

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Síntese, análise estrutural e aplicação de novos
complexos de manganês, cobalto e cobre como
miméticos do sítio ativo do grupo de enzimas SOD.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CIBELE MENSCH CANABARRO

**SANTA MARIA, RS, BRASIL
2015**

**SÍNTESE, ANÁLISE ESTRUTURAL E APLICAÇÃO DE NOVOS
COMPLEXOS DE MANGANÊS, COBALTO E COBRE COMO
MIMÉTICOS DO SÍTIO ATIVO DO GRUPO DE ENZIMAS SOD.**

Cibele Mensch Canabarro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química,
área de química inorgânica, da Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre
em Química**.

Orientador: Prof. Dr. Gelson N. Manzoni de Oliveira

Santa Maria, RS, Brasil

2015

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Mensch Canabarro, Cibebe

Síntese, análise estrutural e aplicação de novos complexos de manganês, cobalto e cobre como miméticos do sítio ativo do grupo de enzimas SOD. / Cibebe Mensch Canabarro.-2015.

106 p.; 30cm

Orientadora: Gelson Manzoni de Oliveira

Coorientadora: Ernesto Schulz Lang

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, RS, 2015

1. Superóxido dismutase 2. Base de Schiff 3. Complexos de cobre 4. Complexos de cobalto 5. Complexos de Manganês I. Manzoni de Oliveira, Gelson II. Schulz Lang, Ernesto III. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a dissertação.

Síntese, análise estrutural e aplicação de novos complexos de manganês, cobalto e cobre como miméticos do sítio ativo do grupo de enzimas SOD.


Elaborada por:
Cibele Mensch Canabarro

Como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em química.

Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Gelson N. Manzoni de Oliveira UFSM


Prof. Dr. Davi Fernando Back UFSM


Prof. Dr. Patrick Teixeira Campos IFFarroupilha -JC

Santa Maria, 23 de março de 2015.

A Rose, Ana e Régis que, com muito amor, apoio e incentivo não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

Aos meus amigos que, com muito carinho e paciência conseguiram me trazer paz na correria de cada semestre.

Agradecimentos:

Primeiramente a Deus pela vida e livre arbítrio.

Minha mãe, heroína, por todo o apoio, força e incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Obrigada pela capacidade de sempre acreditar em mim, e me ensinar o significado de amor, altruísmo e união todos os dias.

Ao meu pai que apesar de todas as dificuldades, se reinventou e prosperou do seu modo único, nossa convivência me fortaleceu.

A minha irmã Ana, por me aguentar, sempre disposta a conversar sobre os temas mais abstratos e iluminar de forma especial meus pensamentos.

Aos meus amigos, de perto ou de longe, pois com vocês a vida entre um parágrafo e outro de produção é muito melhor.

Ao Prof. Dr. Gelson Manzoni de Oliveira, por acreditar em mim e pela orientação.

Ao Prof. Dr. Davi Fernando Back, com quem partilhei esse trabalho. Nossas conversas sobre o estudo, assim como seu auxílio foram fundamentais.

A Joice, por ser não apenas uma colega disposta a ajudar, mas uma amiga o que tornou os longos dias no laboratório mais leve.

A Maria e Rosangela por proporcionar este ambiente mágico, carregado de bons sentimentos, e de amigos.

Aos demais colegas de laboratório Daiane, Roberta, Ricardo, Mateus, Patrícia, Lininquer, Josi, Darcson, que pela disponibilidade, apoio e amizade.

Aos funcionários da pós graduação em química, Ademir e Valéria.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

Quando você está estudando um assunto, ou considerando alguma filosofia, pergunte a si mesmo, somente. Quais são os fatos? E qual é a verdade que os fatos revelam? Nunca se deixe divergir pelo que você gostaria de acreditar ou pelo que você acha que traria benefícios às crenças sociais se fosse acreditado. Olhe apenas e somente para quais são os fatos. Esse foi o conselho intelectual que eu gostaria de dar. O conselho moral que eu gostaria de dar é muito simples. Eu diria: o amor é sábio, o ódio é tolo. Neste mundo que está ficando mais interconectado, nós temos que aprender a tolerar uns aos outros.

RESUMO

Dissertação de Mestrado em Química Inorgânica

Programa de Pós-Graduação em Química

Universidade Federal de Santa Maria

Síntese, análise estrutural e aplicação de novos complexos de manganês, cobalto e cobre como miméticos do sítio ativo do grupo de enzimas SOD.

Autora: Cibele Mensch Canabarro

Orientador: Prof. Dr. Gelson Manzoni de Oliveira

Santa Maria, 16 de Novembro de 2014

Este trabalho apresenta o estudo relacionado à síntese, análise estrutural e atividade antioxidante de complexos de manganês, cobalto e cobre com ligantes do tipo bases de Schiff, derivados da tris(hidroximetil)aminometano (TRIZMA®). Utilizaram-se como reagentes a TRIZMA®, o derivado do salicilaldeído *o*-vanilina, o aldeído 2-pirrolcarboxaldeído, o aldeído 2-piridinacarboxialdeído e os sais cloreto de cobalto, cloreto de manganês e perclorato de cobre para a síntese dos complexos. Todos os complexos formados tiveram a sua atividade superóxido dismutase (SOD) testada in vitro.

Os compostos sintetizados foram: **(1)** bis- μ_3 -2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno) amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol-mono-manganês, **(2)** bis- μ_4 - 2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol-bis-cobalto, **(3)** tetra- μ_3 -2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol-tetra-cobre, **(4)** μ_3 -(4,4-oxazolidina-dimetanol-2-(2-piridina))- μ_2 -(2-

piridina-2-ácido-carboxílico)-perclorato de cobre, **(5)** tetra- μ_3 -((1,3-propanodiol-2-amino-2-(hidroximetil)-2-(pirrol-2)-tetra-cobre.

Nesses compostos foram realizados estudos estruturais no estado sólido, utilizando a difração de raios X em monocristal. Para os testes de atividade SOD dos complexos foram utilizados o método de NBT. Além disso, todos os compostos foram caracterizados por análise elementar e espectroscopia no infravermelho.

ABSTRACT

Master Degree Dissertation in Chemistry

Graduate Program in Chemistry

Federal University of Santa Maria

Synthesis, structural analysis and application of new complexes of manganese, cobalt and copper as mimetics of the active site of the SOD group.

Author: Cibele Mensch Canabarro

Supervisor: Prof. Dr. Gelson Manzoni de Oliveira

Santa Maria, November 16th 2014.

This work presents a study related to the synthesis, structural analysis and antioxidant activity of manganese, cobalt and copper complex whit ligands of Schiff bases type, derivate from tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIZMA®). Was used like starting material TRIZMA®, the derivative of salicyl aldehyde *o*-vanilin, the aldehyde 2-pyrrolcarboxaldehyde, the aldehyde 2-pyridinecarboxaldehyde and cobalt chloride salts, manganese chloride and copper perchlorate, for the complexes synthesis. All the complexes formed have had their superoxide dismutase (SOD) tested in vitro.

The synthesized compounds was: **(1)** bis- μ_3 -2-(((2-hydroxi-3-methoxyphenil)methylene)amino)-2-(hidroxymethyl)-1,3-propanediol mono-manganese, **(2)** bis- μ_4 -2-(((2-hydroxi-3-metoxiphenil)methylene)amino)-2-(hydroximethyl)-1,3-propanediol-bis-cobalt, **(3)** tetra- μ_3 -2-(((2-hydroxi-3-metoxiphenil)metilene)amino)-2-

(hydroxymethyl)-1,3-propanediol-tetra-copper, **(4)** μ_3 -(4,4-oxazolidyn-dimethanol-2-(2-pyridin))- μ_2 (2-pyridin-2-carboxylic acid)-copper perchlorate, **(5)** tetra- μ_3 ((1,3-propanediol-2-amino-2-(hydroxymethyl)-2-(pyrrole-2))-tetra-copper.

Was made a structural study of these compounds in solid state, was use X-ray diffraction in monocristal. For the SOD activity test of this complex was used the NBT method. In addition of, all the compounds was characterized through elemental analyses and infrared spectroscopy.

Sumário

Lista de Figuras	XIV
Lista de Tabelas	XVII
Lista de Siglas e Abreviaturas	XVIII
Capítulo 1. Introdução	2
Capítulo 2. Objetivos	6
2.1. Geral.....	7
2.2. Específicos.....	7
Capítulo 3. Revisão da Literatura	9
3.1. Superóxido Dismutase (SOD) e Espécies Reativas de Oxigênio (EROs).....	10
3.2 Trishidróximetilamino (TRIZMA®).....	17
Capítulo 4. Parte Experimental	22
4.1. Aspectos Gerais.....	23
4.2. Materiais e Métodos.....	23
4.2.1. Análise Elementar.....	23
4.2.2. Ponto de Fusão.....	24
4.2.3. Espectrometria no Infravermelho.....	24
4.2.4. Espectroscopia Eletrônica UV/Visível.....	24
4.2.5. Difração de Raios X.....	25
4.3. Procedimentos Experimentais.....	26
4.3.1. Síntese do ligante derivado da <i>o</i> -vanilina, 2 - (((2-hidroxi-3- metoxifenil)metileno)amino) -2 (hidroximetil) -1,3-propanodiol (L1).....	26
4.3.2. Síntese do bis- μ -3-2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil) metileno)amino)-2 (hidroximetil) -1,3-propanodiol manganês - Composto 1	27

4.3.3. Síntese do <i>bis</i> - μ_3 - 2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil) metileno) amino) -2 (hidroximetil) -1,3-propanodiol <i>bis</i> -cobalto – Composto 2	28
4.3.4. Síntese do <i>tetra</i> -hidro- μ_3 -2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil) metileno) amino) -2 (hidroximetil) -1,3-propanodiol <i>tetra</i> -cobre. Composto 3	29
4.3.5. Síntese do μ_3 (4,4-oxazolidinodimetanol-2-(2-piridina)) μ_2 (2-Piridinacidocarboxílico) perclorato de cobre. Composto 4	30
4.3.6. Síntese do <i>tetra</i> - μ_3 ((1,3-propanodiol-2-amino-2-(hidroximetil)-2-(pirrol-2)) <i>tetra</i> -cobre. Composto 5	31
4.4. Teste para avaliar a atividade superóxido dismutase dos complexos de 3-5	32
Capítulo 5. Apresentação e discussão dos resultados	35
5.1 Apresentação e Discussão dos Compostos 1-5	36
5.1.1 Composto 1 <i>bis</i> - μ_3 - 2 - (((2-hydroxi-3-metoxifenil) metileno) amino) -2 (hidroximetil) -1,3-propanediol mono-manganês.....	36
5.1.2. Composto 2 <i>bis</i> - μ_4 - 2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol <i>bis</i> -cobalto.....	41
5.1.3 Composto 3 <i>tetra</i> - μ_3 -2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol <i>tetra</i> -cobre.....	46
5.1.4. Composto 4 μ_3 -(4,4-oxazolidin-dimetanol-2-(2-pyridina)) μ_2 (2-Pyridina-2-ácidocarboxílico) perclorato de cobre.....	51
5.1.5. Composto 5 <i>tetra</i> - μ_3 ((1,3-Propanediol, 2-amino-2-(hidroximetil)-2-(pirrole-2)) <i>tetra</i> -copper.....	56
5.2- Análise da atividade SOD dos compostos 3, 4 e 5	60
5.2.1. Atividade SOD do composto 3	61
5.2.2. Atividade SOD do composto 4	62

5.2.3. Atividade SOD do composto 5.....	63
Capítulo 6. Conclusões e Perspectivas.....	67
Capítulo 7. Referências.....	70
Anexos.....	79

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura sítio ativo da Superóxido dismutase.	12
Figura 2. Esquema do mecanismo do sítio ativo da SOD.	13
Figura 3. Representação dos complexos sintetizados por Müller e colaboradores. aquo-[N,N-bis(2-(6-metil-pyridil) metileno)-1,4-butanodiamina]-(N,N',N'',N''')-cobre(II)perclorato (a) e <i>bis</i> -aquo-[N,N'-bis(2-(6-metil-pyridil) metileno) -1,4-butanodiamina]-(N,N',N'',N''')- <i>bis</i> -cobre(I) (b) .	14
Figura 4. Esquema de síntese dos ligantes mistos feita por Potapov e colaboradores.	15
Figura 5. Projeção da estrutura de cristalográfica de um dos complexos desenvolvidos por Potapov e colaboradores.	15
Figura 6. Projeção da estrutura cristalográfica de um dos tetrâmeros sintetizados por Dey e colaboradores.	19
Figura 7. Projeção da estrutura cristalográfica do composto, desenvolvido por Mukherjee e colaboradores.	20
Figura 8. Projeção da estrutura cristalográfica do composto, desenvolvido por Catherine e colaboradores.	21
Figura 9. Esquema Reacional para obtenção do ligante L1 .	26
Figura 10. Esquema Reacional para obtenção do composto 1 .	27
Figura 11. Esquema Reacional para obtenção do composto 2 .	28
Figura 12. Esquema Reacional para obtenção do composto 3 .	29
Figura 13. Esquema reacional para obtenção do Complexo 4 .	30
Figura 14. Esquema Reacional para obtenção do composto 5 .	31
Figura 15. Ensaio com NBT para testar atividade SOD.	34

Figura 16. Representação da estrutura cristalina do composto 1. Elipsóide: 50%.	37
Figura 17. Representação dos ângulos diedros do composto 1.	38
Figura 18. Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária tetragonal vinculada ao grupo espacial P41212. Fonte: International Tables for Crystallography. (a) e representação da projeção do conteúdo da cela unitária tetragonal do composto 1 na direção cristalográfica b. (b)	40
Figura 19. Representação da estrutura cristalina do composto 2. Elipsóide 50%. Para maior clareza, foram omitidas as moléculas de solvatos e átomos de hidrogênio.	42
Figura 20. Representação dos ângulos diedros Co1, no composto 2.	43
Figura 21. Representação dos ângulos diedros Co2, no composto 2.	43
Figura 22. Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária monoclinica vinculada ao grupo espacial Cc. Fonte: <i>International Tables for Crystallography</i> . (a) e representação da projeção do conteúdo da cela unitária monoclinica do composto 2 na direção cristalográfica a (b)	46
Figura 23. Representação da estrutura cristalina do composto 3. Elipsóide 50%.	47
Figura 24 Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária monoclinica vinculada ao grupo espacial I41/a. Fonte: <i>International Tables for Crystallography</i> . (a) e representação da projeção do conteúdo da cela unitária monoclinica do composto 3 na direção cristalográfica c (b)	51
Figura 25. Representação da estrutura cristalina do composto 4. Elipsóide 50%.	52

Figura 26. Ângulos diedros composto 4 .	54
Figura 27. Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária monoclinica vinculada ao grupo espacial P21/c. Fonte: <i>International Tables for Crystallography</i> . (a) e representação da projeção do conteúdo da cela unitária monoclinica do composto 4 na direção cristalográfica b (b)	56
Figura 28. Representação da estrutura cristalográfica do composto 5 . Elipsóide 50%.	57
Figura 29. Projeção Ângulos Diedros Complexo 5 .	58
Figura 30 Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária monoclinica vinculada ao grupo espacial Cc. Fonte: <i>International Tables for Crystallography</i> . (a) e representação da projeção do conteúdo da cela unitária monoclinica do composto 5 na direção cristalográfica a (b)	60
Figura 31. Gráfico mostrando o percentual de inibição do NBT versus a concentração do composto 4 e seu respectivo IC ₅₀ .	62
Figura 32. Gráfico mostrando o percentual de inibição do NBT versus a concentração do composto 4 e seu respectivo IC ₅₀ .	63
Figura 33. Gráfico mostrando o percentual de inibição do NBT versus a concentração do composto 5 e seu respectivo IC ₅₀ .	64

Lista de Tabelas

Tabela 1. Efeito mimético à SOD dos compostos de Cu(II), sintetizados por Potapov e colaboradores, em sistema de metossulfato de fenazina (MSF)/NADH.	16
Tabela 2. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 1 . Desvios padrão entre parênteses.	39
Tabela 3. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 2 . Desvios padrão entre parênteses.	44
Tabela 4. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 3 . Desvios padrão entre parênteses.	49
Tabela 5. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 3 . Desvios padrão entre parênteses.	55
Tabela 6. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo 5 . Desvios padrão entre parênteses.	59
Tabela 7. Valores de IC50 e das constantes cinéticas para os complexos 3-5	65
Tabela 8. Dados da análise de UV/Vis para os complexos de 1-5 .	65

Lista de Siglas e Abreviaturas

SOD - superóxido dismutase

EROs – espécies reativas de oxigênio

ELA - esclerose lateral amniótica

NBT – cloreto de nitro-azul tetrazolium

TRIZMA® – TRIZMA®(hidróximetil)aminometano

Et₃N – trietilamina

DMF – dimetilformamida

EtOH – etanol

MeOH - metanol

His – histidina

Arg - arginina

IV – espectroscopia no infravermelho

UV-Vis – espectroscopia no ultravioleta-visível

IC₅₀ - Inibição de 50 % do indicador

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As superóxido dismutases formam grupos de metaloenzimas que catalisam a dismutação do íon superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2). Fazem parte deste grupo de enzimas a Zn-Cu-SOD, ou SOD-1, a Fe-SOD, a Mn-SOD e a Ni-SOD.^{1,2} Este grupo de enzima proporciona uma das primeiras defesas do organismo contra o excesso, potencialmente tóxico, do íon superóxido.

Segundo Turrens e colaboradores³ o íon superóxido é um íon radicalar que apresenta um elétron não emparelhado, característica responsável por sua atividade oxidante. Por tal atividade é considerado, uma Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). EROs é uma expressão usada para descrever uma variedade de moléculas e radicais livres (espécies químicas com um elétron não emparelhado) derivados do oxigênio.⁴

EROs são subprodutos do metabolismo celular, no entanto, o excesso de EROs no organismo provoca o estresse oxidativo, situação a qual é apontada como potencial contribuição para a manifestação de diversas doenças, tais como Alzheimer,⁵ ELA (Esclerose Lateral Amniótica),^{6,7} além de alguns tipos de câncer.⁸

Na clínica humana, numerosos recursos farmacológicos são utilizados com a finalidade de diminuir as concentrações de EROs no organismo. Um desses recursos é a utilização das próprias metaloenzimas SOD naturais, responsáveis pela defesa das EROs, no organismo. Contudo a utilização do grupo de enzimas, não é considerado muito favorável para as condições clínicas, pois esta metaloenzima apresenta um custo alto, baixa penetração nas células devido à sua baixa lipossolubilidade e labilidade quanto às proteases gástricas e intestinais. Com o objetivo de contornar estas dificuldades, uma estratégia é a utilização de complexos

sintéticos, miméticos do sítio ativo da metaloenzima SOD. Estes miméticos dos sítios ativos da SOD podem ser produzidos com baixo custo e alto rendimento.

Desta forma, complexos miméticos dos centros ativos do grupo de enzimas SOD apresentam um grande potencial para o desenvolvimento de medicamentos. Isto justifica o grande número de pesquisas envolvendo a síntese de mimético do centro ativo da enzima SOD.¹¹⁻¹³

Um reagente muito utilizado como ligante para a produção de complexos com atividade biológica, como atividade mimética ao centro ativo da enzima SOD é a Tris(hidróximetil)aminometano (TRIZMA®), ligante polidentado que apresenta uma função amina primária ligada a um carbono terciário coordenado a três etanóis. Este reagente vêm sendo vastamente estudado como ligante para complexar com diversos metais^{14,15} e os resultados produzidos são estruturalmente interessantes devido aos diferentes arranjos espaciais dos complexos formados. A TRIZMA® é um ligante polidentado e essa característica favorece a formação de clusters metálicos, por isso diversos estudos envolvendo a utilização da TRIZMA® para a síntese de cluster metálicos são encontrados na literatura.^{16,17}

Levando em consideração que a flexibilidade estrutural do ligante pode facilitar a complexação com diferentes metais, além da possibilidade de formação de complexos polinucleares, que podem apresentar uma maior atividade biológica do que seus respectivos monômeros, as características apresentadas anteriormente demonstram que o reagente TRIZMA® é um bom precursor para a formação de complexos com atividade biológica.

A utilização de derivados de salicilaldeído para a síntese de ligantes do tipo bases de Schiff tem sido vastamente estudada, principalmente para a aplicação como antioxidante.¹⁸⁻²⁰ Segundo Tai e colaboradores²¹ e Nesterova e

colaboradores²² derivados de salicilaldeídos, por si só, apresentam atividade antioxidante

Outros compostos que apresentam atividade antioxidante são os complexos com ligantes que contém heterocíclicos nitrogenados. Tsorsoros e colaboradores²³ reportaram que complexos de paládio, platina e ouro com ligantes de heterocícos aromáticos nitrogenados também apresentam atividade biológica, e vêm chamando muita atenção devido a essa atividade.

Visando a síntese de complexos com ligantes do tipo Bases de Schiff que apresentam atividade antioxidante, foram escolhidos como materiais de partida para a formação dos mesmos a o-vanilina, 2-piridinacarboxaldeído e 2-pirrolcarboxialdeído.

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Este trabalho está concentrado na síntese de ligantes envolvendo a condensação do TRIZMA® com diferentes aldeídos aromáticos. Tendo por objetivos gerais sintetizar ligantes a partir da condensação de aminas com aldeídos, e posteriormente complexar esses ligantes com os metais cobre, cobalto e manganês. Caracterizar os complexos formados principalmente por difração de raios X de monocristal e avaliar suas atividades miméticas ao sítio ativo da SOD.

2.2 Específicos

I – Sintetizar e caracterizar ligantes derivados da TRIZMA® com os seguintes aldeídos: *o*-vanilina, 2-pirrolcarboxaldeído e 2-piridinacarboxaldeído

II – Complexar os diferentes centros metálicos Cu, Mn e Co com os ligantes orgânicos derivados do TRIZMA®.

III – Caracterizar estruturalmente os complexos obtidos por difração de raios X de monocristal.

IV – Caracterizar os complexos obtidos por metodologias complementares como: infravermelho, ultravioleta-visível e análise elementar.

V – Avaliar a atividade antioxidante dos complexos sintetizados para serem empregados como miméticos ao sítio ativo da SOD.

CAPÍTULO 3. REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Superóxido Dismutase (SOD) e Espécies Reativas de Oxigênio (EROs).

No início do século XX cientistas investigaram a velocidade do metabolismo dos animais e relacionaram com a sua longevidade, quanto mais acelerado seu metabolismo menor era a sua longevidade. Esta observação levou à “*Teoria da Velocidade de Vida*”, teoria pela qual defendia que a longevidade é inversamente proporcional à velocidade metabólica.²⁴

Por cinquenta anos a conexão entre o envelhecimento e o metabolismo foi desconhecido, entretanto, no início da década de 1950 Harman D., articulou a “*Teoria do Radical Livre*”, compreende-se que radicais livres são espécies radicalares livres no organismo, podendo assim ser classificadas como EROs. Logo esta teoria especula que oxigênio radical é gerado dentro das células e resulta em um padrão de dano cumulativo, e conseqüente envelhecimento.^{25,26}

O organismo humano funciona através de um metabolismo energético aeróbico, em todos os tipos de célula. Tendo como subproduto inevitável o superóxido. Este subproduto é bastante conhecido como parte do grupo das EROs. O excesso de EROs no organismo é potencialmente tóxico à saúde e é conhecido como Estresse Oxidativo, seus efeitos são extensivamente estudados.²⁷⁻³¹

Em 1969 McCord e Fridovich³² purificaram a metaloenzima superóxido dismutase por um simples procedimento de eritrócitos bovinos. Em seu artigo foi publicado que a SOD apresenta dois equivalentes de cobre por mol de enzima, e o cobre pode ser reversivelmente removido o que é requerido para a atividade da

SOD. Neste estudo McCord e Fridovich³² realizaram um ensaio para testar a atividade superóxido dismutase *in vitro*. O ensaio consistiu na geração de uma solução estável com radicais superóxidos por redução eletrônica de oxigênio molecular com o solvente aprótico dimetilformamida. A infusão lenta de tal solução em um meio de tampão aquoso permitiu a demonstração que o radical superóxido pode reduzir ferrocitocromo c e tetranitrometano, e que a superóxido dismutase por competir pelo radical superóxido pode impedir essa reação de forma muito efetiva. Este ensaio em diversos tecidos indicou que a SOD é vastamente distribuída no organismo de mamíferos.

Hoje é conhecido que SOD são grupos de enzimas.³⁷ Fazem parte destes grupos de enzimas a Zn-Cu-SOD ou SOD-1 que é encontrada em citoplasmas de eucariontes, a Fe-SOD que é característica de bactérias ou plantas, a Mn-SOD presente nas mitocôndrias de algumas bactérias e a Ni-SOD que é mais rara.³⁷

A metaloenzima SOD-1 é relativamente pequena, e apresenta uma cavidade de aproximadamente 2 x 16 kDa, o sítio ativo da enzima SOD-1 é estruturalmente bem caracterizada. Segundo Fu e colaboradores³³ cada subunidade contém um átomo de cobre e um átomo de zinco ligados por uma ponte formada por um anel imidazólico desprotonado. Ao centro metálico de cobre estão ligados três resíduos de aminoácidos, histidinas, além de uma molécula de água fracamente coordenada. E ao centro metálico de zinco estão ligados dois resíduos de aminoácidos, histidinas, e um resíduo de aminoácido, aspartato.

Comparado com um tetraedro regular, a estrutura da enzima SOD-1 é mais severamente distorcida no centro de cobre do que no centro do zinco, possibilitando a criação de um sítio extra de coordenação com o cobre para o íon superóxido, o que pode ser temporariamente ocupado por uma molécula de água lábil, ou pelo íon

superóxido³³. A **Figura 1**, apresenta uma representação do sítio ativo da enzima SOD-1.

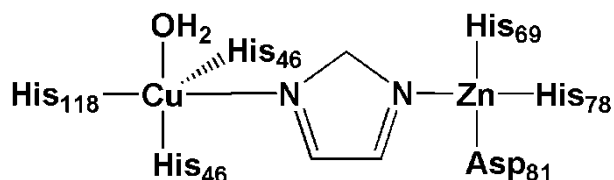


Figura 1. Estrutura sítio ativo da Superóxido dismutase.

Inúmeros estudos foram feitos para elucidar o mecanismo da SOD,³⁴⁻³⁶ o mecanismo detalhado da reação de dismutação do íon superóxido, ainda está sendo estudada, mas a parte essencial é a oxirredução do centro metálico de Cu para oxidar o íon superóxido. De acordo com Kaim e Schwederski³⁷ o $O_2^{\cdot-}$ é oxidado à O_2 pelo centro de Cu(II). Segundo Shepard e colaboradores³⁸ o Cu(II) é reduzido a Cu(I) por receber um elétron do íon superóxido, portanto para a liberação da molécula de O_2 é necessária a capacidade de redução do metal central. A espécie de Cu (I) agora reduzida pode então ser substituída no anel imidazólico por um próton. Em seguida, o centro metálico de Cu (I), que ainda está ancorado na proteína pode ser oxidado por ligações de hidrogênio com o íon superóxido. O hidroperóxido formado é então protonado pelo anel imidazólico e transformado em superóxido.

A representação do mecanismo mais aceito para SOD-1 está demonstrada no esquema abaixo:

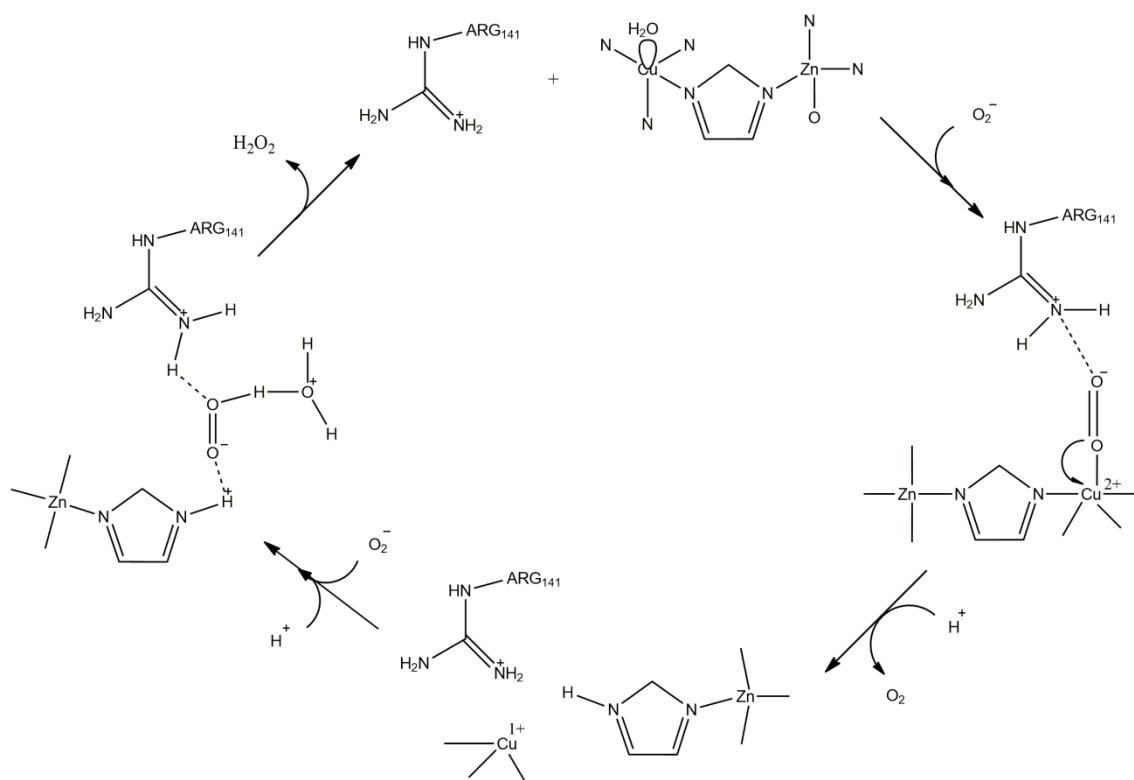


Figura 2. Esquema do mecanismo do sítio ativo da SOD.

Desde que foi reportado o primeiro estudo envolvendo as propriedades medicinais de complexos miméticos dos sítios ativos da SOD por John e colaboradores^{39,40} o interesse em sintetizar novos complexos com atividade SOD vêm crescendo ao longo dos anos.⁴¹ Apesar das propostas para usos clínicos da enzima SOD, esta enzima tem muitas limitações farmacológicas, entre eles um custo alto, baixa penetração nas células devido a sua baixa lipossolubilidade, e labilidade quanto às proteases gástricas e intestinais.⁴²

Müller e colaboradores,⁴³ sintetizaram os complexos aquo-[N,N'-bis(2-(6-metil-piridil)metileno)-1,4-butanodiamina]-(N,N',N'',N''')-cobre(II) perclorato, e bis-aquo-[N,N'-bis(2-(6-metil-piridil)metileno)-1,4-butanodiamina]-(N,N',N'',N''')-bis-cobre(I). As estruturas dos complexos foram caracterizadas por raios X em monocristal, e a atividade SOD foi medida e comparada com a enzima nativa.

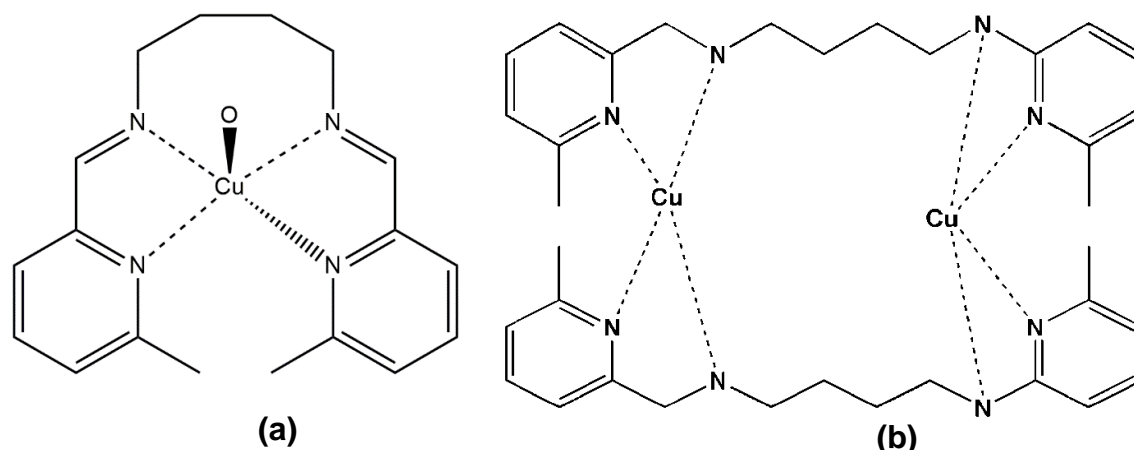


Figura 3. Representação dos complexos sintetizados por Müller e colaboradores. aquo-[N,N-bis(2-(6-metil-piridil)metileno)-1,4-butanodiamina]-(N,N',N'',N''')-perclorato de cobre(II) **(a)** e *bis*-aquo-[N,N'-bis(2-(6-metil-piridil)metileno)-1,4-butanodiamina]-(N,N',N'',N''')-*bis*-cobre(I) **(b)** Para melhor visualização foram omitidos os átomos de H e o íon perclorato.

O centro de Cobre (II) apresenta uma geometria bipiramidal distorcida. Os ligantes axiais são um nitrogênio da piridina e um nitrogênio da imina, do ligante. Enquanto que os ligantes equatoriais são o outro par nitrogênio da piridina e nitrogênio da imina do ligante. As distâncias de ligação entre o cobre e os nitrogênios imínicos Cu-N 1.982(4) Å e Cu-N 1.981(5) Å são menores do que as distâncias dos nitrogênios das piridinas, Cu-N 2.214(5) Å e Cu-N 2.038(4) Å. A disposição do ligante ao redor do centro de cobre permitiu uma quinta coordenação com uma molécula de água, representada na figura **Figura 3** pelo O coordenado ao cobre.

O complexo de Cu(I) é um dímero, e apresenta uma geometria tetraédrica distorcida em cada centro metálico. Quatro átomos de nitrogênio são ligados em cada um dos centros metálicos, eles são originados dos grupamentos de iminas e piridinas de cada um dos dois ligantes. Os átomos de cobre não apresentam nenhum tipo de interação. Ambos os complexos apresentam a mesma atividade mimética a enzima SOD. Potapov e colaboradores⁴¹ sintetizaram 11 novos

complexos de Cu(II) com *bis*(pirazol-1-il)propano e *bis*[2-pirazol-1-il]éter, com o objetivo de estudar a influência que a esfera de coordenação do metal exerce na atividade SOD.

Após a obtenção dos complexos os mesmos reagiram com 2,2-bipiridil, e esta reação promoveu a formação de complexos com ligantes mistos. A **Figura 4** ~~Erro!~~ **Fonte de referência não encontrada.** apresenta um esquema da síntese realizada por Potapov e colaboradores.

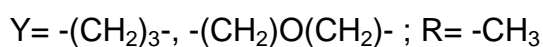
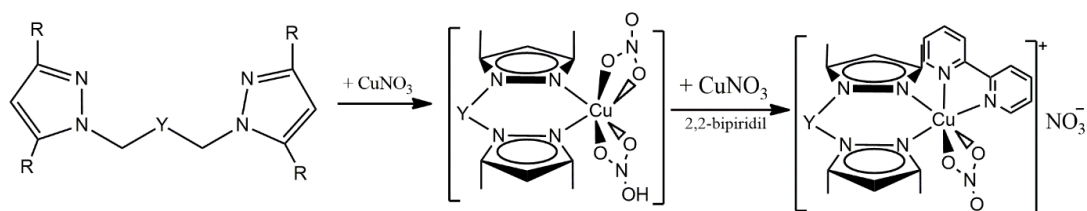


Figura 4. Esquema de síntese dos ligantes mistos feita por Potapov e colaboradores.

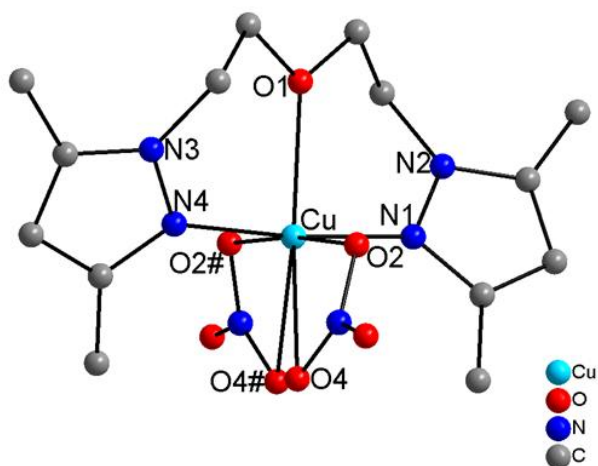


Figura 5. Projeção da estrutura de cristalográfica de um dos complexos desenvolvidos por Potapov e colaboradores. Para maior clareza, os hidrogênios foram omitidos.

A análise de raios X de monocristal **Figura 5** revelou uma estrutura hepta-coordenada, onde o ligante se liga ao átomo central de uma forma tridentada através

dos átomos de nitrogênios e oxigênio. As reações dos complexos de nitrato de Cu(II) com o ligante 2,2'-bipiridil leva ao deslocamento de um íon nitrato para fora da esfera de coordenação e a formação de complexos com ligantes mistos.

Todos os complexos sintetizados tiveram sua atividade SOD testada, e foi observado que complexos de Cu (II) com ligantes mistos de bipiridil apresentaram a maior atividade SOD. Estes complexos de ligantes bipiridil também apresentaram atividade de aprisionar EROs gerados por células *ex vivo* (segundo os autores *ex vivo* se referem às células retiradas de animais vivos, em que foram feitos os testes).

N°	Fórmula do Composto	IC50 (mM)
1	[Cu(L1)(O ₂ NO) ₂]	55,8 ±20,8
2	[Cu(L2)(O ₂ NO) ₂]	73,2 ±18,1
3	[Cu(L3)(O ₂ NO) ₂]	24,7 ±2,7
4	[Cu(L4)(O ₂ NO) ₂]	Não apresentou atividade
5	[Cu(L3)Cl ₂]	26,0 ±12,9
6	[Cu(L4)Cl ₂]	Não apresentou atividade
7	[Cu ₂ (μ-L5)(ONO ₂) ₂](NO ₃) ₂	26,1 ±6,2
8	[Cu ₂ (μ-L5)Cl ₄]	13,4 ±5,3
9	[Cu(L2)(bipy)(O ₂ NO)]NO ₃	1,3 ±0,5
10	[Cu(L3)(bipy)(O ₂ NO)]NO ₃	0,8 ±0,2
11	[Cu(L4)(bipy)(O ₂ NO)]NO ₃	0,9 ±0,5

Tabela 1. Efeito mimético à SOD dos compostos de Cu(II), sintetizados por Potapov. e colaboradores, em sistema de metassulfato de fenazina (MSF)/NADH. Onde o 1,3-Bis(pirazol-1-il)propano é o (L1), o 1,3-Bis (3,5-dimetilpirazol-1-il) propano é o (L2), o Bis[2-(pirazol-1-il)etil]éter é o

(L3), o Bis[2-(3,5-dimetilpirazol-1-il)etil]éter é o (L4) e o 1,4-bis[bis(3,5-dimetilpirazol-1-il)metil]benzeno é o (L5).

Segundo Potapov e colaboradores, complexos com ligantes mistos de bipyridil representam uma classe promissora para desenvolvimento de miméticos da SOD.

3.2. Tris(hidróximetil)aminometano (TRIZMA®)

Na química inorgânica o conhecimento das afinidades eletrônicas e o tamanho dos íons metálicos, assim como, as propriedades dos materiais de partida para a síntese de ligantes, ajudam no planejamento do complexo. A elaboração do complexo inicia pela exploração das propriedades efetivas dos ligantes, como por exemplo, a exploração da capacidade de promover ligações em ponte para a formação de complexos polinucleares. A TRIZMA® é especialmente interessante para a síntese inorgânica devido a sua flexibilidade estrutural e por apresentar mais de um sítio de coordenação. Desta forma é um bom precursor para reações de complexação, pois possibilita ligações em ponte com seus oxigênios alcoólicos desprotonados estabilizando desta forma complexos polinucleares.⁴⁴⁻⁴⁷ Alguns dos estudos envolvendo a condensação da TRIZMA® com diferentes salicilaldeídos são muito semelhantes aos compostos desenvolvidos nestes trabalhos e são reportados a seguir mais detalhadamente.

Dey e colaboradores⁴⁸ sintetizaram tetrâmeros de Cu(II), com ligantes bases de Schiff. Os centros metálicos dos clusters sintetizados apresentaram estruturas lineares, estruturas semelhantes a cubanos e estruturas semelhantes à pseudo-cubanos.

Segundo Gungor e colaboradores^{49,80} complexos do tipo cubanos são complexos tetranucleares que apresentam em sua estrutura distâncias e ângulos definidos entre os centros metálicos, apresentando uma simetria entre os átomos centrais semelhante a um cubo. Duas classificações de tetrâmeros de cobre (Cu_4O_4) tipo cubanos foram feitas de acordo com suas características estruturais. Cronologicamente, a primeira foi feita por Mergehenn e colaboradores,⁵⁰ que classificaram esses compostos de dois tipos (cubanos tipo I e cubanos tipo II), dependendo da distância da ligação entre o Cu-O. Desta forma complexos com quatro ligações Cu-O mais compridas do que as outras duas são classificados como cubanos tipo I. E complexos com duas ligações mais longas do que as outras duas são considerados cubanos tipo II. Esta classificação que foi utilizada neste trabalho, para classificar o composto **3**, como cubano.

A segunda classificação, para tetrâmeros do tipo cubanos, foi proposta por Alvarez e colaboradores,⁵¹ e utiliza as distâncias Cu-Cu dentro da unidade do cubano para classificar os complexos Cu_4O_4 , em três tipos: Tipo I: quatro distâncias Cu-Cu mais longas e duas distâncias Cu-Cu mais curtas, o qual é equivalente ao tipo I de Mergehenn e colaboradores. Tipo II: quatro distâncias Cu-Cu mais curtas e quatro ligações Cu-Cu mais longas, equivalente ao tipo II de Mergehenn e colaboradores. E Tipo III: que contém seis ligações Cu-Cu semelhantes.

No estudo de Dey e colaboradores⁴⁷ foram sintetizados os respectivos monômeros de cobre, e posteriormente foi adicionando mais um equivalente do ligante e um equivalente do sal do metal, desta forma ocorreu à formação do complexo tetranuclear. A **Figura 6** apresenta a projeção de um dos tetrâmeros sintetizados por Dey e colaboradores.

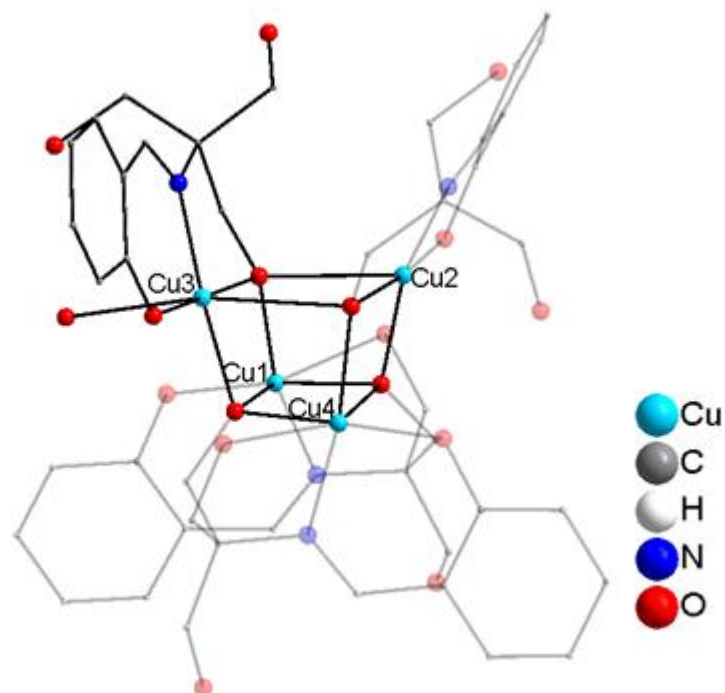


Figura 6. Projeção da estrutura cristalográfica de um dos tetrâmeros sintetizados por Dey e colaboradores. Para maior clareza, os átomos de hidrogênio foram omitidos.

Dey e Mukherjee⁵² sintetizaram compostos dinucleares de cobalto(II)/(III), utilizando um ligante base de Schiff, sintetizado a partir da condensação do respectivo salicilaldeído e a TRIZMA®. Um dos compostos sintetizados é $[(\text{Co}^{\text{III}})_2(\text{H}_4\text{L})_2(\text{OAc})_2]\text{CH}_3\text{OH}$ (**a**) e está representado na **Figura 7**. O mesmo ligante possibilitou a formação de mais de um complexo diferente com o mesmo metal, pois apresenta a flexibilidade de coordenar em várias formas aniônicas, devido à presença da TRIZMA®.

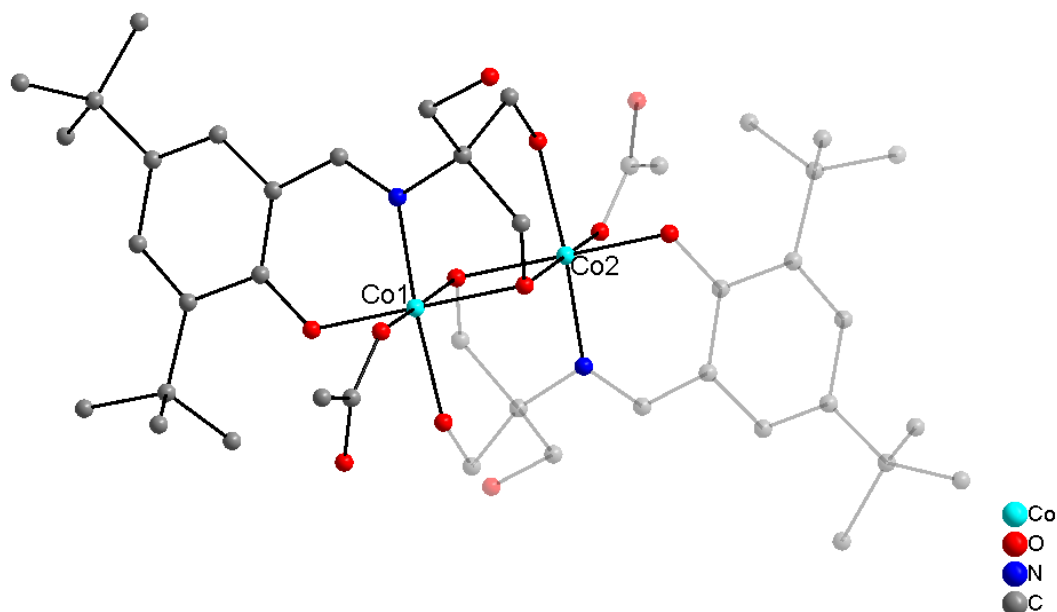


Figura 7. Projeção da estrutura cristalográfica do composto **(a)**, desenvolvido por Dey e Mukherjee. Para maior clareza, os átomos de hidrogênio foram omitidos.

Catherine e colaboradores⁵³ exploraram as propriedades da TRIZMA® para sintetizar tetrâmeros de manganês. Os ligantes utilizados para tais reações de complexação envolviam a condensação entre salicilaldeídos e poliol aminas, entre estas a TRIZMA®. A **Figura 8** apresenta a projeção de uma das estruturas desenvolvidas por Catherine e colaboradores. Nesse caso o ligante tem um comportamento quelante através do oxigênio da função fenolato e do nitrogênio da função imina. O ligante também faz ligações em ponte através dos seus dois oxigênios dos grupos alcoóis desprotonados. Quatro desses ligantes juntos possibilitam a estabilização de quatro centros metálicos.

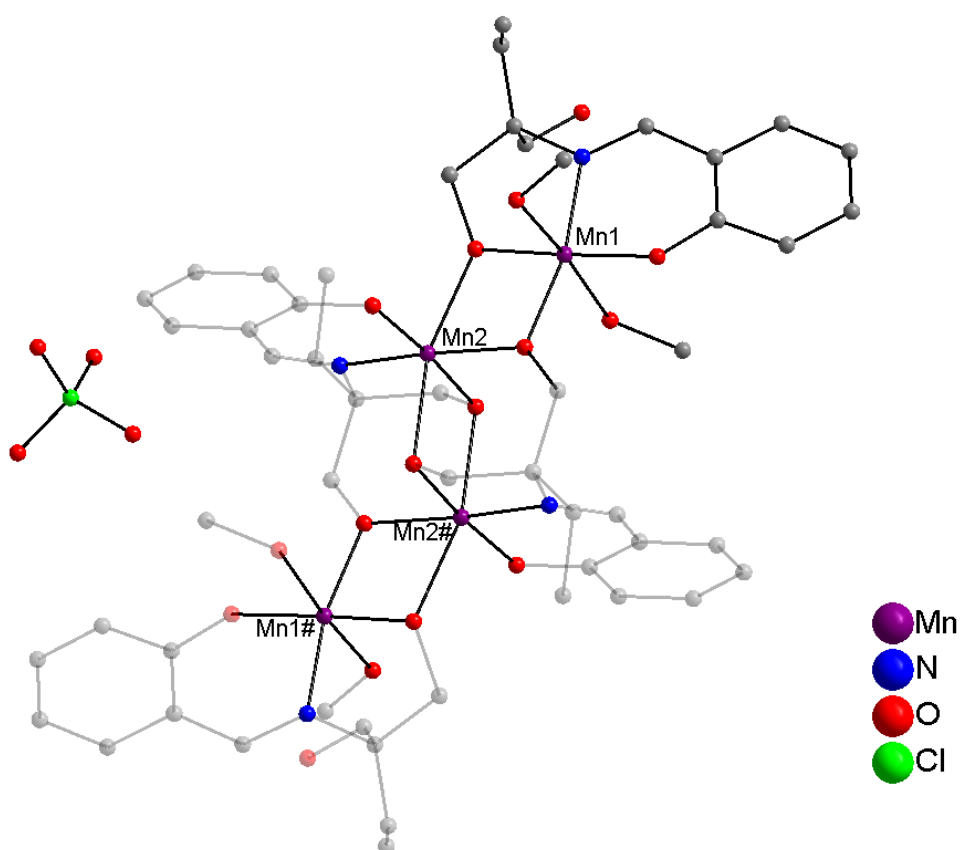


Figura 8. Projeção da estrutura cristalográfica do composto, desenvolvido por Catherine e colaboradores. Para maior clareza, os átomos de hidrogênio foram omitidos.

CAPÍTULO 4. PARTE EXPERIMENTAL

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 – Aspectos Gerais

Os solventes metanol e etanol empregados na síntese dos ligantes foram tratados a partir de técnicas conhecidas para a remoção da umidade e foram também destilados previamente conforme relatos literários.⁵⁴ Os demais reagentes comerciais: *o*-vanilina, 2-piridinacarboxaldeído, 2-pirrolcarboxialdeído, TRIZMA®, cloreto de manganês (II), perclorato de cobre (II), cloreto de cobalto (II), trietilamina e hidróxido de sódio foram usados sem tratamento prévio. A reação de síntese do ligante **L1** foi feita sob atmosfera de N₂. As demais reações experimentais foram conduzidas sem controle de atmosfera inerte e os procedimentos de cristalização foram realizados através da evaporação do solvente.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Análise Elementar

As análises elementares de carbono, nitrogênio e hidrogênio foram realizadas pela Central Analítica do IQ-USP (Universidade de São Paulo – SP) utilizando um equipamento Perkin-Elmer CHN 2400.

4.2.2. Ponto de Fusão

Os pontos de fusão de todos os compostos apresentados foram medidos em um aparelho digital Micro Química modelo MQAPEF-301 pertencente ao laboratório de Materiais Inorgânicos da Universidade Federal de Santa Maria. Os dados referentes aos pontos de fusão determinados seguem nas seções 4.3.

4.2.3 Espectrometria no Infravermelho

A análise de espectroscopia no infravermelho dos ligantes **L1** e dos complexos **1**, **2**, **3**, **4** e **5** foi realizada em um equipamento Bruker Tensor-27 Sample Compartment RT- DLa-TGS, que abrange uma janela espectral de 4000-400 cm^{-1} , localizado no departamento de química da Universidade Federal de Santa Maria. Os espectros de infravermelho foram registrados utilizando-se os compostos na forma de pastilhas sólida, na razão de 100mg de brometo de potássio para 2 mg da amostra. As bandas mais significativas encontradas para os ligantes e os complexos encontram-se na Seção 4.3.

4.2.4 Espectroscopia Eletrônica UV/Visível

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e do visível foram obtidos em um espectrofotômetro UV-Vis 1650-PC Shimadzu, em solução de dimetilformamida (DMF), localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria. Os dados de Espectroscopia Eletrônica UV/Visível são mostrados em Anexo.

4.2.5 Difração de raios X

A coleta dos dados de difração de raios X de **1**, **2**, **3**, **4** e **5** foi realizada em um difratômetro Bruker Kappa Apex II CCDC (Charge Coupled Device Detector), utilizando a radiação de Mo K α = 0,71073 Å e um monocromador de grafite, pertencente ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, as medidas dos complexos de **1**, **3**, **4**, **5**, foram feitas em temperatura ambiente, a medida do complexo **2** foi feita a baixa temperatura, 100 K. Todas as estruturas foram solucionadas empregando-se métodos diretos através do programa SHELXS-97.⁵⁵ Os refinamentos foram realizados com o pacote de programas SHELXL-97⁵⁶ através do método de matriz completa/mínimos quadrados dos fatores estruturais F₂, com os parâmetros de deslocamento térmico anisotrópicos para todos os átomos não hidrogenóides. Os átomos não hidrogenóides foram localizados através de sucessivas diferenças de Fourier e refinamentos com parâmetros anisotrópicos. Já os átomos de hidrogênio foram refinados isotropicamente na forma de grupos vinculados geometricamente aos respectivos átomos não hidrogenóides. As projeções gráficas das estruturas cristalinas foram executadas através do programa DIAMOND.⁵⁷ As **Tabelas 9** e **Tabela 10** em Anexo, mostram as informações das coletas de dados e refinamento das estruturas cristalinas dos complexos **1**, **2**, **3**, **4** e **5**.

4.3 Procedimentos Experimentais

4.3.1 Síntese do ligante derivado da *o*-vanilina, 2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol -**L1**:

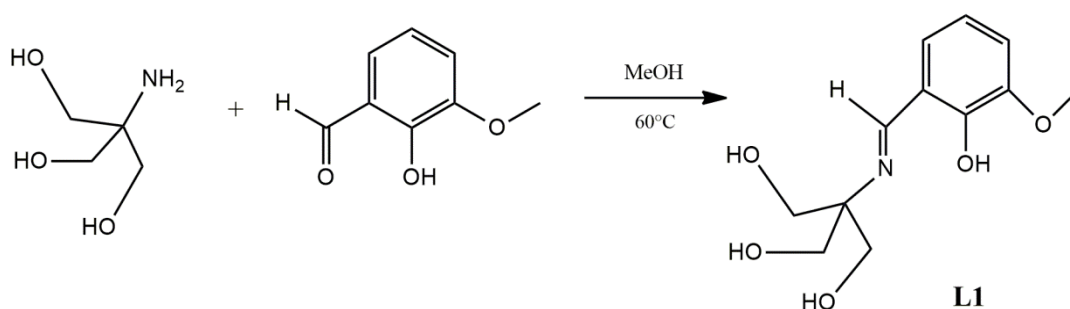


Figura 9. Esquema Reacional para obtenção do ligante L1.

O ligante **L1** foi sintetizado através da condensação da *o*-vanilina (0,152g, 1mmol) e tris(hidroximetil)amino metano (0,121g, 1mmol) em metanol anidro (25mL). A mistura foi aquecida em banho de óleo a 60°C e agitada por 4 horas em atmosfera de nitrogênio. Depois de uma semana cristais amarelos se formaram na solução. Os cristais puros foram removidos da solução por catação, com uma espátula. E foram lavados com etanol.

Propriedades: Substância cristalina de coloração amarela, estável ao ar. Com fórmula molecular C₁₂H₁₇NO₅ (255,27 g.mol⁻¹); Rendimento de material cristalino: 43,2%; Ponto de fusão: decompõe se a 181°C. Análise Elementar Teórica: %C 53,56; % H 7,19; % N 5,00. Análise Elementar Experimental: %C 56,14; % H 6,85; % N 5,69.

Principais Bandas verificadas no Infravermelho: 3343[forte, $\nu(\text{O-H})_{\text{fenol}}$]; 3194 [média, $\nu(\text{O-H})_{\text{álcool}}$]; 2948 [fraco, $\nu(\text{C-H})_{\text{sp}^3}$]; 1643 [forte, $\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$]; 1501 [forte, $\nu(\text{C=C})_{\text{benzeno}}$]; 1227 [forte, $\nu(\text{C-O})_{\text{metoxi}}$]; 1023 [média $\nu(\text{C-O})_{\text{álcools}}$].

4.3.2. Síntese do *bis- μ -3-2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2(hidroximetil)-1,3-propanediol-manganês* – Composto 1:

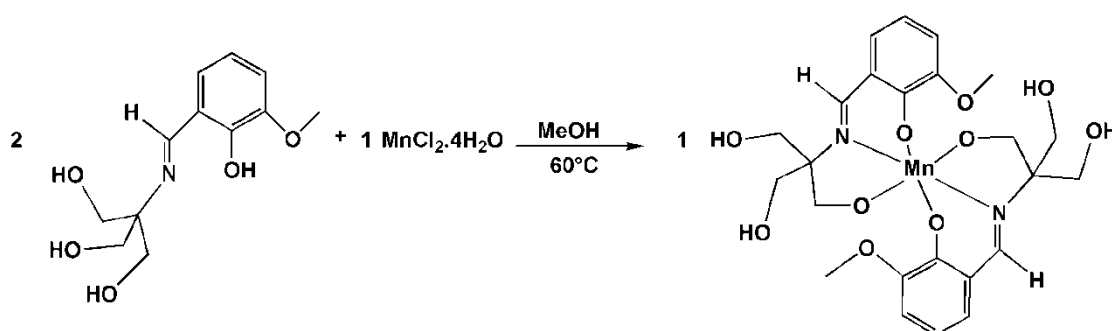


Figura 10. Esquema reacional para obtenção do composto 1.

Cloreto de manganês (II) (0,019g, 0,1 mmol) foi adicionado à uma solução de **L1** (0,024g, 0,1 mmol) em 10 mL de metanol. Depois foi aquecido à 60°C por ½ hora e então Et₃N (0.013mL 0.1 mmol) foi adicionada a solução marrom. A solução permaneceu em aquecimento e agitação magnética por 3,5 horas, e então foi filtrada. Depois de uma semana cristais marrons se formaram na solução. Os cristais foram retirados da solução por uma filtração simples, lavados com etanol e o rendimento da solução foi calculado.

Propriedades: Substância cristalina de coloração marrom, estável ao ar. Com fórmula molecular C₂₄H₃₀MnN₂O₁₀ (561,44 g.mol⁻¹); Rendimento de material cristalino: 22.72%; Ponto de Fusão: funde se a 213°, Análise Elementar Teórica: %C 51,34; %H 5,39; %N 4,99 Análise Elementar Experimental: %C 49,19; %H 5,08; %N 4,51.

Principais Bandas verificadas no Infravermelho: 3343 [forte, $\nu(\text{O-H})_{\text{fenol}}$]; 3194 [média, $\nu(\text{O-H})_{\text{álcool}}$]; 2948 [fraco, $\nu(\text{C-H})_{\text{sp}^3}$]; 1643 [forte, $\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$]; 1501 [forte, $\nu(\text{C=C})_{\text{benzeno}}$]; 1227 [forte, $\nu(\text{C-O})_{\text{metoxi}}$]; 1023 [média, $\nu(\text{C-O})_{\text{álcools}}$].

4.3.4. Síntese do *bis- μ -3-2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2 (hidroximetil)-1,3-propanediol-bis-cobalto*– Composto **2**.

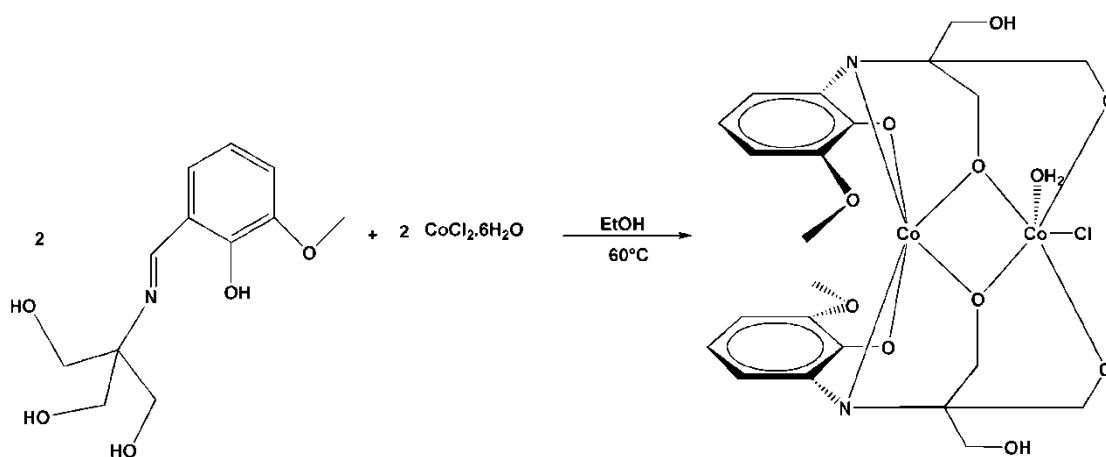


Figura 11. Esquema Reacional para obtenção do composto **2**.

Cloreto de cobalto (II) hexahidratado (0,023 g, 0,1 mmol) foi adicionado à uma solução de **L1** (0,024g, 0,1 mmol) em 10 mL de etanol. Depois esta solução foi aquecida a 65°C por 4 horas. A solução verde final foi então filtrada. Depois de duas semanas cristais laranja se formaram na solução. Os cristais foram retirados da solução por uma filtração simples, lavados com etanol e o rendimento da solução foi calculado.

Propriedades: Substância cristalina de coloração laranja, estável ao ar. Com fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{ClCo}_2\text{N}_2\text{O}_{11}$ ($649,78 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Rendimento de material cristalino: 31,30%; Ponto de Fusão: funde se a 225,6°, Análise Elementar Teórica:

%C 46,17; %H 4,84; %N 4,49. Análise Elemental Experimental: %C 45,97; %H 5,09; %N 3,73.

Principais Bandas verificadas no Infravermelho: 3343 [forte, $\nu(\text{O-H})_{\text{fenol}}$]; 3194 [média, $\nu(\text{O-H})_{\text{álcool}}$]; 2948 [fraco, $\nu(\text{C-H})_{\text{sp}^3}$]; 1643 [forte, $\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$]; 1501 [forte, $\nu(\text{C=C})_{\text{benzeno}}$]; 1227 [forte, $\nu(\text{C-O})_{\text{metoxi}}$]; 1023 [média, $\nu(\text{C-O})_{\text{álcools}}$].

4.3.4 Síntese do *tetra*-hidro- μ_3 -2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2 (hidroximetil)-1,3-propanediol-*tetra*-cobre. - Composto **3**.

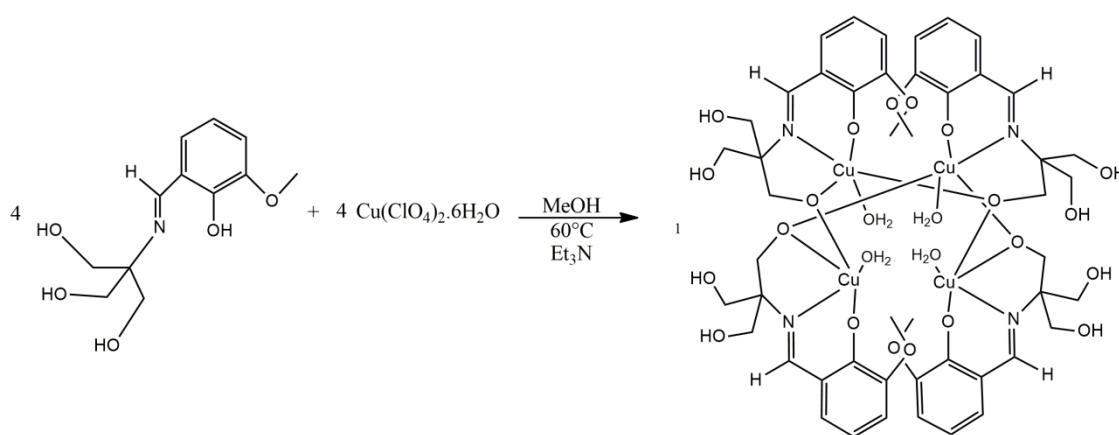


Figura 12. Esquema Reacional para obtenção do composto **3**.

Perclorato de cobre (II) (0,037 g, 0,1 mmol) foi adicionado, à uma solução de **L1** (0,024 g, 0,1 mmol) em 20 mL de metanol. Depois esta solução foi aquecida a 60°C por 0,5 hora e então Et₃N (0,013ml 0,1 mmol) foi adicionado à solução verde. Esta solução permaneceu em aquecimento e agitação magnética por mais 3,5 horas e então foi filtrada. Depois de 3 semanas cristais verdes se formaram na solução. Os cristais foram retirados da solução por uma filtração simples, lavados com etanol e o rendimento da solução foi calculado.

Propriedades: Substância cristalina de coloração verde, estável ao ar. Com fórmula molecular: C₄₈H₆₀Cu₄N₄O₂₀ (1267,19 g.mol⁻¹); Rendimento do material

cristalino: 28,74%; Ponto de Fusão: funde se acima de 260°; Análise Elementar Teórica: %C 45,50; %H 4,77; %N 4,42. Análise Elementar Experimental: %C 42,92; %H 5,00; %N 4,35.

Principais Bandas verificadas no Infravermelho: 3343 [forte, $\nu(\text{O-H})_{\text{fenol}}$]; 3194 [média, $\nu(\text{O-H})_{\text{álcool}}$]; 2948 [fraco, $\nu(\text{C-H})_{\text{sp}^3}$]; 1643 [forte, $\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$]; 1501 [forte, $\nu(\text{C=C})_{\text{benzeno}}$]; 1227 [forte, $\nu(\text{C-O})_{\text{metoxi}}$]; 1023 [média, $\nu(\text{C-O})_{\text{alcools}}$].

4.3.7 Síntese do $[\mu_3(4,4\text{-oxazolidinodimetanol-2-(2\text{-piridina})_2(2\text{-piridinacido-carboxílico})_2)]\text{perclorato de cobre}$. – Composto 4.

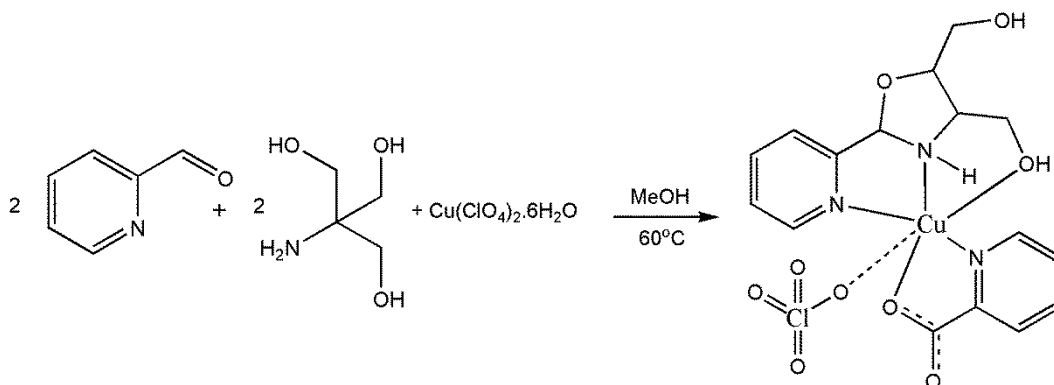


Figura 13. Esquema reacional para obtenção do Composto 4.

TRIZMA®(hidroximetil)amino metano (0,121g, 1mmol) e Et_3N (0,013ml 1mmol) foi adicionado à uma solução de 2-piridinacarboxialdeído (0,107g 1 mmol) e 15 mL de metanol. Esta solução permaneceu em aquecimento (60°C) e agitação magnética por duas horas. Após este tempo foi adicionado perclorato de cobre (II) (0,37g, 1mmol) e a reação seguiu em aquecimento e agitação magnética por mais 2 horas. Depois a solução verde final foi filtrada, e após 5 dias cristais verde escuros se formaram em solução. Os cristais foram retirados da solução por uma filtração simples, lavados com etanol e o rendimento da solução foi calculado.

Propriedades: Substância cristalina de coloração verde, estável ao ar. Com fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClCuN}_3\text{O}_9$ (493,31 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$); Rendimento do material

crystalino: 57,18%; Ponto de Fusão: Funde se acima de 310°; Análise Elementar Teórica: %C 39,04, %H3,07; %N 8,54. Análise Elementar Experimental: %C 37,01, %H 3,82; %N 9,20.

Principais Bandas verificadas no Infravermelho: 3343 [forte, $\nu(\text{O-H})_{\text{fenol}}$]; 3194 [média, $\nu(\text{O-H})_{\text{álcool}}$]; 2948 [fraco, $\nu(\text{C-H})_{\text{sp}^3}$]; 1643 [forte, $\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$]; 1501 [forte, $\nu(\text{C=C})_{\text{benzeno}}$]; 1227 [forte, $\nu(\text{C-O})_{\text{metoxi}}$]; 1023 [média, $\nu(\text{C-O})_{\text{alcools}}$].

4.3.8. Síntese do *tetra- μ_3 ((1,3-propanodiol-2-amino-2-(hidroximetil)-2-(pirrol-2)tetra-cobre.-* Composto 5.

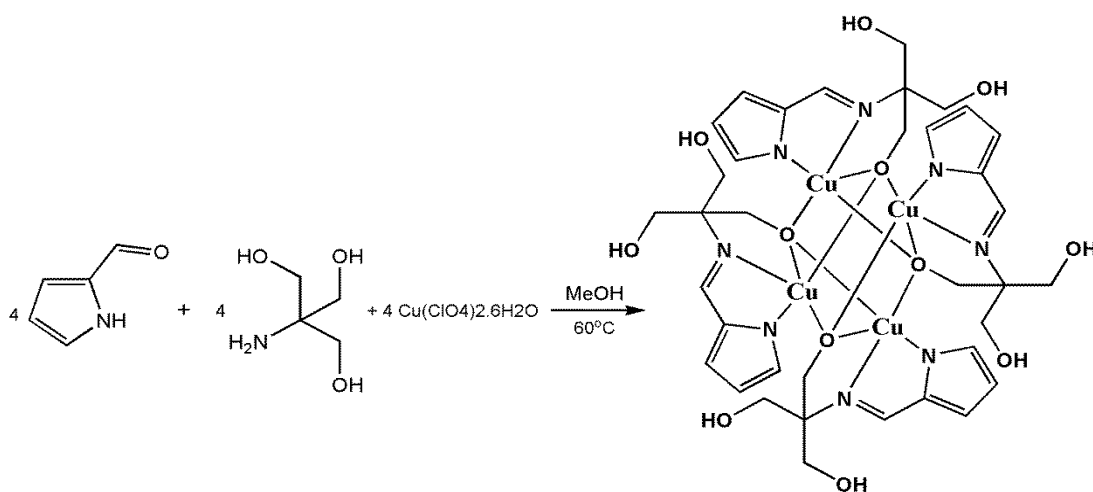


Figura 14. Esquema Reacional para obtenção do composto 5.

2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol (0,121g, 1mmol) e NaOH em solução aquosa (0,04g, 1mmol) foi adicionado, à uma solução de 2-pirrolcarboxialdeído (0,095g, 1 mmol) e 15 mL de metanol. Esta solução permaneceu em aquecimento (65°C) e agitação magnética por duas horas. Após este tempo foi adicionado perclorato de cobre (II) (0,37g, 1mmol) e a reação seguiu em aquecimento e agitação magnética por mais 2 horas. Depois a solução azul acinzentada foi filtrada,

e após uma semana, cristais azuis escuros se formaram em solução. Os cristais foram retirados da solução por uma filtração simples, lavados com etanol e o rendimento da solução foi calculado.

Propriedades: Substância cristalina de coloração azul escuro, estável ao ar. Com fórmula molecular $C_{36}H_{48}Cu_4N_8O_{12}$ (1039 g.mol^{-1}); Rendimento do material cristalino: 42,93% Ponto de Fusão: funde se acima de 310° ; Análise Elementar Teórica: %C 41,62, %H 4,66; %N 10,78. Análise Elementar Experimental: %C 40,99, %H 4,70; %N 10,20.

Principais Bandas verificadas no Infravermelho: 3343 [forte, $\nu(\text{O-H})_{\text{fenol}}$]; 3194 [média, $\nu(\text{O-H})_{\text{álcool}}$]; 2948 [fraco, $\nu(\text{C-H})_{\text{sp}^3}$]; 1643 [forte, $\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$]; 1501 [forte, $\nu(\text{C=C})_{\text{benzeno}}$]; 1227 [forte, $\nu(\text{C-O})_{\text{metoxi}}$]; 1023 [média, $\nu(\text{C-O})_{\text{alcools}}$].

4.4. Teste para avaliar a atividade superóxido dismutase dos compostos de **1-5**.

A atividade superóxido dismutase dos complexos **1-5** foi examinada indiretamente usando cloreto de nitrozultetrazolium (NBT). A mistura reacional (contida em cada cubeta de UV-Vis) continha $9,53 \times 10^{-3} \text{ M}$ de metionina, $3,8 \times 10^{-7}$ de NBT, 2,4 mL de uma solução tampão de fosfato de sódio para manter o pH próximo a 7,8 e temperatura de 25°C . Para cada solução adicionou-se 50 μL de amostra diluída em dimetilformamida.

Após a calibração do equipamento e a seleção de varredura no comprimento de onda de 560nm, adicionou-se $3,2 \times 10^{-6} \text{ M}$ de riboflavina a cada amostra. As diluições dos complexos seguiram condições pré-estabelecidas de 100%, 50%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05% e 0,001%. Todas as diluições foram feitas em

triplicata além do branco que não continha amostra do complexo, apenas o solvente. Desta forma obteve-se uma leitura inicial de absorbância.

Após as leituras iniciais, as soluções foram irradiadas através de duas lâmpadas fluorescentes circulares durante 15 minutos a uma distância aproximada de 5 centímetros (especificações técnicas estão em anexo). Ao término de 15 minutos para cada irradiação fez-se mais uma leitura de absorção, conferindo agora dados de absorção final para as soluções. Sendo assim, encontrou-se uma relação entre a absorção final e inicial.

Este ensaio é baseado na cinética de competição para a reação entre superóxido com o NBT e/ou com o complexo de atividade SOD. Assim espera-se que os complexos de que não tenham atividade SOD não interfiram na reação entre o íon superóxido e o indicador NBT, proporcionando assim a formação do composto formazan, um produto de coloração roxa intensa, observado no comprimento de onda de 560 nm. Entretanto, caso os compostos tenham atividade SOD-Mn, a formação de formazan não será evidenciada. Na **Figura 15** mostrada abaixo é possível entender o modo pelo qual o íon superóxido é gerado, ⁵⁸ em solução.

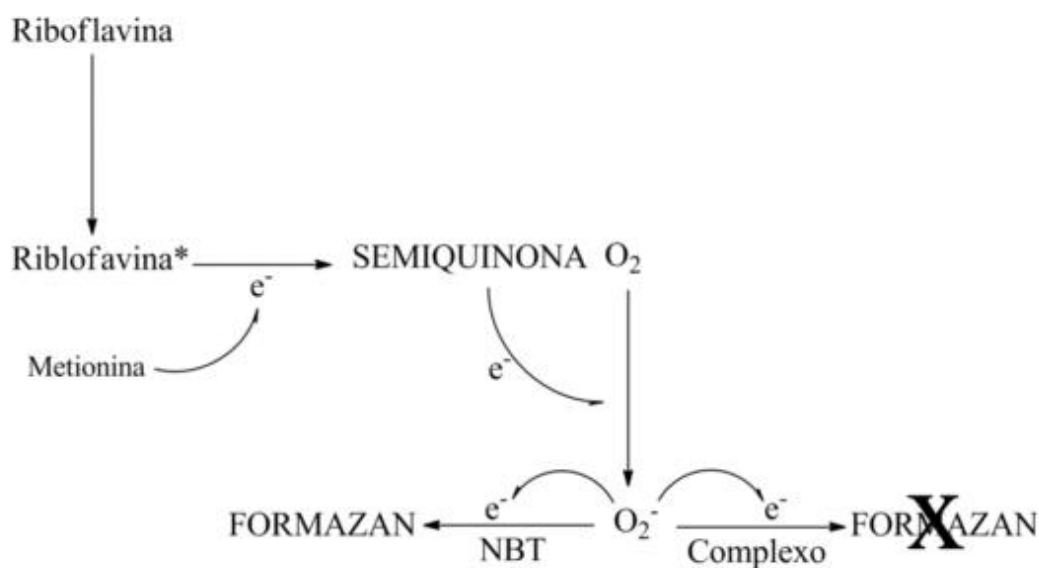


Figura 15. Ensaio com NBT para testar atividade SOD. Adaptado do artigo: Piacham, T. Na Ayudhya, I.C.; Prachayasittikul, V.; Bülowa, L.; Ye. L. Chem. Commun., 2003, 1254.

O valor de IC₅₀, avaliado graficamente, é baseado na competição do suposto mimético da SOD com NBT para uma inibição de 50% deste indicador. Como os valores de IC₅₀ não são adequados para a comparação com os dados da literatura, é necessário padronizar o valor de IC₅₀ calculando o valor da constante cinética de McCord–Fridovich (κMcCF), específica para o detector NBT $\kappa\text{McCF} = k_{\text{detector}} \cdot [\text{detector}] / \text{IC}_{50}$. Para o NBT o valor de sua constante é $k_{\text{NBT}} (\text{pH} = 7.8) = 5.94 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1,59}$.

A análise dos dados e os gráficos que demonstram o valor de IC₅₀ dos complexos de **1-5** são mostrados no Capítulo 5 Seção 5.2

CAPÍTULO 5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste trabalho serão apresentados e discutidos os resultados obtidos para a síntese de complexos de cobre, manganês e cobalto com ligantes do tipo base de Schiff, obtidos a partir da condensação da TRIZMA® e derivados de aldeídos aromáticos. Neste trabalho serão apresentados e discutidos, também, os resultados obtidos para a análise de atividade SOD destes complexos.

Os resultados obtidos serão apresentados e discutidos separadamente em duas partes. A primeira tratará da síntese e caracterização dos aspectos estruturais e a segunda parte tratará dos resultados relacionados à atividade SOD.

5.1 Apresentação e Discussão dos Compostos 1-5

5.1.1 Composto 1 - *bis-μ*₃-2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol)-manganês:

Através da reação entre o ligante 2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil) metileno) amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol **L1** e o sal cloreto de manganês (II) foi obtido o Composto 1. O composto 1 cristalizou no sistema Tetragonal, grupo espacial P4₁2₁2 (Nº 92 – *International Tables of Crystallography*⁶⁰), e inclui 4 moléculas do composto na cela unitária. A ausência de uma sistemática nas condições de reflexão da classe integral (hkl) das reflexões coletadas indicou um tipo de Bravais *P* para a cela unitária. Realizadas as análises das condições a simetria de Laue encontrada foi 4/mmm.

O resultado da análise de difração de raios X de monocristal mostrou que a estrutura do composto **1** é significativamente semelhante à estrutura desenvolvida por Zhang e colaboradores,⁶¹ porém apresenta diferença no número de oxidação do centro metálico, pois o número de oxidação do centro metálico do composto sintetizado por Zhang e colaboradores é II, e o número de oxidação do centro metálico do composto **1** é IV. A **Figura 16** apresenta a estrutura do complexo **1**, com os principais átomos nomeados.

A **Tabela 09** (Anexo) reúne as informações complementares sobre a coleta de dados e refinamentos da estrutura cristalina do complexo.

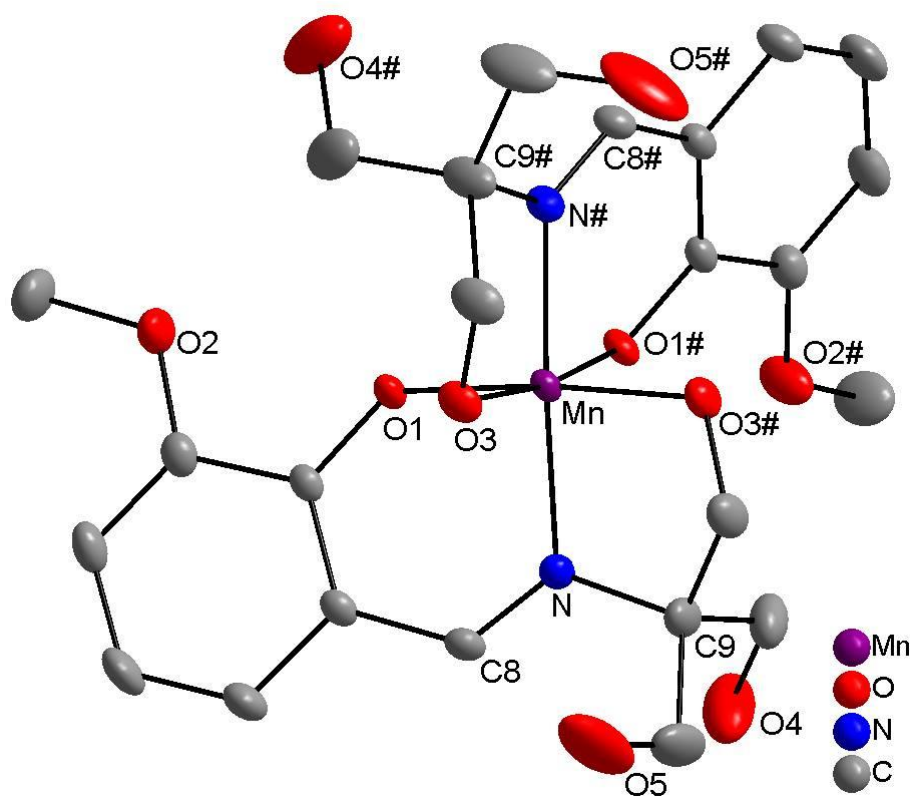


Figura 16. Representação da estrutura cristalina do composto **1**. Elipsóide: 50%. Para maior clareza, foram omitidos os átomos de hidrogênio.

Pode-se observar no composto **1** que o ligante atua de forma polidentada, com três sítios de coordenação, sendo um oxigênio fenolato, um nitrogênio imínico e um oxigênio da função alcoólica desprotonada.

No composto **1** o centro metálico apresenta um número de oxidação (IV) e uma geometria octaédrica distorcida, evidenciada pelos ângulos diedros, representados na **Figura 17**.

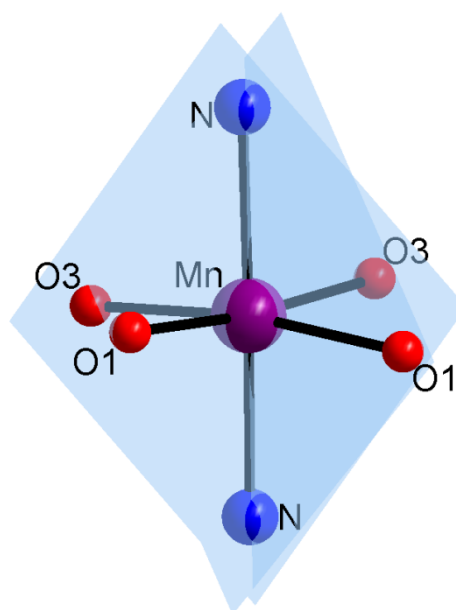


Figura 17. Representação dos ângulos diedros do composto **1**.

Os comprimentos das ligações Mn-N são iguais a 1,991(3) Å e estão de acordo com os valores encontrados na literatura.^{62,63,65,66} As distâncias de ligações Mn-O referentes aos alcoóis desprotonados são iguais a 1,849(2) Å e estão de acordo com os valores encontrados na literatura.⁶³⁻⁶⁵ Observando se as distâncias das ligações Mn-O referentes aos fenolatos desprotonados, pode se observar que estas distâncias são iguais a 1,931(2) Å e estão de acordo com os valores encontrados na literatura.^{65,66}

Os comprimentos das ligações e ângulos relevantes obtidos pela análise estrutural do composto **1** estão listados na **Tabela 2**.

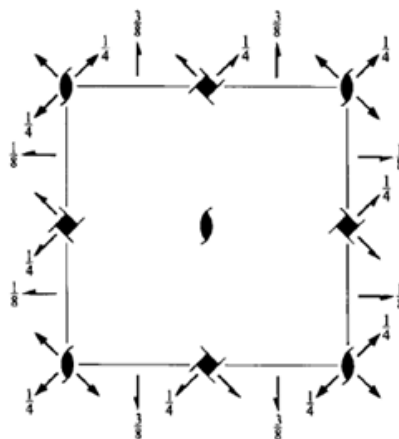
Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
Mn-N	1,991(3) Å	O(3)-Mn-O(1)	171,73°(11)
Mn-N(#)	1,991(3) Å	O(1#)-Mn-O(3#)	171,73°(11)
Mn-O(3)	1,849(2) Å	N-Mn-N(#)	169,49°(17)
Mn-O(3#)	1,849(2) Å	O(1)-Mn-N	89,53° (11)
Mn-O(1)	1,931(2) Å	O(1#)-Mn-N	98,19° (12)
Mn-O(1#)	1,931(2) Å	O(3#)-Mn-N	88,82° (11)
		O(3)-Mn-N	84,06° (11)
		O(1)-Mn-N(#)	98,19° (13)
		O(1#)-Mn-N(#)	89,53° (12)
		O(3#)-Mn-N(#)	84,06° (13)
		O(3)-Mn-N(#)	88,82° (11)

Tabela 2. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o composto **1**. Desvios padrão entre parênteses.

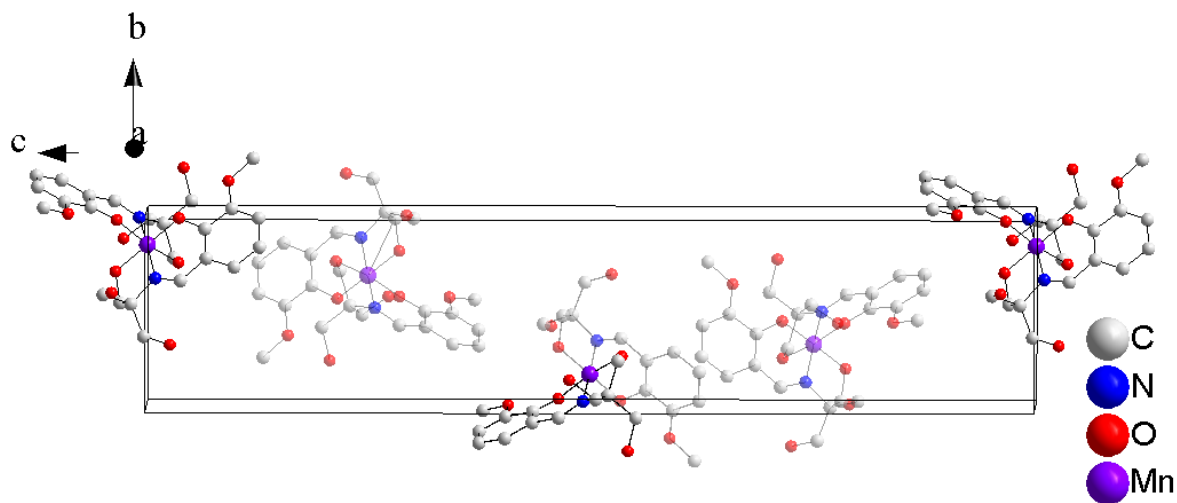
Para o composto **1**, o qual se inclui no grupo espacial $P4_12_12$, a reprodução sistemática do conteúdo da cela unitária pode ser vista a partir da análise dos operadores de simetria contidos na rede tetragonal, segundo dados da *International Tables for Crystallography*.⁶⁰

Observa-se que, ao comparar o diagrama com a projeção do conteúdo da cela do composto **Figura 18**, é possível encontrar a relação entre ambos. Verificam-se quatro moléculas do composto na cela unitária e a presença dos elementos de simetria: identidade, eixos de rotação inversão.

Os eixos de rotação inversão são dois, um C_2 com inversão entre dois complexos e um C_4 com inversão entre os dois ligantes do mesmo complexo.



(a)



(b)

Figura 18. Representação dos operadores de simetria contidos na célula unitária tetragonal vinculada ao grupo espacial $P41212$. Fonte: *International Tables for Crystallography*.⁶⁰ (a) e representação da projeção do conteúdo da célula unitária tetragonal do composto **1** na direção cristalográfica b . (b) Para maior clareza, foram omitidos os átomos de hidrogênio.

5.1.2. Composto **2** *bis-μ4-2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol-bis-cobalto*.

Através da reação entre o ligante 2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol **L1** e o sal cloreto de cobalto(II), foi obtido o composto **2**. O composto **2** cristalizou no sistema monoclinico, grupo espacial Cc (N° 9 – *International Tables for Crystallography*),⁶⁰ e inclui 4 moléculas do composto na cela unitária. Realizadas as análises das condições a simetria de Laue encontrada foi 2/m. A **Tabela 09** (Anexo) reúne as informações complementares sobre a coleta de dados e refinamentos da estrutura cristalina do complexo.

O resultado da análise de difração de raios X de monocristal mostrou que a estrutura do composto **2** é significativamente semelhante à estrutura desenvolvida por Zhu e colaboradores.⁶⁷ A **Figura 19** apresenta a estrutura do composto **2**, com os principais átomos nomeados.

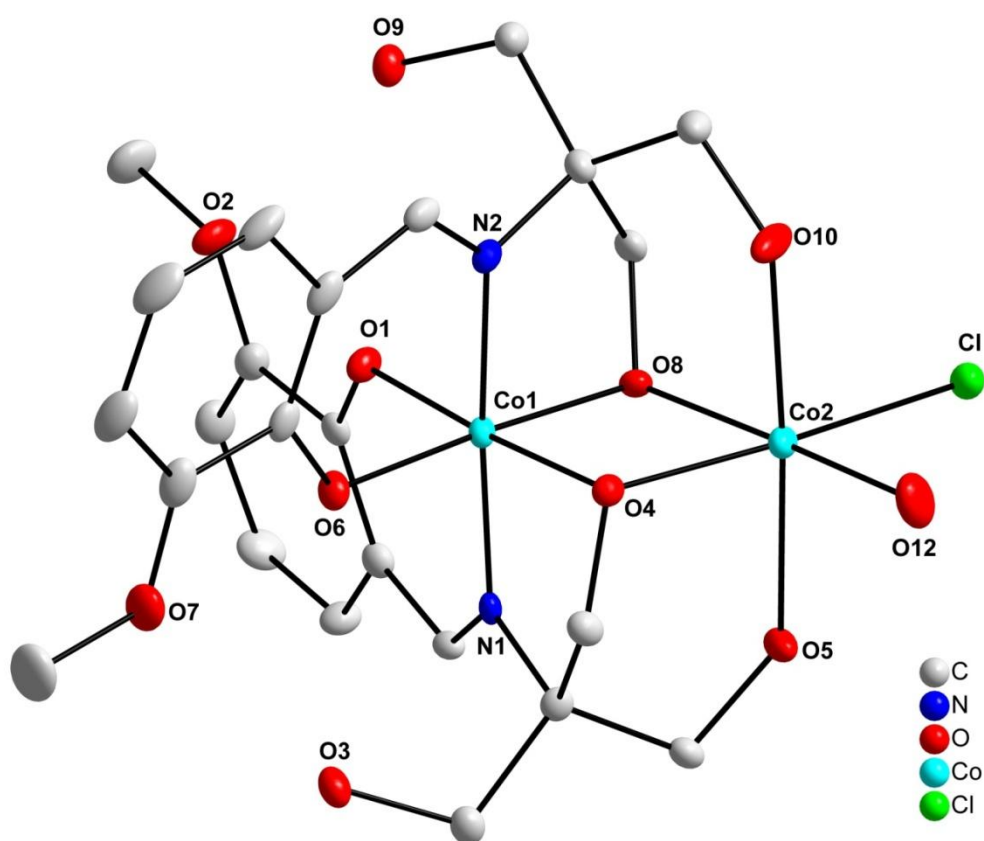


Figura 19. Representação da estrutura cristalina do composto **2**. Elipsóide 50%, para maior clareza, foram omitidos as moléculas de solvatos e os átomos de hidrogênio.

Pode se observar que o composto **2** é um dímero onde dois ligantes iguais se coordenam aos dois centros metálicos de forma diferente. O centro metálico Co1 é coordenado por dois oxigênios fenolatos desprotonados, dois nitrogênios imínicos e dois oxigênios das funções alcoólicas da TRIZMA® desprotonadas fazendo ligações μ_2 . Diferentemente o centro metálico Co2 é coordenado por dois oxigênios das funções alcoólicas da TRIZMA® desprotonadas fazendo ligações μ_2 , dois oxigênios das funções alcoólicas da TRIZMA® protonadas, uma molécula de água e um átomo de cloro.

No composto **2** os dois centros metálicos apresentam números de oxidação diferentes, enquanto que o centro metálico Co1 apresenta um número de oxidação (III) e uma geometria octaédrica distorcida, evidenciada pelos ângulos diedros

representados na **Figura 20**. O centro metálico Co2 apresenta um número de oxidação (II) e uma geometria octaédrica distorcida, evidenciada pelos ângulos diedros representados na **Figura 21**. Os ângulos de ligações entre os ligantes nas esferas de coordenação dos átomos de cobalto variam de $172,68^\circ(8)$ e $176,55^\circ(12)$, confirmando a geometria de coordenação octaédrica distorcida.

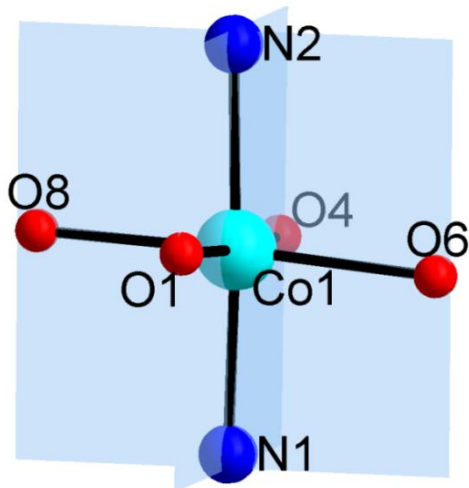


Figura 20. Representação dos ângulos diedros Co1, no composto 2.

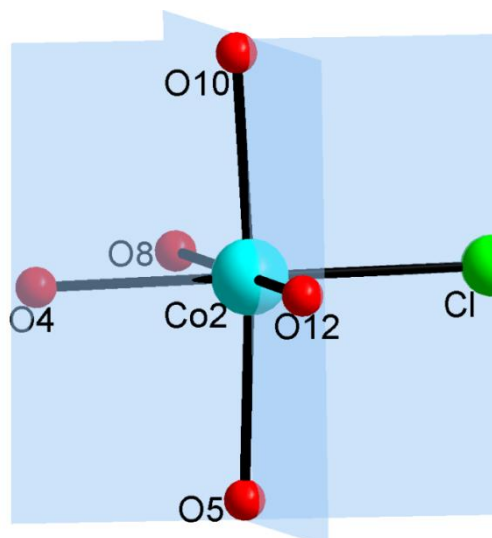


Figura 21. Representação dos ângulos diedros Co2, no composto 2.

Os valores medidos para as distâncias de ligações entre o Co1 e os nitrogênios estão entre $1.885(3)$ Å e $1.881(3)$ Å e estão de acordo com os valores encontrados na literatura para ligações entre iminas e cobalto (III).⁶⁸⁻⁷⁰ Observando as distâncias de ligações entre Co1 e os oxigênios fenolatos estão entre $1.898(3)$ Å e $1.897(2)$ Å e estão de acordo com as distâncias encontradas na literatura para ligações entre fenolatos desprotonados e cobalto (III).⁷⁰⁻⁷¹

Os comprimentos das distâncias de ligações entre Co1 e os oxigênios alcoólicos desprotonados da TRIZMA® estão entre $1.901(3)$ Å e $1.904(3)$ Å e são consistentes com os valores encontrados na literatura para ligações μ_2 entre alcoóis desprotonados e cobalto(III).^{72,73}

Observando as ligações entre Co2 e os oxigênios alcoólicos da TRIZMA® protonados observa se valores 2.152(3) Å e 2.168(3) Å, esses valores estão dentro da faixa de concordância com os valores encontrados na literatura para ligações entre álcool protonado e cobalto (II).^{69,72} A mesma observação pode ser feita para as ligações entre Co2 e os oxigênios alcoólicos desprotonados da TRIZMA® que segundo os resultados da difração de raios X estão entre 2.057(3) Å e 2.065(3) Å e estão de acordo com os valores encontrados na literatura para ligações μ_2 entre alcoóis desprotonados e cobalto (II).^{55,64}

Os comprimentos de ligação e ângulos relevantes obtidos pela análise estrutural do composto **2** estão listados na **Tabela 3**.

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
Co(1)-N(1)	1,885Å(3)	O(1)-Co1-O(4)	176,21°(12)
Co(1)-N(2)	1,881 Å (3)	O(6)-Co1-O(8)	176,55°(12)
Co(1)-O(1)	1,898Å(3)	N(2)-Co1-N(1)	175,93°(14)
Co(1)-O(6)	1,897Å(2)	O(4)-Co2-Cl	172,68°(8)
Co(1)-O(4)	1,904Å(3)	O(5)-Co2-O(10)	175,07°(12)
Co(1)-O(8)	1,901Å(3)	O(8)-Co2-O(12)	173,49°(13)
Co(2)-O(4)	2,065Å(3)	N(2)-Co(1)-O(6)	96,54(13)
Co(2)-O(8)	2,057Å(3)	N(1)-Co(1)-O(6)	86,73(12)
Co(2)-O(5)	2,152Å(3)	N(2)-Co(1)-O(1)	86,18(12)
Co(2)-O(10)	2,168Å(3)	N(1)-Co(1)-O(1)	96,25(13)
		N(2)-Co(1)-O(8)	85,81(12)
		N(1)-Co(1)-O(8)	90,82(12)
		N(2)-Co(1)-O(4)	91,40(12)

N(1)-Co(1)-O(4)	85,99(13)
O(5)-Co(2)-Cl	92,89(8)
O(10)-Co(2)-Cl	92,04(9)
O(8)-Co(2)-O(5)	92,54(11)
O(4)-Co(2)-O(5)	86,35(10)
O(12)-Co(2)-O(10)	90,32(12)

Tabela 3. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo **2**. Desvios padrão entre parênteses.

Para o composto **2**, o qual se inclui no grupo espacial Cc (N° 9 *International Tables for Crystallography*⁶⁰), a reprodução sistemática do conteúdo da cela unitária pode ser prevista a partir da análise dos operadores de simetria contidos na rede monoclinica, segundo dados da *International Tables for Crystallography*.⁶⁰

Observa-se que ao comparar o diagrama com a projeção do conteúdo da cela dos compostos na **Figura 22**, é possível encontrar a relação entre ambas.

Verificam-se quatro moléculas no composto na cela unitária e a presença dos elementos de simetria: identidade e glide.

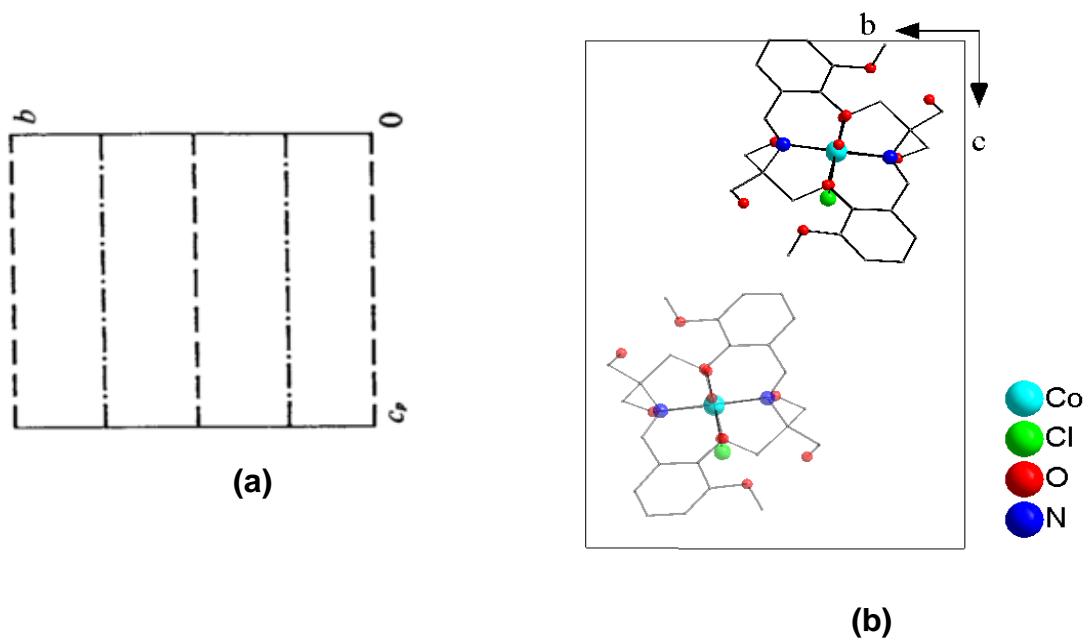


Figura 22. Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária monoclinica vinculada ao grupo espacial Cc. Fonte: *International Tables for Crystallography*.⁶⁰ (a) e representação da projeção do conteúdo da cela unitária monoclinica do composto **2** na direção cristalográfica a (b) Para maior clareza, foram omitidos os solvatos e os átomos de hidrogênio.

5.1.3 Composto **3** tetra- μ -3-2-(((2-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)amino)-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol-tetra-cobre.

Através da reação entre o ligante 1-(((2-hidroxi-3-metoxifenil) metileno) amino) -2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol **L1** e o sal perclorato de cobre (II), foi obtido o composto **3**. O composto **3** cristalizou no sistema Tetragonal, grupo espacial I41/a (Nº 88 – *International Tables for Crystallography*⁶⁰), e inclui 4 moléculas do composto na cela unitária. Realizadas as análises das condições a simetria de Laue encontrada foi 4/m. A **Tabela 09** (Anexo) reúne as informações complementares sobre a coleta de dados e refinamentos da estrutura cristalina do complexo.

O resultado da análise de difração de raios X de monocristal mostrou que a estrutura do composto **3** é significativamente semelhante à estrutura desenvolvida

por Chygorin e colaboradores⁴⁷ assim como Dong e colaboradores.⁷⁴ A **Figura 23** apresenta a estrutura do composto **3**, com os principais átomos identificados.

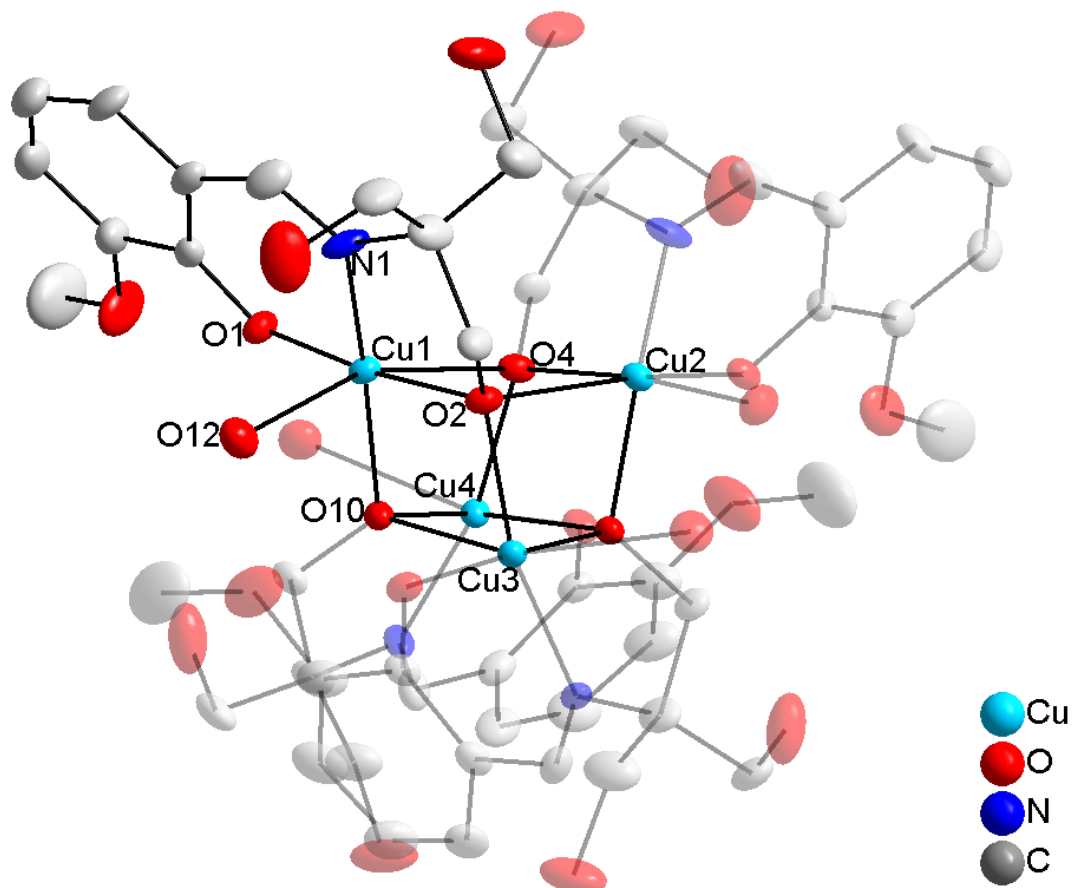


Figura 23. Representação da estrutura cristalina do composto **3**. Elipsóide 50%, para maior clareza, foram omitidos os átomos de hidrogênio.

Pode se observar que o composto **3** é um tetrâmero onde quatro moléculas do ligante se coordenam aos quatro centros metálicos, do mesmo modo. Cada um dos quatro ligantes atua com três sítios de coordenação, um oxigênio fenolato, um nitrogênio imínico e um oxigênio da função alcoólica da TRIZMA® desprotonada. Cada centro metálico de cobre no composto **3** está coordenado também a uma molécula de água.

Segundo Melník e colaboradores^{75,76} a formação de tetrâmeros em complexos de cobre (II) é bastante comum, dependendo do ligante utilizado para a

complexação, devido ao seu alto número de coordenação. Os tetrâmeros de cobre são classificados de seis formas (I) $\text{Cu}_4(4\text{-O})$ tetraedros; (II) Cu_4O_4 tipo cubano; (III) dímeros bifolded; (IV) tipo cadeia; (V) estruturas step-like e (VI) estruturas únicas, onde as duas primeiras classificações são as mais comuns. Através da análise do resultado da difração de raios X pode se observar que o composto **3** é um tetrâmero Cu_4O_4 tipo cubano.

Segundo Xie e colaboradores⁷⁷ uma importante estratégia para sintetizar complexos polidentados é utilizar ligantes que proporcionam sítios de coordenações capazes de promover ligações em pontes. Em complexos em que os átomos metálicos exibem altos números de coordenação, as reações destes sais metálicos com ligantes na proporção 1:1, produz complexos com as esferas de coordenações dos metais incompletas, em sequencia esses complexos podem formar complexos polinucleares, desde que o ligante apresente sítios formadores de coordenações em pontes. O oxigênio de uma função alcoólica, quando em um ligante, pode fazer ligações em ponte com mais de um centro metálico, promovendo a síntese de complexos polinucleares.⁷⁸ E segundo Marino e colaboradores⁷⁹ essas ligações em pontes são cruciais para a formação de complexos polinucleares do tipo cubanos.

Um dos fatores que podem contribuir para um aumento da atividade biológica é a presença de mais de um centro metálico, por isso complexos polinucleares podem apresentar uma maior atividade biológica, caso a atividade biológica esteja condicionada a presença do centro metálico. Outro fator que pode contribuir para a atividade biológica é organização dos centros nucleares, segundo Yin e colaboradores⁸⁰ especialmente em complexos polinucleares do tipo cubano.^{80,81}

No composto **3** cada cobre apresenta um número de oxidação (II) e uma geometria octaédrica distorcida, evidenciado pelos ângulos O(1)-Cu-O(2) 171,93° (14), O(4)-Cu-O(12) 159,55°(24) e N(1)-Cu-O(10) 165,92°(18).

A distância de ligação Cu-N(1) 1,959(6) Å está de acordo com os valores encontrados na literatura de ligações entre iminas e cobre.^{82,83} Pode se observar que o comprimento de ligação Cu-O(1) 1,909(4) Å está de acordo com valores encontrados na literatura de ligações entre fenolatos desprotonados e cobre.^{84,82} Os valores dos comprimentos das ligações Cu-O(2) 1,971(8) Å e Cu-O(4) 1,971(8) Å estão de acordo com valores encontrados na literatura para ligações μ_2 entre álcool desprotonados e cobre.⁸⁵⁻⁸⁷ No cubano de cobre, todos os centros metálicos são equivalentes.

Os demais valores de comprimentos de ligações e ângulos relevantes obtidos pela análise estrutural do composto **3** estão listados na **Tabela 4**.

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
Cu-N(1)	1,959Å(6)	O(1)-Cu-O(2)	171,93°(14)
Cu-O(12)	1,9495Å(6)	O(4)-Cu-O(12)	159,55°(24)
Cu-O(1)	1,909Å(4)	N(1)-Cu-O(10)	165,92°(18)
Cu-O(4)	1,971Å(8)	O(1)-Cu-N(1)	94,0°(2)
Cu-O(10)	1,971Å(8)	O(2)-Cu-N(1)	84,45°(15)
		O(10)-Cu-O(12)	102,08°(14)
		O(10)-Cu-O(4)	85,17°(13)
		N(1)-Cu-O(12)	75,036°(11)

Tabela 4. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o composto **3**. Desvios padrão entre parênteses.

Para o complexo **3**, o qual se inclui no grupo espacial centrossimétrico $I4_1/a$, a reprodução sistemática do conteúdo da cela unitária pode ser prevista a partir da análise dos operadores de simetria contidos na rede tetragonal, segundo dados da *International Tables for Crystallography*.⁶⁰

Observa-se que ao comparar o diagrama com a projeção do conteúdo da cela do composto na **Figura 24** é possível encontrar a relação entre ambas.

Verificam-se quatro moléculas do complexo na cela unitária e a presença dos elementos de simetria: identidade, centros de inversão e glides na origem, arestas, e faces; *eixos de rotação C_4 , eixos de rotação C_2 e eixo de inversão nas arestas e faces*.

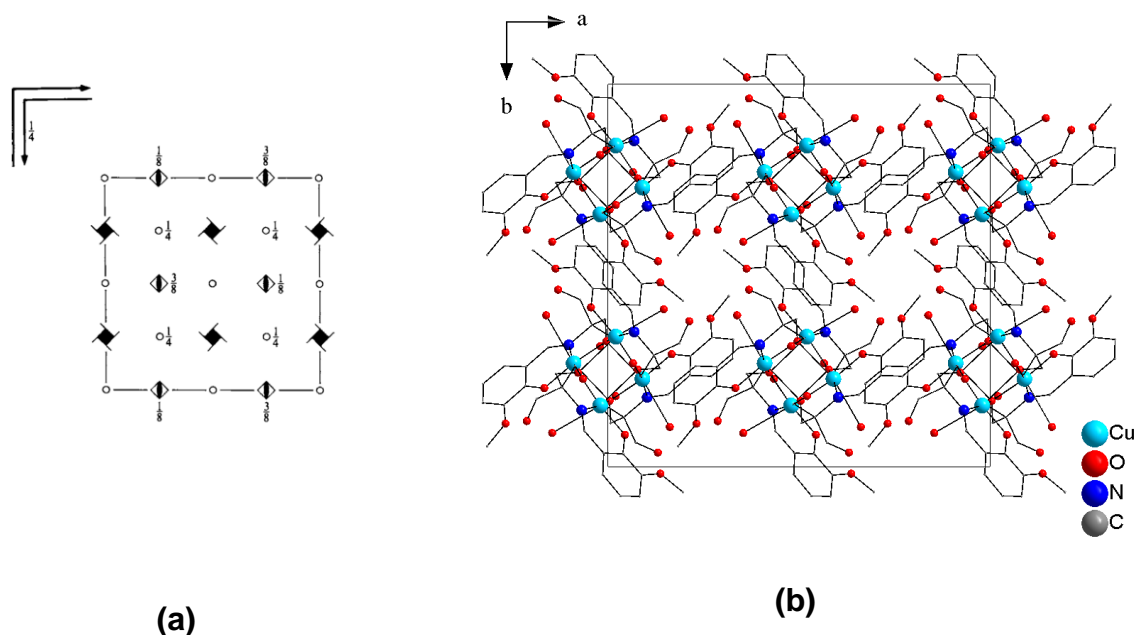


Figura 24. Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária monoclinica vinculada ao grupo espacial I41/a. Fonte: *International Tables for Crystallography*.⁶⁰ (a) e representação da projeção do conteúdo da cela unitária monoclinica do composto 3 na direção cristalográfica c (b) Para maior clareza, foram omitidos os solvatos e os átomos de hidrogênio.

5.1.4. Composto 4 μ -3-(4,4-oxazolidin-dimetanol-2-(2-piridina))- μ -2(2-piridina-2-2-piridina-2-carboxílico)-perclorato.

Através da reação entre os reagentes TRIZMA®, 2-piridina aldeído in situ com o sal perclorato de cobre (II), o composto 4 foi obtido. O composto 4 cristalizou no sistema Tetragonal, grupo espacial $P2_1/c$ (N° 14 –*International Tables for Crystallography*),⁶⁰ e inclui 4 moléculas do composto na cela unitária. A ausência de uma sistemática nas condições de reflexão da classe integral (hkl) das reflexões coletadas indicou um tipo de Bravais P para a cela unitária. Realizadas as análises das condições a simetria de Laue encontrada foi $2/m$. A **Tabela10** (Anexo) reúne as informações complementares sobre a coleta de dados e refinamentos da estrutura cristalina do complexo.

A **Figura 25** apresenta a estrutura do composto **4**, com os principais átomos identificados.

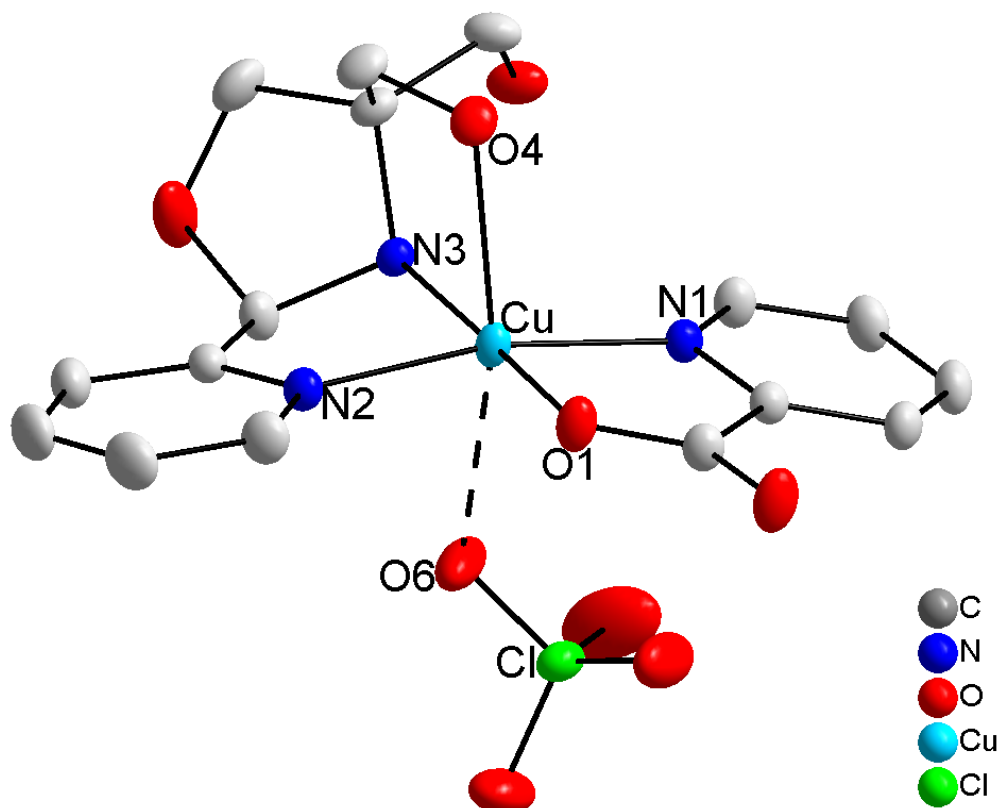


Figura 25. Representação da estrutura cristalina do composto **4**. Elipsóide 50%. Para maior clareza, foram omitidos as moléculas de solvatos e átomos de hidrogênio.

Pode-se observar que o composto **4** é um monômero não simétrico, onde o metal foi complexado por uma molécula de ligante formado pela condensação da amina com o aldeído, e por uma molécula de ácido desprotonado.

Segundo Biswas e colaboradores⁸⁸ e Naiya e colaboradores,⁸⁹ as reações de síntese de algumas iminas se processam através de equilíbrios químicos, desta forma iminas podem sofrer hidrólise, e através desta reação inversa a sua síntese, podem formar seus respectivos materiais de partida aldeídos ou cetonas e aminas.

Aldeídos, por sua vez, na presença de oxigênio, podem sofrer oxidação e desta forma produzir ácidos carboxílicos e alcoóis através da reação de Cannizzaro.⁹⁰

Levando em consideração que o composto **4** foi sintetizado na presença de oxigênio atmosférico, é possível que o ligante imínico tenha sofrido uma hidrólise parcial e liberado como produto o 2-piridinacarboxialdeído. Este aldeído, pode ter sido oxidado pelo oxigênio atmosférico e formado como produto desta oxidação o ácido picolínico presente na estrutura do composto **4**.

O ligante complexa o metal de forma polidentada, com três sítios de coordenação, sendo um nitrogênio aromático, um nitrogênio imínico e um oxigênio da TRIZMA® protonado. Os resultados cristalográficos demonstraram um anel heterocíclico oxazólico formado pela ciclização do ligante através do grupo imínico de um grupo hidroxila da própria molécula. Segundo Castle, N. R.⁹¹ piridinas aldeídos, quando reagentes com β -aminoálcoois, são capazes de promover a síntese de anéis heterocíclicos oxazólicos, uma provável razão para isto é que as piridinas podem atuar como transportadoras de eletrofílicos.

O centro metálico de cobre, no complexo **4** também é complexado por uma molécula de ácido picolínico desprotonado. Esta molécula se coordena ao metal de forma polidentada com dois sítios de coordenação, um átomo de nitrogênio aromático e um oxigênio. No complexo **4** o centro metálico de cobre apresenta um número de oxidação (II) e uma geometria octaédrica distorcida, evidenciado pelos ângulos diedros representados na **Figura 26**.

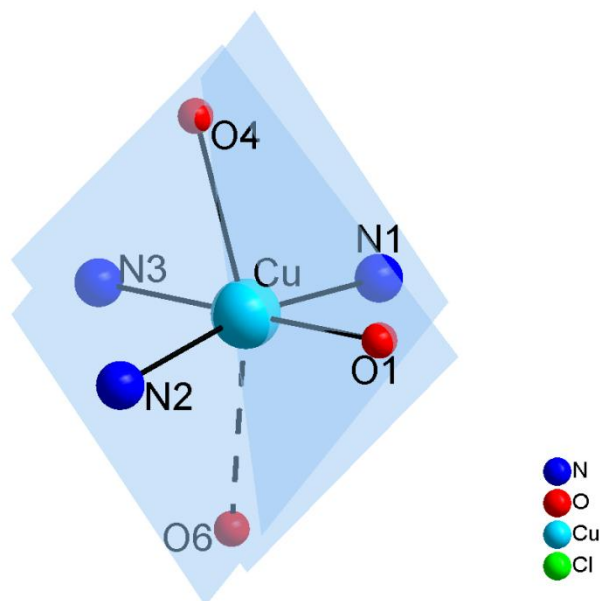


Figura 26. Ângulos diedros composto **4**. Para maior clareza os átomos de hidrogênio e carbono foram omitidos.

Os valores medidos para as distâncias de ligações entre os átomos de cobre e nitrogênios aromáticos e estão entre 1.997(9) Å e 1.998(5) Å e estão de acordo com os valores encontrados na literatura.^{92,93} A distância de ligação entre os átomos de cobre e nitrogênio imínico é 2.039(6) Å e está de acordo com os valores encontrados na literatura.^{77,94} Observam-se que a distância de ligação entre os átomos de cobre e oxigênio do álcool da TRIZMA® protonado é 2.338(3) Å e está de acordo com os valores encontrados na literatura.^{95,96} A ligação entre os átomos de cobre e oxigênio apresenta um valor de 1.946(4) Å e está de acordo com os valores encontrados na literatura.^{97,98}

Os demais valores de comprimento de ligação e ângulos relevantes obtidos pela análise estrutural do composto **4** estão listados na **Tabela 5**.

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
Cu-N(1)	1,99979(24)	N(1)-Cu-N(2)	168,006(94)
Cu-N(2)	1,9985(24)	N(3)-Cu-O(1)	176,122(79)
Cu-N(3)	2,0390(24)	O(4)-Cu-O(6)	160,626(80)
Cu-O(1)	1,99464(22)		
Cu-O(4)	2,3383(18)		
Cu-O(6)	2,6330(25)		

Tabela 5. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo **4**. Desvios padrão entre parênteses.

Para o complexo **4**, o qual se inclui no grupo espacial centrossimétrico P21/c, a reprodução sistemática do conteúdo da cela unitária pode ser prevista a partir da análise dos operadores de simetria contidos na rede monoclinico, segundo dados da *International Tables for Crystallography*.⁶⁰

Observa-se que ao comparar o diagrama com a projeção do conteúdo da cela dos compostos na **Figura 27** é possível encontrar a relação entre ambas.

Verificam-se quatro moléculas do complexo na cela unitária e a presença dos elementos de simetria: *identidade*, *centros de inversão*, *eixos de rotação C2* e *glides*.

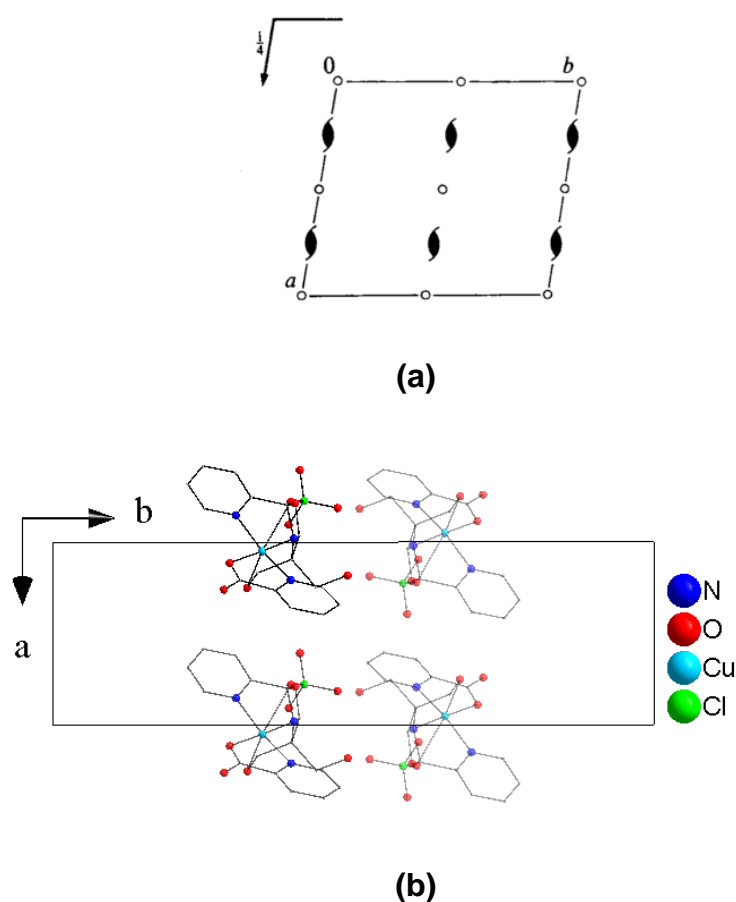


Figura 27. Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária monoclinica vinculada ao grupo espacial P21/c. Fonte: *International Tables for Crystallography*.⁶⁰ **(a)** e representação da projeção do conteúdo da cela unitária monoclinica do composto **4** na direção cristalográfica b **(b)** Para maior clareza, foram omitidos os solvatos e os átomos de hidrogênio.

5.1.5. Composto **5** tetra- μ_3 ((1,3-propanodiol-2-amino-2-(hidroximetil)-2-(pirrol-2)tetra-cobre.

A través da reação *in situ* entre os reagentes 2-pirrolcarboxialdeído e a TRIZMA® com o sal perclorato de cobre (II), o composto **5** foi obtido. O composto **5** cristalizou no sistema monoclinico, grupo espacial Cc (N° 9 – *International Tables for Crystallography*),⁶⁰ e inclui 4 moléculas do composto na cela unitária. Realizadas as análises das condições a simetria de Laue encontrada foi 2/m. A

Tabela 10 (Anexo) reúne as informações complementares sobre a coleta de dados e refinamentos da estrutura cristalina do complexo.

A **Figura 28** apresenta a estrutura do composto **5**, com os principais átomos identificados.

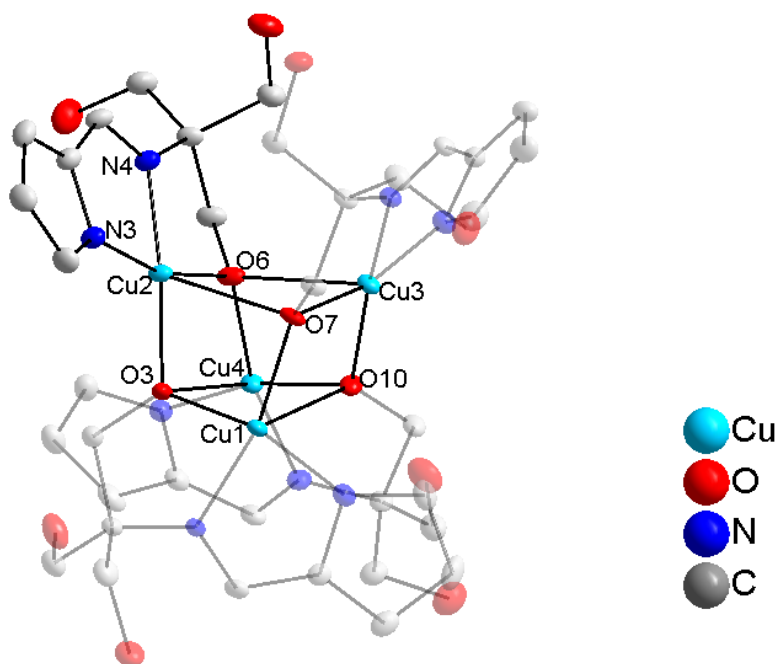


Figura 28. Representação da estrutura cristalográfica do composto **5**. Elipsóide 50%, para maior clareza, foram omitidos os átomos de hidrogênio.

O resultado da análise de difração de Raios X de monocristal mostrou que a estrutura do composto **5** é significativamente semelhante à estrutura desenvolvida por Xie e colaboradores.⁷⁷

Pode-se observar que o composto **5** é um tetrâmero simétrico. O ligante coordena-se ao centro metálico de forma polidentada, com três sítios de coordenação, sendo um nitrogênio aromático, um nitrogênio imínico e um oxigênio da função alcoólica desprotonado. Como já foi discutido no referencial teórico e na discussão estrutural do composto **3**, são reportadas na literatura a formação de

tetrâmeros de Cu com ligantes de base de Schiff.^{15,16} Portanto a formação do tetrâmero, embora não tenha sido prevista, não é incomum. Como já foi explícito na discussão estrutural do composto **3**, este comportamento é bem visto, pois pode aumentar atividade biológica do composto sintetizado.

No complexo **5** cada centro simétrico de cobre apresenta um número de oxidação (II) e uma geometria bipirâmide de base trigonal distorcida, evidenciado pelos ângulos diedros representados na **Figura 29**.

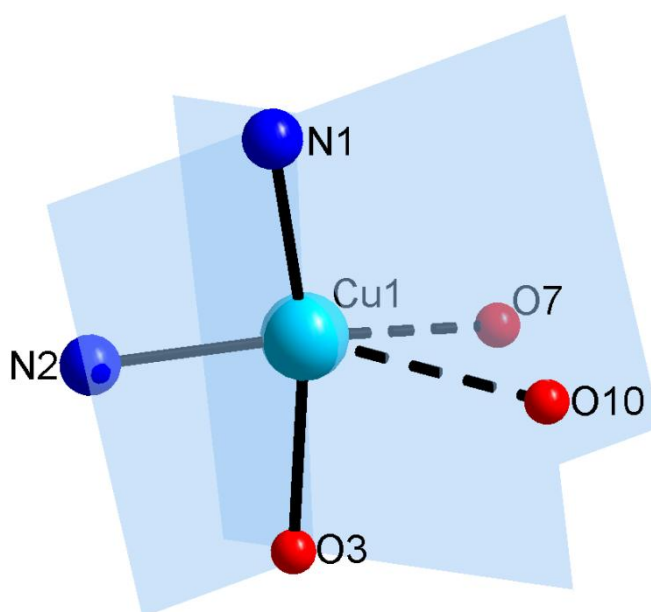


Figura 29. Projeção ângulos diedros do composto **5**.

Os valores medidos para as distâncias de ligações entre os átomos de cobre e nitrogênios pirrólicos estão entre 1.949(3) Å e 1.956(3) Å e estão de acordo com os valores encontrados na literatura.⁹⁹⁻¹⁰¹ As distâncias de ligações entre os átomos de cobre e nitrogênio imínico estão entre 1.932(3) Å e 1.970(3) Å e estão de acordo com os valores encontrados na literatura.^{99,100} Observa-se que a distância de ligações entre os átomos de cobre e oxigênio alcoólico desprotonado é 2.338(3) Å e está de acordo com os valores encontrados na literatura para ligações μ_2 .^{102,103}

Demais valores de comprimento de ligação e ângulos relevantes obtidos pela análise estrutural do complexo **5** estão listados na **Tabela 6**.

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
Cu(1)-N(1)	1,949(3)	O(7)-Cu(1)-N(2)	163,32(11)
Cu(1)-N(2)	1,943(3)	O(7)-Cu(1)-N(1)	107,07(11)
Cu(2)-N(3)	1,943(3)	(3)-Cu(1)-N(1)	162,91(10)
Cu(2)-N(4)	1,970(3)	O(10)-Cu(3)-N(5)	105,96(11)
Cu(3)-N(5)	1,948(3)	N(5)-Cu(3)-O(7)	163,11(10)
Cu(3)-N(6)	1,969(2)	O(10)-Cu(3)-N(6)	167,44(11)
Cu(4)-N(7)	1,956(3)	N(3)-Cu(2)-O(6)	163,54(11)
Cu(4)-N(8)	1,932(3)	N(3)-Cu(2)-O(3)	104,94(11)
Cu(1)-O(3)	1,943(2)	O(3)-Cu(2)-N(4)	165,15(11)
Cu(1)-O(7)	1,936(2)	O(6)-Cu(4)-N(8)	165,34(11)
Cu(2)-O(3)	1,954(2)	O(6)-Cu(4)-N(7)	105,34(12)
Cu(3)-O(10)	1,941(2)	N(7)-Cu(4)-O(10)	165,25(11)
Cu(3)-N(5)	1,948(3)		
Cu(3)-O(7)	1,950(2)		
Cu(4)-O(6)	1,906(2)		
Cu(4)-O(10)	1,959(2)		

Tabela 6. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo **5**. Desvios padrão entre parênteses.

Para o composto **5**, o qual se inclui no grupo espacial Cc, a reprodução sistemática do conteúdo da cela unitária pode ser prevista a partir da análise dos operadores de simetria contidos na rede monoclinica, segundo dados da

International Tables for Crystallography.⁶⁰ Observa-se que ao comparar o diagrama com a projeção do conteúdo da cela dos compostos **Figura 30**, é possível encontrar a relação entre ambas.

Verificam-se quatro moléculas no composto na cela unitária e a presença dos elementos de simetria: *identidade*, *glide*.

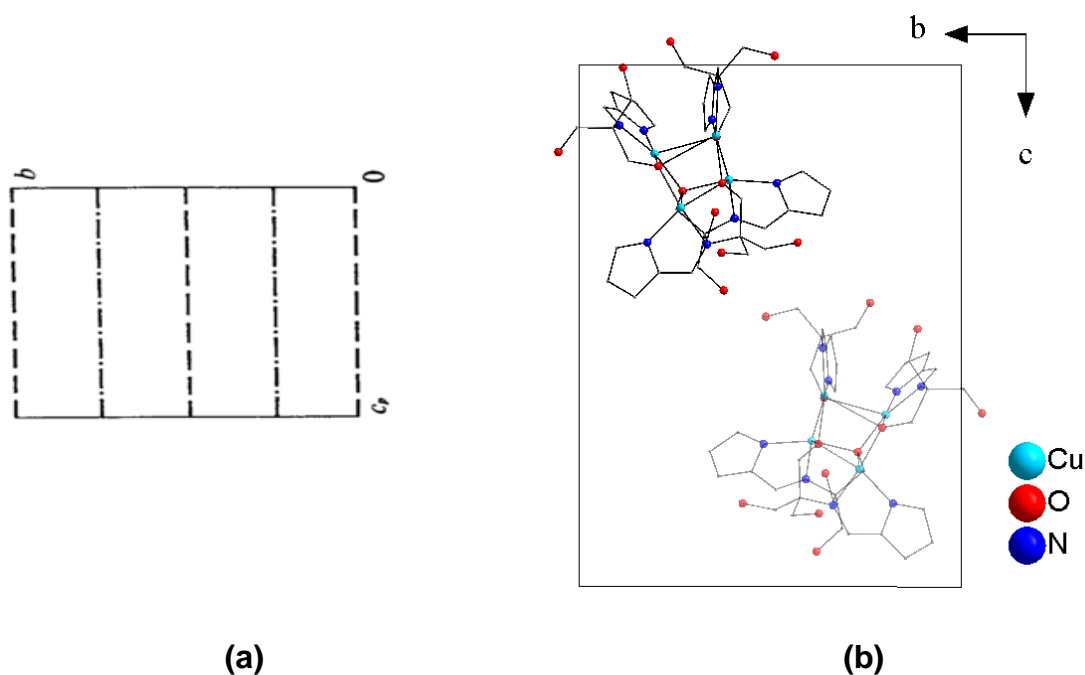


Figura 30. Representação dos operadores de simetria contidos na cela unitária monoclinica vinculada ao grupo espacial Cc. Fonte: *International Tables for Crystallography*.⁶⁰ (a) e representação da projeção do conteúdo da cela unitária monoclinica do composto **5** na direção cristalográfica a (b) Para maior clareza, foram omitidos os solvatos e os átomos de hidrogênio.

5.2- Análise da atividade SOD dos complexos 3, 4 e 5.

Os ensaios para avaliar a atividade SOD dos compostos de **3, 4 e 5** foram realizados conforme o procedimento descrito no Capítulo 4 Seção 4.5 os compostos **1 e 2** não apresentaram atividade SOD. É possível que o número de oxidação (IV) do centro metálico de manganês no composto **1** e os estados de oxidação mistos (II)

e (III) dos centros metálicos de cobaltos no composto **2** não tenham favorecido a atividade SOD.

5.2.2. Atividade SOD do composto **3**.

Observando o gráfico mostrado na **Figura 31**, encontra-se um valor de IC_{50} de 0,065 um o composto **3**. Tal valor indica que o complexo **3** pode atuar como um possível mimético da SOD-1, uma vez que dos três compostos analisados esse mostrou a melhor atividade SOD.

Este estudo não teve o intuito de elucidar o mecanismo de ação do complexo frente ao íon superóxido. Contudo, como já foi discutido antes no capítulo 3, uma molécula de H_2O lábil coordenada ao centro metálico de cobre é um indicativo para a interação do íon superóxido com o centro metálico. O composto **3** apresenta, uma molécula de água fracamente coordenado a cada um dos átomos de cobre, é portanto um dos fatores a que se atribuiu o baixo valor de IC_{50} .

Os compostos **3** e **5**, ambos tetrâmeros de cobre, apresentaram a melhor atividade mimética ao sítio ativo SOD. Segundo a literatura, é possível que o aumento de centros metálicos, seja um dos fatores que contribua para o aumento da atividade SOD.⁷³

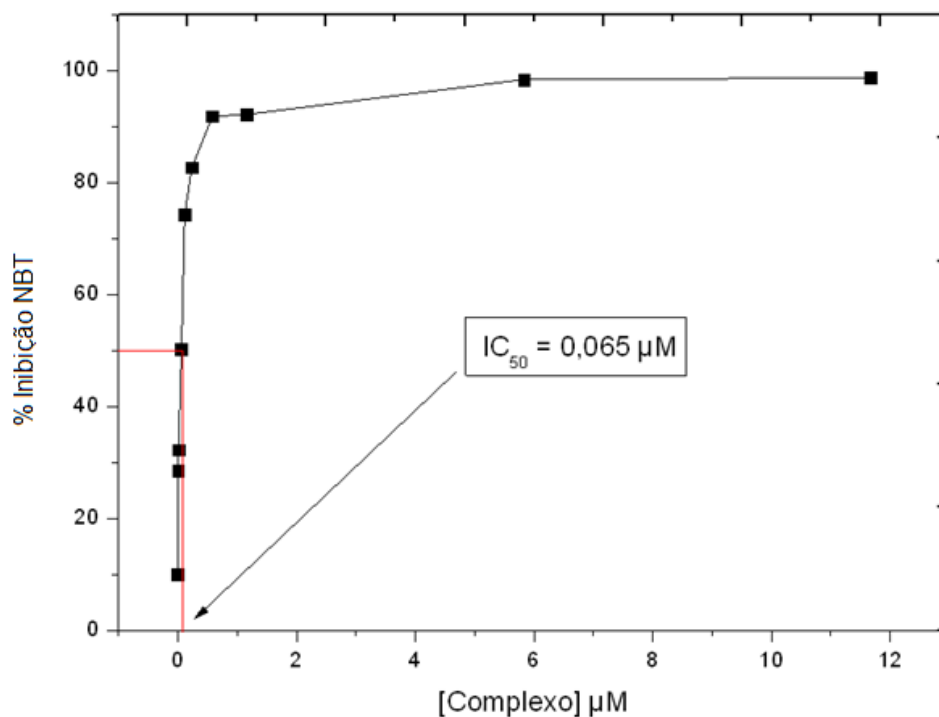


Figura 31. Gráfico mostrando o percentual de inibição do NBT versus a concentração do composto **4** e seu respectivo IC_{50} .

5. 2. 3. Atividade SOD do composto **4**.

Observando o gráfico mostrado na **Figura 32**, encontra-se um valor de IC_{50} de $0,43 \mu\text{M}$ para o composto **4**.

Neste caso o complexo apresenta-se na forma catiônica e o ânion perclorato faz uma interação entre um dos oxigênios e o centro metálico. Possivelmente esta interação seja plausível em estado sólido e em solução sua interferência possa ser minimizada, sendo assim, existe a possibilidade de uma aproximação do íon superóxido ao orbital do cobre, possibilitando uma dismutação do substrato. Apesar do valor de IC_{50} não apresentar uma relação acima das expectativas como no caso do composto **3**, ainda assim os resultados revelam índices de atividade antioxidante muito promissores.

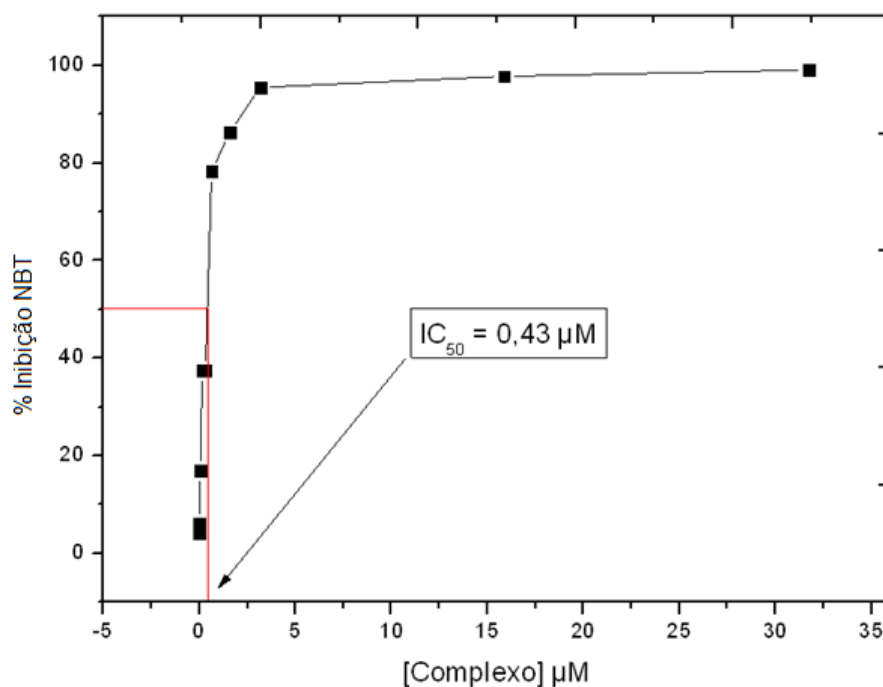


Figura 32. Gráfico mostrando o percentual de inibição do NBT versus a concentração do composto **4** e seu respectivo IC_{50} .

5. 2.4. Atividade SOD do composto **5**.

Observando o gráfico mostrado na **Figura 33**, encontra-se um valor de IC_{50} de $0,19 \mu\text{M}$ para o composto **5**. A esfera de coordenação do centro metálico do composto **5** tem uma geometria de bipirâmide de base trigonal, semelhante à geometria da enzima nativa e uma molécula de água com uma ligação fraca em cada átomo de cobre. Como já foi discutido no tópico 5.2.1 a molécula de água fracamente coordenada ao centro metálico de cobre é um forte indicativo para o funcionamento mecanismo da enzima SOD nativa, pois possibilita a aproximação do íon superóxido.³⁷

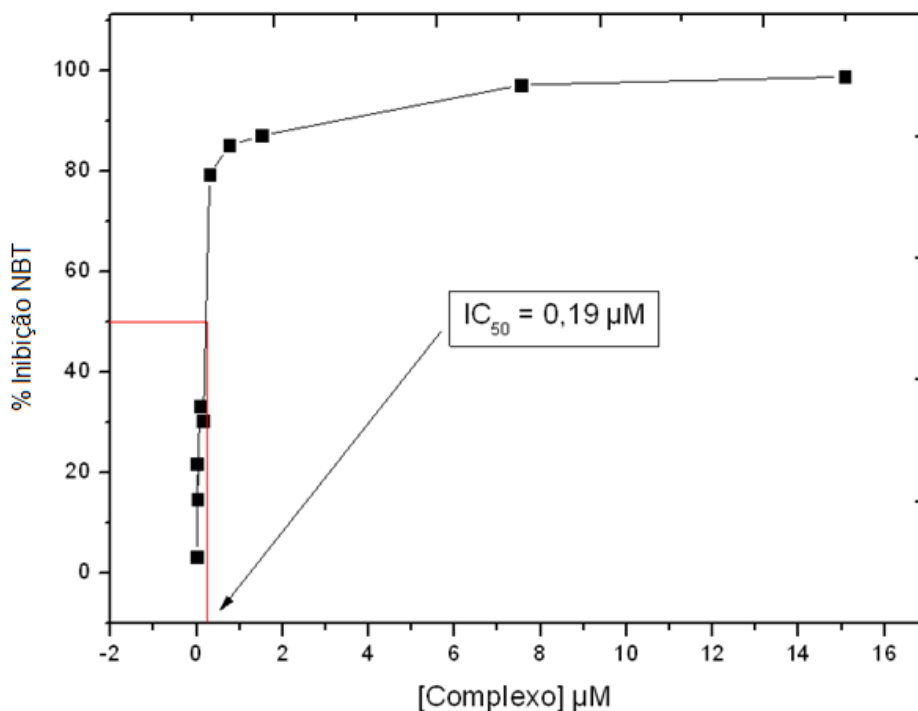


Figura 33. Gráfico mostrando o percentual de inibição do NBT versus a concentração do composto **5** e seu respectivo IC_{50} .

Yuan e colaboradores¹⁰⁴ sintetizaram dois novos complexos polinucleares de cobre e zinco, e testaram a atividade SOD, dos complexos sintetizados, com indicador NBT, através da mesma metodologia do presente trabalho. Os valores de IC_{50} para SOD dos complexos sintetizados por Yuan e colaboradores¹⁰⁴ foram 1,96 μM e 1,97 μM , e esses valores foram considerados relativamente bons pelos autores.

Contudo os valores de IC_{50} para os compostos **3**, **4** e **5** são superiores aos resultados de Yuan e colaboradores e estão mais próximos do valor de IC_{50} da enzima natural que é 0,04 μM .

Na **Tabela 7** são listados os valores de IC_{50} de todos os complexos e seus respectivos valores de constantes McCord–Fridovich (κMcCF)

Complexo	IC ₅₀ μM	κMcCF(M ⁻¹ s ⁻¹) x10 ⁶
3	0,065	34,72
4	0,43	5,249
5	0,19	11,88

Tabela 7. Valores de IC₅₀ e das constantes cinéticas para os complexos **3-5**.

As constantes de velocidade mostradas na **Tabela 7** estão na faixa de $0,0524 \times 10^6 - 0,3472 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Isto indica que este modelo apresenta uma atividade SOD boa.

Complexo	Concentração da amostra mol/L	Pico máximo de absorção em nm
3	$1,5 \cdot 10^{-5}$	305
4	$3,17 \cdot 10^{-5}$	390
5	$2,1 \cdot 10^{-5}$	300

Tabela 8. Dados da análise de UV/Vis para os compostos de **3-5**.

Com o objetivo de testar a estabilidade dos compostos **3**, **4** e **5** na presença do solvente dimetilformamida onde foi feita a solução inicial, realizou-se durante 240 minutos espectros de absorção na região UV-visível destes complexos. Observou-se que os compostos **3** e **4** permaneceram estáveis no decorrer de 240 minutos não apresentando decomposição ou alteração nos máximos de absorção ao longo deste período. Já o composto **5** apresentou variação na intensidade do seu pico máximo ao longo de 240 minutos.

CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Tendo em vista os objetivos propostos para este trabalho, e considerando os resultados experimentais obtidos, pode-se concluir que:

I - O composto **3** apresentou uma atividade antioxidante acima das expectativas, com índices de IC₅₀ comparados aos complexos de porfirinas de macrociclos.

II – Observou-se nos complexos **3** e **5** a formação de tetrâmeros, estruturas que podem aumentar a atividade biológica dos complexos, e ambos os tetrâmeros formados apresentaram atividade SOD, superior aos outros complexos.

III – Através das sínteses propostas obteve-se um exemplo de um monômero de Cu(II) não simétrico, formado a partir da hidrólise parcial do ligante, que até o presente momento é o único exemplo na literatura.

IV – O complexo de Mn é diferente do encontrado na literatura, pois apresenta um número de oxidação incomum Mn(IV).

VII – O dímero de cobalto apresenta dois centros metálicos com números de oxidação mistos Co (II) e Co (III).

VIII – Através das sínteses propostas obteve-se um composto cristalino de um tetrâmero de Mn assimétrico. Este composto não foi discutido neste trabalho, pois

devido ao tamanho diminuto do cristal sua análise de raios X foi de baixa qualidade. Contudo este composto é um bom indicativo de que as sínteses propostas podem, como perspectivas futuras, formar mais complexos polinucleares com diferentes metais de transição.

REFERÊNCIAS

1. Puglisi, A. T.; Vecchio, G.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2004**, 98, 969.
2. Riley, D. P.; *Chemical Reviews*, **1999**, 99, 2573.
3. Turrens, J. F.; *Superoxide Dismutase and Catalase; Comprehensive Toxicology* (Second Edition), **2010**, Volume 4, 219.
4. Turrens, J. F.; *Superoxide Dismutase and Catalase; Comprehensive Toxicology* (Second Edition), **2010**, Volume 4, 219.
5. D. Allan Butterfield, *Free Radical Biology and Medicine*, **2014**, 74, 157.
6. United States, Patent Application Publication Pub. No.: US 2014/0212508 A1
John Wayne Kennedy, Stevensville.
7. Patterson, D.; Warner, H. R.; Fox, L. M.; Rahmani, Z. *Molecular Genetic Medicine*, **1994**, 4, 79.
8. Philippe Becuwe, Marie Ennen, Rémi Klotz, Claire Barbieux, Stéphanie Grandemange - *Free Radical Biology and Medicine*.
9. Huang, P.; Feng, L.; Oldham, A. E.; Keating, J. M.; Plunkett, W.; *Nature*, **2000**, 407, 390.
10. John, L. C.; Kastan, B. M.; *Nature*, **2000**, 407, 309.
11. Saczewski, F.; Dziemidowicz-Borys, E.; Bednarski, J. P.; Gruñert, R.; Gdaniec, M.; Tabin, P.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2006**, 100, 1389.
12. Devereux, M.; Shea, O. D.; Kellett, A.; McCann, M.; Walsh, M.; Egan, D.; Deegan, C.; Kedziora, K.; Rosair, G.; Müller-Bunz, H.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2007**, 101, 881.
13. Santos, M. L. P.; Faljoni-Alario, A.; Mangrich, A. S.; Ferreira, A. M. C.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **1998**, 71, 71.

14. Ferguson, A.; Thomas, L. H.; Murrie, M.; *Polyhedron*, **2013**, 52, 227.
15. Dey, M.; Rao, P. C.; Saarenketo, P. K.; Rissanen, K.; *Inorganic Chemistry Communications*, **2002**, 5, 380.
16. Raptopoulou, C. P.; Sanakis, Y.; Psycharis, V.; Pissas, M.; *Polyhedron*, **2013**, 64, 181.
17. Zabierowski, P.; Radoń, M.; Szklarzewicz, J.; Nitek, W.; *Inorganic Chemistry Communications*, **2014**, 41, 72.
18. Gomes, L. M. F.; Vieira, R. P.; Jones, M. R.; Wang, M. C. P.; Dyrager, C.; Souza-Fagundes, M. E.; Da Silva, J. G.; Storr, T.; Beraldo, H.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2014**, 139, 106.
19. Dong, X.; Li, Y.; Li, Z.; Cui, Y.; Zhu, H.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2012**, 108, 22.
20. Vázquez-Fernández, M. Á.; Bermejo, M. R.; Fernández-García, M. I.; González-Riopedre, G.; Rodríguez-Doutón, M. J.; Maneiro, M.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2011**, 105, 1538.
21. Tai, A.; Sawano, T.; Yazama, F.; Ito, H.; *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, **2011**, 1810, 2, 170.
22. Nesterova, V. O.; Chygorin, N. E.; Kokozay, N. V.; Bon, V. V.; Omelchenko, V. I.; Shishkin, V. O.; Titiš, J.; Boča, R.; Pombeiro, J. L. A.; Ozarowski, A.; *Dalton Trans.* **2013**, 42, 16909.
23. Tsotsoros, S. D.; Bate, A. B.; Dows, M. G.; Spell, S. R.; Bayse, C. A.; Farrell, N. P.; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2014**, 132, 2.
24. Finkel, T.; Holbrook, T. J.; *NATURE*. **2000**, 408, 9.

25. Harman, D. *J. Gerontol* **1957** 2, 298, in Finkel, T.; Holbrook, T. J.; *NATURE*, **2000** 408, 9.
26. Andreoli, T. E.; *Am J Med*, **2000**, 108, 650.
27. Edrey, Y. H.; Salmon, A. B.; *Free Radical Biology and Medicine*, **2014**, 71, 368.
28. Reverri, E. J.; Morrissey, B. M.; Cross, C. E.; Steinberg, F. M.; *Free Radical Biology and Medicine*, **2014**, 76, 261.
29. Smith, M. A.; Rottkamp, C. A.; Nunomura, A.; Raina, A. K.; Perry, G.; *Biochimica et Biophysica Acta*, **2000**, 1502, 139.
30. Butterfield, A. D.; *Free Radical Biology and Medicine*, **2014**, 74, 157.
31. McCord, M. J.; *Am J Med*, **2000**, 108, 652.
32. McCord, M. J.; Fridovich, I.; *The Journal of Biological Chemistry*, **1969**, 244, 6049.
33. Fu, H.; Zhou, Y-H.; Chen, W-L.; Deqing, Z-G.; Tong, M-L.; Ji, L-N.; Mao Z-W.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 4924.
34. Smirnov V. V.; Roth, J. P.; *J. AM. CHEM. SOC*, **2006**, 128, 16424.
35. Fielden, E. M.; Roberts, P. B.; *J. Biochem*, **1974**, 139, 49.
36. Müller J.; Schiibl, D.; Maichle-Mössner C.; Strähle, J.; Weser U.; *J. Inorg. Biochemistry*, **1999**, 75, 63.
37. Kaim, W., Schwederski, B., *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the chemistry of life* an introduction and guide; John Wiley & Sons A textbook series; New York, **1994**.
38. Shepard, W. E. B.; Anderson, B. F.; Lewandoski, D. A.; Norris, G. E.; Baker, E. N.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 7817.

39. John R. J. Sorenso *Journal of Medicinal Chemistry*, **1976**, Vol. 19, No. 1.
40. Schepetkin, I.; Potapov, A.; Khlebnikov, A.; Korotkova, E.; Lukina, A.; Malovichko, G.; Kirpotina L.; Quinn, T. M.; *J BiollnorgChem*, **2006**, 11, 499.
41. Potapov, A. S.; Nudnova, E. A.; Domina, G. A.; Kirpotina, L. N.; Quinn, M. T.; Khlebnikov, A. I.; Schepetkin, I. A.; *Dalton Trans.*, **2009**, 4488.
42. Czapski, G.; Goldstein, S.; *Free Radic. Res. Commun.*, **1991**, 167, 12.
43. Jijrg Müller, Dieter Schübl, Ckilia Maichle-M6ssmer, Joachim Strle, Ulrich Weser, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **1999**, 75, 63.
44. Guo, Y.; Huang, J.; Huang, Y.; Wang J.; Yu, Y.; *Acta Cryst*, **2011**, E67, m1098.
45. Guo, Y.; Li, L.; Liu, Y.; Dong, J.; Wang, D.; *Acta Cryst*, **2008**, E64, m675–676.
46. Dong, J.-F., Li, L.-Z., Xu, H.-Y. & Wang, D.-Q. *Acta Cryst*, **2007**, E63, m2300.
47. Chygorin, E. N.; Smal, Y. O.; Kokozaya V. N.; Omelchenko, I. V.; *Acta Cryst*. **2014**, E70, m54–m55.
48. Dey, M.; Rao, C. P.; Saarenketo, P. K.; Rissanen, K.; *Inorg. Chem. Commun.* **2002**, 5, 380.
49. Gungor, E.; Kara, H.; Colacio, E.; e Mota J. A; *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, 1552.
50. R. Mergehenn, W. Haase, *Acta Crystallogr., Sect. B* **1977**, 33, 1877.
51. E. Ruiz, S. Alvarez, A. Rodríguez-Fortea, P. Alemany, *J. Mater. Chem.* **2006**, 16, 2729.
52. Dey S. K. and Arindam Mukherjee; *New J. Chem.* **2014**, 38, 4985.

53. Catherine P. Raptopoulou, Sanakis, Y.; Psycharis, V.; Pissas, M.; *Polyhedron*, **2013**, 64, 181.
54. Perrin, D.; Armarego, W. L. F.; *Purification of Laboratory Chemicals*, **1998**, 3^a ed., Pergamon Press, Oxford, EUA.
55. Sheldrick, G. M. SHELXS -97. *Program for crystal structure Solution and Refinement*. Universidade of Göttingen, **1987**, Alemanha.
56. Sheldrick, G. M. SHELXL-97. *Program for Crystal Structure Refinement*, Universidade de Göttingen, **1997**, Alemanha.
57. Branderburg, K., Berndt, M.; *J. Appl. Cryst.* "DIAMOND: *Visual Crystal Structures Information System*, **1999**, 1028, 32.
58. Piacham, T. Na Ayudhya, I.C.; Prachayasittikul, V.; Bülowa, L.; Ye. L. *Chem. Commun.*, **2003**, 1254–1255.
59. Liao, Z.; Zheng, X.; Luo, B.; Shen, L.; Li, D.; Liu, H.; Zhao, W.; *Polyhedron*, **2001**, 20, 2813.
60. Han, T.; *International Tables for Crystallography, Vol. A Space-Group Symetry*, 5th ed., The International Union of Crystallografy, Springer, Dordrecht, Holland, **1987**.
61. Zhang, X.; PeihaiWei, P.; Dou, J.; Lia, B.; Huc, Bo.; *ActaCryst*, **2009**, E65, m293.
62. Guo, Y.; Huang, J.; Huang, Y.; Wang, J.; Yu Y.; *ActaCryst*, **2011**, E67, m1098.
63. Pradeep, C. P.; Zacharias, P. S.; S. K. Das S. K.; *J.Chem. Sci*, **2006**, 118,311.
64. Nayak, S.; Novitchi, G.; Mucbe, S.; Luneau, D.; Dehnen S.; *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2012**, 638, 1127.

65. Pradeep, C. P.; Zacharias, P. S.; Das, S. K; *Polyhedron*, **2005**, 24,1410.
66. H. Asada, M. Ozeki, M.Fujiwara, T.Matsushita *Polyhedron*, **2002**, 21, 1139.
67. Zhu, W.; Zhang, S.; Cui C.; Bi, F.; Ke, F.; Xie G.; Chen S.; *Inorganic Chemistry Communications*, **2014**, 46, 315.
68. Lv, J.; Liu, T.; Cai, S.; Wang, X.; Liu, Lei.; Wang, Y.; *J.Inorg.Biochem*, **2006**, 100,1888.
69. Belokon, N. Y.; Belikov, M. V.; Vitt, S. V.; Savel'eva, T. F.; Burbelo, V. M.; Bakhmutov, V. I.; Aleksandrov, G. G.; Struchkov, Y. T.; *Tetrahedron*, **1977**, 33, 2551.
70. Ondracek, J.; Jursik, F.; Maixner, J.; Kratochvil, B.; *ActaCrystallogr.Sect. C: Cryst. Struct. Commun*, **1990**, 46,1821.
71. Belokon, Y. N.; Maleev, V. I.; Kataev, D. A.; Mal'fanov, I. L.; Bulychev, A. G.; Moskalenko, M. A.; Saveleva, T. F.; Skrupskaya, T. V.; Lyssenko, K. A.; Godovikov, I. A.; North M.; *Tetrahedron: Asymm*, **2008**, 19, 822.
72. Ke, H.; Zhao, L.; Guo, Y.; Tang J.; *Dalton Trans*, **2012**, 41, 9760.
73. Hu, L.; Jia, Z.; Tao, J.; Huang, R.; Zheng, L.; *Dalton Trans*, **2008**, 6113.
74. Dong, J-F.; Li, L-Z.; Xu H-Y.; Wang D-Q.; *Acta Cryst*, **2007**, E63, m2300.
75. Melník, M.; Koman, M.; Ondrejovic, G.; *Coordination Chemistry Reviews*, **2011**, 255, 1581.
76. Melnik, M.; Kabesova, M.; Koman, M.; Macaskova, L.; Holloway, E. C.; *J. Coord. Chem.* **1999**, 48, 291.
77. Xie, Y.; Ni, J.; Zheng,F.; Cui, Y.; Wang, Q.; Ng S. W.; Zhu W.; *Crystal Growth & Design*, **2009**, 9, 118.
78. Zhang, G.; Proni, G.; Zhao, S.; Constable, C. E.; Housecroft, E. C.; Neuburger, M.; and Zampes, J. A.; *Dalton Trans*, **2014**, 43, 12313.

79. Marino, N.; Armentano, D.; Mastropietro, T. F.; Julve, M.; De Munno, G.; and Martínez-Lillo, J.; *Inorg. Chem.*, **2013**, 52, 11934.
80. Yin, J.; Yin, T.; Gao, C.; Wang, B.; Zhu, Y.; Wu, Z.; and Gao, S.; *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2014**, 5385.
81. Qin, X.; Ding, S.; Xu, X.; Wang, R.; Song, Y.; Wang, Y.; Du, C. and Liu, Z.; *Polyhedron*, **2014**, 83, 36.
82. Jana, A.; Weyhermuller, T.; Mohanta, S.; *Cryst. Eng. Comm.*, **2013**, 15, 4099.
83. Modak, R.; Patra, S.; Mandal, S.; Sikdar, Y.; Goswami, S.; *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online*, **2013**, 69, m412.
84. Benaouida, M. A.; Benosmane, A.; Bouguerria, H.; Bouaoud, S. E.; Merazig E.; *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online*, **2013**, 69, m405.
85. Dong, J.; Li, L.; Xu, H.; Wang D.; *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online*, **2007**, 63, m2300.
86. Dey, M.; Rao, C. P.; Saarenketo, P. K.; Rissanen K.; *Inorg. Chem. Commun.*, **2002**, 5, 380.
87. Tandon, S. S.; Bunge, S. D.; Patel, N.; Thompson, L. K.; *Inorg. Chem. Commun.*, **2009**, 12, 1077.
88. Biswas, C.; Chattopadhyay, S.; Drew, M. G. B.; Ghosh, A.; *Polyhedron*, **2007**, 26, 4411.
89. Naiya, S.; Sarkar, B.; Song, Y.; Ianelli, S.; Drew, M. G. B.; Ghosh, A.; *Inorg. Chim. Acta*, **2010**, 363, 2488.
90. Solomons T. W. G.; e Fryhle B. G.; *Química Orgânica*, volume 1, Décima Ed. **2012**, 267.
91. Castle, N. R.; *J. Org. Chem.*, **1958**, 23, 69.

92. Li, R.; Zhao, P.; Tang, G.; Tang, T.; *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, **2008**, 64, m339.
93. Saravanabharathi, D.; Nethaji, M.; Samuelson, A. G.; *Proc. Indian Acad. Sci. Chem. Sci.*, **2002**, 114,347.
94. Sreenivasulu, B.; Zhao, F.; Gao, S.; Vittal J. J.; *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2006**, 2656.
95. Ding, S.; Gao, Y.; Ji, Y.; Wang, Y.; Liu, Z.; *Cryst. Eng. Comm*, **2013**, 15, 5598.
96. Wu, G.; Hewitt, I. J.; Mameri, S.; Lan, Y.; Clerac, R.; Anson, C. E.; Qiu, S.; Powell, A. K.; *Inorg.Chem.*, **2007**, 46, 7229.
97. Yang, Y.; Du, P.; Yang, J.; Kan, W.; Ma, J.; *Cryst. Eng. Comm.*, **2013**, 15, 4357.
98. Arbaoui, A.; Redshaw, C.; Sanchez-Ballester, N. M.; Elsegood, M. R. J.; Hughes, D. L.; *Inorganica Chimica Acta*, **2011**, 365, 96.
99. Chang, T. M.; Sinharay, S.;Astashkin, A. V.; Tomat E.; *Inorg. Chem.*, **2014**, 53, 7518.
100. Kikuchi, T.; Kabuto, C.; Yokoi, H.; Iwaizumi, M.; Mori, W.; *Chem.Commun.*, **1983**, 1306.
101. Borer, L. L.; Sinn, E.; *Inorg. Chim. Acta.*, **1988**, 142, 197.
102. Chumakov, Y. M.; Tsapkov, V. I.; Simonov, Y. A.; Antosyak, B. Y.; Bocelli, G.; Perin, M.; Starikova, Z. A.; Samus, N. M.; Gulya A. P.; *Koord. Khim. (Russ.) (Coord.Chem.)*, **2005**, 31,621.

103. Xie, Y.; Ni, J.; Zheng, F.; Cui, Y.; Wang, Q.; Ng, S. W.; Zhu W.;
Cryst.Growth Des. **2009**, 9, 118.

104. Yuan, Q.; Cai, K.; Qi, Z-P.; Bai, Z-S.; Su, Z.; e Sun, W-Y.;*Journal of
Inorganic Biochemistry*, **2009**, 103, 1156.

Anexos:

Complexo	1	2	3
Fórmula Empírica	C ₂₄ H ₃₀ MnN ₂ O ₁₀	C ₂₄ H ₄₀ ClCo ₂ N ₂ O ₁₅	C ₁₂ H ₁₇ CuNO ₆
Massa molar	561.44	749.89	334.81
Temperatura (K)	293	100(2)	293(2)
Radiação, λ (Å)	0.71073	0.71073	0.71073
Sistema Cristalino, grupo espacial	Tetragonal, P4 ₁ 2 ₁ 2	Monoclinic, Cc	Tetragonal, I41/a
Dimensões da cela unitária			
a(Å)	8.1620(2)	11.6492(3)	18.7960(9)
b(Å)	8.1620(2)	13.2349(3)	18.7960(9)
c(Å)	37.4557(11)	19.6786(6)	15.507(2)
α (°)	90	90	90
β (°)	90	105.9760(10)	90
γ (°)	90	90	90
Volume (Å ³)	2495.23(11)	2916.79(13)	5478.6(8)
Z, densidade calculada (g cm ⁻³)	4, 1.495	4, 1.708	16, 1.624
Coeficiente de absorção linear (nm ⁻¹)	0.590	1.306	1.619
F (000)	1172.0	1556	2768
Tamanho do Cristal (mm)	0.483 x 0.342 x 0.220	0.299 x 0.287 x 0.209	0.624 x 0.437 x 0.402
Região de varredura angular θ (°)	2.17 - 27.09	2.15 - 27.13	1.70 - 27.09
Região de varredura dos índices	-10 ≤ h ≤ 10 -9 ≤ k ≤ 10 -47 ≤ l ≤ 47	-14 ≤ h ≤ 14 -16 ≤ k ≤ 16 -24 ≤ l ≤ 25	-24 ≤ h ≤ 19 -6 ≤ k ≤ 24 -19 ≤ l ≤ 13
Número de reflexos coletados	20345	21403	4501
Número de reflexos independentes	2760	6240	2982
Integralidade da medida	99,9%	99.6 %	105.5 %
Correção de absorção	Gaussiana	Gaussiana	Gaussiana
Dados/restrições/parâmetros	2760 / 0 / 168	6240 / 9 / 399	2982 / 0 / 177
Goodness-of-fit em F ²	1.222	1.008	0.886
Índice R (int)	0.0423	0.0355	0.0471
Índices R finais [I > 2σ(I)]	0.0467	0.0320	0.0624
	0.1323	0.0715	0.1509
Índice R (todos os dados)*	0.0536	0.0380	0.0929
	0.1408	0.0742	0.1615
Densidade eletrônica residual (e Å ⁻³)	1.173 e -0.723	0.359 e -0.506	0.533 e -0.356

$$*R_1 = |F_o - F_c| / |F_o|; wR_2 = [w(F_o^2 - F_c^2)^2 / (w(F_o^2))]^{1/2}$$

Tabela 9: Dados da coleta de intensidades e do refinamento das estruturas cristalinas de **1**, **2** e **3**:

Anexos:

Complexo	4	5
Fórmula Empírica	C16 H17 Cl Cu N3 O9	C36 H48 Cu4 N8 O12
Massa molar	494.32	1038.98
Temperatura (K)	293(2)	293(2)
Radiação, λ (Å)	0.71073	0.71073
Sistema Cristalino, grupo espacial	Monoclinic, P21/c	Monoclinic, Cc
Dimensões da cela unitária		
a(Å)	8.0284(3)	12.2037(7)
b(Å)	24.6517(8)	15.5023(10)
c(Å)	10.1570(3)	20.9212(12)
α (°)	90	90
β (°)	111.035(2)	92
γ (°)	90	90
Volume (Å ³)	1876.25(11)	3954.7(4)
Z, densidade calculada (g cm ⁻³)	4, 1.750	4, 1.745
Coeficiente de absorção linear (nm ⁻¹)	1.365	2.196
F (000)	1008	2128
Tamanho do Cristal (mm)	0.599x0.561x0.194	0.255x0.226x0.141
Região de varredura angular θ (°)	1.65 - 27.29	1.95 - 27.16
Região de varredura dos índices	-9 ≤ h ≤ 10 -28 ≤ k ≤ 31 -13 ≤ l ≤ 13	-15 ≤ h ≤ 15 -19 ≤ k ≤ 19 -26 ≤ l ≤ 26
Número de reflexos coletados	23883	30634
Número de reflexos independentes	4198	8674
Integralidade da medida	99.3 %	99.8 %
Correção de absorção	Gaussiana	Gaussiana
Dados/restrições/parâmetros	4198 / 0 / 272	8674 / 2 / 542
Goodness-of-fit em F^2	1.046	0.999
Índice R (int)	0.0224	0.0361
Índices R finais [$I > 2\sigma(I)$]	0.0362	0.0300
Índice R (todos os dados)*	0.0989 0.0418 0.1021	0.0624 0.0368 0.0651
Densidade eletrônica residual (e Å ⁻³)	0.681 e -0.288	0.349 e -0.278

$$*R_1 = |Fo - Fc| / \sum |Fo|; wR_2 = [w(Fo^2 - Fc^2)^2 / (w(Fo)^2)]^{1/2}.$$

Tabela 10: Dados da coleta de intensidades e do refinamento das estruturas cristalinas de **4 e 5**:

Anexos:

Conjunto de espectros de infravermelhos obtidos dos compostos 1-5.

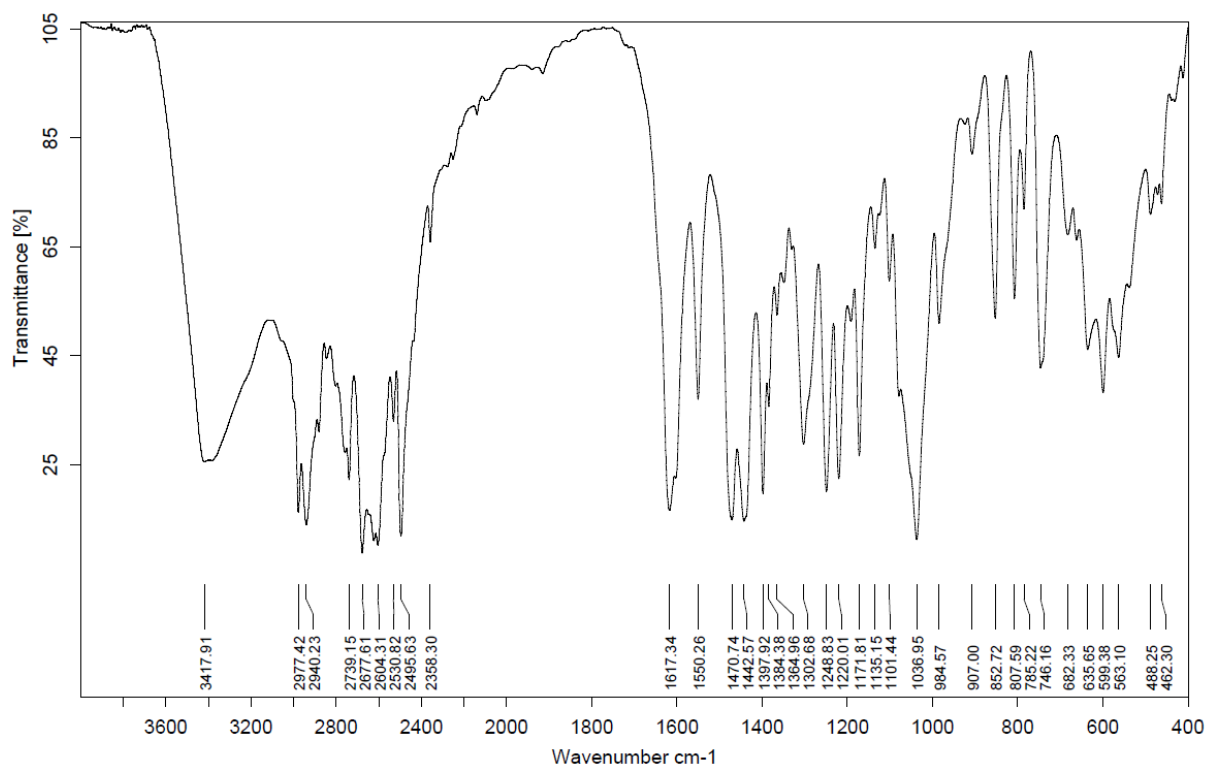


Figura 34: Espectro de infravermelho do composto 1.

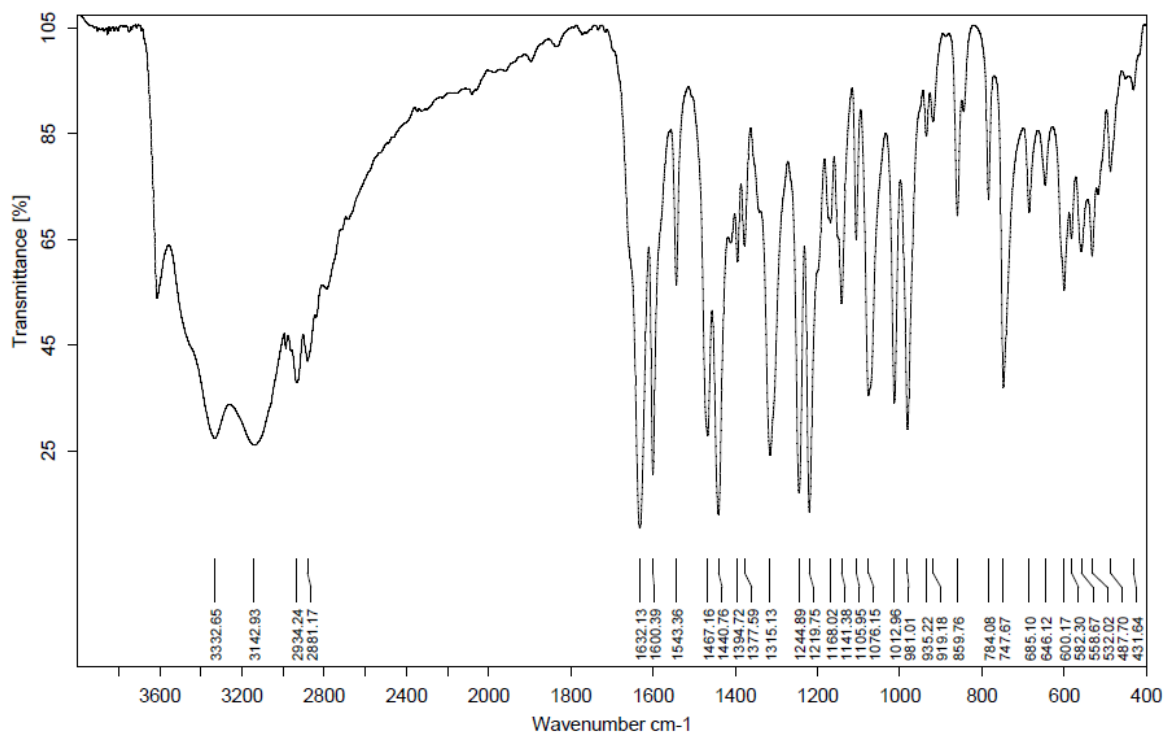


Figura 35: Espectro de infravermelho do composto 2.

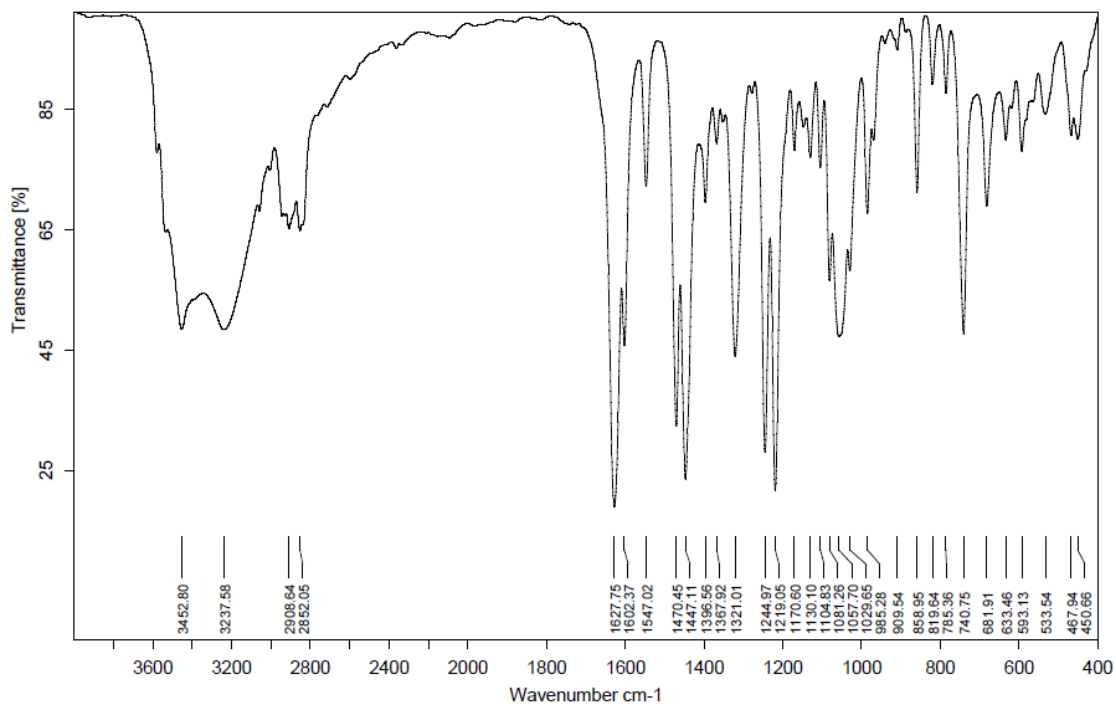


Figura 36: Espectro de infravermelho do composto 3.

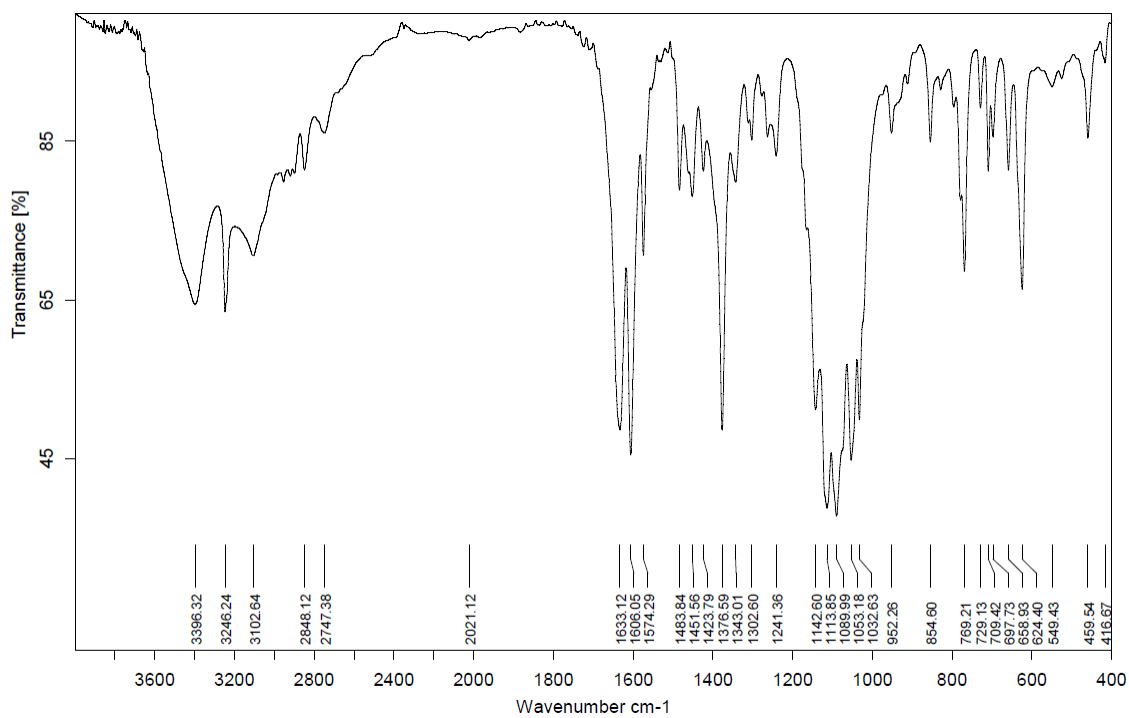


Figura 37: Espectro de infravermelho do composto 4.

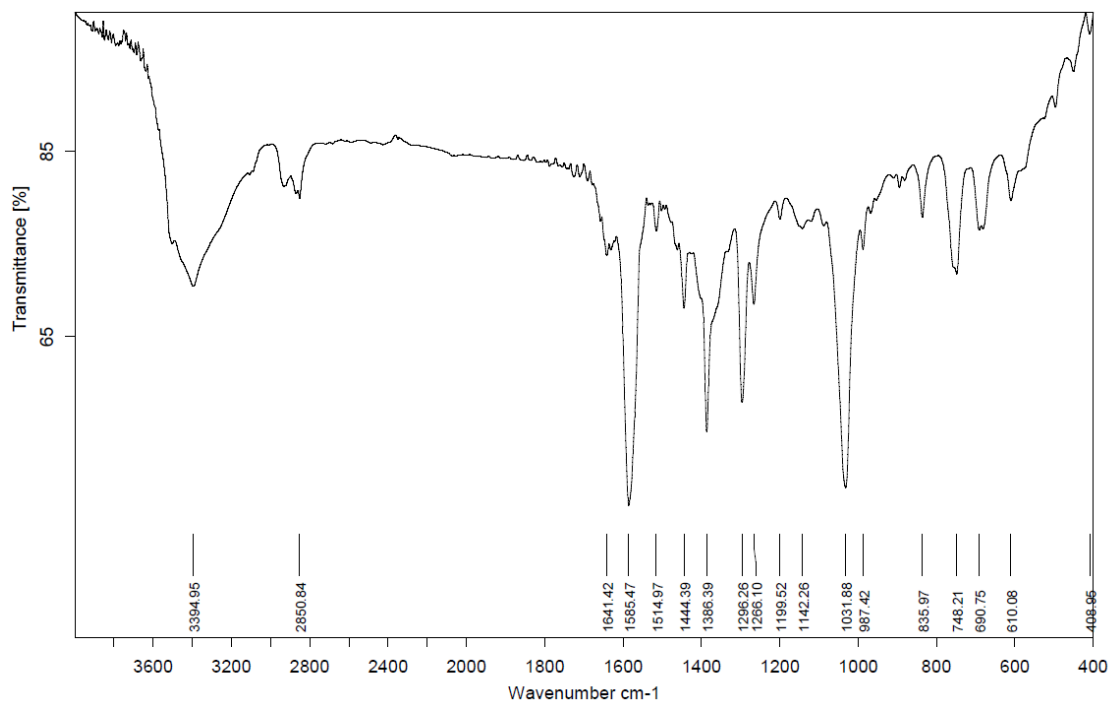


Figura 38: Espectro de infravermelho do composto 5.

Conjunto de espectros de ultravioleta, dos compostos 3-5, obtidos através de sucessivas medidas ao longo de 240 minutos.

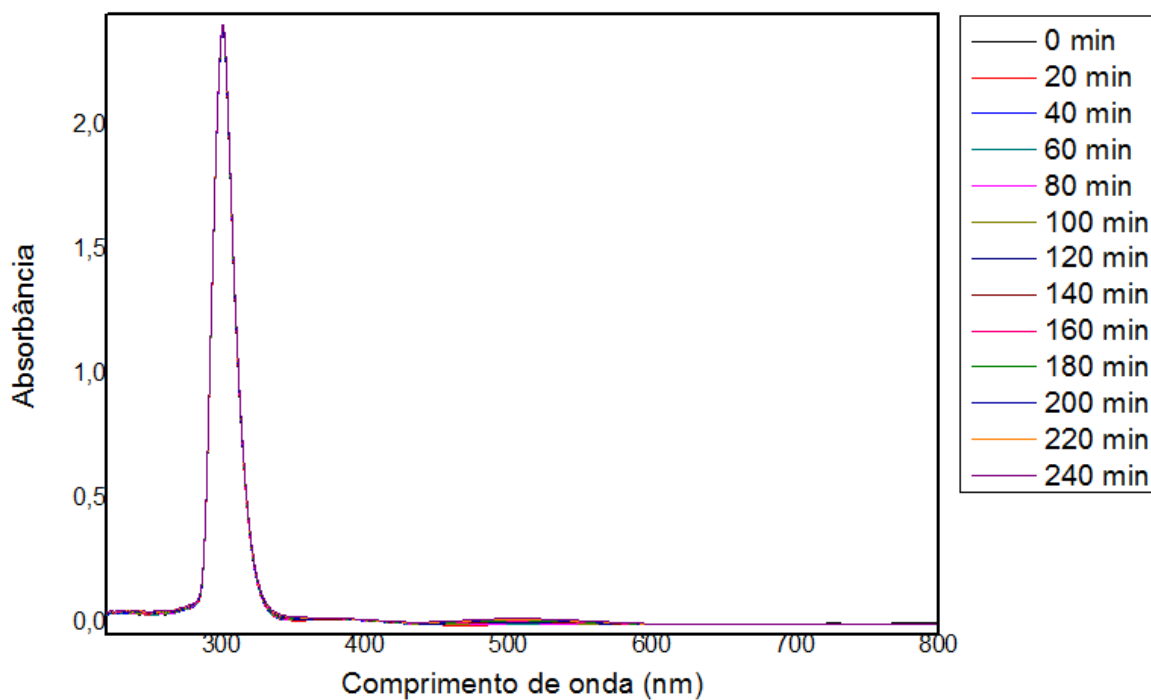


Figura 39: Espectro na região do ultravioleta e visível para o complexo 3.

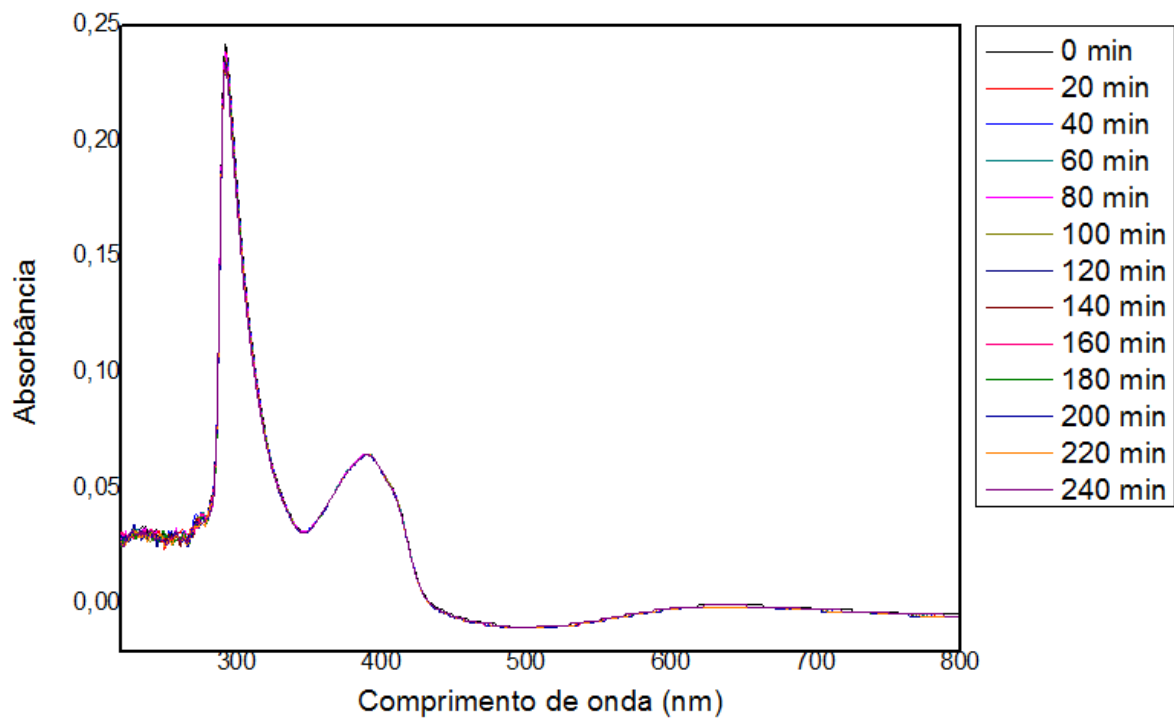


Figura 40: Espectro na região do ultravioleta e visível para o complexo 4.

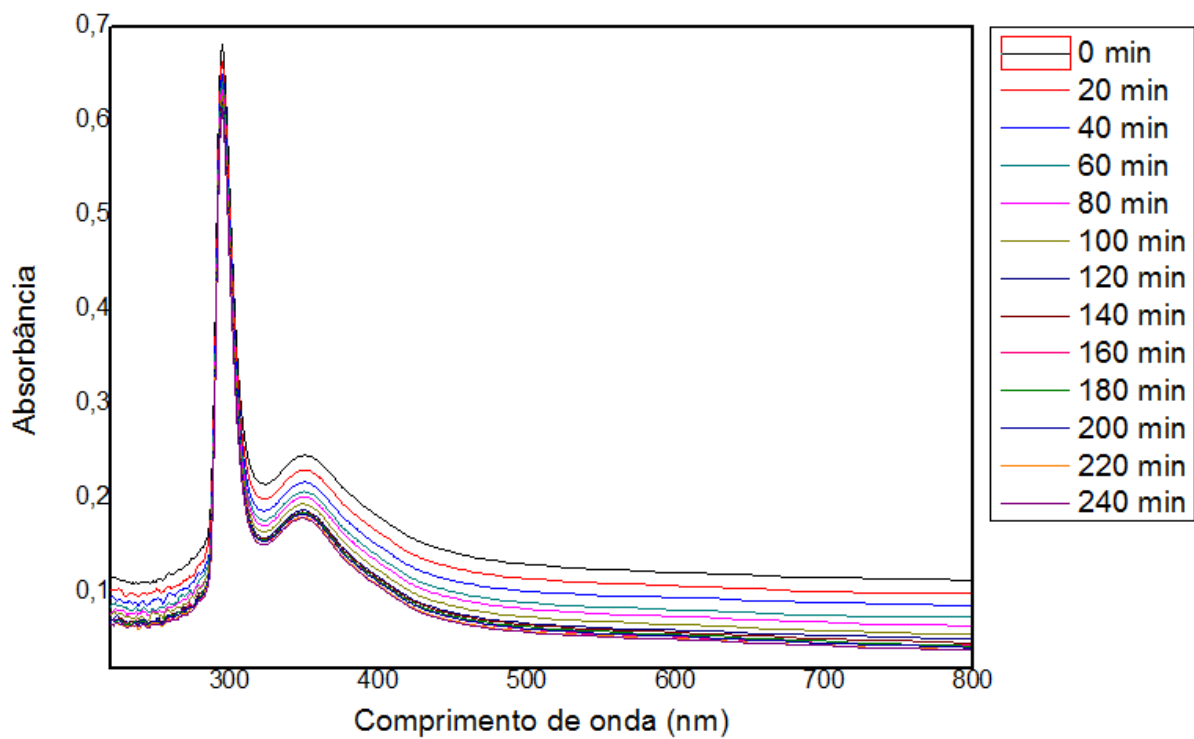
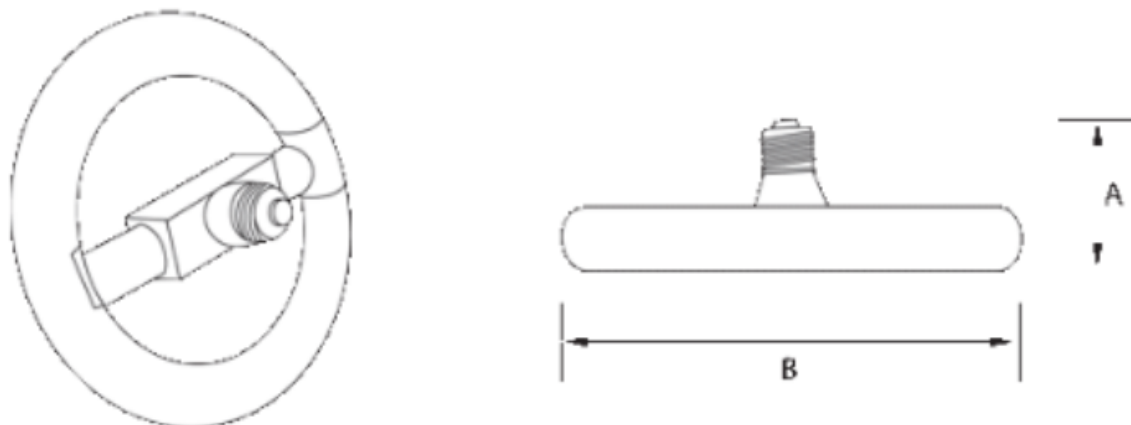


Figura 41: Espectro na região do ultravioleta e visível para o complexo 5.

Anexos:

Especificações técnicas das fontes luminosas:



Lâmpada fluorescente	Potência (W)	Base	Fluxo Luminoso (lm)	Temperatura da Cor (K)	Dimensões (mm)	
					A	B
Circular	22	E27	1251	6400	62	185