



Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC  
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas – CFM  
Departamento de Química – QMC  
Disciplina – QMC 5510 – Estágio Supervisionado

Relatório de Estágio de conclusão de Curso

**Síntese e Caracterização de ligantes derivados do  
aminoácido Histidina para formação de complexos  
modelos estruturais e/ou funcionais de Metaloenzimas.**

Acadêmico: Sandro Lucio Mireski  
Orientador: Prof. Dr. Augusto Susin Ceccato

Florianópolis, fevereiro de 2004.

*“A força não provém da capacidade física, e sim de uma vontade indomável.”*

Mahatma Ghandi

*"Imaginação é mais importante que inteligência."*

Albert Einstein

*“O grande homem é aquele que não perde o coração de criança.”*

Mêncio

*“Se você quer ter sucesso na vida tem que ter dedicação total, buscar seu último limite e dar o melhor de si.”*

Ayrton Senna

Dedico este trabalho a minha família,  
a todos os meus amigos  
e aqueles que de alguma forma  
contribuíram para eu escrever  
esta página da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

\* *Aos professores e funcionários do departamento de química, a todos aqueles que ajudam de alguma forma na minha formação, em especial ao prof. Luiz Augusto dos Santos Madureira e Augusto Susin Ceccato. Ao primeiro pela possibilidade de trabalho que me deu na Central de Análises e depois no seu laboratório. Pela bolsa de iniciação científica, que no meu caso só foi possível concluir o curso com esta ajuda financeira. Ao segundo pela possibilidade de fazer o estágio no LABINC, pelo desafio, pelas brincadeiras e aos dois pelo grande coração, tratamento e confiança que tiveram na minha pessoa.*

\* *Aos amigos, que me apoiaram nos momentos de dificuldade e alegrias., pela paciência que tiveram nos meus momentos de teimosia. Não vou citar nomes para não esquecer de ninguém, mas todos estão guardados no meu coração. Obrigado de coração por fazerem parte da minha vida.*

\* *Ao pessoal do Jagatah, Rodrigo (Dega), Endrigo (Urso), Mateus (Mateusinho), Deivid (Dodô), Francieli (Fran), Zelma, Camila, pela amizade e pelo carinho, pela muitas e muitas risadas e festas.*

*Resumindo, eu acho que palavras não é suficiente para agradecer. Mas 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.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE ESQUEMAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLO.....	xi
RESUMO.....	xiii
1 – INTRODUÇÃO.....	01
1.1 – Química Bioinorgânica.....	01
1.2 – Enzimas nos processos biológicos.....	02
1.3 – Papel das metaloenzimas nos processos biológicos.....	05
1.4 – A Histidina em metaloenzimas.....	07
1.5 – Planejamento de análogos sintéticos.....	12
2 – OBJETIVOS.....	14
2.1 – Objetivos gerais.....	14
2.2 – Objetivos específicos.....	14
3 – PARTE EXPERIMENTAL.....	15
3.1 – Materiais, equipamentos e métodos de análise.....	15
3.1.1 – Reagentes e solventes.....	15
3.1.2 – Vidrarias e acessórios.....	16
3.1.2.1 – Limpeza da vidraria.....	17
3.1.3 – Equipamentos.....	17
3.1.3.1 – Equipamentos utilizados nas sínteses.....	17
3.1.3.2 – Equipamentos utilizados nas caracterizações.....	18
3.1.4 – Métodos de análise.....	18
3.1.4.1 – Análise elementar (CHN).....	18
3.1.4.2 – Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	19
3.1.4.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	19
3.2 – Síntese dos ligantes.....	19
3.2.1 – Síntese dos precursores.....	19
3.2.1.1 – Síntese do precursor 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído – MFF.....	19

3.2.1.2 – Síntese do precursor 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol – CMFF.....	20
3.2.1.3 – Síntese do ligante ácido - [[(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanóico] – H <sub>2</sub> BHis.....	21
3.2.1.4 – Síntese do ligante [[(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanoato de metila] – HBHisOMe.....	22
3.2.1.5 – Síntese do ligante {{2-[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-formil}-4-metilfenol} – H <sub>2</sub> BHisMFF.....	23
3.2.1.6 – Síntese do ligante {2-[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-[[[(1-carboxi)-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]]aminometil]-4-metilfenol} – H <sub>3</sub> BBHisMF.....	24
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 – Etapas de síntese dos precursores e ligantes.....	26
4.2 – Caracterização dos precursores.....	26
4.2.1 – Caracterização do precursor MFF.....	27
4.2.1.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	27
4.2.1.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de <sup>1</sup> H)....	28
4.2.2 – Caracterização do precursor CMFF.....	29
4.2.2.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	29
4.2.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de <sup>1</sup> H)....	30
4.2.3 – Caracterização do ligante H <sub>2</sub> BHis.....	31
4.2.3.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	31
4.2.3.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de <sup>1</sup> H)....	34
4.2.3.3 – Análise elementar (CHN).....	35
4.2.4 – Caracterização do ligante HBHisOMe.....	36
4.2.4.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	36
4.2.4.2.1 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de <sup>1</sup> H). 37	
4.2.4.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de <sup>13</sup> C).....	38
4.2.4.3 – Análise elementar (CHN).....	39
4.3 – Caracterização dos novos ligantes.....	40
4.3.1 – Caracterização do ligante H <sub>2</sub> BHisMFF.....	40

4.3.1.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	40
4.3.1.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de <sup>1</sup> H)....	42
4.3.1.3 – Análise elementar (CHN).....	45
4.3.2 – Caracterização do ligante H <sub>3</sub> BBHisMF.....	46
4.3.2.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	46
4.3.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de <sup>1</sup> H)....	47
5 – CONCLUSÕES.....	49
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
ANEXO I.....	55

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Sobreposição de campos das áreas de atuação da Química Bioinorgânica.....	01
<b>Figura 2</b> – Estrutura tridimensional do aminoácido histidina.....	07
<b>Figura 3</b> – Estruturas moleculares e tridimensionais dos sistemas: a) Fe-heme (Oxi-hemoglobina) e b) Vitamina B <sub>12</sub> .....	08
<b>Figura 4</b> – Estrutura do anel imidazólico (imidazol).....	09
<b>Figura 5</b> – Protonação do imidazol em solução aquosa ácida.....	09
<b>Figura 6</b> – Desprotonação do imidazol em solução aquosa básica.....	10
<b>Figura 7</b> – Estruturas tridimensionais da: a) Hemoglobina e mioglobina e b) resíduo histidínico ligado ao átomo de ferro porfirínico.....	11
<b>Figura 8</b> – Espectro no IV do precursor MFF em pastilha de KBr.....	27
<b>Figura 9</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do precursor MFF em CDCl <sub>3</sub> .....	28
<b>Figura 10</b> – Espectro no IV do precursor CMFF em pastilha de KBr.....	29
<b>Figura 11</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do precursor CMFF em CDCl <sub>3</sub> .....	30
<b>Figura 12</b> – Espectro no IV do ligante H <sub>2</sub> BHis em pastilha de KBr.....	32
<b>Figura 13</b> – Espectro no IV do aminoácido histidina em pastilha de KBr.....	33
<b>Figura 14</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do ligante H <sub>2</sub> BHis em D <sub>2</sub> O/NaOD.....	34
<b>Figura 15</b> – Espectro no IV do ligante HBHisOMe em pastilha de KBr.....	36
<b>Figura 16</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do ligante HBHisOMe em CDCl <sub>3</sub> .....	37
<b>Figura 17</b> – Derivado ciclizado da histidina, similar ao ligante HBHisOMe, descrito na literatura.....	38
<b>Figura 18</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do ligante HBHisOMe em CDCl <sub>3</sub> .....	38
<b>Figura 19</b> – Espectro no IV do ligante H <sub>2</sub> BHisMFF em pastilha de KBr.....	40
<b>Figura 20</b> – Espectro no IV do ligante H <sub>2</sub> BHisMFF em pastilha de KBr (mistura ácido e éster).....	41
<b>Figura 21</b> – Espectro de RMN do ligante H <sub>2</sub> BHisMFF em CDCl <sub>3</sub> (Fração F2).	42
<b>Figura 22</b> – Espectro de RMN do ligante H <sub>2</sub> BHisMFF em CDCl <sub>3</sub> (Fração F3).	43
<b>Figura 23</b> – Espectro de RMN do ligante H <sub>2</sub> BHisMFF em CDCl <sub>3</sub> da alíquota seca na estufa por 48h.....	44



<b>Figura 24</b> – Espectro de RMN do ligante H <sub>2</sub> BHisMFF em CDCl <sub>3</sub> . (desaparecimento do sinal dos prótons fenólicos).....	44
<b>Figura 25</b> – Espectro no IV do ligante H <sub>3</sub> BBHisMF em pastilha de KBr.....	46
<b>Figura 26</b> – Espectro de RMN do ligante H <sub>3</sub> BBHisMF em DMSO-d <sub>6</sub> .....	47
<b>Figura 27</b> – Possível formação do álcool na reação do ligante H <sub>3</sub> BBHisMF....	48
<b>Figura 28</b> – Produto da hidrólise do éster do ligante H <sub>3</sub> BBHisMF.....	48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Funções biológicas de alguns metais.....	06
<b>Tabela 2</b> – Estratégia utilizada para mimetizar o sítio ativo de metaloenzimas.....	13
<b>Tabela 3</b> – Reagentes utilizados nas etapas de síntese.....	15
<b>Tabela 4</b> – Solventes utilizados nas etapas de síntese.....	16
<b>Tabela 5</b> – Equipamentos utilizados nas etapas de síntese.....	17
<b>Tabela 6</b> – Equipamentos utilizados nas análises deste trabalho.....	18
<b>Tabela 7</b> – Principais bandas no IV do precursor MFF.....	27
<b>Tabela 8</b> – Sinais do espectro RMN de $^1\text{H}$ do precursor MFF em $\text{CDCl}_3$ .....	28
<b>Tabela 9</b> – Principais bandas no IV do precursor CMFF.....	30
<b>Tabela 10</b> – Sinais do espectro RMN de $^1\text{H}$ do precursor CMFF em $\text{CDCl}_3$ ...	31
<b>Tabela 11</b> – Principais bandas no IV do ligante $\text{H}_2\text{BHis}$ .....	32
<b>Tabela 12</b> – Sinais do espectro RMN de $^1\text{H}$ do ligante $\text{H}_2\text{BHis}$ em $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ .....	34
<b>Tabela 13</b> – Caracterização do ligante $\text{H}_2\text{BHis}$ através de análise elementar..	35
<b>Tabela 14</b> – Sinais do espectro RMN de $^1\text{H}$ do ligante $\text{HBHisOMe}$ em $\text{CDCl}_3$ .....	37
<b>Tabela 15</b> – Sinais do espectro RMN de $^{13}\text{C}$ do ligante $\text{HBHisOMe}$ em $\text{CDCl}_3$ .....	39
<b>Tabela 16</b> – Análise elementar do precursor $\text{HBHisOMe}$ .....	39
<b>Tabela 17</b> – Principais bandas no IV do ligante $\text{H}_2\text{BHisMFF}$ .....	41
<b>Tabela 18</b> – Sinais do espectro RMN de $^1\text{H}$ do ligante $\text{H}_2\text{BHisMFF}$ em $\text{CDCl}_3$ .....	43
<b>Tabela 19</b> – Caracterização do ligante $\text{H}_2\text{BHisMFF}$ através de análise elementar.....	45
<b>Tabela 20</b> – Principais bandas no IV do ligante $\text{H}_3\text{BHisMFF}$ .....	47

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1</b> – Síntese do precursor MFF.....	19
<b>Esquema 2</b> – Síntese do precursor CMFF.....	20
<b>Esquema 3</b> – Síntese do ligante H <sub>2</sub> BHis.....	21
<b>Esquema 4</b> – Síntese do ligante H <sub>2</sub> BHisOMe.....	22
<b>Esquema 5</b> – Síntese do ligante H <sub>2</sub> BHisMFF.....	23
<b>Esquema 6</b> – Síntese do ligante H <sub>3</sub> BHisMF.....	24
<b>Esquema 7</b> – Síntese dos precursores e ligantes.....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLO

<b>d</b>	–	deformação angular (IV)
<b>d<sub>H</sub></b>	–	deslocamento químico (RMN)
<b>n</b>	–	estiramento (IV)
<b>Ar</b>	–	aromático
<b>BCME</b>	–	Bis-(clorometil)éter
<b>CA</b>	–	central de análises
<b>CHNS</b>	–	Análise de Elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre
<b>CMFF</b>	–	2-clorometil-4-metil-6-formilfenol
<b>d</b>	–	duplete
<b>dd</b>	–	duplo duplete
<b>DMSO</b>	–	dimetilsulfóxido
<b>DQ</b>	–	departamento de química
<b>g</b>	–	grama
<b>h</b>	–	hora
<b>HBHisOMe</b>	–	[(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanoato de metila]
<b>His</b>	–	histidina
<b>H<sub>2</sub>BHis</b>	–	[[[(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanóico] metila]
<b>H<sub>2</sub>BHisMFF</b>	–	{2-[[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-formil}-4-metilfenol}
<b>H<sub>3</sub>BBHisMF</b>	–	{2-[[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-[[[(1-carboxi)-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]]aminometil]-4-metilfenol}
<b>Im</b>	–	imidazol
<b>IV</b>	–	espectroscopia no infravermelho
<b>LABINC</b>	–	laboratório de bioinorgânica e cristalografia
<b>M</b>	–	molar

<b>MFF</b> –	2-hidroxi-5-metilbenzaléido
<b>mL</b> –	mililitro
<b>mmHg</b> –	milímetro de mercúrio
<b>N</b> –	nitrogênio
<b>p</b> –	para, posição dos substituintes em 1, 4 no anel aromático
<b>p-cresol</b> –	4-metil-1-hidroxibenzeno ou 4-metilfenol
<b>PF</b> –	ponto de fusão
<b>pH</b> –	logaritmo negativo da concentração hidrogeniônica
<b>Ph</b> –	fenol
<b>pKa</b> –	logaritmo negativo da constante de acidez
<b>ppm</b> –	parte por milhão
<b>R</b> –	alifático
<b>RMN <sup>13</sup>C</b> –	ressonância magnética nuclear de carbono
<b>RMN <sup>1</sup>H</b> –	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
<b>s</b> –	singlete
<b>SOD</b> –	superoxide dismutase
<b>q</b> –	quarteto

## RESUMO

Foram sintetizados os precursores *MFF* (2-hidróxi-5-metilbenzaldeído), *CMFF* (2-clorometil-4-metil-6-formilfenol), os ligantes *H<sub>2</sub>BHis* (ácido - [[(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanóico]) e o seu metil-éster *HBHisOMe* ([[(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanoato de metila]) e os novos ligantes *H<sub>2</sub>BHisMFF* {2-[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-formil}-4-metilfenol} e *H<sub>3</sub>BBHisMF* {2-[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-[[[(1-carboxi)-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]]aminometil]-4-metilfenol}.

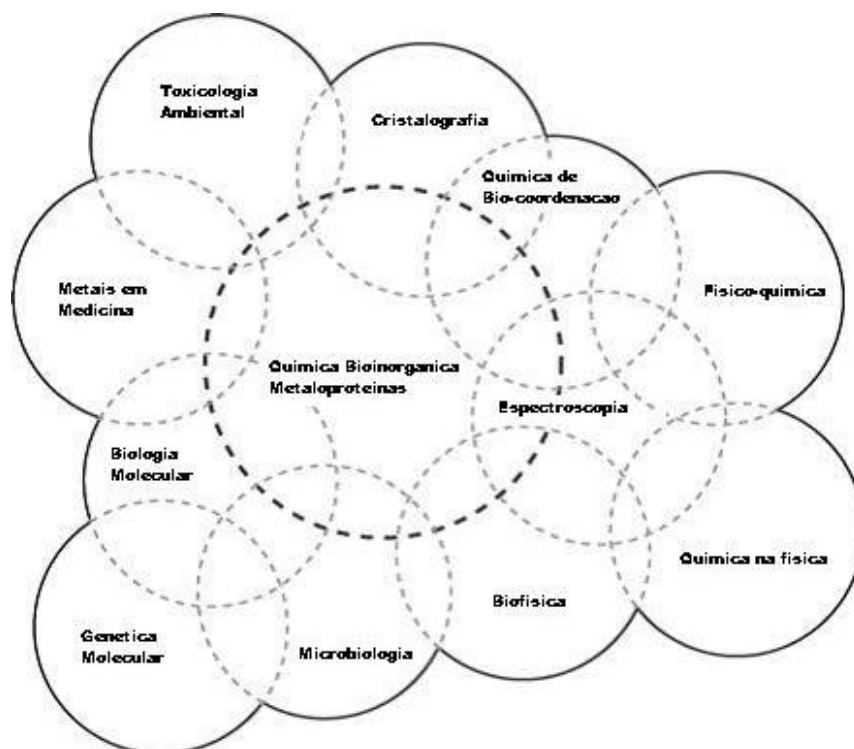
Estes compostos foram caracterizados por Espectroscopia no Infravermelho (IR), Análise Elementar (CHN) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e/ou Carbono (RMN H<sup>1</sup> e <sup>13</sup>C).

No futuro os ligantes serão utilizados na formação de complexos com metais na procura de modelos sintéticos estruturais e/ou funcionais de metaloenzimas.

# 1 – INTRODUÇÃO

## 1.1 – Química Bioinorgânica

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.<sup>1-5</sup>



**Figura 1** – Sobreposição de campos das áreas de atuação da Química Bioinorgânica.<sup>6</sup>

Com a investigação detalhada das estruturas e os mecanismos de catálise, a Química Bioinorgânica está em constante crescimento, desafiando a novas descobertas e ocasionando sentidos inteiramente novos à pesquisa. O futuro compreende inúmeros desafios, que incluem não somente a compreensão da estrutura, função e mecanismo das metaloenzimas e outros complexos biológicos do metal, mas também elucidar os detalhes da *absorção, transferência, transporte, disponibilidade, processamento e toxicidade*, particularmente, em organismos mais evoluídos, tais como os seres humanos. Não obstante os desafios que se encontram adiante, serão as interações e as contribuições por cientistas da Química, da Biologia e da Medicina, que dirigirão os novos avanços no campo.<sup>1-4</sup>

## **1.2 – Enzimas nos processos biológicos.**

As *enzimas* são as biomoléculas mais notáveis e especializadas dos sistemas vivos e apresentam como característica principal uma extraordinária eficiência catalítica. Durante décadas acreditou-se que todas as enzimas fossem proteínas, até que em meados dos anos 80 descobriu-se que moléculas de ácido desoxirribonucléico (RNAL 19) eram capazes de catalisar a clivagem e a união de substratos oligonucleotídios.<sup>7-9</sup>

Além da extraordinária eficiência catalítica, 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. Para serem ativas, algumas enzimas não requerem nenhum outro grupo químico além de seus resíduos de aminoácidos, enquanto que outras necessitam de componentes químicos adicionais conhecidos como cofatores, os quais podem ser íons inorgânicos e/ou moléculas orgânicas (coenzima). Quando o cofator liga-se covalentemente à parte protéica da enzima, este recebe a denominação de grupo prostético.<sup>7, 8, 10</sup>

Sendo assim, as *metaloenzimas* são aquelas que apresentam como grupo prostético um ou mais íons metálicos. 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.<sup>7, 8, 11</sup>

Em geral, as enzimas são classificadas internacionalmente em seis grandes grupos, de acordo com o tipo de reação que catalisam, os quais são:<sup>8, 9, 12</sup>

- **Oxidoreduzases:** catalisam reações de oxirredução. O substrato oxidado é considerado como um doador de hidrogênio e elétrons.

**Subclasses:**

- Hidrogenases
- Oxidases (quando  $O_2$  consumido pelas células é reduzido por citocromo oxidase das mitocôndrias)
- Peroxidases (usam  $H_2O_2$ )
- Hidroxilases (introduzem  $\cdot OH$  em duplas ligações)
- Oxigenases (oxidam substrato a partir de  $O_2$ ), etc.

- **Transferases:** catalisam a transferência de um grupo de uma molécula doadora para uma aceptora.

**Subclasses:**

- Transaldolases (transferência de glicolaldeído)
- Transcetolases (transferência de 1,3-dihidroxicetona)
  - Aciltransferases (transferência de grupo acil)
- Alquiltransferases (transferência de grupo alquil)
- Glicosiltransferases (transferência de resíduos de glicídeos)
- Nitratotransferases, fosfotransferases, etc.

- **Hidrolases:** catalisam a clivagem hidrolítica de ligações C-O, C-N, C-C e algumas outras ligações incluindo ligações anidrido fosfórico.

**Subclasses:**

- Esterases (hidrólise de ésteres)
- Tioesterases (hidrólise de tioésteres)
- Glicosilfosfatases
- Peptidases (hidrólise de ligações peptídicas)
- Fosfatases (hidrólise de grupos fosfato)
- Pirofosfatases , etc.

- **Liases:** catalisam clivagem de ligações C-O, C-N, C-C e outras ligações por eliminação, clivagem de duplas de anéis, e adição de grupos e duplas ligações.

**Subclasses:**

- Descarboxilases (remoção de CO<sub>2</sub>)
- Cetoácidoliasas (envolvidos em reações de síntese de ácidos dicarboxílicos e tricarboxílicos)
- Hidroliasas (desidratam hidroxí-aminoácidos com posterior rearranjo da molécula e formação de novos compostos)

- **Isomerases:** catalisam a transferência de grupos dentro de uma molécula promovendo variações estruturais ou geométricas.

**Subclasses:**

- Racemases (transformam no epímero, ex. glicose, frutose)
- Cis-trans isomerases
- Oxirredutases (ex.: aldoses, cetoses)
- Mutases (mudam posições de grupos), etc.

- **Ligases:** catalisam a formação de ligações C-C, C-S, C-O, e C-N por reações de condensação acopladas a clivagem de ATP.

Acredita-se que a alta especificidade apresentada pelas enzimas esteja relacionada a um rearranjo tridimensional único para cada uma. Conceitualmente, as proteínas podem se organizar em quatro níveis:<sup>11, 13</sup>

- **Estrutura primária:** consiste da seqüência de aminoácidos unidos entre si por ligações peptídicas covalentes e pela localização de pontes dissulfeto.

- **Estrutura secundária:** refere-se a conformação local de resíduos de aminoácidos adjacentes em uma cadeia polipeptídica ( $\alpha$ -hélice e folha- $\beta$ ) e são estabilizadas por ligações de hidrogênio.

- **Estrutura terciária:** refere-se ao relacionamento espacial entre todos os aminoácidos da cadeia polipeptídica, ou seja, é a estrutura tridimensional completa do polipeptídio.

- **Estrutura quaternária:** ocorre em proteínas com mais de uma cadeia polipeptídica e especifica a relação espacial dos polipeptídios, ou subunidades no interior de uma dada proteína.

Diante dessa complexa organização estrutural, o químico bioinorgânico planeja compostos que mimetizem propriedades estruturais, espectrais e funcionais, tendo em mente que esses compostos não reproduzirão rigorosamente a funcionalidade e a especificidade dos sistemas naturais, pois não se pode subestimar a contribuição de todos os componentes da metaloenzimas; mas que irá contribuir para a elucidação do mecanismo de ação desses sistemas.<sup>11</sup>

### 1.3 – Papel das metaloenzimas nos processos biológicos

As metaloenzimas possuem um papel importante em um vasto número de processos biológicos. A maioria destes processos são seletivos, e requerem determinados íons metálicos com esferas de coordenação, geometria e estado de oxidação específico para cumprirem suas funções (de transporte, armazenamento, catálise, etc). Porém, já se sabe que é possível substituir um

íon metálico no sítio ativo de uma metaloenzima por outro, embora a sua atividade catalítica possa ser reduzida.<sup>5, 14</sup>

Assim metaloenzimas que contêm íons metálicos no seu sítio ativo como manganês, magnésio, ferro, cobalto, cobre, molibdênio, vanádio e zinco participam de uma variedade de funções (armazenamento, transporte, catálise, etc) (Tabela 1).

Os íons metálicos, sódio, potássio e cálcio de outro modo, estão envolvidos em determinados mecanismos fisiológicos (manter a estrutura e controlar a função das paredes celulares). Os metais citados não são os únicos envolvidos em processos biológicos, outros exemplos embora quantitativamente menos importantes, têm relevância.<sup>3, 4, 14</sup>

**Tabela 1** – Funções biológicas de alguns metais.<sup>3</sup>

<b>Metal</b>	<b>Função</b>
Co	Oxidase; transferência de grupos alquila.
Cu	Oxidase; transporte de O <sub>2</sub> , transferência de elétrons.
Cr	Possivelmente tolerância à glicose.
Fe	Oxidase; fosfatase; hidrolase; transporte e armazenamento de O <sub>2</sub> ; transferência de elétrons.
Mg	Estrutura; hidrolase; isomerase.
Mn	Fotossíntese, oxidase, catalase, superóxido dismutase (SOD).
Mo	Fixação de nitrogênio; oxidase; transferência de OXO tungstênio de hidrogenase.
V	Fixação de nitrogênio; oxidase.
Zn	Estrutura; hidrolase.

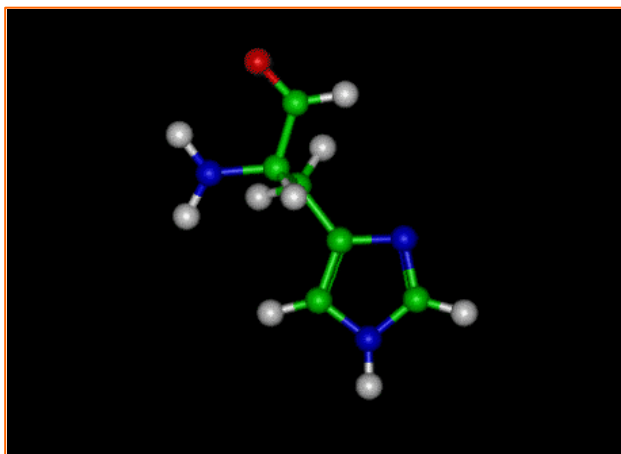
O conhecimento das funções de uma metaloenzima, é matéria de fundamental importância. Este estudo, no entanto requer freqüentemente sobreposição de diversas áreas do conhecimento, o que dificulta sua total compreensão.<sup>3, 4</sup>

Para o químico bioinorgânico, sem dúvida, o campo que mais prende a sua atenção, é a exploração eficaz do papel dos íons metálicos na enzima e em sistemas similares. São freqüentes as vantagens adicionais associadas à presença do íon metálico no sítio ativo da metaloenzima, contribuindo marcadamente a uma compreensão do sistema.<sup>14</sup>

O desenvolvimento da Química Bioinorgânica resultou em uma compreensão significativa da ligação, estrutura e da reatividade de compostos de coordenação. Entretanto, o desafio do químico bioinorgânico, é aplicar esta grande compreensão ao projeto dos sistemas modelo, que elucidam o comportamento dos íons metálicos em processos biológicos.<sup>14</sup>

#### 1.4 – A Histidina em metaloenzimas

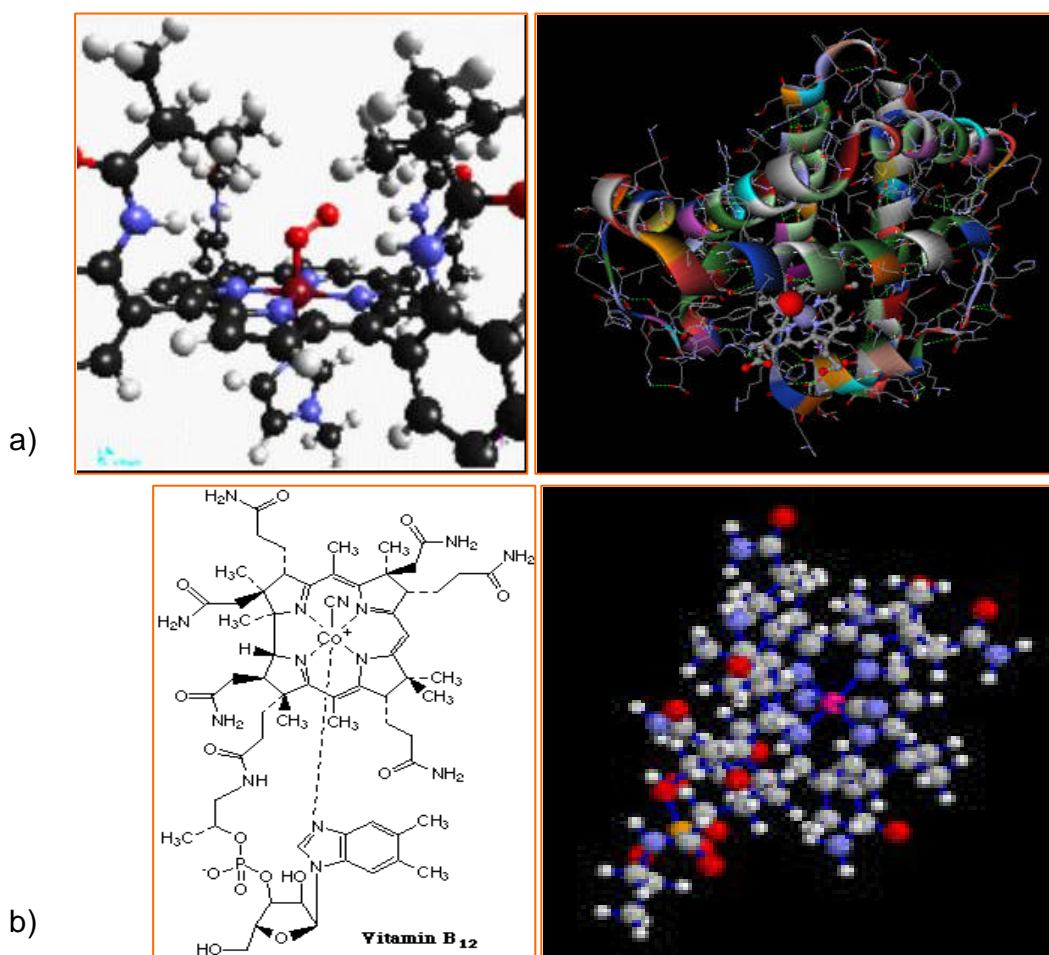
A presença do aminoácido histidina (Figura 2) e dos seus resíduos ocorre em um grande número de enzimas, e provavelmente, é um dos mais importantes ligantes no sítio ativo de sistemas biológicos.



**Figura 2** – Estrutura tridimensional do aminoácido histidina.<sup>15</sup>

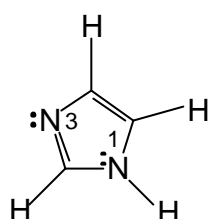
A investigação dos modos de coordenação da histidina e de seus resíduos em complexos metálicos é, então, muito importante para a elucidação da estrutura e da sua função em sistemas biológicos. Tem-se mostrado que a

histidina possui potencialmente três pontos de coordenação: o grupo carboxila ( $pK_{a1} = 1,8$ ), o nitrogênio amínico ( $pK_{a2} = 9,2$ ) e o nitrogênio imidazólico ( $pK_{a3} = 6,0$ ), podendo ser utilizados dependendo do pH, da presença de outros ligantes e da geometria de coordenação do metal. O imidazol, como parte da histidina ou do anel benzimidazólico, funciona como ligante em relação a metais de transição em várias moléculas de importância biológica, incluindo sistemas Fe-heme (Oxi-hemoglobina) Vitamina B<sub>12</sub> (Figura 3) e seus derivados e muitas metaloenzimas.<sup>16, 17, 21, 22</sup>



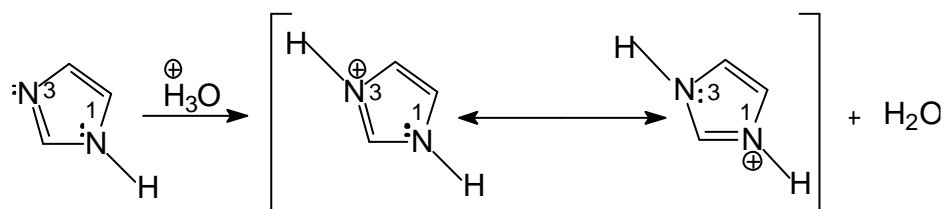
**Figura 3** – Estruturas moleculares e tridimensionais dos sistemas: a) Fe-heme (Oxi-hemoglobina) e b) Vitamina B<sub>12</sub>.<sup>18-21</sup>

A aromaticidade do imidazol pode ser considerada como constituída por dois elétrons de um orbital p não hibridizado de um átomo de nitrogênio trigonal (N1), por um elétron de um orbital p não hibridizado de outro átomo de nitrogênio trigonal (N3) e por três elétrons de átomos de carbono trigonais, cada um cedendo um elétron de um orbital p (para ser considerada aromática a estrutura deve ser planar e estar de acordo com a Regra de Hückel). Considerando estes dados, o par de elétrons presente no átomo de nitrogênio (N3) da Figura 4 está livre para a coordenação.<sup>22</sup>



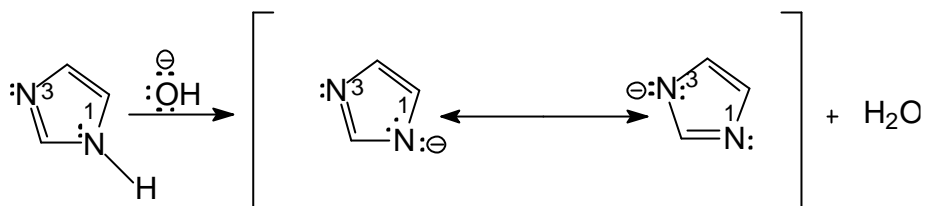
**Figura 4** – Estrutura do anel imidazólico (imidazol).<sup>23</sup>

Uma ligação de próton ou metal ao átomo de nitrogênio (N1) seria bastante desfavorável, pois a aromaticidade do anel seria comprometida. Assim, a basicidade do composto só pode ser atribuída ao átomo de nitrogênio (N3). A distinção entre o átomo de nitrogênio (N1) e o (N3) é menor no cátion imidazólico. Sendo este composto simétrico, seus átomos de hidrogênio são equivalentes. Em solução aquosa ácida, ocorre o tautomerismo da ligação hidrogênio–nitrogênio (N-H) (Figura 5), sem ruptura da aromaticidade, através da troca de prótons entre o imidazol e o solvente.<sup>22</sup>



**Figura 5** – Protonação do imidazol em solução aquosa ácida.<sup>23</sup>

A espécie aniônica do imidazol em solução aquosa básica (Figura 6) tem os dois átomos de nitrogênio disponíveis para coordenação, sem afetar a aromaticidade. Os átomos de nitrogênio imidazólicos dos resíduos histidínicos providenciam os meios primários pelos quais os metais de transição se ligam às proteínas.<sup>22</sup>

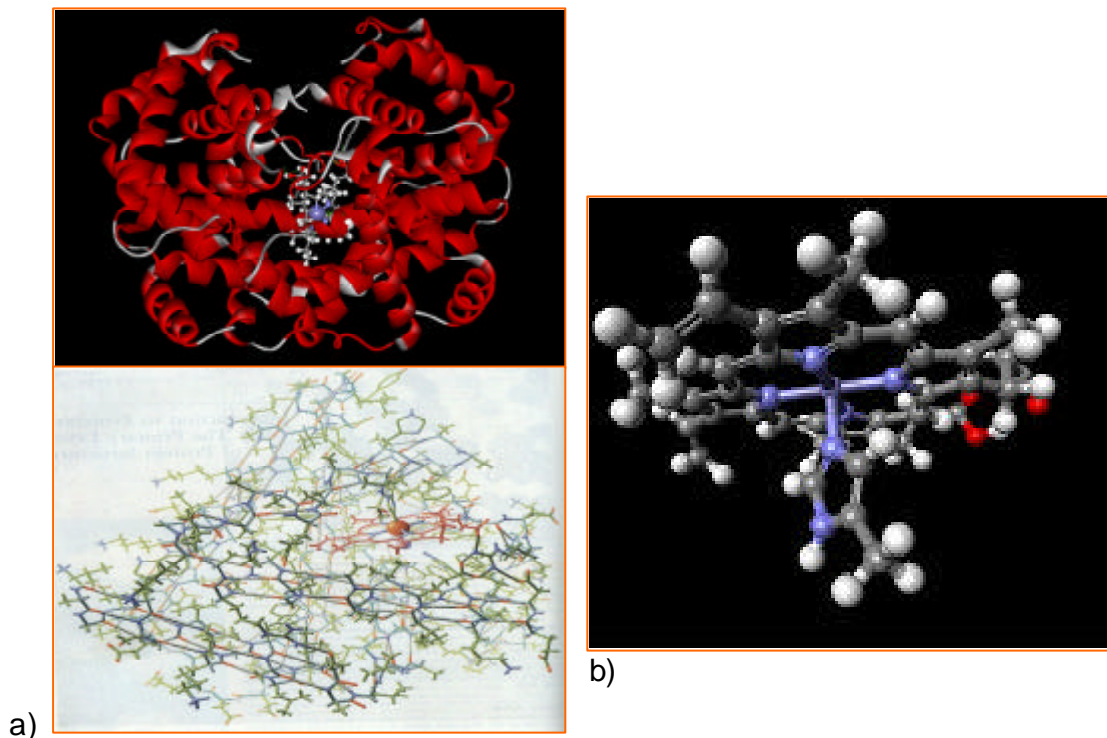


**Figura 6** – Desprotonação do imidazol em solução aquosa básica.<sup>23</sup>

Devido à presença de muitas cadeias laterais e outros atributos das proteínas, como sua conformação, não se pode antecipar uma correspondência exata entre a interação do íon metálico com proteínas e peptídeos. A estrutura secundária da proteína é um fator limitante para o número de átomos de nitrogênios histidínicos ionizados no peptídeo que podem se coordenar. Frente a Cu(II) e Ni(II), na faixa de pH entre 5 e 6, a coordenação se dá somente pelo imidazol da cadeia lateral da histidina. Isto pode ocorrer também em compostos sintéticos.<sup>16</sup> A coordenação pelo grupo amino terminal e a quelação com o carboxilato são favorecidas progressivamente com o aumento do pH.<sup>16</sup>

Os exemplos clássicos de interação histidina–metal em sistemas biológicos são os casos da hemoglobina e mioglobina. Neste caso a estrutura cristalográfica revela um resíduo histidínico ligado ao átomo de ferro porfirínico (Figura 6).<sup>16</sup>





**Figura 7** – Estruturas tridimensionais da: a) Hemoglobina e mioglobina e b) resíduo histidínico ligado ao átomo de ferro porfirínico.<sup>24-26</sup>

A importância dos íons metálicos no sítio ativo das metaloenzimas coordenados à histidina ou a seus resíduos em processos biológicos redox traz a tona a seguinte questão: o imidazol possui uma forma estrutural única, que o torna um mediador essencial nesses processos, ou o seu aparente envolvimento ocorre simplesmente por sua afinidade geral como ligante? Em geral, os mecanismos propostos para essas reações colocam o anel imidazólico como parte essencial do processo. Além dos casos em que há evidente interação do imidazol com o metal, são conhecidas suas funções como nucleófilo e em processos que envolvam transporte de próton.<sup>21</sup>

Recentemente tem-se reportado a síntese, estrutura e propriedades de uma série de complexos metálicos com ligantes imidazólicos relevantes na modelagem da estrutura/função de algumas metaloenzimas. O caráter básico e nucleofílico presente na cadeia lateral do aminoácido histidina ou de seus

resíduos não é um veto, mas causa sérias dificuldades para que se possa utiliza-lo em uma síntese sem um grupo de proteção adequado. A racemização ocorre nos derivados carboxiativados, envolvendo no caminho o átomo de nitrogênio heterocíclico. Existem exemplos na literatura que descrevem a reação de condensação entre o aldeído salicílico e a histidina ou derivados, na ausência de íons metálicos, formando compostos cíclicos com provável importância biológica.<sup>27-29</sup>

### **1.5 – Planejamento de análogos sintéticos**

Metaloenzimas podem ser consideradas, de forma simples, como sendo grandes complexos de coordenação. Deste modo, a caracterização de metaloenzimas através de métodos físico-químicos pode estar em conexão direta com os estudos realizados pelos químicos inorgânicos em espécies de baixa massa molecular. No entanto, é importante mencionar que o estudo cristalográfico de metaloenzimas, sob hipótese nenhuma, mostra a precisão usualmente associada e esperada para moléculas de baixa massa molar. Esta limitação no estudo dos sistemas biológicos tem conduzido ao estudo de análogos ou modelos sintéticos para as metaloenzimas.<sup>3</sup>

O termo análogo sintético é utilizado para aqueles complexos que apresentam propriedades estruturais similares às das metaloenzimas com respeito ao ambiente de coordenação do centro metálico (sítio ativo), geometria de coordenação e propriedades físico-químicas. Modelos sintéticos, na maioria das vezes, são capazes de mimetizar apenas certas propriedades das metaloenzimas, mas certamente podem ser extremamente úteis na elucidação dos seus centros ativos.<sup>3</sup>

A utilização de análogos sintéticos se baseia no fato de que a química do sítio de ligações do metal depende essencialmente do imediato ambiente de coordenação consiste de átomos doadores pertencentes a cadeias laterais de aminoácidos.<sup>3</sup>

A estratégia utilizada na síntese de compostos biomiméticos normalmente segue o procedimento de acordo com as etapas mostradas na Tabela 2.

**Tabela 2** – Estratégia utilizada para mimetizar o sítio ativo de metaloenzimas.

1	Isolamento e purificação da metaloenzima.
2	Determinação detalhada das propriedades físicas e caracterização preliminar dos componentes do sítio ativo.
3	Projeção dos ligantes.
4	Síntese e caracterização de compostos-modelo.
5	Comparação das propriedades físicas dos compostos-modelo com aquelas da metaloenzima purificada.
6	Análise estrutural dos compostos-modelo.
7	Investigação da reatividade química dos modelos.

Deve se ter informações acerca da estrutura do sítio ativo da metaloenzima, incluindo no mínimo caracterizações espectroscópicas, pois no estágio de projeção do tipo de ligante, a geometria a ser adotada em torno do centro metálico é essencial. Após a realização da síntese e a caracterização do composto, as propriedades do análogo sintético são comparadas com aquelas apresentadas pela proteína. Se existirem poucas similaridades, pode-se concluir que o modelo não é bom, e retorna-se ao estágio de projeção. Por outro lado, se o modelo for considerado bom, ou seja, se as propriedades espectroscópicas e físicas do modelo e da metaloenzima forem similares, então se torna importante a determinação da estrutura do modelo. Dados estruturais precisos, juntamente com informações espectroscópicas, normalmente são extremamente úteis na elucidação da estrutura de proteínas ainda não bem caracterizadas. De posse de um bom análogo estrutural iniciam-se então os estudos de reatividade química.<sup>3</sup>

## 2 – OBJETIVOS

### 2.1 – Objetivos gerais

2.1.1 – Sintetizar e caracterizar novos ligantes polidentados contendo grupos funcionais imidazólicos, fenólicos, amínicos e ácidos.

2.1.2 – Empregar os ligantes sintetizados no futuro para a formação de complexos modelos funcionais e/ou estruturais na tentativa de mimetizar o sítio ativo de metaloenzimas.

### 2.2 – Objetivos específicos

2.2.1 – Sintetizar e caracterizar o precursor 2-hidroxi-5-metilbenzaldeído – MFF

2.2.2 – Sintetizar e caracterizar o precursor 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol – CMFF

2.2.3 – Sintetizar e caracterizar o ligante ácido – {(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanóico} – H<sub>2</sub>BHis

2.2.4 – Sintetizar e caracterizar o ligante [(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il)propanoato de metila] – HBHisOMe

2.2.5 – Sintetizar e caracterizar o novo ligante – {2-[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-formil]-4-metilfenol} – H<sub>2</sub>BHisMFF.

2.2.6 – Sintetizar e caracterizar o novo ligante {2-[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-[[[1-carboxi]-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]]aminometil]-4-metilfenol} – H<sub>3</sub>BBHisMF.

### 3 – PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 – Materiais, equipamentos e métodos de análise

##### 3.1.1 – Reagentes e solventes

Os reagentes (Tabelas 3) utilizados nas etapas de síntese dos precursores e ligantes foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem previa purificação.

**Tabela 3** – Reagentes utilizados nas etapas de síntese.

Reagente	Fórmula	Marca	Quantidade
Ácido Clorídrico 37%*	HCl	Vetec	1000mL
Acido Clorídrico 2.0 (gás)	HCl	White Martins	4500g
Aldeído Salicílico (Salicilaldeído)	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	Vetec	1000mL
Bicarbonato de Sódio	NaHCO <sub>3</sub>	Nuclear	1000g
Borohidreto de Sódio	NaBH <sub>4</sub>	Aldrich	500g
Carbonato de Sódio	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Grupo Química	500g
Cloreto de Sódio	NaCl	Vetec	500g
Formaldeído 37%	HCHO	Synth	1000mL
Hidróxido de Lítio monoidratado	LiOH.H <sub>2</sub> O	Aldrich	250g
Hidróxido de Sódio	NaOH	Nuclear	1000g
L-Histidina	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Ajinomoto	1000g
p-Cresol	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	Aldrich	2000g
Sulfato de Magnésio anidro	MgSO <sub>4</sub>	Vetec	500g
Sulfato de Sódio anidro	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Vetec	1000g
Trietilamina	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Grupo Química	1000mL

\* A partir do ácido clorídrico concentrado (HCl 37%), foram preparadas as soluções com concentrações de 1,0 e 2,0 mol.L<sup>-1</sup>, utilizadas nas etapas de síntese.

Os solventes (Tabela 4) utilizados, foram também obtidos de fontes comerciais e não passaram por nenhum processo de purificação.

**Tabela 4** – Solventes utilizados nas etapas de síntese.

<b>Solvente</b>	<b>Formula</b>	<b>Pureza</b>	<b>Marca</b>	<b>Quantidade</b>
Acetona	$\text{CO}(\text{CH}_3)_2$	PA-ACS*	Nuclear	1000mL
Clorofórmio	$\text{CHCl}_3$	PA-ACS	Nuclear	1000mL
Diclorometano	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	PA-ACS	Nuclear	1000mL
Éter Etilico	$(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2\text{O}$	PA-ACS	Nuclear	1000mL
Metanol	$\text{CH}_3\text{OH}$	PA-ACS	Nuclear	1000mL

\* PA-ACS – Para Análise-American Chemical Society.

### 3.1.2 – Vidrarias e acessórios

Nas etapas de síntese, extração e purificação foram utilizadas as seguintes vidrarias:

- béquer (5, 10, 20, 40, 80, 100, 150, 200, 500, 600 e 2000 mL)
- balão fundo redondo (100, 250, 500 e 1000 mL)
- kitassato (250, 500 mL)
- proveta (10, 50 mL)
- erlenmeyer (250, 500 mL)
- tubo de ensaio (pequeno e médio)
- pipeta (1, 5 e 10 mL)
- pipeta pasteur
- bureta (25 mL)
- condensador
- funil de extração (250, 500 e 1000 mL)

- funil de placa porosa (porosidade 2 e 4)
- cápsula de porcelana (médio e grande)
- espátulas, suporte metálico e garras

### 3.1.2.1 – Limpeza da vidraria

As vidrarias utilizadas foram lavadas com detergente e enxaguadas com água. Em seguida passado solvente orgânico (acetona ou álcool) e colocadas secar na estufa (50°C) por 12h.

### 3.1.3 – Equipamentos

#### 3.1.3.1 – Equipamentos utilizados nas sínteses

Os equipamentos utilizados nas etapas de síntese estão listados na Tabela 5:

**Tabela 5** – Equipamentos utilizados nas etapas de síntese.

<b>Equipamento</b>	<b>Modelo</b>	<b>Marca</b>
Agitador magnético c/ chapa de aquecimento	MQAMA 301	Microquímica
Agitador magnético c/ chapa de aquecimento	PC-420	Microquímica
Agitador magnético c/ espátula	RZR 1	Heidolph
Balança analítica eletrônica	BA210S	Sartorius
Balança analítica eletrônica	SC2020	Scout
Bomba de vácuo	DV-285N-250	J/BIndustries Inc
Banho de água termostaticado	B-480	Buchi
Rotaevaporador	R-114	Buchi

### 3.1.3.2 – Equipamentos utilizados nas caracterizações

Os equipamentos utilizados nas análises de caracterização dos precursores e ligantes estão listados na Tabela 6:

**Tabela 6** – Equipamentos utilizados nas análises deste trabalho.

<b>Equipamento *</b>	<b>Modelo</b>	<b>Marca</b>
Análise elementar (CHN)	CHNS 1100	Carlo Erba
Espectroscopia no Infravermelho (IV)	System 2000 FT-IR	Perkin Elmer
Espectroscopia no Infravermelho (IV)	FT16PC	Perkin Elmer
Ponto de fusão (PF)	MQAPF-301	Microquímica
Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	AC 200F	Bruker

\* Os equipamentos de PF e IV (System 2000 FT-IR) pertencem ao laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC), os outros a Central de Análises do Departamento de Química – UFSC.

### 3.1.4 – Métodos de análise

Em todos os métodos de análise utilizados neste trabalho, alíquotas dos produtos obtidos (puros) nas etapas de síntese, foram colocadas em béquer, e secos na estufa (>60°C) por 24 h. Todos os produtos obtidos neste trabalho se tratam de sólidos.

#### 3.1.4.1 – Análise elementar (CHN)

Alíquotas dos produtos secos foram transferidas para frascos do tipo ependorff e analisadas na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC (CA-DQ).



### 3.1.4.2 – Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Como no CHN, após a secagem transferiu-se alíquotas das amostras para tubos do tipo Ependorff. Uma parte das análises foi realizada na CA-DQ e a outra no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC). As amostras dos sólidos foram analisadas em pastilha de brometo de potássio espectroscópico (KBr) e a aquisição dos dados foi obtida na região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.1.4.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

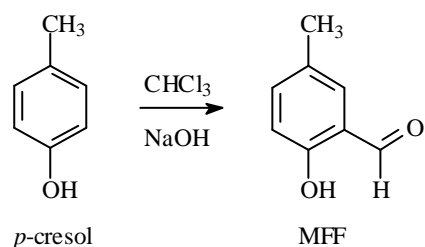
Alíquotas dos produtos secos, foram transferidas para tubos específicos de RMN, e solubilizados em solvente deuterado [clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ) ou dimetilsulfóxido ( $\text{DMSO-d}_6$ )] contendo tetrametilsilano [ $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ ] como padrão interno. As amostras foram analisadas na CA-DQ da UFSC.

## 3.2 – Síntese dos ligantes

### 3.2.1 – Síntese dos precursores

Antes de iniciar a síntese dos ligantes foi necessária à preparação dos precursores necessários.

#### 3.2.1.1 – Síntese do precursor 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído – MFF



**Esquema 1** – Síntese do precursor MFF.

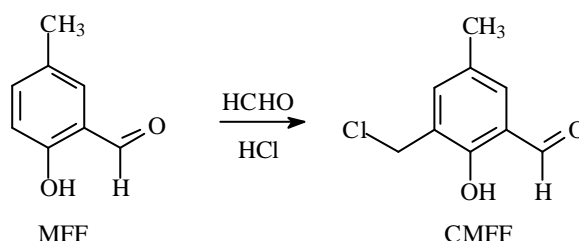
O MFF foi sintetizado por modificações do procedimento descrito na literatura.<sup>30, 31</sup> Em um balão de 1000 mL equipado com condensador em banho de água a 50-60°C, adicionou-se 500 mL de clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>) e 42 mL (0,4 mol) de p-cresol (4-metil-1-hidroxibenzeno). Sob agitação, iniciou-se a adição de uma solução de 120,0 g (3,0 mol) de hidróxido de sódio (NaOH) (dissolvido em 80 mL de água destilada) em pequenas porções durante as 3 primeiras horas de reação. Deixou-se reagir por mais 1 h (no total 4 h de reação) e então se deixou à mistura resfriar a temperatura ambiente. Após, adicionou-se a esta, cerca de 500 mL de água destilada e sob agitação iniciou-se a neutralização com ácido clorídrico concentrado (HCl 37%), até pH = 2. A fase orgânica foi então separada, lavada com água destilada, seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO<sub>4</sub>) e o solvente evaporado a pressão reduzida. O material restante (óleo preto viscoso) foi destilado a pressão reduzida com auxílio de uma coluna de vigreux de 40 cm (55–65°C a 0,1 mmHg). Obteve-se 25,0 g de um sólido bege claro com rendimento de 46%.

**OBS:** O MFF é bastante higroscópico sendo necessário guardar em frasco fechado sob atmosfera inerte e acondicionado dentro da geladeira.

**P.F** = 56°C

**Solubilidade:** solúvel em CHCl<sub>3</sub>; insolúvel em H<sub>2</sub>O.

### 3.2.1.2 – Síntese do precursor 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol – CMFF



**Esquema 2** – Síntese do precursor CMFF.

O CMFF foi sintetizado segundo modificações do procedimento descrito na literatura.<sup>31, 32</sup> Em um balão de 250 mL, adicionou-se 6,4 g ( $4,7 \times 10^{-3}$

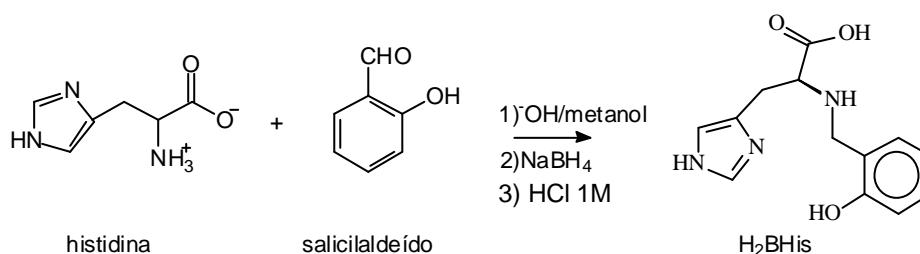
mol) de 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (MFF) seguido de 7,5 mL de formaldeído (HCHO 37%) e 25 mL de ácido clorídrico concentrado (HCl 37%). Sob agitação magnética, deixou-se refluxar durante 15 min, resfriou-se a solução até 0°C em banho de gelo, filtrou-se o produto formado sob vácuo lavando-se o mesmo com água gelada e ácido clorídrico (HCl 2 mol.L<sup>-1</sup>). O sólido restante após seco no vácuo foi solubilizado numa quantidade mínima de etanol (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) a quente e deixado resfriar em um banho de gelo para cristalizar. O produto foi filtrado e lavado com um pouco de etanol gelado, e deixado secar no dessecador com sílica sob vácuo por 12 h. Obteve-se 5,0 g de um sólido branco-róseo com rendimento de 70%.

**Cuidado:** Durante essa reação forma-se o composto bis-(clorometil) éter (BCME), altamente tóxico e comprovadamente um potente agente carcinogênico.<sup>33, 34</sup> A reação deve ser realizada em capela com boa exaustão, utilizando-se material obrigatório de segurança (máscaras, luvas, etc). Após o uso, todo o material utilizado deve ser lavado com solução alcalina, pois o BCME é rapidamente hidrolisado na presença de base. Todos os resíduos da reação devem ser descartados somente após a correção do pH (>9,0) por adição de hidróxido de sódio (NaOH).

**P.F** = 95-96°C

**Solubilidade:** solúvel em CHCl<sub>3</sub>; insolúvel em H<sub>2</sub>O.

### 3.2.1.3 – Síntese do ligante ácido - [[(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanóico] – H<sub>2</sub>BHis



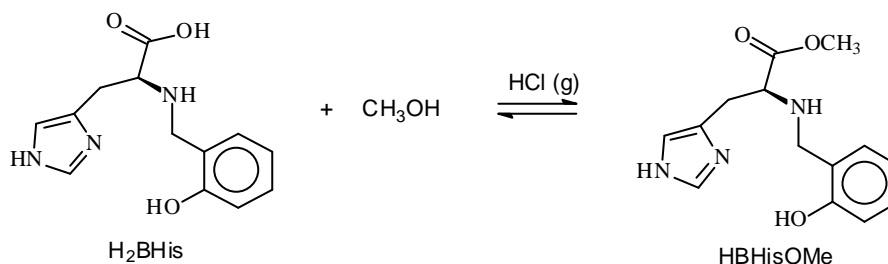
**Esquema 3** – Síntese do ligante H<sub>2</sub>BHis.

O ligante  $H_2BHis$  foi sintetizado através da condensação do aldeído salicílico ( $C_7H_6O_2$ ) com o aminoácido histidina (His) em meio básico.<sup>30, 35</sup> Em um béquer de 500 mL, adicionou-se 15,5 g (0,10 mol) de His e 250 mL de uma solução metanólica contendo 4,2 g (0,1 mol) de hidróxido de lítio monoidratado ( $LiOH.H_2O$ ). A suspensão formada, adicionou-se 12,2 mL (0,1 mol) de aldeído salicílico (a solução torna-se amarela). Sob agitação a temperatura ambiente se adiciona 3,8 g (0,1 mol) de borohidreto de sódio ( $NaBH_4$ ), e a solução torna-se então transparente. Deixa-se sob agitação até cessar a formação de bolhas. A massa formada é então dissolvida em água e neutralizada até  $pH = 7$ , formando um precipitado branco que é filtrado e lavado com água quente, metanol ( $CH_3OH$ ) e éter etílico ( $HCCH_2OCH_2CH_3$ ). Obteve 24,9 g de um sólido branco com rendimento de 95%.

**P.F** = 240-242°C

**Solubilidade:** Insolúvel em solventes orgânicos polares e apolares.

### 3.2.1.4 – Síntese do ligante [[(2-hidroxifenilmetil)-2-amino]-3-(1H-imidazol-4-il) propanoato de metila] – HBHisOMe



#### Esquema 4 – Síntese do precursor HBHisOMe.

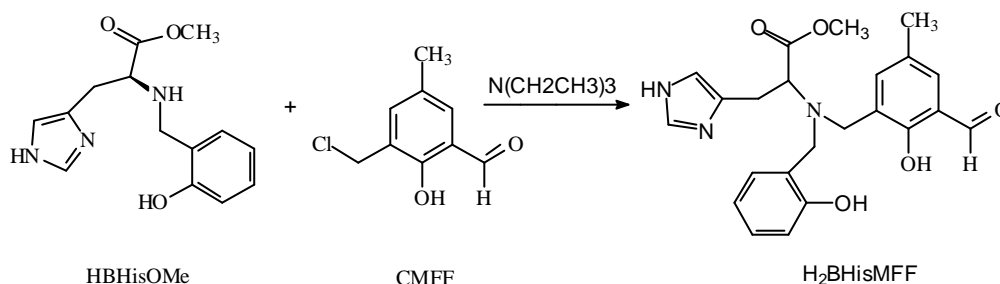
O ligante foi obtido pela esterificação do  $H_2BHis$ .<sup>30</sup> Em um balão de 250mL adicionou-se 7,8 g ( $3,0 \times 10^{-2}$  mol) de  $H_2BHis$  e 75 mL de metanol seco ( $CH_3OH$ ) com peneira molecular (3A), formando uma suspensão branca. Borbulhou-se ácido clorídrico ( $HCl$  gasoso) por aproximadamente 10 min., resultando em uma solução transparente levemente esverdeada. Deixada sob

agitação por 24 horas. Após a agitação, concentrou-se a solução e dissolveu-se em água. Neutralizou-se com carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) até  $\text{pH} = 5$  e com bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) tamponando a solução em  $\text{pH} = 7-8$ . Realizou-se então a extração do produto em clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtrada e concentrada, obtendo-se a 5,0 g de um sólido branco com rendimento de 60%.

**P.F** = 128-129°C

**Solubilidade:** Solúvel em  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ; insolúvel em  $\text{H}_3\text{CCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ .

### 3.2.1.5 – Síntese do ligante {{2-[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxifenilmetil)]aminometil]-6-formil}-4-metilfenol} – $\text{H}_2\text{BHisMFF}$



#### Esquema 5 – Síntese do ligante $\text{H}_2\text{BHisMFF}$ .

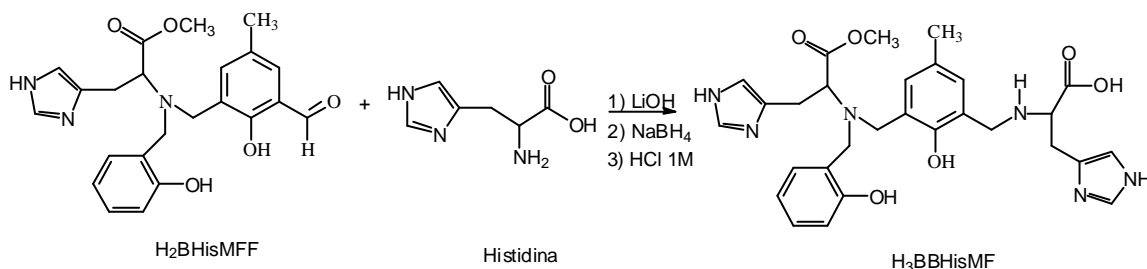
O novo ligante foi obtido da reação dos ligantes HBHisOMe e o CMFF. Em um béquer de 150 mL dissolveu-se 1,5 g ( $0,8 \times 10^{-2}$  mol) de CMFF em 30 mL de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) sob agitação e banho de gelo. Com um funil de adição transferiu-se lentamente uma solução contendo 2,2 g ( $0,8 \times 10^{-2}$  mol) de HBHisOMe e 2,2 mL ( $1,6 \times 10^{-2}$  mol) de trietilamina [ $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ] em 60 mL de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Após o término da adição, retirou-se o banho de gelo e deixou-se a mistura reacional sob agitação a temperatura ambiente por 1:30 h. Após a agitação, transferiu-se para um balão de extração com uma solução

aquosa saturada de cloreto de sódio (NaCl). A fase orgânica foi separada, seca com sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e filtrada, obtendo-se uma solução límpida e de cor intensa amarela. Concentrou-se em rotaevaporador. Depois, retirou-se o balão e colocou-se em bomba de alto-vácuo para eliminar resíduos de solvente. Em seguida foi realizada a purificação do produto em coluna de sílica (recuperada, de pH ácido e tamanho de partícula entre 0,05-0,20 mm), utilizando como solvente eluente a mistura isopropanol/acetona (8:2) e retirando em frações (2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> frações). Obteve-se 2,5 g de um sólido de aspecto cristalino e cor amarela intensa com rendimento de 75%.

**P.F** = 98-102°C

**Solubilidade:** Solúvel em CHCl<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>OH, CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>; insolúvel em H<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O.

### 3.2.1.6 – Síntese do ligante {2-[[[1-carbometóxi-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]-(2-hidroxfenilmetil)]aminometil]-6-[[[(1-carboxi)-2-(1H-imidazol-4-il)]etil]]aminometil]-4-metilfenol} – H<sub>3</sub>BBHisMF



#### Esquema 6 – Síntese do ligante H<sub>3</sub>BBHisMF.

O novo ligante foi obtido da reação do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF com o aminoácido histidina. Em um béquer de 150 mL dissolveu-se 1,3 g (3,0x10<sup>-3</sup> mol) de H<sub>2</sub>BHisMFF em 20 mL de metanol (CH<sub>3</sub>OH) posta sob agitação a temperatura ambiente. Adicionou-se lentamente com funil de adição uma solução contendo 0,6 g (3,8x10<sup>-3</sup> mol) de His e 0,1 g (3,0x10<sup>-3</sup> mol) de hidróxido

de lítio monoidratado ( $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ) em 30 mL de metanol sob agitação. Após o término da adição, deixou-se a mistura reacional sob agitação por 30 min. Em seguida, adicionou-se 0,2 g ( $5,3 \times 10^{-3}$  mol) de borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) sob agitação por 30 min. Após o processo de redução, concentrou-se a solução em rotaevaporador e dissolveu-se em água. Adicionou-se ácido clorídrico ( $\text{HCl}$   $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) até  $\text{pH} = 5,6$ , observando-se a formação de precipitado. Em seguida filtrou-se em funil de placa porosa e lavou-se com água, acetona ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) e éter etílico. Obteve-se 0,6 g de um pó de cor bege, com rendimento de 38%.

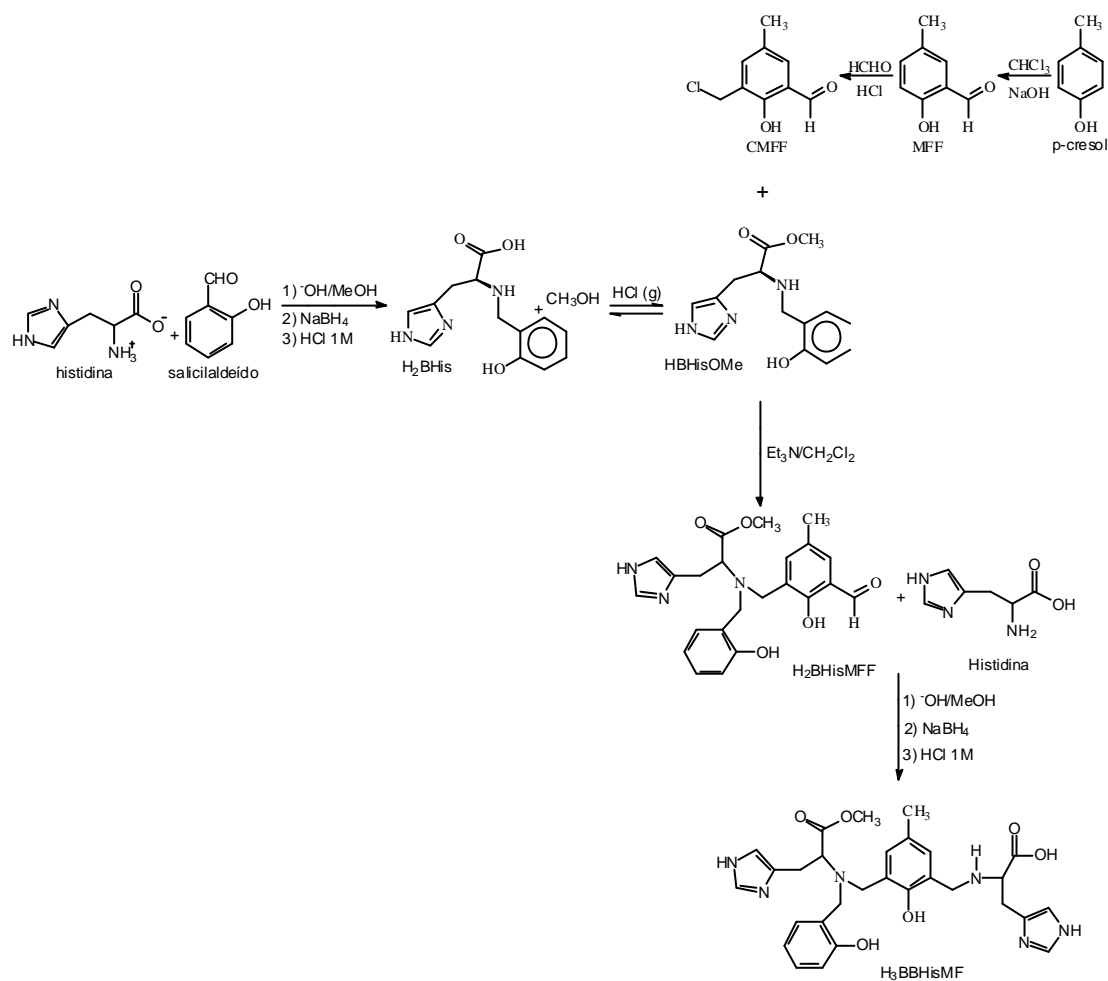
**P.F** =  $>200^\circ\text{C}$

**Solubilidade:** Solúvel em  $\text{CH}_3\text{OH}$ ; insolúvel em  $\text{H}_3\text{CCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ .

## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – Etapas de síntese dos precursores e ligantes

As etapas sintéticas realizadas dos precursores e ligantes estão representadas no fluxograma:



Esquema 7 – Síntese dos precursores e ligantes.

### 4.2 – Caracterização dos precursores

Sempre que possível, as etapas sintéticas dos precursores e ligantes tiveram seus produtos caracterizados por CHN, IV e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .



## 4.2.1 – Caracterização do precursor MFF

### 4.2.1.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV)

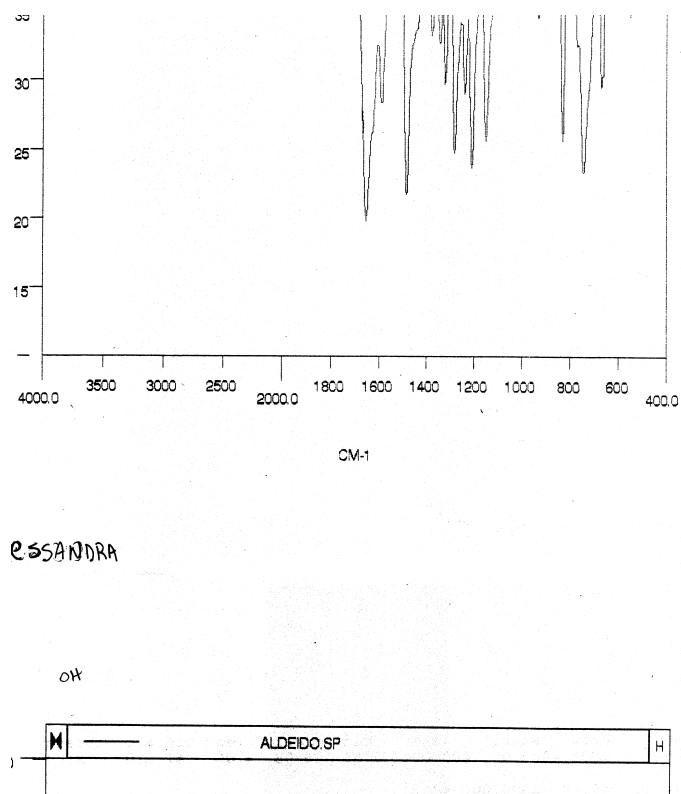


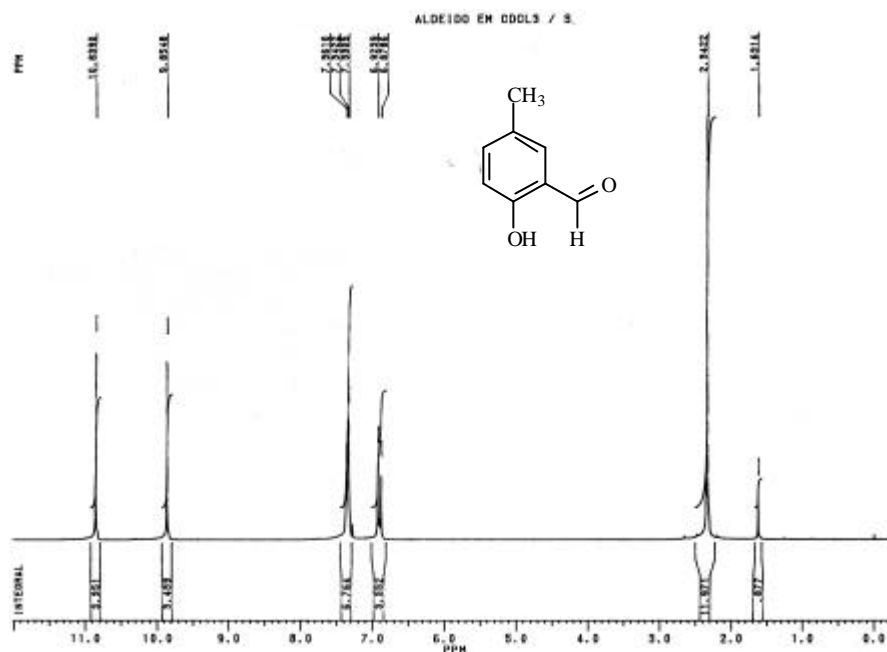
Figura 8 – Espectro no IV do precursor MFF em pastilha de KBr.

Tabela 7 – Principais bandas no IV do precursor MFF.

Posição da banda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição
2916	$\nu(\text{C-H})$
1652	$\nu(\text{C=O})$
1484	$\nu(\text{C=C})$
1208	$\nu(\text{C-O})$
742	$\delta(\text{C-H})$ fora do plano
548	$\delta(\text{C-C})$ fora do plano

Geralmente nos aldeídos saturados, a banda característica de deformação axial da ligação C=O aparece próximo de  $1730\text{ cm}^{-1}$ , porém a conjugação do aldeído com o anel aromático diminui a energia da absorção. No MFF, esta banda foi observada em  $1652\text{ cm}^{-1}$ .

#### 4.2.1.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de $^1\text{H}$ )



**Figura 9** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do precursor MFF em  $\text{CDCl}_3$

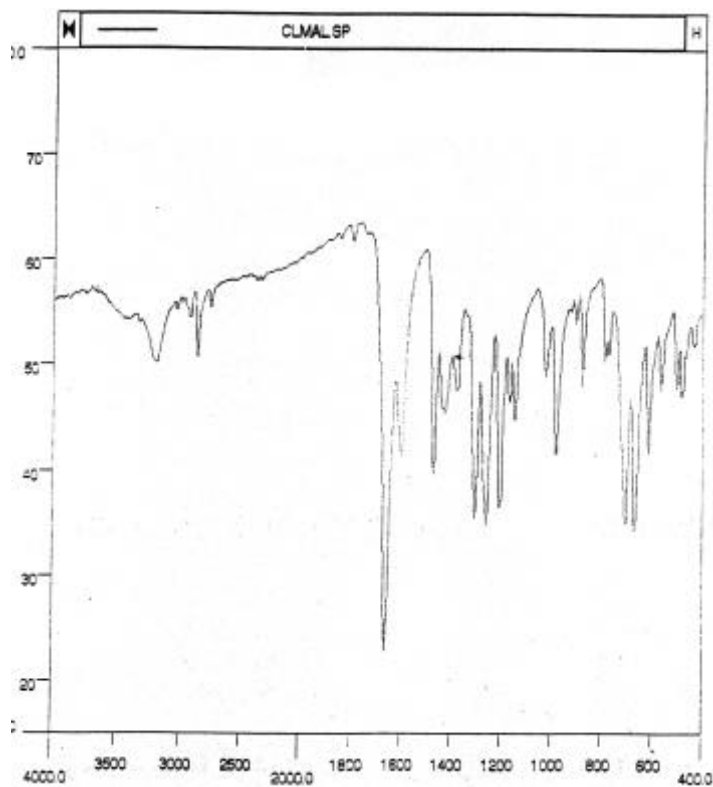
**Tabela 8** – Sinais do espectro RMN de  $^1\text{H}$  do precursor MFF em  $\text{CDCl}_3$ .

Posição $\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Atribuição
10,84	Ar – OH (s,1H)
9,85	Ar – CHO (s,1H)
7,34	Ar (dd,2H)
6,90	Ar (d,1H)
2,34	Ar – CH <sub>3</sub> (s,3H)

Obteve-se um espectro semelhante ao da literatura.<sup>31, 32</sup> Podemos destacar o surgimento de um sinal em 9,85 ppm e outro em 6,90 ppm atribuídos ao MFF. O aparecimento de um sinal em 7,34 ppm evidencia que a reação ocorre em apenas uma das posições (*p*-) ao grupo hidroxila. A possibilidade de formação do di-aldeído pode ser descartada pelos valores das integrais. Pode-se afirmar que neste caso o produto obtido foi apenas o esperado.<sup>31, 32</sup>

## 4.2.2 – Caracterização do precursor CMFF

### 4.2.2.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV)



**Figura 10** – Espectro no IV do precursor CMFF em pastilha de KBr.

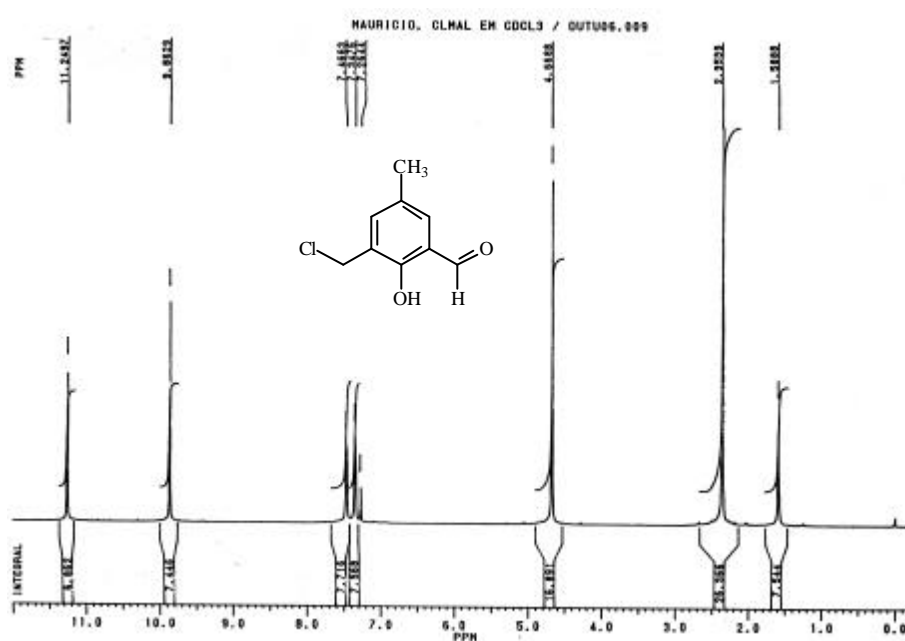
Ao infravermelho do CMFF, foram atribuídas as seguintes bandas principais:

**Tabela 9** – Principais bandas no IV do precursor CMFF.

Posição da banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
2852	v(C-H)
1662	v(C=O)
1600 e 1470	v(C=C)
1378	δ(O-H) no plano
1206	v(C-O)

Como no MFF, a banda característica de deformação axial da ligação C=O do CMFF, aparece em 1662 cm<sup>-1</sup>, deslocada em função da conjugação do aldeído com o anel aromático.

#### 4.2.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de <sup>1</sup>H)



**Figura 11** – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do precursor CMFF em CDCl<sub>3</sub>.

**Tabela 10** – Sinais do espectro RMN de  $^1\text{H}$  do precursor CMFF em  $\text{CDCl}_3$ .

Posição $\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Atribuição
11,25	Ph – OH (s, 1H)
9,86	Ar – COH (s, 1H)
7,46 – 7,26	Ar – H (2s, 2H)
4,67	Ar – $\text{CH}_2\text{Cl}$ (s, 2H)
2,35	Ar – $\text{CH}_3$ (s, 3H)

Obteve-se um espectro semelhante ao da literatura,<sup>31, 32</sup> com o aparecimento de um sinal em 4,67 ppm referente ao metileno ligado ao cloro (Ar –  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ). Além disso o sinal atribuído ao MFF em 6,90 ppm como sendo um dublete desaparece, surgindo em seu lugar dois sinais, um em 7,46 e outro em 7,26, em virtude das suas vizinhanças ( $\text{CH}_2\text{Cl}$  e CHO) também serem diferentes.

### 4.2.3 – Caracterização do ligante H<sub>2</sub>BHis

#### 4.2.3.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV)

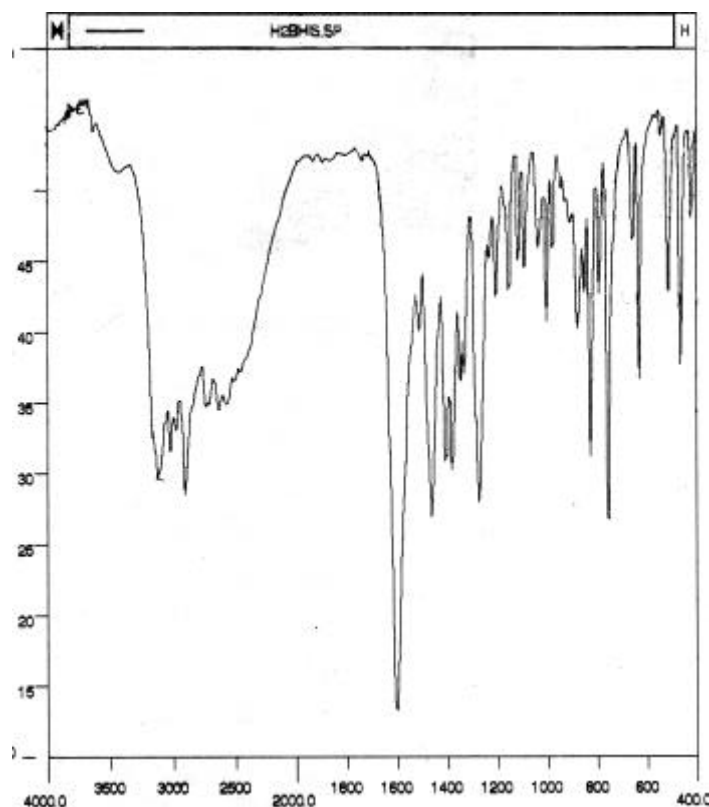
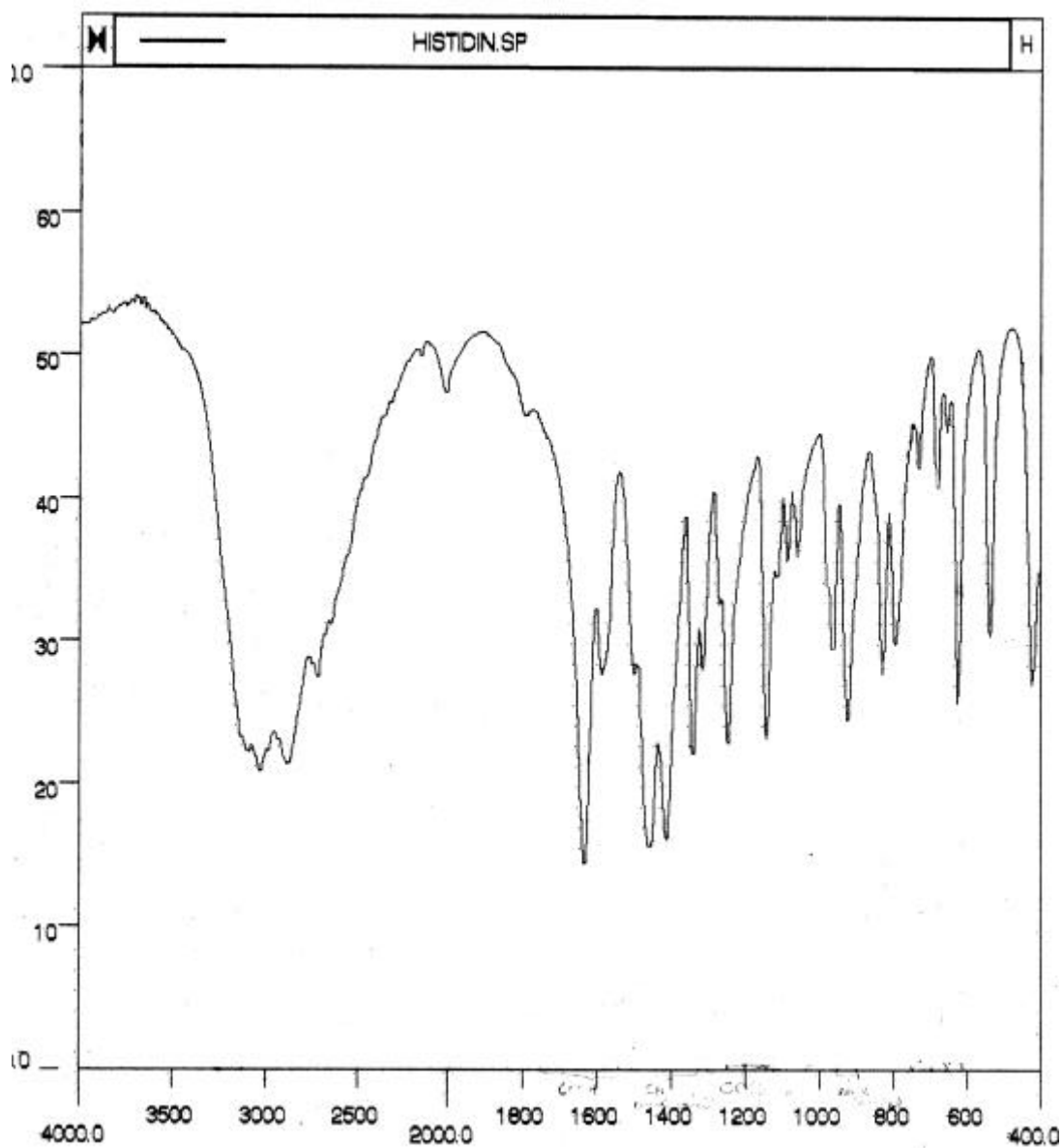


Figura 12 – Espectro no IV do ligante H<sub>2</sub>BHis em pastilha de KBr.

Tabela 11 – Principais bandas no IV do ligante H<sub>2</sub>BHis.

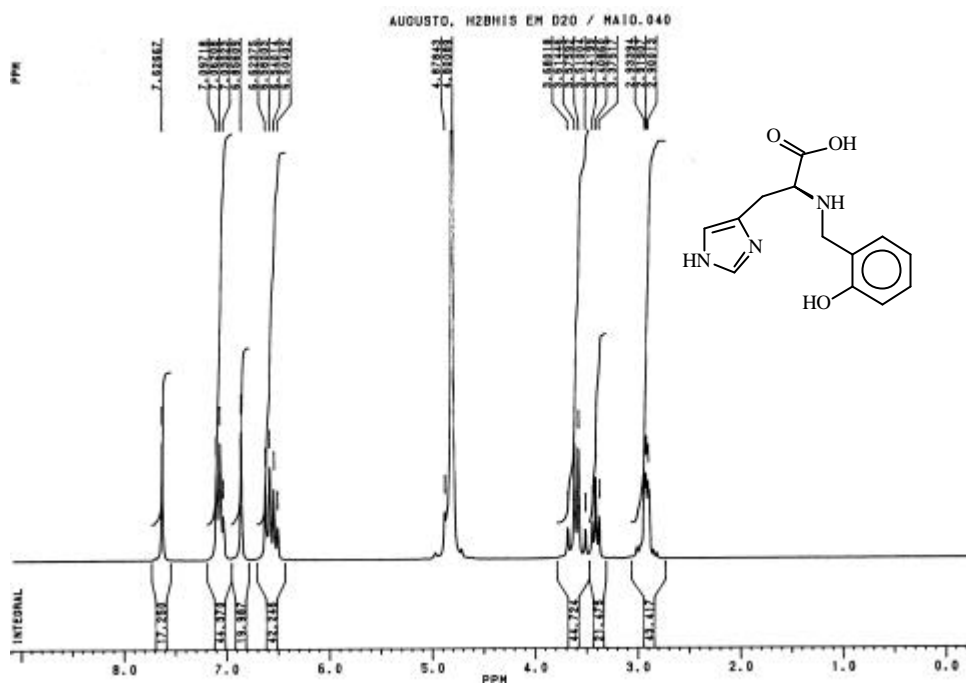
Posição da banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3114	$\nu$ (NH)
3014	$\nu$ (CH) aromático
2900 – 2970	$\nu$ (CH) alifático
1602	$\nu$ (COO <sup>-</sup> ) assimétrico
1406	$\nu$ (COO <sup>-</sup> ) simétrico
1379	$\delta$ (OH)

O espectro obtido para o  $H_2BHis$  está de acordo com o encontrado na literatura.<sup>30, 34</sup> Comparado ao  $H_2BHis$ , o IV da histidina (Figura 13) é bastante diferente, fornecendo mais uma evidencia de que a reação de formação do precursor ocorre. Além disso, a banda referente ao grupo carbonila está deslocada. No  $H_2BHis$  ela aparece em  $1602\text{ cm}^{-1}$  e na histidina em  $1634\text{ cm}^{-1}$ .<sup>30, 34</sup>



**Figura 13** – Espectro no IV do aminoácido histidina em pastilha de KBr.

#### 4.2.3.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de $^1\text{H}$ )



**Figura 14** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ligante  $\text{H}_2\text{BHis}$  em  $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ .

**Tabela 12** – Sinais do espectro RMN de  $^1\text{H}$  do ligante  $\text{H}_2\text{BHis}$  em  $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ .

Posição $\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Atribuição
7,63	Ar – OH (s,1H)
7,06	Ar – H (t, 2H)
6,86	Im – H (s, 2H)
6,56	Ar – H (q, 2H)
3,59	R – CH – N (q, 1H)
3,40	Ar – $\text{CH}_2$ – N (dd, 2H)
2,91	R – $\text{CH}_2$ – Im (t,2H)

Neste caso devido à insolubilidade do  $\text{H}_2\text{BHis}$  em solventes polares e apolares, utilizou-se um artifício bastante simples. Por se tratar de um composto



que possui na sua estrutura um fenol e um ácido carboxílico, adicionou-se antes da análise em D<sub>2</sub>O uma pastilha de NaOH, convertendo o composto no seu respectivo sal, possibilitando assim a análise por RMN de <sup>1</sup>H. Apenas os sinais do fenol e do ácido carboxílico não aparecem no espectro, mas não impedem a caracterização do produto.<sup>34</sup>

#### 4.2.3.3 – Análise elementar (CHN)

O precursor apresenta análise elementar de CHN (Tabela 13) concordante com a fórmula C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

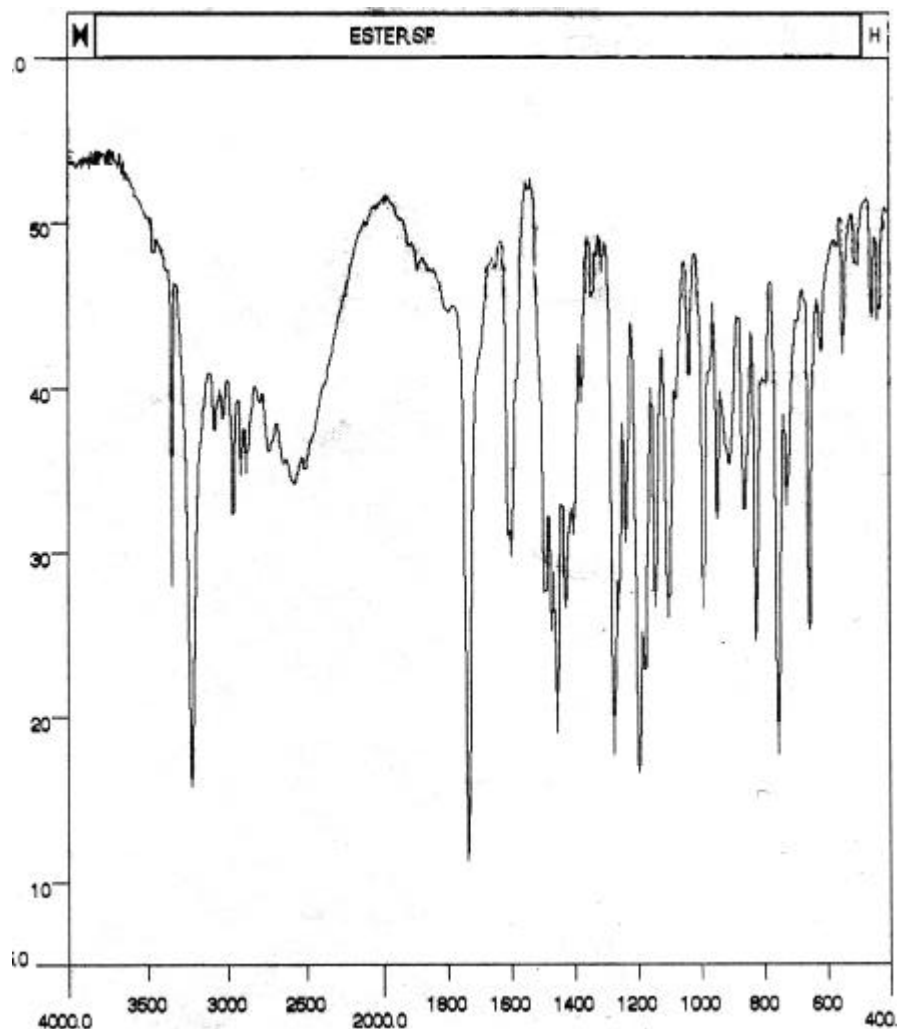
**Tabela 13** – Caracterização do ligante H<sub>2</sub>BHis através de análise elementar.

	%C	%H	%N
Teórico	59,80	5,70	16,10
Experimental	59,30	5,41	15,70

Os dados obtidos nas análises de IV, RMN de <sup>1</sup>H e CHN são suficientes para caracterização do precursor H<sub>2</sub>BHis.<sup>34</sup>

## 4.2.4 – Caracterização do ligante HBHisOMe

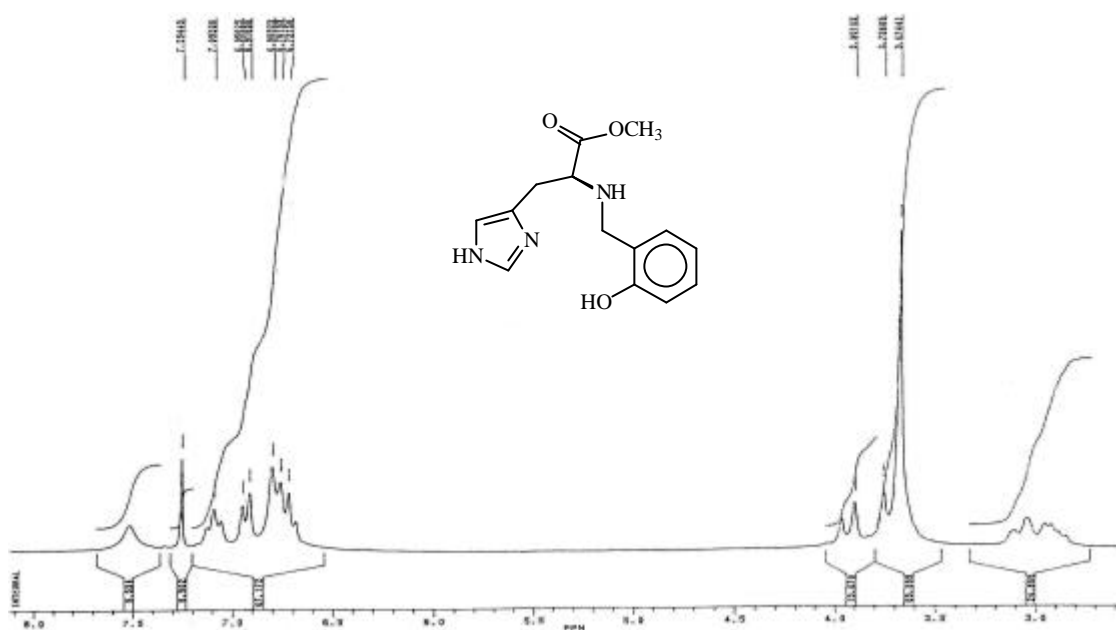
### 4.2.4.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV)



**Figura 20** – Espectro no IV do ligante HBHisOMe em pastilha de KBr.

Em comparação ao espectro de infravermelho do  $\text{H}_2\text{BHis}$ , a esterificação é caracterizada pelo surgimento de uma banda muito intensa em  $1734\text{cm}^{-1}$ , atribuída ao estiramento  $\text{C}=\text{O}$  da carbonila do éster e pelo desaparecimento das bandas referentes aos estiramentos simétricos e assimétricos do grupamento  $\text{COO}^-$ . Ocorre também uma melhor definição das bandas entre  $2500$  e  $3500\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.2.4.2.1 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

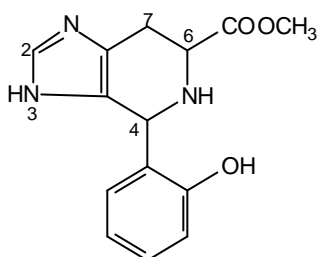


**Figura 16** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ligante HBHisOMe em  $\text{CDCl}_3$ .

**Tabela 14** – Sinais do espectro RMN de  $^1\text{H}$  do ligante HBHisOMe em  $\text{CDCl}_3$ .

Posição $\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Atribuição
7,52	Ar – OH (s, 1H)
7,25	Solvente ( $\text{CHCl}_3$ )
7,09 – 6,72	Ar – H (q,2H; t, 2H); Im – H (s, 2H)
3,90	R – CH – N (q, 1H)
3,76 – 3,67	Ar – $\text{CH}_2$ – N (dd, 2H); R – $\text{OCH}_3$ (s, 3H)
3,30 – 2,70	R – $\text{CH}_2$ – Im (s, 2H)

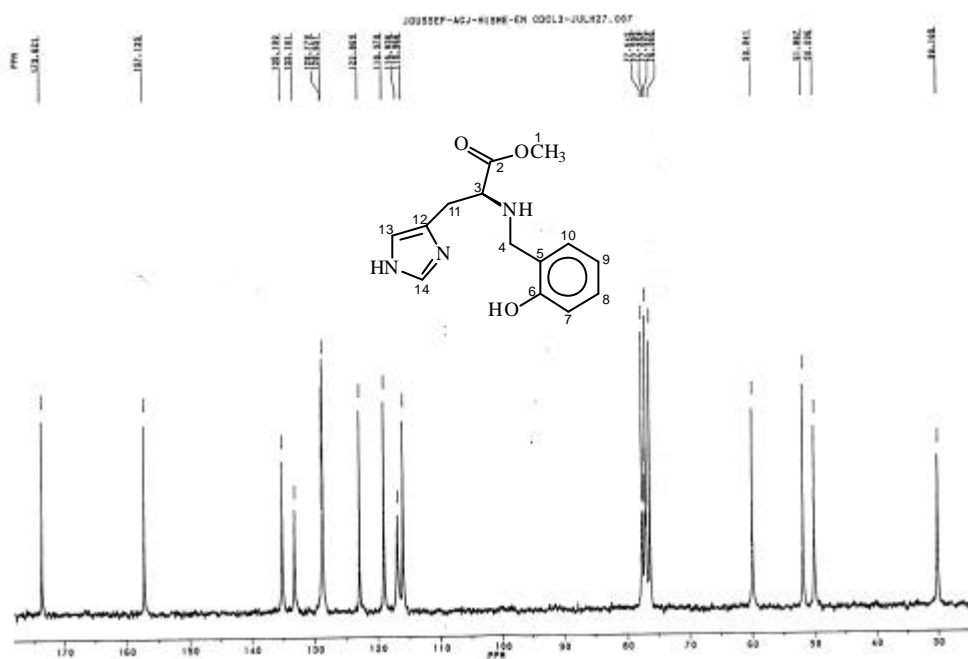
O espectro obtido para o HBHisOMe está de acordo com o encontrado na literatura. O produto ciclizado, também já descrito, é descartado pela ausência de sinal na região próxima à 6 ppm no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , correspondente ao  $-\text{CH}-\text{Ph}$  (carbono 4) do composto mostrado na Figura 17.<sup>35</sup>



**Figura 17** – Derivado ciclizado da histidina, similar ao ligante HBHisOMe, descrito na literatura.<sup>35</sup>

Como informação adicional ainda podemos destacar o aparecimento de um sinal em 3,67 ppm correspondente aos prótons do metil-éster.

#### 4.2.4.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).



**Figura 18** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante HBHisOMe em  $\text{CDCl}_3$ .

**Tabela 15** – Sinais do espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante HBHisOMe em  $\text{CDCl}_3$ .

Posição $d_c$ (ppm)	Atribuição
173,62	$\text{C}_2$
157,14	$\text{C}_6$
135,10	$\text{C}_{14}$
133,10	$\text{C}_{12}$
128,71	$\text{C}_{8, 10}$
122,81	$\text{C}_9$
118,98	$\text{C}_{13}$
116,84	$\text{C}_5$
115,97	$\text{C}_7$
59,94	$\text{C}_3$
51,87	$\text{C}_1$
50,10	$\text{C}_4$
30,10	$\text{C}_{11}$

A análise de RMN de  $^{13}\text{C}$ , forneceu mais um indício de que a ciclização do produto não ocorre. Pois um sinal atribuído ao  $-\text{CH}-\text{Ph}$  ( $\text{C}_4$  da Figura 17) não aparece.

#### 4.2.4.3 – Análise elementar (CHN)

O ligante apresenta análise elementar de CHN (Tabela 16) concordante com a fórmula  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ . Os dados obtidos nas análises de CHN, IV e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  estão de acordo com os apresentados pela literatura.<sup>31</sup>

**Tabela 16** – Análise elementar do ligante HBHisOMe.

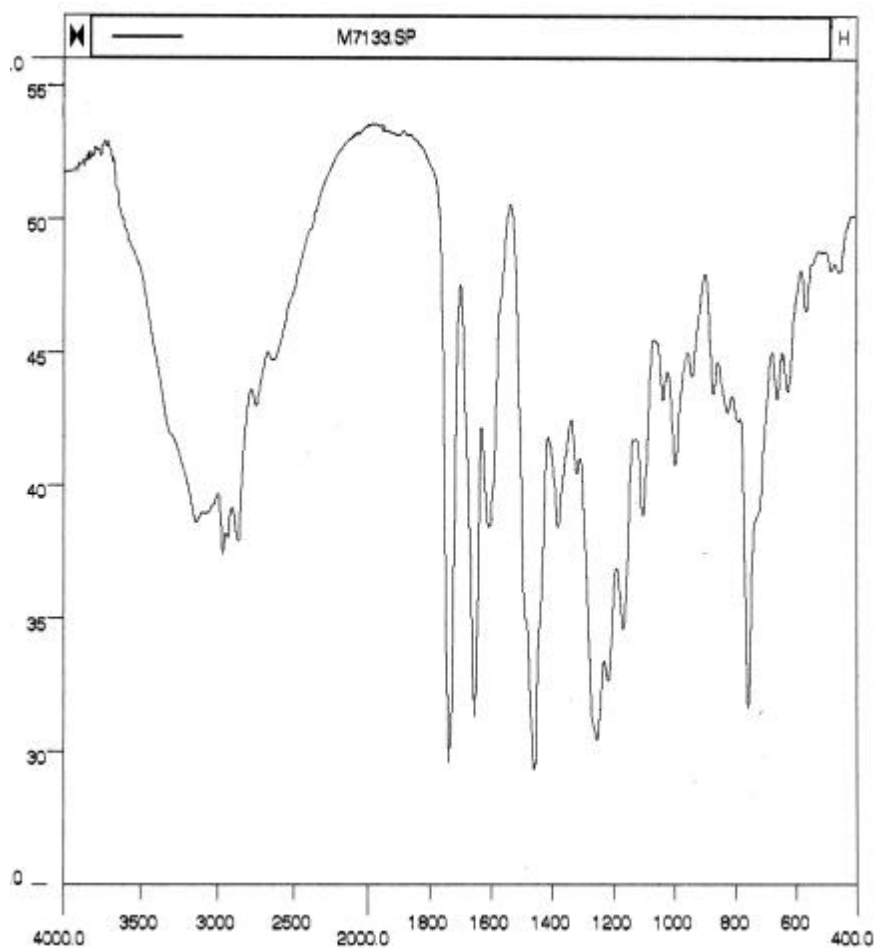
	%C	%H	%N
Teórico	61,08	6,22	15,26
Experimental	60,75	6,15	14,95

### 4.3 – Caracterização dos novos ligantes

#### 4.3.1 – Caracterização do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF

##### 4.3.1.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV)

O ligante H<sub>2</sub>BHisMFF foi purificado em coluna de sílica para retirada de prováveis impurezas. As frações coletadas F2 e F3 (Figura 19) retiradas na mistura de eluentes [isopropanol/acetona (8:2)] são iguais.



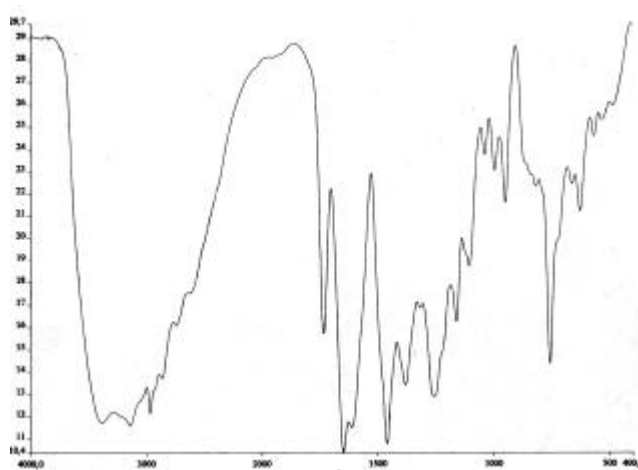
**Figura 19** – Espectro no IV do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF em pastilha de KBr.

**Tabela 17** – Principais bandas no IV do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF.

Posição da banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3124	v(NH)
2950	v(CH) Ar
2854	v(CH) Ar
1734	v(C=O) éster
1652	v(C=O) aldeído
1606	v(COO <sup>-</sup> ) assimétrico
1458	v(COO <sup>-</sup> ) simétrico
1380	δ(OH)
1166	δ(OCH <sub>3</sub> )
756	(Ar) o – substituído

O ligante é caracterizado pela banda em 1734 cm<sup>-1</sup> referente ao éster presente no HBHisOMe e pela banda em 1652 cm<sup>-1</sup>, referente ao aldeído do precursor CMFF que é mantido.

Outra fração separada e identificada por IV foi a F12 (metanol puro), uma mistura resultante da provável hidrólise do produto (de éster para ácido) como mostrado na Figura 20:

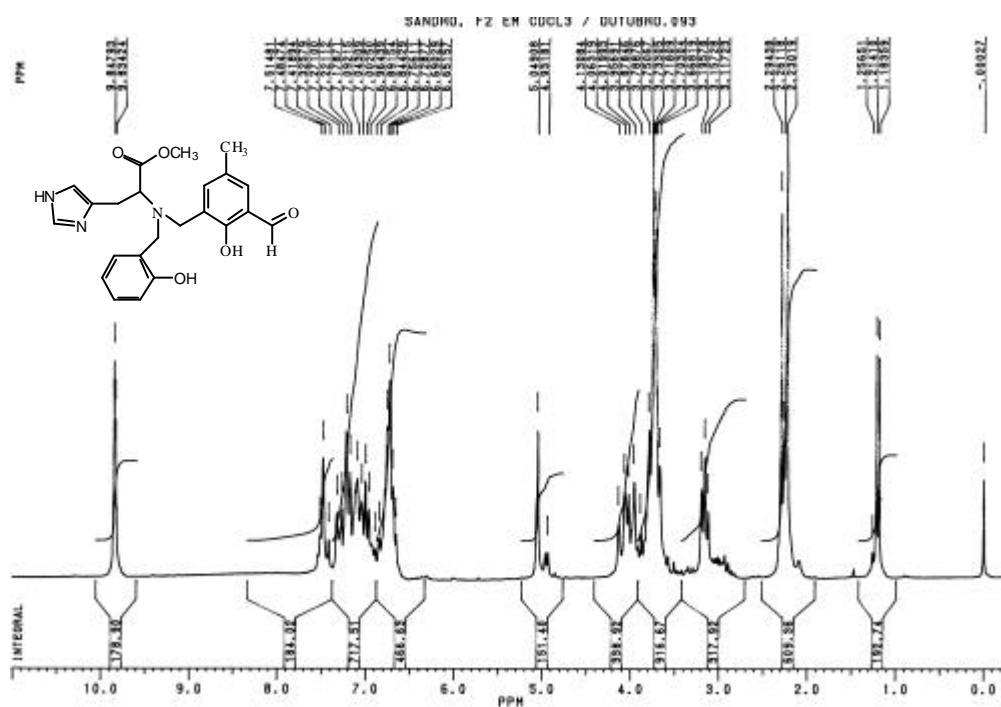


**Figura 20** – Espectro no IV do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF em pastilha de KBr (mistura ácido e éster).

O que caracteriza a hidrólise do éster no IV é o aparecimento de uma banda bastante intensa, sobrepondo-se a carbonila do aldeído em  $1612\text{ cm}^{-1}$ . A mistura é evidenciada pela permanência, mesmo que de menor intensidade da banda em  $1734\text{ cm}^{-1}$  da carbonila do éster.

#### 4.3.1.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de $^1\text{H}$ )

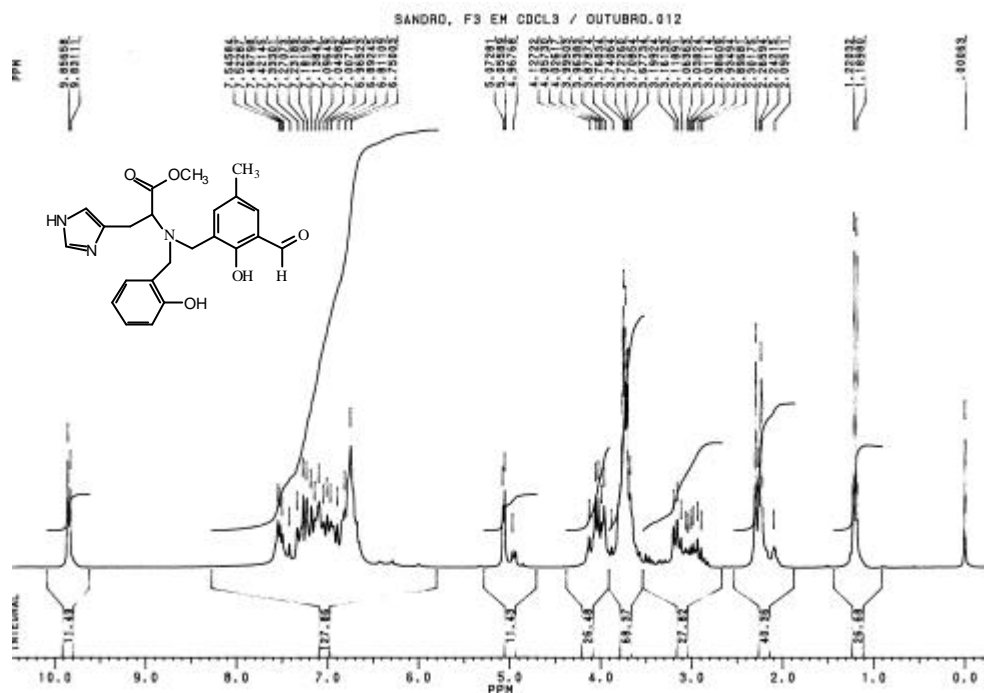
Foram analisadas duas frações por RMN de  $^1\text{H}$ , a F2 (Figura 21) e a F3:



**Figura 21** – Espectro de RMN do ligante  $\text{H}_2\text{BHisMFF}$  em  $\text{CDCl}_3$  (Fração F2).

Porém os resultados das análises posteriores e os experimentos no RMN foram realizados com a F3 (Figura 22):



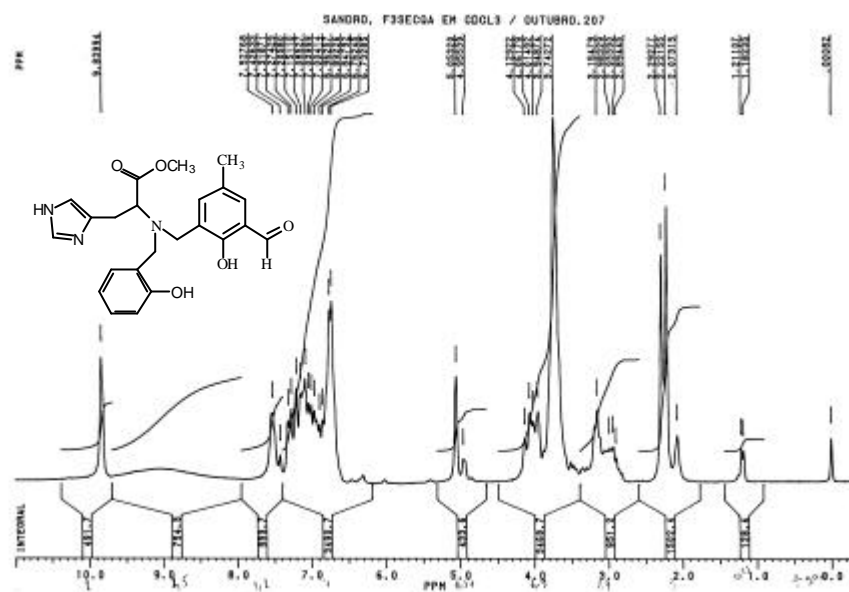


**Figura 22** – Espectro de RMN do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF em CDCl<sub>3</sub> (Fração F3).

**Tabela 18** – Sinais do espectro RMN de <sup>1</sup>H do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF em CDCl<sub>3</sub>.

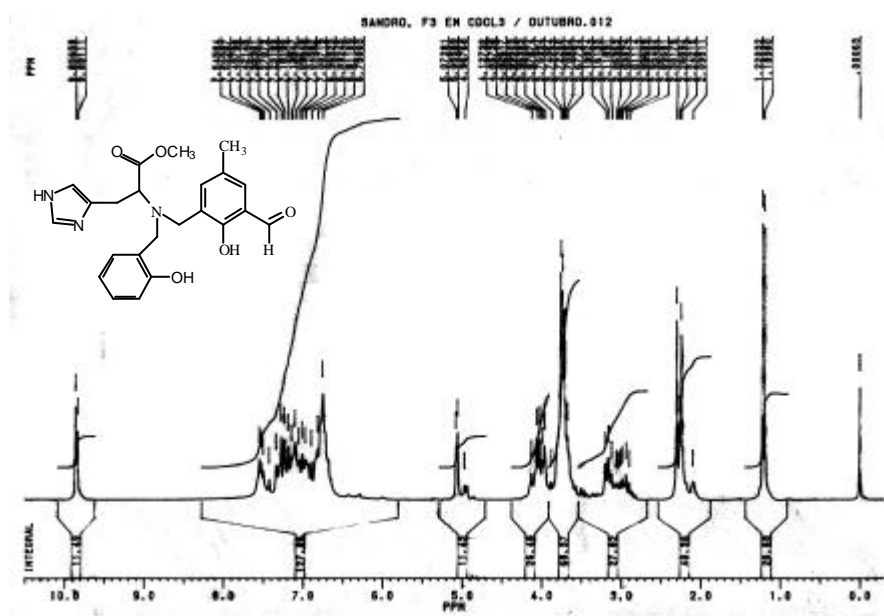
Posição δ <sub>H</sub> (ppm)	Atribuição
9,84	Ar – CHO (s, 1H)
7,51-6,65	Ar – H (m, 6H); Im – H (m, 2H); Ar – OH (m, 2H)
5,04	R – CH – N (t, 1H)
4,13	Ar – CH <sub>2</sub> – N (d, 4H)
3,66	R – COOCH <sub>3</sub> (s, 3H)
3,15	Ar – CH <sub>2</sub> – N (s, 2H)
2,26	; Ar – CH <sub>3</sub> (s, 3H)
1,21	R – (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (isopropanol)

Na tentativa de se obter um melhor resultado na análise de <sup>1</sup>H uma alíquota foi seca na estufa (65°C) por 48h. Para nossa surpresa, observou-se o surgimento de um sinal em aproximadamente 9 ppm e diminuição do sinal em 1,21 ppm referente ao Isopropanol (Figura 23).



**Figura 23** – Espectro de RMN do ligante  $H_2BHisMFF$  em  $CDCl_3$  da alíquota seca na estufa por 48h.

Em seguida foi adicionado no tubo contendo a amostra uma gota de  $D_2O$  e repetido a análise (Figura 24).



**Figura 24** – Espectro de RMN do ligante  $H_2BHisMFF$  em  $CDCl_3$ . (desaparecimento do sinal dos prótons fenólicos).

O sinal que aparecia em aproximadamente 9 ppm na análise anterior some novamente. Propõem-se que isso ocorre devido à possibilidade de ligações de hidrogênio de moléculas de água e/ou isopropanol com os fenóis do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF.

#### 4.3.1.3 – Análise elementar (CHN)

O ligante apresenta análise elementar de CHN (Tabela 19) concordante com a fórmula C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

**Tabela 19** – Caracterização do ligante H<sub>2</sub>BHisMFF através de análise elementar.

	%C	%H	%N
Teórico	65,24	5,92	9,93
Experimental	65,09	6,06	10,00

O resultado é razoável para caracterização do produto.

**OBS:** Uma alíquota do ligante foi seca na estufa (65°C) por 12h antes da análise elementar, tendo como objetivo eliminar possíveis resíduos de solvente.

### 4.3.2 – Caracterização do ligante H<sub>3</sub>BBHisMF

#### 4.3.2.1 – Espectroscopia no Infravermelho (IV)

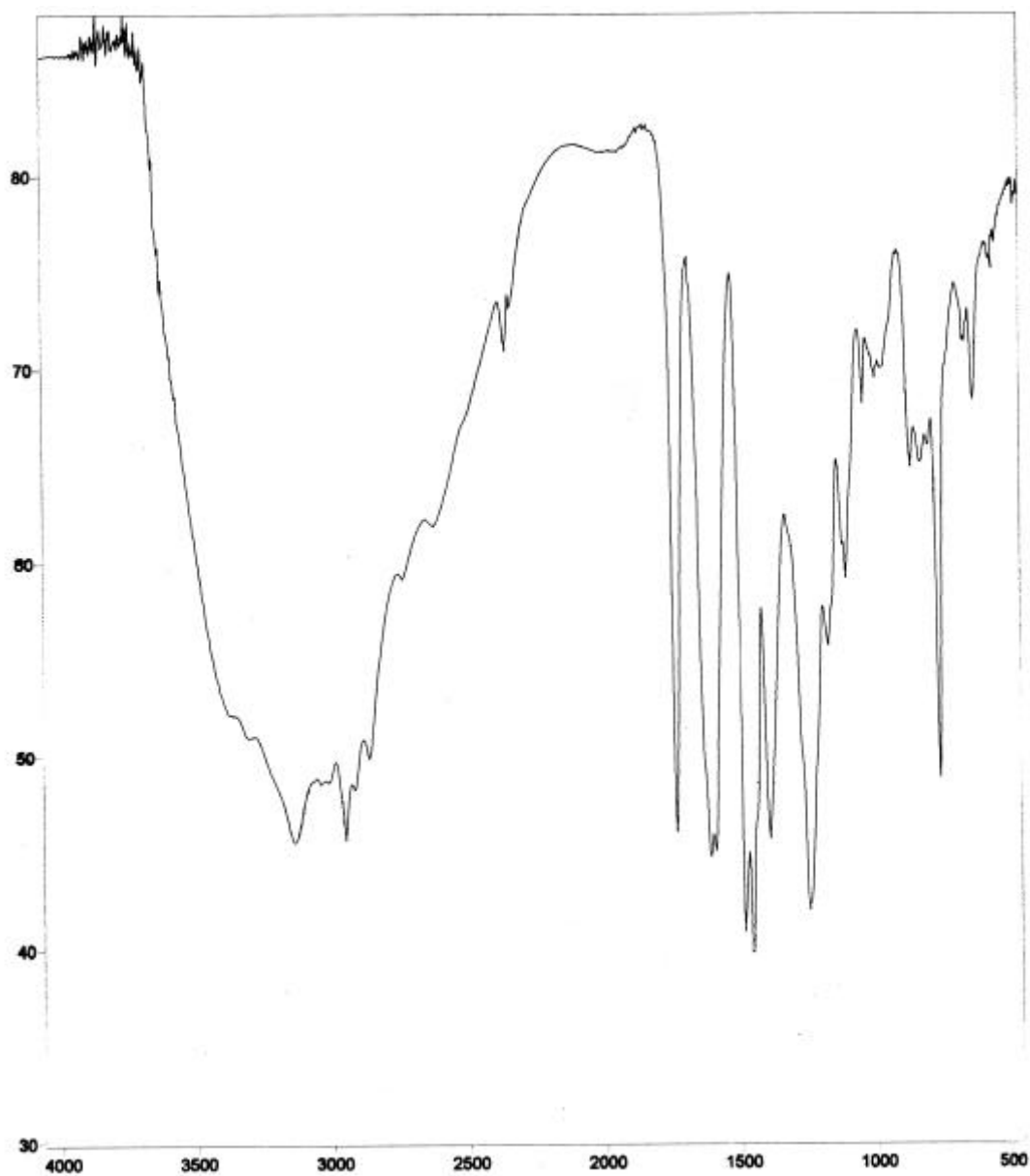


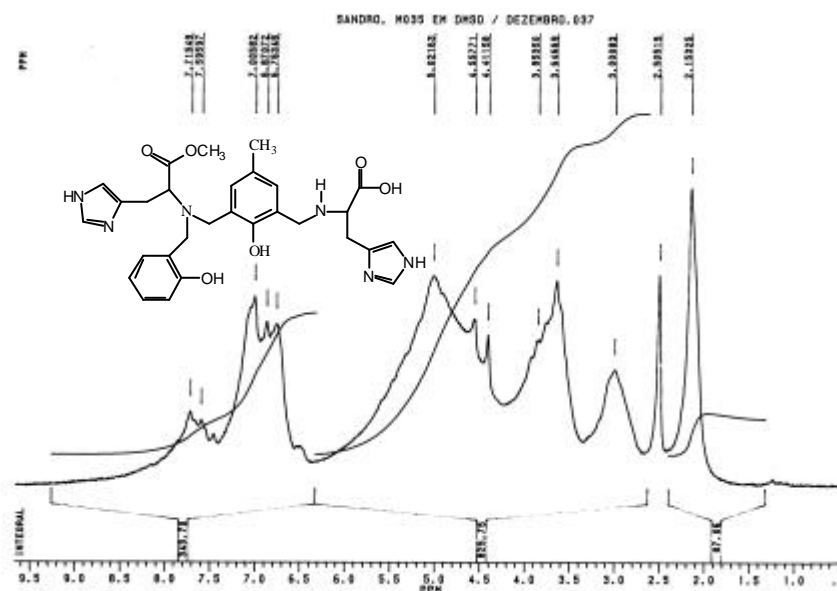
Figura 25 – Espectro no IV do ligante H<sub>3</sub>BBHisMF em pastilha de KBr.

**Tabela 20** – Principais bandas no IV do ligante H<sub>3</sub>BHisMFF.

Posição da banda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3140	v(NH)
2952	v(CH) aromático
1735	v(C=O)
1610-1592	v(COO <sup>-</sup> ) assimétrico
1457	v(COO <sup>-</sup> ) simétrico
1393	δ(OH)
1248	v(COOH) acoplamento C – O
757	(Ar) o- substituído

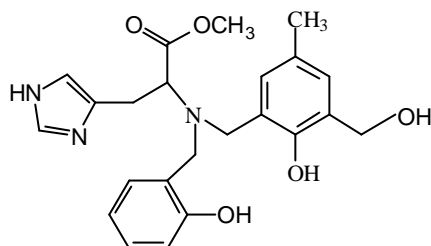
O desaparecimento da banda do aldeído presente no precursor não pode ser visualizado devido a absorção do ácido inserido ocorrer na mesma região do espectro.

#### 4.3.2.2 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)



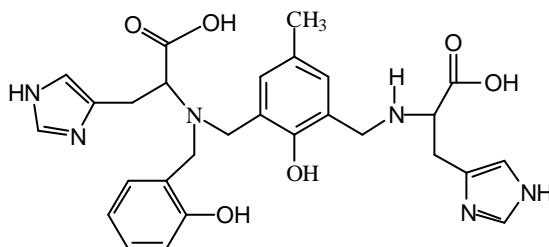
**Figura 26** – Espectro de RMN do H<sub>3</sub>BBHisMF em DMSO-d<sub>6</sub>.

Neste caso não podemos retirar qualquer informação sobre a formação do produto, pois a análise de RMN de  $^1\text{H}$  não é conclusiva. Apesar do sinal em 9,84 ppm desaparecer, não podemos desconsiderar a possibilidade de uma parcela do aldeído ser reduzido a álcool (Figura 27).



**Figura 27** – Possível formação do álcool na reação do ligante H<sub>3</sub>BBHisMF.

Outra possibilidade que também não pode ser descartada é a possibilidade de hidrólise do H<sub>3</sub>BBHisMF (Figura 28), comportamento já observado para o H<sub>2</sub>BBHisMFF (Figura 20) que neste caso é um dos reagentes de partida.



**Figura 28** – Produto da hidrólise do éster do ligante H<sub>3</sub>BBHisMF.

Em resumo é necessário que a rota de síntese do H<sub>3</sub>BBHisMF seja modificada ou o processo de purificação seja melhorado. Com os dados que temos não podemos afirmar até o momento a caracterização do produto.

## 5 – CONCLUSÕES

Os precursores e o novo ligante H<sub>2</sub>BHisMFF foram sintetizados e caracterizados por CHN, IV, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, com sucesso e bons rendimentos.

A ciclização do produto de aminação reductiva com o aminoácido histidina não ocorre, podendo esta rota de síntese ser muito útil na preparação de derivados de aminoácidos.

O ligante H<sub>3</sub>BBHisMF ainda está sendo estudado com o objetivo de melhorar a sua rota sintética.

Como perspectivas futuras, os ligantes poderão ser utilizados na formação de complexos mononucleares ou binucleares, modelo estruturais e/ou funcionais de metaloenzimas.

Algumas propostas de complexos são apresentadas no Anexo I.

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1– BRODERICK, J.B.; COUCOUVANIS, D. **Bioinorganic Chemistry Editorial Overview, Current Opinion in Chemical Biology.** 7, 2003. p. 157–159.
- 2– KAIM, W.; SCHWEEDERSKI, B. **Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in The Chemistry of Life – An Introduction and Guide.** New York: John Wiley & Sons, 1994. p. 1-5.
- 3 – NEVES, A. **Química Bioinorgânica, Laboratório de Ensino a Distancia.** UFSC. Florianópolis. 2001. p. 9-11, 13-15.
- 4 – LIPPARD, S. J.; BERG, J. M. **Principles of Bioinorganic Chemistry.** University Science Books. Mill Valley, California, USA. 1994. p. 1-2.
- 5 – TRAUTWEIN, A. X. **Bioinorganic Chemistry: Transition metals in Biology and their Coordination Chemistry.** Deutsche Forschungsgemeinschaft, Wiley-WCH, Weinheim, Germany, 1997. p. 3-4, 187-188, 429-430.
- 6 – 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.
- 7 – SCARPELLINI M. **Síntese, Caracterização e Reatividade de Novos Complexos de Ferro e Cobre com ligantes Imidazólicos de Relevância Bioinorgânica.** Florianópolis, SC. Originalmente apresentado como Tese de Doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC. 2001. p. 22-25.
- 8 – ROMANOWSKI, S. M. M.; MANGRICH, A. S.; NEVES, A. **Síntese e Caracterização de novos compostos de coordenação de Cobre (II) com ligantes não-simétricos N,O-doadores: Contribuições para o Sítio Ativo da Galactose Oxidase.** Química Nova, v. 24, n. 5, 2001. p. 592-598.
- 9 – STRYER L. **Bioquímica.** Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 4. ed., 1996. p. 171-194.
- 10 – NELSON, D. L.; COX, M. M. L. **Principles of Biochemistry.** New York: Worth publishers, 3. ed., 2000. p. 243-272.



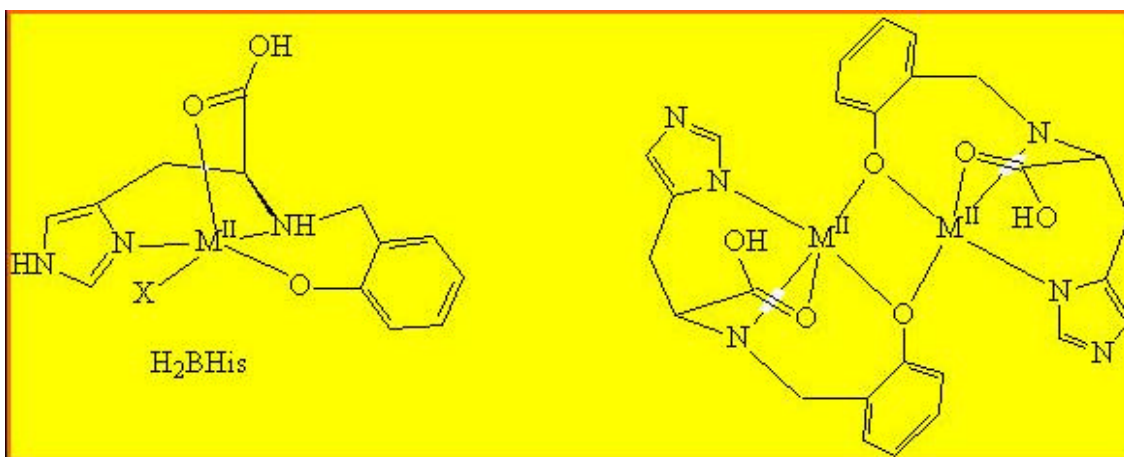
- 11 – HOLM, R. H.; KENNEPOHL, P.; SOLOMON, E. I. **Structural and functional aspects of metal sites in biology**. Chemical Reviews, v. 96, 1996. p. 2239-2314.
- 12 – VOET, D.; VOET, J. G. **Biochemistry**. Somerset: John Wiley & Sons, Inc. 1995. p. 332-344.
- 13 – PATRICK, G. L. **An Introduction Medicinal Chemistry**. Orford University Press. 2001. p. 20-36.
- 14 – HUGES, M. N. **The Inorganic Chemistry of Biological Processes**. Second Edition, John Wiley & Sons, New York, USA, 1985. p. 1-2.
- 15 – SOLE, R. V. **Current Research: Evolution of complex networks and Astrobiology**. Disponível em: <<http://complex.upf.es/~ricard/histidine.gif>>. Acesso em: 30 jan. 2004, 09:05:45.
- 16 – CASELLA, L.; GULLOTT, M. **Coordination Modes of Histidine. Circular Dichroism Study of Copper(II) Complexes of the Schiff Bases Derived from (1R)-3-(Hydroxymethylene)canphor and Histidine Derivatives**. Inorganic Chemistry. v. 20, 1981. p. 1306.
- 17 – SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C.B. **Química Orgânica**. 7. ed., v. 2, LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 2002. p. 401-401.
- 18 – LONG, W. F. **Powerful Software for Designing New Molecules and Therapeutic Drugs**. Disponível em: <[www.atp.nist.gov/eao/sp950-1/molecular.htm](http://www.atp.nist.gov/eao/sp950-1/molecular.htm)>. Acesso em: 22 jan. 2004, 17:06:39.
- 19 – ELUMENS. **Scientific Applications**. Disponível em: <<http://www.elumens.com/markets/heme.jpg>>. Acesso em: 19 jan. 2004, 10:17:46.
- 20 – LEUNG, S. H. **The Porphyrin Page**. Disponível em: <<http://www.washburn.edu/cas/chemistry/sleung/porphyrin/vitamin.gif>>. Acesso em: 19 jan. 2004, 10:11:57.
- 21 – WALL, L. **3rd State of the Perl Onion**. Disponível em: <<http://www.wall.org/~larry/onion3/talk.html>>. Acesso em: 21 jan. 2004, 09:47:35.

- 22 – SUNDBERG, J. R.; MARTIN, B. R. **Interactions of Histidine and other Imidazoles Derivatives With Transition Metal Ions in Chemical and Biological Systems**. Chemical Reviews, v. 74, n. 4, 1974. p.471-471.
- 23 – ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; JONGH, D. C.; JOHNSON, C. R.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. **Química Orgânica**. 2. ed., Editora Guanabara Dois S. A., Rio de Janeiro, 1979. p. 707-707.
- 24 – PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE. **Un apoyo a la investigación científica**. Disponível em: <[www.bio.puc.cl/historia/bn200101/hemoglobina+nucleo%20de%20Fe%20y%20O2.jpg](http://www.bio.puc.cl/historia/bn200101/hemoglobina+nucleo%20de%20Fe%20y%20O2.jpg)>. Acesso em: 19 jan. 2004. 09:57:47.
- 25 – STRIEGLER, S. **Alburn University**. Disponível em: <<http://www.uni-ulm.de/anorgchem2/Susanne/Hemoglobin.jpg>>. Acesso em: 19 jan. 2004. 10:01:13.
- 26 – UNIVERSITY OF OXFORD. **Heme**. Disponível em: <[www.chem.ox.ac.uk/.../Chapters/chapter7/heme.html](http://www.chem.ox.ac.uk/.../Chapters/chapter7/heme.html)>. Acesso em: 30 jan. 2004, 08:23:56.
- 27 – YANG, S.; TONG, Y.; ZHU, H.; CAO, H.; CHEN, X.; JI, L. **Three transition metal complexes formed with tripodal polyimidazole ligands: synthesis, crystal structures and reactivity toward superoxide**. Polyhedron. v. 20, 2001. p.223-223.
- 28 – JONES, J. H. **The Chemical Synthesis of Peptides (International Series of monographs on chemistry)**. New York: Oxford University Press, n. 23, 1991. p. 89-89.
- 29 – CASELLA, L.; GULLOTTI, M. **Coordination Modes of Histidine. Stereochemistry of the Reaction Between Histidine Derivatives and Pyridoxal Analogues. Conformational Properties of Zinc(II) Complexes of Histidine Schiff Bases**. Journal of American Chemistry Education. V.103, p. 6338, 1981.
- 30 – SOUZA, R. J. **Síntese de um Novo Complexo Modelo de Cobre para o Sítio Ativo da Galactose Oxidase**. Relatório de Estágio de Conclusão de Curso, Departamento de Química, UFSC, Florianópolis, 2002. p. 4-7, 12-13.

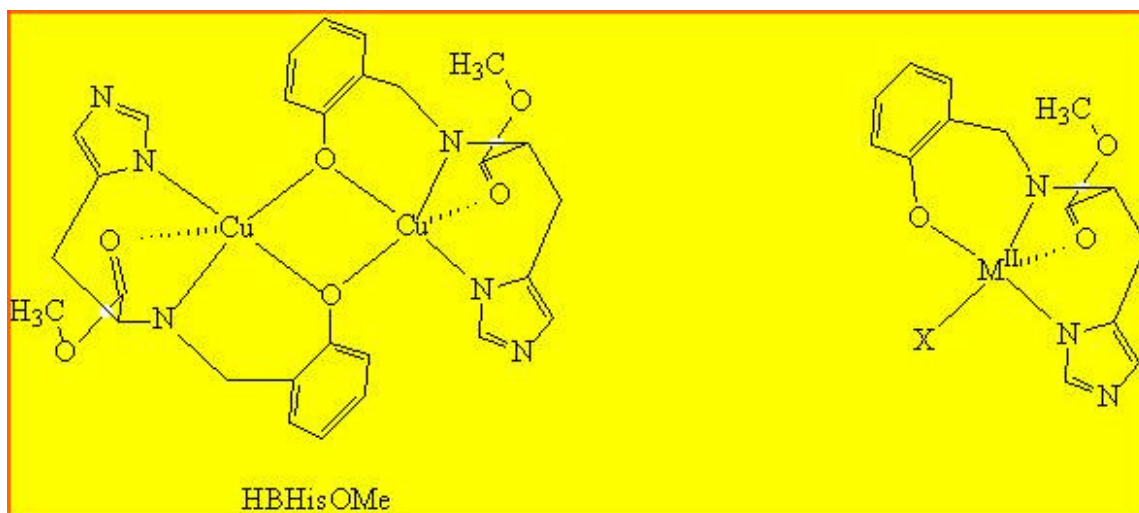
- 31 – THOER, A.; DENIS, G.; DELMAS, M.; GASET, A. **The Reimer-Tiemann reaction in slightly Hydrated solid-liquid medium: A new method for the synthesis of formyl and diformyl phenols.** Synthetic Communications, 18(16&17), 1988. p. 2095-2101.
- 32 – LANZMASTER, M. **Desenvolvimento de Novos Modelos Estruturais e Funcionais para as Fosfatases Ácidas Púrpuras.** Florianópolis, SC. Originalmente apresentado como Tese de Doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC. 2003. p. 50-51.
- 33 – U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Bis(chloromethyl)ether (BCME).** Disponível em: <<http://www.epa.gov/iris/subst/0375.htm>>. Acesso em: 15 jan. 2004, 09:17:56.
- 34 – U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Bis(chloromethyl)ether (BCME).** Disponível em: <<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/chlorome.html>>. Acesso em: 15 jan. 2004, 09:23:09.
- 35 – FIUZA, L. J. **Síntese e Caracterização de Compostos de Cobre, Potencialmente Modelos para o sitio ativo de Metaloenzimas.** Relatório de Estagio de Conclusão de Curso, Departamento de Química, UFSC, Florianópolis, 2001. p. 05-07.

## ANEXO I

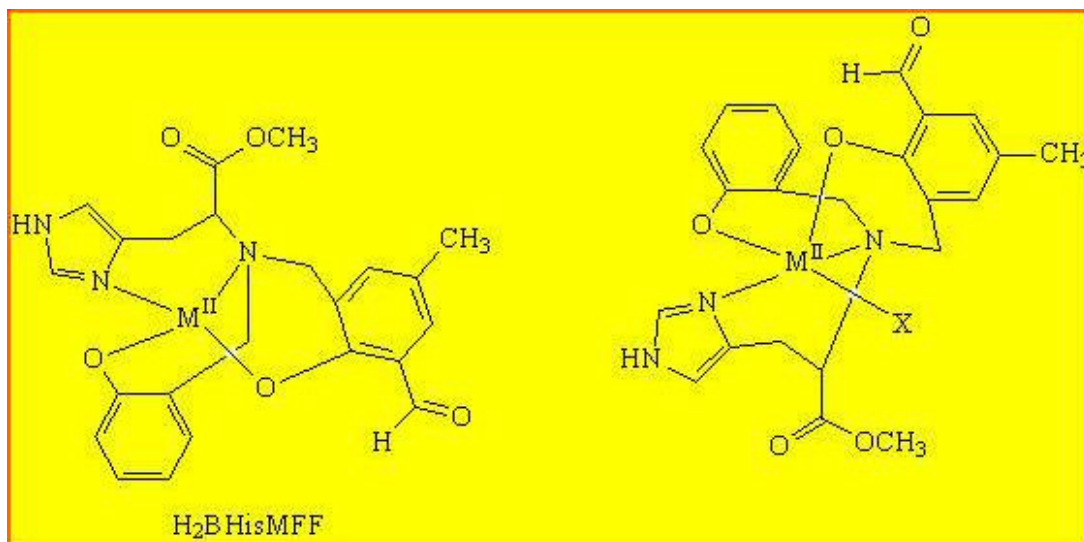
Propostas de complexos para o  $H_2BHis$



Propostas de complexos para o  $H_2BHisOMe$



Propostas de complexos para o H<sub>2</sub>BHisMFF



Proposta de complexo para o H<sub>3</sub>BBHisMF

