



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

**AVALIAÇÃO DA INSERÇÃO DE DIFERENTES SUBSTITUINTES
EM NOVOS COMPLEXOS MONONUCLEARES DE COBRE(II) NA
ATIVIDADE DE HIDROLASE**

LAURA DOS SANTOS DUARTE

Florianópolis
Março/2022

Laura dos Santos Duarte

**AVALIAÇÃO DA INSERÇÃO DE DIFERENTES SUBSTITUINTES
EM NOVOS COMPLEXOS MONONUCLEARES DE COBRE(II) NA
ATIVIDADE DE HIDROLASE**

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

Prof^a. Dr^a. Rosely Aparecida Peralta

Me. Daniele Cocco Durigon

Florianópolis

Março/2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais, por todo apoio desde o início do sonho de estar em uma universidade até a conclusão deste curso. Obrigada por serem os meus maiores exemplos de professores e por me mostrarem a importância da educação e da ciência desde criança; por incentivarem e apoiarem o caminho que escolhi e por me darem oportunidade de seguir mesmo com as dificuldades. Márcia Regina e Abel Duarte, muito obrigada por acreditarem em mim e por terem sido a minha base durante esses anos; sem o suporte emocional, financeiro e sem o amor de vocês jamais teria sido possível concluir esta etapa. Aos demais membros da minha família, que também estiveram presentes me apoiando e me dando forças, apesar da distância, foi extremamente importante o incentivo de vocês a continuar e ir sempre mais longe.

Aos amigos que Florianópolis me presenteou, obrigada por terem se tornado uma família que me acolheu e fez me sentir em casa. Obrigada por terem sido essa base de apoio tão forte, por todos os momentos compartilhados, seja de risadas ou de choro (ambos foram muitos), obrigada por fazerem parte deste caminho e espero levá-los comigo para a vida.

Aos meus amigos de infância que me acompanharam, desde os que permaneceram distantes fisicamente, mas deram todo apoio emocional, seja aos que dividiram esta jornada de mudar de Estado, principalmente aos amigos que moraram comigo durante a maior parte deste percurso, comemorando minhas vitórias, me acalmando nos vários momentos de ansiedade e me dando incentivo nos momentos de insegurança; a amizade de vocês foi fundamental.

Gostaria de agradecer ao LABINC, pela oportunidade, foi uma honra fazer parte desta equipe e poder aprender com cada um dos membros. Principalmente à professora Dr^a. Rosely Peralta, pela orientação, por todos os ensinamentos e pelo exemplo de vida, obrigada por inspirar mulheres a seguirem o caminho da ciência. À doutoranda Daniele Durigon, por toda ajuda e pela parceria, muito deste trabalho e do que aprendi ao longo desses anos se deve ao que você me passou de conhecimento e sempre serei grata. Agradeço também aos demais colegas de laboratório, que sempre estiverem dispostos a ajudar e por todo apoio. E por fim, gostaria de agradecer ao CNPq pelo apoio financeiro, ao departamento de Química, ao PIBIC e a UFSC pela oportunidade.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	Metaloenzimas.....	15
2.2	Fosfatases Ácidas Púrpuras (PAPs).....	15
2.3	DNA/Nucleases.....	17
2.4	Complexos modelos relevantes.....	19
2.5	Ligantes calcogenados.....	20
2.6	Efeitos de substituintes no ligante.....	22
3	OBJETIVOS.....	24
3.1	Objetivo Geral.....	24
3.2	Objetivos específicos.....	24
4	METODOLOGIA.....	25
4.1.1	Síntese dos ligantes bis[2-(selenofenil)etil]amina L _{OMe} , L _{Me} e L _{Cl}	25
4.1.2	Síntese dos complexos cloreto de bis[2-(selenofenil)etil]amina cobre (II) – CSe _{OMe} , CSe _{Me} e CSe _{Cl}	26
4.2	Caracterizações e equipamentos.....	26
4.2.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - IR.....	26
4.2.2	Ressonância magnética nuclear - NMR.....	26
4.2.3	Espectrometria de massas - HR-MS.....	27
4.2.4	Espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis.....	27
4.2.5	Condutivimetria.....	27
4.2.6	Eletroquímica.....	27
4.2.7	Análise Elementar – CHN.....	28
4.3	Reatividade.....	28
4.3.1	Estudo cinético com o substrato ativado 2,4-BDNPP.....	28
4.4	Tratamento de Resíduos.....	29
5	Resultados e discussão.....	31
5.1	Caracterização dos ligantes.....	31
5.1.1	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio – NMR de ¹ H.....	32

5.1.2	Ressonância magnética nuclear de carbono – NMR de ^{13}C ...	34
5.1.3	Ressonância magnética nuclear de selênio – NMR de ^{77}Se ...	35
5.2	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IR	36
5.3	Caracterização dos complexos	38
5.3.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - IR .	38
5.3.2	Espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis	40
5.3.3	Condutivimetria	43
5.3.4	Eletroquímica.....	44
5.3.5	Análise Elementar – CHN.....	47
5.4	Estudo cinético com substrato ativado 2,4-BDNPP	47
5.4.1	Efeito de pH	48
5.4.2	Efeito do substrato.....	49
6	CONCLUSÕES.....	53
7	Referências Bibliográficas	55
8	APÊNDICE	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do sítio ativo Fe ^{III} Zn ^{II} da PAP no feijão vermelho. ¹²	17
Figura 2. Estrutura química dos principais constituintes do DNA. ¹⁷	18
Figura 3. Estrutura dos complexos [Cu(HISMIMI)Cl ₂] e [Cu(HISMIMA)Cl ₂].H ₂ O, reportados por Scaperlini <i>et al.</i> ²⁰	20
Figura 4. Estrutura do complexo [ZnL ₁ (OH ₂)] ⁺ reportado por Bazzicalupi <i>et al.</i> ²¹ ...	20
Figura 5. Estrutura química do composto Ebselen. ²⁴	21
Figura 6. Estrutura do complexo reportado CSe por Durigon <i>et al.</i> ²⁵	21
Figura 7. Estrutura química dos complexos [Fe ^{III} Zn ^{II} (μ-OH)(H ₂ O)L-R] ²⁺ e [Cu ^{II} Cu ^{II} (μ-OH)(HO)L-R ₂]. ^{27,28}	22
Figura 8. Estrutura química dos ligantes propostos.....	24
Figura 9. Ligante sintetizado neste trabalho L _{OMe}	31
Figura 10. Ligante sintetizado neste trabalho L _{Me}	31
Figura 11. Ligante sintetizado neste trabalho L _{Cl}	31
Figura 12. Sobreposição dos espectros de NMR de ¹ H dos ligantes L _{OMe} , L _{Me} e L _{Cl}	33
Figura 13. Sobreposição dos espectros de NMR de ¹³ C (200 MHz) dos ligantes L _{OMe} , L _{Me} e L _{Cl} em CDCl ₃	35
Figura 14. Sobreposição dos espectros de NMR de ⁷⁷ Se (38 MHz) dos ligantes L _{OMe} , L _{Me} e L _{Cl} em CDCl ₃	36
Figura 15. Espectro de IR para o ligante L _{OMe} em ATR.	37
Figura 16. Estrutura dos complexos CSe _{OMe} , CSe _{Me} e CSe _{Cl}	38
Figura 17. Espectro de Infravermelho de L _{OMe} e seu respectivo complexo CSe _{OMe} em ATR.	39
Figura 18. Espectro eletrônico para os complexos CSe _{OMe} , CSe _{Me} e CSe _{Cl} em solução em MeCN/DMSO 95:5% v:v.....	41
Figura 19. Espectro eletrônico para os complexos CSe _{OMe} , CSe _{Me} e CSe _{Cl} no estado sólido em KBr.....	41
Figura 20. Voltamograma cíclico do complexo CSe _{Cl} em MeCN/DMSO na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em diferentes velocidades.....	45

Figura 21. Voltamograma cíclico dos complexos CSe _{OMe} , CSe _{Me} e CSe _{Cl} em MeCN/DMSO 95:5% v:v na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em velocidade de 100 mVs ⁻¹ .	47
Figura 22. Gráfico de velocidade inicial (V ₀) em função do pH referente aos complexos CSe _{OMe} , CSe _{Me} e CSe _{Cl} para reação da hidrólise do substrato 2,4-BDNPP a 25 °C. Solução MeCN/DMSO/H ₂ O 45:5:50 % v:v [complexo] = 1,16 x 10 ⁻⁴ molL ⁻¹ . [substrato] = 9,96 x 10 ⁻⁴ mol. [tampão] = 0,05 molL ⁻¹ (pH 5 – 9,5).	48
Figura 23. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo CSe _{OMe} a 25 °C e pH 6,5. Solução MeCN/DMSO/H ₂ O 45:5:50% v:v; [complexo] = 1,161 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ ; [substrato] = 4,941 x 10 ⁻⁴ a 4,452 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 0,05 mol L ⁻¹ . I = 0,05 mol L ⁻¹ (LiClO ₄).	50
Figura 24. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo CSe _{Cl} a 25 °C e pH 6,5. Solução MeCN/DMSO/H ₂ O 45:5:50% v:v; [complexo] = 1,16 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ ; [substrato] = 3,926 x 10 ⁻⁴ a 3,140 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 0,05 mol L ⁻¹ . I = 0,05 mol L ⁻¹ (LiClO ₄).	50
Figura 25. Espectro de NMR de ¹ H do ligante L _{OMe} .	59
Figura 26. Espectro de NMR de ¹ H do ligante L _{Me} .	60
Figura 27. Espectro de NMR de ¹ H (200 MHz) do ligante L _{Cl} em CDCl ₃ .	60
Figura 28. Espectro de NMR de ¹³ C (200 MHz) do ligante L _{Me} em CDCl ₃ .	61
Figura 29. Espectro de NMR de ¹³ C (200 MHz) do ligante L _{Cl} em CDCl ₃ .	61
Figura 30. Espectro de NMR de ⁷⁷ Se (200 MHz) do ligante L _{OMe} em CDCl ₃ .	62
Figura 31. Espectro de NMR de ⁷⁷ Se (200 MHz) do ligante L _{Me} em CDCl ₃ .	62
Figura 32. Espectro de NMR de ⁷⁷ Se (200 MHz) do ligante L _{Cl} em CDCl ₃ .	63
Figura 33. Espectro de IR para o ligante L _{Me} em ATR.	63
Figura 34. Espectro de IR para o ligante L _{Cl} em ATR.	64
Figura 35. Espectro de Infravermelho de L _{Me} e seu respectivo complexo CSe _{Me} em ATR.	64
Figura 36. Espectro de Infravermelho de L _{Cl} e seu respectivo complexo CSe _{Cl} em ATR.	65
Figura 37. Voltamograma cíclico do complexo CSe _{OMe} em MeCN na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em diferentes velocidades.	65

Figura 38. Voltamograma de onda quadrada do complexo CSe _{OMe} em MeCN na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em velocidade de 100mVs ⁻¹	66
Figura 39. Voltamograma cíclico do complexo CSe _{Me} em MeCN na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em diferentes velocidades.....	66
Figura 40. Voltamograma de onda quadrada do complexo CSe _{Me} em MeCN na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em velocidade de 100mVs ⁻¹	67
Figura 41. Voltamograma de onda quadrada do complexo CSe _{Cl} em MeCN na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em velocidade de 100mVs ⁻¹	67
Figura 42. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo CSe _{OMe} a 25 °C e pH 6,5. Solução MeCN/DMSO/H ₂ O 9,5:0,5:1; [complexo] = 1,161 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ ; [substrato] = 4,941 x 10 ⁻⁴ a 4,452 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 0,05 mol L ⁻¹ . I = 0,05 mol L ⁻¹ (LiClO ₄).	68
Figura 43. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo CSe _{Cl} a 25 °C e pH 6,5. Solução MeCN/DMSO/H ₂ O 9,5:0,5:1; [complexo] = 1,16 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ ; [substrato] = 3,926 x 10 ⁻⁴ a 3,140 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 0,05 mol L ⁻¹ . I = 0,05 mol L ⁻¹ (LiClO ₄).	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições cinéticas para a realização do efeito de pH.....	29
Tabela 2. Deslocamentos químicos e atribuições dos espectros de NMR de ^1H dos ligantes.....	32
Tabela 3. Deslocamentos químicos e atribuições dos espectros de NMR de ^{13}C dos ligantes.....	34
Tabela 4. Atribuições das principais bandas dos espectros de Infravermelho dos ligantes LOMe , LMe e LCl	37
Tabela 5. Atribuições das principais bandas dos espectros de Infravermelho dos ligantes e seus respectivos complexos. ^{34,25}	39
Tabela 6. Dados obtidos através da espectroscopia eletrônica em estado sólido e em solução para os complexos CSeOMe , CSeMe e CSeCl	43
Tabela 7. Valores de condutividade para os complexos CSeOMe , CSeMe e CSeCl em MeCN e em MeCN/DMSO 95:5 % v:v.....	44
Tabela 8. Parâmetros eletroquímicos (vs NHE) para os complexos CSeOMe , CSeMe e CSeCl a $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$	46
Tabela 9. Valores de porcentagem de C, H e N calculado/experimental para os complexos CSeOMe , CSeMe e CSeCl	47
Tabela 10. Parâmetros cinéticos calculados a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e pH 6,5 para as reações de hidrólise do substrato 2,4 – BDNPP catalisadas pelos complexos CSeOMe , CSeCl e CSe^{25} e calculados a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ e pH 9,3 para os complexos $[\text{Cu}(\text{HISMIMI})\text{Cl}_2]$ e $[\text{Cu}(\text{HISMIMA})\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}^{20}$	51

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Descrição do mecanismo associativo para clivagem nucleofílica de um diéster de fosfato. ¹⁰	16
Esquema 2. Rota sintética para obtenção dos ligantes L _{OMe} , L _{Me} e L _{Cl}	25
Esquema 3. Reação de hidrólise do bis(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP). ²⁷	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- ν - Modo vibracional de estiramento na região do infravermelho
- 2,4-BDNPP - Bis(2,4-dinitrofenil)fosfato
- 2,4-DNP - 2,4-dinitrofenolato
- ATP - Trifosfato de adenosina
- CCD - Cromatografia em camada delgada
- CHES - Ácido 2-(N-cicloexilamino)etanossulfônico
- d - Duplete
- DCM - Diclorometano
- DMSO - Dimetilsulfóxido
- DNA - Ácido desoxirribonucléico, do inglês deoxyribonucleic acid
- E - Eficiência catalítica
- $E_{1/2}$ - Potencial de meia onda
- NHE - Eletrodo normal de hidrogênio, do inglês normal hydrogen electrode
- E_{pa} - Potencial de pico anódico
- E_{pc} - Potencial de pico catódico
- EtOH - Etanol
- ϵ - Coeficiente de absorção molar
- GPx – Glutathione peroxidase
- HEPES - Ácido 2-[4-(2-hidroxietil)-1-piperazino]etanossulfônico
- I - Força iônica
- INCA – Instituto nacional do câncer
- IUBMB - União internacional de bioquímica e biologia molecular
- IR - Espectroscopia na região do infravermelho, do inglês infrared spectroscopy
- k_{cat} - Constante catalítica

K_M - Constante de Michaelis-Menten

m - Multipleteo

MeCN - Acetonitrila

MeOH - Metanol

MES - Ácido 2-[N-morfolino]etanossulfônico

OMS – Organização mundial da Saúde

PAPs - Fosfatases Ácidas Púrpuras

pKa - Constante de dissociação ácida em escala logarítmica

ppm - Partes por milhão

^{13}C NMR - Ressonância magnética nuclear de carbono, do inglês nuclear magnetic resonance

^1H NMR - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio, do inglês *nuclear magnetic resonance*

RNA - Ácido ribonucléico, do inglês ribonucleic acid

s - Simpleto

t - Tripleto

TBAPF₆ - Hexafluorofosfato de tetrabutilamônio

LMCT - Transferência de carga ligante metal, do inglês *ligand to metal charge-transfer*

THF - Tetrahidrofurano

TMS - Tetrametilsilano

UV-Vis - Espectroscopia na região do ultravioleta - visível

V_0 - Velocidade inicial

$V_{\text{máx}}$ - Velocidade máxima

δ - Deslocamento químico (NMR)

δ - Estiramento axial na região do infravermelho

λ - Comprimento de onda (nm)

RESUMO

Os ésteres de fosfato estão presentes em diversas estruturas biológicas relevantes, inclusive na molécula de DNA, exercendo uma função estrutural importante para a estabilidade da molécula. Em condições biológicas, os ésteres de fosfato são apenas clivados quando em contato com metaloenzimas, uma vez que na sua ausência levaria milhões de anos para a reação ocorrer. Assim, as metaloenzimas têm sido inspiração para o desenvolvimento de compostos modelo capazes de clivar tanto ésteres de fosfato, quanto o próprio DNA, tornando possível o desenvolvimento de novos compostos com atividade antitumoral.

Tendo em vista tamanha importância destes compostos, neste trabalho foi realizado a síntese de três novos complexos mononucleares de cobre(II) contendo ligantes organoselenados, visto que estes são menos explorados na bioinorgânica, e avaliou-se a inserção de diferentes substituintes doadores e retiradores de densidade eletrônica na sua atividade hidrolase, em busca de melhores atividades catalíticas e melhores condições cinéticas.

Apenas dois complexos foram avaliados frente a reação de hidrólise do substrato ativado 2,4-BDNPP devido a estes apresentarem comportamento que puderam ser tratados por Michaelis-Menten, sendo os complexos LO_{Me} e L_{Cl} . Os resultados demonstraram que o ligante contendo maior capacidade doadora de densidade eletrônica (LO_{Me}) apresentou maior atividade catalítica. Quanto as condições cinéticas, foi observado um máximo de atividade catalítica em pH 6,5 e temperatura de 25°C, sendo condições favoráveis quando comparado a complexos nitrogenados e oxigenados nota-se pH mais básicos e frequentemente temperaturas mais elevadas, sendo esta uma vantagem proporcionada a inserção de átomos como Selênio na primeira esfera de coordenação, conferindo resultados interessantes para possíveis aplicações biológicas.

Palavras-chave: hidrolase, biomiméticos, selênio, complexos de cobre(II)

1 INTRODUÇÃO

O crescimento e multiplicação anormal e descontrolado das células causa uma série de doenças que genericamente denominou-se de câncer. Apenas no ano de 2020, cerca de 626 mil novos casos de câncer foram registrados segundo o Instituto Nacional de Câncer e a Organização Mundial da Saúde estima que, no ano 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivendo, anualmente, com a doença.^{1,2}

Em função desses números, há o crescente interesse na comunidade científica em estudos relacionados à interação de íons metálicos de transição com o ácido nucleico por conta de sua relevância na elaboração de ferramentas para biotecnologia e medicina.³ Esses estudos são importantes para compreensão da toxicidade de fármacos contendo íons metálicos com possíveis capacidades antitumorais, uma vez que estes compostos atuam no ácido desoxirribonucleico (DNA).

O DNA é o principal composto orgânico responsável pelo armazenamento e transmissão de informação genética. Dentre os diferentes grupos presentes na estrutura do DNA, destacam-se os grupos ésteres de fosfato, os quais servem de ponte para a ligação entre os diferentes nucleotídeos, sendo responsáveis principalmente por conferir sua alta estabilidade, apresentando tempo de meia vida que ultrapassam em muitos anos o tempo de vida humano em condições biológicas.

Na presença de metaloenzimas, as ligações P-O são clivadas em apenas alguns segundos. As fosfodrolases em específico são enzimas capazes de clivar ligações fosfodiéster em ésteres de fosfato. Suas estruturas têm sido utilizadas como inspiração para a criação de compostos modelo capazes de clivarem tanto ésteres de fosfato, quanto o próprio DNA.

De forma geral, a maioria dos compostos modelo para hidrolases reportados até então possui ligantes N,O doadores, no entanto, pouco há sobre compostos apresentando átomos de selênio na primeira esfera de coordenação, apesar de ser um elemento conhecido por suas propriedades essenciais no meio biológico. Tendo em vista tamanha importância destes compostos, este trabalho busca a síntese de novos ligantes calcogenados e seus respectivos complexos metálicos, no qual propõe-se avaliar sua atividade como catalisadores de reações de hidrólise.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Metaloenzimas

Enzimas são polímeros naturais que possuem enorme eficiência catalítica, devido à capacidade de diminuir a energia de ativação de uma reação específica. As enzimas são classificadas de acordo com a função desempenhada pelas mesmas no meio biológico, sendo reunidas segundo à IUBMB, em 7 categorias: oxirredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases, ligases e translocases.⁴

As metaloenzimas são caracterizadas por possuírem um ou mais metais em seu sítio ativo. Estima-se que cerca de um terço de todas as proteínas e enzimas purificadas até então requerem íons metálicos como cofatores para exercerem suas funções biológicas.⁵ Estas estruturas são capazes de catalisar uma grande variedade de reações em condições muito brandas e com uma alta quimio e estereosseletividade. Por este motivo, as metaloenzima têm sido alvo de vasta investigação, bem como o planejamento de complexos metálicos que mimetizam seus aspectos estruturais e/ou funcionais com baixa massa molar.⁶

A forma clássica de projetar complexos biomiméticos consiste em usar um ligante que reproduza o ambiente natural do íon metálico no sítio ativo da enzima. O *design* de compostos com estruturas químicas similares é importante também para obtenção de informações sobre os mecanismos da reação catalisada pelas enzimas.⁷

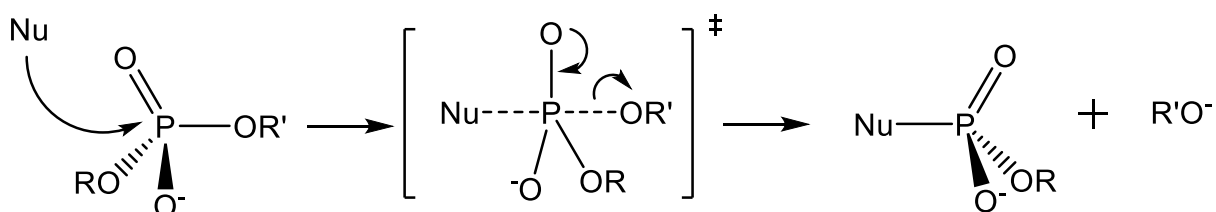
Neste trabalho, destacam-se as hidrolases (classe 3, de acordo com a IUBMB), enzimas que fazem uso de um ou mais íons metálicos essenciais para catalisarem a hidrólise de vários substratos biológicos.⁸ Dentre esta classe de enzimas, podem-se citar as fosfohidrolases que atuam na clivagem de ligações fósforo-oxigênio de ésteres de fosfato, como exemplo, têm-se as fosfatases ácidas púrpuras.

2.2 Fosfatases Ácidas Púrpuras (PAPs)

As fosfatases ácidas púrpuras (PAPs) são fosfohidrolases que foram identificadas e caracterizadas a partir de inúmeras fontes vegetais e animais, incluindo espécies de plantas como feijão vermelho, soja, tabaco e tomate, assim como espécies de animais, por exemplo, bovinos, porcos e humanos. Os papéis biológicos dessas enzimas são diversos, incluindo reabsorção óssea, morte microbiana e possivelmente transporte de ferro em animais e aquisição de fosfato em plantas.^{9,10,11}

A hidrólise não catalisada de ésteres de fosfato é favorecida termodinamicamente, mas em termos de cinética é extremamente lenta, tornando-os particularmente adequados para seus papéis estruturais na biologia.¹² Em particular mono- e diésteres são onipresentes na natureza e são encontrados em materiais genéticos, em coenzimas, em reservatórios de energia e como intermediários em uma infinidade de transformações bioquímicas.¹³

As principais funções dos ésteres de fosfato estão relacionadas à sinalização celular, reserva de energia como na hidrólise do (ATP) e propriedade estrutural para o DNA e RNA. Embora a estabilidade das ligações P-O seja vital para manutenção da vida, estas podem ser facilmente quebradas na presença de fosfohidrolases por meio de um ataque nucleofílico descrito do **Esquema 1**:



Esquema 1. Descrição do mecanismo associativo para clivagem nucleofílica de um diéster de fosfato. Adaptado de Desbouis *et al.*¹²

As PAPs são as únicas hidrolases conhecidas que requerem um centro bimetálico heterovalente da forma $Fe^{III}M^{II}$ (onde $M = Fe, Zn$ ou Mn - sendo Fe encontrado nos animais, Zn no feijão vermelho e Mn nas plantas) para promover a catálise no meio biológico.⁹ Apesar das PAPs encontradas em animais e plantas compartilharem menos de 20% de identidade de sequência de aminoácidos e diferirem muito em tamanho e estrutura oligomérica, o sítio cataliticamente relevante é altamente conservado, com sete cadeias laterais de aminoácidos invariantes¹⁴ como demonstrado na **Figura 1** na qual é exibido um exemplo de uma PAP do feijão vermelho contendo centro $Fe^{III} Zn^{II}$ com uma ponte μ -hidroxo.

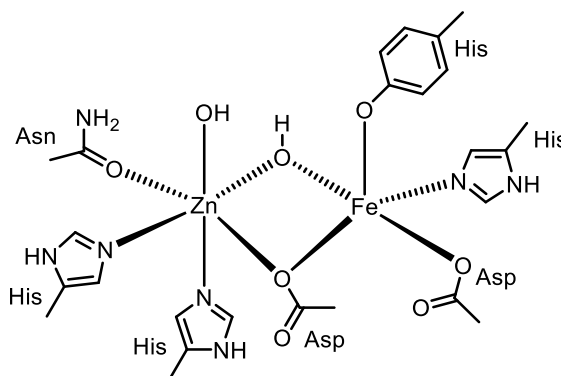


Figura 1. Estrutura do sítio ativo $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ da PAP no feijão vermelho. Adaptado de Schenk *et al.*¹⁴

As cores das PAPs estão associadas a processos de transferência de carga do resíduo de aminoácido tirosinato $\rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$, característico da forma oxidada, $[\text{Fe}(\text{III})-\text{Fe}(\text{III})]$ de cor púrpura, inativa para a hidrólise.¹⁵

A ponte μ -hidroxo exerce um papel essencial na aproximação do substrato através das interações de hidrogênio e assim realizando a orientação espacial necessária para a coordenação do substrato no íon metálico¹⁴ bem como atuando na maioria das propostas mecanísticas como o nucleófilo da reação. Estudos demonstram que a coordenação de um íon hidróxido em um átomo de metal reduz sua basicidade por um fator de cerca de oito ordens de magnitude quando comparado com um hidróxido não ligado, mas prossegue o ataque nucleofílico menos rapidamente em apenas cerca de duas ordens de magnitude do que um íon hidróxido não ligado, demonstrando que mesmo coordenado a um íon metálico, o hidróxido terminal ainda possui capacidade de ser um bom nucleófilo.¹⁶

A força do nucleófilo é fortemente afetada pela acidez do metal ao qual está coordenado que, por sua vez, possui forte influência sobre o ambiente de coordenação proporcionado pelos ligantes. A capacidade das metalohidrolases em realizarem a clivagem das ligações fosfodiéster tão eficientemente demonstra chances promissoras de ocorrerem clivagem de ésteres de fosfato presentes no DNA.

2.3 DNA/Nucleases

Os ácidos nucleicos têm sido objeto de investigações bioquímicas praticamente a partir do momento em que eles foram pela primeira vez isolados do núcleo da célula, há cerca de 100 anos. Ácidos nucleicos ocorrem em todas as células vivas, onde eles não só são responsáveis pelo armazenamento e transmissão da informação genética,

mas também pela tradução dessa informação, expressa pela síntese precisa das proteínas, características de cada célula.¹⁷

Assim como as proteínas, os ácidos nucleicos são biopolímeros de alta massa molecular, mas neles a unidade que se repete é o mononucleotídeo, ao invés de um aminoácido. Em células procarióticas, o DNA normalmente ocorre sob forma de um anel composto de uma fita dupla enovelada. Este biopolímero é constituído por nucleotídeos, que por sua vez possuem 3 componentes cruciais: açúcar, fosfato e bases nitrogenadas, demonstrados na **Figura 2**.¹⁸

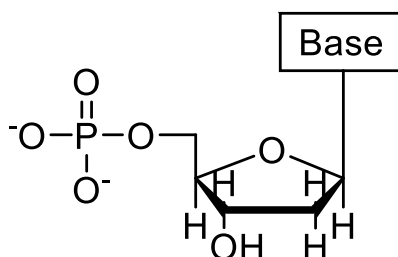


Figura 2. Estrutura química dos principais constituintes do DNA. Adaptado de Hegg *et al.*¹⁹

As ligações do éster de fosfato no DNA têm uma meia-vida estimada de 30.000.000 anos (pH 6,8, 25°C), calculada a partir da taxa de hidrólise de fosfato de dienopentil medido sob essas condições. Com base nisso, apenas cerca de duas ligações fosfodiéster dentro do DNA presentes em uma célula humana inteira sofreria hidrólise em uma semana.¹² A compreensão de como estas ligações atuam no DNA é importante para entender processos em que as células se reproduzem de forma inadequada e ao quebrar estas ligações, ocorrerá a clivagem do DNA de maneira seletiva.

A inércia cinética de DNA e RNA (na ausência de catalisadores) deriva em parte do fato de suas cadeias principais altamente carregadas repelirem fortemente o ataque de nucleófilos em potencial. Além disso, as interações de empilhamento de base, especialmente dentro da estrutura de dupla fita do DNA, dificultam severamente a formação do estado de transição necessário.^{12,20}

Logo, o papel dos íons metálicos em promover a hidrólise de ésteres de fosfato e nucleotídeos tem sido objeto de consideráveis estudos para se conhecerem as vias pelas quais os metais desempenham estes processos. A modificação irreversível do DNA causada por complexos metálicos é interessante devido às potenciais aplicações como ferramentas biológicas ou como agentes terapêuticos.²¹

2.4 Complexos modelos relevantes

Após o primeiro relato da atividade antitumoral de alguns compostos da platina, como a cisplatina, por Rosenberg e colaboradores, significativa atenção tem sido dada para desenvolver e compreender novos metalofármacos. Diferentes metais são candidatos potenciais como agentes terapêuticos em pesquisas medicinais e estudos de como esses compostos podem interagir de forma eficiente com as proteínas e DNA sob condições fisiológicas.³

Apesar de o sítio ativo das PAPs ser binuclear, a presença de dois íons metálicos não é exigência para a eficiência dos sistemas miméticos, ainda que o número de exemplares mononucleares seja menor comparado aos binucleares.⁸ Nota-se também que no meio biológico há enzimas relatadas que apresentam atividade hidrolítica com um único íon metálico no sítio ativo, por exemplo, a amino peptidase de *Aeromonas proteolytica*, a metionil aminopetidase de *Escherichia coli* ou a metalo-Elactamase de *Bacillus cereus*.¹⁴

Hendry *et al* definiram algumas características que complexos metálicos necessitam possuir para se caracterizarem como possíveis hidrolases sintéticas:²²

- i. Possuírem dois sítios lábeis *cis* orientados;
- ii. Promoverem a redução do *pKa* da molécula de água coordenada ao centro metálico;
- iii. Facilitarem a ativação do substrato através de ataque nucleofílico ou estabilização de um estado de transição;
- iv. Liberarem o produto com velocidade razoável.

Scarpellini e colaboradores reportaram dois complexos de cobre(II) com alta eficiência catalítica: $[\text{Cu}(\text{HISMIMI})\text{Cl}_2]$ e $[\text{Cu}(\text{HISMIMA})\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$, dispostos na **Figura 3**. Ambos promoveram efetivamente a clivagem hidrolítica do DNA plasmidial sob condições anaeróbicas e aeróbicas, representando um aumento de cerca de 10^7 em comparação com a taxa estimada de hidrólise não catalisada em pH 9,3 e temperatura de 50°C.²³

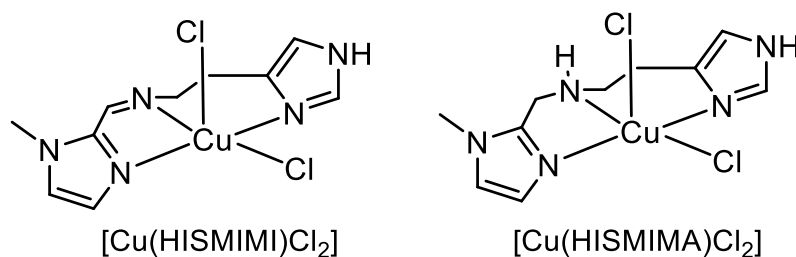


Figura 3. Estrutura dos complexos $[\text{Cu}(\text{HISMIMI})\text{Cl}_2]$ e $[\text{Cu}(\text{HISMIMA})\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$, reportados por Scaperllini *et al.*²³

Um complexo mononuclear de zinco(II) foi reportado por Bazzicalupi e colaboradores e nos experimentos com DNA de plasmídeo superenovelado se mostrou capaz de poder clivar DNA em pH neutro. O complexo $[\text{ZnL}_1(\text{OH}_2)]^{2+}$ representado na **Figura 4**, o qual em meio básico ocorre a desprotonação da molécula de água coordenada ao centro metálico e devido ao caráter nucleofílico das funções Zn-OH pode hidrolisar o substrato BNPP.²⁴

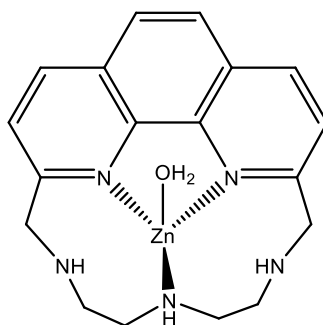


Figura 4. Estrutura do complexo $[\text{ZnL}_1(\text{OH}_2)]^+$ reportado por Bazzicalupi *et al.*²⁴

Embora exista uma vasta quantidade de compostos nitrogenados e oxigenados sendo explorados, pouco se encontra na literatura em relação aos calcogênios em modelos para hidrolase.

2.5 Ligantes calcogenados

Na grande maioria dos estudos em que átomos como enxofre e selênio estão inseridos, estes não estão presentes na primeira esfera de coordenação. A presença de átomos maiores e de menor eletronegatividade como o selênio pode trazer a esses modelos vantagens frente àqueles contendo ligantes N,O doadores. Sua utilização também se justifica devido à sua maior polarizabilidade e por serem considerados bases macias de Pearson, conferindo diferentes propriedades ao metal, podendo proporcionar variações na atividade catalítica.

Além disso, o selênio exerce um papel bioquímico em mamíferos de extrema importância devido sua participação no sítio ativo da glutathiona peroxidase (GPx) – enzima antioxidante capaz de decompor espécies reativas de oxigênio – sendo o responsável por suas propriedades redox, estabelecendo assim o selênio como um elemento traço essencial.²⁵

Muitos compostos organoselenados foram estudados como modelos biológicos que são capazes de simular funções catalíticas demonstradas por enzimas naturais como por exemplo o Ebselen (**Figura 5**), primeiro composto a agir como um mimético da GPx.²⁶

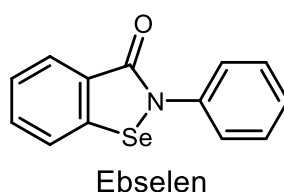


Figura 5. Estrutura química do composto Ebselen. Adaptado de Parnham *et al.*²⁷

Durigon *et al.*²⁸ reportaram um complexo mononuclear de cobre(II) que contém átomos de selênio coordenados ao centro metálico como demonstrado na **Figura 6**, e dois cloretos *cis* orientados, em que a reação de hidrólise do substrato ativado 2,4-BDNPP foi acelerada por um fator de 650 comparado à reação não catalisada e em pH 6,5 e temperatura 25°C.

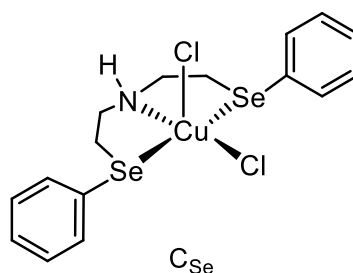


Figura 6. Estrutura do complexo reportado CSe por Durigon *et al.*²⁸

Ao comparar as condições cinéticas deste complexo aos de Scarpellini *et al.* previamente citadas, nota-se uma diminuição na temperatura e no pH ótimo reacional, demonstrando o efeito da inserção de bases macias na primeira esfera de coordenação, uma vez que diminuem o pK_a da água coordenada, apresentando máximo de eficiência catalítica em condições de pH com possíveis aplicações biológicas. Tendo em vista a relevância do selênio no meio biológico e a necessidade

de se explorar a inserção bases macias na esfera de coordenação, busca-se a síntese de complexos com ligantes organocalcogenados como miméticos de hidrolase.

Além da inserção de átomos com diferentes propriedades na primeira esfera de coordenação alterarem a densidade eletrônica do metal, a segunda esfera de coordenação também possui importante efeito na acidez de Lewis do metal e interfere significativamente na atividade catalítica.

2.6 Efeitos de substituintes no ligante

Os aminoácidos que não estão diretamente envolvidos na coordenação do metal, mas são indispensáveis para a atividade, são definidos como a segunda esfera de coordenação. Seus papéis são cumpridos por meio de interações não covalentes, como ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, efeitos hidrofóbicos e forças de van der Waals. Essas interações fracas alteram as propriedades físicas e químicas dos sítios ativos para atender os requisitos da transformação biológica.²⁹

Ligantes que apresentam diferentes substituintes retiradores ou doadores de densidade eletrônica, demonstram influência direta nos valores de atividade catalítica dos seus respectivos complexos metálicos. Esta influência é avaliada pelos parâmetros de Hammett, como no estudo de Peralta *et al* em que se avaliou o efeito eletrônico do substituinte na reatividade de duas séries de complexos, a primeira heterovalente: $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}(\mu\text{-OH})(\text{H}_2\text{O})\text{L-R}_1]^{2+}$ sendo $\text{R}_1 = \text{CH}_3, \text{H}, \text{Br}, \text{NO}_2$, e a segunda de complexos binucleares de Cu(II): $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}(\mu\text{-OH})(\text{HO})\text{L-R}_2]$ sendo $\text{R}_2 = \text{CH}_3, \text{H}, \text{NO}_2$, ambas demonstradas na **Figura 7**.^{30,31}

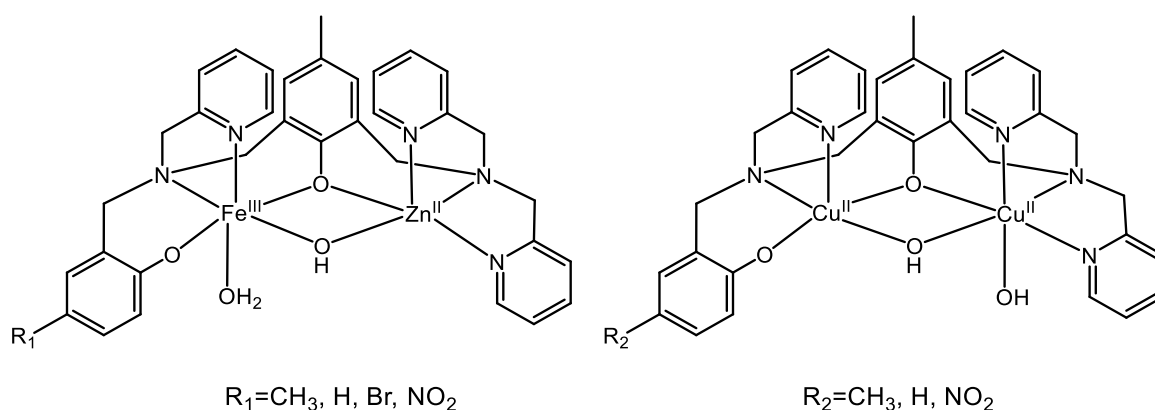


Figura 7. Estrutura química dos complexos $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}(\mu\text{-OH})(\text{H}_2\text{O})\text{L-R}_1]^{2+}$ e $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}(\mu\text{-OH})(\text{HO})\text{L-R}_2]$ reportado por Peralta *et al.* ^{30,31}

A compreensão desses parâmetros é fundamental para o entendimento dos processos que ocorrem durante a catálise e de que forma os ligantes podem alterar a força dos nucleófilos da reação, sendo um fator essencial para o aprimoramento da modulação de compostos biomiméticos com melhores atividades catalíticas, visto que a inserção de diferentes substituintes e diferentes átomos na primeira esfera de coordenação pode alterar significativamente a eficiência catalítica.

Foi observada uma variação significativa na eficiência catalítica frente à clivagem do DNA de acordo com a variação do grupamento R. Os complexos de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ apresentaram atividade hidrolase frente ao substrato 2,4-BDNPP influenciada pelas alterações eletrônicas no ligante e apresentaram um acréscimo na atividade catalítica na presença de grupamentos doadores de elétrons.³⁰

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Sintetizar novos ligantes bioinspirados contendo selênio e seus respectivos complexos metálicos de cobre para avaliar a influência destes átomos macios nas propriedades físico-químicas dos complexos bem como a influência de substituintes doadores e retiradores de densidade eletrônica na catálise.

3.2 Objetivos específicos

i. Sintetizar os ligantes L_{OMe}, L_{Me} e L_{Cl} (**Figura 8**) e caracterizá-los por técnicas espectroscópicas via IR, ¹H NMR e ¹³C NMR.

ii. Sintetizar e caracterizar os complexos mononucleares de Cu(II) com os ligantes previamente sintetizados, caracterizá-los por análises espectroscópicas (IR, UV-Vis), eletroquímicas, condutimétricas e análise elementar.

iii. Realizar ensaios cinéticos dos complexos frente ao substrato modelo de reação de hidrólise bis(2,4-dinitrofenil) fosfato (2,4-BDNPP) e avaliar a influência dos substituintes nos ligantes.

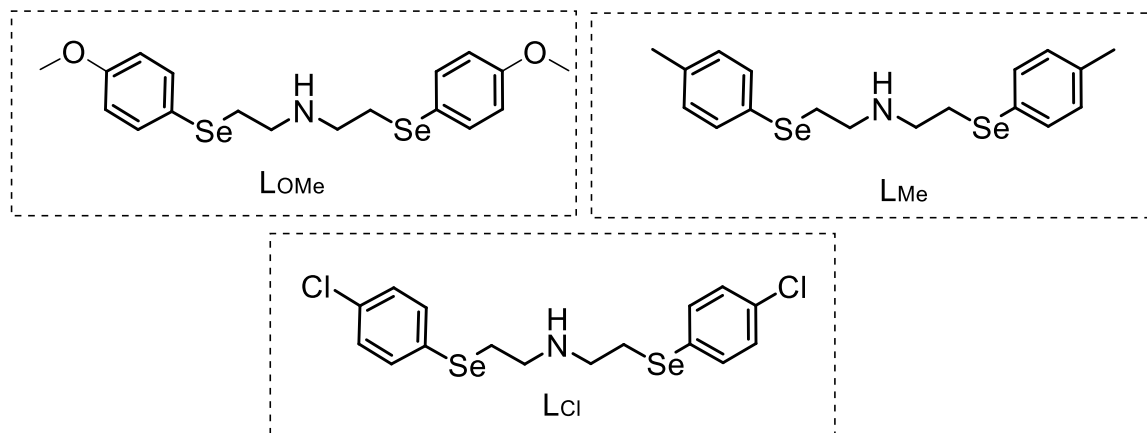


Figura 8. Estrutura química dos ligantes propostos.

4 PARTE EXPERIMENTAL

Os reagentes, gases e solventes utilizados neste trabalho foram obtidos comercialmente da Merck com grau de pureza elevados e utilizados sem purificação prévia.

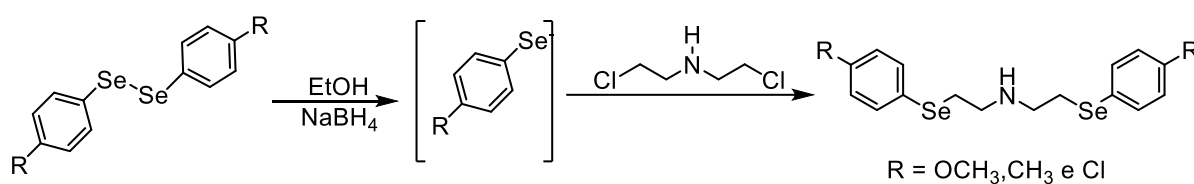
A síntese dos ligantes finais bem como dos materiais de partida foi realizada em colaboração com o laboratório LabSelen sob supervisão do professor Antonio Luiz Braga.

As sínteses inorgânicas bem como as análises de caracterização e cinética foram realizadas no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC), exceto pelas técnicas de ressonância magnética nuclear (NMR) realizada na central de análises do departamento de química da UFSC, espectrometria de massas realizada pelo Laboratório de Biologia Molecular Estrutural (LABIME) no departamento de bioquímica da UFSC e a análise elementar de CHN foi realizada em parceria com o Laboratório de Nanomateriais e Catálise da USP.

4.1. Métodos de síntese

4.1.1 Síntese dos ligantes bis[2-(selenofenil)etil]amina L_{OMe} , L_{Me} e L_{Cl} .

A síntese dos ligantes utilizados neste trabalho foram obtidos por meio de uma modificação na metodologia já descrita por Kumar *et al.* O esquema reacional geral para os ligantes se encontra no **Esquema 2**.³²



Esquema 2. Rota sintética para obtenção dos ligantes L_{OMe} , L_{Me} e L_{Cl} .

Em um balão com duas bocas de 500 mL com condensador de refluxo e barra de agitação magnética sob atmosfera de argônio, foi adicionado 15 mmol do disseleneto de diorganoíla previamente sintetizado por meio da reação de Grignard, na qual o brometo de arila é reagido com magnésio metálico formando o reagente de Grignard, em seguida o selênio elementar é adicionado, obtendo assim o disseleneto como produto. Este foi dissolvido em 150 mL de EtOH, e foi adicionado 30 mmol de NaBH₄ até ser observada uma mudança de coloração de amarelo para incolor, além da liberação de gás, evidenciando a redução do disseleneto. Após esta mudança, 15

mmol do cloreto amínico dissolvidos em 25 mL de EtOH foram adicionados gota a gota com a utilização de uma seringa. A reação foi deixada em agitação sob refluxo, *overnight*.²⁸ O solvente foi então rotaevaporado e foi adicionado 30 mL de água destilada e a reação foi extraída três vezes com acetato de etila (3 x 30 mL). Em seguida, a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente foi removido no rotaevaporador. Por fim, o ligante foi purificado por meio de coluna cromatográfica, utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila 70:30% e fase estacionária sílica gel (70-230 mesh). Durante a coluna, foi utilizada revelador UV para visualização em CCD.³²

4.1.2 Síntese dos complexos cloreto de bis[2-(selenofenil)etil]amina cobre (II) – CSe_{OMe}, CSe_{Me} e CSe_{Cl}

A síntese dos três complexos ocorreu por meio da mesma metodologia: em béqueres de 50 mL sob agitação, foram solubilizados 0,5 mmol do respectivo ligante em 10 mL de EtOH, em outro recipiente foram solubilizados em 10 mL de EtOH 0,5 mmol de cloreto de cobre(II). Em seguida, foi gotejada a solução do metal sobre a solução do ligante. A reação permaneceu por aproximadamente meia hora em agitação à temperatura ambiente, e após este período ocorreu a precipitação do complexo sendo obtido um sólido verde, este foi coletado e lavado com isopropanol e éter etílico.

4.2 Caracterizações e equipamentos

4.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - IR

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer FT-IR Spectrofotometer Spectrum 100, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia - LABINC do Departamento de Química da UFSC. As amostras foram analisadas por Refletância Total Atenuada (ATR), com cristal de seleneto de zinco (45°) e detector TGS (“triglycine sulfate”), na faixa entre 4000 a 550 cm⁻¹.

4.2.2 Ressonância magnética nuclear - NMR

Os espectros de ressonância magnética nuclear (NMR) de hidrogênio, de carbono e de selênio foram obtidos em espectrômetros Bruker Avance 200 operando a 200, 100 e 38 MHz, respectivamente, que se encontram na Central de Análises,

Departamento de Química - UFSC. As amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) empregando-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno.

4.2.3 Espectrometria de massas – HR-MS

Os espectros de massas de alta resolução dos ligantes foram obtidos a partir de um espectrômetro de massas micrOTOF Q-II marca Bruker Daltonics do Laboratório de Biologia Molecular Estrutural (LABIME) - UFSC operando em modo de íon positivo. Utilizando um fluxo constante $1500 \mu\text{L/h}$ de solvente, sendo esse metanol de grau MS.

4.2.4 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta e do visível foram obtidos em um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO. As análises foram realizadas se utilizando cubetas de quartzo com capacidade para 1 mL e 1 cm de caminho óptico, utilizando-se acetonitrila e DMSO de grau espectroscópico como solvente.

4.2.5 Condutivimetria

As medidas condutimétricas dos complexos foram realizadas no aparelho da MS TECNOPON, do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, departamento de química - UFSC. Os compostos foram dissolvidos em soluções de MeCN e MeCN/DMSO 95:5% v:v, com concentrações de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O aparelho foi calibrado com uma solução padrão de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ cuja condutividade é de $1408 \mu\text{S}$ em água a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.2.6 Eletroquímica

O comportamento eletroquímico dos complexos foi investigado por voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada em um potenciostato/galvanostato modelo Epsilon BAS (Bioanalytical Systems, Inc.) presente no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química - UFSC. Os experimentos foram feitos para todos os complexos sob atmosfera de argônio, em MeCN/DMSO 95:5% v:v.

Foi utilizado como eletrólito suporte, hexafluorofosfato de tetrabutylamônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e uma célula eletrolítica contendo três eletrodos: um eletrodo de referência de Ag/Ag^+ , um eletrodo de trabalho de carbono vítreo e um eletrodo auxiliar de platina. Foi empregado como padrão interno o composto ferroceno (par Fc^+/Fc) para correção do eletrodo de referência.

4.2.7 Análise Elementar – CHN

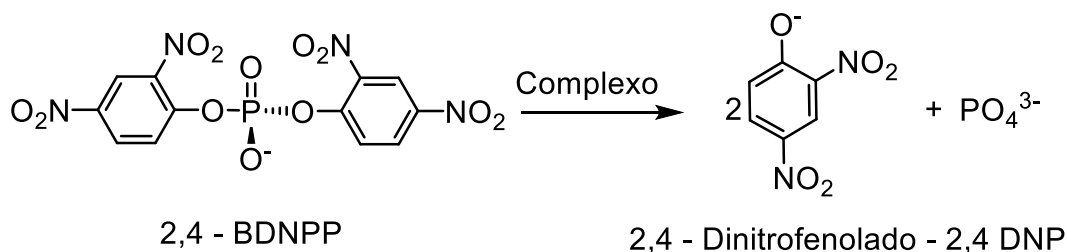
A determinação da porcentagem de C, H e N dos compostos foi realizada por um Analisador elementar Perkin Elmer 2400 series ii, localizado na Central de Análises do Instituto de Química – USP.

4.3 Reatividade

4.3.1 Estudo cinético com o substrato ativado 2,4-BDNPP

A atividade hidrolase dos complexos foi avaliada pela reação dos mesmos frente ao substrato ativado bis (2,4-dinitrofenil) fosfato (2,4-BDNPP), este substrato foi escolhido, pois o 2,4-BDNPP é um fosfato bastante reativo devido à presença de dois grupamentos nitro nas posições *orto* e *para* do anel aromático, sem estes grupamentos ativantes este substrato seria extremamente pouco reativo.^{33,34}

Utilizando-se de um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatzado, monitorou-se a variação de absorbância ocorrida em 400 nm ($\text{pH}/\epsilon \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1} = 5,0/10078; 5,5/11405; 6,0/12004; 6,5-9,5/12100$), valor este referente à liberação do ânion 2,4-dinitrofenolato como produto da reação de hidrólise, conforme reação mostrado no **Esquema 3**.³⁰



Esquema 3. Reação de hidrólise do bis(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP).³⁰

Os estudos em função do pH para atividade de hidrólise foram realizados em uma faixa de pH entre 5,0 e 9,5 a 25 °C. Utilizaram-se cubetas de vidro com capacidade para 4,0 mL e caminho óptico de 1 cm, foram utilizadas soluções tampão 0,1 mol L⁻¹ MES (pH 5,5 a 6,7), HEPES (pH 6,8 a 8,2) e CHES (8,6 a 10,0) em água deionizada com força iônica mantida constante ($I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, LiClO₄). As condições cinéticas estabelecidas para os complexos CSe_{OMe} e CSe_{Me} e CSe_{Cl} estão dispostas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Condições cinéticas para a realização do efeito de pH.

	CSe_{OMe} Volume (μL); Concentração^a (mol L⁻¹)	CSe_{Me} Volume (μL); Concentração^a (mol L⁻¹)	CSe_{Cl} Volume (μL); Concentração^a (mol L⁻¹)
Complexo ^b	200; 1,16 x 10 ⁻⁴	200; 1,29 x 10 ⁻⁴	200; 1,15 x 10 ⁻⁴
Substrato ^b	100; 9,54 x 10 ⁻⁴	100; 9,85 x 10 ⁻⁴	100; 9,82 x 10 ⁻⁴
Tampão	850; 0,05 mol L ⁻¹	850; 0,05 mol L ⁻¹	850; 0,05 mol L ⁻¹
Volume MeCN	550	550	550
Volume final	1700	1700	1700

^a Concentração final na cubeta, ^b solução de complexo e substrato em MeCN/DMSO 95:5% v:v

O efeito da concentração do substrato foi realizado em pH 6,5 para os dois complexos em que foi possível encontrar condições cinéticas capazes de medir a atividade. O efeito de substrato foi realizado, fixando-se a concentração do complexo e tampão na cubeta reacional, fazendo-se uso das seguintes condições: 850 μL de solução tampão [T_{final}] = 0,05 mol L⁻¹; 200 μL de solução de complexo em acetonitrila [C_{final}] = 1,16 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ para os dois complexos CSe_{OMe} e CSe_{Cl}; e concentrações diferentes de substrato que vão de [S_{final}] = de 4,94 x 10⁻⁴ a 4,45 x 10⁻³ mol L⁻¹ para CSe_{OMe} e [S_{final}] = de 3,93 x 10⁻⁴ a 3,14 x 10⁻³ mol L⁻¹ para CSe_{Cl}, adicionando volumes de MeCN necessários para totalizarem um volume de 1700 μL em cada cubeta, totalizando uma proporção 50:50 % de água e solvente orgânico. O tratamento matemático utilizado para a obtenção dos parâmetros cinéticos foi o ajuste não-linear da equação de Michaelis-Menten.

4.4 Tratamento de Resíduos

Todos os resíduos gerados foram armazenados em local adequado até a coleta por uma empresa terceirizada contratada pela UFSC de coleta e tratamento. Os solventes passíveis de serem destilados foram assim feitos e poderão ser utilizados novamente no laboratório.

Foi necessário um cuidado especial nas sínteses orgânicas devido ao uso de atmosfera inerte. Outro cuidado foi preciso na utilização do borohidreto de sódio, demandando adição cautelosa devido à reação de redução ser exotérmica. Além

disso, um excesso de cuidado foi fundamental com os solventes clorados por sua toxicidade, exigindo uma separação adequada para devido tratamento.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização dos ligantes

Neste trabalho foram sintetizados três novos ligantes, obtidos pela clivagem do disseleneto de diorganoíla com a utilização do agente redutor NaBH_4 , gerando *in situ* o nucleófilo RSe^- que, no momento seguinte, reage com o cloreto amínico por uma reação de substituição. A estrutura dos ligantes obtidos neste trabalho encontra-se nas **Figuras 9, 10 e 11**.

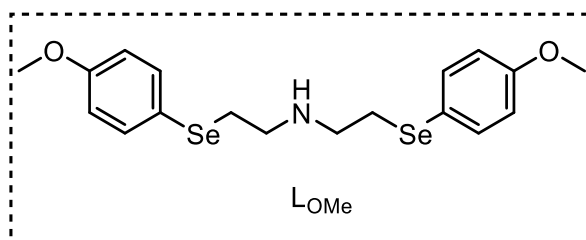


Figura 9. Ligante sintetizado neste trabalho L_{OMe} .

Óleo amarelo, rendimento de 89%. $[\text{M} + \text{H}] (m/z) = 446,0139$; valor calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_2\text{Se}_2 + \text{H}^+ = 446,0100$.

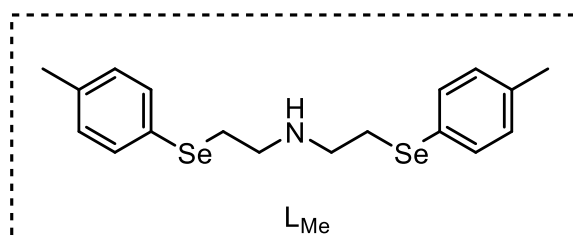


Figura 10. Ligante sintetizado neste trabalho L_{Me} .

Óleo amarelo, rendimento de 80%. HR-MS $[\text{M} + \text{H}] (m/z) = 414,0235$; valor calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NSe}_2 + \text{H}^+ = 414,0200$.

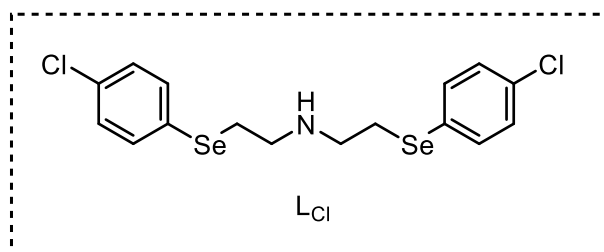


Figura 11. Ligante sintetizado neste trabalho L_{Cl} .

Óleo amarelo, rendimento de 83%. HR-MS $[\text{M} + \text{H}] (m/z) = 453,9140$; valor calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{NSe}_2 + \text{H}^+ = 453,9100$.

Os ligantes foram caracterizados por técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear e na região do infravermelho com as quais foi possível identificar a presença dos ligantes orgânicos planejados sinteticamente, com bons rendimentos.

5.1.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio – NMR de ^1H

Nesta análise, utiliza-se como padrão TMS (0,00 ppm), obtendo assim o deslocamento químico relativo. A partir da região de deslocamento químico obtidas, além da comparação dos ligantes similares reportados na literatura, foi possível realizar a atribuição dos hidrogênios metílicos, metilênicos e aromáticos presentes nos ligantes. Os deslocamentos químicos dos ligantes e suas atribuições estão sumarizados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Deslocamentos químicos e atribuições dos espectros de NMR de ^1H dos ligantes.

Atribuições	L_{OMe} (ppm)	L_{Me} (ppm)	L_{Cl} (ppm)
CH₃	3,87 (s, 3H)	2,32 (s, 3H)	-
CH₂	2,92 (m, 2H) 2,79 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H)	2,98 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H) 2,81 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H)	3,00 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H) 2,85 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H)
CH_{aromático}	7,49 (m, 4H) – 6,78 (m, 4H)	7,41 (d, $J = 7,7$ Hz 4H) – 7,06 (d, $J = 7,8$ Hz, 4H)	7,42 (d, $J 6,7 =$ Hz, 4H) – 7,22 (d, $J = 8,5$ Hz, 4H)
NH	1,69 (s, 3H)	1,76 (s, 2H)	1,73 (s, 1H)

Devido à similaridade estrutural dos ligantes, nos espectros de NMR de ^1H evidenciam-se basicamente as mesmas informações sobre os ligantes, a sobreposição dos espectros encontra-se na **Figura 12**.

Para os ligantes L_{OMe} e L_{Me} há a presença de um simpleto com integral relativa de 6 hidrogênios, referentes aos hidrogênios dos carbonos sp^3 presentes no grupamento metóxido e metila, respectivamente. Ao observar o deslocamento químico deste simpleto é possível perceber uma significativa diferença entre os ligantes uma vez que o simpleto referente à metila (2,32 ppm) possui menor deslocamento químico

quando comparado aos hidrogênios da metoxila (3,87 ppm), visto que esta sofre maior desblindagem causada pela capacidade eletroretiradora do átomo de oxigênio.

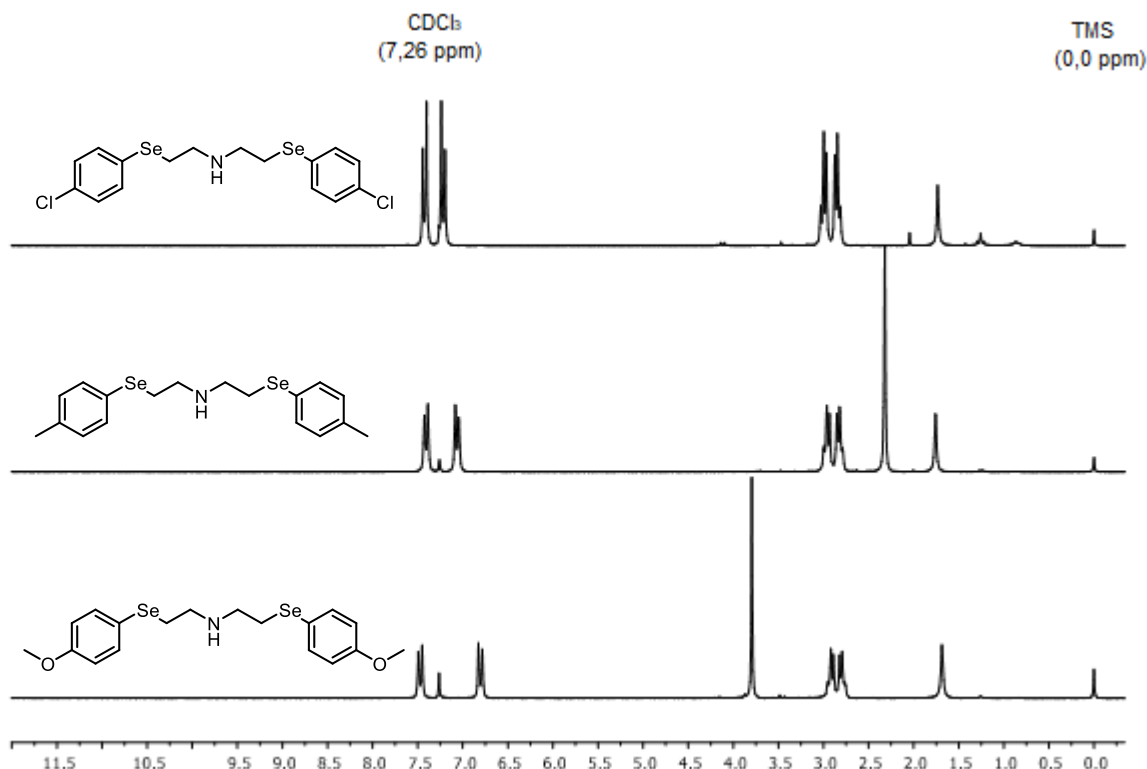


Figura 12. Sobreposição dos espectros de NMR de ^1H dos ligantes L_{OMe} , L_{Me} e L_{Cl} .

Para os três ligantes é possível identificar a presença de dois tripletos na faixa de 3 ppm com integral relativa a 4 hidrogênios para cada triplete, sendo estes referentes aos hidrogênios metilênicos (CH_2), confirmando assim a presença da porção etilênica no ligante. Já os sinais referentes aos aromáticos estão presentes em torno de 6,5 – 8,0 ppm, com a mesma integral relativa para os três compostos o que é condizente com o proposto.

A intensidade do sinal no espectro de NMR é diretamente proporcional ao número de núcleos que geram este sinal, com exceção aos hidrogênios lábeis como NH ou OH, sendo assim os sinais em 1,76 ppm para L_{Me} , 1,69 ppm para L_{OMe} e 1,73 ppm para L_{Cl} são referentes aos hidrogênios das amins secundárias (NH), apesar da integral relativa não apresentar o valor esperado.

O surgimento de outros sinais pode ser atribuído à presença do solvente, como o caso do sinal do CDCl_3 utilizado na análise que ocorre em 7,26 ppm, além de sinais de baixa intensidade presentes na região de 1,40 ppm que podem ser atribuídos à

presença do acetato de etila e hexano utilizado na purificação. O sinal atribuído ao NH também pode obter valores diferentes de integral devido sua troca com água do meio.

5.1.2 Ressonância magnética nuclear de carbono – NMR de ^{13}C

Os ligantes também foram caracterizados por meio da espectroscopia de NMR de ^{13}C em CDCl_3 nos quais apresentaram sinais que acordam com a estrutura proposta dos ligantes. Na **Tabela 3**, encontram-se listados os deslocamentos químicos e as atribuições dos sinais.

Tabela 3. Deslocamentos químicos e atribuições dos espectros de NMR de ^{13}C dos ligantes.

Atribuições	L_{OMe} (ppm)	L_{Me} (ppm)	L_{Cl} (ppm)
CH_3	55,2	21,2	-
CH_2	48,4 e 29,4	48,5 e 28,7	48,1 e 28,6
$\text{CH}_{\text{aromático}}$	135,9 e 114,8	133,3 e 129,9	133,9 e 128,9
$\text{C}_{\text{quaternário}}$	159,4 e 119,1	136,8 e 126,0	132,9 e 127,7

Devido à simetria molecular, o número de sinais nos espectros é menor do que a quantidade de átomos de carbono presentes na molécula. Para os ligantes L_{OMe} e L_{Me} são observados 7 sinais no espectro, fato este que era esperado, pois ambos possuem a mesma quantidade de carbono, sendo estes sinais referentes a um carbono metílico, dois metilênicos, dois metínicos e dois quaternários.

Já para o ligante L_{Cl} , foi apresentado um sinal a menos no espectro de carbono, assim como a estrutura proposta já previa devido a este ligante não apresentar carbonos metílicos. Novamente, no ligante contendo átomo de oxigênio (L_{OMe}) é possível observar maiores valores de deslocamento químico devido a desblindagem dos núcleos. Os espectros referentes aos ligantes encontram-se na **Figura 13**.

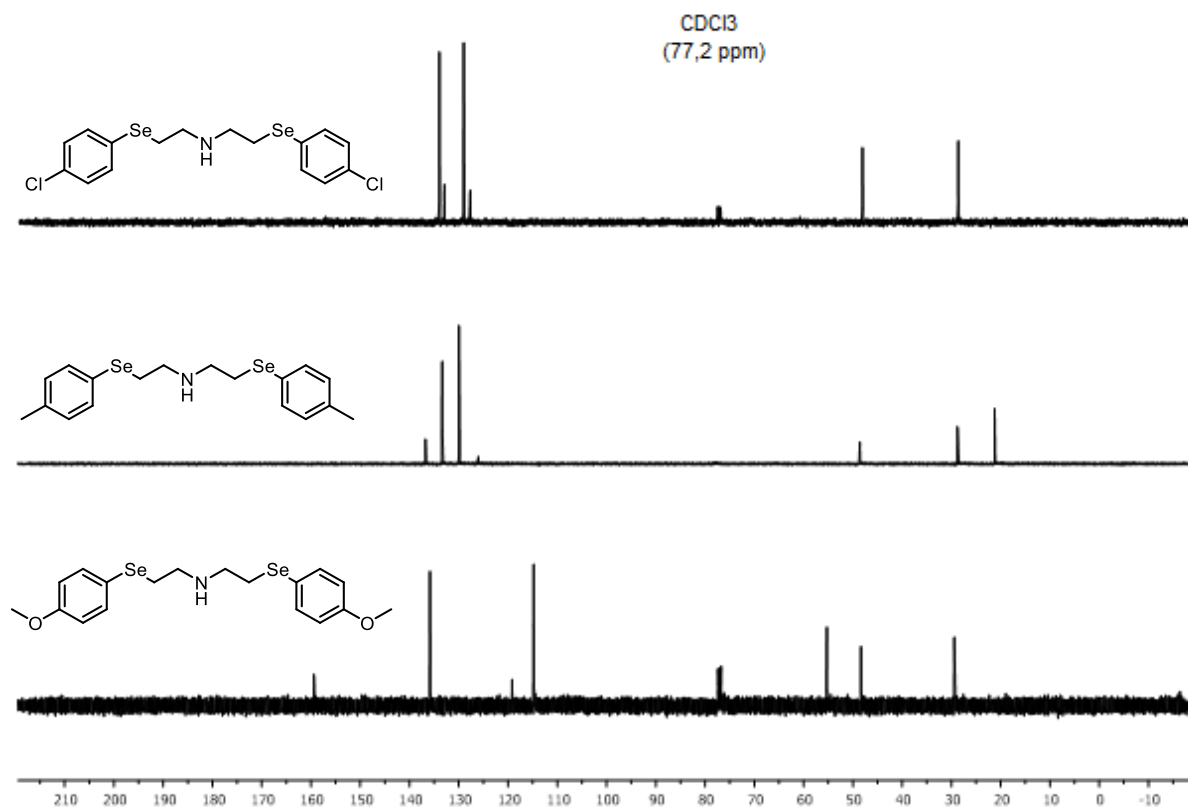


Figura 13. Sobreposição dos espectros de NMR de ^{13}C (100 MHz) dos ligantes L_{OMe} , L_{Me} e L_{Cl} em CDCl_3 .

5.1.3 Ressonância magnética nuclear de selênio – NMR de ^{77}Se

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear foi realizada também para o núcleo de selênio, o qual apresentou apenas um sinal para os ligantes, referentes aos dois selênios presentes na molécula, devido à sua simetria, estes apresentam o mesmo deslocamento químico. O espectro de NMR de ^{77}Se para os ligantes é apresentado comparativamente na **Figura 14** e separadamente os demais ligantes estão presentes no **Apêndice**. Como referência interna utiliza-se o disseleneto de difenila ($\delta = 463$ ppm).

Os deslocamentos químicos encontrados para os ligantes L_{OMe} , L_{Me} e L_{Cl} foram 252,8 ppm, 256,9 ppm e 265,1 ppm, respectivamente. Por meio desta técnica se torna evidente a influência da capacidade retiradora ou doadora de densidade eletrônica dos diferentes grupamentos.

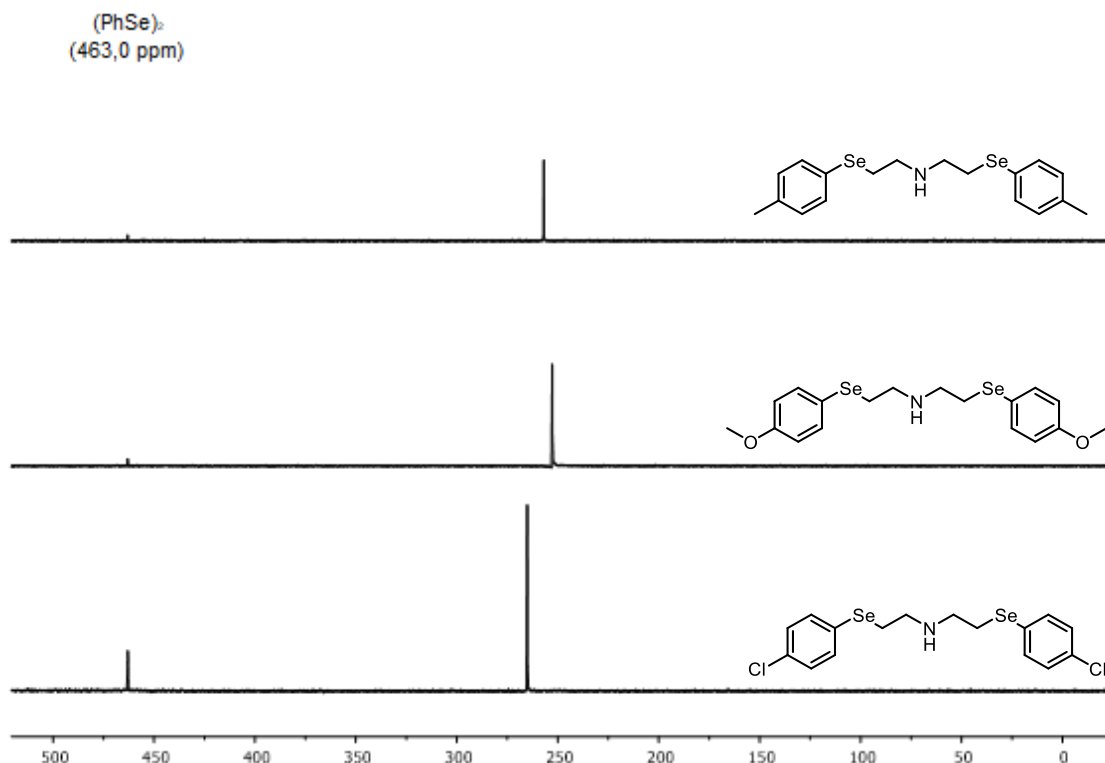


Figura 14. Sobreposição dos espectros de NMR de ^{77}Se desacoplado de ^1H (38 MHz) dos ligantes L_{OMe} , L_{Me} e L_{Cl} em CDCl_3 .

O maior deslocamento químico é referente ao selênio mais desblindado, ou seja, do ligante com o grupo mais eletroretirador, ou seja, com substituinte cloro. Já os substituintes metila e metoxila, apesar de possuírem comportamentos doadores, o que justifica o deslocamento químico relativamente semelhantes, ainda assim a metoxila é um grupo doador mais forte, provocando um menor deslocamento químico do átomo de selênio do ligante L_{OMe} , sendo este o mais blindado entre os três ligantes.

5.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IR

A caracterização com a técnica de infravermelho resultou em espectros nos quais comportamentos similares foram observados para todos os ligantes devido às suas semelhanças estruturais, os espectros encontram-se nas **Figuras 15, 33 e 34**.

Os ligantes apresentaram uma banda fraca característica de amina secundária em torno de 3310 cm^{-1} coerente com a estrutura do composto, além de bandas referentes aos estiramentos e vibrações C-H e C-C listados na **Tabela 4**, tentativamente atribuídas. Além disso, bandas da ligação N-H e C-N causadas pela presença do grupamento amina também se mostraram presentes nos espectros.

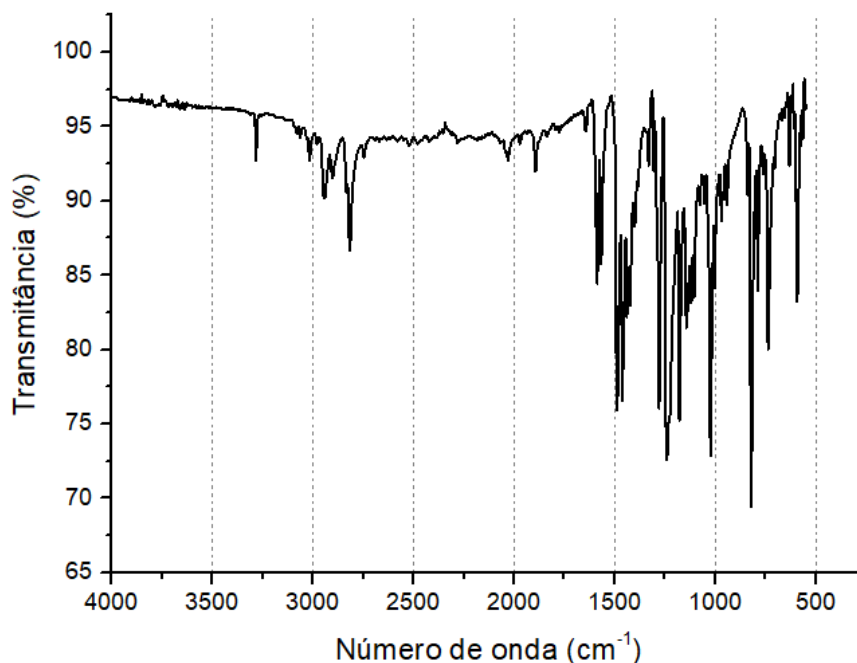


Figura 15. Espectro de IR para o ligante L_{OMe} em ATR.

Observando os valores de número de onda obtidos para os espectros dos três ligantes (**Tabela 4**) algumas bandas demonstraram deslocadas devido à presença do substituinte, principalmente nos estiramentos e deformações da região dos aromáticos.

Tabela 4. Atribuições das principais bandas dos espectros de Infravermelho dos ligantes L_{OMe} , L_{Me} e L_{Cl} .

Banda	L_{OMe} (cm^{-1})	L_{Me} (cm^{-1})	L_{Cl} (cm^{-1})
ν (N-H)	3281	3301	3294
ν (C-H _{alif} e C-H _{ar})	3081 - 2807	3040 - 2814	3054 - 2827
δ (N-H)	1592	1486	1472
δ (C = C) aromáticos	1486	1445	1285
ν (C-N)	1178	1026	1085
δ (C-H) Aromático para-substituído	825	799	798

5.3 Caracterização dos complexos

Os complexos mononucleares de cobre(II) foram obtidos por meio da reação estequiométrica entre o respectivo ligante e cloreto de cobre(II), tendo em vista modelos similares na literatura, o cobre d^9 apresenta-se preferencialmente pentacoordenado, sendo que os ligantes atuam como tridentados Se,N,Se e as outras duas posições livres são ocupadas por cloretos oriundos do sal utilizado na síntese.

Os complexos foram devidamente caracterizados por diversas técnicas, dentre elas espectroscopia vibracional na região do infravermelho e espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis, voltametria cíclica e onda quadrada.

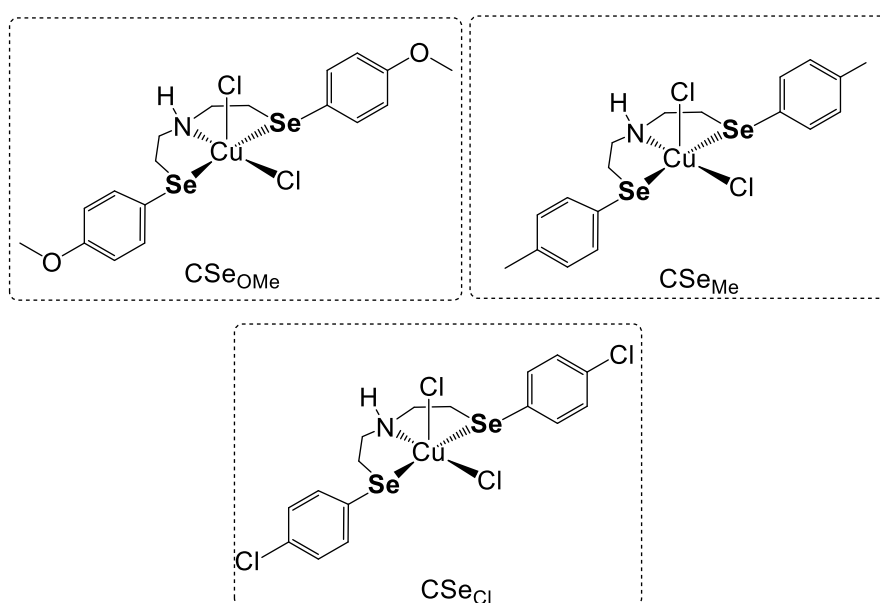


Figura 16. Estrutura dos complexos CSe_{OMe}, CSe_{Me} e CSe_{Cl}.

5.3.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho - IR

A técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho se mostrou útil para uma avaliação inicial da síntese do complexo, pois foi possível realizar uma avaliação comparativa dos espectros do ligante livre com o espectro do complexo como está demonstrada nas **Figuras 17, 35 e 36**.

É possível notar que as bandas presentes no ligante permanecem presentes no espectro do complexo, evidenciando a presença do ligante, já os deslocamentos e a mudança na intensidade sugerem que ocorreu a complexação.

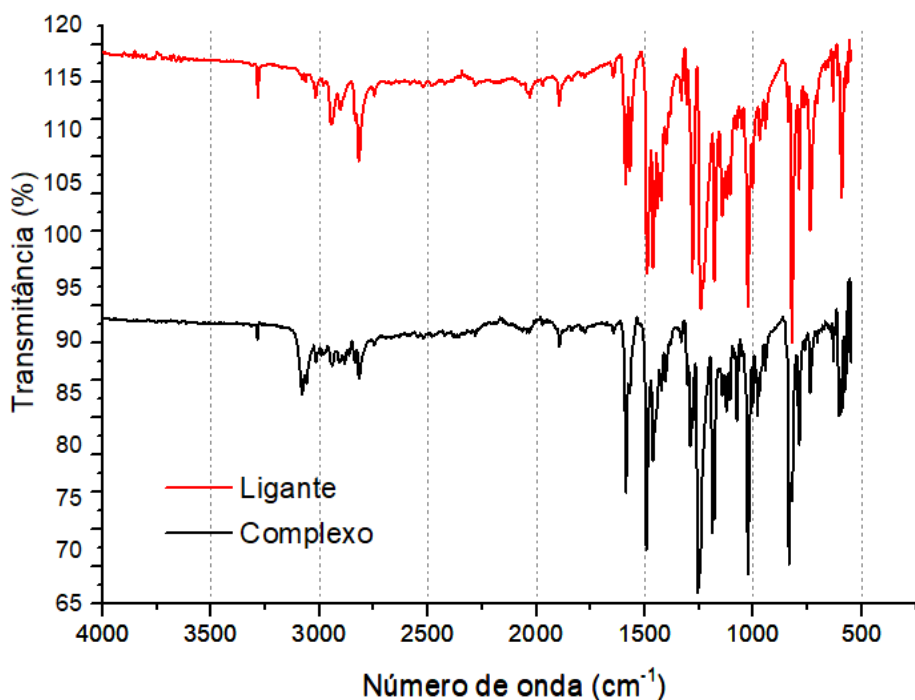


Figura 17. Espectro de Infravermelho de L_{OMe} e seu respectivo complexo CSe_{OMe} em ATR.

Nota-se que ocorreu um deslocamento das bandas (**Tabela 5**) conforme mudança no substituinte do ligante, o que pode ser explicado pela mudança na massa molar, uma vez que as deformações axiais podem ser explicadas por um sistema oscilador massa-mola, a massa interfere na força necessária para que o sistema oscile. Esta influência surge principalmente para as deformações axiais, pois requerem mais energia ao aproximar núcleos que possuem repulsão entre si.^{35,38}

Dessa mesma forma, o leve deslocamento das bandas ao comparar os espectros dos complexos pelo seus respectivos ligantes possui o mesmo fundamento, uma vez que os complexos de acordo com a estrutura proposta, possuem um íon de cobre e dois cloretos adicionais, conferindo novamente uma massa maior e assim alterando a energia em que a vibração ocorre.³⁷

Além disso, a força das ligações também é alterada após a coordenação ao centro metálico, por influência da doação de elétrons realizada, diminuindo a força das demais ligações, diminuindo a energia vibracional das mesmas, sendo uma das causas do deslocamento das bandas no IR.

Tabela 5. Atribuições das principais bandas dos espectros de infravermelho dos ligantes e seus respectivos complexos. ^{37,28}

Banda	L_{OMe} (cm⁻¹)	CSe_{OMe} (cm⁻¹)	L_{Me} (cm⁻¹)	CSe_{Me} (cm⁻¹)	L_{Cl} (cm⁻¹)	CSe_{Cl} (cm⁻¹)
ν (N-H)	3281	3288	3301	3390	3294	3361
ν (C-H _{alif} e C-H _{ar})	3081 - 2807	3066 - 2819	3040- 2814	3061- 2807	3054 - 2827	3054 - 2820
δ (N-H)	1592	1583	1486	1487	1472	1479
δ (C = C) aromáticos	1486	1487	1445	1444	1385	1379
δ (C-H) alif	1453- 1239	1480 - 1247	1450- 1280	1388 -1230	1370 - 1285	1359 - 1249
ν (C-N)	1178	1190	1026	1020	1085	1080
δ (C-H) aromático para-subst.	825	821	799	799	798	801
ν (H ₃ C-O)	1274- 1210	1268- 1100	-	-	-	-

5.3.2 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis

Os espectros eletrônicos dos complexos foram realizados no estado sólido por refletância difusa (KBr) e em solução em meio MeCN/DMSO 95:5% v:v em diferentes concentrações para fins de obtenção dos valores de coeficiente de absorção molar através da Lei de Lambert-Beer, que relaciona a absorvância de forma proporcional a concentração da solução, resultando assim nos espectros dispostos nas **Figuras 18 e 19**.

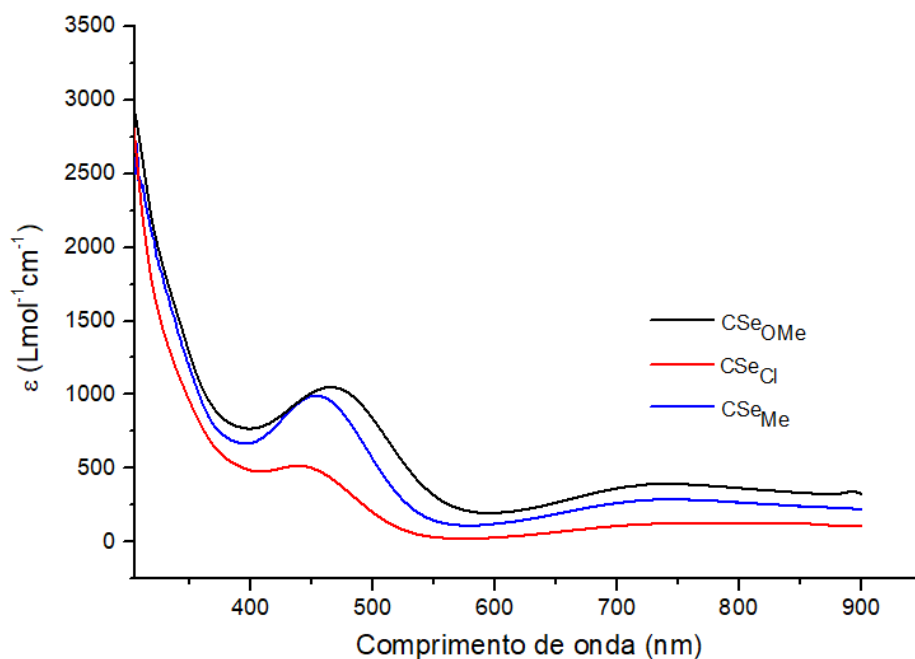


Figura 18. Espectro eletrônico para os complexos CSe_{OMe} , CSe_{Me} e CSe_{Cl} em solução em MeCN/DMSO 95:5% v:v.

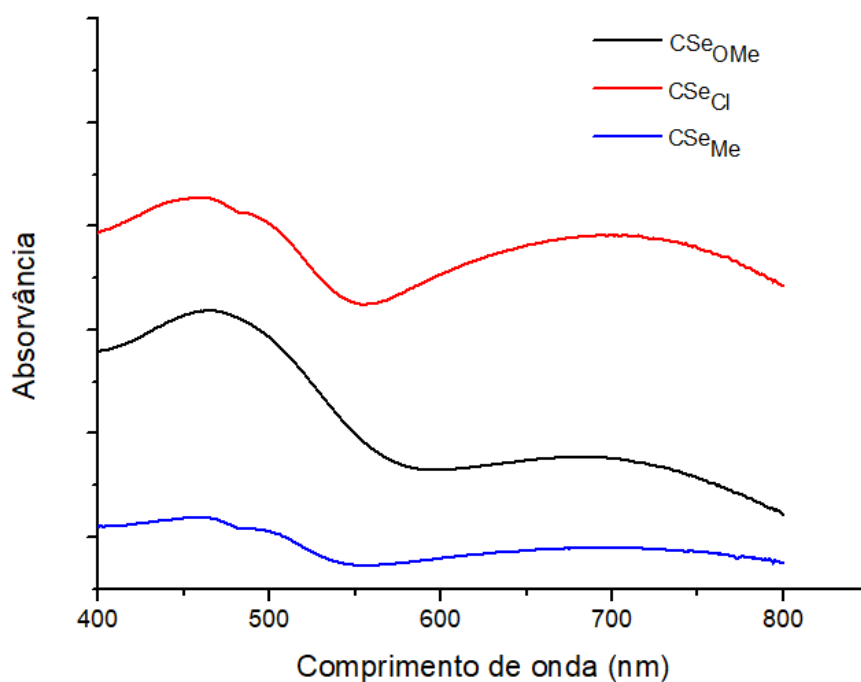


Figura 19. Espectro eletrônico para os complexos CSe_{OMe} , CSe_{Me} e CSe_{Cl} no estado sólido em KBr.

Os espectros obtidos para os três complexos apresentaram duas bandas com coeficiente de absorção molar relativamente baixos (abaixo ou próximo de $1000 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), sendo um indicativo de que são bandas resultantes de transições $d-d$.

O cobre é um metal de transição que em seu estado de oxidação 2+ possui configuração eletrônica d^9 , sendo possível então a ocorrência de transições eletrônicas de campo ligante quando os orbitais d são desdobrados. O comprimento de onda em que esta banda ocorre informa a possível geometria em que o metal está centrado, dado que este quando pentacoordenado, pode adotar as geometrias bipirâmide trigonal ou pirâmide de base quadrada.³⁹

Para estas geometrias é expresso em seus espectros dois comportamentos diferentes: para pirâmide de base quadrada, é observado uma banda de absorção em alta energia na região do visível e um ombro em baixas energias. Já para complexos com geometria bipirâmide trigonal, é apresentado uma banda em baixa energias e um ombro em altas. Percebe-se o mesmo comportamento nos três complexos sintetizados neste trabalho, a presença de duas bandas, uma de maior intensidade na região de energia mais alta (menor comprimento de onda) e outra banda menos intensa numa região de menor energia (maior comprimento de onda). Este comportamento sendo típico de compostos de geometria piramidal de base quadrada. No entanto, como estas bandas não são resultantes apenas de transições de campo ligante, tal atribuição torna-se dificultada, impedindo a afirmação com certeza da geometria do complexo, tendo em vista que não foi possível obter a estrutura dos complexos por DRX.^{39,40}

Além disso, a banda de menor energia em aproximadamente 740 nm com coeficientes de absorção molar listados na **Tabela 6**, sugerem uma geometria pirâmide de base quadrada, uma vez que para complexos com centro de coordenação em geometria bipirâmide trigonal geralmente exibem esta transição com máximo de absorvância em 850 nm, indicando novamente a possível ocorrência das estruturas pirâmide de base quadrada propostas para os complexos.^{40,28,41}

Além da banda de transição ligante, Ferre *et al*, sugere que a banda em menor energia de complexos de cobre(II) com ligantes cloro pode ser composta também por uma transferência de carga cloreto $\rightarrow \text{Cu}^{2+}$, o que explica o deslocamento no estado sólido que pode ser causado pela labilidade dos ligantes cloro em solução, ocorrendo então uma substituições por moléculas de solvente.⁴²

Tabela 6. Dados obtidos através da espectroscopia eletrônica em estado sólido e em solução para os complexos CSe_{OMe} , CSe_{Me} e CSe_{Cl} .

Complexo	Sólido	DMSO/MeCN	ϵ
	$\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	$\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	($Lmol^{-1}cm^{-1}$)
CSe_{OMe}	467/696	463/736	1088/410
CSe_{Me}	459/682	453/745	1023/296
CSe_{Cl}	453/686	438/747	609/157

Quanto à atribuição da banda de maior energia apresentada em aproximadamente 450 nm, apesar de possuir coeficientes de absorção maiores para os complexos CSe_{OMe} e CSe_{Me} , possui também contribuição de uma transição $d-d$, visto que a regra de seleção de Laporte que prediz menores valores de ϵ para transições entre orbitais de mesma paridade é relaxada em complexos não centro simétricos. Durigon *et al* também atribuem esta banda a uma possível sobreposição de uma transferência de carga ligante metal (LMCT) $Se \rightarrow Cu^{2+}$.

Na espectroscopia no estado sólido foi possível visualizar também duas bandas, as de maior energia todas mantiveram-se com o máximo de absorção próximo do encontrado em solução, porém para a banda de menor energia é possível notar um pequeno deslocamento mas ainda assim, pode-se observar que o comportamento eletrônico se manteve semelhante em solução e estado sólido.

5.3.3 Condutivimetria

As medidas de condutividade foram realizadas a 25 °C em uma solução de concentração $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em dois meios, somente em MeCN e em uma mistura de MeCN/DMSO em proporção 95:5% v:v. Dessa forma, foi possível calcular os valores de condutividade molar dispostos na **Tabela 7**.

Segundo GEARY *et al*, em meio acetonitrila, valores de condutividade abaixo de 120 ($\Omega^{-1}cm^2 \text{ mol}^{-1}$) não são atribuídos com algum tipo de eletrólito, sendo assim são considerados neutros, por não apresentarem condutividade considerável. Estes valores vão ao encontro com o proposto para o complexo, pois este não apresenta carga devido à sua estrutura possuir dois cloretos que neutralizam a carga do cobre(II).^{43,44}

Tabela 7. Valores de condutividade para os complexos CSe_{OMe} , CSe_{Me} e CSe_{Cl} em MeCN e em MeCN/DMSO 95:5 % v:v.

Complexo	$\Lambda_M (\Omega^{-1} \cdot mol^{-1} \cdot cm^2)$	$\Lambda_M (\Omega^{-1} \cdot mol^{-1} \cdot cm^2)$
	em MeCN	em MeCN/DMSO
CSe_{OMe}	32,89	35,57
CSe_{Me}	24,90	24,46
CSe_{Cl}	35,51	31,96

Nota-se que a mistura 95:5% de DMSO causou pouca mudança nos valores de condutividade molar, o que indica que o complexo se mantém com a mesma estrutura quando em solução em ambos os meios, sendo possível avaliar a cinética de hidrólise neste meio em que todos os complexos são solúveis.

5.3.4 Eletroquímica

As propriedades redox dos complexos foram investigadas por meio de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada nas quais os potenciais foram referenciados ao eletrodo normal de hidrogênio (NHE) com a correção feita com a utilização do padrão interno ferroceno ($E_{1/2} = 0,40$ vs NHE) em MeCN/DMSO 95:5% v:v utilizando $TBAPF_6$ como eletrólito suporte.

Os voltamogramas obtidos foram dispostos nas **Figuras 20 a 21** e no **Apêndice nas Figuras 37 a 41**. Esta técnica se trata de uma importante avaliação, visto que o cobre por ser um metal de transição possui capacidades redox importantes, sendo biologicamente convertido entre diferentes estados, principalmente Cu(II) oxidado e Cu(I) reduzido. Este atributo faz com que o cobre se manifeste como um cofator catalítico importante para uma variedade de reações de oxirredução em sistemas biológicos.^{45,46}

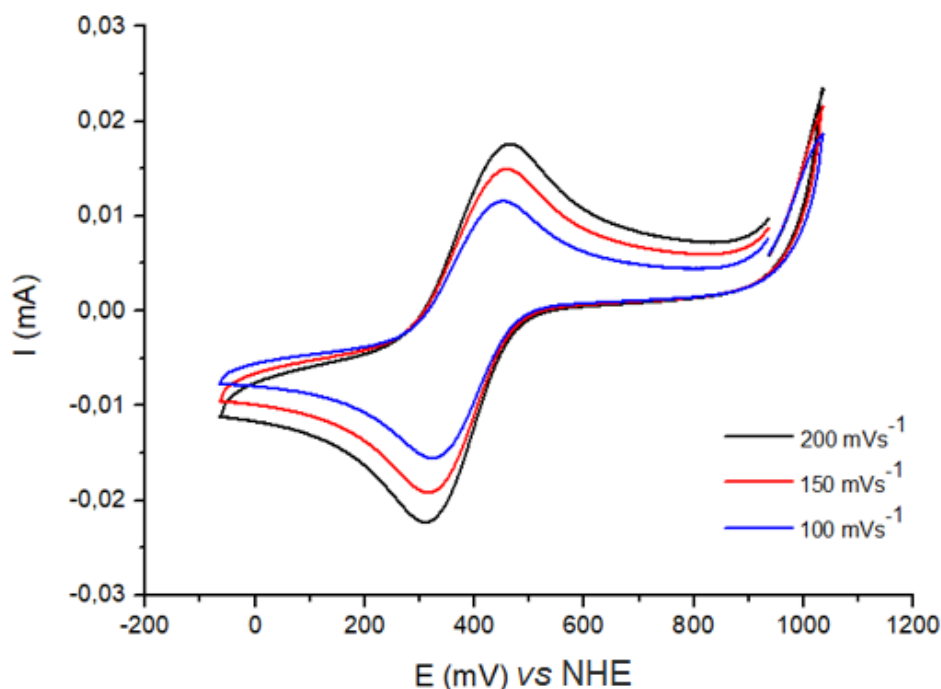


Figura 20. Voltamograma cíclico do complexo $CSeCl$ em MeCN/DMSO na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em diferentes velocidades.

Os parâmetros eletroquímicos obtidos pelos voltamogramas (**Tabela 8**), demonstram um único processo referente à transferência de um elétron entre Cu^{II} e Cu^I para os três complexos. Os valores de $E_{1/2}$ encontrados são consideravelmente altos valores de potencial, em torno de $0,37 \text{ V}$, o que está de acordo com o esperado para complexos calcogenados, visto que ligantes nitrogenados, principalmente espécies retiradoras de elétrons como iminas, apresentam potencial redox mais negativos.^{42,23}

Já complexos com primeira esfera de coordenação que possuem calcogênios tendem a apresentar potenciais mais altos, como o complexo CSe de Durigon *et al*, análogo à série proposta neste trabalho, apresentou valor de $E_{1/2}$ de $0,48 \text{ V}$ em acetonitrila. Estas diferenças entre os potenciais de meia onda podem ser atribuídas ao efeito dos substituintes inseridos na segunda esfera de coordenação, que ao alterarem a densidade eletrônica do átomo doador, alteram a densidade eletrônica do centro metálico, alterando seus potenciais redox.²⁸

Tabela 8. Parâmetros eletroquímicos (vs NHE) para os complexos CSe_{OMe}, CSe_{Me} e CSe_{Cl} a 100 mV.s⁻¹.

	E_{pc} (V)	E_{pa} (V)	E_{1/2} (V)^a	ΔE_p (V)^b	i_{pc} / i_{pa}
CSe_{OMe}	0,348	0,445	0,397	0,096	0,71
CSe_{Me}	0,316	0,431	0,374	0,114	0,58
CSe_{Cl}	0,288	0,413	0,350	0,125	0,75

^a $E_{1/2} = (E_{pc} + E_{pa})/2$; ^b $\Delta E_p = (E_{pc} - E_{pa})$; ^b Sistema de três eletrodos: Referência: Ag/AgCl; Auxiliar: platina; Trabalho: carbono vítreo. Eletrólito suporte: TBAPF₆. Referência interna: ferroceno. Em solução MeCN/DMSO na proporção 95:5 %.

Para avaliar a reversibilidade do sistema, é preciso analisar certos valores nos parâmetros eletroquímicos. Sabe-se que para que o processo seja considerado reversível, o módulo entre o potencial da subtração entre o pico catódico e o anódico deve ser de 0,59 V para processos que envolvem a transferência de um elétron. Outro requisito é que a razão entre a corrente de pico catódico sobre a corrente de pico anódico deve ser aproximadamente 1, em qualquer velocidade de varredura de potenciais. Avaliando a **Tabela 8**, nota-se que nenhum dos dois requisitos são cumpridos para os três complexos.⁴⁷

Já nos sistemas *quasi*-reversíveis, os valores alteram-se conforme mudança na velocidade de varredura, porém ainda é observado os dois processos tanto de oxidação quanto de redução, diferentemente de processos irreversíveis. Dessa forma, os três complexos sofrem processos *quasi*-reversíveis entre as espécies Cu^{II} → Cu^I.

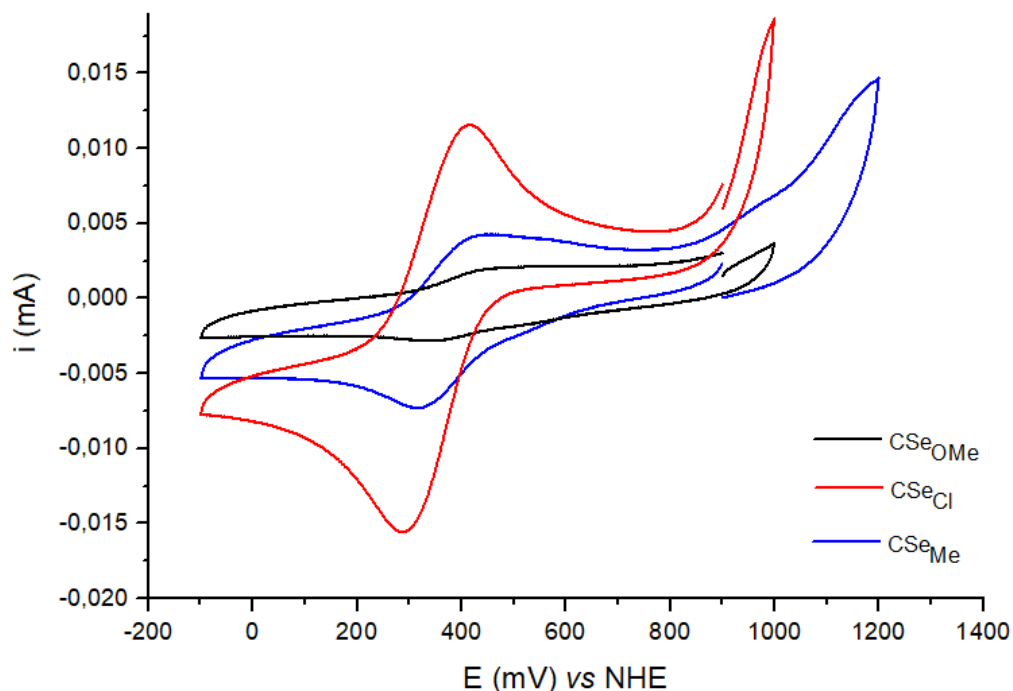


Figura 21. Voltamograma cíclico dos complexos CSe_{OMe} , CSe_{Me} e CSe_{Cl} em solução de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em MeCN/DMSO 95:5% v:v na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em velocidade de 100 mVs^{-1} .

5.3.5 Análise Elementar – CHN

Os complexos foram avaliados via análise elementar de CHN e os resultados foram de encontro com as demais técnicas realizadas e corroboraram com a estrutura proposta. Os resultados dos valores calculados/experimentais estão dispostos na **Tabela 9**.

Tabela 9. Valores de porcentagem de C, H e N calculado/experimental para os complexos CSe_{OMe} , CSe_{Me} e CSe_{Cl} .

Complexo	Fórmula molecular	%C	%H	%N
CSe_{OMe}	$C_{18}H_{23}Cl_2CuNO_2Se_2$	37,66/37,42	3,99/4,01	2,43/2,42
CSe_{Me}	$C_{18}H_{23}Cl_2CuNSe_2$	39,61/40,04	4,25/4,42	2,57/2,28
CSe_{Cl}	$C_{16}H_{17}Cl_4CuNSe_2$	32,76/32,89	2,92/2,97	2,39/2,43

5.4 Estudo cinético com substrato ativado 2,4-BDNPP

A atividade hidrolase foi obtida pela reação do substrato ativado bis(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP), utilizado para estudar a ação do complexo nas

ligações de ésteres de fosfato, que é acompanhada por espectroscopia UV-Vis monitorando a banda em 400 nm referente ao 2,4 dinitrofenolato (2,4-DNP), produto da reação de hidrólise, conforme reação mostrada no **Esquema 3**.

5.4.1 Efeito de pH

Inicialmente, foi investigado o pH ótimo reacional com finalidade de obter as melhores condições de cinética para avaliar a atividade com o substrato. Para isso foi realizado uma varredura na faixa de pH de 5,0 a 9,5 obtendo o perfil demonstrado na **Figura 22**.

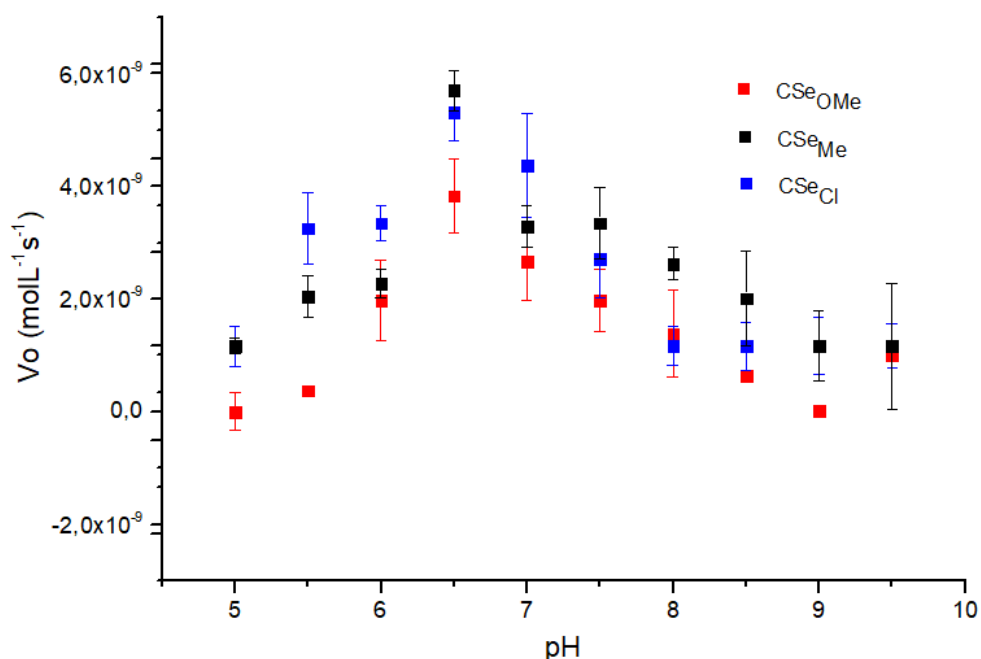


Figura 22. Gráfico de velocidade inicial (V_0) em função do pH referente aos complexos CSe_{OMe}, CSe_{Me} e CSe_{Cl} para reação da hidrólise do substrato 2,4-BDNPP a 25 °C. Solução MeCN/DMSO/H₂O 45:5:50 % v:v [complexo] = $1,16 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. [substrato] = $9,96 \times 10^{-4}$ mol. [tampão] = $0,05$ mol L⁻¹ (pH 5 – 9,5).

Os três complexos apresentaram comportamento semelhante devido às suas características estruturais similares e a partir destes gráficos foi possível atribuir o pH ótimo reacional de 6,5 para todos os complexos. Comparando este resultado com o obtido para o complexo C_{Se} de Durigon *et al*, os substituintes não causaram mudança no pH ótimo, concluindo assim que a força em que estes substituintes doam ou retiram densidade eletrônica não foi forte o suficiente para alterar o pH em que se obtém maior atividade catalítica.

Complexos calcogenados possuem vantagem frente a complexos nitrogenados e oxigenados quando se compara seu pH ótimo reacional, uma vez que estes ocorrem em pH mais básicos enquanto os calcogenados se apresentam em uma faixa próxima à neutralidade, sendo este um fator importante para compostos miméticos de hidrolase, aproximando-se das condições de um sistema biológico.^{49,50}

5.4.2 Efeito do substrato

Os experimentos cinéticos de variação de concentração de substrato foram realizados em pH 6,5, nas condições supracitadas, os gráficos de V_0 vs [2,4- BDNPP], **Figura 23 e 24**, foram obtidos e devido ao perfil apresentado de saturação, foram tratados pela equação de Michaelis-Menten (**Equação 1**).^{51,22}

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

Na qual $V_{m\acute{a}x}$ é definido pela multiplicação de k_{cat} por E_0 , sendo k_{cat} a constante catalítica e E_0 a concentração do catalisador (enzima), que neste trabalho será utilizado a concentração do complexo, e por fim K_M é a constante de Michaelis, sendo este um indicativo da afinidade complexo-substrato. Valores mais altos de k_{cat} , valores mais baixos de K_M , e valores mais altos de k_{cat}/K_M , são considerados como indicações de maior especificidade.^{28,22}

Em relação à eficiência catalítica (k_{cat}/K_M), este é o parâmetro que mede a capacidade de uma enzima de discriminar entre substratos que estão disponíveis simultaneamente. Para fins de comparação dos compostos miméticos, este parâmetro é utilizado como a eficiência do catalisador.

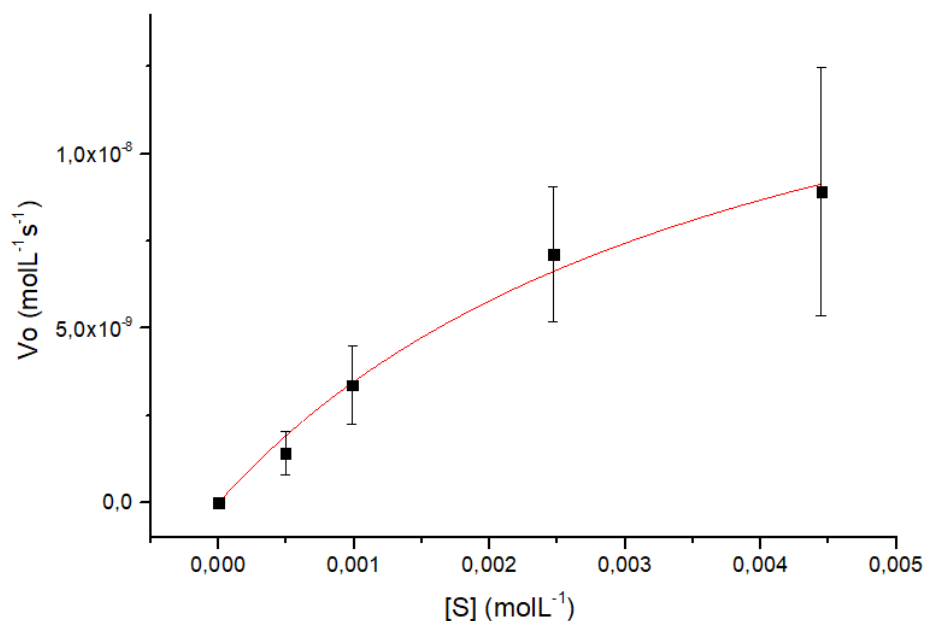


Figura 23. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo CSe_{OMe} a 25 °C e pH 6,5. Solução MeCN/DMSO/H₂O 45:5:50% v:v; [complexo] = $1,16 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; [substrato] = $4,94 \times 10^{-4}$ a $4,45 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. I = 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄).

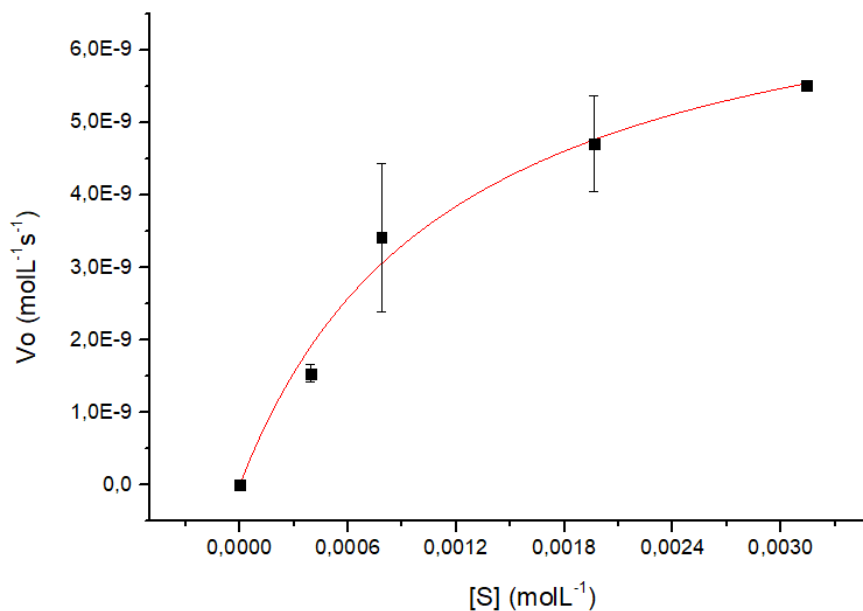


Figura 24. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo CSe_{Cl} a 25 °C e pH 6,5. Solução MeCN/DMSO/H₂O 45:5:50% v:v; [complexo] = $1,16 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; [substrato] = $3,93 \times 10^{-4}$ a $3,14 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. I = 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄).

Para o complexo CSe_{Me}, os valores obtidos não possibilitaram o tratamento matemático por meio da equação de Michaelis-Menten, indicando que a reação não

segue este modelo. Posteriormente, outras condições cinéticas serão estudadas para avaliar a atividade de hidrolase do complexo. Dessa forma, os parâmetros cinéticos da reação para os complexos CSe_{OMe} e CSe_{Cl} foram obtidos e expressos na **Tabela 10**.

Tabela 10. Parâmetros cinéticos calculados a 25 °C e pH 6,5 para as reações de hidrólise do substrato 2,4 – BDNPP catalisadas pelos complexos CSe_{OMe} , CSe_{Cl} e CSe^{28} e calculados a 50 °C e pH 9,3 para os complexos $[Cu(HISMIMI)Cl_2]$ e $[Cu(HISMIMA)Cl_2].H_2O^{23}$

	$V_{m\acute{a}x}$ ($molL^{-1}s^{-1}$)	K_M ($molL^{-1}$)	k_{cat} (s^{-1})	$E = k_{cat}/K_M$ ($Lmol^{-1}s^{-1}$)
C_{Se}	$1,17 \times 10^{-8}$	$3,13 \times 10^{-3}$	$1,17 \times 10^{-4}$	$3,70 \times 10^{-2}$
CSe_{OMe}	$1,73 \times 10^{-8}$	$3,98 \times 10^{-3}$	$1,49 \times 10^{-4}$	$3,74 \times 10^{-2}$
CSe_{Cl}	$7,61 \times 10^{-9}$	$1,17 \times 10^{-3}$	$6,56 \times 10^{-5}$	$5,61 \times 10^{-2}$
$[Cu(HISMIMI)Cl_2]$	$16,4 \times 10^{-9}$	$17,3 \times 10^{-3}$	$3,28 \times 10^{-4}$	$1,89 \times 10^{-2}$
$[Cu(HISMIMA)Cl_2].H_2O$	$7,02 \times 10^{-9}$	$3,03 \times 10^{-3}$	$1,40 \times 10^{-4}$	$4,6 \times 10^{-2}$

A partir dos parâmetros cinéticos obtidos nas reações de hidrólise frente ao substrato modelo, e comparando os dados cinéticos obtidos com miméticos já descritos pela literatura, pode-se afirmar que os compostos sintetizados neste trabalho apresentaram significativa atividade catalítica. Percebe-se que os valores de eficiência catalítica em comparação com o complexo sem substituinte (C_{Se}) são relativamente próximos, no entanto evidencia que a inserção do substituinte influenciou na atividade de hidrolase desses complexos.

Nota-se que entre o complexo C_{Se} e o complexo com substituinte doador de densidade eletrônica CSe_{OMe} , os valores mantiveram-se próximos quando em comparação com o complexo CSe_{Cl} , sendo este o que apresentou maior valor de eficiência catalítica, demonstrando valores de K_M relevantes para a catálise ocorrer. Apesar disso, o maior valor de k_{cat} , ou seja, a maior atividade catalítica, foi alcançada para o complexo CSe_{OMe} . Estudos cinéticos de reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP com complexos de diferentes substituintes realizados por Peralta *et al* demonstraram que a atividade aumentou na seguinte ordem para os substituintes: $NO_2 < Br < H < CH_3$, revelando um comportamento em que o substituinte mais eletrodoador possui maior atividade, assim como no presente trabalho em que o

composto com substituinte eletrodoador (Cse_{OMe}) apresentou mudanças positivas na atividade, enquanto substituintes retiradores apresentaram menores valores de constante catalítica.³⁰

Outro parâmetro importante são as condições cinéticas utilizadas nesses estudos, nas quais pode-se observar valores elevados de temperatura e pH para cinéticas com compostos análogos ao estudado nesse trabalho, porém contendo ligantes nitrogenados e oxigenados. Este resultado se deve ao fato desses complexos possuírem em sua estrutura dois cloretos lábeis que em meio aquoso são substituídos por moléculas de água responsáveis pelo ataque nucleofílico, porém são considerados nucleófilos fracos. Ao desprotonar estas moléculas de água, a espécie hidróxido se torna um possível forte nucleófilo da reação, assim, o pKa da água coordenada define o pH no qual ocorrerá maior atividade catalítica.⁵²

Por sua vez, este pKa cinético irá depender da acidez de Lewis do metal, que possui como função polarizar a molécula de água coordenada, resultando em uma fração de hidróxido potencialmente nucleofílica em condições biologicamente relevantes de pH. Este efeito de diminuir o pKa cinético por meio do aumento da acidez de Lewis do metal é provocado pela inserção dos calcogênios, por serem átomos menos eletronegativos, demonstrando assim a importância de estudos com a adição desses átomos na primeira esfera de coordenação.^{16,50}

6 CONCLUSÕES

Foram sintetizados três novos ligantes organocalcogenados monossustituídos (L_{OMe} , L_{Me} e L_{Cl}) e caracterizados pelas técnicas de 1H NMR, ^{13}C NMR, ^{77}Se NMR, IR e HR-MS. A partir desses compostos, sintetizaram-se seus respectivos complexos de cobre(II) (CSe_{OMe} , CSe_{Me} e CSe_{Cl}) os quais foram caracterizados por diversas técnicas espectroscópicas, eletroquímicas e condutivimétricas.

Estes complexos foram estudados frente à reação de hidrólise do substrato ativado 2,4-BDNPP e seus parâmetros cinéticos foram obtidos com intuito de comparação com demais complexos presentes na literatura, principalmente com o seu complexo análogo sem substituintes previamente sintetizados em outro trabalho do grupo (C_{Se}), a fim de obter a influência da inserção destes substituintes na atividade hidrolase.

Para o complexo CSe_{Me} não foram encontradas condições cinéticas possíveis de se obterem os parâmetros por meio do tratamento matemático da equação de Michaelis-Menten, não sendo possível realizar a comparação desejada. Já para os complexos CSe_{OMe} e CSe_{Cl} , os valores de eficiência catalítica demonstraram que ocorreu influência dos substituintes, uma vez que não foram obtidos os mesmos parâmetros.

Observou-se que para o complexo com substituinte metoxila, não houve alterações significativas nos valores de eficiência catalítica, indicando que a inserção de um substituinte doador de densidade eletrônica alterou pouco a atividade catalítica do complexo, porém para maiores valores de k_{cat} , indicando um aumento na atividade, fato este que é explicado devido ao aumento da capacidade doadora gerada no átomo de selênio coordenado ao centro metálico, evidenciado principalmente pelo NMR de ^{77}Se , no qual observou-se a influência desses substituintes no deslocamento químico. Esta mudança, por sua vez, aumenta a densidade eletrônica do metal, causando uma polarização no hidroxila coordenado e assim aumentando a força do nucleófilo da reação.

Já para o complexo CSe_{Cl} , este com substituinte levemente retirador de densidade eletrônica, houve uma mudança relevante no valor de eficiência catalítica, demonstrando resultados que corroboram com outros trabalhos na literatura, nos quais a inserção de substituintes retiradores pode diminuir a atividade catalítica,

porém aumentar a eficiência através da diminuição do valor da constante de Michaelis-Menten.

Para sequência desses estudos, tem-se como perspectiva realizar novas tentativas de cinética para o complexo CSe_{Me} , uma vez que este possui um substituinte levemente doador eletrônico, logo espera-se uma atividade catalítica maior ao complexo não substituído. Além disso, realizar a síntese desses complexos com substituintes ainda mais retiradores, como L_{NO_2} , a fim de obter resultados que acrescentem a discussão proposta.

Outro ponto importante desse trabalho, são as condições cinéticas em que foram obtidas as maiores atividades, sendo estas muito próximas das condições ideais para compostos biologicamente relevantes, sendo $25^{\circ}C$ e $pH\ 6,5$. Este efeito é causado pela inserção dos calcogênios na esfera de coordenação, uma vez que estes alteram a acidez de Lewis do metal, diminuindo o pK_a cinético e aumentando novamente a força do nucleófilo, aumentando assim a atividade.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹INCA/MS, 2018. INCA - **Instituto Nacional de Câncer** - Estimativa 2018. *Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Cancer José Alencar Gomes da Silva*. 2018.
- ²OMS, **Organização Mundial da Saúde**. Estimativa 2020.
- ³Bhattacharjee, A.; Das, S.; Das, B.; Roy, P. Intercalative DNA Binding, Protein Binding, Antibacterial Activities and Cytotoxicity Studies of a Mononuclear Copper(II) Complex. *Inorganica Chim. Acta*. 2021. v. 514, p. 119961, 2021.
- ⁴CORNISH-BOWDEN, Athel. Current IUBMB recommendations on enzyme nomenclature and kinetics. *Perspectives in Science*. 2014. v. 1, n. 1-6, p. 74-87, 2014.
- ⁵Holm, R. H.; Kennepohl, P.; Solomon, E. I. Structural and Functional Aspects of Metal Sites in Biology. *Chem. Rev.* 1996. v. 96, n. 7, p. 2239-2314, 1996.
- ⁶Holm, R. H.; Solomon, E. I. Introduction: Bioinorganic Enzymology II. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 8, p. 4039-4040, 2014.
- ⁷Rebilly, J. N.; Colasson, B.; Bistri, O.; Over, D.; Reinaud, O. Biomimetic Cavity-Based Metal Complexes. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 2, p. 467-489, 2015.
- ⁸Heying, R. S.; da Silva, M. P.; Wecker, G. S.; Peralta, R. A.; Bortoluzzi, A. J.; Neves, A. Unusual Hydrolase-like Activity of a Mononuclear Fe(III) Complex. **Inorg. Chem. Commun**, v. 102, p. 245-250, 2019
- ⁹Feder, D.; McGearry, R. P.; Mitić, N.; Lonhienne, T.; Furtado, A.; Schulz, B. L.; Henry, R. J.; Schmidt, S.; Guddat, L. W.; Schenk, G. Structural Elements That Modulate the Substrate Specificity of Plant Purple Acid Phosphatases: Avenues for Improved Phosphorus Acquisition in Crops. **Plant Science**, v. 294, p. 110445, 2020.
- ¹⁰Schenk, G.; Mitić, N. Š.; Hanson, G. R.; Comba, P. Purple Acid Phosphatase: A Journey into the Function and Mechanism of a Colorful Enzyme. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 2, p. 473-482, 2013.
- ¹¹Brito, M. A. de; Neves, A.; Zilli, L. R. Modelando a Coordenação de Fosfato Com o Sítio Ativo Das Fosfatases Ácidas Púrpuras. **Quim. Nova**, v. 20, p. 154-157, 1997.
- ¹²Desbouis, D.; Troitsky, I. P.; Belousoff, M. J.; Spiccia, L.; Graham, B. Copper(II), Zinc(II) and Nickel(II) Complexes as Nuclease Mimetics. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 256, n. 11-12, p. 897-937, 2012.
- ¹³Westheimer, F. H. Why Nature Chose Phosphates. **Science**. v. 235, n. 4793, p. 1173-1178, 1987.
- ¹⁴Schenk, G.; Elliott, T. W.; Leung, E.; Carrington, L. E.; Mitić, N.; Gahan, L. R.; Guddat, L. W. Crystal Structures of a Purple Acid Phosphatase, Representing Different Steps of This Enzyme's Catalytic Cycle. **BMC Struct. Biol.** v. 8, n. 1, p. 1-13, 2008.
- ¹⁵De Brito, M. A.; Neves, A.; Zilli, L. R. Modelando a Coordenação de Fosfato Com o Sítio Ativo Das Fosfatases Ácidas Púrpuras. **Quim. Nova**, v. 20, p. 154-157, 1997.

- ¹⁶Blackman, A. G.; Gahan, L. R. Metal-Coordinated Hydroxide as a Nucleophile: A Brief History. **Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie.**, v. 644, n. 14, p. 616-629, 2018.
- ¹⁷Conn, E. E.; Stumpf, P. K. **Introdução à Bioquímica**; Editora Blucher, 1980.
- ¹⁸Albert, L. L.; Lehninger, A. L. **Lehninger Principles of Biochemistry**; David L. Nelson, Michael M. Cox; 2005.
- ¹⁹Hegg, E. L.; Burstyn, J. N. Toward the Development of Metal-Based Synthetic Nucleases and Peptidases: A Rationale and Progress Report in Applying the Principles of Coordination Chemistry. **Coord. Chem. Rev.** v 173, p. 133-165, **1998**.
- ²⁰Beloglazova, N. G.; Fabani, M. M.; Polushin, N. N.; Sil'nikov, V. V.; Vlassov, V. V.; Bichenkova, E. V.; Zenkova, M. A. Site-Selective Artificial Ribonucleases: Oligonucleotide Conjugates Containing Multiple Imidazole Residues in the Catalytic Domain. **J. Nucleic Acids**, v. 2011, 2011.
- ²¹Kumar, P.; Baidya, B.; Chaturvedi, S. K.; Khan, R. H.; Manna, D.; Mondal, B. DNA Binding and Nuclease Activity of Copper(II) Complexes of Tridentate Ligands. **Inorganica Chim. Acta**, v. 376, n. 1, p. 264-270, 2011.
- ²²Cornish-Bowden, A. One Hundred Years of Michaelis–Menten Kinetics. **Perspect. Sci.** v. 4, p. 3-9, 2015.
- ²³Scarpellini, M.; Neves, A.; Hörner, R.; Bortoluzzi, A. J.; Szpoganics, B.; Zucco, C.; Nome Silva, R. A.; Drago, V.; Mangrich, A. S.; Ortiz, W. A.; Passos, W. A. C.; De Oliveira, M. C. B.; Terenzi, H. Phosphate Diester Hydrolysis and DNA Damage Promoted by New Cis-Aqua/Hydroxy Copper(II) Complexes Containing Tridentate Imidazole-Rich Ligands. **Inorg. Chem.** v. 42, n. 25, p. 8353-8365, 2003.
- ²⁴Bazzicalupi, C.; Bencini, A.; Bonaccini, C.; Giorgi, C.; Gratteri, P.; Moro, S.; Palumbo, M.; Simionato, A.; Sgrignani, J.; Sissi, C.; Valtancoli, B. Tuning the Activity of Zn(II) Complexes in DNA Cleavage: Clues for Design of New Efficient Metallo-Hydrolases. **Inorg. Chem.** v. 47, n. 12, p. 5473-5484, 2008.
- ²⁵Wirth, T. Small Organoselenium Compounds: More than Just Glutathione Peroxidase Mimics. **Angew. Chemie - Int. Ed.** v. 54, n. 35, p. 10074-10076, 2015.
- ²⁶Mugesh, G.; Du Mont, W. W.; Sies, H. Chemistry of Biologically Important Synthetic Organoselenium Compounds. **Chemical Reviews**, v. 101, n. 7, p. 2125-2180, 2001.
- ²⁷Parnham, M. J.; Sies, H. The Early Research and Development of Ebselen. **Biochemical Pharmacology**, v. 86, n. 9, p. 1248-1253, 2013.
- ²⁸Durigon, D. C.; Maragno Peterle, M.; Bortoluzzi, A. J.; Ribeiro, R. R.; Braga, A. L.; Peralta, R. A.; Neves, A. Cu(II) Complexes with Tridentate Sulfur and Selenium Ligands: Catecholase and Hydrolysis Activity. **New J. Chem.** v. 44, n. 36, p. 15698-15707, 2020.
- ²⁹Zhao, M.; Wang, H. B.; Ji, L. N.; Mao, Z. W. Insights into Metalloenzyme Microenvironments: Biomimetic Metal Complexes with a Functional Second

- Coordination Sphere. **Chemical Society Reviews**. v. 42, n. 21, p. 8360-8375, 2013.
- ³⁰Peralta, R. A.; Bortoluzzi, A. J.; De Souza, B.; Jovito, R.; Xavier, F. R.; Couto, R. A. A.; Casellato, A.; Nome, F.; Dick, A.; Gahan, L. R.; Schenk, G.; Hanson, G. R.; De Paula, F. C. S.; Pereira-Maia, E. C.; De P. MacHado, S.; Severino, P. C.; Pich, C.; Bortolotto, T.; Terenzi, H.; Castellano, E. E.; Neves, A.; Riley, M. J. Electronic Structure and Spectro-Structural Correlations of Fe IIIZnII Biomimetics for Purple Acid Phosphatases: Relevance to DNA Cleavage and Cytotoxic Activity. **Inorg. Chem.** v. 49, n. 24, p. 11421-11438, 2010.
- ³¹Peralta, R. A.; Bortoluzzi, A. J.; Szpoganicz, B.; Brandão, T. A. S.; Castellano, E. E.; De Oliveira, M. B.; Severino, P. C.; Terenzi, H.; Neves, A. Catecholase and DNase Activities of Copper(II) Complexes Containing Phenolate-Type Ligands. In **Journal of Physical Organic Chemistry**; v. 23, n. 10, p. 1000-1013, 2010.
- ³²Kumar, S.; Rao, G. K.; Kumar, A.; Singh, M. P.; Singh, A. K. Palladium(II)-(E,N,E) Pincer Ligand (E = S/Se/Te) Complex Catalyzed Suzuki Coupling Reactions in Water via in Situ Generated Palladium Quantum Dots. **Dalt. Trans**, v. 42, n. 48, p. 16939-16948, 2013.
- ³³Bunton, C. A.; Farber, J. F. The Hydrolysis of Bis (2,4-Dinitrophenyl) Phosphate. **J. Org. Chem.** v. 34, n. 4, p. 767-772, 1969.
- ³⁴Rey, N. A.; Neves, A.; Bortoluzzi, A. J.; Pich, C. T.; Terenzi, H. Catalytic Promiscuity in Biomimetic Systems: Catecholase-like Activity, Phosphatase-like Activity, and Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a New Dicopper(II) Hydroxo-Bridged Complex. **Inorg. Chem.** v. 46, n. 2, p. 348-350, 2007.
- ³⁵Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S. **Introduction to Spectroscopy**, Third Edition. *Thomson Learning, Inc.* 2001.
- ³⁶Martin, J. D. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. In *Between Making And Knowing: Tools In The History Of Materials Research*; p. 561-569.
- ³⁷Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J. Spectrometric Identification of Organic Compounds. **Journal of Chemical Education**, v. 39, n. 11, p. 546, 1962.
- ³⁸Stuart, B. H. **Infrared spectroscopy: fundamentals and applications**. John Wiley & Sons, 2004.
- ³⁹Miessler, Gary L.; Fischer, Paul L.; Tarr, D. A. **Inorganic Chemistry**, 5th Edition, 2014.
- ⁴⁰Marion, R.; Saleh, N. M.; Le Poul, N.; Floner, D.; Lavastre, O.; Geneste, F. Rate Enhancement of the Catechol Oxidase Activity of a Series of Biomimetic Monocopper(II) Complexes by Introduction of Non-Coordinating Groups in N-Tripodal Ligands. **New J. Chem.** v. 36, n. 9, p. 1828-1835, 2012.
- ⁴¹Westrup, K. C. M. **Síntese, Caracterização e Estudo Da Reatividade de Complexos Mononucleares de Cobre(II) Como Sistemas Modelos Para Hidrolases/Nucleases e Catecolases**. Dissertação (Mestrado em Química) –

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, SC, 2012.

⁴²Ferre, F. T.; Resende, J. A. L. C.; Schultz, J.; Mangrich, A. S.; Faria, R. B.; Rocha, A. B.; Scarpellini, M. Catalytic Promiscuity of Mononuclear Copper(II) Complexes in Mild Conditions: Catechol and Cyclohexane Oxidations. **Polyhedron**, v. 123, p. 293-304, 2017.

⁴³Velho, R. G. **Medidas de Condutividade Na Caracterização de Complexos Inorgânicos: Um Levantamento Bibliográfico**. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, SP, 2006.

⁴⁴Geary, W. J. The Use of Conductivity Measurements in Organic Solvents for the Characterisation of Coordination Compounds. **Coord. Chem. Rev.** v. 7, n. 1, p. 81-122, 1971.

⁴⁵LIDE, D. R. **Handbook of Inorganic Chemistry and Physics**, 81st ed.; CRS, Ed.; 2000.

⁴⁶Krupanidhi, S.; Sreekumar, A.; Sanjeevi, C. B. Copper & Biological Health. **Indian Journal of Medical Research**. v. 128, n. 4, 2008.

⁴⁷Mabbott, G. A. An Introduction to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**. v. 60, n. 9, p. 697, 1983.

⁴⁸ Mabbott, G. A. An Introduction to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**. v. 60, n. 9, p. 697, 1983.

⁴⁹Mancin, F.; Scrimin, P.; Tecilla, P. Progress in Artificial Metallonucleases. **Chem. Commun.** v. 48, n. 45, p. 5545-5559, 2012.

⁵⁰Livingstone, S. E. Metal Complexes of Ligands Containing Sulphur, Selenium, or Tellurium as Donor Atoms. **Q. Rev. Chem. Society.**, v. 19, n. 4, p. 386-425, 1965.

⁵¹Wilkins, R. G. **Kinetics and Mechanism of Reactions of Transition Metal Complexes**; VHC, 1991.

⁵²Hendry, P.; Sargeson, A. M. Metal Ion Promoted Phosphate Ester Hydrolysis. Intramolecular Attack of Coordinated Hydroxide Ion. **J. Am. Chem. Society.** v. 111, n. 7, p. 2521-2527, 1989.

8 APÊNDICE

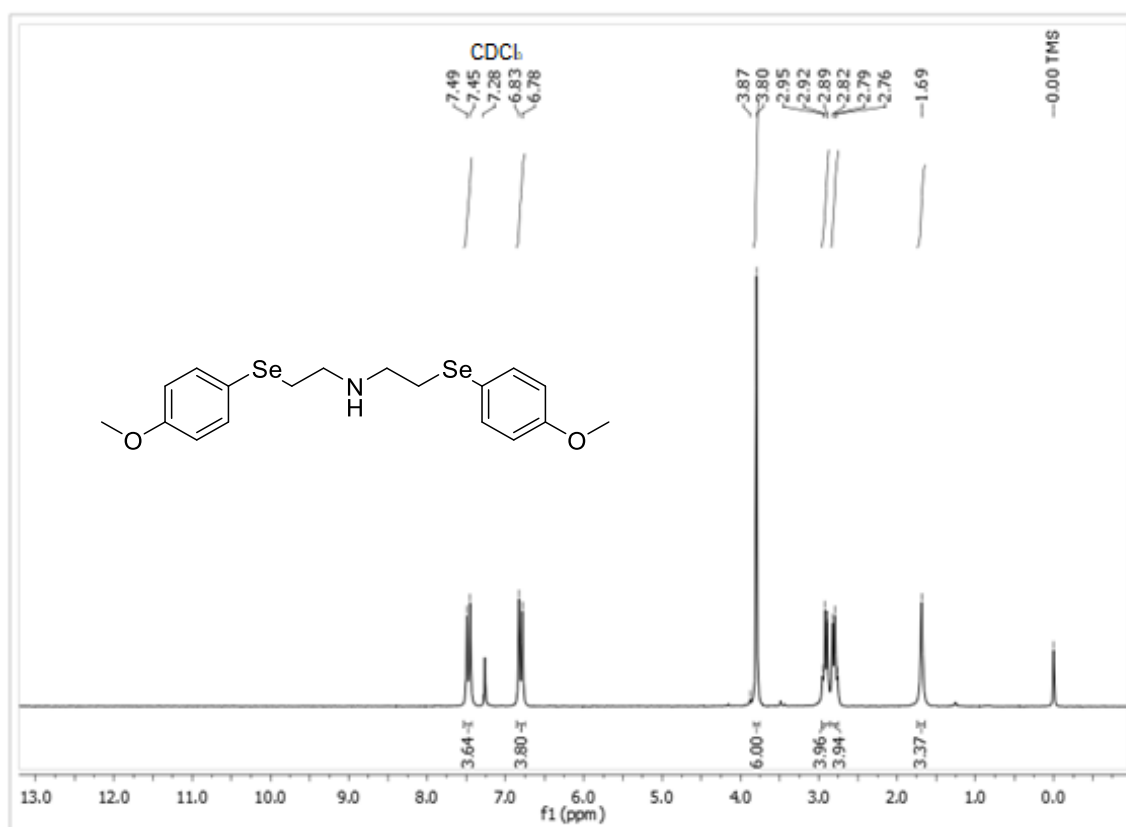


Figura 25. Espectro de NMR de ^1H (200 MHz) do ligante L_{OMe} em CDCl_3 .



Figura 26. Espectro de NMR de 1H (200 MHz) do ligante L_{Me} em $CDCl_3$.

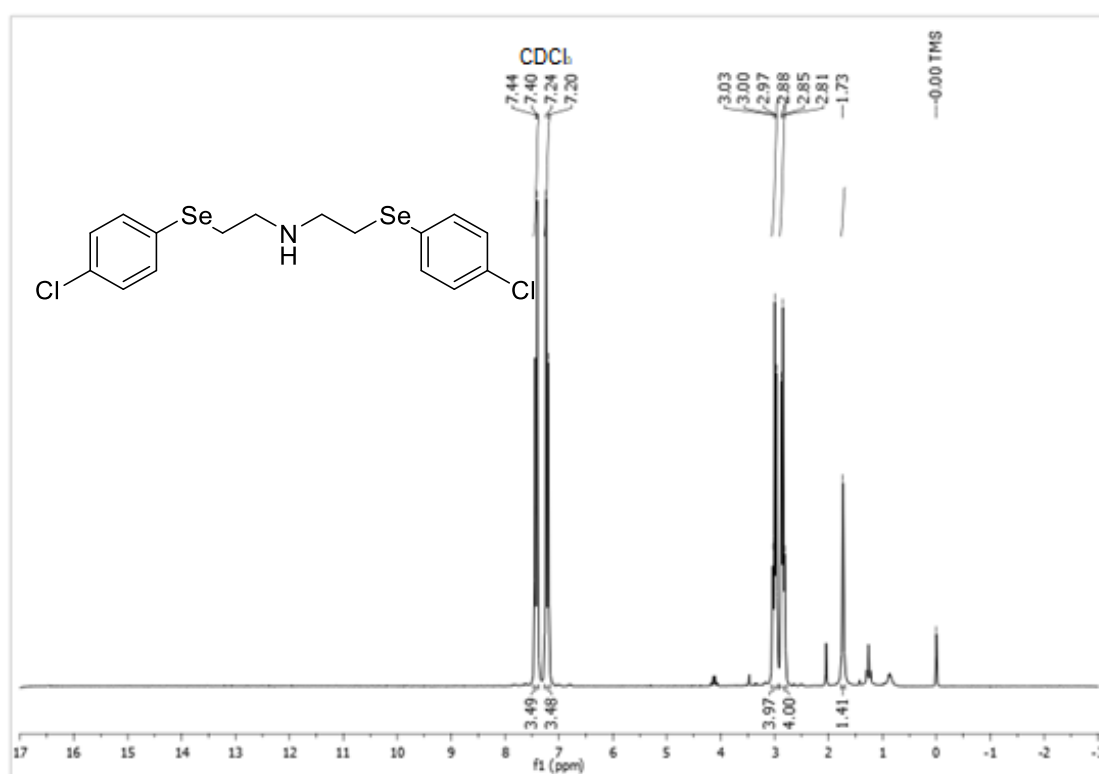


Figura 27. Espectro de NMR de 1H (200 MHz) do ligante L_{Cl} em $CDCl_3$.

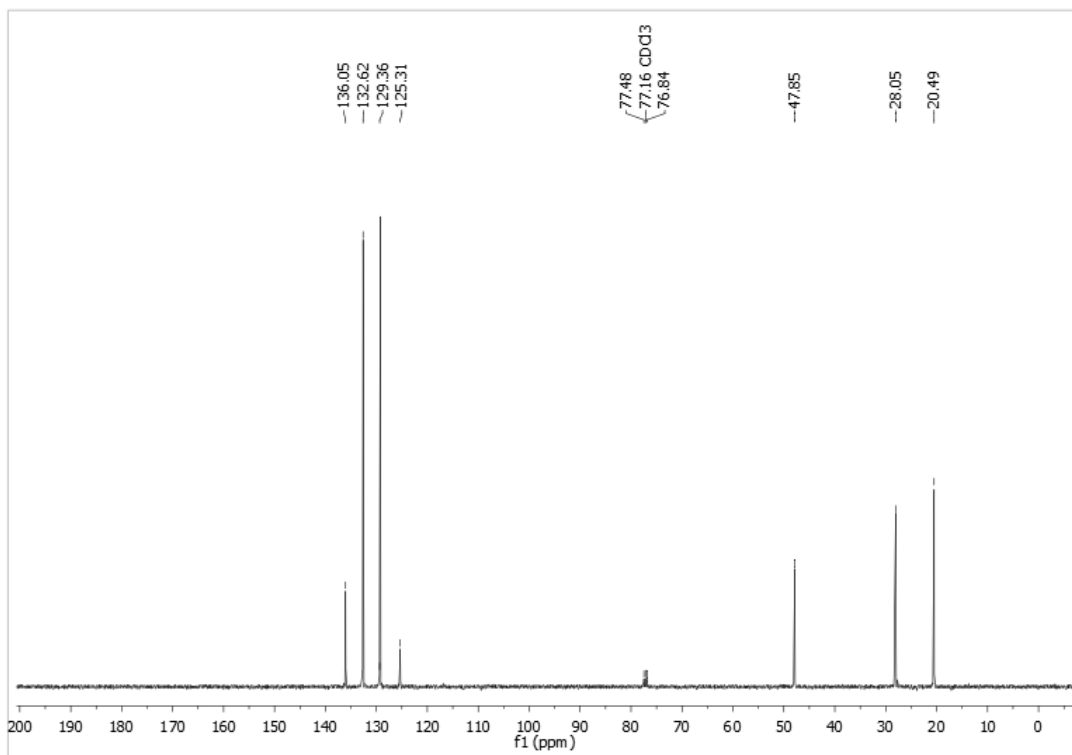


Figura 28. Espectro de NMR de ^{13}C (100 MHz) do ligante L_{Me} em CDCl_3 .

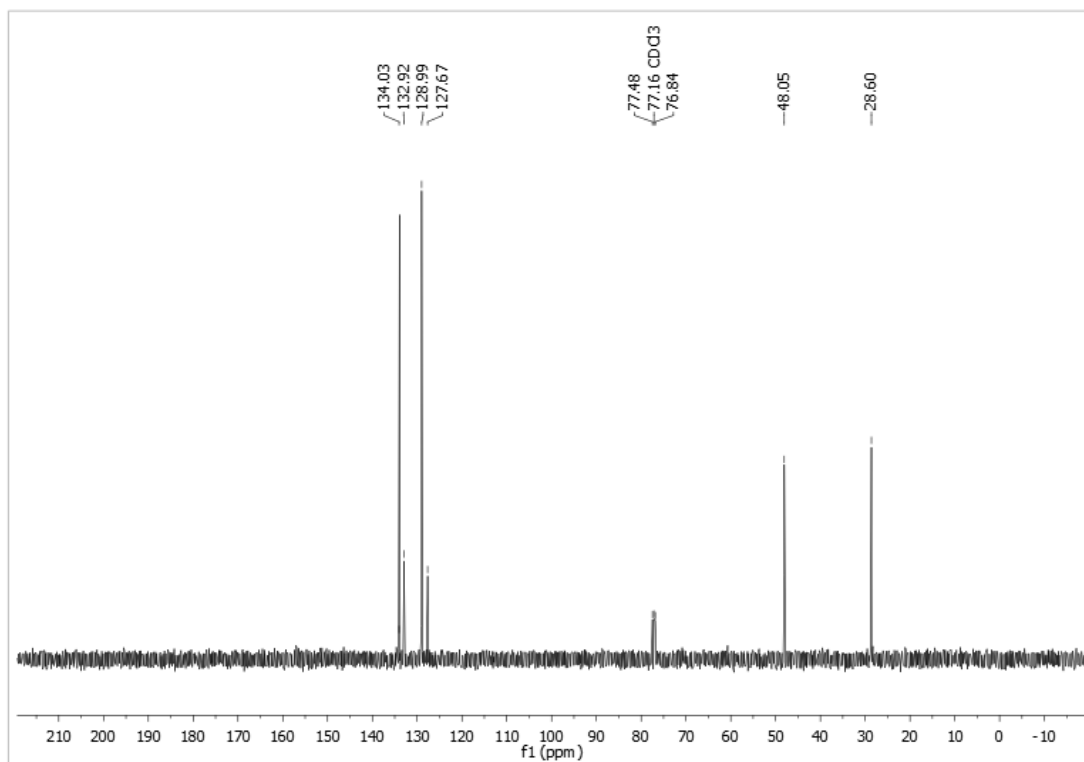


Figura 29. Espectro de NMR de ^{13}C (100 MHz) do ligante L_{Cl} em CDCl_3 .

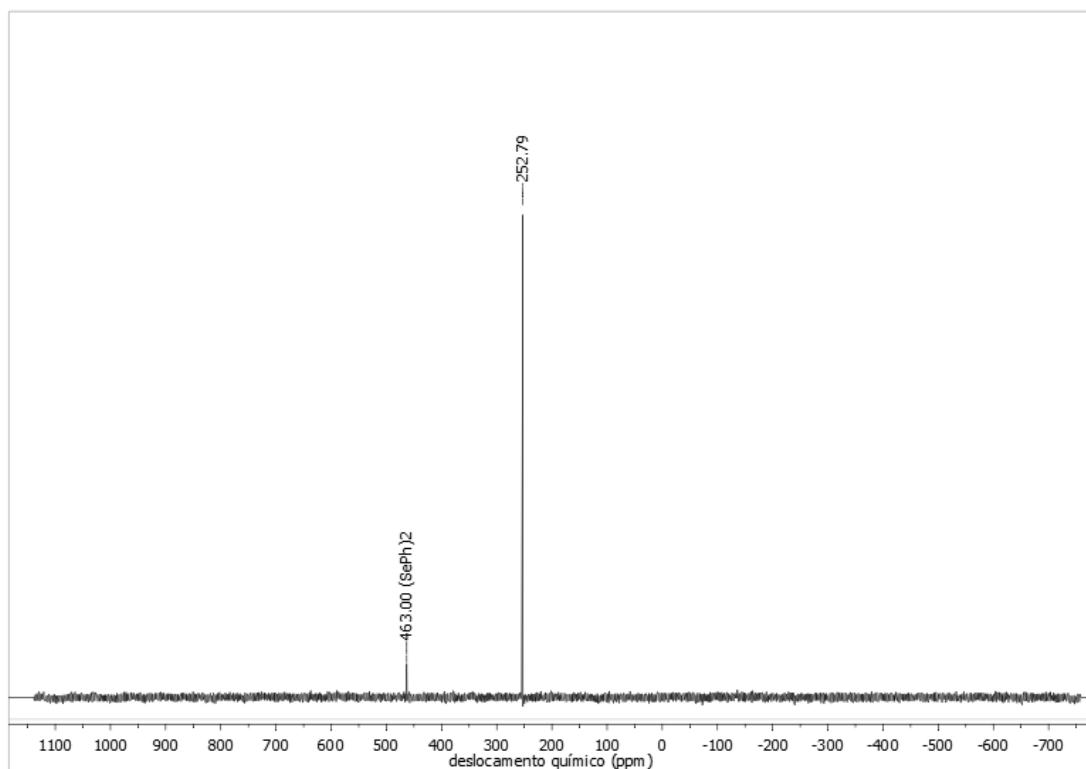


Figura 30. Espectro de NMR de ^{77}Se (38 MHz) do ligante LO_{Me} em CDCl_3 .

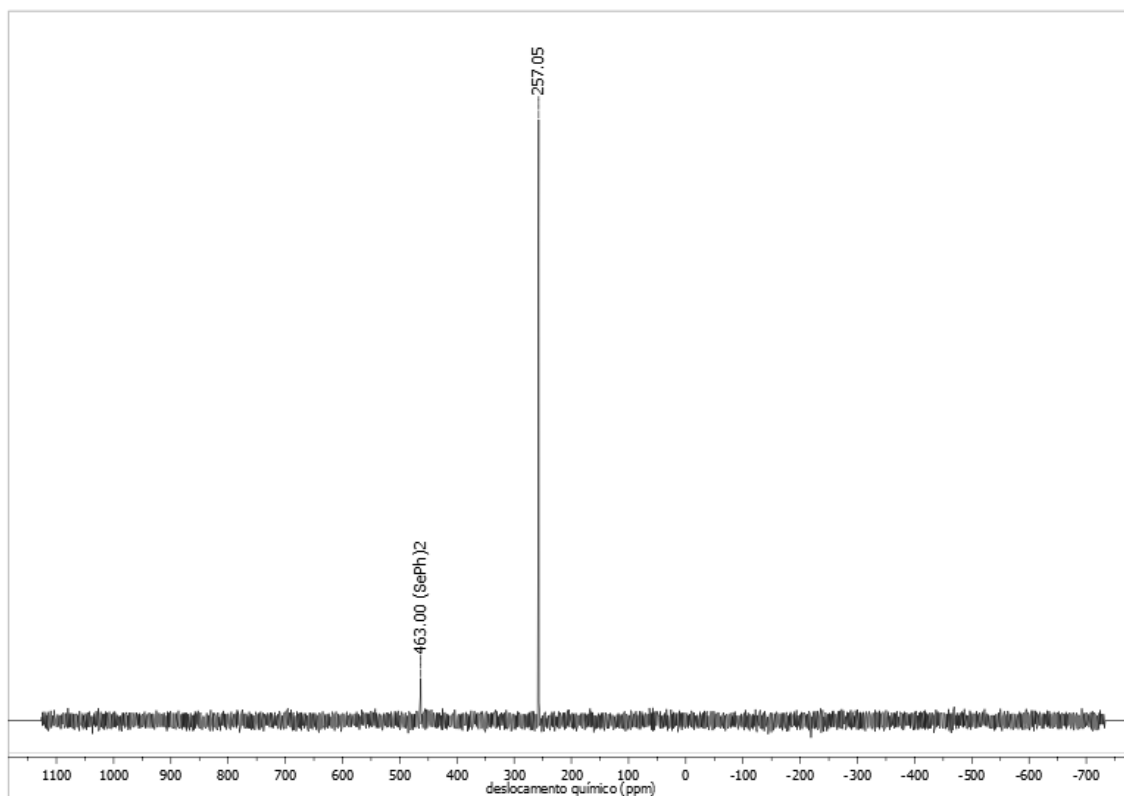


Figura 31. Espectro de NMR de ^{77}Se (38 MHz) do ligante L_{Me} em CDCl_3 .

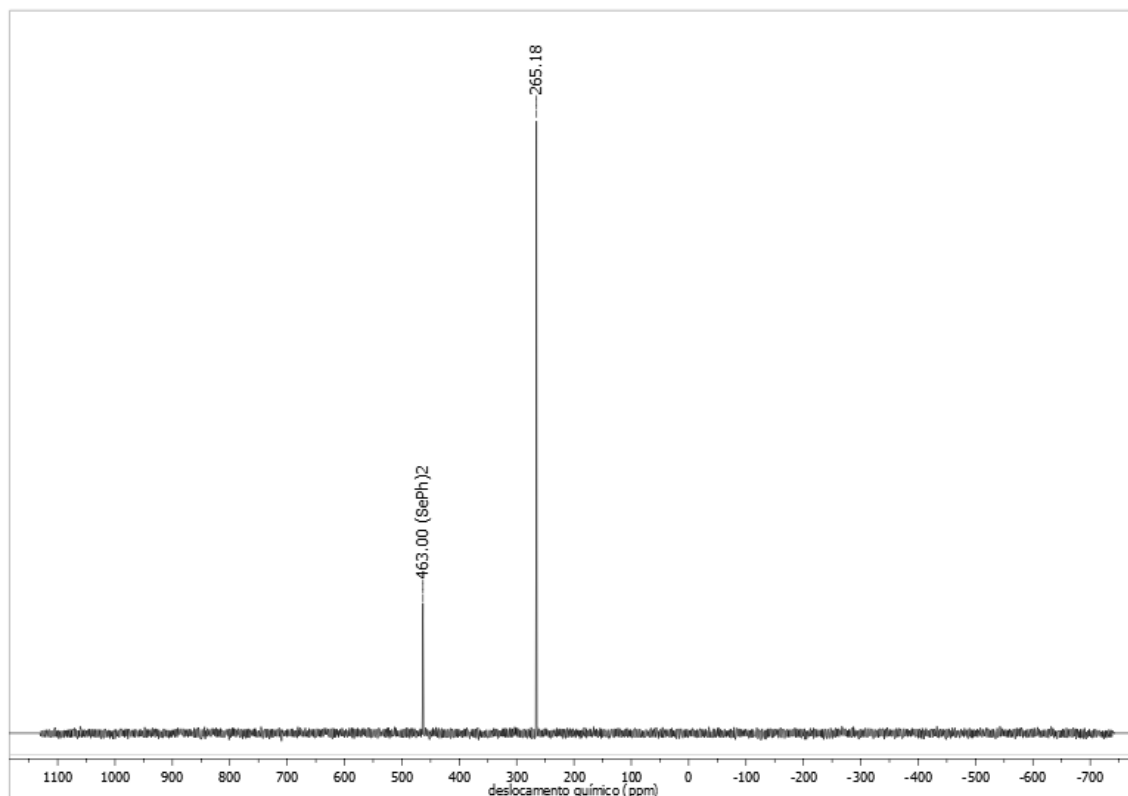


Figura 32. Espectro de NMR de ^{77}Se (38 MHz) do ligante L_{Cl} em CDCl_3 .

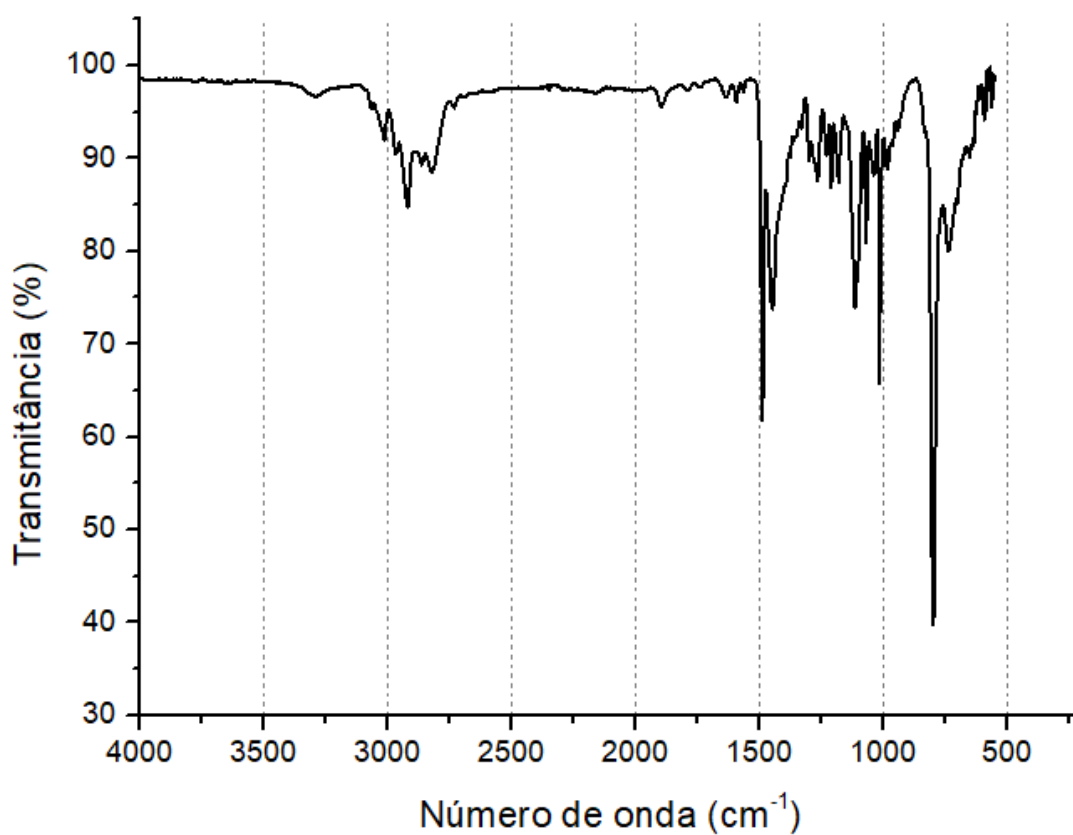


Figura 33. Espectro de IR para o ligante L_{Me} em ATR.

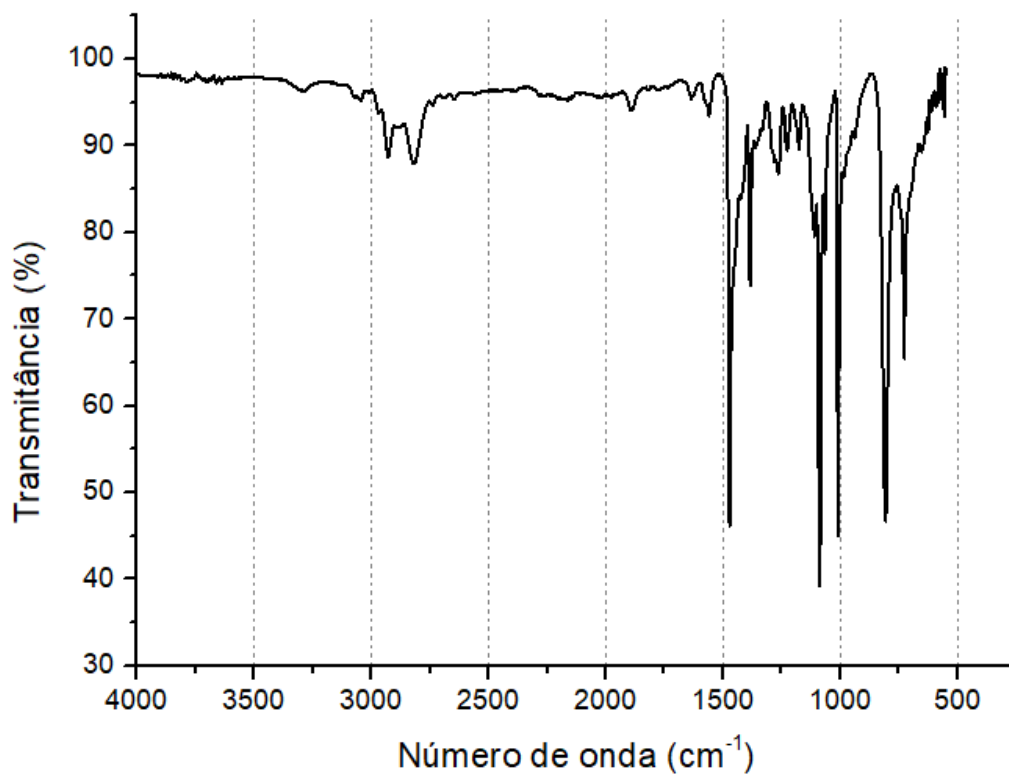


Figura 34. Espectro de IR para o ligante L_{C1} em ATR.

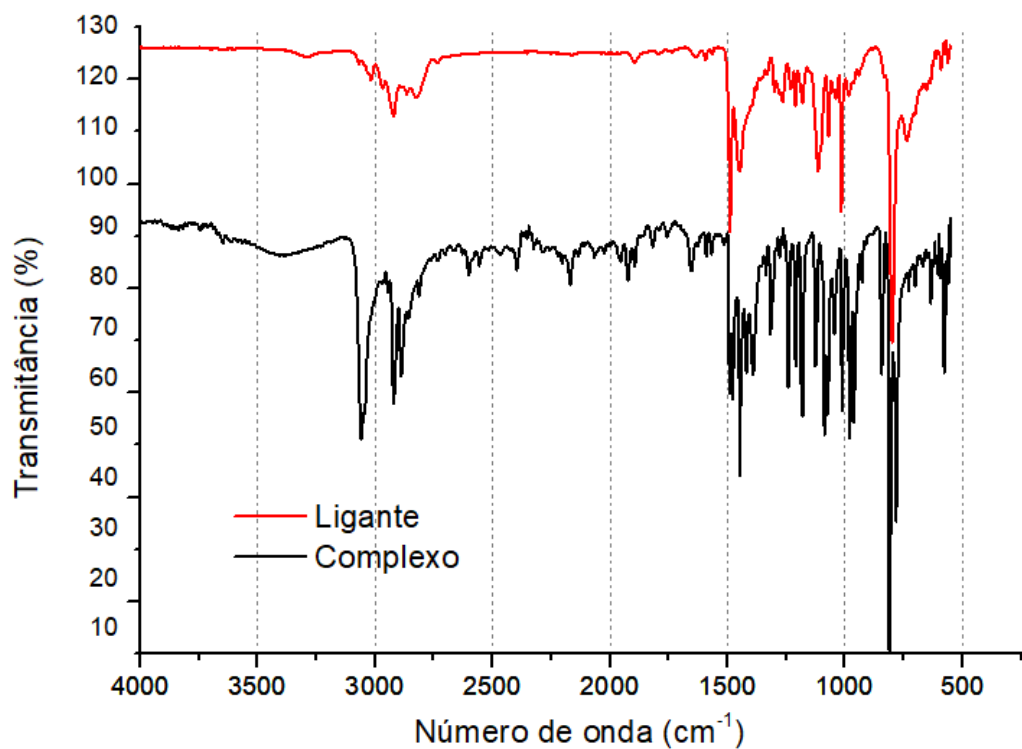


Figura 35. Espectro de IR de L_{Me} e seu respectivo complexo CSe_{Me} em ATR.

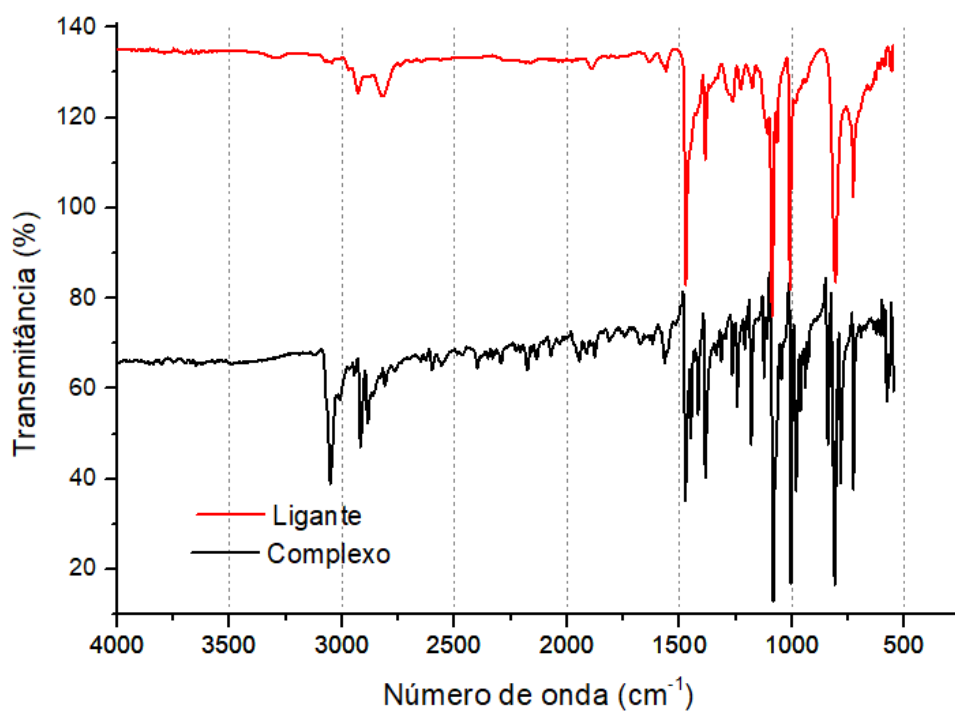


Figura 36. Espectro de IR de L_{Cl} e seu respectivo complexo CSe_{Cl} em ATR.

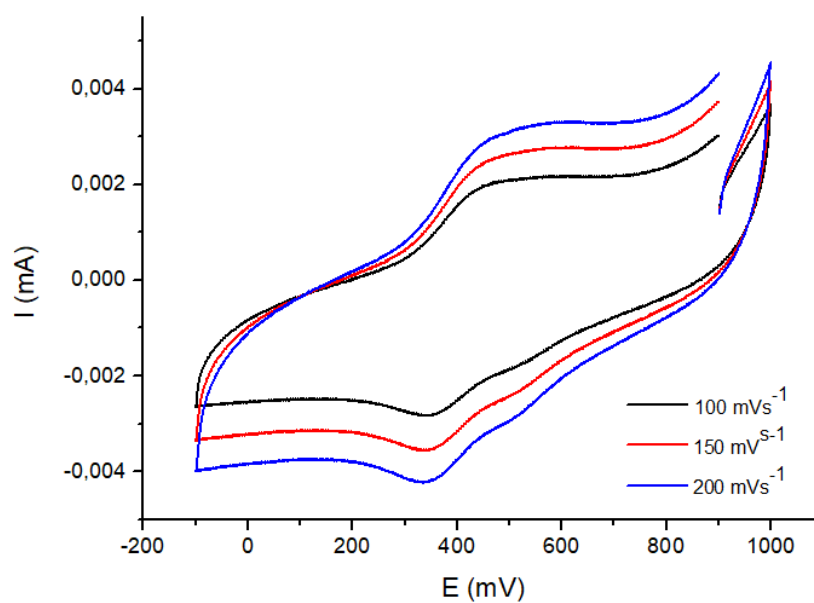


Figura 37. Voltamograma cíclico do complexo CSe_{OMe} em MeCN na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em diferentes velocidades.

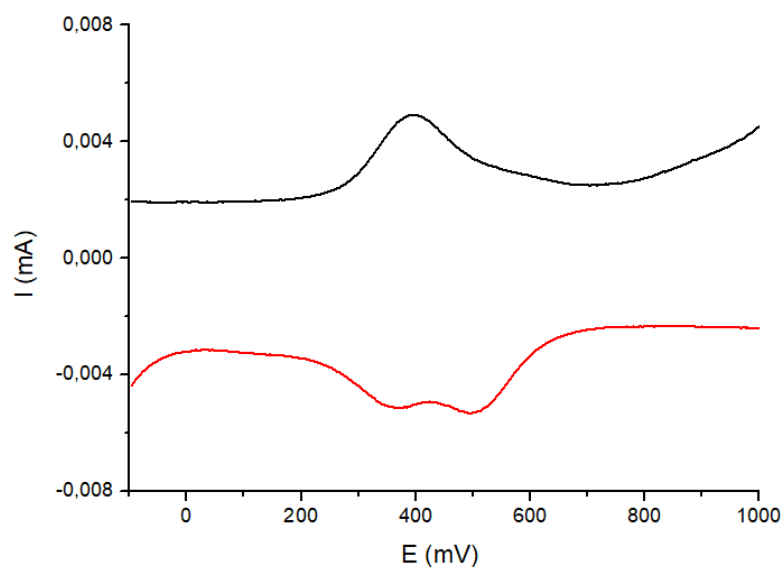


Figura 38. Voltamograma de onda quadrada do complexo CSe_{OMe} em MeCN na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em velocidade de 100 mVs^{-1} .

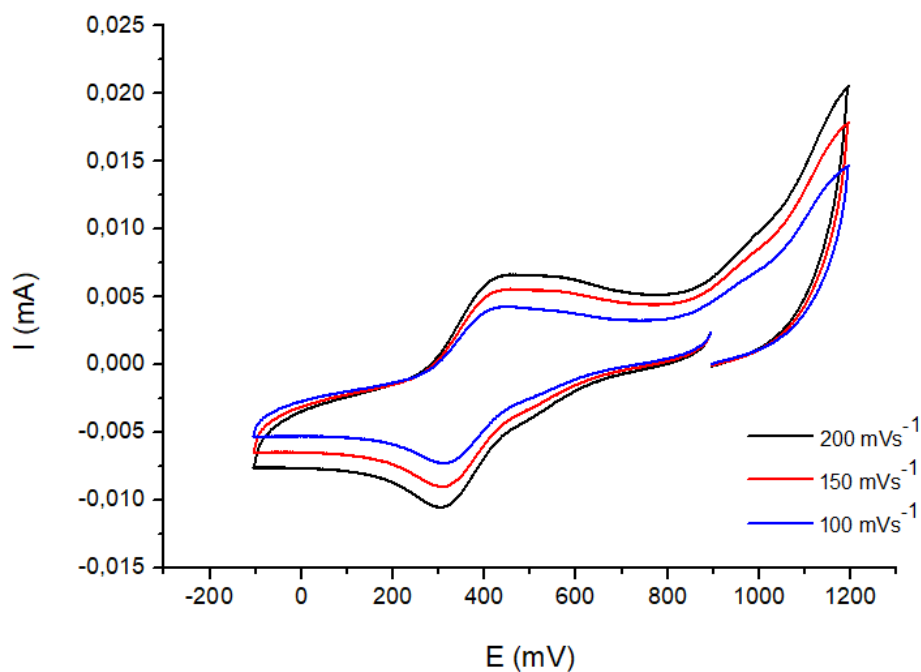


Figura 39. Voltamograma cíclico do complexo CSe_{Me} em MeCN na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em diferentes velocidades.

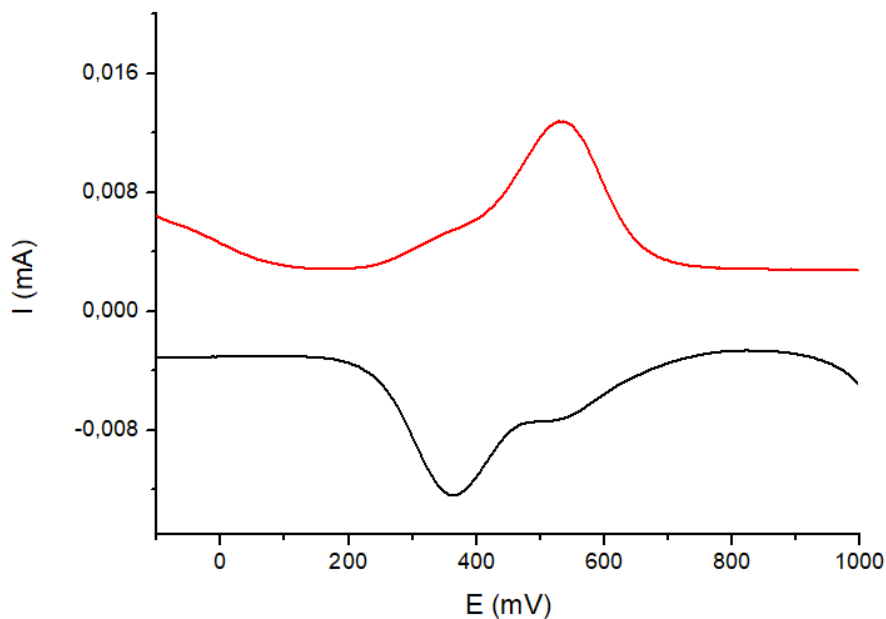


Figura 40. Voltamograma de onda quadrada do complexo CSe_{Me} em MeCN na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em velocidade de 100mVs^{-1} .

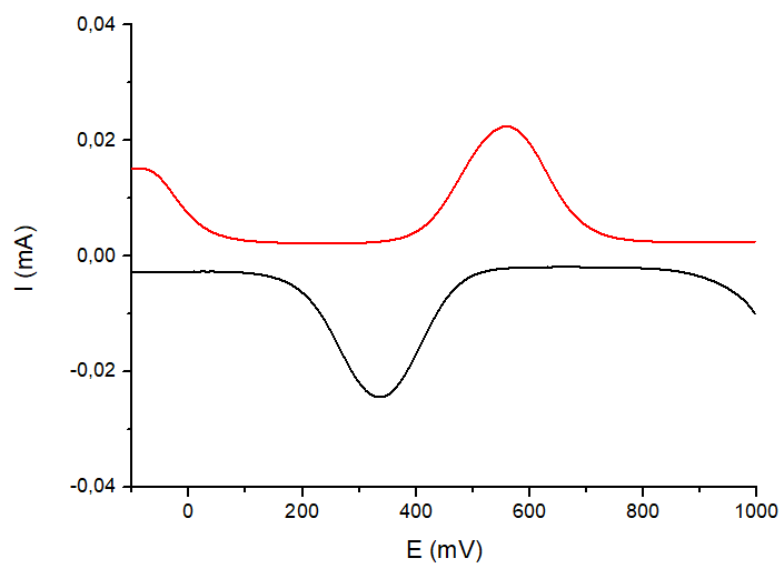


Figura 41. Voltamograma de onda quadrada do complexo CSe_{Cl} em MeCN na presença de $TBAPF_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte e ferroceno como padrão interno em velocidade de 100mVs^{-1} .

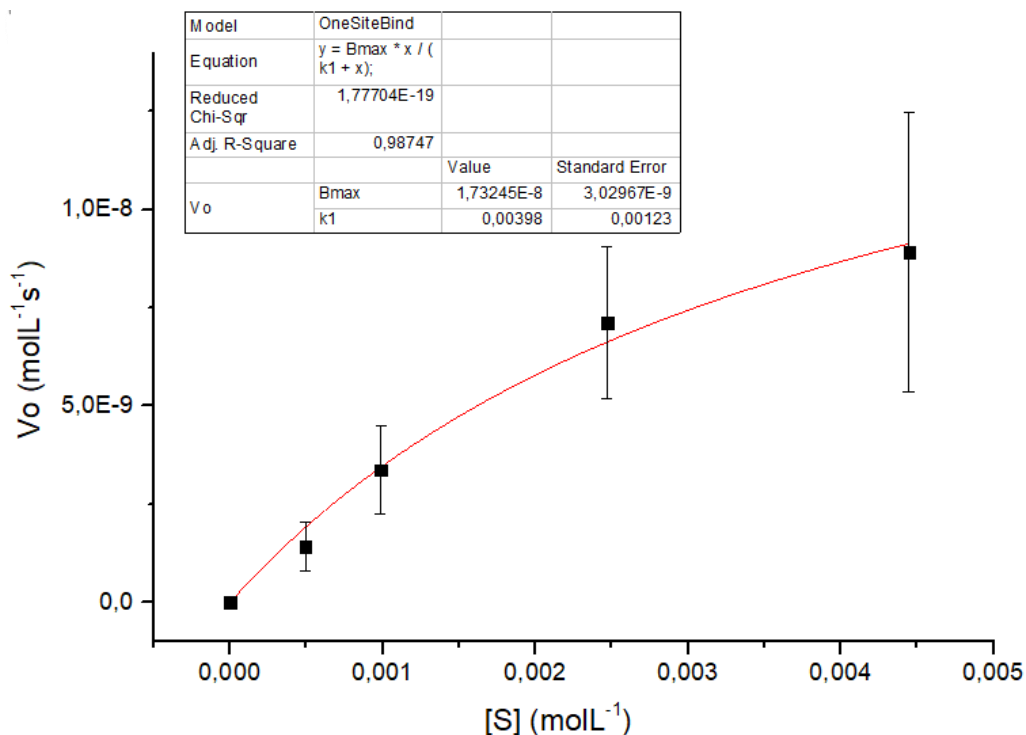


Figura 42. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo CSe_{OMe} a 25 °C e pH 6,5. Solução MeCN/DMSO/H₂O 9,5:0,5:1; [complexo] = 1,161 x 10⁻⁴ mol L⁻¹; [substrato] = 4,941 x 10⁻⁴ a 4,452 x 10⁻³ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. I = 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄).

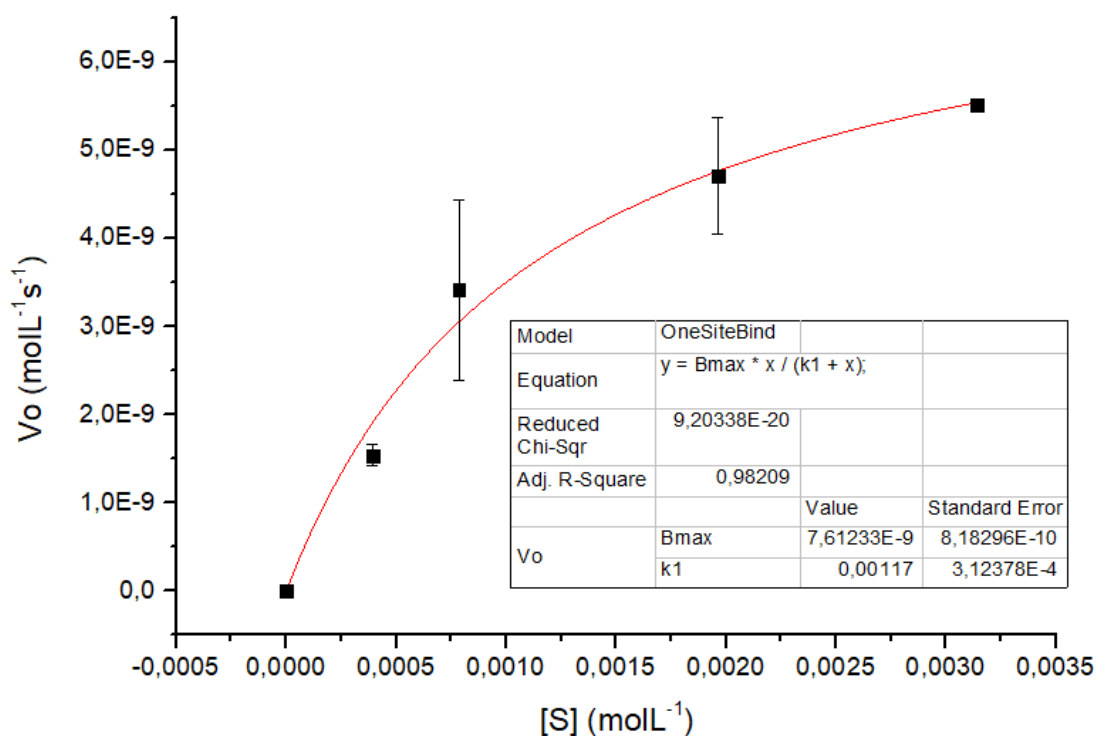


Figura 43. Dependência da velocidade de reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o complexo CSe_{Cl} a 25 °C e pH 6,5. Solução

MeCN/DMSO/H₂O 9,5:0,5:1; [complexo] = $1,16 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹; [substrato] = $3,926 \times 10^{-4}$ a $3,140 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; [tampão] = 0,05 mol L⁻¹. I = 0,05 mol L⁻¹ (LiClO₄).