1970).

Esquema 9. Esquema reacional referente a hidrólise do substrato modelo ativado 2,4-BDNPP.



O monitoramento reacional foi realizado através da banda em 400 nm, referente ao produto 2,4 DNP (2,4 dinitrofenolado) formado. A cinética foi conduzida através do método das velocidades iniciais, sendo que a reação de hidrólise não catalisada foi subtraída através de uma reação sob as mesmas condições, na ausência do complexo que atua como catalisador. (PISZKIEWICZ, 1977; CAMARGO *et al.*, 2015).

4.4.1.1 Efeito do pH na reação de hidrólise

Inicialmente, realizou-se o estudo do efeito de pH sobre a reação de hidrólise do 2,4 BDNPP catalisada pelos complexos C_{Se} e C_S , com a finalidade de descobrir o pH de máxima atividade, além de encontrar o pK_a cinético da molécula de água coordenada ao centro metálico.

A atividade hidrolase foi investigada na faixa de pH de 4 até 9,5 utilizando-se excesso de substrato frente ao catalisador na razão de aproximadamente 40 vezes. Ambos os sistemas apresentaram um perfil de sino, com máximo em 6,5. As **Figuras 40 e 41** mostram os gráficos de dependência de k_{obs} versus pH, mostrando que a reação é fortemente dependente do pH do meio.

Figura 40. Gráfico de k_{obs} em função do pH referente ao complexo C_{Se} para a reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP a 25°C. Solução MeCN /H₂O 1:1; [complexo] = 8×10^{-5} mol L⁻¹; [substrato] = $3,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. (MES - pH 4,0, a 6,5, HEPES - pH 7,0 a 8,5 e CHES - pH 9,0 a 9,5); I^- = 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄).

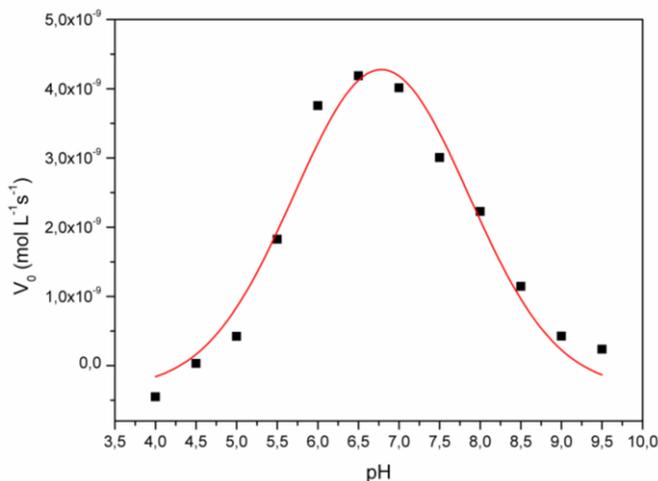
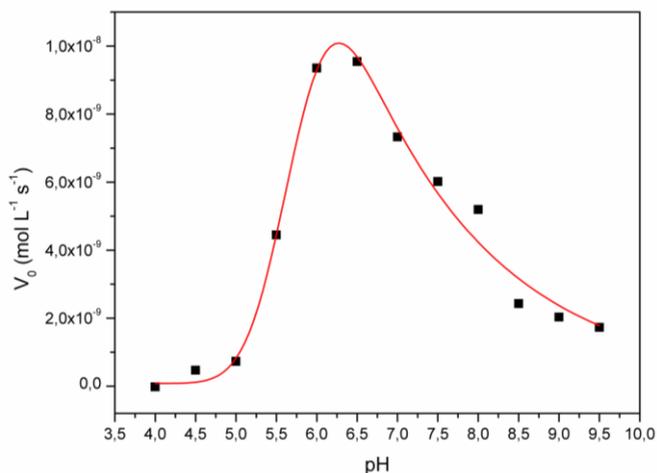


Figura 41. Gráfico de k_{obs} em função do pH referente ao complexo C_s para a reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP a 25°C. Solução MeCN /H₂O 1:1; [complexo] = $9,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; [substrato] = $3,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. (MES - pH 4,0, a 6,5, HEPES - pH 7,0 a 8,5 e CHES - pH 9,0 a 9,5); I^- = 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄).



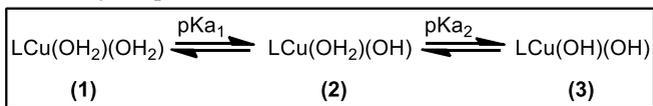
Percebe-se pelo perfil da dependência que há dois pontos de inflexão, os quais tiveram seus valores tratados pelo modelo de Boltzman. Correspondendo aos valores de pK_{a1} e pK_{a2} estes são chamados de pK_{a} s cinéticos, podendo ser correlacionado com as constantes de protonação (pK_a) para as moléculas de água coordenadas ao átomo de Cu(II). A **Tabela 19** mostra os valores de pK_{a} s cinéticos obtidos.

Tabela 19. Valores de pK_{a} 's cinéticos obtidos para os complexos sintetizados neste trabalho em MeCN :H₂O 50% v:v.

<i>Complexo</i>	<i>pK_{a1}</i>	<i>pK_{a2}</i>
C _{Se}	5,80	7,95
C _S	5,75	7,65

O perfil em sino corrobora com o equilíbrio de espécies proposta pelo **Esquema 10**, onde a espécie **(1)**, originada pela solubilização dos complexos C_{Se} e C_S e meio aquoso, com à medida que o pH aumenta, o meio fica mais básico, ocorrendo, então, sofre a desprotonação da H₂O coordenada ao centro de cobre, ocasionando a primeira inflexão (pK_{a1}), formando a espécie **(2)**, que corresponde à espécie ativa, pois há a presença de um nucleófilo forte. Esta espécie atinge sua concentração máxima no pH 6,5, sendo este o de máxima atividade. Em pHs mais básicos que 6,5, onde ocorre a segunda inflexão (pK_{a2}), correspondendo a **(3)** onde há a desprotonação da segunda molécula de água coordenada ao cobre, sendo esta a forma inativa, pois o ligante hidróxido não é tão lábil quanto a água e assim a associação do substrato ao catalisador é diminuída.

Esquema 10. Proposta de equilíbrio das espécies pertencentes aos complexos C_{Se} e C_S em solução aquosa.



No momento em que se compara os valores de pK_{a1} cinético obtidos para os complexos C_{Se} e C_S (5,8 e 5,75, respectivamente), com complexos que possuem esfera de coordenação semelhante, mas contendo apenas ligantes nitrogenados coordenados ao cobre (II), como por exemplo, Cu(HISMIMI)Cl₂: pK_a 8,78; Cu(HISMIMA)Cl₂: pK_a 9,38; [Cu(Hdaza)Cl₂]Cl.H₂O: pK_a 7,58. Percebe-se claramente que a

inserção de átomos maiores e menos eletronegativos neste caso Se e S modificaram drasticamente a acidez de Lewis do centro de cobre (SCARPELLINI *et al.*, 2003; WESTRUP, 2011).

4.4.1.2 Efeito da concentração de substrato na reação de hidrólise

Os experimentos cinéticos em função da concentração do substrato 2,4-BDNPP foram realizados no pH de máxima atividade determinado previamente, sendo este 6,5 para ambos os complexos, os experimentos foram realizados a 25°C.

As curvas de velocidade inicial (V_0) *versus* a concentração do substrato, estão reportadas nas **Figuras 42 e 43**, tem-se que este comportamento segue o modelo de Michaelis-Menten, que obedece a **Equação 3**. É possível observar que um platô de saturação é atingido, sugerindo que existe a formação de um intermediário complexo-substrato (ATKINS, G; NIMMO, I, 1980; HEGG; BURSTYN, 1998).

$$V_0 = \frac{V_{M\acute{a}x} \cdot [Substrato]}{[Substrato] + K_m} \quad (\text{Equação 3})$$

Nestas mesmas figuras estão presentes os dados linearizados pelo método de Lineweaver-Burke, esta é dada pela **Equação 4**. Em sistemas que obedecem a relação de Michaelis Menten, o gráfico plotado $1/v_0$ *versus* $1/[S]$ produzirá uma linha reta. Comprova-se assim que os compostos C_{Se} e C_S obedecem Micheaelis Menten. Sendo assim, os dados cinéticos foram tratados pela mesma equação, e os resultados obtidos estão na **Tabela 20** (NELSON; COX; LEHNINGER, 2005).

$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} + \frac{K_M}{V_{m\acute{a}x} \cdot [Substrato]} \quad (\text{Equação 4})$$

Figura 42. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo C_{Se} a 25°C e pH 6,5. Solução MeCN/H₂O 1:1; [complexo] = $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; [substrato] = $4,0 \times 10^{-4}$ a $6,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. $I = 0,05$ mol L⁻¹ (LiClO₄).

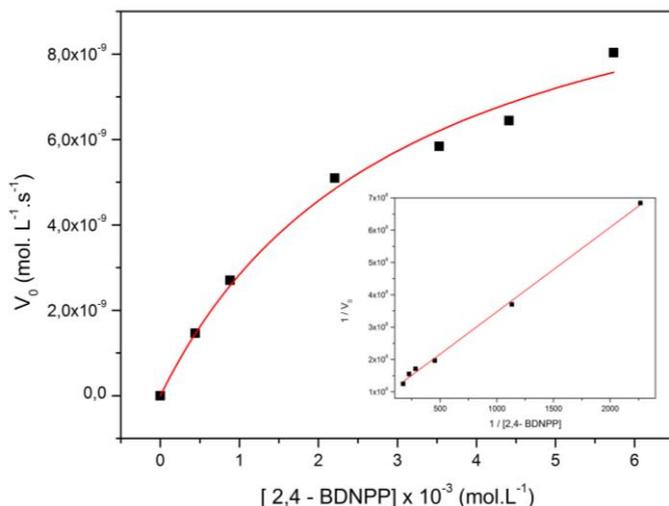


Figura 43. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo C_S a 25°C e pH 6,5. Solução MeCN/H₂O 1:1; [complexo] = $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; [substrato] = $4,0 \times 10^{-4}$ a $6,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. $I = 0,05$ mol L⁻¹ (LiClO₄).

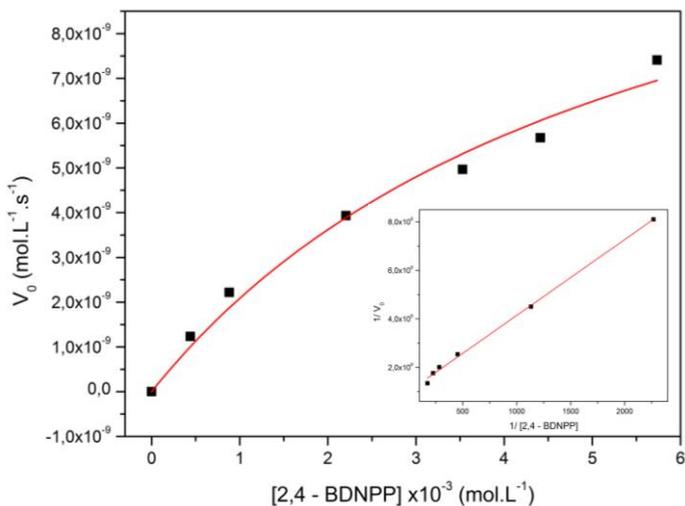


Tabela 20. Parâmetros cinéticos calculados a 25 °C e pH 6,5 para as reações de hidrólise do substrato 2,4 – BDNPP catalisadas pelos complexos C_{Se} e C_S.

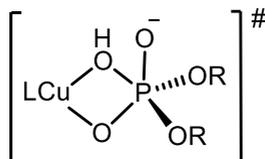
	$V_{m\acute{a}x}$ ($mol.L^{-1}.s^{-1}$)	K_M ($mol.L^{-1}$)	k_{cat} (s^{-1})	K_{ass}^a ($mol.L^{-1}$)	$E = k_{cat}/K_M$ ($L.mol^{-1}.s^{-1}$)
C _{Se}	$1,17 \times 10^{-8}$	$3,13 \times 10^{-3}$	$1,17 \times 10^{-4}$	319,49	$3,7 \times 10^{-2}$
C _S	$1,37 \times 10^{-8}$	$5,58 \times 10^{-3}$	$1,97 \times 10^{-4}$	179,21	$3,5 \times 10^{-2}$

$$^a K_{ass} = 1/K_M$$

Os valores de k_{cat} para ambos complexos apresentam-se semelhantes, o que é esperado tendo em vista a proximidade dos valores de pK_a s cinéticos, o que corrobora com o reportado por Peralta e colaboradores, que propõem que se a força do nucleófilo é semelhante, espera-se o mesmo para a reatividade, sendo que esta depende diretamente da eficiência do ataque nucleofílico do hidróxido (PERALTA et al., 2010).

Outra relação a ser observada é a reportada por Hegg e colaboradores, onde é proposto que o estado de transição de quatro membros ilustrado na **Figura 44**, formado pelo ataque nucleofílico do OH, é estabilizado de acordo com o ângulo formado por X - Cu - X onde X representa o ligante lábil *cis* orientado, quanto menor o ângulo, espera-se que ocorra um incremento na atividade apresentada pelo complexo, devido a uma maior proximidade do nucleófilo ao seu centro de ataque (HEGG *et al.*, 1999; DEAL; BURSTYN, 1996).

Figura 44. Estado transição proposto referente ao ataque nucleofílico intramolecular do hidróxido coordenado ao cobre, gerando uma espécie pentacoordenada de fósforo.



Fonte: (DEAL; BURSTYN, 1996)

Sabendo-se que o ângulo entre os cloretos e o cobre para o C_{Se} e C_S são muito próximos, na ordem de 98,66° e 98,48°, respectivamente, os valores similares de k_{cat} encontrados são coerentes e justificáveis. A **Tabela 21** apresenta a relação entre o ângulo formado pelo Cu (II) e seus sítios lábeis e os valores de k_{cat} de complexos relacionados na literatura. Devido à grande variedade de substratos e condições de cinética, poucos complexos puderam ser comparados de maneira direta.

O complexo $[\text{Cu}(\text{Hdaza})\text{Cl}_2]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ apresenta um ângulo substancialmente menor do que os complexos C_{Se} e C_{S} , afetando de maneira esperada o k_{cat} , enquanto os complexos $\text{Cu}(\text{HISMIMA})\text{Cl}_2$ e $\text{Cu}(\text{HISMIMI})\text{Cl}_2$ apresentam ângulos maiores que os complexos reportados neste trabalho, e apesar de os estudos terem sido realizados numa temperatura elevada, os valores de k_{cat} permaneceram com valores na mesma ordem que C_{Se} e C_{S} .

Tabela 21. Relação entre os valores de ângulo de ligação X - Cu - X, onde X = Cl, de diferentes complexos reportados na literatura com seus respectivos valores de k_{cat} bem como o meio cinético em que os dados foram obtidos.

<i>Complexo</i>	<i>X - Cu - X^a</i>	<i>k_{cat}</i>	<i>Condição cinética</i>
$[\text{Cu}(\text{Hdaza})\text{Cl}_2]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}^{\text{b}}$	95,54	$3,85 \times 10^{-3}$	25°C / pH 8,9
C_{S}	98,48	$1,97 \times 10^{-4}$	25°C / pH 9,0
C_{Se}	98,66	$1,17 \times 10^{-4}$	25°C / pH 6,5
$\text{Cu}(\text{HISMIMA})\text{Cl}_2^{\text{c}}$	100,23	$3,38 \times 10^{-4}$	50°C / pH 9,3
$\text{Cu}(\text{HISMIMI})\text{Cl}_2^{\text{c}}$	103,22	$1,40 \times 10^{-4}$	50°C / pH 9,3

^aX = Cl; ^b(WESTRUP, 2011); ^c(SCARPELLINI *et al.*, 2003).

Uma observação a ser feita a respeito dos dados da **Tabela 21**, é o fato dos complexos reportados neste trabalho possuírem uma atividade semelhante, ou até superior, aos demais, em condições muito mais brandas de temperatura e de pH. Tendo em mente a atividade de nucleasse sintética, um complexo capaz de apresentar atividade catalítica em temperatura ambiente e pH próximo a neutro é de maior valia devido a referência ao meio biológico.

Foi determinado o fator catalítico (f) para ambos os complexos, que consiste na razão entre o valor da velocidade de reação catalisada (k_{cat}) e a velocidade da hidrólise não catalisada (k_{nc}), que em pH 6,5 e em 25°C é de $k_{\text{nc}} = 1,8 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$. Sendo assim, o complexo C_{Se} possui uma aceleração de 650 e o C_{S} de 1094,4 vezes frente a reação não catalisada (BUNTON; FARBER, 1969).

O valor de K_{M} , tido como constante de Michaelis Menten, diz respeito a afinidade complexo-substrato, e como pode ser visto na **Equação 3**, seu valor é inversamente proporcional a atividade catalítica máxima ($V_{\text{máx}}$). Visto isso, pode-se perceber que o substrato possui um pouco mais de afinidade pelo complexo C_{Se} quando comparado ao complexo C_{S} .

4.4.1.3 Proposta de mecanismo para a reação de hidrólise

Diante dos resultados cinéticos obtidos, buscou-se investigar o mecanismo de reação que os complexos C_{Se} e C_S estão envolvidos. Sendo assim iniciou-se averiguando se os complexos possuem a habilidade de se regenerar e atuar como catalisador em mais de um ciclo catalítico. Foi realizado o acompanhamento espectrofotométrico do incremento da banda em 445 nm ($\epsilon = 3600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) durante um período de 24 horas a 25°C, no pH 6,5. Durante este período, o complexo C_{Se} foi capaz de hidrolisar 2,3 equivalentes do substrato 2,4-BDNPP, enquanto o C_S mostrou-se capaz de hidrolisar 2,2 equivalentes deste mesmo substrato, comprovando assim que ambos os complexos sintetizados neste trabalho podem se regenerar e atuar em mais de um ciclo catalítico.

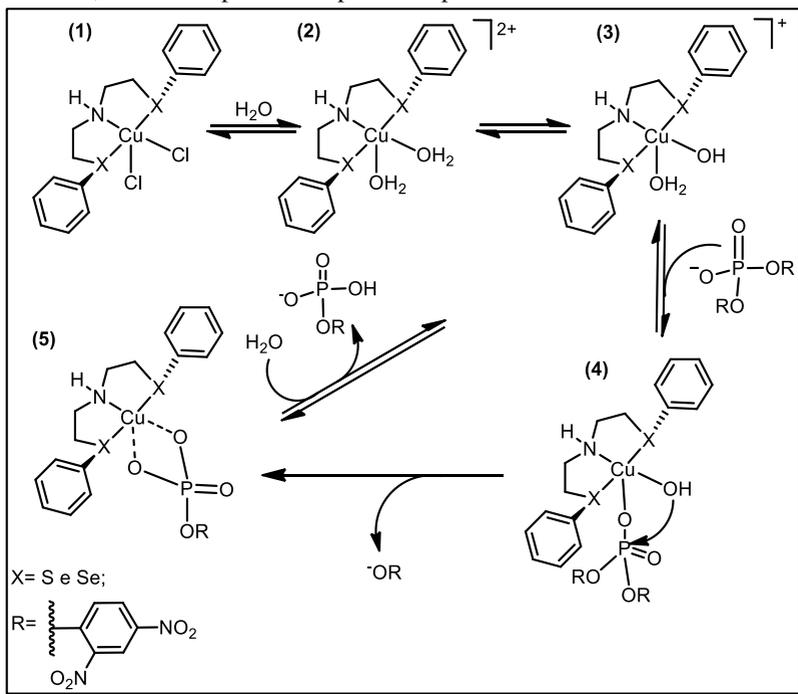
Os complexos também foram avaliados quanto a sua seletividade, se esta está direcionada exclusivamente as ligações de diéster ou se também mostravam-se efetivos frente ao monoéster. Realizou-se uma reação estequiométrica 1:1 entre complexo e o substrato 2,4-BDNPP, monitorando espectrofotometricamente a reação em 400 nm, a 50°C, e após 60 horas observou-se a liberação de apenas um equivalente de fenolato, comprovando que ambos complexos são capazes de atuar apenas como diesterases.

A fim de descobrir se o mecanismo de hidrólise está relacionado realmente ao ataque nucleofílico ao átomo de fósforo de maneira intramolecular, indo ao encontro do reportado em literatura, realizou-se o teste de efeito isotópico de deutério na hidrólise do substrato 2,4-BDNPP, com o pD corrigido para 6,1 (0,4 abaixo do realizado com água) correspondente ao pH de máxima atividade. De acordo com Deal e colaboradores, se a razão entre as constantes de velocidade da hidrólise realizada em H_2O em relação da realizada em D_2O , sob as mesmas condições, estiver entre os valores de 0,80 e 1,50, indica que não há transferência de prótons na etapa determinante da reação, sugerindo que ocorra um ataque nucleofílico intramolecular nesta etapa. O valor de k_H / k_D para os complexos C_S apresentou o valor de 0,83, indicando que o mecanismo reacional se dá através de um ataque nucleofílico intramolecular (DEAL; HENGGE; BURSTYN, 1996).

Possuindo o compilado de dados obtidos durante este trabalho, fez se a proposta mecanística para a reação, representada no **Esquema 11**, condizente ao proposto por outros complexos mononucleares presentes na literatura. A estrutura (**1**) determinada por Raios X possui

dois cloretos lábeis *cis* orientados, que quando solubilizada em meio aquoso produz a forma (2), sendo estes ligantes mais fracos que a água de acordo com a série espectroquímica. Através do acompanhamento cinético propõe-se que a estrutura ativa é a estrutura (3), devido à presença de um nucleófilo forte (OH^-) necessário para que ocorra o ataque nucleofílico demonstrado em (4), onde é sugerida a saída da molécula de água e a entrada do substrato, o qual é facilitado pela orientação *cis* das moléculas de água e gera a saída do grupamento 2,4 DNP. O ciclo catalítico se regenera com a saída do monoéster e novamente a espécie (3) é formada. Ressalta-se a determinação do valor de pKa quando a espécie (2) sofre desprotonação da molécula de água equatorial coordenada, sugerindo que o substrato liga-se axialmente ao complexo (HEGG *et al.*, 1999; DECK *et al.*, 2002; DEAL; HENGGE; BURSTYN, 1996; DEAL; BURSTYN, 1996; SCARPELLINI *et al.*, 2003; ITOH *et al.*, 1998; DESBOUIS *et al.*, 2012).

Esquema 11. Proposta mecanística para a clivagem catalítica do substrato ativado 2,4 - BDNPP promovida pelos complexos sintetizados neste trabalho

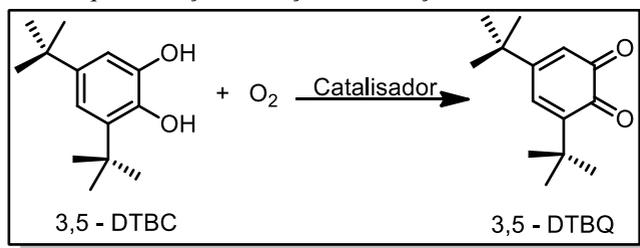


4.4.2 Cinética de Oxidação do 3,5 DTBC

Complexos promíscuos são compostos que apresentam atividade catalítica frente a diferentes substratos, e estes vem recebendo especial atenção em nosso grupo de pesquisa (PERALTA *et al.*, 2012, REY *et al.*, 2007). Por este motivo, foi testada a capacidade catalítica dos complexos C_{Se} e C_S frente a oxidação de catecol, atividade esta que é denominada catecolase, devido à atividade da metaloenzima Catecol Oxidase.

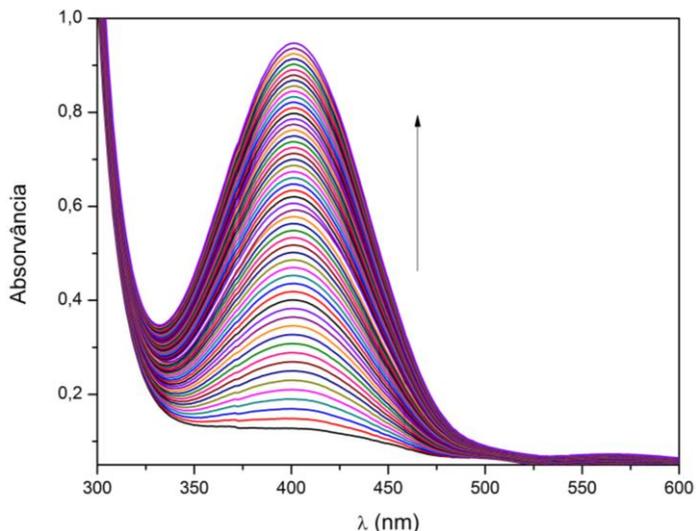
O substrato escolhido foi o 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-DTBC) que tem como produto de oxidação a 3,5-di-*terc*-butilquinona (3,5-DTBQ) conforme o **Esquema 12**. A presença dos dois substituintes *terc* butil no anel aromático torna este substrato estericamente impedido, evitando que ocorram reações indesejadas, como a abertura do anel aromático. Além disso este substrato possui um baixo potencial redox, o que torna sua oxidação facilitada (MARION *et al.*, 2012).

Esquema 12. Esquemática da reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC.



O monitoramento da reação é feito espectrofotometricamente, acompanhando-se o surgimento da banda em $\lambda = 400$ nm ($\epsilon = 1645$ L. $\text{cm}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$) referente ao produto 3,5-DTBQ. A Figura 45 corresponde aos estudos iniciais feitos para o complexo C_S , e conforme observado, o aumento significativo neste comprimento de onda demonstra que o complexo possui uma potencial atividade catecolase (FERRE *et al.*, 2017).

Figura 45. Variação espectral observada durante a reação de oxidação do substrato 3,5 DTBC promovida pelo complexo Cs. Condições: pH 7; 25 °C; solução MeOH / H₂O (97 :3 % v / v); [complexo] = 3,3 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹; [substrato] = 2,4 x 10⁻³ mol.L⁻¹; [tampão] = 0,03 mol.L⁻¹.



4.4.2.1 Efeito do pH na reação de oxidação

Inicialmente averiguou-se como a reação se comportava em diferentes pHs, visando-se obter o pH de máxima atividade bem como determinar o valor de pK_a das moléculas de água coordenadas ao centro de Cu(II).

De todos os valores de v_0 foi subtraído o valor da auto oxidação do substrato, sendo que para cada experimento fez-se outro nas mesmas condições na ausência do complexo. Todos os experimentos foram conduzidos a 25°C com auxílio de um banho termostatizado acoplado ao equipamento Cary-Varian e a faixa de pH trabalhada foi de 5,5 até 10.

Ambos complexos mostraram-se dependentes do pH, possuindo máximo em torno de 7. A relação entre k_{obs} versus pH estão apresentados nas **Figuras 46 e 47**. Percebe-se pelos gráficos que existem dois pontos de inflexão, os quais são tratados pela equação de Boltzmann e são estimados os pK_as cinéticos.

Figura 46. Gráfico de k_{obs} em função do pH referente ao complexo C_{Se} para a reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC a 25°C. Solução MeOH /H₂O 97:3 % v/v; [complexo] = $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; [substrato] = $2,4 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,03 mol L⁻¹. (MES - pH 5,5, a 6,5, TRIS - pH 7,0 a 10,0).

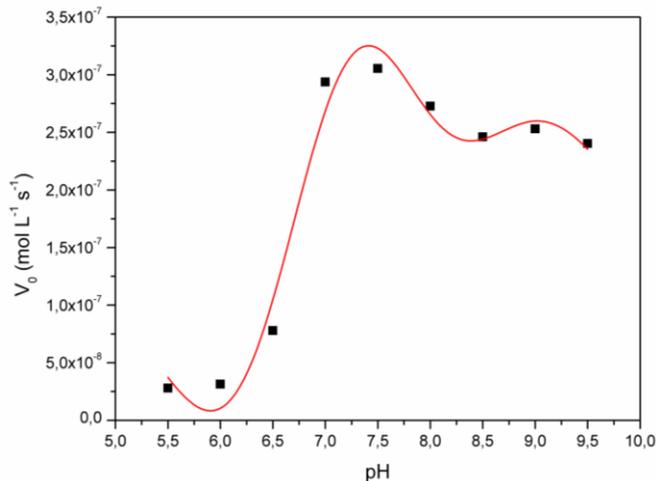


Figura 47. Gráfico de k_{obs} em função do pH referente ao complexo C_s para a reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC a 25°C. Solução MeOH /H₂O 97:3 % v/v; [complexo] = $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; [substrato] = $2,4 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,03 mol L⁻¹. (MES - pH 5,5, a 6,5, TRIS - pH 7,0 a 10,0).

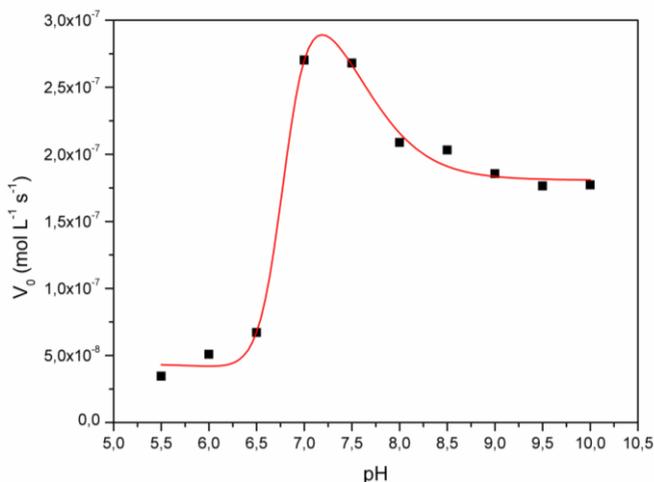


Tabela 22. Tabela comparativa de valores de $pK_{a,s}$ cinéticos para os complexos sintetizados neste trabalho e complexos mononucleares de cobre (II) reportados na literatura.

<i>Complexo</i>	<i>pK_{a1}</i>	<i>pK_{a2}</i>
C_{Se}	6,66	8,00
C_S	6,51	7,86
Cu(pymimi)Cl ₂ ^a	9,1	-
Cu(pymima)Cl ₂ ^a	9,2	-
Cu(aep)Cl ₂ ^b	7,8	-

^a (FERRE et al., 2017); ^b(POSADA et al., 2018).

A **Tabela 22** traz os valores dos $pK_{a,s}$ determinados para **C_{Se}** e **C_S**, com o pK_{a1} , referindo-se à primeira inflexão, estando correlacionado a desprotonação da primeira molécula de água coordenada ao centro metálico. O segundo pK_a , que se encontra em meio mais básico, está relacionado com a desprotonação da segunda molécula de água, levando à queda de atividade catecolase dos complexos.

Os valores de pK_a demonstrados para os complexos deste trabalho, apresentam-se num valor inferior aos reportados na literatura, como demonstrado na **Tabela 22**, onde estão demonstrados outros três complexos de cobre (II) com dois cloretos lábeis, no entanto contendo ligantes tridentados nitrogenados. Comprova-se assim que a inserção dos calcogênios Se e S na esfera primária de coordenação dos complexos afetou a densidade eletrônica no centro de cobre, deslocando significativamente os valores de pK_a .

4.4.2.2 Efeito da concentração do substrato

A dependência da concentração de substrato de ambos os complexos é mostrada nas **Figuras 48** e **49**. As análises foram feitas a 25°C e no pH 7, sendo este o de máxima atividade determinado no efeito de pH.

Observa-se que, com o aumento da concentração de substrato, o gráfico tende a um perfil de saturação, o que caracteriza a formação de um intermediário substrato-complexo, possibilitando o tratamento dos dados pelo modelo de Michaelis Menten, com os mesmos sendo linearizados pelo método Lineweaver-Burke. Os parâmetros cinéticos obtidos estão apresentados na **Tabela 50** (ATKINS, G; NIMMO, I, 1980; NELSON; COX; LEHNINGER, 2005).

Figura 48. Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-DTBC com a concentração do substrato para o complexo C_{se} a 25°C e pH 7. Solução MeOH /H₂O 97:3% v/v; [complexo] = $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; [substrato] = $9,0 \times 10^{-4}$ a $1,6 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,03 mol L⁻¹.

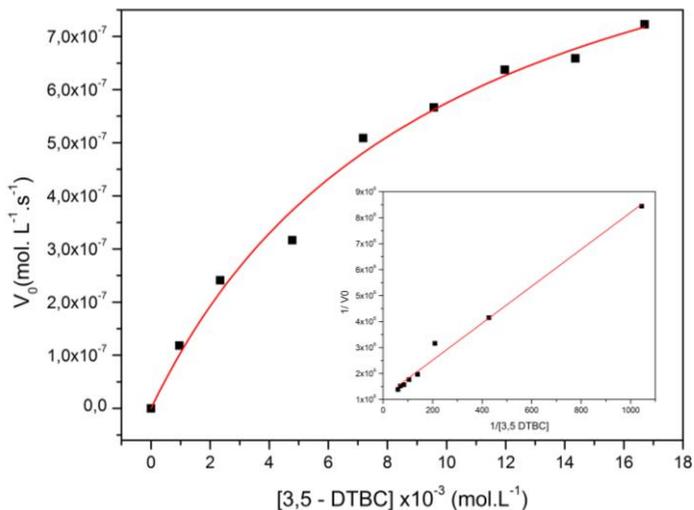


Figura 49. Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5 - DTBC com a concentração do substrato para o complexo C_{se} a 25°C e pH 7. Solução MeOH /H₂O 97:3% v / v; [complexo] = $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; [substrato] = $9,0 \times 10^{-4}$ a $1,6 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,03 mol L⁻¹.

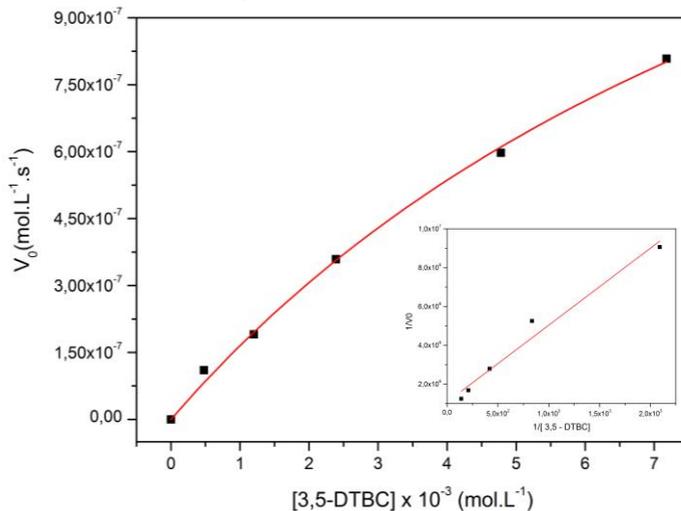


Figura 50. Parâmetros cinéticos para a reação de oxidação do substrato 3,5 – DTBC pelos complexos C_{Se} e C_S .

	$V_{m\acute{a}x}$ ($mol.L^{-1}.s^{-1}$)	K_M ($mol.L^{-1}$)	k_{cat} (s^{-1})	K_{ass}^a ($mol.L^{-1}$)	$E = K_{cat}/K_M$ ($L.mol^{-1}.s^{-1}$)
C_{Se}	$1,14 \times 10^{-6}$	$9,87 \times 10^{-3}$	$4,87 \times 10^{-2}$	101,32	4,93
C_S	$2,12 \times 10^{-6}$	$11,8 \times 10^{-3}$	$6,37 \times 10^{-2}$	84,75	5,38

^a $K_{ass} = 1 / K_M$.

A constante de Michaelis-Menten (K_M), indica a afinidade entre o substrato e o catalisador, em que quanto menor o seu valor maior será esta afinidade, o seu inverso, K_{ass} , ($1/K_M$), nos dá a relação direta entre associação da enzima pelo substrato. O valor de K_{ass} do complexo C_{Se} é superior ao do complexo C_S , mostrando assim maior interação pelo substrato.

Quando se trata de atividade catecolase, uma das propriedades relevantes dos catalisadores é o seu comportamento redox, pois esta atividade depende da transferência de elétrons. Como determinado previamente, o comportamento eletroquímico de ambos os complexos é muito semelhante, sendo assim, espera-se que os parâmetros cinéticos obedeçam a mesma premissa. Ao se comparar os valores de eficiência catalítica vê-se que esta premissa é válida.

Ao se comparar as constantes catalíticas dos complexos sintetizados neste trabalho, com outros de coordenação semelhante como (a) $Cu(py\text{mimi})Cl_2 = 6,01 \times 10^{-2} s^{-1}$ (b) $Cu(py\text{mima})Cl_2 = 10,89 \times 10^{-2} s^{-1}$ e (c) $Cu(aep)Cl_2 = 6,25 \times 10^{-2} s^{-1}$, percebe-se que os valores de k_{cat} permanecem na mesma ordem quando se compara com os complexos sintetizados neste trabalho. No entanto a eficiência catalítica, dada pela razão entre a constante catalítica e a constante de Michaelis-Menten, mostra que estes complexos nitrogenados apresentam uma eficiência maior, (a) 21,64, (b) 24,59 e (c) 16,3 quando comparado aos complexos deste trabalho, sendo resultado de uma maior afinidade entre o substrato - complexo (POSADA *et al.*, 2018; FERRE *et al.*, 2017).

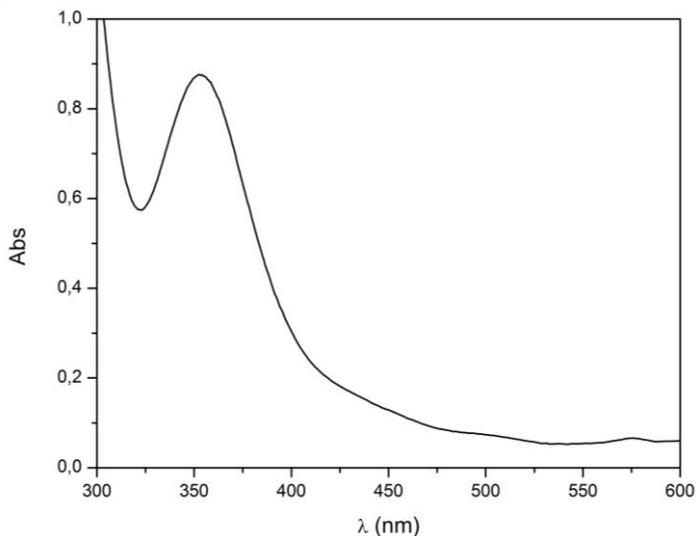
Como dito na sessão de revisão bibliográfica, a enzima Catecol Oxidase consiste em uma estrutura binuclear de cobre, sendo assim complexos binucleares foram inicialmente utilizados como miméticos tanto de função quanto de estrutura. No entanto a atividade catecolase vem sendo reportada com sucesso por complexos mononucleares de cobre(II), os complexos C_{Se} e C_S são exemplos desta classe mononuclear que desempenha com êxito esta atividade (PANDA *et al.*, 2011; MARION *et al.*, 2012; SERBEST, 2018; POSADA *et al.*, 2018).

4.4.2.3 Proposta mecanística para a reação de oxidação

A fim de se compreender a atuação dos complexos C_{Se} e C_S na oxidação do substrato 3,5-DTBC, foram investigados indícios de produção de peróxido de hidrogênio como subproduto, sendo este evidenciado por diversos exemplares na literatura. Por esse motivo realizou-se o teste de iodometria, conforme descrito na seção experimental, e a **Figura 51** elucida a confirmação da produção de H_2O_2 como subproduto, devido à presença da banda em 353 nm, comprovando assim que a reação segue a estequiometria representada pela equação abaixo. (ACKERMANN *et al.*, 2002; KOVAL *et al.*, 2006; PANDA *et al.*, 2011)



Figura 51. Detecção da banda em 353 nm referente a presença de peróxido de hidrogênio.



Outro teste de interesse mecanístico foi o monitoramento da reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC na ausência de oxigênio. O experimento foi conduzido em condições de excesso de substrato frente

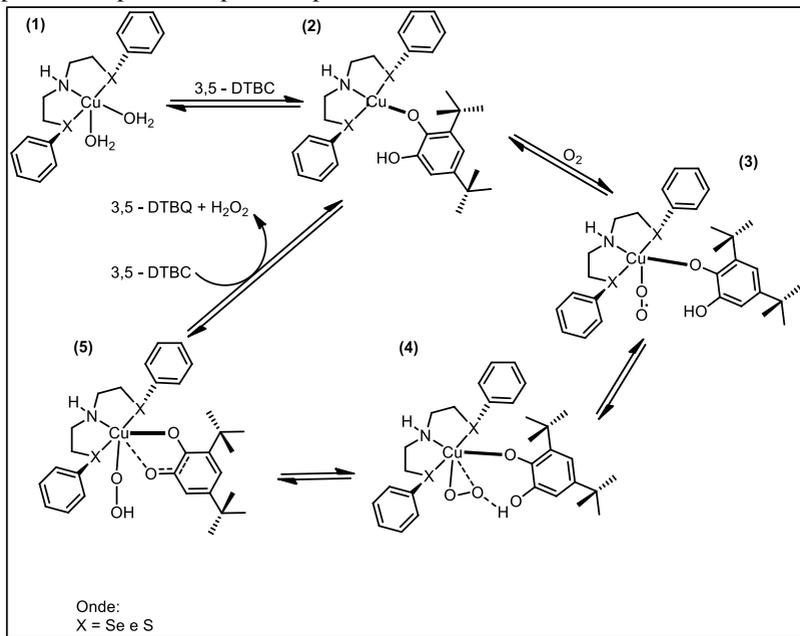
ao catalisador, sob atmosfera inerte, e a reação não procedeu, evidenciando o papel fundamental do oxigênio na reoxidação da espécie de cobre em solução.

Apesar da evidência que ocorra a formação de peróxido de hidrogênio, tanto a sua formação bem como intermediários reacionais, ainda não estão suficientemente elucidados. Panda e colaboradores reportaram o mecanismo baseado em cálculos de DFT (*Density Functional Theory*), onde os intermediários e os estados de transição envolvidos no ciclo catalítico foram calculados por otimização (PANDA *et al.*, 2011).

O **Esquema 13** vai de encontro ao reportado por Panda e colaboradores, onde espécie **(1)** é proveniente da troca de cloretos dos complexos C_{Se} e C_S em solução aquosa, a adição do substrato gera uma espécie de intermediária Cu(I)-semiquinona **(2)**. Na presença de oxigênio a espécie de Cu (II) superóxido **(3)** é gerada, a qual interage, de maneira intramolecular, com o OH presente na porção proveniente do catecol, gerando a espécie **(4)**, na qual ocorre a transferência intramolecular de um próton, levando a formação da espécie **(5)** e a subsequente liberação do produto 3,5-DTBQ e H_2O_2 .

Mecanismos similares são reportados na literatura para complexos mononucleares de Cu(II), os quais reportam intermediários binucleares como precursores da formação de peróxido de hidrogênio e espécies radicalares como intermediários. Sendo assim faz-se necessário a investigação por outras técnicas para uma melhor elucidação do mecanismo proposto neste trabalho (KOVAL *et al.*, 2006; MARION *et al.*, 2012; KAIZER *et al.*, 2002; SIEGBAHN; GUELL, 2007).

Esquema 13. Proposta mecânica para a oxidação do substrato 3,5-DTBC promovida pelos complexos reportados neste trabalho.



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Os ligantes bis[2-(selenofenil)etil] amina (L_{Se}) e bis[2-(tiofenil)etil] amina (L_S) e seus precursores foram sintetizados com bons rendimentos, foram caracterizados com sucesso pelas técnicas de RMN de 1H , RMN de ^{13}C , IV e ESI-MS.

Tendo estes compostos orgânicos disponíveis, realizou-se a síntese de dois novos complexos mononucleares de Cu(II): $Cu(L_{Se})Cl_2$ (C_{Se}) e $Cu(L_S)Cl_2$ (C_S). Ambos foram caracterizados por difração de raios x e por outras técnicas espectroscópicas e eletroquímicas.

Ambos os complexos apresentaram-se de maneira pentacoordenada com geometria pirâmide de base quadrada, com os ligantes coordenando-se de forma tridentada, e dois cloretos fechando a sua esfera de coordenação, sendo que as técnicas tanto em estado sólido quanto em solução foram de encontro com o determinado por raios X.

Os estudos eletroquímicos determinaram um potencial redox favorável para cinéticas de transferência de elétrons, pois mostraram-se capazes de sofrer redução e oxidação em potenciais redox acessíveis. Outro fato a se destacar é o valor de $E_{1/2}$ dos complexos, sendo atípico em relação a outros complexos desta mesma classe, no entanto similar às metaloenzimas envolvidas em sistemas redox no meio biológico.

Os estudos cinéticos frente ao substrato 2,4-BDNPP mostrou que os complexos C_{Se} e C_S são ativos para a hidrólise de diéster de fosfato, apresentando um mecanismo de ataque intramolecular do nucleófilo hidróxido ligado no centro metálico de cobre ao fósforo, indo ao encontro do descrito para compostos similares encontrados na literatura.

O valor de pK_a cinético, relacionado com a desprotonação da molécula de água coordenada ao átomo de cobre gerando o nucleófilo, mostrou-se com valor atípico quando comparado a outros complexos mononucleares de Cu(II), demonstrando a forte influência dos calcogênios Se e S na densidade eletrônica do centro metálico.

O valor de pK_a em torno de 5,8 torna possível a condução de testes cinéticos em um pH próximo ao neutro, o que tem-se grande importância, tendo em vista uma futura aplicação destes como nucleases sintéticas. Além disso, os complexos mostraram atividade em temperatura ambiente ($25^\circ C$), fato este também raro para complexos mononucleares de Cu (II).

Além dos pK_a s cinéticos, outros parâmetros como k_{cat} , K_M , K_{ass} , $V_{máx}$, entre outros, puderam ser calculados e comparados com a

literatura, mostrando que os complexos sintetizados neste trabalho apresentam uma atividade catalítica promissora. Quando os dois complexos são comparados, ambos tiveram atividade similar, o que se deve, entre outros fatores, à semelhança nos valores de pK_a s obtidos, além da semelhança entre os ângulos de ligação formados entre os cloretos e o cobre.

Os complexos C_{Se} e C_S apresentaram-se como cataliticamente promíscuos, visto que apresentaram atividade também frente à oxidação do substrato 3,5-DTBC, na qual os complexos exerceram com êxito a catálise, e os parâmetros cinéticos puderam ser novamente calculados, sendo possível avaliar a influência positiva dos calcogênios na esfera de coordenação primária do complexo.

A posição *cis* dos dois cloretos que fecham a esfera de coordenação dos complexos, mostrou ter importante função tanto na atividade hidrolase quanto na catecolase, visto a sua labilidade em solução aquosa, permitindo a aproximação dos substratos ao centro metálico.

6. PERSPECTIVAS

Primeiramente deve-se investigar melhor o equilíbrio em solução aquosa das espécies, através da titulação potenciométrica, obtendo os valores de pK_a s potenciométricos a fim de compará-los com os valores obtidos pela cinética.

Também visa ser realizado testes cinéticos de ambos os complexos frente a oxidação do substrato monoéster 2,4-DNPP, a fim de se confirmar a atuação dos catalisadores apenas em ligações de diéster de fosfato, evidenciando a seletividade dos mesmos.

Averiguar o efeito da temperatura e de complexo frente a hidrólise do substrato 2,4-BDNPP, visando obter parâmetros cinéticos complementares bem como a energia de ativação para ambos os complexos.

Realizar análises de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) para os complexos em solução e também na presença do substrato, esperando-se obter mais evidências mecânicas para ambas as atividades.

Pretende-se realizar estudos de reatividade de ambos os complexos frente ao DNA, bem como a proteínas, no laboratório de Biologia Molecular (CEBIME), em parceria com o Prof. Dr. Hernán Terenzi da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Estes testes darão maior clareza frente a preferência de mecanismos hidrolíticos ou oxidativos dos complexos C_{Se} e C_S na clivagem do DNA.

A síntese de ligantes análogos ao L_{Se} e L_S , possuindo grupos retiradores e doadores de elétrons substituídos no anel aromático, traria em discussão o efeito de aumento e diminuição de densidade eletrônica no centro de cobre (II), dando origem a uma interessante discussão sobre estes nos rendimentos cinéticos.

REFERÊNCIAS

- ACKERMANN, J. *et al.* Tuning the Activity of Catechol Oxidase Model Complexes by Geometric Changes of the Dicopper Core. **Chemistry European Journal**, v. 8, p. 247–258, 2002.
- ADDISON, A. W. *et al.* Synthesis, Structure, and Spectroscopic Properties of Copper (II) Compounds containing Nitrogen-Sulphur Donor Ligands ; the Crystal and Molecular Structure of Aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) Perchlorate. **Dalton Transactions**, p. 1349–1356, 1984.
- ATKINS, G. L.; NIMMO, I. A. Current Trends in the Estimation of Michaelis-Menten. **Analytical Biochemistry**, v. 104, p. 1–9, 1980.
- BEINERT, H. Bioinorganic Chemistry: A New Field or Discipline? Words, Meanings, and Reality. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, p. 37967–37972, 2005.
- BERG, J.; TYMOCZKO, J.; STRYER, L. **Biochemistry**. 5. ed. New York: W.H. Freeman and company, 2002.
- BETTANIN, L. *et al.* Solvent- and metal-free selective oxidation of thiols to disulfides using I₂/ DMSO catalytic system. **Tetrahedron Letters**, v. 58, p. 4713–4716, 2017.
- BORNSCHEUER, U. T.; KAZLAUSKAS, R. J. Promiscuity in Biocatalysis: Using Old Enzymes to Form New Bonds and Follow New Pathways. **Angewandte Chemie**, v. 43, p. 6032–6040, 2004.
- BOSEGGIA, E. *et al.* Toward Efficient Zn(II) -Based Artificial Nucleases. **Journal of American Chemical Society**, v. 126, p. 4543–4549, 2004.
- BOTTESELLE, G. V *et al.* Microwave-assisted one-pot synthesis of symmetrical diselenides, ditellurides and disulfides from organoyl iodides and elemental chalcogen catalyzed by CuO nanoparticles. **Journal of Molecular Catalysis. A, Chemical**, v. 365, p. 186–193, 2012.
- BUNTON, C. A.; FARBER, J. F. The Hydrolysis of Bis (2,4-dinitrophenyl) Phosphate. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 34, p. 767–772, 1969.

CAMARGO, T. P. *et al.* Synthesis, characterization, hydrolase and catecholase activity of a dinuclear iron (III) complex: Catalytic promiscuity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 146, p. 77–88, 2015.

CARBONI-OERLEMANS, C. *et al.* Hydrolase-catalysed synthesis of peroxycarboxylic acids: Biocatalytic promiscuity for practical applications. **Journal of Biotechnology**, v. 126, p. 140–151, 2006.

CHAMPE, P.; HARVEY, R.; FERRIER, D. **Bioquímica ilustrada**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

COPLEY, S. D. Enzymes with extra talents: moonlighting functions and catalytic promiscuity. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 7, p. 265–272, 2003.

COPLEY, S. D. Shining a light on enzyme promiscuity. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 47, p. 167–175, 2017.

DE ALMEIDA, V. R. *et al.* In vitro and in vivo activity of a new unsymmetrical dinuclear copper complex containing a derivative ligand of 1,4,7-triazacyclononane: catalytic promiscuity of $[\text{Cu}_2(\text{L})\text{Cl}_3]$. **Dalton Transactions**, v. 42, p. 7059–7073, 2013.

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

DEAL, K. A.; HENGGE, A. C.; BURSTYN, J. N. Characterization of Transition States in Dichloro(1,4,7-triazacyclononane)copper(II)-Catalyzed Activated Phosphate Diester Hydrolysis. **Journal of American Chemical Society**, v. 118, p. 1713–1718, 1996.

DECK, K. M. *et al.* Triisopropyltriazacyclononane Copper(II): An Efficient Phosphodiester Hydrolysis Catalyst and DNA Cleavage Agent. **Inorganic Chemistry**, v. 41, p. 669–677, 2002.

DESBOUIS, D. *et al.* Copper(II), zinc(II) and nickel(II) complexes as nuclease mimetics. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 256, p. 897–937, 2012.

FENG, G.; MAREQUE-RIVAS, J. C.; WILLIAMS, N. H. Comparing a mononuclear Zn(II) complex with hydrogen bond donors with a dinuclear Zn(II) complex for catalysing phosphate ester cleavage. **ChemComm**, p.

1845–1847, 2006.

FERRE, F. T. *et al.* Catalytic promiscuity of mononuclear copper(II) complexes in mild conditions: Catechol and cyclohexane oxidations. **Polyhedron**, v. 123, p. 293–304, 2017.

GAGNÉ, R.; KOVAL, C.; LISENSKY, G. Ferrocene as an Internal Standard for Electrochemical Measurements. **Inorganic Chemistry**, v. 19, p. 2854–2855, 1980.

GALE, E. M. *et al.* Toward Functional Ni-SOD Biomimetics: Achieving a Structural/Electronic Correlation with Redox Dynamics. **Inorganic Chemistry**, v. 50, p. 9216–9218, 2011.

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, p. 81–122, 1971.

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

GRAY, H. B. Biological inorganic chemistry at the beginning of the 21st century. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, p. 3563–3568, 2003.

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

HEGG, E. L. *et al.* Structure-Reactivity Studies in Copper(II)-Catalyzed Phosphodiester Hydrolysis. **Inorganic chemistry**, v. 38, p. 2961–2968, 1999.

HEGG, E. L.; BURSTYN, J. N. Toward the development of metal-based synthetic nucleases and peptidases: a rationale and progress report in applying the principles of coordination chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 173, p. 133–165, 1998.

HENDRY, P.; SARGESON, A. M. Metal Ion Promoted Phosphate Ester Hydrolysis. Intramolecular Attack of Coordinated Hydroxide Ion. **Journal of American Chemical Society**, v. 111, p. 2521–2527, 1989.

HEYING, R. S. *et al.* Unusual hydrolase-like activity of a mononuclear Fe(III) complex. **Inorganic Chemistry Communications**, 2019.

HIROHAMA, T.; KURANUKI, Y.; EBINA, E. Copper(II) complexes of 1,10-phenanthroline-derived ligands: Studies on DNA binding properties and nuclease activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, p. 1205–1219, 2005.

HOLM, R. H.; KENNEPOHL, P.; SOLOMON, E. I. Structural and Functional Aspects of Metal Sites in Biology. **Chemical Reviews**, v. 96, p. 2239–2314, 1996.

HORNS, N. *et al.* Chelating principles in Menkes and Wilson diseases Choosing the right compounds in the right combinations at the right time. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.190, p.98-112, 2019

HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Inorganic Chemistry**. 2. ed. Harlow, United Kingdom: Pearson Education Limited, 2005.

HULT, K.; BERGLUND, P. Enzyme promiscuity: mechanism and applications. **Trends in Biotechnology**, v. 25, p. 231–237, 2007.

ITOH, T. *et al.* Hydrolysis of phosphate esters catalyzed by copper(II)-triamine complexes. The effect of triamine ligands on the reactivity of the copper(II) catalysts. **Inorganica Chimica Acta**, v. 283, p. 51–60, 1998.

JORDENSEN, C. Spectra and electronic structure of complexes with sulphur-containing ligands. **Inorganica Chimica Acta**, p. 65–88, 1968.

KAIZER, J. *et al.* Synthesis , structure and catecholase activity of dinuclear copper and zinc complexes with an N₃-ligand. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 91, p. 190–198, 2002.

KALITA, M. *et al.* Synthesis , crystal structure , bioactivities of Ni(II), Cu(II), Co(II) and Pd(II) complexes with unsymmetrical thioether donor Schiff base: Phosphine free Pd(II) complex catalyzed Suzuki reaction. **Polyhedron**, v. 97, p. 140–147, 2015.

KHERSONSKY, O.; ROODVELDT, C.; TAWFIK, D. S. Enzyme promiscuity: evolutionary and mechanistic aspects. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 10, p. 498–508, 2006.

KIMANI, M. M.; BRUMAGHIM, J. L.; VANDERVEER, D. Probing the

antioxidant action of selenium and sulfur using Cu(I)-chalcogenone tris(pyrazolyl)methane and-borate complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 49, p. 9200–9211, 2010.

KIRBY, A.; YOUNAS, M. The Reactivity of Phosphate Esters. Diester Hydrolysis. **Journal of Chemical Society**, p. 510–513, 1970.

KLABUNDE, T. *et al.* Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center. **Nature Structural Biology**, v. 5, p. 1084–1090, 1998.

KOOLMAN, J.; ROEHM, K. **Color Atlas of Biochemistry**. 2. ed. New York: Thieme, 2005.

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

KRAATZ, H. *et al.* π -Acidity of Thioethers and Selenoethers: Truth or Fiction? A Comparative Density Functional Study. **Organometallics**, v. 12, p. 76–80, 1993.

KUMAR, S. *et al.* Palladium(II)-(E,N,E) pincer ligand (E=S/Se/Te) complex catalyzed Suzuki coupling reactions in water via in situ generated palladium quantum dots. **Dalton transactions**, v. 42, p. 16939–48, 2013.

LINDQVIST, Y. *et al.* Three - dimensional Structure of a Mammalian Purple Acid Phosphatase at 2.2 Å Resolution with a μ_2 (H₂O)₂ Bridged Di - iron center. **Journal Mol. Biol.**, v. 291, p. 135–147, 1999.

LIVINGSTONE, B. S. Metal complexes of ligands containing sulphur, selenium, or tellurium as donor atoms. **Quaternary review**, p. 386–425, 1964.

MABBOTT, G. A. An Introduction to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, p. 697–702, 1983.

MACRAE, C. F. *et al.* Mercury CSD 2.0 – new features for the visualization and investigation of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 41, p.466-470, 2008.

MALACHOWSKI, M. *et al.* Comparative Study of the Catalytic Oxidation of Catechols by Copper(II) Complexes of Tripodal Ligands. **Dalton Transactions**, p. 31–36, 1995.

MANCIN, F. *et al.* Artificial metallonucleases. **Chemical Communications**, p. 2540–2548, 2005.

MANDAL, S. *et al.* Synthesis and studies of Cu(II)-thiolato complexes: bioinorganic perspectives. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 160, p. 191–235, 1997.

MARION, R. *et al.* Rate enhancement of the catechol oxidase activity of a series of biomimetic monocopper (II) complexes by introduction of non-coordinating groups in N -tripodal ligands. **New Journal of Chemistry**, v. 36, p. 1828–1835, 2012.

MUGESH, G.; MONT, W.; SIES, H. Chemistry of Biologically Important Synthetic Organoselenium Compounds. **Chemical Reviews**, v. 101, p. 2125–2179, 2001.

NAKAMOTO, K.. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 6 ed Wiley, 1977.

NATARAJAN, A. *et al.* Catecholase activity of mononuclear copper (II) complexes of tridentate 3N ligands in aqueous and aqueous micellar media : Influence of stereoelectronic factors on catalytic activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 485, p. 98–111, 2019.

NELSON, D. L.; COX, M. M.; LEHNINGER, A. L. **Principles of biochemistry**. 4. ed. New York: WH Freeman and Company, 2005.

NEVES, A. *et al.* Copper (II) complexes with {N', N', N', N'-bis[(2-hydroxybenzyl) (2- pyridylmethyl)]-1,3-propanediamine}-H₂bbppn: their suitability as models for the inactive form of galactose oxidase. **Inorganica Chimica Acta**, v. 356, p. 41–50, 2003.

OBERHAUSEN, K. J. *et al.* Synthesis, structure and properties of a N₃ tridentate bis-imidazolyl ligand with copper(II). **Polyhedron**, v. 8, p. 659–668, 1989.

OISHI, N. *et al.* Reaction between Various Copper(II) Complexes and Ascorbic Acid or 3,5-Di-t-butylcatechol. **Bull. Chem. Soc. Jpn**, v. 53, p. 2847 - 2850, 1980.

OSÓRIO, R. E. H. M. B. *et al.* Synthesis, Magnetostructural Correlation, and Catalytic Promiscuity of Unsymmetric Dinuclear Copper(II)

Complexes: Models for Catechol Oxidases and Hydrolases. **Inorganic Chemistry**, v. 51, p. 1569–1589, 2012.

OSÓRIO, R. E. H. M. B. *et al.* Synthesis , structure , magnetism , and hydrolase and catecholase activity of a new trinuclear copper (II) complex. **Inorganica Chimica Acta**, v. 435, p. 153–158, 2015.

PANDA, M. K. *et al.* Functional mimics of catechol oxidase by mononuclear copper complexes of sterically demanding [NNO] ligands. **Inorganica Chimica Acta**, v. 372, p. 145–151, 2011.

PAULY, J. W. *et al.* The Coordination Chemistry of cis-3,5-Diaminopiperidine and Substituted Derivatives. **Chemistry European Journal**, v. 6, p. 2830–2846, 2000.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introduction to spectroscopy**. 4. ed. Cengage Learning, 2008.

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

PISZKIEWICZ, D. **Kinetics of chemical and enzyme-catalyzed reactions**. New York: Oxford University Press, 1977.

POSADA, N. B. M. *et al.* Influence of the secondary coordination sphere on the physical properties of mononuclear copper (II) complexes and their catalytic activity on the oxidation of 3,5-di-tert-butylcatechol. **Polyhedron**, v. 141, p. 30–36, 2018.

REY, A. *et al.* Catalytic Promiscuity in Biomimetic Systems : Catecholase-like Activity , Phosphatase-like Activity , and Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a New Dicopper (II) Hydroxo-Bridged Complex. **Inorganic Chemistry**, v. 46, p. 2006–2008, 2007.

ROAT-MALONE, R. M. **BIOINORGANIC CHEMISTRY: A Short Course**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2007.

ROSENZWEIG, A. C.; DOOLEY, D. M. Bioinorganic chemistry. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 10, p. 89–90, 2006.

SCARPELLINI, M. *et al.* Phosphate Diester Hydrolysis and DNA Damage

Promoted by New *cis*-Aqua/Hydroxy Copper (II) Complexes Containing Tridentate Imidazole-rich Ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 42, p. 8353–8365, 2003.

SCARPELLINI, M. *et al.* Structural, electrochemical and spectroscopic characterization of a new $[\text{CuL}_2\text{-Cl}]_2$ $2[\text{CuCl}_4]_2$ dimer complex. **Journal of Molecular Structure**, v. 694, p. 193–198, 2004.

SCHENK, G. *et al.* Crystal structures of a purple acid phosphatase, representing different steps of this enzyme's catalytic cycle. **BMC Structural Biology**, v. 8, p. 1–13, 2008.

SCHENK, G. *et al.* Purple acid phosphatase: A journey into the function and mechanism of a colorful enzyme. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, p. 473–482, 2013.

SERBEST, K. *et al.* Oxime derivative unsymmetrical azine, its Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes: Synthesis, spectroscopy and catecholase activity. **Heteroatom Chemistry**, v. 29, p. 1–9, 2018.

SHELDRIK, G. M. Crystal structure refinement with *SHELXL*. **Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry**, v. 71, p. 3-8, 2015.

SHRIVER, D. ; ATKINS, P. **Química Inorgânica**. Porto Alegre: Bookman Editora, 2008.

SIEGBAHN, P. E. M.; GUELL, M. Theoretical study of the catalytic mechanism of catechol oxidase. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 12, p. 1251–1264, 2007.

SIGMAN, D. Nuclease Activity of 1,10-Phenanthroline-Copper. **Accounts of Chemical Research**, v. 19, p. 180–186, 1986.

SIGMAN, D. Chemical nucleases. **American Chemical Society**, v. 5, p. 634–642, 2001.

SILVERSTEIN, R. M. *et al.* **Spectrometric identification of organic compounds**. 8. ed. John Wiley & sons, 2014.

SOLOMON, E. I.; SUNDARAM, U. M.; MACHONKIN, T. E. Multicopper Oxidases and Oxygenases. **Chemical Reviews**, v. 96, p. 2563–2606, 1996.

SPEAK, L. A. Structure validation in chemical crystallography. **Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography**, v. 65, p 148-155, 2009.

SREEDHARA, A.; COWAN, J. Catalytic hydrolysis of DNA by metal ions and complexes. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 6, p. 337-347, 2001.

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

WESTRUP, K. C. M. **Caracterização e Estudo Da Reatividade de Complexos Mononucleares de Cobre (II) Como Sistemas Modelos Para Hidrolases / Nucleases e Catecolase**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

WIRTH, T. Small Organoselenium Compounds: More than just Glutathione Peroxidase Mimics. **Angewandte Chemie**, v. 54, p. 10074-10076, 2015.

WOLFENDEN, R.; SNIDER, M. J. The depth of chemical time and the power of enzymes as catalysts. **Accounts of Chemical Research**, v. 34, p. 938-945, 2001.

APÊNDICE

APÊNDICE I - DADOS CRISTALOGRAFICOS SUPLEMENTARES PARA O COMPLEXO C_{se}

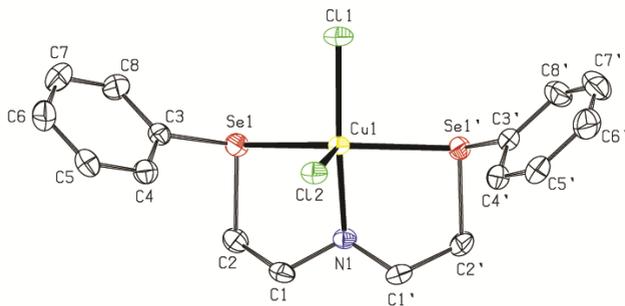


Tabela 23. Comprimentos [Å] e ângulos [°] de ligação para C_{se}.

Cu(1)-N(1)	2,036(3)	C(1)-C(2)	1,516(3)
Cu(1)-Cl(1)	2,2411(9)	C(1)-H(1A)	0,9900
Cu(1)-Cl(2)	2,4076(8)	C(1)-H(1B)	0,9900
Cu(1)-Se(1)	2,5196(3)	C(2)-Se(1)	1,968(2)
Cu(1)-Se(1)#1	2,5196(3)	C(2)-H(2A)	0,9900
N(1)-C(1)#1	1,472(3)	C(2)-H(2B)	0,9900
N(1)-C(1)	1,473(3)	Se(1)-C(3)	1,925(2)
N(1)-H(1)	0,8718	C(3)-C(4)	1,384(3)
C(3)-C(8)	1,385(3)	C(6)-C(7)	1,382(4)
C(4)-C(5)	1,385(3)	C(6)-H(6)	0,9500
C(4)-H(4)	0,9500	C(7)-C(8)	1,389(4)
C(5)-C(6)	1,385(4)	C(7)-H(7)	0,9500
C(5)-H(5)	0,9500	C(8)-H(8)	0,9500

N(1)-Cu(1)-Cl(1)	164,62(8)	C(1)#1-N(1)-C(1)	114,2(2)
N(1)-Cu(1)-Cl(2)	96,72(8)	C(1)#1-N(1)-Cu(1)	111,67(14)
Cl(1)-Cu(1)-Cl(2)	98,66(3)	C(1)-N(1)-Cu(1)	111,67(14)
N(1)-Cu(1)-Se(1)	82,36(3)	C(1)#1-N(1)-H(1)	106,7
Cl(1)-Cu(1)-Se(1)	92,312(13)	C(1)-N(1)-H(1)	106,7
Cl(2)-Cu(1)-Se(1)	110,164(10)	Cu(1)-N(1)-H(1)	105,3
N(1)-Cu(1)-Se(1)#1	82,36(3)	N(1)-C(1)-C(2)	108,31(19)
Cl(1)-Cu(1)-Se(1)#1	92,312(13)	N(1)-C(1)-H(1A)	110,0
Cl(2)-Cu(1)-Se(1)#1	110,164(10)	C(2)-C(1)-H(1A)	110,0
Se(1)-Cu(1)-Se(1)#1	138,154(19)	N(1)-C(1)-H(1B)	110,0
C(2)-C(1)-H(1B)	110,0	Se(1)-C(2)-H(2A)	109,4
H(1A)-C(1)-H(1B)	108,4	C(1)-C(2)-H(2B)	109,4
C(1)-C(2)-Se(1)	111,00(15)	Se(1)-C(2)-H(2B)	109,4
C(1)-C(2)-H(2A)	109,4	H(2A)-C(2)-H(2B)	108,0
C(3)-Se(1)-C(2)	99,13(10)	C(4)-C(3)-Se(1)	123,16(17)
C(3)-Se(1)-Cu(1)	113,30(7)	C(8)-C(3)-Se(1)	116,59(19)
C(2)-Se(1)-Cu(1)	93,56(7)	C(3)-C(4)-C(5)	119,6(2)
C(4)-C(3)-C(8)	120,2(2)	C(3)-C(4)-H(4)	120,2
C(5)-C(4)-H(4)	120,2	C(7)-C(6)-C(5)	119,6(3)
C(4)-C(5)-C(6)	120,6(3)	C(7)-C(6)-H(6)	120,2
C(4)-C(5)-H(5)	119,7	C(5)-C(6)-H(6)	120,2
C(6)-C(5)-H(5)	119,7	C(6)-C(7)-C(8)	120,2(3)
C(6)-C(7)-H(7)	119,9	C(3)-C(8)-H(8)	120,1
C(8)-C(7)-H(7)	119,9	C(7)-C(8)-H(8)	120,1
C(3)-C(8)-C(7)	119,8(3)		

Operações de simetria usadas para gerar os átomos equivalentes #1 x, -y+3/2, z.

Tabela 24. Ângulos de torção [°] para o complexo Cse

C(1)#1-N(1)-C(1)-C(2)	-164,91(16)
Cu(1)-N(1)-C(1)-C(2)	67,2(2)
N(1)-C(1)-C(2)-Se(1)	-48,5(2)
C(8)-C(3)-C(4)-C(5)	1,3(4)
Se(1)-C(3)-C(4)-C(5)	-177,05(17)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	-1,9(4)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	0,6(4)
C(5)-C(6)-C(7)-C(8)	1,4(5)
C(4)-C(3)-C(8)-C(7)	0,6(4)
Se(1)-C(3)-C(8)-C(7)	179,1(2)
C(6)-C(7)-C(8)-C(3)	-2,0(5)

Operações de simetria utilizadas para gerar os átomos equivalentes #1 x,-y+3/2,

z.

APÊNDICE II - DADOS CRISTALOGRAFICOS SUPLEMENTARES
PARA O COMPLEXO Cs

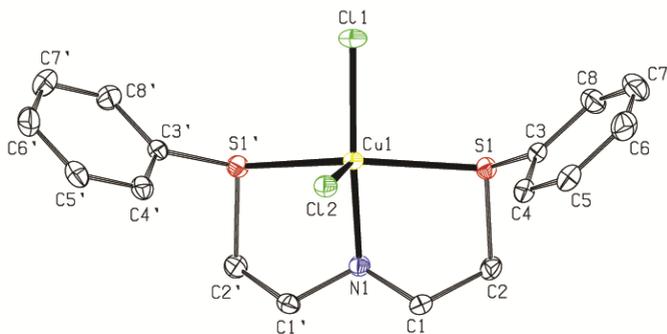


Tabela 25. Comprimentos [Å] e ângulos [°] de ligação para o complex Cs.

Cu(1)-N(1)	2,0127(18)	N(1)-C(1)	1,4776(18)
Cu(1)-Cl(1)	2,2284(6)	N(1)-H(1)	0,8622
Cu(1)-Cl(2)	2,4100(6)	C(1)-C(2)	1,515(2)
Cu(1)-S(1)	2,4500(4)	C(1)-H(1A)	0,9900
Cu(1)-S(1)#1	2,4501(4)	C(1)-H(1B)	0,9900
S(1)-C(3)	1,7798(17)	C(2)-H(2A)	0,9900
S(1)-C(2)	1,8304(17)	C(2)-H(2B)	0,9900
N(1)-C(1)#1	1,4776(18)	C(3)-C(4)	1,393(2)
C(3)-C(8)	1,393(2)	C(5)-H(5)	0,9500
C(4)-C(5)	1,391(2)	C(6)-C(7)	1,382(3)
C(4)-H(4)	0,9500	C(6)-H(6)	0,9500
C(5)-C(6)	1,382(3)	C(7)-C(8)	1,393(3)
C(7)-H(7)	0,9500	C(8)-H(8)	0,9500
N(1)-Cu(1)-Cl(1)	164,91(6)	Cl(2)-Cu(1)-S(1)	107,228(11)

N(1)-Cu(1)-Cl(2)	96,61(6)	N(1)-Cu(1)S(1)#1	81,773(19)
Cl(1)-Cu(1)-Cl(2)	98,48(2)	Cl(1)-Cu(1)-S(1)#1	93,719(12)
N(1)-Cu(1)-S(1)	81,772(19)	Cl(2)-Cu(1)-S(1)#1	107,227(11)
Cl(1)-Cu(1)-S(1)	93,720(12)	S(1)-Cu(1)-S(1)#1	143,18(2)
C(3)-S(1)-C(2)	102,00(7)	C(1)-N(1)-Cu(1)	111,56(10)
C(3)-S(1)-Cu(1)	115,05(5)	C(1)#1-N(1)-H(1)	103,7
C(2)-S(1)-Cu(1)	96,47(5)	C(1)-N(1)-H(1)	103,7
C(1)#1-N(1)C(1)	114,03(17)	Cu(1)-N(1)-H(1)	111,8
C(1)#1-N(1)-Cu(1)	111,56(10)	N(1)-C(1)-C(2)	107,23(13)
N(1)-C(1)-H(1A)	110,3	C(1)-C(2)-S(1)	111,60(11)
C(2)-C(1)-H(1A)	110,3	C(1)-C(2)-H(2A)	109,3
N(1)-C(1)-H(1B)	110,3	S(1)-C(2)-H(2A)	109,3
C(2)-C(1)-H(1B)	110,3	C(1)-C(2)-H(2B)	109,3
H(1A)-C(1)-H(1B)	108,5	S(1)-C(2)-H(2B)	109,3
H(2A)-C(2)-H(2B)	108,0	C(5)-C(4)-C(3)	119,47(16)
C(4)-C(3)-C(8)	119,97(16)	C(5)-C(4)-H(4)	120,3
C(4)-C(3)-S(1)	123,07(12)	C(3)-C(4)-H(4)	120,3
C(8)-C(3)-S(1)	116,95(13)	C(6)-C(5)-C(4)	120,57(17)
C(6)-C(5)-H(5)	119,7	C(5)-C(6)-H(6)	120,0
C(4)-C(5)-H(5)	119,7	C(6)-C(7)-C(8)	120,17(17)
C(7)-C(6)-C(5)	120,00(18)	C(6)-C(7)-H(7)	119,9
C(7)-C(6)-H(6)	120,0	C(8)-C(7)-H(7)	119,9
C(3)-C(8)-H(8)	120,1	C(7)-C(8)-C(3)	119,77(17)
		C(7)-C(8)-H(8)	120,1

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

Tabela 26. Ângulos de torção [°] para o complexo Cs.

C(1)#1-N(1)-C(1)-C(2)	168,12(12)
Cu(1)-N(1)-C(1)-C(2)	-64,38(15)
N(1)-C(1)-C(2)-S(1)	49,11(17)
C(3)-S(1)-C(2)-C(1)	101,22(13)
Cu(1)-S(1)-C(2)-C(1)	-16,16(12)
C(2)-S(1)-C(3)-C(4)	-50,34(15)
Cu(1)-S(1)-C(3)-C(4)	52,75(15)
C(2)-S(1)-C(3)-C(8)	128,12(14)
Cu(1)-S(1)-C(3)-C(8)	128,79(12)
C(8)-C(3)-C(4)-C(5)	-1,5(2)
S(1)-C(3)-C(4)-C(5)	176,94(12)
C(3)-C(4)-C(5)-C(6)	2,3(3)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	-1,0(3)
C(5)-C(6)-C(7)-C(8)	-1,2(3)
C(6)-C(7)-C(8)-C(3)	2,0(3)
C(4)-C(3)-C(8)-C(7)	-0,7(3)
S(1)-C(3)-C(8)-C(7)	179,18(15)

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

APÊNDICE III – GRÁFICOS DA ELETROQUÍMICA

Figura 52. Voltametria cíclica do complexo C_{se} em MeOH na presença de TBAPF6 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2} \text{ vs ENH} = 0,4 \text{ V}$) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

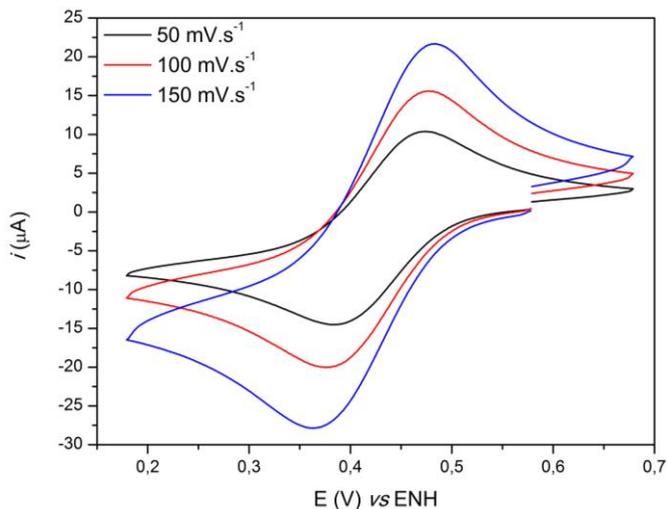


Figura 53 Voltametria cíclica do complexo C_s em MeOH na presença de TBAPF6 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2} \text{ vs ENH} = 0,4 \text{ V}$) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

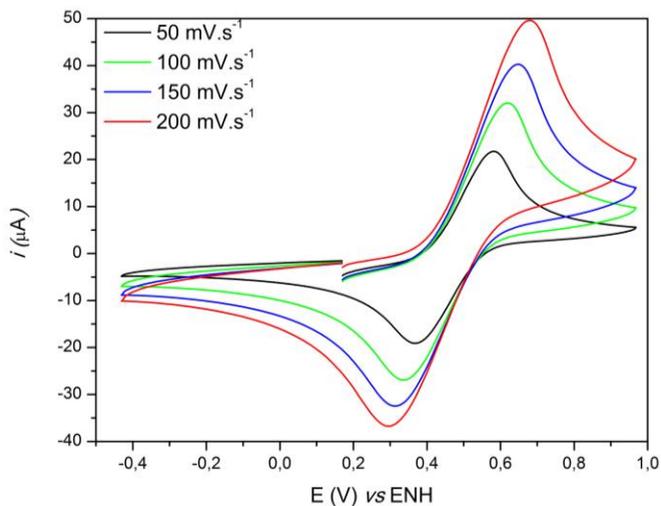


Figura 54. Voltametria de onda quadrada (passo da varredura: 4 mV; Frequência 15 Hz) referente ao complexo C_s em MeOH na presença de TBAPF₆ 0,1 mol.L⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

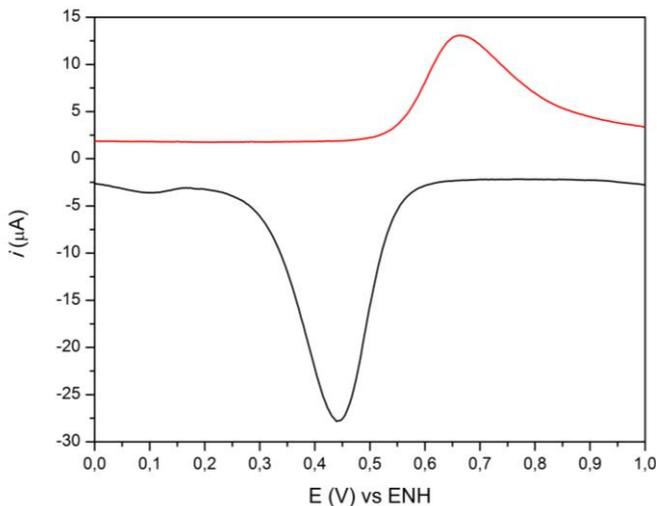


Figura 55. Voltametria cíclica do complexo C_s em DCM na presença de TBAPF₆ 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

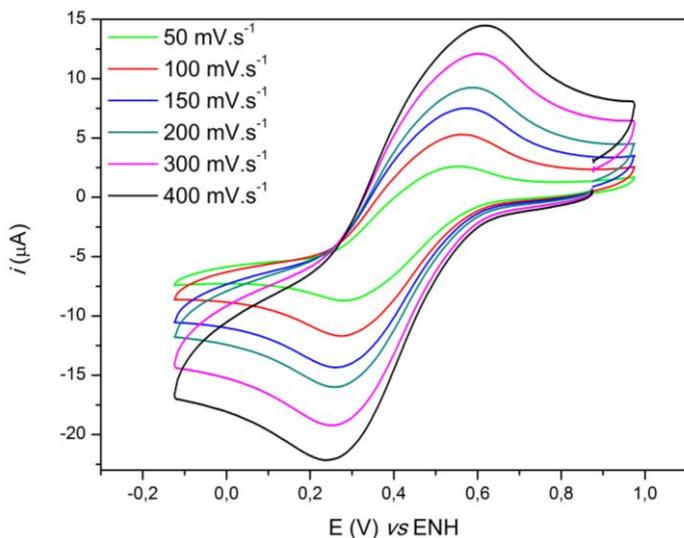


Figura 56. Voltametria cíclica do complexo C_{Se} em DCM na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2} \text{ vs ENH} = 0,4 \text{ V}$) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

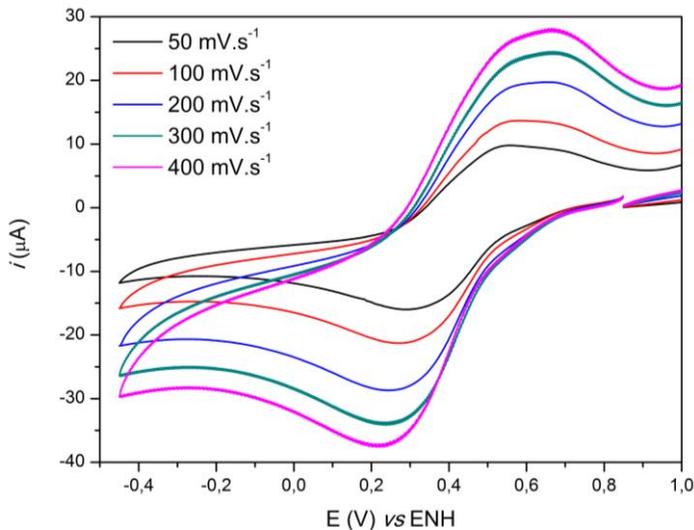


Figura 57. Voltametria de onda quadrada (Frequencia: 15 HZ; pulso: 4mV) referente ao complexo C_{Se} em $MeOH / H_2O$ 97: 3% v:v em pH 7 (tampão TRIS) na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2} \text{ vs ENH} = 0,4 \text{ V}$) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

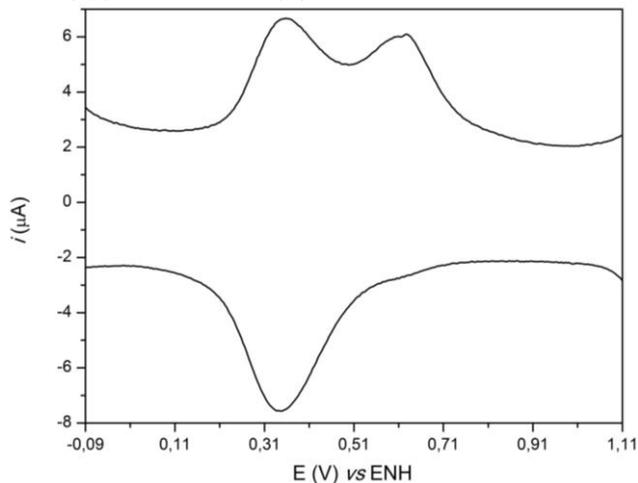


Figura 58. Voltametria cíclica do complexo C_{Se} em MeCN na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2} \text{ vs ENH} = 0,4 \text{ V}$) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

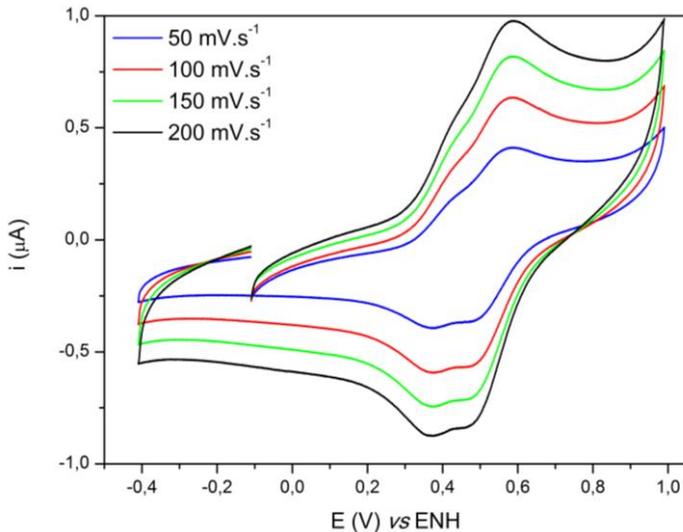


Figura 59. Voltametria de onda quadrada (frequência: 15 Hz; pulso: 4mV) referente ao complexo C_{Se} em MeCN na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2} \text{ vs ENH} = 0,4 \text{ V}$) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

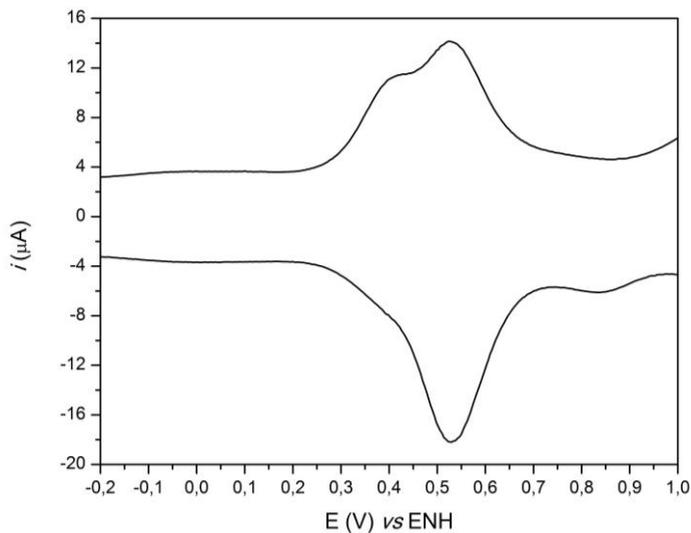


Figura 60. Voltametria cíclica do complexo Cs em MeCN na presença de TBAPF₆ 0,1 mol.L⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno ($E_{1/2}$ vs ENH = 0,4 V) (GAGNÉ; KOVAL; LISENSKY, 1980).

