



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

**GIOVANNI LISBÔA PINHEIRO**

**MODELO BIOMIMÉTICO DE ENZIMA DE COBRE(II): SÍNTESE DE COMPLEXOS  
BINUCLEARES DE COBRE E ESTUDO DE ATIVIDADE BIOMIMÉTICA**

Florianópolis  
Novembro de 2017

GIOVANNI LISBÔA PINHEIRO

**MODELO BIOMIMÉTICO DE ENZIMA DE COBRE(II): Síntese de complexos  
binucleares de cobre e estudo de atividade biomimética**

Relatório apresentado ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial da disciplina de Estágio II (QMC 5512).

**Orientadora:** Rosely Aparecida Peralta

**Co-orientadora:** Cláudia Cristine Vidal Chaves

Florianópolis  
Novembro/2017

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, em especial suas mulheres, por tudo que é indizível.

À Marina, pelo segredo que mantém as estrelas separadas.

À Cláudia Chaves, nada seria possível sem você.

À Prof<sup>a</sup> Rosely, pela orientação e pela ética de trabalho.

Ao CNPq, pelo financiamento que permitiu a realização desta pesquisa.

## RESUMO

O presente trabalho trata de uma pesquisa indutiva-experimental que busca a síntese de um modelo biomimético para a enzima catecol oxidase. Vale dizer, um composto de baixa massa molar que mimetize suas características estruturais e espectroscópicas. Para isso, foram sintetizados dois novos ligantes e dois complexos binucleares de cobre(II), inéditos na literatura. Em seguida, estes últimos compostos foram caracterizados por meio de testes de espectroscopia na região do infravermelho e do ultravioleta e visível, de espectrometria de massas, de eletroquímica e de condutividade molar. Por fim, os complexos foram testados como catalisadores da reação de oxidação do 3,5-di-tercbutilcatecol, os quais demonstraram tratar-se de modelos funcionais para a catecol oxidase, já que ambos mostraram-se ativos frente ao substrato.

**Palavras-chave:** Química Bionorgânica; Modelos biomiméticos; Cobre; Metaloenzimas.

## ABSTRACT

This work aims to synthesize a biomimetic model for the *catechol oxidase* enzyme, which refers to a compound with low molecular weight that mimics its structural and spectroscopic characteristics. Therefore, two ligands and two new binuclear complexes of copper (II) were synthesized. Thereafter, these compounds were characterized by tests of infrared spectroscopy, of UV-Vis spectroscopy, of mass spectrometry, of nuclear magnetic resonance, of electrochemistry and of molar conductivity. At last, the complexes were submitted to kinetic tests of oxidation, which showed they could be considered functional models for the *catechol oxidase* enzyme, since both of them were active towards of the 3,5-di-*tert*-butylcatechol substrate.

Key-words: Biochemistry; Biometric Model; Copper; Catechol Oxidase; Metaloenzymes.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Uma descrição esquemática da primeira (azul) e segunda esfera (amarela) de coordenação para uma espécie octaédrica ML <sub>6</sub> .....	23
<b>Figura 2</b> - Espectro de <sup>1</sup> H-NMR do precursor cmff .....	28
<b>Figura 3</b> - Espectro de Infravermelho (módulo ATR) do precursor BPA. ....	29
<b>Figura 4</b> - Espectro de <sup>1</sup> H-NMR do precursor BPA.....	30
<b>Figura 5</b> - Espectro de IR (módulo ATR) do precursor BPAMFF .....	31
<b>Figura 6</b> - Espectro de <sup>1</sup> H-NMR do precursor BPAMFF .....	32
<b>Figura 7</b> - Espectro de IR (módulo ATR) do precursor BPAPyFF.....	33
<b>Figura 8</b> - Espectro de <sup>1</sup> H-NMR do precursor BPAPyFF .....	34
<b>Figura 9</b> - Espectro de IR (módulo ATR) do ligante H <sub>2</sub> BPPAMFF .....	35
<b>Figura 10</b> - Espectro de <sup>1</sup> H-NMR do ligante H <sub>2</sub> BPPAMFF.....	36
<b>Figura 11</b> - Espectro de IR (módulo ATR) do ligante H <sub>2</sub> BPPAMFFEt.....	37
<b>Figura 12</b> - Espectro de <sup>1</sup> H-NMR do ligante H <sub>2</sub> BPPAMFFEt .....	38
<b>Figura 13</b> - Espectro de IR (módulo ATR) do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) .....	39
<b>Figura 14</b> - Espectro de IR (módulo ATR) do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt).....	41
<b>Figura 15</b> - Espectro de massas experimental para o ligante H <sub>2</sub> BPPAMFF em CH <sub>3</sub> CN.....	51
<b>Figura 16</b> - Simulação da distribuição isotópica do ligante [H <sub>2</sub> BPPAMFF+ H <sup>+</sup> ] sobreposta ao espectro experimental massa/carga 587,30 .....	51
<b>Figura 17</b> - Espectro de massas experimental para o ligante H <sub>2</sub> BPPAMFFEt em CH <sub>3</sub> CN.....	52
<b>Figura 18</b> - Simulação da distribuição isotópica do ligante [H <sub>2</sub> BPPAMFFEt + H <sup>+</sup> ] sobreposta ao espectro experimental massa/carga 631,45 .....	52
<b>Figura 19</b> - Espectro de infravermelho do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) sobreposto ao do seu respectivo ligante H <sub>2</sub> BPPAMFF.....	56
<b>Figura 20</b> - Espectro de infravermelho do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) sobreposto ao do seu respectivo ligante H <sub>2</sub> BPPAMFFEt.....	56
<b>Figura 21</b> - Espectro eletrônico do ligante H <sub>2</sub> BPPAMFF .....	59
<b>Figura 22</b> - Espectro eletrônico do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) .....	60

<b>Figura 23</b> - Adição de Et <sub>3</sub> N ao Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF).....	60
<b>Figura 24</b> - Espectro eletrônico do ligante H <sub>2</sub> BPPAMFFEt.....	61
<b>Figura 25</b> - Espectro eletrônico do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt).....	62
<b>Figura 26</b> - Adição de Et <sub>3</sub> N ao Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt).....	62
<b>Figura 27</b> - Espectro de massas experimental para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) em CH <sub>3</sub> CN.....	65
<b>Figura 28</b> - Simulação da distribuição isotópica do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) sobreposta ao espectro experimental massa/carga 769,15.....	65
<b>Figura 29</b> - Espectro de massas experimental para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) em CH <sub>3</sub> CN.....	66
<b>Figura 30</b> - Simulação da distribuição isotópica do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) sobreposta ao espectro experimental massa/carga 913,15.....	66
<b>Figura 31</b> - Voltamograma cíclico para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) em MeOH. Eletrodo de trabalho: Carbono Vítreo; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito de suporte: NaClO <sub>4</sub> 0,1 mol.L <sup>-1</sup> .....	68
<b>Figura 32</b> - Voltamograma de onda quadrada para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) em MeOH (pulso – 25 mV, frequência – 30 Hz).....	69
<b>Figura 33</b> - Voltamograma cíclico para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) em MeOH. Eletrodo de trabalho: Carbono Vítreo; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito de suporte: NaClO <sub>4</sub> 0,1 mol.L <sup>-1</sup> .....	70
<b>Figura 34</b> - Voltamograma de onda quadrada para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) em MeOH (pulso – 25 mV, frequência – 30 Hz).....	70
<b>Figura 35</b> - Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-DTBC com o pH para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF). Condições: [C] = 6,0 x 10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> ; [3,5-DTBC] = 5,40 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> ; [Tampões] = 3,34 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> (MES pH 4,0 a 6,5 e TRIS pH 7,0 a 9,0) solução MeOH a 25°C.....	72
<b>Figura 36</b> - Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-DTBC com o pH para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt). Condições: [C] = 6,0 x 10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> ; [3,5-DTBC] = 5,40 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> ; [Tampões] = 3,34 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> (MES pH 4,0 a 6,5 e TRIS pH 7,0 a 9,0) solução MeOH a 25°C.....	72
<b>Figura 37</b> - Dependência da velocidade de reação do 3,5-DTBC com a concentração de substrato para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF). Condições: [C] = 6,0 x 10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> ; [3,5-DTBC] = 5,40 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> ; [Tampão] = 3,34 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> (TRIS, pH 8,5); solução MeOH a 25°C.....	74
<b>Figura 38</b> - Dependência da velocidade de reação do 3,5-DTBC com a concentração de substrato para o complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt). Condições: [C] = 6,0	

$\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ; [3,5-DTBC] =  $5,40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ; [Tampão] =  $3,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  (TRIS, pH 8,5); solução MeOH a 25°C ..... 74

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1</b> - Reação de oxidação catalisada pela catecol oxidase .....	20
<b>Esquema 2</b> - Mecanismo Proposto por Eicken e Colaboradores, Adaptador por Koval e Colaboradores.....	21
<b>Esquema 3</b> - Síntese do ligante H <sub>2</sub> BPPAMFF .....	26
<b>Esquema 4</b> - Rota sintética do precursor cmff.....	27
<b>Esquema 5</b> - Rota sintética do BPA .....	28
<b>Esquema 6</b> - Rota sintética do BPAMFF .....	30
<b>Esquema 7</b> - Rota sintética do BPAPyFF .....	32
<b>Esquema 8</b> - Rota sintética do H <sub>2</sub> BPPAMFF .....	34
<b>Esquema 9</b> - Rota sintética do H <sub>2</sub> BPPAMFFEt .....	36
<b>Esquema 10</b> - Rota sintética do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) .....	39
<b>Esquema 11</b> - Rota sintética do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt).....	40
<b>Esquema 12</b> - Representação dos ligantes sintetizados neste trabalho: (a) H <sub>2</sub> BPPAMFF; (b) H <sub>2</sub> BPPAMFFEt.....	46
<b>Esquema 13</b> - Representação dos complexos sintetizados neste trabalho: (a)Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF); (b) Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt).....	53



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Características e classificação inicial dos centros de cobre clássicos em proteínas de cobre .....	18
<b>Tabela 2</b> - Principais bandas e atribuições <sup>26</sup> dos espectros no infravermelho para os compostos H <sub>2</sub> BPPAMFF e H <sub>2</sub> BPPAMFFEt.....	47
<b>Tabela 3</b> - Deslocamentos químicos, em ppm, observados nos espectros de <sup>1</sup> H NMR para os compostos H <sub>2</sub> BPPAMFF e H <sub>2</sub> BPPAMFFEt.....	49
<b>Tabela 4</b> - Principais bandas e atribuições dos espectros no infravermelho para os complexos Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) e Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) e seus respectivos ligantes, para efeito de comparação.....	54
<b>Tabela 5</b> - Dados de Espectroscopia Eletrônica para os complexos Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) e Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) .....	58
<b>Tabela 6</b> - Dados de condutividade dos complexos Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) e Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) em acetonitrila.....	63
<b>Tabela 7</b> - Dados de eletroquímica para os complexos Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) e Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt).....	67
<b>Tabela 8</b> - Valores de pK <sub>a</sub> cinético encontrados para os complexos Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) e Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) .....	73
<b>Tabela 9</b> - Comparação dos parâmetros cinéticos.....	75

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$\varepsilon$	Coeficiente de absorção
$\nu$	Estiramento (IR)
$\delta$	Deformação angular (IR)
$\delta_H$	Deslocamento químico do hidrogênio ( $^1\text{H}$ NMR)
$\lambda_{\text{máx}}$	Comprimento de onda, no máximo de absorção
3,5-DTBC	3,5-di- <i>terc</i> -butilcatecol
3,5-DTBQ	3,5-di- <i>terc</i> -butilquinona
Ag/AgCl	Eletrodo de referência prata/cloreto de prata
Alif	Alifático
Ar	Aromático
BPA	N-benzil-N-2-piridilmetilamina
BPAMFF	2-(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)-4-metil-6-formilfenol
BPAPyFF	2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil)]fenol
CHES	Ácido 2-[N-cicloexilamino]etanossulfônico
cmff	2-clorometil-4-metil-6-formilfenol
CO	Catecol oxidase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
E	Eficiência catalítica
NHE	Eletrodo normal de hidrogênio, do inglês <i>Normal Hydrogen Electrode</i>
en	Etilenodiamina
$E_{\text{pa}}$	Potencial de pico anódico
$E_{\text{pc}}$	Potencial de pico catódico
EPR	Ressonância Paramagnética Eletrônica, do inglês <i>Electron Paramagnetic Resonance</i>
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização via electrospray, do inglês <i>Mass Spectrometry with Electrospray ionization</i>
$\text{Et}_3\text{N}$	Trietilamina
EtOH	Etanol
f	Fator catalítico
$\text{Fc}^+/\text{Fc}$	Par redox, ferrocínio/ferroceno

H <sub>2</sub> BPPAMFF	2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil)]-4-metil-6-formilfenol
H <sub>2</sub> BPPAMFFEt	2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil)]-6((2-aminoetil)amino)-metilfenol
HEPES	Ácido 2-[4-(2-Hidroxietil)-1-piperazino]-etanossulfônico
His	Histidina
Hmb	2-hidróxi-5-metilbenzaldeído
IUBMB	União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular, do inglês The International Union of Biochemistry and Molecular Biology
IR	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho
K <sub>ass</sub>	Constante de associação
k <sub>cat</sub>	Constante catalítica
K <sub>M</sub>	Constante de Michaelis-Menten
MeOH	Metanol
MES	Ácido 2-[N-Morfolino]etanossulfônico
MM	Massa molar
P. F.	Ponto de fusão
pH	Potencial hidrogeniônico
pK <sub>a</sub>	Potencial da constante ácida
<sup>1</sup> H NMR	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio, do inglês <i>Nuclear magnetic resonance</i>
TMS	Tetrametilsilano
TRIS	Tris(hidroximetil)aminometano
Tyr	Tirosina
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Espectroscopia na região do ultravioleta-visível
V <sub>0</sub>	Velocidade inicial
V <sub>máx</sub>	Velocidade máxima

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
1.1 Modelos biomiméticos .....	16
1.2 Metaloenzimas e ativação do oxigênio molecular .....	16
1.3 Catecol Oxidase .....	20
1.4 Segunda esfera de coordenação .....	22
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	24
2.1 Objetivo geral .....	24
2.2 Objetivos específicos .....	24
<b>3 SÍNTESE DOS COMPOSTOS</b> .....	25
3.1 Síntese dos ligantes .....	25
3.1.1 Síntese do ligante H <sub>2</sub> BPPAMFF .....	26
3.1.1.A. Síntese do precursor 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol – cmff .....	27
3.1.1.B. Síntese do precursor N-benzil-N-2-piridilmetilamina – BPA .....	28
3.1.1.C. Síntese do precursor 2-(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)-4-metil-6-formilfenol – BPAMFF .....	30
3.1.1. D. Síntese do precursor 2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil]fenol – BPAPyFF .....	32
3.1.1. E. Síntese do ligante 2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil]]-4-metil-6-formilfenol – H <sub>2</sub> BPPAMFF .....	34
3.1.2. Síntese do ligante 2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil]]-6((2-aminoetil)amino)-metilfenol – H <sub>2</sub> BPPAMFFEt .....	50
3.2 Síntese dos Complexos .....	38
3.2.1 Síntese do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF) .....	39
3.2.2. Síntese do complexo Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt) .....	40
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS DE INSTRUMENTAÇÃO</b> .....	42
4.1 Materiais .....	42
4.2. Métodos de instrumentação .....	42
4.2.1 Espectroscopia no infravermelho – IR .....	42
4.2.2 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio – <sup>1</sup> H NMR .....	43
4.2.3 Espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-Vis) .....	43
4.2.4 Espectrometria de massas .....	43
4.2.5 Medida Eletroquímica .....	44
4.2.6 Condutividade molar .....	44
4.2.7 Cinética de Oxidação .....	44
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	46
5.1 Estudo e caracterização dos ligantes .....	46
5.1.1 Espectroscopia no infravermelho – IR .....	47
5.1.2 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio – <sup>1</sup> H- NMR .....	48
5.1.3 Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray – ESI-MS ...	50

5.2 Estudo e caracterização dos complexos .....	53
5.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IR .....	54
5.2.2 Espectroscopia Eletrônica na região do UV-Vis.....	57
5.2.3 Condutimetria.....	63
5.2.4 Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray – ESI-MS ...	64
5.2.5 Eletroquímica .....	67
5.2.6 Cinética de oxidação do 3,5-DTBC.....	71
<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>77</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>79</b>

## INTRODUÇÃO

Este trabalho está inserido no projeto de pesquisa desenvolvido pela Professora Doutora Rosely Aparecida Peralta, intitulado “Síntese e caracterização de biomiméticos de cobre de relevância bioinorgânica”, o qual foi realizado entre agosto de 2016 e o presente momento, no âmbito do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC) do Departamento de Química da UFSC. O projeto, em geral, tratou de criar um modelo biomimético para a enzima catecol oxidase por meio da síntese de dois complexos binucleares de cobre, com vistas à comparação entre ambos.

Após revisão da literatura específica disponível, a qual se encontra consubstanciada no primeiro capítulo deste trabalho, foi levantada a hipótese de que um novo complexo binuclear de cobre(II), sintetizado a partir de um ligante não simétrico multidentado de conhecimento do grupo LABINC, poderia fornecer um modelo biomimético para a enzima catecol oxidase. Isso porque um dos modelos de ligantes atualmente explorados pelo grupo LABINC apresenta um grupamento aldeído em sua extremidade, o qual favorece reações de substituição de grupo funcional.

Desse modo, tal modelo de ligante, doravante determinado  $H_2BPPAMF$ , foi sintetizado. Na sequência, este foi funcionalizado por meio de uma reação de aminação redutiva, o que forneceu um novo ligante, doravante denominado de  $H_2BPPAMFFEt$ . Cada um desses ligantes foi posteriormente utilizado para a síntese de um respectivo complexo bioinspirado de cobre(II). A rota de síntese desses complexos e ligantes está pormenorizada no terceiro capítulo deste trabalho monográfico, enquanto que a lista detalhada de materiais e métodos utilizados encontra-se no quarto capítulo.

Ambos os complexos foram submetidos a testes de caracterização, os quais buscavam confirmar as hipóteses levantadas para a pesquisa, bem como fornecer informações sobre as propriedades físico-químicas e estruturais. Foram realizados os testes de espectroscopia na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( $^1H-NMR$ ), espectroscopia na região do ultravioleta visível, espectrometria de massas, medida eletroquímica, condutividade molar e cinética de oxidação. Os resultados e discussões desses testes estão reunidos no quinto

capítulo deste trabalho, ao passo que os detalhes de instrumentação estão disponíveis no quarto capítulo.

De forma geral, a análise comparativa entre os testes de caracterização e de reatividade de ambos os complexos permitiu a elaborações de conclusões acerca de suas capacidades para funcionarem como modelos biomiméticos para a enzima catecol oxidase, assim como forneceu indicativos a respeito da influência do grupo etilenodiamina na segunda esfera de coordenação.

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Modelos biomiméticos

Modelos biomiméticos são compostos bioinspirados com baixa massa molecular que simulam a maioria das características espectroscópicas, estruturais e de reatividade de sistemas bioinorgânicos, dentre os quais se destacam metaloenzimas, compostos indispensáveis aos sistemas biológicos cujo mecanismo de ação os químicos inorgânicos e bioquímicos buscam elucidar através de modelagens sintéticas envolvendo estudos biomiméticos<sup>1,2,3</sup>.

O desenvolvimento de um modelo biomimético envolve, em linhas gerais, a representação das propriedades físicas básicas do composto em análise e a simulação qualitativa de sua reatividade no sistema natural. Ocorre que os modelos sintéticos formulados costumam exibir apenas reatividade não catalítica em face do substrato natural<sup>2</sup> e apresentam taxas de eficiência inferiores às das enzimas naturais<sup>3</sup>.

Analisando a reação de ativação do oxigênio molecular, Mukherjee<sup>3</sup> comenta que existiriam determinadas limitações naturais, ou contrapesos, que garantiriam às enzimas originais taxas altas de eficiência. Em condições laboratoriais controladas, no entanto, essas restrições não existiriam, o que poderia contribuir para a dificuldade experimentada pelos pesquisadores em obter modelos sintéticos com taxas de eficiência semelhantes aos dos complexos naturais.

Essa situação é bastante evidenciada nas reações de ativação do oxigênio molecular catalisadas por metaloenzimas, as quais serão analisadas a seguir.

### 1.2 Metaloenzimas e ativação do oxigênio molecular

Enzimas são macromoléculas que atuam como catalisadores biológicos de uma reação química, tendo, geralmente, comportamento catalítico específico, tanto em face das reações químicas, quanto em face dos substratos<sup>4</sup>. É comum que uma enzima catalise apenas um tipo de reação química, ou uma pequena gama de reações correlatas. Ademais, a formação de bioprodutos dispensáveis é rara nesse



tipo de reação, ao contrário do que ocorre naquelas catalisadas por catalisadores químicos.

Para Berg<sup>1</sup>, as enzimas são moléculas complexas que operam em diversas reações essenciais para a manutenção dos organismos vivos e mediam a transformação de energia química. O autor afirma que praticamente todas as enzimas conhecidas são proteínas, cujas características são a rapidez, a especificidade e a eficiência em realizar certas funções catalíticas<sup>3</sup>. Tais reações acontecem em um local particular da enzima, chamado sítio ativo, onde este último se liga ao substrato por meio de forças intermoleculares ou mesmo de ligação química.

A capacidade catalítica que as enzimas possuem consiste no processo de diminuição seletiva da energia do estado de transição das reações, o qual determina quais das várias reações químicas em potencial irão efetivamente ocorrer. Segundo Berg<sup>1</sup>, considerando que a maior parte das reações nos sistemas biológicos não ocorre em taxas observáveis na ausência das enzimas, conclui-se que estas podem acelerar reações por fatores de até um bilhão ou mais.

As metaloenzimas, ou complexos metal-enzima, por sua vez, são enzimas que contém um ou mais íons metálicos essenciais para a função biológica que desempenham<sup>5</sup>. De acordo com Glusker<sup>6</sup>, no que se refere à função biológica das metaloenzimas, os íons metálicos poderiam modificar o fluxo de elétrons em determinado substrato ou enzima, o que representaria uma forma eficaz de controlar as reações catalisadas. Tratar-se-ia de átomos ou grupos de átomos que estariam ligados ao centro metálico, geralmente de maneira eletrostática.

Um dos metais mais vezes encontrado e estudado, nos centros metálicos das metaloenzimas, é o cobre. O cobre é um elemento essencial nos organismos vivos, cuja taxa de concentração é na ordem de partes por milhão. A principal função que este metal desempenha é de “cofator” essencial nas metaloenzimas, sendo que atua em diversas reações biológicas de oxirredução.

Com base em suas características espectroscópicas e eletrônicas, o cobre foi inicialmente dividido em três classes distintas, chamadas de “tipo um”, ou cobre azul, “tipo dois”, ou cobre normal; e “tipo três”, ou centros de cobre binucleares acoplados, como mostra a Tabela 1 representada a seguir. Desde tal classificação inicial, no entanto, quatro novos centros foram adicionados à lista, incluindo aí os conjuntos de cobre “tipo quatro”,  $Cu_A$ ,  $Cu_Z$  e  $Cu_B$ .

**Tabela 1** - Características e classificação inicial dos centros de cobre clássicos em proteínas de cobre

	<b>Tipo 1</b>	<b>Tipo 2</b>	<b>Tipo 3</b>
<b>Função</b>	Transferência reversível de elétron $\text{Cu}^{\text{II}} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cu}^{\text{I}}$	Ativação de $\text{O}_2$ do estado de $\text{Cu}^{\text{I}}$ em cooperação com coenzimas orgânicas	Absorção de $\text{O}_2$ do estado $\text{Cu}^{\text{I}}\text{-Cu}^{\text{I}}$
<b>Exemplos</b>	Azurina, Plastocianina, Stelacianina, Nitrito redutase	Superóxido dismutase, Galactose oxidase, Amina oxidase, Nitrito redutase	Hemocianina, Tirosinase, Catecol oxidase, Lacase
<b>Ligantes Comuns</b>	His, Cys, (Met)	His, Cys, (Tir)	Hist, (Tir)
<b>Espectro Uv-vis</b>	Forte absorção em 600 nm (em algumas proteínas, 450nm)	Fraca absorção em 700 nm	Fraca absorção em 700 nm
<b>Espectro EPR</b>	4 linhas ( $A_1 < 80 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ )	4 linhas ( $A_1 \sim (130-180) \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ )	Não detectável
<b>Estrutura</b>	Fortemente distorcida, (3 + 1) absorção de coordenação da forma cobre(II) a cerca de 600 nm, coeficiente de extinção molar $\epsilon > 2000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , transição LMCT S(Cis) $\rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$ EPR da forma oxidada: pequeno acoplamento hiperfino de Cu e anisotropia g, interação da rotação eletrônica com -S-CH <sub>2</sub> -; $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{S}$ (Cis) deslocalização do spin	Essencialmente planar com fraca coordenação adicional (efeito Jahn-Teller para $\text{Cu}^{\text{II}}$ ), absorções tipicamente fracas de $\text{Cu}^{\text{II}}$ , $\epsilon < 1000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , transições de campo ligante(d $\rightarrow$ d) EPR normal de $\text{Cu}^{\text{II}}$	Dímero (ponte), distância de Cu-Cu a 360 pm após absorção de $\text{O}_2$ , absorções intensas em torno de 350 e 600 nm, $\epsilon = 20000$ e $1000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , transições LMCT $\text{O}_2^{2-} \rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$ EPR inativo $\text{Cu}^{\text{II}}$ (antiferromagneticamente e acoplado centros d <sup>9</sup> )
<b>Geometria do sítio ativo</b>	Tetraédrico distorcido	Tetragonal distorcido	Tetragonal

Adaptada de McCLEVERTY<sup>7</sup>, e KAIM<sup>2</sup>, 2012 (tradução livre).

Como ensina Solomon<sup>8</sup>, essas definições espectroscópicas são baseadas no estado oxidado (cúprico) do metal, o qual possui uma camada de valência não preenchida com configuração  $d^9$ , suscetível a diversas das análises supracitadas. As reações catalisadas por metaloenzimas contendo cobre incluem transferências de elétrons, transporte de oxigênio ( $O_2$ ), oxigenação e oxidação do substrato, e redução de óxidos de nitrogênio.

Uma das classes mais importantes de enzimas que contêm cobre em seu sítio-ativo são as oxirredutases, as quais catalisam reações de oxirredução<sup>9</sup>. Neste grupo estão compreendidas as enzimas lacase, tirosinase, catecol oxidase, entre outras. Por razões ambientais e econômicas, as indústrias químicas buscam, predominantemente, desenvolver métodos oxidativos que utilizem o oxigênio molecular como oxidante primário<sup>9</sup>. Isso porque o oxigênio molecular é o oxidante ideal em razão de sua alta disponibilidade, o que o torna barato e ambientalmente benigno. Em contrapartida, métodos clássicos de oxidação utilizam oxidantes inorgânicos que se mostraram altamente tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente.

No entanto, a despeito da significativa vantagem que as oxidações de ativação do oxigênio molecular proporcionam, a natureza cinética inerte deste último coloca um grande obstáculo para sua utilização, uma vez que a reação com o oxigênio é proibida por spin, de forma que reações com substratos orgânicos não ocorrerão em condições ambientais<sup>9</sup>. Daí resulta que a reação com oxigênio só se torna permitida por spin quando o substrato orgânico for convertido em radical. Segundo Martins<sup>9</sup>, a sobreposição orbital do oxigênio com íon metálico adequado pode auxiliar na ativação através da transferência de elétrons a partir do metal.

De acordo com Solomon<sup>10</sup>, a natureza utiliza várias metaloenzimas para catalisar a oxidação controlada e seletiva de compostos orgânicos. Para este processo, é necessário provocar a ativação do oxigênio molecular nos sítios metálicos da metaloenzima, o que requer a disponibilidade de diferentes estados redox, os quais devem corresponder tanto à estrutura eletrônica e à geometria da molécula, quanto à sua função.

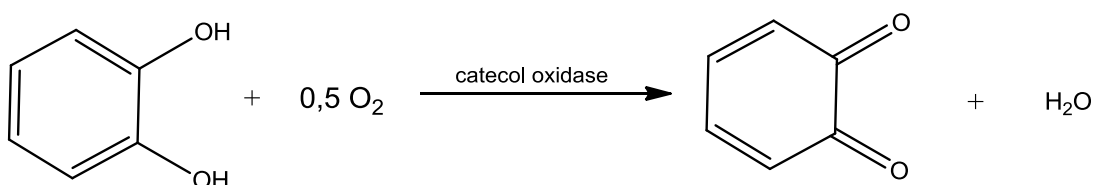
A eficácia das metaloproteínas que contêm cobre para ligar e ativar de maneira reversível o dióxigênio figura como vetor de grande importância na catálise biológica, o que tem sido fonte constante de interesse no campo da Química Bioinorgânica. Nesse sentido, foi descoberto que as proteínas binucleares de cobre

hemocianina, tirosinase e catecol oxidase contêm um centro metálico dinuclear de cobre do tipo III<sup>11</sup>. Para Klabunde<sup>11</sup>, tal centro seria responsável por se conectar ao dioxigênio e promover sua ativação.

### 1.3 Catecol Oxidase

A catecol oxidase é uma metaloenzima binuclear de cobre pertencente à classe das oxirredutases, as quais se notabilizam pela catálise da reação de transferência de dois elétrons, durante a oxidação de uma gama de substratos ortodifenóis para suas ortoquinonas correspondentes. Nesse processo, as oxirredutases reduzem o oxigênio molecular à água, em um processo conhecido como atividade de catecolase<sup>12</sup>. Por meio da polimerização das quinonas, a catecol oxidase desempenha um papel central nos dispositivos de defesa das plantas, auxiliando-as a protegerem-se contra doenças bacterianas e fúngicas. Uma representação genérica de ambas as reações é mostrada no Esquema 1:

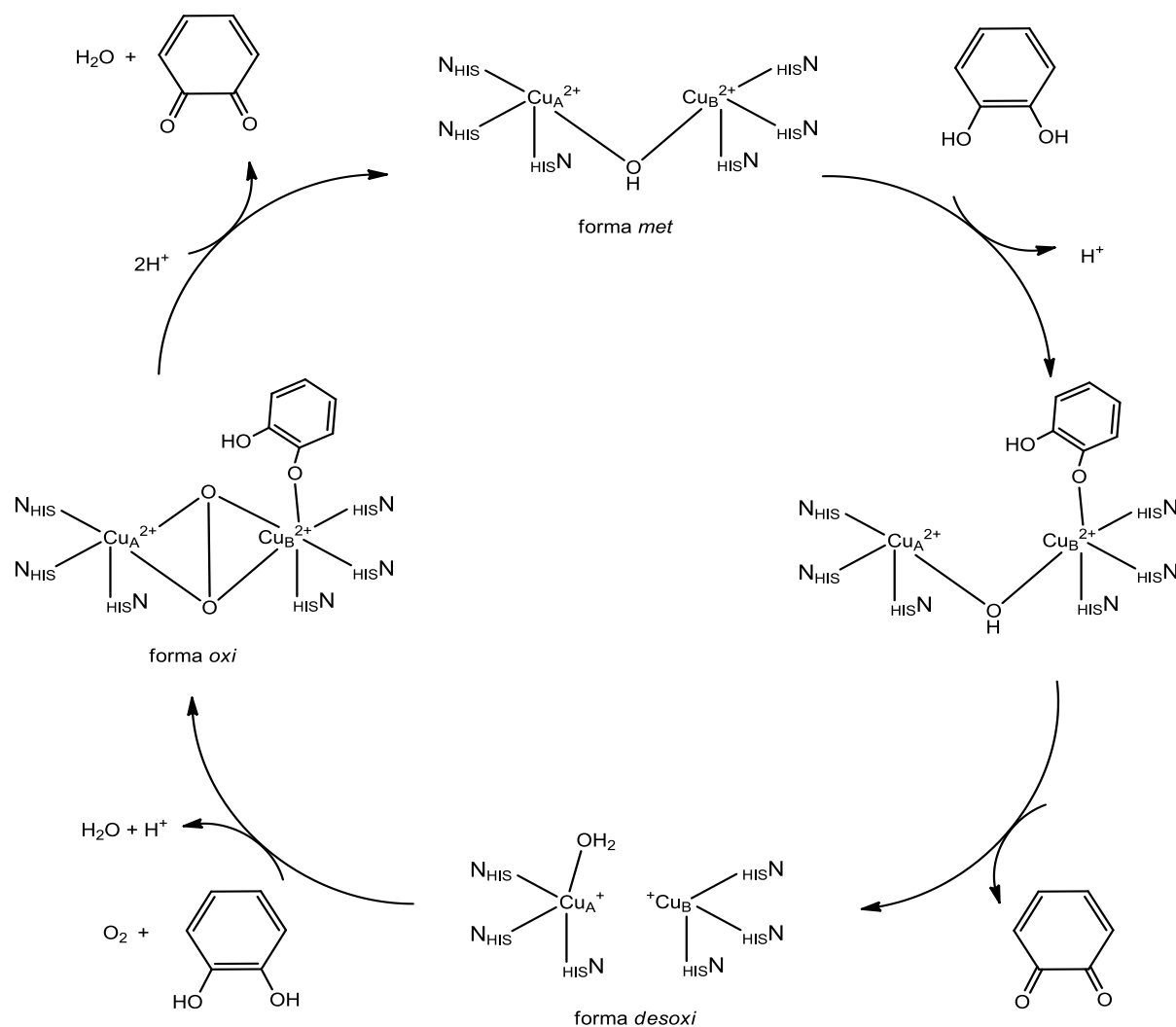
**Esquema 1** - Reação de oxidação catalisada pela catecol oxidase



A catecol oxidase pertence à classe de proteínas de cobre do tipo III, assim como a tirosinase e a hemocianina. Na natureza, as enzimas de cobre do tipo III contêm sítios-ativos de cobre binucleares similares, sendo responsáveis pela ativação do oxigênio molecular (Catecol Oxidase e Tirosinase), pela oxidação de catecol a o-quinonas (atividade de catecolase) e pelo transporte de oxigênio (atividade de hemocianina). Pela óptica estrutural e espectroscópica, três classificações de centros de cobre biológicos podem ser distinguidos em proteínas, como mostra a tabela a seguir:

O trabalho de Klabunde<sup>11</sup>, descreveu a estrutura cristalina da catecol oxidase, e revelou que seu sítio ativo consiste em um centro binuclear de cobre (II) em uma ponte hidróxido, sendo que cada centro de cobre (II) está coordenado por três átomos de nitrogênio da histidina e adota um ambiente quase trigonal-piramidal, cuja estrutura é conhecida como a forma *met* da enzima. A estrutura cristalina da catecol oxidase apresentaria, portanto, três estados catalíticos distintos: o estado nativo *met* ( $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}$ ), a forma reduzida *desóxi* ( $\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cu}^{\text{I}}$ ) e o estado de complexação com o inibidor feniltioureia. Analogamente o dioxigênio produz a forma *oxi*, o qual é atacada pela segunda molécula de difenol. A oxidação para a quinona correspondente conduz à forma *met* novamente, fechando o ciclo catalítico. Esse processo pode ser descrito na figura apresentada a seguir:

**Esquema 2** - Mecanismo Proposto por Eicken e Colaboradores, Adaptador por Koval e Colaboradores



Extraído de: KOVAL, 2006 (tradução livre)<sup>18</sup>.

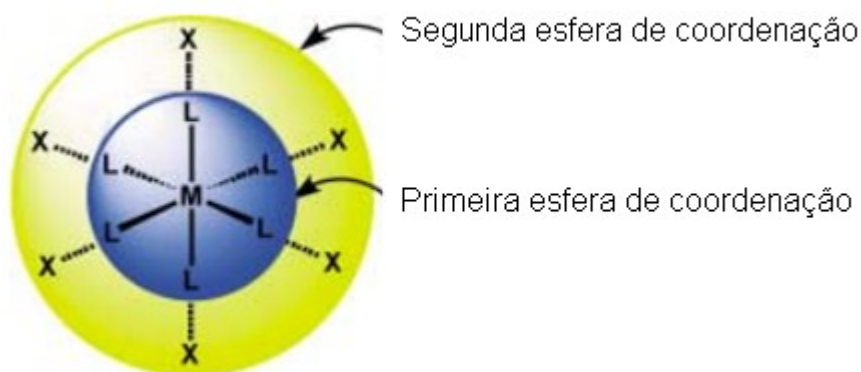
A natureza otimizou a catecol oxidase para ligar o íon  $\text{Cu}^{\text{II}}$  na geometria determinada e com potencial redox ótimo para oxidar o catecol através dessa mudança do estado de oxidação  $\text{Cu}^{\text{II}}$  e  $\text{Cu}^{\text{I}}$  com a estabilidade requerida. Eicken e colaboradores<sup>13</sup> sugeriram um mecanismo para o funcionamento catalítico da metaloenzima com base em uma combinação de dados bioquímicos, espectroscópicos e estruturais. Estudando tais pesquisas, Everton da Silva e colaboradores<sup>14</sup> sintetizaram:

O ciclo inicia-se com a forma *met* da enzima, uma vez que essa é a forma nativa. Através do estudo de inibição com a feniltiouréia foi proposta uma ligação monodentada do substrato ao centro de CuB. A forma *met* reage com um mol de catecol e gera um mol da quinona correspondente. O centro de  $\text{Cu}^{2+} - \text{Cu}^{2+}$  sofre redução para a forma *desoxi*  $\text{Cu}^+ - \text{Cu}^+$  possuindo uma molécula de solvente no CuA. Esta etapa é justificada pela formação de quantidades estequiométricas de quinona formadas na ausência de  $\text{O}_2$ . Em seguida a forma *desoxi* se liga simultaneamente ao oxigênio e a uma molécula de catecol. Quando o oxigênio se liga aos íons  $\text{Cu}^+$ , é formada a ponte do tipo  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$  e ocorre a oxidação dos íons cuprosos a cúpricos (forma *oxi*). No complexo  $\text{CO-O}_2^{2-}$ -catecol, dois elétrons são transferidos do substrato para o peróxido, seguido da quebra da ligação O-O, com a perda de água e a geração da quinona. Com isso, a forma *met* é restabelecida e o ciclo pode ser reiniciado<sup>14</sup>.

#### 1.4 Segunda esfera de coordenação

A funcionalidade das metaloenzimas depende das propriedades dos centros metálicos estabelecidos pelas cadeias de aminoácidos residuais provenientes da estrutura proteica. As interações provenientes desses fragmentos residuais têm a capacidade de cooperar em etapas do processo catalítico. Para Zhao<sup>15</sup>, os aminoácidos que não estão diretamente ligados na coordenação do metal, mas são indispensáveis à eficiência e seletividade das enzimas, são conhecidos como a segunda esfera de coordenação, a qual é representada pela figura 1, representada a seguir:

**Figura 1** - Uma descrição esquemática da primeira (azul) e segunda esfera (amarela) de coordenação para uma espécie octaédrica ML<sub>6</sub>



Adaptado de BEAUCHAMP, 2002<sup>19</sup>.

A coordenação de segunda esfera é entendida, nos dias de hoje, em termos de ligações não covalentes das unidades químicas que possui. Vale dizer, os ligantes da primeira esfera de coordenação geram os de segunda esfera, por meio de inúmeras interações não covalentes, como ligações de hidrogênio, interações de van der Waals e transferências de cargas<sup>16</sup>.

Os estudos realizados na última década acerca dos efeitos da segunda esfera de coordenação demonstraram que ela desempenha papel basilar na atividade catalítica, já que melhora significativamente a taxa de ocorrência de uma reação<sup>17</sup>. Segundo o autor Bernardo Souza, muito embora os complexos-modelo sintetizados geralmente apresentem características espectroscópicas semelhantes às de suas enzimas, suas atividades diferem consideravelmente devido à falta de efeitos de segunda esfera de coordenação<sup>17</sup>.

Nesse contexto, os pesquisadores da área passaram a investigar grupos adicionais com o intuito de simular as funções da segunda esfera de coordenação, da onde se destacou a pesquisa realizada sobre as aminas, cuja relativa facilidade de síntese transformou-as em modelos biomiméticos de grande utilidade, sendo adotadas, inclusive, como objeto de investigação específico deste trabalho.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Demonstrar de que maneira dois novos ligantes e dois novos complexos binucleares de cobre(II) comportam-se frente à atividade enzimática, utilizando o método comparativo em relação a um complexo análogo.

### 2.2 Objetivos específicos

1. Sintetizar os ligantes (1) N-benzil-N-2-piridilmetilamina (BPA); (2) 2-(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)-4-metil-6-formilfenol(BPAMFF); (3) 2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)-4-metil-6-[N(2piridilmetil)aminometil]]fenol(BPAPyFF); (4) 2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)-4-metil-6-[N(2piridilmetil)aminometil]])4-metil-6-formilfenol (H<sub>2</sub>BPPAMFF); (5) H<sub>2</sub>BPPAMFFEt;
2. Sintetizar o complexo binuclear de cobre Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF);
3. Sintetizar o complexo binuclear de cobre Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt);
4. Caracterizar os ligantes por análises de infravermelho e ressonância magnética nuclear;
5. Caracterizar os complexos binucleares de cobre(II) por meio de análises elementares, espectroscópicas e estruturais, quando possível.



### 3 SÍNTESE DOS COMPOSTOS

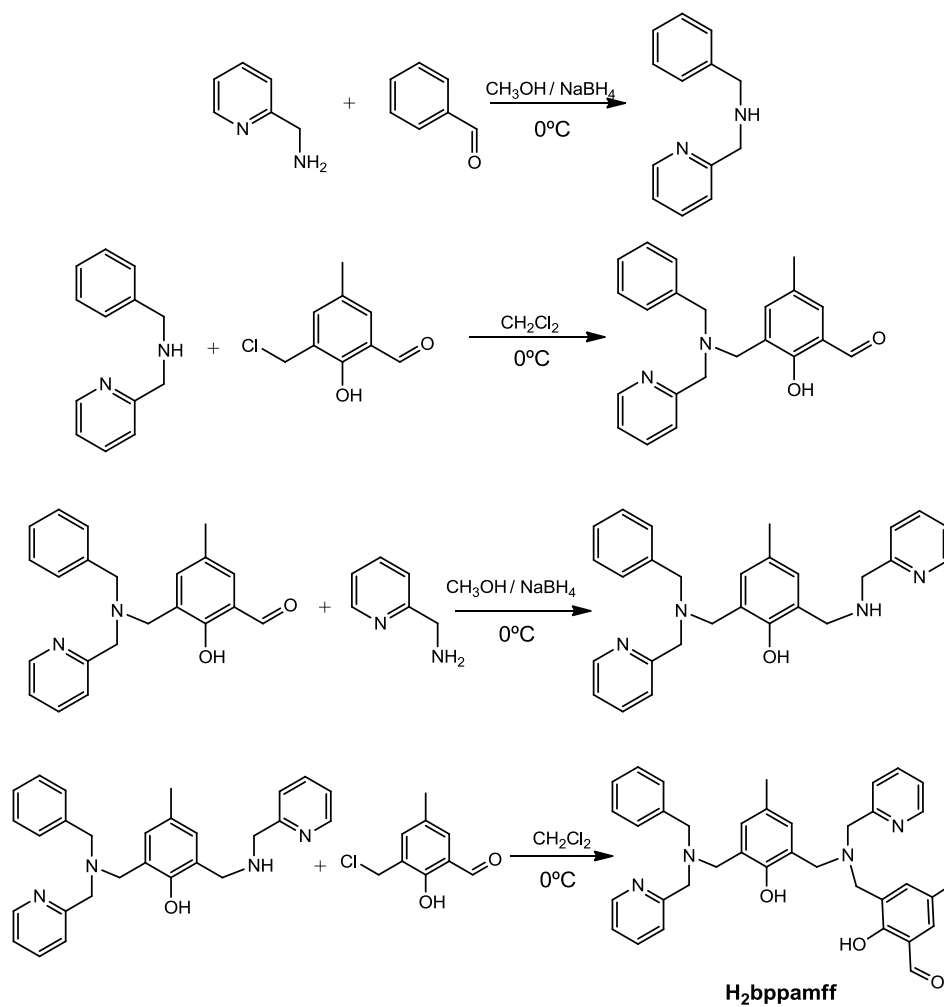
#### 3.1 Síntese dos ligantes

Na síntese de compostos biomiméticos, é importante utilizar ligantes que se assemelhem aos resíduos de aminoácidos presentes nas metaloenzimas. Nesse sentido, a experiência do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia da Universidade Federal de Santa Catarina (LABINC) demonstrou que os ligantes elaborados pelo grupo, incluindo o trabalho de Piovezan<sup>20</sup>, são capazes de fornecer um modelo vantajoso, uma vez que o grupo funcional aldeído, presente na extremidade do referido ligante, favorece reações de substituição de grupo funcional, para estudos de segunda esfera de coordenação.

A funcionalização é um procedimento por meio do qual o químico pode exercer maior controle sobre os compostos, porquanto aquela primeira desempenha um papel decisivo na reatividade dos complexos. Por esse motivo é que o ligante sintetizado por Piovezan foi escolhido para os fins a que se destina esta pesquisa, especificamente para a síntese dos complexos bioinspirados de cobre(II). A seguir, apresenta-se a rota sintética proposta pelo autor<sup>20</sup> para a síntese do referido ligante, incluindo os precursores, e, em seguida, a rota dos novos ligantes a partir deste modelo.

### 3.1.1 Síntese do ligante H<sub>2</sub>BPPAMFF

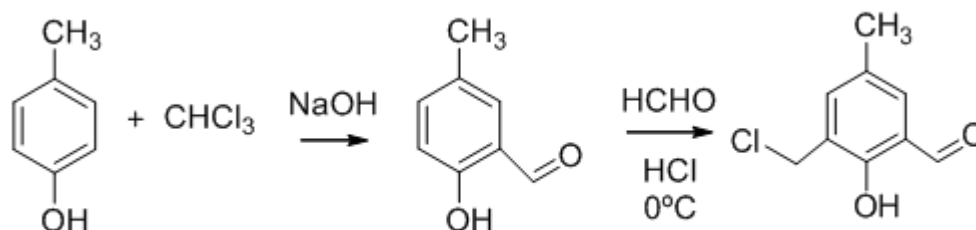
Esquema 3- Síntese do ligante H<sub>2</sub>BPPAMFF



Adaptado de PIOVEZAN, 2010<sup>20</sup>.

### 3.1.1.A. Síntese do precursor 2-clorometil-4-metil-6-formifenol – cmff

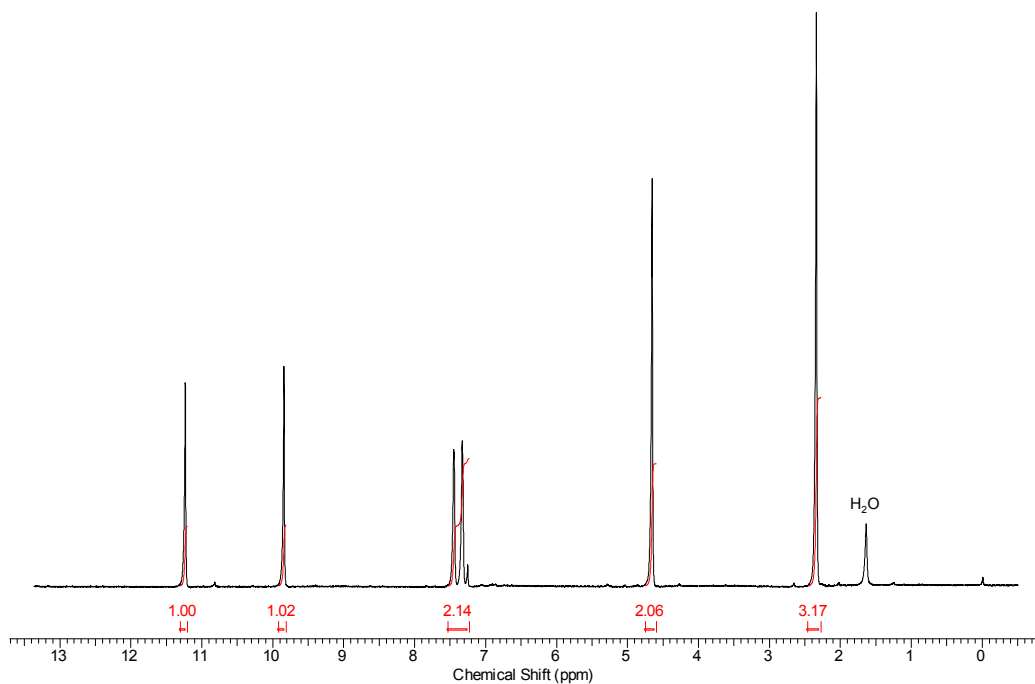
Esquema 4 - Rota sintética do precursor cmff



Inicialmente preparou-se o 2-hidroxi-5-metilbenzaldeído (HMB) através de uma reação de formilação do *p*-cresol<sup>21</sup>. Em um balão de 3 bocas de 5000 mL, equipado com um agitador mecânico e um condensador, adicionou-se o *p*-cresol (21,6 g, 200 mmol, 108,14 g.mol<sup>-1</sup>) em 1,5 L de clorofórmio. A solução foi mantida sob agitação com temperatura controlada entre 56 – 60 °C com um banho. Iniciou-se então a adição de NaOH (60 g, 1,5 mmol, 40,00 g.mol<sup>-1</sup>), solubilizado em 100 mL de água destilada, em pequenas porções durante 3 horas. A reação foi mantida por mais uma hora e então deixou-se o sistema resfriar a temperatura ambiente. Adicionou-se aproximadamente 500 mL de água destilada e, sob agitação, acidificou-se com HCl concentrado até pH = 2. A fase orgânica foi separada, lavada com água destilada, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi retirado à pressão reduzida. O produto foi então destilado à pressão reduzida. Obteve-se o HMB como um sólido branco. O sólido foi solubilizado em um mínimo de diclorometano e purificado com coluna cromatográfica em sílica, utilizando diclorometano como eluente e analisado por placa de CCD, obtendo um fator de retenção de 0,86. O solvente foi retirado à pressão reduzida e obteve-se um sólido cristalino. A segunda etapa, de síntese do cmff, foi realizada da seguinte forma: Em um balão de 500 mL adicionou-se o HMB (6,4 g, 47 mmol, 136,15 g.mol<sup>-1</sup>), formaldeído 37% (3,81 g, 94 mmol) e ácido clorídrico concentrado (25 mL). O sistema foi mantido sob refluxo e agitação por 30 minutos e, na sequência, resfriado a 0 °C, formando um precipitado compacto no fundo do balão, que foi triturado, filtrado sob vácuo e recristalizado a quente em diclorometano. Obteve-se um sólido branco, que foi deixado no dessecador com sílica sob vácuo para secar, com rendimento de 85% (7,4 g, 40

mmol, 184,62 g mol<sup>-1</sup>) em relação ao HMB. Por fim, o cmff foi caracterizado por <sup>1</sup>H-NMR, como mostra a figura 2.

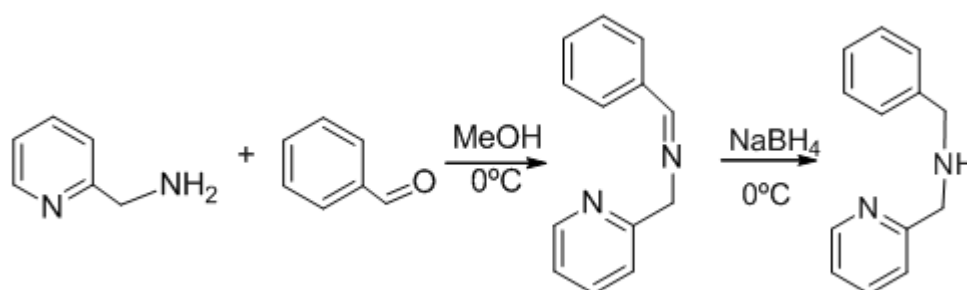
**Figura 2** - Espectro de <sup>1</sup>H-NMR do precursor cmff



<sup>1</sup>H-NMR  $\delta_H$  (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>) em ppm: 11,25 (s, 1 H, OH<sub>fenol</sub>); 9,86 (s, 1 H, aldeído); 7,46 (s, 1 H, C<sub>Har</sub>); 7,35 (s, 1 H, Ar); 4,67 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 2,35 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>).

### 3.1.1.B. Síntese do precursor *N*-benzil-*N*-2-piridilmetilamina – BPA

**Esquema 5** - Rota sintética do BPA

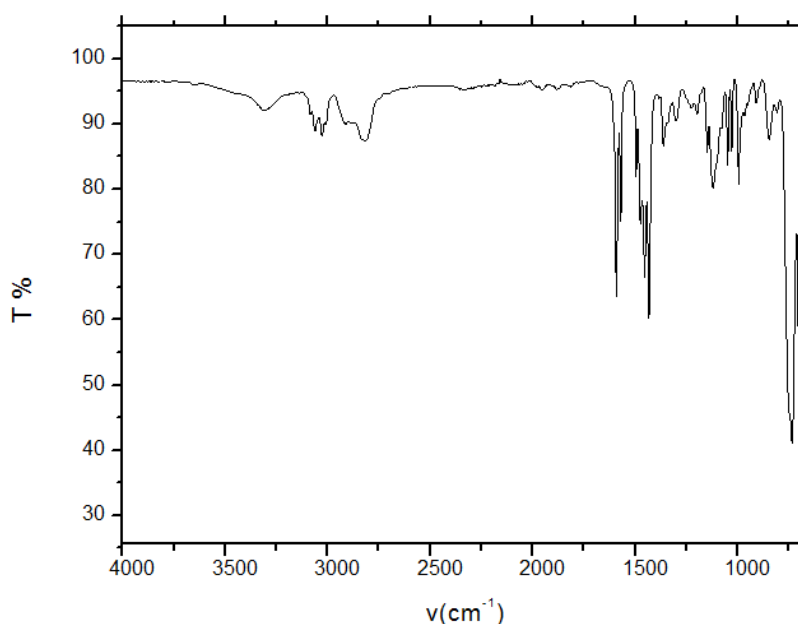


Adaptado de PIOVEZAN, 2010<sup>20</sup>.

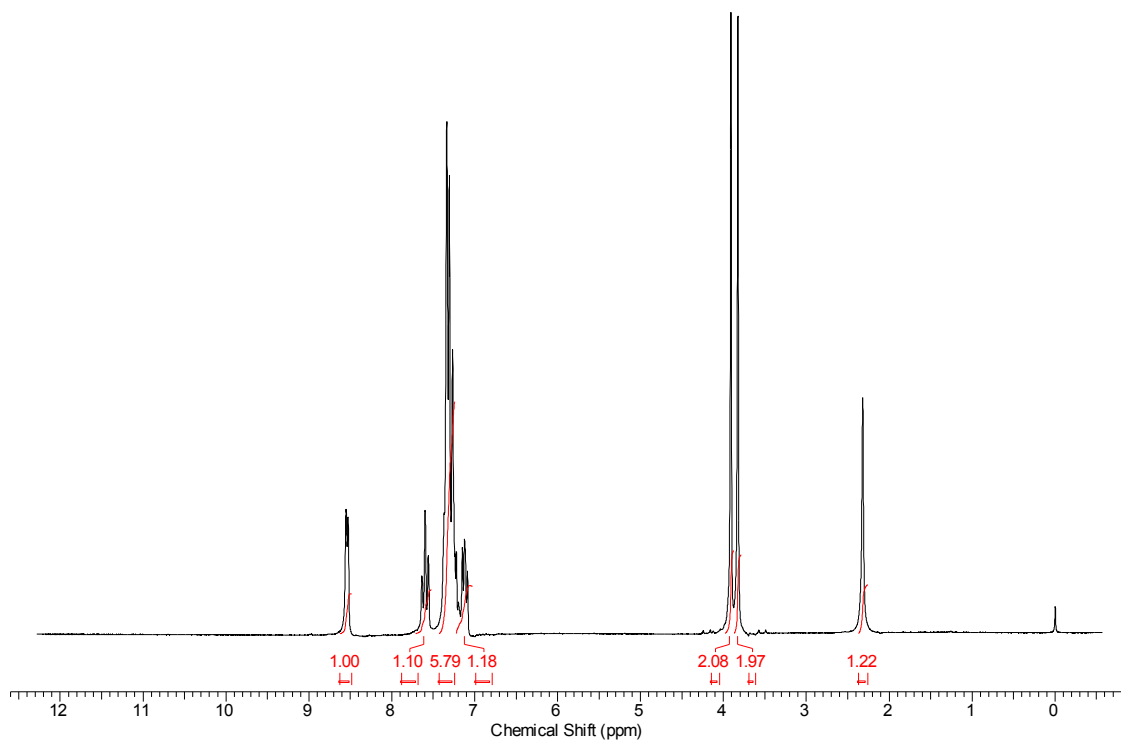
Em um balão de 125 mL contendo 20 mL de álcool metílico foi adicionado 2-(aminometil)piridina (0,52mL, 5mmol), mantendo-se a solução a 0°C. Em seguida,

mantendo-se o banho de gelo, foi adicionada uma solução metanólica de benzaldeído (0,62mL em 25mL de metanol) por meio de um funil de adição. Após essa adição manteve-se o sistema sob agitação e temperatura ambiente por vinte e quatro horas, sem acompanhamento da reação por placa de CCD. Após esse período, foi adicionado borohidreto de sódio (0,38g, 10mmol) em pequenas porções àquela solução, durante o período de 1 (uma) hora, mantendo-se o sistema a 0°C. Retirado o banho de gelo, o sistema ficou em temperatura ambiente por quatro horas. O solvente foi retirado por pressão reduzida em rotaevaporador e, em seguida, foi adicionado 20 mL de HCl 2,0 mol L<sup>-1</sup>. Na sequência, a fase aquosa foi extraída por meio de cinco lavagens de CHCl<sub>3</sub> para a remoção do excesso de benzaldeído. Após, a fase aquosa foi alcalinizada com solução saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (pH 10) e extraída por meio de 3 (três) lavagens de 20 mL de CHCl<sub>3</sub>. A fase orgânica formada foi recolhida e seca com sulfato de sódio anidro, enquanto o solvente foi retirado com rotaevaporador. Foram obtidos 1,67 g do produto na forma de um óleo amarelo, o qual apresentou um rendimento de 84,34% com relação ao 2-(aminometil)piridina. Por fim, o BPA foi caracterizado por espectroscopia no IR e <sup>1</sup>H-NMR, como mostram as figuras 3 e 4, respectivamente.

**Figura 3** - Espectro de Infravermelho (módulo ATR) do precursor BPA.

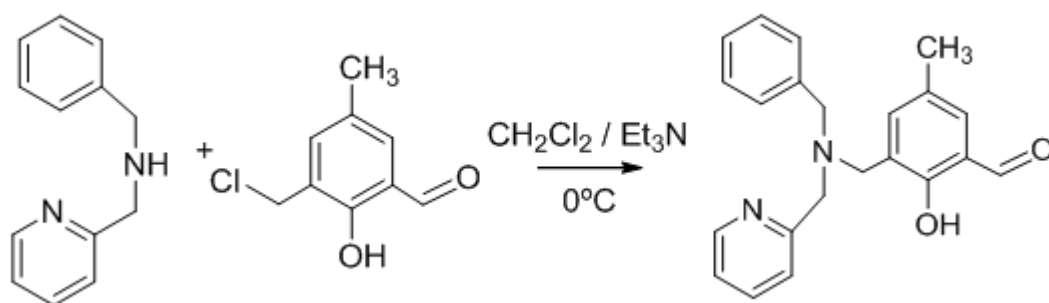


IR, em cm<sup>-1</sup>:  $\nu$  (N-H) 3260;  $\nu$  (C-H<sub>ar</sub> e C-H<sub>alif</sub>) 3136-2757;  $\nu$  (C=N e C=C) 1596-1429;  $\delta$  (C-H<sub>ar</sub>) 790-730.

**Figura 4** - Espectro de  $^1\text{H-NMR}$  do precursor BPA

$^1\text{H-NMR}$   $\delta_{\text{H}}$  (200 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) em ppm: 8,5 [d, 1H, Py]; 7,6-7,1 [8H, Ar]; 3,83 [s, 2H,  $\text{CH}_2$ ]; 3,92 [2H,  $\text{CH}_2$ ]; 2,5 [1H, NH – troca com  $\text{D}_2\text{O}$ ].

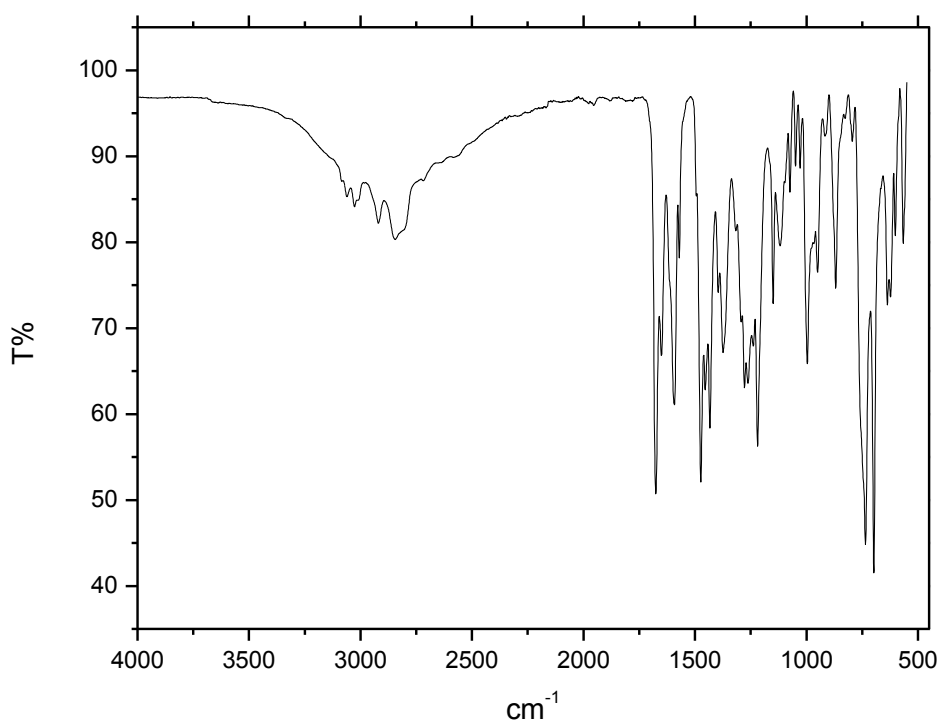
### 3.1.1.C. Síntese do precursor 2-(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)-4-metil-6-formilfenol – BPAMFF

**Esquema 6** - Rota sintética do BPAMFF

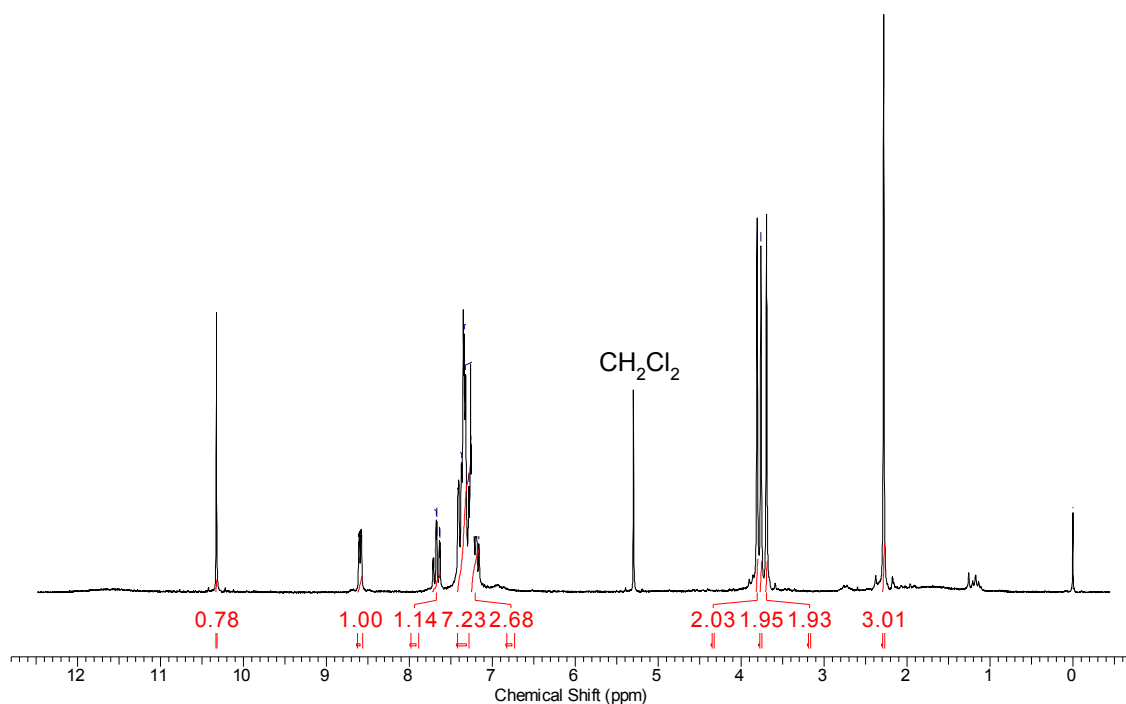
Adaptado de PIOVEZAN, 2010<sup>20</sup>.

Em um balão de 125 mL, foi adicionado o ligante BPA (1,67 g; 8,42mmol) e 15 mL de diclorometano, este sob gelo e agitação, bem como trietilamina(2,34mL, 16,84mmol). Mantendo-se o gelo e a agitação, foi adicionado o ligante cmff (1,55g, 8,42mmol) a mais 15 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, utilizando-se, para isso, o funil de adição. Retirado o banho de gelo, a solução ficou sob agitação, a temperatura ambiente, por 24 (vinte e quatro horas), sem acompanhamento da reação por placa de CCD. Após, a solução reacional foi lavada por meio de 8 (oito) lavagens de 20mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3(sat)</sub>. A fase orgânica foi, então, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e, depois, concentrada sob pressão reduzida. O produto final foi obtido na forma de um óleo amarelo, o qual apresentou um rendimento de 88,01% com relação ao BPA. Por fim, o BPAMFF foi caracterizado por espectroscopia na região do IR e <sup>1</sup>H-NMR, como mostram as figuras 5 e 6, respectivamente.

**Figura 5** - Espectro de IR (módulo ATR) do precursor BPAMFF

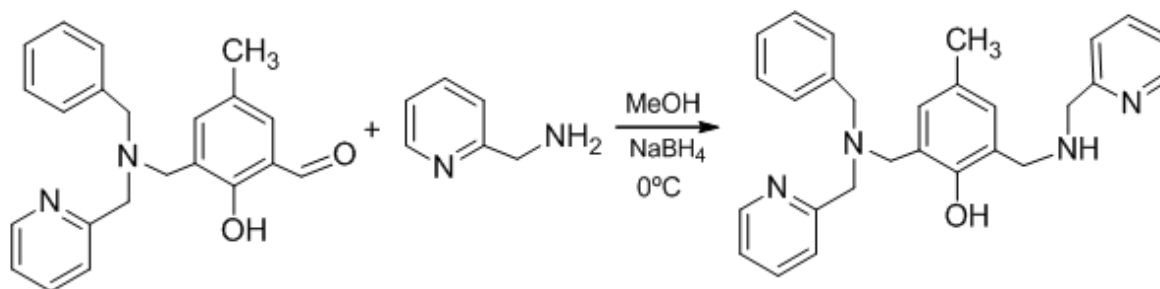


IR, em cm<sup>-1</sup>:  $\nu$  (C-H<sub>ar</sub> e C-H<sub>alif</sub>) 3059-2856;  $\nu$  (C=N e C=C) 1577-1472;  $\nu$  (Aldeído) 1676;  $\nu$  (Ar 1647, 1590),  $\nu$  (Ar-OH) 1221;  $\delta$  (C-H<sub>Ar</sub>) 747-674;

**Figura 6** - Espectro de  $^1\text{H-NMR}$  do precursor BPAMFF

$^1\text{H-NMR}$   $\delta_{\text{H}}$  (200 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) em ppm: 10,3 [s, 1H, aldeído – não troca com  $\text{D}_2\text{O}$ ], 8,6 [d, 1H, Py]; 7,7-7,1 [m, 10H, Ar]; 3,82 [d, 4H,  $\text{CH}_2$ ]; 3,73 [s, 2H,  $\text{CH}_2$ ]; 2,2 [s, 3H,  $\text{CH}_3$ ].

### 3.1.1. D. Síntese do precursor 2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil]fenol – BPAPyFF

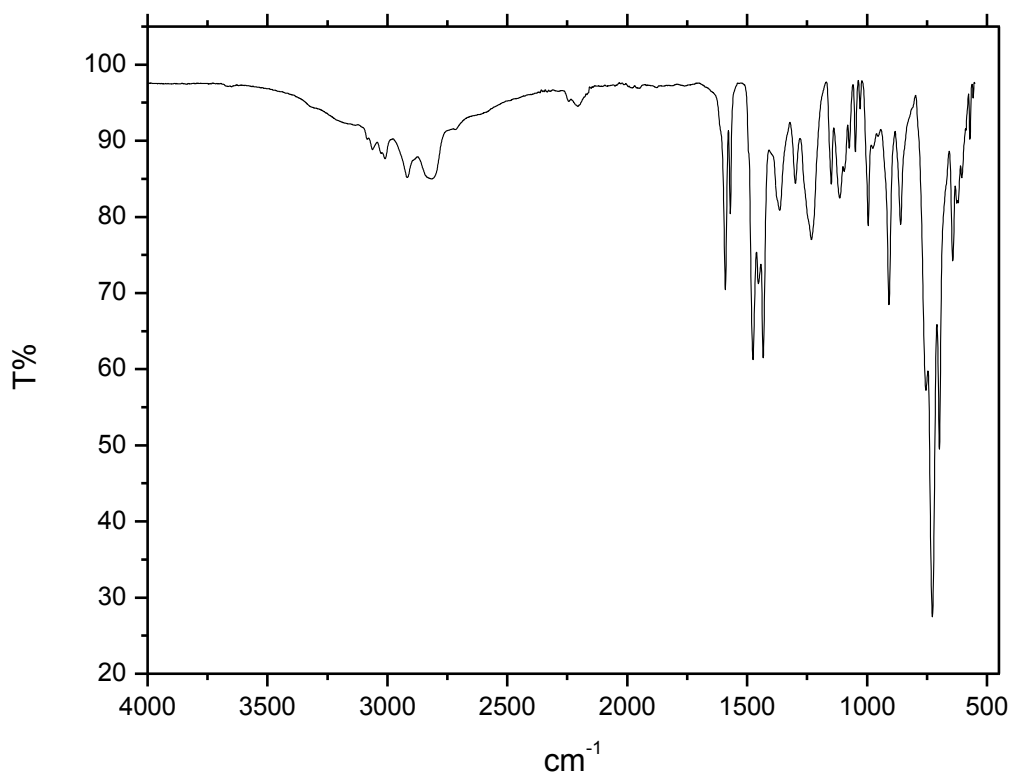
**Esquema 7** - Rota sintética do BPAPyFF

Adaptado de PIOVEZAN, 2010<sup>20</sup>.

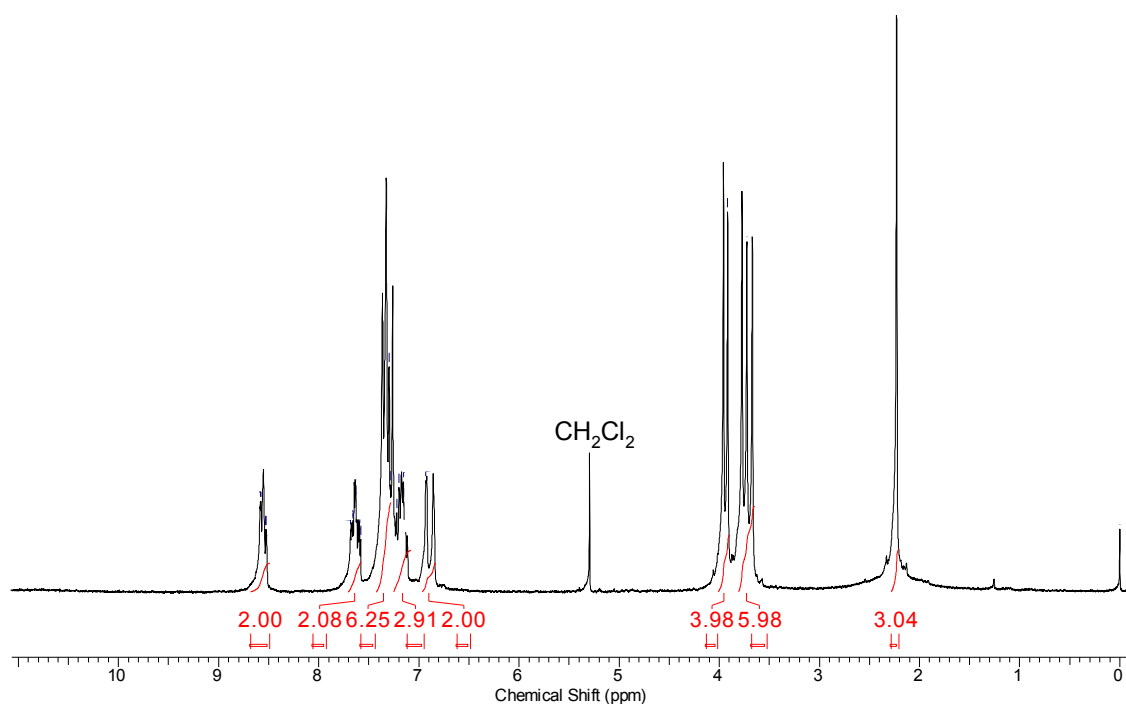


Em um balão de 125mL contendo BPAMFF (4,50g, 13mmol em 20mL de metanol) foi adicionado, através de funil de adição e em banho de gelo, 2-(aminometil)piridina (1,35mL, 13mmol em 20 mL de metanol). Após, a solução ficou sob agitação, à temperatura ambiente, por 4 (quatro) horas, sem acompanhamento da reação por placa de CCD. Na sequência, foi adicionado borohidreto de sódio sob banho de gelo e agitação por mais quatro horas. O solvente foi retirado com o uso do rotaevaporador e, então, foi adicionado 25 mL de HCl 2,16 mol L<sup>-1</sup>. A fase aquosa foi lavada por meio de 5 (cinco) lavagens de 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, a fim de remover algum resquício de BPAMFF. A fase aquosa foi alcalinizada com Na<sub>2</sub>CO<sub>3(sat)</sub> (pH 10). Após, a fase aquosa foi extraída por meio de 4 (quatro) lavagens de 10mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e, então, o solvente foi retirado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com um rendimento de 94,5% com relação ao BPAMFF. Por fim, o BPAPyFF foi caracterizado por espectroscopia no IR e <sup>1</sup>H-NMR, como mostram as figuras 7 e 8, respectivamente.

**Figura 7-** Espectro de IR (módulo ATR) do precursor BPAPyFF

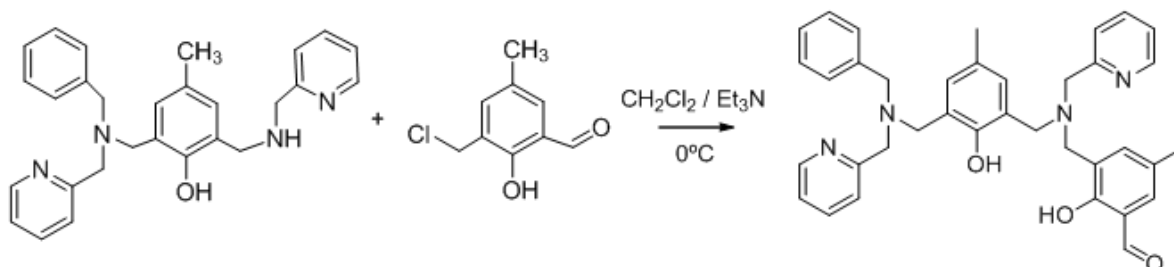


IR, em cm<sup>-1</sup>:  $\nu$  (C-H<sub>ar</sub> e C-H<sub>alif</sub>) 3059-2816;  $\nu$  (C=N e C=C) 1577-1419;  $\nu$  (Ar-OH) 1228;  $\delta$  (C-H<sub>Ar</sub>) 734-664

**Figura 8** - Espectro de  $^1\text{H-NMR}$  do precursor BPAPyFF

$^1\text{H-NMR}$   $\delta_{\text{H}}$  (200 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) em ppm: 8,5 [d, 2H, Py]; 7,12-7,72 [m, 11 $\text{H}_{\text{ar}}$ ]; 6,9 [d, 2 $\text{H}_{\text{ar}}$ ]; 3,9-3,6 [m, 10H,  $\text{CH}_2$ ], 2,2 [s, 3H,  $\text{CH}_3$ ].

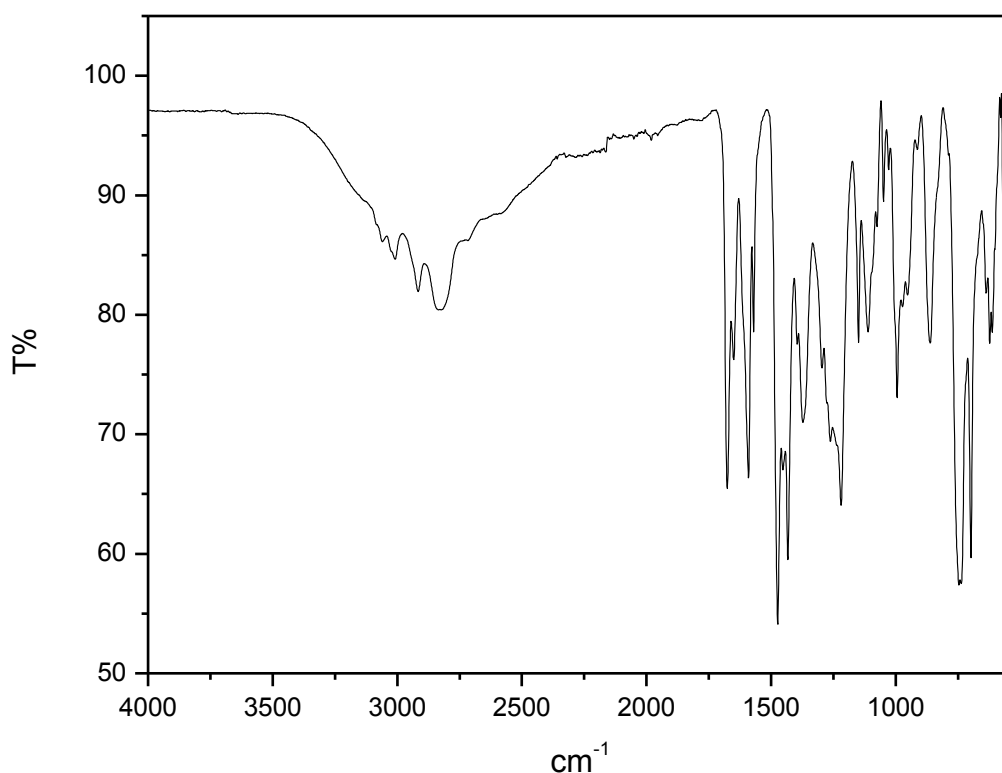
### 3.1.1. E. Síntese do ligante 2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil)]-4-metil-6-formilfenol – $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$

**Esquema 8** - Rota sintética do  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$ 

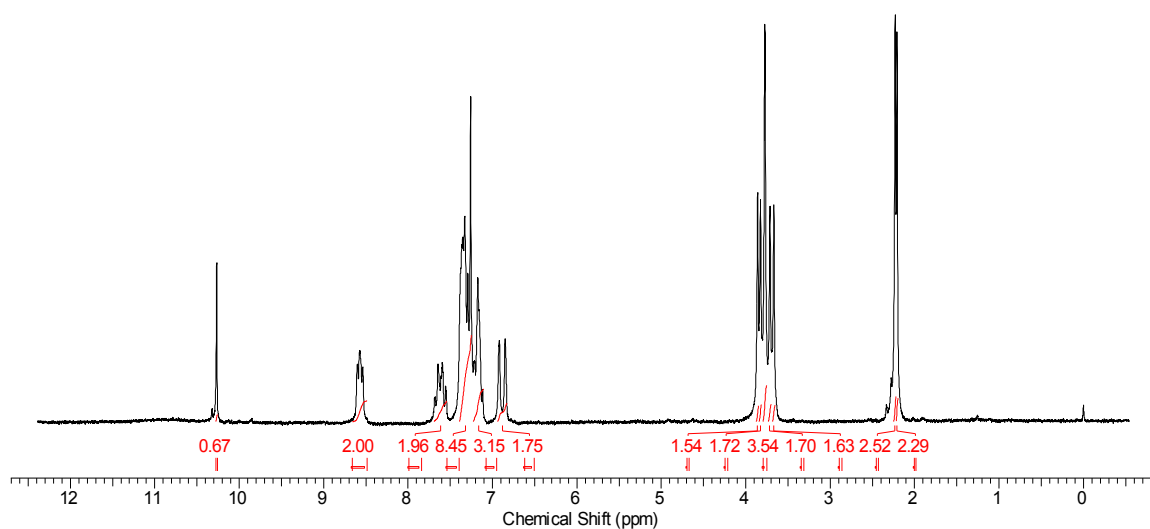
Adaptado de PIOVEZAN, 2010<sup>20</sup>.

Em um balão de 250mL contendo o ligante BPAPyFF (5,38g, 12,3mmol em 12mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), foi adicionado  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,7mL, 12,3mmol), adicionado sob agitação e banho de gelo. Após, foi adicionado cmff (2,27g, 12,3mmol) em 20mL de diclorometano utilizando-se o funil de adição, deixando-se o sistema sob agitação, em temperatura ambiente, por vinte e quatro horas. Em seguida, foi adicionado 15mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . A solução foi lavada seis vezes com 15mL de  $\text{NaHCO}_3$  e, então, a fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . A solução foi concentrada no rotaevaporador. Obteve-se o produto como um sólido amarelo claro. O  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$  foi caracterizado por espectroscopia no IR e  $^1\text{H-NMR}$  como mostram as figuras 9 e 10, respectivamente.

**Figura 9** - Espectro de IR (módulo ATR) do ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$

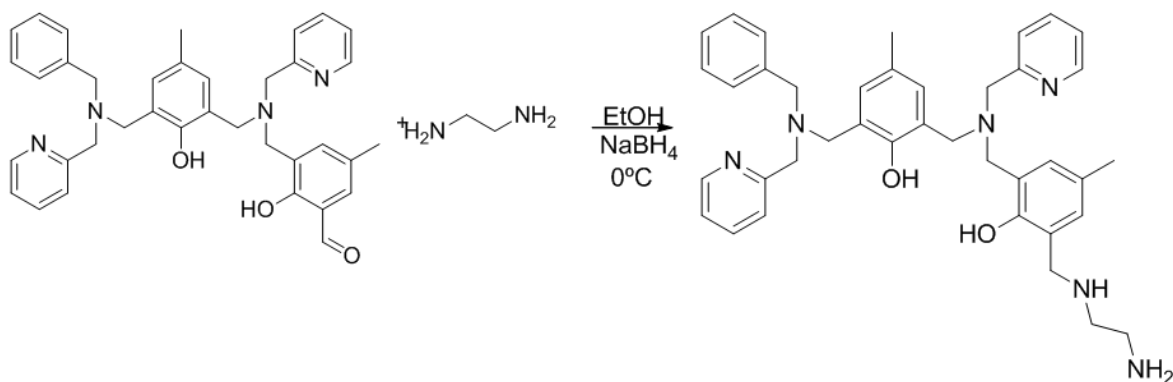


IR, em  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu$  ( $\text{C-H}_{\text{ar}}$  e  $\text{C-H}_{\text{alif}}$ ) 3087-2825;  $\nu$  ( $\text{C=N}$  e  $\text{C=C}$ ) 1596-1475;  $\nu$  ( $\text{C=O}_{\text{aldeído}}$ ) 1677;  $\delta$  ( $\text{OH}_{\text{fenol}}$ ) 1370;  $\nu$  ( $\text{C-O}_{\text{fenol}}$ ) 1225;  $\delta$  ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ) 755.

**Figura 10** - Espectro de  $^1\text{H-NMR}$  do ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$ 

$^1\text{H-NMR}$   $\delta_{\text{H}}$  (200 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) em ppm: 10,2 [s, 1H, aldeído– não troca com  $\text{D}_2\text{O}$ ]; 8,5 [d, 2H, Py]; 7,55-7,70 [q, 2  $\text{H}_{\text{ar}}$ ]; 7,12-7,40 [m, 11  $\text{H}_{\text{ar}}$ ]; 6,82-6,92 [d, 2 $\text{H}_{\text{ar}}$ ]; 3,8-3,6 [m, 12H,  $\text{CH}_2$ ], 2,2 [s, 6H,  $\text{CH}_3$ ].

### 3.1.2 Síntese do ligante 2-[(N-benzil-N-2-piridilmetilamina)]-4-metil-6-[N-(2-piridilmetil)aminometil)]-6((2-aminoetil)amino)-metilfenol – $\text{H}_2\text{BPPAMFFEt}$

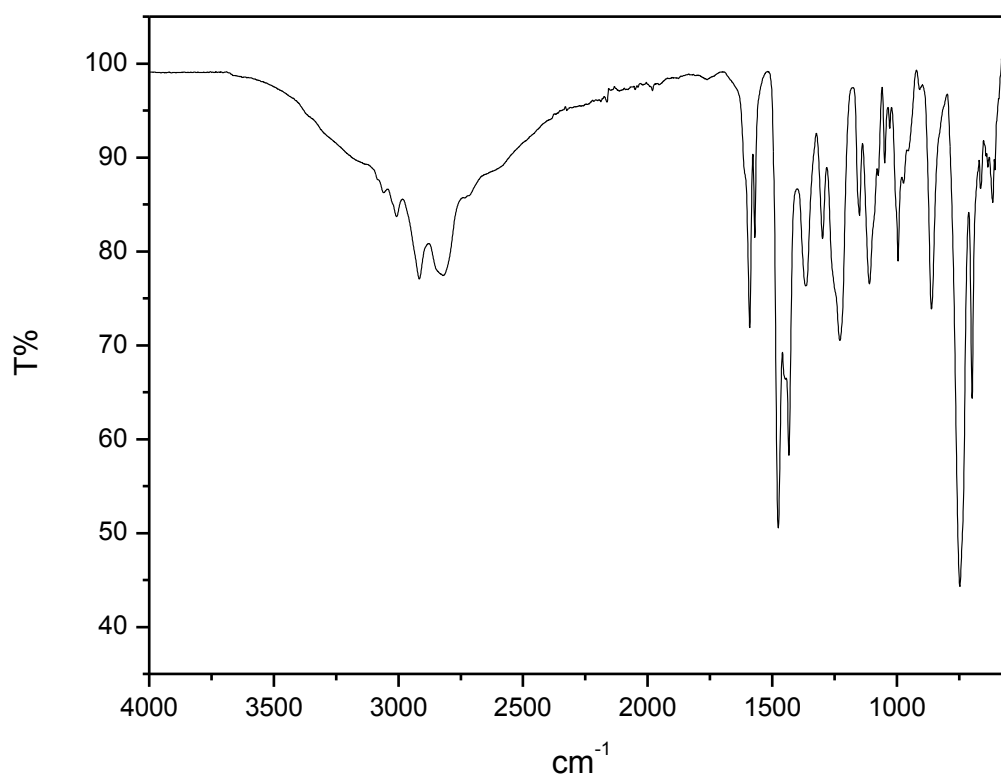
**Esquema 9** - Rota sintética do  $\text{H}_2\text{BPPAMFFEt}$ 

Adaptado de PIOVEZAN, 2010<sup>20</sup>.

Em um balão de 500mL contendo solução de etilenodiamina (4mL, 60mmol) em 150mL de  $\text{EtOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2:1) e banho de gelo, foi adicionado, com funil de

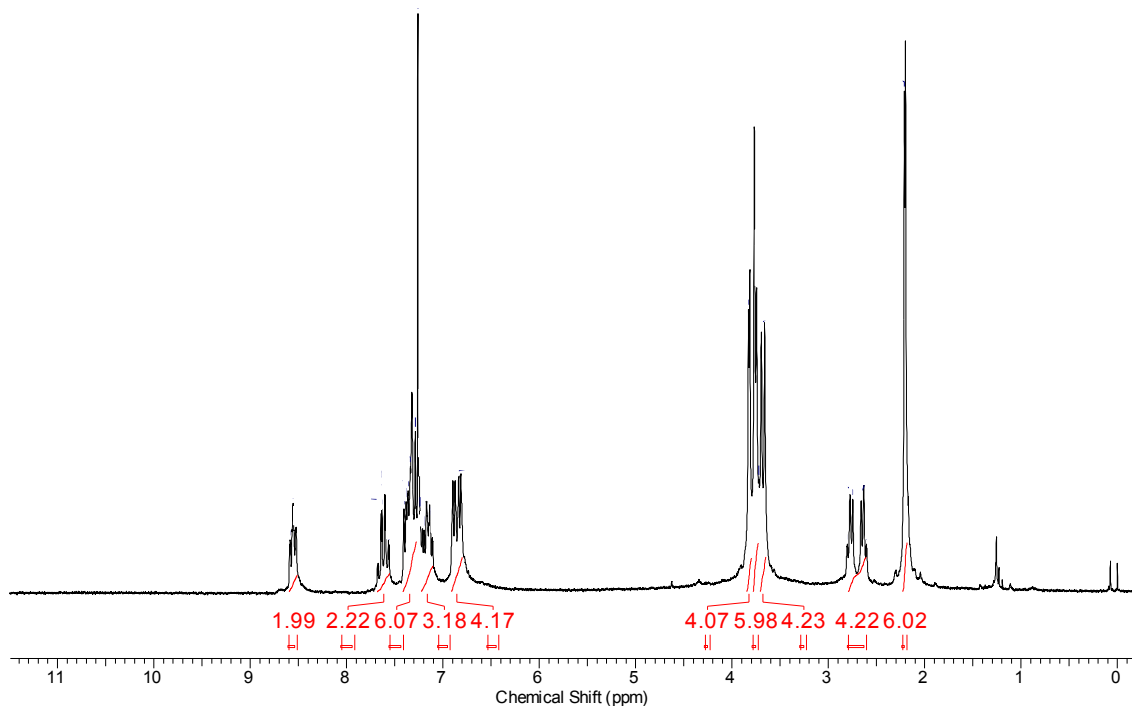
adição, H<sub>2</sub>BPPAMFF (3,52g, 5,9mmol em 50mL de EtOH). A solução permaneceu sob agitação em temperatura ambiente *overnight*. Após, o sistema foi colocado em banho de gelo e foi adicionado borohidreto de sódio (2,72g, 72mmol) em pequenas porções, pelo período de 1 (uma) hora. Em seguida, este ficou sob agitação por três horas. Adicionou-se HCl 6 mol L<sup>-1</sup> até que o pH da mistura se igualasse a 5, para, então, concentrá-lo a baixa pressão. Após, foi inserido 30mL de CHCl<sub>3</sub> e o produto foi lavado: uma vez com 25mL NaHCO<sub>3</sub> duas vezes com 25 mL NaCl<sub>(sat)</sub>, três vezes com NaHCO<sub>3</sub> e, por fim, mais uma vez com 25 mL NaCl<sub>(sat)</sub>, tomando-se cuidado com a formação de emulsões. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi retirado com o uso do rotaevaporador. Obteve-se um sólido rosa claro como produto, com um rendimento de 87,5% em relação ao BPAPyFF. Por fim, o H<sub>2</sub>BPPAMFFEt foi caracterizado por espectroscopia no IR e <sup>1</sup>H-NMR, como mostram as figuras 11 e 12, respectivamente.

**Figura 11** - Espectro de IR (módulo ATR) do ligante H<sub>2</sub>BPPAMFFEt



IR, em cm<sup>-1</sup>:  $\nu$  (C-H<sub>ar</sub> e C-H<sub>alif</sub>) 2926-2825;  $\nu$  (C=N e C=C) 1473-1427;  $\delta$  (OH<sub>fenol</sub>) 1366;  $\nu$  (C-O<sub>fenol</sub>)1231;  $\delta$  (C-H<sub>Ar</sub>) 741.

**Figura 12** - Espectro de  $^1\text{H-NMR}$  do ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFFEt}$



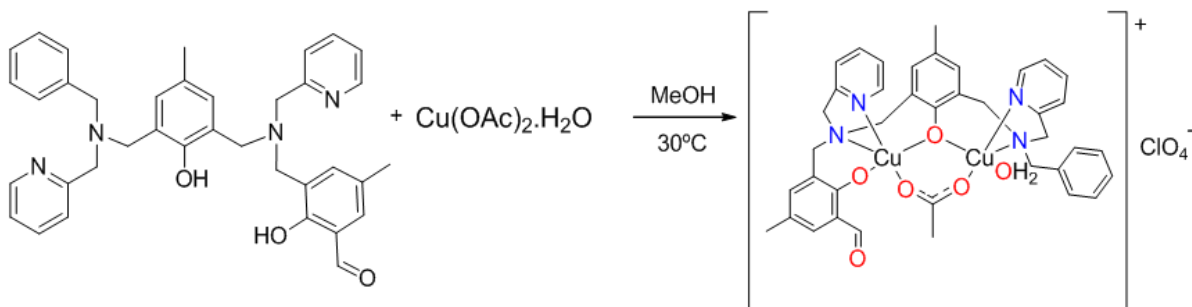
$^1\text{H-NMR}$   $\delta_{\text{H}}$  (200 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) em ppm: 8,5 [d, 2H, Py]; 7,7-7,59 [td, 2H<sub>Ar</sub>]; 7,48-7,12 [m, 9H<sub>Ar</sub>]; 6,95-6,78 [dd, 4H<sub>Ar</sub>]; 3,8-3,6 [m, 14H, CH<sub>2</sub>], 2,7-2,6 [dd, 4H, CH<sub>2</sub>]; 2,2[s, 6H, CH<sub>3</sub>].

### 3.2 Síntese dos Complexos

Neste trabalho foram sintetizados dois complexos de cobre(II) como potenciais modelos biomiméticos para a enzima catecol oxidase. O primeiro deles utilizou apenas o ligante obtido por meio da metodologia de Clovis Piovezan<sup>20</sup> ( $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$ ), e pode ser descrito pela fórmula  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$ . Já o segundo utilizou um novo ligante, obtido por meio da reação de aminação reductiva ( $\text{H}_2\text{BPPAMFFEt}$ ), e pode ser descrito pela fórmula  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ . A seguir, será apresentada a rota de síntese de ambos os complexos.

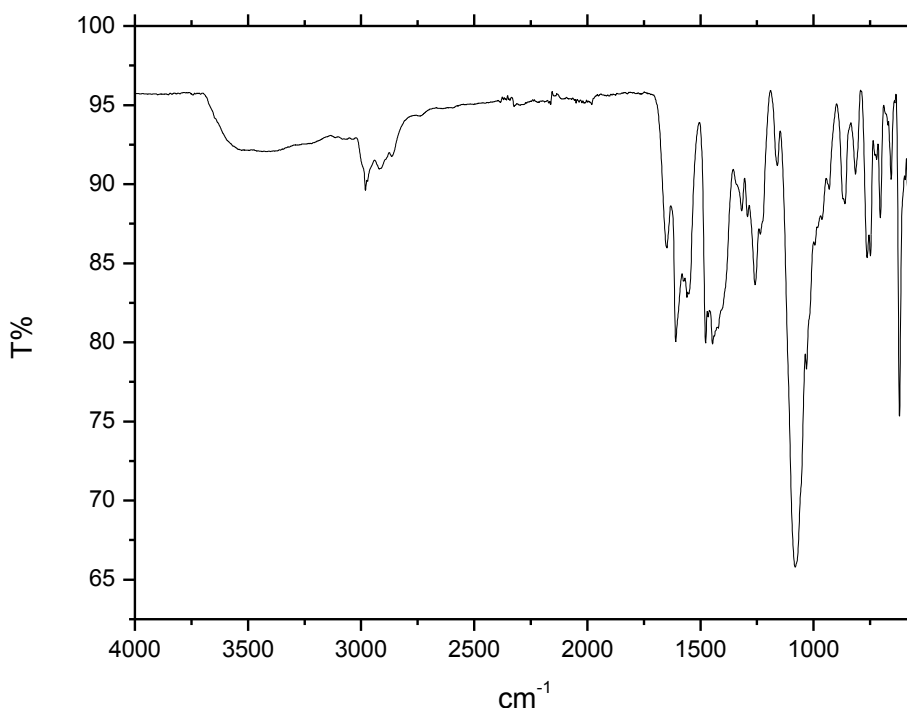
### 3.2.1 Síntese do complexo $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$

**Esquema 10-** Rota sintética do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$



Em um béquer de 50mL, foi adicionado cerca de 15 mL de metanol ao ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$  (0,29g, 0,5mmol), deixando-se o sistema a 30°C e sob agitação constante, para solubilização. Uma pequena quantidade de metanol também foi adicionada ao acetato de cobre (0,14g, 1mmol), agitando-se por meio de uma barra magnética, para sua solubilização. Após a solubilização, este foi adicionado gota a gota ao ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$  e permaneceu na chapa de aquecimento e sob agitação. A solução apresentou uma coloração verde escura. Então, o perclorato de sódio (0,12g, 0,5mmol) foi adicionado à solução. Após uma semana, obteve-se um sólido verde escuro como produto.

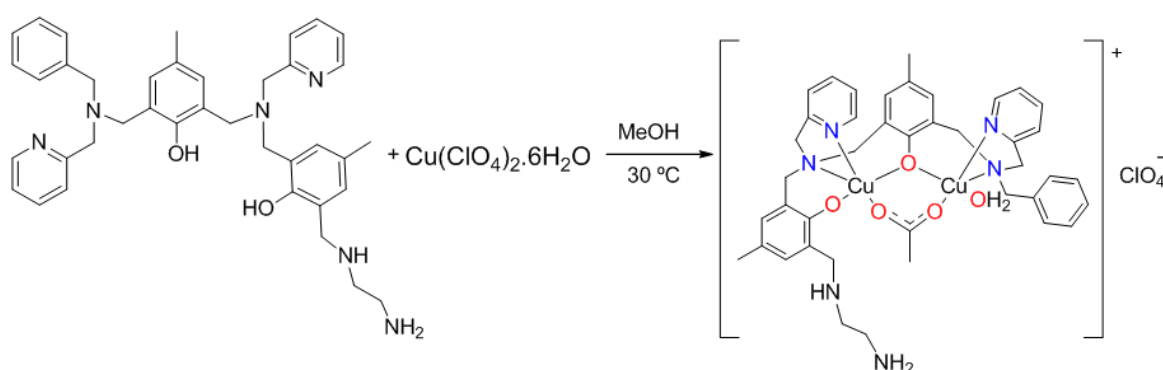
**Figura 13** - Espectro de IR (módulo ATR) do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$



IR, em  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ) 3348-3558;  $\nu$  ( $\text{C-H}_{ar}$  e  $\text{C-H}_{alif}$ ) 3136-2757;  $\nu$  ( $\text{C=O}_{aldeído}$ ) 1650;  $\nu$  ( $\text{OAc}_{assimétrico}$ ) 1609;  $\nu$  ( $\text{C=N}$  e  $\text{C=C}$ ) 1540;  $\nu$  ( $\text{OAc}_{simétrico}$ ) 1448;  $\nu$  ( $\text{C-O}_{fenol}$ ) 1260;  $\nu$  ( $\text{ClO}_4^-$ ) 1080;  $\delta$  ( $\text{C-H}_{Ar}$ ) 747.

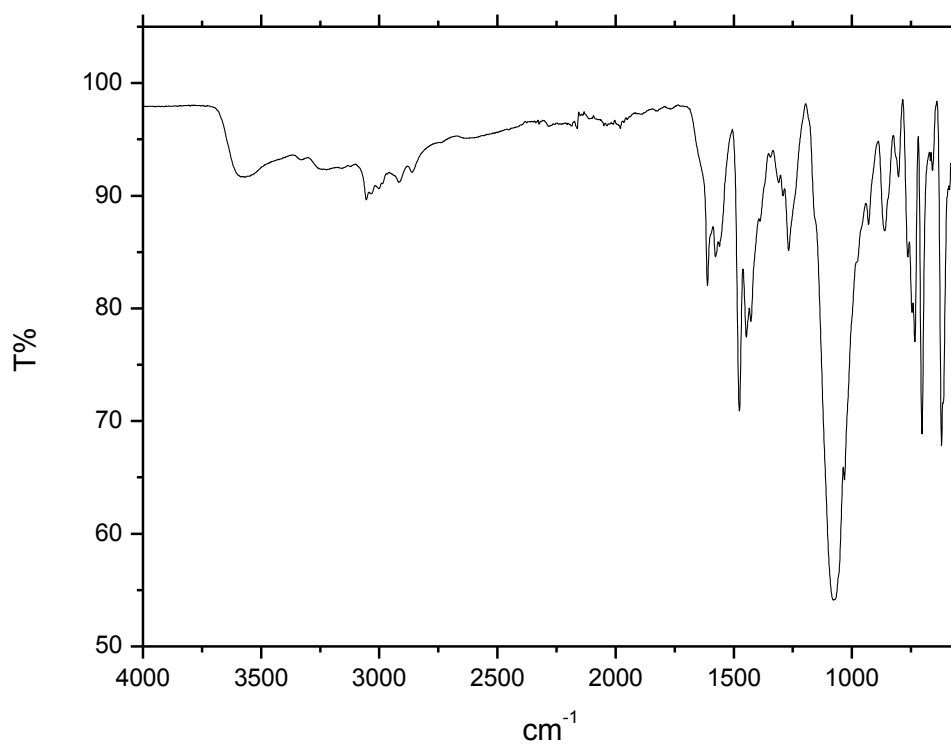
### 3.2.2. Síntese do complexo $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$

**Esquema 11** - Rota sintética do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$



Um béquer de 100mL contendo uma solução metanólica de perclorato de cobre hexahidratado (0,37g, 1mmol) foi deixado a  $30^\circ\text{C}$  e sob agitação constante, para solubilização. Na sequência, o ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFFEt}$  (0,32g, 0,5mmol em 2:1  $\text{MeOH}/\text{ACN}$ ) foi adicionado gota a gota, com agitação manual para solubilização. Após inseriu-se acetato de sódio (0,14g, 1mmol). A solução ficou verde escura. Após uma semana, obteve-se um sólido verde escuro como produto.



**Figura 14-** Espectro de IR (módulo ATR) do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ 

IR, em  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ) 3579;  $\nu$  ( $\text{C-H}_{\text{ar}}$  e  $\text{C-H}_{\text{alif}}$ ) 3100-2849;  $\nu$  ( $\text{OAc}_{\text{assimétrico}}$ ) 1610;  $\nu$  ( $\text{C=N}$  e  $\text{C=C}$ ) 1562;  $\nu$  ( $\text{OAc}_{\text{simétrico}}$ ) 1473;  $\nu$  ( $\text{C-O}_{\text{fenol}}$ ) 1272;  $\nu$  ( $\text{ClO}_4^-$ ) 1069;  $\delta$  ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ) 729.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS DE INSTRUMENTAÇÃO

### 4.1 Materiais

Os reagentes e seus solventes subsequentes, empregados nas sínteses e nas análises, foram adquiridos de fontes comerciais.

Foram utilizados sem purificação prévia: *p*-cresol, hidróxido de sódio, ácido clorídrico 37%, sulfato de sódio anidro, hidróxido de potássio, dietilenotriamina, 2-hidroxibenzaldeído, água destilada, bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, borohidreto de sódio, acetonitrila p.a., UV/HPLC e LC/MS, metanol p.a. UV/HPLC e LC/MS, diclorometano UV/HPLC, ácido sulfúrico 98%, fenol, brometo de potássio grau espectroscópico, tampões biológicos MES e TRIS, acetato de sódio trihidratado, perclorato de cobre(II) hexahidratado, perclorato de sódio, ferroceno, argônio (grau analítico 5.0), nitrogênio 2.0, gás O<sub>2</sub> (grau analítico 2.8), clorofórmio deuterado, clorofórmio p.a., diclorometano p.a., tetrahidrofurano p.a., etanol absoluto e UV/HPLC, acetona p.a.

Foram utilizados após purificação prévia: 2-(2-aminometil)piridina (destilada à pressão reduzida), trietilamina (destilada à pressão reduzida) e 3,5-di-*tert*-butilcatecol (3,5- DTBC), recristalizado em hexano.

### 4.2. Métodos de instrumentação

A caracterização e aplicação dos compostos foi feita utilizando os seguintes equipamentos e técnicas:

#### 4.2.1 Espectroscopia no infravermelho – IR

Os espectros das amostras foram adquiridos na região do infravermelho em um espectrofotômetro com Transformada de Fourier e com acessório de Refletância Total Atenuada Horizontal (FTIR – ATR) da Perkin-Elmer Spectrophotometer Spectrum 100, realizados no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC), Departamento de Química da UFSC. As amostras sólidas foram colocadas diretamente no aparelho sobre o cristal por refletância total atenuada, no intervalo 4000 - 500 cm<sup>-1</sup>. As medidas das amostras foram corrigidas pelo espectro do branco

que foi registrado somente com o background feito com ar ambiente, ou seja, sem nada sobre o cristal e posteriormente subtraído do espectro da amostra. A temperatura ambiente da sala encontrava-se em torno de 25 °C.

#### **4.2.2 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio – $^1\text{H}$ NMR**

Os espectros de  $^1\text{H}$ -NMR foram efetuados em um espectrofotômetro Bruker-AC 200 MHz na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC. Os deslocamentos químicos de hidrogênio ( $\delta$ ) foram registrados em ppm utilizando como referência interna tetrametilsilano (TMS,  $\delta = 0,00$  ppm) e  $\text{CDCl}_3$  como solvente.

#### **4.2.3 Espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-Vis)**

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta, visível e infravermelho próximo, foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo Lambda-750, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia do Departamento de Química da UFSC.

As leituras foram efetuadas em cubetas de quartzo com capacidade para 1 mL e caminho óptico de 1 cm, sempre utilizando-se solventes de grau espectroscópico.

Experimentos de reflectância difusa - estado sólido - foram realizados no mesmo equipamento por meio do módulo acoplável, onde as amostras foram dispersas em pastilha de KBr espectroscópico.

#### **4.2.4 Espectrometria de massas**

Os ligantes e os complexos foram estudados via espectrometria de massas com ionização via electrospray (ESI-MS). Os espectros de massa dos complexos foram obtidos no equipamento Amazon - *IonsTrap MS* do Centro de Biologia Molecular Estrutural – UFSC. As análises foram realizadas em soluções de  $\text{CH}_3\text{CN}$  e/ou MeOH de grau MS, a partir de soluções dos complexos com concentração de 500 ppb com fluxo de  $180 \mu\text{L min}^{-1}$ . A temperatura do capilar foi mantida entre 180 e 200 °C e a voltagem do capilar entre -400 e -500 V.

#### 4.2.5 Medida Eletroquímica

O comportamento redox dos complexos foi investigado por voltametria cíclica e de onda quadrada em um potenciostato/galvanostato da Princeton Applied Research (PAR) - modelo 273 -, realizado no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC) do Departamento de Química da UFSC. Os experimentos foram feitos com soluções metanólicas dos complexos sob atmosfera de argônio, com concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e utilizando o  $\text{NaClO}_4$  ( $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ) como eletrólito de suporte. Foi utilizado uma célula eletrolítica contendo um eletrodo de referência de  $\text{Ag/Ag}^+$ , um eletrodo de trabalho de carbono vítreo, um eletrodo auxiliar de platina e como padrão interno o composto ferroceno (par  $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ ) para correção do eletrodo de referência.

#### 4.2.6 Condutividade molar

As medidas condutivimétricas dos complexos foram realizadas no aparelho Metrohm 856, do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC) do Departamento de Química da UFSC. Os compostos de coordenação foram dissolvidos em  $\text{CH}_3\text{CN}$ , com concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . O aparelho foi calibrado com uma solução padrão de  $\text{KCl}$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  cuja condutividade é de  $100 \mu\text{S cm}^{-1}$  em água a  $25^\circ\text{C}^{22}$ .

#### 4.2.7 Cinética de Oxidação

As atividades catalíticas dos complexos foram avaliadas através da reação de oxidação do substrato 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-DTBC). Os experimentos cinéticos foram realizados sob condições de excesso de substrato em um espectrômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatizado ( $25^\circ\text{C}$ ), no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC), do departamento de Química – UFSC. Monitorou-se espectrofotometricamente a variação de absorvância ocorrida em 400 nm ( $\epsilon = 1645 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), devido a formação da 3,5-di-*terc*-butilquinona (3,5- DTBQ)<sup>23,24</sup>.

Estudos em função do pH (5,0-9,0) para a atividade de catecolase do complexo foram realizados em triplicata e com concentração fixa de substrato. Utilizaram-se cubetas de vidro óptico com capacidade para 4000  $\mu\text{L}$  e caminho

óptico de 1,0 cm, fechadas com tampa de teflon, onde foram adicionados nesta ordem, 50  $\mu\text{L}$  de solução aquosa ( $[\text{T}]_{\text{final}} = 3,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) dos tampões: (MES pH 4,0 a 6,5 e TRIS pH 7,0 a 9,0), 1000  $\mu\text{L}$  de metanol saturado com oxigênio, 400  $\mu\text{L}$  de uma solução metanólica do substrato ( $[\text{S}]_{\text{final}} = 5,40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) e 50  $\mu\text{L}$  de solução do complexo ( $[\text{C}]_{\text{final}} = 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ). A reação foi monitorada durante 15 minutos. Em todos os experimentos, o volume final da mistura reacional na cubeta foi de 1,5 mL. Correções da oxidação espontânea do substrato 3,5 – DTBC foram realizadas sob condições idênticas, sem a adição do complexo.

Os experimentos cinéticos em condições de excesso de substrato foram realizados em triplicata e com variação da concentração de substrato ( $1,34 \times 10^{-3} - 9,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ), adição de 50  $\mu\text{L}$  de solução aquosa de tampão TRIS, pH 8,50 ( $[\text{T}]_{\text{final}} = 3,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ), 50  $\mu\text{L}$  de uma solução metanólica de complexo ( $[\text{C}]_{\text{final}} = 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e variou-se a adição de metanol saturado com oxigênio, de maneira que o volume final da cubeta foi de 1,5 mL em todas as medidas. Correções da oxidação espontânea do substrato 3,5 – DTBC foram realizadas sob condições idênticas, sem a adição do complexo. As velocidades iniciais foram obtidas da inclinação da curva da absorbância *versus* o tempo nos primeiros minutos da reação, pelo método das velocidades iniciais.

A formação de peróxido de hidrogênio nas reações de oxidação do 3,5-dtbc catalisadas pelos complexos foi detectada por uma modificação do método da iodometria<sup>25</sup>.

Uma mistura reacional foi preparada da mesma forma que nos experimentos cinéticos, ou seja: concentração de complexo ( $[\text{C}]_{\text{final}} = 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ), concentração de tampão ( $[\text{T}]_{\text{final}} = 3,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ), pH = 8,5, e concentração de substrato ( $[\text{S}]_{\text{final}} = 5,40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ). Após uma hora de reação, igual volume de água foi adicionado e a quinona foi extraída com diclorometano. A camada aquosa foi acidificada com ácido sulfúrico concentrado a  $\text{pH} \cong 2$ , para interromper a reação de oxidação e 1 mL de solução aquosa de iodeto de potássio ( $[\text{iodeto}] = 0,3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Na presença de peróxido de hidrogênio ocorre a seguinte reação:  $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{I}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{I}_2$ , e, e em excesso de iodeto ocorre à formação do íon triiodeto:  $\text{I}_{2(\text{aq})} + \text{I}^- \rightarrow \text{I}_3^-$ . Esta reação geralmente é lenta, mas em meio ácido torna-se praticamente instantânea. A formação do  $\text{I}_3^-$  pode ser monitorada espectrofotometricamente devido ao surgimento de uma banda característica em 353 nm ( $\epsilon = 26000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

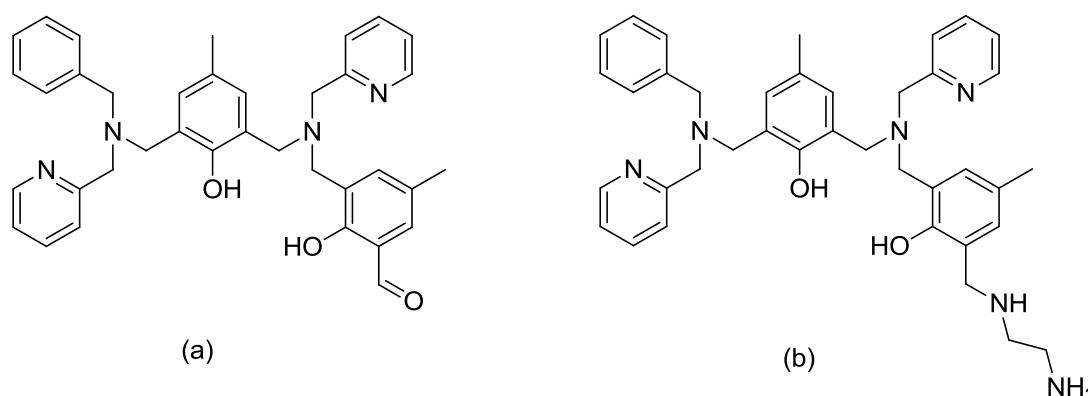
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão relatadas as caracterizações e discussões relativas às sínteses dos ligantes e dos complexos, bem como dos estudos de reatividade destes últimos.

### 5.1 Estudo e caracterização dos ligantes

Neste trabalho foram sintetizados dois ligantes não simétricos inéditos na literatura, doravante denominados H<sub>2</sub>BPPAMFF e o H<sub>2</sub>BPPAMFFEt e representados a seguir:

**Esquema 12** - Representação dos ligantes sintetizados neste trabalho: (a) H<sub>2</sub>BPPAMFF; (b) H<sub>2</sub>BPPAMFFEt



Tais ligantes foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e por espectrometria de massas. A síntese do ligante H<sub>2</sub>BPPAMFF ocorreu por meio de uma adição nucleofílica entre o ligante BPAPyFF e o cmff, a qual utiliza a Et<sub>3</sub>N como base para a formação do sal hidrocloreto de trietilamina e, assim, remove o cloreto de hidrogênio da mistura reacional. O ligante H<sub>2</sub>BPPAMFFEt, por sua vez, foi sintetizado por meio de uma reação de aminação redutiva entre o ligante H<sub>2</sub>BPPAMFF e uma solução de etilenodiamina, a qual empregou o ácido clorídrico como catalisador ácido. Os dois ligantes apresentaram rendimentos e grau de pureza adequada para a realização das sínteses dos complexos.

### 5.1.1 Espectroscopia no infravermelho – IR

Todos os ligantes, assim como seus precursores, foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho, com a conseguinte atribuição de suas principais bandas, o que fornece um instrumento útil para acompanhar a formação dos compostos em cada etapa da reação. Os valores encontrados são apresentados na seguinte tabela:

**Tabela 2** - Principais bandas e atribuições<sup>26</sup> dos espectros no infravermelho para os compostos H<sub>2</sub>BPPAMFF e H<sub>2</sub>BPPAMFFEt

Atribuições (cm <sup>-1</sup> )	H <sub>2</sub> BPPAMFF	H <sub>2</sub> BPPAMFFEt
v (C-H <sub>ar</sub> C-H <sub>alif</sub> )	3087-2825	2926-2825
v (C=N e C=C)	1596-1475	1473-1427
v (C=O aldeído)	1677	-
v (C-O fenol)	1225	1231
δ OH <sub>fenol</sub>	1370	1366
δ (C-H <sub>ar</sub> )	755	741

A espectroscopia na região do infravermelho trata da análise da interação entre a radiação infravermelha e uma molécula orgânica ou inorgânica, por meio da medição das vibrações das ligações interatômicas irradiadas. As radiações de infravermelho configuram a parte do espectro eletromagnético entre as regiões do visível e das micro-ondas<sup>26</sup>. A porção que vai de 10.000 cm<sup>-1</sup> a 100 cm<sup>-1</sup> costuma ser absorvida e convertida por uma molécula orgânica em energia de vibração molecular, também chamada de transição vibracional<sup>27</sup>. A frequência e a intensidade com que determinadas ligações químicas absorverão a radiação infravermelha podem ser correlacionadas com os grupos funcionais presentes na molécula submetida à teste.

Conforme se verifica da tabela apresentada, em ambos os espectros de infravermelho foi possível notar a presença de banda referente ao estiramento axial C-O<sub>fenol</sub> e banda de deformação angular OH<sub>fenol</sub> em regiões similares. Destaca-se que os valores foram compatíveis com aqueles descritos pela literatura, já que as

bandas de estiramento axial C-O<sub>fenol</sub> frequentemente absorvem em 1260-1180 cm<sup>-1</sup><sup>26</sup> e as banda de deformação angular OH<sub>fenol</sub> em 1390-1330 cm<sup>-1</sup>, enquanto que neste trabalho o composto contendo o aldeído foi caracterizado em 1225 e 1370 cm<sup>-1</sup> e o composto com a etilenodiamina em 1231 e 1366 cm<sup>-1</sup>.

Com efeito, ambos os ligantes apresentaram bandas em regiões semelhantes, provavelmente devido à sua similaridade estrutural. No entanto, o composto H<sub>2</sub>BPPAMFF apresentou banda característica do grupamento aldeído, o que não ocorreu com o composto H<sub>2</sub>BPPAMFFEt. De fato, a ausência do estiramento C=O referente ao aldeído, comumente observado entre a região de 1740-1720 cm<sup>-1</sup><sup>26</sup>, e verificada no H<sub>2</sub>BPPAMFF em 1677 cm<sup>-1</sup>, é a principal evidência da formação do ligante contendo a etilenodiamina.

Por outro lado, no que se refere à presença de bandas de estiramento das aminas primárias e secundárias compatíveis com a presença do grupo etilenodiamina, essas não foram visualizadas na região características do espectro (entre 3300-3500 cm<sup>-1</sup><sup>26</sup>), que apenas demonstra uma faixa alargada na região de 3300 cm<sup>-1</sup>. Supõe-se que tal fenômeno pode ter ocorrido devido à sobreposição de uma banda de deformação axial O-H de uma molécula de água, nos termos enunciados por Miessler<sup>28</sup> sobre a possibilidade de haver redução do número de bandas observadas em relação às bandas teóricas devido à sobreposição entre elas.

Ademais, importante ressaltar-se que nem sempre a ausência de absorção nos espectros esperados para os diferentes grupos funcionais deve ser tomada como evidência da ausência de tais grupos na molécula<sup>26</sup>. Desse modo, a fim de elucidar a caracterização dos ligantes e fornecer mais segurança para as análises, esses foram submetidos ao teste de espectrometria de massas, inclusive porque um tratamento preciso das vibrações de uma molécula complexa não é factível, mas deve ser interpretado em conjunto com outras comparações empíricas<sup>26</sup>.

### 5.1.2 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio – <sup>1</sup>H- NMR

A espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (<sup>1</sup>H- NMR) foi outra ferramenta utilizada na caracterização dos ligantes. A integração dos picos observados no espectro é usualmente proporcional ao número de átomos de hidrogênio presente no composto. Além disso, o espectro de <sup>1</sup>H-NMR pode fornecer



informações estruturais muito úteis acerca deste último, tal como a distinção dos átomos de hidrogênio em ambientes diferentes<sup>28</sup>, a qual é baseado em propriedades de blindagem eletrônica relacionadas a cada átomo de hidrogênio do composto.

Os valores de deslocamento químico ( $\delta_H$  em ppm), o número de átomos de hidrogênio correspondentes e as atribuições dos sinais<sup>26</sup> obtidos para os ligantes H<sub>2</sub>BPPAMFF e H<sub>2</sub>BPPAMFFEt são demonstrados na tabela a seguir:

**Tabela 3** - Deslocamentos químicos, em ppm, observados nos espectros de <sup>1</sup>H NMR para os compostos H<sub>2</sub>BPPAMFF e H<sub>2</sub>BPPAMFFEt

Atribuições	H <sub>2</sub> BPPAMFF	H <sub>2</sub> BPPAMFF*	H <sub>2</sub> BPPAMFFEt
CH <sub>3</sub>	2,2 (s, 6H)	2,2 (6H)	2,2 (s, 6H)
CH <sub>2</sub>	-		2,7-2,6 (dd, 4H)
C-H <sub>ar</sub>	7,55-7,70 (q, 2H) 7,12-7,40 (m, 11H)	6,8-7,6 (15H)	7,7-7,59 (td, 2H) 7,48-7,1 (m, 9H)
	6,82-6,92 (d, 2H)		6,95-6,78 (dd, 4H)
	8,5 (d, 2H <sub>py</sub> )	8,5 (2H <sub>py</sub> )	8,5 (d, 2H <sub>py</sub> )
Ar-CH <sub>2</sub> -N	3,8-3,6 (m, 12H)	3,8-3,6 (12H)	3,8-3,6 (m, 14H)
C-H <sub>aldeído</sub>	10,2 (s, 1H)	10,2 (1H)	-

\* Valores de referência obtidos por PIOVEZAN<sup>20</sup>, página 50.

Conforme se observa da tabela, ambos os ligantes apresentaram bandas em regiões semelhantes, devido à sua similaridade estrutural. Ambos os ligantes apresentaram um singleto em 2,2 ppm, referente aos 6 (seis) átomos de hidrogênio de suas metilas. A região aromática dos dois compostos é rica em elétrons e, por esse motivo, o deslocamento químico é maior do que os átomos de hidrogênio alifáticos, apresentando picos entre 6,78 e 8,5 ppm, sendo este último pico similar nos dois espectros, relativo aos 2 (dois) átomos de hidrogênio vizinhos ao nitrogênio das piridinas. Além disso, os picos entre 3,6 e 3,8 ppm dos átomos de hidrogênio vizinhos aos anéis aromáticos e ao nitrogênio também são análogos nos dois ligantes, com a integração dos sinais mostrando 12 (doze) átomos de hidrogênio na molécula H<sub>2</sub>BPPAMFF e 14 (quatorze) átomos de hidrogênio na molécula H<sub>2</sub>BPPAMFFEt, em consonância com as estruturas esperadas.

No entanto, o composto H<sub>2</sub>BPPAMFF apresentou um singleto na região característica do hidrogênio do aldeído, o que não ocorreu com o composto H<sub>2</sub>BPPAMFFEt. De fato, a ausência do pico referente ao hidrogênio do aldeído, comumente observado em regiões mais deslocadas do espectro<sup>26</sup>, e verificada no H<sub>2</sub>BPPAMFF em 10,2 ppm é a principal evidência da formação do ligante contendo a etilenodiamina. Ademais, o aparecimento de um sinal em 2,7-2,6 ppm neste último composto pode ser referente aos 4 (quatro) átomos de hidrogênio provenientes dos carbonos da etilenodiamina, em conformidade com as estruturas propostas.

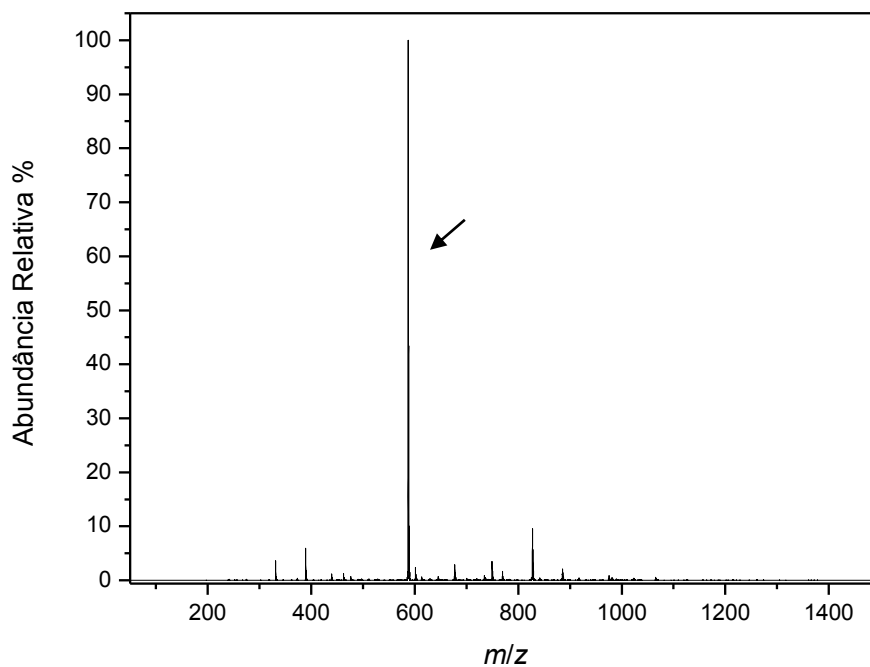
### 5.1.3 Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray – ESI-MS

A espectrometria de massas (ESI-MS) é uma técnica analítica na qual as moléculas de interesse são ionizadas com base na relação entre massa e carga, o que resulta na representação de cada “unidade” dessa relação como um espectro. Tal número pode fornecer informações qualitativas e quantitativas sobre o composto em estudo<sup>26</sup>.

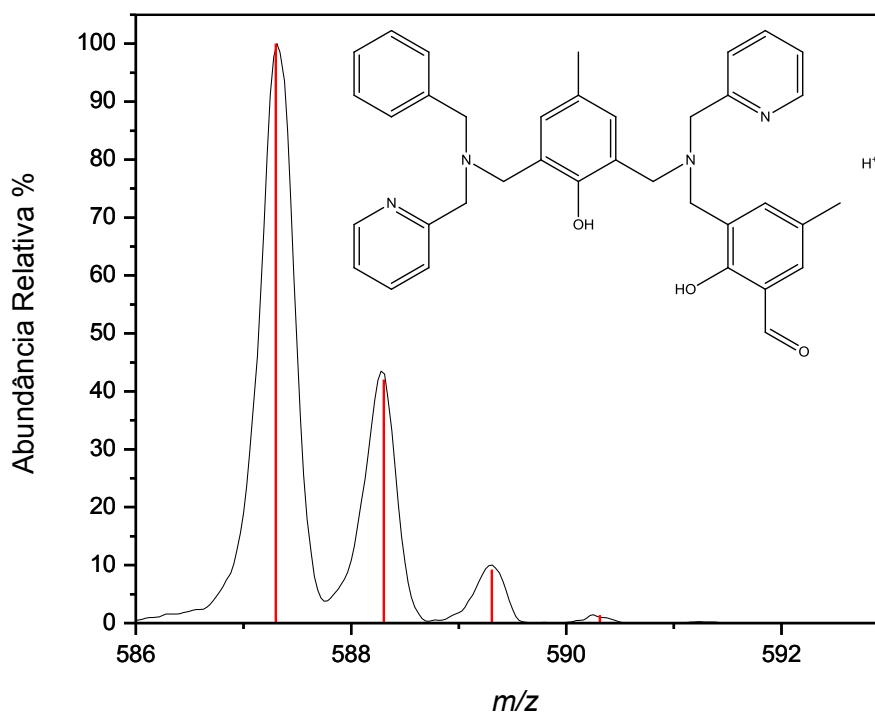
Na presente pesquisa, uma vez que os testes de infravermelho e NMR não foram absolutamente conclusivos com relação aos ligantes, procedeu-se ao teste de espectrometria de massas, o qual forneceu segurança para as conclusões do trabalho, porquanto confirmou tratar-se dos ligantes planejados, especialmente no que se refere à presença dos grupos funcionais aldeído e etilenodiamina.

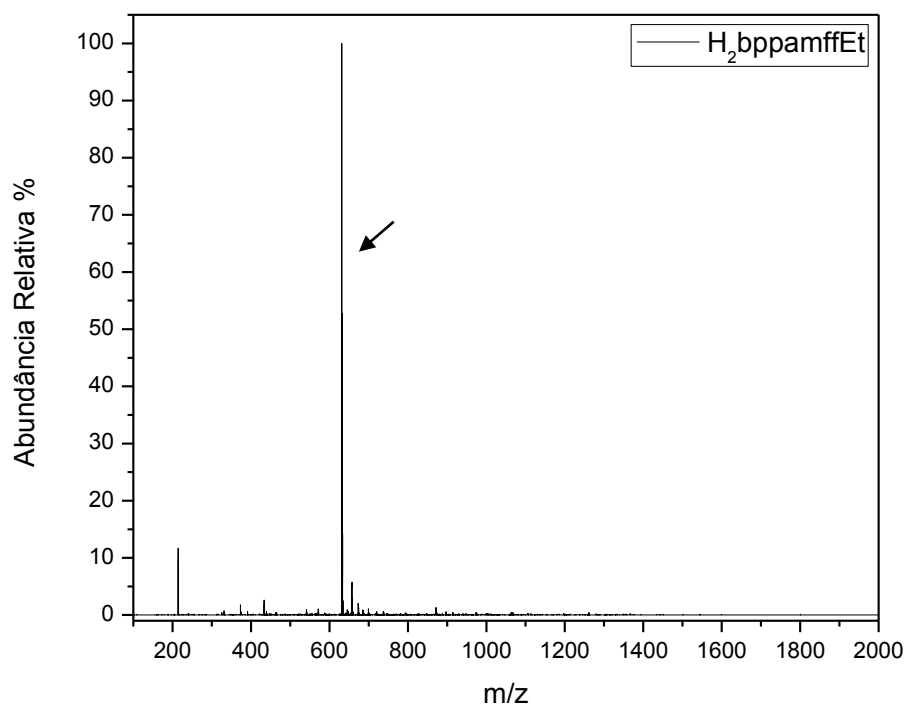
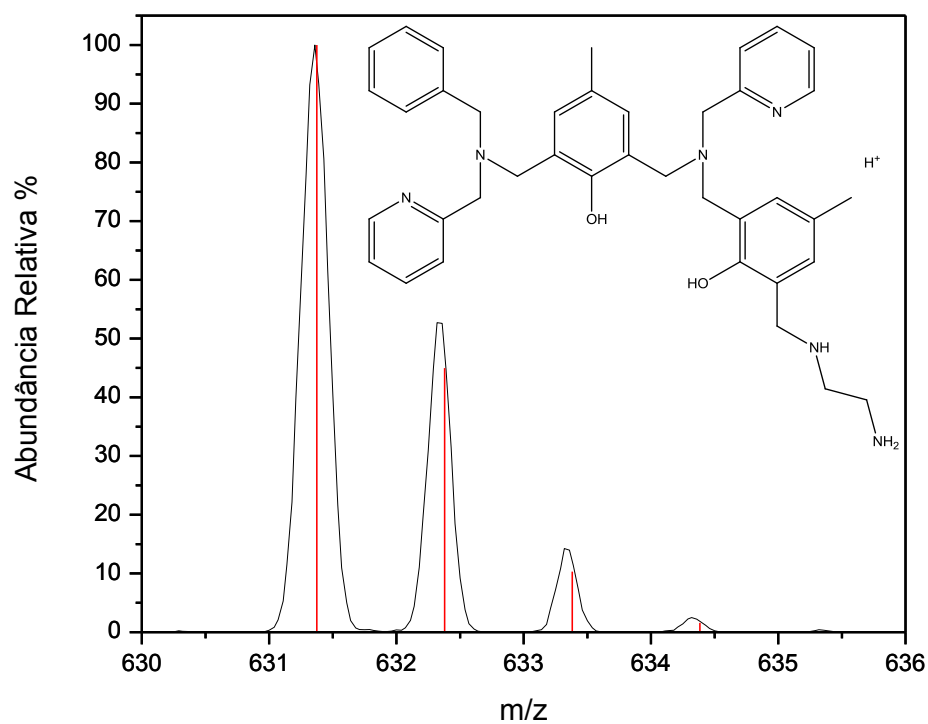
O evento mais simples que ocorre em um espectro de massas é a remoção de um elétron da molécula isolada, formando o íon molecular como pico de maior intensidade. No íon molecular pode-se imaginar a carga deslocalizada ou localizada em heteroátomos. O espectro de massas obtido para o ligante H<sub>2</sub>BPPAMFF apresentou um grupo de picos em razão massa/carga 587,30, enquanto que o ligante H<sub>2</sub>BPPAMFFEt apresentou um grupo de picos em razão massa/carga 631,45, também atribuída a uma espécie monovalente. Tais espectros de massas e espécies sugeridas são apresentados nas figuras a seguir, bem como seus respectivos espectros simulados, cujos picos foram coincidentes com a distribuição isotópica.

**Figura 15** - Espectro de massas experimental para o ligante H<sub>2</sub>BPPAMFF em CH<sub>3</sub>CN



**Figura 16** - Simulação da distribuição isotópica do ligante [H<sub>2</sub>BPPAMFF+ H<sup>+</sup>] sobreposta ao espectro experimental massa/carga 587,30

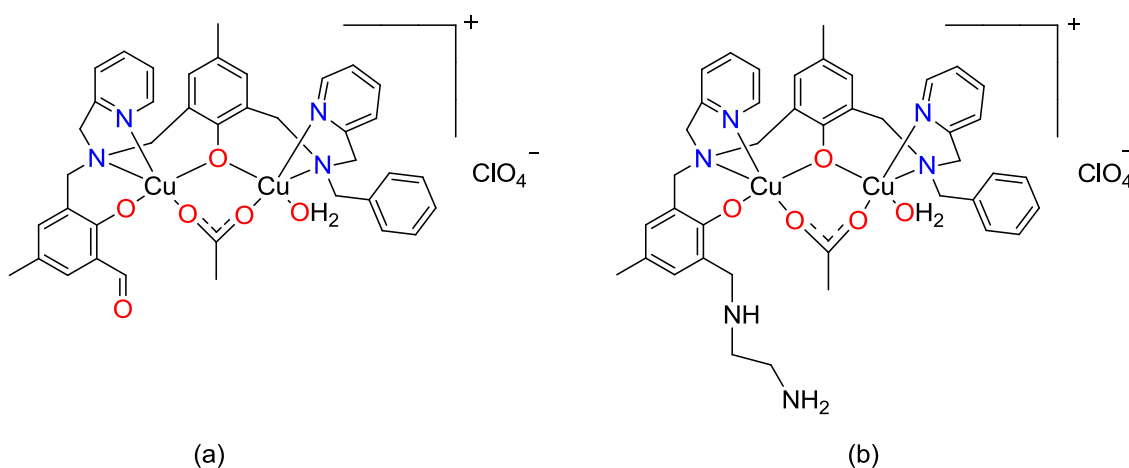


**Figura 17** - Espectro de massas experimental para o ligante H<sub>2</sub>BPPAMFFEt em CH<sub>3</sub>CN**Figura 18** - Simulação da distribuição isotópica do ligante [H<sub>2</sub>BPPAMFFEt + H<sup>+</sup>] sobreposta ao espectro experimental massa/carga 631,45

## 5.2 Estudo e caracterização dos complexos

Neste trabalho foram sintetizados dois complexos binucleares de cobre inéditos na literatura, denominados  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  e  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ , representados a seguir:

**Esquema 13** - Representação dos complexos sintetizados neste trabalho:  
(a)  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$ ; (b)  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$



Tais complexos foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho, espectroscopia na região do UV-Vis, medidas eletroquímicas, condutividade molar, espectrometria de massas, bem como os estudos de reatividade.

A síntese do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  ocorreu por meio de uma reação de complexação entre o ligante polidentado assimétrico  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$ , utilizando-se como sal o perclorato de cobre(II) hexahidratado. O complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ , por sua vez, foi sintetizado por meio de uma reação de complexação entre o ligante polidentado assimétrico  $\text{H}_2\text{BPPAMFFEt}$ , a qual empregou perclorato de cobre(II) hexahidratado como sal de partida. Os dois complexos apresentaram rendimentos e grau de pureza adequados para a realização dos testes de caracterização e de reatividade.

### 5.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IR

Ambos os complexos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho, com a conseguinte atribuição de suas principais bandas, o que fornece um instrumento útil para a caracterização inicial dos complexos. Além disso, a posição das bandas e suas intensidades podem indicar a função do ligante, o que auxilia na análise do ambiente eletrônico do metal<sup>26</sup>. Além disso, também foram atribuídas bandas adicionais para pontes, contra-íons e moléculas de água, conforme se verifica da tabela apresentada a seguir.

**Tabela 4** - Principais bandas e atribuições dos espectros no infravermelho para os complexos Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF) e Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt) e seus respectivos ligantes, para efeito de comparação.

Atribuições (cm <sup>-1</sup> )	Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF)	H <sub>2</sub> BPPAMFF	Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt)	H <sub>2</sub> BPPAMFFEt
v (C-H <sub>ar</sub> C-H <sub>alif</sub> )	3136-2757	3087-2825	3100-2849	2926-2825
v (C=N e C=C)	1540	1596-1475	1562	1473-1427
v (C=O) <sub>aldeído</sub>	1650	1677	-	-
v (C-O) <sub>fenol</sub>	1260	1225	1272	1231
δ (C-H <sub>ar</sub> )	747	755	729	741
v (ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	1080	-	1069	-
(OAc) <sub>assimétrico</sub>	1609	-	1610	-
(OAc) <sub>simétrico</sub>	1448	-	1473	-

Conforme se verifica da tabela apresentada, em ambos os espectros de infravermelho foi possível notar o aparecimento de bandas axiais C-O<sub>fenol</sub> em regiões similares. Destaca-se que os valores foram compatíveis com aqueles descritos pela literatura, já que as bandas axiais C-O<sub>fenol</sub> frequentemente absorvem em 1260-1180 cm<sup>-1</sup> <sup>26</sup>, enquanto que neste trabalho o composto contendo o aldeído foi caracterizado em 1260 e o composto com a etilenodiamina em 1272.

O espectro do complexo Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF) aponta bandas em 1609 e 1448 cm<sup>-1</sup>, atribuídas à presença do grupo acetato em ponte ( $\Delta v_{\text{ass}}v_{\text{sim}}$  de 161 cm<sup>-1</sup>)<sup>27</sup>, além do pico característico do contra-íon perclorato, em 1080 cm<sup>-1</sup>. O espectro do complexo Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt), por sua vez, apresenta as bandas referentes à ponte acetato em

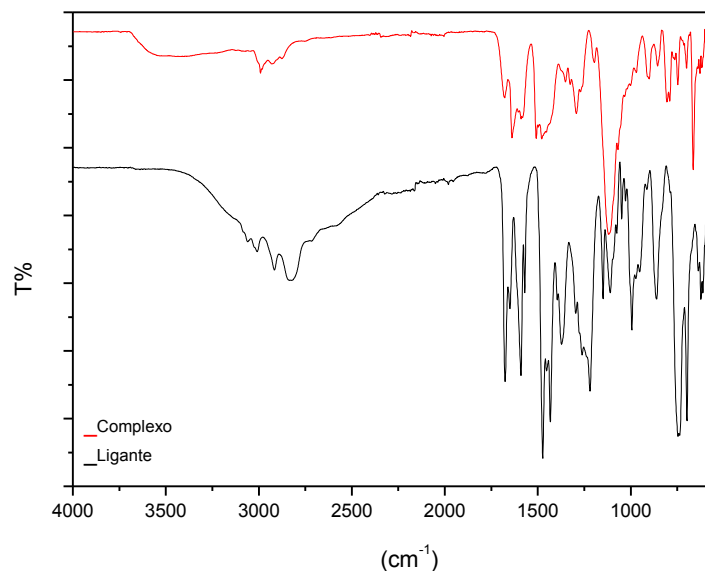
1610 e 1473  $\text{cm}^{-1}$  ( $\Delta v_{\text{ass}}v_{\text{sim}}$  de 137  $\text{cm}^{-1}$ )<sup>27</sup>, e seu contra-íon perclorato em 1069  $\text{cm}^{-1}$ . Tais valores de estiramento simétrico e assimétrico do grupo acetato confirmam que a ponte exógena do tipo acetato foi formada.

Com efeito, ambos os complexos apresentaram bandas em regiões semelhantes, provavelmente devido à sua similaridade estrutural. No entanto, o composto  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  apresentou banda característica do grupamento aldeído, o que não ocorreu com o composto  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ . De fato, a ausência do estiramento C=O referente ao aldeído, verificada no  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  em 1650  $\text{cm}^{-1}$ , não aparece no complexo contendo a etilenodiamina.

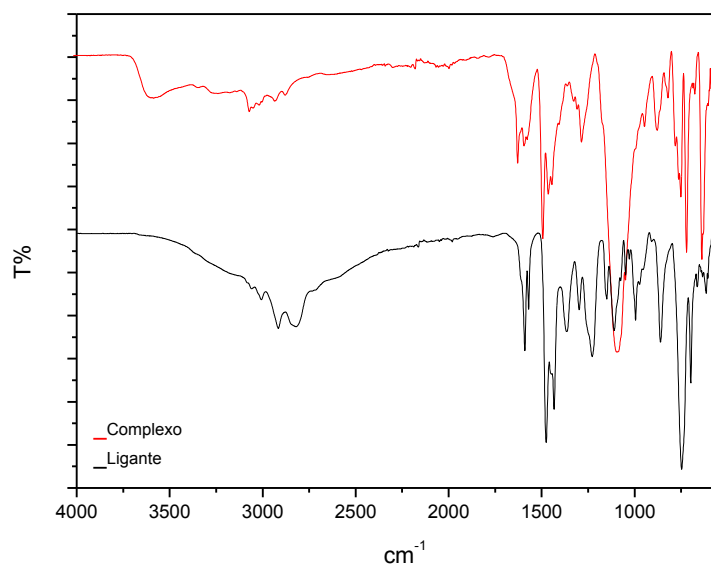
Por outro lado, no que se refere à presença de bandas de estiramento das aminas primárias e secundárias compatíveis com a presença do grupo etilenodiamina, essas não foram visualizadas na região características do espectro (entre 3300-3500  $\text{cm}^{-1}$ )<sup>26</sup>, que apenas demonstra uma faixa alargada na região de 3500  $\text{cm}^{-1}$ . Supõe-se que tal fenômeno pode ter ocorrido devido à sobreposição de uma banda de deformação axial O-H de uma molécula de água, nos termos enunciados por Miessler<sup>28</sup> sobre a possibilidade de haver redução do número de bandas observadas em relação às bandas teóricas devido à sobreposição entre elas.

No que se refere à comparação entre os espectros de infravermelho dos ligantes e dos complexos, as figuras 19 e 20 representam a sobreposição desses últimos com os espectros dos ligantes livres, onde similaridades e diferenças podem ser observadas e interpretadas.

**Figura 19** - Espectro de infravermelho do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  sobreposto ao do seu respectivo ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$



**Figura 20** - Espectro de infravermelho do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  sobreposto ao do seu respectivo ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFFEt}$ .



Por meio da análise dos gráficos de sobreposição e das atribuições da tabela 6, nota-se a similaridade entre os espectros do complexo e o seu respectivo ligante, com mudanças de deslocamentos e de intensidades nas bandas. Assim, propõe-se um modelo de coordenação dos complexos em que os átomos de nitrogênio das piridinas e das aminas e os átomos da ponte acetato estariam coordenados aos



centros metálicos. Esses átomos que se ligam ao metal realizariam mais fracamente suas outras ligações e apresentariam um número de onda menor no espectro de infravermelho dos complexos do que no espectro dos ligantes livres, como observado nas ligações C=N das piridinas, por exemplo, onde a ligação é enfraquecida quando o nitrogênio se coordena ao metal.

Em ambos os complexos, a ausência de bandas de média intensidade em torno da região de  $1330\text{ cm}^{-1}$ , provenientes da deformação angular fora do plano de ligação  $\text{OH}_{\text{fenol}}$ , e presentes nos ligantes livres, sugere a coordenação do fenol na forma desprotonada. Além disso, na região próxima a  $1080\text{ cm}^{-1}$  dos espectros dos complexos, aparece uma banda intensa relativa aos estiramentos das ligações Cl-O do contra-íon perclorato.

Ademais, importante ressaltar-se que nem sempre a ausência de absorção nos espectros esperados para os diferentes grupos funcionais deve ser tomada como evidência da ausência de tais grupos na molécula<sup>26</sup>. Desse modo, a fim de elucidar a caracterização dos complexos e fornecer mais segurança para as análises, esses foram submetidos a outros testes neste trabalho, inclusive porque um tratamento preciso das vibrações de uma molécula complexa não é factível, mas deve ser interpretado em conjunto com outras comparações empíricas<sup>26</sup>.

### 5.2.2 Espectroscopia Eletrônica na região do UV-Vis

O comportamento eletrônico dos complexos  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  e  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  e dos seus respectivos ligantes foi estudado por meio da espectroscopia eletrônica de absorção UV-Vis, utilizando-se como solvente diclorometano e metanol. Os resultados estão compilados na tabela 6.

A espectroscopia eletrônica UV-Vis é um método físico utilizado para analisar a estrutura geométrica e eletrônica dos sítios de íons metálicos em complexos inorgânicos e metaloproteínas<sup>29</sup>. Esse teste abrange uma grande faixa de energia e envolve todos os orbitais de valência participantes das ligações entre o metal e o ligante, baseando-se na natureza quantizada dos estados de energia e nas transições eletrônicas que ocorrem nos compostos, tais como: transições internas, transições de transferência de carga ligante-metal ou metal-ligante. Entretanto, o conteúdo de informações obtido por meio da espectroscopia de absorção eletrônica

não é direto, e requer uma interpretação dos espectros através da teoria do campo ligante<sup>29</sup>.

O íon cobre(II) tem nove elétrons distribuídos em orbitais *d* que, sob influência do campo ligante, apresentam desdobramentos em diferentes níveis de energia e perdem a degenerescência. Esses desdobramentos possibilitam as transições *d-d*, sendo a energia de desdobramento desses orbitais fortemente dependentes da natureza dos ligantes e de sua proximidade com o metal. Nesse sentido, os complexos de cobre(II), na medida em que apresentam uma configuração eletrônica *d<sup>9</sup>*, são altamente influenciados pela estereoquímica e conhecidos por apresentarem distorções geométricas pronunciadas quando estão pentacoordenados ou hexacoordenados pelo efeito Jahn-Teller<sup>30</sup>.

De fato, complexos de cobre(II) pentacoordenados podem assumir geometrias de bipirâmide trigonal ou piramidal de base quadrada e geralmente apresentam um espectro eletrônico com duas bandas distintas, em cada caso. Para a geometria piramidal de base quadrada, o espectro costuma mostrar uma banda mais intensa em regiões com maior energia e uma banda menos intensa na região com menor energia, ao passo que, para a geometria de bipirâmide trigonal, o espectro costuma apresentar uma banda menos intensa em região com maior energia e uma banda mais intensa na região com menor energia<sup>31,32</sup>.

**Tabela 5** - Dados de Espectroscopia Eletrônica para os complexos Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF) e Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt)

Complexo	Sólido $\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> $\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$ ( $\epsilon/\text{mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ )	MeOH $\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$ ( $\epsilon/\text{mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ )
Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF)	680/402	683(188)/ 364(4076)	692(158)/ 379(7337)
Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt)	660/443	658(153)/ 416(758)	648(244)/ 425(831)

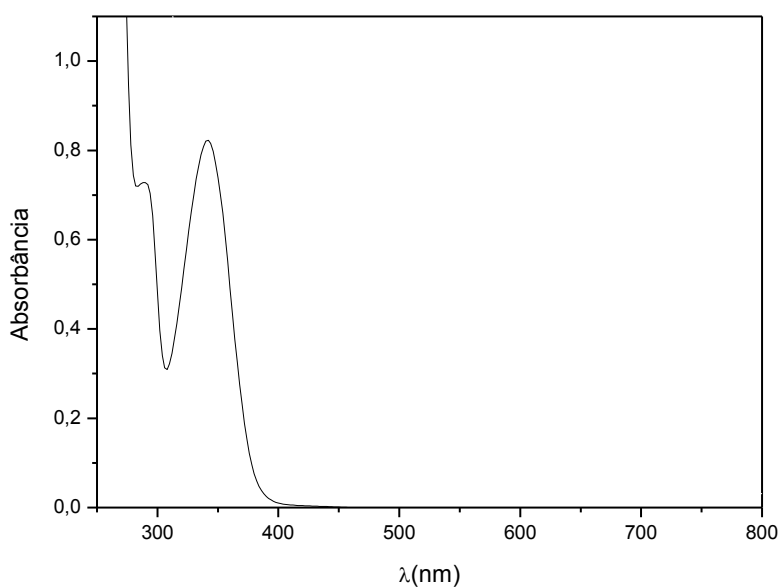
Os espectros eletrônicos do complexo Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF), tanto em diclorometano quanto em metanol, mostram uma banda alargada na região de 700 nm, típica das transições internas *d-d* do íon cobre(II)<sup>33,34</sup>, com baixo coeficiente de absorção molar, uma vez que é uma transição proibida por Laporte<sup>28</sup>. Esses

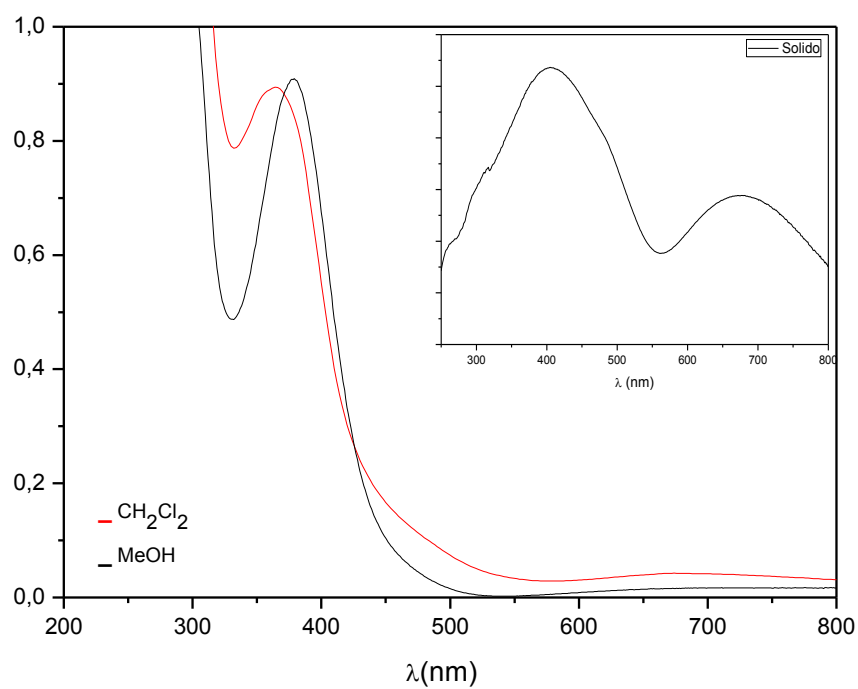
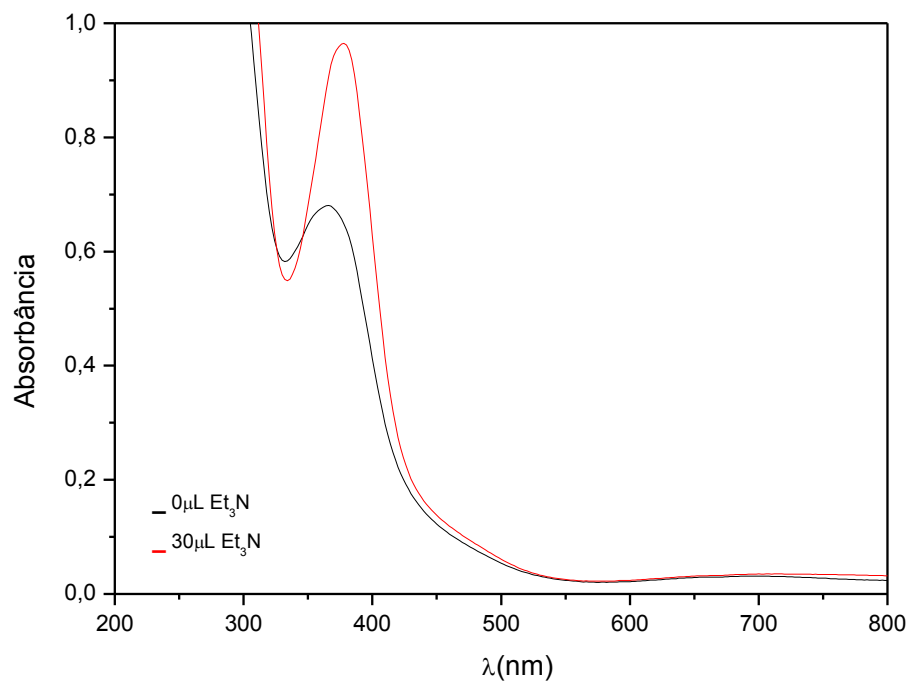
espectros mostram, ainda, uma banda de energia mais alta na região de 360 e 400 nm, com alto coeficiente de absorção molar.

Isso porque nessa região ocorre o surgimento das bandas de transferências de carga ligante-metal, podendo ser tanto  $\pi O_{\text{fenolato}} - \text{Cu(II)}$ , quanto  $\pi(\text{piridina}) - \text{Cu(II)}$ <sup>9,25,35</sup>. Já no espectro de reflectância difusa, o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  apresenta uma banda larga na região 680 nm, além de uma banda em 402 nm, sugerindo que, no estado sólido, o oxigênio fenólico esteja coordenado de forma desprotonada ao metal.

Além disso, o espectro eletrônico do ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$  exibiu uma banda de absorção UV em 340 nm e um ombro em 289 nm, possivelmente devido às transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  intraligantes<sup>35</sup>. Os espectros eletrônicos do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  e do seu respectivo ligante estão apresentados nas figuras 21, 22 e 23 representadas abaixo.

**Figura 21** - Espectro eletrônico do ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFF}$

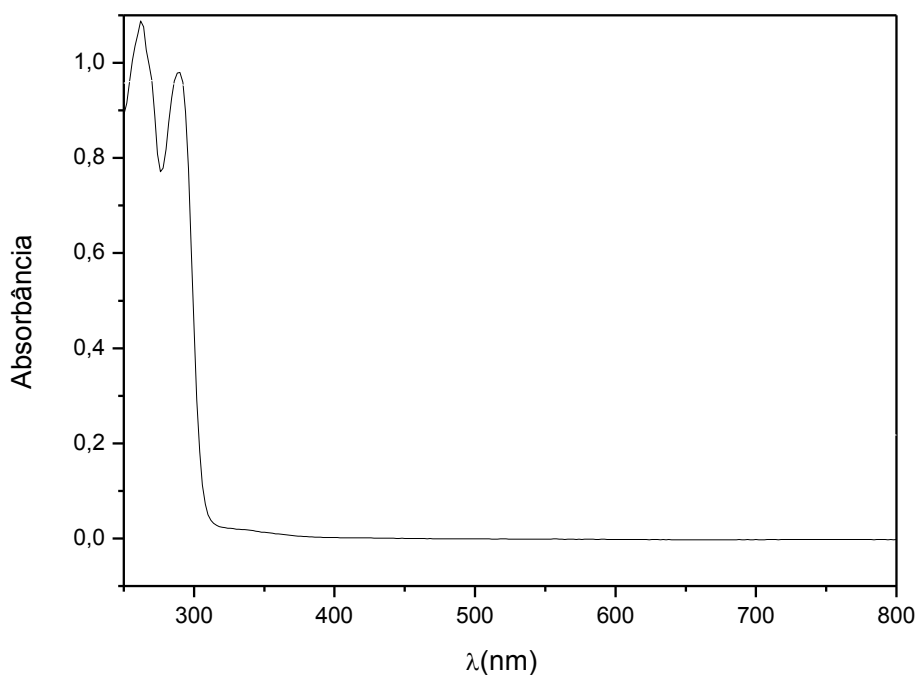


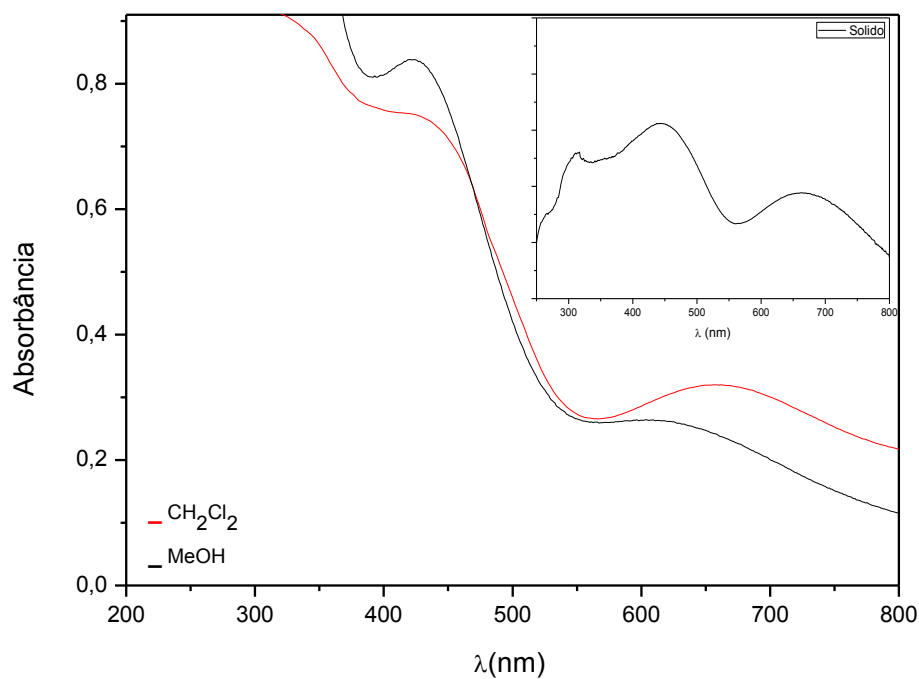
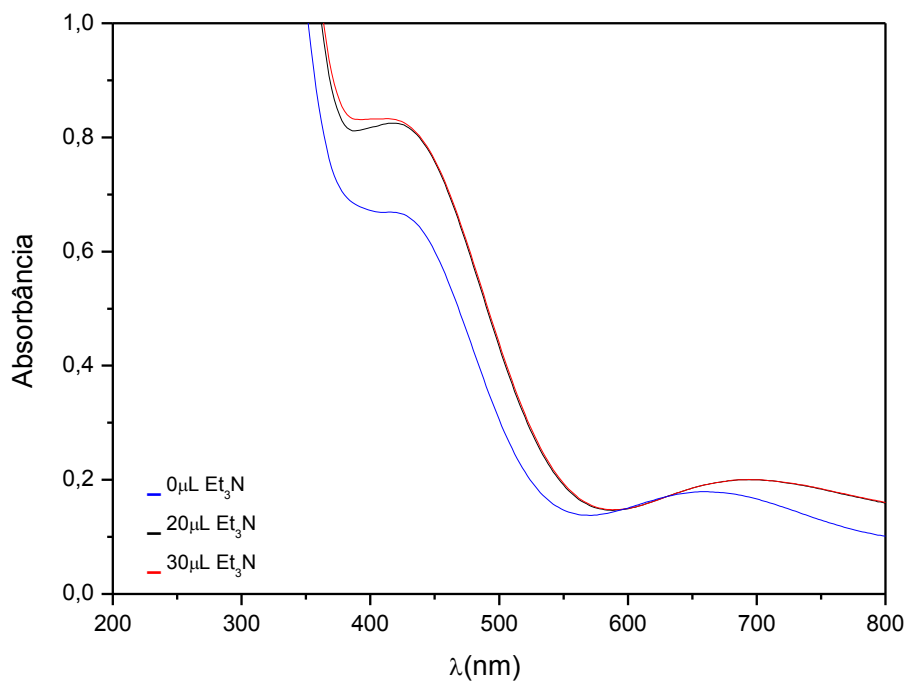
**Figura 22** - Espectro eletrônico do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$ **Figura 23** - Adição de  $\text{Et}_3\text{N}$  ao  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$ 

Os espectros eletrônicos do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  em diclorometano e metanol, de igual modo, apresentam uma banda alargada centrada na região de 650 nm, típica das transições  $d-d$  do metal, a qual possui baixos coeficientes de absorção molar. Esses espectros possuem uma banda de mais alta energia na região de 420 nm, a qual possui um maior valor de absorção molar, devido ao aparecimento das transferências de carga ligante-metal, transições permitidas pela regra de Laporte e caracterizadas aqui como uma banda de transferência de carga  $\pi\text{O}_{\text{fenolato}} - \text{Cu}(\text{II})$ <sup>9,25,35</sup>.

Já no espectro de reflectância difusa, esse complexo apresenta uma banda larga na região 660 nm, além de uma banda em 443 nm, o que sugere que, no estado sólido, o oxigênio fenólico está coordenado de forma desprotonada ao metal. Ademais, o espectro eletrônico do ligante  $\text{H}_2\text{PPAMFFEt}$  exibiu uma banda de absorção acentuada em 300 nm, possivelmente devido às transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  intraligantes<sup>35</sup>. Os espectros eletrônicos do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  e do seu respectivo ligante são apresentados nas figuras 24, 25 e 26 representadas abaixo.

**Figura 24** - Espectro eletrônico do ligante  $\text{H}_2\text{BPPAMFFEt}$



**Figura 25** - Espectro eletrônico do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ **Figura 26** - Adição de  $\text{Et}_3\text{N}$  ao  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ 

Ambos os complexos  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  e  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  foram submetidos a estudos espectroscópicos qualitativos, a partir da adição da base

(Et<sub>3</sub>N 0,02 mol.L<sup>-1</sup>) a uma solução de diclorometano preparada para cada complexo. Buscou-se a desprotonação de um possível fenol presente na solução, na tentativa de se observar um aumento na banda de transferência de carga ligante → metal na região de 360 e 400 nm, como pode ser visto nas figuras 26 e 29.

Comparando-se os espectros eletrônicos dos complexos, nota-se que há um deslocamento hipsocrômico da banda *d-d* - em maior energia - do complexo Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt) quando comparado ao Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF), o que reflete uma possível interferência da etilenodiamina, demonstrando o efeito de segunda esfera de coordenação.

### 5.2.3 Condutimetria

A condutividade é a medida da quantidade de corrente elétrica que uma solução, um metal, ou um gás pode transportar. Ela é uma propriedade intrínseca dos materiais que pode ser usada na caracterização de compostos de coordenação por meio do uso de medidas de condutividade em solventes orgânicos. Com essas medidas, é possível obter a proporção de complexo/contra-íon que existe em solução<sup>36</sup>. Medidas de condutividade molar foram realizadas para os dois complexos em acetonitrila e em uma concentração de 1x10<sup>-3</sup> mol.L<sup>-1</sup>, conforme a tabela a seguir.

**Tabela 6** - Dados de condutividade dos complexos Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF) e Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt) em acetonitrila

Complexo	$\Lambda_M$ ( $\Omega^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^2$ )
Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF)	118,21
Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt)	191,09

Ambos os valores<sup>36</sup> obtidos por meio dos testes de condutividade indicam a presença de 1 (um) equivalente de íon positivo por molécula de complexo, ou seja, uma maior proporção de eletrólitos 1:1. Tais valores demonstram a presença de 1 (um) contra-íon perclorato e reiteram que a espécie predominante em solução é o ligante na forma fenolato.

#### 5.2.4 Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray – ESI-MS

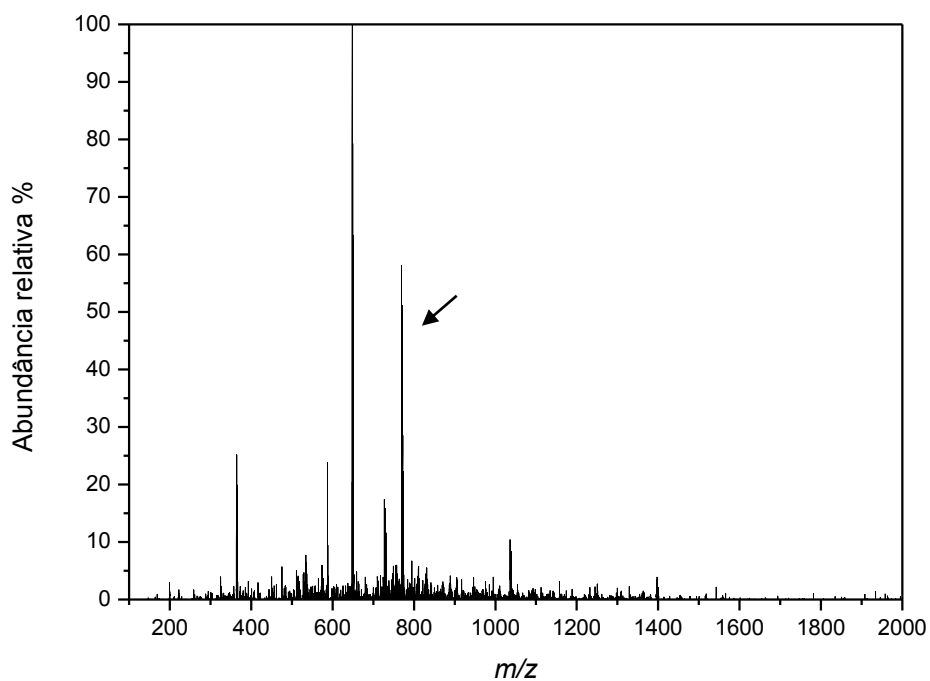
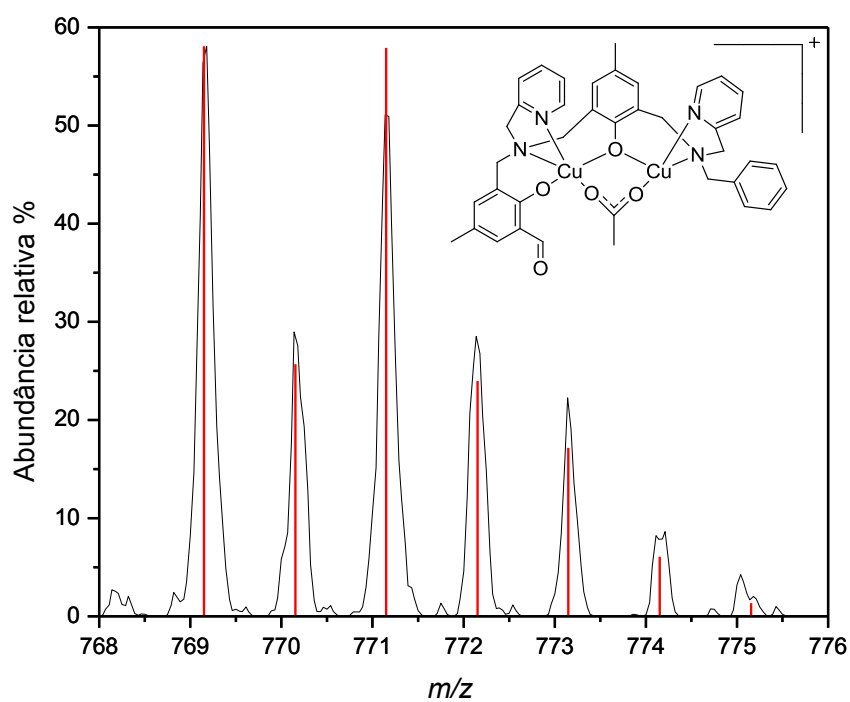
A espectrometria de massas (ESI-MS) é uma técnica analítica na qual as moléculas de interesse são ionizadas com base na relação entre massa e carga, o que resulta na representação de cada “unidade” dessa relação como um espectro. Tal número pode fornecer informações qualitativas e quantitativas sobre o composto em estudo<sup>26</sup>.

O espectro de massas obtido para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  apresentou um grupo de picos em razão massa/carga de valor 769,15, atribuído ao íon do complexo  $[\text{C}_{39}\text{H}_{39}\text{Cu}_2^{\text{II}}\text{N}_4\text{O}_5]^+$ . Isso indica que o ligante permaneceu intacto ao se coordenar aos átomos de cobre em conjunto com a ponte acetato.

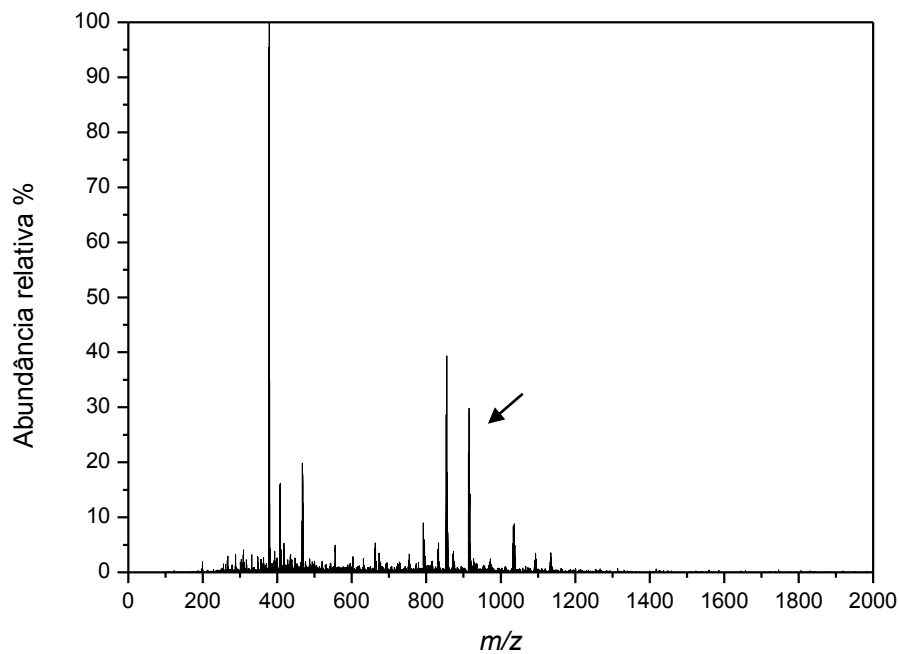
Para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ , o espectro de massas apresentou um grupo de picos em razão massa/carga de valor 913,15, o qual foi atribuído à espécie  $[\text{C}_{41}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_4\text{Cu}_2^{\text{II}}]^+$  e à presença de um ânion perclorato e de uma amina protonada.

Ambos os espectros de massas e as espécies sugeridas são apresentados nas figuras a seguir, bem como seus respectivos espectros simulados, cujos picos foram coincidentes com a distribuição isotópica.

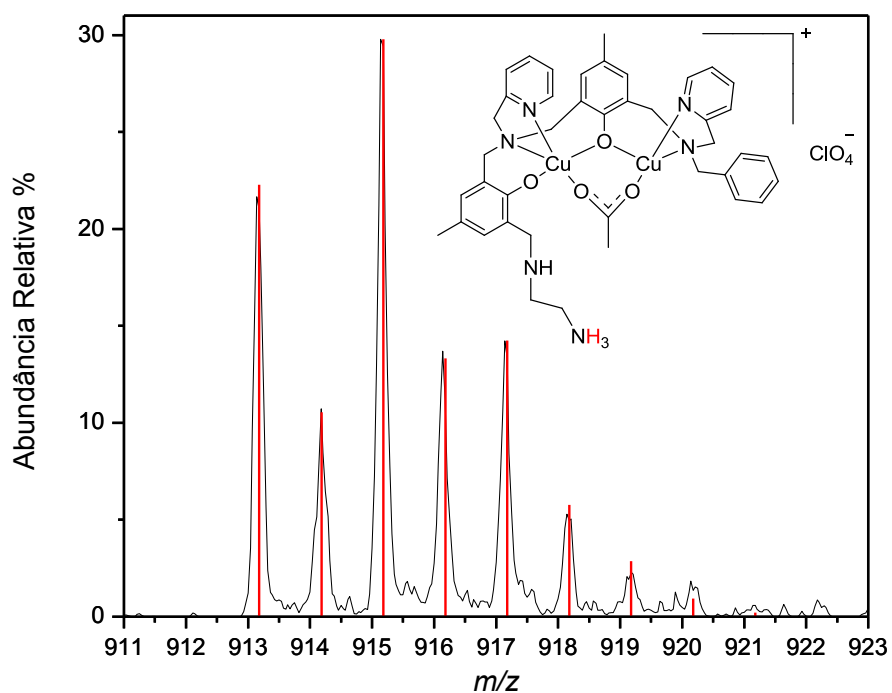


**Figura 27** - Espectro de massas experimental para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  em  $\text{CH}_3\text{CN}$ **Figura 28** - Simulação da distribuição isotópica do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  sobreposta ao espectro experimental massa/carga 769,15.

**Figura 29** - Espectro de massas experimental para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  em  $\text{CH}_3\text{CN}$



**Figura 30** - Simulação da distribuição isotópica do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  sobreposta ao espectro experimental massa/carga 913,15.



### 5.2.5 Eletroquímica

A eletroquímica é uma ferramenta que analisa as reações envolvendo transferências de elétrons e relaciona seus fluxos com mudanças químicas<sup>37</sup>. Esses processos de transferências de elétrons estão no centro da reatividade de complexos inorgânicos, uma vez que a maioria dessas mudanças químicas advém da oxidação ou da redução e afeta diretamente a atividade catalítica de um complexo metálico<sup>38</sup>. Nesse sentido, a redução de cobre(II) pelo substrato e sua sequente oxidação pelo oxigênio são etapas relevantes para o ciclo catalítico<sup>35</sup>.

O comportamento eletroquímico dos dois complexos foi investigado por voltametria cíclica e por voltametria de onda quadrada em solução metanólica, utilizando o NaClO<sub>4</sub> como eletrólito de suporte e sob argônio, com a finalidade de eliminar possíveis processos decorrentes da presença de oxigênio.

Os potenciais de redução foram referenciados ao eletrodo normal de hidrogênio (NHE) pelo uso do eletrodo de referência comercial Ag/AgCl (BASi). Os potenciais catódicos ( $E_{pc}$ ) estão sumarizados e são apresentados na tabela 8, a seguir.

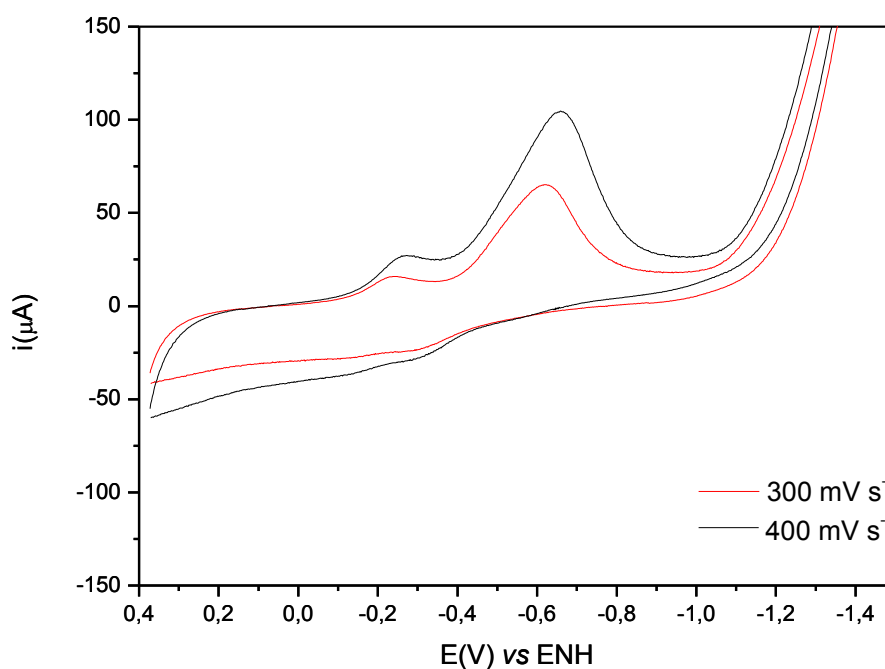
**Tabela 7** - Dados de eletroquímica para os complexos Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF) e Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt)

Complexo	$E_{pc1}$ V vs NHE	$E_{pc2}$ V vs NHE
Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF)	-0,526	-0,691
Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt)	-0,586	-0,742

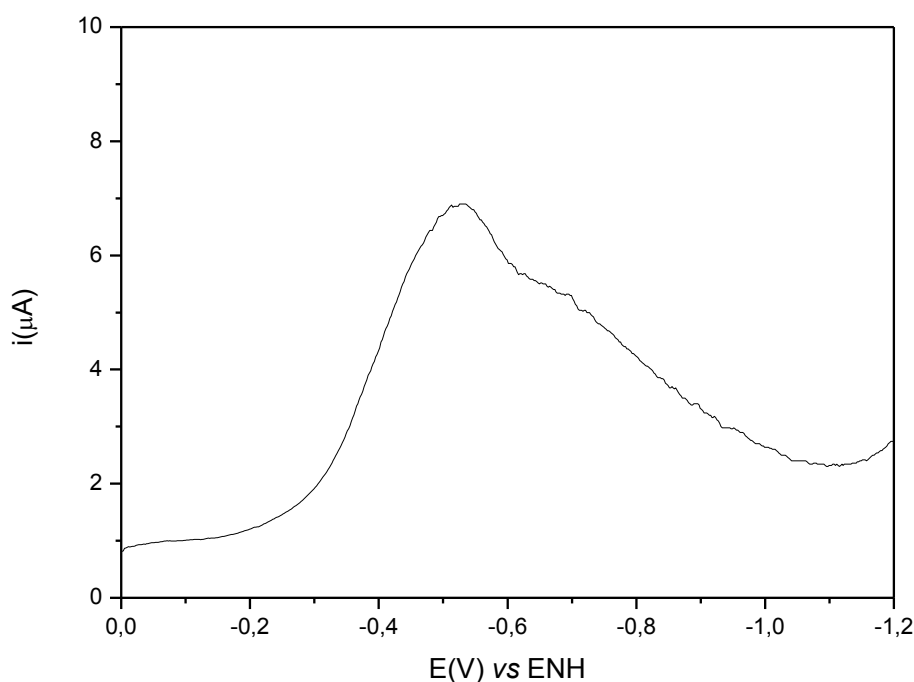
Ambos os complexos apresentaram processos irreversíveis de redução na região negativa, o que configura uma propensão observada para complexos de cobre com ligantes fenólicos e pontes alcoxo, devido à sua dureza e eletronegatividade<sup>34</sup>. Ademais, os processos irreversíveis estão relacionados com a estereoquímica e a forma mais estável de cada estado de oxidação do cobre. A reversibilidade do par redox Cu<sup>(II/I)</sup> é um reflexo da capacidade do ligante de suportar diferentes geometrias de coordenação.

Para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$ , pode-se observar uma onda de redução irreversível a  $-0,586 \text{ V vs NHE}$ , atribuída ao processo redox  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}$ , e outra onda de redução irreversível em  $-0,742 \text{ V vs NHE}$ , atribuída ao processo redox  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cu}^{\text{I}}$ . Os voltamogramas cíclico e de onda quadrada do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  estão apresentados nas figuras 31 e 32, representadas abaixo.

**Figura 31-** Voltamograma cíclico para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  em MeOH. Eletrodo de trabalho: Carbono Vítreo; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito de suporte:  $\text{NaClO}_4$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$



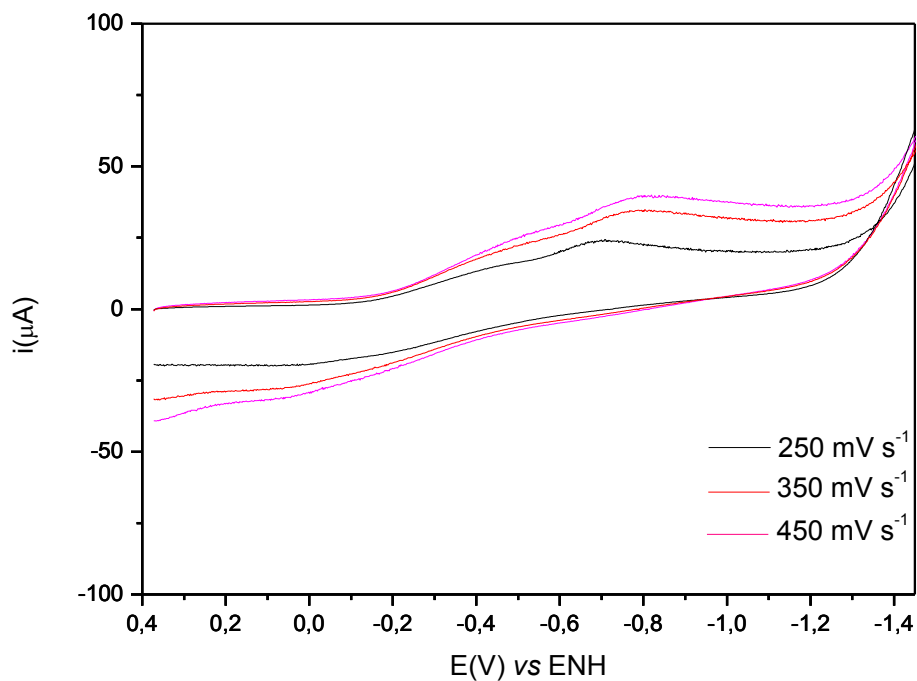
**Figura 32** - Voltamograma de onda quadrada para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  em MeOH (pulso – 25 mV, frequência – 30 Hz)



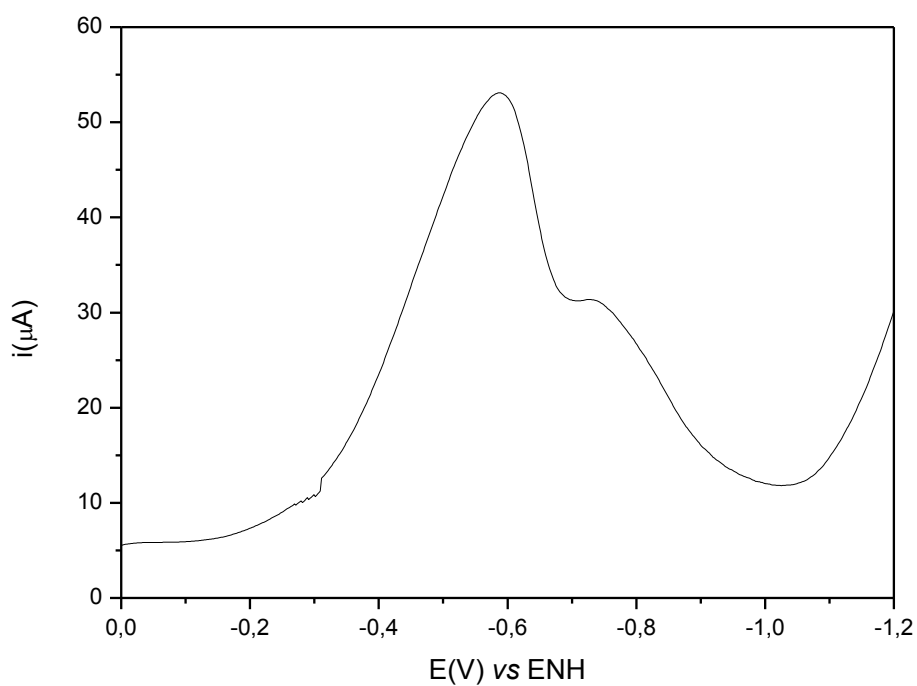
Para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ , pode-se observar uma onda de redução irreversível em  $-0,526 \text{ V vs ENH}$ , atribuída ao processo redox  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}$ , e outra onda de redução irreversível em  $-0,691 \text{ V vs ENH}$ , atribuída ao processo redox  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cu}^{\text{I}}$ .

Uma análise comparativa entre os voltamogramas obtidos para os dois complexos revela um pequeno deslocamento catódico dos processos  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}$  e  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cu}^{\text{I}}$  do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ , possivelmente influenciado pelo aumento da densidade eletrônica na segunda esfera de coordenação ocasionado pela presença do grupo etilenodiamina, o que dificulta a redução dos centros de cobre. Os voltamogramas cíclico e de onda quadrada do complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  estão apresentados nas figuras 33 e 34, representadas abaixo.

**Figura 33** - Voltamograma cíclico para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  em MeOH. Eletrodo de trabalho: Carbono Vítreo; Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: Platina. Eletrólito de suporte:  $\text{NaClO}_4$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$



**Figura 34** - Voltamograma de onda quadrada para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$  em MeOH (pulso –  $25 \text{ mV}$ , frequência –  $30 \text{ Hz}$ )



### 5.2.6 Cinética de oxidação do 3,5-DTBC

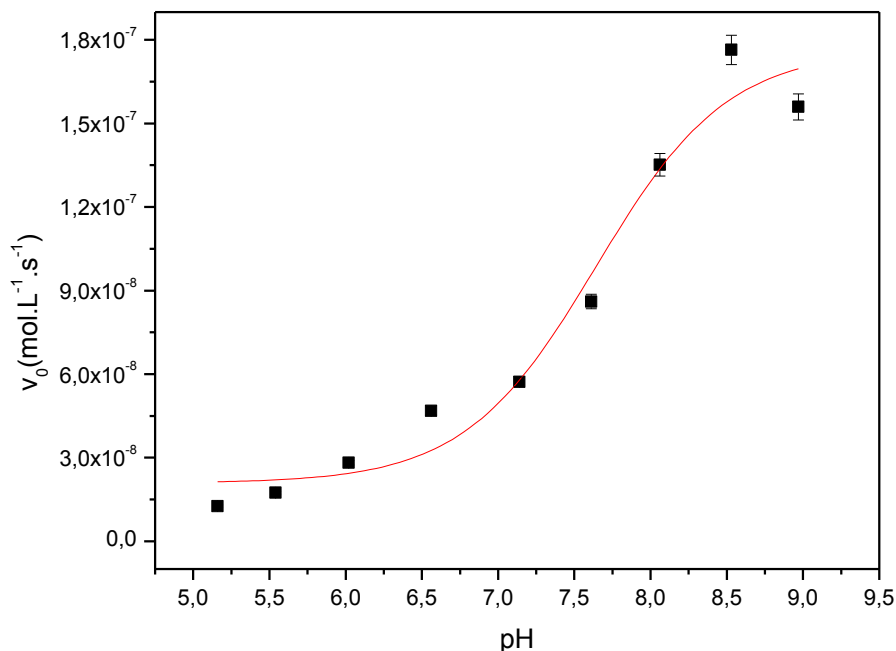
Cinética é o estudo de taxas nas quais reações químicas ocorrem. Um dos maiores propósitos de tais estudos é proporcionar entendimento acerca do mecanismo de uma reação, quer dizer, produzir uma descrição detalhada dos processos de uma reação e da sequência nas quais eles ocorrem.

Através de estudos cinéticos, pode-se determinar a afinidade de ligação de substratos e inibidores em relação a uma enzima, assim como se pode estabelecer a taxa catalítica máxima de uma determinada enzima<sup>39</sup>. Nesse sentido, a atividade oxidativa desempenhada por complexos de cobre, como sistemas modelo, tem sido determinada por meio de testes de oxidação catalítica de 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-DTBC)<sup>35</sup>.

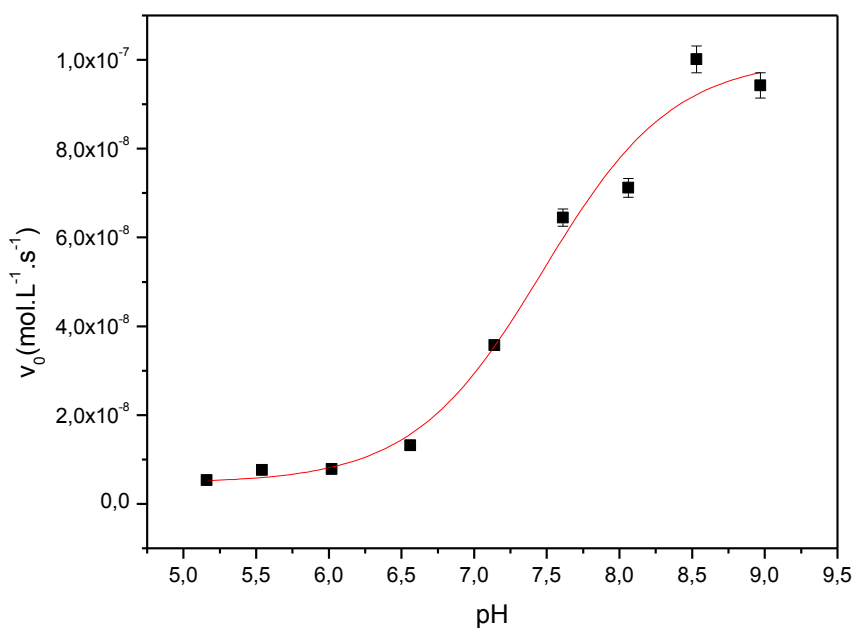
Os estudos cinéticos da oxidação do 3,5-DTBC, catalisada pelos complexos  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  e  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ , foram realizados em metanol, monitorando-se o aumento da concentração de 3,5-di-*terc*-butilquinona (3,5-DTBQ) na banda característica de 400 nm ( $\epsilon = 1645 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )<sup>33,35</sup>. A cada experimento, o solvente foi saturado com  $\text{O}_2$ , uma vez que o oxigênio participa diretamente do ciclo catalítico e oxidar as espécies de cobre(I) formadas<sup>35</sup>. Assim, percebeu-se que a absorvância do 3,5-DTBQ aumentou na linha 400 nm e que a regra de Lambert-Beer foi válida para as diversas concentrações dos complexos.

Partindo-se do estudo cinético sobre a variação de pH, é possível determinar o  $\text{p}K_a$  cinético de uma dada reação e conhecer mais detalhadamente a espécie responsável pela reação de oxidação do substrato 3,5-DTBC. Essa atividade de oxidação foi investigada para os dois complexos em uma faixa de pH entre 5,0 e 9,0, no qual observa-se duas regiões onde a velocidade da reação é independente do pH e uma faixa intermediária em que a velocidade é influenciada com o aumento do pH. As figuras 35 e 36 apresentam os gráficos de velocidade inicial ( $v_0$ ) em função do pH obtido para os complexos  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  e  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ , respectivamente.

**Figura 35** - Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-DTBC com o pH para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$ . Condições:  $[\text{C}] = 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{3,5-DTBC}] = 5,40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{Tampões}] = 3,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  (MES pH 4,0 a 6,5 e TRIS pH 7,0 a 9,0) solução MeOH a 25°C.



**Figura 36** - Dependência da velocidade de reação de oxidação do 3,5-DTBC com o pH para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ . Condições:  $[\text{C}] = 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{3,5-DTBC}] = 5,40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{Tampões}] = 3,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  (MES pH 4,0 a 6,5 e TRIS pH 7,0 a 9,0) solução MeOH a 25°C.





Os gráficos foram construídos a partir do método das velocidades iniciais e, por apresentarem um perfil sigmoidal, o estudo da influência de pH foi ajustado pelo modelo de Boltzman, no qual a inflexão da curva forneceu os valores de  $pK_a$  cinético. Os valores encontrados de pH ótimo e os valores de  $pK_a$  são representados na tabela a seguir.

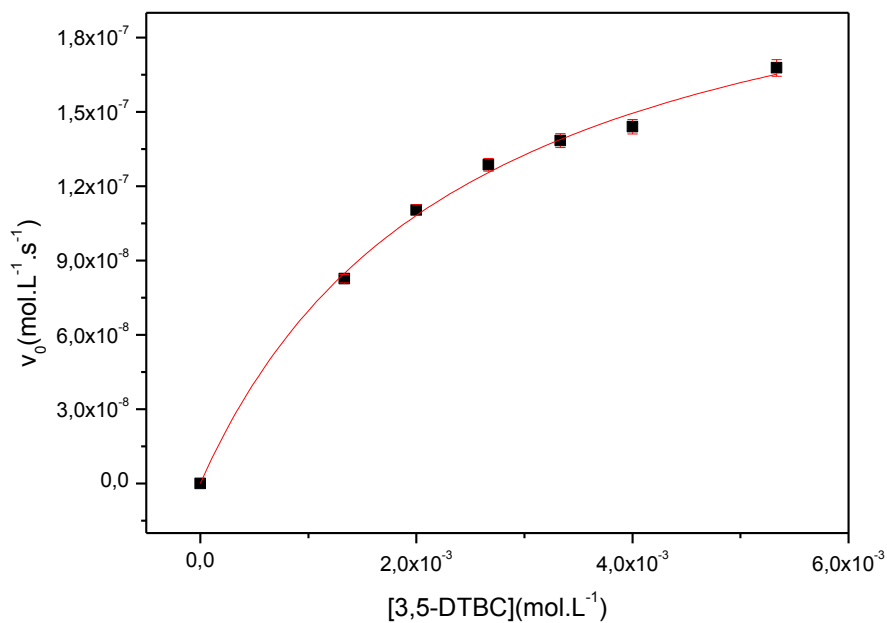
**Tabela 8** - Valores de  $pK_a$  cinético encontrados para os complexos  $Cu_2(BPPAMFF)$  e  $Cu_2(BPPAMFFEt)$

<b>Complexo</b>	<b>pH ótimo</b>	<b><math>pK_a</math> cinético</b>
$Cu_2(BPPAMFF)$	$\geq 8,5$	$7,64 \pm 0,2$
$Cu_2(BPPAMFFEt)$	$\geq 8,5$	$7,47 \pm 0,2$

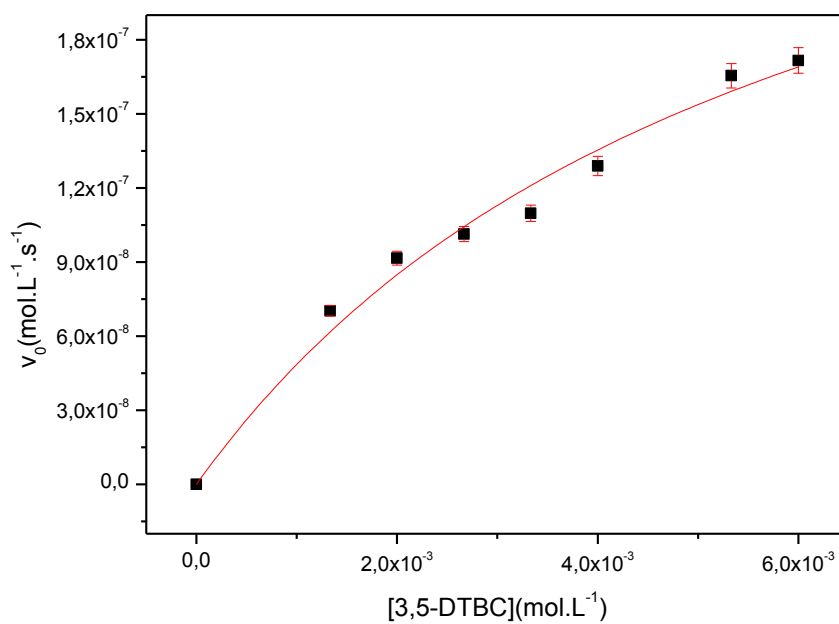
A similaridade observável dos valores de  $pK_a$  cinético referentes aos dois complexos são atribuíveis à desprotonação do próprio substrato 3,5-DTBC, conforme se verifica dos valores obtidos na literatura<sup>33</sup>, já que o  $pK_a$  do substrato pode mascarar o  $pK_a$  cinético.

Uma vez que a velocidade da reação de oxidação do 3,5-DTBC pelos complexos mostrou-se dependente do pH, foram realizados estudos do efeito da concentração do substrato, buscando-se a determinação dos parâmetros cinéticos. Tais análises foram feitas em pH 8,5 por ser este o pH de maior atividade catalítica. As figuras 37 e 38 representadas abaixo apresentam os gráficos das constantes observadas ( $K_{obs}$ ) em função da concentração do 3,5-DTBC. Pelo comportamento da curva de saturação, os dados cinéticos puderam ser tratados de acordo com o modelo de Michaelis-Menten, cujos parâmetros estão apresentados na Tabela 10.

**Figura 37** - Dependência da velocidade de reação do 3,5-DTBC com a concentração de substrato para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$ . Condições:  $[\text{C}] = 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{3,5-DTBC}] = 5,40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{Tampão}] = 3,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  (TRIS, pH 8,5); solução MeOH a  $25^\circ\text{C}$



**Figura 38** - Dependência da velocidade de reação do 3,5-DTBC com a concentração de substrato para o complexo  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFFEt})$ . Condições:  $[\text{C}] = 6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{3,5-DTBC}] = 5,40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{Tampão}] = 3,34 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  (TRIS, pH 8,5); solução MeOH a  $25^\circ\text{C}$



**Tabela 9** - Comparação dos parâmetros cinéticos

Compostos	$V_{0\text{máx}} \times 10^7$ (mol.L.s <sup>-1</sup> )	$K_M \times 10^{-3}$ (mol.L <sup>-1</sup> )	$k_{\text{cat}} \times 10^{-3}$ (s <sup>-1</sup> )	$K_{\text{ass}}$ (L.mol <sup>-1</sup> )	$E = k_{\text{cat}}/K_M$ (L.mol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Catecol Oxidase <sup>48</sup>	-	2,5	22930,0	400	$9,17 \times 10^5$
Cu <sub>2</sub> (BPPAMFF)	2,41± 0,120	2,4± 0,30	4,0± 0,1	406,5 ±40,30	1,65±0,050
Cu <sub>2</sub> (BPPAMFFEt)	3,35± 0,080	5,91±0,150	5,58± 0,050	169,2 ±35,3	0,95±0,10

De acordo com a tabela 10, o complexo que apresenta o aldeído terminal Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF) é o mais efetivo na conversão do substrato 3,5-DTBC à correspondente o-quinona, se comparado ao complexo Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt). Isso indica que a presença do grupo substituinte etilenodiamina não aumentou a atividade catalítica do complexo.

De fato, foi possível observar que o complexo que contém o grupo etilenodiamina possui valor inferior de  $K_{\text{ass}}$ , o que significa que tal complexo dificulta a chegada do substrato e sua consequente oxidação, conforme já indicavam os valores apresentados nos testes eletroquímicos, nos quais este último complexo apresentou valores de redução mais negativos.

Os dois complexos apresentaram valores de eficiência catalítica próximos daqueles encontrados na literatura para complexos binucleares de cobre(II) com ligantes N,O doadores<sup>34</sup>. Esses valores estão de acordo com o que foi reportado por Neves<sup>33</sup> e que pode ser sumarizada da seguinte maneira: quanto menor a diferença de potencial dos dois processos redox do catalisador ( $\Delta E_{1,2}$ ), maior será sua atividade catalítica.

A fim de esclarecer o mecanismo desempenhado pelos complexos em estudo, investigou-se a formação de peróxido de hidrogênio durante a evolução da reação de oxidação. Esse teste foi preparado por meio de uma modificação do método de iodometria<sup>25</sup> e mostrou-se positivo para a presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o que foi

confirmado pela reação com iodeto, a qual gerou  $I_3^-$ , de forma que a oxidação de ambos os complexos ocorreu seguindo a estequiometria  $3,5\text{-DTBC} + O_2 \rightarrow 3,5\text{-DTBQ} + H_2O_2$ .

Por fim, concluiu-se que ambos os complexos sintetizados mostraram-se ativos para a oxidação do substrato 3,5-DTBC. No entanto, com relação à elucidação do mecanismo cinético desses complexos, o conjunto de dados obtidos pelos testes de cinética de pH e substrato foram insuficientes para permitir uma proposição cientificamente fidedigna, o que dependeria, ainda, da reiteração de testes de cinética, ou da realização de testes posteriores, como o EPR.

## CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foram sintetizados dois ligantes polidentados, um inédito denominado H<sub>2</sub>BPPAMFFEt e outro já descrito na literatura e denominado H<sub>2</sub>BPPAMFF, bem como seus precursores BPA, BPAMFF e BPAPyFF. Ambos os ligantes foram caracterizados por IR, <sup>1</sup>H-NMR e ESI-MS e demonstraram pureza adequada e rendimento satisfatório para dar sequência às sínteses dos complexos.

Foram sintetizados dois novos complexos binucleares de cobre(II), um empregando o ligante inédito H<sub>2</sub>BPPAMFFEt, e o outro empregando o ligante H<sub>2</sub>BPPAMFF. Não foi possível a obtenção dos cristais dos complexos e, portanto, não houve a determinação estrutural de raios X. Entretanto, ambos os complexos foram caracterizados por métodos espectroscópicos e eletroquímicos, além de terem suas atividades catalíticas testadas frente à oxidação do substrato modelo 3,5-DTBC.

Pela técnica de IR, foi possível observar indícios da coordenação dos ligantes aos centros metálicos, o que permitiu identificar suas bandas características e de seus contra-íons. A espectroscopia na região do UV-Vis demonstrou a presença de bandas *d-d* características de sistemas de Cu(II) em ambos os complexos, além da presença de uma banda de transferência de carga fenolato → Cu<sup>II</sup> na região de maior energia.

A espectrometria de massas, tanto dos complexos quanto dos ligantes, apresentou picos coerentes com as estruturas propostas. Os potenciais redox dos complexos foram obtidos por meio de estudos eletroquímicos, os quais demonstraram que a adição do grupo etilenodiamina na segunda esfera de coordenação do complexo Cu<sub>2</sub>(BPPAMFFEt), causa um deslocamento catódico quando comparado ao Cu<sub>2</sub>(BPPAMFF), ou seja, para potenciais mais negativos.

Em relação às perspectivas deste trabalho, conclui-se que ainda seriam necessários mais testes para elucidar com acuidade as estruturas dos complexos, suas atividades catalíticas, bem como os efeitos do grupo substituinte etilenodiamina na segunda esfera de coordenação. Tais como: obtenção das estruturas cristalinas dos complexos; estudo dos efeitos das concentrações dos complexos sobre o substrato 3,5-DTBC; estudos cinéticos na ausência de oxigênio e em diferentes temperaturas; testes de titulação potenciométrica e espectrofotométrica, além dos estudos de reatividade dos complexos frente ao DNA.

Por fim, os testes de reatividade demonstraram que ambos os complexos mostraram-se ativos frente à oxidação do substrato 3,5-DTBC. Desse modo, eles podem ser considerados como modelos funcionais para as catecol oxidases. Por outro lado, a comparação entre os dois complexos sintetizados mostra que o  $\text{Cu}_2(\text{BPPAMFF})$  é mais efetivo na conversão dos produtos.

## REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup>BERG, Jeremy; TYMOCZKO, John; STRYER, Lubert. **Biochemistry**, 5a ed. W H Freeman: New York, 2002.
- <sup>2</sup>KAIM, Wolfgang; SCHWEDERSKI, Brigitte. **Bioinorganic chemistry: inorganic elements in the chemistry of life an introduction and guide**. 2<sup>nd</sup> e., New York: John Willey & Sons, 2013, p. 21-190.
- <sup>3</sup>MUKHERJEE, Suman. Catechol oxidase and phenoxazinone synthase: biomimetic functional models and mechanistic studies. In: **Coordination Chemistry Reviews**, 2015, v. 310, p. 80-115.
- <sup>4</sup>KARLIN, Kenneth. Metalloenzymes, structural motifs, and inorganic models. In: Science. 1993, v. 261, p.701-708.
- <sup>5</sup>RIORDAN, James. The role of metals in enzyme activity. In: **Annals of clinical and laboratory science**. 1977 v. 7, n.2, p. 119-129.
- <sup>6</sup>GLUSKER, Jenny; KATZ, Amy; BOCK, Charles. **Metal ions in biological systems**. In: The Rigaku Journal. 1999 v. 16, n.2, p. 8-16.
- <sup>7</sup>McCLEVERTY, Jon; MEYER, Thomas. **Comprehensive coordination chemistry ii: From Biology to Nanotechnology**. 2<sup>nd</sup> ed., v.8, Elsevier Pergamon.: 2005, p. 369-391.
- <sup>8</sup>SOLOMON, Edward; SUNDARAM, Uma; MACHONKIN, Tim. Multicopper oxidases and oxygenases. In: **Chemical Reviews**. 1996 v. 96, p. 2563-2605.
- <sup>9</sup>MARTINS, Luciana; SOUZA, Elizabeth; FERNANDEZ, Tatiana (et al). Binuclear cu(ii) complexes as catalysts for hydrocarbon and catechol oxidation reactions with hydrogen peroxide and molecular oxygen. In: **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2010, v. 21, n. 7, p. 1218-1229.
- <sup>10</sup>SOLOMON, Edward; HEPPNER, David; JOHNSTON, Esther (et al). Copper active sites in biology. In: **Chemical Reviews**. 2014, v. 144, p. 3659-3853.
- <sup>11</sup>KLABUNDE, Thomas; EICKEN, Cristoph; SACCHETTINI, James (et al). Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center. In: **Nature Structural & Molecular Biology**. 1998, v. 5, p. 1084-1090.
- <sup>12</sup>CAMARGO, Tiago; MAIA, Fernanda; CHAVES, Cláudia (et al). Synthesis, characterization, hydrolase and catecholase activity of a dinuclear iron (III) complex: Catalytic promiscuity. In: **Journal of Inorganic Biochemistry**, 2015, v.146, p. 77.
- <sup>13</sup>EICKEN, Cristoph; ZIPPEL, Frank; KREBS, Bernt (et al). Biochemical and spectroscopic characterization of catechol oxidase from sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) containing a type-3 dicopper center. In: **FEBS Letters**. 1998, v. 436, n. 2, p.293-441.

- <sup>14</sup>SILVA, Everton; CASELLATO, Annelise; MACHADO, Sérgio. Estudo teórico de complexos binucleares de manganês(II) com o ligante 2-hidroxibenzilglicina, possíveis miméticos para a catecol oxidase. In: **Química Nova**. 2016, v. 39, n. 4, p.437-441.
- <sup>15</sup>ZHAO, Meng; WANG, Hai-Bo; JI, Liang (et al). Insights into metalloenzyme microenvironments: biomimetic metal complexes with a functional second coordination sphere. In: **Chemical Society Reviews**. 2013, v. 42, p. 8360-8375
- <sup>16</sup>LIN, Zhichang; SCHNEEBELI, Severin; STODDART, Fraser. Second-Sphere Coordination Revisited. In: **Chimia**. 2014, n. 5, v. 68. p. 315-320.
- <sup>17</sup>SOUZA, Bernardo; HEYING, Renata; BORTOLUZZI, Adailton (et al). The effect of chain size on the modeling of second sphere effects in biomimetic complexes. In: **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. 2014. p. 1-37.
- <sup>18</sup>KOVAL, Iryna; GAMEZ, Patrick; Belle Catherine (et al). Synthetic models of the active site of catechol oxidase: mechanistic studies. In: **Chemical Society Reviews**, 2006, v. 35, p. 814-84.
- <sup>19</sup>BEAUCHAMP, Derek; LOEB, Stephen Derek A. Hydrogen-bonded networks through second-sphere coordination. In: *European Journal of Chemistry*, 2002, v. 8, n. 22, p. 5084-5088.
- <sup>20</sup>PIOVEZAN, Clovis. **Novos complexos binucleares homo e heterobimetalicos bioinspirados e seu estudo da reatividade em meio homogêneo e heterogêneo como modelos miméticos para as hidrolases**. 2010. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- <sup>21</sup>THOER, A; DENIS, M; DELMAS, M (et al). The reimer-tiemann reaction in slightly hydrated solid-liquid medium: a new method for the synthesis of formyl and diformyl phenols. In: **Synthetic Communications**, 1988, v. 18, p. 2095-2101.
- <sup>22</sup>LIDE, David R. **Handbook of Chemistry and Physics**, 81a ed. CRC Press: Boca Raton,FL. 2000.
- <sup>23</sup>NEVES, Ademir; BORTOLUZZI, Adailton; PERALTA, Rosely (et al). Catalytic promiscuity: catecholase-like activity and hydrolytic DNA cleavage promoted by a mixed-valence Fe<sup>III</sup>Fe<sup>II</sup> complex. In: **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2010, v.21, n.7, p.1201-1212.
- <sup>24</sup>TORELLI, S., BELLE, C., HAMMAN, S., PIERRE, J.-L., SAINT-AMAN, E. Substrate binding in catechol oxidase activity: biomimetic approach. In: **Inorganic Chemistry**, 2002, v. 41, p. 3983-3989.
- <sup>25</sup>NEVES, Ademir; ROSSI, Liane; BORTOLUZZI, Adailton (et al). Catecholase Activity of a Series of Dicopper(II) Complexes with Variable Cu–OH(phenol) Moieties. In: **Inorganic Chemistry**, 2002, 41, No.7, p. 1788-1794.



- <sup>26</sup>SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6a ed. LTC: Rio de Janeiro, 2000, 460p.
- <sup>27</sup>NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 3a ed. John Wiley & Sons, 1977, 448p.
- <sup>28</sup>MIESSLER, Gary; FISCHER, Paul; TARR, Donald. **Inorganic chemistry**, 5th ed., Pearson: New Jersey, 2014, p. 437-490.
- <sup>29</sup>SOLOMON, Edward; LOWERY, Michael; LACROIX, Louis (et al). Electronic Absorption Spectroscopy of Copper Proteins. In: **Methods in Enzymology**. 1993, v. 226, p. 1-33.
- <sup>30</sup>GERLOCH, Malcom. The sense of Jahn-Teller distortions in octahedral copper(II) and other transition-metal complexes. In: **Inorganic Chemistry**. 1981, v. 20, p. 638-640.
- <sup>31</sup>LEVER, A. B. P. **Inorganic Electronic Spectroscopy**, 2nd ed., Elsevier Science Publishers B. V.: Amsterdam, 1984, p. 553- 572.
- <sup>32</sup>HUHEEY, J.E. **Inorganic Chemistry: principles of structure and reactivity**, 3a ed. Harper Internacional SI Edition: Cambridge, 1983. 587p.
- <sup>33</sup>CHAVES, Cláudia. **Síntese, caracterização e atividade de catecolase de complexos de cobre com ligantes tripodais**. 2015. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
- <sup>34</sup>PERALTA, Rosely. **Novos complexos binucleares de cobre(ii) e de ferro(iii) zinco(ii): biomiméticos sintéticos para catecol oxidase e para fosfatases ácidas púrpuras**. 2005. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- <sup>35</sup>SELMECZI, Katalin; RÉGLIER, Marius; GIORGI, Michel (et al). Catechol oxidase activity of dicopper complexes with n-donor ligands. In: **Coordination Chemistry Reviews**. 2003, v. 245, p. 191-201.
- <sup>36</sup>GEARY, W.J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. In: **Coordination Chemistry Reviews**, 1971, v. 07, p. 81-122
- <sup>36</sup>HAAS, Kathryn L.; FRANZ, Katherine J. Application of Metal Coordination Chemistry to Explore and Manipulate Cell Biology. In: **Chemical Reviews**, 2009, v. 109, p. 4921-4960.
- <sup>37</sup>ELGRISHI, Noemie; ROUNTREE, Kelley J.; MCCARTHY, Brian D. (et al). A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. In: **Journal of Chemical Education**, 2017, sp.

<sup>38</sup>VOET, Donald; VOET, Judith. **Biochemistry**. 4th ed. Somerset: John Wiley & Sons, Inc., 2011, p. 332-344.

<sup>39</sup>EICKEN, C., ZIPPEL, f., BULDT-KARENTZOPOULOS, K., KREBS, B. Biochemical and spectroscopic characterization of catechol oxidase from sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) containing a type-3 dicopper center. In: **FEBS Letters**, 1998. p.293- 299.