



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

**NOVO COMPLEXO MONONUCLEAR DE COBRE  
CATALITICAMENTE PROMÍSCUO: SÍNTESE,  
CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS CINÉTICOS**

**EDUARDO LUIZ SCHILLING**

Florianópolis  
Dezembro/2010

**Eduardo Luiz Schilling**

**NOVO COMPLEXO MONONUCLEAR DE COBRE  
CATALITICAMENTE PROMÍSCUO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E  
ESTUDOS CINÉTICOS**

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

**Orientador: Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi**

**Co-Orientadora: M.Sc Geovana Garcia Terra**

Florianópolis  
12/2010

**Eduardo Luiz Schilling**

**NOVO COMPLEXO MONONUCLEAR DE COBRE  
CATALITICAMENTE PROMÍSCUO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E  
ESTUDOS CINÉTICOS**

---

Profa. Dra. Inês Maria Costa Brighente  
Coordenadora de Estágios do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi  
Orientador

---

Prof. Dr. Marcos Aires de Brito

---

Profa. Dra. Herica Aparecida Magosso

Florianópolis  
Dezembro/2010

*Onde cruzam meus talentos e  
paixões com as necessidades do  
mundo, lá está o meu caminho.*

*Aristóteles*

## **Agradecimentos**

---

A minha família pela oportunidade de existir. Meus pais Waldemar e Vera pelo amor, carinho e liberdade de optar pela arquitetura das moléculas. Meu irmão André pelas conversas e contato com os gregos.

Aos meus tantos amigos e amigas que estiveram comigo durante esta jornada, pela influência, inspiração e companhia. Sou reflexo das experiências que compartilhei ao lado de vocês.

Ao amor, por dar sentido.

Aos meus professores e professoras pela sabedoria e exemplos de dedicação ao conhecimento. Ao professor Adailton pela oportunidade, confiança e parceria. À Geovana por acreditar.

À família Labinc, tão diversa e divertida, pelos compartilhamentos e orientações.

À UFSC, a melhor federal, na melhor cidade.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

## Sumário

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>5</b>
<b>Sumário</b> .....	<b>6</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>7</b>
<b>Lista de tabelas</b> .....	<b>8</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>9</b>
<b>1 Introdução</b> .....	<b>10</b>
1.1 A era genômica .....	10
1.2 O DNA e as nucleases .....	11
1.3 Promiscuidade enzimática .....	13
1.4 Química inorgânica biomimética .....	15
<b>2 Objetivos</b> .....	<b>18</b>
<b>3 Experimental</b> .....	<b>19</b>
3.1 Materiais .....	19
3.2 Métodos e instrumentação .....	19
3.2.1 Temperatura de fusão .....	19
3.2.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IV .....	19
3.2.3 Espectroscopia eletrônica (UV-Vis) .....	19
3.2.4 Difratomia de Raios-X .....	20
3.2.5 Titulação potenciométrica .....	20
3.2.6 Eletroquímica .....	21
3.2.7 Promiscuidade catalítica .....	21
3.3 Síntese do ligante .....	22
3.3.1 Síntese do N <sup>1</sup> ,N <sup>3</sup> -bis(2-piridilmetil)1,3-propanodiamina (BPP) .....	23
3.3.2 Síntese do 2-(2-piridil)-1,3-bis(2-piridilmetil)hexahidropirimidina (TPP) .....	23
3.4 Síntese do complexo [Cu(TPP)Cl <sub>2</sub> ] 1 .....	24
<b>4 Resultados e Discussão</b> .....	<b>26</b>
4.1 Caracterização do complexo .....	26
4.1.1 Espectroscopia vibracional no infravermelho .....	26
4.1.2 Estrutura cristalina .....	27
4.1.3 Eletroquímica .....	29
4.1.4 Espectroscopia eletrônica UV-Vis .....	30
4.1.5 Titulação potenciométrica .....	32
4.1.6 Titulação espectrofotométrica .....	33
4.2 Reatividade .....	35
4.2.1 Hidrólise do 2,4-dinitrofenilfosfato (2,4-BDNPP) .....	35
4.2.1.1 Efeito do pH .....	36
4.2.1.2 Efeito do substrato .....	36
4.2.2 Oxidação do 3,5-di- <i>tert</i> -butilcatecol (3,5-DTBC) .....	38
4.2.2.1 Efeito do pH .....	38
4.2.2.2 Efeito do substrato .....	39
<b>5 Conclusões</b> .....	<b>41</b>
<b>6 Perspectivas</b> .....	<b>42</b>
<b>7 Referências</b> .....	<b>43</b>

## Lista de figuras

Figura 1. As ligações fosfodiéster formam a estrutura básica das moléculas do DNA e RNA. ....	11
Figura 2. Estrutura da enzima endonuclease EcoRV ligada ao DNA. No detalhe a presença do íon metálico assistindo a hidrólise. ....	13
Figura 3. Estrutura do biscloro-1,4,7-triazaciclonano de cobre(II). ....	16
Figura 4. Rota sintética para a obtenção do ligante ....	23
Figura 5. Espectro vibracional no infravermelho do ligante TPP em KBr. ....	24
Figura 6. Espectro vibracional no infravermelho do complexo 1 em KBr. ....	25
Figura 7. Espectros de infravermelho do ligante (A) e do complexo 1 (B) em KBr. O quadro à direita destaca a duplicação do pico atribuído à piridina. ....	26
Figura 8. ORTEP do complexo 1 com elipsóides a 50% de probabilidade. ....	28
Figura 9. Voltamograma do complexo a $2 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> em CH <sub>3</sub> CN a 25 °C. ....	29
Figura 10. Espectro eletrônico do complexo 1 a $4 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> (---) e do ligante TPP a $6 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> em água (- - -). ....	31
Figura 11. Mudança geométrica do complexo em solução ....	31
Figura 12. Distribuição e proposta das espécies em equilíbrio para o complexo 1 em mistura CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O (1:1) a 25 °C. ....	33
Figura 13. Espectros do equilíbrio entre a espécie ácida e neutra do complexo 1. .	34
Figura 14. Espectros do equilíbrio entre a espécie neutra e básica do complexo 1. No detalhe, o deslocamento da banda d-d. ....	35
Figura 15. Dependência do pH para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP pelo complexo 1 a 50 °C. Condições: [complexo] = $3,9 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> , [2,4-BDNPP] = $4,99 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> , solução CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O 1:1. ....	36
Figura 16. Perfil de saturação para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP. ....	37
Figura 17. Dependência do pH para a reação de oxidação do 3,5-DTBC pelo complexo 1 a 25 °C. Condições: [complexo] = $5,0 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> , [3,5-DTBC] = $2,4 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> , solução MeOH/H <sub>2</sub> O 32:1. ....	39
Figura 18. Perfil de saturação para a reação de oxidação do 3,5-DTBC. ....	40

## Lista de tabelas

---

Tabela 1. Tipos de promiscuidade enzimática <sup>15</sup> . .....	14
Tabela 2. Modos vibracionais e comprimentos de onda destacados do ligante e do complexo. ....	27
Tabela 3. Principais distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo 1. ....	28
Tabela 4. Coeficientes de absorvidade molar do ligante TPP e do complexo 1 em água. ....	32
Tabela 5. Parâmetros cinéticos da reação de hidrólise do 2,4-BDNPP catalisada pelo complexo 1. ....	37
Tabela 6. Parâmetros cinéticos da reação de hidrólise do 2,4-BDNPP catalisada pelo complexo 1. ....	40



## Resumo

---

Enzimas que possuem atividade catalítica frente a diferentes substratos através de diferentes mecanismos são chamadas promíscuas. O estudo da promiscuidade catalítica dessas enzimas tem contribuído para o entendimento da evolução molecular nos organismos, na expansão do uso das enzimas em processos sintéticos industriais e no desenvolvimento de drogas multiativas.

A síntese de complexos metálicos modelos que mimetizam o sítio ativo de enzimas contribui significativamente para a elucidação de suas funções e mecanismos. Porém, são raros os exemplos de modelos miméticos que atuam de maneira promíscua.

Este trabalho apresenta a síntese de um complexo mononuclear de cobre(II) e sua caracterização por técnicas espectroscópicas, cristalográficas, eletroquímicas e potenciométricas. As propriedades estruturais e eletrônicas adequadas exibidas pelo complexo motivaram o estudo da sua catálise frente a diferentes reações. O complexo mostrou-se cataliticamente promíscuo, tendo eficiência na catálise da hidrólise do diéster 2,4-dinitrofenilfosfato e na oxidação do 3,5-di-*terc*-butilcatecol.

*Palavras-chave: cobre(II); complexo modelo; promiscuidade catalítica; catecolase; hidrolase.*

# 1 Introdução

---

## 1.1 A era genômica

No ano de 1944, Erwin Schrödinger, famoso por suas contribuições para a mecânica quântica ondulatória, publicou o livro *“What is Life?”*<sup>1</sup>, resultado de conferências realizadas em Dublin no ano anterior. Neste livro o físico discute a seguinte questão fundamental: *“Como podem eventos no espaço e no tempo, que ocorrem dentro dos limites espaciais de um organismo, ser abordados pela física e química?”*. Esta pergunta é respondida preliminarmente por Schrödinger: *“A óbvia incapacidade dos físicos e químicos atuais para lidar com esses assuntos não é, de forma alguma, razão para duvidar que eles podem ser abordados por essas ciências”*. No decorrer do livro o autor busca interpretar a vida utilizando conceitos físicos, químicos e matemáticos. Defende a idéia de que as instruções hereditárias deveriam estar armazenadas no tecido molecular dos cromossomos.

No contexto do final da Segunda Guerra Mundial a comunidade científica encontrava-se aturdida pela explosão das bombas atômicas e refletia sobre o papel das ciências e a utilização do conhecimento para fins de extermínio. Neste cenário, o livro de Schrödinger foi extraordinariamente influente<sup>2</sup>. Entre alguns dos que, provocados por Schrödinger, optaram pela ciência da vida estão Francis Crick (físico), James Watson (biólogo) e Maurice Wilkins (físico desiludido com sua participação no projeto Manhattan). Em abril de 1953 Watson e Crick, baseados nos estudos cristalográficos de Maurice Wilkins e Rosalind Franklin<sup>3-4</sup>, publicaram o modelo da dupla hélice da estrutura do DNA<sup>5</sup>.

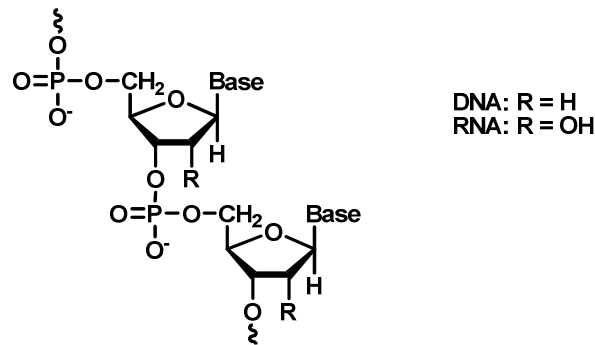
Foi um momento e tanto. Estávamos certos que estávamos certos. Algo assim tão simples, tão sucinto, não podia estar errado. (WATSON, 2003)

A natureza química dos genes havia sido desvendada. O conhecimento da estrutura do DNA levou, entre tantos outros avanços, ao entendimento da biossíntese das proteínas, desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante e

sequenciamento do genoma humano. Iniciava-se a era genômica. Hoje o homem é capaz de sintetizar vida<sup>6</sup> e interferir no processo evolutivo das espécies, assuntos que geram tanta polêmica quanto as bombas atômicas.

## 1.2 O DNA e as nucleases

A ligação química escolhida pela natureza para preservar as informações hereditárias foi a do tipo fosfodiéster, associada a um açúcar e a uma base nitrogenada. A molécula formada por estas ligações carrega toda a informação sobre um organismo: o DNA (Figura 1). A capacidade de formar duas ligações e continuar na forma iônica elegeu o ácido fosfórico como a espécie ideal para formar a fita da hereditariedade. A carga negativa resultante serve tanto para proteger o diéster da hidrólise como para manter a molécula confinada a uma membrana lipídica<sup>7</sup>.



**Figura 1.** As ligações fosfodiéster formam a estrutura básica das moléculas do DNA e RNA.

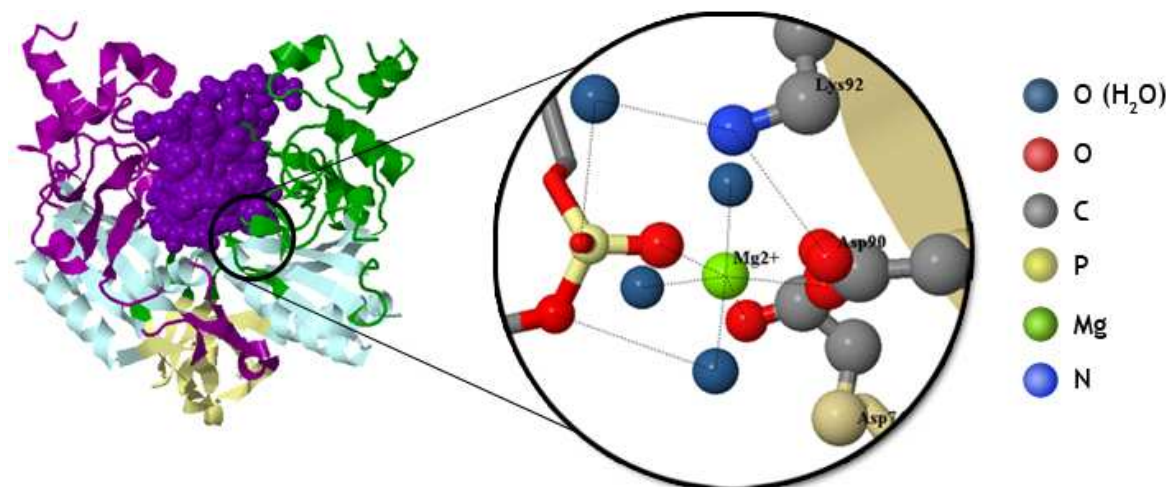
O tempo de meia vida estimado em 130000 anos para a reação de hidrólise do DNA<sup>8</sup> reflete a estabilidade desta ligação. A dificuldade para quebrá-la é importante para garantir que a informação seja preservada de forma segura, porém pode se tornar um problema caso alguma mutação ocorra e precise ser reparada, se um DNA estranho for detectado e precise ser destruído ou para hidrolisar um mRNA a fim de evitar que proteínas sejam sintetizadas desnecessariamente<sup>9</sup>. As hidrolases, especificamente as nucleases, são as ferramentas criadas pela natureza para realizar a manutenção destas ligações, enzimas que aceleram na ordem de  $10^{12}$  vezes a reação de hidrólise em relação à reação não catalisada<sup>10</sup>.

Inicialmente acreditou-se que as nucleases atuassem somente na reciclagem de ácidos nucleicos devido a sua associação com o pâncreas. Entretanto, hoje

sabe-se que elas participam de uma ampla gama de processos bioquímicos, entre eles: replicação, reparo, recombinação e mutagênese do DNA, além de atuarem no mecanismo de defesa contra ácidos nucléicos estrangeiros e sistema imunológico de mamíferos<sup>11</sup>.

O estudo das nucleases ao longo da história mostra-se interessante do ponto de vista conceitual e técnico. A ribonuclease pancreática foi a primeira proteína a ter sua sequência de aminoácidos determinada e levou à confirmação de que as estruturas terciária e secundária das proteínas são determinadas pela sua estrutura primária. As nucleases têm sido estudadas extensivamente na busca por respostas a respeito do mecanismo catalítico de enzimas. As ribonucleases foram usadas no seqüenciamento do primeiro tRNA o que levou ao entendimento de seu papel no mecanismo genético. Acima de tudo, a descoberta das endonucleases de restrição resultou no desenvolvimento da tecnologia de DNA recombinante, metodologias de seqüenciamento e novos métodos de mapeamento genético<sup>11</sup>.

Com o desenvolvimento da cristalografia de biomoléculas tornou-se possível a resolução da estrutura de diversas nucleases. Aliado ao estudo de seus mecanismos, notou-se que a grande maioria delas utiliza cátions metálicos (Mg, Ca, Fe, Mn, Zn) para assistir a hidrólise da ligação fosfodiéster<sup>12</sup>. Estas são chamadas de metalonucleases e apresentam uma grande variedade de estruturas, contendo centros mono ou multimetálicos. A função dos metais é de principalmente neutralizar o esqueleto carregado do DNA, ativar nucleófilos e estabilizar o estado de transição<sup>13</sup>. A Figura 2 mostra a enzima endonuclease EcoRV ligada à dupla fita do DNA. Amplamente utilizada em biologia molecular, esta enzima cliva a dupla fita de forma simultânea utilizando íons de  $Mg^{2+}$  para neutralizar os oxigênios ligados do grupo fosfato e ativar moléculas de água. O número de íons envolvidos e qual molécula de água realiza o ataque ainda é incerto<sup>10</sup>.



**Figura 2.** Estrutura da enzima endonuclease EcoRV ligada ao DNA. No detalhe a presença do íon metálico assistindo a hidrólise.

### 1.3 Promiscuidade enzimática

A grande maioria das reações envolvendo a construção ou reciclagem de biomoléculas nos organismos são assistidas por enzimas. As enzimas são proteínas, conjunto de proteínas ou moléculas de RNA. Elas atuam diminuindo a energia do estado de transição e, conseqüentemente, diminuem a energia de ativação das reações, acelerando-as<sup>10</sup>.

Tradicionalmente, cursos introdutórios de bioquímica, assim como livros texto, referem-se às enzimas como catalisadores extremamente específicos, com apenas algumas exceções<sup>10, 14-15</sup>. Entretanto, estudos recentes têm revelado que a versatilidade catalítica não é a exceção, mas sim a regra entre as enzimas, moléculas muito mais flexíveis do que se imaginava<sup>16</sup>. O fenômeno de uma enzima catalisar reações não esperadas é definido como **promiscuidade enzimática**<sup>15</sup>. A promiscuidade ocorre de diferentes formas e pode ser classificada de acordo com o seu tipo, listados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Tipos de promiscuidade enzimática<sup>15</sup>.

<b>Tipo</b>	<b>Descrição</b>	<b>Exemplo</b>
Condição	Enzimas com atividade catalítica em várias condições reacionais diferentes do seu natural, como: ambiente anidro e condições extremas de temperatura e pH.	Maltase: reação reversa <sup>17</sup> .
Substrato	Enzimas com especificidade relaxada ou ampla.	Lipase: resolução quiral de ácidos <sup>18</sup> .
Catalítica	Enzimas que catalisam diferentes transformações químicas com diferentes estados de transição. A promiscuidade catalítica pode ser:	
	(i) Acidental: reação lateral catalisada pela enzima natural.	Aminopectidase hidrolisando fosfodiesteres <sup>19</sup> .
	(ii) Induzida: catálise frente reação distinta graças a uma ou mais mutações na enzima natural.	Aminopectidase oxidando catecóis <sup>20</sup> .

O estudo da promiscuidade enzimática tem-se revelado muito importante para o esclarecimento do processo de evolução molecular divergente das enzimas<sup>15</sup>. A atividade secundária pode ser a base para uma nova função em potencial, o que significa uma vantagem seletiva e evita a necessidade de criar-se uma enzima do zero<sup>16</sup>. Há também aspectos práticos, pois a promiscuidade enzimática pode ser explorada para obtenção de novos catalisadores com aplicação na biocatálise<sup>21</sup> e desenvolvimento de drogas mais eficientes<sup>22</sup>.

## 1.4 Química inorgânica biomimética

A aplicação de metais para tratar moléstias humanas data de pelo menos 500 anos a.C. Elementos inorgânicos, especialmente os metais, são responsáveis por importantes funções biológicas, incluindo sinalização celular, metabolismo, produção de energia e sistema imunológico<sup>23</sup>. A utilização de sondas estruturais e funcionais inorgânicas e a expansão da utilização dos metais na medicina representam outra importante interface entre a química inorgânica e a biologia. De fato, a química bioinorgânica caracteriza-se por sua ampla multidisciplinaridade<sup>24</sup>.

A inerente complexidade das enzimas representa uma enorme dificuldade aos estudos detalhados de seus mecanismos. Químicos bioinorgânicos têm se inspirado nos sítios ativos das metaloenzimas e planejam análogos sintéticos que mimetizam suas estruturas, propriedades físicas e funções nos sistemas naturais<sup>23</sup>. Entre os objetivos da catálise bioinspirada estão: entender, imitar e melhorar as enzimas, catalisadores criados pela natureza ao longo de milhões de anos de evolução<sup>25</sup>.

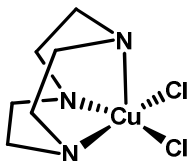
Na tentativa de elucidação dos mecanismos envolvidos no processo de hidrólise das ligações fosfodiéster, inúmeros grupos ao redor do mundo desenvolvem pesquisas relacionadas à síntese de composto capazes de clivar as ligações do DNA e RNA. Além do entendimento do mecanismo, estas nucleases sintéticas podem ser usadas como sondas conformacionais da estrutura do DNA, antibióticos e drogas quimioterapêuticas<sup>26</sup>. Buscam-se moléculas capazes de clivar o DNA de maneira mais específica do que as enzimas naturais, as quais apresentam seletividade de 4, 6 ou 8 bases. Uma atividade hidrolítica pronunciada aliada à alta especificidade resulta em novas ferramentas de interesse biotecnológico e em agentes quimioterapêuticos capazes de atuar no bloqueio da expressão gênica, a nível de DNA<sup>26</sup>.

Dentre os primeiros compostos capazes de clivar o DNA estão o [Cu(1,10-fenantrolina)] e [Fe(EDTA)]. Estes complexos degradam o DNA via mecanismos oxidativos através da formação de espécies radicais hidroxil, as quais possuem alta reatividade porém nenhuma especificidade<sup>27</sup>. Apesar de úteis para determinadas aplicações (DNA *footprinting* por exemplo), mecanismos de clivagem oxidativa não

geram fragmentos do tipo 5'-fosfato e 3'-hidroxil produzidos por metalonucleases naturais<sup>12</sup>.

Devido à pronunciada acidez de Lewis e ausência de química redox, metais lantanídeos têm atraído atenção para o desenvolvimento de complexos que clivem o DNA de forma hidrolítica<sup>28</sup>. Porém, a baixa solubilidade e tendência a formar hidróxidos sob condições fisiológicas restringem sua utilização<sup>29</sup>. Este problema é evitado quando são utilizados metais biodisponíveis (Fe, Co, Ni, Cu, Zn) e ligantes bioinspirados que imitam os principais resíduos de aminoácidos coordenantes (histidina, tirosina, glutamato, aspartato, metionina e cisteína).

Destaca-se a atividade de complexos de cobre com ligantes N doadores. A riqueza espectroscópica e eletroquímica deste metal aliado a ligantes adequados permite a investigação detalhada do mecanismo de hidrólise. Dentre os sistemas mais estudados estão o complexo biscloro-1,4,7-triazaciclonano de cobre(II) (Figura 3)<sup>9</sup> e seus derivados, capazes de clivar o DNA plasmidial e causar apoptose em células BEL-7402 (carcinoma hepatocelular humano)<sup>29</sup>.



**Figura 3.** Estrutura do biscloro-1,4,7-triazaciclonano de cobre(II).

Com base nas informações obtidas das hidrolases naturais e de complexos modelos, uma metalonuclease sintética deve (1) possuir duas posições lábeis *cis* orientadas a fim de permitir a coordenação do substrato e uma molécula de água; (2) reduzir o  $pK_a$  da água coordenada favorecendo a formação de um hidróxido coordenado ao metal; (3) ativar o substrato frente ao ataque nucleofílico; (4) estabilizar o estado de transição e (5) liberar os produtos rapidamente<sup>9</sup>.

Apesar de existirem inúmeros exemplos de modelos que mimetizam com sucesso as propriedades das mais variadas enzimas, são raros os exemplos de estudos que explorem a versatilidade química e possível promiscuidade destes complexos. Recentemente, Neves e colaboradores têm se atentado para o fato de que também os complexos modelos são capazes de atuar frente a diferentes substratos, catalisando diferentes reações. Descobriu-se que um complexo mononuclear de cobre(II), inicialmente projetado como modelo estrutural e funcional da galactose oxidase, catalisa a hidrólise de proteínas e da dupla fita de DNA<sup>30</sup>,



mesmo tipo de promiscuidade apresentado pela enzima aminopeptidase P<sup>19</sup>. Outro complexo binuclear de cobre(II) com ponte hidróxio apresentou atividade como catecolase e nuclease, catalisando a reação de oxidação de catecóis e hidrólise do DNA<sup>31</sup>.

Neste trabalho é apresentado um novo complexo mononuclear de cobre(II) com um ligante N-doador e a investigação da sua atividade frente às reações de hidrólise de fosfatos e oxidação de catecóis, na busca de maiores informações sobre o fenômeno de promiscuidade.

## 2 Objetivos

---

- Sintetizar o ligante 2-(2-piridil)-1,3-bis(2-piridilmetil)hexahidropirimidina (TPP) e caracterizá-lo por técnicas espectroscópicas e ponto de fusão;
- Sintetizar o complexo de cobre(II) com o ligante TPP e caracterizá-lo por técnicas cristalográficas, espectroscópicas, eletroquímicas e potenciométricas;
- Avaliar a atividade do complexo frente à hidrólise do substrato modelo 2,4-bisdinitrofenilfosfato (2,4-BDNPP);
- Avaliar a atividade do complexo frente à oxidação do substrato modelo 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-DTBC).

## **3 Experimental**

---

### **3.1 Materiais**

Os seguintes reagentes e solventes utilizados foram obtidos de fontes comerciais e empregados sem purificação prévia: acetona, acetonitrila, acetonitrila grau UV/HPLC, ácido clorídrico, argônio, bicarbonato de sódio, cloreto de cobre hidratado, cloreto de potássio, clorofórmio, diclorometano, etanol, hidróxido de sódio, sulfato de sódio anidro. A 1,3-propanodiamina e o 2-piridilcarboxialdeído foram destilados a pressão reduzida.

### **3.2 Métodos e instrumentação**

#### **3.2.1 Temperatura de fusão**

Os pontos (ou, eventualmente, faixas) de fusão dos precursores e ligante final isolados foram medidos utilizando-se um aparelho BÜCHI, modelo Melting Point B-540.

#### **3.2.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho – IV**

Os espectros vibracionais na região do infravermelho ( $4000$  à  $400\text{ cm}^{-1}$ ) foram coletados em um espectrofotômetro Varian 3100 FT-IR Excalibur Series. A transmitância (%T) das amostras diluídas em pastilhas de KBr foi registrada no Laboratório de Cinética e Fenômenos Interfaciais – Departamento de Química - UFSC.

#### **3.2.3 Espectroscopia eletrônica (UV-Vis)**

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta, visível e infravermelho próximo foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer Lambda-19. Os

experimentos em solução foram realizados utilizando-se solventes de grau espectroscópico apropriado para cada amostra em cubetas de quartzo de caminho óptico de 1 cm.

### 3.2.4 Difratometria de Raios-X

As análises cristalográficas foram realizadas na Central de Análises do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina. Os dados foram coletados em um difratômetro automático ENRAF-NONIUS CAD-4 para monocristais equipado com um tubo de molibdênio ( $\text{MoK}\alpha$   $\lambda = 0,71069 \text{ \AA}$ ) e monocromador de grafite a temperatura ambiente. A estrutura cristalina foi resolvida através de métodos diretos com a utilização do programa SHELXS97 e os dados foram refinados pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa, com a utilização do programa SHELXL97<sup>32</sup>. As representações gráficas das estruturas moleculares foram geradas utilizando o programa PLATON<sup>33</sup>.

### 3.2.5 Titulação potenciométrica

As constantes de protonação do complexo foram determinadas através de titulação potenciométrica em solução acetonitrila:água (1:1), mesmas condições dos estudos cinéticos. Utilizou-se um pHmetro Micronal B375, com os eletrodos “blue glass” e de referência (calomelano) calibrados com padrões ácido ( $\text{HCl } 0,100 \text{ mol L}^{-1}$ ) e base ( $\text{NaOH } 0,100 \text{ mol L}^{-1}$ ) em uma célula termostaticada a  $25,00 \pm 0,005 \text{ }^\circ\text{C}$ , para ler o pH diretamente ( $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$ ). A água utilizada no preparo das soluções foi bidestilada na presença de  $\text{KMnO}_4$  e a força iônica mantida em  $0,100 \text{ mol L}^{-1}$  pela adição de  $\text{KCl}$ . Soluções de  $4,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de complexo foram tituladas pela adição de volumes fixos de uma solução padrão de  $\text{KOH } 0,100 \text{ mol L}^{-1}$  sob fluxo de argônio. Os cálculos foram realizados com o programa BEST7 e os diagramas de distribuição de espécies gerados com o programa Species.

### 3.2.6 Eletroquímica

O comportamento redox do complexo foi investigado por voltametria cíclica em um potenciostato-galvanostato BAS (Bioanalytical Systems, Inc.) modelo Epsilon, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química da UFSC. O experimento foi realizado em solução de acetonitrila sob atmosfera de argônio. Neste experimento, utilizou-se hexafluorofosfato de tetrabutilamônio ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) como eletrólito suporte e uma célula eletrolítica com três eletrodos: eletrodo de trabalho - carbono; eletrodo auxiliar - platina; eletrodo de referência -  $\text{Ag}/\text{Ag}^+$ . Para correção do eletrodo de referência utilizou-se o par redox ferrocínio/ferroceno como padrão interno<sup>34</sup>.

### 3.2.7 Promiscuidade catalítica

A capacidade de o complexo catalisar as reações de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP e oxidação do 3,5-DTBC foi investigada espectrofotometricamente em um UV-Vis Varian Cary 50 BIO. Tanto o produto da hidrólise, o 2,4-dinitrofenolato, e o da oxidação, a 3,5-di-*terc*-butilquinona, apresentam uma banda de absorção em 400 nm com absortividades molares de  $12100 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ <sup>35</sup> e  $1900 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ <sup>36</sup>, respectivamente.

#### 3.2.7.1 Hidrólise

Devido à conhecida baixa atividade dos complexos mononucleares de cobre(II) na reação de hidrólise, as cinéticas foram realizadas em banho termostaticado a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ . Através do método das velocidades iniciais pelo gráfico da concentração em função do tempo determinou-se os parâmetros cinéticos.

A influência do pH na faixa de 4 a 11 sobre a reação de hidrólise do fosfato foi estudada em condições de excesso de substrato. Em cubetas de vidro com capacidade para 4 mL e caminho óptico de 1 cm, seladas com tampa de teflon, foram adicionados 1500  $\mu\text{L}$  de solução aquosa de tampão ( $[\text{T}] = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ LiClO}_4$ , TRIS pH 4 a 5, MES pH 6 a 9 e CAPS pH 10 a 11), 500  $\mu\text{L}$  de acetonitrila grau HPLC e 200  $\mu\text{L}$  de solução do complexo ( $[\text{C}]_{\text{final}} = 3,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em acetonitrila. A temperatura foi estabilizada a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  e a reação iniciada pela

adição de 800 µL de solução do substrato em acetonitrila ( $[S]_{\text{final}} = 4,99 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) e monitorada durante 5 minutos. Paralelamente, realizou-se a reação controle sem a presença do complexo com 700 µL de acetonitrila.

Os estudos em condições de excesso de substrato foram realizados em pH 10,0, correspondente à espécie que apresentou maior atividade, a fim de determinar sua eficiência catalítica. À cubeta foram adicionados 1500 µL do tampão CAPS ( $[T] = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ LiClO}_4$ ), 200 µL de solução do complexo ( $[C]_{\text{final}} = 2,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) além de quantidade suficiente de acetonitrila para completar 3 mL. Quando equilibrados a 50 °C a reação foi iniciada pela adição variada de volumes da solução de substrato ( $[S]_{\text{final}} = 6,74 \times 10^{-4}$  a  $6,79 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ). Os mesmos experimentos sem a presença do complexo foram realizados paralelamente e a hidrólise não catalisada descontada da constante total da reação.

### 3.2.7.2 Oxidação

As cinéticas de oxidação foram realizadas em condições de excesso de metanol devido à solubilidade do substrato. A dependência do pH foi investigada na faixa de 5 a 10 utilizando-se soluções aquosas dos tampões MES e TRIS  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  sem força iônica e soluções metanólicas saturadas com oxigênio do complexo e substrato. Os volumes das soluções foram adicionados em cada cubeta foram de forma a obter  $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de complexo,  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de 3,5-DTBC (167 vezes de excesso) e uma proporção de 32:1 de metanol/água. Os parâmetros cinéticos da reação foram obtidos pelo estudo do excesso de substrato, realizado em pH 9.

## 3.3 Síntese do ligante

A rota utilizada para a síntese do ligante foi adaptada do método proposto por Hureau e colaboradores<sup>37</sup> e está resumida na Figura 4.

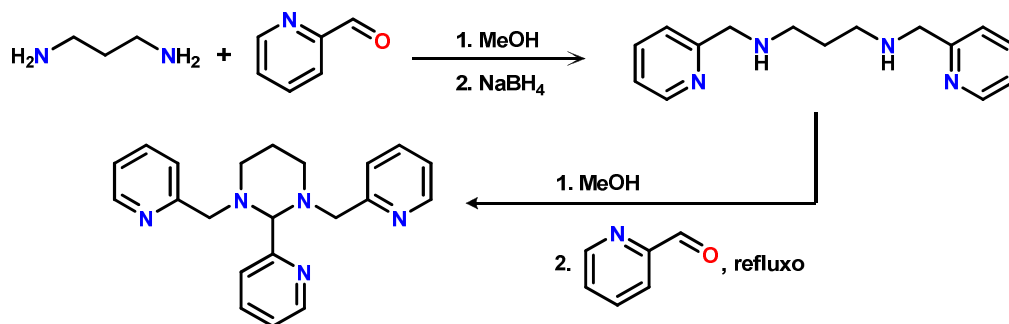
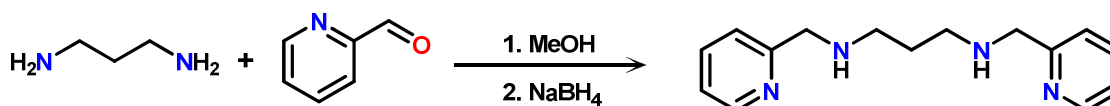


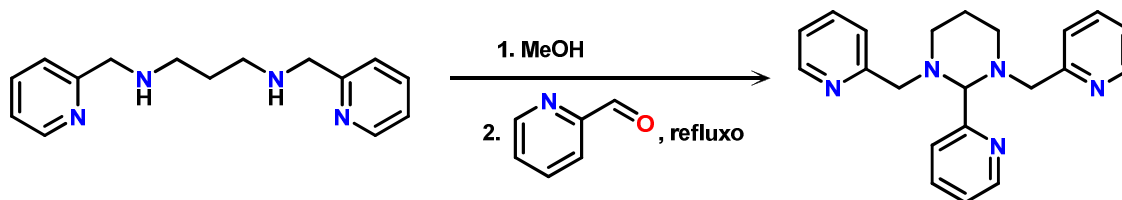
Figura 4. Rota sintética para a obtenção do ligante

### 3.3.1 Síntese do N<sup>1</sup>,N<sup>3</sup>-bis(2-piridilmetil)1,3-propanodiamina (BPP)



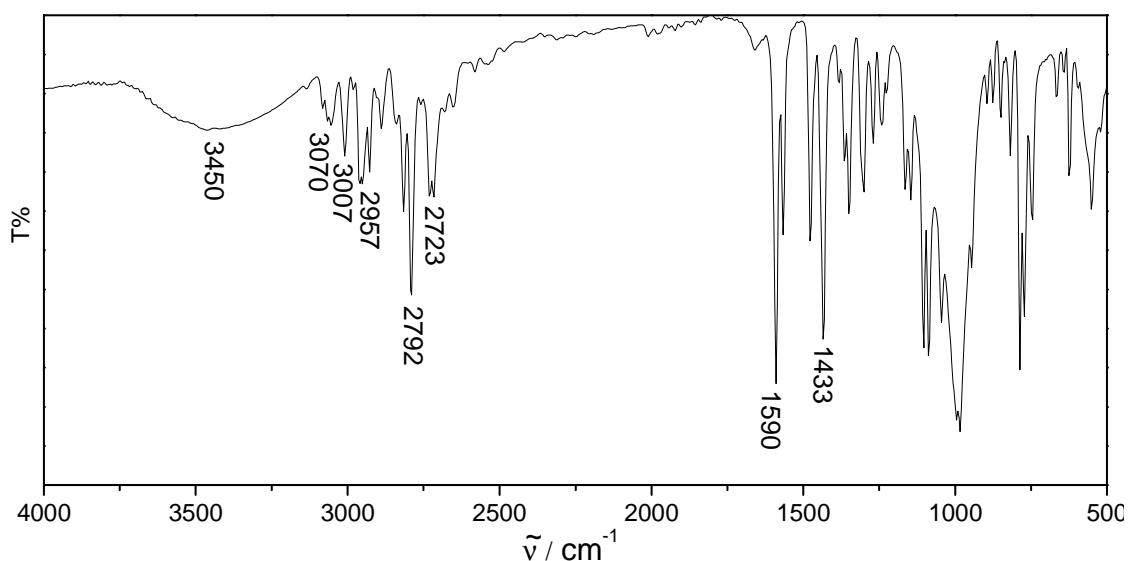
Em 30 mL de metanol foram solubilizados 9,50 mL de 2-piridilcarboxialdeído (100 mmol) e com o auxílio de um funil de adição 4,20 mL de 1,3-propanodiamina (50 mmol) dissolvidos em 10 mL de metanol foram gotejados lentamente à solução. A mistura reacional permaneceu sob agitação por 1,5 h e o acompanhamento por cromatografia de camada delgada (CCD) mostrou o desaparecimento dos reagentes de partida e o aparecimento de uma mancha atribuído à formação da imina. A solução foi resfriada com banho de gelo seguida da adição de 1,89 g de NaBH<sub>4</sub> (50 mmol). Depois de mais uma hora sob agitação, o metanol foi rotaevaporado e o óleo obtido solubilizado em 90 mL de solução NH<sub>4</sub>Cl 10%. O produto foi extraído com CHCl<sub>3</sub> (3 x 50 mL) e as fases combinadas foram secas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Após remoção do solvente, o produto **BPP** foi obtido com 76% de rendimento.

### 3.3.2 Síntese do 2-(2-piridil)-1,3-bis(2-piridilmetil)hexahidropirimidina (TPP)



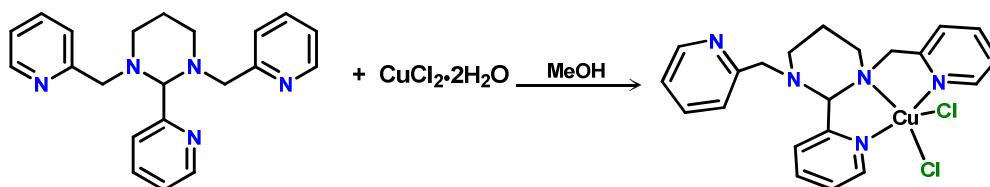
Sobre uma solução de 18,4 g de **BPP** (72 mmol) em 100 mL de metanol foram adicionados 6,82 mL de 2-piridilcarboxialdeído (72 mmol). A mistura foi mantida em refluxo por 3 horas. A solução escura resultante foi rotaevaporada e um óleo viscoso foi obtido. O óleo foi solubilizado em éter e permaneceu em repouso. A lenta evaporação do éter deu origem a bonitos cristais prismáticos, que foram filtrados e lavados com acetona gelada. O produto foi obtido com 71% de rendimento e caracterizado por IV (Figura 5) e ponto de fusão = 128,4 – 129,5 °C.

**IV** (KBr) em  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu(\text{H}_2\text{O})$  3450;  $\nu(\text{C-H}_{\text{Ar}})$  3070-3007;  $\nu(\text{C-H}_{\text{Alif}})$  2957-2723;  $\nu(\text{C=C})$  1590 e  $\nu(\text{C=N})$  1433.



**Figura 5.** Espectro vibracional no infravermelho do ligante TPP em KBr.

### 3.4 Síntese do complexo $[\text{Cu}(\text{TPP})\text{Cl}_2]$ **1**

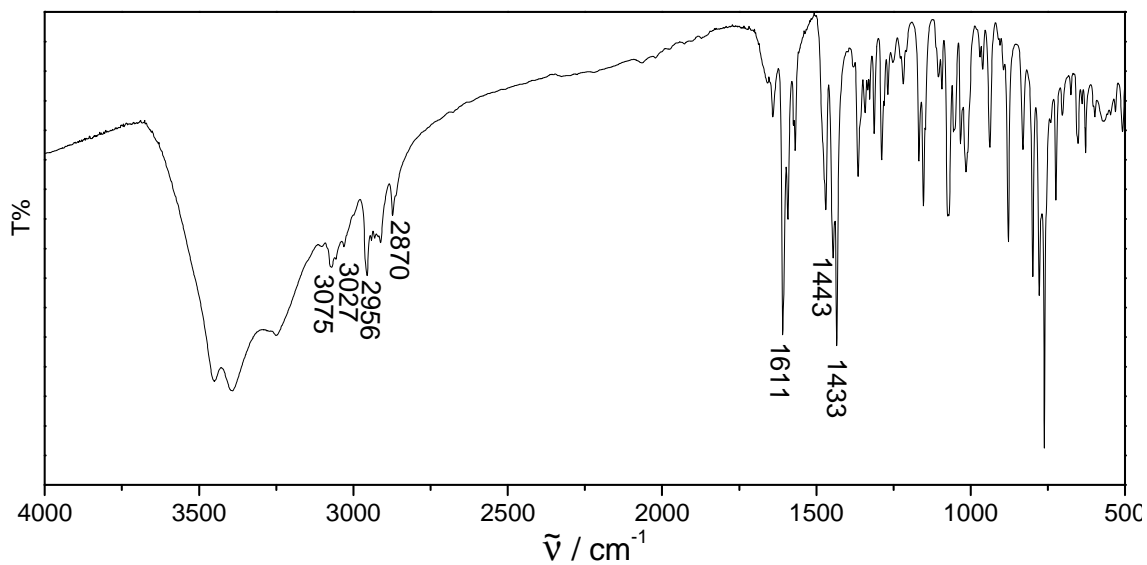


À uma suspensão de 0,276 g (0,8 mmol) do ligante **TPP** em metanol adicionou-se 0,170 g (1,0 mmol) de cloreto de cobre(II) solubilizado no mesmo solvente, totalizando 30 mL. Depois de uma hora de agitação, a solução foi filtrada e



permaneceu em repouso. Duas semanas depois observou-se a formação de reluzentes cristais verdes adequados à resolução estrutural via difratometria de raios-X. O complexo foi caracterizado por espectroscopia no infravermelho (Figura 6).

**IV** (KBr) em  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu(\text{C-H}_{\text{Ar}})$  3075-3027;  $\nu(\text{C-H}_{\text{Alif}})$  2956-2870;  $\nu(\text{C}=\text{C})$  1611 e  $\nu(\text{C}=\text{N})$  1443 e 1433.



**Figura 6.** Espectro vibracional no infravermelho do complexo 1 em KBr.

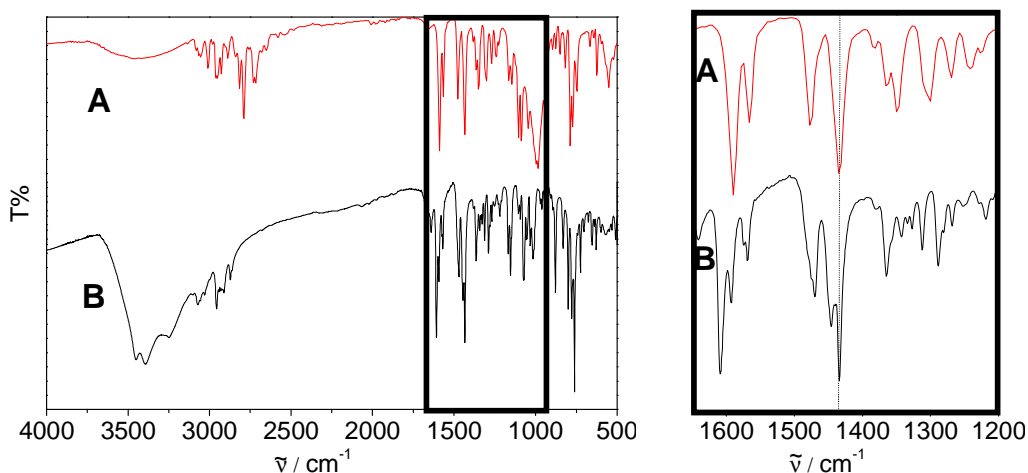
## 4 Resultados e Discussão

### 4.1 Caracterização do complexo

#### 4.1.1 Espectroscopia vibracional no infravermelho

A técnica de espectroscopia no infravermelho foi utilizada, pois alia rapidez e baixo custo fornecendo informações valiosas sobre a interação entre o ligante e o íon metálico. O ligante **TPP** contém átomos de nitrogênio piridínicos e amínicos com pares de elétrons disponíveis para interação com o metal, e esta interação afeta as frequências de absorção vibracionais do ligante. Portanto, a fim de garantir que os cristais formados a partir da síntese são realmente do complexo formado entre o ligante **TPP** e o cobre, foram comparados os espectros do ligante e do complexo.

O espectro de infravermelho dos cristais obtidos na síntese do complexo **1** mostra as principais bandas do ligante ligeiramente deslocadas, evidência da complexação com o metal. A partir da sobreposição dos espectros do ligante e do complexo (Figura 7) observa-se que a banda referente ao estiramento C=N das piridinas encontra-se duplicado. A banda em  $1433\text{ cm}^{-1}$  presente em ambos os espectros indica a presença de piridina não coordenada no complexo enquanto que a banda de  $1443\text{ cm}^{-1}$  é atribuída à presença de piridina coordenada ao cobre. Os estiramentos do ligante e do complexo estão resumidos na Tabela 2.



**Figura 7.** Espectros de infravermelho do ligante (A) e do complexo **1** (B) em KBr. O quadro à direita destaca a duplicação do pico atribuído à piridina.

**Tabela 2.** Modos vibracionais e comprimentos de onda destacados do ligante e do complexo.

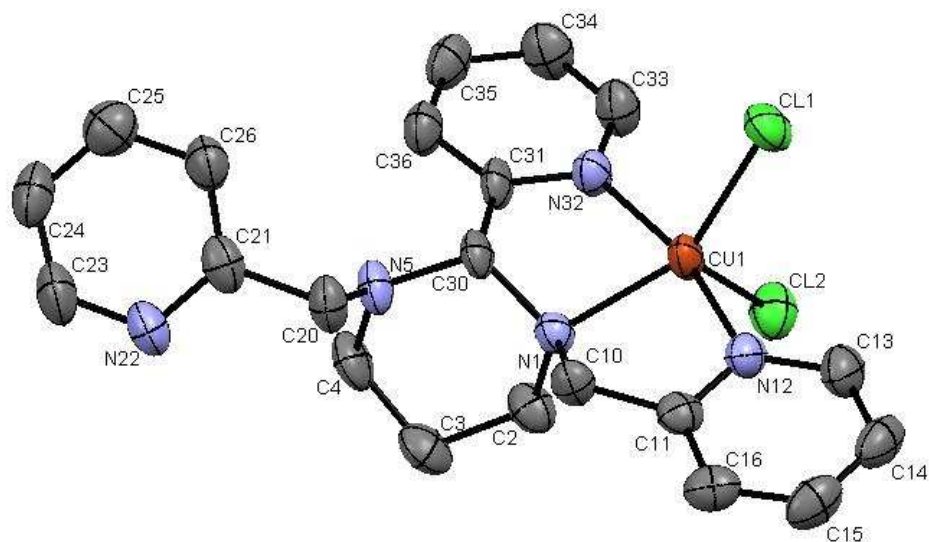
Atribuições	$\nu(\text{C-H}_{Ar}) / \text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-H}_{Alif}) / \text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=C}) / \text{cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=N}) / \text{cm}^{-1}$
TPP	3070-3007	2957-2723	1590	1433
Complexo	3075-3027	2956-2870	1611	1443 e 1433

#### 4.1.2 Estrutura cristalina

A partir dos monocristais obtidos a estrutura do complexo **1** foi determinada pela técnica de difratometria de raios X. Esta técnica permite que sejam determinadas as posições relativas de cada átomo e, portanto, a estrutura da molécula que compõe o cristal.

O complexo cristalizou no sistema monoclinico e grupo espacial  $P2_1/n$  de forma mononuclear, com quatro moléculas de água de cristalização. O centro de cobre(II) encontra-se em um ambiente de coordenação  $\text{N}_3\text{Cl}_2$  como mostra a Figura 8. As distâncias e ângulos de ligação (Tabela 3) em torno do centro metálico indicam que os átomos de nitrogênio N1, N12 e N32 ocupam posições em um mesmo plano.

A geometria de coordenação do complexo **1** pode ser analisada através do cálculo do parâmetro  $\tau$ . Este parâmetro, definido por Addison e colaboradores<sup>38</sup> como  $\tau = (\beta - \alpha)/60$  onde  $\beta$  e  $\alpha$  são os dois maiores ângulos, indica se a geometria é de pirâmide quadrada ( $\tau = 0$ ) ou bipirâmide trigonal ( $\tau = 1$ ). O complexo apresenta um valor de  $\tau = 0,53$ , reflexo do alto grau de distorção geométrica ao redor do centro metálico.



**Figura 8.** ORTEP do complexo **1** com elipsóides a 50% de probabilidade.

A estrutura revelou a presença de uma piridina não coordenada, confirmado a suspeita observada no infravermelho. A presença dos dois átomos de cloro coordenados de maneira *cis* é uma característica importante para que o complexo tenha atividade na hidrólise de diésteres de fosfato<sup>9</sup> (Seção 4.2.1).

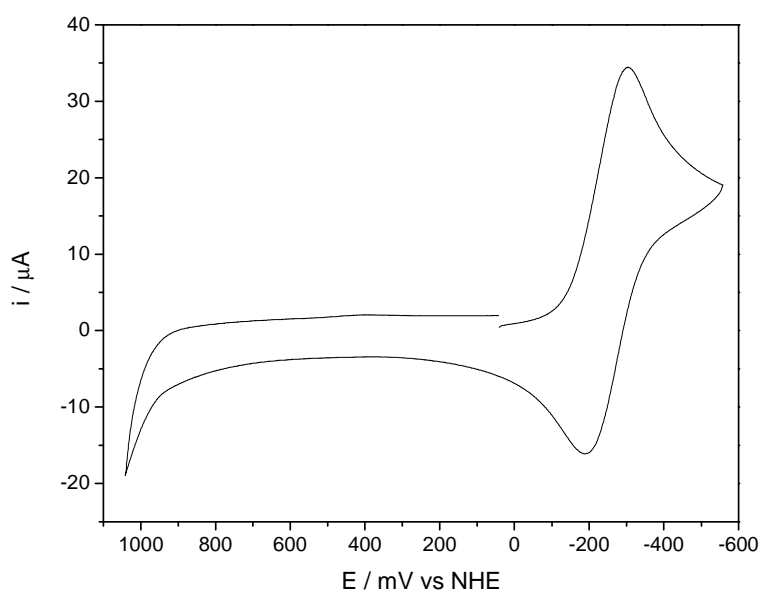
**Tabela 3.** Principais distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo **1**.

Cu1-N12	1.962(5)	Cu1-Cl1	2.3063(19)
Cu1-N32	1.974(5)	Cu1-Cl2	2.420(2)
Cu1-N1	2.085(5)		
N12-Cu1-N32	164.6(2)	N1-Cu1-Cl1	132.80(16)
N12-Cu1-N1	83.6(2)	N12-Cu1-Cl2	95.85(17)
N32-Cu1-N1	81.4(2)	N32-Cu1-Cl2	93.57(17)
N12-Cu1-Cl1	92.19(17)	N1-Cu1-Cl2	116.14(16)
N32-Cu1-Cl1	95.74(17)	Cl1-Cu1-Cl2	111.06(8)

### 4.1.3 Eletroquímica

A fim de estudar o comportamento redox do complexo **1**, este foi submetido à análise eletroquímica de voltametria cíclica. Nesta técnica é feita uma varredura de potencial em relação à solução do composto em estudo e diversas informações são obtidas. Entre elas, o potencial de cada transferência de elétrons da amostra, assim como o a reversibilidade da reação eletroquímica.

O voltamograma obtido (Figura 9) é bastante claro e mostra apenas um processo *quasi-reversível* com  $E_{1/2} = -247$  mV atribuído ao par  $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ .



**Figura 9.** Voltamograma do complexo a  $2 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  em  $\text{CH}_3\text{CN}$  a  $25^\circ\text{C}$ .

Complexos de cobre(II) geralmente apresentam perfil eletroquímico irreversível para o par  $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$  pois, ao ser reduzido, o cobre torna-se um sistema  $d^{10}$  e exige uma adaptação na geometria da esfera de coordenação para um tetraedro. Esta mudança geométrica faz com que ligantes rígidos tenham sua afinidade pelo metal diminuída, e a formação de outras espécies, por exemplo a redução a cobre(0) na superfície do eletrodo, acarretam na irreversibilidade do processo.

O resultado obtido indica que nas condições do experimento o complexo **1** mantém-se coordenado ao ligante após sua redução, e esta espécie cobre(I) ao ser oxidada restitui o complexo original. Esta capacidade do complexo ser restituído é

importante quando se busca um catalisador, e é um fator importante na atividade do complexo na reação de oxidação de catecóis (Seção 4.2.1).

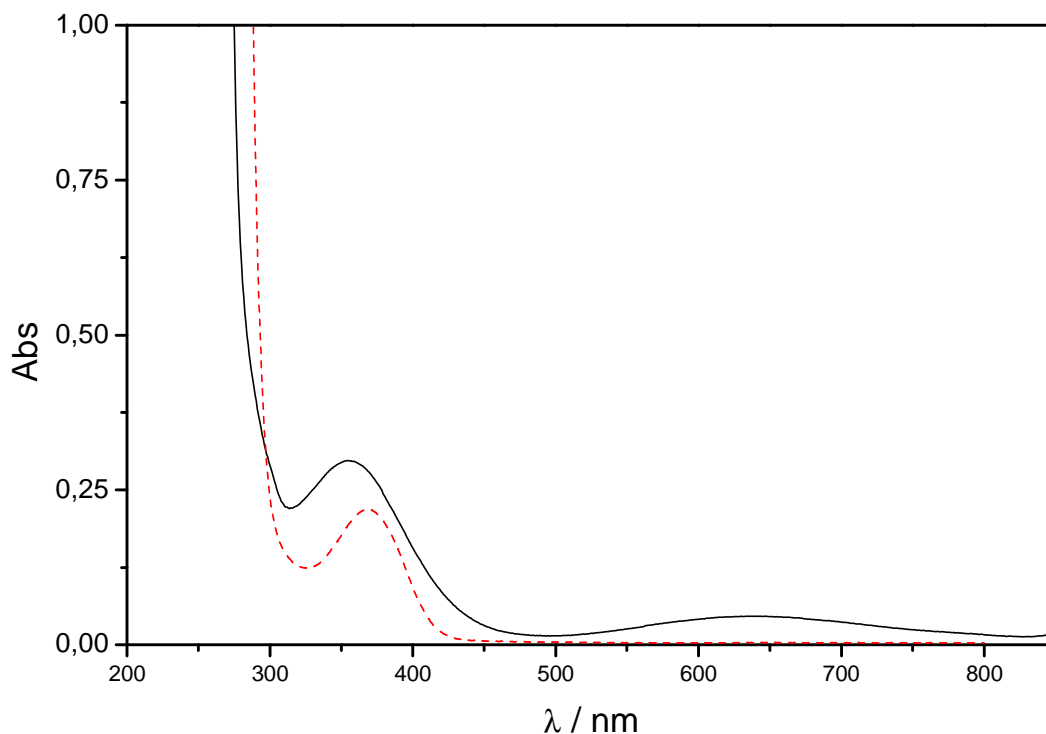
#### 4.1.4 Espectroscopia eletrônica UV-Vis

Apesar de conhecermos a estrutura que compõe o complexo na sua forma cristalina, e esta informação ser muito útil, ela não é suficiente quando os estudos de catálise são realizados em solução. Diversas interações entre o solvente e complexo provocam alterações em sua estrutura. Com o intuito de investigar como o complexo se comporta em solução foi utilizada a técnica de espectroscopia eletrônica UV-Vis. Através dela é possível relacionar propriedades eletrônicas com características estruturais.

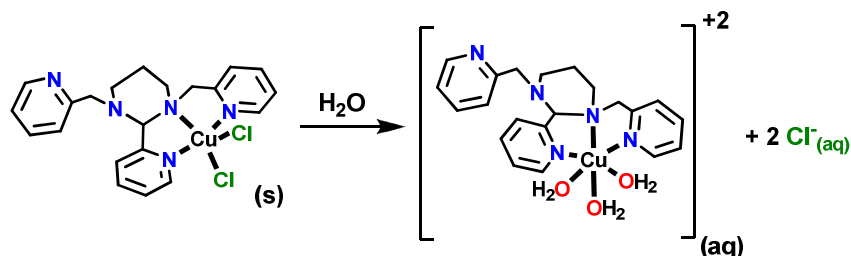
Complexos de cobre(II) são sistemas com 9 elétrons *d* que dependendo da natureza do ligante e sua estrutura em solução, irão estar distribuídos em diferentes níveis energéticos. A diferença de energia entre estes níveis dão origem às bandas de absorção do complexo, geralmente na faixa do visível.

Quando pentacoordenados, os complexos de cobre(II) apresentam em seu espectro eletrônico uma banda de absorção mais intensa em mais alta energia e uma menos intensa em menor energia se estiverem em uma geometria piramidal de base quadrada, enquanto que uma banda de absorção menos intensa em mais alta energia e uma mais intensa em menor energia indicam uma geometria de bipirâmide trigonal<sup>39</sup>. Quando da hexacoordenação, as ligações ao redor do cobre sofrem intensa distorção devido ao efeito Jahn Teller e as transições se desdobram em três bandas geralmente sobrepostas que dão origem à uma absorção alargada na região de 600-700 nm<sup>39</sup>.

O espectro eletrônico do complexo **1** (Figura 10) apresenta três bandas de absorção na faixa do visível e ultra-violeta próximo (800 a 200 nm). A absorção de mais baixa energia com máximo em 644 nm é atribuída à transição d-d do cobre e devido ao seu perfil alargado, acredita-se que em solução o complexo tenha as posições ocupadas pelos dois átomos de cloro substituídas por três moléculas de água, adquirindo a geometria octaédrica (Figura 11).



**Figura 10.** Espectro eletrônico do complexo **1** a  $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  (—) e do ligante **TPP** a  $6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em água (- - -).



**Figura 11.** Mudança geométrica do complexo em solução

O coeficiente de absorvidade molar de  $122 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$  é coerente com as transições do tipo d-d, porém a segunda transição com máximo em 360 nm apresenta um  $\epsilon$  de  $970 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$ , esperado para transições do tipo transferência de carga<sup>40</sup>. Entretanto, na estrutura proposta não há elétrons disponíveis para este tipo de transição.

O estudo do espectro eletrônico do ligante **TPP** revelou que este possui duas bandas de absorção com máximos em 260 nm e 367 nm. Os valores dos

coeficientes de absorvidade molar das transições do ligante e do complexo estão listados na Tabela 4.

A comparação destes valores nos leva a concluir que a banda de absorção em 360 nm observada no espectro do complexo é referente a uma transição eletrônica  $\pi$ - $\pi^*$  do ligante que, quando coordenado, torna-se mais permitida. O mesmo é observado para a transição em 260 nm, porém em menor grau.

**Tabela 4.** Coeficientes de absorvidade molar do ligante **TPP** e do complexo **1** em água.

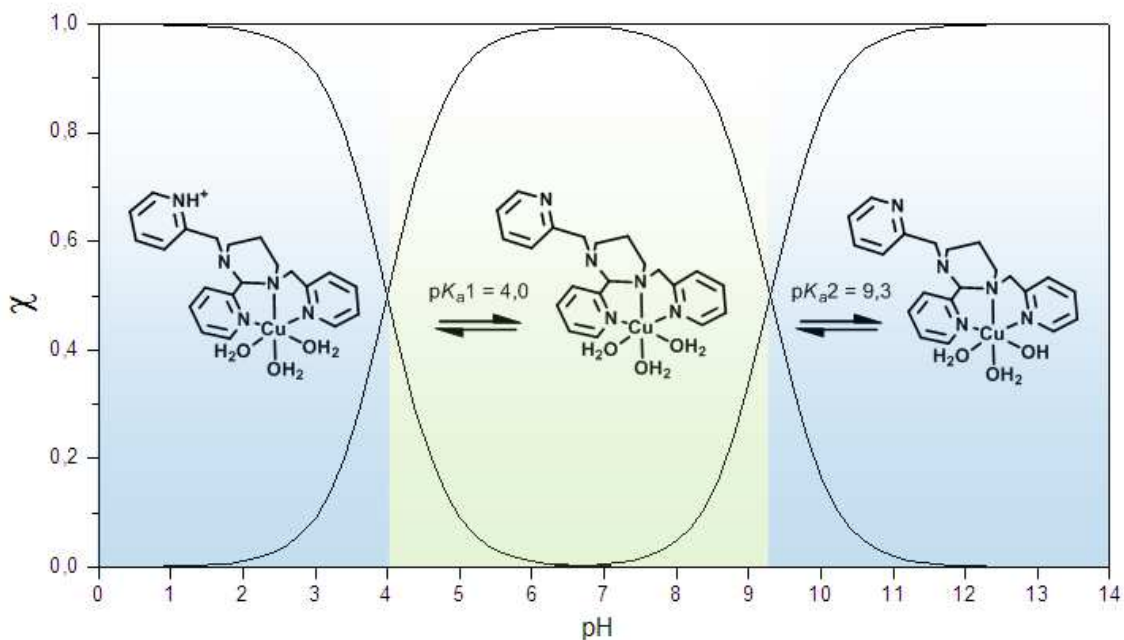
Máximo de absorção	644 nm / $\text{cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$	360 nm / $\text{cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$	260 nm / $\text{cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$
<b>TPP</b>	-	36	11400
<b>Complexo</b>	122	970	15900

#### 4.1.5 Titulação potenciométrica

As informações de protonação são muito importantes para a caracterização das espécies em solução. Através da titulação potenciométrica do complexo **1** determinou-se a presença de dois  $pK_a$ s na faixa de pH estudada (3 a 12). O  $pK_a1$  foi atribuído à desprotonação da piridina não coordenada e o  $pK_a2$  à formação da espécie hidróxido a partir de uma das moléculas de água coordenada ao centro metálico. A distribuição das espécies e o equilíbrio proposto entre elas estão apresentados na Figura 12.

O que chamou a atenção durante o experimento foi a mudança de coloração da solução. Percebeu-se que a espécie ácida ( $\text{pH} < 4$ ) e a básica ( $\text{pH} > 9,3$ ) são azuis, enquanto que a espécie neutra é verde. Esta observação causou intriga e motivou a realização do acompanhamento espectral da titulação.



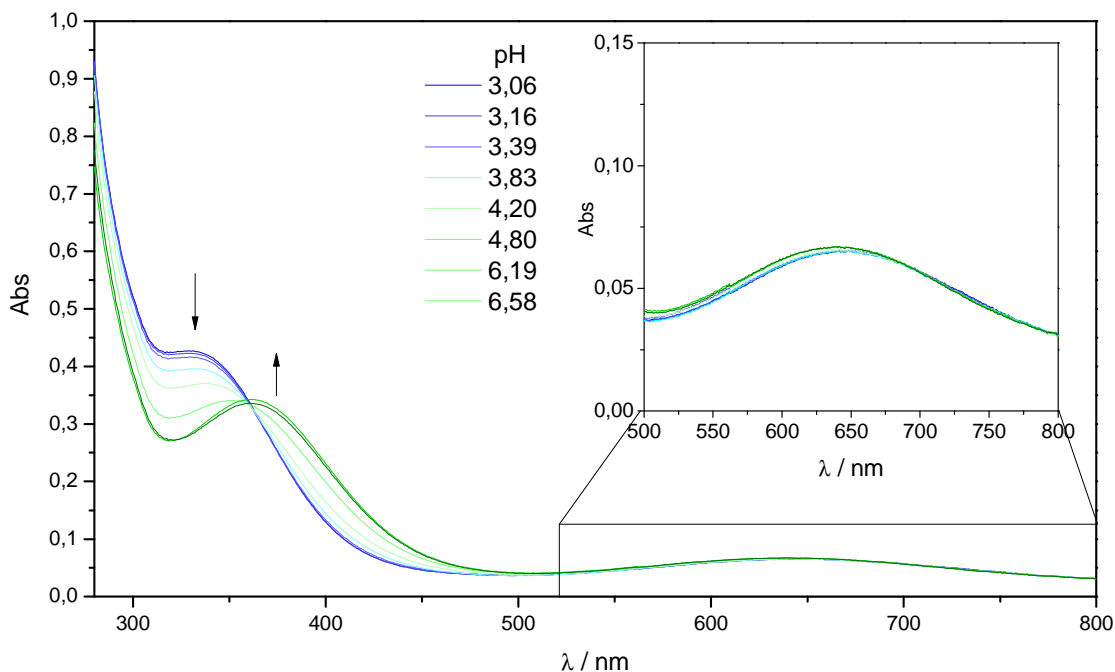


**Figura 12.** Distribuição e proposta das espécies em equilíbrio para o complexo **1** em mistura  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1) a 25 °C.

#### 4.1.6 Titulação espectrofotométrica

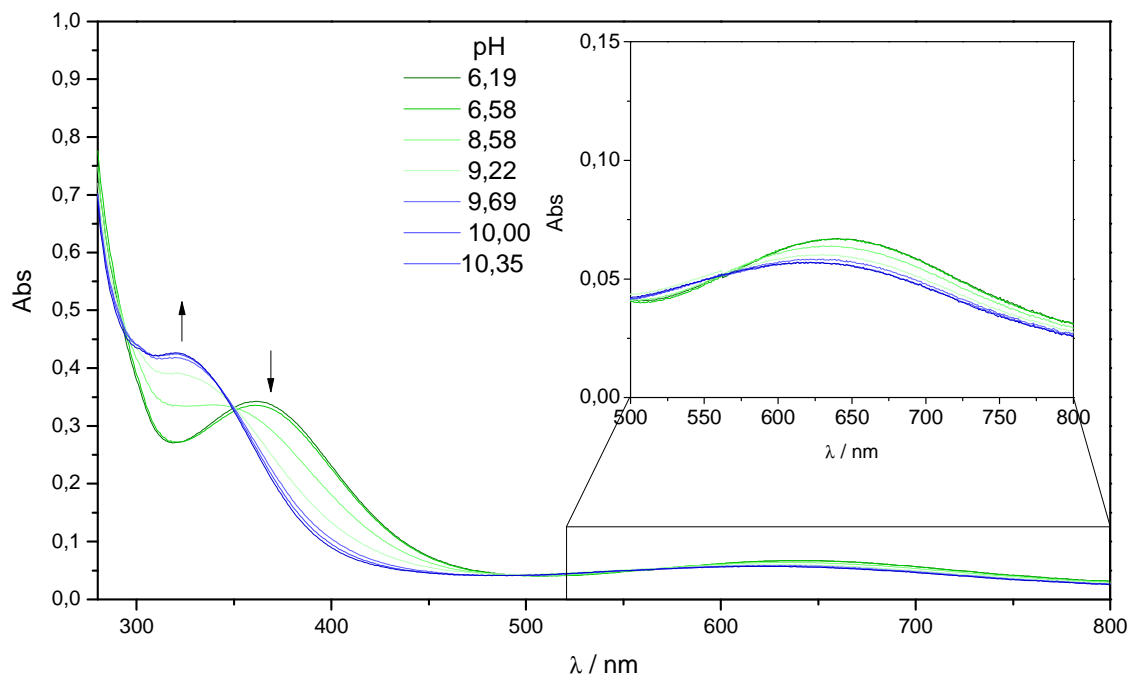
Para analisar as mudanças espectrais que ocorreram no decorrer da titulação potenciométrica e que provocaram as mudanças de coloração, repetiu-se a titulação com acompanhamento do espectro UV-Vis. Este experimento mostrou-se muito interessante, pois contribuiu significativamente para sustentar as atribuições das espécies em solução.

Por motivos de clareza, os espectros foram separados em duas faixas, uma para cada  $pK_a$ . A primeira faixa que vai do pH 3,06 ao 6,58 possui um ponto isobéstico, evidência da presença de duas espécies em equilíbrio. Na espécie ácida, de coloração azul, a absorção referente à transição do ligante intensificada pela complexação (Seção 4.1.4) encontra-se deslocada para maior energia, com  $\lambda_{\text{max}} = 330 \text{ nm}$  e coeficiente de absorção molar maior do que a espécie neutra, que absorve em 360 nm (Figura 13). Observa-se que a transição d-d praticamente não é afetada, indício de que o equilíbrio envolve a desprotonação da piridina não coordenada.



**Figura 13.** Espectros do equilíbrio entre a espécie ácida e neutra do complexo **1**.

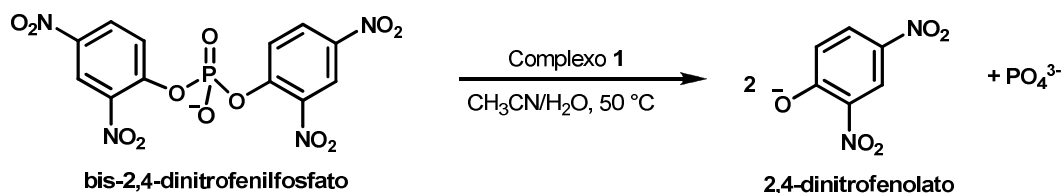
Na segunda faixa que vai do pH 6,19 ao 10,35 e envolve o equilíbrio entre a espécie neutra e básica, a mudança espectral significativa ocorre na mesma banda que o equilíbrio anterior. A espécie básica possui um espectro muito parecido ao da espécie ácida, com  $\lambda_{\text{max}} = 323 \text{ nm}$  da transição em questão e maior coeficiente de absorção molar. Porém, neste equilíbrio a banda d-d tem seu máximo de absorção deslocado para maior energia como mostra o detalhe da Figura 14. Esta é uma evidência de que o segundo  $pK_a$  envolve uma água coordenada diretamente ao centro metálico, para a formação da espécie hidróxido.



**Figura 14.** Espectros do equilíbrio entre a espécie neutra e básica do complexo 1. No detalhe, o deslocamento da banda d-d.

## 4.2 Reatividade

### 4.2.1 Hidrólise do 2,4-dinitrofenilfosfato (2,4-BDNPP)

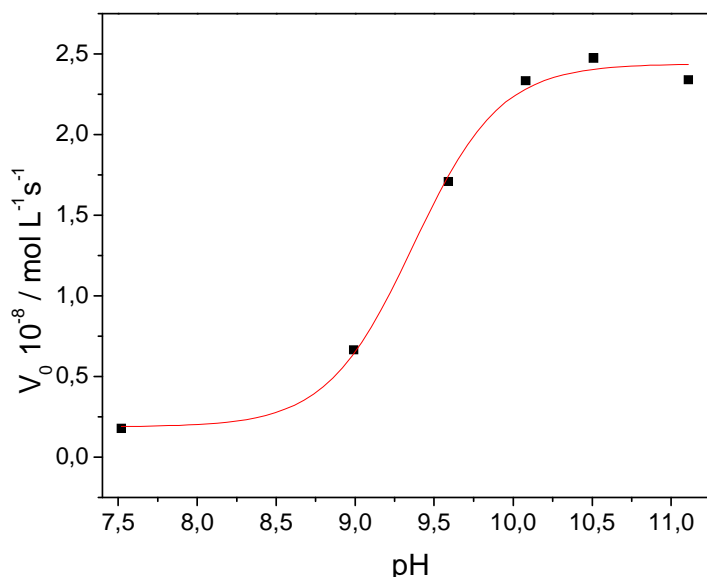


A caracterização do complexo indicou que, de acordo com o mecanismo proposto na literatura<sup>9</sup>, este possui características adequadas para a hidrólise de diésteres de fosfato: posições lábeis cis-orientadas e a formação da espécie hidróxido coordenada ao metal em pH acima de 9. Para testar a sua capacidade de hidrólise foram realizados estudos cinéticos com o substrato 2,4-BDNPP. A hidrólise de fosfatos é uma reação bastante lenta, por isso da utilização de um substrato

como o 2,4-BDNPP com grupos nitro tornando o fenolato um bom grupo abandonador.

#### 4.2.1.1 Efeito do pH

A dependência da velocidade da reação de hidrólise em função do pH é apresentada na Figura 15. Observa-se que o complexo começa a acelerar a reação a partir do pH 9. O perfil sigmoidal permite a determinação do  $pK_a$  cinético para este sistema através do ajuste dos pontos com o modelo de Boltzman. O valor obtido de 9,4, muito próximo do potenciométrico, é uma evidência de que a espécie ativa é aquela que possui o grupo hidróxido coordenado ao metal.

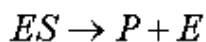
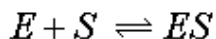


**Figura 15.** Dependência do pH para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP pelo complexo 1 a 50 °C. Condições: [complexo] =  $3,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , [2,4-BDNPP] =  $4,99 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , solução  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  1:1.

#### 4.2.1.2 Efeito do substrato

Uma vez determinada a dependência da reação de hidrólise do 2,4-BDNPP, estudos cinéticos foram realizados no pH 10, em que o complexo apresentou maior atividade. Em experimentos sucessivos, o aumento da concentração do substrato provocou a saturação do complexo, observado no gráfico de  $v_0$  vs [2,4-BDNPP]. Os dados obtidos foram tratados de acordo com o modelo de Michaelis-Menten. Muito utilizado para sistemas enzimáticos, este modelo considera a formação de um

intermediário enzima-substrato ES que leva à formação do produto e restituição da enzima:



Desta proposta deriva-se a seguinte relação<sup>41</sup>:

$$v_0 = \frac{v_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

em que [S] representa a concentração de substrato,  $K_M$  a constante de Michaelis e  $v_{\max}$  a velocidade máxima da reação. Através do ajuste da equação para os valores experimentais (Figura 16) obtêm-se alguns parâmetros cinéticos resumidos na Tabela 5.

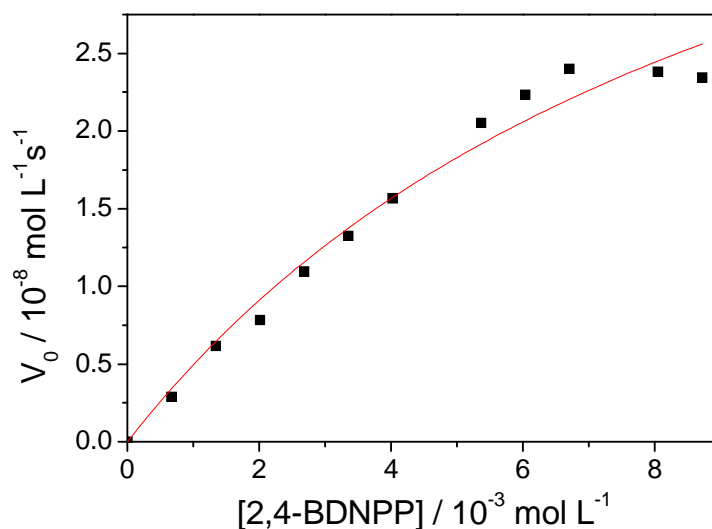


Figura 16. Perfil de saturação para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP.

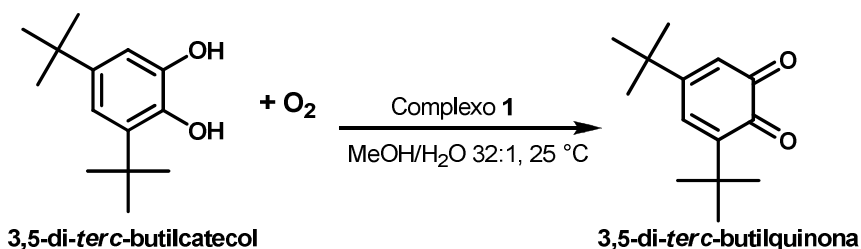
**Tabela 5.** Parâmetros cinéticos da reação de hidrólise do 2,4-BDNPP catalisada pelo complexo 1.

Complexo	$K_M / \text{mol L}^{-1}$	$K_{\text{ass}} / \text{mol}^{-1} \text{L}$	$k_{\text{cat}} / \text{s}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/K_M / \text{mol}^{-1} \text{L s}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/k_{\text{nc}}^*$
1	0,30	3,33	$4,83 \times 10^{-3}$	$1,61 \times 10^{-2}$	53

\*  $k_{\text{nc}} = 0,941 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  (constante de reação não catalizada<sup>42</sup>)

A eficiência catalítica desempenhada pelo complexo **1** é menor do que a de outros complexos mononucleares de cobre(II) reportados na literatura<sup>43</sup>. A menor atividade observada é atribuída à elevada distorção provocada pelo ligante TPP, que provavelmente dificulta o ataque nucleofílico do hidróxido ao centro de fósforo.

#### 4.2.2 Oxidação do 3,5-di-*tert*-butilcatecol (3,5-DTBC)

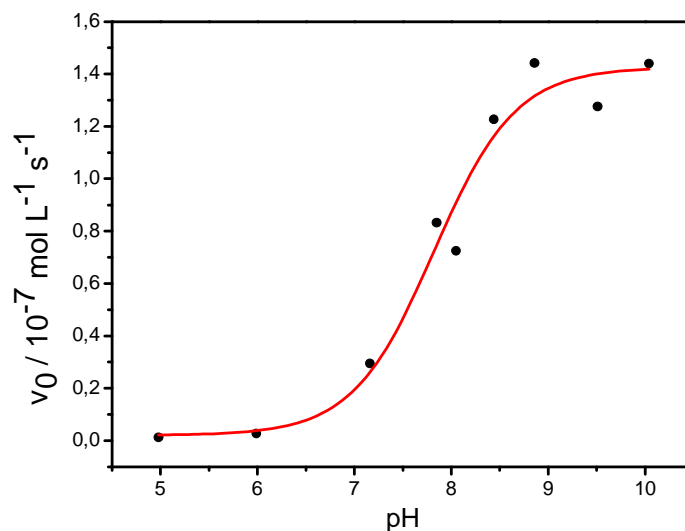


Devido ao perfil eletroquímico *quasi*-reversível exibido pelo complexo **1** para o par Cu<sup>II</sup>/Cu<sup>I</sup> realizou-se o estudo cinético da atividade do mesmo frente à reação de oxidação do 3,5-DTBC. Este substrato é o mais utilizado neste tipo de teste pois é o orto-catecol com menor potencial de redução. Os grupos *tert*-butil além de aumentarem a densidade eletrônica são volumosos e impedem reações paralelas de abertura do anel, por exemplo<sup>44</sup>.

##### 4.2.2.1 Efeito do pH

A análise da velocidade da reação em função do pH mostrou que o complexo torna-se cataliticamente ativo na reação de oxidação do 3,5-DTBC a partir do pH 7 (Figura 17). Os valores permitem que seja feito o ajuste sigmoidal dos dados e pela inflexão obtém-se o valor de p*K*<sub>a</sub> cinético de 7,8. Este valor não coincide com as constantes de protonação determinadas potenciométricamente para o complexo de 4,0 e 9,3 (Seção 4.1.5). Porém, na literatura são reportados os valores de 7,85 e 9,02<sup>45</sup> para as constantes de protonação do substrato 3,5-DTBC em solução aquosa com 50% de metanol em presença de cobre(II).

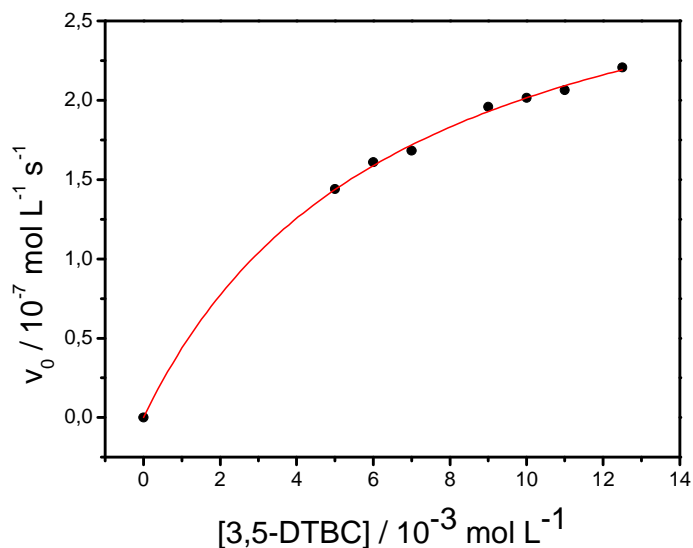
Portanto, acredita-se que a oxidação comece a ocorrer quando acontece a desprotonação do substrato e este então coordena-se com o complexo e é oxidado.



**Figura 17.** Dependência do pH para a reação de oxidação do 3,5-DTBC pelo complexo **1** a 25 °C. Condições: [complexo] =  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , [3,5-DTBC] =  $2,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , solução MeOH/H<sub>2</sub>O 32:1.

#### 4.2.2.2 Efeito do substrato

A fim de determinar alguns parâmetros cinéticos da reação de oxidação, foi feito o estudo da velocidade inicial da reação em função da concentração do substrato. Os valores exibidos na Figura 18 apresentaram um perfil de saturação e por isso foram tratados com o modelo de Michaelis-Menten. Os parâmetros (Tabela 6) foram calculados através do ajuste dos pontos com a equação que descreve o modelo.



**Figura 18.** Perfil de saturação para a reação de oxidação do 3,5-DTBC.

**Tabela 6.** Parâmetros cinéticos da reação de hidrólise do 2,4-BDNPP catalisada pelo complexo 1.

Complexo	$K_M / \text{mol L}^{-1}$	$K_{\text{ass}} / \text{mol}^{-1} \text{L}$	$k_{\text{cat}} / \text{s}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/K_M / \text{mol}^{-1} \text{L s}^{-1}$
1	$6,74 \times 10^{-3}$	148	$1,40 \times 10^{-2}$	$2,08 \times 10^{-2}$

O complexo 1 mostrou-se eficiente na catálise da oxidação do 3,5-DTBC, o que o caracteriza como um catalisador promíscuo. Esta mesma promiscuidade foi observada na enzima Aminopeptidase P. Sua função primária é a hidrólise de proteínas, porém também apresenta atividade na reação de hidrólise de diésteres de fosfato. A atividade na oxidação do 3,5-DTBC é induzida pela substituição do zinco por cobre em seu sítio ativo<sup>20</sup>.

A obtenção de um complexo tão simples, comparado à complexidade enzimática, capaz de hidrolisar o 2,4-BDNPP e oxidar o 3,5-DTBC é uma demonstração de como a versatilidade química dos metais pode ter sido utilizada pela natureza para evoluir nas diversas enzimas que conhecemos hoje.



## 5 Conclusões

---

- O complexo de cobre(II) com o ligante TPP foi sintetizado e caracterizado através de técnicas espectroscópicas, eletroquímica, potenciométrica e cristalográfica;
- A estrutura cristalina do complexo **1** revelou uma coordenação  $N_3Cl_2$  e a presença de uma piridina não coordenada;
- O complexo **1** mostrou-se cataliticamente ativo na hidrólise do diéster de fosfato 2,4-BDNPP.
- O complexo **1** mostrou-se cataliticamente ativo na reação de oxidação do catecol 3,5-DTBC, caracterizando-o como promíscuo.

## 6 Perspectivas

---

A caracterização do complexo em solução deve ser aprofundada com o estudo da eletroquímica em diferentes pHs assim como medidas de ressonância eletrônica paramagnética (RPE). Estas medidas acompanhadas de um estudo computacional de simulação dos espectros irão fornecer informações importantes para a confirmação das espécies em solução.

Deve ser feito o estudo detalhado das cinéticas de hidrólise e oxidação, investigando a ordem da reação em relação ao complexo. Principalmente, devem ser sintetizados ligantes análogos ao **TPP** e, através do estudo cinético dos complexos desses derivados, será possível analisar a influência de cada modificação na atividade catalítica. A reunião de mais informações de correlação cinético-estruturais poderá dar suporte a uma proposta de mecanismo para as reações estudadas.

Testar a atividade do complexo **1** na catálise de outros processos que envolvam transferência de elétrons como o desproporcionamento de  $H_2O_2$  e superóxido de hidrogênio, tendo em vista que são conhecidos exemplos de complexos com propriedades eletroquímicas similares que são ativos nestas reações. Estes resultados poderão demonstrar o quão versátil são estes complexos e o quão promíscuos eles podem ser, contribuindo para o entendimento da evolução enzimática molecular.

## 7 Referências

---

1. SCHRÖDINGER, E., *What is Life?* 1944: Cambridge University Press.
2. WATSON, J.D., *DNA: The Secret of Life*. 1 edition ed. 2003: Knopf.
3. FRANKLIN, R.E. e R.G. GOSLING, *Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate*. *Nature*, 1953. **171**(4356): p. 740-741.
4. WILKINS, M.H.F., A.R. STOKES, e H.R. WILSON, *Molecular Structure of Nucleic Acids: Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids*. *Nature*, 1953. **171**(4356): p. 738-740.
5. WATSON, J.D. e F.H.C. CRICK, *A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid*. *Nature*, 1953. **171**: p. 737-738.
6. GIBSON, D.G., et al., *Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome*. *Science*, 2010. **329**(5987): p. 52-56.
7. WESTHEIMER, F., *Why nature chose phosphates*. *Science*, 1987. **235**(4793): p. 1173-1178.
8. RADZICKA, A. e R. WOLFENDEN, *A proficient enzyme*. *Science*, 1995. **267**(5194): p. 90-93.
9. HEGG, E.L. e J.N. BURSTYN, *Toward the development of metal-based synthetic nucleases and peptidases: a rationale and progress report in applying the principles of coordination chemistry*. *Coordination Chemistry Reviews*, 1998. **173**(1): p. 133-165.
10. LEHNINGER, A., D. NELSON, e M. COX, *Lehninger Principles of Biochemistry*. 2008: W. H. Freeman.
11. MISHRA, N.C., *Molecular Biology of Nucleases*. 1 edition ed. 1995: CRC Press.
12. LIU, C. e L. WANG, *DNA hydrolytic cleavage catalyzed by synthetic multinuclear metallonucleases*. *Dalton Transactions*, 2009(2): p. 227-239.
13. DUPUREUR, C.M., *Roles of metal ions in nucleases*. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2008. **12**(2): p. 250-255.
14. TAWFIK, O.K. e S. DAN, *Enzyme Promiscuity: A Mechanistic and Evolutionary Perspective*. *Annual Review of Biochemistry*, 2010. **79**(1): p. 471-505.
15. HULT, K. e P. BERGLUND, *Enzyme promiscuity: mechanism and applications*. *Trends in Biotechnology*, 2007. **25**(5): p. 231-238.
16. BAPTIE, A., N. TOKURIKI, e F. HOLLFELDER, *What makes an enzyme promiscuous?* *Current Opinion in Chemical Biology*, 2010. **14**(2): p. 200-207.
17. HILL, A.C., *LXVI.-Reversible zymohydrolysis*. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 1898. **73**: p. 634-658.
18. REETZ, M.T., *Directed evolution of selective enzymes and hybrid catalysts*. *Tetrahedron*, 2002. **58**(32): p. 6595-6602.
19. ERCAN, A., H.I. PARK, e L.-J. MING, *A "Moonlighting" Zinc Aminopeptidase from *Streptomyces griseus*: Mechanisms for Peptide Hydrolysis and the 4 × 10<sup>10</sup>-Fold Acceleration of the Alternative Phosphodiester Hydrolysis*. *Biochemistry*, 2006. **45**(46): p. 13779-13793.
20. DA SILVA, G.F.Z. e L.-J. MING, *Catechol Oxidase Activity of Di-Cu<sup>2+</sup>-Substituted Aminopeptidase from *Streptomyces griseus**. *Journal of the American Chemical Society*, 2005. **127**(47): p. 16380-16381.

21. LI, K., et al., *Lipase-catalysed direct Mannich reaction in water: utilization of biocatalytic promiscuity for C-C bond formation in a "one-pot" synthesis*. *Green Chemistry*, 2009. **11**(6): p. 777-779.
22. MENCHER, S.K. e L.G. WANG, *Promiscuous drugs compared to selective drugs (promiscuity can be a virtue)*. *BMC clinical pharmacology*, 2005. **5**(1): p. 3.
23. LIPPARD, S.J., *The Interface of Inorganic Chemistry and Biology*. *Journal of the American Chemical Society*, 2010. **132**(42): p. 14689-14693.
24. BEINERT, H., *Bioinorganic Chemistry: A New Field or Discipline? Words, Meanings, and Reality*. *Journal of Biological Chemistry*, 2002. **277**(41): p. 37967-37972.
25. OGO, S., *Bioinspired catalysis*. *Dalton Transactions*, 2010. **39**(12): p. 2963-2963.
26. MANCIN, F., et al., *Artificial metallonucleases*. *Chemical Communications*, 2005(20): p. 2540-2548.
27. SIGMAN, D.S., A. MAZUMDER, e D.M. PERRIN, *Chemical nucleases*. *Chemical Reviews*, 1993. **93**(6): p. 2295-2316.
28. COWAN, J.A., *Chemical nucleases*. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2001. **5**(6): p. 634-642.
29. SHELL, T.A. e D.L. MOHLER, *Hydrolytic DNA Cleavage by Non-Lanthanide Metal Complexes*. *Current Organic Chemistry*, 2007. **11**(17): p. 1525-1542.
30. OLIVEIRA, M.C.B., et al., *Mononuclear CuII-Phenolate Bioinspired Complex is Catalytically Promiscuous: Phosphodiester and Peptide Amide Bond Cleavage*. *Inorganic Chemistry*, 2009. **48**(7): p. 2711-2713.
31. REY, N.A., et al., *Catalytic Promiscuity in Biomimetic Systems: □ Catecholase-like Activity, Phosphatase-like Activity, and Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a New Dicopper(II) Hydroxo-Bridged Complex*. *Inorganic Chemistry*, 2006. **46**(2): p. 348-350.
32. SHELDRIK, G., *A short history of SHELX*. *Acta Crystallographica Section A*, 2008. **64**(1): p. 112-122.
33. SPEK, A., *Single-crystal structure validation with the program PLATON*. *Journal of Applied Crystallography*, 2003. **36**(1): p. 7-13.
34. GAGNE, R.R., C.A. KOVAL, e G.C. LISENSKY, *Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements*. *Inorganic Chemistry*, 1980. **19**(9): p. 2854-2855.
35. BATISTA, S.C., et al., *Highly efficient phosphate diester hydrolysis and DNA interaction by a new unsymmetrical FeIIINiII model complex*. *Inorganic Chemistry Communications*, 2003. **6**(8): p. 1161-1165.
36. PERALTA, R.A., *Novos complexos binucleares de cobre(II) e de ferro(III) zinco(II): Biomiméticos sintéticos para Catecol Oxidase e para Fosfatases Ácidas Púrpuras*, in *Tese de Doutorado em Química*. 2005, Universidade Federal de Santa Catarina: Departamento de Química.
37. HUREAU, C., et al., *Syntheses, X-ray Structures, Solid State High-Field Electron Paramagnetic Resonance, and Density-Functional Theory Investigations on Chloro and Aqua MnII Mononuclear Complexes with Amino-Pyridine Pentadentate Ligands*. *Inorganic Chemistry*, 2008. **47**(20): p. 9238-9247.
38. ADDISON, A.W., et al., *Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen-sulphur donor ligands; the crystal*

- and molecular structure of aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate.* Dalton Transactions, 1984: p. 1349 - 1356.
39. LEVER, A.B.P., *Inorganic Electronic Spectroscopy*. 2<sup>o</sup> Ed. ed. 1984, Amsterdam: Elsevier Science Publishers.
  40. HUHEEY, J.E., E.A. KEITER, e R.L. KEITER, *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity* 4ed. 1997: Prentice Hall.
  41. ATKINS, P. e J. PAULA, *Physical chemistry*. 2002: W.H. Freeman.
  42. BUNTON, C.A. e S.J. FARBER, *Hydrolysis of bis(2,4-dinitrophenyl) phosphate*. The Journal of Organic Chemistry, 1969. **34**(4): p. 767-772.
  43. SCARPELLINI, M., *Síntese, caracterização e reatividade de novos complexos de ferro e cobre com ligantes imidazólicos de relevância bioinorgânica.*, in *Departamento de Química*. 2001, Universidade Federal de Santa Catarina.
  44. MONZANI, E., et al., *Mechanistic, Structural, and Spectroscopic Studies on the Catecholase Activity of a Dinuclear Copper Complex by Dioxygen*. Inorganic Chemistry, 1999. **38**(23): p. 5359-5369.
  45. TYSON, C.A. e A.E. MARTELL, *Equilibriums of metal ions with pyrocatechol and 3,5-di-tert-butylpyrocatechol*. Journal of the American Chemical Society, 1968. **90**(13): p. 3379-3386.