

RENATA EL-HAGE MEYER DE BARROS OSÓRIO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS LIGANTES
MACROCÍCLICOS OU INTERCALANTES E SEUS
RESPECTIVOS COMPLEXOS TRINUCLEARES DE COBRE(II)
E/OU BINUCLEARES DE FERRO(III) COMO MODELOS
MIMÉTICOS PARA AS HIDROLASES/NUCLEASES
SINTÉTICAS**

Tese submetida ao Programa
de Pós-
Graduação em Química,
Departamento de
Química, Centro de Ciências
Físicas e
Matemáticas, Universidade
Federal de Santa
Catarina, como requisito
parcial para a
obtenção do título de Doutora
em Química.

Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves

Florianópolis
2012

Aos meus filhos
João Victor e
Mariana pela
compreensão
durante minha
ausência, ao meu
grande amor
Fernando, por
tudo e aos meus
pais, **Marie** e
Gustavo, pelo
apoio, incentivo,
amor e paciência
em todos os
momentos.

AGRADECIMENTOS

Sinto-me tão grata que dizer obrigado parece ter se tornado pequeno demais. Este trabalho é fruto de várias idéias em que, num tempo absolutamente insuficiente, consegui realizar. Não vi começar e não percebi o final, tudo simplesmente aconteceu. Só sei que diante de tal sentimento de gratidão, por tudo, e a cada um, meu muito obrigado ficou pequeno, mesmo assim agradeço:

À DEUS, por me dar forças para encarar minha múltipla jornada de ser mãe, mulher, doutoranda e professora ao mesmo tempo, e iluminar meu caminho para chegar até aqui.

Ao Fernando, meu eterno companheiro e grande amor, ao João Victor, meu filho amado, que muitas vezes precisou de minha ajuda e não pude estar presente, a Mariana, minha pequeninha, que se tornou independente por muitas vezes não poder contar comigo.

À minha família (meus pais Marie e Gustavo; meus irmãos Ju e Léo; meus sogros Mário e Matilde; cunhado Pedro e cunhadas Alê e Déia; lindos sobrinhos Arthur e Bia), obrigada pelo apoio, carinho, conforto e por recarregar minha bateria sempre!

Ao prof. Ademir Neves, por tudo, pela orientação, compreensão, apoio, respeito, confiança e muitos ensinamentos.

Aos meus amigos, Tiago Pacheco, pelas muitas risadas no Labinc, por muitos espectros de RMN coletados e por todos os espectros de massa medidos, Bernardo de Souza, pelas muitas conversas e “consultorias”, e pelo tratamento de todas as titulações potenciométricas e auxílios nas cinéticas esquisitas... e Thiago Guimarães.

Aos colegas do Labinc que estão por lá e que já passaram, e que tornaram muito mais prazeroso o trabalho em equipe.

Ao prof. Dr. Eduardo Ernesto Castellano, por coletar e analisar com tanta gentileza minhas amostras de cristais no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da USP-SC.

Ao prof. Dr. Andrea Paesano, pelas medidas urgentes de espectroscopia de Mossbauer.

A Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Grace e Jadir, por estarem sempre prontos a nos ajudar.

Ao CNPq por viabilizar a execução deste trabalho.

“Os desafios da vida podem ser como degraus de uma escada ou como pedras no caminho. Tudo depende de como você os vê.
(Autor desconhecido).”

RESUMO

A natureza aprendeu a utilizar propriedades especiais dos metais para realizar uma ampla variedade de funções associadas aos sistemas vivos. Metaloproteínas que realizam funções catalíticas são denominadas de metaloenzimas, constituindo então uma classe especial de compostos bioinorgânicos. Uma das áreas de ação para os químicos sintéticos em bioinorgânica é o projeto, síntese e caracterização de moléculas inorgânicas de baixa massa molar que apresentem propriedades estruturais, espectroscópicas e/ou de reatividade que mimetizem enzimas de interesse. Os complexos modelos tem papel fundamental no entendimento das propriedades físico-químicas das metaloenzimas, antes mesmo da resolução das estruturas cristalinas das mesmas. Assim, através do estudo estrutural, espectroscópico e de testes de reatividade, busca-se esclarecer o mecanismo através do qual ocorre o processo catalítico em complexos modelos para que estes possam auxiliar na elucidação do mecanismo pelo qual a enzima nativa atua.

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados por análise elementar de CHN, espectroscopia eletrônica, eletroquímica, titulação potenciométrica e espectrofotométrica e magnetoquímica dois novos complexos trinucleares de cobre^{II} empregando-se os dois novos ligantes contendo átomos N,O-doadores: H₃L_{2pyald} - *N,N'*-bis-(2-piridilmetil)-(2-hidróxi-3-carbonil-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol e H₃L_{en} - *N,N'*-bis-(2-piridilmetil)-(2-hidróxi-3-metil-etilenodiamina-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol), sendo que neste último o grupo etilenodiamina atua como macrociclo. Os complexos [Cu₃^{II}(L_{2pyald})(μ-OAc)](ClO₄)₂ – **1** e [Cu₃^{II}(L_{en})(μ-OAc)](ClO₄)₃ – **2** tiveram suas estruturas cristalinas resolvidas por difratometria de raios-X. Além disso, **1** e **2** foram testados frente a hidrólise do substrato bis(2,4-dinitrofenil)fosfato. O complexo **1** é o mais efetivo na conversão do substrato a produtos, apresentando uma eficiência catalítica de 0,37, que corresponde a aproximadamente duas vezes mais que a apresentada pelo complexo **2**.

Foram sintetizados e caracterizados dentre várias outras técnicas também por espectroscopia mossbauer, dois novos complexos binucleares de ferro^{III}, empregando o novo ligante H₂L_{3pyald} *N,N',N'*-tris-(2-piridilmetil)-N-(2-hidróxi-5-metilbenzil-benzaldeído)-1,3-propano-2ol) e o ligante inédito contendo um grupo pireno intercalante H₂L_{3pyald-but-pireno} *N,N',N'*-tris-(2-piridilmetil)-N-(2-hidróxi-3-metil-butanodiamina-metil-pireno-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol). Os estudos realizados frente à hidrólise do substrato modelo 2,4-bis-

dinitrofenilfosfato (2,4-BDNPP) demonstraram que entre os complexos sintetizados $[\text{Fe}_2^{\text{III}}(\text{L}_{3\text{pyald}})_2(\mu\text{-OAc})_2](\text{ClO}_4)_2$ – **3** e $[\text{Fe}_2^{\text{III}}(\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}})(\mu\text{-OAc})_2](\text{ClO}_4)_2$ – **4**, o complexo **4** apresenta uma constante catalítica $k_{\text{cat}} = 1,10 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, sendo esta aproximadamente 4 vezes superior à constante do complexo **3** ($k_{\text{cat}} = 2,88 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$), o que reflete a maior eficiência que o composto **4** apresenta na conversão de reagentes a produtos. Estudos preliminares frente a hidrólise do DNA mostraram que o complexo **4** promove a clivagem da dupla fita do DNA plasmidial.

A partir dos dados estruturais, espectroscópicos, eletroquímicos e cinéticos, e de titulação potenciométrica e espectrofotométrica foi possível propor um ciclo catalítico para a hidrólise do bis(2,4-dinitrofenil)fosfato, mediada pelos complexos **1** e **2** e outro para os complexos **3** e **4** compatível com outros já descritos na literatura.

ABSTRACT

Nature has learned to make use of special properties of metals to achieve a wide variety of functions associated to living beings. Metalloproteins that perform catalytic functions are denominated metalloenzymes, characterizing then a special class of bioinorganic compounds. One area of action for the synthetic chemicals in Bioinorganic is the design, synthesis and characterization of inorganic molecules of low molecular weight which have structural, spectroscopic and/or reactivity to mimic enzymes of interest. Model complexes have a fundamental role on the understanding of the physicochemical properties of metalloenzymes, before of their X-ray crystal structures' resolution. In this way, through structural and spectroscopic studies as well as reactivity tests, the search of the most probable mechanism through the catalytic process occurrence is done. This data will help substantially to clarify the real mechanism that occurs in the native enzyme.

In this work, we report the synthesis and characterization by elemental analysis, electronic spectroscopy, electrochemistry, potentiometric and spectrofotometric titration, and magnetochemistry of two new binuclear copper^{II} complexes, using the new ligands which contains N,O-donors atoms: H₃L_{2pyald} - *N,N'*-bis-(2-pyridylmethyl)-(2-hydroxy-3-carbonil-5-methylbenzyl)-1,3-propanodiamine-2ol e H₃L_{en} - *N,N'*-bis-(2-pyridylmethyl) - (2-hydroxy-3-methyl-etilenodiamine-5-methylbenzil)- 1,3-propanodiamine-2ol), whereas in the latter ethylenediamine group acts as macrocycle. The structures of the complexes [Cu^{II}₃(L_{2pyald})(μ-OAc)](ClO₄)₂] - **1** and [Cu^{II}₃(L_{en})(μ-OAc)](ClO₄)₃] - **2** were determined by X-ray crystallography. Moreover, **1** and **2** were tested towards the activity in the hydrolysis of 2,4-bis-dinitrophenylphosphate. The complex **1** is more effective in the conversion of substrate to products, with a catalytic efficiency of 0.37, which corresponds to approximately two times higher than that presented by complex **2**.

Were synthesized and characterized from various other techniques have also Mössbauer spectroscopy, two new binuclear complex iron^{III} employing the new ligand H₂L_{3pyald} *N,N',N'*-tris-(2-pyridylmethyl)-*N*-(2-hydroxy-5-methylbenzil-benzaldehyde)-1,3-propane-2ol) and the unpublished ligand containing an intercalant pyrene group H₂L_{3pyald-but-pireno} *N,N',N'*-tris-(2-pyridylmethyl)-*N*-(2-hydroxy-3-methyl-butanodiamine-methyl-pyrene-5-methylbenzil)-1,3-propane-2ol). The kinetics for the promotion of bis(2,4-dinitrophenyl)

phosphate (2,4-BDNPP) hydrolysis demonstrated that between the synthesized complex $[\text{Fe}_2^{\text{III}}(\text{L}_{3\text{pyald}})_2(\mu\text{-OAc})_2](\text{ClO}_4)_2$ – **3** e $[\text{Fe}_2^{\text{III}}(\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}})(\mu\text{-OAc})_2](\text{ClO}_4)_2$ – **4**, the compound **4** has a catalytic constant $k_{\text{cat}} = 1,10 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, which is approximately four times the constant of the complex **3** ($k_{\text{cat}} = 2,88 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$), which reflects the efficiency that the compound **4** shows the conversion of reactants to products. Preliminary studies against hydrolysis of the DNA showed that the compound **4** promotes the cleavage of double-stranded plasmid DNA.

Based on structural, spectroscopic, electrochemical and potentiometric and spectrophotometric data, it was possible to propose a catalytic cycle for the catalytic cleavage of 2,4- BDNPP in the presence of the complexes **1** and **2** and other for **3** and **4** which is compatible with a mechanism already described in the literature.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ligante H ₂ BPPMP (Batista et al 2003).....	29
Figura 2 – Ligantes H ₃ bbppnol e H ₂ btpnol (Rossi <i>et al.</i> , 2005).....	30
Figura 3 – Mecanismo proposto por Osório e colaboradores (2012) para a hidrólise do 2,4-BDNPP.....	31
Figura 4 – As quatro bases do DNA, mostrando sua conectividade ao esqueleto açúcar-fosfato.....	32
Figura 5 – Representação esquemática da dupla fita do DNA.....	33
Figura 6 – Pares de bases adenine-timina e guanine-citosina, mostrando os sulcos maior e menor. As linhas onduladas indicam as ligações com os açúcares.....	34
Figura 7 – Desenho esquemático complexo [(phen) ₂ Cu ^I] (Sigman <i>et al.</i> , 1979).....	41
Figura 8 – Estrutura química do ligante baseado na unidade central 1,10-fenantrolina, contendo cromóforos acridina (Gude <i>et al.</i> , 2005) .	42
Figura 9 – Clivagem do DNA Øx174 através do gel de eletroforese promovida pelo complexo CuL ₁ (Fujii <i>et al.</i> , 1997).....	44
Figura 10 – Estruturas do dppz e dpq (Navarro <i>et al.</i> , 2003).....	44
Figura 11 – Base de Schiff simétrica baseada no ligante facial tridentado AAZ (Rey <i>et al.</i> , 2007).....	45
Figura 12 – Ligantes H ₂ btpnol e H ₃ bbppnol utilizados por Rossi e colaboradores (2002; 2005) e L ₁ e L ₂ utilizados por Osório e colaboradores (2012) na síntese de complexos binucleares de cobre(II) ativos na clivagem do DNA.....	46
Figura 13 - Espectro de RMN ¹ H do simétrico 2py em CDCl ₃	58
Figura 14 – Espectro de RMN ¹ H 1,4-butanodiamina- <i>Boc</i> em CDCl ₃ .	
Figura 15 – Espectro no IV dos precursores pireno-1,4-butanodiamina- <i>Boc</i> (acima) e 1,4-butanodiamina- <i>N</i> -metil-pireno (abaixo) em pastilha de KBr.....	61
Figura 16 - Espectro no IV do H ₃ L ₂ pyald em pastilha de KBr.....	63
Figura 17 - Espectro de RMN ¹ H do H ₃ L ₂ pyald em CDCl ₃	64
Figura 18 – Espectro de massas do ligante H ₃ L ₂ pyald em CH ₃ CN/H ₂ O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 569,27 (abaixo).....	65
Figura 19 - Espectro no IV do H ₃ L _{en} em pastilha de KBr.....	67
Figura 20 - Espectro de RMN ¹ H do H ₃ L _{en} em CDCl ₃	68
Figura 21 – Espectro de massas do ligante H ₃ L _{en} em CH ₃ CN/H ₂ O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 597,36 (abaixo).	69
Figura 22 - Espectro no IV do H ₂ L ₃ pyald em pastilha de KBr.....	71
Figura 23 - Espectro de RMN ¹ H do H ₂ L ₃ pyald em CDCl ₃	72

Figura 24 - Espectro de massas do ligante H_2L_{3pyald} em CH_3CN/H_2O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 553,29 (abaixo).....	73
Figura 25 - Espectro no IV do $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ em pastilha de KBr....	75
Figura 26 - Espectro de RMN 1H do $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ em $CDCl_3$	76
Figura 27 - Espectro de massas do ligante $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ em CH_3CN/H_2O (1:1) (esquerda) e espectro experimental e simulado para m/z 839,48 (direita).	77
Figura 28 – Espectro no IV para o complexo 1 em pastilha de KBr. ...	79
Figura 29 - Espectro de massas do complexo 1 em CH_3CN/H_2O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 912,00 (abaixo). ...	80
Figura 30 – Espectro no IV para o complexo 2 em pastilha de KBr. ...	82
Figura 31 - Espectro de massas do complexo 2 em CH_3CN/H_2O (1:1) (esquerda) e espectro experimental e simulado para m/z 940,07 (direita) e m/z 420,56 (centralizado).	83
Figura 32 – Espectro no IV para o complexo 3 em pastilha de KBr. ...	85
Figura 33 - Espectro de massas do complexo 3 em CH_3CN/H_2O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 916,74 (abaixo). ...	86
Figura 34 – Espectro no IV para o complexo 4 em pastilha de KBr. ...	88
Figura 35 – Representação dos ligantes.....	89
Figura 36 – Representação dos cátions complexos sintetizados.....	89
Figura 37 - Esquemas de numeração para os átomos de hidrogênio utilizados nas atribuições de RMN dos ligantes.	92
Figura 38 - Sobreposição dos espectros no IV dos complexos com os seus respectivos ligantes: H_3L_{2pyald} e 1 ; H_3L_{en} e 2 ; H_2L_{3pyald} e 3 ; $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ e 4	96
Figura 39 – Projeção (Zsolnai 1997) da estrutura molecular do cátion $[Cu_3^II(L_{2pyald})(OAc)(H_2O)]^{2+}$ (1)(acima) e representação esquemática do complexo (abaixo).	100
Figura 40 - Projeção (Zsolnai 1997) da estrutura molecular do cátion $[Cu_3(L_{en})(OAc)]^{2+}$ (2) (acima), representação esquemática do complexo 2 (esquerda) e arranjo conformacional em forma de cadeira adquirido pelos centros metálicos (direita).	103
Figura 41 - Susceptibilidade magnética (μ) e momento magnético efetivo (\square) para os complexos 1 (acima) e 2 (abaixo).	106
Figura 42 - Espectros Mössbauer para os complexos 3 (acima) e 4 (abaixo) sob a forma pulverizada a 298 K.....	109
Figura 43 - Espectro eletrônico dos complexos: 1 ($1,25 \times 10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), 2 ($3,0 \times 10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), 3 ($1,5 \times 10^{-4}$ mol.L $^{-1}$) e 4 ($3,5 \times 10^{-5}$ mol.L $^{-1}$), em solução de acetonitrila e metanol.....	111

Figura 44 – Espectro de emissão de fluorescência do ligante H ₂ L ₃ pyald-but-pireno (esquerda) e do complexo 4 (direita) em solução de DMF.	114
Figura 45 – Voltamogramas cíclicos dos complexos 1 a 4 , em CH ₃ CN. Concentração dos complexos: 5,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , eletrólito: 0,1 mol L ⁻¹ de TBAPF ₆ ; eletrodo de trabalho: platina (complexos de cobre) e carbono (complexos de ferro); eletrodo de referência: Ag/Ag ⁺ ; contra-eletrodo: fio de platina; velocidade de varredura 100 mV/s. O par redox Fc ⁺ /Fc foi usado como padrão interno (GAGNÉ et al. 1980).	115
Figura 46 - Proposta para os equilíbrios observados para o complexo 1 em solução.....	118
Figura 47 - Proposta para os equilíbrios observados para o complexo 2 em solução.....	119
Figura 48 - Proposta para os equilíbrios observados para o complexo 3 em solução.....	120
Figura 49 - Variação do espectro eletrônico para o complexo 1 a 4 em diferentes pH.	121
Figura 50 – Esquema ilustrativo para a reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP.....	122
Figura 51 – Dependência de V ₀ vs. pH para as reações de hidrólise do 2,4-BDNPP catalisadas pelos complexos 1 e 2 a 50°C e 3 e 4 a 25°C sob as seguintes condições: solução CH ₃ CN/H ₂ O 1:1; [complexo] = 4,0 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; [2,4-BDNPP] = 5,0 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ ; [tampões] = 0,05 mol.L ⁻¹ (MÊS, HEPES, CHES); I = 0,1 mol.L ⁻¹ (LiClO ₄).....	124
Figura 52 – Dependência da velocidade da reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para os complexos 1 e 2 (50 °C) e 3 e 4 (25 °C). Condições: solução CH ₃ CN/H ₂ O 1:1; [tampão] = 0,05 mol.L ⁻¹ ; I = 0,05 mol.L ⁻¹ (LiClO ₄); [2,4-BDNPP] = 0,5 a 8,0 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹	126
Figura 53 – Mecanismo proposto para hidrólise do 2,4-BDNPP catalizada pelo complexo 1 . O mecanismo proposto para 2 é similar.	130
Figura 54 - Mecanismo proposto para hidrólise do 2,4-BDNPP catalizada pelo complexo 3 . O mecanismo proposto para 4 é similar.	131
Figura 55 – Eletroforese em gel de agarose para clivagem do DNA plasmidial pelos complexos 3 e 4 em diferentes concentrações, em tampão [10 mM] Tris (pH 7). Linhas 1 e 7: controle DNA; linhas 2-6: DNA + complexo 3 (1,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 25,0 μmol.L ⁻¹ , respectivamente). Linhas 8-12: DNA + complexo 4 (1,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 25,0 μmol.L ⁻¹ , respectivamente). Incubação: 24h a 37 °C.	132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais bandas e atribuições (Silverstein et al., 1994; Nakamoto, 1978), em cm^{-1} , dos espectros no infravermelho para os ligantes $\text{H}_3\text{L}_{2\text{pyald}}$, $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$, $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$ e $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}}$	90
Tabela 2 – Deslocamentos químicos (ppm), observados nos espectros de RMN ^1H para os ligantes $\text{H}_3\text{L}_{2\text{pyald}}$, $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$, $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$ e $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}}$	92
Tabela 3 - Resultados das análises elementares de porcentagem de C,H e N para os complexos sintetizados.....	95
Tabela 4 – Principais bandas e atribuições em cm^{-1} dos espectros no infravermelho para os complexos 1 a 4	96
Tabela 5 – Parâmetros cristalográficos e de refinamento da estrutura para os complexos 1 e 2	99
Tabela 6 – Principais comprimentos (Å) e ângulos de ligação ($^\circ$) para o complexo 1	101
Tabela 7 – Principais comprimentos (Å) e ângulos de ligação ($^\circ$) para o complexo 2	104
Tabela 8 - Dados magnéticos e estruturais para os complexos 1 e 2	107
Tabela 9 - Faixas de valores para deslocamento isoméricos (δ) refletidos por variadas espécies de núcleos Mössbauer:.....	108
Tabela 10 - Resultados obtidos via espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe para o núcleo de ferro presente nos complexos 3 e 4 no estado pulverizado.....	109
Tabela 11 – Dados de espectroscopia eletrônica dos complexos 1 a 4	111
Tabela 12 – Dados eletroquímicos para os complexos 1 a 4 e de alguns complexos citados na literatura.....	116
Tabela 13 – Valores de pK_a encontrados para os complexos 1 a 4	117
Tabela 14 – Valores de pK_a cinéticos para os complexos 1 a 4	123
Tabela 15 – Parâmetros cinéticos para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP, catalisada pelos complexos 1 a 4 . Condições: solução $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1; [tampão] = 0,05 mol.L^{-1} ; $I = 0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ (LiClO_4); $[2,4\text{-BDNPP}] = 0,5 \text{ a } 8,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ (complexos 1 e 2) e $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (complexos 3 e 4).....	125
Tabela 16 - Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo 1 , $U(\text{eq})$ é definido como 1/3 do traço do tensor U_{ij} ortogonalizado.....	147
Tabela 17 - Comprimentos (Å) e ângulos ($^\circ$) de ligação para o complexo 1	149

Tabela 18 - Comprimentos (Å) e ângulos (°) de ligação para o complexo 2	153
---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

1	Complexo $[\text{Cu}_3(\text{L}_{2\text{pyald}})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2$
2	Complexo $[\text{Cu}_3(\text{L}_{\text{en}})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_3$
3	Complexo $[\text{Fe}_2(\text{L}_{3\text{pyald}})_2(\mu\text{-OAc})_2](\text{ClO}_4)_2$
4	Complexo $[\text{Fe}_2(\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}})(\mu\text{-OAc})_2](\text{ClO}_4)_2$
ϵ	Coefficiente de absorvidade molar
ν	Estiramento (IV)
δ	Deformação angular (IV); deslocamento isomérico (Mossbauer)
δ_{H}	Deslocamento químico do hidrogênio (RMN ^1H)
$\lambda_{\text{máx}}$	Comprimento de onda, no máximo de absorção
ΔE_{Q}	Desdobramento quadrupolar (Mossbauer)
2,4-BDNPP	Bis(2,4-dinitrofenil)fosfato
3py	<i>N',N',N</i> - tris-(2-piridilmetil)-1,3-propanodiamina-2-ol
BPMA	<i>N</i> -bis-(2-piridilmetil)amina
Boc	di-terc-butil-carbonato
CHES	Ácido 2-[<i>N</i> -cicloexilamino]etanossulfônico
CF_3COOH	Ácido trifluoracético
CMC	Concentração Micelar Crítica
CMFF	2-clorometil-4-metil-6-formilfenol
$\text{Cu}(\text{OAc})$	Acetato de cobre(II)
DMF	Dimetilformamida
DNA	Ácido desoxirribonucléico
Dpq	dipirido[3,2-f:2',3'-h]quinoxalina
Dppz	dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina monohidratado
E	Eficiência catalítica
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
HEPES	Ácido 2-[4-(2-Hidroxietyl)-1-piperazino]-etanossulfônico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
Et_3N	Trietilamina
EtOH	Etanol
F	fator catalítico
Fc^+/Fc	par redox, ferrocínio/ferroceno
H_2BPBMP	2-[<i>N</i> -bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6- <i>N'</i> -[(2-piridilmetil) (2-hidróxi-benzil)aminometil]fenol
$\text{H}_3\text{bbppnol}$	<i>N,N'</i> -bis-(2-piridilmetil)-2-hidroxi(benzil)-1,3-diaminopropano-2-ol
$\text{H}_2\text{btppnol}$	<i>N</i> - (2-hidróxi(benzil) - <i>N,N',N'</i> - tris(2-piridilmetil) -

	1,3-diaminopropano-2-ol
H ₂ L ₁	<i>N',N',N</i> – tris-(2-piridilmetil)- <i>N</i> -(2-hidróxi – 3,5-di- <i>terc</i> -butilbenzil) - 1,3-propanodiamina–2-ol
H ₃ L ₂	<i>N',N'</i> – bis-(2-piridilmetil)- <i>N,N</i> - (2-hidróxi-3,5-di- <i>terc</i> -butilbenzil) - 1,3-propanodiamina–2-ol
H ₃ L ₂ pyald	<i>N,N'</i> -bis-(2-piridilmetil)-(2-hidróxi-3-carbonil-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol
H ₃ L _{en}	<i>N,N'</i> -bis-(2-piridilmetil)-(2-hidróxi-3-metil-etilenodiamina-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol)
H ₂ L ₃ pyald	<i>N,N',N'</i> -tris-(2-piridilmetil)- <i>N</i> -(2-hidróxi-5-metilbenzil-benzaldeído)-1,3-propano-2ol)
H ₂ L ₃ pyald-but-pireno	<i>N,N',N'</i> -tris-(2-piridilmetil)- <i>N</i> -(2-hidróxi-3-metil-butanodiamina-metil-pireno-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol)
HEPES	ácido 2-[4-(2-Hidroxietil)-1-piperazino]-etanossulfônico
IV	Espectroscopia vibracional no infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento magnético
K _{ass}	Constante de associação
<i>k</i> _{cat}	Constante catalítica
K _M	Constante de Michaelis-Menten
MeOH	Metanol
MÊS	Ácido 2-[<i>N</i> -Morfolino]etanossulfônico
MM	Massa molar
NaOAc	Acetato de sódio
NHE	Eletrodo normal de hidrogênio
P. F.	Ponto de fusão
PAPs	Fosfatases Ácidas Púrpuras
pH	Potencial hidrogeniônico
Phen	1,10-fenantrolina
pKa	Constante ácida de protonação
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
TBAPF ₆	Hexafluorofosfato de tetrabutilamônio
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
TRIS	Tris(hidroximetil)aminometano
UV-Vis-IVP	espectroscopia na região do ultravioleta-visível-infravermelho próximo
v ₀	velocidade inicial
v _{máx}	velocidade máxima

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	20
1.1	RELEVÂNCIA DOS COMPOSTOS MODELO.....	22
1.2	METALOENZIMAS.....	23
1.3	MODELOS RELEVANTES PARA HIDROLSAES.....	27
1.4	DNA, INTERCALANTES E NUCLEASES QUÍMICAS.....	31
1.5	REAÇÕES DO DNA COM METALOINTERCALANTES.....	37
1.6	COMPLEXOS MODELOS COMO NUCLEASES ARTIFICIAIS.....	41
1.6.1	COMPLEXOS MODELOS OXIDATIVOS.....	41
1.6.2	COMPLEXOS MODELOS HIDROLÍTICOS.....	43
2	OBJETIVOS.....	48
2.1	OBJETIVOS PRINCIPAIS.....	48
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	49
3.1	MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO.....	49
3.1.1	MATERIAIS.....	49
3.1.2	MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO.....	49
3.1.2.1	Análise elementar de C, H e N.....	49
3.1.2.2	Espectroscopia no infravermelho – IV.....	49
3.1.2.3	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio RMN ¹ H.....	50
3.1.2.4	Espectrometria de massas.....	50
3.1.2.5	Espectroscopia eletrônica – UV-Vis – IVP.....	50
3.1.2.6	Eletroquímica.....	51
3.1.2.7	Difratometria de Raios X.....	52
3.1.2.8	Titulação potenciométrica.....	52
3.1.2.9	Titulação espectrofotométrica.....	52
3.1.2.10	Magnetoquímica.....	53
3.1.2.11	Espectroscopia Mossbauer.....	54
3.1.2.12	Reatividade.....	54
3.2.1.13	Reatividade frente ao DNA.....	56
3.2	SÍNTESE DOS LIGANTES.....	57
3.2.1	SÍNTESE DOS PRECURSORES.....	57
3.2.1.1	<i>N,N'</i> -(2-piridilmetil)-1,3-propano-2-ol - simétrico 2-py.....	57
3.2.1.2	1,4-butanodiamina- <i>Boc</i>	58
3.2.1.3	1,4-butanodiamina- <i>N</i> -metil-pireno.....	59
3.2.2	SÍNTESE DOS LIGANTES.....	62

3.2.2.1	<i>N,N'</i> -bis-(2-piridilmetil)-(2-hidróxi-3-carbonil-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol – H ₃ L _{2pyald}	62
3.2.2.2	<i>N,N'</i> -bis-(2-piridilmetil)-(2-hidróxi-3-metil-etilenodiamina-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol) – H ₃ L _{en}	66
3.2.2.3	<i>N,N',N'</i> -tris-(2-piridilmetil)-N-(2-hidróxi-5-metilbenzil-benzaldeído)-1,3-propano-2ol) – H ₂ L _{3pyald}	70
3.2.2.4	<i>N,N',N'</i> -tris-(2-piridilmetil)-N-(2-hidróxi-3-metil-butanodiamina-metil-pireno-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol) – H ₂ L _{3pyald-but-pireno}	74
3.3	SÍNTESE DOS COMPLEXOS.....	78
3.3.1	Síntese do complexo [Cu ₃ (L _{2pyald})(μ-OAc)](ClO ₄) ₂ – 1	78
3.3.2	Síntese do complexo [Cu ₃ (L _{en})(μ-OAc)](ClO ₄) ₂ – 2	81
3.3.3	Síntese do complexo [Fe ₂ (L _{3pyald}) ₂ (μ-OAc) ₂](ClO ₄) ₂ – 3	84
3.3.4	Síntese do complexo [Fe ₂ (L _{3pyald-but-pireno})(μ-OAc) ₂](ClO ₄) ₂ – 4	87
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	88
4.1	CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES.....	90
4.1.1	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	90
4.1.2	ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO – RMN ¹ H.....	91
4.1.3	ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	93
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS.....	94
4.2.1	ANÁLISE ELEMENTAR DE C,H,N.....	95
4.2.2	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO –IV.....	95
4.2.3	ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	97
4.2.4	DIFRATOMETRIA DE RAIOS X.....	98
4.2.4.1	Estrutura cristalina do complexo [Cu ₃ (L _{2pyald})(OAc)](ClO ₄) ₂ – 1	99
4.2.4.2	Estrutura cristalina do complexo [Cu ₃ (L _{en})(OAc)](ClO ₄) ₂ – 2	102
4.2.5	MEDIDA MAGNÉTICA.....	105
4.2.6	ESPECTROSCOPIA MOSSBAUER.....	108
4.2.7	ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA.....	110
4.2.8	ELETROQUÍMICA.....	114
4.2.9	TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA.....	117
4.2.10	TITULAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA.....	120
4.3	REATIVIDADE.....	122
4.3.1	REATIVIDADE FRENTE AO SUBSTRATO 2,4-BDNPP.....	122

4.3.1.1	Efeito do pH na reação de hidrólise do 2,4-BDNPP.....	122
4.3.1.2	Efeito da concentração do substrato na reação de oxidação do 2,4-BDNPP.....	125
4.3.1.3	Proposta Mecanística para a hidrólise do 2,4-BDNPP.....	128
4.3.2	REATIVIDADE FRENTE AO DNA.....	131
5	CONCLUSÕES.....	133
6	PERSPECTIVAS.....	134
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	135
	APÊNDICES.....	147
	DADOS CRISTALOGRÁFICOS DO COMPLEXO 1.....	147
	DADOS CRISTALOGRÁFICOS DO COMPLEXO 2.....	152

1. INTRODUÇÃO

Nos seres vivos predominam os elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio. Como esses são os elementos fundamentais da Química Orgânica, acreditou-se durante muito tempo que somente os compostos orgânicos e as reações que os envolviam eram indispensáveis para a Vida, e que os elementos e compostos comumente chamados “inorgânicos” tinham escasso ou nenhum significado para os sistemas vivos. Havia, no entanto, algumas exceções bem conhecidas e estabelecidas, tais como o reconhecimento da presença de ferro no sangue, ou de cálcio nos ossos e dentes, e a participação do fósforo em numerosos processos metabólicos.

Só recentemente tomou-se consciência clara de que muitos outros elementos inorgânicos, sobretudo metais de transição, presentes geralmente em baixas concentrações (traços), são essenciais para todos os seres vivos. Hoje sabemos que certas alterações no metabolismo desses elementos traços são causa de várias doenças e desordens fisiológicas. Em razão das concentrações muito baixas desses elementos, a importância biológica de muitos deles só foi determinada há pouco tempo, pois foi necessário dispor, primeiramente, de métodos analíticos muito sensíveis e específicos para detectá-los e, depois, de ferramentas bioquímicas capazes de confirmar seu caráter essencial. Diz-se que um elemento é essencial para um determinado organismo quando a deficiência de sua ingestão produz desordens em certas funções, e quando sua recuperação aos níveis fisiológicos é capaz de reverter essas desordens. Sem sua participação, o organismo não pode desenvolver-se normalmente e nem completar seu ciclo vital, pois sua função não pode ser realizada de forma completa por outro sistema ou elemento (Baran, 1990).

Atualmente, trinta elementos são reconhecidos como essenciais para os seres vivos. De acordo com a sua abundância relativa no organismo, esses elementos se classificam como majoritários, traços e micro-traços. Hidrogênio, carbono, nitrogênio e oxigênio, componentes básicos da matéria orgânica, são constituintes majoritários, assim como o enxofre, o fósforo, o cloro e os quatro metais representativos biologicamente relevantes - sódio, potássio, magnésio e cálcio. Ferro, zinco e cobre correspondem ao grupo de elementos-traços, e são também os três metais de transição mais abundantes em todos os seres vivos. Os metais restantes e alguns outros elementos não metálicos (por exemplo, selênio e iodo) encontram-se em concentrações extremamente

baixas, mas possuem uma extraordinária importância para a vida (Baran, 1990).

O estudo dos modos de ação e do comportamento dos elementos traços e micro-traços nos sistemas biológicos constitui um dos campos de trabalho de uma área interdisciplinar da Química, comumente chamada Química Bioinorgânica, a qual tem conseguido um rápido e explosivo desenvolvimento durante as últimas décadas. A partir desses estudos chegamos a entender com bastante clareza muito dos papéis que esses elementos minoritários exercem nos seres vivos.

Apenas após o ano de 1960 que a Química Bioinorgânica tornou-se uma área de pesquisa independente e interdisciplinar, sendo que os seguintes fatores foram cruciais para o seu desenvolvimento (Kaim e Scwedeński, 1994):

a) Procedimentos de isolamento e purificação bioquímica, tais como, cromatografia e novos métodos físicos para análise de elementos traço, como espectroscopia de absorção ou emissão atômica, os quais requerem uma pequena quantidade de amostra a ser analisada e possibilitam não somente a detecção, como também a caracterização química e funcional destes elementos traço ou íons metálicos presentes em materiais biológicos.

b) Esforços para elucidar o mecanismo de reações orgânicas, inorgânicas e bioquímicas têm levado ao conhecimento e/ou melhor entendimento de funções biológicas de vários elementos inorgânicos. Destaca-se aqui a subárea que engloba o desenvolvimento de compostos de baixa massa molecular, que sejam capazes de modelar características estruturais/funcionais de inúmeros sistemas biológicos.

c) Por fim, o rápido progresso da Química Bioinorgânica no estudo das funções, processamento, armazenagem e aplicação dos íons metálicos e seus complexos em sistemas biológicos foi possível através de contribuições vindas das mais diversas áreas, como:

- i. Física – técnicas para detecção e caracterização.
- ii. Biologia molecular e celular – fornecimento de material e mutageneses.
- iii. Agricultura e ciências nutricionais – efeitos dos elementos inorgânicos.
- iv. Farmacologia – interações entre drogas e substâncias inorgânicas.

- v. Medicina – diagnósticos, terapias antitumorais e agentes de contraste.
- vi. Toxicologia e ciências ambientais – toxicidade dos compostos inorgânicos e estudo do problema das concentrações a serem utilizadas.

1.1 RELEVÂNCIA DOS COMPOSTOS MODELO

Muitas das informações conhecidas acerca do papel dos metais nos sistemas naturais são obtidas através de estudos comparativos entre metaloenzimas e modelos sintéticos.

De fato, estudos com complexos modelo têm sido feitos, visando mimetizar as propriedades estruturais e/ou funcionais dessas metaloenzimas, tais como, distâncias intermetálicas, assimetria e geometria em torno de cada centro metálico, com a presença de sítios lábeis essenciais para a ligação do substrato e/ou nucleófilos disponíveis para iniciar o processo catalítico. Dessa maneira, através de análises estruturais/espectroscópicas, bem como de estudos detalhados de reatividade em compostos modelo, é possível se propor o mecanismo mais provável envolvido no processo catalítico investigado. Em alguns casos, tais informações podem ser extremamente úteis para elucidar o mais provável mecanismo associado a enzima nativa (Greatti, *et al.*, 2008; Gichinga e Striegler, 2008; Neves, *et al.*, 2002).

Compostos modelo de baixo peso molecular são frequentemente sintetizados por químicos inorgânicos, visando simular propriedades estruturais, espectroscópicas e de reatividade dos sistemas biológicos. Estes estudos são apropriados para sistemas que possuem detalhes principalmente estruturais já descritos na literatura, mas não são totalmente conhecidos (Kaim e Schwederski, 1994).

Nesse contexto, faz-se necessária a colaboração dos bioquímicos, uma vez que o planejamento e o desenvolvimento desses novos compostos iniciam-se com a caracterização da enzima a ser modelada, ou seja, com o isolamento, a purificação e a análise detalhada das propriedades físico-químicas e estruturais de seu sítio catalítico, presente na primeira esfera de coordenação.

A partir destas informações, inicia-se um processo de projeção e desenvolvimento de compostos orgânicos (ligantes), com funções químicas semelhantes aos resíduos de aminoácidos presentes no sítio catalítico da enzima.

Uma vez obtidos e caracterizados os ligantes de interesse, parte-se para a obtenção, caracterização e reatividade dos compostos de

coordenação. A comparação das propriedades físico-químicas, estruturais e catalíticas do composto de coordenação sintético com as propriedades da metaloenzima de interesse permitem considerá-los (ou não) bons modelos sintéticos para tal enzima.

Diante dessa metodologia, o trabalho do químico bioinorgânico consiste em uma sistematização na síntese de ligantes que possuam grupos doadores análogos aos aminoácidos presentes no sítio catalítico da enzima, afim de que os complexos sintetizados a partir destes ligantes exibam as características físicas, estruturais e funcionais desejadas. Caso o complexo não apresente características satisfatórias como um bom modelo biomimético, uma nova investigação sistemática deve ser iniciada. Sendo assim, a primeira etapa de um projeto bioinorgânico deve ser a escolha do sistema biológico (metaloenzima) a ser mimetizado e que desempenhe a atividade catalítica de interesse. Para tanto, faz-se necessário algum conhecimento básico sobre esses elaborados compostos de coordenação, denominados metaloenzimas (Kaim et al., 1994; Lippard et al., 1994).

1.2 METALOENZIMAS

As enzimas são um grupo de substâncias orgânicas, geralmente de natureza protéica, com atividades intra ou extracelular, que tem funções catalisadoras nos processos vitais, apresentando um alto grau de seletividade. Sem a sua presença grande parte das reações químicas aconteceria a uma velocidade demasiadamente baixa. (Lippard, 1994; Roat-Maloner, 2002; Reedjik, 1993).

As metaloenzimas são enzimas que incorporam um ou mais íons metálicos na sua estrutura. O íon não participa da enzima apenas durante o tempo de existência do complexo enzima-substrato, mas é parte permanente dela, estando presente no seu sítio ativo (o sítio da ligação do substrato com a enzima), ou perto dele, e tem influência sobre a atividade enzimática (Holm et.al, 1996; Berg et al., 2001). Estes sítios são constituídos por cadeias protéicas laterais ligadas ao metal, ligações intermetálicas endógenas e exógenas e ligantes terminais. Todos esses elementos constituem a primeira esfera de coordenação do metal (Holm *et al.*, 1996).

Normalmente, os metais são encontrados como constituintes naturais nas proteínas. Na verdade, a natureza aprendeu a utilizar propriedades especiais dos metais para realizar uma ampla variedade de funções associadas aos sistemas vivos. Metaloproteínas que realizam

funções catalíticas são denominadas de metaloenzimas, constituindo então uma classe especial de compostos bioinorgânicos.

As proteínas são compostas de 20 (vinte) aminoácidos, muitos dos quais possuem átomos doadores de elétrons adequados à quelação de íons metálicos. Como se sabe a partir da química de coordenação, a ligação desses íons a sítios ativos pode diminuir os valores de pK_a s de prótons ionizáveis presentes nessas moléculas de forma significativa (Lippard e Berg, 1994).

As interações entre íons metálicos e biomoléculas são, geralmente, da mesma natureza das existentes em complexos, e por isso são tratadas de acordo com as teorias da química de coordenação. Sendo assim, as propriedades das biomoléculas que contém metais dependem do número e distribuição de elétrons de valência nos orbitais d (Cowan, 1993).

Os aminoácidos que normalmente funcionam como ligantes são a cisteína e a metionina (ligadas pelo enxofre ao metal), a histidina (ligada pelos nitrogênios ϵ e δ do anel imidazólico), o aspartato e o glutamato (ligados pelos grupos carboxilatos) e a tirosina (ligada ao metal pelo oxigênio fenólico). Com a exceção da tirosina, tem-se observado que os demais podem atuar como ligante-ponte entre dois íons metálicos ou como ligantes terminais de um íon metálico simples (Lippard e Berg, 1994; Cowan, 1993).

Além dos ligantes disponíveis nas cadeias laterais dos aminoácidos, os metais também podem se ligar a grupos carbonila dos peptídeos, a átomos de nitrogênio desprotonados da ligação peptídica e aos segmentos amino N terminais e carboxil C-terminais da proteína em questão (Lippard e Berg, 1994).

De acordo com a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB), as enzimas são divididas em seis grandes grupos, de acordo com a reação que catalisam (Voet e Voet, 1995):

1 – Oxirredutases: catalisam reações de oxidação-redução. O substrato que é oxidado é considerado um doador de hidrogênio ou elétrons. O termo oxidase é usado apenas nos casos onde o O_2 é o receptor.

2 – Transferases: catalisam a transferência de um grupo (metil, glicosil, etc.) de um composto (normalmente chamado de doador), para outro composto (receptor).

3 – Hidrolases: catalisam a clivagem hidrolítica de C-O, C-N, C-C e outras ligações, incluindo ligações anidrido fosfórico. Embora o nome sistemático sempre inclua “hidrolase”, o nome comum é, em muitos casos, formado pelo nome do substrato mais o sufixo “ase”.

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

5 – Isomerases: catalisam a transferência de grupos dentro de uma molécula, promovendo variações estruturais ou geométricas. De acordo com o tipo de isomerismo elas podem ser chamadas de: racemases, cis-trans-isomerases, tautômerases, mutases, entre outros.

6 – Ligases: catalisam a ligação simultânea de duas moléculas acopladas à hidrólise de ligações difosfato de ATP.

Nas últimas décadas, os químicos bioinorgânicos têm se empenhado no estudo dos íons metálicos relacionados à medicina, ou seja, nos distúrbios causados pela falta ou pelo excesso desses íons nos sistemas vivos, bem como no desenvolvimento de novos fármacos para a cura de doenças (Lippard 1994).

Vários radioisótopos são utilizados na preparação de radiofármacos, (fármacos radioativos utilizados no diagnóstico ou tratamento de patologias e disfunções do organismo Humano), entre os quais o tecnécio-99m apresenta características físicas ideais para aplicação em Medicina Nuclear Diagnóstica. Uma vez administrado ao paciente, o radiofármaco deposita-se no órgão ou tecido alvo e imagens podem ser adquiridas a partir da detecção da radiação proveniente do paciente, utilizando-se equipamentos apropriados. Trata-se de um procedimento não invasivo, que possibilita avaliações anatômicas, morfológicas e funcionais (Araújo, 2005).

Atualmente, muitas informações sobre o papel dos metais nos sistemas naturais são fornecidas através de estudos comparativos entre metaloenzimas e compostos metálicos. Desta forma, metaloenzimas como as Fosfatases Ácidas Púrpuras (PAP's) e as Fosfatases Alcalinas (AP's) têm sido utilizadas como excelente ponto de partida no desenvolvimento de uma classe de complexos metálicos sintéticos, conhecida como hidrolases sintéticas e/ou nucleases químicas.

Nesse contexto, uma das áreas de grande interesse é a do desenvolvimento de novos complexos capazes de hidrolisar cataliticamente algumas das mais importantes biomoléculas, tais como as proteínas, os fosfolípidios, os anidridos de fosfato (ATP), os ésteres de fosfato e os ácidos desoxirribonucleico (DNA) e ribonucleico (RNA). (Cowan, 2001).

A hidrólise biomimética do DNA e RNA é de extrema importância para biotecnologia e medicina. A habilidade em clivar ácidos nucleicos eficientemente, de uma maneira não degradativa e com altos níveis de seletividade, oferece muitas aplicações para a

manipulação de genes, o desenho de sondas estruturais/conformacionais, além de potenciais agentes terapêuticos (Cowan, 2001).

Embora um grande número de hidrolases naturais seja conhecido, a procura por pequenas moléculas capazes de clivar ligações fosfodiéster em modelos e no DNA tem recebido atenção especial na tentativa de elucidar os mecanismos das reações de clivagem, assim como sua aplicabilidade como enzimas de restrição sintéticas, sondas conformacionais e catalisadores.

Atualmente, as estratégias utilizadas para o desenvolvimento de novas nucleases sintéticas podem ser obtidas dos sistemas naturais, que em sua maioria são enzimas que apresentam dois íons metálicos em seu sítio ativo e, portanto, os utilizam no processo catalítico. Acredita-se que um dos centros metálicos seja utilizado para ativar o substrato e que o outro atue como um ácido de Lewis, diminuindo o pK_a da água coordenada e estabilizando a carga acumulada sobre o grupo abandonador. Acredita-se também que ambos atuem juntos ancorando o substrato e fornecendo a estabilização eletrostática no estado de transição pentacovalente (Hegg e Burstyn, 1998). Entretanto, deve-se salientar que a presença de dois íons metálicos não é uma exigência, uma vez que algumas nucleases, incluindo a ribonuclease H e a *EcoRI* endonuclease, necessitam de apenas um único íon metálico para suas atividades catalíticas.

Tendo em vista todos os fatores apresentados anteriormente, novos compostos capazes de clivar ligações fosfodiésteres e/ou DNA têm sido investigados nas últimas décadas. Vários são os tipos e o número de íons metálicos utilizados nestes sistemas, sendo os mais estudados complexos com Ni^{II} , Cu^{II} , Zn^{II} , Co^{II} , Fe^{III} e lantanídeos (Chin, 1991; Blaskó e Bruice, 1999; Osório et al., 2012; Williams *et al.*, 1999).

Complexos mononucleares utilizando-se vários tipos de ligantes têm sido amplamente investigados quanto à sua capacidade em hidrolisar ésteres de fosfato. Nesse contexto, destacam-se os trabalhos realizados com aminas tripodais e tridentadas (Morrow e Trogler, 1988; Wahnou *et al.*, 1994; Young *et al.*, 1995; Itoh *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 1999; Kurosaki *et al.*, 2000; Ibrahim *et al.*, 2001), e com macrocíclicos (Hegg e Burstyn, 1998; Itoh *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 1999; Kurosaki *et al.*, 2000; Ibrahim *et al.*, 2001; De Rosch e Trogler, 1990; Hegg e Burstyn, 1996; Bazzicalupi et al., 1999; Deal e Burstyn, 1996; Tao e Song, 1999), com contribuição especial dos trabalhos realizados por Burstyn e colaboradores (Hegg e Burstyn, 1998; Hegg e Burstyn, 1996; Deal e Burstyn, 1996) e por Chin e colaboradores (Wahnou *et al.*, 1994; Young *et al.*, 1995).

Complexos binucleares também têm sido empregados na hidrólise de ésteres de fosfato destacando-se o extenso trabalho com complexos de Co^{III} realizado por Chin e colaboradores (Williams et al., 1998; Chin e Zou, 1988), os trabalhos de Schnaith e colaboradores (1994), Toia e colaboradores (1997), Neves e colaboradores (2001) (complexos de Fe^{III}) e Molenveld e colaboradores (Molenveld et al., 1998; Molenveld et al., 2000) (complexos de Cu^{II} empregando ligantes derivados do calix[4]arenos).

Baseados em sistemas modelos e em hidrolases naturais, Sargeson e colaboradores (Hendry e Sargenson, 1989) concluíram que um íon metálico no sítio cataliticamente ativo de uma hidrolase sintética deve ser capaz de: (a) fornecer dois sítios lábeis *cis*-orientados para coordenar ambos o substrato e uma molécula de água; (b) reduzir o pKa de uma molécula de água coordenada, isto é fornecer um nucleófilo hidróxido ligado ao metal em pH próximo de neutro; (c) ativar o substrato através de um ataque nucleofílico e/ou estabilizar o estado de transição; (d) liberar os produtos a uma velocidade razoável. Portanto, atualmente, estes quatro itens representam as bases para o desenvolvimento de novos complexos que possam agir como nucleases químicas.

A modelagem da reatividade de enzimas como as metalohidrolases/nucleases é então uma área em constante desenvolvimento e a busca por novos e eficientes catalisadores faz-se de extrema relevância.

1.3 MODELOS RELEVANTES PARA HIDROLASES

Baseados nos estudos realizados com as fosfohidrolases abordadas anteriormente, os químicos bioinorgânicos têm sintetizado complexos modelos enfocando os seguintes pontos característicos dessas enzimas: a presença de sítios catalíticos binucleares separados por distâncias médias de 3,5 Å e unidos, no caso das PAPs, por grupamentos ponte exógenas (hidróxido modelado); a assimetria dos centros metálicos devido aos diferentes resíduos de aminoácidos que fornecem átomos de oxigênio e nitrogênio para a interação com os metais e a disponibilidade de sítios lábeis necessários ao processo catalítico (Than et al., 1999).

No caso de modelos para as PAPs, para satisfazer a condição de dois sítios metálicos separados por uma distância média, o uso de ligantes binucleantes tem sido uma estratégia promissora e bem sucedida, devido ao seu efeito quelante e à formação previsível de

centros binucleares. Como estratégia básica para a obtenção desse tipo de ligante, dois tipos diferentes de “unidades centrais” têm sido empregadas, as quais originam complexos binucleares com pontes μ -alcoxo e μ -fenoxo (Hendry e Sargenson, 1989; Than *et al.*, 1999; Osório *et al.*, 2012; Neves *et al.*, 1992; Neves *et al.*, 1996; Neves *et al.*, 1995; Neves *et al.*, 1999).

A assimetria dos centros metálicos tem sido explorada apenas recentemente utilizando-se ligantes não-simétricos, os quais resultam em diferentes acidez de Lewis nos centros metálicos. Em complexos modelos para as PAPs os resíduos de aminoácidos presentes nas metaloenzimas têm sido mimetizados pelos grupos benzimidazol, fenol, piridina e alquilas (Hendry e Sargenson, 1989; Than *et al.*, 1999; Osório *et al.*, 2012; Neves *et al.*, 1992; Neves *et al.*, 1996; Neves *et al.*, 1995). A presença do resíduo ponte aspartato pode ser mimetizada por pontes exógenas do tipo acetato, as quais após hidrólise também podem ser úteis no fornecimento de sítios lábeis (moléculas de água) (Hendry e Sargenson, 1989; Than *et al.*, 1999; Osório *et al.*, 2012).

Estudos com complexos modelos têm sido descritos objetivando mimetizar aspectos estruturais e/ou funcionais das hidrolases/nucleases sintéticas, como a distância entre os centros metálicos, a presença de um grupo exógeno (hidróxido), a assimetria e o ambiente de coordenação dos centros metálicos, bem como a presença de sítios lábeis, essenciais ao processo catalítico.

O grande desafio que se apresenta é o de elucidar o mecanismo através do qual ocorre a catálise e, desta forma, explicar questões, como, por exemplo, a forma de coordenação do substrato ou a proveniência do hidróxido responsável pelo ataque nucleofílico.

Neves e colaboradores têm reportado complexos homo e heterobinucleares com base no ligante não simétrico $H_2BPBPMP$ (Figura 1), capazes de atuar na hidrólise do substrato modelo bis(2,4-dinitrofenilfosfato) (2,4-BDNPP).

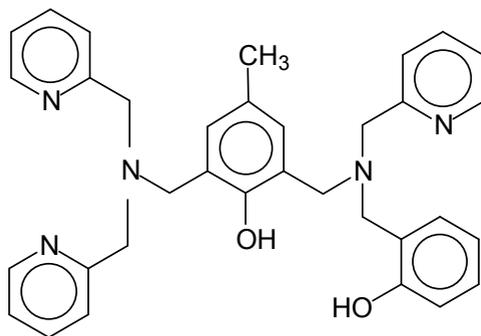


Figura 2 - Ligante H₂BPBPMP (Batista et al 2003).

Foram reportados complexos de Fe^{III}Mn^{II} (Karsten *et al.*, 2002), Fe^{III}Fe^{III} (Neves *et al.*, 1996), Fe^{III}Fe^{II} (Neves *et al.*, 1995), Fe^{III}Zn^{II} (Lanznaster *et al.*, 2002; Albedyhl *et al.*, 2001; Lanznaster *et al.*, 2003), Fe^{III}Ni^{II} (Batista *et al.*, 2003), Fe^{III}Cu^{II} (Lanznaster, 2003; Lanznaster *et al.*, 2005), Ga^{III}Zn^{II} e Ga^{III}Cu^{II} (Casellato, 2003) entre outros, envolvendo estudos de reatividade frente à hidrólise do 2,4-BDNPP (Bunton e Farber, 1969) e os complexos binucleares com o ligante H₂BPBPMP.

Dentre estes, o que apresentou maior atividade na hidrólise do substrato 2,4-BDNPP foi o complexo [Fe^{III}Cu^{II}(BPBPMP)(OH)(H₂O)](ClO₄)₂, com os seguintes parâmetros cinéticos: V_{máx} = 6,6x10⁻⁸ mol.L⁻¹.s⁻¹, K_M = 15,0x10⁻³ mol.L⁻¹, k_{cat} = 16,5x10⁻⁴ s⁻¹ e um fator de aceleração sobre a reação não catalisada de 9200 vezes (Lanznsater, 2003).

Também foram descritos complexos binucleares de Cu^{II} como modelos relevantes para hidrólise de ésteres de fosfato por Neves e colaboradores (Rossi *et al.*, 2005), utilizando os ligantes H₃bbppnol e H₂btppnol (Figura 2).

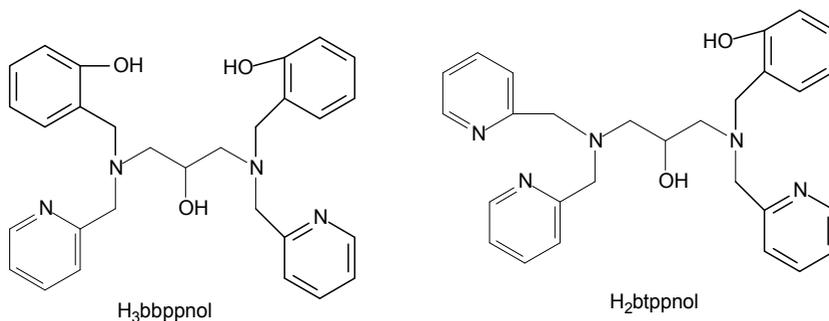


Figura 3 – Ligantes $H_3bbppnol$ e $H_2btppnol$ (Rossi *et al.*, 2005).

Recentemente nosso grupo de pesquisa descreveu dois complexos binucleares de cobre^{II} contendo os ligantes N,N,N' -[tris-(2-piridilmetil)]- N -[(2-hidróxi-3,5-di-*terc*-butilbenzil)] 1,3-propanodiamina-2-ol – L_1 , e N,N -[bis-(2-piridilmetil)]- N',N' -[(2-hidróxibenzil) (2-hidróxi-3,5-di-*terc*-butilbenzil)] 1,3-propano diamina-2-ol – L_2 os quais tiveram uma eficiência catalítica de aproximadamente 800 e 1400 vezes, respectivamente, frente à hidrólise do substrato 2,4-BDNPP, quando comparados à reação não catalisada (Osório *et al.*, 2012). A presença dos grupos elétron-doadores, *terc*-butil, nos complexos descritos acima, provocou mudanças bastante significativas na atividade catalítica de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP, quando comparado aos complexos descritos por Neves e colaboradores (Rossi *et al.*, 2005). Além disso, a dupla ativação eletrofílica do fosfodiéster coordenado de maneira monodentada ao centro de cobre^{II} que contém um grupo fenol com substituintes *terc*-butil e ligações de hidrogênio entre o fenol protonado e o átomo de oxigênio do fosfato, são propostos como responsáveis pelo aumento da atividade de hidrolase (K_{ass} e k_{cat}), em comparação ao complexo já descrito na literatura (Rossi *et al.*, 2005).

Um mecanismo foi proposto (Figura 3) para a hidrólise do 2,4-BDNPP catalisada pelos complexos descritos, mostrando que a reação ocorre através da formação de um complexo ternário, no qual o substrato está ligado a um dos centros de Cu^{II} , e o segundo centro de cobre^{II} possui um ligante hidróxido terminal, que promove o ataque nucleofílico, ocorrendo a catálise.

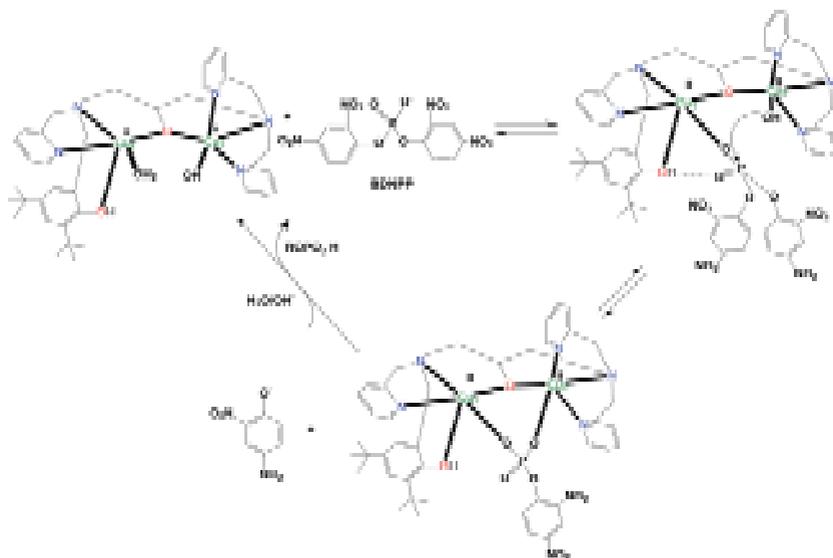


Figura 4 – Mecanismo proposto por Osório e colaboradores (2012) para a hidrólise do 2,4-BDNPP.

1.4 DNA, INTERCALANTES E NUCLEASES QUÍMICAS

Em 1868 Mieschen (Richards e Rodger, 2007) isolou primeiramente o núcleo celular de células purulentas e observou a presença de compostos contendo fósforo. Os ácidos nucleicos existentes foram encontrados na hidrólise, resultando nas bases purinas: adenina e guanina e nas bases pirimidinas: timina e citosina (Figura 4). Em 1950, Chargaff observou que a proporção molar total de purinas e de pirimidinas era de 1:1, e que no ácido desoxiribonucleico (DNA), a quantidade de adeninas e timinas era equivalente á de guaninas e citosinas (Richards e Rodger, 2007).

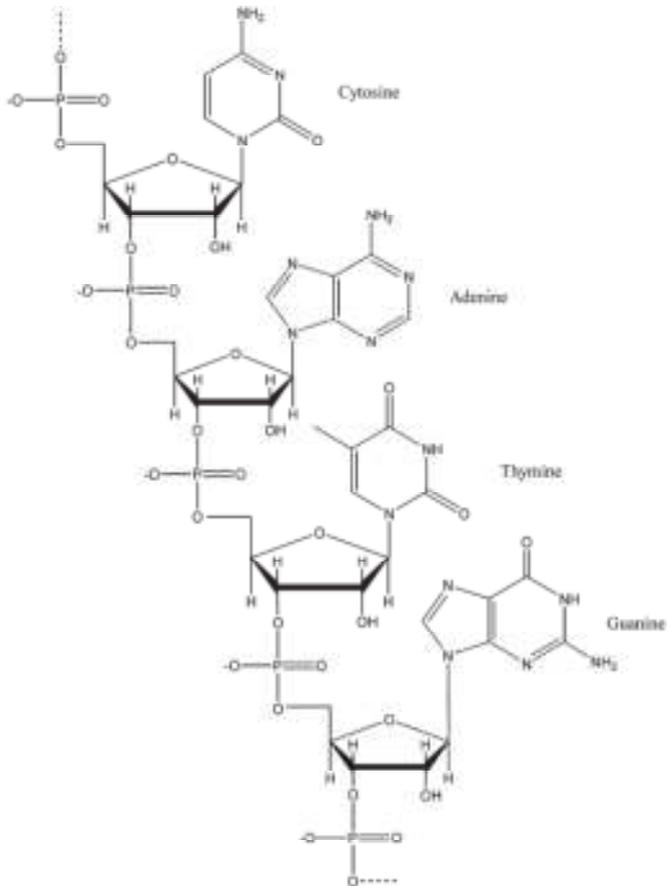


Figura 5 – As quatro bases do DNA, mostrando sua conectividade ao esqueleto açúcar-fosfato.

Três anos depois, Watson e Crick (Watson and Crick, 1953) propuseram a estrutura do DNA, a partir de duas cadeias helicoidais, consistindo de grupos diéster de fosfato, ligados a resíduos deoxiribofuranos, mantendo juntas as bases purinas e pirimidinas. A combinação da base e do açúcar é chamada nucleosídeo, o qual após adição de um grupo fosfato passa a ser chamado nucleotídeo.

Watson e Crick também sugeriram que as duas cadeias helicoidais eram mantidas juntas em pares, através da ligação de um hidrogênio de uma simples base à uma simples base da outra cadeia,

baseado na regra de Chargaff, na qual uma base deve ser uma purina (A ou G) e a outra deve ser uma pirimidina (T ou C). Além disso, concluíram que os pares normais de bases são adeninas ligadas á timinas e guaninas á citosinas (Watson and Crick, 1953).

Os pares de bases são planares, mas podem se localizar uns sobre os outros. A molécula de DNA é então representada como uma escada espiral com os pares de bases formando os degraus. Nos sistemas biológicos, existe principalmente na forma conhecida como β -DNA, apresentando uma estrutura helicoidal que gira para a direita e os pares de base são perpendiculares aos eixos das hélices, conforme ilustrado na Figura 5, com um ângulo de rotação de 36° a cada novo par de bases. As desoxirriboses localizam-se externamente e as bases nitrogenadas ficam orientadas para o interior.

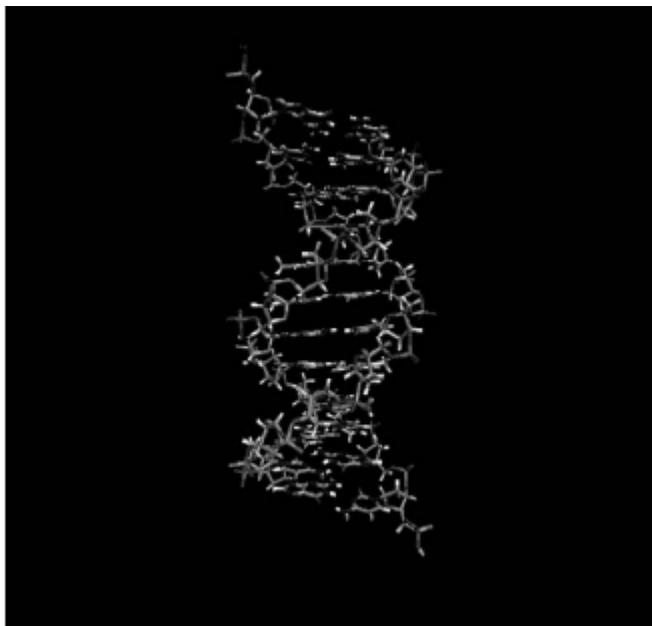


Figura 6 – Representação esquemática da dupla fita do DNA.

O DNA (ácido desoxirribonucléico) e o RNA (ácido ribonucléico) são os reservatórios moleculares da informação genética. Um gene é um fragmento de DNA responsável pela produção de uma proteína específica ou RNA.

Uma vez que as duas unidades açúcar-fosfato se retorcem em uma conformação helicoidal em torno do pacote de par de bases central, são formadas duas regiões bem definidas na “espinha dorsal” do DNA denominadas sulco maior e sulco menor (Figura 6). Devido à característica de pareamento as duas fitas de DNA são ditas complementares. Essa propriedade garante a replicação precisa do DNA e a transmissão das informações genéticas via transcrição onde uma fita de DNA serve como molde para a síntese de novas moléculas complementares.

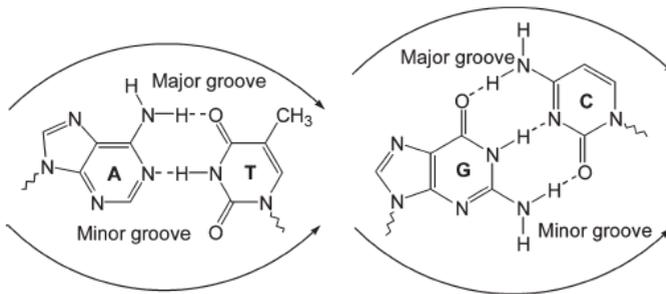


Figura 7 – Pares de bases adenine-timina e guanine-citosina, mostrando os sulcos maior e menor. As linhas onduladas indicam as ligações com os açúcares.

A extrema estabilidade do esqueleto do DNA, cujo tempo de meia-vida estimado é da ordem de 10^6 anos, se deve à alta carga negativa concentrada no esqueleto polianiónico das ligações fosfodiésteres. Diante disso, os sistemas biológicos têm desenvolvido nucleases que catalisam a clivagem e o reparo de fitas do DNA, promovendo a neutralização de cargas a partir de ligações com metais. A maioria das nucleases são metaloenzimas constituídas de ácidos de Lewis relativamente duros, tais como Ca^{II} , Mg^{II} e Zn^{II} , capazes de ativar a ligação P-O, além de promoverem a geração de nucleófilos aquosos (Adams *et al.*, 1986).

Três modos diferentes de ligação ao DNA por metalomoléculas podem ser identificados: associação externa não específica, ligação pelos sulcos maior ou menor e intercalação entre as bases do DNA (Richards e Rodger, 2007; Adams *et al.*, 1986; Eha *et al.*, 2002).

Na associação externa, ocorrem basicamente interações eletrostáticas, devido à carga que as moléculas metálicas apresentam, as quais interagem com o esqueleto de fosfato carregado negativamente do DNA, formando estruturas agregadas ou condensadas que são difíceis

de separar, acabando por dificultar a regeneração do DNA, interferindo na sua função.

Já algumas moléculas que se ligam ao DNA, em função do seu tamanho, flexibilidade, potencial eletrostático e hidrofiliçidade têm preferência quanto a se ligar ao sulco menor, porém esses ligantes exercem pouco efeito na estrutura do DNA ao qual se combinam, não apresentando diferença, por exemplo, nos espectros de dicroísmo circular.

A intercalação ocorre quando ligantes de natureza química e tamanho apropriado, encaixam-se entre dois pares de bases consecutivos do DNA. Estes ligantes são normalmente policíclicos, aromáticos e planares e são usados em tratamentos quimioterápicos para inibir a replicação do DNA em células cancerosas que se desenvolvem rapidamente (Eha *et al.*, 2002).

Intercalação do DNA foi definida por Mainwaring *et.al.* como um sanduíche de uma molécula entre dois pares de bases adjacentes na dupla hélice do DNA. Após se ligar, eles esticam e desenrolam o esqueleto açúcar-fosfato e são estabilizados por interações π - π stacking com as bases planares (Richards e Rodger, 2007).

Para que um intercalante se ligue de maneira apropriada entre os pares de bases, o DNA precisa abrir dinamicamente um espaço entre os seus pares de bases por desenovelamento. O grau de desenovelamento varia dependendo do tamanho do intercalante, por exemplo, o brometo etídico desenovela o DNA aproximadamente 26°, enquanto a proflavina desenovela apenas 17°. Esse desenovelamento causa uma separação dos pares de bases, criando uma abertura de cerca de 0,34 nm (3,4 Å), o que acaba por provocar mudanças estruturais na fita do DNA, como uma diminuição na torsão entre as camadas de pares de bases, no comprimento do DNA, ao enrijecimento das hélices e uma diminuição em massa por comprimento em cada unidade. Essas mudanças estruturais podem levar à mudanças funcionais, como a inibição de processos reparadores do DNA durante a replicação e transcrição, o que torna os agentes intercalantes potenciais agentes mutagênicos e cancerígenos (Richards e Rodger, 2007).

Esses efeitos são totalmente reversíveis após a remoção dos intercalantes, contanto que a estrutura duplex do DNA não seja destruída durante o processo de remoção.

Um dos principais problemas na quimioterapia do câncer é a citotoxicidade limitada da dose das drogas, a qual é atribuída á sua falta de seletividade no ataque às células cancerosas, pois a intenção é que a

droga seja tóxica para as células cancerosas, porém inofensiva para as células boas. Consequentemente, há um interesse muito grande no desenvolvimento de agentes anti-câncer que não apenas tenham uma alta citotoxicidade, mas também seletividade para as células cancerosas sem afetar tecidos saudáveis. A toxicidade indica quão nociva é uma substância quando penetra no organismo, por ingestão, inalação ou absorção cutânea (Hartley *et al.*, 1995).

Alguns grupos de pesquisa vêm então desenvolvendo estratégias para resolver o problema da toxicidez, utilizando para isto, drogas fotoativáveis, as quais podem ser seletivamente ativadas pela luz apenas nos tecidos alvo. Dentre estas drogas estão alguns agentes intercalantes, os quais exercem sua função após iluminação ou em sua maioria, por serem moléculas fluorescentes, são facilmente localizados após aplicação de luz adequada (Hartley *et al.*, 1995).

Lembrando que durante a absorção de radiação eletromagnética UV/Vis, algumas moléculas são elevadas a um estado eletrônico excitado. A maioria das moléculas dissipa este excesso de energia na forma de calor pela colisão com outras moléculas. Mas algumas emitem parte deste excesso energético como luz em um comprimento de onda diferente daquele correspondente à radiação absorvida. Quando a luz emitida pelo decaimento para o estado eletrônico fundamental (S_0) é proveniente de uma transição entre estados eletrônicos de mesma multiplicidade, ou seja, permitidas pela regra da conservação do spin, tem-se o fenômeno da fluorescência.

Um dos candidatos mais promissores para agir como intercalante é o pireno, pois ele possui praticamente a mesma área superficial de uma base regular de Watson-Crick, o que leva a uma maior estabilização através de interações π -stacking com pares de bases vizinhos.

Uma das principais características do pireno é a de formar um dímero estável no estado excitado, o excímero, resultante do encontro a uma distância de contato de $\approx 3\text{\AA}$ entre uma molécula de pireno no estado singleto excitado e uma molécula de pireno no estado fundamental. A existência e formação do excímero do pireno em solução foi primeiramente observada por Förster e Kasper (1955), que observaram a existência de uma banda adicional no espectro de emissão de fluorescência, para além da emissão usual da molécula (o chamado monômero do pireno) (De Melo, 2006).

Esta nova espécie emite em comprimentos de onda superiores à do monômero do pireno. De uma forma geral, o excímero do pireno emite com máximos de emissão em $\approx 480\text{ nm}$, enquanto que o

monômero emite em comprimentos de onda mais baixos ≈ 370 nm. Para derivados do pireno, estes valores dependem da posição e do tipo de substituição. Para formar o excímero, as duas moléculas têm de adotar uma geometria de face-a-face também designada de conformação em sanduíche. Este tipo de estrutura permite uma maior sobreposição dos orbitais π estabilizando o complexo formado.

A importância dos excímeros, na caracterização de vários sistemas, deve-se ao fato da sua formação estar dependente das características do meio em que se encontra e destas se refletirem na sua intensidade de emissão de fluorescência e, mais frequentemente, na razão da sua intensidade de emissão relativa à do monômero (correntemente conhecida como razão IE / IM). A formação de excímero pode efetuar-se intermolecularmente (necessitando-se para isso concentrações da ordem dos 10^{-2} - 10^{-3} M) ou intramolecularmente (aqui a concentração do pireno necessária para originar excímero pode ser muito mais baixa $\approx 10^{-6}$ - 10^{-7} M).

Quando englobado (por ligação covalente ou apenas adição) a outros sistemas, o pireno desempenha, como sonda fluorescente, um papel de grande relevância na investigação de propriedades físico-químicas de polímeros (estudos conformacionais), surfactantes (determinação de CMC), etc. No entanto, a utilização do pireno como sonda de fluorescência não se restringe à necessidade de existência de excímero (De Melo, 2006).

1.5 REAÇÕES DO DNA COM METALOINTERCALANTES

Além das já conhecidas propriedades espectroscópicas dos complexos metálicos, utilizados entre várias outras coisas, como sondas espectroscópicas, estes compostos oferecem também uma rica reatividade, particularmente no contexto da química redox. Esta química pode ser controlada com metalointercalantes e produzir uma ampla variedade de reações com DNA (Fernandez *et al.*, 2007; Erkkila *et al.*, 1999).

(a) CLIVAGEM OXIDATIVA DIRETO NA FITA: REAÇÕES COM AÇÚCAR

Muitos complexos degradam o DNA através de um mecanismo envolvendo a abstração de um átomo de hidrogênio a partir de um açúcar adjacente para o sítio ligante. Moléculas que se ligam pelo sulco menor, como bis(1,10-fenantrolina)cobre^I, Fe^{II}-bleomicina e centros

metálicos contendo porfirinas, promovem a cisão direta da fita de DNA a partir da abstração de hidrogênio C1', C4', ou C5' do anel ribose.

Complexos de cobre são capazes de clivar oxidativamente a dupla fita do DNA. Agentes químicos que preferencialmente clivam a dupla fita do DNA criam lesões que são muito mais difíceis para as células de serem reparadas, que as cisões causadas apenas em uma fita. Além disso, diferentemente da clivagem hidrolítica, os fragmentos gerados por esse mecanismo (radicais livres), podem vir a promover consideráveis danos periféricos à célula, não podendo ser religados pela ação das ligases (González-Álvarez *et al.*, 2008).

Apesar disso, a presença de radicais livres é uma característica fundamental em vários processos biológicos, geralmente associados com enzimas que fazem uso estratégico da sua eficiente reatividade química, por exemplo, na ativação de ligações, em rearranjos moleculares e em processos catalíticos. Embora historicamente o foco inicial do estudo dos radicais livres estivesse sempre relacionado aos seus efeitos deletérios, atualmente se reconhece que os mesmos também desempenham um importante papel em muitos processos essenciais à vida como a replicação do DNA, respiração e fotossíntese. Atuam como elementos chave nos mecanismos de uma ampla variedade de enzimas, incluindo a citocromo c peroxidase, galactose oxidase, entre outras.

(b) REAÇÕES OXIDATIVAS COM AS BASES DO DNA

Danos oxidativos às bases do DNA geralmente ocorrem nas guaninas, as quais possuem o menor potencial de oxidação de todas as bases. Os danos à essas bases não causam a cisão direta da fita.

A clivagem oxidativa do DNA pode ocorrer por um dos quatro seguintes caminhos: (i) pela transferência direta de elétrons de uma guanina para um complexo metálico ligado, (ii) por oxo transferência, (iii) como resultado de reações com oxigênio singlete, o qual é formado após sensibilização de um metalintercalante ligado ao DNA. Ou seja, complexos metálicos ligados ao DNA, podem gerar espécies de oxigênio singlete via transferência de energia de um estado excitado triplete do complexo metálico para O₂ e (iv) via transferência de elétrons mediada pelo DNA.

Nucleases naturais e complexos metálicos sintéticos que ativam oxigênio molecular para induzir modificações no ácido nucleico são de grande interesse, frente a grande disponibilidade fisiológica do oxigênio molecular (González-Álvarez *et al.*, 2008).

A clivagem oxidativa requer a presença de co-reagentes, além do principal agente clivador, como por exemplo, luz ou peróxido de hidrogênio, para iniciar a clivagem, o que os limita apenas a aplicações *in vitro*. Para eliminar a possibilidade de significantes efeitos colaterais citotóxicos pelas espécies reativas de oxigênio (ROS), mecanismos que resultam na clivagem hidrolítica do DNA são preferíveis, entretanto, as ligações fosfodiéster estão entre os grupos funcionais quimicamente mais inertes frente à hidrólise.

(c) CLIVAGEM HIDROLÍTICA DA FITA

As enzimas de restrição ou endonucleases de restrição, como também são conhecidas, são enzimas que clivam a molécula de DNA através do reconhecimento de seqüências nucleotídicas específicas. São enzimas bacterianas que atuam como "tesouras moleculares", reconhecendo seqüências de pares de bases específicas em moléculas de DNA e cortando-as nesses pontos. Elas são altamente específicas: cada tipo de enzima reconhece e corta apenas uma determinada seqüência de nucleotídeo, em geral constituída por 4, 6 ou 8 pares de bases nitrogenadas.

Uma endonuclease de restrição é como uma ferramenta que permite cortar moléculas de DNA de forma controlada e reproduzível. Diversos pesquisadores passaram a utilizar a nova técnica para mapear o genoma de outros vírus, depois de bactérias e de outros organismos, lançando as bases para a Engenharia Genética e, em seguida para o Projeto Genoma Humano.

Existem três tipos de enzimas de restrição: I, II ou III. A maioria das enzimas utilizadas hoje em dia são do tipo II, que têm o modo de ação mais simples. Estas enzimas são nucleases, e como cortam numa posição interna da cadeia de DNA, ao invés de iniciar a sua degradação a partir de uma das pontas, são chamadas endonucleases. Assim, a designação mais correta destas enzimas é endonucleases de restrição do tipo II, embora muitas vezes sejam simplesmente designadas como enzimas de restrição.

Nesse contexto, os sistemas modelos que clivam hidroliticamente o DNA podem ser utilizados como modelos de enzimas de restrição, apresentando vantagens com relação às enzimas de restrição naturais: poder alcançar regiões estericamente impedidas ou a possibilidade de clivar o DNA em sítios de restrição não reconhecidos pelas enzimas naturais resultando em um número menor de fragmentos, facilitando a separação dos mesmos.

A degradação hidrolítica do DNA por enzimas nucleases é uma reação biológica bastante importante e os íons metálicos desempenham um papel fundamental na mediação destes mecanismos de clivagem, entretanto, a hidrólise do DNA por moléculas pequenas acaba sendo dificultada devido a interações repulsivas dos grupos fosfato carregados negativamente frente ao nucleófilo que tenta se aproximar.

Vários metais de transição e cátions lantanídeos por serem carregados positivamente, têm demonstrado que aliviam esta interação repulsiva através da ligação direta na mesma esfera do metal com éster de fosfato, o que faz com que a atividade catalítica possa ser controlada pelos grupos funcionais coordenantes do ligante (Sreedhara *et al.*, 2000).

O elemento cobre está presente a níveis micromolares no soro e em outros fluidos biológicos e está intimamente associado aos ácidos nucléicos e cromossomos, onde se faz necessário na regulação da expressão gênica (Fernandez *et al.*, 2007).

O organismo humano possui duas principais fontes de ferro: a dieta e a reciclagem de hemácias senescentes. Uma dieta normal contém de 13 a 18 mg de ferro, dos quais somente 1 a 2 mg serão absorvidos na forma inorgânica ou forma heme pelo epitélio duodenal. A maior parte de ferro inorgânico é fornecida pelos vegetais e cereais e está presente na forma Fe^{III} . A solicitação da absorção de ferro pelo organismo promove uma maior expressão de proteínas envolvidas neste processo, como a proteína transportadora de metal divalente (DMT-1) e a ferroportina (FPT).

A importância biológica do ferro está associada ao transporte de oxigênio para as células. Está presente nas hemácias (responsáveis pela coloração vermelha do sangue) formada pelas moléculas de hemoglobina que contém o ferro e é responsável pela oxigenação dos organismos vivos, as alterações na presença do ferro ou a deficiência causa a anemia ou anemia falciforme que é hereditária.

Sendo assim, visando buscar novas e potentes metalonucleases artificiais, inúmeros grupos de pesquisa têm se empenhado no estudo das nucleases baseadas na química do cobre e do ferro, com potencial aplicação em terapias fotodinâmicas e como ferramenta na biologia molecular.

Apesar de suas interessantes propriedades fotoquímicas, apenas recentemente exemplos de sistemas contendo agentes intercalantes metalados ao íon cobre(II), atuando como clivadores do DNA, começaram a ser descritos na literatura. Estes agentes têm se mostrado importantes ferramentas na química dos ácidos nucléicos e medicina,

com aplicações em biotecnologia, terapias fotodinâmicas e em footprinting para estudar interações droga-DNA e DNA-proteínas.

1.6 COMPLEXOS MODELOS COMO NUCLEASES ARTIFICIAIS

1.6.1 COMPLEXOS MODELOS OXIDATIVOS

A descoberta da atividade de nuclease do complexo $[(\text{phen})_2\text{Cu}^I]$ (Figura 7) por Sigman e colaboradores (1979), despertou um grande interesse na investigação do modo de ligação e também no mecanismo de ação ocorridos durante o processo de clivagem do DNA. Este composto $[(\text{phen})_2\text{Cu}^I]$, na presença de H_2O_2 induz a clivagem da simples fita de DNA, através de um ataque oxidativo ao anel desoxirribose no sulco menor.

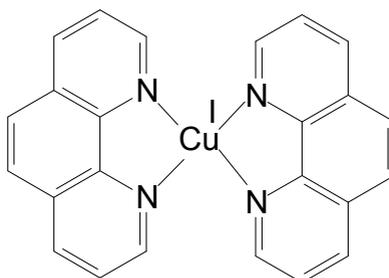


Figura 8 – Desenho esquemático complexo $[(\text{phen})_2\text{Cu}^I]$ (Sigman *et al.*, 1979).

Gude e colaboradores (2005) propuseram então a síntese de ligantes baseados na unidade central 1,10-fenantrolina ligados covalentemente a cromóforos como acridinas, antracenos, benzenos e naftalenos através de ligações amida, conforme Figura 8.

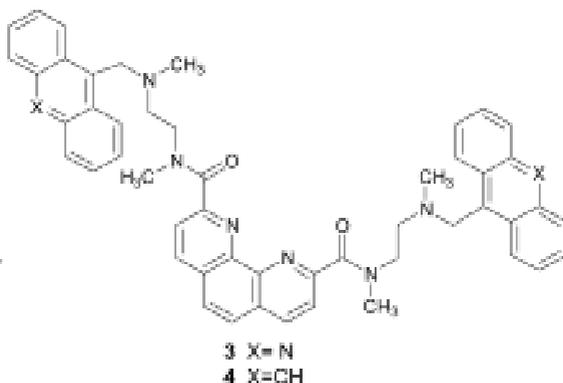


Figura 9 – Estrutura química do ligante baseado na unidade central 1,10-fenantrolina, contendo cromóforos acridina (Gude *et al.*, 2005).

Esses complexos contendo os cromóforos acridina e antraceno fotoclivaram eficientemente o DNA a pH 7,0 e 22 °C, podendo ser considerados fotonucleases e fornecendo valiosas informações para o desenvolvimento de novos compostos e possíveis aplicações *in vivo* dos mesmos.

Compostos baseados em acridinas correspondem a uma importante classe de drogas anticâncer intercalantes do DNA e são estruturalmente caracterizados pela presença de uma porção cromófora planar ou semi-planar, possivelmente responsável pela intercalação com DNA. Esses compostos são conhecidos por exibir uma ampla variedade de atividades biológicas com diferentes modos de ação, porém todos têm em comum a habilidade de se ligar firmemente, mas reversivelmente ao DNA por intercalação entre os pares de bases da dupla hélice. De fato, o conceito de intercalação foi primeiramente introduzido para explicar as interações de ligações reversíveis e não covalentes entre acridinas e DNA (kamal *et al.*, 2004).

Recentemente Peralta e colaboradores (2006) descreveram a síntese de complexos homodinucleares de cobre redox ativos contendo o ligante H₂Ldtb - {2-[N,N-Bis(2-piridilmetil)aminometil]-6-[N',N'-(3,5-di-*terc*-butilbenzil-2-hidroxi)(2-piridilmetil)] aminometil}-4-metilfenol, os quais foram testados frente ao DNA, apresentando um mecanismo oxidativo dependente de oxigênio. Reações de degradação fotoinduzidas promovidas por esses complexos foram realizadas após exposição do meio reacional a condições de luz visível ou ao escuro por diferentes períodos de incubação, durante 8 h e conseqüente verificação da

dependência do desenovelamento do DNA plasmidial conforme exposição do meio.

1.6.2 COMPLEXOS MODELOS HIDROLÍTICOS

O desenvolvimento de compostos capazes de clivar hidroliticamente ácidos nucléicos sob condições fisiológicas tem atraído diversos grupos de pesquisas no campo das nucleases artificiais, por se tratar de um processo vantajoso no que diz respeito aos produtos formados na clivagem, os quais podem ser religados enzimaticamente. Vários compostos quelantes descritos na literatura, contendo especialmente íons Cu^{II} são capazes de promover a clivagem hidrolítica do DNA:

Fujii e colaboradores (1997) reportaram que complexos de cobre contendo ligantes triamina e que o complexo mononuclear de Cu^{II} contendo o ligante *cis,cis*-1,3,5-triaminociclohexano (CuL_1) tem um alto potencial para hidrólise do DNA plasmidial, com uma constante de velocidade estimada de $4,3 \text{ h}^{-1}$ a $35 \text{ }^\circ\text{C}$.

Através da eletroforese em gel de agarose, pôde-se acompanhar a clivagem do DNA promovida pelo complexo CuL_1 a pH 8,1 durante 5 h. A concentração inicial do DNA foi mantida em $7 \mu\text{M L}^{-1}$ de pares de bases, enquanto a concentração do CuL_1 variou de 0 a $70 \mu\text{M L}^{-1}$. A conversão da forma I (superenovelada) para a forma II (circular) foi observada com o aumento da concentração do complexo, e a forma III (forma linear) apareceu na presença de 35 e $70 \mu\text{M L}^{-1}$ de CuL_1 . O completo desaparecimento da forma I foi observado no gel apenas quando as concentrações do complexo estavam entre 14 e $70 \mu\text{M L}^{-1}$.

Nos estudos de clivagem do DNA através do gel de eletroforese (Figura 9), o DNA plasmidial superenovelado (forma I) é convertido para a forma circular (forma II) pela ocorrência da quebra da simples fita, e esta forma migra mais lentamente no gel. A produção da quebra da dupla fita ou a quebra da simples fita oposta, ainda fechada, gera moléculas lineares de DNA (forma III), as quais migram a uma velocidade intermediária entre as formas I e II.

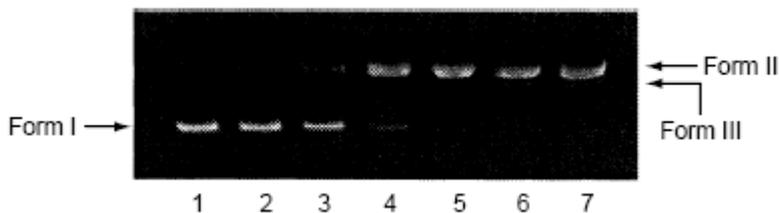


Figura 10 – Clivagem do DNA Øx174 através do gel de eletroforese promovida pelo complexo CuL_1 (Fujii *et al.*, 1997).

Ligantes comumente empregados na síntese de metalintercalantes, como o dppz e dpq, cujas estruturas podem ser vistas na figura 10, foram utilizados por Navarro e colaboradores (2003) na síntese de complexos de cobre (II) capazes de interagir com DNA.

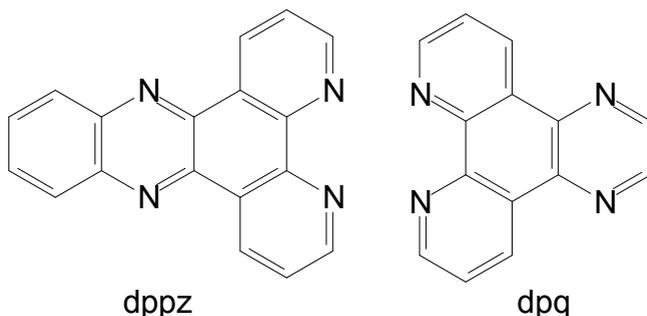


Figura 11 – Estruturas do dppz e dpq (Navarro *et al.*, 2003).

Medidas hidrodinâmicas, como da viscosidade foram realizadas nos complexos de Cu^{II} -dppz e Cu^{II} -dpq, visando observar eventuais mudanças estruturais nas hélices do DNA provocadas pela interação intercalativa. Em todos os casos ocorreu um aumento da viscosidade, conforme aumentava a proporção $[\text{complexo}]/[\text{DNA}]$, o que pode ser atribuído a um aumento da separação entre os pares de bases, o qual faz-se necessário para acomodar as moléculas intercalantes, confirmando assim, o modo de interação complexo-DNA. Além disso, foram realizados estudos de clivagem do DNA através de gel de agarose e percebeu-se que houve o aparecimento apenas da forma II, circular.

Neves e colaboradores (2009) têm reportado complexos capazes de atuar na clivagem hidrolítica do DNA, como é o caso do complexo

mononuclear de cobre^{II} $[\text{Cu}(\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2)(\text{OH}_2)_2]^{2+}$, capaz de promover a degradação do DNA, em uma reação dependente da temperatura, pH, força iônica e concentração do complexo. Esse composto interage com o DNA principalmente por interações eletrostáticas e pode ser considerado um agente clivador randômico, pois tem atividade tanto de protease como de nuclease conforme força iônica do meio.

Recentemente um novo complexo binuclear de cobre^{II} μ -hidroxo, contendo ligantes binucleantes simétricos N,O-doadores baseado no ligante facial tridentado AAZ (Figura 11), foi preparado por Rey e colaboradores (2007), exibindo danos hidrolíticos no DNA plasmidial.

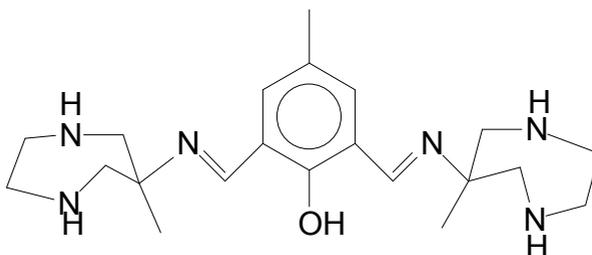


Figura 12 – Base de Schiff simétrica baseada no ligante facial tridentado AAZ (Rey *et al.*, 2007).

Em 2003, Scarpellini e colaboradores publicaram o complexo $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HISMIMI})\text{Cl}_2]$, onde HISMIMI é [(2-(imidazol-4-il)etil)(1-metilimidazol-2-il)metil]imina] que apresentou uma eficiente ação catalítica na clivagem hidrolítica de ligações fosfodiéster de DNA plasmidial, na ausência de oxigênio, com uma constante de velocidade de $0,28 \text{ h}^{-1}$ para decaimento da forma I, o que representa um aumento na velocidade cerca de 10^7 vezes, quando comparada com a velocidade não catalisada para hidrólise do DNA.

Complexos binucleares de cobre^{II} com ligantes binucleantes simétricos e não-simétricos contendo braços piridínicos e fenólicos (Figura 12) também se mostraram versáteis na clivagem do DNA (Osório *et al.*, 2012; Rossi *et al.*, 2002; Rossi *et al.*, 2005).

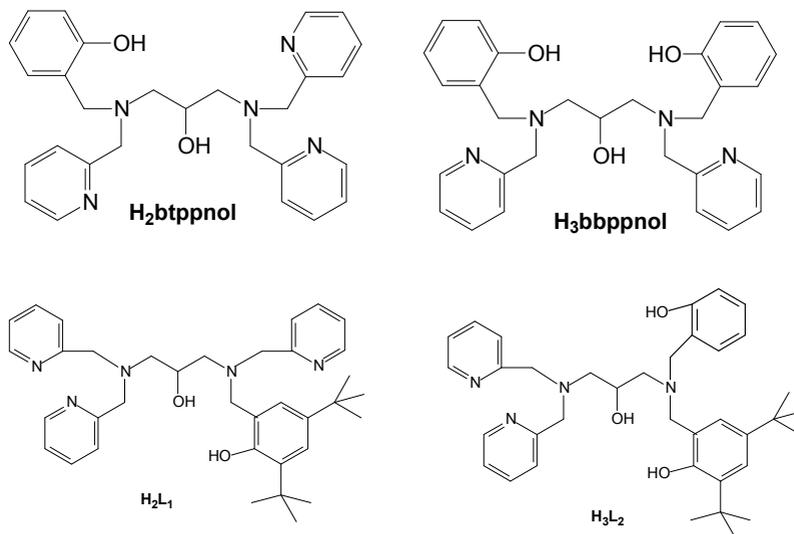


Figura 13 – Ligantes H₂btppnol e H₃bbppnol utilizados por Rossi e colaboradores (2002; 2005) e L₁ e L₂ utilizados por Osório e colaboradores (2012) na síntese de complexos binucleares de cobre(II) ativos na clivagem do DNA.

O complexo [Cu^{II}Cu^{II}(Hbtppnol)(μ-OAc)](ClO₄)₂ promoveu a clivagem hidrolítica da forma superenovelada (forma I) para forma circular do DNA (forma II), com os seguintes parâmetros cinéticos: $k_{\text{obs}} = 0,022 \text{ h}^{-1}$, tempo de meia-vida = 30,91 h, a 50 °C, o que significa um aumento na velocidade de clivagem do DNA de $6,2 \times 10^5$ vezes em comparação com a reação não catalisada.

A presença de grupos elétron-doadores como *terc*-butil na estrutura de complexos binucleares de cobre^{II} causa mudanças significativas na velocidade de clivagem do DNA, como pôde ser confirmado por estudos realizados em nosso grupo de pesquisas (Osório *et al.*, 2012).

Como já é sabido, a constante de velocidade hidrolítica de primeira ordem para uma ligação fosfodiéster do DNA dupla fita é estimado em $3,6 \times 10^{-8} \text{ h}^{-1}$ (Richards e Rodgers, 2007). Incrementos de velocidade reportados para complexos de cobre(II) estão na faixa de $1,1 \times 10^6 - 2,3 \times 10^8$ vezes (Sreedhara *et al.*, 2000; De Oliveira *et al.*, 2005). O valor do k_{cat} de 0,12 e $0,55 \text{ h}^{-1}$ obtido para os complexos

$[\text{Cu}_2(\text{L1})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2 \cdot (\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ e $[\text{Cu}_2(\text{L2})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot (\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ (Osório *et al.*, 2012), respectivamente, indica que esses complexos exibem alta atividade de clivagem, com aumento na velocidade de $3,4 \times 10^6$ e $1,5 \times 10^7$ vezes. Comparando com o complexo previamente citado $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}(\text{Hbtppnol})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2$ claramente observa-se que $[\text{Cu}_2(\text{L1})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2 \cdot (\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ e $[\text{Cu}_2(\text{L2})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot (\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ são mais eficientes mesmo a temperaturas mais baixas que a usada anteriormente.

O complexo $[\text{Cu}_2(\text{L2})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot (\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ (Osório *et al.*, 2012) foi testado frente a clivagem do DNA sob três diferentes condições de pH (7,0; 8,0 e 9,0) e também diferentes concentrações de complexo (5-20 μM), com 40 μM de pares de bases de DNA plasmidial, mostrando um claro efeito do pH na reação de clivagem. Quando DNA plasmidial pBSK-II foi incubado a 37°C por 7 h em 25 μM de tampão CHES, na presença do complexo, foi convertido da forma superenovelada (forma **I**), para forma circular (forma **II**) e linear (forma **III**), necessitando de baixas concentrações do complexo a pH 9,0. Na presença de agentes sequestrantes de radicais hidroxil (DMSO), uma certa inibição na atividade de clivagem do complexo foi observada, sugerindo um mecanismo de ação hidrolítico e também oxidativo.

Já o complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}(\mu\text{-OH})(\text{H}_2\text{O})(\text{bpbpmp})](\text{ClO}_4)_2$, publicado por Neves em 2007, representa o primeiro modelo estrutural para o sítio ativo da kbPAP com somente um grupo fenolato terminal, uma ponte hidróxido e uma molécula de água ligada ao sítio de Fe^{III} e apresentou os seguintes parâmetros cinéticos: $k_{\text{cat}} = 9,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, $K_{\text{M}} = 4,2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ e fator de aceleração de 4800 vezes (NEVES, 2007).

Sendo assim, a reatividade de complexos binucleares de cobre e ferro, como modelos para nucleases sintéticas, tem sido objeto de estudos de diversos grupos de pesquisas. Estes estudos têm fornecido subsídios para um melhor entendimento do mecanismo de ação dos complexos modelo na clivagem seja ela hidrolítica ou oxidativa da dupla fita do DNA.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Sintetizar e caracterizar novos ligantes polidentados e seus respectivos complexos multinucleares de cobre^{II} ou ferro^{III}, que possam atuar como modelos funcionais na clivagem do DNA/ ésteres de fosfato.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese e caracterização de novos ligantes pentadentados, baseados na unidade central 1,3-diaminopropano-2-ol, contendo grupos N,O-doadores adequados, como grupos piridínicos, fenólicos, amínicos e macrocíclicos, além de intercalantes já conhecidos como pirenos.
- Síntese de novos compostos de coordenação trinucleares de cobre(II), e binucleares de ferro(III) e caracterização dos mesmos por meio de análises elementares, estruturais e espectroscópicas.
- Estudo das interações magnéticas entre os centros metálicos existentes nos complexos.
- Estudo das propriedades redox dos complexos sintetizados, visando observar reações de óxido-redução entre íons metálicos.
- Estudos de reatividade desses novos complexos frente a substratos modelos e frente a ácidos nucleicos, buscando auxiliar e ampliar os conhecimentos sobre papel dos íons metálicos no sítio catalítico e auxiliar no mecanismo de hidrólise de diésteres de fosfato catalisada pelas hidrolases.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.1 MATERIAIS

Os seguintes reagentes, gases, materiais e solventes utilizados nos processos de sínteses e análises foram adquiridos de fontes comerciais, com grau de pureza compatível com a utilização, sem prévia purificação: 1-pirenocarboxaldeído, 1,4-diaminobutano, 2-hidróxi-1,3-diaminopropano, 2-piridinecarboxaldeído, acetato de cobre^{II}, acetato de sódio, ácido clorídrico 37%, ácido trifluoroacético, argônio 5.0, acetonitrila UV/HPLC, bicarbonato de sódio, borohidreto de sódio, brometo de potássio grau espectroscópico, cloreto de potássio, cloreto de amônio, clorofórmio deuterado, clorofórmio PA, di-*tert*-butilcarbonato, diclorometano PA, etilenodiamina, ferroceno, hidróxido de potássio, hidróxido de sódio, metanol PA, metanol UV/HPLC, oxigênio 2.8, paládio/carbono 5%, perclorato de ferro^{II}, perclorato de sódio, sulfato de sódio anidro, tampões biológicos MES, HEPES, CHES e TRIS, THF PA. O reagente hexafluorofosfato de tetrabutílamônio, adquirido de fonte comercial, foi purificado previamente ao uso (recristalizado em etanol) (Aldrich 2003/2004). Os compostos bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP) (Bunton e Farber, 1969), 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol (CMFF) (Lanznaster, 2003) e *N,N,N'*-tris-(2-piridilimetil)-1,3-propanodiamina-2-ol (3py) (De Oliveira *et al.*, 2007) foram sintetizados, purificados e caracterizados de acordo com procedimentos descritos na literatura.

3.1.2 MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.2.1 Análise elementar de C, H e N

As medidas para a determinação dos percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas em um analisador elementar de CHNS - Carlo Erba modelo E-1110, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC.

3.1.2.2 Espectroscopia no infravermelho - IV

Os espectros no infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro FTIR – Spectrum 100, Perkin Elmer, na região de

4500 a 450 cm^{-1} . As amostras foram preparadas por dispersão em KBr de grau espectroscópico e prensadas (~8 toneladas), formando pastilhas com cerca de 1 cm de diâmetro e 0,5 mm de espessura. Estas pastilhas foram introduzidas diretamente no caminho óptico do equipamento para leitura do percentual de transmitância (%T). As análises foram realizadas no Labinc, Departamento de Química-UFSC. Foi utilizado como branco uma pastilha de KBr.

3.1.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN ^1H foram obtidos em um espectrofotômetro Bruker– FT 200MHZ, na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC. Os deslocamentos químicos de hidrogênio foram registrados em ppm utilizando como referência interna tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm) e clorofórmio deuterado como solvente.

3.1.2.4 Espectrometria de massas

As análises de espectrometria de massa com ionização via eletrospray (ESI-MS) dos ligantes e complexos foram realizadas em um equipamento Amazon - *Ions Trap MS*, em soluções de Acetonitrila, Acetonitrila/Água (1:1) ou DMF com concentrações de 500 ppb e fluxo de $180\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. A temperatura do capilar foi mantida entre 180 e 200°C e a voltagem do capilar entre -400 e -500 V. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular Estrutural pelo doutorando Tiago Pacheco de Camargo e pela técnica Elis Amaral Rosa.

3.1.2.5 Espectroscopia eletrônica – UV-Vis-IVP

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta, visível e infravermelho próximo foram obtidos em um espectrofotômetro Varian Cary 50 Bio, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química (Labinc) – UFSC. As análises foram realizadas utilizando-se solventes de grau espectroscópicos e cubetas de quartzo com 1 cm de caminho óptico.

Os espectros de fluorescência foram obtidos em um espectrofotômetro Cary Eclipse, através das medidas espectrais de emissão de fluorescência, usando soluções em acetonitrila/DMF (95:5), cujas concentrações variaram de $1,0 \times 10^{-3}$ a $3,1 \times 10^{-5}\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, a 25°C .

As intensidades de emissão em seus máximos foram captadas por volta de 400 nm. A excitação foi fixada em 390 nm para as medidas com o ligante $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ e com o complexo 4.

3.1.2.6 Eletroquímica

O comportamento redox dos complexos foi investigado por voltametria cíclica em um potenciostato-galvanostato Epsilon, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. Os experimentos foram realizados em soluções de acetonitrila, sob atmosfera de argônio, sob diferentes velocidades de varredura. Nestes experimentos utilizou-se hexafluorofosfato de tetrabutilamônio ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) como eletrólito suporte e uma célula eletrolítica com três eletrodos: eletrodo de trabalho – platina ou carbono; eletrodo auxiliar – fio de platina; eletrodo de referência – Ag/Ag^+ . Para correção do eletrodo de referência utilizou-se o par redox ferrocínio/ferroceno ($E_{1/2}$ vs NHE = 400 mV) como padrão interno (Gagné e Lisensky, 1980).

A reversibilidade dos processos eletroquímicos foi analisada considerando os seguintes pontos:

Processos reversíveis

- O módulo da diferença entre os potenciais de pico catódico e anódico ($\Delta E_p = |E_{pc} - E_{pa}|$) deve ser de 58 mV para processos reversíveis que transferem apenas $1 e^-$.
- A razão i_{pc} e i_{pa} deve ser aproximadamente igual a 1, sendo i_{pc} a corrente máxima catódica e i_{pa} a corrente máxima anódica.

Processos quase-reversíveis:

- Os potenciais de pico (E_p) aumentam com o aumento da velocidade de varredura.
- Os valores de ΔE_p variam da mesma maneira pronunciada de acordo com a velocidade de varredura de potenciais.

Processos irreversíveis:

- Ao efetuar varreduras em diferentes velocidades os potenciais deslocam-se sempre para sentidos anódicos (E_{pa}) ou catódicos (E_{pc}), não se observando o pico de retorno.

3.1.2.7 Difractometria de Raios X

As análises por difração de raios X em monocristal dos complexos foram realizadas na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os dados foram coletados em um difratômetro Enraf-Nonius CAD-4 equipado com um tubo de molibdênio ($\text{MoK}\alpha$ $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e monocromador de grafite, em temperatura ambiente. As estruturas cristalinas foram resolvidas através dos métodos diretos e refinadas pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa, utilizando-se os programas SIR97 e SHELXL97, respectivamente. As representações gráficas das estruturas moleculares foram geradas utilizando o programa ZORTEP. A coleta de dados e a resolução das estruturas foram realizadas pelo Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi. Algumas estruturas foram coletadas no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da USP-SC usando um equipamento do tipo Kappa-CCD também com tubo de Mo, com a colaboração do prof. Dr. Eduardo Castellano.

3.1.2.8 Titulação potenciométrica

As constantes de protonação para os complexos foram determinadas por titulação potenciométrica no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia - Labinc, Departamento de Química – UFSC. Estes experimentos foram realizados em solução acetoneitrila/água (1:1 V/V) devido à baixa solubilidade dos complexos em água.

Utilizou-se um titulador automático Methrom Titrino 848, calibrado com uma solução de HCl $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ padronizada e uma solução padrão de KOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ previamente padronizado com biftalato de sódio a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. O eletrodo foi calibrado considerando o pK_w do meio. As soluções foram preparadas com água (bidestilada previamente na presença de KMnO_4 e fervida) e acetoneitrila espectroscópica.

As medidas foram realizadas em uma célula contendo uma solução do complexo ($0,05 \text{ mmol}$) em 50 mL de solução acetoneitrila/água 1:1 e a força iônica ajustada para $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ com KCl, sob fluxo de argônio para eliminar a presença de CO_2 atmosférico. As soluções de complexos tiveram o pH ajustado para próximo de 3,0 pela adição de $100 \text{ }\mu\text{L}$ de HCl $1,00 \text{ mol.L}^{-1}$, e foram tituladas com uma solução padrão de KOH $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$.

As titulações foram realizadas em triplicata e os valores apresentados referem-se à média dos três experimentos. As constantes de equilíbrio foram calculadas com o programa BEST7 (Martell e Motekaitis, 1992) pelos doutorandos Bernardo de Souza e Thiago Guimarães e os diagramas de distribuição das espécies presentes em solução em função do pH foram obtidos com os programas SPE e SPEPLOT (Martell e Motekaitis, 1992), através de uma colaboração com o Prof. Dr. Bruno Szpoganicz.

3.1.2.9 Titulação espectrofotométrica

A determinação dos valores das constantes de desprotonação (pKa) também foi realizada através do método espectrofotométrico na região do UV-Visível. O método foi aplicado em um intervalo de pH de 3,0 a 11,0, em solução acetonitrila/água 1:1. Utilizou-se um titulador automático Methrom Titrino 848 para adição de uma solução padrão de KOH ($0,100 \text{ mol.L}^{-1}$), para leitura direta de pH ($p[H] = -\log[H^+]$). As medidas foram realizadas em uma célula termostatizada a $25,00 \pm 0,05$ °C contendo uma solução do complexo ($0,05 \text{ mmol}$) em 50 mL de solução acetonitrila/água (1:1) e a força iônica ajustada para $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ com KCl. Conforme ocorriam as adições sucessivas de base, alíquotas eram retiradas da célula e postas em cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm e feita a leitura do espectro eletrônico na faixa de 300 a 900 nm . As constantes de equilíbrio foram determinadas a partir de um ajuste sigmoideal da curva obtida.

3.1.2.10 Magnetoquímica

As medidas de susceptibilidade magnética de amostras pulverizadas foram realizadas na faixa de 4 a 300K , no Institut für Physikalische Chemie, Technische Universität Darmstadt, Germany, através de uma colaboração com os Profs. Dr. Wolfgang Haase e Zbigniew Tomkowicz, utilizando-se um magnetômetro SQUID. Para as correções diamagnéticas foram utilizadas as constantes de Pascal já tabeladas.

3.1.2.11 Mossbauer

Os espectros Mössbauer foram efetuados no Departamento de Física da Universidade estadual de Maringá, pelo Prof. Dr. Andrea Paesano Jr. O espectrômetro empregado nas medidas operou na geometria de transmissão, com uma fonte movimentada por uma onda triangular de velocidade. A fonte radioativa utilizada é de ^{57}Co em uma matriz de Rh, fabricado pela Ritverc - GmbH-V. G., do Khlopin Radium Institute - Rússia. O ^{57}Co tem um esquema de desintegração, onde a transição utilizada na observação do efeito Mössbauer foi a de 14.4 keV. A matriz de Rh é utilizada devido à simetria cúbica de sua rede cristalina e, ainda, por não apresentar desdobramento magnético permitindo a emissão de um singleto para as emissões das energias características desta desintegração.

O programa empregado no tratamento numérico dos dados foi o código comercial NORMOS. É um programa de aplicação orientado para a espectroscopia Mössbauer, executado em ambiente DOS, e que, para efeitos de ajuste, utiliza-se do critério dos mínimos quadrados. Com o NORMOS é possível isolar e graficar individualmente os subspectros respectivos a cada sítio e que, somados, geram o espectro resultante. Os parâmetros obtidos para os ajustes são:

- **IS** para deslocamento isomérico, os valores dos resultados são explicitados em relação ao $\alpha\text{-Fe}$.
- **QS** para o desdobramento quadrupolar;
- **B_{hf}** para campo magnético hiperfino.

3.1.2.12 Reatividade

As atividades catalíticas dos complexos foram avaliadas através da reação de hidrólise do substrato bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNP), o qual foi sintetizado de acordo com o método descrito por Bunton e Farber (1969). Os experimentos cinéticos foram realizados em triplicata, sob condições de excesso de substrato, monitorando-se espectrofotometricamente, em um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatizado, a variação de absorvância ocorrida em 400 nm ($\text{pH}/\epsilon \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1} = 3,5/2125; 4,0/3408; 4,5/7182; 5,0/10078; 5,5/11405; 6,0/12004; 6,5-10,0/12100$), a liberação do ânion 2,4-dinitrofenolato (Batista *et al.*, 2003; Casellato, 2003), como produto da reação de hidrólise. As reações foram monitoradas até 5% de conversão de substrato a produto e os dados foram tratados pelo método das velocidades iniciais. Estas foram obtidas

através do slope do gráfico de absorvância versus tempo após 15 minutos de reação.

O gráfico das velocidades iniciais (v_0) em função do pH permitiu a obtenção dos valores de pK_a para as espécies em equilíbrio e pH ótimo (valor de pH onde a atividade catalítica é máxima). A determinação das velocidades iniciais em função da concentração do substrato foi realizada sob as mesmas condições descritas para o estudo da influência do pH, no pH ótimo, resultando em cinéticas de saturação com comportamento de Michaelis-Menten.

O tratamento dos dados através de uma regressão não linear utilizando o programa Origin 8.0. permitiu a obtenção direta da velocidade máxima ($V_{\text{máx}}$) e da constante de Michaelis-Menten (K_M). Através de simples cálculos chegou-se nos valores da constante catalítica ($k_{\text{cat}} = V_{\text{máx}} / [C]_c$), além do fator catalítico, pré definido somente para a reação de hidrólise, definido pela razão entre a constante catalítica e a constante da reação não catalisada ($f = k_{\text{cat}} / k_{\text{não catalisada}}$), eficiência catalítica ($E = k_{\text{cat}} / K_M$) e constante de associação ($K_{\text{ass}} = 1 / K_M$).

Os estudos em função do pH para a atividade de hidrólise, os quais visam a obtenção do pH ótimo de atividade frente a hidrólise do substrato bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP) e o pK_a cinético para cada complexo, foram realizados em uma faixa de pH entre 3,50 e 10,00 a 50 °C para os complexos trinucleares de cobre e a 25 °C para os complexos binucleares de ferro. Utilizaram-se cubetas de quartzo e/ou vidro óptico com capacidade para 4000 µL e caminho óptico de 1 cm, seladas com tampa de teflon, nas quais foram adicionados 1500 µL de solução aquosa (0,1 mol.L⁻¹) do tampão (MES pH 3,50, a 6,50; HEPES pH 7,00 a 8,50; CHES pH 9,00 a 10,00) com força iônica mantida constante ($I = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, LiClO₄), 200 µL de uma solução em acetonitrila do complexo ($[C]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$), e 500 µL de acetonitrila. A reação foi iniciada com a adição de 800 µL de uma solução em acetonitrila do substrato ($[S]_{\text{final}} = 5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$).

Os experimentos cinéticos em condições de excesso de substrato foram realizados como descrito a seguir: 1,5 mL de solução aquosa de tampão ($[T]_{\text{final}} = 5 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$), 200 µL de uma solução, em acetonitrila, de complexo ($[C]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) e acetonitrila foram adicionados em cubetas de quartzo ou vidro, com 1 cm de caminho óptico. A reação foi iniciada com a adição de volumes variando de 160 a 1280 µL de solução, em acetonitrila, do substrato 2,4-BDNPP ($[S]_{\text{final}} = 1 \times 10^{-3} - 8 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). Em todos os experimentos realizados

para a reação de hidrólise, o volume final da mistura reacional na cubeta foi de 3,0 mL. Correções da hidrólise espontânea do substrato 2,4-BDNPP foram realizadas sob condições idênticas, sem a adição do complexo. As velocidades iniciais foram obtidas da inclinação da curva da absorvância *versus* tempo nos primeiros 15 minutos de reação.

A determinação do número de moléculas de substrato hidrolisadas por molécula de complexo foi realizada para os complexos pelo acompanhamento espectrofotométrico em 445 nm ($\epsilon = 3600 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) na condição de 50 vezes de excesso do substrato ($[\text{S}]_{\text{final}} = 2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) em relação ao complexo ($[\text{C}]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$). Realizou-se também o acompanhamento da reação estequiométrica em 400 nm entre os complexos ($[\text{C}]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) e o substrato ($[\text{S}]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$). Em todos os experimentos cinéticos a correção da hidrólise espontânea do substrato foi realizada através da diferença direta, ou seja, experimentos em condições idênticas exceto pela ausência do complexo foram acompanhados em paralelo, e a constante da reação não catalisada descontada da constante total da reação.

3.1.2.13 Reatividade frente ao DNA

Os estudos preliminares de interação e atividade catalíticas dos complexos propostos, frente ao DNA plasmidial, foram realizados pelo mestrando Gabriel Luiz Kreft, no Laboratório de Expressão Gênica, Departamento de Bioquímica, em colaboração com o prof. Dr. Hernán Terenzi.

A habilidade dos complexos em clivar o DNA foi examinada acompanhando a conversão do DNA plasmidial superenovelado (F1) para o DNA circular (F2) e/ou DNA linear (F3), usando eletroforese em gel de agarose para separar os produtos clivados.

Todos os reagentes utilizados nos ensaios com DNA possuíam grau de biologia molecular e suas soluções foram preparadas em água ultrapura Milli-Q (resistividade a 25 °C de no máximo 18,2 M.cm, Teor de Carbono Orgânico Total < 10 ppb) obtida pelo sistema Milli-Q Simplicity (Millipore, USA). Nos casos onde havia necessidade do uso de solventes orgânicos, como etanol e acetonitrila, os reagentes utilizados possuíam grau analítico para espectroscopia UV-Vis. Todas as soluções (incluindo as dos complexos) foram previamente esterilizadas, utilizando-se filtros de membrana tipo Millex de 0,22 μm (Millipore, USA) para evitar a contaminação bacteriana.

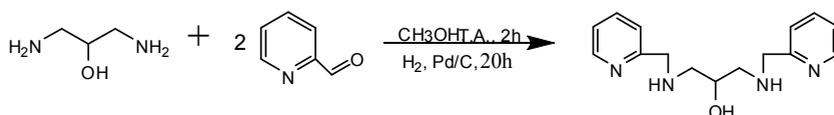
Numa reação típica de clivagem de 20 μL , 400 ng do plasmídio pBSK II de DNA superenovelado ($\sim 30 \mu\text{M}$ em pb) foram tratados com

os complexos (em diferentes concentrações) em meio tamponado com 10 mM de Tris-HCl (pH 7,0). O tempo padrão de reação foi de 24 h sendo as amostras mantidas a 37 °C. Para finalizar as reações de clivagem, foram adicionados às misturas reacionais 5 µL de tampão de corrida 5X concentrado (EDTA 0,25 M, glicerol 50% e azul de bromofenol 0,01% - pH 8,0), uma vez que o EDTA presente no tampão quebra os complexos em solução impedindo sua reação com o DNA. Em seguida, as amostras foram armazenadas a 4°C até serem submetidas à eletroforese em gel de agarose (1 %) contendo brometo de etídio (0,3 µg mL⁻¹) por 1,5 h a 90V em tampão TBE 0,5X (Tris 44,5 mM, ácido bórico 44,5 mM, EDTA 1 mM - pH 8,0).

3.2 SÍNTESE DOS LIGANTES

3.2.1 SÍNTESE DOS PRECURSORES

3.2.1.1 *N,N'*-(2-piridilmetil)-1,3-propano-2-ol - simétrico 2-py.



Sob banho de gelo, 2 g de 2-hidróxi-1,3-diaminopropano destilado (20 mmol; 90,12 g.mol⁻¹) foi dissolvido em 30 mL de metanol. Sob este sistema, foi gotejado lentamente uma solução metanólica contendo 4 mL de 2-piridinecarboxaldeído destilado (40 mmol; 107,11 g.mol⁻¹; 1,126 g.mL⁻¹).

As duas soluções quando misturadas, resultaram em uma solução amarelo pálido, a qual permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 2 horas. A solução resultante foi então transferida para a garrafa de hidrogenação e adicionou-se 0,9 g de Pd/C 5%. O sistema foi hidrogenado por 20 horas, filtrado sob celite e o solvente foi evaporado em rotaevaporador, resultando em pó. Obtiveram-se 5,35 g do produto simétrico 2-py (19,65 mmol; 272,35 g.mol⁻¹), com rendimento de 88% em relação ao 2-hidróxi-1,3-diaminopropano. O precursor simétrico 2-py foi caracterizado por RMN ¹H (Figura 13).

RMN ^1H - δ (200 MHz; CDCl_3), em ppm: 2,4-2,7 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 3,3 (m, 1H, CH); 3,7-3,9 (m, 4H, CH_2); 6,9-7,1 (m, 2H, CH_{ar}); 7,15-7,3 (m, 2H, CH_{ar}); 7,4-7,6 (m, 2H, CH_{ar}); 8,4 (d, 2H, CH_{ar}).

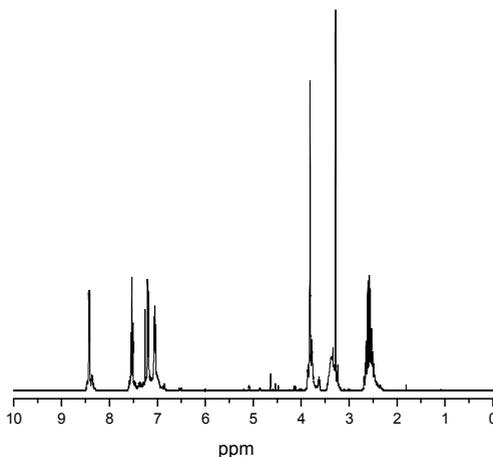
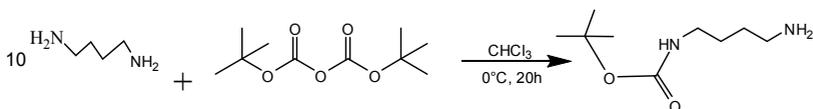


Figura 14 - Espectro de RMN ^1H do simétrico 2py em CDCl_3 .

3.2.1.2 1,4-butanodiamina-*Boc*



A uma solução de 1,4-butanodiamina (20 mL; 200 mmol; $88,15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; $0,877 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) em 100 mL de CHCl_3 , foi adicionado gota a gota, a 0°C , uma solução de di-terc-butil-carbonato (4,37 g; 20 mmol; $218,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) em 100 mL de CHCl_3 durante um período de 3 horas, tornando a solução totalmente esbranquiçada. Após esse período a mistura reacional permaneceu sob agitação a T.A. por 16 horas. Procedeu-se a extração direta com brine (70 g NaCl : 700 mL H_2O). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e levada ao rotevaporador até *secura total* do solvente, resultando em óleo incolor. Obtiveram-se 3,63 g do precursor 1,4-butanodiamina-*Boc* (19,3 mmol; $188,27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), com rendimento de 95% em relação ao reagente di-terc-butil-carbonato. O precursor 1,4-butanodiamina-*Boc* foi caracterizado por RMN ^1H (Figura 14).

RMN ^1H - δ (200 MHz; CDCl_3), em ppm: 1,3 (s, 9H, CH_3); 1,4-1,5 (m, 4H, CH_2); 2,65 (s, 2H, CH_2); 3,02 (s, 2H, CH_2); 7,26 (s, NH).

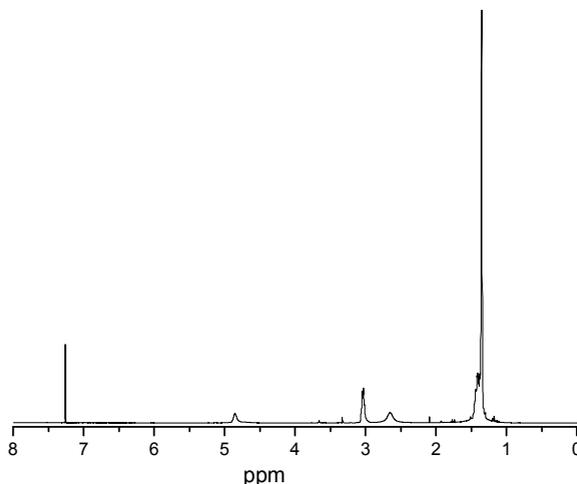
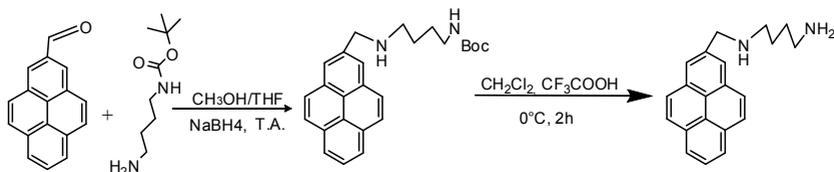


Figura 15 – Espectro de RMN ^1H 1,4-butanodiamina-*Boc* em CDCl_3 .

3.2.1.3 1,4-butanodiamina-*N*-metil-pireno



Etapa i) preparação do pireno-1,4-butanodiamina-*Boc*: Em um erlenmeyer de 125 mL contendo uma solução em THF de 1-pirenocarboxaldeído (2,30 g; 10 mmol; $230,26 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) foram adicionados gota a gota, 1,88 g (10mmol; $188,27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de 1,4-butanodiamina-*Boc* previamente dissolvido em CH_3OH . O sistema permaneceu sob agitação, a T.A. por uma noite. Em seguida, NaBH_4

(0,38g; 10 mmol; 37,83 g.mol⁻¹) foi adicionado sólido em pequenas porções, sob agitação durante 2 horas. Após esse período, HCl 4M foi adicionado até que o pH estivesse em torno de 5 e permaneceu sob agitação durante mais 1 hora. O pH foi então elevado até 10 e o solvente foi removido em rotaevaporador, restando um óleo no balão. A este óleo, água destilada foi adicionada e houve a formação de um precipitado o qual trata-se do produto de interesse. O produto pireno-1,4-butanodiamina-Boc foi isolado e caracterizado por espectroscopia no infravermelho (Figura 15).

IV (KBr), em cm⁻¹: 3290-3372 (ν_{N-H} amina e CO_{N-H}); 3044 - 2819 (ν_{C-H} aromático e ν_{C-H} alifático); 1705 ($\nu_{C=O}$ Boc); 1508-1456 ($\nu_{C=C}$ e $\nu_{C=N}$ aromático); 1367 (δ_{C-H} terc-butil); 1266 (ν_{C-O}); 844 (δ_{C-H} aromático); 714 (δ_{C-H} cadeia alifática).

Etapa ii) desproteção do pireno-1,4-butanodiamina-Boc: Em um balão de 125 mL foram dissolvidos 7,93 g (19,7 mmol; 402,53 g.mol⁻¹) do precursor pireno-1,4-butanodiamina-Boc em CH₂Cl₂, e resfriados a 0 °C com banho de gelo. Logo em seguida, CF₃COOH previamente dissolvido em CH₂Cl₂ (20 mL; 1 mL para cada 1 mmol) foi adicionado lentamente (gota a gota) à solução. A cada adição a solução tornava-se verde e voltava para sua coloração original (amarelo). O ácido trifluoracético foi adicionado até que o verde permaneceu. O sistema permaneceu então, sob agitação a T.A. por 2 hs. Após esse período, o solvente foi removido a pressão reduzida e lavado com CH₂Cl₂ (2 x 50 mL). Em seguida, a solução foi transferida para um funil de extração, onde foi lavada com água destilada pura (1 x 50 mL) e com solução aquosa de NaOH 2M (5 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e o solvente removido em rotaevaporador. Obtiveram-se 3,45 g do precursor 1,4-butanodiamina-N-metil-pireno (12 mmol; 302,41 g.mol⁻¹), com rendimento de 58% em relação ao precursor pireno-1,4-butanodiamina-Boc. O precursor 1,4-butanodiamina-N-metil-pireno foi caracterizado por IV (Figura 15).

IV (KBr), em cm^{-1} : 3288-3365 ($\nu_{\text{N-H}}$ amina); 3039 - 2816 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático e $\nu_{\text{C-H}}$ alifático); 1585-1475 ($\nu_{\text{C=C}}$ e $\nu_{\text{C=N}}$ aromático); 847 ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático); 710 ($\delta_{\text{C-H}}$ cadeia alifática).

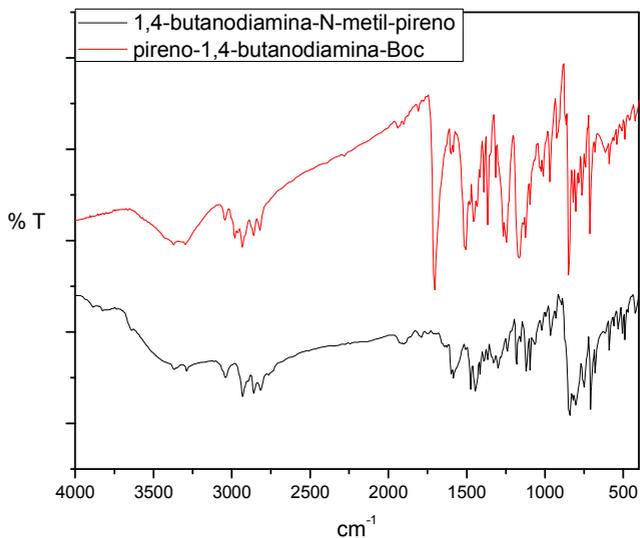
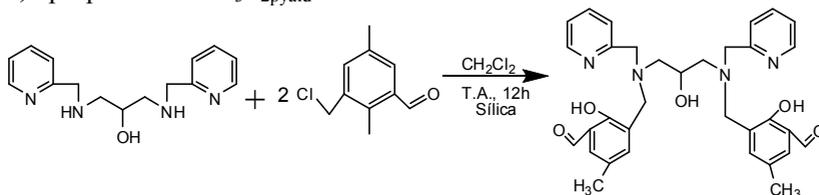


Figura 16 – Espectro no IV dos precursores pireno-1,4-butanodiamina-Boc (acima) e 1,4-butanodiamina-N-metil-pireno (abaixo) em pastilha de KBr.

3.2.2 SÍNTESE DOS LIGANTES

3.2.2.1 *N,N'*-bis-(2-piridilmetil)-(2-hidróxi-3-carbonil-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol – H₃L_{2pyald}



Em um balão de 250 mL adicionou-se 2,71 g da amina simétrica 2py (9,95 mmol; 272,35 g.mol⁻¹) previamente dissolvida em 30 mL de CH₂Cl₂ (solução amarelo palha), sob agitação. O precursor CMFF (3,68g; 19,9 mmol; 185,62 g.mol⁻¹), foi solubilizado em CH₂Cl₂ (solução incolor) e gotejado lentamente sobre a amina. A solução final tornou-se amarela intensa turva, e permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 12 horas. Procedeu-se então a extração com solução aquosa de carbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e o solvente removido por rotaevaporação.

O produto final foi purificado através de coluna cromatográfica de sílica gel, passando primeiro somente CH₂Cl₂ até sair bem o amarelo intenso, que trata-se do excesso de CMFF que não reagiu, e posteriormente passa-se CH₃OH para aí sim retirar o produto de interesse da coluna. Obtiveram-se 3,5 g do ligante final 2py-ald (6,15 mmol; 568,67 g.mol⁻¹), com rendimento de 60% em relação ao simétrico 2py. O ligante H₃L_{2pyald} foi caracterizado por IV (Figura 16), RMN ¹H (Figura 17) e Espectrometria de Massas (Figura 18).

IV (KBr), em cm^{-1} : 3400 ($\nu_{\text{O-H}}$ álcool ponte); 3059 - 2847 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático e $\nu_{\text{C-H}}$ alifático); 1677 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1595-1475 ($\nu_{\text{C=C}}$ e $\nu_{\text{C=N}}$ aromático); 1376 ($\nu_{\text{O-H}}$ fenol); 1220 ($\nu_{\text{C-O}}$); 995 ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático); 755 ($\delta_{\text{C-H}}$ piridina).

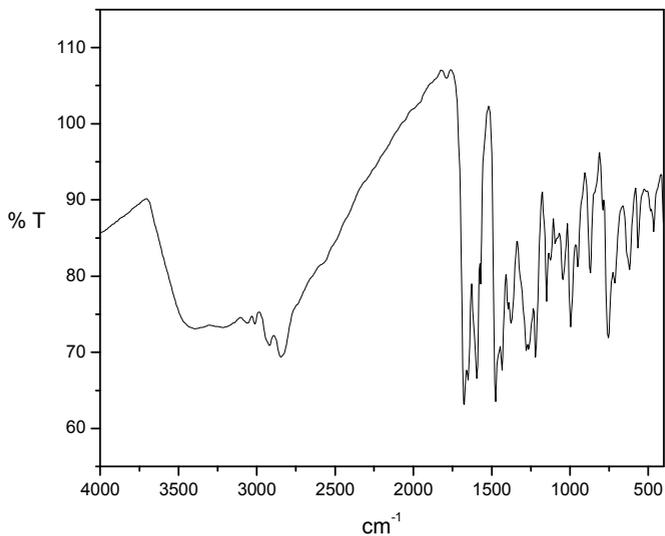


Figura 17 - Espectro no IV do H₃L₂pyald em pastilha de KBr.

RMN ^1H - δ (200 MHz; CDCl_3), em ppm: 2,2 (s, 6H, CH_3); 2,4-2,6 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 3,6-4,0 (m, 9H, 8- CH_2 e 1 CH); 7,0-7,1 (m, 4H, CH_{ar}); 7,2-7,3 (m, 4H, CH_{ar}); 7,4-7,5 (m, 2H, CH_{ar}); 8,4 (d, 2H, CH_{ar}); 10,1 (s, 2H, COH).

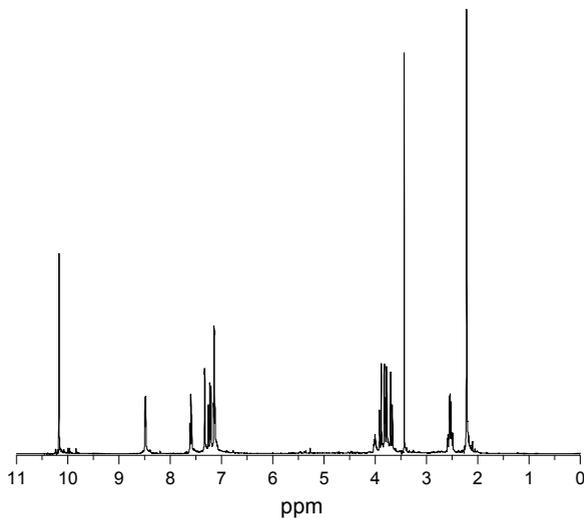


Figura 18 - Espectro de RMN ^1H do $\text{H}_3\text{L}_2\text{pyald}$ em CDCl_3 .

Espectro de massas: $C_{33}H_{37}N_4O_5$ – MM = $569,28 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (carga 1+)
 $m/z = 569,28$ (100%); $570,27$ (37,8%); $571,28$ (6,4%).

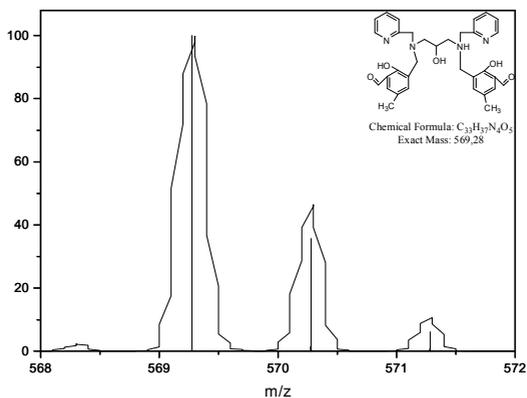
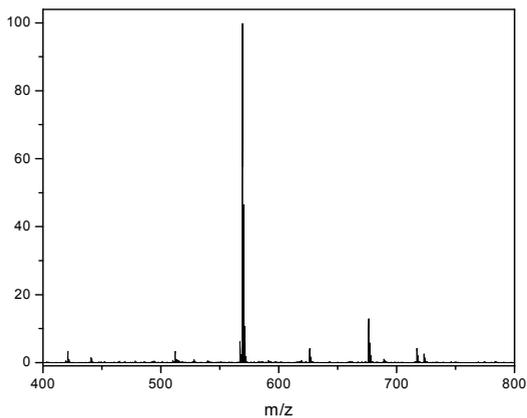
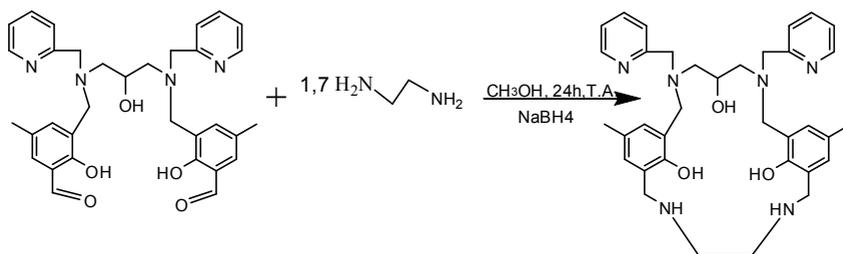


Figura 19 – Espectro de massas do ligante H_3L_{2pyald} em CH_3CN/H_2O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 569,27 (abaixo).

3.2.2.2 *N,N'*-bis-(2-piridilmetil)-(2-hidróxi-3-metil-etilenodiamina-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol) – H_3L_{en}



Adicionou-se gota a gota, sob agitação, uma solução metanólica contendo 0,2 mL de etilenodiamina (3,0 mmol; 60,10 $g \cdot mol^{-1}$; 0,897 $g \cdot mL^{-1}$) a uma solução bem diluída (250 mL) do precursor H_3L_{2pyald} (1,0 g; 1,75 mmol; 568,67 $g \cdot mol^{-1}$). Após total adição da amina sobre o aldeído, a reação permaneceu sob agitação por 24 horas, a temperatura ambiente. Após esse período, $NaBH_4$ (0,17 g; 4,5 mmol; 37,84 $g \cdot mol^{-1}$) foi adicionado em pequenas porções, sob banho de gelo, ocorrendo uma brusca diminuição na intensidade da coloração amarela. A reação permaneceu por mais duas horas a T.A., e o solvente foi rotaevaporado, sendo adicionado $CHCl_3$ ao resíduo viscoso e procedida a extração com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado até a secura sob vácuo, a 40 °C, resultando em uma esponja pálida, a qual foi deixado sob vácuo (0,1 mmHg) por 6 horas. Obtiveram-se 0,94 g do ligante H_3L_{en} (1,5 mmol; 596,76 $g \cdot mol^{-1}$), com rendimento de 85% em relação ao produto H_3L_{2pyald} . O ligante H_3L_{en} foi caracterizado por IV (Figura 19), por RMN 1H (Figura 20) e por espectrometria de massa (Figura 21).

IV (KBr), em cm^{-1} : 3196 ($\nu_{\text{O-H}}$ álcool ponte); 3062 - 2830 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático e $\nu_{\text{C-H}}$ alifático); 1592-1480 ($\nu_{\text{C=C}}$ e $\nu_{\text{C=N}}$ aromático); 1570 ($\delta_{\text{N-H}}$ amina secundária); 1367 ($\nu_{\text{O-H}}$ fenol); 1237 ($\nu_{\text{C-O}}$, C-N); 863 ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático); 755 ($\delta_{\text{C-H}}$ piridina).

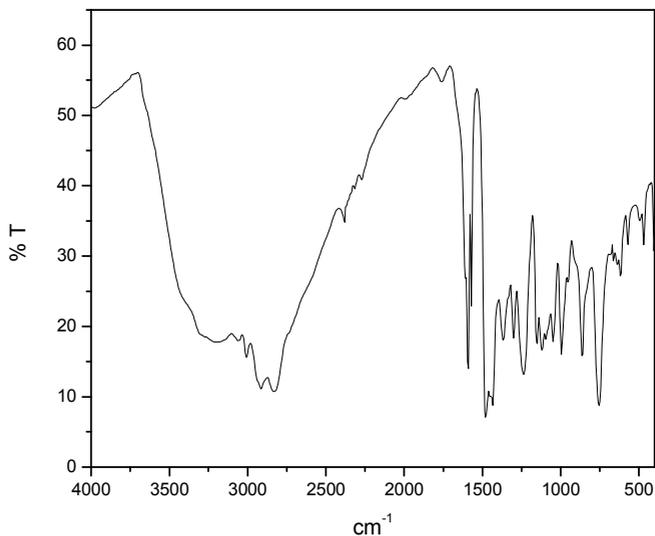


Figura 20 - Espectro no IV do $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$ em pastilha de KBr.

RMN ^1H - δ (200 MHz; CDCl_3), em ppm: 2,2 (s, 6H, CH_3); 2,4-2,6 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 2,8-3,0 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-en}$); 3,6-4,1 (m, 13H, 12- CH_2 , 1CH); 6,6-6,8 (m, 4H, CH_{ar}); 7,,0-7,3 (m, 4H, CH_{ar}); 7,5-7,6 (m, 2H, CH_{ar}); 8,4 (d, 2H, CH_{ar}).

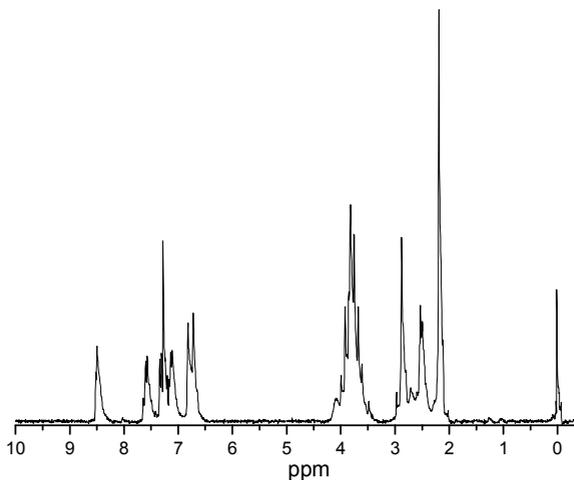


Figura 21 - Espectro de RMN ^1H do $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$ em CDCl_3 .

Espectro de massas: $C_{35}H_{45}N_6O_3$ – MM = 597,36 g.mol⁻¹ (carga 1+)
m/z = 597,36 (100%); 598,36 (41%); 599,36 (9%); 600,36 (1%).

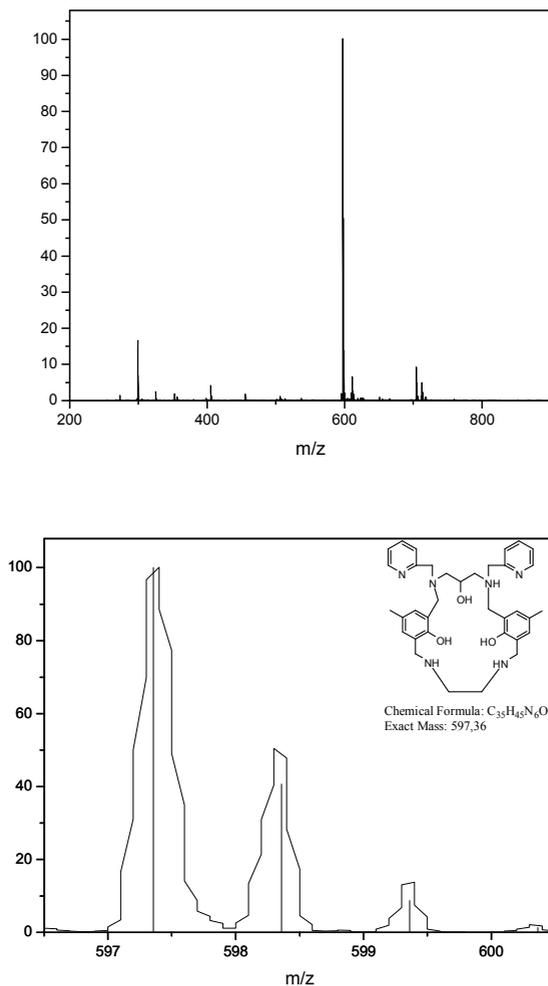
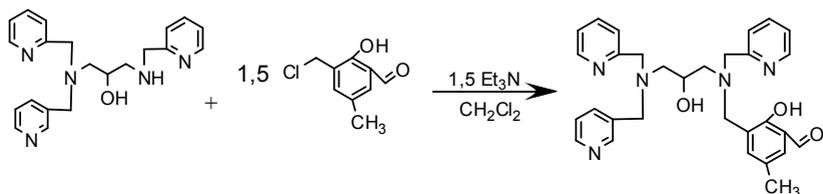


Figura 22 – Espectro de massas do ligante H_3L_{en} em CH_3CN/H_2O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 597,36 (abaixo).

3.2.2.3 *N,N',N'*-tris-(2-piridilmetil)-*N*-(2-hidróxi-5-metilbenzil-benzaldeído)-1,3-propano-2ol) – H_2L_{3pyald}



Uma solução contendo 1,09 g (3,0 mmol; $363,46 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) do precursor 3py e 0,63 mL (4,5 mmol; $101,19 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; $0,7255 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) de Et_3N foi adicionada gota a gota sobre o CMFF (0,84 g; 4,5 mmol; $184,62 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) previamente dissolvido em CH_2Cl_2 (solução amarelo intensa). Após total adição, a mistura reacional permaneceu sob refluxo a 40°C durante 24 hs, adquirindo uma coloração amarelo esverdeada. Procedeu-se então a extração com solução saturada de bicarbonato de sódio, sendo a fase orgânica seca com Na_2SO_4 anidro, evaporada em rota resultando em óleo amarelo. Esse óleo foi dissolvido em acetona, seco em bomba de vácuo e obteve-se como produto final uma esponjinha amarelada. Obtiveram-se 1,45 g do ligante H_2L_{3pyald} (2,8 mmol; $511,62 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), com rendimento de 95% em relação ao precursor 3py. O ligante H_2L_{3pyald} foi caracterizado por IV (Figura 22), por RMN ^1H (Figura 23) e por espectrometria de massa (Figura 24).

IV (KBr), em cm^{-1} : 3402 ($\nu_{\text{O-H}}$, N-H); 3059 - 2846 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático e $\nu_{\text{C-H}}$ alifático); 1651 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1595-1473 ($\nu_{\text{C=C}}$ e $\nu_{\text{C=N}}$ aromático); 1263 ($\nu_{\text{C-O}}$ fenol); 1050 ($\nu_{\text{C-O}}$ álcool); 997 ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático); 749 ($\delta_{\text{C-H}}$ piridina).

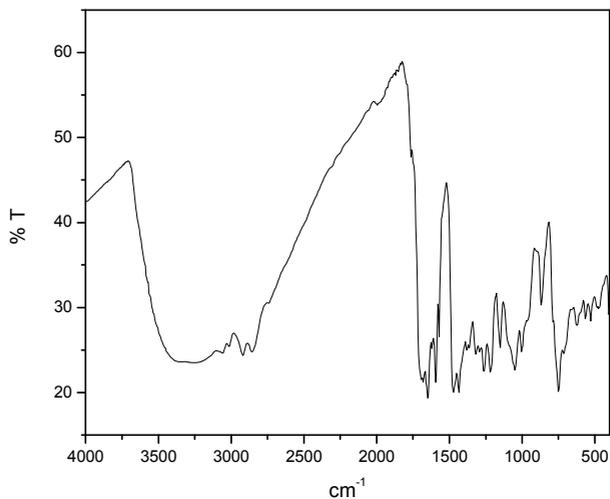


Figura 23 - Espectro no IV do $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$ em pastilha de KBr.

RMN ^1H - δ (200 MHz; CDCl_3), em ppm: 2,2 (s, 3H, CH_3); 2,4-2,7 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-OH}$); 3,7-3,9 (m, 9H, 8- CH_2 , 1- CH); 7,1-7,3 (m, 8H, CH_{ar}); 7,5-7,6 (m, 3H, CH_{ar}); 8,4 (d, 3H, CH_{ar}); 10,2 (s, 1H, $\text{COH}_{\text{aldeído}}$).

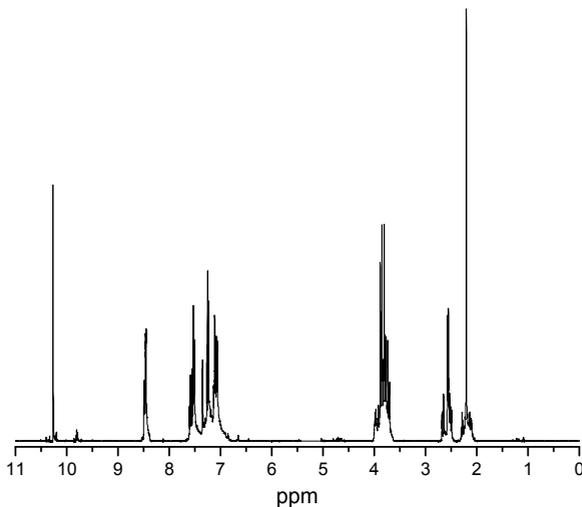


Figura 24 - Espectro de RMN ^1H do $\text{H}_2\text{L}_3\text{pyald}$ em CDCl_3 .

Espectro de massas: $C_{32}H_{37}N_6O_3$ – MM = 553,29 g.mol⁻¹ (carga 1+)
 m/z = 553,29 (100%); 554,29 (37%); 555,29 (7%); 556,29 (1%).

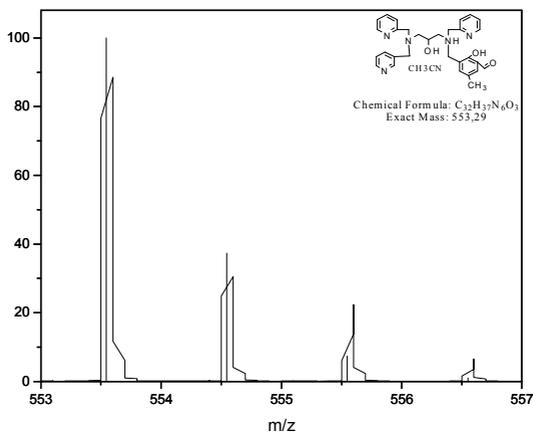
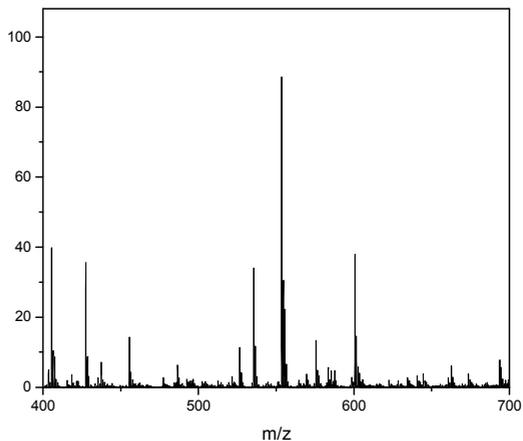
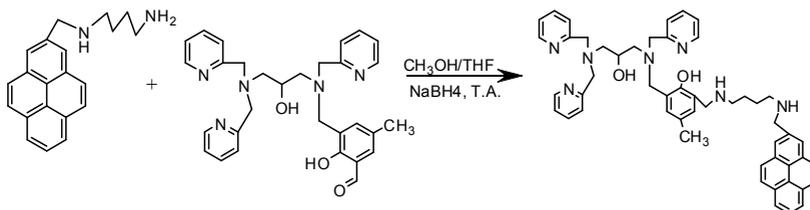


Figura 25 - Espectro de massas do ligante H_2L_3pyald em CH_3CN/H_2O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 553,29 (abaixo).

3.2.2.4 *N,N',N'*-tris-(2-piridilmetil)-*N*-(2-hidróxi-3-metil-butanodiamina-metil-pireno-5-metilbenzil)-1,3-propano-2ol) – H_2L_{3pyald} -but-pireno



O ligante H_2L_{3pyald} -but-pireno foi sintetizado pelo método da diluição. Adicionou-se gota a gota, 0,93 g da amina 1,4-butanodiamina-*N*-metil-pireno (3,0 mmol; 302,41 g.mol⁻¹) previamente dissolvido em 150 mL de THF, sobre uma solução contendo 1,53 g do aldeído H_2L_{3pyald} (3,0 mmol; 511,62 g.mol⁻¹) em 150 mL de THF. Após total adição da amina sobre o aldeído, a solução adquiriu uma coloração alaranjada e foi deixada reagindo durante 24 h a T.A.. Após esse período, NaBH₄ previamente dissolvido em MeOH (0,11g; 3 mmol; 37,83 g.mol⁻¹), foi adicionado lentamente e em pequenas porções, e após 2 horas a solução passou de alaranjada para amarelo pálido. O solvente foi então removido a pressão reduzida, adicionou-se CHCl₃ ao resíduo e procedeu-se a extração com solução aquosa de bicarbonato de sódio. Obtiveram-se 2,2 g do ligante H_2L_{3pyald} -but-pireno (2,7 mmol; 800,04 g.mol⁻¹), com rendimento de 92% em relação ao produto H_2L_{3pyald} . O ligante H_2L_{3pyald} -but-pireno foi caracterizado por IV (Figura 25), RMN ¹H (Figura 26) e por espectrometria de massa (Figura 27).

IV (KBr), em cm^{-1} : 3293 ($\nu_{\text{O-H}}$ álcool ponte); 3042 - 2854 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático e $\nu_{\text{C-H}}$ alifático); 1591-1475 ($\nu_{\text{C=C}}$ e $\nu_{\text{C=N}}$ aromático); 1244 ($\nu_{\text{C-O, C-N}}$); 1097 ($\nu_{\text{C-O}}$); 848 ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático); 750 ($\delta_{\text{C-H}}$ piridina).

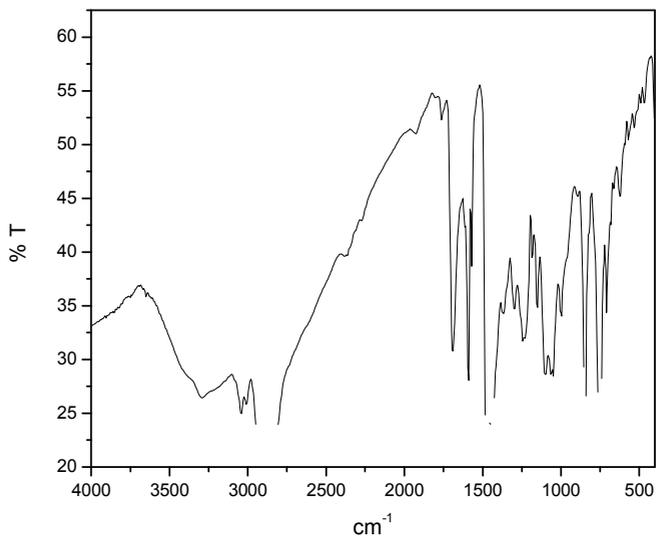


Figura 26 - Espectro no IV do $\text{H}_2\text{L}_3\text{pyald-but-pireno}$ em pastilha de KBr.

RMN ^1H - δ (200 MHz; DMSO), em ppm: 1,48 (s, 4H, CH_2); 2,09-2,1 (m, 3H, CH_3); 2,4-2,7 (m, 8H, CH_2); 3,6-3,8 (m, 9H, CH_2 , CH); 4,3-4,6 (m, 6H, CH_2); 7,1-7,7 (m, 11H, $\text{CH}_{\text{ar py e fenol}}$); 8,0-8,5 (m, 13H, $\text{CH}_{\text{ar py e pireno}}$).

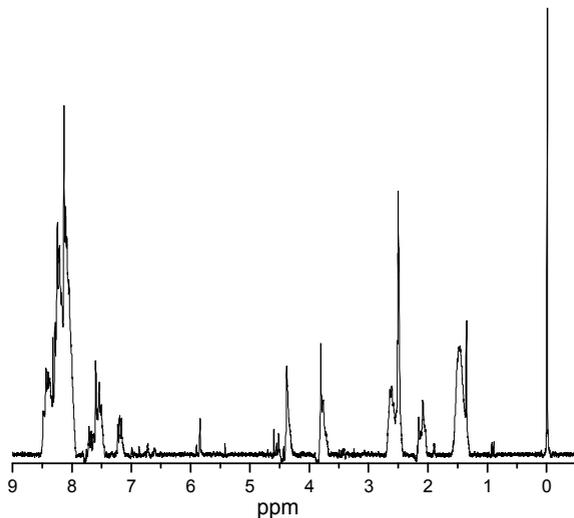


Figura 27 - Espectro de RMN ^1H do $\text{H}_2\text{L}_3\text{pyald-but-pireno}$ em CDCl_3 .

Espectro de massas: $C_{53}H_{59}N_9O_2$ – MM = 839,88 g.mol⁻¹ (carga 1+)
m/z = 839,88 (100%); 840,88 (61%); 841,88 (19%); 842,88 (4%).

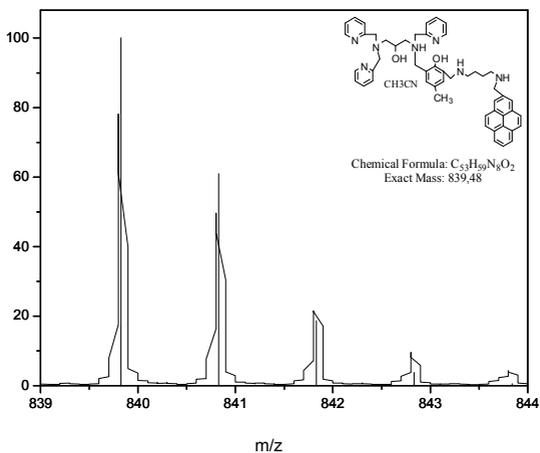
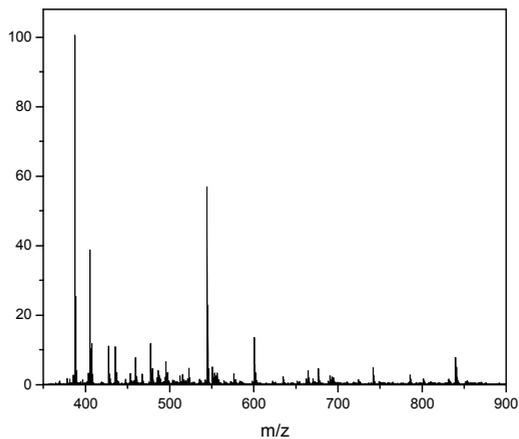
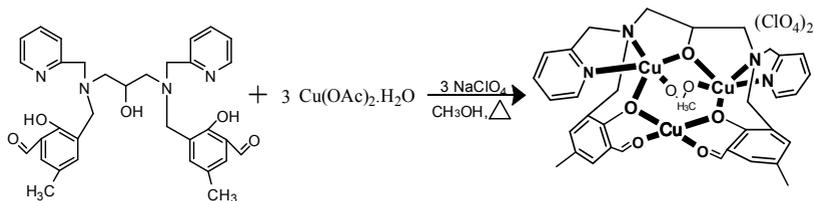


Figura 28 - Espectro de massas do ligante $H_2L_3pyald-but-pireno$ em CH_3CN/H_2O (1:1) (esquerda) e espectro experimental e simulado para m/z 839,48 (direita).

3.3 SÍNTESE DOS COMPLEXOS

3.3.1 Síntese do complexo $[\text{Cu}_3^{\text{II}}(\text{L}_{2\text{pyald}})(\mu\text{-OAc})](\text{ClO}_4)_2 - \mathbf{1}$



Adicionou-se 0,30 g de $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,5 mmol; $199,65 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) a uma solução metanólica (20 mL) contendo o ligante $\text{H}_3\text{L}_{2\text{pyald}}$ (0,28 g; 0,5 mmol; $568,67 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$), sob agitação e leve aquecimento. Após alguns minutos adicionaram-se 0,18 g de NaClO_4 (1,5 mmol; $122,44 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$), mantendo-se a agitação e aquecimento por mais meia hora. Após resfriar a solução, foi obtido um precipitado microcristalino azul, que foi lavado com CH_3OH e éter gelados, resultando em um pó. Este foi filtrado e recristalizado em $\text{IsOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1) sob aquecimento e após 1 dia obteve-se monocristais adequados a resolução da estrutura por difratometria de raios-X. Análise elementar de CHN calculada para: $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{Cl}_2\text{Cu}_3\text{N}_4\text{O}_{16}$: C, 40,68; H, 3,80; N, 5,42%. Encontrada: C, 41,66; H, 4,84; N, 5,53%. Rendimento: 0,25 g (0,25 mmol; $1032,21 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$; 50% em relação ao ligante $\text{H}_3\text{L}_{2\text{pyald}}$). A Figura 28 apresenta o espectro no IV e a Figura 29 a espectrometria de massa para o complexo **1**.

IV (KBr), em cm^{-1} : 3451 ($\nu_{\text{O-H}}$ álcool); 2922 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático/alifático); 1443 ($\nu_{\text{C=C, C=N}}$ aromático); 1625 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1597 (ν_{assim} acetato); 1457 (ν_{sim} acetato); 1259 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1087 ($\nu_{\text{Cl-O}}$ perclorato); 624 ($\delta_{\text{C-H}}$ piridina).

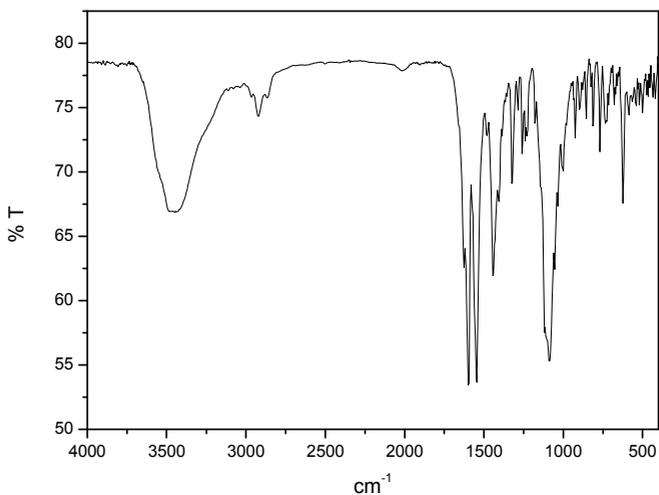


Figura 29 – Espectro no IV para o complexo **1** em pastilha de KBr.

Espectro de massas: $C_{35}H_{36}ClCu_3N_4O_{11}$ – MM = $912,00 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
(carga 1+) $m/z = 912,00$ (60%); $913,00$ (20%); $913,99$ (100%); $915,00$ (20%); $915,99$ (62,3%).

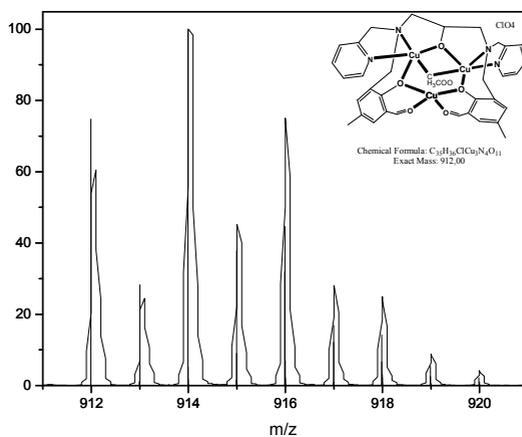
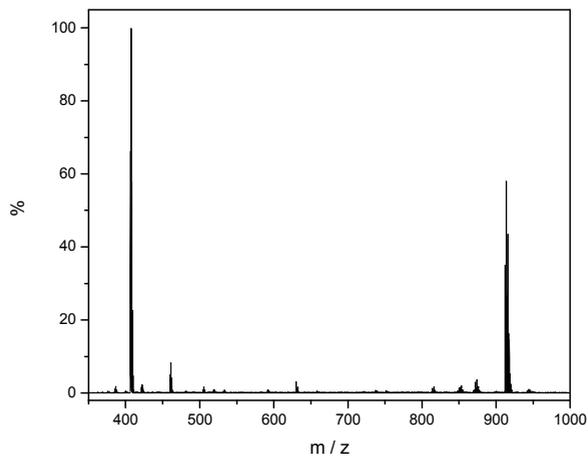
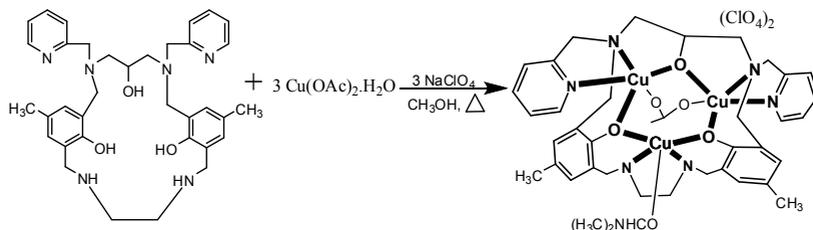


Figura 30 - Espectro de massas do complexo 1 em CH_3CN/H_2O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 912,00 (abaixo).

3.3.2 Síntese do complexo $[\text{Cu}_3^{\text{II}}(\text{L}_{\text{en}})(\mu\text{-OAc})(\text{DMF})](\text{ClO}_4)_2 - \mathbf{2}$



O complexo **2** foi sintetizado da seguinte maneira: a uma solução metanólica contendo 0,24 g do ligante $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$ (0,4 mmol; 596,76 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$), adicionaram-se 0,24 g de $\text{Cu}(\text{OAc})_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1,2 mmol; 199,65 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$), sob agitação e leve aquecimento. Após alguns minutos adicionaram-se 0,15 g de NaClO_4 (1,2 mmol; 122,44 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Durante a síntese do complexo, precipitou um pó verde, o qual foi recristalizado em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{DMF}$. Após evaporação lenta, monocristais adequados a resolução da estrutura cristalina por difração de raios X foram obtidos. Rendimento: 0,20 g (0,2 mmol; 1121,40 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 50% em relação ao ligante $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$). Análise elementar de CHN calculada para: $\text{C}_{40}\text{H}_{49}\text{Cl}_2\text{Cu}_3\text{N}_7\text{O}_{14,5}$: C, 42,84; H, 4,40; N, 8,74%. Encontrada: C, 41,66; H, 4,84; N, 7,79%. A Figura 30 apresenta o espectro no IV e a Figura 31 a espectrometria de massa para o complexo **2**.

IV (KBr), em cm^{-1} : 3436 ($\nu_{\text{O-H}}$ álcool); 2922 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático/alifático); 1611 ($\delta_{\text{N-H}}$ amina secundária); 1445 ($\nu_{\text{C=C}}$, C=N aromático); 1558 (ν_{assim} acetato); 1471 (ν_{sim} acetato); 1258 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1091 ($\nu_{\text{Cl-O}}$ perclorato); 625 ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático).

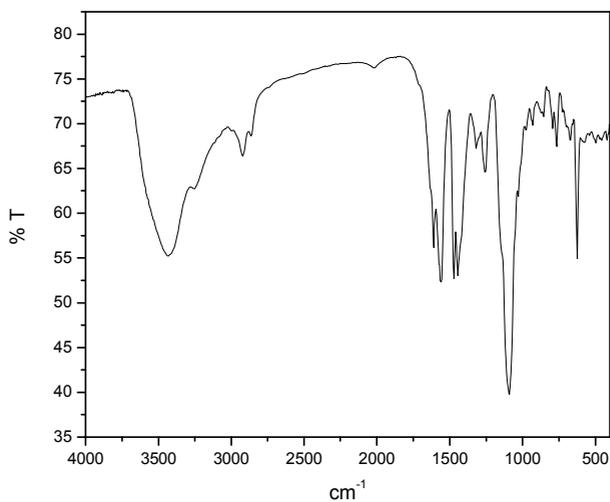
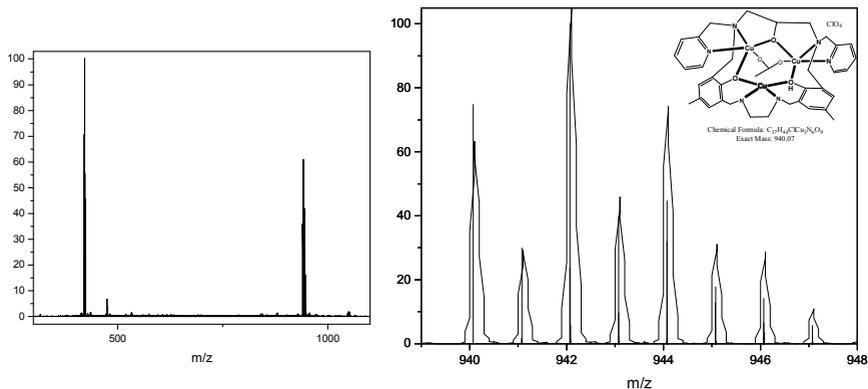


Figura 31 – Espectro no IV para o complexo **2** em pastilha de KBr.

Espectro de massas: $C_{37}H_{44}ClCu_3N_6O_9$ – MM = $940,07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
 (carga 1+) – $m/z = 940,07$ (60,4%); $941,07$ (20%); $942,07$ (100%);
 $943,07$ (25%); $944,07$ (62,7%).



$C_{37}H_{44}Cu_3N_6O_5$ – MM = $841,13 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (carga 2+) - $m/z = 420,56$
 (60,4%); $421,06$ (20%); $421,56$ (100%); $422,06$ (35%); $422,56$ (52,7%).

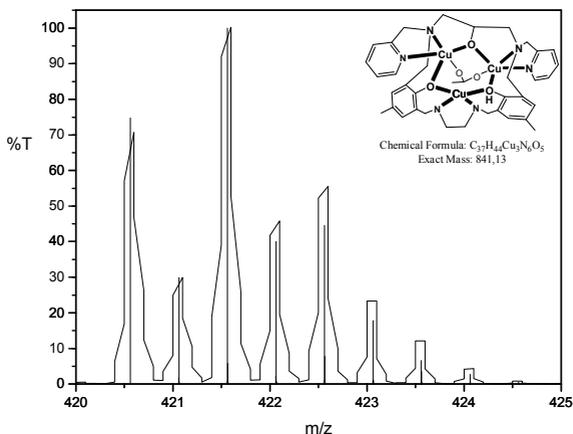
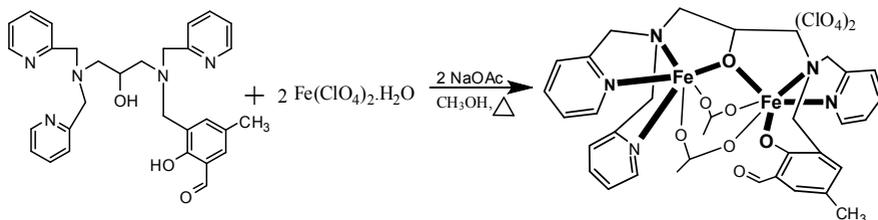


Figura 32 - Espectro de massas do complexo **2** em CH_3CN/H_2O (1:1) (esquerda) e espectro experimental e simulado para m/z 940,07 (direita) e m/z 420,56 (centralizado).

3.3.3 Síntese do complexo $[\text{Fe}_2^{\text{III}}(\text{L}_{3\text{pyald}})(\mu\text{-OAc})_2](\text{ClO}_4)_2 - \mathbf{3}$



O complexo **3** foi sintetizado da seguinte maneira: a uma solução metanólica contendo 0,26 g do ligante $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$ (0,5 mmol; $511,62 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), adicionaram-se 0,25 g de $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1,0 mmol; $254,75 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), sob agitação e leve aquecimento. Após alguns minutos adicionaram-se 0,13 g de NaOAc (1,0 mmol; $136,08 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). A solução púrpura resultante permaneceu sob agitação e aquecimento por aproximadamente 30 minutos. A seguir, filtrou-se e deixou-se em repouso. Após a lenta evaporação do solvente, houve a formação de um precipitado marrom, o qual foi filtrado e lavado com éter etílico. Rendimento: 0,46 g (0,49 mmol; $940,29 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 40% em relação ao ligante $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$). Análise elementar de CHN calculada para: $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{Cl}_2\text{Fe}_2\text{N}_5\text{O}_{15}$: C, 43,43; H, 4,18; N, 7,45%. Encontrada: C, 43,62; H, 4,50; N, 8,02%. A Figura 32 apresenta o espectro no IV e a Figura 33 a espectrometria de massa para o complexo **3**.

IV (KBr), em cm^{-1} : 3437 ($\nu_{\text{O-H}}$ álcool); 2922 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático/alifático); 1608 ($\delta_{\text{N-H}}$ amina secundária); 1440 ($\nu_{\text{C=C}}$, C=N aromático); 1548 (ν_{assim} acetato); 1440 (ν_{sim} acetato); 1258 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1087 ($\nu_{\text{Cl-O}}$ perclorato); 626 ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático).

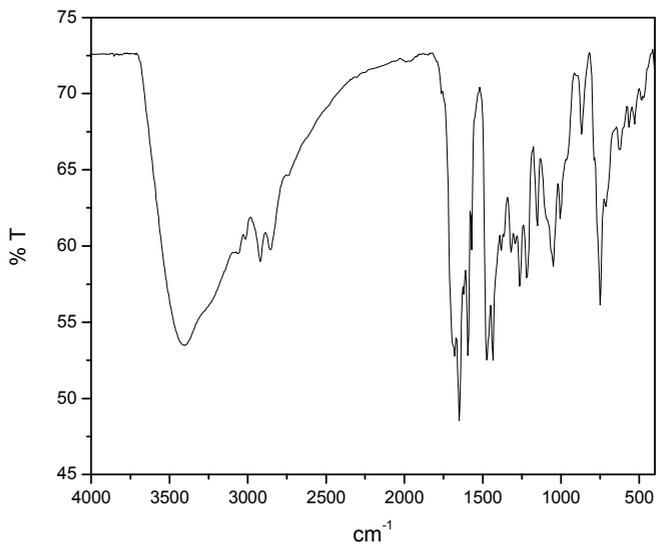


Figura 33 – Espectro no IV para o complexo **3** em pastilha de KBr.

Espectro de massas: $C_{32}H_{40}Fe_2N_5O_{15}Cl_2$ – MM = 916,74 g.mol⁻¹
 (carga 2+) – m/z = 457,38 (12%); 457,88 (5%); 458,38 (100%); 458,88
 (72%); 459,38 (42%).

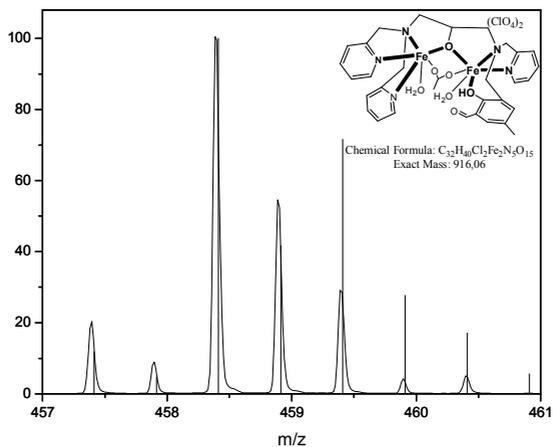
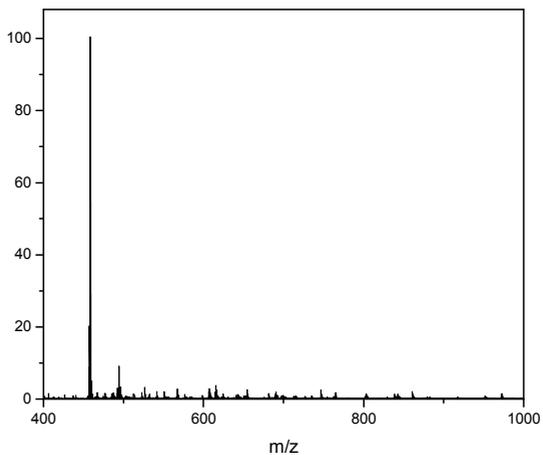
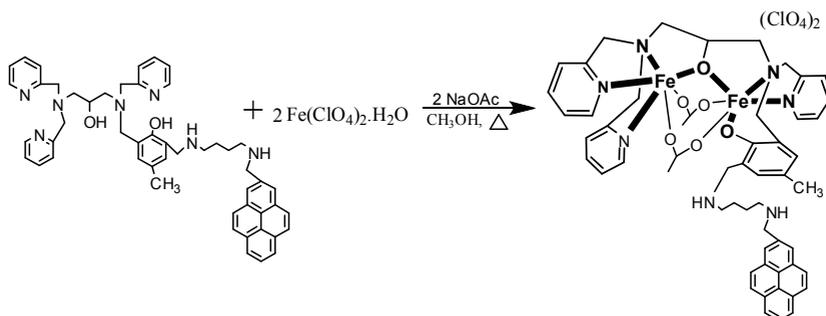


Figura 34 - Espectro de massas do complexo **3** em CH_3CN/H_2O (1:1) (acima) e espectro experimental e simulado para m/z 916,74 (abaixo).

3.3.4 Síntese do complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}})(\mu\text{-OAc})_2](\text{ClO}_4)_2 - 4$



O complexo **4** foi sintetizado de acordo com procedimento análogo ao utilizado para o complexo **3**: a uma solução em clorofórmio contendo 0,40 g do ligante $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}}$ (0,5 mmol; $798,03 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), adicionaram-se 0,25 g de $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ previamente dissolvido em metanol (1,0 mmol; $254,75 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), sob agitação e leve aquecimento. Após alguns minutos adicionaram-se 0,13 g de NaOAc (1,0 mmol; $136,08 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). A solução púrpura resultante permaneceu sob agitação e aquecimento por aproximadamente 30 minutos. A seguir, filtrou-se e deixou-se em repouso. Após a lenta evaporação do solvente, houve a formação de um precipitado marrom, o qual foi filtrado e lavado com éter etílico. Rendimento: 0,61 g (0,50 mmol; $1226,71 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 50% em relação ao ligante $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}}$). Análise elementar de CHN calculada para: $\text{C}_{55}\text{H}_{61}\text{Cl}_2\text{Fe}_2\text{N}_7\text{O}_{14}$: C, 53,85; H, 5,01; N, 7,99%. Encontrada: C, 53,79; H, 6,01; N, 6,69%. A Figura 34 apresenta o espectro no IV para o complexo **4**.

IV (KBr), em cm^{-1} : 3436 ($\nu_{\text{O-H}}$ álcool); 3039-2859 ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático/alifático); 1605 ($\delta_{\text{N-H}}$ amina secundária); 1471 ($\nu_{\text{C=C}}$, C=N aromático); 1571 (ν_{assim} acetato); 1439 (ν_{sim} acetato); 1259 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1092 ($\nu_{\text{Cl-O}}$ perclorato); 848 ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático); 623 ($\delta_{\text{C-H}}$ piridina).

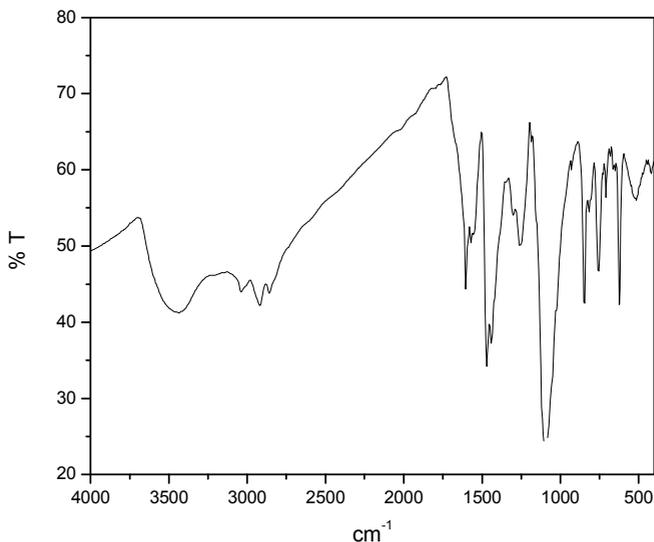


Figura 35 – Espectro no IV para o complexo **4** em pastilha de KBr.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentadas as caracterizações e respectivas discussões relativas às sínteses dos ligantes e complexos, bem como a reatividade dos complexos sintetizados.

A Figura 35 contém as representações dos ligantes e a Figura 36 contém a representação dos complexos utilizados neste trabalho.

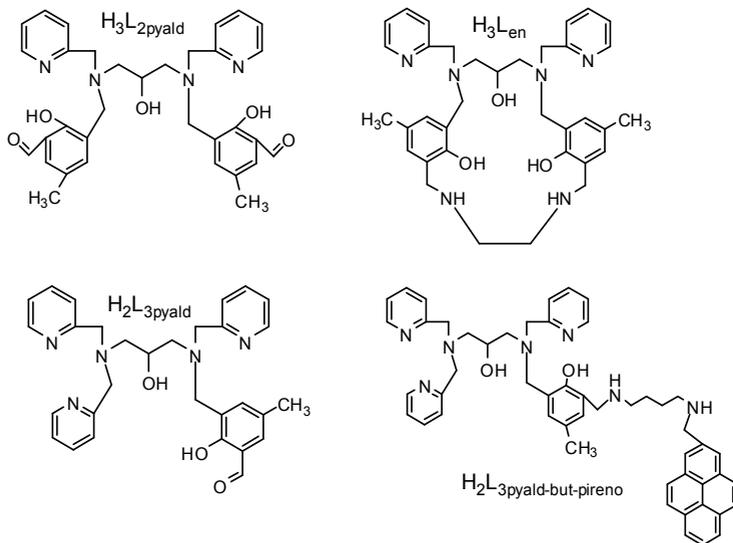


Figura 36 – Representação dos ligantes.

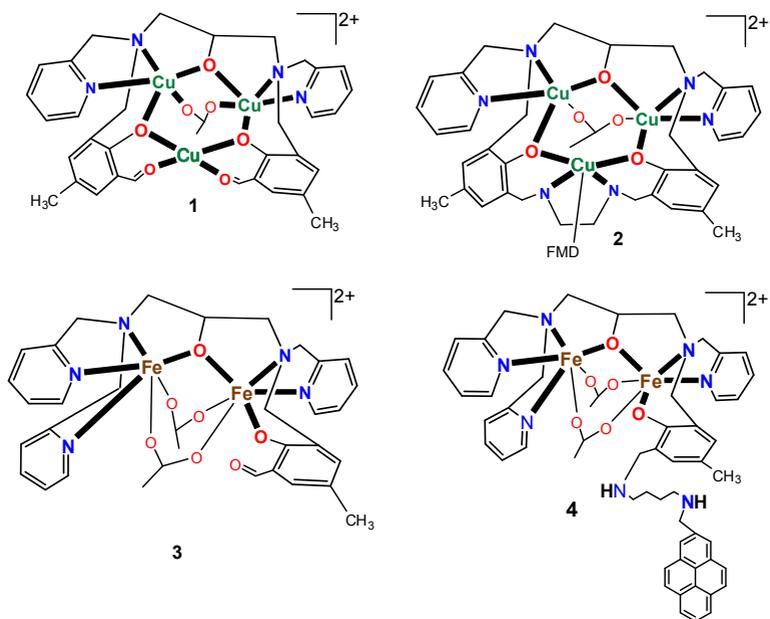


Figura 37 – Representação dos cátions complexos sintetizados

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES

Os ligantes H_3L_{2pyald} , H_3L_{en} , H_2L_{3pyald} e $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ foram obtidos com bons rendimentos de acordo com as rotas sintéticas descritas na seção experimental. Os ligantes foram obtidos com graus de pureza adequados para a utilização nas sínteses dos complexos e foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massas.

4.1.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO – IV

Todos os precursores e ligantes foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho e as principais bandas foram atribuídas (Silverstein et al., 1994; Nakamoto, 1978) com base em semelhança, de modo a serem utilizadas para acompanhar a formação dos compostos em cada etapa. A Tabela 1 apresenta as principais bandas e atribuições para os ligantes H_3L_{2pyald} , H_3L_{en} , H_2L_{3pyald} e $H_2L_{3pyald-but-pireno}$.

Tabela 1 – Principais bandas e atribuições (Silverstein et al., 1994; Nakamoto, 1978), em cm^{-1} , dos espectros no infravermelho para os ligantes H_3L_{2pyald} , H_3L_{en} , H_2L_{3pyald} e $H_2L_{3pyald-but-pireno}$.

Atribuições	H_3L_{2pyald}	H_3L_{en}	H_2L_{3pyald}	$H_2L_{3pyald-but-pireno}$
ν (O-H _{álcool})	3400	3196	3402	3293
ν (C-H _{ar} / C-H _{alif})	3059-2847	3062-2830	- 2846	3042-2854
ν (C=O)	1677	-----	1651	-----
ν (C=N _{ar} /C=C _{ar})	1595-1475	1592-1480	1595-1473	1591-1475
δ_{N-H} amina 2 ^a	-----	1570	-----	1693
ν (O-H _{fenol})	1376	1367	1371	1244
ν (C-O _{fenol})	1263	1237	1263	1097
δ (C-H _{aromático})	995	863	997	848
δ (C-H _{piridina})	755	755	749	750

Os espectros no infravermelho dos precursores indicam a formação do composto desejado. O desaparecimento das bandas em 1705 cm^{-1} , 1367 cm^{-1} e 1266 cm^{-1} , no espectro do 1,4-butanodiamina-N-metil-pireno (Figura 15; p. 63) quando comparado ao do pireno-1,4-

butanodiamina-Boc (Figura 15; p. 63), atribuídas respectivamente aos estiramentos das ligações C=O, C-H_{terc-butil}, e C-O do grupo protetor Boc evidenciam que o mesmo foi removido do composto, obtendo-se assim o produto desejado.

Os ligantes H₃L₂pyald e H₂L₃pyald apresentam bandas referentes ao estiramento dos grupos carbonila (1677 e 1674 cm⁻¹), assim como os demais ligantes não as apresentam, evidenciando assim, que novos grupos funcionais, como aminas, foram inseridos no lugar das carbonilas.

Os ligantes H₃L_{en} (Figura 19; p. 69) e H₂L₃pyald-but-pireno (Figura 25; p.77) apresentam bandas típicas de aminas secundárias, comprovando sua formação.

4.1.2 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO – RMN ¹H

A espectroscopia de RMN ¹H também foi uma ferramenta bastante útil para a caracterização de cada composto sintetizado. Os deslocamentos químicos e a integração dos sinais nos espectros de RMN ¹H permitiram determinar o número de hidrogênios presentes em cada composto, bem como a sua natureza. Os valores de deslocamento químico (δ_H em ppm), o número de hidrogênios correspondentes e as atribuições dos sinais dos ligantes H₃L₂pyald, H₃L_{en}, H₂L₃pyald e H₂L₃pyald-but-pireno estão listados na Tabela 2. O cálculo das constantes de acoplamento não foi possível devido à sobreposição de sinais na região dos hidrogênios aromáticos. Para facilitar a discussão dos espectros e a atribuição dos sinais, esquemas de numeração para os átomos de hidrogênio e carbono foram inseridos nos respectivos espectros de ressonância. Estes esquemas serão apresentados na Figura 37. Entre os ligantes simétricos sintetizados H₃L₂pyald, H₃L_{en}, assim como entre os ligantes assimétricos H₂L₃pyald e H₂L₃pyald-but-pireno foi possível notar a existência dos prótons na região de 10 ppm atribuídos aos prótons correspondentes aos aldeídos para aqueles em que o aldeído permanece inalterado, bem como a ausência de prótons nessa região, indicando que os aldeídos foram substituídos por outros grupos funcionais.

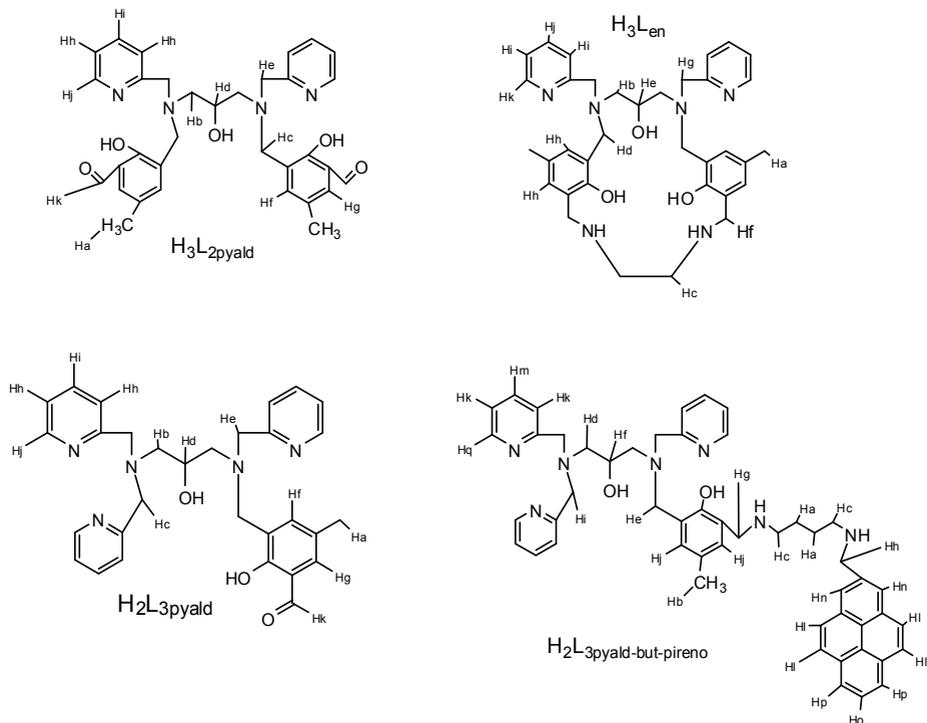


Figura 38 - Esquemas de numeração para os átomos de hidrogênio utilizados nas atribuições de RMN dos ligantes.

Tabela 2 – Deslocamentos químicos (ppm), observados nos espectros de RMN ¹H para os ligantes H₃L₂pyald, H₃L_{en}, H₂L₃pyald e H₂L₃pyald-but-pireno.

H ₃ L ₂ pyald	δ _{observado} (ppm)	Multiplicidade	n ^o hidrogênios	Atribuição
	2,2	Singlete	6	Ha
	2,5	Multiplete	4	Hb
	3,8	Multiplete	9	Hc,Hd,He
	7,1	Multiplete	4	Hf, Hg
	7,3	Multiplete	4	Hh
	7,4	Multiplete	2	Hi
	8,4	Dublete	2	Hj
	10,1	Singlete	2	Hk

H₃L_{en}	$\delta_{\text{observado}}$ (ppm)	Multiplicidade	n ^o hidrogênios	Atribuição
	2,2	Singlete	6	Ha
	2,5	Multiplete	4	Hb
	2,9	Multiplete	4	Hc
	3,6-4,1	Multiplete	13	Hd,He, Hf, Hg
	6,7	Multiplete	4	Hh
	7,3	Multiplete	4	Hi
	7,6	Multiplete	2	Hj
	8,4	Dublete	2	Hk

H₂L_{3pyald}	$\delta_{\text{observado}}$ (ppm)	Multiplicidade	n ^o hidrogênios	Atribuição
	2,2	Singlete	3	Ha
	2,5	Multiplete	4	Hb
	3,7-3,9	Multiplete	9	Hc,Hd,He
	7,1-7,3	Multiplete	8	Hf,Hg, Hh
	7,5-7,6	Multiplete	3	Hi
	8,4	Dublete	3	Hj
	10,2	Singlete	1	Hk

H₂L_{3pyaldpireno}	$\delta_{\text{observado}}$ (ppm)	Multiplicidade	n ^o hidrogênios	Atribuição
	1,48	Singlete	4	Ha
	2,0-2,1	Multiplete	3	Hb
	2,6-2,7	Multiplete	8	Hc, Hd
	3,7	Multiplete	9	He,Hf,Hg, Hh
	4,3-4,6	Multiplete	6	Hi
	7,1-7,7	Multiplete	11	Hj, Hk, Hm
	8,0-8,5	Multiplete	13	Hq, Hn, Hl, Hp, Ho

4.1.3 ESPECTROMETRIA DE MASSA – ESI-MS

A principal característica observada nos espectros de massas dos complexos é a pequena fragmentação, a qual permite a identificação do íon molecular e as espécies mais estáveis frente aos processos de ionização.

A espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS) apresenta-se como uma técnica de análise aplicada com sucesso na caracterização de ligantes e complexos em solução, ao produzir íons em fase gasosa diretamente da solução contendo o composto a ser analisado, obtendo-se assim informações qualitativas acerca das espécies carregadas existentes em solução.

Medidas de ESI-MS para os ligantes foram realizadas em soluções de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), por motivos de baixa solubilidade dos mesmos só em água, e para se igualar as condições utilizadas nos experimentos cinéticos, assegurando assim, estar se tratando das mesmas espécies quando em solução.

Para o ligante $\text{H}_3\text{L}_{2\text{pyald}}$, um grupo principal de picos foi observado na razão m/z de 569,27, o qual pode ser atribuído à espécie contendo uma unidade do ligante com os dois grupos fenóis protonados, e ainda uma das aminas contendo um próton, concordando com os dados observados no espectro de infravermelho.

O ligante $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$ apresentou um grupo principal de picos na razão m/z 597,36, correspondente a uma unidade do ligante com os dois oxigênios fenólicos protonados, além de uma amina contendo um próton coordenado.

Os ligantes assimétricos $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$ e $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}}$ apresentaram respectivamente um grupo de picos principal na razão m/z 553,29 e 839,88, correspondendo ambos a uma unidade do ligante contendo o oxigênio fenólico protonado, além de uma molécula de CH_3CN , haja visto que as análises são realizadas no meio $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), e um próton coordenado a um dos nitrogênios amínicos.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

Os complexos trinucleares de cobre(II) foram preparados a partir dos ligantes $\text{H}_3\text{L}_{2\text{pyald}}$ ou $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$ e acetato de cobre(II) em estequiometria 1:3, utilizando metanol como solvente e sob leve aquecimento. Os complexos obtidos foram isolados como cátions, contendo íons $(\text{ClO}_4)^-$ como contra-íons.

Os complexos binucleares de ferro(III) foram preparados a partir dos ligantes $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$ ou $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}}$ e perclorato de ferro (II) em estequiometria 1:2, utilizando metanol/clorofórmio como solvente, sob agitação e leve aquecimento e adicionando acetato de sódio para formar pontes exógenas tipo acetato, completando assim a esfera de coordenação em torno do centro metálico.

Os complexos catiônicos são pouco solúveis em água, no entanto apresentam boa solubilidade em vários solventes orgânicos, tais como: acetonitrila, metanol, etanol, acetona e diclorometano, entre outros. Processos de recristalização do complexo **1** em isopropanol/água (1:1) e do complexo **2** em acetonitrila/DMF, forneceram monocristais adequados para a resolução da estrutura cristalina por difração de raios X.

Os complexos **1 a 4** foram caracterizados via análise elementar de C,H,N, IV, Uv-Vis-IVP, eletroquímica, titulação potenciométrica, titulação espectrofotométrica e espectrometria de massa.

4.2.1 ANÁLISE ELEMENTAR DE C,H,N

Os complexos **1 a 4** foram caracterizados por análise elementar de CHN e **1 e 2** apresentaram resultados concordantes com as fórmulas moleculares determinadas por difração de raios X. A Tabela 3 mostra a fórmula molecular, massa molar e as porcentagens de C, H, e N (calculada/encontrada) para todos os complexos.

Tabela 3 - Resultados das análises elementares de porcentagem de C,H e N para os complexos sintetizados.

Complexo	1	2	3	4
Fórmula Molecular	C ₃₅ H ₃₉ Cl ₂ Cu ₃ N ₄ O ₁₅	C ₄₀ H ₄₉ Cl ₂ Cu ₃ N ₇ O _{14,5}	C ₃₄ H ₃₉ Cl ₂ Fe ₂ N ₅ O ₁₅	C ₃₅ H ₆₁ Cl ₂ Fe ₂ N ₇ O ₁₄
Massa Molar (g.mol ⁻¹)	1032,21	1121,40	940,29	1226,71
% C (calc/enc)	40,68 / 41,66	42,84 / 41,66	43,43 / 43,62	53,85 / 53,79
% H (calc/enc)	3,80 / 4,84	4,40 / 4,84	4,18 / 4,50	5,01 / 6,01
% N (calc/enc)	5,42 / 5,53	8,74 / 7,79	7,45 / 8,02	7,99 / 6,69

As análises elementares apresentam uma boa correlação entre os valores calculados e teóricos.

4.2.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO – IV

A espectroscopia no IV é geralmente utilizada como uma análise preliminar e mostrou-se muito útil na caracterização inicial dos complexos (Silverstein *et al.*, 1994; Nakamoto, 1978), uma vez que a formação dos mesmos pôde ser acompanhada pela presença das bandas características de cada ligante, indicando a presença do mesmo nos compostos isolados. Bandas adicionais, referentes ao contra-íon, ligantes exógenos e moléculas de água, bem como deslocamentos químicos em relação aos ligantes livres, também são observadas. Na

tabela 4 estão apresentadas as principais bandas e atribuições (Silverstein *et al.*, 1994; Nakamoto, 1978) para os complexos **1** a **4**.

Tabela 4 – Principais bandas e atribuições em cm^{-1} dos espectros no infravermelho para os complexos **1** a **4**.

Atribuição	1	2	3	4
ν (O-H, N-H, H_2O)	3451	3436	3437	3436
ν (C-H_{ar} / C-H_{alif})	2922	2922	2923	3039-2859
ν ($\text{C}=\text{N}_{\text{ar}}$ / $\text{C}=\text{C}_{\text{ar}}$)	1443	1445	1440	1471
$\delta_{\text{N-H}}$ amina 2^{a}	-----	1611	-----	1605
ν ($\text{OAC}_{\text{assimétrico}}$)	1597	1558	1548	1571
ν ($\text{OAC}_{\text{simétrico}}$)	1457	1471	1440	1439
ν (C-O)	1259	1258	1261	1259
ν (Cl-O)	1087	1091	1087	1092
δ ($\text{C-H}_{\text{aromático}}$)	624	625	626	623

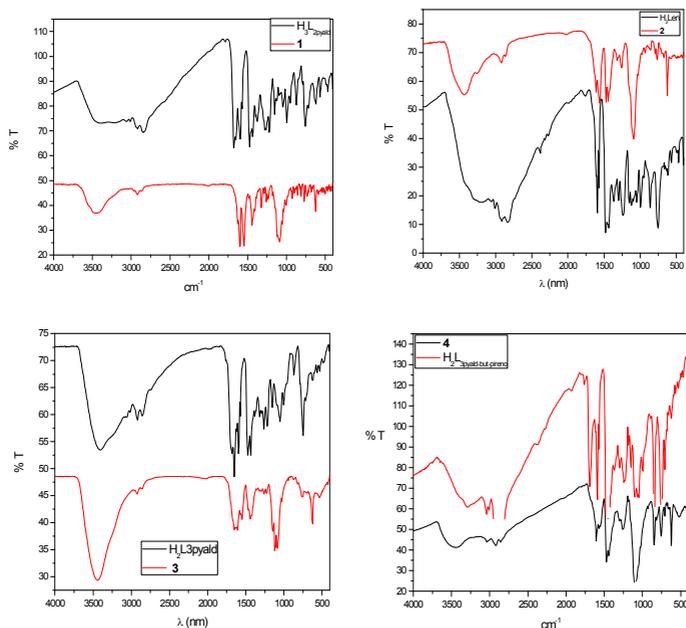


Figura 39 - Sobreposição dos espectros no IV dos complexos com os seus respectivos ligantes: $\text{H}_3\text{L}_2\text{pyald}$ e **1**; H_3Len e **2**; $\text{H}_2\text{L}_3\text{pyald}$ e **3**; $\text{H}_2\text{L}_3\text{pyald}$ -but-pireno e **4**.

Os ligantes apresentam bandas intensas entre 1600 e 1400 cm^{-1} , características dos estiramentos das ligações C=N e C=C dos anéis aromáticos. Nos complexos estas bandas também são observadas com intensidades relativas similares, porém um pouco deslocadas. Este deslocamento deve-se aos estiramentos simétrico e assimétrico das ligações O-C-O dos acetatos ponte entre os centros metálicos. A ausência da banda de média intensidade em aproximadamente 1390 cm^{-1} nos espectros dos complexos **1** a **4** observada nos respectivos ligantes livres, devido à deformação angular fora do plano da ligação O-H_{fenol}, indica a coordenação dos fenóis na forma desprotonada dos ligantes nesses complexos. Na região próxima a 1100 cm^{-1} , aparece uma banda intensa referente ao estiramento das ligações Cl-O dos contra-íons ClO₄, o que também sugere que os fenóis estejam coordenados de forma desprotonada aos metais.

A banda em 1597 cm^{-1} para o complexo **1** refere-se ao estiramento simétrico da ligação C-O. Esta mesma banda aparece em 1571 cm^{-1} no complexo **4**. A banda em 1457 cm^{-1} (**1**) refere-se ao estiramento assimétrico e em **4**, aparece em 1439 cm^{-1} . No entanto, o Δ_{vas} - vs dos complexos **1** (140 cm^{-1}) e **4** (132 cm^{-1}) são praticamente iguais, indicando que o modo de coordenação do acetato no [Cu₃(L_{2pyald})(μ -OAc)](ClO₄)₂ - **1** é igual ao encontrado em [Fe₂(L_{3pyald-but-pireno})(μ -OAc)₂](ClO₄)₂ - **4**, ou seja, acetato bidentado formando ponte entre os dois centros de ferro.

4.2.3 ESPECTROMETRIA DE MASSAS – ESI-MS

Para o complexo **1**, um grupo principal de picos foi observado na razão massa/carga de 912,00, o qual pode ser atribuído à espécie [Cu₃(L_{2pyald})(OAc)](ClO₄)⁺, indicando que o ligante permanece intacto ao se coordenar aos átomos de cobre.

O complexo **2** apresentou dois grupos de picos de razões massa/carga = 940,07 e 420,46. O pico em m/z 940,07 pode ser atribuído a espécie [Cu^{II}Cu^{II}Cu^I(HL_{en})(OAc)](ClO₄)⁺, contendo uma unidade do ligante com um dos grupos fenóis coordenado de maneira protonada, três átomos de cobre, sendo que um deles sofreu redução de Cu^{II} para Cu^I no momento da ionização, um ligante exógeno acetato fazendo ponte entre dois centros de cobre e um ânion perclorato.

O segundo pico em m/z 420,56 refere-se à mesma espécie [Cu^{II}Cu^{II}Cu^I(HL_{en})(OAc)]²⁺ porém sem o ClO₄ como contra-íon,

apresentando por isso uma carga 2+, o que pode ser comprovado pela distâncias existentes entre os picos tanto experimental, quanto simulado, onde a diferença entre um pico e outro é de exatamente 0,5 unidades. Para espécies com carga 1+, a diferença entre um pico e outro é sempre de 1 unidade.

Para o complexo **3**, um único grupo principal de picos foi observado na razão massa/carga de 458,37, o qual pode ser atribuído à espécie $[\text{Fe}_2(\text{L}_{3\text{pyald}})(\text{OAc})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_2^{2+}$, que possui uma carga 2+, indicando que o ligante permanece intacto ao se coordenar aos átomos metálicos, e os mesmos se encontram no estado de oxidação Fe(III).

Para o complexo **4**, não foi possível observar nenhum grupo de picos que pudesse ser atribuído à espécie proposta. Uma possível explicação seria de que o grupo pireno se fragmenta durante a ionização, dificultando assim a observação do complexo em solução. Outra dificuldade encontrada foi com relação à solubilidade do complexo **4**, uma vez que ao colocar o grupo intercalante pireno o composto se torna solúvel apenas em DMF, e a qualidade dos espectros de massa reduz drasticamente neste meio.

4.2.4 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

As estruturas cristalinas dos complexos **1** e **2** foram obtidas através da análise de monocristais dos respectivos complexos pelo método de difração de raios X. Os dados cristalográficos e do refinamento das estruturas para os complexos **1** e **2** estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Parâmetros cristalográficos e de refinamento da estrutura para os complexos **1** e **2**.

	1	2
Fórmula Empírica	C ₃₅ H ₃₆ Cl ₂ Cu ₃ N ₄ O ₁₆	C ₄₀ H ₄₉ Cl ₂ Cu ₃ N ₇ O _{14,50}
Massa molar (g.mol ⁻¹)	1032,21	1121,38
Temperatura	293(2) K	296(2) K
Comprimento de onda - λ (Å)	0,71073	0,71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico	Ortorômbico
Grupo espacial	P21/c	P c a 21
Dimensões cela unitária	a = 13.7240(4) Å b = 16.1070(4) Å c = 19.4870(5) Å α = 90° β = 109.3700(10)° γ = 90°	a = 16.1140(4) Å b = 22.7690(6) Å c = 25.7470(6) Å α = 90° β = 90° γ = 90°
Volume (Å ³)	4063.82(19)	9446.6(4)
Z, Densidade calculada (g/cm ³)	4; 1,687 mg/m ³	8; 1,577 mg/m ³
Reflexões coletadas / únicas	54105 / 7921	43483/15915
R _{interno}	0,1519	0,0880
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²	Full-matrix least-squares on F ²
Dados / restrições / parâmetros	7921 / 0 / 544	15915 / 1 / 1208
GOOF (F ²)	1,049	1,050
Índice R final [I>2σ(I)]	R1 = 0,0673, wR2 = 0,1722	R1 = 0,0666, wR2 = 0,1468
Índice R (todos os dados)	R1 = 0,0893, wR2 = 0,1883	R1 = 0,1147, wR2 = 0,1694

4.2.4.1 Estrutura cristalina do complexo [Cu₃^{II}(L_{2pyald})(OAc)(H₂O)](ClO₄)₂ - **1**

A estrutura de raios X do complexo **1** foi obtida a partir de monocristais verdes pertencentes ao sistema cristalino monoclinico e grupo espacial *P21/c*. Os dados obtidos da resolução da estrutura por raios X revelam que o complexo **1** é constituído por uma unidade do ligante coordenada a dois centros de Cu(II) ligados entre si pelo átomo de oxigênio da ponte endógena alcóxido e por mais um ligante exógeno acetato, e um terceiro átomo de Cu(II) ligado a quatro átomos de oxigênio provenientes do ligante, além de dois ânions perclorato como contra-íons. Os parâmetros cristalográficos e os principais comprimentos e ângulos de ligações estão relacionados nas tabelas 5 e 6, respectivamente. Uma projeção (Zsolnai, 1997) da estrutura molecular do cátion complexo [Cu₃(L_{2pyald})(OAc)]²⁺ é apresentada na Figura 39.

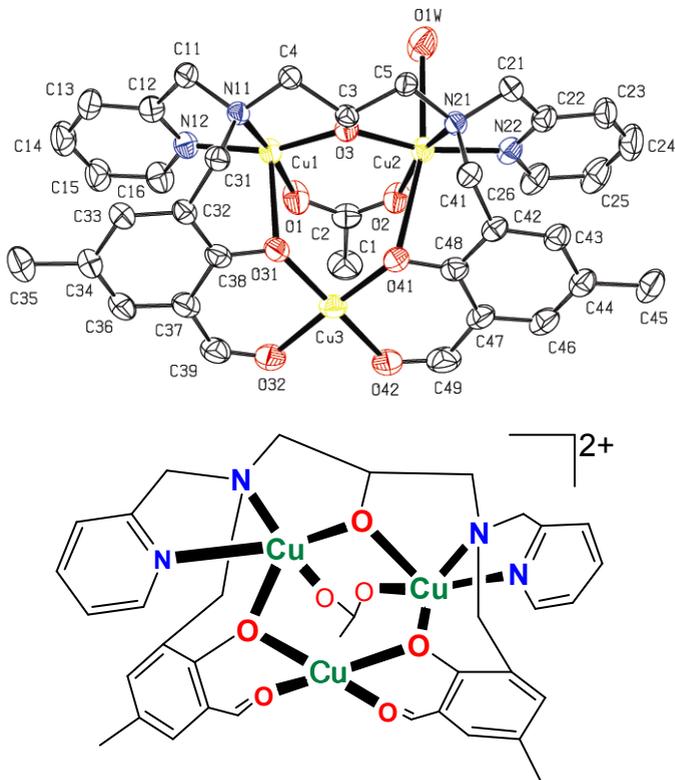


Figura 40 – Projeção (Zsolnai 1997) da estrutura molecular do cátion $[\text{Cu}_3^{\text{II}}(\text{L}_{2\text{pyald}})(\text{OAc})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ (**1**) (acima) e representação esquemática do complexo (abaixo).

Tabela 6 – Principais comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) para o complexo **1**.

Cu(1)-O(3)	1.864(3)	Cu(2)-O(3)	1.878(3)
Cu(1)-O(1)	1.928(4)	Cu(2)-O(2)	1.937(4)
Cu(1)-N(12)	1.960(4)	Cu(2)-N(22)	1.983(4)
Cu(1)-N(11)	2.047(4)	Cu(2)-N(21)	2.050(4)
Cu(1)-O(31)	2.565(4)	Cu(2)-O(1W)	2.486(5)
Cu(3)-O(41)	1.886(4)	Cu(2)-O(41)	2.908(4)
Cu(3)-O(31)	1.887(4)	Cu(1)-Cu(2)	3,3716(8)
Cu(3)-O(42)	1.921(4)	Cu(2)-Cu(3)	4,0536(9)
Cu(3)-O(32)	1.951(4)	Cu(1)-Cu(3)	3,7535(9)
O(3)-Cu(1)-O(1)	98.11(15)	O(3)-Cu(2)-O(2)	98.83(15)
O(3)-Cu(1)-N(12)	160.88(16)	O(3)-Cu(2)-N(22)	164.81(17)
O(1)-Cu(1)-N(12)	94.31(17)	O(2)-Cu(2)-N(22)	94.68(18)
O(3)-Cu(1)-N(11)	85.42(14)	O(3)-Cu(2)-N(21)	85.37(14)
O(1)-Cu(1)-N(11)	171.88(18)	O(2)-Cu(2)-N(21)	163.14(17)
N(12)-Cu(1)-N(11)	84.21(16)	N(22)-Cu(2)-N(21)	83.67(17)
O(3)-Cu(1)-O(31)	89.45(13)	O(3)-Cu(2)-O(1W)	84.32(15)
O(1)-Cu(1)-O(31)	87.63(17)	O(2)-Cu(2)-O(1W)	103.69(19)
N(12)-Cu(1)-O(31)	105.59(15)	N(22)-Cu(2)-O(1W)	85.77(16)
N(11)-Cu(1)-O(31)	85.10(14)	N(21)-Cu(2)-O(1W)	92.95(17)
O(41)-Cu(3)-O(31)	89.39(15)	O(3)-Cu(2)-O(41)	80.09(12)
O(41)-Cu(3)-O(42)	93.60(17)	O(2)-Cu(2)-O(41)	83.34(14)
O(31)-Cu(3)-O(42)	174.4(2)	N(22)-Cu(2)-O(41)	108.51(14)
O(41)-Cu(3)-O(32)	177.54(17)	N(21)-Cu(2)-O(41)	81.30(13)
O(31)-Cu(3)-O(32)	93.04(17)	O(1W)-Cu(2)-O(41)	163.74(13)
O(42)-Cu(3)-O(32)	84.00(19)	Cu(1)-O(3)-Cu(2)	128.58(16)

A geometria de coordenação no átomo Cu1 somente pôde ser estabelecida através do cálculo de $\tau = (\beta - \alpha) / 60$, onde β representa o maior ângulo e α o segundo maior ângulo na esfera de coordenação, conforme descrito por Addison e colaboradores (1984). O fator estrutural τ é aplicável para complexos penta-coordenados e representa o grau de trigonalidade da geometria, sendo $\tau = 0$ para geometria tetragonal perfeita e $\tau = 1$ para geometria trigonal bipiramidal perfeita.

O centro de Cu1 do complexo encontra-se em uma geometria piramidal de base quadrada distorcida ($\tau = 0,18$). No centro de Cu1 o plano basal é constituído pelas ligações dos átomos de nitrogênio amínico (N11) e piridínico (N12), dos átomos de oxigênio do acetato

ponte (O1) e do alcoóxido ponte (O3), e o átomo de oxigênio desprotonado do fenol (O31) ocupa a posição apical completando a esfera de coordenação.

No centro de Cu₂, a geometria adotada foi octaédrica distorcida. O plano basal está constituído pelas ligações dos átomos de nitrogênio piridínico (N22) e amínico (N21), do átomo de oxigênio do alcoóxido ponte (O3) e do acetato ponte (O2), sendo que o átomo de oxigênio da água (O1w) e o átomo de oxigênio do fenol (O41) ocupam as posições axiais, completando a esfera de coordenação.

O centro de Cu₃ apresenta geometria quadrado planar distorcida, coordenado a quatro átomos de oxigênio, sendo dois provenientes das pontes μ -fenoxo ou μ -fenolato (O31 e O41), as quais ligam os átomos de Cu₁ ao Cu₃ e Cu₂ ao Cu₃ e os demais oriundos dos aldeídos do ligante (O32 e O42). Os ângulos formados em torno do centro de Cu₃ tendem para 90° e 180° conforme esperado para uma geometria quadrado planar.

A estrutura apresenta ângulo de ligação de 128,58(16)° para Cu₁-O3-Cu₂ e a distância Cu₁-Cu₂ determinada foi de 3,3716 Å.

A longa distância observada para a molécula de água coordenada ao centro Cu₂ está um pouco abaixo do valor encontrado para outros complexos similares já descritos na literatura, (Neves et al. 1998, 2,795 Å), sendo justificável pelo fato de haver uma outra ligação no eixo y, mais longa ainda (2,908 Å), que puxa o centro de Cu₂ para baixo, devido a forte densidade eletrônica ali presente.

As curtas ligações observadas entre o centro Cu₃ e os átomos de oxigênio fenólicos (Cu(3)-O(41) = 1,886 e Cu(3)-O(31) = 1,887) comprovam que os mesmos estão coordenados ao centro metálico de maneira desprotonada, quando comparados a comprimentos de ligação na ordem de 2,4 Å (Neves et al. 1998) observados para oxigênios coordenados de maneira protonada.

4.2.4.2 Estrutura cristalina do complexo [Cu₃^{II}(L_{en})(OAc)(DMF)](ClO₄)₂ - **2**

O complexo **2** cristaliza na forma de monocristais verdes pertencentes ao sistema cristalino ortorômbico e grupo espacial Pc a21. Uma projeção (Zsolnai 1997) da estrutura molecular do cátion complexo [Cu₃(L_{en})(OAc)]²⁺ é apresentada na Figura 40. Os parâmetros cristalográficos e os principais comprimentos e ângulos de ligação são apresentados nas Tabelas 5 e 7, respectivamente. Os dados obtidos da

resolução da estrutura do complexo **2** revelam duas moléculas independentes na cela unitária, com pequenas alterações conformacionais, constituídas de um cátion complexo $[\text{Cu}_3(\text{L}_{\text{en}})(\text{OAc})]^{2+}$, dois ânions perclorato como contra-íons e uma molécula de DMF completando a esfera de coordenação.

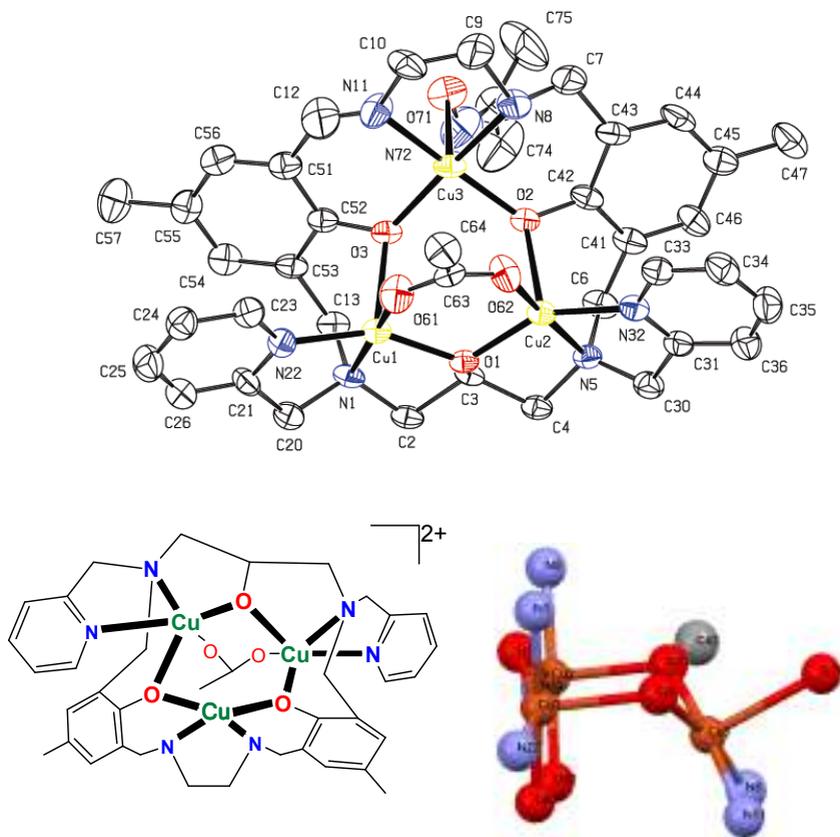


Figura 41 - Projeção (Zsolnai 1997) da estrutura molecular do cátion $[\text{Cu}_3(\text{L}_{\text{en}})(\text{OAc})]^{2+}$ (**2**) (acima), representação esquemática do complexo **2** (esquerda) e arranjo conformacional em forma de cadeira adquirido pelos centros metálicos (direita).

Tabela 7 – Principais comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) para o complexo **2**.

Cu(1)-O(1)	1.896(5)	Cu(2)-O(1)	1.902(5)
Cu(1)-O(61)	1.965(6)	Cu(2)-O(62)	1.961(7)
Cu(1)-N(22)	1.967(8)	Cu(2)-N(32)	1.982(8)
Cu(1)-N(1)	2.060(7)	Cu(2)-N(5)	2.065(7)
Cu(1)-O(3)	2.257(5)	Cu(2)-O(2)	2.221(5)
Cu(3)-O(3)	1.923(6)	Cu(1)-Cu(2)	3,3279(16)
Cu(3)-O(2)	1.931(6)	Cu(1)-Cu(3)	3,6196(14)
Cu(3)-N(11)	2.006(9)	Cu(2)-Cu(3)	3,5013(15)
Cu(3)-N(8)	2.031(8)		
Cu(3)-O(71)	2.433(7)	Cu(1)-O(1)-Cu(2)	122.4(2)
O(1)-Cu(1)-O(61)	96.4(3)	O(1)-Cu(2)-O(62)	97.4(2)
O(1)-Cu(1)-N(22)	154.6(3)	O(1)-Cu(2)-N(32)	152.4(3)
O(61)-Cu(1)-N(22)	91.6(3)	O(62)-Cu(2)-N(32)	92.0(3)
O(1)-Cu(1)-N(1)	85.9(3)	O(1)-Cu(2)-N(5)	86.1(2)
O(61)-Cu(1)-N(1)	174.7(3)	O(62)-Cu(2)-N(5)	175.0(3)
N(22)-Cu(1)-N(1)	84.3(3)	N(32)-Cu(2)-N(5)	83.3(3)
O(1)-Cu(1)-O(3)	95.3(2)	O(1)-Cu(2)-O(2)	98.7(2)
O(61)-Cu(1)-O(3)	95.6(3)	O(62)-Cu(2)-O(2)	93.5(3)
N(22)-Cu(1)-O(3)	107.9(3)	N(32)-Cu(2)-O(2)	106.7(3)
N(1)-Cu(1)-O(3)	88.9(2)	N(5)-Cu(2)-O(2)	89.5(2)
O(3)-Cu(3)-O(2)	92.5(2)	N(11)-Cu(3)-N(8)	86.5(4)
O(3)-Cu(3)-N(11)	91.2(4)	O(3)-Cu(3)-O(71)	97.9(3)
O(2)-Cu(3)-N(11)	173.0(3)	O(2)-Cu(3)-O(71)	96.4(3)
O(3)-Cu(3)-N(8)	169.8(3)	N(11)-Cu(3)-O(71)	88.9(4)
O(2)-Cu(3)-N(8)	88.8(3)	N(8)-Cu(3)-O(71)	92.0(3)

O centro de Cu1 do complexo **2** encontra-se em uma geometria piramidal de base quadrada distorcida ($\tau = 0,33$). O átomo de oxigênio O3 do grupo fenol está coordenado na posição apical da pirâmide de base quadrada com uma distância Cu-O de 2,257 Å, a mais longa da esfera de coordenação, de maneira desprotonada.

Os átomos de nitrogênios N1, proveniente da amina terciária e N22 proveniente da piridina, e os átomos de oxigênio O61 e O1 provenientes das pontes acetato e alcóxido, respectivamente, compõem o plano basal e completam a esfera de coordenação em torno do centro de Cu1.

Os átomos de oxigênio fenólico do ligante interagem fracamente com os átomos de Cu1 e Cu2, o que pode ser verificado pela

longa distância da ligação Cu-O (2,257 e 2,221 Å respectivamente), resultado do forte efeito Jahn-Teller para o íon cobre(II).

O centro de Cu2 encontra-se também numa geometria piramidal de base quadrada ($\tau = 0,37$). O plano tetragonal está constituído pelas ligações dos átomos de nitrogênio amínico N3 e piridínico N32, e pelos átomos de oxigênio do alcóxido ponte O1 e acetato ponte O62. A ligação Cu2-O2 constitui a ligação axial, já que esta mede 2,221 Å, e é a mais longa de todas neste centro metálico, completando esta esfera de coordenação.

A geometria adotada pelo centro de Cu3 é piramidal de base quadrada quase perfeita ($\tau = 0,05$), facilmente visualizada na estrutura, uma vez que o plano basal encontra-se ocupado por átomos de nitrogênio amínicos, oriundos da etilenodiamina, N8 e N72, e por átomos de oxigênio fenólicos O2 e O3, do ligante. A quinta posição (axial) da pirâmide é ocupada por uma molécula de DMF, utilizada no processo de recristalização e obtenção dos cristais.

O comprimento da ligação Cu^{II}-O_{fenolato} (Cu3-O2 = 1,931 e Cu3-O3 = 1,923 Å) está no intervalo de valores encontrados para ligações Cu^{II}-O_{fenolato} de outros complexos reportados na literatura (Bill *et al.*, 1999, Adams *et al.*, 1996, Sokolowski *et al.*, 1997, Wang *et al.*, 1998), o que demonstra que estes átomos de oxigênio, se coordenam como fenolato ao centro de cobre(II).

A estrutura apresenta ângulo de ligação de 122,4(2)° para Cu1-O1-Cu2 e a distância Cu1-Cu2 determinada foi de 3,3279 Å.

Vale a pena destacar a diferença observada nos comprimentos de ligação entre os centros de cobre para o complexo **1** (Cu(1)-Cu(3) = 3,7535 e Cu(2)-Cu(3) = 4,0536) e **2** (Cu(1)-Cu(3) = 3,6196 e Cu(2)-Cu(3) = 3,5013), uma vez que ambas são moléculas simétricas, porém com a presença de um grupo macrocíclico, o qual influencia fortemente na rigidez das ligações, impedindo que haja um grau de liberdade tão grande entre os átomos quanto o observado para o complexo **1**.

Além disso, um arranjo conformacional em forma de cadeira, em um anel de seis membros, foi observado entre os centros metálicos, forçado justamente pela rigidez do grupo etilenodiamina coordenado ao Cu3.

4.2.5 MEDIDA MAGNÉTICA

As medidas de susceptibilidade magnética para os complexos **1** e **2** foram realizadas no intervalo de 4 a 300K, em um magnetômetro do

tipo SQUID. A variação da susceptibilidade magnética (χ_M) e do momento magnético (μ_{eff}) com a temperatura para esses compostos está apresentada na Figura 41. Os dados foram tratados utilizando a expressão para susceptibilidade molar vs. temperatura, através do Hamiltoniano de Heisenberg-Dirac-Van Vleck $H = -J\sum S_1 S_2$ ($S_1 = S_2 = \frac{1}{2}$) e estão descritos na Tabela 8.

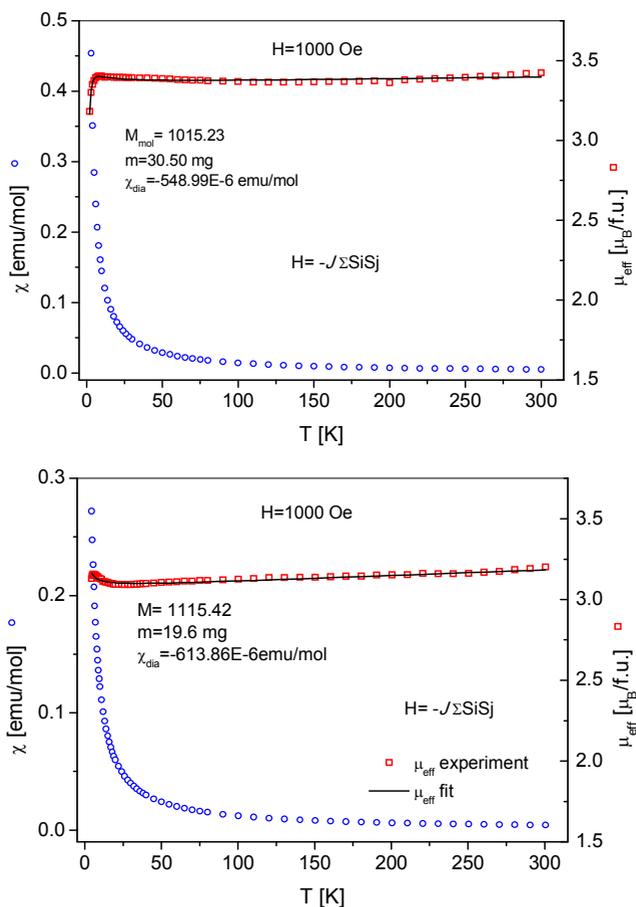


Figura 42 - Susceptibilidade magnética (\circ) e momento magnético efetivo (\square) para os complexos **1** (acima) e **2** (abaixo).

Tabela 8 - Dados magnéticos e estruturais para os complexos **1** e **2**.

Complexo	g_z	TIP ($\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$) ($^{\circ}$)	$J_{1,2}$ (K)	$J_{1,3}=J_{2,3}$ (K)	Cu-O-Cu ($^{\circ}$)
1	2,23	247×10^{-6}	-3,77	+3,57	128,58
2	2,04	307×10^{-6}	-2,2	+2,4	122,4

Ambos complexos praticamente não apresentaram dependência direta do μ_{eff} com a temperatura, o que sugere um fraco acoplamento magnético e um comportamento basicamente paramagnético.

Conforme reportado por Osório e colaboradores (2012), há uma correlação magneto-estrutural entre os complexos binucleares de cobre (II) com pontes μ -alcóxido, na qual os complexos **1** e **2** também se enquadram. Esta correlação implica que a magnitude da interação entre os centros metálicos em complexos binucleares de cobre (II) com pontes μ -alcóxido é uma função linear do ângulo entre Cu-O_{ponte}-Cu. O acoplamento é ferromagnético em ângulos abaixo de 120° e antiferromagnético acima deste valor de ângulo. Conforme tabela 10, o complexo **1** apresenta o maior ângulo Cu-O-Cu, e também o maior acoplamento ($J_{1,2}$) entre os centros de Cu1 e Cu2, que são os centros metálicos ligados entre si pela ponte alcóxido.

A estrutura cristalina dos complexos **1** e **2** revelou que ambos apresentam o centro de Cu1 em uma geometria descrita como piramidal de base quadrada, na qual os elétrons desemparelhados se localizam nos orbitais $d_{x^2-y^2}$.

Já o centro de Cu2 apresenta uma geometria octaédrica extremamente distorcida para o complexo **1** e piramidal de base quadrada para o complexo **2**. Portanto, nesse caso, os elétrons desemparelhados também se encontram localizados nos orbitais dx^2-y^2 . E dessa forma, o grupo μ -alcoxo pode interagir com os elétrons desemparelhados dos centros de Cu1 e Cu2 nos dois complexos, resultando em acoplamento antiferromagnético dependente do ângulo Cu1-O-Cu2.

Por outro lado, o centro de Cu3 está coordenado em geometria quadrado planar nos complexos **1** e **2**. Porém nesse caso, enquanto os orbitais dx^2-y^2 que contém os elétrons desemparelhados apontam na direção do grupo fenóxio, os orbitais magnéticos dx^2-y^2 dos centros de Cu1 e Cu2 estão posicionados de forma ortogonal em relação aos orbitais do centro de Cu3. Assim como esperado, observam-se fracos acoplamentos ferromagnéticos entre os centros Cu1-Cu3 e Cu2-Cu3.

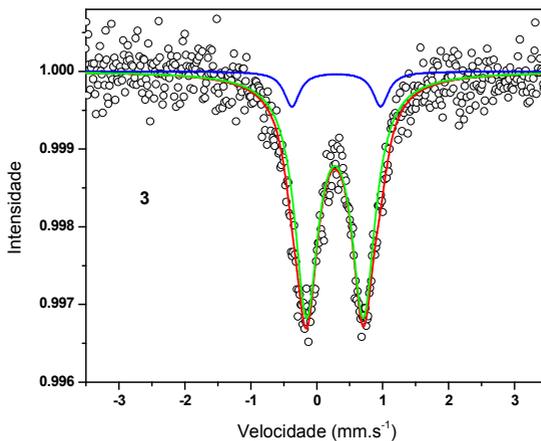
4.2.6 ESPECTROSCOPIA MOSSBAUER

A análise dos complexos binucleares de ferro (**3** e **4**) via espectroscopia Mössbauer forneceu valores de δ (deslocamento isomérico), que refletem a natureza do ambiente químico ao redor do núcleo Mössbauer, e ΔE_q (desdobramento quadrupolar) que indicam o grau de distorção em relação à microsimetria cúbica do sítio de ferro. A atribuição sobre o número de oxidação do sítio de ferro, bem como seu estado de spin foi feita com base em δ , cujas faixas de valores estão expostas na Tabela 9 a seguir:

Tabela 9 - Faixas de valores para deslocamento isoméricos (δ) refletidos por variadas espécies de núcleos Mössbauer:

Núcleo	Deslocamento isomérico (δ) (mm.s ⁻¹)	
	Spin-alto	Spin-baixo
Fe(III)	+0,1 → +0,5 (0,30)*	-0,1 → +0,5
Fe(II)	+0,6 → +1,7 (1,20)*	+0,2 → +0,5

Os espectros Mössbauer de **3** e **4** foram coletados com a amostra sob forma pulverizada os quais apresentaram um duplo dubleto assimétrico com linhas largas a 298 K, conforme ilustrado na Figura 42.



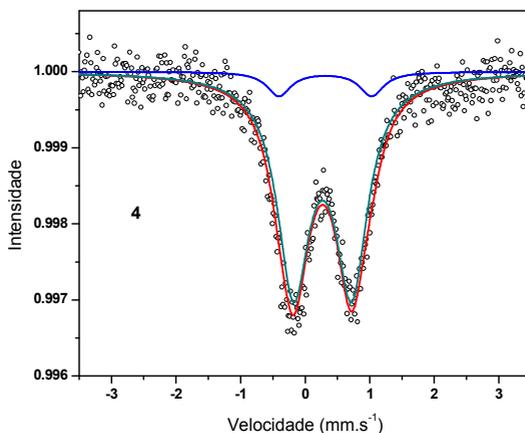


Figura 43 - Espectros Mössbauer para os complexos **3** (acima) e **4** (abaixo) sob a forma pulverizada a 298 K.

Em ambos complexos **3** e **4**, os parâmetros Mössbauer concordam com a presença de Fe^{III} spin alto conforme indicam os valores de deslocamento isomérico e desdobramento quadrupolar a 298 K. Os dados pertinentes ao núcleo Mössbauer presentes em **3** e **4** estão listados na Tabela 10 a seguir.

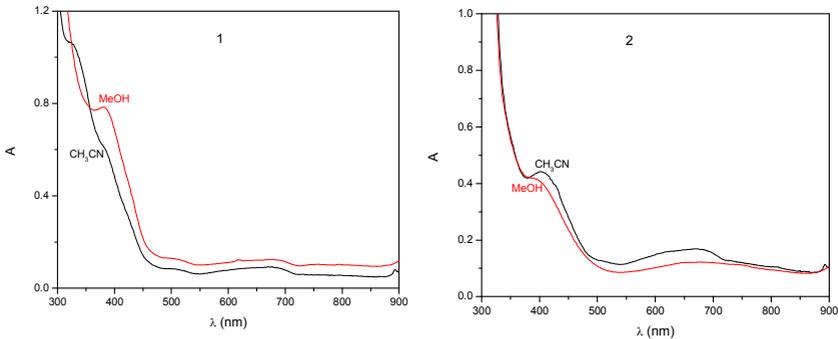
Tabela 10 - Resultados obtidos via espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe para o núcleo de ferro presente nos complexos **3** e **4** no estado pulverizado.

Complexo	T (K)	Atribuição	δ (mm/s)	ΔE_q mm/s	Γ_1	Γ_2
3	298	Fe^{III} (N_2O_4)	0,40	0,89	0,50	
		Fe^{III} (N_3O_3)	0,37	1,24	0,45	
		Fe^{III} (N_2O_4)	0,38	0,86	0,57	
4	298	Fe^{III} (N_2O_4)	0,41	1,25	0,58	
		Fe^{III} (N_3O_3)	0,37	1,18	0,43	0,40
		Fe^{III} (N_3O_3)	0,37	1,76	0,27	0,26

O espectro Mössbauer de ambos (figura 42) é característico de complexos de Fe^{III} com dois centros de Fe^{III} com ambientes de coordenação distintos, revelando a assimetria dos ligantes coordenados. O dubleto com $\delta = 0,40$ (**3**) e $0,38$ (**4**) e $\Delta E_{\text{q}} = 0,89$ e $0,86$ mm/s a 298 K, respectivamente, refere-se ao átomo de Fe^{III} apresentando uma coordenação N_2O_4 . O dubleto com $\delta = 0,37$ (**3**) e $0,41$ (**4**) e $\Delta E_{\text{q}} = 1,24$ e $1,25$ mm/s, respectivamente, a 298 K é atribuído ao átomo de Fe^{III} com coordenação N_3O_3 . Esta atribuição é feita comparativamente frente aos complexos já descritos na literatura (Horn, 2000).

4.2.7 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA

O comportamento eletrônico dos complexos **1** a **4** foi estudado, utilizando-se como solventes acetonitrila e metanol. Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 11. Os espectros eletrônicos em solução estão apresentados na Figura 43.



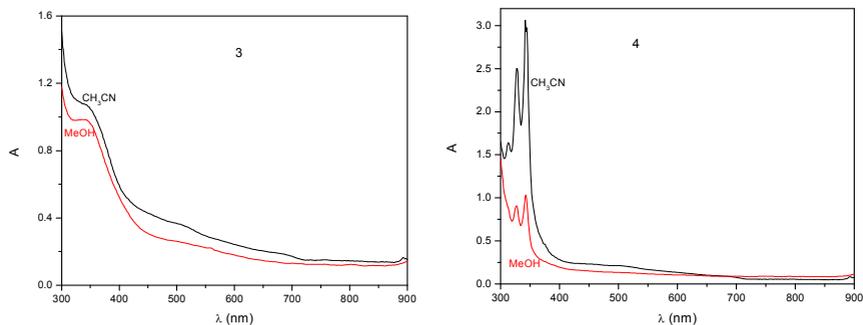


Figura 44 - Espectro eletrônico dos complexos: **1** ($1,25 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$), **2** ($3,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$), **3** ($1,5 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) e **4** ($3,5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$), em solução de acetonitrila e metanol.

Tabela 11 – Dados de espectroscopia eletrônica dos complexos **1** a **4**.

COMPLEXO	$\lambda_{\text{máx}}$ nm ($\epsilon \text{ mol.L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (CH ₃ CN)
1	662 (185); 380 (4934)
2	675 (289); 396 (1435)
3	507 (1696); 345 (5950)
4	341; 325

O íon Cu^{II} livre, tendo uma configuração d^9 , possui nove elétrons distribuídos em cinco orbitais d degenerados. Quando submetido à influência de um campo ligante, esses orbitais sofrem um desdobramento em diferentes níveis de energia, o que possibilita a ocorrência de transições eletrônicas do tipo $d-d$. A energia de desdobramento desses orbitais é fortemente influenciada pela natureza dos ligantes (série espectroquímica) e pela geometria de coordenação do centro metálico.

Complexos de Cu^{II} em ambiente octaédrico normalmente apresentam estereoquímicas altamente distorcidas sendo a mais comum a alongação tetragonal ao longo do eixo z (distorção Jahn Teller). Nesses casos, os espectros eletrônicos podem apresentar até três transições, as quais muitas vezes aparecem encobertas em uma única transição alargada na região de 600-700 nm. Complexos de Cu^{II} pentacoordenados normalmente encontram-se em duas categorias de geometria: piramidal de base quadrada e bipirâmide trigonal. Os

espectros eletrônicos de complexos piramidais de base quadrada mostram tipicamente uma banda de absorção mais intensa em alta energia (região visível) e uma menos intensa (ombro) em menor energia. De maneira contrária, os espectros de complexos bipirâmides trigonais são caracterizados por uma banda menos intensa em mais alta energia e uma outra de maior intensidade em menor energia.

Sendo assim, os espectros eletrônicos de complexos de Cu^{II} podem fornecer uma série de informações a respeito da esfera de coordenação e da geometria da molécula. Como já mencionado, tais complexos devem apresentar transições d-d proibidas por Laporte, caracterizadas por baixos valores de coeficiente de absorvidade molar (ϵ). Entretanto, podem também apresentar uma banda em maior energia, em relação à d-d, referente a transições de transferência de carga do tipo ligante \rightarrow metal (TCLM) ou metal \rightarrow ligante (TCML), as quais são permitidas por Laporte e caracterizadas por elevados valores de ϵ .

De acordo com a Figura 43, o espectro do complexo **1**, em solução de metanol, é caracterizado por apresentar uma banda alargada na região em 662 nm ($\epsilon = 185 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), típica de transições d-d, além de uma banda com $\lambda_{\text{máx.}} = 382 \text{ nm}$ ($\epsilon = 4934 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), que está sendo atribuída a um processo de transferência de carga do tipo fenolato \rightarrow Cu^{II} , concordando com os dados obtidos da estrutura cristalina, onde os fenóis estão coordenados de maneira desprotonada. Quando o complexo é dissolvido em acetonitrila, uma outra banda em $\lambda_{\text{máx.}} = 330 \text{ nm}$ aparece na forma de um ombro parcialmente encoberto pelas bandas devido as transições dos anéis fenólicos e piridínicos do ligante. Essa diferença nos espectros do complexo **1** pode ser atribuída a interações do complexo com o solvente, tanto em termos de coordenação quanto formando ligações de hidrogênio.

Já para o complexo **2**, o espectro em solução tanto de acetonitrila, quanto metanol, apresenta uma banda alargada na região de 675 nm ($\epsilon = 289 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), atribuída a transições do tipo d-d, além de uma banda intensa em 396 nm ($\epsilon = 1435 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), atribuída a uma transferência de carga do tipo fenolato equatorial \rightarrow Cu^{II} . Como indicado pela resolução da estrutura de raios X, estes fenóis equatoriais estão realmente coordenados de forma desprotonada aos centros de Cu. Esse comportamento nos indica que o ambiente de coordenação ao redor dos centros metálicos são mantidos quando os complexos **1** e **2** são dissolvidos em CH_3CN ou MeOH .

A diferença de absorvidade molar (ϵ) observada nas bandas de TCLM entre os complexos **1** ($\epsilon = 4934 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e **2**

($\varepsilon = 1435 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) pode ser atribuída ao fato de **1** possuir ligações mais curtas entre o centro de Cu3 e os átomos de oxigênio O31 (1,886 Å) e O41 (1,887 Å), facilitando a desprotonação desses grupos, aumentando assim, a intensidade das bandas de transferência de carga. Para o complexo **2** as ligações Cu3-O2 e Cu3-O3 são da ordem de 1,923 e 1,931 Å, respectivamente. Através de estudos de titulação (potenciométrica e espectrofotométrica), foi possível observar o quanto essa diferença nos comprimentos de ligação exerce influência sobre os complexos. Em **1** observou-se a desprotonação desses grupos fenólicos, na faixa de pH estudada, enquanto que para **2**, não foi possível a visualização da mesma, durante a titulação.

Compostos de ferro (III) coordenados a grupos fenolatos, apresentam bandas em menor energia (490 a 570 nm), características de transições de transferência de carga do tipo fenolato $\rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$, envolvendo elétrons dos orbitais π do oxigênio fenólico para os orbitais $d\pi^*$ do Fe^{III} , e ainda bandas em maior energia, também atribuídas a TCLM fenolato $\rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$, porém os orbitais envolvidos são os orbitais π do oxigênio fenólico e $d\sigma^*$ do Fe^{III} (Krebs, B. et al, 1994).

As intensidades e posições das bandas de transferência de carga do tipo fenolato $\rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$ dependem de vários fatores, mas a maioria dos complexos apresentam coeficientes de extinção na ordem de 1000 a 2000 $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ por ligação fenolato $\rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$.

As bandas observadas no espectro eletrônico do complexo **3**, são características de compostos de Fe^{III} , apresentando grupos fenolatos coordenados. A banda localizada em menor energia, 507 nm ($\varepsilon = 1696 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) é característica de transições de transferência de carga do tipo fenolato $\rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$, envolvendo a transferência de elétrons dos orbitais π do fenolato para os orbitais $d\pi^*$ do Fe^{III} . Um segundo processo de TCLM ocorre na região de 345 nm ($\varepsilon = 5950 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), envolvendo os orbitais π do fenolato e $d\sigma^*$ do Fe^{III} . Esses dados estão em concordância com os obtidos por Horn, 2000, para complexos binucleares de Ferro(III) contendo pontes alcoxio e acetato.

Para o complexo **4**, o espectro em solução mostrou apenas as bandas características do grupo intercalante pireno, porém sofrendo um *deslocamento hipsocrômico* (deslocamento da absorção para um λ menor), na região de 341 e 325 nm, as quais acabaram por encobrir qualquer banda de transferência de carga que venha a ocorrer nesta mesma região.

A existência e formação do excímero do pireno em solução foi observada através da técnica de fluorescência, de acordo com a Figura

44, com a existência de uma banda adicional no espectro de emissão, para além da emissão usual da molécula, o chamado monômero do pireno. Esta espécie emite em comprimentos de onda superiores à do monômero do pireno. De uma forma geral, o excímero do pireno emite com máximos de emissão em ≈ 480 nm, enquanto que o monômero emite em comprimentos de onda mais baixos ≈ 370 nm.

A formação de excímero pode efetuar-se intermolecularmente (necessitando-se para isso concentrações da ordem dos 10^{-2} - 10^{-3} M) ou intramolecularmente (aqui a concentração do pireno necessária para originar excímero pode ser muito mais baixa $\approx 10^{-6}$ - 10^{-7} M). Sendo assim, observou-se que o ligante $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ propicia a formação do excímero do pireno, porém de maneira intermolecular, pois à medida que diminui a concentração de ligante na solução, a banda do excímero diminui sua intensidade. De maneira contrária se comporta o complexo contendo o pireno (**4**) quando em solução. Seu espectro de fluorescência mostra que, conforme diminui a concentração do complexo, a banda típica do excímero do pireno aumenta sua intensidade, mostrando que acontece a formação do mesmo de maneira intramolecular.

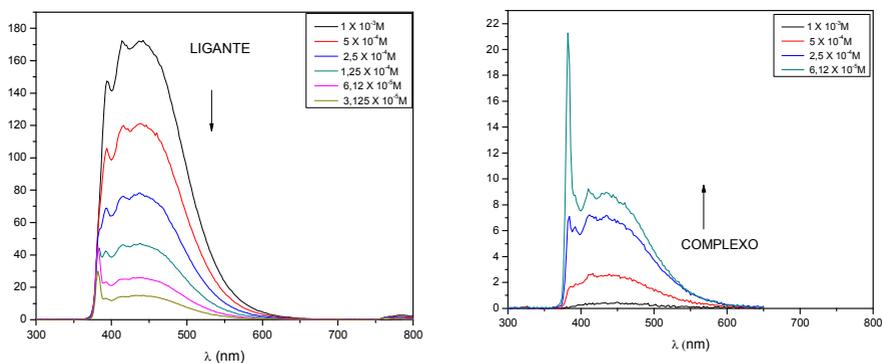


Figura 45 – Espectro de emissão de fluorescência do ligante $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ (esquerda) e do complexo **4** (direita) em solução de DMF.

4.2.8 ELETROQUÍMICA

O comportamento eletroquímico dos complexos foi investigado através da técnica de voltametria cíclica. Os voltamogramas obtidos para os complexos são apresentados na Figura 45 e os potenciais catódicos e

redox ($\Delta E_{1,2}$) para os processos eletroquímicos estão resumidos na Tabela 12.

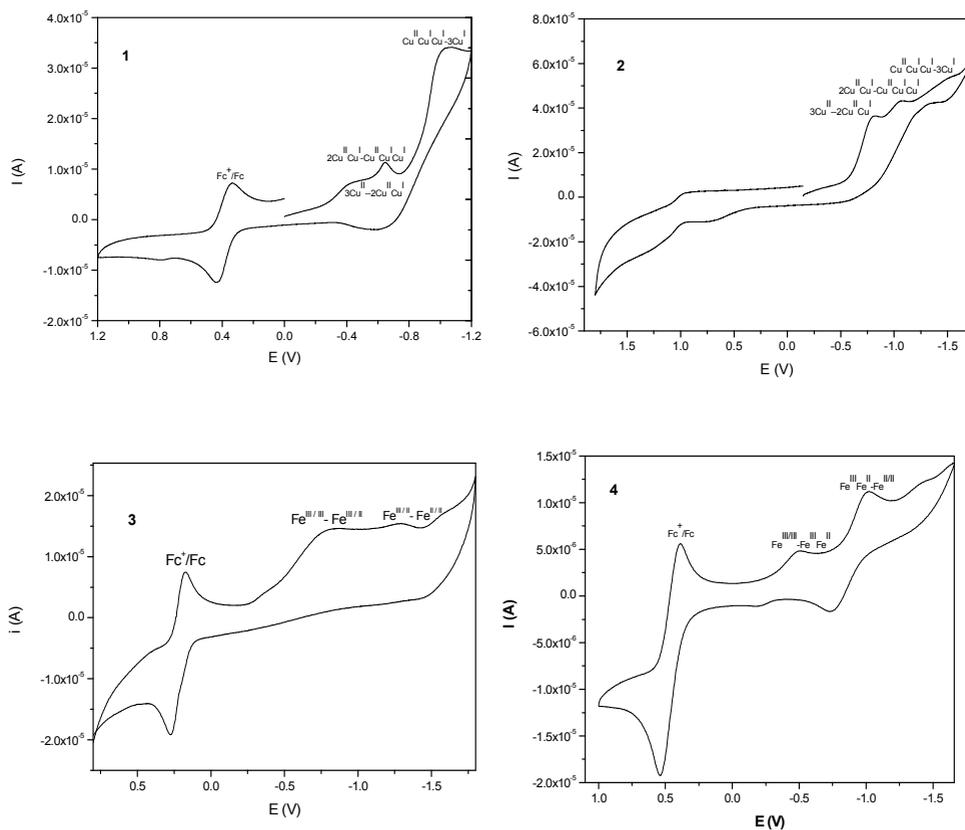


Figura 46 – Voltamogramas cíclicos dos complexos **1** a **4**, em CH_3CN . Concentração dos complexos: $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de TBAPF₆; eletrodo de trabalho: platina (complexos de cobre) e carbono (complexos de ferro); eletrodo de referência: Ag/Ag^+ ; contra-eletrodo: fio de platina; velocidade de varredura 100 mV/s . O par redox Fc^+/Fc foi usado como padrão interno (GAGNÉ et al. 1980).

Tabela 12 – Dados eletroquímicos para os complexos **1 a 4** e de alguns complexos citados na literatura.

Complexo	E_{pc1} V vs. NHE	E_{pc2} V vs. NHE	E_{pc3} V vs. NHE
1	-0,36	-0,58	-0,98
2	-0,74	-1,00	-1,44
a	-0,53	-0,71	
3	-0,56	-1,03	-----
4	-0,48	-1,00	-----
b	-0,45	-1,03	

a – $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{bbppnol})(\mu\text{-OAc})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (NEVES et al. 2002)

b – $[\text{Fe}_2^{\text{III}}(\text{BTTPNOL})_2(\text{OAc})_2](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (HORN Jr 2000)

Potenciais de redução negativos são uma tendência observada para complexos de cobre com ponte alcóxido e ligantes fenólicos, devido à eletronegatividade e dureza dos átomos de oxigênio da ponte e dos ligantes.

O voltamograma cíclico de **1**, em acetonitrila, mostra um processo irreversível em $E_{pc} = -0,36$ V vs. NHE, correspondendo ao par redox $3\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}$, um processo *quasi*-reversível em $E_{pc} = -0,58$ V vs. NHE, relacionado ao processo $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}} / \text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cu}^{\text{I}}$ e um outro processo irreversível em $E_{pc} = -0,98$ V vs. NHE, relacionado ao processo $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cu}^{\text{I}} / 3\text{Cu}^{\text{I}}$.

O voltamograma cíclico de **2** apresenta um comportamento redox bastante similar, porém com um deslocamento catódico em relação ao complexo **1**, com um processo catódico em $E_{pc} = -0,74$ V, outro em $E_{pc} = -1,00$ V vs. NHE e mais um em $E_{pc} = -1,44$ V vs. NHE, atribuídos aos mesmos pares redox. Esse deslocamento está sendo tentativamente atribuído a rigidez imposta pelo grupo etilenodiamina, o qual dificulta os processos redox entre os centros metálicos.

Para o complexo **3**, a voltametria cíclica mostrou dois processos redox irreversíveis, em $-0,56$ V que representa o potencial redox do acoplamento $\text{Fe}_2^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ e o segundo em $-1,03$ V representa o acoplamento $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}_2^{\text{II}}$.

O complexo **4** (Figura 45) apresenta dois processos redox em seu voltamograma. O primeiro em $-0,48$ V apresenta um perfil *quasi*-reversível e é atribuído a transferência de 1 elétron, resultando na redução de um dos centros de Fe^{III} , dando origem a espécie de valência mista. O segundo processo, localizado em $-1,00$ V, refere-se a redução do segundo centro de Fe^{III} e apresenta um perfil reversível.

Comparando-se potenciais redox encontrados para **3** e **4**, com aqueles apresentados pelo complexo $[\text{Fe}_2^{\text{III}}(\text{BTTPNOL})_2(\text{OAc})_2](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (HORN Jr, 2000), verifica-se uma enorme semelhança entre os processos, indicando a formação do complexo binuclear de $\text{Fe}^{\text{III/III}}$, o qual foi confirmado por espectroscopia Mossbauer.

4.2.9 TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA

Os estudos de titulação potenciométrica dos complexos **1** a **4** foram realizados em solução acetonitrila/água (1:1 V/V) devido à baixa solubilidade dos mesmos em água. Esses experimentos foram realizados para avaliar a presença das moléculas de água coordenadas aos centros metálicos, quando os complexos se encontram em solução. Isto é possível devido à labilidade dos grupos ponte acetato, a qual é aumentada pela elevação do pH do meio, os quais podem ser hidrolisados gerando aquo-complexos.

Os resultados obtidos para o complexo **1** mostraram a neutralização de 5 mols de KOH por mol de complexo na região de pH entre 3,00 e 12,00. Para o complexo **2**, na região de pH de 3,00 a 11,0, 4 mols de KOH foram neutralizados por mol de complexo.

No caso do complexo **3** foi possível observar a neutralização de 4 mols de KOH por mol de complexo, na faixa de pH de 3,00 a 7,00. Acima deste valor houve a formação de precipitado e a titulação não pode ser continuada. Houve precipitação também para o complexo **4**, porém já no início da titulação, não sendo possível obter nenhum valor de pK_a para o mesmo, devido a sua baixa solubilidade neste meio.

O tratamento destes dados levou à obtenção das constantes de desprotonação, cujos valores são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Valores de pK_a encontrados para os complexos **1** a **4**.

Complexo	pK _{a1}	pK _{a2}	pK _{a3}	pK _{a4}
1	2,92	7,50	8,75	11,58
2	2,76	5,89	8,94	
3	4,52	6,13	8,14	

Uma proposta para os equilíbrios observados em solução para o complexo **1** pode ser vista na Figura 46. Sugere-se que a primeira constante de desprotonação refira-se a formação de uma espécie contendo uma ponte do tipo hidróxido entre os centros metálicos, após a hidrólise do grupo acetato ponte, a qual está associada a sua labilidade. Foi observado em solução um pKa em 4,34, atribuído a desprotonação do grupo acetato. O baixo valor de pKa encontrado (2,92), sugere que esta ponte formada entre os centros metálicos esteja sendo fortemente influenciada pelo três átomos de cobre presentes na molécula. A segunda constante é atribuída a desprotonação de uma molécula de água coordenada ao centro de Cu, uma vez que estudos preliminares da dependência de pH do complexo **1** na hidrólise de fosfatos apresentaram uma atividade catalítica ótima em torno desse valor de pKa. É proposto que a terceira constante pertença à desprotonação do grupo fenol, ligado ao centro de Cu1, por possuir o menor comprimento de ligação (Cu1-O31 = 2,56 Å). O quarto próton titulado se refere à desprotonação de outra molécula de água coordenada de maneira axial ao centro de cobre.

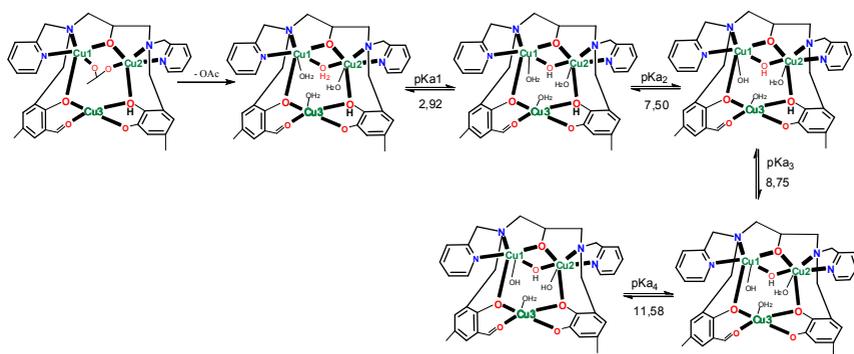


Figura 47 - Proposta para os equilíbrios observados para o complexo **1** em solução.

Para o complexo **2** a primeira constante de desprotonação é atribuída a primeira constante pode ser atribuída à formação de uma espécie contendo uma ponte do tipo hidróxido entre os centros metálicos. Os valores de pKa encontrados em 5,89 e 8,94 correspondem a desprotonação das moléculas de água coordenadas aos centros metálicos. Estes valores estão em concordância com os valores descritos por Osório e colaboradores (2012), onde a desprotonação das moléculas

de água foi observada na faixa de 5,5 a 8,3. Além disso, estudos preliminares da dependência de pH do complexo **2** na hidrólise de fosfatos apresentaram uma atividade catalítica ótima em 7,50, confirmando que este pKa (5,89) corresponde a desprotonação de uma molécula de água para gerar um nucleófilo e ocorrer o ciclo catalítico. Estudos de titulação espectrofotométrica mostraram que não foi possível observar a desprotonação de nenhum dos grupos fenóis coordenados aos centros de cobre, assim como foi observado por Neves e colaboradores em 2002. Uma proposta para equilíbrio para o complexo **2** em solução, é mostrada na Figura 47.

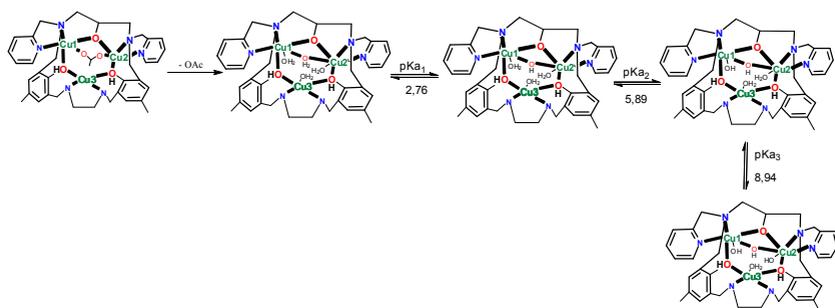


Figura 48 - Proposta para os equilíbrios observados para o complexo **2** em solução.

Uma proposta para os equilíbrios observados em solução para o complexo **3** pode ser vista na Figura 48. Sugere-se que inicialmente, apenas uma das pontes μ -acetato é hidrolisada, formando a espécie $(\text{H}_2\text{O})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH}_2)$. Em pH 4,52 observa-se o primeiro pKa, correspondente a desprotonação de uma molécula de água ligada ao íon Fe^{III} com a formação da espécie $(\text{HO})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OAc})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH}_2)$. Em pH 6,13 é observado o segundo pKa, atribuído a desprotonação de uma molécula de água para a formação da ponte μ -hidróxido, imediatamente após a saída da segunda ponte acetato. Finalmente, o terceiro pKa corresponde à desprotonação da outra molécula de água ligada ao Fe^{III} e é determinado em pH 8,14, onde a espécie $(\text{HO})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})$ é formada.

A atribuição das constantes de protonação às moléculas de água terminais ligadas ao Fe^{III} estão em concordância com os valores de pK_a determinados nos experimentos cinéticos de hidrólise do BDNPP em

função do pH. Através da titulação espectrofotométrica foi possível observar que já existiam processos de TCLM, desde o início do experimento, e não houve a formação de nenhum ponto isobéstico que sugerisse que algum pKa encontrado fosse do grupo fenol.

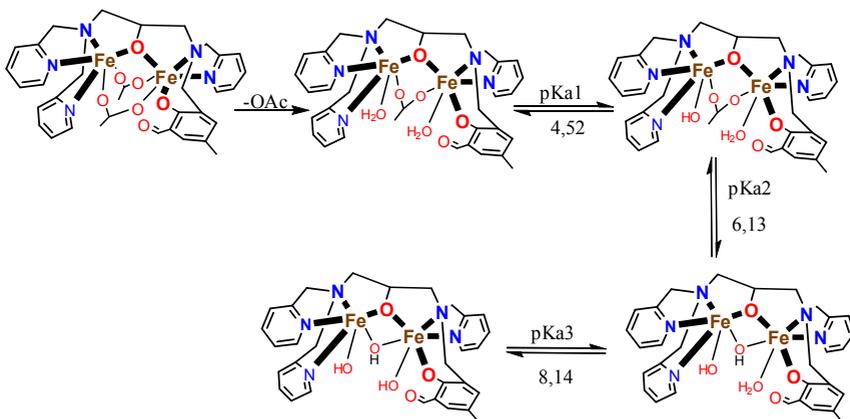


Figura 49 - Proposta para os equilíbrios observados para o complexo **3** em solução.

4.2.10 TITULAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

A determinação dos valores das constantes de desprotonação (pK_a) das moléculas de água coordenadas também foi realizada através do método espectrofotométrico na região do UV-Visível, acompanhando as mudanças na banda de transferência de carga do tipo ligante para o metal. Para os complexos **1** a **4**, foi aplicado um intervalo de pH de 3,0 até 10,0 e a Figura 49 apresenta as mudanças espectrais na região do visível para os complexos em vários valores de pH.

Dois pontos isobésticos são observados para o complexo **1**, indicando a presença de três espécies em equilíbrio. Já para o complexo **2**, não foi observada a formação de nenhum ponto isobéstico nos vários espectros do complexo, indicando a presença de apenas uma espécie em solução na faixa de pH estudada. Para os complexos de ferro, houve a formação de precipitado a partir de pH 7,0 para **3** e pH 8,0 para **4**, não sendo possível então a obtenção de valores de pK_a a partir da titulação espectrofotométrica.

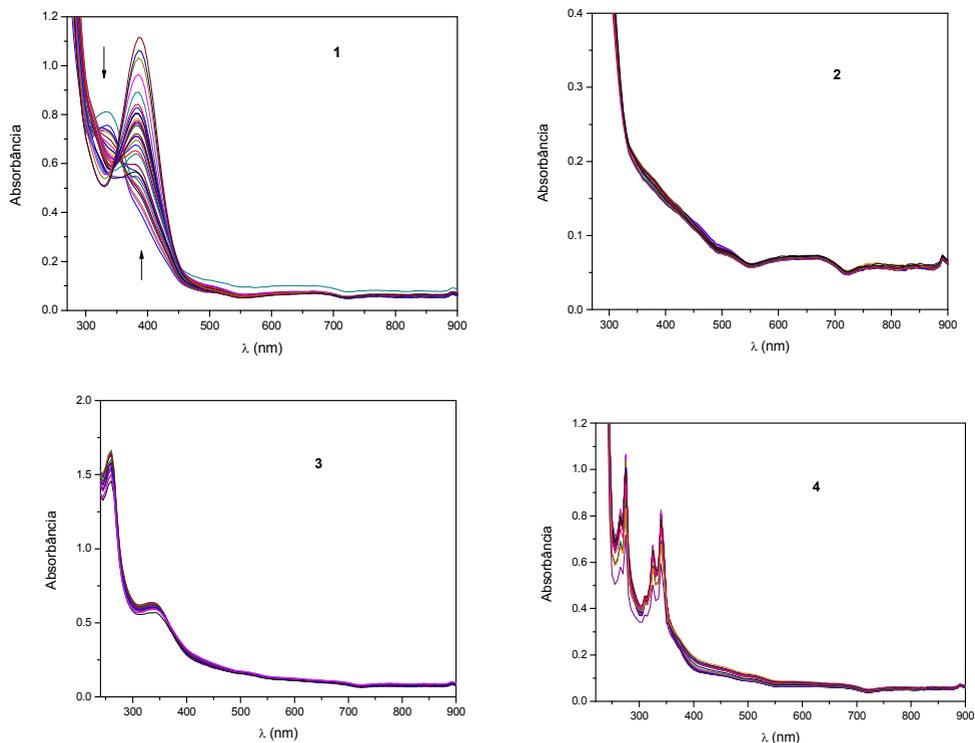


Figura 50 - Variação do espectro eletrônico para o complexo **1** a **4** em diferentes pH.

A titulação espectrofotométrica do complexo **1** com H^+ (HCl) / OH^- (KOH) em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1) mostrou mudanças moderadas na banda de transferência de carga com a variação de pH. Uma análise da mudança espectral da banda de TCLM, através do estudo detalhado do ponto isobéstico, forneceu um valor de 8,74 atribuído à desprotonação do oxigênio fenólico coordenado na posição axial ao centro de cobre(II), o qual está de acordo com o valor de $\text{p}K_a$ encontrado nos estudos de equilíbrio via titulação potenciométrica.

Para os complexos **2**, **3** e **4**, a titulação espectrofotométrica não mostrou variações acentuadas nas bandas de transferência de carga nem d-d, conforme o pH variava, mostrando que não é possível observar

nestes casos a desprotonação de grupos fenóis coordenados aos centros metálicos.

4.3 REATIVIDADE

4.3.1 REATIVIDADE FRENTE AO SUBSTRATO 2,4-BDNPP

Experimentos cinéticos foram realizados com o objetivo de investigar a capacidade dos complexos **1** a **4** de catalisar a hidrólise do diéster de fosfato 2,4-bis-dinitrofenilfosfato (2,4-DBNPP), como mostrado na Figura 50. Considerando os mecanismos de hidrólise propostos na literatura, para que complexos metálicos sejam considerados hidrolases sintéticas, esses devem ser capazes de fornecer um sítio lábil para coordenar o substrato de forma adequada além de possuir grupo nucleofílico em um sítio adjacente para promover o ataque intramolecular em um pH próximo da neutralidade e dessa forma liberar os produtos em uma velocidade razoável.

Nesse sentido, foram realizados estudos do efeito do pH sobre a atividade catalítica dos complexos na reação de hidrólise, visando a determinação do pH de atividade máxima na hidrólise do 2,4-BDNPP. Foram realizados também estudos da variação da concentração do substrato para a determinação dos parâmetros cinéticos.

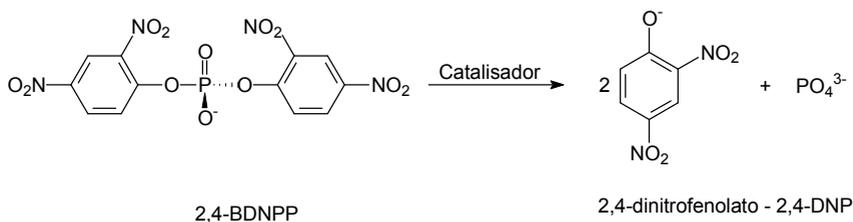


Figura 51 – Esquema ilustrativo para a reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP.

4.3.1.1 Efeito do pH na reação de hidrólise do 2,4-BDNPP

A atividade dos complexos na hidrólise do 2,4-BDNPP mostrou-se fortemente dependente do pH. Os gráficos das velocidades iniciais (V_0) versus o pH para os complexos **1** a **4** são apresentados na Figura 51. Para todos os complexos foram observadas duas regiões onde

a reação é independente do pH e uma faixa intermediária onde a taxa de reação é dependente do pH. Os dados foram ajustados utilizando-se o modelo de Boltzmann e os valores encontrados estão sumarizados na Tabela 14.

Tabela 14 – Valores de pK_a cinéticos para os complexos **1** a **4**.

Complexo	pH ótimo	pK_a cinético
1	8,0	5,83
2	7,5	5,71
3	7,5	5,6 / 8,3
4	9,0	5,50

Os valores de pK_{as} encontrados estão sendo atribuídos à desprotonação das moléculas de água coordenadas aos centros metálicos, gerando a espécie ativa para a reação de hidrólise, ou seja a espécie aquo-hidróxido $[(OH)M(\mu\text{-hidróxido})M(H_2O)]$. Dessa forma, a velocidade da reação é máxima no pH onde existe a maior concentração dessa espécie.

Em pH ácido, o íon responsável pelo ataque nucleofílico é protonado e a velocidade da reação diminui à medida que o catalisador é convertido para a forma completamente protonada, $[(H_2O)M(\mu\text{-OH}_2)M(OH_2)]$. Em pH alcalino, ocorre a desprotonação da molécula de água do sítio metálico gerando a espécie completamente desprotonada $[(HO)M(\mu\text{-OH})M(OH)]$, o que dificulta a coordenação do substrato devido a menor tendência de saída do hidróxido em relação à água.

Para o complexo **3**, as duas metades do sino foram tratadas pelo método de Boltzmann, onde os pontos de inflexão das curvas sigmoidais correspondem aos valores de pK_{a1} e pK_{a2} , denominados “ pK_{as} cinéticos”, e podem ser correlacionados com as constantes de protonação (pK_a) determinadas potenciométricamente para as moléculas de água ligadas aos metais.

Para os complexos **1** e **2**, observou-se um comportamento diferenciado nas curvas de pH, quando em solução, o que pode ser tentativamente atribuído a uma mudança de mecanismo no decorrer da cinética. Sendo assim, para obtenção do pK_a cinético, foi levado em conta apenas a faixa de pH onde curva possui um perfil sigmoidal.

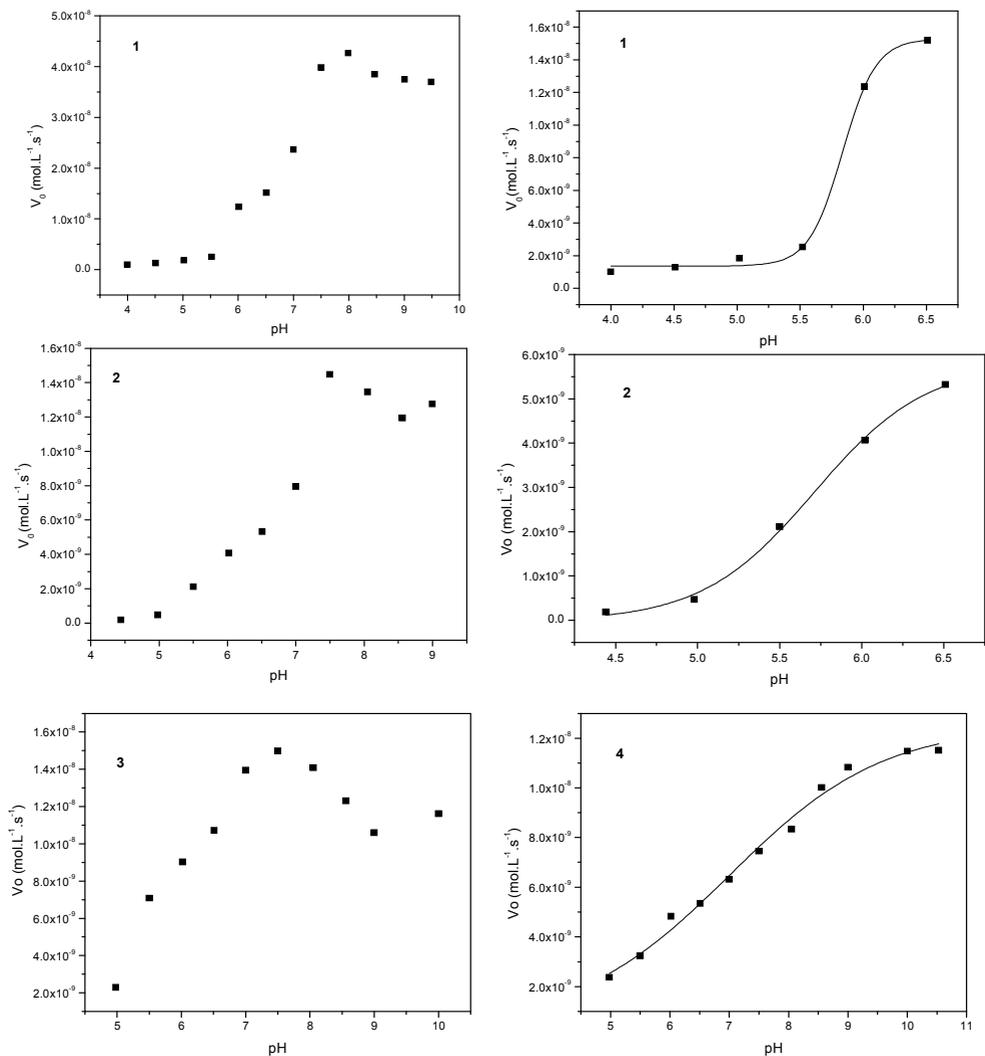


Figura 52 – Dependência de V_0 vs. pH para as reações de hidrólise do 2,4-BDNPP catalisadas pelos complexos **1** e **2** a 50°C e **3** e **4** a 25°C sob as seguintes condições: solução CH₃CN/H₂O 1:1; [complexo] = 4,0 × 10⁻⁵ mol.L⁻¹; [2,4-BDNPP] = 5,0 × 10⁻³ mol.L⁻¹; [tampões] = 0,05 mol.L⁻¹ (MÊS, HEPES, CHES); $I = 0,1$ mol.L⁻¹ (LiClO₄).

4.3.1.2 Efeito da concentração do substrato na reação de hidrólise do 2,4-BDNPP

A dependência da velocidade da reação de hidrólise com a concentração do substrato catalisada pelos complexos **1** a **4** é mostrada na Figura 52 e os valores obtidos pelo método das velocidades iniciais estão sumarizados na Tabela 15.

Nesse experimento pôde-se observar que há uma dependência linear da velocidade a baixas concentrações de substrato, porém, com o aumento da concentração de 2,4-BDNPP ocorre um desvio da linearidade tendendo a uma curva de saturação. Esta dependência das velocidades iniciais em função da concentração do substrato sugere que a reação de hidrólise ocorre com a formação de um intermediário complexo-substrato. Assim sendo, o modelo de Michaelis-Menten pôde ser aplicado para todos os sistemas.

Tabela 15 – Parâmetros cinéticos para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP, catalisada pelos complexos **1** a **4**. Condições: solução CH₃CN/H₂O) 1:1; [tampão] = 0,05 mol.L⁻¹; I = 0,05 mol.L⁻¹ (LiClO₄); [2,4-BDNPP] = 0,5 a 8,0 x 10⁻³ mol.L⁻¹ a 50 °C (complexos **1** e **2**) e 25 °C (complexos **3** e **4**).

Complexo	$V_{\text{máx}}$ (mol.L ⁻¹ .s ⁻¹)	K_M (mol.L ⁻¹)	K_{cat} (s ⁻¹)	K_{ass} (L.mol ⁻¹)	$E =$ K_{cat}/K_M
1 (pH 8,0) [2,6 x 10 ⁻³]	2,54 x 10 ⁻⁸	2,61 x 10 ⁻³	9,76 x 10 ⁻⁴	383	0,37
2 (pH 7,5) [3,8 x 10 ⁻³]	1,12 x 10 ⁻⁸	1,38 x 10 ⁻³	2,85 x 10 ⁻⁴	724	0,20
3 (pH 7,5) [7,5 x 10 ⁻³]	2,16 x 10 ⁻⁸	1,64 x 10 ⁻³	2,88 x 10 ⁻⁴	610	0,18
4 (pH 9,0) [4,0 x 10 ⁻³]	4,41 x 10 ⁻⁸	2,49 x 10 ⁻³	1,10 x 10 ⁻³	401	0,44

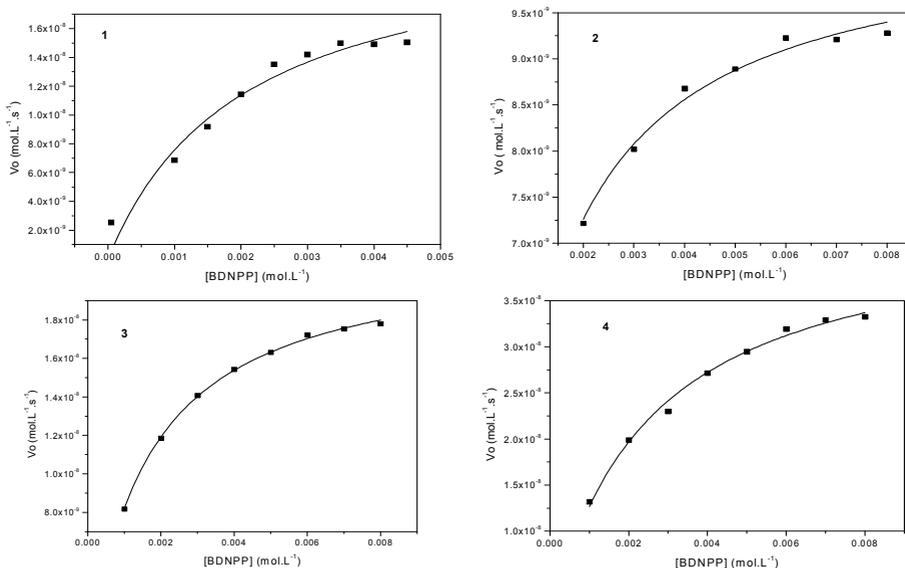


Figura 53 – Dependência da velocidade da reação de hidrólise do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para os complexos **1** e **2** (50 °C) e **3** e **4** (25 °C). Condições: solução $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1; $[\text{tampão}] = 0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; $I = 0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ (LiClO_4); $[2,4\text{-BDNPP}] = 0,5 \text{ a } 8,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Conforme se observa na Tabela 15, entre os complexos trinucleares de cobre, o complexo **1** é o mais efetivo na conversão do substrato a produtos, apresentando uma eficiência catalítica de 0,37, que corresponde a aproximadamente duas vezes mais que a apresentada pelo complexo **2**. Essa diferença na reatividade pode ser atribuída ao fato do complexo **2** possuir um grupo etilenodiamina atuando como um macrociclo, aumentando a rigidez em torno dos centros metálicos, o que acaba por dificultar a entrada e o ataque pelo nucleófilo ao substrato. Essa rigidez pôde ser observada através da difratometria de raios-x, onde uma estrutura em forma de cadeira foi estabilizada diante de um anel de seis membros.

A constante de associação (k_{ass}) também indica que os complexos se comportam de maneira distinta frente ao substrato 2,4-BDNPP. No complexo **1**, observou-se através de estudos de titulação potenciométrica e espectrofotométrica que ocorre a desprotonação dos grupos fenóis,

aumentando assim a densidade de carga negativa sobre o complexo, diminuindo a constante de associação com o substrato ($k_{\text{ass}} = 383 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$). Já para o complexo **2**, não foi possível visualizar a saída de nenhum desses prótons dos grupos fenóis, deixando o mesmo com uma carga efetiva mais positiva, tendo assim uma maior afinidade pelo substrato, carregado negativamente, aumentando sua constante de associação ($k_{\text{ass}} = 724 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Ao comparar os resultados com os parâmetros obtidos por Osório e colaboradores (2012), para complexos não simétricos binucleares de cobre (II), os quais apresentaram uma eficiência catalítica de 0,08 e 0,26 para $[\text{Cu}_2(\text{L1})(\mu\text{-OAc})(\text{ClO}_4)_2\cdot(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}]$ e $[\text{Cu}_2(\text{L2})(\mu\text{-OAc})(\text{ClO}_4)\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}]$, respectivamente, observa-se que a simetria do ligante e principalmente a presença de três centros de cobre^{II} na estrutura favorecem consideravelmente a hidrólise do substrato 2,4-BDNPP aos correspondentes produtos.

Analisando os parâmetros cinéticos expostos observa-se que os complexos binucleares de ferro (**3** e **4**) estudados apresentaram uma eficiência catalítica de 0,18 e 0,44 vezes, respectivamente frente à reação de hidrólise não catalisada do substrato modelo. O complexo **4** apresenta uma constante catalítica $k_{\text{cat}} = 1,10\cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, sendo esta aproximadamente 4 vezes superior à constante do complexo **3** ($k_{\text{cat}} = 2,88\cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$), o que reflete a maior eficiência que o composto **4** apresenta na conversão de reagentes a produtos. Outros parâmetros cinéticos tais como a constante de associação (k_{ass}) confirmam essa hipótese, pois quanto maior a K_{ass} menor o k_{cat} . Por conseqüência, grandes constantes de associação refletem alta afinidade dos complexos pelo substrato, mostram certa dificuldade na liberação dos produtos.

Visando avaliar se o monoéster também estaria sendo hidrolisado, realizou-se uma reação em proporção estequiométrica entre os complexos de cobre (**1** e **2**) e o substrato 2,4-BDNPP e os de ferro (**3** e **4**) com o mesmo substrato. Observou-se para o complexo **1** durante um período de 3 dias a 50 °C, a liberação de 1,4 moléculas de 2,4-dinitrofenolato, indicando que apenas o diéster é hidrolisado. Já para o complexo **2**, que apresenta uma eficiência menor, no mesmo espaço de tempo, apenas 0,85 molécula de 2,4-dinitrofenolato foi hidrolisada, mostrando que se trata de uma reação mais lenta. Provavelmente começam a ocorrer reações secundárias ou o fosfato se coordena ao complexo e começa a inibir a reação. O mesmo comportamento foi observado entre os complexos binucleares de ferro. Para **3** observou-se a hidrólise de 0,80 moléculas de 2,4-dinitrofenolato, ao passo que para

4, esse valor sobe para 1,57 moléculas, confirmando a diferença na reatividade entre os complexos.

A partir deste resultado foi possível calcular o número de ciclos catalíticos. Para tanto, realizou-se um experimento onde a reação de hidrólise do substrato ($[2,4\text{-BDNPP}] = 2,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$), catalisada pelos complexos **1** a **4** ($[\text{complexo}] = 4 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$), foi acompanhada espectrofotometricamente em 445 nm ($\epsilon = 3600 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Após um período de 24 horas a 50 °C verificou-se que o complexo **1** catalisou a hidrólise de 2,85 moléculas de substrato, o complexo **2** catalisou a hidrólise de 1,25 moléculas, o complexo **3** catalisou a hidrólise de 1,5 moléculas de substrato e o complexo **4** catalisou 3,3 moléculas.

Com o intuito de avaliar se o ataque nucleofílico ao átomo de fósforo do substrato estaria sendo realizado pelo meio (catálise básica geral) realizou-se um experimento de efeito isotópico de deutério sobre a velocidade de hidrólise do 2,4- BDNPP pelos complexos **1** a **4**.

De acordo com Lead e colaboradores, caso a razão entre as constantes e velocidades de duas reações de hidrólise do 2,4-BDNPP, sob as mesmas condições realizadas em H₂O e D₂O (k_H/k_D), estiver entre 0,80 e 1,50 indica que não há transferência de próton envolvida na etapa determinante da reação, sugerindo um ataque nucleofílico intramolecular. Os valores encontrados para a razão k_H/k_D foram 1,35 (**1**); 1,46 (**2**); 1,23 (**3**) e 1,47 (**4**). Isto indica que a reação de hidrólise, catalisadas pelos complexos **1** a **4**, ocorre através de mecanismo intramolecular no qual um íon hidróxido presente no complexo promove o ataque nucleofílico ao átomo de fósforo.

4.3.1.3 Proposta mecanística para a hidrólise do 2,4-BDNPP

Os resultados cinéticos permitiram a proposta de um mecanismo para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP promovida pelos complexos **1** e **2**, conforme apresentado na Figura 53. Os estudos do efeito do pH na reação de hidrólise, confirmados pela titulação potenciométrica e espectrofotométrica, sugerem que a espécie ativa seja a espécie $[(\text{OH})\text{Cu}1(\mu\text{-hidróxido})\text{Cu}2(\text{H}_2\text{O})\text{Cu}3(\text{H}_2\text{O})]$. Esta espécie apresenta um ligante lábil (H₂O) em duas posições distintas, que permitem a ligação de uma molécula de substrato a um centro metálico, além de um nucleófilo (OH⁻) terminal, disponível para o ataque intramolecular. Assim, propõe-se a coordenação do diéster de fosfato de forma monodentada no lugar de uma molécula de água.

Em seguida ocorre o ataque nucleofílico intramolecular do íon hidróxido ao átomo de fósforo pentacoordenado que resulta na quebra da ligação P-O e coordenação do monoéster de fosfato como um grupamento ponte entre os dois centros metálicos.

Mesmo em condições de excesso de substrato a reação leva à formação de um equivalente de 2,4-dinitrofenolato em relação à quantidade de complexo empregado, o que sugere a formação de um complexo $\text{Cu}_2(\mu\text{-fosfato})$ estável. No caso dos complexos trinucleares de cobre, é possível ainda a coordenação do substrato de maneira bidentada aos centros metálicos, uma vez que sugere-se a presença de mais sítios lábeis (H_2O) no complexo, dificultando ainda mais a saída do substrato.

Neves e colaboradores (Rossi et al., 2005) isolaram e caracterizaram por cristalografia de raios X, o complexo binuclear de cobre(II) contendo o monoéster de fosfato coordenado fazendo ponte entre os dois centros metálicos, provando que esta espécie realmente se forma durante o ciclo catalítico. Estudos sintéticos detalhados entre os complexos trinucleares sintetizados e substratos modelo, podem vir a ser feitos no intuito de se obter monocristais adequados a resolução da estrutura cristalina por difração de raios X, e dessa maneira, verificar o modo de coordenação do substrato aos centros de cobre.

Sugere-se então que o monoéster 2,4-dinitrofenilfosfato permanece coordenado ao complexo, podendo ser deslocado pela presença de excesso do substrato 2,4-BDNPP, reiniciando o processo catalítico.

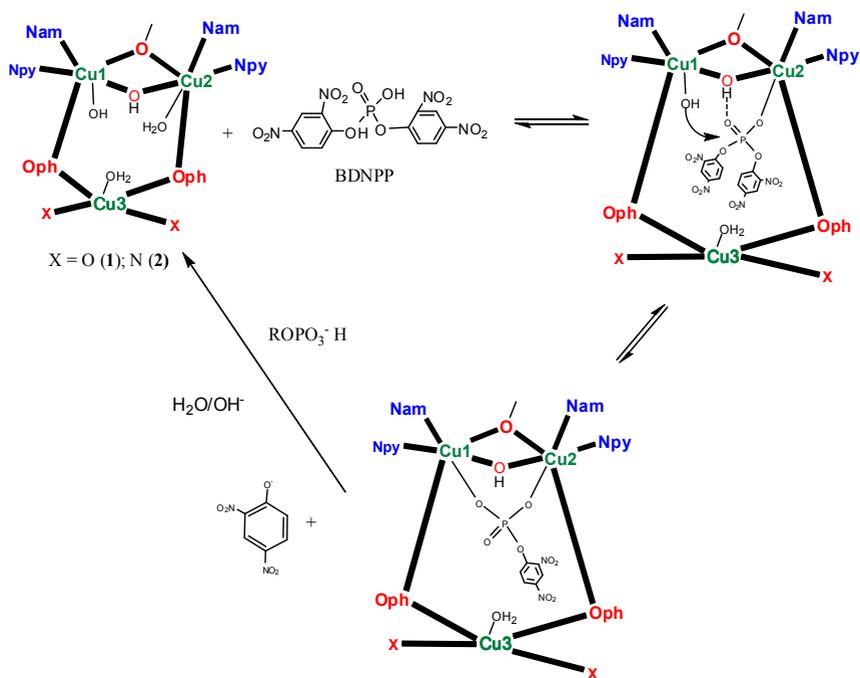


Figura 54– Mecanismo proposto para hidrólise do 2,4-BDNPP catalizada pelo complexo **1**. O mecanismo proposto para **2** é similar.

Para os complexos **3** e **4** é proposto um mecanismo bastante similar, onde sugere-se que a espécie ativa seja $[(\text{OH})\text{Fe}(\text{III})(\mu\text{-OAc})\text{Fe}(\text{III})(\text{H}_2\text{O})]$, conforme Figura 54.

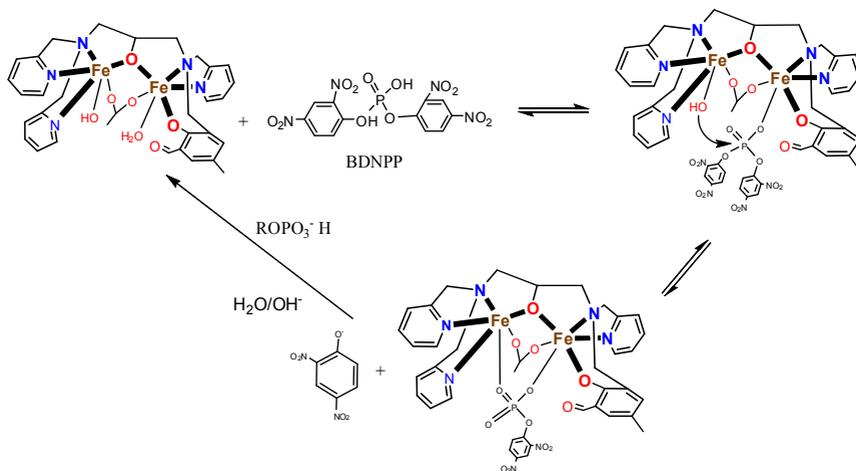


Figura 55 - Mecanismo proposto para hidrólise do 2,4-BDNPP catalizada pelo complexo **3**. O mecanismo proposto para **4** é similar.

4.3.2 REATIVIDADE FRENTE AO DNA

Decidiu-se testar a atividade catalítica dos complexos, frente ao DNA, já que os compostos mostraram atividade hidrolítica frente ao substrato modelo 2,4-BDNPP. Estudos preliminares da reação de clivagem do DNA catalisada pelos complexos trinucleares de cobre **1** e **2**, mostraram que os mesmos não são capazes de promover a clivagem da forma superenovelada do DNA plasmidial (F1) para a forma circular (F2) e/ou a forma linear do plasmídeo (F3).

Já entre os complexos binucleares de ferro(III) (**3** e **4**), observou-se que o grupo intercalante pireno, utilizado na síntese do ligante $H_2L_{3pyald-but-pireno}$ e consequentemente no complexo **4**, favorece a transformação da forma superenovelada (I) para forma circular (II) e desta para a forma linear (III). O experimento foi realizado utilizando-se DNA plasmídico. Os géis resultantes foram fotografados pelo sistema de fotodocumentação DigiDoc-It (UVP, USA) e as frações de cada forma de DNA plasmidial quantificadas por densitometria, utilizando o software KODAK Molecular Imaging Software 5.0 (Carestream Health, USA). Para efeito de entendimento, a fração ou quantidade de DNA clivado (%) será considerada como a soma das frações de DNA na forma circular aberta (F II) e linear (F III), enquanto a fração ou quantidade de DNA intacto (%) será considerada como a fração de DNA

na forma superenovelada. A figura 55 mostra um resultado inicial para o processo de clivagem, catalisado pelos complexos **3** e **4**, onde **3** não apresenta atividade frente a clivagem do DNA e **4** se mostra bem promissor, sugerindo que o pireno realmente auxilia na interação complexo-DNA.

Estudos cinéticos detalhados estão sendo realizados no intuito de verificar a influência do grupo pireno (intercalante) com relação a outros complexos já descritos na literatura.

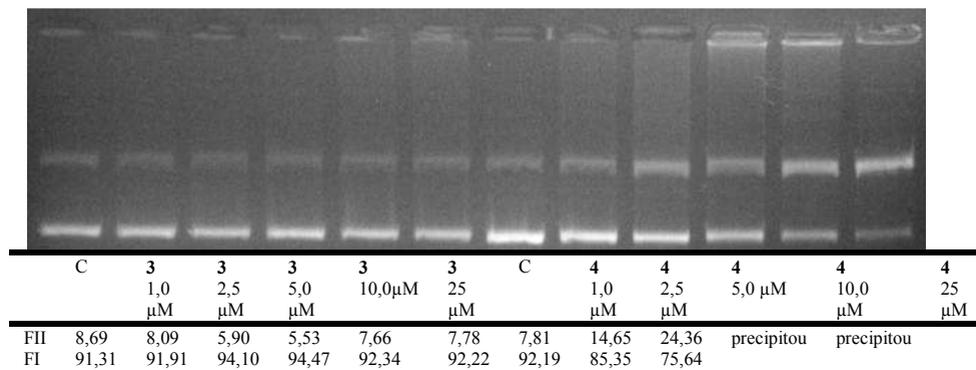


Figura 56 – Eletroforese em gel de agarose para clivagem do DNA plasmidial pelos complexos **3** e **4** em diferentes concentrações, em tampão [10 mM] Tris (pH 7). Linhas 1 e 7: controle DNA; linhas 2-6: DNA + complexo **3** (1,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 25,0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, respectivamente). Linhas 8-12: DNA + complexo **4** (1,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 25,0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, respectivamente). Incubação: 24h a 37 °C.

5 CONCLUSÕES

✓ Foram sintetizados e caracterizados por IV, RMN ^1H e espectrometria de massas quatro novos ligantes $\text{H}_3\text{L}_{2\text{pyald}}$; $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$; $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$ e $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}}$, bem como seus precursores, todos com rendimentos satisfatórios.

✓ Foram sintetizados dois novos complexos trinucleares de cobre(II) empregando-se os ligantes $\text{H}_3\text{L}_{2\text{pyald}}$ e $\text{H}_3\text{L}_{\text{en}}$. Os complexos foram caracterizados por análise elementar de CHN e espectrometria de massa, de onde foi possível identificar as espécies sintetizadas; por infravermelho de onde foi possível identificar as bandas provenientes do ligante e dos contra-íons; por espectroscopia eletrônica, de onde se atribuíram bandas d-d e de transferência de carga; por eletroquímica, cujos experimentos forneceram os valores dos potenciais redox; e por magnetoquímica, avaliando a magnitude da interação entre os centros metálicos. Ambos os complexos de cobre(II), tiveram sua estrutura de raios X resolvida. Estudos de titulação potenciométrica e espectrofotométrica permitiram propor as espécies presentes em solução.

✓ Frente a hidrólise do substrato 2,4-BDNPP, o complexo **1** foi mais eficiente que **2** na conversão do substrato a produtos, apresentando um fator de 0,37, que corresponde a aproximadamente duas vezes mais que o apresentado pelo complexo **2**.

✓ Dois novos complexos binucleares de Fe(III) foram sintetizados empregando-se os ligantes $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald}}$ e $\text{H}_2\text{L}_{3\text{pyald-but-pireno}}$. Da mesma forma que os complexos de cobre(II), os complexos foram caracterizados por CHN, infravermelho, espectroscopia eletrônica e eletroquímica. A espectroscopia mossbauer mostrou que nos dois complexos há a presença de dois centros de Ferro(III) spin alto, com ambientes de coordenação distintos.

✓ Estudos de reatividade de hidrólise do 2,4-BDNPP assistida pelos complexos **3** e **4** revelaram que estes possuem capacidade catalítica frente à hidrólise do 2,4-BDNPP, com eficiência de 0,18 e 0,44, respectivamente, sendo o complexo **4** o mais efetivo na conversão do substrato a produtos.

- ✓ Estudos preliminares frente ao DNA mostraram que o complexo **4** é o único dos complexos que apresentou atividade de clivagem da forma superenovelada para a forma circular.
- ✓ A partir dos dados estruturais, espectroscópicos, eletroquímicos, cinéticos e de titulação potenciométrica foi possível propor um ciclo catalítico para a hidrólise do 2,4-bdnpp mediada pelos complexos **1** e **2** e outro para os complexos **3** e **4**.

6 PERSPECTIVAS

Complexos metálicos multiatômicos homo e heteronucleares constituem uma área ativa de pesquisa dentro da química inorgânica contemporânea, devido ao grande interesse em combinar mais de um centro metálico no desenvolvimento de novos modelos sintéticos. A obtenção de complexos trinucleares de cobre abre perspectivas de se tentar sintetizar compostos heterometálicos, como por exemplo, CuCuLn , a fim de verificar se o ligante se comporta da mesma maneira com outros centros metálicos, formando clusters ou não.

Além disso, esses sistemas oferecem a oportunidade de estudar mais a fundo as propriedades de acoplamento e interação entre os centros metálicos, face ao restrito número destes compostos descritos na literatura.

Testes de promiscuidade catalítica dos complexos sintetizados frente a outros substratos como catecóis e dopaminas, também podem ser realizados, com o intuito de obter complexos modelo cada vez mais eficientes na sua catálise.

Síntese de novos ligantes contendo outros agentes intercalantes, tais como, acridinas e antracenos, buscando auxiliar e ampliar os conhecimentos sobre as nucleases, bem como no modo de interação com o DNA e contribuir para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para o tratamento de doenças virais e câncer.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.L.P.; KNOWLER, J.T.; LEADER, D.P. The biochemistry of the nucleic acids. 3rd edition. University Press, Cambridge, p. 87-114 (1986).
- ADAMS, H., BAILEY, N. A., FENTON, D. E. *et al.* Formation of axial phenolate-metal bonds in square-pyramidal complexes. J. Chem. Soc., Dalton Trans., p. 2233-2237, 1996.
- ADDISON, A. W., RAO, T. N., REEDIJK, J., *et al.* Synthesis, structure and spectroscopic properties of copper (II) compounds containing nitrogen-sulfur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua [1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. Journal Chemical Society, Dalton Transactions, p.1349-1356, 1984.
- ALBEDYHL, S.; AVERBUCH-POUCHOT, M. T.; BELLE, C.; KREBS, B.; PIERRE, J. L.; SAINT-AMAN, E. e TORELLI, S., Dinuclear zinc(II)-iron(III) and iron(II)-iron(III) complexes as models for Purple Acid Phosphatase. European Journal of Inorganic Chemistry, p. 1457-1464, 2001.
- ARAÚJO, E.B. O Tecnécio no diagnóstico de patologias. Química Nova na Escola, nº 6, 2005.
- BATISTA, S., C., NEVES, A., BORTOLUZZI, A. J., VENCATO, I., PERALTA, R. A., SZPOGANICZ, B., AIRES, V. E., SEVERINO, P. C., Highly efficient phosphate diester hydrolysis and DNA interaction by a new unsymmetrical Fe^{III}Ni^{II} model complex, Inorganic Chemistry Communications, v. 6, p. 1161-1165, 2003.
- BARAN, E.J. Metales esenciales para la vida. Ciencia Hoy, v.2, p.50-57, 1990.
- BAZZICALUPI, C., BENCINI, A., BERNI, E. *et al.* Carboxy and diphosphate ester hydrolysis by a dizinc complex with a new alcohol-pendant macrocycle. Inorganic Chemistry, v. 38, p. 4115-4122, 1999.

- BERG, J. M., TYMOCZKO, J. L., STRYER, L. Biochemistry, New York: W. H. Freeman and Company, 5th edition, p. 189-221, 2001.
- BILL, E., MULLER, J., WEYHERMULLER, T., WIEGHARDT, K. Intramolecular Spin Interactions in Bis(phenoxy)metal Complexes of Zinc(II) and Copper(II). Inorg. Chem., 38, 5795-5802, 1999.
- BLASKÓ, A. and BRUICE, T. C. Recent studies of nucleophilic, general-acid, and metal ion catalysis of phosphate diester hydrolysis. Accounts of Chemical Research, v. 32, p. 475-484, 1999.
- BUNTON, C. A. and FARBER, S. J., The hydrolysis of bis(2,4-dinitrophenyl)phosphate. The Journal of Organic Chemistry, v. 34, p. 767-772, 1969.
- CASELLATO, A. Síntese, Caracterização e Reatividade de Complexos Modelos para as Fosfatases Ácidas Gálio-Substituídas, Dissertação de mestrado em Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 75 p., 2003.
- Catálogo Aldrich, 2003/2004.
- CHIN, J., ZOU, X. Cobalt (III) complex promoted hydrolysis of phosphate diesters: Change in rate-determining step with change in phosphate diester reactivity. Journal of the American Chemical Society, v. 110, p. 223 – 225, 1988.
- CHIN, J. Developing artificial hydrolytic metalloenzymes by a unified mechanistic approach. Accounts of Chemical Research, v. 24, p. 145-152, 1991.
- COWAN, J. A. Inorganic Biochemistry – an introduction. 2a Ed. New York: Ed. Wiley-VCH, 1993.
- COWAN, J.A. Chemical Nucleases. Current Opinion in Chemical Biology, v.5, p.634-642, 2001.

- DEAL, K. A. and BURSTYN, J. N. Mechanistic studies of dichloro(1,4,7-triazacyclononane)copper(II)-catalyzed phosphate diester hydrolysis. Inorganic Chemistry, v. 35, p. 2792-2798, 1996.
- DE MELO, J.S.S. Moléculas com história foto(química). Boletim spq, nº 100, jan/mar 2006.
- DE OLIVEIRA, I.R.W.Z.; OSÓRIO, R.E.H.M.B; NEVES, A.; VIEIRA, I.C. Biomimetic sensor based on a novel copper complex for the determination of hydroquinone in cosmetics. Sensors and Actuators B v. 122, p. 89–94, 2007.
- DE OLIVEIRA, M. C. B.; COUTO, M. S. R.; SEVERINO, P. C.; FOPPA, T.; MARTINS, G. T. S.; SZPOGANICZ, B.; PERALTA, R. A.; NEVES, A.; TERENCEZI, H. Polyhedron v. 24, p. 495–499, 2005.
- DE ROSCH, M. A. and TROGLER, W. C. Hydrolysis of phosphodiester with Ni(II), Cu(II), Zn(II), Pd(II), and Pt(II) complexes. Inorganic Chemistry, v. 29, p. 2409-2416, 1990.
- DUBOC-TOIA, C., MÉGANE, S., VINCENT, J.- M. *et al.* Structure of a (μ -oxo)(dihydroxo) diiron(III) complex and its reactivity toward phosphodiester. Inorganic Chemistry, v. 36, p. 6148-6149, 1997.
- EHA, D., KABELC, M., RYICIEK, F., PONER, J., PONER, J.E., ELSTNER, M., SUHAI, S., HOBZA, P. Intercalators. 1. Nature of Stacking Interactions between Intercalators (Ethidium, Daunomycin, Ellipticine, and 4',6-Diaminide-2-phenylindole) and DNA Base Pairs. *Ab Initio* Quantum Chemical, Density Functional Theory, and Empirical Potential Study. J. Am. Chem. Soc., v. 124, p. 3366-3376, 2002.
- ERKKILA, K.E.; ODOM, D.T.; BARTON, J.K. Recognition and reaction of metallointercalators with DNA. Chem Reviews, v. 99, p. 2777-2795, 1999.
- FERNANDEZ, M.J.; WILSON, B.; PALACIOS, M.; RODRIGO, M.M.; GRANT, K.B.; LORENTE, A. Copper-activated

DNA photocleavage by a pyridine-linked bis-acridine intercalator. Bioconjugate Chem., v. 18, p.121-129, 2007.

FUJII, Y.; ITOH, T.; HISADA, H.; SUMIYA, T.; HOSONO, M.; USUI, Y. Hydrolytic cleavage of DNA by a novel copper(II) complex with cis,cis-1,3,5-triaminocyclohexane. Chem. Commun., p. 677-678, 1997.

GAGNÉ, R. R.; KOVAL, C. A. and LISENSKY, G. C. Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements. Inorganic Chemistry, v. 19, p. 2854-2855, 1980.

GREATTI, A.; SCARPELLINI, M.; PERALTA, R. A.; CASELLATO, A.; BORTOLUZZI, A. J.; XAVIER, F. R.; JOVITO, R.; DE BRITO, M. A.; SZPOGANICZ, B.; TOMCOWICZ, Z.; RAMS, M.; HAASE, W.; NEVES, A. Inorganic Chemistry. V. 47, p. 1107–1119, 2008.

GICHINGA, M. G.; STRIEGLER, S. J. Am. Chem. Soc. v. 130, p. 5150–5156, 2008.

GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, M.; ARIAS, M.S.; FERNÁNDEZ, M.J.; GUDE,L.; LORENTE, A.; ALZUET, G.; BORRÁS, J. Copper-mediated DNA photocleavage by a tetrapyridoacridine (tpac) ligand. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 18, p. 3286-3290, 2008.

GUDE, L.; FERNÁNDEZ, M.J.; GRANT, K.B.; LORENTE, A. Syntheses and copper(II)-dependent DNA photocleavage by acridine and anthracene 1,10-phenanthrolineconjugate systems. Organic Biomolecular Chemistry, v. 3, p. 1856-1862, 2005.

HARTLEY, J.A.; WEBBER, J.; WYATT, M.D.; BORDENICK,N.; LEE,M. Novel Cytotoxic DNA sequence and minor groove targeted photosensitizers: conjugates of pyrene and netropsin analogues. Bioorganic e Medicinal Cemistry, v. 3, p. 623-629, 1995.

HEGG, E. L. and BURSTYN, J. N. Copper(II) macrocycles cleave single-stranded and double-stranded DNA under both aerobic and

- anaerobic conditions. Inorganic Chemistry, v. 35, p. 7474-7481, 1996.
- HEGG, E. L. and 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. Coordination Chemistry Reviews, v. 173, p. 133-165, 1998.
- HENDRY, P. and SARGESON, A. M. Metal ion promoted phosphate ester hydrolysis. Intramolecular attack of coordinated hydroxide ion. Journal of the American Chemical Society, v. 111, p. 2521 – 2527, 1989.
- HOLM, R.H.; KENNEPOHL, P.; SOLOMON, E.I. Structural and functional aspects of metal sites in biology. Chemical Reviews, v. 96, p. 2239-2314, 1996.
- HORN, A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.J.; DRAGO, V.; ORTIZ, W.A. Crystal structure and magnetic properties of a new tetranuclear iron (III) complex with asymmetric iron coordination as a model for polynuclear iron proteins. Inorganic Chemistry Communications, v.4, p.173-176, 2001.
- HORN Jr. A.; Síntese e Caracterização de Novos Complexos de Ferro com Ligantes não Simétricos N₂O-Doadores como Modelos para o Sítio Ativos das Fosfatases Ácidas Púrpuras. Tese de doutorado em Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 263p. 2000.
- IBRAHIM, M. M., SHIMOMURA, N., ICHIKAWA, K. *et al.* Phosphoester hydrolysis using structural phosphatase models of tren based zinc(II) complexes and X-ray crystal structures of [Zn(tren)(H₂O)](ClO₄)₂ and [Zn(tren)(BNPP)]ClO₄. Inorganica Chimica Acta, v. 313, p. 125-136, 2001.
- ITOH, T., HISADA, H., USUI, Y. *et al.* Hydrolysis of phosphate esters catalyzed by copper(II)-triamine complexes. The effect of

triamine ligands on the reactivity of the copper(II) catalysts. Inorganica Chimica Acta, v. 283, p. 51-60, 1998.

JONES, CHRIS J. A química dos elementos dos blocos d e f. Porto Alegre: Bookman, 2002.

KAIM, W. and SCHWEDERSKI, B. Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life. John Wiley & Sons, England, 1994.

KAMAL, A., SRINIVAS, O., RAMULU, P., RAMESH, G., PRAVEEN KUMAR, P. Synthesis of C8-linked pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepine- acridone/acridine hybrids as potential DNA-binding agents. Bioinorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 14, p. 4107-4111, 2004.

KARSTEN, P.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.; LANZMASTER, M., DRAGO, V., Synthesis, Structure, Properties, and Phosphatase-Like Activity of the First Heterodinuclear Fe^{III}Mn^{II} Complex with the Unsymmetric ligand H₂BPPMP as a model for the PAP in Sweet Potato, Inorganic Chemistry, v. 41, p. 4624-4626, 2002.

KREBS, B.; SCHEPERS, K.; BREMER, B.; HENKEL, G.; ALTHAUS, E.; MUULLER-WARMUTH, W.; GRIESAR, K.; HAASE, W., Model Compounds for the Oxidized Uteroferrin-Phosphate Complex with Novel Dinucleating, Ligands Containing Phenolate and Pyridine Donors Inorganic Chemistry, v. 33, p. 1907-1914, 1994

KUROSAKI, H., TAWADA, T., KAWASOE, S. *et al.* A model for Zn^{II}-containing- β -lactamase: synthesis, X-ray crystal structure of a Zinc(II) complex bearing thiol group and hydrolysis of phosphate diester. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 10, p. 1333-1337, 2000.

LANZMASTER, M. NEVES, A., BORTOLUZZI, A. J., SZPOGANICZ, B., SCHWINGEL, E. A New Fe^{III}Zn^{II} Complex Containing a Single Terminal Fe-O_{phenolate} Bond as a structural and Functional Model for the Active Site of

Red Kidney Bean Purple Acid Phosphatase, Inorganic Chemistry, v. 41, p. 5641-5643, 2002.

- LANZNASTER, M., Desenvolvimento de novos Modelos estruturais e Funcionais para as Fosfatases Ácidas Púrpuras, Tese de doutorado em Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2003. 170 p.
- LANZNASTER, M. NEVES, A. BORTOLUZZI, A. J., AIRES, V. V. E., SZPOGANICZ, B., TERENCEZ, H., SEVERINO, P. C., FULLER, J. M., DREW, S. C., GAHAN, L. R., HANSON, G. R., RILEY, M. J., SCHENK, G. A new heterobinuclear FeIII-CuII complex with a single terminal FeIII-O(phenolate) bond. Relevance to purple acid phosphatases and nucleases, Journal of Biological Inorganic Chemistry, v. 10, p. 319-332, 2005.
- LIPPARD, S. J. Metals in medicine. In BERTINI, I., GRAY, H. B., LIPPARD, S. J. and VALENTINE, J. Bioinorganic Chemistry. Sausalito: University Science Books, p.505-583, 1994.
- LIPPARD, S. J. and BERG, J. M. Principles of Bioinorganic Chemistry, Mill Valley: University Science Books, 1994.
- LIU, C., ZHOU, J., LI, Q. *et al.* DNA damage by copper(II) complexes: coordination-structural dependence of reactivities. Journal of Inorganic Biochemistry, v. 75, p. 233-240, 1999.
- MARTELL, A. E., MOTEKAITIS, R. J. Determination and use of stability constants. VCH, New York, 2nd ed, 1992.
- MOLENVELD, P., ENGBERSEN, J. F. J., KOOIJMAN, H. *et al.* Efficient catalytic phosphate diester cleavage by the synergetic action of two Cu(II) centers in a dinuclear *cis*-diaqua Cu(II) calix[4]arene enzyme model. Journal of the American Chemical Society, v. 120, p. 6726-6737, 1998.
- MOLENVELD, P., ENGBERSEN, J. F. J. and REINHOUDT, D. N. Dinuclear metallo-phosphodiesterase models: application of

calix[4]arenes as molecular scaffolds. Chemical Society Reviews, v. 29, p. 75-86, 2000.

MORROW, J. R. and TROGLER, W. C. Hydrolysis of phosphate diesters with copper(II) catalysts. Inorganic Chemistry, v. 27, p. 3387-3394, 1988.

NAKAMOTO, K. Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds. 3. Ed. New York : John Wiley & Sons, 1978.

NAVARRO, M.; CISNEROS-FAJARDO, E.J.; SIERRALTA, A.; FERNÁNDEZ-MESTRE, M.; ARRIECHE, P.S.D.; MARCHÁN, E. Design of copper DNA intercalators with leishmanicidal activity. J. Biol. Inorg. Chem., v. 8, p. 401-408, 2003.

NEVES, A., ERTHAL, S. M. D., DRAGO, V. *et al.* A New N, O-donor binucleating ligand and its first iron(III) complex as a model for the purple acid phosphatases. Inorganica Chimica Acta Letter, v. 197, p. 121-124, 1992.

NEVES, A., BRITO, M. A., DRAGO, V. *et al.* A New asymmetric N₃O₂-donor binucleating ligand and its first Fe^{II}Fe^{III} complex as a model for the redox properties of uteroferrin. Inorganica Chimica Acta, v. 237, p. 131-135, 1995.

NEVES, A., BRITO, M. A., VENCATO, I. *et al.* Fe^{III}Fe^{III} and Fe^{II}Fe^{III} complexes as synthetic analogues for the oxidized and reduced forms of purple acid phosphatases. Inorganic Chemistry, v. 35, p. 2360-2368, 1996.

NEVES, A., ROSSI, L. M., HORN, A. Jr. *et al.* Synthesis, structure and properties of the first dinuclear copper(II) complex as a structural model for the phenolic intermediate in tyrosinase-cresolase activity. Inorganic Chemistry Communications, v. 2, p. 334-337, 1999.

- NEVES, A., ROSSI, L.M., VENCATO, I., DRAGO, V., HAASE, W., WERNER, R. Crystal structure, spectral and magnetic properties of a new (μ -acetate) (μ -alkoxide) dicopper(II) complex as a model for tyrosinase. Inorganica Chimica Acta, v. 281, p. 111-115, 1998.
- NEVES, A., TEREZI, H. HORNER, R. *et. al.* Hydrolytic DNA cleavage promoted by a dinuclear iron(III) complex. Inorganic Chemistry Communications, v. 4, p. 388-391, 2001.
- NEVES, A.; ROSSI, L. M.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; WIEZBICKI, C.; SCHWINGEL, E. Complexes with Variable Cu-OH(phenol) Moieties Inorg. Chem. v. 41, p. 1788–1794, 2002.
- NEVES, A.; TEREZI, H.; OLIVEIRA, M.C.B.; MAZERA, D.; SCARPELLINI, M.; SEVERINO, P.C. Mononuclear Cu^{II}-phenolate bioinspired complex is catalytically promiscuous: phosphodiester and peptide amide bond cleavage. Inorganic Chemistry, v. 48, p. 2711-2713, 2009.
- OSÓRIO, R.E.H.M.B.; PERALTA, R.A.; BORTOLUZZI, A.J.; ALMEIDA, V.R.; SZPOGANICZ, B.; FISCHER, F.L.; TEREZI, H.; MANGRICH, A.S.; MANTOVANI, K.M.; FERRERIRA, D.E.C.; ROCHA, W.R.; HAASE, W.; TOMKOWICZ, Z.; DOS ANJOS, A.; NEVES, A.; Synthesis, Magnetostructural Correlation, and Catalytic Promiscuity of Unsymmetric Dinuclear Copper(II) Complexes: Models for Catechol Oxidases and Hydrolases, Inorganic Chemistry, v. 51, p.1569-1589, 2012.
- PERALTA, R.A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.J.; DOS ANJOS, A.; XAVIER, F.R.; SZPOGANICZ, B.; TEREZI, H.; OLIVEIRA, M.C.B.; CASTELLANO, E.; FRIEDERMANN, G.R.; MANGRICH, A.S.; NOVAK, M.A. New unsymmetric dinuclear Cu^{II}Cu^{II} complexes and their relevance to copper(II) containing metalloenzymes and DNA cleavage. Journal of Inorganic Biochemistry, v. 100, p. 992-1004, 2006.

- REY, N.A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.J.; PICH, C.T.; TEREZI, 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. Inorganic Chemistry, v. 46, p. 348-350, 2007.
- REEDIJK, J. Introduction to bioinorganic chemistry. In Bioinorganic Catalysis, New York: Marcel Dekker, Inc. p. 1-11, 1993.
- RICHARDS, A.D. and RODGER, A. Synthetic metallomolecules as agents for the control of DNA structure. Chem. Soc. Rev., v. 36, p. 471-483, 2007.
- ROAT-MALONE, R. M. Bioinorganic Chemistry – A Short Course. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, p. 25-36, 2002.
- ROSSI, L.M.; NEVES, A.; HORNER, R.; SZPOGANICZ, B.; TEREZI, H.; SUGAI, J. Hydrolytic activity of a dinuclear copper(II,II) complex in phosphate diester and DNA cleavage. Inorganic Chimica Acta, v. 337, p. 336-370, 2002.
- ROSSI, L.M., NEVES, A. et al., Synthesis, structure and properties of unsymmetrical μ -alkoxo-dicopper(II) complexes: biological relevance to phosphodiester and DNA cleavage and cytotoxic activity, Inorganic Chimica Acta, v.358, p.1807-1822, 2005.
- SCARPELINI, M.; NEVES, A.; HORNER, R.; BORTOLUZZI, A.J.; SZPOGANICZ, B.; ZUCCO, C.; SILVA, R.A.N.; DRAGO, V.; MANGRICH, A.S.; ORTIZ, W.A.; PASSOS, W.A.C.; OLIVEIRA, M.C.B.; TEREZI, H. Phosphate diester hydrolysis and DNA damage promoted by new cis-aqua/hydroxyl copper(II) complexes containing tridentate imidazole-rich ligands. Inorganic Chemistry, v. 42, p. 8353-8365, 2003.

- SCHNAITH, L. M. T., BANSON, R. S. and QUE, Jr. L. Double-stranded cleavage of pBR322 by a diiron complex via a "hydrolytic" mechanism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, v. 91, p.569-573, 1994.
- SIGMAN, D.S.; GRAHAM, D.R.; D'AURORA, V.; STERN, A.M. Oxygen-dependent cleavage of DNA by 1,10-phenanthroline cuprous complex. The Journal of Biological Chemistry, v. 254, p. 12269-12272, 1979.
- SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRILL, T. C., Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos, Editora LTC, Traduzido por ALENCASTRO, R. B., WIRCKER, L., GIL, R. A. S., 5ª ed, 1994. 387 p.
- SOKOLOWSKI, A., LEUTBECHER, H., WEYHERMULLER, T., SCHNEPF, R., BOTHE, E., BILL, E., HILDEBRANDT, P., WIEGHARDT, K. Phenoxyl copper(II) complexes models for the active site of galactose oxidase. J. Biol. Inorg. Chem., v. 2, p. 444-453, 1997.
- SREEDHARA, A.; FREED, J.D.; COWAN, J.A. Efficient inorganic deoxyribonucleases. Greater than 50-million-fold rate enhancement in enzyme-like DNA cleavage. J. Am. Chem. Soc., v.122, p. 8814-8824, 2000.
- THAN, R., FELDMANN A., KREBS, B. Structural and functional studies on model compounds of purple acid phosphatases and catechol oxidases, Coordination Chemistry Reviews, v. 182, p 211-241, 1999.
- TAO, J. -C., WU, Y. -J. and SONG, J. -Y. Syntheses, characterization and complexing behavior of substituted unsymmetrical azamacrocycles. Polyhedron, v. 18, p. 1015-1021, 1999.
- VOET, D. and VOET, J. G. Biochemistry, Somerset: John Wiley & Sons, Inc., p. 332-344, 1995.
- WAHNON, D., HYNES, R. C. and CHIN, J. Dramatic ligand effect in copper(II) complex promoted transesterification of a phosphate diester. Journal of Chemical Society, Chemical Communication, p. 1441-1442, 1994.

- WANG, Y., DUBOIS, J. L., STACK, T. D. P. *et al.* Catalytic galactose oxidase models: Biomimetic copper(II)-phenoxyl radical reactivity. Science, v. 279, p. 537-540, 1998.
- WATSON, J. D., & CRICK, F. H. C. A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature, v. 171, p. 737-738, 1953.
- WILLIAMS, N. H., CHEUNG, W. and CHIN, J. Reactivity of phosphate diesters doubly coordinated to a dinuclear cobalt(III) complex: dependence of the reactivity on the basicity of the leaving group. Journal of the American Chemical Society, v. 120, p. 8079-8087, 1998.
- WILLIAMS, N. H., TAKASAKI, B., WALL, M. *et al.* Structure and nuclease activity of simple dinuclear metal complexes: quantitative dissection of the role of metal ions. Accounts of Chemical Research, v. 32, p. 485-493, 1999.
- YOUNG, M. J., WAHNON, D., HYNES, R. C. *et al.* Reactivity of copper(II) hydroxides and copper(II) alkoxides for cleaving an activated phosphate diester. Journal of the American Chemical Society, v. 117, p. 9441-9447, 1995.
- ZSOLNAI, L. ZORTEP: An Interactive ORTEP Program. University of Heidelberg, Germany, 1997.

APÊNDICES

APÊNDICE A – DADOS CRISTALOGRAFICOS SUPLEMENTARES DO COMPLEXO 1

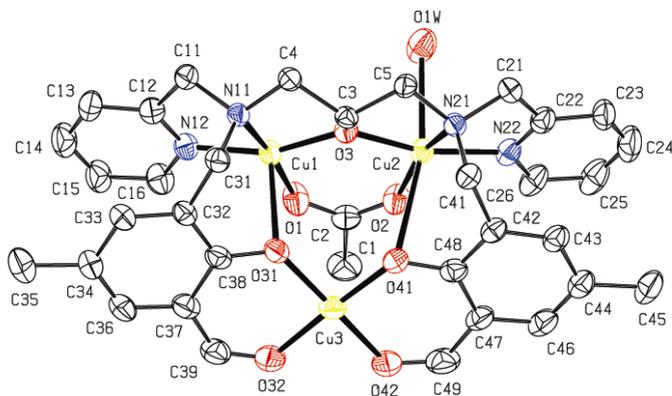


Tabela 16 - Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo **1**, $U(\text{eq})$ é definido como 1/3 do traço do tensor U_{ij} ortogonalizado.

	X	Y	Z	$U(\text{eq})$
Cu(1)	5279(1)	3240(1)	4225(1)	48(1)
Cu(2)	3036(1)	2186(1)	3815(1)	48(1)
Cu(3)	5513(1)	1465(1)	5519(1)	57(1)
O(1W)	2146(4)	3269(3)	2918(3)	93(2)
O(2)	3254(3)	2716(2)	4747(2)	65(1)
O(1)	4727(3)	3421(3)	5002(2)	74(1)
O(3)	4228(2)	2562(2)	3642(2)	47(1)
O(41)	4534(3)	998(2)	4686(2)	57(1)
O(31)	6190(3)	1950(2)	4919(2)	57(1)
O(32)	6500(4)	1921(3)	6405(2)	73(1)
O(42)	4809(4)	1080(3)	6161(2)	79(1)
N(12)	6291(3)	4142(3)	4527(2)	53(1)
N(11)	6034(3)	2962(2)	3507(2)	46(1)

N(21)	2948(3)	1325(3)	3022(2)	47(1)
N(22)	1630(3)	1780(3)	3713(2)	55(1)
C(41)	3338(4)	478(3)	3304(3)	52(1)
C(32)	7534(4)	2519(3)	4588(3)	51(1)
C(39)	7302(5)	2285(4)	6440(3)	72(2)
C(3)	4560(3)	2040(3)	3174(2)	44(1)
C(48)	3712(4)	562(3)	4656(3)	55(1)
C(38)	7105(4)	2288(3)	5123(3)	54(1)
C(2)	3981(4)	3116(3)	5157(3)	56(1)
C(5)	3600(4)	1685(3)	2611(2)	49(1)
C(11)	6424(4)	3787(3)	3357(3)	54(1)
C(47)	3393(4)	393(4)	5264(3)	61(1)
C(34)	9056(5)	3092(4)	5510(4)	76(2)
C(26)	1119(5)	1875(4)	4188(4)	72(2)
C(46)	2459(5)	-35(4)	5171(3)	70(2)
C(4)	5232(4)	2586(3)	2865(2)	48(1)
C(42)	3082(4)	254(3)	3973(3)	52(1)
C(21)	1824(4)	1314(4)	2595(3)	59(1)
C(37)	7683(5)	2469(4)	5868(3)	63(1)
C(33)	8490(4)	2900(4)	4777(3)	64(1)
C(31)	6916(4)	2365(3)	3798(2)	50(1)
C(13)	7628(5)	4833(4)	4213(3)	67(1)
C(12)	6805(4)	4283(3)	4057(3)	56(1)
C(49)	3988(6)	673(5)	5973(3)	84(2)
C(16)	6573(5)	4546(4)	5167(3)	68(2)
C(22)	1186(4)	1379(3)	3087(3)	58(1)
C(14)	7918(5)	5229(4)	4876(4)	83(2)
C(43)	2187(4)	-192(3)	3922(3)	60(1)
C(44)	1853(5)	-323(3)	4520(3)	64(1)
C(24)	-320(5)	1165(5)	3407(5)	91(2)
C(25)	145(6)	1560(4)	4042(5)	86(2)
C(36)	8647(5)	2871(4)	6031(3)	76(2)
C(45)	832(5)	-750(4)	4414(4)	87(2)
C(15)	7389(5)	5100(4)	5357(4)	74(2)
C(23)	205(4)	1066(4)	2914(4)	71(2)
C(35)	10091(7)	3535(7)	5676(5)	121(3)
C(1)	3986(6)	3268(5)	5921(3)	83(2)
Cl(1)	6384(1)	263(1)	2264(1)	72(1)
O(111)	6652(8)	978(5)	1954(4)	169(3)
O(112)	5566(5)	438(4)	2523(4)	125(2)
O(113)	6085(8)	-322(5)	1716(5)	177(4)

O(114)	7217(6)	-12(7)	2837(4)	184(4)
Cl(2)	9604(1)	3852(1)	3149(1)	75(1)
O(211)	8949(10)	4458(7)	3026(7)	278(8)
O(212)	8919(11)	3195(10)	3056(6)	282(8)
O(213)	10215(7)	3698(6)	3849(4)	180(4)
O(214)	10017(7)	3772(10)	2626(6)	262(7)

Tabela 17 - Comprimentos (Å) e ângulos (°) de ligação para o complexo **1**.

Cu(1)-O(3)	1.86	N(22)-C(26)	1.343(7)
Cu(1)-O(1)	1.92	C(41)-C(42)	1.501(7)
Cu(1)-N(12)	1.96	C(32)-C(33)	1.384(7)
Cu(1)-N(11)	2.04	C(32)-C(38)	1.406(7)
Cu(1)-O(31)	2.56	C(32)-C(31)	1.511(7)
Cu(1)-Cu(2)	3.371	C(39)-C(37)	1.411(8)
Cu(1)-Cu(3)	3.753	C(3)-C(5)	1.519(6)
Cu(2)-O(3)	1.87	C(3)-C(4)	1.533(6)
Cu(2)-O(2)	1.93	C(48)-C(42)	1.415(8)
Cu(2)-N(22)	1.98	C(48)-C(47)	1.420(7)
Cu(2)-N(21)	2.05	C(38)-C(37)	1.435(7)
Cu(2)-O(1W)	2.48	C(2)-C(1)	1.507(7)
Cu(2)-O(41)	2.90	C(11)-C(12)	1.516(7)
Cu(2)-Cu(3)	4.053	C(47)-C(46)	1.413(8)
Cu(3)-O(41)	1.88	C(47)-C(49)	1.425(9)
Cu(3)-O(31)	1.88	C(34)-C(36)	1.360(9)
Cu(3)-O(42)	1.92	C(34)-C(33)	1.415(8)
Cu(3)-O(32)	1.95	C(34)-C(35)	1.525(10)
O(2)-C(2)	1.23	C(26)-C(25)	1.367(9)
O(1)-C(2)	1.26	C(46)-C(44)	1.347(9)
O(3)-C(3)	1.42	C(42)-C(43)	1.399(7)
O(41)-C(48)	1.31	C(21)-C(22)	1.502(7)
O(31)-C(38)	1.30	C(37)-C(36)	1.412(9)
O(32)-C(39)	1.22	C(13)-C(14)	1.377(9)
O(42)-C(49)	1.24	C(13)-C(12)	1.387(8)
N(12)-C(16)	1.34	C(16)-C(15)	1.383(8)
N(12)-C(12)	1.34	C(22)-C(23)	1.370(8)
N(11)-C(4)	1.49	C(14)-C(15)	1.379(10)
N(11)-C(11)	1.49	C(43)-C(44)	1.403(8)
N(11)-C(31)	1.50	C(44)-C(45)	1.513(8)
N(21)-C(21)	1.49	C(24)-C(25)	1.349(11)

N(21)-C(5)	1.50	C(24)-C(23)	1.388(10)
N(21)-C(41)	1.50	Cl(1)-O(114)	1.380(7)
N(22)-C(22)	1.33	Cl(1)-O(113)	1.380(7)
Cl(2)-O(211)	1.29	Cl(1)-O(111)	1.404(7)
Cl(2)-O(214)	1.32	Cl(1)-O(112)	1.404(5)
Cl(2)-O(213)	1.36	C(2)-O(2)-Cu(2)	132.7(3)
Cl(2)-O(212)	1.38	C(2)-O(1)-Cu(1)	133.7(4)
O(3)-Cu(1)-O(1)	98.1	C(3)-O(3)-Cu(1)	112.9(3)
O(3)-Cu(1)-N(12)	160.8	C(3)-O(3)-Cu(2)	114.1(3)
O(1)-Cu(1)-N(12)	94.3	Cu(1)-O(3)-Cu(2)	128.58(16)
O(3)-Cu(1)-N(11)	85.4	C(48)-O(41)-Cu(3)	127.5(3)
O(1)-Cu(1)-N(11)	171.8	C(48)-O(41)-Cu(2)	84.0(3)
N(12)-Cu(1)-N(11)	84.2	Cu(3)-O(41)-Cu(2)	113.76(16)
O(3)-Cu(1)-O(31)	89.4	C(38)-O(31)-Cu(3)	127.3(3)
O(1)-Cu(1)-O(31)	87.6	C(38)-O(31)-Cu(1)	94.3(3)
N(12)-Cu(1)-O(31)	105.5	Cu(3)-O(31)-Cu(1)	114.04(16)
N(11)-Cu(1)-O(31)	85.1	C(39)-O(32)-Cu(3)	125.0(4)
O(3)-Cu(2)-O(2)	98.8	C(49)-O(42)-Cu(3)	125.3(4)
O(3)-Cu(2)-N(22)	164.8	C(16)-N(12)-C(12)	119.6(5)
O(2)-Cu(2)-N(22)	94.6	C(16)-N(12)-Cu(1)	126.5(4)
O(3)-Cu(2)-N(21)	85.3	C(12)-N(12)-Cu(1)	113.5(3)
O(2)-Cu(2)-N(21)	163.1	C(4)-N(11)-C(11)	114.1(4)
N(22)-Cu(2)-N(21)	83.6	C(4)-N(11)-C(31)	109.6(4)
O(3)-Cu(2)-O(1W)	84.3	C(11)-N(11)-C(31)	110.3(4)
O(2)-Cu(2)-O(1W)	103.6	C(4)-N(11)-Cu(1)	105.1(3)
N(22)-Cu(2)-O(1W)	85.7	C(11)-N(11)-Cu(1)	103.5(3)
N(21)-Cu(2)-O(1W)	92.9	C(31)-N(11)-Cu(1)	114.1(3)
O(3)-Cu(2)-O(41)	80.0	C(21)-N(21)-C(5)	113.4(4)
O(2)-Cu(2)-O(41)	83.3	C(21)-N(21)-C(41)	111.7(4)
N(22)-Cu(2)-O(41)	108.5	C(5)-N(21)-C(41)	110.1(4)
N(21)-Cu(2)-O(41)	81.3	C(21)-N(21)-Cu(2)	102.8(3)
O(1W)-Cu(2)-O(41)	163.7	C(5)-N(21)-Cu(2)	104.2(3)
O(41)-Cu(3)-O(31)	89.3	C(41)-N(21)-Cu(2)	114.4(3)
O(41)-Cu(3)-O(42)	93.6	C(22)-N(22)-C(26)	120.0(5)
O(31)-Cu(3)-O(42)	174.	C(22)-N(22)-Cu(2)	112.6(3)
O(41)-Cu(3)-O(32)	177.5	C(26)-N(22)-Cu(2)	127.4(4)
O(31)-Cu(3)-O(32)	93.0	C(42)-C(41)-N(21)	112.2(4)
O(42)-Cu(3)-O(32)	84.0	C(33)-C(32)-C(38)	120.9(5)
O(3)-C(3)-C(5)	107.	C(33)-C(32)-C(31)	120.4(5)
O(3)-C(3)-C(4)	106.	C(38)-C(32)-C(31)	118.7(4)

C(5)-C(3)-C(4)	115.0	O(32)-C(39)-C(37)	128.1(5)
O(41)-C(48)-C(42)	118.4	O(42)-C(49)-C(47)	128.5(6)
O(41)-C(48)-C(47)	124.3	N(12)-C(16)-C(15)	121.3(6)
C(42)-C(48)-C(47)	117.1	N(22)-C(22)-C(23)	121.0(6)
O(31)-C(38)-C(32)	118.7	N(22)-C(22)-C(21)	115.5(5)
O(31)-C(38)-C(37)	123.2	C(23)-C(22)-C(21)	123.4(6)
C(32)-C(38)-C(37)	118.0	C(13)-C(14)-C(15)	121.0(6)
O(2)-C(2)-O(1)	126.6	C(42)-C(43)-C(44)	122.7(5)
O(2)-C(2)-C(1)	117.6	C(46)-C(44)-C(43)	117.4(5)
O(1)-C(2)-C(1)	115.8	C(46)-C(44)-C(45)	122.7(6)
N(21)-C(5)-C(3)	106.8	C(43)-C(44)-C(45)	119.9(6)
N(11)-C(11)-C(12)	109.4	C(25)-C(24)-C(23)	119.5(6)
C(46)-C(47)-C(48)	120.2	C(24)-C(25)-C(26)	119.9(7)
C(46)-C(47)-C(49)	118.9	C(34)-C(36)-C(37)	122.7(5)
C(48)-C(47)-C(49)	120.8	C(14)-C(15)-C(16)	118.5(6)
C(36)-C(34)-C(33)	118.2	C(22)-C(23)-C(24)	118.8(7)
C(36)-C(34)-C(35)	123.3	O(114)-Cl(1)-O(113)	111.2(7)
C(33)-C(34)-C(35)	118.4	O(114)-Cl(1)-O(111)	110.3(6)
N(22)-C(26)-C(25)	120.8	O(113)-Cl(1)-O(111)	106.3(5)
C(44)-C(46)-C(47)	122.7	O(114)-Cl(1)-O(112)	108.6(4)
N(11)-C(4)-C(3)	106.0	O(113)-Cl(1)-O(112)	110.3(5)
C(43)-C(42)-C(48)	119.7	O(111)-Cl(1)-O(112)	110.1(5)
C(43)-C(42)-C(41)	121.0	O(211)-Cl(2)-O(214)	112.3(7)
C(48)-C(42)-C(41)	119.1	O(211)-Cl(2)-O(213)	118.7(7)
N(21)-C(21)-C(22)	110.9	O(214)-Cl(2)-O(213)	118.2(6)
C(39)-C(37)-C(36)	119.0	O(211)-Cl(2)-O(212)	98.8(10)
C(39)-C(37)-C(38)	122.1	O(214)-Cl(2)-O(212)	105.6(10)
C(36)-C(37)-C(38)	118.8	O(213)-Cl(2)-O(212)	98.9(6)
C(32)-C(33)-C(34)	121.3	N(12)-C(12)-C(13)	122.0(5)

APÊNDICE B – DADOS CRISTALÓGRAFICOS SUPLEMENTARES DO COMPLEXO 2

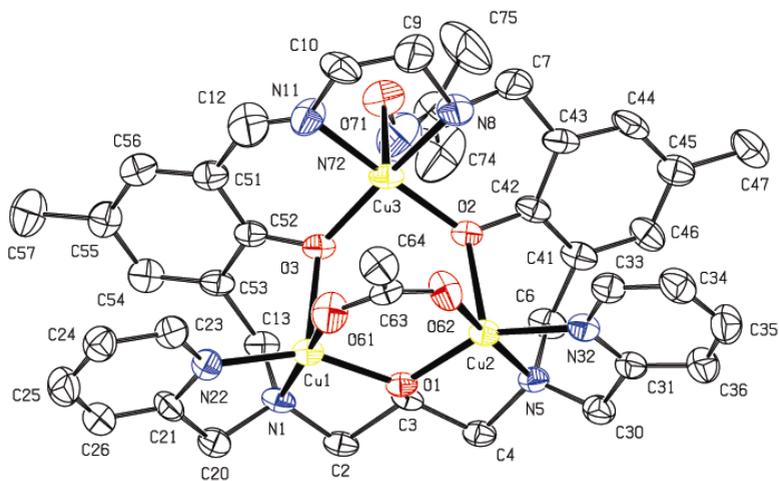


Tabela 18 - Comprimentos (Å) e ângulos (°) de ligação para o complexo **2**.

Cu(1)-O(1)	1.896(5)	C(13)-C(53)	1.517(11)
Cu(1)-O(61)	1.965(6)	C(20)-C(21)	1.543(13)
Cu(1)-N(22)	1.967(8)	C(21)-C(26)	1.336(14)
Cu(1)-N(1)	2.060(7)	C(21)-N(22)	1.344(12)
Cu(1)-O(3)	2.257(5)	N(22)-C(23)	1.341(12)
Cu(2)-O(1)	1.902(5)	C(23)-C(24)	1.378(14)
Cu(2)-O(62)	1.961(7)	C(24)-C(25)	1.353(17)
Cu(2)-N(32)	1.982(8)	C(25)-C(26)	1.387(18)
Cu(2)-N(5)	2.065(7)	C(30)-C(31)	1.476(13)
Cu(2)-O(2)	2.221(5)	C(31)-N(32)	1.359(12)
Cu(3)-O(3)	1.923(6)	C(31)-C(36)	1.380(14)
Cu(3)-O(2)	1.931(6)	N(32)-C(33)	1.351(12)
Cu(3)-N(11)	2.006(9)	C(33)-C(34)	1.346(15)
Cu(3)-N(8)	2.031(8)	C(34)-C(35)	1.365(17)
Cu(3)-O(71)	2.433(7)	C(35)-C(36)	1.418(17)
O(1)-C(3)	1.419(9)	C(41)-C(46)	1.365(13)
O(2)-C(42)	1.355(11)	C(41)-C(42)	1.415(13)
O(3)-C(52)	1.341(11)	C(42)-C(43)	1.439(12)
N(1)-C(20)	1.474(11)	C(43)-C(44)	1.386(16)
N(1)-C(2)	1.480(11)	C(44)-C(45)	1.384(16)
N(1)-C(13)	1.500(10)	C(45)-C(46)	1.361(14)
C(2)-C(3)	1.549(11)	C(45)-C(47)	1.473(16)
C(3)-C(4)	1.513(12)	C(51)-C(56)	1.391(15)
C(4)-N(5)	1.517(10)	C(51)-C(52)	1.408(13)
N(5)-C(30)	1.442(12)	C(52)-C(53)	1.409(12)
N(5)-C(6)	1.521(11)	C(53)-C(54)	1.369(13)
C(6)-C(41)	1.478(12)	C(54)-C(55)	1.388(15)
C(7)-N(8)	1.433(15)	C(55)-C(56)	1.410(15)
C(7)-C(43)	1.508(15)	C(55)-C(57)	1.483(16)
N(8)-C(9)	1.434(13)	O(61)-C(63)	1.237(11)
C(9)-C(10)	1.399(15)	O(62)-C(63)	1.223(11)
C(10)-N(11)	1.434(13)	C(63)-C(64)	1.494(12)
N(11)-C(12)	1.167(16)	O(71)-N(72)	1.334(18)
C(12)-C(51)	1.525(17)	N(72)-C(73)	1.251(17)
Cu(1')-O(1')	1.896(6)	C(73)-C(75)	1.33(2)
Cu(1')-O(61')	1.954(6)	C(73)-C(74)	1.39(2)
Cu(1')-N(22')	2.000(8)	C(21')-N(22')	1.337(11)
Cu(1')-N(1')	2.047(7)	C(21')-C(26')	1.394(14)

Cu(1')-O(3')	2.227(5)	N(22')-C(23')	1.320(12)
Cu(2')-O(1')	1.902(5)	C(23')-C(24')	1.354(13)
Cu(2')-O(62')	1.965(7)	C(24')-C(25')	1.366(16)
Cu(2')-N(32')	1.978(8)	C(25')-C(26')	1.359(16)
Cu(2')-N(5')	2.054(7)	C(30')-C(31')	1.522(13)
Cu(2')-O(2')	2.215(5)	C(31')-N(32')	1.342(12)
Cu(3')-O(2')	1.921(5)	C(31')-C(36')	1.373(13)
Cu(3')-O(3')	1.939(6)	N(32')-C(33')	1.337(12)
Cu(3')-N(8')	1.988(8)	C(33')-C(34')	1.377(14)
Cu(3')-N(11')	2.011(8)	C(34')-C(35')	1.352(17)
Cu(3')-O(71')	2.380(6)	C(35')-C(36')	1.433(16)
O(1')-C(3')	1.434(9)	C(41')-C(46')	1.371(12)
O(2')-C(42')	1.341(9)	C(41')-C(42')	1.406(11)
O(3')-C(52')	1.347(10)	C(42')-C(43')	1.398(12)
N(1')-C(20')	1.466(11)	C(43')-C(44')	1.369(14)
N(1')-C(2')	1.502(10)	C(44')-C(45')	1.394(14)
N(1')-C(13')	1.529(11)	C(45')-C(46')	1.390(14)
C(2')-C(3')	1.491(12)	C(45')-C(47')	1.511(13)
C(3')-C(4')	1.508(11)	C(51')-C(52')	1.383(12)
C(4')-N(5')	1.505(10)	C(51')-C(56')	1.403(13)
N(5')-C(30')	1.481(11)	C(52')-C(53')	1.413(11)
N(5')-C(6')	1.528(10)	C(53')-C(54')	1.373(13)
C(6')-C(41')	1.472(11)	C(54')-C(55')	1.386(13)
C(7')-N(8')	1.282(14)	C(55')-C(56')	1.371(14)
C(7')-C(43')	1.503(15)	C(55')-C(57')	1.521(14)
N(8')-C(9')	1.468(13)	O(61')-C(63')	1.272(11)
C(9')-C(10')	1.420(13)	O(62')-C(63')	1.237(11)
C(10')-N(11')	1.472(11)	C(63')-C(64')	1.487(11)
N(11')-C(12')	1.451(13)	O(71')-N(72')	1.246(11)
C(12')-C(51')	1.526(14)	N(72')-C(73')	1.313(13)
C(13')-C(53')	1.496(12)	C(73')-C(75')	1.377(17)
C(20')-C(21')	1.496(13)	C(73')-C(74')	1.458(16)
Cl(1)-O(2P)	1.410(9)	Cl(1)-O(3P)	1.375(11)
Cl(1)-O(1P)	1.424(10)	Cl(1)-O(4P)	1.406(10)
Cl(2)-O(6P)	1.265(10)	O(3)-Cu(3)-N(11)	91.2(4)
Cl(2)-O(7P)	1.363(11)	O(2)-Cu(3)-N(11)	173.0(3)
Cl(2)-O(8P)	1.423(13)	O(3)-Cu(3)-N(8)	169.8(3)
Cl(2)-O(5P)	1.424(10)	O(2)-Cu(3)-N(8)	88.8(3)
Cl(3)-O(12P)	1.316(11)	N(11)-Cu(3)-N(8)	86.5(4)
Cl(3)-O(10P)	1.375(11)	O(3)-Cu(3)-O(71)	97.9(3)

Cl(3)-O(11P)	1.396(11)	O(2)-Cu(3)-O(71)	96.4(3)
Cl(3)-O(9P)	1.492(13)	N(11)-Cu(3)-O(71)	88.9(4)
Cl(4)-O(15P)	1.245(14)	N(8)-Cu(3)-O(71)	92.0(3)
Cl(4)-O(16P)	1.284(11)	C(3)-O(1)-Cu(1)	109.5(5)
Cl(4)-O(14P)	1.389(12)	C(3)-O(1)-Cu(2)	107.6(5)
Cl(4)-O(13P)	1.393(10)	Cu(1)-O(1)-Cu(2)	122.4(2)
O(1)-Cu(1)-O(61)	96.4(3)	C(42)-O(2)-Cu(3)	126.5(5)
O(1)-Cu(1)-N(22)	154.6(3)	C(42)-O(2)-Cu(2)	105.3(5)
O(61)-Cu(1)-N(22)	91.6(3)	Cu(3)-O(2)-Cu(2)	114.8(3)
O(1)-Cu(1)-N(1)	85.9(3)	C(52)-O(3)-Cu(3)	125.6(5)
O(61)-Cu(1)-N(1)	174.7(3)	C(52)-O(3)-Cu(1)	101.5(5)
N(22)-Cu(1)-N(1)	84.3(3)	Cu(3)-O(3)-Cu(1)	119.8(3)
O(1)-Cu(1)-O(3)	95.3(2)	C(20)-N(1)-C(2)	114.3(6)
O(61)-Cu(1)-O(3)	95.6(3)	C(20)-N(1)-C(13)	110.0(7)
N(22)-Cu(1)-O(3)	107.9(3)	C(2)-N(1)-C(13)	110.3(6)
N(1)-Cu(1)-O(3)	88.9(2)	C(20)-N(1)-Cu(1)	105.7(5)
O(1)-Cu(2)-O(62)	97.4(2)	C(2)-N(1)-Cu(1)	105.2(5)
O(1)-Cu(2)-N(32)	152.4(3)	C(13)-N(1)-Cu(1)	111.1(5)
O(62)-Cu(2)-N(32)	92.0(3)	N(1)-C(2)-C(3)	105.6(6)
O(1)-Cu(2)-N(5)	86.1(2)	O(1)-C(3)-C(4)	107.2(7)
O(62)-Cu(2)-N(5)	175.0(3)	O(1)-C(3)-C(2)	106.7(6)
N(32)-Cu(2)-N(5)	83.3(3)	C(4)-C(3)-C(2)	116.4(6)
O(1)-Cu(2)-O(2)	98.7(2)	C(3)-C(4)-N(5)	105.1(6)
O(62)-Cu(2)-O(2)	93.5(3)	C(30)-N(5)-C(4)	115.4(6)
N(32)-Cu(2)-O(2)	106.7(3)	C(30)-N(5)-C(6)	112.0(7)
N(5)-Cu(2)-O(2)	89.5(2)	C(4)-N(5)-C(6)	109.3(7)
O(3)-Cu(3)-O(2)	92.5(2)	C(30)-N(5)-Cu(2)	104.8(5)
N(8)-C(7)-C(43)	115.9(9)	C(4)-N(5)-Cu(2)	104.4(5)
C(7)-N(8)-C(9)	113.5(10)	C(6)-N(5)-Cu(2)	110.6(5)
C(7)-N(8)-Cu(3)	115.3(7)	C(41)-C(6)-N(5)	114.5(7)
C(9)-N(8)-Cu(3)	107.4(8)	O(2)-C(42)-C(41)	117.8(7)
C(10)-C(9)-N(8)	115.9(10)	O(2)-C(42)-C(43)	123.9(9)
C(9)-C(10)-N(11)	117.9(10)	C(41)-C(42)-C(43)	118.2(9)
C(12)-N(11)-C(10)	131.2(11)	C(44)-C(43)-C(42)	117.0(10)
C(12)-N(11)-Cu(3)	121.8(9)	C(44)-C(43)-C(7)	120.0(10)
C(10)-N(11)-Cu(3)	107.0(8)	C(42)-C(43)-C(7)	122.1(11)
N(11)-C(12)-C(51)	133.3(12)	C(45)-C(44)-C(43)	125.0(10)
N(1)-C(13)-C(53)	113.7(7)	C(46)-C(45)-C(44)	115.5(11)
N(1)-C(20)-C(21)	111.4(7)	C(46)-C(45)-C(47)	123.3(12)
C(26)-C(21)-N(22)	123.4(11)	C(44)-C(45)-C(47)	121.1(11)

C(26)-C(21)-C(20)	122.4(10)	C(45)-C(46)-C(41)	124.7(11)
N(22)-C(21)-C(20)	114.1(8)	C(56)-C(51)-C(52)	119.5(10)
C(23)-N(22)-C(21)	117.7(9)	C(56)-C(51)-C(12)	123.5(10)
C(23)-N(22)-Cu(1)	126.9(7)	C(52)-C(51)-C(12)	116.8(11)
C(21)-N(22)-Cu(1)	115.1(6)	O(3)-C(52)-C(51)	123.8(9)
N(22)-C(23)-C(24)	122.1(11)	O(3)-C(52)-C(53)	117.8(8)
C(25)-C(24)-C(23)	118.3(12)	C(51)-C(52)-C(53)	118.4(9)
C(24)-C(25)-C(26)	120.3(12)	C(54)-C(53)-C(52)	120.6(9)
C(21)-C(26)-C(25)	118.1(13)	C(54)-C(53)-C(13)	122.4(9)
N(5)-C(30)-C(31)	112.9(8)	C(52)-C(53)-C(13)	116.9(8)
N(32)-C(31)-C(36)	121.3(10)	C(53)-C(54)-C(55)	122.4(10)
N(32)-C(31)-C(30)	114.7(9)	C(54)-C(55)-C(56)	117.0(10)
C(36)-C(31)-C(30)	123.9(11)	C(54)-C(55)-C(57)	121.0(12)
C(33)-N(32)-C(31)	118.4(9)	C(56)-C(55)-C(57)	122.0(12)
C(33)-N(32)-Cu(2)	128.2(7)	C(51)-C(56)-C(55)	122.0(10)
C(31)-N(32)-Cu(2)	113.2(6)	C(63)-O(61)-Cu(1)	132.7(6)
C(34)-C(33)-N(32)	123.7(11)	C(63)-O(62)-Cu(2)	133.5(6)
C(33)-C(34)-C(35)	118.8(12)	O(62)-C(63)-O(61)	126.4(9)
C(34)-C(35)-C(36)	119.7(11)	O(62)-C(63)-C(64)	118.6(10)
C(31)-C(36)-C(35)	118.1(12)	O(61)-C(63)-C(64)	115.0(9)
C(46)-C(41)-C(42)	119.4(9)	N(72)-O(71)-Cu(3)	109.2(8)
C(46)-C(41)-C(6)	123.5(9)	C(73)-N(72)-O(71)	122.1(15)
C(42)-C(41)-C(6)	116.9(9)	N(72)-C(73)-C(75)	124.9(18)
O(1')-Cu(1')-N(22')	151.2(3)	N(72)-C(73)-C(74)	117.0(17)
O(61')-Cu(1')-N(22')	92.8(3)	C(75)-C(73)-C(74)	117.6(17)
O(1')-Cu(1')-N(1')	85.7(3)	O(1')-Cu(1')-O(61')	97.5(2)
O(61')-Cu(1')-N(1')	175.8(3)	C(52')-O(3')-Cu(1')	106.8(5)
N(22')-Cu(1')-N(1')	83.1(3)	Cu(3')-O(3')-Cu(1')	113.2(3)
O(1')-Cu(1')-O(3')	99.8(2)	C(20')-N(1')-C(2')	114.7(7)
O(61')-Cu(1')-O(3')	92.8(3)	C(20')-N(1')-C(13')	110.3(7)
N(22')-Cu(1')-O(3')	106.6(3)	C(2')-N(1')-C(13')	109.7(7)
N(1')-Cu(1')-O(3')	89.2(2)	C(20')-N(1')-Cu(1')	106.1(6)
O(1')-Cu(2')-O(62')	95.7(3)	C(2')-N(1')-Cu(1')	104.4(5)
O(1')-Cu(2')-N(32')	156.4(3)	C(13')-N(1')-Cu(1')	111.4(5)
O(62')-Cu(2')-N(32')	92.4(3)	C(3')-C(2')-N(1')	106.4(6)
O(1')-Cu(2')-N(5')	86.3(3)	O(1')-C(3')-C(2')	105.6(7)
O(62')-Cu(2')-N(5')	173.7(3)	O(1')-C(3')-C(4')	106.7(7)
N(32')-Cu(2')-N(5')	83.6(3)	C(2')-C(3')-C(4')	118.0(6)
O(1')-Cu(2')-O(2')	95.3(2)	N(5')-C(4')-C(3')	105.9(6)
O(62')-Cu(2')-O(2')	96.4(2)	C(30')-N(5')-C(4')	114.1(6)

N(32')-Cu(2')-O(2')	105.8(2)	C(30')-N(5')-C(6')	109.3(7)
N(5')-Cu(2')-O(2')	89.4(2)	C(4')-N(5')-C(6')	110.8(6)
O(2')-Cu(3')-O(3')	92.7(2)	C(30')-N(5')-Cu(2')	106.4(5)
O(2')-Cu(3')-N(8')	91.5(3)	C(4')-N(5')-Cu(2')	103.7(5)
O(3')-Cu(3')-N(8')	175.2(3)	C(6')-N(5')-Cu(2')	112.3(5)
O(2')-Cu(3')-N(11')	168.4(3)	C(41')-C(6')-N(5')	113.6(7)
O(3')-Cu(3')-N(11')	89.7(3)	N(8')-C(7')-C(43')	125.3(12)
N(8')-Cu(3')-N(11')	85.7(3)	C(7')-N(8')-C(9')	125.9(11)
O(2')-Cu(3')-O(71')	94.0(2)	C(7')-N(8')-Cu(3')	122.2(8)
O(3')-Cu(3')-O(71')	95.0(2)	C(9')-N(8')-Cu(3')	107.4(7)
N(8')-Cu(3')-O(71')	87.0(4)	C(10')-C(9')-N(8')	111.0(10)
N(11')-Cu(3')-O(71')	97.1(3)	C(9')-C(10')-N(11')	113.0(9)
C(3')-O(1')-Cu(1')	107.8(5)	C(12')-N(11')-C(10')	112.1(8)
C(3')-O(1')-Cu(2')	109.2(5)	C(12')-N(11')-Cu(3')	114.6(6)
Cu(1')-O(1')-Cu(2')	122.3(2)	C(10')-N(11')-Cu(3')	107.5(6)
C(42')-O(2')-Cu(3')	123.8(5)	N(11')-C(12')-C(51')	113.6(8)
C(42')-O(2')-Cu(2')	103.9(4)	C(53')-C(13')-N(1')	114.2(7)
Cu(3')-O(2')-Cu(2')	124.6(3)	N(1')-C(20')-C(21')	110.4(7)
C(52')-O(3')-Cu(3')	125.2(5)	N(22')-C(21')-C(26')	120.6(10)
C(23')-N(22')-Cu(1')	127.3(7)	N(22')-C(21')-C(20')	115.7(9)
C(21')-N(22')-Cu(1')	113.2(7)	C(26')-C(21')-C(20')	123.5(9)
N(22')-C(23')-C(24')	123.0(10)	C(23')-N(22')-C(21')	119.1(8)
C(23')-C(24')-C(25')	118.7(12)	C(51')-C(52')-C(53')	117.9(9)
C(26')-C(25')-C(24')	119.6(11)	C(54')-C(53')-C(52')	120.8(8)
C(25')-C(26')-C(21')	118.9(10)	C(54')-C(53')-C(13')	121.2(8)
N(5')-C(30')-C(31')	110.0(7)	C(52')-C(53')-C(13')	117.8(8)
N(32')-C(31')-C(36')	121.8(10)	C(53')-C(54')-C(55')	122.1(9)
N(32')-C(31')-C(30')	115.5(8)	C(56')-C(55')-C(54')	116.5(9)
C(36')-C(31')-C(30')	122.6(10)	C(56')-C(55')-C(57')	121.4(10)
C(33')-N(32')-C(31')	119.6(9)	C(54')-C(55')-C(57')	122.0(10)
C(33')-N(32')-Cu(2')	125.6(7)	C(55')-C(56')-C(51')	123.3(9)
C(31')-N(32')-Cu(2')	114.4(7)	C(63')-O(61')-Cu(1')	133.4(6)
N(32')-C(33')-C(34')	121.8(11)	C(63')-O(62')-Cu(2')	132.2(6)
C(35')-C(34')-C(33')	120.0(11)	O(62')-C(63')-O(61')	124.8(8)
C(34')-C(35')-C(36')	118.6(11)	O(62')-C(63')-C(64')	118.7(9)
C(31')-C(36')-C(35')	118.1(11)	O(61')-C(63')-C(64')	116.4(9)
C(46')-C(41')-C(42')	119.7(8)	N(72')-O(71')-Cu(3')	109.4(6)
C(46')-C(41')-C(6')	121.5(8)	O(71')-N(72')-C(73')	125.4(12)
C(42')-C(41')-C(6')	118.8(8)	N(72')-C(73')-C(75')	120.8(11)
O(2')-C(42')-C(43')	123.1(8)	N(72')-C(73')-C(74')	123.8(12)

O(2')-C(42')-C(41')	118.2(7)	C(75')-C(73')-C(74')	115.2(12)
C(43')-C(42')-C(41')	118.7(8)	O(3P)-Cl(1)-O(4P)	114.4(9)
C(44')-C(43')-C(42')	119.8(9)	O(3P)-Cl(1)-O(2P)	110.5(8)
C(44')-C(43')-C(7')	121.7(10)	O(4P)-Cl(1)-O(2P)	111.6(8)
C(42')-C(43')-C(7')	118.4(9)	O(3P)-Cl(1)-O(1P)	107.0(8)
C(43')-C(44')-C(45')	122.5(10)	O(4P)-Cl(1)-O(1P)	106.6(8)
C(46')-C(45')-C(44')	116.7(9)	O(2P)-Cl(1)-O(1P)	106.2(6)
C(46')-C(45')-C(47')	119.3(11)	O(6P)-Cl(2)-O(7P)	110.5(10)
C(44')-C(45')-C(47')	124.0(11)	O(6P)-Cl(2)-O(8P)	109.3(11)
C(41')-C(46')-C(45')	122.5(9)	O(7P)-Cl(2)-O(8P)	104.1(10)
C(52')-C(51')-C(56')	119.2(9)	O(6P)-Cl(2)-O(5P)	114.9(9)
C(52')-C(51')-C(12')	123.4(10)	O(7P)-Cl(2)-O(5P)	111.0(8)
C(56')-C(51')-C(12')	116.8(9)	O(8P)-Cl(2)-O(5P)	106.5(8)
O(3')-C(52')-C(51')	125.5(8)	O(12P)-Cl(3)-O(10P)	112.2(10)
O(3')-C(52')-C(53')	116.5(7)	O(12P)-Cl(3)-O(11P)	121.6(11)
O(11P)-Cl(3)-O(9P)	101.1(8)	O(10P)-Cl(3)-O(11P)	112.5(7)
O(15P)-Cl(4)-O(16P)	113.7(17)	O(12P)-Cl(3)-O(9P)	103.6(11)
O(15P)-Cl(4)-O(14P)	105.6(11)	O(10P)-Cl(3)-O(9P)	102.7(10)
O(16P)-Cl(4)-O(14P)	116.6(12)	O(16P)-Cl(4)-O(13P)	106.6(8)
O(15P)-Cl(4)-O(13P)	104.3(11)	O(14P)-Cl(4)-O(13P)	109.2(9)
