



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
LABORATÓRIO DE BIOINORGÂNICA E CRISTALOGRAFIA
DISCIPLINA – QMC 5510 – ESTÁGIO SUPERVISIONADO

**Desenvolvimento de Novo Ligante e Complexo Binuclear
de Cobre (II) de Relevância Bioinorgânica: Modelo para
Catecol Oxidase.**

Relatório de estágio de conclusão
de curso

**Aluna: Renata El-Hage Meyer de Barros Osório
Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves**

Florianópolis, novembro de 2004

Dedico este trabalho à minha família, aos meus pais, Fernando e João Victor, que todas as palavras não traduziriam o amor e dedicação durante toda esta caminhada.

AGRADECIMENTOS

* Aos professores e funcionários do departamento de química, a todos aqueles que ajudaram de alguma forma na minha formação, em especial ao Prof.Dr. Ademir Neves, pela possibilidade de fazer iniciação científica no LABINC, pelo desafio, pelo tratamento e confiança que teve na minha pessoa.

* Aos amigos, que me apoiaram nos momentos de dificuldades e alegrias, pela paciência que tiveram nos meus momentos de teimosia. Ademir dos Anjos, Annelise, Alessandra, Fernando, Nicolás, Rafael, Ricardo, Rosane, Rosely e Tatiane, obrigado de coração por fazerem parte da minha vida.

* Aos amigos que fiz na graduação, pela amizade e carinho, pelas muitas e muitas risadas.

* Em especial eu agradeço a Deus por iluminar o meu caminho, naqueles momentos mais difíceis, não me deixando fraquejar. Fazendo levantar à cabeça e seguir em frente.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	vii
1 – INTRODUÇÃO.....	08
1.1 – Química Bioinorgânica.....	08
1.2 – Metaloenzimas.....	10
1.3 – Metaloenzimas de cobre.....	11
1.4 – Oxirredutases.....	12
1.4.1 – Catecol oxidase.....	12
2 – OBJETIVOS.....	15
2.1 – Objetivos gerais.....	15
2.2 – Objetivos específicos.....	15
3 – PARTE EXPERIMENTAL.....	16
3.1 – Materiais e métodos.....	16
3.1.1 – Materiais.....	16
3.1.2 – Métodos e instrumentação.....	16
3.1.2.1 – Espectroscopia no infravermelho.....	16
3.1.2.2 – Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio....	16
3.1.2.3 – Espectroscopia eletrônica.....	17
3.1.2.4 – Eletroquímica.....	17
3.1.2.5 - Difração de Raios X.....	17
3.1.2.6 – Atividade da enzima catecol oxidase.....	17
3.2 – Síntese e caracterização de ligantes.....	18
3.2.1 – Síntese dos precursores.....	18
3.2.1.1 – Síntese e caracterização do cloreto 3,5-di-tercbutil 2- hidroxibenzílico.....	18
3.2.2 – Síntese do ligante N,N',N'- [tris-(2-piridilmetil)]- N- (2-hidroxil- 3,5-di-terc- butilbenzil)- 1,3- diaminopropano-2-ol =H ₂ L.....	20
3.2.2.1 – Síntese e caracterização da ftalimida potássica (produto A).....	21
3.2.2.2 – Síntese e caracterização do (ftalimidometil)oxirano (produto B).....	21
3.2.2.3 – Síntese e caracterização do BPMA (bis-(2-piridilmetil)amina)(C)	22

3.2.2.4 – Síntese e caracterização do N-Ftaloil - N', N' –bis-(2-piridilmetil)- 1,3-propanodiamina-2-ol. (produto D).....	23
3.2.2.5 – Síntese e caracterização do N',N'-bis-(2-piridilmetil)-1,3propanodiamina-2-ol (produto E).....	24
3.2.2.6 – Síntese e caracterização do N',N', N'-tris-(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina-2-ol (produto F).....	25
3.2.2.7 – Síntese e caracterização do ligante N,N,N'- [tris-(2-piridilmetil)]- N- (2-hidroxi - 3,5-di-terc-butilbenzil)- 1,3- diaminopropano-2-ol =H ₂ L.....	26
3.2.3 – Síntese do complexo.....	28
3.2.3.1 – Análises iniciais do complexo.....	28
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 – Síntese e caracterização dos precursores e ligante.....	28
4.2 – Síntese e caracterização do complexo 1	29
4.2.1– Espectroscopia no infravermelho.....	29
4.2.2 – Estrutura cristalina.....	30
4.2.3 – Espectroscopia eletrônica.....	33
4.2.4 – Eletroquímica.....	35
4.2.5 - Atividade catalítica.....	36
5 – CONCLUSÕES.....	38
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sobreposição de campos das áreas de atuação da Química Bioinorgânica.....	09
Figura 2 – Estrutura cristalina do sítio ativo da forma oxidada da catecol oxidase.....	12
Figura 3 – Mecanismo proposto para a oxidação de catecóis catalisada pela catecol oxidase.....	13
Figura 4 – Infravermelho do cloreto 3,5-di-terc-butil-2-hidroxibenzílico	19
Figura 5 – Espectro de RMN ¹ H do cloreto 3,5-di-terc-butil-2-hidroxibenzílico.....	19
Figura 6 – Infravermelho da ftalimida potássica (produto A).....	21
Figura 7 – Infravermelho do (ftalimidometil) oxirano (produto B).....	22
Figura 8 – Espectro de RMN ¹ H do BMPA (produto C).....	23
Figura 9 – Espectro de RMN ¹ H do N-Ftaloil - N', N' –bis-(2-piridilmetil)- 1,3-propanodiamina-2-ol (produto D).....	24
Figura 10 — Espectro de RMN ¹ H do N',N'-bis-(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina-2-ol (produto E).....	25
Figura 11 — Espectro de RMN ¹ H do N',N', N'-tris-(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina-2-ol (produto F).....	26
Figura 12 – Infravermelho do ligante ligante N,N',N'- [tris-(2-piridilmetil)]- N- (2-hidroxi - 3,5-di-terc-butilbenzil)- 1,3- diaminopropano-2-ol =H ₂ L.....	27
Figura 13 - Espectro de RMN ¹ H do N',N', N'-tris-(2-piridilmetil)-N – (2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil) 1,3-propanodiamina-2-ol (H ₂ L).....	27
Figura 14 – Infravermelho do complexo 1	28
Figura 15 - ZORTEP dos isômeros do cátion [Cu ₂ (H ₂ L)(μ-AO)] ²⁺	30
Figura 16 – Diagrama de desdobramento dos níveis de energia dos orbitais d em dif simetrias.....	34
Figura 17 - Espectro eletrônico de 1 , em solução de etanol/ água (70:30) (1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹), em cubeta de vidro, com caminho óptico de 1 cm, estado sólido a temperatura ambiente, em pastilha de KBr.....	34
Figura 18 – Voltamograma cíclico e de onda quadrada (pulso = 20 mV, freqüência = 50 Hz). Concentração do complexo: 5,0.10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de TBAPF ₆ ; eletrodo de trabalho: platina; referência: Ag/AgCl; contra-eletrodo: fio de platina; padrão interno: ferroceno.....	36

Figura 19 - Variação do espectro eletrônico para reação de oxidação do 3,5-dtbc Catalisada pelo composto $[\text{Cu}_2(\text{L})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)$	37
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros cristalográficos do complexo 1	31
Tabela 2 - Principais comprimentos de ligação [Å] e ângulos para complexo 1	32
Tabela 3 - Dados dos potenciais de redução, oxidação e redox, obtidos a partir dos voltamogramas de onda quadrada do complexo 1	36

RESUMO

A catecol oxidase é uma metaloenzima de cobre do tipo III, que catalisa a oxidação de *o*-catecóis às correspondentes *o*-quinonas. Recentemente, sua estrutura cristalina foi determinada por cristalografia de raios X, a partir da batata doce, a qual consiste de dois centros de Cu(II) com geometria pirâmide trigonal, estando cada cobre coordenado por três átomos de nitrogênio de resíduos de histidinas e um grupo hidróxido fazendo ponte entre os dois centros metálicos. A distância Cu...Cu foi determinada como sendo 2,9 Å. O espectro eletrônico da catecol oxidase apresenta máximos na faixa de 700-800 nm atribuídos a transições d-d e uma transição na faixa de 310 e 330 nm atribuída a uma banda de transferência de carga do tipo ligante metal.

Neste trabalho, apresentamos a síntese e caracterização de um novo complexo binuclear de Cu^{II} com o novo ligante N,N',N'- [tris-(2-piridilmetil)]- N- (2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil)- 1,3- diaminopropano-2-ol = H₂L, com o objetivo de se correlacionar com o sítio ativo da catecol oxidase. Tanto o ligante quanto os precursores foram convenientemente caracterizados por espectroscopia no infravermelho e RMN ¹H apresentando bons resultados. Do complexo sintetizado resultaram monocristais adequados à resolução da estrutura cristalina por difração de raios X. O grupo espacial do mesmo é P-1 (triclínico), sendo que a estrutura revela que os átomos de cobre estão ligados por um derivado do ligante alcóxido e um íon acetato exógeno. Ambos estão pentacoordenados, sendo a geometria do Cu1 pirâmide de base quadrada e do Cu2 bipirâmide trigonal. A distância Cu1-Cu2 é de 3.3975 Å. Os espectros eletrônicos do complexo **1**, em estado sólido apresenta duas bandas d-d, e em solução apresenta além das bandas d-d, uma banda de TCLM, que pode ser relacionada a um processo do tipo O_{fenolato} → Cu(II). O complexo simula a distância metal-metal de aproximadamente 3,0 Å para a metaloenzima de cobre do tipo III, servindo assim como modelo estrutural para a mesma. Além disso, foi eficiente na oxidação do 3,5-di-terc-butilcatecol a correspondente *o*-quinona, podendo então ser considerado como modelo funcional para catecol oxidase.

Palavras – chave : complexo-modelo, Cu^{II}, catecol oxidase.

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – QUÍMICA BIOINORGÂNICA

O interesse pelo estudo dos íons metálicos relacionados aos sistemas vivos surgiu após a constatação de que vários metais desempenham papéis essenciais à vida. Um exemplo clássico é a presença de ferro no sangue de mamíferos (hemoglobina) conhecido desde o século 18 e considerado como um elemento bioessencial. Outros metais como cobalto, cobre, manganês e zinco, os quais aparecem nos sistemas naturais em pequenas quantidades foram reconhecidos como bioessenciais há pouco mais de meio século, com os avanços das técnicas analíticas. Entretanto, apesar de muitos elementos serem considerados essenciais ou benéficos à vida, o papel molecular destes elementos somente agora começa a ser desvendado com o auxílio da química bioinorgânica.¹⁻³

A Química Bioinorgânica estuda as funções de processamento, armazenamento, e aplicações de íons metálicos e seus complexos em sistemas biológicos. É um campo de estudo em desenvolvimento crescente que permeia por numerosas disciplinas, incluindo a *Química Inorgânica, Bioquímica, Biologia Molecular, Biologia Celular, Microbiologia, Farmacologia, Física, Química Medicinal, Toxicologia, Química Ambiental, entre outras*. A dinâmica natureza interdisciplinar (Figura 1) e o relevante impacto das suas descobertas são evidenciados pela disposição de diversos jornais em que a pesquisa da Química Bioinorgânica é publicada e pelas numerosas conferências que caracterizam em suas apresentações o papel dos metais em sistemas biológicos.¹⁻⁴

O objetivo principal da química bioinorgânica é a busca por compostos de baixa massa molecular, que sejam capazes de modelar características estruturais e/ou funcionais de inúmeros sistemas biológicos. Na verdade, o maior desafio da química bioinorgânica moderna é a compreensão do modo de ação dos metais nos sistemas vivos e de suas interações em níveis moleculares, com a finalidade de aplicar esses conhecimentos na medicina, biologia, ciências ambientais, catálise e tecnologia.¹

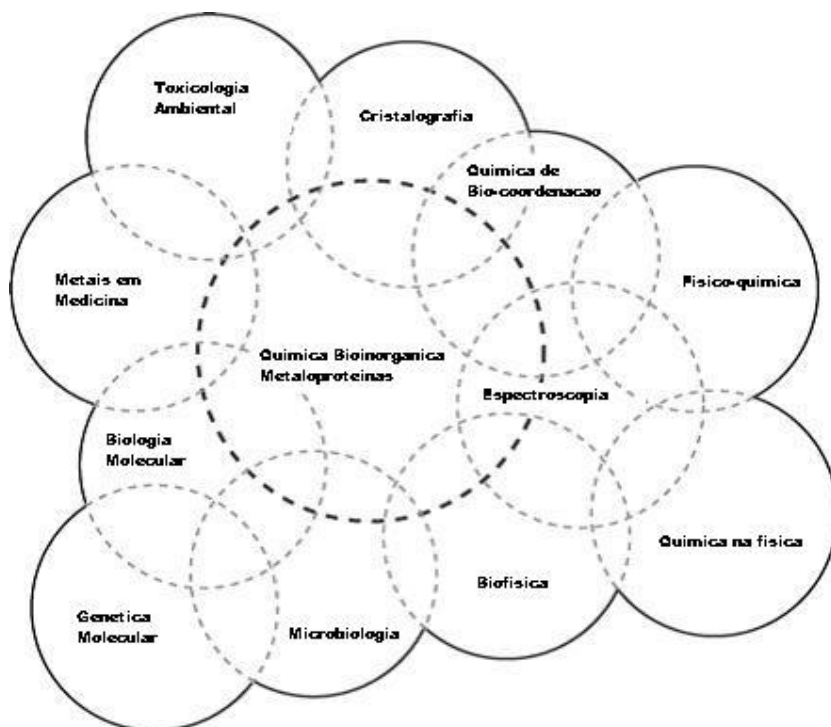


Figura 1 – Sobreposição de campos das áreas de atuação da Química Bioinorgânica.⁴

Tanto o metal quanto o ambiente que o envolve são de extrema importância para a estrutura, a estabilidade e os processos regulados e catalisados por espécies metálicas.¹ Neste contexto, destaca-se a partir daqui a subárea que engloba a projeção, obtenção e estudo de análogos sintéticos para os sítios ativos das metaloproteínas. Essa subárea conta com a colaboração dos bioquímicos, uma vez que o planejamento e o desenvolvimento desses novos compostos iniciam-se com a caracterização da enzima a ser modelada, ou seja, com o isolamento, a purificação e a análise detalhada das propriedades físico-químicas e estruturais de seu sítio catalítico. A partir destas informações, inicia-se um processo de projeção e desenvolvimento de compostos orgânicos (ligantes), com funções químicas semelhantes aos resíduos de aminoácidos presentes no sítio catalítico da enzima. Uma vez obtidos e caracterizados os ligantes de interesse, parte-se para a obtenção, caracterização e reatividade dos compostos de coordenação. A comparação das propriedades físico-químicas, estruturais e catalíticas dos compostos de coordenação sintéticos com as da metaloenzima de interesse permitem considerá-lo (ou não) um bom modelo sintético para tal enzima.⁵ Diante dessa metodologia, o trabalho do químico bioinorgânico consiste em uma sistematização na síntese de ligantes que possuam grupos doadores análogos aos aminoácidos presentes no sítio catalítico da enzima, afim de que os

complexos sintetizados a partir destes ligantes exibam as características físicas, estruturais e funcionais desejadas. Caso o complexo não apresente características satisfatórias como um bom modelo biomimético, uma nova investigação sistemática deve ser iniciada. Sendo assim, a primeira etapa de um projeto bioinorgânico deve ser a escolha do sistema biológico (metaloenzima) a ser mimetizado e que desempenhe a atividade catalítica de interesse. Para tanto, faz-se necessário algum conhecimento básico sobre esses elaborados compostos de coordenação denominados metaloenzimas.

1.2. METALOENZIMAS

As enzimas são as biomoléculas mais notáveis e especializadas dos sistemas vivos e apresentam como característica principal uma extraordinária eficiência catalítica. Além disso, as enzimas apresentam um alto grau de especificidade por seus substratos, aceleram reações químicas específicas e atuam em soluções aquosas em condições suaves de temperatura e pH.

Sendo assim, as metaloenzimas são biopolímeros constituídos de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, organizadas de maneira a formarem um envoltório protéico (sítio ativo) que aloja o metal. Portanto, o sítio ativo de uma metaloenzima consiste de: um ou mais íons metálicos, a cadeia lateral da proteína, pontes exógenas e ligantes terminais que compõem a primeira esfera de coordenação do metal. Esta composição faz com que as metaloenzimas sejam consideradas como complexos metálicos altamente elaborados.⁶

As metaloenzimas são enzimas que incorporam um ou mais íons metálicos na sua estrutura. O íon não participa da enzima apenas durante o tempo de existência do complexo enzima-substrato, mas é parte permanente dela, estando presente no seu sítio ativo (o sítio da ligação do substrato com o reagente), ou perto dele, e tem influência sobre a atividade enzimática. Nas metaloenzimas, os principais metais encontrados são: Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, V e Mo.⁷

Em geral, as enzimas são classificadas internacionalmente em seis grandes grupos, de acordo com o tipo de reação que catalisam, os quais são:^{6,8}

1. Oxidorredutases: catalisam reações de oxidação-redução. O substrato oxidado é considerado como um doador de hidrogênio ou elétrons.
2. Transferases: catalisam a transferência de um grupo de uma molécula doadora para uma aceptora;

3. Hidrolases: catalisam a clivagem hidrolítica de ligações C-O, C-N, C-C e algumas outras ligações incluindo ligações anidrido fosfórico;
4. Liases: catalisam clivagem de ligações C-O, C-N, C-C e outras ligações por eliminação, clivagem de duplas ligações ou anéis, e adição de grupos a duplas ligações;
5. Isomerasas: catalisam a transferência de grupos dentro de uma molécula promovendo variações estruturais ou geométricas;
6. Ligases: catalisam a formação de ligações C-C, C-S, C-O e C-N por reações de condensação acopladas à clivagem de ATP.

1.3 - METALOENZIMAS DE COBRE

O caráter bioessencial do cobre é conhecido há muito tempo, porém sua relevância biológica foi esclarecida somente nas últimas três décadas. Várias enzimas contêm íons de cobre e estão envolvidas em diferentes processos nos sistemas vivos.⁹ Inicialmente, os centros de cobre nos sistemas vivos, foram divididos em três grupos, a saber: tipo I, tipo II e tipo III,⁹ e sua diferenciação é baseada em suas características espectroscópicas.

As enzimas de cobre do tipo I, também chamadas de enzimas de cobre azuis, apresentam centros mononucleares de cobre(II) com geometria tetraédrica distorcida contendo uma ligação cobre-cisteína que resulta num espectro eletrônico característico com um máximo em 600 nm. Sua coloração deve-se a uma intensa transição por transferência de carga Cisteína Cys S-Cu(II) ($\epsilon > 2000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

As enzimas de cobre do tipo II, também chamadas de enzimas normais de cobre, contêm centros mononucleares de cobre(II) apresentam esfera de coordenação quadrado planar, devido ao efeito Jahn-Teller, e mostram comportamento espectroscópico com bandas fracas, típicas de Cu(II) (d-d) com $\epsilon < 1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Diferentemente a esses dois tipos de centros, o tipo-III contém dois átomos de cobre. Proteínas com centros do tipo-III atuam ou como enzimas oxidases (catecol oxidase e tirosinase, por exemplo) ou como proteínas de transporte de oxigênio molecular (hemocianina, por exemplo).¹⁰

1.4 - OXIRREDUTASES

Como mencionado acima, as oxirredutases são enzimas capazes promover reações de óxido-redução, sendo que o substrato oxidado é considerado como um doador de elétrons. Neste trabalho, a metaloenzima de interesse concentra-se na classe das oxidases, onde se encontra a catecol oxidase, que apresenta atividade catalítica de oxidação de *o*-catecóis às respectivas *o*-quinonas.

1.4.1. CATECOL OXIDASE

A catecol oxidase é o terceiro membro do grupo das metaloenzimas de cobre do tipo III. Esta enzima catalisa a oxidação de catecóis às correspondentes *o*-quinonas, sem apresentar atividade sobre tirosinas. As quinonas resultantes são altamente reativas e se auto-polimerizam formando o pigmento escuro melanina. Recentemente, as estruturas cristalinas das formas oxidada e reduzida da catecol oxidase isolada da batata doce foram determinadas por cristalografia de raios X (Figura 2).¹¹ A forma oxidada consiste de dois centros de Cu(II) com geometria pirâmide trigonal, estando cada cobre coordenado por três átomos de nitrogênio de resíduos de histidinas e um grupo hidróxido fazendo ponte entre os dois centros metálicos. A distância Cu...Cu foi determinada como sendo 2,9 Å. Após a redução, a separação metal – metal na enzima aumenta para 4,4 Å, sem significantes mudanças conformacionais nos grupos ligantes além da perda da ponte hidróxido. O CuA contém agora uma molécula de água coordenada e assume uma geometria de pirâmide trigonal distorcida, enquanto o CuB assume uma geometria quadrada planar com um sítio de coordenação livre.

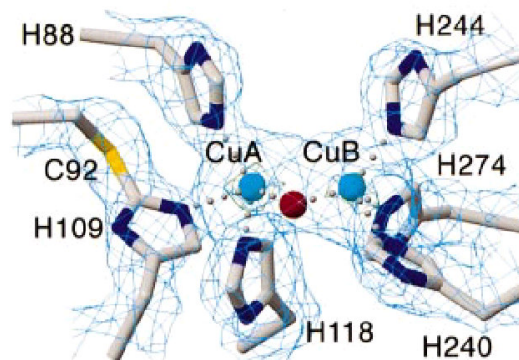


Figura 2- Estrutura cristalina do sítio ativo da forma oxidada da catecol oxidase.¹¹

O mecanismo proposto por Klabunde e colaboradores¹¹ para a ação desta enzima é apresentado na Figura 3. É sugerida a ligação simultânea do substrato catecol monodentado e de oxigênio na forma de íon peróxido $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ à enzima na forma reduzida, sendo que o centro de cobre que recebe o substrato em posição axial fica hexacoordenado, assumindo uma geometria octaédrica distorcida. No complexo ternário catecol oxidase/ O_2^{2-} /substrato dois elétrons podem ser transferidos do substrato para o íon peróxido seguido pela protonação do grupo peróxido e quebra da ligação O-O acompanhada pela oxidação do catecol (formação da *o*-quinona) e perda de água. A protonação do grupo ponte pelo solvente leva o sítio ativo ao estado de repouso Cu(II)-OH-Cu(II) , o qual pode reagir com outra molécula de substrato reduzindo novamente a enzima ao estado Cu(I)-Cu(I) e repetindo o ciclo catalítico.¹¹

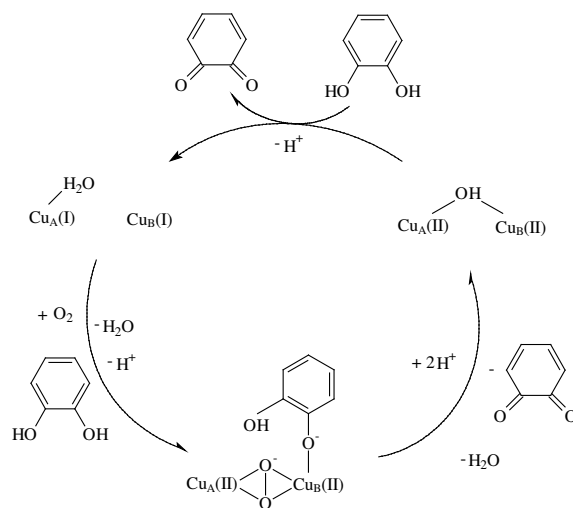


Figura 3- Mecanismo proposto para a oxidação de catecóis catalisada pela catecol oxidase.¹ Os ligantes N-doadores foram omitidos por clareza.

O espectro eletrônico da forma oxidada da catecol oxidase apresenta máximos na faixa de 700-800 nm atribuídos a transições d-d e uma transição fraca na faixa de 310 e 330 nm atribuída a uma transição do tipo ligante metal provavelmente do μ -hidróxido para Cu(II) .¹² Ao coordenar o íon peróxido surgem máximos atribuídos a transições de transferência de carga do íon peróxido para Cu(II) em 343 nm ($\epsilon \approx 6500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) e 580 nm ($\epsilon \approx 450 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).¹² Além disso, os centros binucleares de cobre na catecol oxidase são caracterizados pelo forte acoplamento antiferromagnético e ausência no espectro de RPE.¹²

A presença de centros binucleares de cobre na enzima catecol oxidase tem induzido químicos de coordenação a sintetizar e caracterizar complexos binucleares

de cobre como modelos para este sistema natural. Através da síntese de ligantes O, N doadores e posterior complexação destes com os íons Cu(I) e Cu(II) são obtidos complexos de cobre candidatos a modelos biomiméticos. A determinação das propriedades dos complexos e comparação com as propriedades das enzimas contribui na elucidação de aspectos estruturais ainda não totalmente esclarecidos nestes sistemas.

Com base nos dados espectroscópicos e estruturais da metaloenzima descrita anteriormente, busca-se obter um composto similar a partir de ligantes não simétricos, como o H₂L, que apresenta uma estrutura central idêntica, a 1,3-diamina-2-hidroxiopropano, a qual recebe diferentes braços com ligantes N, O doadores. O grupamento R-OH presente nesta estrutura atua em complexos metálicos como ligante ponte endógena (alcoóxido). Uma série de complexos de cobre que apresentam esta unidade são conhecidos.¹³⁻¹⁶ O ligante apresentará uma estrutura não-simétrica, que contém além da unidade 1,3-diamina-2-hidroxiopropano, três braços com ligantes nitrogenados (piridina) e um braço com ligante oxigenado (fenol) contendo grupos substituintes (t-butil) nas posições *-orto* e *-para*. A presença destes grupos visa estudar a influência do efeito elétron-doador nas propriedades estruturais, espectroscópicas e de reatividade do complexo de cobre (II). Após a obtenção do ligante será sintetizado o respectivo complexo binuclear de Cu(II) no sentido de se correlacionar com a forma ativa da enzima catecol oxidase.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GERAIS

2.1.1. Síntese e caracterização de um novo ligante binucleante contendo átomos N,O-doadores.

2.1.2. Síntese e caracterização de novo complexo binuclear de cobre (II) com o respectivo ligante, buscando mimetizar o ambiente de coordenação dos metais no sítio ativo da catecol oxidase.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1. Síntese e caracterização do precursor cloreto 3,5-di-terc-butil-2-hidroxibenzílico.

2.2.2. Síntese e caracterização do novo ligante N,N',N'- [tris-(2-piridilmetil)]- N-(2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil)- 1,3- diaminopropano-2-ol = H₂L

2.2.3. Síntese e caracterização de novo complexo binuclear de cobre(II) com o ligante não simétrico descrito acima, buscando obter a unidade estrutural [Cu₂(H₂L)(OAc)](ClO₄)₂.

2.2.4. Estudo das propriedades estruturais, eletroquímicas e espectroscópicas do complexo, visando correlacioná-las àquelas apresentadas pela catecol oxidase.

2.2.5. Estudo da reatividade do complexo frente ao substrato 3,5-di-terc-butil catecol.

3 . PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1 Materiais

Os reagentes epiclorigrina, 2-amino metil piridina, hidrazina, ftalimida, borohidreto de sódio, acetato de sódio, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, trietilamina, cloreto de tionila, perclorato de cobre (II) hexahidratado e os solventes utilizados nos processos de síntese foram adquiridos de fonte comercial, com grau de pureza compatível com a utilização, sem prévia purificação. O reagente álcool 3,5-di-*tert*-butil-2-hidróxibenzílico foi previamente sintetizado no laboratório, conforme metodologia descrita na literatura.¹⁷ O reagente 2-pirincarboxaldeído adquirido de fonte comercial foi destilado previamente ao uso. Solventes de grau espectroscópico foram utilizados na caracterização do novo complexo.

3.1.2. MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.2.1. Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros no infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro FTIR – 2000, Perkin Elmer, na região de 4500 a 450 cm^{-1} . As amostras foram preparadas por dispersão em KBr de grau espectroscópico e prensadas (~10 toneladas), formando pastilhas com cerca de 1 cm de diâmetro e 0,5 mm de espessura. Estas pastilhas foram introduzidas diretamente no caminho óptico do equipamento para leitura do percentual de transmitância (%T). As análises foram realizadas no Labinc, Departamento de Química-UFSC. Foi utilizado como branco uma pastilha de KBr.

3.1.2.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

O espectro de RMN ^1H foi efetuado em um espectrofotômetro Bruker– FT-200MHZ, na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC. As amostras foram solubilizadas em 0,5 mL de clorofórmio deuterado contendo TMS como padrão interno e acondicionadas em tubo de 5mm.

3.1.2.3. Espectroscopia Eletrônica

Os espectros na região do ultravioleta, visível e infravermelho próximo foram obtidos em um espectrofotômetro Lambda 19 Perkin Elmer acoplado a um microcomputador IBM/AT-386.

As leituras foram realizadas em solução com solvente de grau espectroscópico apropriados para cada amostra em cubetas de quartzo de caminho óptico de 1 cm.

As análises de reflectância foram realizadas em pastilhas prensadas de KBr.

3.1.2.4. Eletroquímica

O comportamento redox do complexo foi investigado por voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada em um potenciostato-galvanostato PAR modelo 273, no laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. Os experimentos foram realizados em solução de diclorometano, sob atmosfera de argônio. Nestes experimentos utilizou-se hexafluorofosfato de tetrabutilamônio (0,1 mol L⁻¹) como eletrólito suporte e uma célula eletrolítica com três eletrodos: eletrodo de trabalho – platina; eletrodo auxiliar fio de platina, eletrodo de referência Ag/Ag⁺. Para calibrar o eletrodo de referência utilizou-se o par redox ferrocínio/ferroceno como padrão interno.

3.1.2.5. Difração de Raios X

A análise por difração de raios X de monocristal do complexo [Cu₂(H₂L)(μ-Oac)](ClO₄)₂ foi realizada em difratômetro automático ENRAF-NONIUS CAD-4 na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC, equipado com um tubo de molibdênio (MoKα = 0,71073 Å) e monocromador de grafite. A solução da estrutura cristalina foi obtida através dos métodos diretos com a utilização do programa SHELXS97. Para a representação gráfica utilizou-se o programa ZORTEP.¹⁸

3.1.2.6. Atividade da enzima catecol oxidase

A atividade de catecolase de compostos modelo pode ser avaliada pelo emprego do substrato ativado 3,5-di-*tert*-butilcatecol (3,5-DtBC).

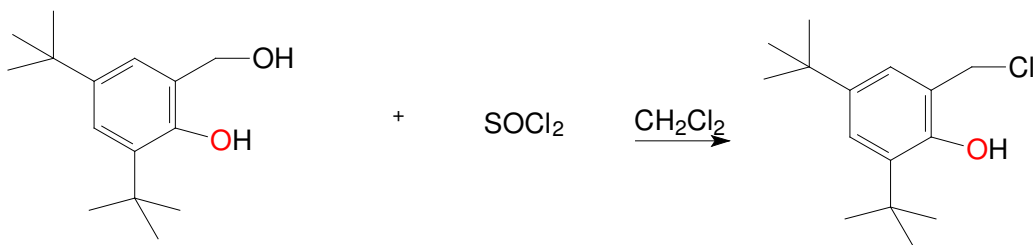
A reação de oxidação é acompanhada espectrofotometricamente pelo aparecimento de uma banda a 400nm ($\epsilon = 1900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)¹⁹ referente a produção da *o*-quinona 3,5-DtBQ em metanol. O solvente foi saturado com O₂ previamente a cada

experimento. O oxigênio deve participar diretamente no ciclo catalítico da reação de oxidação promovendo a reoxidação das espécies de Cu(I) geradas de volta às espécies cataliticamente ativas de Cu(II).

3.2. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO LIGANTE

3.2.1. Síntese dos precursores

3.2.1.1. Síntese e caracterização do cloreto 3,5-di-*tert*-butil-2-hidroxibenzílico



A uma solução do álcool 3,5-di-*tert*-butil-2-hidroxibenzílico (21,86g;0,092 mol) em CH₂Cl₂ (~60 mL) adicionou-se gota a gota (TA), sob agitação magnética, 8,5 mL (0,092 mol;25% de excesso) de cloreto de tionila previamente dissolvidos em ~20 mL de CH₂Cl₂. Formou-se uma solução amarelo-clara que foi deixada reagir por 1 hora (TA).

Então, evaporou-se o solvente até *secura* em um evaporador rotatório sob vácuo a ≈40°C. Adicionou-se cerca de 50 mL de diclorometano, que foi novamente evaporado. Repetiu-se este procedimento por mais sete vezes. A princípio, forma-se uma emulsão que, após alguns minutos a temperatura ambiente, origina um sólido amarelo pálido. Este sólido foi seco sob alto vácuo a ≈40°C por 5 horas.

PRECAUÇÕES: O cloreto 3,5-di-*tert*-butil-2-hidroxibenzílico é irritante devendo ser manuseado com luvas e em capela. Na operação de lavagem com diclorometano, o solvente deve ser adicionado em capela, sendo o balão levado e conectado ao rota rapidamente. O cloreto deve ser armazenado em um frasco bem tampado e mantido a 0 °C. Cuidados também devem ser tomados no manuseio do cloreto de tionila (ácido, irritante).

Rendimento: 22,29 g (94,6%), em relação ao álcool.

Ponto de Fusão: 61-62°C.

- Infravermelho

Na figura 04, apresenta-se o espectro no infravermelho do cloreto 3,5-di-terc-butil-2-hidroxibenzílico. Bandas de relevância (cm^{-1}):²⁰ 2960 ($\nu_{\text{C-H}}$ t-butil), 1478 ($\nu_{\text{C=C}}$ aromático), 1362 ($\delta_{\text{O-H}}$ fenol), 1200 ($\nu_{\text{C-O}}$ fenol).

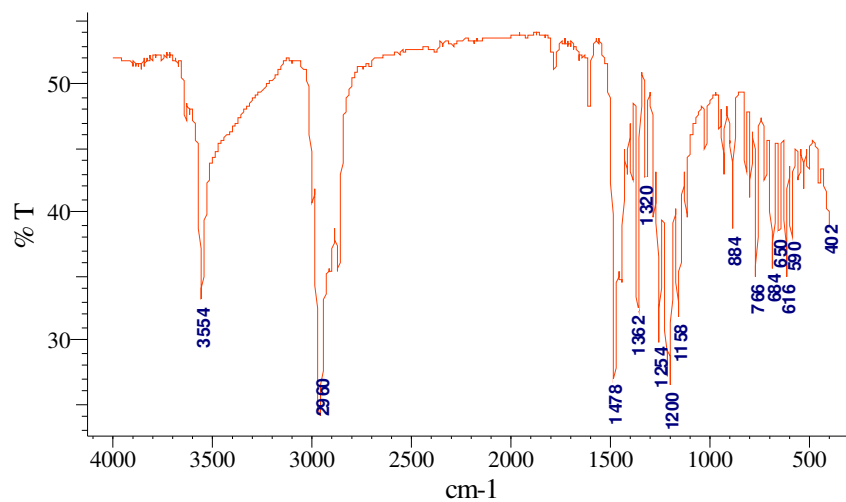


Figura 04 – Infravermelho do cloreto 3,5-di-terc-butil-2-hidroxibenzílico.

- Ressonância magnética nuclear

O espectro de RMN ^1H em CDCl_3 é mostrado na figura 05. Deslocamentos químicos δ (ppm):²⁰ 1.30 (9H, CH_3 t-butil), 1.44 (9H, CH_3 t-butil), 4.70 (2H, $\text{CH}_2\text{-Cl}$), 7.08 (1H, CH aromático), 7.34 (1H, CH aromático).

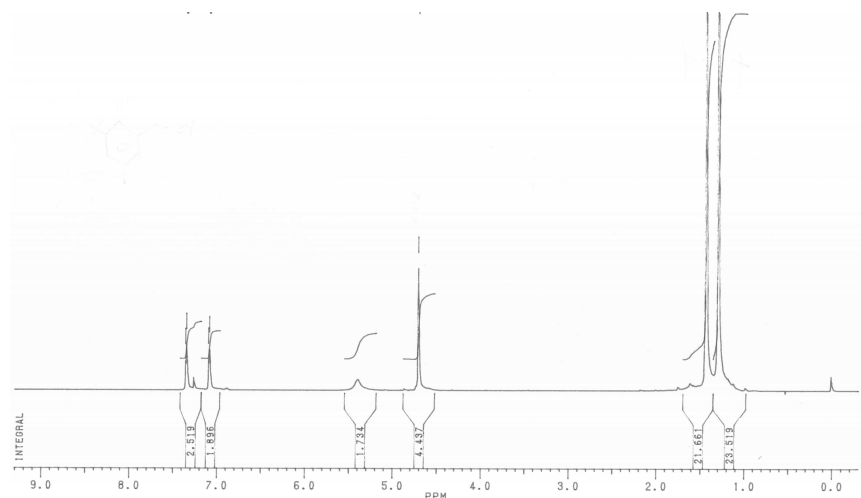
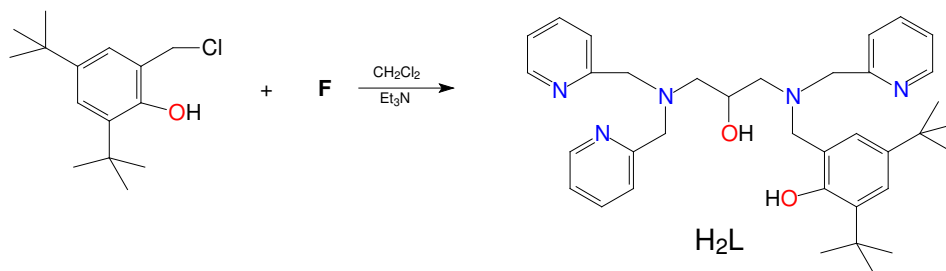
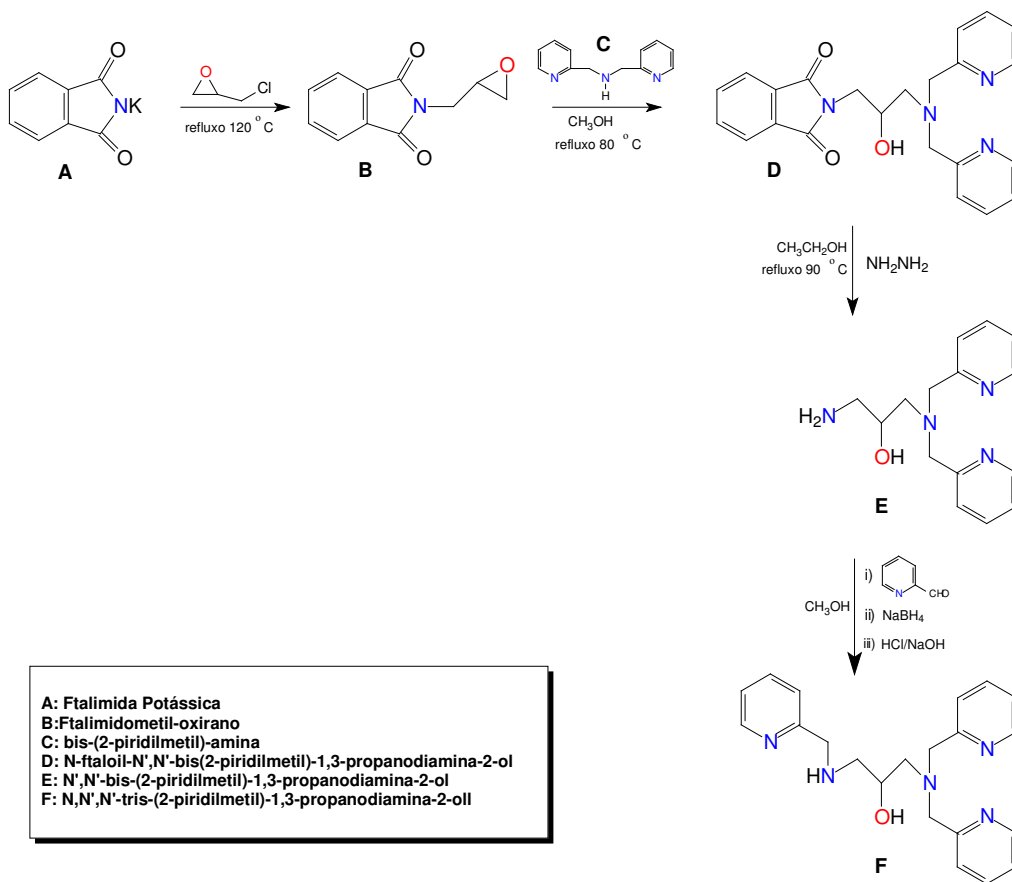


Figura 05 – Espectro de RMN ^1H do cloreto 3,5-di-terc-butil-2-hidroxibenzílico.

3.2.2. Síntese do ligante N,N',N'- [tris-(2-piridilmetil)]- N- (2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil)- 1,3- diaminopropano-2-ol = H₂L



3.2.2.1. Síntese e caracterização da ftalimida potássica (produto A): 46g (0,313 mol) de ftalimida forma refluxadas em 800 mL de etanol absoluto, por aproximadamente 3 horas, para sua completa dissolução. A seguir, uma solução metanólica-etanólica contendo 20g (0,313 mol) de hidróxido de potássio foi adicionada pelo condensador, e imediatamente observou-se a formação de um precipitado branco de aspecto brilhante, o qual trata-se da ftalimida potássica. O precipitado foi filtrado, lavado com etanol e seco em dessecador. Rendimento de 50g , 86%.

- Infravermelho

Na figura 06, apresenta-se o espectro no infravermelho da ftalimida potássica. Bandas de relevância (cm^{-1}):²⁰ 1706, atribuídas às carbonilas; 1621, 1592, 1581, características do núcleo do anel aromático (C=C e C=N). Uma única banda entre 600 e 800 cm^{-1} , localizada a 719 cm^{-1} confirma a presença de um anel aromático 1,2-disubstituído.

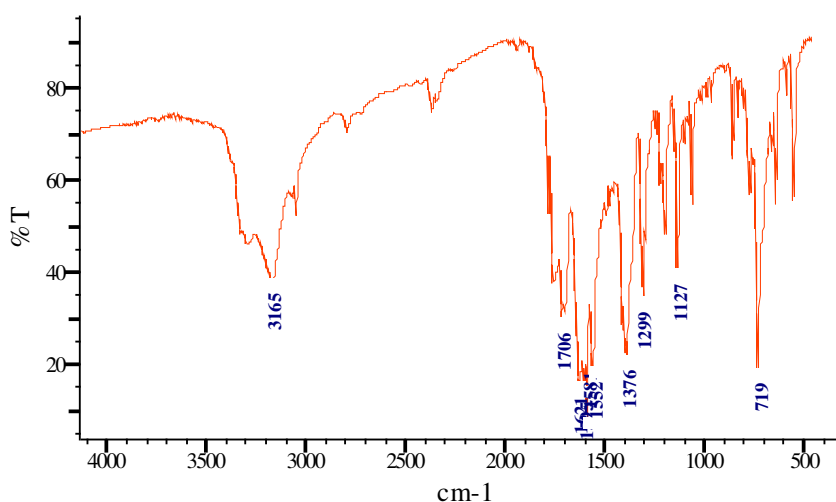


Figura 06 – Infravermelho da ftalimida potássica.

3.2.2.2. Síntese e caracterização do (ftalimidometil) oxirano (produto B): 12,58g (0,068 mol) de ftalimida potássica (produto A) reagem com 50 mL de epicloridrina, por 8 horas, em refluxo a 120 °C. O excesso de epicloridrina (41mL) foi recuperado através de destilação a pressão reduzida, obtendo-se um sólido branco, o qual é uma mistura de KCl e do produto de interesse. Este sólido foi recristalizado em metanol e a solução foi filtrada para remover o sal. Logo que a solução metanólica começou a resfriar,

notou-se a formação de precipitado, o qual foi filtrado e seco em dessecador. Rendimento: 66%, sólido branco, com ponto de fusão = 91 °C.

- Infravermelho

Na figura 07, apresenta-se o espectro no infravermelho do (ftalimidometil) oxirano. Bandas de relevância (cm^{-1}):²⁰ 1714 e 1771, atribuídas às carbonilas; 1259 e 964, referente a estiramentos simétrico e assimétrico do anel epóxido, bem como as vibrações do anel aromático a 1611, 1470 e 1432 cm^{-1} e uma banda a 726 cm^{-1} , atribuída a deformação (H-C=C) no plano, referente ao anel aromático e sendo característica de anel 1,2-disubstituído.

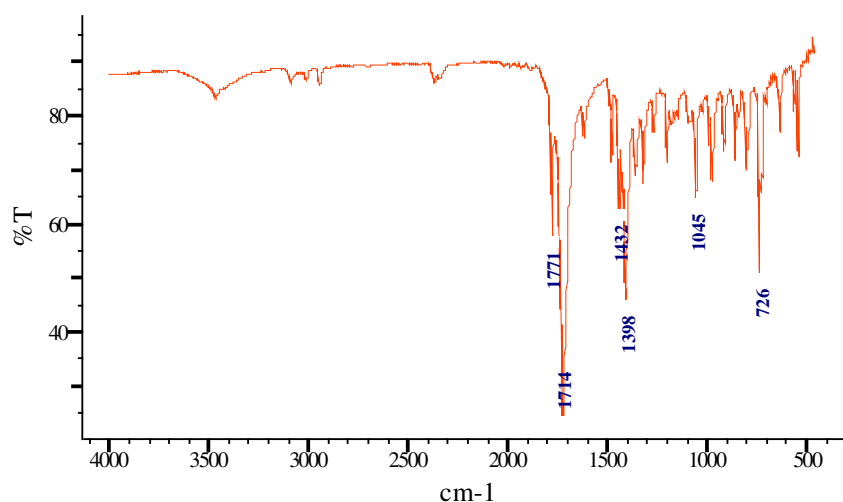


Figura 07 – Infravermelho do (ftalimidometil) oxirano.

3.2.2.3. Síntese e caracterização do BPMA (bis-(2-piridilmetil) amina) (produto C): A síntese do BPMA foi realizada e aprimorada através da modificação da rota sintética já descrita na literatura.²¹ Em um béquer de 400 mL foram adicionados 100 mL de metanol e 51,5 mL (0,5 mol) de 2-aminometilpiridina, sob agitação magnética e resfriados a 0 °C em banho de gelo. Em seguida, adicionou-se 47,56 mL (0,5 mol) de 2- piridincarboxaldeído e deixou-se a mistura reagir por duas horas. Então esta solução foi transferida para uma garrafa apropriada contendo 1,0 g de paládio/carbono 5% (previamente ativado em 50 mL de metanol por 1 hora), sob atmosfera de hidrogênio a 60 psi e agitada durante 15 horas. A solução foi então separada do catalisador por filtração e o solvente evaporado a pressão reduzida à 40 °C. Para eliminação completa do metanol e águas residuais, deixou-se o balão sob alto vácuo

(0,1 mm Hg) por 12 horas aquecido a 40 °C. O produto foi então acondicionado em um frasco escuro e estocado a -20 °C no freezer. Rendimento próximo de 100%.

- Ressonância magnética nuclear

O espectro de RMN ¹H em CDCl₃, do produto C é mostrado na figura 08. Deslocamentos químicos δ (ppm):²⁰ 3,35 (1H, Ha), 3,97 (4H, Hb), 7,10 (2H, Hd), 7,34 (2H, Hf), 7,58(2H, He), 8,53 (2H, Hc).

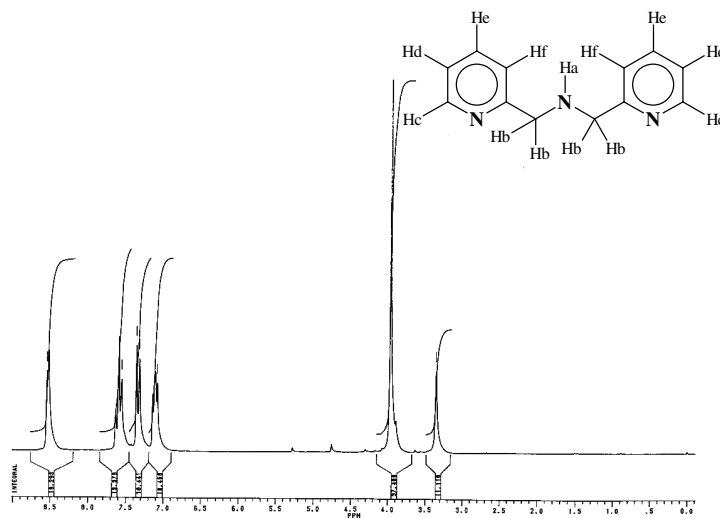


Figura 08 – Espectro de RMN ¹H do BMPA.

3.2.2.4. Síntese e caracterização do N-Ftaloil - N', N' -bis-(2-piridilmetil)- 1,3-propanodiamina-2-ol. (produto D): Dissolveu-se 9,8 g (0,049 mol) de BPMA (produto C) em 50 mL de metanol. A seguir, adicionou-se 10g (0,049 mol) do produto B, sendo que este não se solubilizou imediatamente. À medida que o produto B tornou-se solúvel, a solução mudou de coloração de amarelo para vermelho escuro e então se tornou negra. A solução foi refluxada por 7 horas, a 90°C e mantida em agitação por uma noite. A seguir, esta foi concentrada no rota-evaporador a um óleo marrom-avermelhado denso. Procedeu-se a purificação deste óleo através de coluna cromatográfica, empregando-se diclorometano como fase móvel sendo o produto eluído com uma mistura de diclorometano/ 1% metanol. Obteve-se um óleo amarelo-claro, com rendimento de 15,46g, 80%.

- Ressonância magnética nuclear

O espectro de RMN ^1H em CDCl_3 , do produto D é mostrado na figura 09. Deslocamentos químicos δ (ppm):²⁰ 2,7 (1H, Ha), 2,9 (1H, Ha'), 3,6-3,8 (2H, Hc, Hc'), 3,8-4,1 (4H, Hd, He), 4,1-4,2 (1H, Hb), 7,1 (2H, Hh), 7,2 (2H, Hf), 7,5 (2H, Hg), 7,7 (2H, Hk), 7,8 (2H, Hj), 8,5 (2H, Hi).

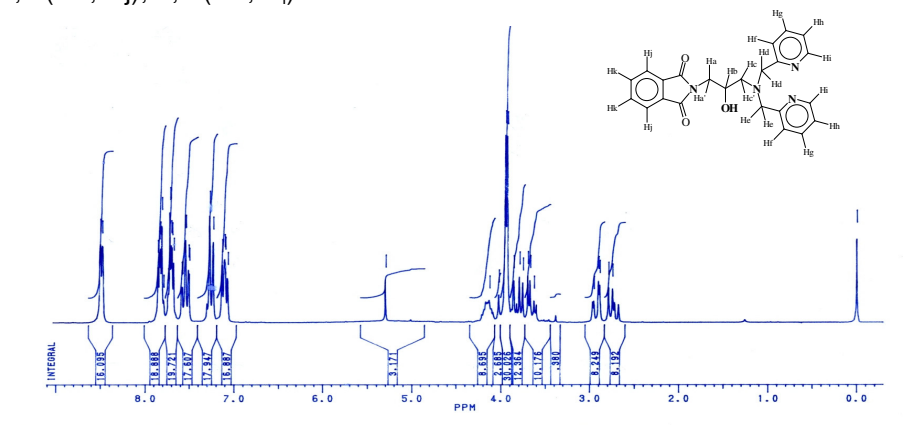


Figura 09 – Espectro de RMN ^1H do N-Ftaloil- N', N' –bis-(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina-2-ol.

3.2.2.5. Síntese e caracterização do N',N'-bis-(2-piridilmetil)-1,3propanodiamina-2-ol (produto E): Em 90 mL de etanol foram dissolvidos 14,4 g (0,035 mol) do produto D. A seguir, 5,1 mL (0,043 mol) de monohidrato de hidrazina foram adicionados (20% excesso). A reação foi refluxada a 90°C por 6 horas. Após 1 hora em refluxo foi possível notar a presença de um precipitado floculoso, o qual trata-se de ftalidrazina. A solução laranja-clara foi agitada magneticamente durante a noite, e então o pH foi variado com adições lentas de HCl concentrado, até pH próximo de 4. Após a acidificação, a solução foi refluxada novamente a 90°C por uma hora e observou-se aumento da precipitação de ftalidrazina, a qual foi filtrada e descartada. A solução foi concentrada a um óleo em rota-evaporador, e mais precipitado foi obtido, sendo este removido por filtração com a adição de água ao balão. À fase aquosa foram adicionadas lentilhas de KOH até pH próximo a 10 e em seguida procedeu-se a sucessivas extrações com clorofórmio, sendo a fase orgânica a de interesse, a qual foi concentrada a um óleo amarelo claro. Rendimento de 6,90g, 71%.

- Ressonância magnética nuclear

O espectro de RMN ^1H em CDCl_3 do produto E é mostrado na figura 10. Deslocamentos químicos δ (ppm):²⁰ 2,7 (4H, Ha, Hc), 3,8-3,9 (5H, Hb, Hd, Hd', He, He'), 7,1 (2H, Hh), 7,3 (2H, Hf), 7,6 (2H, Hg), 8,5 (2H, Hi).

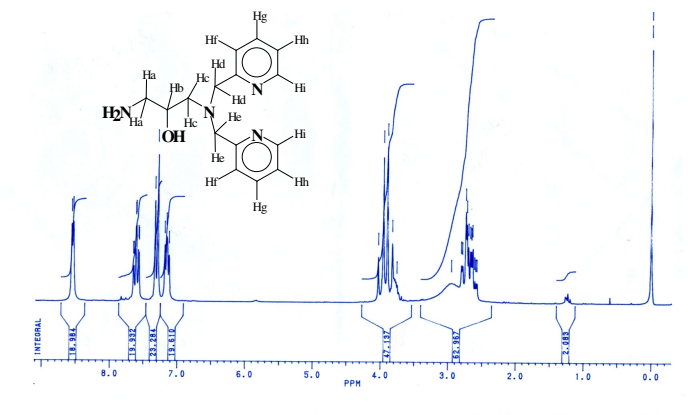


Figura 10 – Espectro de RMN ^1H do N',N'-bis-(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina-2-ol.

3.2.2.6. Síntese e caracterização do N',N', N'-tris-(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina-2-ol (produto F): Em 40 mL de metanol foram dissolvidos 6,90g (0,0253 mol) do produto E. A seguir, 2,40 mL (0,0253 mol) de piridincarboxaldeído foram adicionados, sob agitação contínua, em banho de gelo. Após 15 minutos de reação, 1 g de NaBH_4 foi adicionado, com intervalos de 10 minutos, em pequenas quantidades. A reação permaneceu em agitação por 24 horas. Então, HCl concentrado foi lentamente adicionado à solução em agitação até pH 4. A solução foi concentrada em rota-evaporador e foram adicionados 50 mL de água. Procedeu-se então a extração com clorofórmio, sendo a fase aquosa a de interesse. A esta, foram adicionadas lentilhas de KOH até pH 10, quando observou-se formação da fase oleosa. Procedeu-se a extração com clorofórmio. À fase orgânica foi adicionado Na_2SO_4 anidro e após 30 minutos a solução foi filtrada em papel e concentrada no rota-evaporador a um óleo amarelo-claro. Rendimento de 8,0 g, 87%.

- Ressonância magnética nuclear

O espectro de RMN ^1H em CDCl_3 do produto F é mostrado na figura 11. Deslocamentos químicos δ (ppm):²⁰ 2,7 (4H, Ha, Hc), 3,6-4,1 (7H, Hd, He, Hf', Hb), 7,1 (3H, Hi), 7,4 (3H, Hg), 7,6 (3H, Hh), 8,5 (3H, Hj).

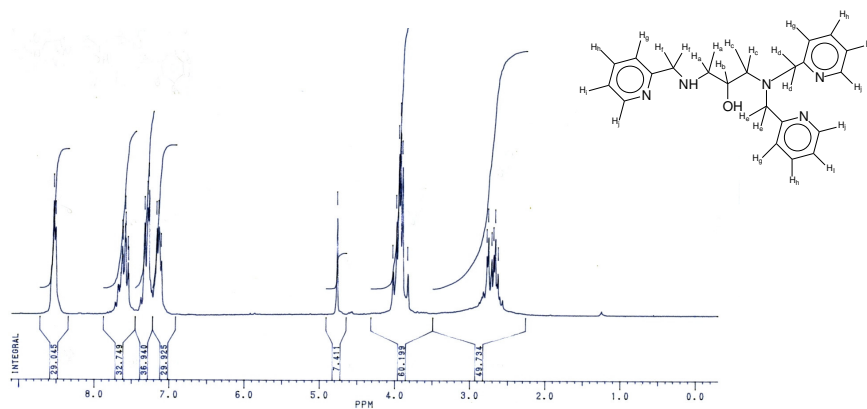


Figura 11 – Espectro de RMN ¹H do N',N', N'-tris-(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina-2-ol.

3.2.2.7. Síntese do ligante N',N', N'-tris-(2-piridilmetil)-N – (2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil) 1,3-propanodiamina-2-ol (H₂L): Uma solução contendo o produto F (0,02 mol) e trietialamina (0,03 mol, 1,5 vez excesso) foi adicionada gota a gota sobre o derivado cloreto (0,03 mol), a temperatura ambiente. Após total adição da amina sobre o cloreto, deixou-se a reação sob agitação por 24 horas, sob ligeiro refluxo (≈40°C), ocorrendo uma diminuição na intensidade da coloração amarela. Transferiu-se a solução para um funil de separação, onde a mesma foi lavada cinco vezes com 50 mL de uma solução saturada de bicarbonato de sódio. À fase orgânica, adicionou-se Na₂SO₄ anidro e após 30 minutos a solução foi filtrada em papel e concentrada no rota-evaporador a um óleo amarelo claro. Rendimento 4,42g, 64,8%.

- Infravermelho

Na figura 12, apresenta-se o espectro no infravermelho do ligante N',N', N'-tris-(2-piridilmetil)-N – (2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil) 1,3-propanodiamina-2-ol (H₂L). Bandas de relevância (cm⁻¹):²⁰ 2956, atribuída aos grupos terc-butil; 1391, 1362, característical do OH fenol; 875 características do núcleo do anel aromático (C=C e C=N).

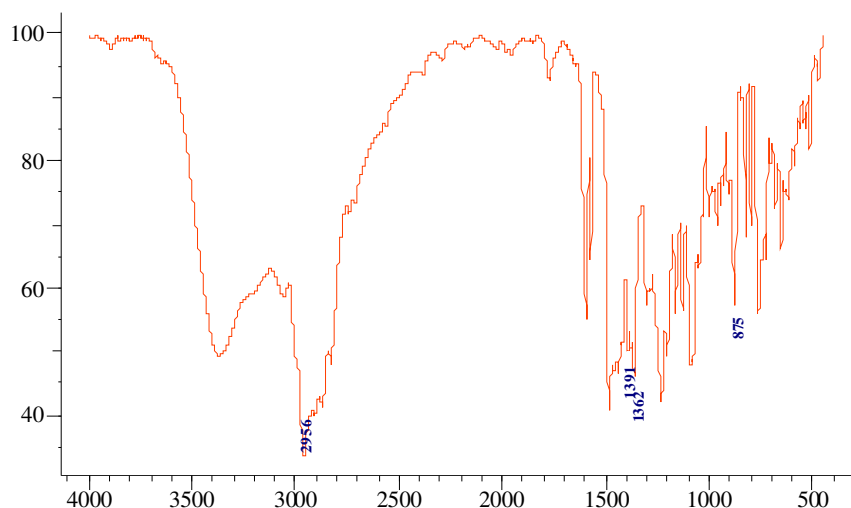


Figura 12 – Infravermelho do ligante final H₂L.

- Ressonância magnética nuclear

O espectro de RMN ¹H em CDCl₃ do ligante final é mostrado na figura 13. Deslocamentos químicos δ (ppm):²⁰ 1,2 (9H, Ho), 1,4 (9H, Hu), 2,6 (4H, Ha, Hc), 3,6-3,9 (9H, Hd, He, Hf, Hb, Hg), 6,8 (1H, He), 7,1 (6H, Hj, Hh), 7,5 (4H, Hi, Hm), 8,5 (3H, Hk, Hm).

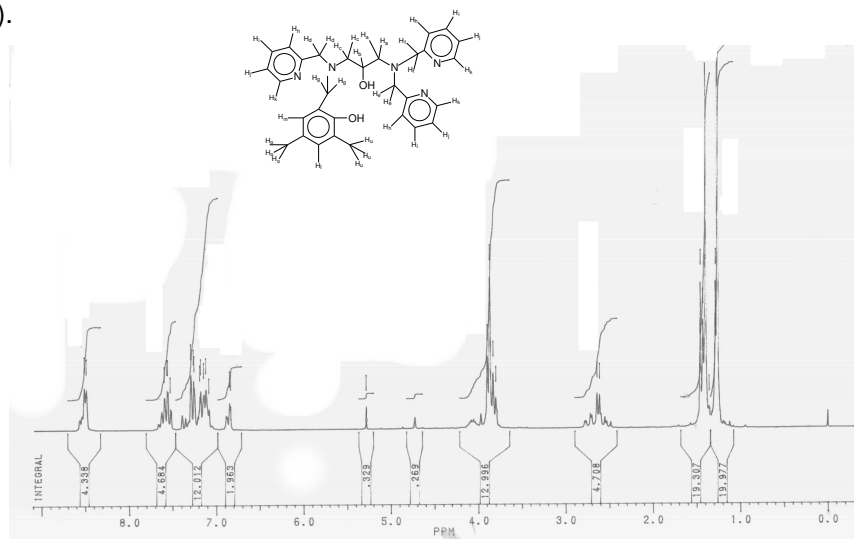
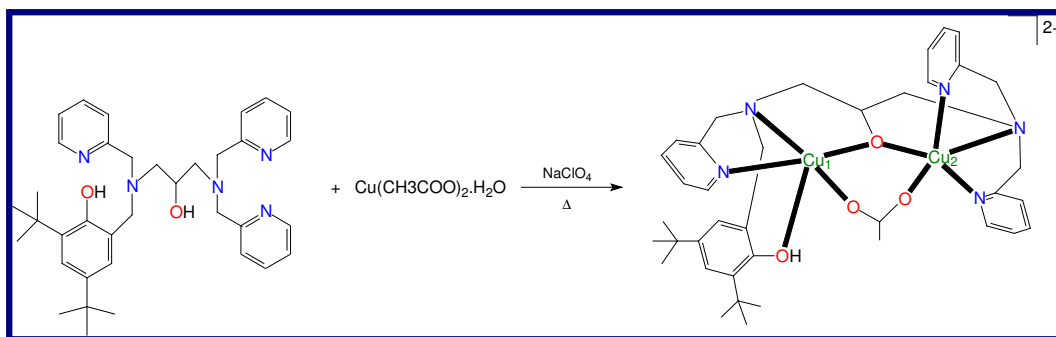


Figura 13 – Espectro de RMN ¹H do N',N', N'-tris-(2-piridilmetil)-N – (2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil) 1,3-propanodiamina-2-ol (H₂L).

3.2.3. Síntese do complexo: Uma solução metanólica (20 mL) do ligante H₂L (0,5 mmol) foi adicionada a uma solução metanólica (20 mL) do sal de cobre Cu(CH₃COO)₂·H₂O (1 mmol), sob agitação e leve aquecimento. Após alguns minutos foi adicionado perclorato de sódio (1 mmol) sólido, mantendo-se agitação e aquecimento por mais meia hora. Após resfriar a solução, foi obtido um precipitado microcristalino azul, que foi recristalizado em solução de diclorometano/isopropanol.



3.2.3.1. Análises iniciais do complexo 1:

- Infravermelho

Na figura 14, apresenta-se o espectro no infravermelho do complexo 1. Bandas de relevância (cm⁻¹):²⁰ 3419 característica de estiramento de O-H de álcool, 2957, típica dos grupos terc-butil, 1090 referente a estiramento Cl-O, dos grupos perclorato, e estiramentos simétrico e assimétrico de acetato em 1441 e 1569, respectivamente.

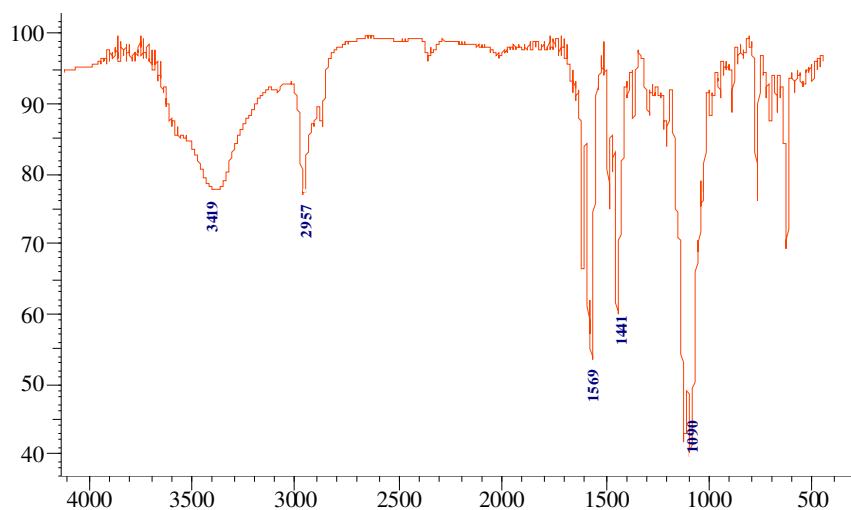


Figura 14 – Infravermelho do complexo 1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e caracterização dos precursores e do ligante

Tanto os precursores cloreto 3,5-di-terc-butil-2-hidroxibenzílico, e os produtos A a F, quanto o ligante N',N',N-tris-(2-piridilmetil)-N – (2-hidroxi-3,5-di-terc-butilbenzil) 1,3-propanodiamina-2-ol (H_2L) foram sintetizados com bons rendimentos, conforme descrito na parte experimental.

Suas caracterizações foram efetuadas por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

Os espectros no infravermelho dos produtos A e B (Figuras 05 e 06), mostra bandas referentes ao estiramento dos grupos carbonila (A) e formação do anel epóxido (B). Nos produtos C a F os espectros de RMN 1H , fornecem os deslocamentos e o cálculo do número de 1H , indicando a formação dos produtos desejados.

O espectro no infravermelho do ligante final H_2L , (Figura 12) mostra bandas referentes aos estiramentos simétrico e assimétrico dos grupos terc-butil, bandas características de fenol, além das bandas de anel aromático e piridínico, o que indica que o produto desejado foi obtido, e que o mesmo encontra-se com alto grau de pureza.

4.2. Síntese e caracterização do complexo (1)

A síntese do composto de coordenação de Cu^{II} com o ligante H_2L foi realizada adicionando o sal $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ a uma solução metanólica do ligante, na proporção de 2:1, seguido de perclorato de sódio, formando-se uma solução de coloração intensa (solução azul) imediatamente.

O complexo foi caracterizado por infravermelho, UV-Vis, eletroquímica, além de ter sua estrutura cristalina resolvida.

Monocristais adequados à resolução da estrutura cristalina por difração de raios-X foram obtidos utilizando-se para a recristalização a mistura dos solventes diclorometano e isopropanol, na proporção de 1:1.

4.2.1. Infravermelho

O espectro no infravermelho obtido para o complexo **1** foi apresentado na figura 14, apresentando basicamente as mesmas bandas exibidas pelo ligante. Na região próxima a 1100 cm^{-1} , aparece uma banda intensa referente ao estiramento das

ligações Cl-O dos contra-íons ClO_4^- , o que significa que o fenol está protonado, concordando então com os dados obtidos com a resolução da estrutura cristalina. Além disso, bandas de estiramento simétrico e assimétrico do grupo acetato foram determinadas, indicando que a ponte exógena do tipo acetato foi formada.

4.2.2. Estrutura cristalina

A estrutura de raios X do complexo foi obtida a partir de monocristais azuis, pertencentes ao sistema cristalino triclinico e grupo espacial P-1, sendo que os complexos isômeros são constituídos por uma unidade do ligante coordenada a dois centros de Cu (II) ligados entre si pelo átomo de oxigênio da ponte endógena alcoóxido e por mais um ligante exógeno acetato (Figura 15). A assimetria do ligante leva a um complexo binuclear onde os dois centros de cobre estão coordenados por diferentes grupos doadores e diferentes geometrias. Os parâmetros cristalográficos e os principais comprimentos e ângulos de ligações estão relacionados nas tabelas 01 e 02, respectivamente.

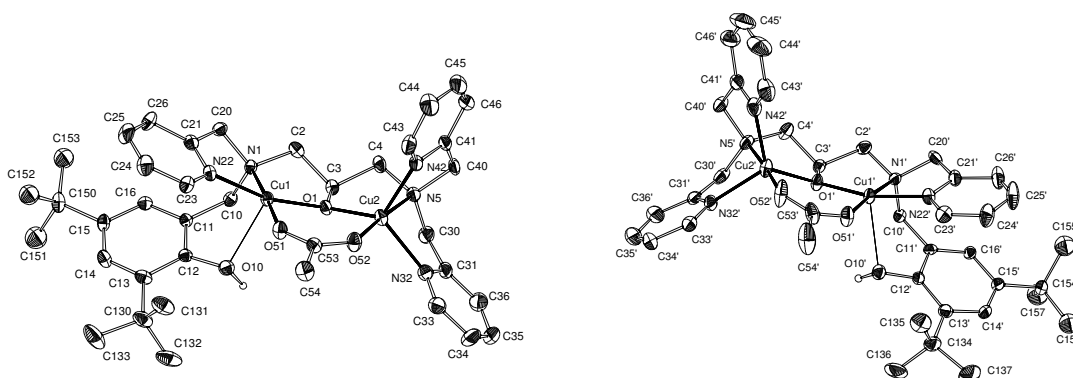


Figura 15 – ZORTEP ¹⁸ dos isômeros do cátion $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L})(\mu\text{-OAc})]^{2+}$.

As geometrias de coordenação nos átomos Cu1, Cu1', Cu2 e Cu2' somente puderam ser estabelecidas através de cálculo de $\tau = (\beta - \alpha) / 60$, onde β representa o maior ângulo e α o segundo maior ângulo na esfera de coordenação, conforme descrito por Addison e colaboradores.²² O fator estrutural τ é aplicável para complexos penta-coordenados e representa o grau de trigonalidade da geometria, sendo $\tau = 0$ para geometria tetragonal perfeita e $\tau = 1$ para geometria trigonal bipiramidal perfeita.

Os centros de Cu1 e Cu1' do complexo encontram-se em uma geometria piramidal de base quadrada distorcida ($\tau = 0,22$ e $0,19$, respectivamente). Já o centro

de Cu2 e Cu2' do complexo encontram-se numa geometria melhor descrita como bipirâmide trigonal distorcida ($\tau = 0,87$ para ambos).

No centro de Cu1 e Cu1' os planos basais são constituído pelas ligações dos átomos de nitrogênio amínico (N1) e piridínico (N22), dos átomos de oxigênio do acetato ponte (O51) e do alcoóxido ponte (O1), e o átomo de oxigênio protonado do fenol (O10) ocupa a posição apical completando a esfera de coordenação. Nos centros de Cu2 e Cu2' o plano trigonal está constituído pelas ligações dos átomos de nitrogênio piridínicos (N32 e N42) e do átomo de oxigênio do alcoóxido ponte (O1), sendo que o átomo de nitrogênio amínico (N5) e o átomo de oxigênio do acetato ponte (O52) ocupam as posições pseudo-axiais, completando a esfera de coordenação.

As estruturas isoméricas são bastante similares, apresentando ângulo de ligação de 124,7(3) Å para Cu1-O1-Cu2 e de 124,5(3) Å para Cu1'-O1'-Cu2'. As distâncias Cu1-Cu2= 3,3975(15) Å e Cu1'-Cu2' = 3,3936(14) Å também são bastante parecidas.

Comportamento similar pode ser observado para outro complexo já descrito na literatura.²³ A grande diferença entre eles está na presença dos grupos *terc*-butil, no complexo **1**, localizados nas posições *-orto* e *-para* ao oxigênio fenólico, o que provoca um aumento na densidade eletrônica sobre o centro Cu1. Este fato pode ser observado comparando as distâncias entre o Cu1-O51= 1,957(6) Å para complexo **1** e Cu1-O6= 1,944(11) para complexo da literatura. A presença dos grupos *terc*-butil aumenta a basicidade do fenol, aproximando-o do centro de Cu1, aumentando a distância do grupo acetato naturalmente, devido a diminuição da acidez de Lewis do íon Cu^{II}.

O complexo serve como modelo estrutural para a metaloenzima de cobre do tipo III, pois simula a distância metal-metal de aproximadamente 3,0 Å.

Tabela 1 – Parâmetros cristalográficos do complexo **1**.

Fórmula Empírica	C ₄₁ H ₅₇ Cl ₂ Cu ₂ N ₅ O ₁₃	
Massa Molecular	1025.90	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de onda	0.71069 Å	
Sistema Cristalino, grupo espacial	Triclinico, P-1	
Dimensõe da célula unitária	a = 15.041(1) Å	$\alpha = 66.485(6)^\circ$
	b = 18.556(1) Å	$\beta = 68.511(6)^\circ$
	c = 20.663(1) Å	$\gamma = 72.333(7)^\circ$
Z, Densidade calculada	4, 1.409 g/cm ³	

Coeficiente de absorção	1.054 mm ⁻¹
Tamanho do cristal	0.50 x 0.26 x 0.16 mm
Intervalo de Theta	2.17 to 25.10°
Intervalo dos índices h, k l	-17 ≤ h ≤ 16, -22 ≤ k ≤ 0, -24 ≤ l ≤ 22
Reflexões medidas independente	443 / 16884 [R(int) = 0.0418]
Correção de absorção	Psi-scan
Fatores de transmissão	0.9523 and 0.8214
Método de refinamento	Mínimos quadrados com matriz completa em F ²
Data / restraints / parameters	16884 / 289 / 1119
Goof on F ²	1.022
Índices finais[I>2σ(I)]	R ₁ = 0.0733, wR ₂ = 0.1912
Índices finais(todas reflexões)	R ₁ = 0.2336, wR ₂ = 0.2450
Densidade eletrônica residual	0.942 and -0.676 e.Å ⁻³

Tabela 2. Principais comprimentos[A] e ângulos [°] para o complexo 1.

Cu1-O1	1.892(5)	Cu2-O1	1.943(5)
Cu1-N22	1.948(7)	Cu2-N5	2.033(7)
Cu1-O51	1.957(6)	Cu2-N42	2.070(7)
Cu1-N1	2.025(6)	Cu2-N32	2.078(9)
Cu1-O10	2.470(6)	Cu1-Cu2	3.3975(15)
Cu2-O52	1.922(7)		
O1-Cu1-N22	164.5(3)	O52-Cu2-N5	176.0(3)
O1-Cu1-O51	96.0(3)	O1-Cu2-N5	84.4(3)
N22-Cu1-O51	94.1(3)	O52-Cu2-N42	98.0(3)
O1-Cu1-N1	86.4(2)	O1-Cu2-N42	121.3(3)
N22-Cu1-N1	83.7(3)	N5-Cu2-N42	82.1(3)
O51-Cu1-N1	177.5(3)	O52-Cu2-N32	95.5(3)
O1-Cu1-O10	101.4(2)	O1-Cu2-N32	123.7(3)
N22-Cu1-O10	90.2(2)	N5-Cu2-N32	80.8(3)
O51-Cu1-O10	90.2(2)	N42-Cu2-N32	110.0(3)
N1-Cu1-O10	88.6(2)	Cu1-O1-Cu2	124.7(3)
O52-Cu2-O1	98.9(3)	C12-O10-Cu1	110.5(5)

4.2.3. Espectroscopia eletrônica

Em virtude das propriedades eletrônicas dos complexos de Cu^{II} serem fortemente influenciadas pela estereoquímica, segue-se abaixo um breve resumo das características eletrônicas apresentadas por complexos de Cu^{II} em diferentes geometrias.

O íon Cu^{II} livre, tendo uma configuração d^9 , possui nove elétrons distribuídos em cinco orbitais d degenerados. Quando submetido à influência de um campo ligante, esses orbitais sofrem um desdobramento em diferentes níveis de energia (Figura 16), o que possibilita a ocorrência de transições eletrônicas do tipo $d-d$. A energia de desdobramento desses orbitais é fortemente influenciada pela natureza dos ligantes (série espectroquímica) e pela geometria de coordenação do centro metálico.²⁴ Complexos de Cu^{II} em ambiente octaédrico normalmente apresentam estereoquímicas altamente distorcidas sendo a mais comum a alongação tetragonal ao longo do eixo z (distorção Jahn Teller).²⁵⁻²⁶ Nesses casos, os espectros eletrônicos podem apresentar até três transições, as quais muitas vezes aparecem encobertas em uma única transição alargada na região de 600-700 nm.²⁶ Complexos de Cu^{II} pentacoordenados normalmente encontram-se em duas categorias de geometria: piramidal de base quadrada e bipirâmide trigonal. Os espectros eletrônicos de complexos piramidais de base quadrada mostram tipicamente uma banda de absorção mais intensa em alta energia (região visível) e uma menos intensa (ombro) em menor energia. De maneira contrária, os espectros de complexos bipirâmides trigonais são caracterizados por uma banda menos intensa em mais alta energia e uma outra de maior intensidade em menor energia.²⁵⁻²⁶ Sendo assim, os espectros eletrônicos de complexos de Cu^{II} podem fornecer uma série de informações a respeito da esfera de coordenação e da geometria da molécula. Como já mencionado, devem apresentar transições $d-d$ proibidas por Laporte, caracterizadas por baixos valores de coeficiente de absorvidade molar (ϵ). Entretanto, podem também apresentar uma banda em maior energia, em relação à $d-d$, referente a transições de transferência de carga do tipo ligante \rightarrow metal (TCLM) ou metal \rightarrow ligante (TCML), as quais são permitidas por Laporte e caracterizadas por elevados valores de ϵ .²⁵

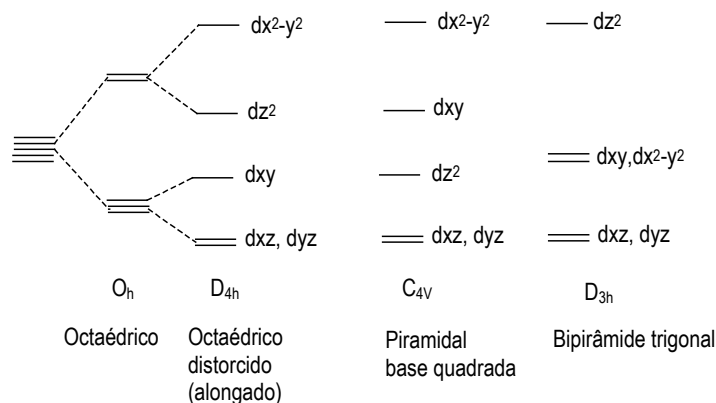


Figura 16– Diagrama de desdobramento dos níveis de energia dos orbitais d em diferentes simetrias.

Os espectros eletrônicos em solução e no estado sólido (reflectância) de **1** são apresentados na figura 17.

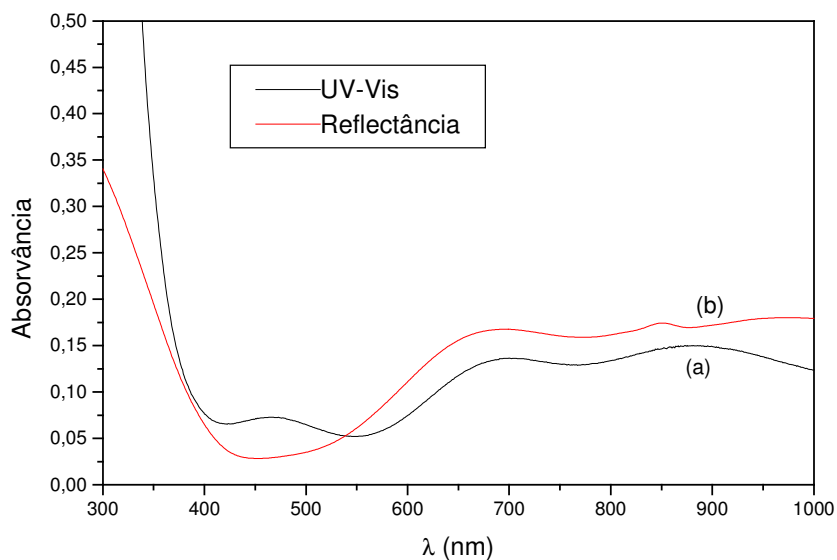


Figura 17- Espectro eletrônico de **1**, em (a) solução de Etanol/ água (70:30) ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), em cubeta de vidro, com caminho óptico de 1 cm, (b) estado sólido, a temperatura ambiente, em pastilha de KBr.

Como pode ser observado na Figura 17, o espectro de reflectância do complexo **1** mostra duas bandas de absorção, sendo as duas praticamente da mesma intensidade, dificultando prever a geometria deste complexo. Nota-se que em estado sólido, não há a presença da banda de transferência de carga, sugerindo-se que o

oxigênio fenólico esteja coordenado de forma protonada. Entretanto, o espectro eletrônico registrado em solução mostra algumas variações para esse comportamento. De acordo com a Figura 17, o espectro do complexo **1**, em solução é caracterizado por apresentar duas bandas alargadas na região em 698,4 nm ($\epsilon = 163,01 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e 888,0 nm ($\epsilon = 164,93 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), típicas de transições d-d, além de uma banda com $\lambda_{\text{máx.}} = 496 \text{ nm}$ ($\epsilon = 78,57 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), que está sendo tentativamente atribuída a um processo de transferência de carga do tipo fenolato $\rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$,²⁴ sugerindo-se então que em solução ocorra um equilíbrio entre a espécie protonada e desprotonada.

Espectros em diferentes solventes foram realizados e notou-se que o complexo não sofre variação espectral significativa, o que indica que o mesmo não sofre o efeito do solvente.

Isto está em concordância com os resultados da espectroscopia no infravermelho, que indicam a presença de pelo menos um contra-íon perclorato.

4.2.4. Eletroquímica

As propriedades redox do complexo **1** foram investigadas através das técnicas de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada. Os voltamogramas obtidos para o complexo são apresentados na figura 18. Pode-se notar nos voltamogramas (região catódica) que o complexo apresenta dois processos *quasi-reversíveis*, relacionados aos pares redox representados nas equações 1 e 2.



Os potenciais, bastante negativos, nos processos dos pares redox Cu/ Cu podem ser justificados pela forte capacidade doadora de elétrons dos grupos terc-butil localizados nas posições *-orto e -para* aos oxigênios fenólicos, o que provoca um aumento na densidade eletrônica sobre o íon Cu^{II} , acarretando uma maior resistência à redução e refletindo em potenciais mais negativos.

Ao adicionar Et_3N ao complexo, nota-se no voltamograma de onda quadrada a presença de um processo redox reversível que pode ser condizente com a formação de um radical fenoxil.^{27,28}

Os potenciais de pico catódico e de pico anódico (E_{pc} e E_{pa}), assim como o potencial redox para o processo reversível, estão resumidos na tabela 03.

Tabela 03 – Dados dos potenciais de redução, oxidação e redox, obtidos a partir dos voltamogramas de onda quadrada do complexo **1**.

Par redox	E_{pc} vs. Ag/Ag ⁺ (mV)	E_{pa} vs. Ag/Ag ⁺ (mV)	E_{pc}^* vs. Fc ⁺ /Fc (mV)	E_{pa}^* vs. Fc ⁺ /Fc (mV)	$E_{1/2}$ vs. Fc ⁺ /Fc (mV)
Cu ^{II} -Cu ^{II} -Cu ^{II} -Cu ^I	-464	-492	-782	-810	-796
Cu ^{II} -Cu ^I -Cu ^I -Cu ^I	-858	-878	-1176	-1196	-1186
Fenolato/fenoxil	330	308	12	-10	1,0

* $E_{1/2}$ par redox Fc⁺/Fc = 318 mV vs. Ag/Ag⁺.

Os processos de redução relacionados aos centros de Cu^{II} abrem perspectivas de que o complexo **1** possa ser efetivo na oxidação de catecóis. A formação de radical fenoxil pode também vir a contribuir neste processo.

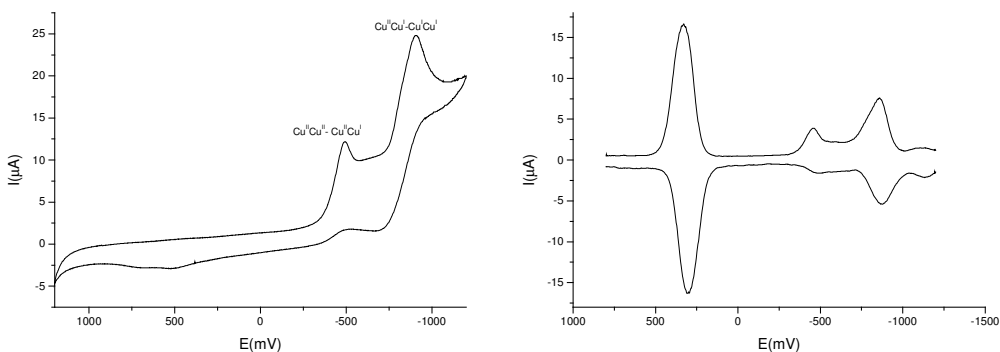


Figura 18- Voltamograma cíclico (esquerda) e de onda quadrada com Et₃N (direita) (pulso = 20 mV, freqüência = 50 Hz). Concentração do complexo: $5,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹, eletrólito: 0,1 mol L⁻¹ de TBAPF₆; eletrodo de trabalho: platina; referência: Ag/Ag⁺; contra-eletrodo: fio de platina; o par redox ferrocínio/ferroceno foi usado como padrão interno.²⁹

4.2.5. Atividade catalítica

Decidiu-se testar a atividade catalítica do complexo **1**, frente ao substrato 3,5-di-*ter*cbutilcatecol, já que esta é a função da enzima catecol oxidase, e este composto mostrou propriedades estruturais similares à apresentada pelos centros de cobre na

enzima. É interessante o estudo comparativo de compostos mononucleares e binucleares de cobre frente a este substrato, Kida e colaboradores estudaram um grande número de compostos de cobre, e observaram que compostos binucleares catalisam a reação, enquanto que compostos mononucleares são menos eficientes ou até mesmo inativos, dependendo do efeito estérico do ligante.³⁰ A reação foi acompanhada pelo aparecimento da banda da quinona a 400 nm, em função do tempo. Na Figura 19 é apresentada a mudança espectral devido a formação da quinona a qual resulta da oxidação de 3,5-dtbc pelo catalisador - complexo $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2$ (**1**).

Estudos preliminares da reação de oxidação do 3,5-di-*tert*-butilcatecol a correspondente *o*-quinona catalisada pelo complexo **1**, mostram que o mesmo catalisa então a reação de oxidação, podendo então ser considerado como modelo funcional para catecol oxidase.

Estudos cinéticos detalhados estão sendo realizados no intuito de verificar a influência dos grupos *tert*-butil (forte doador de elétrons) com relação ao complexo já descrito na literatura.²³

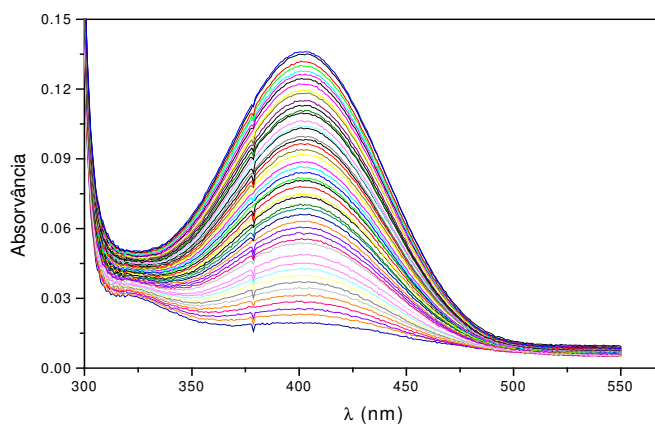


Figura 19 – Variação do espectro eletrônico para reação de oxidação do 3,5-dtbc catalisada pelo composto $[\text{Cu}_2(\text{L})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2$.

5. CONCLUSÕES

- Foram sintetizados com bons rendimentos todos os compostos orgânicos, o que inclui um novo ligante binucleante contendo átomos N,O-doadores.
- Foi sintetizado também um novo complexo binuclear de cobre (II), com o respectivo ligante, modelo para o sítio ativo da catecol oxidase: $[\text{Cu}_2(\text{L})(\mu\text{-OAC})](\text{ClO}_4)_2$.
- O espectro eletrônico do complexo, em estado sólido apresenta duas bandas d-d, e em solução apresenta além das bandas d-d, uma banda de TCLM, relacionada a um processo do tipo $\text{O}_{\text{fenolato}} \rightarrow \text{Cu(II)}$.
- Foram obtidos monocristais adequados à resolução da estrutura cristalina por difratometria de raios X, no qual os complexos isômeros são constituídos por uma unidade do ligante coordenada a dois centros de Cu (II) ligados entre si pelo átomo de oxigênio da ponte endógena alcoóxido e por mais um ligante exógeno acetato. A assimetria do ligante leva a um complexo binuclear onde os dois centros de cobre estão coordenados por diferentes grupos doadores e diferentes geometrias. O centro de Cu1 apresenta geometria piramidal de base quadrada, e o centro de Cu2 geometria de bipirâmide trigonal distorcida.
- O complexo foi eficiente na oxidação do 3,5-di-terc-butilcatecol a correspondente *o*-quinona, podendo então ser considerado como modelo funcional para catecol oxidase.
- O complexo pode ser considerado como modelo estrutural para a metaloenzima catecol oxidase, pois simula a distância metal-metal de aproximadamente 3,0 Å.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. REEDIJK, J. Introduction to bioinorganic chemistry. In REEDIJK, J. **Bioinorganic Catalysis**, New York: Marcel Dekker, Inc., 1993. p. 1-11.
2. KAIM, W. and SCHWEDERSKI, B. **Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life – An Introduction and Guide**, Chichester: John Wiley & Sons, Inc. 1994. p. 1-36.
3. LIPPARD, S. J. and BERG, J. M. **Principles of bioinorganic chemistry**, Mill Valley: University Science Books, 1994. p. 1-20.
4. BEINERT, H. Bioinorganic Chemistry: A new field or discipline. Words, Meanings, and Reality. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 41, 2002. p. 37967-37972.
5. SORRELL, T. N. Synthetic models for binuclear copper proteins. **Tetrahedron**, v. 45, n. 1, p. 3-68, 1989.
6. HOLM, R. H., KENNEPOHL, P. and SOLOMON, E. I. Structural and functional aspects of metal sites in biology. **Chemical Reviews**, v. 96, p. 2239 - 2314, 1996.
7. SHRIVER, D.F.; ATKINS,P; LANGFORD, C.H.; **Inorganic Chemistry**, second edition;Ed.W.H. Freeman and Company; New York,1988.
8. VOET, D. and VOET, J. G. **Biochemistry**, Somerset: John Wiley & Sons, Inc. 1995. p. 332-344.
9. KAIM, W., RALL, J. Copper – A “modern” bioelement. **Angewandte Chemie Internation Edition in English**, v. 35, p.43-60, 1996.
10. SOLOMON, E. I., SUNDARAM, V. M., MACHONKIN, T. E., *Multicopper oxidases and oxygenases*, **Chemical Reviews**, v.96, p. 2563-2605, 1996.
11. KLABUNDE, T., EICKEN, C., SACCHETTINI, J., C.; KREBS, B., Crystal structure of a plant catechol oxidase containig a dicopper center. **Nature America**. V. 5, n. 12, p. 1084-1090, 1998.

12. EICKEN, C., ZIPPEL, F., BÜLDT-KARENTZOPOULOS, K., KREBS, B.,
Biochemical and spectroscopic characterization of catechol oxidase from sweet
potatoes (*Ipomoea batatas*) containing a type-3 dicopper center, **FEBS letters**, v.
436, p. 293-299, 1998.
13. FERNANDES, C., NEVES, A., et al., A new dinuclear unsymmetric copper (II)
complex as model for the active site of catechol oxidase. **Inorg. Chem.
Commun.**, v. 4, p. 354-357, 2001.
14. KAYTANI, T., et al. **Bull. Chem. Soc. Jpn.**, v. 69, p. 389-397, 1996.
15. NEVES, A., ROSSI, L. M., VENCATO, I. et al., Crystal structure, spectral and
magnetic properties of a new (μ -acetate) (μ -alkoxide) dicopper (II) complex as a
model for tyrosinase, **Inorg. Chimica Acta**, v. 281, p. 111-115, 1998.
16. FERNANDES, C., NEVES, A., et al., Synthesis, characterization and crystal
structure of a new unsymmetric tetranuclear copper-carbonate complex:
reversible CO₂ fixation, **Inorg. Chimica Acta**, v. 320, p. 12-21, 2001.
17. SOKOLOWSKI, A., SCHNEPF, R., BOTHE, E., WIEGHARDT, K. et al., Phenoxy
radical complexes of zinc (II), **J. Am. Chem. Soc.**, v.119, p.8889-8900, 1997.
18. ZSOLNAI, L., PRITZKOW, H., HUTTER, G. ZORTEP. **An Interactive ORTEP
Program University of HEIDELBERG**, Germany, 1996.
19. FLAIG, W., PLOETZ, T., KULLMER, A. **Über ultraviolettspektren einiger
benzochinone. Zeitschrift für Naturforschung**, Teil B, v. 10, p. 668-676, 1955.
20. SILVERSTEIN, R.M., BASSLER, G.C. and MORRIL, T.C.: **Spectrometric
Identification of Organic Compounds**, New York, 1991, 85-192.
21. NEVES, A., de BRITO, M. A, DRAGO, V. et al. A new asymmetric N₅O₂-donor
binucleating ligand and its first Fe^{II}Fe^{II} complex as model for the redox properties
of uteroferrin. **Inorganic Chimica Acta**, v. 237, p. 131-135, 1995.

22. ADDISON, A. W., RAO, T. N., REEDIJK, J., et al. Synthesis, structure and spectroscopic properties of copper (II) compounds containing nitrogen/sulfur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua [1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. **Journal Chemical Society**, Dalton Transactions, p.1349-1356, 1984.
23. NEVES, A., ROSSI, L.M., et al. Synthesis, structure and properties of the first dinuclear copper (II) complex as a structural model for the phenolic intermediate in tyrosinase-creolase activity. **Inorganic Chemistry Communications**, v.2, p.334-337, 1999.
24. HATHAWAY, B. J., BILLING, D. E. The electronic properties and stereochemistry of mono-nuclear complexes of the copper(II) ion. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 5, p. 143-207, 1970.
25. LEVER, A. B. P. **Inorganic Electronic Spectroscopy**, 2nd Ed. Amsterdam:Elsevier Science Publishers B. V., 1984, p. 553-572.
26. RAJENDRAN, U., et al. An unusual axial coordination of phenolate oxygen to copper(II): crystal structure of a copper(II) complex. **Journal Chemical Society, Dalton Transactions**, p. 3563-3564, 1992.
27. JAZDZEWSKI, B. A., TOLMAN, W.B.: Understanding the copper-phenoxyl radical array in galactose oxidase : contributions from synthetic modeling studies, **Coord.Chem.R**, v.200-202, p. 633-685, 2000.
28. ITOH, S., TAKI, M., FUKUZUMI, S. Active site models for galactose oxidase and related enzymes. **Coord. Chem. Rev.**, v.198, p. 3-20, 2000.
29. GAGNÉ, R. R.; KOVAL, C. A.; LISENSKY, G. C. Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements. **Inorganic Chemistry**, v. 19, p.2854-2855, 1980.
30. N. OISHI, Y. NISHIDA, K. IDA, S. KIDA, **Bull. Chem. Soc. Jpn.** V. 53, p.2847, 1980.

