UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

*Espécies Polinucleares de Cobre e Ferro como
Catalisadores de Oxidação e Modelos de Sítios Ativos*

Wendel Andrade Alves

Tese de Doutorado

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria da Costa Ferreira

São Paulo

23/03/2005

DEDALUS - Acervo - CQ

30100010521

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Alves, Wendel Andrade
A474e Espécies polinucleares de cobre e ferro como catalisadores
de oxidação e modelos de sítios ativos / Wendel Andrade
Alves. -- São Paulo, 2005.
215p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade
de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Ferreira, Ana Maria da Costa

I. Complexos de cobre 2. Química bioinorgânica I. T.
II Ferreira, Ana Maria da Costa, orientador.

546.65225 CDD

“Espécies polinucleares de cobre e ferro como catalisadores de oxidação e modelos de sítios ativos”

WENDEL ANDRADE ALVES

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química – Área: Química Inorgânica.

Aprovado(a) por:

Profa. Dra. ANA MARIA DA COSTA FERREIRA
IQ – USP
(Orientadora e Presidente)

Prof. Dr. HENRIQUE EISI TOMA
IQ – USP

Prof. Dr. PAULO SÉRGIO SANTOS
IQ – USP

Profa. Dra. YASSUKO IAMAMOTO
FFCL-RP-USP

Prof. Dr. HUMBERTO OSÓRIO STUMPF
UFMG

SÃO PAULO
23 DE MARÇO 2005

Vinicius De Moraes

Libelo

De que mais precisa um homem senão de um pedaço de mar – e um barco com o nome da amiga, e uma linha e um anzol pra pescar ?

E enquanto pescando, enquanto esperando, de que mais precisa um homem senão

de suas mãos, um pro caníço, outra pro queixo, que é para ele poder se perder no infinito, e uma garrafa de cachaça pra puxar tristeza, e um pouco de pensamento pra pensar até se perder no infinito...

.....
De que mais precisa um homem senão de um pedaço de terra -- um pedaço bem verde de terra -- e uma casa, não grande, branquinha, com um horta e um modesto pomar; e um jardim – que um jardim é importante – carregado de flor de cheirar ?

E enquanto morando, enquanto esperando, de que mais precisa um homem senão de suas mãos para mexer a terra e arranhar uns acordes de violão quando a noite se faz de luar, e uma garrafa de uísque pra puxar mistério, que casa sem mistério não valor morar...

.....
De que mais precisa um homem senão de um amigo pra ele gostar, um amigo bem seco, bem simples, desses que nem precisa falar -- basta olhar – um desses que desmereça um pouco da amizade, de um amigo pra paz e pra briga, um amigo de paz e de bar ?

Enquanto passando, enquanto esperando, de que mais precisa um homem senão

de suas mãos para apertar as mãos do amigo depois das ausências, e pra bater nas costas do amigo, e pra discutir com o amigo e pra servir bebida a vontade ao amigo ?

.....
De que mais precisa um homem senão de uma mulher pra ele amar, uma mulher com dois seios e um ventre, e uma certa expressão singular ? E enquanto pensando, enquanto esperando, de mais precisa um homem senão de um carinho de mulher quando a tristeza o derruba, ou o destino o carrega em sua onda sem rumo ?

Sim, de que mais precisa um homem senão de suas mãos e da mulher – as únicas coisas livres que lhe restam para lutar pelo mar, pela terra, pelo amigo ...”

PARA ANDREA AGUILAR

Pelo incentivo, ajuda e tolerância ao longo destes anos.

*Aos meus pais, Manoel e Neuza, e irmãos,
Gislayne e Helder, pelo apoio, confiança,
amparo e sobretudo pelos exemplos
de vida e luta que guardarei como
modelo de força e dignidade.*

Agradecimentos

À Profa. Dra. Ana Maria da Costa Ferreira, pela orientação durante o desenvolvimento deste trabalho, pela amizade, companheirismo e confiança depositados.

Aos colegas atuais: Giselle, Mariana, Joelson, e também aos que já passaram pelo grupo: Maria Amélia, Maria Lúcia, Marcos Damasceno, pela grande amizade, estímulo e momentos de descontração. Particularmente, agradeço a Giselle pelas discussões dos espectros de massas e Marcos Damasceno e Maria Amélia pelas discussões filosóficas.

Aos amigos: André, Karina, Melina, Christian, Fátima, Adriana, César, Marcos Bizeto, Victor, Patrícia, Ana Lúcia, Geise, Ana Cecília, Marcela, Wagner, Fauze, Sofia e todos os demais colegas do B2T, pela agradável convivência.

Às funcionárias Cida, Sônia e Ivone por estarem sempre por perto e prontos para ajudar.

Aos professores do B2T e B3S: Drs. Denise de O. Silva, Gianluca C. Azzellini, Henrique E. Toma, Koiti Araki, Neyde Y. M. Iha, Vera R. L. Constantino e Viktoria K. L. Osório, pelos ensinamentos e motivação.

Ao Prof. Dr. Armando Paduan-Filho do Instituto de Física da USP pelas medidas de propriedades magnéticas, além da ajuda em todas as fases deste trabalho, pelos ensinamentos e sobretudo pela amizade ao longo do curso.

Aos professores das diversas disciplinas de pós-graduação e aos que supervisionaram as atividades de monitoria durante o mesmo período: Drs. Ana Maria da Costa Ferreira, Dalva Lúcia Araújo de Faria, Denise de O. Silva, Fernando R. Ornellas, Henrique E. Toma, Koiti Araki, Márcia L. A. Temperini, Maria Teresa Lamy, Roy E. Bruns, Vera R. L. Constantino, pelos ensinamentos e contribuição profissional.

Aos colegas do Laboratório de Espectroscopia Molecular (B4T) por toda ajuda prestada e pela amizade. Em especial, à Profa. Dra. Márcia L. A. Temperini pela possibilidade de realizar os experimentos no Raman e ao Antônio Carlos pela sua colaboração.

À Daniela Maria Tomazela e ao Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin do Instituto de Química da UNICAMP, pelas análises de massas de alta resolução.

À Profa. Dra. Regina Helena de Almeida Santos, do Instituto de Química da USP-São Carlos, pelas análises de cristalografia de raios-X.

Aos Professores Drs. Fauze Jacó Anaissi, Wagner de Souza e Henrique E. Toma, pela ajuda na obtenção e interpretação dos voltamogramas cíclicos e espectros eletroquímicos.

Aos Professores da Universidade Federal de Juiz de Fora: Drs. Ana Paula Soares Fontes, Luiz Fernando Cappa de Oliveira, Mauro Vieira de Almeida, Mônica de Araújo Silva e Rosana Colombara, pelos incentivos constantes e sobretudo pela amizade.

Aos amigos: José Guilherme, Leonardo Siqueira, Onassess e Marcone de Oliveira, pela amizade, companheirismo, incentivos e cervejas.

Aos Professores Drs. Helena Ferraz e Luiz Fernando do IQ-USP e todos os integrantes e ex-integrantes de ambos os grupos, nos quais tive o grande prazer de conhecer: Joaquim, Erika, Grazi, Fernanda “bombom”, Marcos, Raquel, Tiago, Marta, Luiz Sidney, Fernanda Siqueira, Samir, Eliane, Myrian, principalmente à Andrea Aguilar, é lógico!!!

Ao Prof. Dr. Luigi Casella da Universidade de Pavia (UNIPV), Itália, pela aceitação no grupo e orientação, possibilitando a realização do estágio no exterior, através do auxílio financeiro da Fapesp.

Ao Prof. Dr. Enrico Monzani e o aluno de doutorado Corrado Dallacosta da UNIPV pela ajuda e amizade, e também aos demais integrantes do grupo: Alessandro, Clelia, Francesco, Marica, Sara, Raffy, Rob, Stefi, Valeria.

Aos funcionários do IQ-USP pelos serviços prestados, em especial ao Chico, Cibebe, Jairton, Marcelo, Milton, Wellington e a “Tia do café” do B6S.

Aos colegas dos diversos blocos: Alessandro, Cristiano, Gustavo, Fernando, Sandra, Celize, Chang, Andréa Luzia e Elaine.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida.

Índice

Estruturas dos Compostos	i
Abreviaturas	ii
Resumo	iv
Abstract	v
1. Introdução	
1.1. Compostos de cobre como modelos de metaloproteínas	1
1.1.1. Estrutura e Reatividade de complexos dinucleares de cobre com oxigênio	1
1.1.2. Estrutura e Reatividade de complexos polinucleares de cobre com oxigênio	16
1.1.3. Complexos heteronucleares como modelos funcionais da citocromo <i>c</i> oxidase (CcO)	25
1.2. Perspectivas	34
2. Objetivos	36
3. Materiais e Métodos	37
3.1. Reagentes e Solventes	37
3.2. Preparação dos compostos	38
3.3. Purificação e Secagem dos compostos	44
3.4. Aparelhagem e Metodologia	44
4. Resultados e Discussão	49
4.1. Preparação e estudo da estabilidade das espécies mono-, di- e polinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto ou azida	50
4.1.1. Compostos mononucleares de cobre(II) derivados do ligante 2- ou 4-[[<i>(imidazolil-2-metilideno)amino</i> etil]piridina (<i>2 ou 4imepy</i>)	50
4.1.2. Compostos mono- e dinucleares de cobre(II) derivados do ligante 2-(benzimidazolil)metileno-2-amino-1-etilpiridina (<i>apyambi</i>) contendo pontes cloreto ..	54
4.1.3. Compostos mono- e dinucleares de cobre(II) derivados do ligante (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (<i>apyhist</i>) e (4-imidazolil)etileno-2-aminometilpiridina (<i>2-pyhist</i>) contendo pontes cloreto	77
4.1.4. Composto dinuclear de cobre(II) derivado do ligante (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (<i>apyhist</i>) contendo pontes azida	97

4.1.5. Composto polinuclear de cobre(II) derivado do ligante 2-(4-imidazolil)-etilamino-6-metilpiridina (<i>2pyMe-hist</i>) contendo pontes cloreto	111
4.2. Sistemas polinucleares de cobre(II) contendo ponte imidazolato formados através da desprotonação e auto-organização estrutural	124
4.2.1. Compostos polinucleares de cobre(II) derivados dos ligantes 2- ou 4-[[((imidazolil-2-metilideno)amino)etil]piridina (<i>2 ou 4imepy</i>)	126
4.2.2. Compostos polinucleares de cobre(II) derivados dos ligantes: (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (<i>apyhist</i>); (4-imidazolil)etileno-2-aminometilpiridina (<i>2-pyhist</i>) e 2-(4-imidazolil)-etilamino-6-metilpiridina (<i>2pyMe-hist</i>)	137
4.3. Complexos heteronucleares de cobre e ferro como miméticos do sítio Cu _B na citocromo <i>c</i> oxidase: caracterização estrutural e investigação das espécies intermediárias provenientes de interações com moléculas pequenas	152
5. Conclusões	195
6. Apêndices	199
Curriculum Vitae	

Estruturas dos Compostos

Abreviaturas

ATR	reflectância atenuada
apy	2-acetilpiridina
ambi	2-(aminometil)benzoimidazol
CID	<i>collision-induced dissociation</i>
DMF	N,N-dimetilformamida
EtOH	álcool etílico
epy	2-(2-aminoetilpiridina)
EPR	ressonância paramagnética eletrônica
EPH	eletrodo padrão de hidrogênio
ESI-MS/MS	espectrometria de massas Tandem
FTIR	espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
FTRaman	espectroscopia Raman por transformada de Fourier
hist	histamina
his	L-histidina
HOMO	orbital molecular ocupado de maior energia
imH	imidazol
IR	infravermelho
LMCT	transferência de carga ligante-metal
LUMO	orbital molecular não-ocupado de menor energia
MeOH	álcool metílico
MM	massa molar
RMN	ressonância magnética nuclear
TMPD	<i>N, N, N', N'</i> - tetrametil- <i>p</i> -fenilenodiamino
UV/Vis	ultravioleta-visível
VC	voltametria cíclica
2im	2-imidazolcarboxilaldeído
4im	4-imidazolcarboxilaldeído
2-py	2-piridinacarboxilaldeído
2pyMe	6-metil-2-carboxilpiridina
3,5-DTBC	3,5-di- <i>terc</i> -butilcatecol

Lista de símbolos

D	tensor de desdobramento no campo zero
g	fator-g
H	campo magnético
$\hat{H}$	Hamiltoniano
$J'z$	integral de acoplamento magnético intermolecular
J/k	integral de acoplamento magnético intramolecular
K	constante de equilíbrio
K_M	constante cinética de dissociação do substrato
k_{cat}	<i>constante cinética (turnover rate)</i>
L_u (u=x, y, z)	operador momento angular de orbital
M	magnetização molar
p	contribuição paramagnética (espécies monoméricas livres)
N	constante de Avogadro
$N\alpha$	contribuição diamagnética
T	temperatura
S_u (u=x, y, z)	operadores de spin
$V_{m\acute{a}x}$	velocidade máxima para atingir a concentração de saturação do substrato
ϵ	absortividade molar (em $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
$\lambda_{m\acute{a}x}$	comprimento de onda de absorção máxima
λ	constante de acoplamento spin-órbita
χ_M	susceptibilidade magnética molar
α	função de spin para $m_s = +1/2$
β	função de spin para $m_s = -1/2$
β	constante de Boltzman
Δ	diferença de energia entre estados
ψ	função de onda

Resumo

Diferentes complexos de cobre(II), contendo ligantes do tipo base de Schiff e um grupamento imidazólico, com interesse bioinorgânico, catalítico e como novos materiais, foram preparados na forma de sais perclorato, nitrato ou cloreto e caracterizados através de diferentes técnicas espectroscópicas (UV/Vis, IR, EPR, Raman) e espectrometria de massa Tandem (ESI-MS/MS), além de análise elementar, condutividade molar e medidas de propriedades magnéticas. Alguns destes compostos, obtidos como cristais adequados, tiveram suas estruturas determinadas por cristalografia de raios-X. As espécies di- e polinucleares contendo pontes cloreto, mostraram desdobramentos das hiperfinas nos espectros de EPR, relacionados à presença do equilíbrio com a respectiva espécie mononuclear, devido à labilidade dos íons cloretos, dependendo do contra-íon e do tipo de solvente utilizado. Adicionalmente, em solução alcalina, estes compostos estão em equilíbrio com as correspondentes espécies polinucleares, onde os centros de cobre estão ligados através de um ligante imidazolato. Em meio alcalino, estes compostos polinucleares contendo ponte imidazolato foram também isolados e caracterizados por diferentes técnicas espectroscópicas e magnéticas.

Através da variação estrutural e também do ligante-ponte foi possível modular o fenômeno da interação magnética entre os íons de cobre em estruturas correlatas di- e polinucleares. Os respectivos parâmetros magnéticos foram obtidos com ajuste das curvas experimentais de χ_M vs T, correlacionando-se muito bem com a geometria, ângulos e distâncias de ligação entre os íons, quando comparado com outros complexos similares descritos na literatura.

Posteriormente, estudaram-se os fatores relacionados com a reatividade de todas essas espécies como catalisadores na oxidação de substratos de interesse (fenóis e aminas), através da variação do tamanho da cavidade nas estruturas cíclicas ou de variações no ligante coordenado ao redor do íon metálico. Vários deles se mostraram bons miméticos de tirosinases e catecol oxidases.

Um novo complexo-modelo da citocromo *c* oxidase (CcO), utilizando a protoporfirina IX condensada ao quelato *N,N*-bis[2-(1,2-metilbenzimidazolil)etil]amino e ao resíduo de glicil-L-histidina, foi sintetizado e caracterizado através de diferentes técnicas espectroscópicas, especialmente EPR. A adição de H₂O₂ ao sistema completamente oxidado, Fe^{III}/Cu^{II}, a -55°C, ou o borbulhamento de oxigênio molecular a uma solução do complexo na sua forma reduzida, Fe^{II}/Cu^I, saturada de CO, resultou na formação de adutos com O₂, de baixo spin, estáveis a baixas temperaturas.

Abstract

Different Schiff base copper(II) complexes containing an imidazole ligand were prepared as perchlorate, nitrate and chloride salts, and characterized by different techniques (UV/Vis, IR, EPR, Raman) and tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS), besides elemental analysis, conductivity measurements and magnetic properties. Some of these complexes, suitable crystals were isolated, allowing its structure to be determined by X-ray crystallography. Equilibria involving mono- and dinuclear species containing chloro-bridges were monitored in solution by EPR spectra, indicating a significant dependence on the solvent, and the counter-ion. In alkaline solution, deprotonation of the imidazole moiety promotes a self-assembled process, by coordination of the imidazolate nitrogen atom to a copper(II) center of an adjacent unit, leading to the macrocyclic or zig-zag-chain structures. These complexes were isolated and characterized by different spectroscopy techniques and magnetic susceptibility.

The use of different bridging ligands and well-designed polydentate ligands afforded correlated structural features and exchange coupling constant in a series of di- e polynuclear copper(II) complexes. The magnetic parameters of these compounds were determined by temperature-dependent magnetic studies χ_M vs T, showing that the sign and the magnitude of the exchange coupling constant depends of the geometry, angle at the bridge, as well as on the bond length between paramagnetic ions, when compared with other complexes already described in the literature.

The catalytic activity of the obtained complexes toward the usual biological oxidant, molecular oxygen, were then compared. Most of the di- and polynuclear compounds showed to be efficient catalysts of the aerobic oxidation of amines and phenolic substrates. Differing in some structural features, their tyrosinase-like catalytic activity was verified to be influenced by several factors, including steric hindrance of the ligands, cavity dimensions and accessibility of the oxidant to the catalytic center.

A new biomimetic model system of the cytochrome *c* oxidase (CcO) derived from protohemin-IX and it contains a glycyl-L-histidine methyl ester arm axially binds the iron; the bis(benzimidazole) group acts as copper-coordinating site. has been prepared and characterized by different spectroscopic techniques, including EPR spectroscopy. The H₂O₂ addiction to the fully oxidised state of the system at -55°C, or bubbling molecular oxygen into a CO-saturated solution of the reduced Fe^{II}/Cu^I state of the complex, resulted in a low spin oxygenated intermediate.

1. Introdução

1.1. Compostos de cobre como modelos de metaloproteínas

1.1.1. Estrutura e Reatividade de complexos dinucleares de cobre com oxigênio

Nas últimas décadas foram inúmeros os estudos envolvendo cobre, desenvolvidos com a finalidade de mimetizar características estruturais e/ou funcionais de proteínas e enzimas dependentes deste metal^{1,2}. No caso de sítios de cobre do tipo 3 (Figura 1), capazes de coordenar uma molécula de dioxigênio, presentes na hemocianina, proteína transportadora de oxigênio em moluscos e artrópodes,³ e na tirosinase ou nas catecolases, oxidases que catalisam a oxidação de fenóis a catecóis (atividade cresolase) e destes às correspondentes quinonas (atividade catecolase),⁴ os estudos priorizaram a mimetização de características estruturais e espectrais, embora vários autores procurassem verificar também a influência da estrutura na atividade funcional dos modelos.⁵ As tirosinases e as catecol oxidases são algumas das enzimas de cobre mais estudadas na literatura.^{2,5}

A ligação do oxigênio molecular aos dois centros de cobre foi alvo de extensos estudos, tanto em proteínas nativas, como em compostos-modelos, dada a sua particularidade (ligação $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ O₂, mostrada na Figura 1), com distância O-O de $\sim 3,6$ Å, estimada por estudos de absorção de raios-X (EXAS). Investigações das propriedades magnéticas em função da temperatura indicaram que os dois centros de cobre estão fortemente acoplados por interação antiferromagnética ($|2J| > 200$ cm⁻¹).^{3,6} O espectro da oxihemocianina (oxyHc), isto é, do composto com a molécula de dioxigênio coordenada, apresenta duas bandas características, uma a ~ 580 nm ($\epsilon \approx 1000$ M⁻¹ cm⁻¹) e outra bem intensa a 350 nm ($\epsilon \approx 20000$ M⁻¹ cm⁻¹). O estiramento vibracional O-O (~ 750 cm⁻¹), determinado por espectroscopia Raman ressonante usando oxigênio marcado, é surpreendentemente baixo, indicando uma ligação tipo peróxido.^{5,6} A oxitirosinase (oxyTy) exibe propriedades semelhantes. Esse modo não usual de coordenação do oxigênio só foi reconhecido após a síntese e caracterização estrutural de compostos-modelos com ligantes tipo N₃ facial,

¹ E.T. Adman, Adv. Protein Chem. 42 (1991) 145.

² Artigos de revisão, como: (a) Chem. Rev. 104(2) (2004); (b) R.H. Holm, P. Kennepohl, E.I. Solomon, Chem. Rev. 96 (1996) 2239; (c) E.I. Solomon, U.M. Sundaram, T.E. Machonkin, Chem. Rev. 96 (1996) 2563.

³ N. Kitajima, K. Fujisawa, Y. Moro-Oka, J. Am. Chem. Soc. 111 (1989) 8975.

⁴ R. Than, A.A. Feldman, B. Krebs, Coord. Chem. Rev. 182 (1999) 211.

⁵ (a) A.X. Trautwein, D. Forschungsgemeinschaft, In: *Bioinorganic Chemistry: Transition Metals in Biology and Their Coordination Chemistry*, Wiley-VCH, 1997; (b) K.D. Karlin, Z. Tyeklár, In: *Bioinorganic Catalysis*, J. Reedijk, ed., M. Dekker, NY, 1993.

⁶ (a) N. Kitajima, K. Fujisawa, C. Fujimoto, Y. Moro-oka, S. Hashimoto, T. Kitagawa, K. Toriumi, K. Tatsumi, A. Nakamura, J. Am. Chem. Soc. 114 (1992) 1277; (b) N. Kitajima, T. Koda, S. Hashimoto, T. Kitagawa, Y. Moro-oka, J. Am. Chem. Soc. 113 (1991) 5664; (c) N. Kitajima, T. Koda, S. Hashimoto, T. Kitagawa, Y. Moro-oka, J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1988), 151.

esticamente impedidos, que apresentaram características espectroscópicas muito similares às da oxihemocianina (oxyHc) e oxitirosinase (oxyTy), dos quais alguns exemplos serão descritos a seguir. Desta forma, a presença de dois centros metálicos próximos parece favorecer a coordenação do oxigênio molecular, ora atuando como transportador do oxigênio, ora como catalisador de transferências eletrônicas que levam à oxidação de substratos, através de hidroxilação ou da formação de quinonas.⁴

Figura 1- Ciclo catalítico proposto para monooxigenação de fenóis e oxidação de *o*-difenóis para *o*-quinonas através da tirosinase.^{2c}

Desde 1878, quando a hemocianina foi reportada como uma proteína transportadora de oxigênio em artrópodes e moluscos,⁷ aumentou o interesse da comunidade científica na tentativa de elucidar o mecanismo de ativação da molécula de oxigênio por íons de cobre. A função oxidativa de algumas enzimas dinucleares oxigenadas, tais como oxyTy e oxyCO, tem motivado ainda mais a síntese de novos compostos-modelos capazes de formar uma espécie ativa Cu/O₂ e promover a oxidação de fenóis e catecóis. A redução do oxigênio a peróxido (2 elétrons) é

⁷ (a) L. Fredericq, C.R. Acad. Sci. 87 (1878) 996; (b) L. Fredericq, Arch. Zool. Exp. 7 (1878) 535.

termodinamicamente mais favorável em relação à formação do íon superóxido (1 elétron). De fato, muitos complexos mononucleares de Cu(I) se auto-organizam dentro de uma espécie dinuclear durante a oxigenação. Três tipos estruturais de compostos Cu/O₂ numa relação de 2:1 podem ser obtidos, tais como: *trans*-1,2-peroxodicobre(II) (**^TP**), μ - $\eta^2:\eta^2$ -peroxodicobre(II) (**^SP**) e a bis-(μ -oxo)dicobre(III) (**O**) (Figura 2). Nota-se que os complexos **^TP** são gerados exclusivamente a partir de complexos de Cu(I) com ligantes tetradentados, e as demais espécies **^SP** e **O** são obtidas através de precursores contendo ligantes bi-, tri- ou tetradentados.^{2,8}

Figura 2- Espécies Cu/O₂ formadas através da reação de um complexo de Cu(I) com O₂ e alguns dos seus parâmetros estruturais (Å). **^TP**, *trans*-1,2-peroxodicobre(II); **^SP**, *side-on* peroxodicobre(II); **O**, bis(μ -oxo)dicobre(III).

Um dos primeiros e bem caracterizados sistemas dinucleares Cu/O₂ foi baseado num ligante dinuclear XylO⁻ (Figura 3).⁹ A oxigenação de seu complexo de cobre(I) deu origem a uma espécie com intensas bandas de absorção em 505 nm ($\epsilon = 6300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e 610 nm (sh, $\epsilon = 2400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), atribuídas à transição de transferência de carga do peróxido para o íon de cobre(II), $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d$ e $\pi_{\nu}^* \rightarrow d$, respectivamente. O espectro eletrônico deste sistema apresenta um comportamento análogo ao complexo **^TP**. Uma combinação de técnicas, tais como: Raman ressonante (803 cm⁻¹, $\Delta[^{18}\text{O}_2] = 53 \text{ cm}^{-1}$) e EXAFS (Cu...Cu $\approx 3,3 \text{ Å}$) sugerem uma ligação assimétrica do íon peróxido

⁸ (a) L.M. Mirica, X. Ottenwaelder, T.D.P. Stack, Chem. Rev. 104 (2004) 1013; (b) E.A. Lewis, W.B. Tolman, Chem. Rev. 104 (2004) 1047.

⁹ (a) M. Suzuki, H. Furutachi, H. Okawa, Coord. Chem. Rev. 200 (2000) 105; (b) K.D. Karlin, K. Kaderli, A.D. Zuberbühler, Acc. Chem. Res. 30 (1997) 139; (c) Z. Tyeklár, K.D. Karlin, Acc. Chem. Res. 22 (1989) 241; (d) K.D. Karlin, R.W. Cruse, Y. Gultneh, J.C. Hayes, J. Zubieta, J. Am. Chem. Soc. 106 (1984) 3372.

ao centro de Cu(II), uma vez que ambos os íons de cobre(I) são necessários para a redução do O₂ ao íon peróxido (Figura 3b).¹⁰ A oxigenação do complexo de cobre(I) com o ligante XylOH protonado produz uma espécie hidroperoxido (Figura 3d), exibindo uma banda de transferência de carga em 395 nm ($\epsilon = 8000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), com um ombro em 450 nm.¹¹ A distância entre os íon de cobre medida por EXAFS é muito consistente com o íon hidroperoxido em ponte na forma μ -1,1. Esta espécie pode também ser gerada através da protonação do complexo peróxido correspondente derivado de XylO⁻ (Figura 3, b $\rightarrow$ d).

Figura 3- Formação de uma espécie reatividade de O₂ com o complexo de Cu(I) contendo XylO⁻ e XylOH como ligantes.^{8a}

O complexo 1,2-peroxodicobre(II), ¹P, com o ligante tmpa foi a primeira espécie Cu/O₂ tendo a sua estrutura caracterizada por cristalografia de raios-X (Figura 4).¹² A estrutura mostra uma ligação do tipo *trans* do íon peróxido na forma *end-on*, com uma separação entre os íons de cobre igual a 4,36 Å. Cada íon de cobre(II) possui uma geometria do tipo bipirâmide trigonal com um átomo de oxigênio do íon peróxido na posição axial.

¹⁰ (a) N.J. Blackburn, R.W. Strange, R.W. Cruse, K.D. Karlin, J. Am. Chem. Soc. 109 (1987) 1235; (b) J.E. Pate, R.W. Cruse, K.D. Karlin, E.I. Solomon, J. Am. Chem. Soc. 109 (1987) 2624.

¹¹ (a) K.D. Karlin, P. Ghosh, R.W. Cruse, A. Farooq, Y. Gultneh, R.R. Jacobson, N.J. Blackburn, R.W. Strange, J. Zubieta, J. Am. Chem. Soc. 110 (1988) 6769; (b) K.D. Karlin, R.W. Cruse, Y. Gultneh, J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1987) 599.

¹² (a) Z. Tyeklár, R.R. Jacobson, N. Wei, N.N. Murthy, J. Zubieta, K.D. Karlin, J. Am. Chem. Soc. 115 (1993) 2677; (b) R.R. Jacobson, Z. Tyeklár, A. Farooq, K.D. Karlin, S. Liu, J. Zubieta, J. Am. Chem. Soc. 110 (1988) 3690.

Figura 4- Estrutura de raios-X da espécie **¹P** [(tmpa)₂Cu(II)₂(O₂)]²⁺ e alguns dos seus parâmetros estruturais (Å).^{12b}

Enquanto complexos do tipo **¹P** foram espectroscopicamente bem caracterizados,¹³ nenhum outro tipo teve sua estrutura elucidada por cristalografia de raios-X. A caracterização da espécie **¹P** é baseada numa intensa banda na região UV/Vis em 530 nm ($\epsilon \approx 10\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$) e um ombro em 600 nm. Estas absorções são atribuídas às transições de transferência de carga do ligante peroxo para o íon de cobre(II), $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d$ e $\pi_{\nu}^* \rightarrow d$, respectivamente (Figura 5).¹⁴ Os espectros de Raman ressonante desse complexo **¹P** mostram duas bandas que são sensíveis aos isótopos de oxigênio: estiramento vibracional O-O $\sim 830\text{ cm}^{-1}$ ($\Delta[^{18}\text{O}_2] \approx 45\text{ cm}^{-1}$) e Cu-O $\sim 555\text{ cm}^{-1}$ ($\Delta[^{18}\text{O}_2] \approx 24\text{ cm}^{-1}$). Interessantemente, todas as espécies do tipo **¹P** possuem um comportamento espectroscópico similar, embora os ligantes sejam diferentes.

¹³ (a) H. Börzel, P. Comba, K.S. Hagen, M. Kerscher, H. Pritzkow, M. Schatz, S. Schindler, O. Walter, *Inorg. Chem.* 41 (2002) 5440; (b) H. Börzel, P. Comba, C. Katsichtis, W. Kiefer, A. Lienke, V. Nagel, H. Pritzchow, *Chem. Eur. J.* 5 (1999) 1716; (c) J.E. Bol, W.L. Driessen, R.Y.N. Ho, B. Maase, L. Que, J. Reedijk, *Angew. Chem., Int. Ed.* 36 (1997) 998; (d) C. He, J.L. Dubois, B. Hedman, K.O. Hodgson, S.J. Lippard, *Angew. Chem., Int. Ed.* 40 (2001) 1484.

¹⁴ (a) E.I. Solomon, F. Tuczek, D.E. Root, C.A. Brown, *Chem. Rev.* 94 (1994) 827; (b) M.J. Baldwin, P.K. Ross, J.E. Pate, Z. Tyeklár, K.D. Karlin, E.I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 8671.

Figura 5- Diagrama de OM simplificado para as espécies Cu/O₂ do tipo ¹P, ³P e O.^{8a}

Entretanto, os exemplos de espécies Cu/O₂ gerados com ligantes tetradentados contendo o ânion fenolato em ponte mostraram pouca correspondência espectroscópica com a oxyHc (UV/Vis: ¹⁵ 345 nm, $\epsilon \approx 21\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ e 550 nm, $\epsilon \approx 800\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$; Raman ressonante: ¹⁶ 741 cm⁻¹, $\Delta[^{18}\text{O}_2] = 44\text{ cm}^{-1}$). Estudos extensivos da reatividade de espécies Cu/O₂ com ligantes tridentados são relacionados com a estrutura da redHc, em que os centros de Cu(I) estão ligados por três ligantes imidazólicos.¹⁷ A distância significativa entre os centros de Cu(I) (~4,5 Å), além da flexibilidade de coordenação do íon de Cu(II), levou a muitas especulações sobre o modo de ligação do íon peróxido na oxyHc.¹⁸

Evidência experimental para o modo de coordenação do O₂ na oxyHc foi obtido por Kitajima e colaboradores, através da caracterização de uma espécie Cu/O₂.^{3,6} Utilizando o ligante tris(pirazolil)borato (Tp^{R3,R5}, onde R3 = Me, iPr, Ph; e R5 = Me, iPr),¹⁹ foi possível isolar alguns complexos Cu/O₂ moderadamente estáveis. Estes complexos exibiram características espectroscópicas semelhantes às da oxyHc (UV/Vis: 338-350 nm, $\epsilon \approx 21\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$; 530-550 nm, $\epsilon \approx 840\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$, Raman ressonante: 730-760 cm⁻¹, $\Delta[^{18}\text{O}_2] = 40\text{ cm}^{-1}$). A similaridade dos dados espectroscópicos com os da oxyHc suportou a idéia do mesmo modo de coordenação do O₂. A estrutura da [(Tp^{iPr,iPr})₂Cu(II)₂(O₂)] mostrou um íon peróxido em ponte entre dois centros de cobre na forma $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ (Figura 6),³ um modo de ligação do íon peróxido jamais esperado para um sistema dinuclear. A separação entre os íons Cu...Cu neste sistema é igual a 3,56 Å, e o

¹⁵ (a) K.E. Van Holde, Biochemistry 6 (1967) 93; (b) K. Heirwegh, H. Borginon, R. Lontie, Biochim. Biophys. Acta 48 (1961) 517.

¹⁶ (a) J.S. Ling, L.P. Nestor, R.S. Czernuszewicz, T.G. Spiro, R. Fraczekiewicz, K.D. Sharma, T.M. Loehr, J. Sandersloehr, J. Am. Chem. Soc. 116 (1994) 7682; (b) T.B. Freedman, J.S. Loehr, T.M. Loehr, J. Am. Chem. Soc. 98 (1976) 2809.

¹⁷ (a) A. Volbeda, W.G.J. Hol, J. Mol. Biol. 209 (1989) 249; (b) W.P.J. Gaykema, W.G.J. Hol, J.M. Vereijken, N.M. Soeter, H.J. Bak, J.J. Beintema, Nature 303 (1984) 23.

¹⁸ P.K. Ross, E.I. Solomon, J. Am. Chem. Soc. 112 (1990) 5871.

¹⁹ S. Trofimenko, Chem. Rev. 93 (1993) 943.

comprimento da ligação O-O é 1,41 Å. Cada centro de cobre possui uma geometria distorcida de pirâmide de base quadrada ($\tau = 0,03$),²⁰ com duas ligações Cu-N no plano equatorial (2,00 Å) e uma ligação axial Cu-N (2,25 Å); sendo que o íon peróxido ocupa as outras duas posições equatoriais com uma distância Cu-O igual a 1,91 Å.

Figura 6- Estruturas e parâmetros de raios-X (Å) de alguns dos complexos do tipo $^5P^{8a}$ (a) $[(T_p^{iPr,iPr})_2Cu(II)_2(O_2)_2]$,^{3,6a} (b) $[(bitripy)Cu(II)_2(O_2)_2]^{2+}$,²¹ sítios ativos da oxyHc proveniente da (c) *Limulus polyphemus*²² e (d) *Octopus dofleini*.²³

Posteriormente, com a elucidação da estrutura da oxyHc proveniente do caranguejo (*Limulus polyphemus*)²² e do polvo (*Octopus dofleini*)²³ confirmou-se realmente a coordenação do O₂ na forma $\mu-\eta^2:\eta^2$ (*side-on*), cujos parâmetros espectroscópicos são similares aos complexos-modelos descritos por Kitajima. Cada centro de cobre possui uma geometria distorcida de pirâmide de base quadrada ($\tau = 0,11$), com um ligante imidazólico na posição *anti* em relação ao outro. As distâncias

²⁰ A.W. Addison, T.N. Rao, J. Reedijk, J. Van Rijn, G.C. Verschoor, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1984) 1349.

²¹ M. Kodera, K. Katayama, Y. Tachi, K. Kano, S. Hirota, S. Fujinami, M. Suzuki, J. Am. Chem. Soc. 121 (1999) 11006.

²² (a) K.A. Magnus, H. Ton-That, J.E. Carpenter, Chem. Rev. 94 (1994) 727; (b) K.A. Magnus, B. Hazes, H. Ton-That, C. Bonaventura, J. Bonaventura, W.G.J. Hol, Proteins: Struct., Funct., Genet. 19 (1994) 302; (c) K.A. Magnus, H. Ton-That, J. Inorg. Biochem. 47 (1992) 20.

²³ M.E. Cuff, K.I. Miller, K.E. Vanholde, W.A. Hendrickson, J. Mol. Biol. 278 (1998) 855.

de ligações Cu...Cu e O-O são 3,60 e 1,41 Å, respectivamente, e o íon peróxido está na posição anti-simétrica entre os centros de cobre.

A espécie bis(μ -oxo)dicobre(II) (**O**) foi uma das últimas arquiteturas Cu/O₂ com relação estequiométrica 2:1 a ser descoberta, e não existe atualmente nenhuma evidência de sua importância bioquímica,²⁴ embora a interconversão dos isômeros μ - η^2 : η^2 -peroxo- e bis(μ -oxo)dicobre represente um dos possíveis mecanismos da quebra da ligação O-O em sistemas miméticos. Inicialmente observada em 1993 por dois grupos trabalhando com diferentes ligantes,²⁵ a espécie **O** somente foi caracterizada estruturalmente em 1996.²⁶ Nos últimos anos, a espécie **O** tem-se mostrado como um dos complexos mais favoráveis dentro da química Cu/O₂ envolvendo compostos modelos, resultante em parte da grande diversidade de ligantes que podem ser utilizados na sua formação, incluindo ligantes bi-,²⁷ tri-,^{26b,28} e tetradentados.²⁹

Estudando os complexos $[(L^{iPr3}\text{-Cu})_2(\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-O}_2)]^{2+}$ e $[(L^{iPr3}\text{Cu})_2(\mu\text{-oxo})_2]^{2+}$, verificou-se a existência de um rápido equilíbrio entre os isômeros em solução.^{26b,30} Dados cinéticos de *stopped-flow* mostraram que a oxigenação de $[L^{iPr3}\text{Cu}(\text{MeCN})]^+$ em acetona obedece uma lei de velocidade de primeira ordem com respeito à concentração de O₂ e de complexos de Cu(I), indicando que a formação do aduto 1:1 é a etapa determinante. Os produtos observados em acetona são uma mistura de 4:1 de μ - η^2 : η^2 -peroxo e bis(μ -oxo) complexos, cada qual com a mesma velocidade de reação no intervalo de temperatura entre 190-223 K. Um mecanismo consistente com estes dados envolve inicialmente a formação de um aduto 1:1 com o complexo de Cu(I), seguida de um rápido equilíbrio entre os isômeros peroxo e bis(μ -oxo). Além disso, observa-se uma influência do

²⁴ L. Que Jr., W.B. Tolman, *Angew. Chem., Int. Ed.* 41 (2002) 1114.

²⁵ (a) K.D. Karlin, N. Wei, B. Jung, S. Kaderli, P. Niklaus, A.D. Zuberbühler, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 9506; (b) K. Uozumi, Y. Hayashi, M. Suzuki, A. Uehara, *Chem. Lett.* (1993) 963.

²⁶ (a) V. Mahadevan, Z.G. Hou, A.P. Cole, D.E. Root, T.K. Lal, E.I. Solomon, T.D.P. Stack, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 11996; (b) J.A. Halfen, S. Mahapatra, E.C. Wilkinson, S. Kaderli, V.G. Young, L. Que Jr., A.D. Zuberbühler, W.B. Tolman, *Science* 271 (1996) 1397.

²⁷ (a) D.J.E. Spencer, N.W. Aboeella, A.M. Reynolds, P.L. Holland, W.B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 2108; (b) N.W. Aboeella, E.A. Lewis, A.M. Reynolds, W.W. Brennessel, C.J. Cramer, W.B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 10660; (c) S. Itoh, M. Taki, H. Nakao, P.L. Holland, W.B. Tolman, L. Que Jr., S. Fukuzumi, *Angew. Chem., Int. Ed.* 39 (2000) 398; (d) D.J.E. Spencer, A.M. Reynolds, P.L. Holland, B.A. Jazdzewski, C. Duboc-Toia, L. Le Pape, S. Yokota, Y. Tachi, S. Itoh, W.B. Tolman, *Inorg. Chem.* 41 (2002) 6307; (e) M. Taki, S. Teramae, S. Nagatomo, Y. Tachi, T. Kitagawa, S. Itoh, S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 6367; (f) B.F. Straub, F. Rominger, P. Hofmann, *Chem. Commun.* (2000) 1611.

²⁸ (a) H.-C. Liang, C.X. Zhang, M.J. Henson, R.D. Sommer, K.R. Hatwell, S. Kaderli, A.D. Zuberbühler, A.L. Rheingold, E.I. Solomon, K.D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 4170; (b) W.B. Tolman, *Acc. Chem. Res.* 30 (1997) 227; (c) S. Mahapatra, J.A. Halfen, E.C. Wilkinson, G.F. Pan, X.D. Wang, V.G. Young, C.J. Cramer, L. Que Jr., W.B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 11555.

²⁹ (a) H. Hayashi, K. Uozumi, S. Fujinami, S. Nagatomo, K. Shiren, H. Furutachi, M. Suzuki, A. Uehara, T. Kitagawa, *Chem. Lett.* (2002) 416; (b) L.M. Berreau, J.A. Halfen, V.G. Young, W.B. Tolman, *Inorg. Chim. Acta* 297 (2000) 115; (c) H. Hayashi, S. Fujinami, S. Nagatomo, S. Ogo, M. Suzuki, A. Uehara, Y. Watanabe, T. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 2124.

³⁰ J. Cahoy, P.L. Holland, W.B. Tolman, *Inorg. Chem.* 38 (1999) 2161.

solvente no equilíbrio, uma vez que o peroxo é favorecido em CH_2Cl_2 e o bis(μ -oxo) em THF. Outros sistemas dinucleares de cobre envolvendo um ligante diamina bidentado, $\text{R}_2\text{R}_2'\text{eda}$ e $\text{R}_2\text{R}_2'\text{pda}$ ^{26a,31}, e um ligante tridentado $^{\text{H}}\text{Py}2^{\text{Me}}$,³² mostraram o mesmo equilíbrio em solução durante a oxigenação. No caso das diaminas, observou-se uma influência do tipo ligante, do solvente, do contra-íon e da temperatura na razão entre os isômeros.

Em 1996, Tolman e colaboradores reportaram a primeira estrutura de raios-X de uma espécie do tipo **O**,^{26b,28b} utilizando o ligante triamina macrocíclico Bz_3tacn (Figura 7a). A curta distância de ligação entre $\text{Cu}\cdots\text{Cu}$ e $\text{Cu}-\text{O}$ (2,79 e 1,80 Å, respectivamente) e a longa separação $\text{O}-\text{O}$ (2,23 Å) resultaram numa completa clivagem da ligação O_2 , produzindo dois ligantes óxidos, seguido da oxidação do centro de Cu(I) a Cu(III) . Ambos os íons de cobre são do tipo pirâmide de base quadrada ($\tau = 0,02$), com um átomo de nitrogênio fracamente associado na posição axial (2,3 Å) e os demais na equatorial $\text{Cu}-\text{N}$ (1,99 Å). A representação estrutural de alguns outros complexos do tipo **O** estão ilustrados na Figura 7.

Esta espécie geralmente exibe duas bandas intensas do tipo LMCT em 300 e 400 nm. Os experimentos de Raman ressonante revelam um intenso estiramento vibracional em 600 cm^{-1} , com deslocamento de aproximadamente 25 cm^{-1} na presença de $^{18}\text{O}_2$, sendo atribuído ao modo de respiração simétrico do núcleo Cu_2O_2 .^{24,33} Uma combinação de técnicas espectroscópicas, UV/Vis e RR, juntamente com cálculos de DFT foram utilizados por Solomon e colaboradores para atribuir as bandas de absorção em 300 e 400 nm às transições do tipo transferência de carga do óxido para o íon Cu(III) do tipo $\pi_{\sigma}^* \rightarrow d_{xy}$ e $\sigma^* \rightarrow d_{xy}$, respectivamente.³³ As altas intensidades destas bandas LMCT são consistentes com o alto grau de covalência da ligação $\text{Cu}-\text{O}$. Essa primeira transição também foi observada para o complexo ^5P (~350 nm), sendo a banda em ~400 nm característica da espécie **O**. Na redução do íon peróxido e clivagem da ligação $\text{O}-\text{O}$, o orbital σ^* diminui dramaticamente de energia e torna-se ocupado (Figura 5). O *overlap* ou sobreposição entre os orbitais σ^* e d_{xy} dá origem a uma intensa banda de CT em 400 nm.

³¹ (a) T.D.P. Stack, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (2003) 1881; (b) V. Mahadevan, M.J. Henson, E.I. Solomon, T.D.P. Stack, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 10249.

³² (a) E. Pidcock, S. DeBeer, H.V. Obias, B. Hedman, K.O. Hodgson, K.D. Karlin, E.I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 1870; (b) H.V. Obias, Y. Lin, N.N. Murthy, E. Pidcock, E.I. Solomon, M. Ralle, N.J. Blackburn, Y.M. Neubold, A.D. Zuberbühler, K.D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998) 12960.

³³ M.J. Henson, P. Mukherjee, D.E. Root, T.D.P. Stack, E.I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 10332.

Figura 7- Estruturas e parâmetros de raios-X (Å) de alguns dos complexos do tipo O^{8a} (a) $[(\text{Bz}_3\text{tacn})_2\text{Cu(III)}_2(\text{O})_2]^{2+}$, ^{26b,28b} (b) $[(^{\text{Me,Et}}\text{cd})_2\text{Cu(III)}_2(\text{O})_2]^{2+}$, ^{31a} (c) $[(\text{Me}_2\text{tmpa})_2\text{Cu(III)}_2(\text{O})_2]^{2+}$, ^{29c} (d) $[(\text{iPr}_4\text{dtne})\text{Cu(III)}_2(\text{O})_2]^{2+}$, ³⁴ (e) $[(^{\text{H,Me}}\text{Dk}^{\text{iPr}})(^{\text{Me,Me}}\text{pd})\text{Cu(III)}_2(\text{O})_2]^+$, ^{27b} (f) $[(\text{PN}2)_2\text{Cu(III)}_2(\text{O})_2]$. ^{27f}

Através desses e outros exemplos descritos na literatura, podemos ilustrar a importância dos compostos-modelos na tentativa de elucidar os sítios ativos de proteínas, visando esclarecer suas estruturas e características espectroscópicas. Em casos especiais, as propriedades físicas dos complexos foram reportadas com grande precisão, porém os sistemas estudados mostraram baixa reatividade frente ao substrato de interesse. Atualmente, dado o desenvolvimento dos métodos espectroscópicos e magnéticos na tentativa de inferir estruturas de sítios ativos e o progresso deslumbrante na área de cristalografia e engenharia de proteínas, a busca de estruturas análogas possui uma menor prioridade em relação ao passado. Nestas circunstâncias, o desenvolvimento de análogos funcionais e seus sistemas reacionais constituem um grande desafio contemporâneo, principalmente em se tratando de algumas transformações fundamentais, tais como $\text{N}_2 \rightarrow \text{NH}_3$, $\text{CH}_4 \rightarrow \text{CH}_3\text{OH}$ e $\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$, que são realizadas pelas enzimas numa condição ambiental e mais branda, além de ocorrerem numa velocidade extremamente alta com excelentes regio- e estereoseletividades. O entusiasmo nesta área, entretanto, tem-se mantido, contribuindo para seu rápido crescimento, visando a melhor compreensão da função, da reatividade e das estruturas das

³⁴ S. Mahapatra, V.G. Young, S. Kaderli, A.D. Zuberbühler, W.B. Tolman, *Angew. Chem., Int. Ed.* 36 (1997) 130.

proteínas. O desafio de encontrar sistemas análogos funcionais para estas proteínas pode ser frustrante muitas vezes, porque o desempenho da proteína não é somente controlado pela primeira esfera de coordenação, mas também pela grande camada protéica em torno do sítio ativo.

Com poucas exceções,^{13c,21,35} complexos envolvendo Cu(I)/O₂ são estáveis em solução por um determinado período (horas) somente a baixas temperaturas (< -40 °C). O aquecimento geralmente leva à decomposição da espécie, tipicamente para Cu(II), com oxidação concomitante intramolecular do ligante. Tais processos são destrutivos e indesejáveis sob o ponto de vista de desenvolvimento de novos catalisadores, e então estudos mecanísticos são importantes para o melhor entendimento da reatividade do sítio ativo das proteínas e outros sistemas catalíticos.

Na maioria dos casos, sabe-se pouco sobre os fatores que afetam a reatividade observada ou a natureza da espécie Cu/O₂ envolvida.³⁶ A reação do complexo dinuclear de cobre(II) contendo o ligante XYL-H com H₂O₂, por exemplo, resultou na hidroxilação do anel aromático.³⁷ Particularmente, a cinética desta reação foi influenciada pelo pH e indicou uma dependência de segunda ordem em relação ao catalisador, sugerindo um intermediário tetranuclear de cobre ou um outro tipo de complexo no estado de transição. Neste caso, foi proposta a formação de uma espécie (μ -1,1-hidroperóxido)dicobre, sendo que o segundo complexo dinuclear atua como ácido de Lewis para ativação do hidroperóxido, promovendo uma substituição eletrofílica aromática. Recentemente, utilizando um ligante análogo ao descrito anteriormente, porém substituindo os anéis pirídnicos por benzimidazóis, Casella e colaboradores propuseram uma dupla hidroxilação no anel benzênico durante a reação do complexo dinuclear com H₂O₂ (Figura 8).³⁸ Com base nos resultados cinéticos e espectroscópicos obtidos, sugeriu-se inicialmente um ataque da espécie intermediária, (μ -1,1-hidroperóxido)dicobre, na posição 5 do anel aromático, seguido da funcionalização na posição 2 (Figura 8).

³⁵ (a) M. Cvetkovic, S.R. Batten, B. Moubaraki, K.S. Murray, L. Spiccia, *Inorg. Chim. Acta* 324 (2001) 131; (b) Z. Hu, G.N. George, S.M. Gorun, *Inorg. Chem.* 40 (2001) 4812; (c) Z. Hu, R.D. Williams, D. Tran, T.G. Spiro, S.M. Gorun, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 3556.

³⁶ (a) D. Utz, F.W. Heinemann, F. Hampel, D.T. Richens, S. Schindler, *Inorg. Chem.* 42 (2003) 1430; (b) V. Fusi, A. Llobet, J. Mahía, M. Micheloni, P. Paoli, X. Ribas, P. Rossi, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2002) 987; (c) N.N. Murthy, M. Mahroof-Tahir, K.D. Karlin, *Inorg. Chem.* 40 (2001) 628.

³⁷ R.W. Cruse, S. Kaderli, C.J. Meyer, A.D. Zuberbühler, K.D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 5020.

³⁸ G. Battaini, E. Monzani, A. Perotti, C. Para, L. Casella, L. Santagostini, M. Gulloti, R. Dillinger, C. Näther, F. Tucek, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 4185.

Figura 8- Dupla hidroxilação no anel benzeno durante a reação do complexo dinuclear com H₂O₂.^{8b}

Embora a oxidação intramolecular de complexos na sua forma ativada Cu/O₂ tenha sido considerada um fator importante na reatividade, a reação de tais complexos com substratos são ainda mais relevantes no estudo da catálise enzimática. Estudos comparativos envolvendo diferentes complexos têm revelado diferenças notáveis na reatividade com a adição de substratos e têm direcionado ao melhor entendimento do mecanismo de oxidação em sistemas sintéticos e biológicos. Diferentes ligantes coordenados ao redor do íon metálico podem influenciar substancialmente sua atividade catalítica. Ou seja, características estéricas, acessibilidade do substrato ao íon metálico e potencial redox são alguns dos fatores que determinam a catálise da reação.^{39,40}

Embora distantes do modelo biológico, estas estruturas despertam interesse pela elaboração de novas rotas sintéticas, obtenção de espécies provavelmente reativas do ponto de vista redox e com propriedades espectroscópicas bastante peculiares. Uma das vantagens dos estudos bioinorgânicos é de um lado imitar o meio biológico e, de outro, apresentar estruturas alternativas, que se não

³⁹ (a) A. Neves, L.M. Rossi, A.J. Bortoluzzi, B. Szpoganicz, C. Wiezbicki, E. Schwingel, W. Haase, S. Ostrovsky, *Inorg. Chem.* 41 (2002) 1788; (b) J. Manzur, A.M. Garcia, C. Córdova, O. Pizarro, V. Acuna, E. Spodine, *Polyhedron* 21 (2002) 181; (c) C. Belle, C. Beguin, I. Gautier-Luneau, S. Hamman, C. Philouze, J.L. Pierre, F. Thomas, S. Torelli, E. Saint-Aman, M. Bonin, *Inorg. Chem.* 41 (2002) 479; (d) C. Fernandes, A. Neves, A.J. Bortoluzzi, A.S. Mangrich, E. Rentschler, B. Szpoganiez, E. Schwingel, *Inorg. Chim. Acta* 320 (2001) 12; (e) P. Gentshev, N. Moller, B. Krebs, *Inorg. Chim. Acta* 300-302 (2000) 442; S. Torelli, C. Belle, I. Gautier-Luneau, J.L. Pierre, E. Saint-Aman, *Inorg. Chem.* 39 (2000) 3526; (f) J. Manzur, A.M. Garcia, V. Rivas, A.M. Atria, J. Valenzuela, E. Spodine, *Polyhedron* 16 (1997) 2299; (g) M.R. Malachowski, B. Dorsey, J.G. Sackett, R.S. Kelly, A.L. Ferko, R.N. Hardin, *Inorg. Chim. Acta* 249 (1996) 85; (h) M.R. Malachowski, H.B. Huynh, L.J. Tomlinson, R.S. Kelly, J.W. Furbie Jun, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1995) 31.

⁴⁰ (a) W.A. Alves, I.A. Bagatin, A.M.D.C. Ferreira, *Inorg. Chim. Acta* 321 (2001) 11; (b) W.A. Alves, M.A. de Almeida Azzellini, R.E. Bruns, A.M.D.C. Ferreira, *Int. J. Chem. Kinet.* 33 (2001) 472; (c) W.A. Alves, A.M.D.C. Ferreira, M.L.P. dos Santos, E.M. Pereira, M.O. Damasceno, *An. Acad. Bras. Ci.* 72 (2000) 51.

apresentam parâmetros adequados ou desempenho competitivo, permitem variações de diferentes fatores para elucidar os mecanismos propostos.

A reação de diferentes complexos dinucleares de cobre do tipo $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$ com fenol, fenolatos e catecóis têm atraído particular atenção devido à direta correlação com a transformação catalítica em tirosinases e catecol oxidases.^{2b,41} Particularmente, estudos mecanísticos envolvendo a hidroxilação de uma série de fenolatos ($p\text{-X-C}_6\text{H}_4\text{OLi}$) na presença de uma espécie reativa Cu/O₂, na forma $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$ contendo o ligante $\text{H}^{\text{Bz-d2}}\text{Py2}$, foram realizadas a baixa temperatura (178 K).⁴² Neste caso, somente catecóis foram observados, nenhuma quinona ou produto contendo acoplamento C-C/C-O foi identificado. A perda das características espectroscópicas da espécie $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$ na presença de um excesso de fenolato seguiu uma dependência cinética de pseudo-primeira ordem e as curvas dos valores de k_{obs} em função da $[p\text{-X-C}_6\text{H}_4\text{OLi}]$ revelou um comportamento de saturação, indicativo de uma coordenação reversível do ânion fenolato ao complexo $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$, anterior à etapa de hidroxilação do anel (Figura 9). Uma análise comparativa entre as constantes de associação (K_f) e as constantes de velocidades (k_{ox}) indicou uma influência desprezível da natureza do substituinte na posição *para* do anel aromático na K_f , porém uma grande correlação foi observada para k_{ox} . Ou seja, quanto maior o caráter doador de elétron do substituinte, maior a constante de velocidade de hidroxilação. Em geral, estes dados suportam a presença de uma substituição aromática eletrofílica na etapa de oxigenação na posição *orto* do anel benzênico.

⁴¹ (a) E.J. Land, C.A. Ramsden, P.A. Riley, Acc. Chem. Res. 36 (2003) 300; (b) P.E.M. Siegbahn, J. Biol. Inorg. Chem. 8 (2003) 567; (c) H. Decker, T. Rimke, J. Biol. Chem. 273 (1998) 25889.

⁴² (a) S. Itoh, S. Fukuzumi, Bull. Chem. Soc. Jpn. 75 (2002) 2081; (b) S. Itoh, H. Kumei, M. Taki, S. Nagatomo, T. Kitagawa, S. Fukuzumi, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 6708.

Figura 9- Mecanismo envolvendo a hidroxilação do fenolatos ($p\text{-X-C}_6\text{H}_4\text{OLi}$) ao correspondente catecol na presença de uma espécie reativa Cu/O₂ na forma $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$ contendo o ligante $^{\text{H}}\text{Py}_2^{\text{Bz-d2}}$.^{8b}

Ainda nesta área de modelos funcionais de enzimas de cobre, como tirosinases e catecol oxidases, o grupo de bioinorgânica do IQ/USP tem reportado a síntese e a caracterização de diferentes complexos dinucleares, com ligante do tipo imínico tridentado contendo o grupo imidazolato em ponte, que eficientemente catalisam a oxidação aeróbica do 2,6-di-*terc*-butilfenol, em solução metanólica e também do 3,4-diidroxifenilalanina (L-dopa), em solução aquosa, na faixa de pH entre 7 e 11.⁴⁰ Estes complexos coexistem em solução aquosa com as correspondentes espécies mono- e tetranuclear, dependendo do pH, e a atividade catalítica aumenta do complexo mono- para o tetranuclear. Evidências destes equilíbrios em solução aquosa foram obtidas através de medidas espectroscópicas e eletroforese capilar, em diferentes pHs, determinando-se a correspondente constante de equilíbrio num dos casos.^{40a} Mais recentemente,⁴³ o grupo reportou a síntese e a caracterização estrutural de diversos outros complexos imínicos dinucleares de cobre(II) contendo ponte imidazolato ou fenolato (Figura 10), sendo posteriormente investigados como modelos das enzimas tirosinase e catecol oxidase, e comparados com os complexos previamente descritos.^{40a} Verificou-se assim que alguns dos compostos dinucleares e o tetranuclear $[\text{Cu}_4(\text{apip})_4(\text{im})_4]^{3+}$ são eficientes catalisadores na oxidação dos substratos 2,6-di-*terc*-butilfenol e L-dopa, exibindo uma dependência de primeira ordem em relação à concentração do catalisador e uma dependência de primeira ordem, seguida de saturação, com relação ao substrato. Estes

⁴³ W.A. Alves, S.A. de Almeida-Filho, M.V. de Almeida, A. Paduan-Filho, C.C. Becerra, A.M.D.C. Ferreira, J. Mol. Catal. A.: Chemical 198 (2003) 63.

resultados indicaram uma possível influência da cavidade, no caso dos compostos polinucleares, na interação com o substrato, ocasionada pela maior estabilidade da espécie reativa Cu/O₂, além dos fatores estéricos nos ligantes, que podem ser modulados de tal forma a permitir uma maior acessibilidade do substrato ao íon metálico. Além disso, a menor reatividade dos complexos [Cu₂(iensal)₂]³⁺ e [Cu₂(iphsal)₂]³⁺ pode ser explicada através do equilíbrio com a correspondente espécie mononuclear em função da concentração, sendo menos ativos cataliticamente.⁴³

Figura 10- Representação estrutural de alguns compostos de cobre(II) estudados.⁴³

1.1.2. Estrutura e Reatividade de complexos polinucleares de cobre com oxigênio

Estudos recentes mostram o interesse da comunidade por enzimas mais sofisticadas, envolvendo co-fatores, como no caso das aminas oxidases,⁴⁴ diversos centros metálicos,^{2c} como nas lacases, espécies radicalares como na galactose oxidase,⁴⁵ ou ainda estruturas envolvendo diferentes metais, semelhantes ao citocromo *c* oxidase.⁴⁶ Assim, modelos mais elaborados vêm sendo preparados, visando enfrentar os novos desafios propostos pelas estruturas biológicas a serem melhor elucidadas.

Dados estruturais de raios-X para ascorbato oxidases, lacases e ceruloplasmina^{2c} mostraram que nestas proteínas os centros de cobre do tipo 2 e tipo 3 estão localizados próximos uns aos outros, de modo que podem ser considerados como um *cluster* com três átomos de cobre, com propriedades novas e características. Centros de cobre do tipo 1 e 2 são bons transportadores de elétrons, enquanto centros do tipo 3 são os responsáveis pela coordenação e/ou ativação da molécula de dioxigênio. Além disso, em todos os casos observou-se ainda um resíduo de cisteína ligado a duas histidinas fazendo ponte entre os centros de cobre do tipo 1 e 3, numa distância de aproximadamente 1,3 nm (Figura 11A). Este arranjo parece favorecer a redução do oxigênio até água, num ciclo catalítico envolvendo 4 elétrons, com oxidação simultânea de substratos (fenóis, aminofenóis, ascorbato, entre outros). O mecanismo sugerido envolve inicialmente uma etapa de transferência eletrônica através do resíduo cisteína-histidina do centro T1 (tipo 1) ao sítio trinuclear, onde o oxigênio é reduzido para formar água (Figura 11B).^{2c} Esta redução do oxigênio por 4 elétrons ocorre em duas etapas dieletrônicas. A espécie totalmente reduzida reage com oxigênio para gerar um intermediário peróxido, em seguida reduzido a hidróxido pelo consumo de elétrons provenientes dos sítios T1 e T2. A primeira etapa, formação do peróxido, é limitante da velocidade, sendo proveniente da oxidação do substrato e redução do sítio T1 por um mecanismo de esfera externa.⁴⁷

⁴⁴ T. Sixt, W. Kaim, *Inorg. Chim. Acta* 300-302 (2000) 762.

⁴⁵ (a) A. Neves, A. dos Anjos, A.J. Bortoluzzi, B. Szpoganicz, E.W. Schwingel, A.S. Mangrich, *Inorg. Chim. Acta* 356 (2003) 41; (b) T. Kruse, T. Weyhermüller, K. Wieghardt, *Inorg. Chim. Acta* 331 (2002) 81; (c) S.M.M. Romanowski, A.S. Mangrich, A. Neves, *Química Nova* 24 (2001) 592; (c) S. Itoh, M. Taki, S. Fukuzumi, *Coord. Chem. Rev.* 198 (2000) 3; (d) B.A. Jazdzewski, W.B. Tolman, *Coord. Chem. Rev.* 200-202 (2000) 633; (e) C.D. Borman, C.G. Sayseil, A. Sokolowski, M.B. Twitchett, C. Wright, A.G. Sykes, *Coord. Chem. Rev.* 190-192 (1999) 771; (f) Y. Wang, J.L. DuBois, B. Hedman, K.O. Hodgson, T.D.P. Stack, *Science* 279 (1998) 537; (g) J. Stubbe, W.A. van der Donk, *Chem. Rev.* 98 (1998) 705.

⁴⁶ (a) J.P. Collman, R. Boulatov, C.J. Sunderland, L. Fu, *Chem. Rev.* 104 (2004) 561; (b) E. Kim, E.E. Chufán, K. Kamaraj, K.D. Karlin, *Chem. Rev.* 104 (2004) 1077.

⁴⁷ W. Shin, U.M. Sundaram, J.L. Cole, H.H. Zhang, B. Hedman, K. Hodgson, E.I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 3202.

A

B

Figura 11- (A) Representação estrutural do sítio ativo da ascorbato oxidase;^{2b} (B) Mecanismo proposto para redução do O_2 a H_2O por enzimas multinucleares.^{2c}

Os potenciais redox das proteínas azuis, contendo centros T1, variam entre as espécies. O alto potencial em torno de 700 mV *versus* EPH em lacases proveniente dos fungos é atribuído ao ligante metionina não-axial, numa geometria que estabiliza o estado reduzido. Outros fatores, tais como acessibilidade do solvente, orientação dipolo e ligação de hidrogênio, também são

importantes.⁴⁸ A natureza química ao redor do cobre T1 resulta em diferentes potenciais redox. As lacases provenientes de fungos apresentam um alto potencial, próximo ao potencial de equilíbrio de redução do oxigênio, num respectivo pH. As bilirrubinas oxidases⁴⁹ e ceruloplasminas,⁵⁰ que são enzimas multimetaladas, também possuem um alto potencial redox, porém sua eletroquímica é menos compreendida, sendo ainda pouco explorada.

Alguns compostos têm sido sintetizados, visando mimetizar estruturalmente esse *cluster* trinuclear assimétrico.⁵¹ Recentemente, Casella e colaboradores reportaram a síntese de um biomimético trinuclear, derivado de um ligante contendo dois resíduos quirais L-histidina (Figura 12).^{51a} Este composto mostrou uma grande enantio-diferenciação durante a oxidação catalítica entre a L- e a D-dopa, provavelmente devido ao efeito de reconhecimento da quiralidade do substrato, proporcionado pelo centro de cobre não participante da reação catalítica.

Figura 12- Representação da interação da L-dopa no complexo $[\text{Cu}_3\text{PHI}]^{6+}$.^{51a}

Neste exemplo ilustramos o estado da arte no desenvolvimento de sistemas miméticos funcionais, visando a obtenção de melhores catalisadores, baseado no conhecimento mais aprofundado dos sítios ativos das enzimas. Complexos envolvendo diversos centros metálicos têm sido estudados como modelos de biomoléculas multimetaladas, com o objetivo de melhor elucidar o mecanismo de ligação e ativação de pequenas moléculas.⁵²

⁴⁸ (a) A.E. Palmer, S.K. Lee, E.I. Solomon, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 6591; (b) A.E. Palmer, D.W. Randall, F. Xu, E.I. Solomon, J. Am. Chem. Soc. 121 (1999) 7138.

⁴⁹ (a) N. Mano, H.-H. Kim, A. Heller, J. Phys. Chem. B 106 (2002) 8842; (b) S. Tsujimura, B. Tatsumi, J. Ogawa, S. Shimizu, K. Kano, T. Ikeda, J. Electroanal. Chem. 496 (2001) 69.

⁵⁰ (a) T.E. Machonkin, E.I. Solomon, J. Am. Chem. Soc. 122 (2000) 12547; (b) G. Musci, G.C. Bellenchi, L. Calabrese, Eur. J. Biochem. 265 (1999) 589; (c) O. Farver, L. Bendahl, L.K. Skov, I. Pecht, J. Biol. Chem. 274 (1999) 26135.

⁵¹ (a) L. Santagostini, M. Gullotti, R. Pagliarin, E. Monzani, L. Casella, Chem. Commun. (2003) 2186; (b) M.C. Mimmi, M. Gullotti, L. Santagostini, A. Saladino, L. Casella, E. Monzani, R. Pagliarin, J. Mol. Catal. A.: Chemical 204-205 (2003) 381; (c) E. Monzani, L. Casella, G. Zoppellaro, M. Gullotti, R. Pagliarin, R.P. Bonomo, G. Tabbi, G. Nardin, L. Randaccio, Inorg. Chim. Acta 282 (1998) 180.

⁵² J. Gao, J. Reibenspies, A.E. Martell, S. Yizhen, D. Chen, Inorg. Chem. Comm. 5 (2002) 1095.

Na química sintética, enquanto uma razão de 1:1, 2:1 ou 4:1 nas reações entre um complexo metálico e O_2 são bem documentadas, a estequiometria 3:1 é rara. Entre os compostos-modelos conhecidos somente 4 ligantes suportam um centro trinuclear de cobre, conectado em ponte através dos ligantes óxidos (Figura 13).^{27e,53} O primeiro exemplo de uma espécie discreta 3:1 Cu/ O_2 foi descrito por Stack e colaboradores, em 1996. Este sistema foi formado sob oxigenação de um complexo de Cu(I) com o ligante ^{Me,Me}cd (mostrado na Fig. 13), em CH_2Cl_2 , à temperatura de $-80^\circ C$.⁵³ Medidas manométricas confirmaram a estequiometria 3:1, Cu: O_2 , e a caracterização estrutural mostrou a presença de um centro trinuclear $[Cu_3(\mu_3-O)_2]^{3+}$ numa forma T. A molécula de O_2 foi completamente clivada para produzir dois ligantes μ_3 -óxido e todos os três centros metálicos possuem uma geometria quadrado planar, numa coordenação N_2O_2 (Figura 14). Um dos centros de cobre é diferente dos outros dois, ocasionado pelo significativo encurtamento das ligações Cu-O (Cu-O: 1,83 *versus* 1,98 Å para os outros dois centros), sendo consistente com um estado de oxidação Cu(III) para este único centro (Figura 14). Esta curta ligação Cu-O foi também detectada por EXAFS na borda-K do íon de Cu, tanto em solução quanto no estado sólido,⁵⁴ sugerindo que esta distorção não é proveniente do efeito de empacotamento cristalino. Adicionalmente, a região de pré-borda na região XANES mostrou uma característica de Cu(III),^{54,55} sugerindo uma estrutura assimétrica contendo uma valência localizada para o *cluster* Cu(III)-Cu(II)-Cu(II), corroborando a completa redução da molécula de O_2 . A ligação aniônica do bis(óxido) e a natureza da geometria de coordenação quadrado planar são ideais para estabilizar o centro de Cu(III).

Figura 13- Ligantes que estabilizam sítios trinucleares envolvendo espécies Cu/ O_2 .^{27e}

⁵³ A.P. Cole, D.E. Root, P. Mukherjee, E.I. Solomon, T.D.P. Stack, Science 273 (1996) 1848.

⁵⁴ J.L. Dubois, P. Mukherjee, T.D.P. Stack, B. Hedman, E.I. Solomon, K.O. Hodgson, J. Am. Chem. Soc. 122 (2000) 5775.

⁵⁵ J.L. Dubois, P. Mukherjee, A.M. Collier, J.M. Mayer, E.I. Solomon, B. Hedman, T.D.P. Stack, K.O. Hodgson, J. Am. Chem. Soc. 119 (1997) 8578.

Figura 14- Estrutura de raios-X da espécie **T** $[(^{\text{Me,Me}}\text{cd})_3\text{Cu}_3(\mu_3\text{-O})_2]^{3+}$ e alguns parâmetros estruturais (Å).⁵³

Em contraste ao aduto formado entre a espécie dinuclear $\text{Cu}^{\text{III}}\text{bis}(\mu\text{-O})\text{Cu}^{\text{III}}(\text{O})$, o complexo trinuclear **T** é paramagnético com $S = 1$ no estado fundamental, sendo confirmado por medidas de susceptibilidade magnética no estado sólido, EPR, CD e cálculos teóricos.⁵⁶ Os dois centros de $\text{Cu}(\text{II})$ estão fracamente acoplados ($J = +7 \text{ cm}^{-1}$), com ângulo entre $\text{Cu}(\text{II})\text{-O-Cu}(\text{II})$ igual a 87° . O espectro UV/Vis da espécie **T** exibe 4 bandas de absorção em 290 nm ($\epsilon \approx 12\,500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 355 nm ($\epsilon \approx 15\,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 480 nm ($\epsilon \approx 1400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e 620 nm ($\epsilon \approx 800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

A formação da espécie **T** é dependente da estrutura do ligante e também da concentração inicial de $\text{Cu}(\text{I})$ e O_2 . Se a concentração de $[(^{\text{Me,Me}}\text{cd})\text{Cu}(\text{I})\text{-(MeCN)}]^+$ é significativamente maior do que a quantidade de O_2 dissolvido, a espécie **T** é preferencialmente formada;⁵⁷ caso contrário, observa-se uma espécie dinuclear. Além disso, podemos direcionar o curso de uma reação modulando o ligante (através de efeito estérico), ou seja, a forma $^{\text{Me,Et}}\text{cd}$ induz a formação de uma espécie dinuclear, independentemente da concentração utilizada.

O mesmo comportamento espectroscópico e estrutural descrito anteriormente foi observado para uma família de ligantes $^{\text{R1}}\text{Py}^{\text{R2,R3}}$,^{27e,42a}, onde $[(^{\text{H}}\text{Py}1^{\text{Me,Me}})\text{Cu}(\text{I})]^+$ reage com O_2 numa razão de 3:1, em acetona, dando origem a um complexo com bandas na região UV/Vis consistentes com a formação de uma espécie trinuclear: 342 nm ($\epsilon \approx 12\,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 515 nm ($\epsilon \approx 1000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e 685 nm ($\epsilon \approx 800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Detalhes espectroscópicos da reação de oxigenação indicam também uma dependência com relação à concentração Cu/O_2 . Uma espécie **T** é formada numa alta concentração de Cu , e um complexo dinuclear é gerado numa alta concentração de O_2 . Os autores também demonstraram que a espécie di- pode ser convertida numa trinuclear pela adição de uma quantidade maior da espécie monomérica, numa solução contendo oxigênio livre dissolvido.

⁵⁶ (a) I. Ciofini, C. Daul, Coord. Chem. Rev. 238 (2003) 187; (c) C.A. Daul, S. Fernandez-Ceballos, I. Ciofini, C. Rauzy, C.-W. Schlapfer, Chem. Eur. J. 8 (2002) 4392; (b) A. Bérces, Chem. Eur. J. 4 (1998) 1297.

⁵⁷ B. Jung, K.D. Karlin, A.D. Zuberbuhler, J. Am. Chem. Soc. 118 (1996) 3763.

Novos estudos têm elucidado a estrutura de raios-X de uma enzima tetranuclear de cobre [Cu_4S] proveniente da *Paracoccus denitrificans* (Figura 15),⁵⁸ capaz de promover a redução do N_2O para N_2 por um mecanismo envolvendo 2 elétrons ($\text{N}_2\text{O} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$). Este gás é um dos responsáveis pelo aquecimento global terrestre, sendo também produzido durante a denitrificação causada por bactérias, catalisada pelas enzimas nitrito redutases, que também são complexos de cobre do tipo 2.⁵⁹ Estima-se um aumento gradual de N_2O em torno de 0,2-0,3% por ano e a utilização de fertilizantes nitrogenados na agricultura é um dos fatores que contribuem para o crescimento da produção microbial de N_2O .^{58b}

Figura 15- Estruturas dos sítios Cu_z e Cu_A da N_2OR .^{58b}

A enzima nitroso óxido redutase (N_2OR) possui dois centros de cobre ativos: um sítio dinuclear de cobre contendo resíduos de cisteína em ponte chamado Cu_A , responsável pelo transporte de elétrons, e um sítio catalítico tetranuclear denominado Cu_z . A natureza dinuclear do sítio Cu_A da N_2OR é semelhante ao da citocromo *c* oxidase, sendo inicialmente sugerido por Peter Kroneck através da análise comparativa dos espectros de EPR em multifrequências,⁶⁰ posteriormente confirmada por cristalografia de raios-X (Figura 15).⁶¹ As propriedades eletrônicas e os fatores

⁵⁸ (a) V.S. Oganessian, T. Rasmussen, S. Fairhurst, A.J. Thomson, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (2004) 996; (b) T. Haltia, K. Brown, M. Tegoni, C. Cambillau, M. Saraste, K. Mattilas, Biochem. J. 369 (2003) 77.

⁵⁹ (a) S.S. Hasnain, R.W. Strange, J. Synchrotron Rad. 10 (2003) 9; (b) M. Beretta, E. Bouwman, L. Casella, B. Douziech, W.L. Driessen, L. Gutierrez-Soto, E. Monzani, J. Reedijk, Inorg. Chim. Acta 310 (2000) 41; (c) K. Brown, M. Tegoni, M. Prudêncio, A.S. Pereira, S. Besson, J.J. Moura, I. Moura, C. Cambillau, Nature Structure Biology 7 (2000) 191; (d) P. Chen, S.I. Gorelsky, S. Ghosh, E.I. Solomon, Angew. Chem. Int. Ed. 43 (2004) 4132.

⁶⁰ (a) P.M.H. Kroneck, W.E. Antholine, D.H.W. Kastrau, G. Buse, G.C.M. Steffens, W.G. Zumft, FEBS Lett. 268 (1990) 274; (b) P.M.H. Kroneck, W.E. Antholine, J. Riester, W.G. Zumft, FEBS Lett. 242 (1988) 70.

⁶¹ (a) K. Brown, M. Tegoni, M. Prudêncio, A.S. Pereira, S. Besson, J.J. Moura, I. Moura, C. Cambillau, Nat. Struct. Biol. 7 (2000) 191; (b) H. Robinson, M.C. Ang, Y.-G. Gao, M.T. Hay, Y. Lu, A.H.-J. Wang, Biochemistry 38 (1999) 5677; (c) P.A. Williams, N.J. Blackburn, D. Sanders, H. Bellamy, E.A. Stura, J.A. Fee, D.E. McRee, Nat. Struct. Biol. 6 (1999) 509; (d) S. Yoshikawa, K. Shinzawa-Itoh, R. Nakashima, R. Yaono, E. Yamashita, N. Inoue, M. Yao, M.J. Fei, C.P. Libeu, T. Mizushima, Science 280 (1998) 1723; (e) C. Ostermeier, A. Harenga, U. Ermler, H. Michel, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94 (1997) 10547; (f) M. Willmanns, P. Lappalainen, M. Kelly, E. Sauer-Eriksson, M. Saraste, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 92 (1995) 11955.

relacionados à transferência eletrônica foram extensivamente estudados, sendo a baixa energia de reorganização responsável pela rápida transferência de elétrons.⁶² Por outro lado, a natureza do sítio Cu_z baseada somente nos dados espectroscópicos eram bastante confusa, somente com a elucidação da estrutura do cristal da N₂OR proveniente de *Pseudomonas nautica* (resolução de 2,4 Å) foi possível entender os detalhes da natureza molecular do centro Cu_z.^{61a,63} A presença de um átomo de enxofre em ponte entre os quatro centros de cobre tem sido confirmada, baseada nos dados analíticos, espectroscópicos e cristalográficos, definindo o Cu_z como um novo tipo de *cluster* tetranuclear de cobre, do tipo μ_4 -sulfeto (Figura 15). O mecanismo de ativação e redução do N₂O permanece ainda desconhecido.

Alguns modelos tetranucleares têm sido descritos na literatura na tentativa de propor um mecanismo de ativação do oxigênio. A primeira espécie tetranuclear envolvendo oxigênio molecular foi descrita como uma espécie *cis*- μ_4 -peroxotetracobre(II).^{4,64} O complexo é formado pela redução *in situ* dos íons Cu(II) em MeOH oxigenado usando 3,5-di-*terc*-butilcatecol ou H₂O₂ na presença de um ligante bidentado, bpmp, ou através do tratamento do Cu(I) com bpmp em solução metanólica, num meio básico, seguido de uma exposição ao ar. O grupo *cis*- μ_4 -peroxo se liga num arranjo em que os átomos de Cu(II) estão também ligados em pontes pelos grupos metóxido e fenóxido (Figura 16). O comprimento da ligação O-O é igual a 1,45 Å e as distâncias de ligações entre Cu-O são iguais a 1,95 Å, típicos de uma ligação metal-peroxo. Outros ligantes similares ao bpmp também formam complexos tetranucleares do tipo peroxo.⁶⁵ Estes complexos exibem espectros eletrônicos análogos, com uma banda de transferência de carga em 390 nm ($\epsilon \approx 9500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), atribuída a uma combinação de fenolato $\rightarrow$ Cu(II) e peroxo $\rightarrow$ Cu(II), e 580 nm ($\epsilon \approx 600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) atribuída também à transição peroxo $\rightarrow$ Cu(II). O espectro Raman ressonante mostrou um estiramento vibracional da ligação O-O na região entre 880-900 cm⁻¹ suportando a presença de um grupo peroxo, e medidas de susceptibilidade magnética revelaram um forte acoplamento antiferromagnético entre os íons de Cu(II). O mecanismo detalhado indicando a formação deste complexo ainda é desconhecido.

⁶² (a) S. DeBeer George, M. Metz, R.K. Szilagyi, H. Wang, S.P. Cramer, Y. Lu, W.B. Tolman, B. Hedman, K.O. Hodgson, E.I. Solomon, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 5757; (b) D.W. Randall, D.R. Gamelin, L.B. LaCroix, E.I. Solomon, J. Biol. Inorg. Chem. 5 (2000) 16; (c) J.A. Farrar, F. Neese, P. Lappalainen P.M.H. Kroneck, M. Saraste, W.G. Zumft, A.J. Thomson, J. Am. Chem. Soc. 118 (1996) 11501.

⁶³ K. Brown, K. Djinic-Carugo, T. Haltia, I. Cabrito, M. Saraste, J.J. Moura, I. Moura, M. Tegoni, C. Cambillau, J. Biol. Chem. 275 (2000) 41133.

⁶⁴ J. Reim, B. Krebs, Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 33 (1994) 1969.

⁶⁵ J. Reim, R. Werner, W. Haase, B. Krebs, Chem. Eur. J. 4 (1998) 289.

Figura 16- Estruturas de raios-X de duas espécies tetranucleares Cu/O₂ com alguns dos seus parâmetros estruturais (Å).^{8a} (a) [(bpmp)₂Cu(II)₄(*cis*-μ₄-O₂)(OMe)₂]²⁺,^{4,64} (b) [(pzdien)₂Cu(II)₄(*trans*-μ₄-O₂)(OH)₂]²⁺.⁶⁶

Pzdien é um ligante binucleante, hexadentado, contendo um anel pirazolato formando uma ponte entre os centros de cobre. A oxigenação de [(pzdien)Cu(I)₂]²⁺, à temperatura -80 °C, criou um complexo com quatro átomos de cobre contendo um ligante na forma μ₄-peroxo, e cada pzdien ligado aos dois centros de Cu(II) (Figura 16b). O íon pirazolato de cada ligante pzdien, ligado a dois centros de cobre num modo de coordenação *cis*-1,2, produziu duas subunidades ligadas ao núcleo peróxido numa orientação *trans*. Cada centro Cu(II) adota uma geometria distorcida de pirâmide de base quadrada com o ligante pzdien, mostrando uma coordenação do tipo *fac* (facial), com uma distância axial Cu-N igual a 2,34 Å. A coordenação equatorial de cada íon metálico é completada pela ligação μ-hidroxo e o ligante μ₄-peróxido.⁶⁶ O comprimento da ligação O-O é igual a 1,50 Å, consistente com o íon peroxo, embora seja uma das maiores ligações reportadas para uma ligação peroxo em complexos de cobre caracterizados estruturalmente. O surgimento de uma banda em 360 nm (ε ≈ 3100 M⁻¹ cm⁻¹) foi atribuída à transferência de carga peroxo → Cu(II), e uma banda característica em 630 nm (ε ≈ 260 M⁻¹ cm⁻¹) como sendo uma transição d-d. A composição deste *cluster* e o modesto rendimento de sua formação (~ 40 %) são consistentes com as etapas de redução do oxigênio envolvendo 2 e 4 elétrons, produzindo peróxido e íons

⁶⁶ F. Meyer, H. Pritzkow, *Angew. Chem., Int. Ed.* 39 (2000) 2112.

hidróxidos, respectivamente. Certamente, um mecanismo de redução mais complicado é também possível.

Existem ainda outras proteínas multimetaladas de cobre que apresentam diferentes sítios ativos, como a cobretioneína apresentando alto teor de grupos tióis (-SH) presentes em células eucariotas, arranjados na forma de *clusters* acomodando até 12 átomos de cobre por molécula de proteína, em dois clusters com 6 íons de Cu.^{2c} Além de várias outras enzimas de cobre que não possui ainda um modelo estrutural definido, tais como fenoxazinona sintase (PHS) proveniente da *Streptomyces antibioticus* que catalisa por um mecanismo envolvendo 6 elétrons o acoplamento oxidativo de duas moléculas do pentapeptídeo 4-metil-3-hidroxiantraniloila para formar o ácido actinomucínico, o último intermediário na biosíntese do agente antineoplásico actinomicina D.^{2c,67} Sugere-se por meio de estudos espectroscópicos um total de 4-5 átomos de cobre, sendo um deles na forma tipo 1 e os demais do tipo 2, porém o arranjo exato dos átomos de cobre nesta oxidase de cobre multimetalada ainda é desconhecido. Estudos recentes mostram alguns resultados preliminares de estruturas de raios-X da enzima PHS (Figura 17).⁶⁸ Alguns modelos funcionais desta enzima estão sendo propostos na tentativa de obtenção de novos catalisadores para as indústrias farmacêuticas,⁶⁹ além da possibilidade de compreender melhor seu mecanismo de transferência eletrônica.^{69b}

Figura 17- Dois tipos de cristais da fenoxazinona sintase obtidos em ambientes distintos.⁶⁸ Em ambos os casos observa-se uma coloração azulada indicativo da presença de centros de cobre do tipo 1.

⁶⁷ C.E. Barry, P.G. Nayar, T.P. Begley, *Biochemistry* 28 (1989) 6323.

⁶⁸ A.W. Smith, A. Camara-Artigas, C Olea Jr, W.A. Francisco, J.P. Allen, *Acta Cryst. D60* (2004) 1453.

⁶⁹ (a) T. Horváth, J. Kaizer, G. Speier, *J. Mol. Catal. A.: Chemical* 215 (2004) 9; (b) A.B. Zaki, M.Y. El-Sheikh, J. Evans, S.A. El-Safty, *Polyhedron* 19 (2000) 1317.

1.1.3. Complexos heteronucleares como modelos funcionais da citocromo *c* oxidase (CcO)

Estudos biomiméticos envolvendo sistemas heteronucleares como a citocromo *c* oxidase (CcO) e o seu mecanismo de ativação do oxigênio molecular têm também despertado um grande interesse nos químicos inorgânicos.⁴⁶ A redução do O₂ a água tem uma grande importância tecnológica e possui um papel chave no desenvolvimento das (bio)células a combustível.⁷⁰ Nos organismos aeróbicos, o O₂ é utilizado como receptor terminal de elétrons na respiração. Na mitocôndria, a reação de $4e^-/4H^+$ é providenciada pela enzima multiprotéica periférica, a citocromo *c* oxidase, a qual possui em seu centro catalítico, além de um sítio heme *c* e um centro dinuclear Cu_A, um sítio heme *a*₃ e um centro mononuclear Cu_B (Figura 18)^{61d,71,72} capazes de promover a reação de transferência eletrônica na etapa terminal da cadeia de transporte de elétrons.

Figura 18- (Esquerda) Estrutura da CcO extraída do coração bovino, onde as 13 subunidades estão mostrados em diferentes cores. Heme *a* (azul), heme *a*₃ (verde claro) e Cu_B (rosa) estão localizados na subunidade I (amarelo), enquanto que o Cu_A (vermelho) está posicionado na subunidade II (verde). (Direita) Sítio redox da CcO expandido. Cu_A...Fe_a = 20,6 Å; Cu_A...Fe_{a3} = 23,2 Å; Fe_a...Fe_{a3} = 13,4 Å; Cu_B...Fe_{a3} = 5,2 Å.^{46b}

⁷⁰ (a) Todos os artigos de revisão, Chem. Rev. 104(10) (2004); (b) S.C. Barton, J. Gallaway, P. Atanassov, Chem. Rev. 104 (2004) 4867.

⁷¹ (a) S. Iwata, C. Ostermeter, B. Ludwig, H. Michel, Nature 376 (1995) 660.

⁷² (a) T. Tsukihara, H. Aoyama, E. Yamashita, T. Tomizaki, H. Ymaguchi, K. Shinzawa-Itoh, R. Nakashima, R. Yaono, S. Yoshikawa, Science 269 (1995) 1069; (b) T. Tsukihara, H. Aoyama, E. Yamashita, T. Tomizaki, H. Ymaguchi, K. Shinzawa Itob, R. Nakashima, R. Yaono, S. Yoshikawa, Science 272 (1996) 1136.

A mitocôndria é uma organela presente em quase todos os organismos vivos, onde ocorre o consumo de piruvato e O_2 para a produção de ATP. Enzimas ancoradas à membrana são responsáveis por uma série de reações de transferência de elétrons e de prótons. Os complexos encontram-se próximos uns dos outros de modo a garantir o acoplamento e promoção da transferência vetorial de carga. A membrana fornece um ambiente favorável que permite o acoplamento da transferência de elétrons e de prótons através da membrana. Um esquema da etapa final do processo que ocorre na mitocôndria está ilustrado na Figura 19,⁷³ correspondendo à cadeia de transporte de elétrons, após o ciclo do ácido cítrico. A energia necessária para a síntese de ATP é obtida da oxidação de NADH e $FADH_2$ na cadeia de transporte de elétrons, uma série de quatro complexos protéicos organizados tanto espacialmente quanto energeticamente, onde o transporte de elétrons se dá da espécie de menor para a de maior potencial-padrão de redução. A transferência de elétrons dos complexos I e II para o complexo III é mediada pela coenzima Q (ubiquinona) e do complexo III ao complexo IV é mediada pela proteína periférica citocromo *c*. Os complexos I e II possuem em seu interior *clusters* Fe-S envolvidos no transporte de elétrons por meio de um mecanismo redox. Os complexos III e IV possuem sítios redox constituídos por citocromos (grupos heme). Acoplados ao transporte de elétrons tem-se mecanismos de bombeamento de prótons da matriz para o espaço intermembrana da mitocôndria. O papel eletroquímico resultante desse gradiente de prótons correspondente à força motriz da reação de fosforilação de ADP, produzindo ATP pela ação da ATPase próton-transportadora (Figura 19).

Figura 19- Esquema da cadeia de transporte de elétrons na membrana.⁷³

⁷³ D. Voet, J.G. Voet, *Biochemistry*; 2 ed.; John Wiley & Sons, Inc., (1995).

Vários métodos bioquímicos e espectroscópicos têm sido utilizados para estudar o mecanismo de redução do oxigênio pela enzima citocromo *c* oxidase, que ocorre no centro binuclear heme a_3 -Cu_B (Figura 18). A reação se inicia na fase reduzida **R** (Fe^{II} Cu^I) em que O₂ é capturado para formar um intermediário **A**, com absorção em 595 nm e com uma constante de velocidade $k = 1 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ (Figura 20).^{46b} Através de espectroscopia Raman ressonante resolvida no tempo identificou-se este intermediário como uma espécie “oxi-ferrosa”, mostrando um estiramento vibracional Fe-O₂ em 571 cm^{-1} ,⁷⁴ onde o oxigênio se liga ao ferro na forma *end-on*, semelhante a mioglobina ou hemoglobina. O segundo intermediário **P_M** encontrado no ciclo catalítico tem gerado uma intensa discussão, mostrando uma banda de absorção em 607 nm, que foi inicialmente atribuída como uma espécie intermediária heme-peróxido, Fe^{III}-O₂⁻, e portanto designada como **P**.⁷⁵ Entretanto, uma investigação recente mostrou que a ligação O-O já está rompida neste estágio.⁷⁶ O intermediário **P_M** mostrou no espectro Raman uma banda em 804 cm^{-1} , utilizando oxigênio marcado, que foi atribuída ao estiramento $\nu(\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O})$.^{76c} Independentemente, estudos de espectroscopia de massa mostraram somente um átomo de oxigênio por unidade equivalente de **P_M**, suportando a possibilidade de rompimento da ligação O-O.^{76b} Porém, 4 elétrons são necessários para que ocorra o rompimento da ligação O-O e somente 3 elétrons estão disponíveis no sítio binuclear (dois proveniente da oxidação Fe^{II}→Fe^{IV}, e um do Cu^I→Cu^{II}), isto sugere que o resíduo de tirosina His-Tyr, próximo ao complexo Cu_B contendo ligantes imidazólicos, seja o responsável pelo quarto elétron que favoreceria a clivagem da ligação O-O, dando origem ao radical tirosil.^{76c,77} O resíduo triptofano 236 na CcO tem sido considerado como uma outra fonte do quarto elétron,⁷⁸ sendo estável devido à interação do tipo π -stacks com um dos ligantes histidinas do sítio Cu_B.⁷⁸

Uma outra possibilidade de redução do oxigênio, partindo-se do composto **A**, após a interação do oxigênio, seria a formação de uma espécie intermediária **P_R** (Figura 20). Por análise

⁷⁴ (a) T. Ogura, S. Takahashi, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, T. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 5630; (b) S. Han, Y.C. Ching, D.L. Rousseau, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87 (1990) 2491; (c) S. Han, Y.C. Ching, D.L. Rousseau, *Biochemistry* 29 (1990) 1380; (d) C. Varotsis, W.H. Woodruff, G.T. Babcock, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 6439.

⁷⁵ (a) J.E. Morgan, M.I. Verkhovsky, M. Wikstrom, *Biochemistry* 35 (1996) 12235; (b) G.T. Babcock, M. Wikström, *Nature* 356 (1992) 301; (c) B.C. Hill, C. Greenwood, *Biochem. J.* 215 (1983) 659; (d) B. Chance, C. Saronio, J.S. Leigh Jr., *J. Biol. Chem.* 250 (1975) 9226.

⁷⁶ (a) O. Einarsson, I. Szundi, N. Van Eps, A. Sucheta, J. Inorg. Biochem. 91 (2002) 87; (b) M. Fabian, W.W. Wong, R.B. Gennis, G. Palmer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (1999) 13114; (c) D.A. Proshlyakov, M.A. Pressler, G.T. Babcock, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95 (1998) 8020; (d) D.A. Proshlyakov, T. Ogura, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, T. Kitagawa, *Biochemistry* 35 (1996) 8580; (e) D.A. Proshlyakov, T. Ogura, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, E.H. Appelman, T. Kitagawa, *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 29385; (f) L.C. Weng, G.M. Baker, *Biochemistry* 30 (1991) 5727.

⁷⁷ (a) G.T. Babcock, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (1999) 12971; (b) D.A. Proshlyakov, M.A. Pressler, C. DeMaso, J.F. Leykam, D.L. DeWitt, G.T. Babcock, *Science* 290 (2000) 1588.

⁷⁸ M.R.A. Blomberg, P.E.M. Siegbahn, M. Wikstroem, *Inorg. Chem.* 42 (2003) 5231.

comparativa, a geração de P_R ocorre ~5-6 vezes mais rapidamente, em relação ao P_M .⁷⁹ O espectro de absorção também indica que P_R possui uma ligação do tipo $Fe^{IV}=O$, como encontrado em P_M , porém o quarto elétron para gerar P_R teria origem no sítio heme a , e não do resíduo da tirosina His-Tyr (Figura 20). Ambas as técnicas espectroscópicas Raman e UV/Vis suportam esta idéia, indicando que o desaparecimento da espécie oxi- A está relacionado com a oxidação do centro heme a contendo baixo-spin. Acredita-se que a estrutura do sítio binuclear heme a_3 - Cu_B em P_R seja a mesma que a do P_M ,⁸⁰ porém a natureza exata de P_R ainda não é bem compreendida.

Figura 20- Representação inicial dos possíveis intermediários envolvidos durante a redução do O_2 .^{46b}

⁷⁹ M. Karpefors, P. Aedelroth, A. Namslauer, Y. Zhen, P. Brzezinski, *Biochemistry* 39 (2000) 14664.

⁸⁰ J.E. Morgan, M.I. Verkhovsky, G. Palmer, M. Wikstroem, *Biochemistry* 40 (2001) 6882.

Estudos empregando a enzima CcO na sua forma reduzida têm mostrado que P_R decai para produzir uma outra espécie intermediária “oxi-férrica” F (Figura 20). A redução equivalente necessária para que esta conversão não deriva do centro binuclear, porém da transferência parcial de elétrons do sítio Cu_A para o centro heme α , resultando em uma mistura de equilíbrios de dois estados redox do heme α e do centro Cu_A (Figura 20).^{75a,81} O intermediário F possui uma banda de absorção em ~ 580 nm, e também apresenta um estiramento vibracional $\nu(Fe^{IV}=O)$ em 785 cm^{-1} .⁸² Comparado ao P_R , sugere-se que o centro binuclear em F tenha um próton adicional, com uma ligação de hidrogênio ao grupo $Fe^{IV}=O$.^{76c} Entretanto, o sítio exato para esta protonação (ex.: tirosinato, OH^- ao Cu_B ou outros resíduos) não é conhecido. A velocidade de transferência eletrônica de ambas as transições $P_R \rightarrow F$ e $Cu_A \rightarrow$ heme α são dependentes do pH,⁸³ e suas transições são acompanhadas por bombeamento de prótons.⁸⁴

O intermediário final hidróxido férrico O é formado após a transferência de 4 elétrons ao centro binuclear. Este foi caracterizado pela técnica de espectroscopia Raman ressonante resolvida no tempo mostrando um modo de estiramento $\nu(Fe^{III}-OH)$ em 450 cm^{-1} ,^{82b,85} supondo que ambos os centros heme α_3 e Cu_B contêm o ligante hidróxido (Figura 20). Um deles é liberado com uma velocidade de $\sim 1 \times 10^2\text{ s}^{-1}$ para formar uma enzima completamente oxidada O ,^{83b,86} podendo ter diferentes ligantes ponte, tais como: $H_2O \cdots OH$, $\mu-O_2^{2-}$, $\mu-O^{2-}$, $\mu-(OH)$. Caso seja verdade, a identidade precisa do grupo ponte necessita ainda ser resolvida. A formação do intermediário O é dependente do pH e a transformação de $F \rightarrow O$ está também acoplada ao bombeamento de prótons.⁸⁴

A reação entre peróxido de hidrogênio e a espécie oxidada $Fe_{\alpha_3}^{III}-Cu_B^{2+}$ da CcO suporta a formação da espécie intermediária P_M .^{76a,76c} Estudos teóricos estão focalizados na tentativa de compreender a dramática conversão entre as espécies intermediárias A para P_M .^{78,87} Alguns

⁸¹ (a) I. Szundi, G.-L. Liao, O. Einarsdottir, *Biochemistry* 40 (2001) 2332; (b) S. Paula, A. Sucheta, I. Szundi, O. Einarsdottir, *Biochemistry* 38 (1999) 3025.

⁸² (a) C. Varotsis, G.T. Babcock, *Biochemistry* 29 (1990) 7357; (b) T. Ogura, S. Takahashi, S. Hirota, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, E.H. Appelman, T. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 8527.

⁸³ (a) I. Szundi, N. Van Eps, O. Einarsdottir, *Biochemistry* 42 (2003) 5074; (b) S. Hallén, T. Nilsson, *Biochemistry* 31 (1992) 11853.

⁸⁴ (a) M. Wikström, M.I. Verkhovsky, *Biochim. Biophys. Acta* 1555 (2002) 128; (b) M. Wikström, *Biochim. Biophys. Acta* 1458 (2000) 188; (c) D. Zaslavsky, R.B. Gennis, *Biochim. Biophys. Acta* 1458 (2000) 164.

⁸⁵ (a) C. Varotsis, Y. Zhang, E.H. Appelman, G.T. Babcock, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90 (1993) 237; (b) T. Ogura, S. Hirota, D.A. Proshlyakov, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, T. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 5443; (c) S. Han, Y.C. Ching, D.L. Rousseau, *J. Biol. Chem.* 264 (1989) 6604.

⁸⁶ (a) P. Aedelroth, R.B. Gennis, P. Brzezinski, *Biochemistry* 37 (1998) 2470; (b) B.C. Hill, *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 2419.

⁸⁷ (a) M.R.A. Blomberg, P.E.M. Siegbahn, *J. Phys. Chem. B* 105 (2001) 9375; (b) M.R.A. Blomberg, P.E.M. Siegbahn, G.T. Babcock, M. Wikström, *J. Inorg. Biochem.* 80 (2000) 261; (c) M.R.A. Blomberg, P.E.M. Siegbahn, G.T. Babcock, M. Wikström, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 12848.

estudos mostram que a clivagem da ligação O-O é facilitada através do bombeamento de prótons (ou água) por meio de ligações de hidrogênio.

Embora significativos avanços tenham sido feitos para identificação e detecção dos intermediários de O₂ no ciclo catalítico da CcO, maiores detalhes ainda são necessários. O esquema reacional inicialmente proposto continua evoluindo, buscando entender a relação entre as espécies intermediárias contendo oxigênio e o processo de bombeamento de prótons.

Vários modelos estruturais e/ou funcionais da CcO vêm sendo explorados, alguns utilizando anéis porfirínicos contendo ferro funcionalizados com grupos imínicos que possam coordenar cobre mais apropriadamente; outros misturando diretamente quantidades equimolares de ferro-heme protegidos e aminas ou iminas de cobre (Figuras 21 e 22). As maiores contribuições ao estudo da química heme/Cu/O₂ no isolamento e caracterização de intermediários envolvendo O₂ têm sido feitas pelos grupos de Collman, Karlin, Naruta, Boitrel e Casella. Particularmente, Collman, Boitrel e colaboradores têm enfatizado estudos eletrocatalíticos.^{46a} Os trabalhos do grupo de Karlin têm sido fundamentais para elucidar a interação do oxigênio em centros heme-cobre.⁸⁸ Poucos são os grupos de pesquisas que têm gerado sistemas modelos da CcO utilizando um grupo heme natural, ou seja, a protoporfirina IX. Casella e colaboradores são os únicos que mostram alguns resultados nesta área, utilizando a *deuterohemina* [(3,7,12,17-tetrametilporfirina-2,18-dipropionato)-ferro(III)] (Figura 21).^{89,90} Neste caso, eles observaram uma degradação do anel porfirínico durante a oxidação do sítio Fe^{II}/Cu^I em temperaturas elevadas, sendo estáveis somente à baixa temperatura de -45 °C, sugerindo que a formação de um intermediário heme-peroxo-cobre pode ter o papel crucial de evitar a degradação química do anel porfirínico.

Figura 21- Sistemas modelos da CcO utilizando a *deuterohemina*.^{89,90}

⁸⁸ (a) K.D. Karlin, A. Nanthakumar, S. Fox, N.N. Murthy, N. Ravi, B.H. Huynh, R.D. Orosz, E.P. Day, J. Am. Chem. Soc. 116 (1994) 4753; (b) A. Nanthakumar, S. Fox, N.N. Murthy, K.D. Karlin, N. Ravi, B.H. Huynh, R.D. Orosz, E.P. Day, K.S. Hagen, N.J. Blackburn, J. Am. Chem. Soc. 115 (1993) 8513.

⁸⁹ (a) F. Franceschi, M. Gullotti, E. Monzani, L. Casella, V. Papaefthymiou, Chem. Commun. (1996) 1645; (b) L. Casella, E. Monzani, M. Gullotti, F. Gliubich, L. De Gioia, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1994) 3203.

⁹⁰ E. Monzani, L. Casella, M. Gullotti, N. Panigada, F. Franceschi, V. Papaefthymiou, J. Mol. Catal. A: Chemical 117 (1997) 199.

Figura 22- Representação de alguns compostos modelos da CcO descritos na literatura.^{46b}

Recentemente, Karlin e colaboradores descreveram um sistema modelo do sítio heme a_3 -Cu_B envolvendo um ligante tridentado bis(2-(2-piridil)etil)amino ao redor do íon de Cu(I), capaz de mimetizar a ligação inicial do O₂ ao grupo heme,⁹¹ seguida de sua redução ao peróxido, dando origem ao intermediário $\text{Fe}^{3+}-(\text{O}_2^{2-})\text{-Cu(II)}$, como mostrado na Figura 23.

Figura 23- Formação do complexo $[(^2\text{L})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O}_2^{2-})\text{Cu}^{\text{II}}]^+ \text{ 3}$ a partir da reação entre $[(^2\text{L})\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+ \text{ 1}$ e O₂.⁹¹

Após a metalação do ligante, o complexo foi reduzido formando a espécie $[(^2\text{L})\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}]^+ \text{ 1}$. A reação com o oxigênio, a $-90\text{ }^\circ\text{C}$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / 6\%\text{EtCN}$, mostrou uma transformação imediata de **1** ($\lambda_{\text{máx}}$, 426, 530 nm) para $[(^2\text{L})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O}_2^{2-})\text{Cu}^{\text{II}}]^+ \text{ 3}$ ($\lambda_{\text{máx}}$, 419, 488, 544, 575 nm), formulado como um complexo heme-peroxo-cobre (Figura 23). Os espectros de ^1H RMN ($-90\text{ }^\circ\text{C}$, acetona- d_6) revelaram um estado de $S = 2$ para o complexo **3**, onde o centro ferro(III) (alto-spin) está fortemente acoplado ao íon de cobre(II) através do ligante ponte peroxo. Medidas de Raman ressonante confirmaram a existência do intermediário peroxo, descartando a presença das espécies $\text{Fe}=\text{O}$ e $\text{Fe}-\text{O}-\text{Cu}$. O estiramento vibracional O-O em 747 cm^{-1} ($\Delta[^{18}\text{O}_2] = 40\text{ cm}^{-1}$) e uma ausência de desdobramento do sinal, característico de uma ligação simétrica do grupo peróxido, são indicativos de coordenação na forma $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ entre os íons metálicos.

A formação do complexo **3** também foi acompanhada por medidas de “stopped-flow” ou cinética rápida, à temperatura $-105\text{ }^\circ\text{C}$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / 6\%\text{EtCN}$, através da reação do O₂ com o complexo **1**. A rápida geração de um intermediário superóxido $[(^2\text{L})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O}_2^-)\cdots\text{Cu}^{\text{I}}(\text{NCEt})]^+ \text{ 2}$

⁹¹ E. Kim, J. Shearer, S. Lu, P. Moënne-Loccoz, M.E. Helton, S. Kaderli, A.D. Zuberbübler, K.D. Karlin, J. Am. Chem. Soc. 126 (2004) 12716.

($\lambda_{\text{máx}}$, 544 nm) foi observada (Figura 23, $k_1 = 5,23 \pm 0,09 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), uma vez que o espectro UV/Vis era semelhante ao aduto $[(\text{F}_8)\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O}_2^-)]$, caracterizado anteriormente pelo grupo utilizando a mesma solução, com $\nu(\text{O-O}) = 1178 \text{ cm}^{-1}$ em THF.⁹² Uma reação intramolecular entre Cu(I) e a espécie superóxido, para produzir o complexo **3**, ocorre com $k_2 = 2,74 \pm 0,04 \times 10^1 \text{ s}^{-1}$ numa temperatura de -105°C . Estudos espectroscópicos de absorção de raios-X também suportam a presença de um ligante peroxo na forma $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ na estrutura $[(^2\text{L})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O}_2^{2-})\text{Cu}^{\text{II}}]^+$ **3**. Medidas de EXAFS na borda-K do íon de cobre(II) mostraram uma geometria pentacoordenada contendo duas ligações Cu-N = 2,028(7) Å, duas ligações Cu-O = 1,898(7) Å (como esperado para Cu^{II}-O_{peroxo}) e uma distância maior entre Cu-N igual a 2,171(12) Å. Este mesmo estudo também foi realizado para o íon de ferro(III), onde o espectro de EXAFS foi ajustado para um sistema contendo 5 ou 6 átomos coordenados (quatro ligações Fe-N_{pirrol} $\approx$ 2,1 Å e uma ou duas ligações Fe-O $\approx$ 1,9 Å). Uma análise da região de pré-borda, correspondente às transições Fe(1s) $\rightarrow$ Fe(3d), sugeriram uma coordenação do tipo *side-on* do ligante peroxo ao íon de ferro. Esta transição observada em 7113,2(2) eV corresponde a uma diferença menor de energia ($\sim$ 1,5 eV), em relação ao complexo pentacoordenado (P)Fe^{III} numa simetria C_{4v}. Além disso, o espectro na região de pré-borda se aproxima ao do complexo $[(\text{P})\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O}_2^{2-})]$ **5** contendo uma ligação do tipo η^2 (*side-on*) com o ligante peroxo (Figura 24).⁹³ Esta coordenação ao grupo heme já tinha sido confirmada por cristalografia de raios-X para o complexo $[(\text{TMP})\text{Fe}^{\text{III}}-(\text{O}_2^{2-})-(5\text{MeTPA})\text{Cu}^{\text{II}}]^+$ **4**, contendo uma coordenação do tipo $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^1$ do ligante peroxo em ponte entre os dois centros metálicos (Figura 24). Entretanto, sugere-se neste trabalho⁹¹ uma coordenação $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ ao complexo **3**, baseado nas análises espectroscópicas discutidas anteriormente. Além disso, os complexos **4** e **5** possuem $\nu(\text{O-O}) \approx 800 \text{ cm}^{-1}$.⁹⁴ A redução significativa na frequência de estiramento vibracional O-O para o complexo **3** deve-se à natureza do ligante ao redor do íon de cobre(II), uma vez que ligantes bi- e tridentados favorecem a coordenação do íon peroxo na forma $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ aos centros metálicos.

⁹² E. Kim, M.E. Helton, I.M. Wasser, K.D. Karlin, S. Lu, H.-W. Huang, P. Moënné-Loccoz, C.D. Incarvito, A.L. Rheingold, M. Honecker, S. Kaderli, A.D. Zuberbühler, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100 (2003) 3623.

⁹³ E.E. Chufán, K.D. Karlin, J. Am. Chem. Soc. 125 (2003) 16160.

⁹⁴ T. Chishiro, Y. Shimazaki, F. Tani, Y. Tachi, Y. Naruta, S. Karasawa, S. Hayami, Y. Maeda, Angew. Chem., Int. Ed. 42 (2003) 2788; (b) M. Selke, M.F. Sisemore, J.S. Valentine, J. Am. Chem. Soc. 118 (1996) 2008.

Figura 24- Diferentes intermediários obtidos após a interação da espécie reduzida com O_2 .⁹¹

1.2. Perspectivas

O rápido desenvolvimento da bioinorgânica desde 1970 está relacionado a três principais fatores: rápida determinação estrutural de proteínas e outras biomoléculas com uma alta resolução, utilização de poderosas ferramentas espectroscópicas e cinéticas para estudar a estrutura e a dinâmica do meio e o uso difundido da engenharia de macromoléculas para criar novas estruturas biologicamente relevantes. Neste contexto, vale a pena ressaltar os excepcionais avanços na área de manipulação de estruturas biológicas, de tal forma que certas proteínas com atividade redox, em que novos sítios adequados para a inserção de metais são introduzidos, e ácidos nucleicos/DNA modificados estão se tornando modelos versáteis para a melhor elucidação das funções biológicas.

Paralelamente aos estudos de biomiméticos, um outro assunto de fundamental importância está relacionado ao desenvolvimento de sistemas modelos funcionais que são moléculas mais simples e que podem ser utilizados para elucidar o mecanismo de ação de certas proteínas ou enzimas, além de sua potencial aplicação como novos catalisadores de interesse industrial. Neste contexto, vale a

pena também ressaltar os excepcionais avanços na área de biossensores, onde enzimas ou sistemas miméticos são imobilizados na superfície do eletrodo e respondem satisfatoriamente a substratos de contexto biológico. Na área de biossensores amperométricos, esta área é definida como “*enzymeless biosensors*” ou biossensores sem enzimas, cujo objetivo principal é promover um aumento na transferência eletrônica entre eletrodo-sítio ativo-substrato e desta forma aumentar a sensibilidade do sistema e a facilidade de construção de sensores para determinação de substâncias biológicas de interesse. A imobilização do material em eletrodos de dimensões nano ou micrométricas necessita de contínuos estudos na área de novos materiais e nanotecnologia, para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos no monitoramento de substâncias de interesse bioquímico, como também na geração de novas tecnologias como é o caso das biocélulas a combustível.

O futuro da pesquisa sobre sistemas modelos estruturais e principalmente funcionais de enzimas envolvendo diferentes metais certamente vai envolver o conceito de interdisciplinaridade. A preparação de novos catalisadores cada vez mais eficientes constitui uma área onde químicos de diferentes especialidades, além de físicos, engenheiros, biólogos, farmacólogos, etc. podem atuar e, neste sentido, são relevantes não só as chamadas pesquisas aplicadas, mas também aquelas de cunho fundamental.

2. Objetivos

Neste trabalho pretendeu-se preparar e caracterizar novos compostos diimínicos de cobre(II), desde mononucleares até di- e polinucleares com diferentes ligantes em ponte, capazes de catalisar a oxidação de substratos de interesse tanto biológico como industrial, como aminas e fenóis, através da ativação do oxigênio molecular ou do peróxido de hidrogênio.

Adicionalmente, procurou-se compreender e racionalizar alguns fatores de interesse no controle da formação de espécies oligoméricas (macrocíclicas ou *zig-zag*), visando a obtenção de compostos funcionais.

Pretendeu-se também estudar as propriedades espectroscópicas, estruturais e magnéticas desses compostos, desde os mononucleares precursores até os polinucleares, verificando diferentes interações entre estes centros, tanto no estado sólido como em solução. Esse acoplamento magnético observado torna-os potencialmente interessantes do ponto de vista bioinorgânico, catalítico, e como novos materiais, especialmente como magnetos moleculares.

Posteriormente, visando sistemas mais complexos, estenderam-se esses estudos a espécies de ferro e cobre como modelos do citocromo *c* oxidase, metaloproteína fundamental em nossa cadeia respiratória e que apresenta três átomos de cobre em sítios diferentes e dois de ferro, em ambientes porfirínicos.

3. Materiais e Métodos

3.1. Reagentes e Solventes

Os reagentes: salicilaldeído, 2-imidazolcarboxilaldeído, 4(5)-imidazolcarboxilaldeído, 2-piridinacarboxilaldeído, 6-metil-2-carboxilpiridina, 2-acetilpiridina, 2-(2-aminoetil)piridina, 1,3-diaminopropano, dicloridrato de histamina, dicloridrato de 2-(aminometil)benzoimidazol, *N, N, N', N'*-tetrametil-*p*-fenilenodiamino (TMPD), 3,5-di-*terc*-butilcatecol (3,5-DTBC) e o perclorato, nitrato e cloreto cúprico hexahidratado, assim como um dos solventes utilizados, a acetonitrila, foram de procedência da Aldrich Chemical Co.

Outros solventes utilizados, tais como: álcool etílico, álcool metílico absoluto e DMF; assim como imidazol, foram de procedência da Merck. Acetona e éter dietílico, foram de procedência Labsynth Ltda.

Os demais reagentes foram obtidos de diferentes fontes, com grau analítico.

A água para preparo de todas as soluções foi desionizada, em aparelho Barnstead, modelo D 4700. O sistema desionizador é formado por um conjunto em circuito de 4 filtros cilíndricos, contendo resina para captura de íons e carvão ativado para captura de material orgânico.

3.2. Preparação dos compostos

3.2.1. Complexos Mononucleares

3.2.1.1. $[Cu(2imepy)Cl_2]$ 1

Adicionou-se sob agitação, gota a gota, 0,13 mL (1 mmol) de 2-(2-aminoetil)piridina, dissolvidos em 10 mL de metanol, a uma solução de 96 mg (1 mmol) de 2-imidazolcarboxilaldeído dissolvidos em 15 mL de metanol. Esta reação foi deixada sob agitação constante à temperatura 55 °C, durante 1 h. Em seguida, adicionaram-se lentamente, 170 mg (1 mmol) de cloreto de cobre(II) dissolvidos em 10 mL de metanol, quando se observou a formação de uma solução verde claro. Resfriou-se o sistema lentamente em banho de gelo, por aproximadamente 30 minutos. Filtrou-se o precipitado obtido, de coloração verde, lavou-se com metanol e éter dietílico gelados e finalmente secou-se em dessecador, a pressão reduzida, na presença de P_2O_5 . Rendimento: 78%. *Análise elementar, calculado para $[CuN_4C_{11}H_{12}Cl_2]$ ($MM = 334,7$ g/mol): %C = 39,47, %H = 3,61, %N = 16,73, %Cl = 21,18; obtido: %C = 39,69, %H = 3,64, %N = 16,68, %Cl = 20,93. $\Lambda_M = 212$ S.cm².mol⁻¹ em solução aquosa.*

3.2.1.2. $[Cu(4imepy)Cl_2]$ 2

Este composto foi preparado utilizando a mesma metodologia descrita anteriormente, porém utilizando 4- imidazolcarboxilaldeído para formação do ligante. Após adição de cloreto de cobre(II), uma solução azul claro foi obtido. Posteriormente, reduziu-se aproximadamente a metade do volume, através da evaporação do solvente sob pressão reduzida num sistema rotatório. O sistema permaneceu na geladeira por 4 dias. Filtrou-se o precipitado obtido, de coloração azul, lavou-se com éter dietílico gelado e finalmente secou-se em dessecador, a pressão reduzida, na presença de P_2O_5 . Rendimento: 47%. *Análise elementar, calculado para $[CuN_4C_{11}H_{12}Cl_2] \cdot H_2O$ ($MM = 352,7$ g/mol): %C = 37,45, %H = 4,00, %N = 15,88; obtido: %C = 37,10, %H = 3,87, %N = 15,56. $\Lambda_M = 241$ S.cm².mol⁻¹ em solução aquosa.*

3.2.1.3. $[Cu(apyambi)(H_2O)_2](NO_3)_2 \cdot H_2O$ 3

Solubilizou-se 1 mmol (224 mg) do dicloridrato de 2-(aminometil)benzimidazol em 15 mL de metanol, posteriormente retirou-se os íons cloretos com uma solução de $AgNO_3$ (2 mmol, 340 mg) dissolvido em 10 mL de uma solução metanol / água (4:1, v/v), onde o precipitado obtido foi retirado do meio com auxílio de uma centrífuga e posterior filtragem.

Adicionou-se, sob agitação, a respectiva solução filtrada a uma solução de 0,12 mL (1 mmol) de 2-acetilpiridina dissolvidos em 10 mL de metanol. Após a homogeneização do sistema, adicionaram-se lentamente 244 mg (1 mmol) de nitrato de cobre(II) dissolvidos em 5 mL de metanol. Esta solução foi deixada sob agitação constante durante 2h, à temperatura ambiente. O sistema permaneceu na geladeira por uma semana. Filtrou-se o precipitado obtido, de coloração azul escuro, lavou-se com metanol gelado e finalmente secou-se em dessecador, a pressão reduzida, na presença de P_2O_5 . Rendimento: 51%. *Análise Elementar, calculado para $[CuN_4C_{15}H_{14}](NO_3)_2 \cdot H_2O$ ($MM = 455,8 \text{ g/mol}$): %C = 39,52, %H = 3,53, %N = 18,43; obtido: %C = 39,76, %H = 3,40, %N = 18,16. $\Lambda_M = 275 \text{ S.cm}^2.\text{mol}^{-1}$ em solução aquosa.*

3.2.1.4. $[Cu(\text{apyamhi})Cl_2]$ 4

Adicionou-se sob agitação, gota a gota, 2 mmol (449 mg) dicloridrato de 2-(aminometil)benzoimidazol, dissolvidos em 20 mL de metanol, a uma solução de 2 mmol (0,23 mL) de 2-acetilpiridina dissolvidos em 10 mL de metanol. Esta reação foi deixada sob agitação constante à temperatura 55°C, durante 40 min. Em seguida, adicionaram-se lentamente 340 mg (2 mmol) de cloreto de cobre(II) dissolvidos em 10 mL de metanol, quando se observou a formação de uma solução esverdeada. O sistema foi deixado sob agitação constante à temperatura 55°C, durante 1 h. Após o resfriamento, o sistema foi colocado no refrigerador por uma noite. Filtrou-se o precipitado obtido, de coloração verde escuro, lavou-se com metanol e éter dietílico gelados e finalmente secou-se em dessecador a pressão reduzida na presença de P_2O_5 . Realizou-se uma cromatografia em camada delgada (TLC) de alumina neutra, usando como eluente MeOH/H₂O (4:1, v/v). Constatando-se a presença de impureza proveniente do ligante. Logo, recristalizou-se a quente o precipitado obtido, utilizando como solvente CH₃CN e H₂O, obtendo-se monocristais de cor verde escuro, ideais para cristalografia de raios-X. Rendimento: 74%. *Análise Elementar, calculado para $[CuN_4C_{15}H_{14}Cl_2] \cdot H_2O$ ($MM = 402,8 \text{ g/mol}$): %C = 44,73, %H = 4,00, %N = 13,91; obtido: %C = 45,48, %H = 4,09, %N = 13,99. $\Lambda_M = 216 \text{ S.cm}^2.\text{mol}^{-1}$ em solução metanólica.*

3.2.2. Complexos Dinucleares Contendo Pontes Cloreto e Azida

3.2.2.1. $[Cu_2(apyambi)_2Cl_2](ClO_4)_2$ **5** e $[Cu_2(apyambi)_2Cl_2](NO_3)_2$ **6**

Adicionou-se sob agitação, gota a gota, 2 mmol (449 mg) dicloridrato de 2-(aminometil)benzoimidazol, dissolvidos em 10 mL de metanol, a uma solução de 2 mmol (0,23 mL) de 2-acetilpiridina dissolvidos em 10 mL de metanol. Esta reação foi deixada sob agitação constante à temperatura ambiente, durante 2 h. Em seguida, adicionaram-se lentamente, 756 mg (2 mmol) de perclorato de cobre(II) hexahidratado ou 488 mg (2 mmol) de nitrato de cobre(II) dissolvidos em 10 mL de metanol, quando se observou a formação de uma solução esverdeada. O sistema foi deixado sob agitação constante à temperatura ambiente, durante 1 h. Filtrou-se o precipitado obtido, de coloração azul claro (*para ambos os compostos dinucleares contendo contra-ions diferentes*), lavou-se com metanol e acetonitrila gelados e finalmente secou-se em dessecador a pressão reduzida na presença de P_2O_5 . Rendimento: 75% $[Cu_2(apyambi)_2Cl_2](ClO_4)_2$ **5** e 82% $[Cu_2(apyambi)_2Cl_2](NO_3)_2$ **6**.

Composto 5- Análise elementar, calculado para $[Cu_2N_8C_{30}H_{28}Cl_2](ClO_4)_2 \cdot H_2O$ (MM = 933,5 g/mol): %C = 38,59, %H = 3,45, %N = 12,00; obtido: %C = 38,72, %H = 3,39, %N = 11,67. $\Lambda_M = 194 S.cm^2.mol^{-1}$ em solução metanólica.

Composto 6- Análise elementar, calculado para $[Cu_2N_8C_{30}H_{28}Cl_2](NO_3)_2 \cdot 2H_2O$ (MM = 858,6 g/mol): %C = 41,96, %H = 3,75, %N = 16,30; obtido: %C = 41,90, %H = 3,39, %N = 16,25. $\Lambda_M = 186 S.cm^2.mol^{-1}$ em solução metanólica.

3.2.2.2. $[Cu_2(apyhist)_2Cl_2](ClO_4)_2$ **8**

Adicionou-se 4 mmol (736 mg) do dicloridrato de histamina a uma solução de 2 mmol (740 mg) de perclorato de cobre(II) hexahidratado dissolvidos em uma mistura de 10 mL de água desionizada e 50 mL de metanol, sob agitação constante, à temperatura 22°C. Em seguida, adicionaram-se, lentamente, 2 mmol (244 mg) de 2-acetilpiridina previamente dissolvida em 15 mL de metanol, resultando na formação de uma solução azul escuro. Posteriormente, reduziu-se aproximadamente à metade do volume, através da evaporação do solvente sob pressão reduzida num sistema rotatório. O sistema permaneceu na geladeira por 9 dias. Filtraram-se os cristais obtidos de coloração azul escuro, ideais para estudos de cristalografia de raios-X. Rendimento: 68%. *Análise elementar, calculado para $[Cu_2N_8C_{24}H_{28}Cl_2](ClO_4)_2$ (MM = 825,4 g/mol): %C = 34,92, %H = 3,42, %N = 13,57; obtido: %C = 34,78, %H = 3,40, %N = 13,53. $\Lambda_M = 97,35 S.cm^2.mol^{-1}$ em solução de DMF.*

3.2.2.3. $[Cu_2(2-pyhist)_2Cl_2](ClO_4)_2$ **9**

Este composto dinuclear foi preparado utilizando a metodologia descrita na preparação da correspondente espécie mononuclear $[Cu(2-pyhist)Cl](ClO_4)$.⁹⁵ Porém, dados espectroscópicos (EPR) e de susceptibilidade magnética indicam que o complexo sintetizado corresponde na verdade à estrutura dimérica proposta, conforme será mostrado adiante.

Adicionaram-se 10 mmol (1,840 g) dicloridrato de histamina a uma solução de 10 mmol (0,95 mL) de 2-piridinacarboxilaldeído dissolvidos em 30 mL de água. Esta reação foi deixada sob agitação constante à temperatura ambiente, durante 40 min. Em seguida, adicionaram-se lentamente 10 mmol (3,705 g) de perclorato de cobre(II) hexahidratado dissolvidos em 10 mL de água. O pH do meio reacional foi ajustado utilizando solução saturada de hidróxido de sódio (pH ~ 5-6). O sistema foi deixado sob agitação constante à temperatura ambiente, durante 2 h. Filtrou-se o precipitado obtido, de coloração azul escuro, lavou-se com metanol e éter dietílico gelados e finalmente secou-se em dessecador a pressão reduzida, em presença de P_2O_5 . Rendimento: 77%. *Análise Elementar: Calculado para $[Cu_2N_8C_{22}H_{24}Cl_2](ClO_4)_2$ ($MM = 797,4$ g/mol): %C = 33,13, %H = 3,04, %N = 14,06; obtido: %C = 33,24, %H = 2,97, %N = 13,85. $\Lambda_M = 147,47$ S.cm².mol⁻¹ em solução de metanol.*

3.2.2.4. $[Cu_2(apyhist)_2(N_3^-)_2](ClO_4)_2$ **11**

Adicionaram-se 4 mmol (736 mg) do dicloridrato de histamina a uma solução de 2 mmol (740 mg) de perclorato de cobre(II) hexahidratado dissolvidos em uma mistura de 20 mL de água desionizada e 30 mL de metanol. Em seguida, adicionaram-se, lentamente, 2 mmol (244 mg) de 2-acetilpiridina diretamente na mistura, resultando na formação de uma solução verde clara. Esta reação foi deixada sob agitação constante à temperatura 60°C durante 24 h. Posteriormente, adicionou-se 6 mmol (390 mg) previamente dissolvida em 15 mL de água desionizada, mantendo-se sob agitação constante durante 6 h, resultando numa solução verde escura. Reduziu-se à metade do volume, através da evaporação do solvente sob pressão reduzida num sistema rotatório, mantendo-se na geladeira por 5 dias. Filtraram-se os cristais obtidos, de coloração verde escuro, lavou-se com metanol e éter dietílico gelados e finalmente secou-se em dessecador a pressão reduzida, na presença de P_2O_5 . O rendimento foi de 63%. *Análise elementar, calculado para $[Cu_2N_{14}C_{24}H_{28}](ClO_4)_2$ ($MM = 838,6$ g/mol): %C = 34,38, %H = 3,36, %N = 23,38; obtido: %C = 34,57, %H = 3,29, %N = 23,68.*

⁹⁵ Y. Nakao, W. Mori, N. Okuda, A. Nakahara, Inorg. Chim. Acta 35 (1979) 1.

3.2.3. Complexos Polinucleres Contendo Pontes Cloreto e Imidazolato

3.2.3.1. $[Cu(2pyMe-hist)Cl]_n(ClO_4)_m$ 12

A correspondente espécie mononuclear $[Cu(2pyMe-hist)Cl_2]$ já tinha sido preparada utilizando $CuCl_2$ como material de partida, conforme descrito na literatura.⁹⁶ Utilizando está mesma metodologia, porém utilizando $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$, foi obtido um composto polimérico de cadeia linear contendo cloreto como ligante ponte. Resultados de cristalografia de raios-X confirmam esta estrutura, conforme será mostrado adiante.

Adicionaram-se 10 mmol (1,840 g) dicloridrato de histamina a uma solução de 10 mmol (1,249 g) de 6-metil-2-piridinacarboxilaldeído dissolvidos em 40 mL de água. Esta reação foi deixada sob agitação constante à temperatura ambiente, durante 40 min. Em seguida, adicionaram-se, lentamente, 10 mmol (3,705 g) de perclorato de cobre(II) hexahidratado dissolvidos em 10 mL de água. O pH do meio reacional foi ajustado utilizando solução saturada de hidróxido de sódio (pH ~ 5-6). O sistema foi deixado sob agitação constante à temperatura ambiente, durante 2 h. O sólido de cor verde escuro foi filtrado, lavado com pequeno volume de metanol e éter dietílico gelados e seco em vácuo na presença de agente secante. Rendimento: 73%. *Análise elementar, calculado para $[CuN_4C_{12}H_{14}Cl](ClO_4)$ (MM = 412,72 g/mol):* %C = 34,92, %H = 3,42, %N = 13,57; *obtido:* %C = 34,30, %H = 3,40, %N = 13,02. $\Lambda_{Cu} = 71,07 S.cm^2.mol^{-1}$ em solução de metanol.

3.2.3.3. $[Cu(2imepy)Cl]_n$ 13

Dissolveu-se a respectiva espécie mononuclear $[Cu(2imepy)Cl_2]$ 1 (0,8 mmol, 266 mg) em 20 mL de uma solução MeOH/H₂O (4:1, v/v). Em seguida, adicionaram-se 0,8 mmol (110 µL) de trietilamina a esta solução. Este sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente, durante 30 min, produzindo um precipitado verde claro. Resfriou-se o sistema lentamente, em banho de gelo. Após filtração, o sólido constituído de finos cristais na forma de fibras foi lavado com éter dietílico gelado e finalmente secou-se em dessecador a pressão reduzida na presença de P₂O₅. Rendimento: 82%. *Análise elementar, calculado para $[CuN_4C_{11}H_{11}Cl] \cdot 1,5H_2O$ (MM = 325,23 g/mol):* %C = 40,62, %H = 3,34, %N = 17,22, %Cl = 10,90; *obtido:* %C = 40,82, %H = 4,69, %N = 16,60; %Cl = 11,09. $\Lambda_{Cu} = 103,11 S.cm^2.mol^{-1}$ em solução aquosa.

⁹⁶ N. Matsumoto, Y. Mizuguchi, G. Mago, S. Euguchi, H. Miyasaka, T. Nakashima, J.-P. Tuchagues, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 36 (1997) 1860.

3.2.3.4. $[Cu_4(4imepy)_4](ClO_4)_4$ **14**

Dissolveu-se a respectiva espécie mononuclear $[Cu(4imepy)Cl_2]$ **2** (0,65 mmol, 252 mg) em 30 mL de uma solução MeOH/H₂O (4:1, v/v). Em seguida, adicionaram-se 1,3 mmol (~181 µL) de trietilamina e 1 mmol (120 mg) de NaClO₄ nesta solução. Este sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente, durante 30 min, produzindo um precipitado azul escuro. Resfriou-se o sistema lentamente, em banho de gelo. Após filtração, o sólido foi lavado com éter dietílico gelado e finalmente seco em dessecador a pressão reduzida, na presença de P₂O₅. Rendimento: 77%. *Análise elementar, calculado para $[CuN_4C_{11}H_{11}](ClO_4) \cdot 0,25H_2O$ (MM = 366,74 g/mol):* %C = 36,02, %H = 3,16, %N = 15,27; *obtido:* %C = 36,55, %H = 3,38, %N = 14,75. $\Lambda_{Cu} = 43,11$ S.cm².mol⁻¹ em solução de DMF.

3.2.3.5. $[Cu_4(apyhist)_4](ClO_4)_4$ **15**

Neste caso, 736 mg (4 mmol) de dicloridrato de histamina foram adicionados a 740 mg (2 mmol) de perclorato de cobre(II) hexahidratado em uma mistura de 10 mL de água desionizada e 50 mL de metanol, sob agitação e temperatura ambiente. Em seguida, tratou-se a solução azul resultante com uma solução saturada de bicarbonato de sódio, controlando-se o pH até 9. Foram adicionados então, gota à gota, 0,207 mL (2 mmol) de acetilpiridina previamente dissolvida em 15 mL de metanol. Após cerca de uma hora a solução azul foi escurecendo, resultando na formação de um precipitado fino que foi mantido em freezer por 40 min. O precipitado de cor violeta claro foi isolado de maneira similar à descrita acima para os demais complexos. O rendimento foi de 69%. *Análise elementar, calculado para $[CuN_4C_{12}H_{14}](ClO_4) \cdot 0,75H_2O$ (MM = 390,78 g/mol):* %C = 36,88, %H = 4,00, %N = 14,34, %Cu = 16,21; *obtido:* %C = 36,90, %H = 3,64, %N = 14,40, %Cu = 16,19.

3.2.3.6. $[Cu_4(2-pyhist)_4](ClO_4)_4$ **16** e $[Cu_6(2pyMe-hist)_6](ClO_4)_6$ **17**

Estes compostos macrocíclicos também foram preparados utilizando a metodologia indicada.^{95,96}

Os compostos di- $[Cu_2(2-pyhist)_2Cl_2](ClO_4)_2$ (3 mmol, 1,196 g) e hexanuclear $[Cu_6(2pyMe-hist)_6Cl_6](ClO_4)_6$ (2 mmol, 825 mg) foram dissolvidos em 60 mL de água, respectivamente. Em seguida, ajustou-se o pH~12 com uma solução saturada de NaOH. Filtrou-se o precipitado obtido, de coloração marrom (ou verde claro, no caso da espécie hexanuclear), lavando-se ambos os compostos com metanol e éter dietílico gelados. Finalmente secou-se em dessecador, a pressão

reduzida, na presença de P_2O_5 . Rendimento: 78% $[Cu_4(2\text{-pyhist})_4](ClO_4)_4$ e 83% $[Cu_6(2\text{pyMe-hist})_6](ClO_4)_6$.

Composto 16- Análise elementar, calculado para $[Cu_4N_4C_{11}H_{11}](ClO_4)_4 \cdot 0,5H_2O$ (MM = 371,24 g/mol): %C = 35,58, %H = 3,26, %N = 15,09; obtido: %C = 35,80, %H = 3,22, %N = 14,79. $\Lambda_{Cu} = 39,54 \text{ S.cm}^2.\text{mol}^{-1}$ em solução de DMF.

Composto 17- Análise elementar, calculado para $[Cu_4N_4C_{12}H_{13}](ClO_4)_4 \cdot 0,5H_2O$ (MM = 385,27 g/mol): %C = 37,41, %H = 3,66, %N = 14,54; obtido: %C = 37,61, %H = 3,79, %N = 14,59. $\Lambda_{Cu} = 33,77 \text{ S.cm}^2.\text{mol}^{-1}$ em solução de DMF.

3.3. Purificação e Secagem dos Compostos

Todos os complexos foram lavados utilizando solventes apropriados, puros ou purificados. Utilizou-se a cromatografia em camada delgada (TLC), de alumina ou sílica neutra, e metanol, e/ou acetato de etila, e/ou diclorometano como solventes/eluentes, para verificar a pureza dos precipitados obtidos. Quando necessário, alguns compostos foram recristalizados a quente. A pureza também foi verificada por espectroscopia UV/Vis.

Conforme descrição nos tópicos acima, todos os compostos isolados no estado sólido foram secos a vácuo (ou, mais rigorosamente, a pressão reduzida) em um dessecador contendo pentóxido de fósforo anidro (P_2O_5) como dessecante.

3.4. Aparelhagem e Metodologia

3.4.1. Espectros de absorção na região do visível e do ultravioleta

As medidas de absorção na região do visível e do ultravioleta foram efetuadas num espectrofotômetro Beckman, modelo DU-70, ou em um instrumento Shimadzu UV-1601PC, com compartimento de célula termostatizada. Foram empregadas celas usuais retangulares de quartzo de caminho óptico igual a 1,000 cm.

As absorvidades molares (ϵ) dos compostos mono- e dinucleares isolados foram obtidas a partir dos coeficientes angulares dos respectivos gráficos Absorção x Concentração. Foram preparadas soluções-estoque de concentração 1 mM para cada espécie e a partir delas foram feitas diluições de modo a obter pontos onde a absorção variasse de 0,1 a ~ 1 para cada uma das bandas existentes.

3.4.2. Medidas cinéticas na oxidação de substrato orgânico

Oxidação da TMPD -

Realizaram-se experimentos cinéticos para comparar a atividade catalítica desses compostos na oxidação da *N,N,N',N'*-tetrametil-*p*-fenilenodiamino (TMPD), favorecendo a obtenção da respectiva espécie radicalar (TMPD^{•+}), monitorada espectrofotometricamente a 565 nm. Nestes experimentos utilizaram-se concentrações de [TMPD] = $2,5 \times 10^{-4}$ M ($V_s = 1,30$ mL) e [catalisador] = $2,5 \times 10^{-5}$ M ($V_c = 1,30$ mL), em soluções metanólicas, a $(25,0 \pm 0,3)$ °C. O TMPD e o catalisador foram adicionados em sequência dentro de uma cela espectrofotométrica, de caminho óptico igual a 1,000 cm ($V = 3,00$ mL).

Oxidação da 3,5-DTBC -

Experimentos cinéticos comparativos também foram realizadas utilizando alguns sistemas di- e polinucleares preparados na oxidação do 3,5-di-*tert*-butilcatecol, favorecendo a obtenção da respectiva quinona, monitorada espectrofotometricamente a 390 nm. Utilizaram-se concentrações [catecol] = 0,50 mM ($V_s = 1,0$ mL) e catalisadores contendo a mesma quantidade equimolar de íons cobre, isto é, [dinuclear] = 50,0 μM; [tetranuclear] = 25,1 μM; [hexanuclear] = 16,4 μM ($V_c = 1,0$ mL), em soluções metanólicas, a $(25,0 \pm 0,3)$ °C.

3.4.3. Espectros de absorção na região do infravermelho

As medidas na região do infravermelho foram realizadas pela Central Analítica do IQ-USP num espectrômetro infravermelho BOMEM 3.0, com reflectância difusa, na região de 4000 a 400 cm⁻¹. As amostras foram preparadas em pastilhas de KBr anidro.

3.4.4. Espectros Raman

Os espectros Raman foram efetuados num espectrômetro *Renishaw Ramascope* 3000 com detector CCD, equipado com um microscópio *Olympus* BTH2 com objetiva de aumento de 80 vezes. Como radiação excitante utilizou-se a linha em 632,8 nm de um laser de He-Ne *Spectra Physic* modelo 127.

3.4.5. Medidas potenciométricas

As medidas de pH foram efetuadas com um pHmetro Digimed, modelo DMPH-2, acoplado a um eletrodo de vidro combinado, da Analion ou da Ingold. Antes de qualquer medida de pH, o aparelho foi calibrado com soluções-tampão apropriadas.

3.4.6. Análise elementar

As análises elementares foram realizadas pela Central Analítica do IQ-USP num ELEMENTAR ANALYZER CHN modelo 2400 da Perkin-Elmer, que permite a determinação de porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio com precisão de 0,01%.

3.4.7. Condutividade molar

As medidas de condutividade foram realizadas num condutivímetro da marca Digimed, modelo DM 31. Utilizou-se a solução de cloreto de potássio como solução padrão de referência.

A solução padrão de KCl com condutância específica de 146,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$, a 25 °C, e uma célula de constante $k = 0,1 \text{ cm}^{-1}$ foram utilizadas para medir a condutividade de soluções não aquosas, que apresentam concentrações de 1 mM do complexo em solução de metanol ou DMF. Por outro lado, utilizou-se uma solução padrão de KCl com condutância específica de 1412,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$, a 25 °C, e uma célula de constante $k = 1,0 \text{ cm}^{-1}$ para medir a condutividade em soluções aquosas.

3.4.8. Espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

Os espectros de EPR foram registrados em um espectrômetro EPR da BRUKER, modelo EMX, operando na banda X ($\nu = 9,33 \text{ GHz}$) com potência de 20 mW. As medidas referentes aos íons de cobre(II) foram feitas a baixa temperatura (77 K), em solução metanol / água (4:1, v/v) ou somente utilizando alguns solventes orgânicos (metanol, etanol, acetonitrila e DMF). Neste caso utilizou-se tubo de quartzo (Wilmad) de 4 mm de diâmetro interno e ajustou-se a amplitude de modulação usualmente em 15G. As soluções contendo as amostras apresentavam concentrações de ~3 mM.

3.4.9. Cristalografia de raios-X

Os dados de difração de raios-X foram coletados à temperatura ambiente com um difratômetro automático de quatro círculos, CAD4 Enraf-Nonius, dotado de um monocromador de grafite e fonte de radiação $\text{MoK}\alpha$. Os parâmetros da cela unitária foram obtidos através do refinamento pelo

método dos mínimos quadrados de 25 reflexões coletadas. Os dados foram corrigidos por um fator de absorção [$\mu(\text{MoK}\alpha) = 1,495 \text{ mm}^{-1}$] utilizando o método PSISCAN.⁹⁷ As estruturas foram resolvidas utilizando o sistema WinGX⁹⁸ através do SIR92,⁹⁹ e refinado pelo método dos mínimos quadrados e Fourier-diferenças.¹⁰⁰ As coordenadas dos átomos de hidrogênio foram calculadas com base na geometria da molécula completa após o refinamento isotrópico de todos os átomos não-hidrogenóides e foram refinados isotropicamente na forma de grupos vinculados aos respectivos átomos não-hidrogenóides. Todos os átomos não-hidrogenóides foram refinados anisotropicamente. As análises estruturais foram executadas utilizando o sistema PLATON.¹⁰¹

3.4.10. Medidas eletroquímicas

As medidas de voltametria cíclica ou voltametria de pulso diferencial foram realizadas por meio de um potenciostato/galvanostato modelo 283 da EG&G Instruments – Princeton Applied Research (PAR). A célula eletroquímica utilizada é constituída de um recipiente de vidro em cuja tampa são fixados um capilar para a entrada de argônio, utilizou-se como eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl 1,0 M ($E^\circ = +0,222 \text{ V vs EPH}$), o eletrodo de trabalho platina, e eletrodo auxiliar (fio espiralado de platina). O polimento da superfície dos eletrodos de trabalho foi realizado com pasta de alumina (carbono vítreo) ou lixa fina de carvão de silício (platina), ambos procedentes da Struers. Como eletrólito-suporte foi utilizado KNO_3 0,10 M. Os voltamogramas cíclicos de soluções aquosas foram obtidos a partir de amostras em concentrações de 3,0 mM da correspondente espécie $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ **6**, $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ **8** e $[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4]^{4+}$ **17**.

Todas as soluções foram cuidadosamente desaeradas previamente aos experimentos, e o mesmo procedimento foi repetido antes de cada medida realizada, fazendo-se passar um fluxo de gás inerte (argônio) através das amostras.

3.4.11. Medidas espectroeletroquímicas

Os espectros eletrônicos na região do UV/Vis obtidos sob aplicação de potenciais foram registrados com o auxílio de um espectrofotômetro da Hewlett-Packard modelo 8453, acoplado a um microcomputador. A aplicação de potenciais foi realizada ou através de um potenciostato modelo 173 ou com um bipotenciostato modelo 366 (ambos da PAR), usados em paralelo com o

⁹⁷ A.C.T. North, D.C. Philips, F.S. Mathews, *Acta Crystallogr., Sect. A* 24 (1968) 359.

⁹⁸ L.J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.* 32 (1999) 837.

⁹⁹ A. Altomare, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, *J. Appl. Cryst.* 26 (1993) 343.

¹⁰⁰ G.M. Sheldrick, *SHELX97-programs for crystal structure analysis* (Release 97-2). Institut für Anorganische Chemie der Universität, Tammanstrasse 4, D-3400 Göttingen, Germany, 1998.

¹⁰¹ A.L. Spek, *Acta Crystallogr., Sect. A* 46 (1990) C34.

espectrofotômetro *diode-array*. Utilizou-se uma cela espectrofotométrica retangular de caminho óptico interno igual a 0,025 cm, possuindo um *minigrid* de ouro como eletrodo de trabalho transparente e minieletródos de referência Ag/AgCl em KCl 1,0 M ($E^\circ = +0,222$ V vs EPH) e auxiliar (espiral de platina). A célula é localizada diretamente dentro do espectrofotômetro, e a variação da absorção é monitorada durante a eletrólise. Como eletrólito-suporte foi utilizado KNO₃ 0,10 M. As medidas foram efetuadas a partir de uma solução diluída do composto dinuclear **6** em solução aquosa.

3.4.12. Medidas de propriedades magnéticas

Medidas de $\chi \times T$ foram realizadas utilizando o aparelho SQUID na região de 1,8-290 K, na presença de um campo magnético de 500 Oe, e para alguns dos compostos estudados medidas de magnetização em alto campo magnético e baixas temperaturas também foram realizadas utilizando um magnetômetro com criostato de ³He.

3.4.13. Espectrometria de Massa

Os espectros foram obtidos por Eletrospray de modo positivo no aparelho Q-Tof da Micromass (*Hybrid High Resolution Quadrupole Orthogonal Time of Flight Mass Spectrometer*). Uma solução metanólica do complexo foi introduzida no aparelho, contendo uma velocidade de fluxo de 8 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, através uma seringa do próprio instrumento. A temperatura do nebulizador foi de 200°C com diferentes voltagens no cone 10-30 V. A pressão do gás Hélio dentro do *trap* foi mantida constante. Os espectros de massa tandem (MS/MS) foram registrados usando o íon selecionado no quadrupolo Q1, fazendo a sua dissociação (CID, Collision Induced Dissociation) com N₂ a energias de 15 eV em Q2, sendo seus fragmentos analisados no Q-Tof.

3.4.14. Modelagem molecular

As geometrias moleculares foram otimizadas por meio de cálculos de mecânica molecular através do módulo MM⁺, disponível no programa HyperChem. Utilizou-se, para tanto, o programa HyperChem na versão 5.1 para PC/Windows (1998), fornecido pela Hypercube Inc. (Gainesville, FL, USA).

4. Resultados e Discussão

Durante o período referente a este doutorado, diferentes complexos mono-, di- e polinucleares de cobre(II) contendo um ligante tridentado do tipo base de Schiff além de um grupo imidazol foram preparados, na forma de sais perclorato, nitrato ou cloreto, e caracterizados através de diferentes técnicas espectroscópicas (UV/Vis, IR, Raman, EPR), além de análise elementar, medidas de condutividade molar, medidas de susceptibilidade magnética em função da temperatura e estudos de magnetização a baixa temperatura, obtendo-se seus parâmetros espectroscópicos e estruturais. Adicionalmente, alguns destes compostos tiveram suas estruturas determinadas por cristalografia de raios-X, nos casos em que cristais adequados foram isolados.

Analisando-se os resultados de análise elementar, observa-se que os valores experimentais são bem próximos dos valores calculados a partir das estruturas presumidas, indicando que os complexos sintetizados correspondem às fórmulas mínimas propostas. Posteriormente, realizaram-se medidas de condutividade molar para alguns dos compostos, onde os valores obtidos foram comparados com os de espécies similares na literatura,¹⁰² verificando-se que também nestes casos houve uma correlação consistente entre a proporção dos eletrólitos presentes em solução com a estrutura proposta para cada um destes compostos.

Optou-se nesta tese por apresentar e discutir separadamente os demais resultados associados à caracterização dos compostos preparados. Os sistemas foram então agrupados em três seções, baseadas em estruturas que se correlacionam entre si.

- 4.1. Preparação e estudo da estabilidade das espécies mono-, di- e polinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto ou azida;
- 4.2. Sistemas polinucleares de cobre(II) contendo ponte imidazolato formados através da desprotonação e auto-organização estrutural;
- 4.3. Complexos heteronucleares de cobre como miméticos do sítio Cu_B na citocromo *c* oxidase: caracterização estrutural e investigação das espécies intermediárias provenientes de interações com moléculas pequenas.

¹⁰² W.J. Geary, Coord. Chem. Rev. 7 (1971) 81.

4.1. Preparação e estudo da estabilidade das espécies mono-, di- e polinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto ou azida

4.1.1. Compostos mononucleares de cobre(II) derivados do ligante 2- ou 4-[[[(imidazolil-2-metilideno)amino)etil]piridina (2 ou 4imepy)]

Complexos de cobre(II) com ligantes iminas contendo um grupo imidazol têm sido utilizados como precursores para obtenção de sistemas organizados via ligantes pontes e/ou ligações de hidrogênio, para obtenção de sistemas de complexos homo- ou hetero-polinucleares de estruturas definidas.¹⁰³ Recentemente, estes compostos têm recebido considerável atenção devido a sua potencial aplicação no campo de catálise, materiais magnéticos moleculares e na área de reconhecimento molecular (“*host-guest chemistry*”). Matsumoto e colaboradores, têm estudado a influência de substituintes no anel imidazólico na desprotonação e interconversão entre as espécies mono- e oligoméricas por meio de uma informação externa, ou mais especificamente através da mudança do pH (Figura 25). Substituinte no anel imidazólico aparenta ter uma influência no tamanho do anel e na orientação estrutural destes complexos, uma vez que diferentes arquiteturas foram obtidas, por exemplo: sistemas macrocíclicos com 4 e até 6 centros metálicos, assim como compostos de cadeia linear do tipo 1D.^{103,104}

Figura 25– Compostos mononucleares utilizados na formação de espécies macrocíclicas.^{104a}

¹⁰³ (a) Y. Sunatsuki, Y. Motoda, N. Matsumoto, *Coord. Chem. Rev.* 226 (2002) 199; (b) J.A.R. Navarro, B. Lippert, *Coord. Chem. Rev.* 222 (2001) 219; (c) J.M. Dominguez-Vera, F. Camara, J.M. Moreno, E. Colacio, H. Stoeckli-Evans, *Inorg. Chem.* 37 (1998) 3046.

¹⁰⁴ (a) N. Matsumoto, Y. Motoda, T. Matsuo, T. Nakashima, N. Re, F. Dahan, J.-P. Tuchagues, *Inorg. Chem.* 38 (1999) 1165; (b) N. Matsumoto, T. Nozaki, H. Ushio, K.-I. Motoda, M. Ohba, G. Mago, H. Okawa, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1993) 2157.

Neste trabalho, expandimos este estudo e verificamos também a influência da posição de ligação ao redor do anel imidazólico na formação de sistemas oligoméricos cíclicos ou lineares, utilizando os seguintes compostos isoméricos: $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}_2]$ **1** e $[\text{Cu}(\text{4imepy})\text{Cl}_2]$ **2**. Cálculos estimativos prévios de otimização de geometria já indicavam que se poderiam verificar diferenças de orientação na formação das respectivas espécies polinucleares (Figura 26).

Figura 26– Geometrias otimizadas no programa HyperChem.

As medidas de condutividade molar observadas para os complexos **1** e **2** foram de 212 e 241 $\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ em água, e 42 e 52 $\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ em DMF, respectivamente, indicando que os complexos possuem uma correlação de 1:2 entre os eletrólitos em água e que são espécies neutras em DMF.

Os espectros eletrônicos em solução aquosa na região do UV/Vis mostraram bandas referentes às transições internas dos ligantes ($n\rightarrow\pi$ e $\pi\rightarrow\pi^*$) em 256 nm ($\epsilon = 8,06 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e 304 nm ($\epsilon = 9,28 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) para o composto **1**, e apenas uma banda intensa em 264 nm ($\epsilon = 13,7 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) para o composto **2**.

Figura 27– Espectros eletrônicos dos complexos sintetizados. (A) $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}_2]$ **1** e (B) $[\text{Cu}(\text{4imepy})\text{Cl}_2]$ **2** em solução aquosa.

Analisando os resultados referentes à banda de absorção que aparece na região do visível (Tabela 1), verifica-se um deslocamento da banda d-d, que pode ser atribuído à labilidade dos íons cloretos em determinados solventes.

Tabela 1– Dados de espectroscopia eletrônica em solução (H₂O, MeOH e DMF) e reflectância difusa no estado sólido F(R) dos compostos de cobre(II).

<i>Compostos</i>	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm); d $\rightarrow$ d (ϵ , mol ⁻¹ . L . cm ⁻¹)			
	F(R)	DMF	MeOH	H ₂ O
[Cu(2imepy)Cl ₂] 1	692	691	681	670 (47,2)
[Cu(4imepy)Cl ₂] 2	680	682	672	661 (46,4)

Neste caso, comparando-se os espectros de reflectância no estado sólido com as medidas espectrofotométricas em solução de DMF, verifica-se aproximadamente a mesma banda de absorção (Tabela 1), indicando a existência do cloreto coordenado tanto no estado sólido como em solução de DMF. Nestes complexos a posição da banda d-d indica uma geometria do tipo pirâmide de base quadrada ligeiramente distorcida.¹⁰⁵ Entretanto, em metanol ou em solução aquosa observa-se um deslocamento desta banda, de 10 e 20 nm, respectivamente, indicando muito provavelmente a substituição dos íons cloreto por moléculas do solvente.

Os espectros de EPR em solução congelada de MeOH/H₂O (4:1, v/v) destes compostos, à temperatura de 77 K, são aparentemente análogos (Figura 28). Em seguida, determinaram-se os respectivos parâmetros de EPR, cujos valores estão relacionados na Tabela 2.

¹⁰⁵ (a) G. Wilkinson, R.D. Gillard, J.A. McCleverty, *Comprehensive Coordination Chemistry*, eds. Pergamon Press, U.K., 1987, vol. 5, 652; (b) B.J. Hathaway, D.E. Billing, *Coord. Chem. Rev.* 5 (1970) 143; (c) D.W. Smith, *Inorg. Chem.* 5 (1966) 2236.

Figura 28– Espectros EPR dos compostos (A) $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}_2]$ **1** (ganho = $3,17 \times 10^3$) e (B) $[\text{Cu}(\text{4imepy})\text{Cl}_2]$ **2** (ganho = $2,83 \times 10^3$). Solução MeOH/H₂O (4:1, v/v), T = 77 K, [complexo] = 3,0 mM.

Tabela 2– Parâmetros de EPR para os complexos **1** e **2** em solução MeOH/H₂O (4:1, v/v), T = 77 K.

Compostos	$g_{\perp}$	$g_{\parallel}$	$A_{\parallel}$	$A_{\parallel} (10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel} / A_{\parallel} (\text{cm})$
$[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}_2]$ 1	2,069	2,277	166	176	129
$[\text{Cu}(\text{4imepy})\text{Cl}_2]$ 2	2,065	2,274	169	180	127

$$*A_{\parallel} (\text{cm}^{-1}) = A_{\parallel} (\text{G}) \cdot g_{\parallel} \cdot 0,46686 \times 10^{-4}$$

Em todos os compostos $g_{\parallel} > g_{\perp}$ indicativo de uma simetria axial e de que o elétron desemparelhado ocupa o orbital $d_{x^2-y^2}$.^{105,106} Na região de ~1500 G não foi observado nenhum sinal característico de acoplamento antiferromagnético entre os compostos mononucleares, mostrando a não existência de espécie dinucleares de cobre(II) (*vide* Apêndice 1 e 2).¹⁰⁷

Maiores informações espectroscópicas destes sistemas e futuras comparações estruturais com as correspondentes espécies polinucleares, contendo ponte imidazolato, serão abordados na seção 4.2.

¹⁰⁶ U. Sakaguchi, A.W. Addison, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1979) 600.

¹⁰⁷ C.J. Calzado, J. Cabrero, J.P. Malrieu, R. Caballol, *J. Chem. Phys.* 116 (2002) 985; (b) T.D. Smith, J.R. Pilbrow, *Coord. Chem. Rev.* 13 (1974) 173.

4.1.2. Compostos mono- e dinucleares de cobre(II) derivados do ligante 2-(benzimidazolil)metileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyambi*) contendo pontes cloreto

Novos complexos de cobre(II) com uma imina tridentada, *apyambi* (ou 2-(benzimidazolil)metileno-2-amino-1-etilpiridina), foram preparados e tiveram suas atividades catalíticas na oxidação da *N,N,N',N'*-tetrametil-*p*-fenilenodiamina (TMPD) comparadas. As espécies mononucleares, $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ **3** e $[\text{Cu}(\text{apyambi})\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ **4**, assim como a espécie dinuclear contendo pontes cloreto, $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2]\text{X}_2\cdot n\text{H}_2\text{O}$ preparada como sais perclorato **5**, nitrato **6** e cloreto **7**, respectivamente, foram isoladas e caracterizadas por técnicas espectroscópicas (UV/Vis, IV e EPR). O composto **4** teve sua estrutura determinada por cristalografia de raios-X. Em solventes não-aquosos predomina a espécie dinuclear, enquanto em solução aquosa, ou solventes contendo água, um equilíbrio entre a espécie dinuclear e a mononuclear **3** foi observado.

Estudos cinéticos, em metanol, da oxidação catalisada de TMPD indicaram uma dependência de primeira-ordem da velocidade inicial com a concentração de catalisador e um efeito de saturação com aumento da concentração de substrato. O composto dinuclear é mais reativo que o mono-, e experimentos adicionais mostraram que o contra-íon cloreto afeta significativamente os parâmetros cinéticos, deslocando o equilíbrio envolvendo as espécies **4** e **7**, além de estabilizar um par iônico com o substrato.

Esquema 1- Representação dos complexos de cobre(II) derivados do ligante *apyambi*.

Parte dos resultados descritos a seguir deu origem a um artigo, em revista especializada.¹⁰⁸

¹⁰⁸ W.A. Alves, S.A. de Almeida-Filho, R.H.A. Santos, A. Paduan-Filho, A.M.D.C. Ferreira, J. Braz. Chem. Soc. 15 (2004) 872.

4.1.2.1. Cristalografia de raios-X do composto $[\text{Cu}(\text{apyambi})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4

A estrutura determinada para o complexo **4** consiste de uma unidade monomérica discreta $[\text{CuCl}_2(\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_4)] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Os átomos de Cu(II) estão coordenados a dois íons cloretos e três nitrogênios provenientes do ligante imina $[\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_4]$, numa geometria distorcida de pirâmide de base quadrada (Figura 29). O arranjo supramolecular no estado sólido mostra ligações de hidrogênio entre $\text{N4-H} \dots \text{Cl2}$, numa cadeia infinita unidimensional ao longo da direção $[100]$, com base vetorial ($d_{\text{Cl} \dots \text{N}} = 3,14(1)\text{\AA}$ e ângulo = 164°), como mostrado na Figura 29b. Os demais comprimentos de ligações e ângulos são listados nas Tabelas 3 e 4.

Figura 29- (A) ORTEP da unidade $[\text{CuCl}_2(\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_4)] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e (B) Representação do arranjo supramolecular.

Verifica-se que a distância axial de ligação Cu-Cl (2,588(3) Å) é consideravelmente maior que a distância equatorial (2,256(4) Å) dentro de uma geometria pirâmide tetragonal ($\tau = 0,1$). O valor de $\tau = 0$ indica uma configuração pirâmide de base quadrada, ao passo que $\tau = 1$ indica uma configuração bipirâmide trigonal.²⁰ Resultados semelhantes estão descritos na literatura para o composto mononuclear $[\text{CuCl}_2(\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4)(\text{H}_2\text{O})]$, contendo a mesma geometria ao redor do íon de Cu(II), cujas distâncias Cu-Cl são 2,538(1) e 2,302(1) Å.¹⁰⁹

No plano basal, a distância de ligação Cu-N1 (2,057(9) Å) relacionada ao ligante benzimidazol é maior quando comparada com as outras duas ligações (1,99(1) Cu-N2, e 2,00(1) Å Cu-N3). Os comprimentos das ligações N-C e C-C nos ligantes orgânicos aromáticos, piridina e benzimidazol, estão na região esperada. Os ângulos de ligação ao redor do átomo central Cu(II) estão na região entre 79,6(4) e 167,3(3)°, comparáveis aos encontrados para um complexo similar $[\text{CuCl}_2(\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4)(\text{H}_2\text{O})]$, 80,32(7) e 167,18(7)°, respectivamente.¹⁰⁹

Tabela 3– Distância de ligação (Å) com a estimativa do desvio padrão entre parênteses.

Cu(1)-Cl(1)	2,239 (9)	C(1)-C(2)	1,37 (4)
Cu(1)-Cl(2)	2,587 (7)	C(2)-C(3)	1,34 (5)
Cu(1)-N(1)	2,02 (2)	C(3)-C(4)	1,37 (4)
Cu(1)-N(2)	2,01 (2)	C(4)-C(5)	1,39 (4)
Cu(1)-N(3)	2,07 (2)	C(5)-C(6)	1,43 (4)
N(1)-C(1)	1,25 (3)	C(6)-C(15)	1,53 (5)
N(1)-C(5)	1,37 (3)	C(7)-C(8)	1,59 (4)
N(2)-C(6)	1,32 (4)	C(9)-C(14)	1,43 (5)
N(2)-C(7)	1,44 (3)	C(9)-C(10)	1,27 (5)
N(3)-C(8)	1,37 (4)	C(10)-C(11)	1,27 (6)
N(3)-C(14)	1,18 (5)	C(11)-C(12)	1,51 (6)
N(4)-C(8)	1,33 (4)	C(12)-C(13)	1,34 (5)
N(4)-C(9)	1,33 (4)	C(13)-C(14)	1,41 (5)

¹⁰⁹ F.B. Tamboura, M. Gaye, A.S. Sall, A.H. Barry, T. Jouini, Inorg. Chem. Comm. 5 (2002) 235.

Tabela 4– Ângulos (°) com a estimativa do desvio padrão em parênteses.

Cl(1)-Cu(1)-Cl(2)	99,4 (3)	C(9)-N(4)-H4N	125,16
Cl(1)-Cu(1)-N(1)	95,3 (6)	C(8)-N(4)-H4N	124,82
Cl(1)-Cu(1)-N(2)	166,6 (7)	N(1)-C(1)-C(2)	127 (3)
C(4)-C(5)-C(6)	116 (2)	C(1)-C(2)-C(3)	117 (3)
N(2)-C(6)-C(15)	115 (3)	C(2)-C(3)-C(4)	122 (3)
N(2)-C(6)-C(5)	113 (3)	C(3)-C(4)-C(5)	114 (3)
Cl(1)-Cu(1)-N(3)	96,2 (7)	N(1)-C(5)-C(6)	118 (2)
Cl(2)-Cu(1)-N(1)	96,2 (7)	N(1)-C(5)-C(4)	125 (2)
Cl(2)-Cu(1)-N(2)	93,6 (6)	C(5)-C(6)-C(15)	132 (3)
Cl(2)-Cu(1)-N(3)	95,6 (8)	N(2)-C(7)-C(8)	104 (2)
N(1)-Cu(1)-N(2)	80,1 (9)	N(3)-C(8)-C(7)	127 (2)
N(1)-Cu(1)-N(3)	162,0 (10)	N(4)-C(8)-C(7)	126 (2)
N(2)-Cu(1)-N(3)	85,6 (9)	N(3)-C(8)-N(4)	107 (3)
Cu(1)-N(1)-C(1)	134 (2)	C(10)-C(9)-C(14)	123 (3)
Cu(1)-N(1)-C(5)	111,2 (16)	N(4)-C(9)-C(10)	136 (4)
C(1)-N(1)-C(5)	115 (2)	N(4)-C(9)-C(14)	102 (3)
Cu(1)-N(2)-C(6)	117 (2)	C(9)-C(10)-C(11)	127 (4)
Cu(1)-N(2)-C(7)	117,7 (17)	C(10)-C(11)-C(12)	115 (4)
C(6)-N(2)-C(7)	126 (3)	C(11)-C(12)-C(13)	118 (4)
Cu(1)-N(3)-C(8)	105,3 (19)	C(12)-C(13)-C(14)	123 (4)
Cu(1)-N(3)-C(14)	146 (3)	C(9)-C(14)-C(13)	113 (3)
C(8)-N(3)-C(14)	108 (3)	N(3)-C(14)-C(9)	113 (3)
C(8)-N(4)-C(9)	110 (3)	N(3)-C(14)-C(13)	133 (4)

4.1.2.2. Espectroscopia no infravermelho

Todos os complexos estudados mostraram bandas atribuídas aos estiramentos $\nu(\text{O-H})$ e $\nu(\text{N-H})$ em torno de 3400 e 3200 cm^{-1} , respectivamente. Absorções características do NH_2 alifático e C=O não foram observadas nesses espectros vibracionais, conforme esperado. Uma forte banda em torno de 1660 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento $\nu\text{C-C}$, C-N do anel benzimidazol, e uma outra em 600 cm^{-1} foi atribuída à formação da base de Schiff. Estas bandas aparecem deslocadas em relação aos ligantes livres, indicando uma provável coordenação do átomo de nitrogênio ao íon

cobre(II). Na região entre 1570 e 1460 cm^{-1} são encontradas várias bandas relacionadas aos estiramentos C-C ou C-N dos anéis aromáticos (Figura 30).

Figura 30– Espectros comparativos na região do infravermelho. (A) $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **5**, (B) $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$ **6** e (C) $[\text{Cu}(\text{apyambi})\text{Cl}_2]$ **4**.

Os complexos contendo o ânion nitrato mostraram bandas na região entre 1800–1600 cm^{-1} atribuída aos estiramentos $\nu\text{N-O}$. Lever e Montovani estudaram os diferentes modos de coordenações destes íons na região do infravermelho.¹¹⁰ Nos complexos estudados observou-se um complicado espectro nesta região, devido à presença do grupo nitrato na forma iônica ou coordenada, confirmadas por cristalografia de raios-X.^{20,111} Os complexos **3** e **6** apresentaram bandas em torno de 1280–1420 cm^{-1} indicando que o íon nitrato não está coordenado ao centro metálico. Por outro lado, observou-se para o composto mononuclear **3** uma banda fraca em 1750 cm^{-1} devido também à coordenação do ânion nitrato,^{111a} e portanto atestando a presença de ambos os tipos de ligações no estado sólido.

Para o complexo dinuclear **5** contendo o ânion perclorato observaram-se bandas em torno de 1094 e 624 cm^{-1} , indicando seu caráter iônico ou não-coordenante neste sistema.¹¹²

¹¹⁰ A.B.P. Lever, E. Montovani, *Can. J. Chem.* 49 (1971) 1957.

¹¹¹ (a) J. Pons, A. Chadghan, J. Casabó, A. Avarez-Larena, J.F. Piniella, J. Ros, *Polyhedron* 20 (2001) 2531; (b) C.J. Matthews, K. Avery, Z. Xu, L.K. Thompson, L. Zhao, D.O. Miller, K. Biradha, K. Poirier, M.J. Zaworotko, C. Wilson, A.E. Goeta, J.A.K. Howard, *Inorg. Chem.* 38 (1999) 5266; (c) H. Miyasaka, S. Okamura, T. Nakashima, N. Matsumoto, *Inorg. Chem.* 36 (1997) 4329.

¹¹² A.C. Sant'Ana, W.A. Alves, R.H.A. Santos, A.M.D.C. Ferreira, M.L.A. Temperini, *Polyhedron* 22 (2003) 1673.

4.1.2.3. Condutividade molar

A condutividade molar medida dos compostos **3** e **4** foram 275 e 216 S.cm².mol⁻¹ em água, respectivamente, indicando uma relação de 1:2 entre os eletrólitos. Estes resultados atestam a labilidade dos ânions cloretos e nitratos em solução aquosa. Para os complexos dinucleares, a mesma relação também foi observada em solução metanólica, mostrando uma correlação entre a proporção dos eletrólitos presentes na solução com a estrutura proposta. Por outro lado, em solução aquosa todos estes complexos dinucleares sofrem dissociação formando a correspondente espécie mononuclear, [Cu(apymbi)(H₂O)₂]²⁺.

4.1.2.4. Espectroscopia eletrônica

Os espectros eletrônicos na região do UV/Vis dos complexos **3** a **7** foram registrados no estado sólido e em solução. Neste caso, os espectros na região do visível no estado sólido estão deslocados em relação àqueles em solução, indicando uma mudança estrutural nos complexos, ocasionada pela labilidade dos ligantes cloretos e nitratos dependendo do tipo de solvente utilizado, conforme mostrado na Tabela 5.

Tabela 5— banda d-d dos complexos de cobre(II) no estado sólido e solução.

<i>Compostos</i>	λ_{max} , nm		
	banda d-d		
	<i>H₂O</i>	<i>CH₃OH</i>	<i>F(R)</i>
[Cu(apymbi)(H ₂ O) ₂](NO ₃) ₂ 3	665	-----	648
[Cu(apymbi)Cl ₂].H ₂ O 4	667	689	694
[Cu ₂ (apymbi) ₂ Cl ₂](ClO ₄) ₂ .H ₂ O 5	667	689	684
[Cu ₂ (apymbi) ₂ Cl ₂](NO ₃) ₂ .2H ₂ O 6	667	689	660

Hathaway e Tomlinson¹¹³ propuseram que é possível prever a geometria dos complexos de cobre(II) pentacoordenados em solução através da posição e intensidade da transição d-d. Em geral, sistemas CuX₅ do tipo bipirâmide trigonal no estado fundamental ²A'₁ mostram uma simples banda de intensidade relativa na região de 481 ± 58 nm. Por outro lado, espectros eletrônicos de complexos com geometria pirâmide de base quadrada apresentam uma banda na região de 578 ± 77 nm.

¹¹³ (a) B.J. Hathaway, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1972) 1196; (b) B.J. Hathaway, A.A.G. Tomlinson, Coord. Chem. Rev. 5 (1970) 1.

Para todos os complexos estudados as bandas d-d no estado sólido são mais largas quando comparadas àquelas em solução. Neste caso, uma geometria pirâmide de base quadrada é mais provável, uma vez que ela pode ocasionar duas transições relativamente bem separadas.^{105,113,114} Estes dados são consistentes com um Cl⁻ axialmente coordenado ao íon de cobre(II) no estado sólido, conforme descrito anteriormente na cristalografia de raios-X do composto **4**. Entretanto, quando estes complexos são dissolvidos em metanol ou água somente uma banda d-d relativamente larga foi observada em todos os casos, a 667 nm em água ou a 689 nm em metanol, sugerindo uma estrutura de pirâmide tetragonal distorcida. Comportamento análogo foi observado para o complexo mononuclear [Cu(apymbi)(NO₃)(H₂O)]⁺ **3** quando dissolvido em solução aquosa, ocasionando a dissociação do ligante nitrato. Portanto, pode-se concluir que em solução aquosa todos os complexos dissociam os ligantes lábeis, cloreto ou nitrato, para formar a correspondente espécie mononuclear [Cu(apymbi)(H₂O)₂]²⁺.

Na região de UV próximo, os espectros destes complexos em solução metanólica são muito semelhantes, com bandas atribuídas a transições internas nos ligantes *N*-heterocíclicos em 210 nm ($\epsilon = 50\text{-}75 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 272 nm ($\epsilon = 15\text{-}20 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), e 278 nm ($\epsilon = 12\text{-}22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), e outra banda intensa em torno de 350 nm ($\epsilon = 1,0\text{-}2,5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), LMTC, atribuída à transferência de carga do grupo amino e/ou benzimidazol para o íon de cobre(II).^{51c,115}

4.1.2.5. Espectroscopia EPR e estudos de equilíbrios em solução

Visando obter informações sobre a simetria ao redor do cobre, prepararam-se soluções dos diferentes complexos em MeOH / H₂O (4:1, v/v) ou MeOH, registrando os respectivos espectros, à temperatura de 77 K. Neste caso, tanto os compostos mono- como os dinucleares apresentaram estruturas hiperfinas, devido ao acoplamento spin eletrônico–spin nuclear do próprio íon cobre(II) ($I = 3/2$), na região ~3100 G ($g \sim 2$, $\Delta M_S = \pm 1$).

Os espectros são mostrados na Figura 31, ilustrando também os sinais em torno de 1500 G ($g \sim 4$). As hiperfinas observadas nesta região de 1500 G, nos espectros de EPR dos compostos **5** e **6**, atestam a formação de uma estrutura dimérica devido às transições singleto-triplete ($\Delta M_S = \pm 2$) (*vide* Apêndice 1).^{107b} Entretanto, estes sinais foram também observados para o composto mononuclear [Cu(apymbi)Cl₂] **4**, claramente indicando um equilíbrio com a correspondente espécie dinuclear em solução, conforme mostrado no Esquema 2 e na Figura 31A. Por outro lado, o complexo mononuclear [Cu(apymbi)(H₂O)₂]²⁺ não exibe estes sinais em $g \sim 4$ (Figura 31D).

¹¹⁴ P. Chaudhuri, K. Oder, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1990) 1597.

¹¹⁵ E. Monzani, L. Quinti, A. Perotti, L. Casella, M. Gullotti, L. Randaccio, S. Geremia, G. Nardin, P. Faleschini, G. Tabbi, *Inorg. Chem.* 37 (1998) 553.

Comportamento análogo foi observado para o composto de cobre(II) com ligante derivado de 2-acetilpiridina e histamina,¹¹⁶ que será descrito mais adiante nesta seção.

Figure 31- Espectros de EPR dos compostos de cobre(II) estudados (~ 3 mM) em solução congelada MeOH/H₂O (4:1, v/v) à temperatura de 77 K, na região de $g = 2$ e 4 (~ 10 X). (A) [Cu(apymbi)Cl₂], ganho = $1,00 \times 10^4$, $4,48 \times 10^5$; (B) [Cu₂(apymbi)₂Cl₂](NO₃)₂, ganho = $1,42 \times 10^4$, $3,56 \times 10^5$; (C) [Cu₂(apymbi)₂Cl₂](ClO₄)₂, ganho = $1,26 \times 10^4$, $2,24 \times 10^5$; (D) [Cu(apymbi)(H₂O)₂](NO₃)₂, ganho = $1,59 \times 10^3$, $2,24 \times 10^5$.

Esquema 2- Representação dos equilíbrios em solução.

¹¹⁶ W.A. Alves, S.A. de Almeida-Filho, R.H.A. Santos, A.M.D.C. Ferreira, Inorg. Chem. Comm. 6 (2003) 294.

Os espectros de EPR dos complexos dinucleares em solução MeOH / H₂O (4:1, v/v) apresentam estruturas hiperfinas resolvidas na região em torno de 3100 G (Figura 32). Estes sinais, observados numa mistura contendo água, surgem da sobreposição ou *overlap* de dois conjuntos de picos, correspondendo a dois diferentes complexos de cobre(II) numa estrutura tetragonal, provavelmente devido ao equilíbrio entre a espécie dinuclear μ -cloro e a correspondente espécie mononuclear [Cu(aplyambi)(H₂O)₂]²⁺ (Esquema 2). Este equilíbrio foi também confirmado através de medidas da condutividade molar, dos espectros UV/Vis em solução e de reflectância difusa no estado sólido, previamente descritos.

Figura 32– (A) Espectro de EPR do complexo de cobre(II) [Cu₂(apyambi)₂Cl₂](NO₃)₂ **6** (~ 3 mM), em solução MeOH / H₂O (4:1, v/v) à temperatura de 77 K, na região $g \sim 2$, ganho = $1,42 \times 10^4$; (B) Correlação entre o espectro de EPR experimental e calculado para um composto dinuclear de cobre(II) na ausência das interações hiperfinas ($J_{\text{exp}} = +0,57 \text{ cm}^{-1}$; $D_{\text{calc}} = 0,01 \text{ cm}^{-1}$; $g_{\perp} = 2,153$; $g_{\parallel} = 2,344$).

Os correspondentes parâmetros de EPR para todos os complexos dinucleares contendo diferentes contra-íons (perclorato, nitrato ou cloreto), em MeOH / H₂O, foram determinados por comparação com a respectiva espécie mononuclear [Cu(aplyambi)(H₂O)₂]²⁺, isolada experimentalmente (Figura 33A), e através da análise comparativa dos espectros simulados para uma espécie mono- e outra dimérica na ausência e também na presença de uma perturbação hiperfina (Figuras 32B-33B e Tabela 6). O detalhamento dos cálculos de energia dos estados e as funções de onda de spin para um sistema dinuclear de cobre(II) encontra-se no Apêndice 1 e 2.

Figura 33– (A) Espectros de EPR em diferentes solventes, indicando um equilíbrio entre o complexo mononuclear $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, e a correspondente espécie dinuclear $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2]^{2+}$. (A) $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$ **6** dissolvido em metanol; (B) $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$ **6** dissolvido em MeOH/ H_2O (4:1, v/v); (C) $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ **3** dissolvido em MeOH/ H_2O (4:1, v/v). (B) Análise comparativa dos espectros simulados utilizando os valores de g experimentais, $D_{\text{calc}} = 0,01 \text{ cm}^{-1}$ e largura de linha = 50 G.

Tabela 6– Parâmetros de EPR dos complexos de cobre(II) estudados.

Compostos	Parâmetros de EPR			
	$g_{\perp}$	$g_{\parallel}$	$A_{\parallel}, 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$	$g_{\parallel} / A_{\parallel}, \text{ cm}$
$[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ 3	2,066	2,278	180	127
$[\text{Cu}(\text{apyambi})\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ 4	2,151	2,346	193	121
	2,069	2,278	179	127
$[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 5	2,151	2,349	193	121
	2,066	2,278	180	127
$[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 6	2,153	2,344	193	121
	2,064	2,277	179	127

Além disso, os espectros de EPR obtidos em diferentes solventes corroboram a existência do equilíbrio entre as espécies mono- e dinuclear, como mostrado na Figura 33A. Em solução aquosa o complexo mononuclear $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ predomina, enquanto que em metanol a espécie dinuclear $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ é favorecida. Em solução MeOH / H_2O (4:1, v/v) ambas espécies são igualmente observadas, como resultado da dissociação das pontes μ -cloro.

Os espectros de EPR em solução das espécies dinucleares $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2]^{2+}$, com diferentes contra-íons (perclorato, nitrato ou cloreto), e da espécie mononuclear $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ são característicos de uma simetria axial com elétron desemparelhado no orbital $d_{x^2-y^2}$, uma vez que $g_{\parallel} > g_{\perp}$. Além disso, através da comparação da razão $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ (Tabela 7), freqüentemente usada para prever distorções na geometria do íon de cobre(II),¹⁰⁶ algumas distorções na geometria pirâmide tetragonal são esperadas para todos estes complexos mono- e dinucleares pentacoordenados.

Experimentos adicionais, com aumento da quantidade de íons cloretos numa solução MeOH / H_2O (4:1, v/v), mostraram somente pequenas modificações nos espectros de EPR (Figura 34), com diminuição imperceptível nas hiperfinas da espécie dinuclear, ocasionada pelo deslocamento do equilíbrio em solução. Estes resultados indicam os mesmos parâmetros espectroscópicos para as duas espécies mononucleares em solução, $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ e $[\text{Cu}(\text{apyambi})\text{Cl}_2]$, uma vez que esta última espécie com cloreto coordenado é favorecida pela maior concentração de íons cloreto no meio reacional.

Figura 34- Espectros de EPR do composto $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$ 6 em solução de metanol / água (3 mM), temperatura = 77 K, em diferentes concentrações de íons cloreto (0,0; 1,82 mM; 4,61 mM; 8,0 mM e solução super-saturada).

4.1.2.6. Propriedades magnéticas

Medidas de susceptibilidade magnética χ_M *versus* T na região de 2 a 300 K no estado sólido foram realizadas para o complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **5**, mostrando um comportamento ferromagnético (Figura 35). Uma possível interação magnética neste tipo de sistema indica um caráter dimérico e pode ser calculada através da equação Bleaney-Bowers.¹¹⁷ Essa interação entre os íons de cobre(II) é do tipo *exchange*, onde $H = -2JS_1S_2$. Neste Hamiltoniano Heisenberg isotrópico, um valor negativo de J/k refere-se a um comportamento antiferromagnético entre os íons de cobre(II), enquanto que um valor de J/k positivo a um comportamento ferromagnético. Usualmente uma contribuição paramagnética independente da temperatura (TIP) está presente na medida da susceptibilidade magnética destes compostos, incluindo o paramagnetismo de Van Vleck e a contribuição diamagnética dos ligantes e dos contra-íons, indicado pelo termo $N\alpha$. Finalmente, foi também considerada na expressão da susceptibilidade a pequena contribuição paramagnética dependente da temperatura relacionada às espécies monoméricas livres (com concentração $p \ll 1$), que podem estar presentes na amostra. A diferença de energia entre os estados singlete e tripleto é expressa em termos de $2J/k$, e nesta expressão os demais símbolos têm seus significados usuais.

$$\chi = 2N\beta^2 g^2/kT [3 + \exp(-2J/kT)]^{-1} (1-p) + [N\beta^2 g^2/2kT]p + N\alpha \quad (\text{eq. 1})$$

Este modelo descreve muito bem os dados experimentais para o composto **5**, como mostrado na Figura 35. Os parâmetros magnéticos obtidos foram: $2J/k = +(0,57 \pm 0,06) \text{ cm}^{-1}$, $g = 2,1 \pm 0,07$, $p = 0,03$ e $N\alpha = 0,007$. Este resultado mostra uma fraca interação ferromagnética intramolecular entre os centros de cobre(II), que pode ser justificada pela distorção estrutural em torno do íon metálico.^{118,119,120}

¹¹⁷ B. Bleaney, K.D. Bowers, Proc. R. Soc., London, Ser. A 214 (1952) 4519.

¹¹⁸ W.E. Hatfield, R.R. Weller, J.W. Hall, Inorg. Chem. 19 (1980) 3825.

¹¹⁹ (a) A. Rodríguez-Forte, P. Alemany, S. Alvarez, E. Ruiz, Inorg. Chem. 41 (2002) 3769; (b) M. Rodríguez, A. Llobet, M. Corbella, A.E. Martell, J. Reibenspies, Inorg. Chem. 38 (1999) 2328.

¹²⁰ (a) A.M. Schuitema, A.F. Stassen, W.L. Driessen, J. Reedijk, Inorg. Chim. Acta 337 (2002) 48; (b) F.S. Keij, J.G. Haasnoot, A.J. Oosterling, J. Reedijk, C.J. O'Connor, J.H. Zhang, A.L. Spek, Inorg. Chim. Acta 181 (1991) 185; (c) C.R. Lucas, S. Liu, L.K. Thompson, Inorg. Chem. 29 (1990) 85.

Figura 35- Curva de $\chi_M \times T$ para o composto 5.

Para o complexo dinuclear **5** uma geometria piramidal distorcida é esperada para cada íon de cobre, dentro da unidade monomérica. Neste caso, os orbitais $d_{x^2-y^2}$ estão parcialmente ocupados e um pequeno acoplamento magnético intramolecular entre as unidades monoméricas é esperado, uma vez que os orbitais $d_{x^2-y^2}$ estão direcionados no plano equatorial de cada íon de cobre(II) e a um dos ligantes cloreto em ponte, que por sua vez se coordenam ao outro complexo monomérico vizinho na posição axial (orbital d_z^2), conforme representado na Figura 36, dando origem a uma ortogonalidade entre os orbitais magnéticos envolvidos devido às diferenças entre simetrias e, portanto, a um acoplamento ferromagnético. Outros complexos dinucleares contendo pontes cloreto, já descritos na literatura, possuem o mesmo comportamento magnético.¹¹⁸⁻¹²⁰

Figura 36- Representação estrutural de sistemas dinucleares de cobre do tipo 2.

4.1.2.7. Voltametria cíclica e espectroeletroquímica do composto $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$ **6**

Medidas eletroquímicas e espectroeletroquímicas do complexo dinuclear **6** (3,0 mM) em solução aquosa, contendo KNO_3 (0,10 M) como eletrólito suporte, também foram realizadas na tentativa de se obter maiores informações estruturais deste sistema.

Através do voltamograma cíclico apresentado na Figura 37 observou-se que o complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$ possui um comportamento quase-reversível. O alargamento das ondas ($E_{pa} = -0,55$ V e $E_{pc} = -0,63$ V *versus* EPH), atribuído ao processo redox $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$, está relacionado com a mistura de espécies mono-/dinuclear em solução aquosa, sendo melhor visualizado nos voltamogramas na Figura 38, mostrando o desdobramento da onda do pico anódico. Voltamograma semelhante mostrando a labilidade dos íons cloreto em solução para o composto mononuclear CuL^1Cl_2 , $\text{L}^1 = N,N'\text{-Bis}(\text{benzimidazol-2-ylethyl})\text{-ethane-1,2-diamine}$, está descrita na referência.^{121a} Adicionalmente, no voltamograma da Figura 37 observou-se uma onda em -0,09 V, atribuído ao processo redox L^0/L^{-1} característico do ligante imidazol.^{121b}

Figura 37- (A) Voltamograma cíclico para o complexo **6** (3,0 mM) em solução aquosa contendo KNO_3 (0,10 M) *versus* EPH, sob atmosfera de argônio; (B) Espectroeletroquímica UV/Vis do complexo **6** em solução aquosa contendo KNO_3 (0,10 M) no intervalo de -0,22 a -0,92 V *versus* EPH.

¹²¹ (a) T. Pandiyan, M. Palaniandavar, M. Lakshminarayanan, H. Manohar, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1992) 3377; (b) L.-S. Long, S.-P. Yang, Y.-X. Tong, Z.-W. Mao, X.-M. Chen, L.-N. Ji, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1999) 1999.

Figura 38- Voltamogramas cíclicos em solução aquosa para o complexo **6** (3 mmol.dm^{-3}) e KNO_3 ($0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$) como eletrólito suporte (~ 20 ciclos), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$;

Dados espectroeletroquímicos foram também obtidos em solução aquosa contendo KNO_3 , no intervalo de $-0,22$ a $-0,92 \text{ V versus EPH}$ (Figura 37B). À medida que o potencial diminui, observa-se uma diminuição da banda em torno de 278 nm , atribuída à transição interna do ligante, com aumento simultâneo de uma banda larga em torno de aproximadamente 350 nm , atribuída à transição LMCT benzimidazol $\rightarrow \text{Cu(II)}$. Este experimento confirma as atribuições das ondas voltamétricas e as bandas nos espectros eletrônicos (UV/Vis) realizadas anteriormente para os compostos de cobre(II) estudados.

4.1.2.8. Interação do composto **6** com a L-dopa em solução aquosa

Estudos da interação da L-dopa com o complexo **6** tiveram o objetivo de completar a caracterização deste sistema, além de verificar alguma interação do complexo com este substrato em solução. Também visaram verificar a atividade catalítica destes compostos, visto que compostos diimínicos de cobre, principalmente espécies dinucleares, são bons catalisadores na oxidação de fenóis e catecóis,⁴⁰ mimetizando características tanto estruturais como funcionais de enzimas de cobre, como tirosinases e catecol oxidases.^{40,43}

Estudos espectroscópicos (EPR e UV/Vis) foram realizados visando obter informações sobre a simetria ao redor do cobre, após a interação da L-dopa com o complexo **6** em solução aquosa ou em $\text{MeOH/H}_2\text{O}$ (4:1, v/v). Após adição do substrato ao meio reacional, esperava-se uma maior

interação do catecol com a espécie mononuclear devido à presença de sítios livres de coordenação. Consequentemente, partindo de uma solução do composto dinuclear $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ em solução aquosa, onde provavelmente ocorre um deslocamento do equilíbrio mono-/dinuclear para a espécie $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, que posteriormente reage com a L-dopa formando o composto mono- $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{L-dopa})]^{2+}$ ou dinuclear $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2(\text{L-dopa})]^{2+}$ contendo L-dopa como ligante ponte.

Mudanças espectrais significativas foram obtidas após adição do catecol na solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) contendo o complexo **6** como material de partida. No caso do espectro de EPR (Figura 39) foi observado um aumento no número de linhas relacionadas à estrutura super-hiperfina, proveniente da ligação do átomo de ¹⁴N com o íon de Cu²⁺ na região de $g = 2$.^{105,122} No início eram observadas 7 linhas, correspondentes à coordenação de pelo menos 3N ao redor do íon de cobre(II), conforme esperado para este tipo de composto. Após atingir a metade da concentração da L-dopa em relação ao complexo na solução de MeOH/H₂O, verifica-se um aumento de super-hiperfinas (que passam a 9 linhas) característica de coordenação de pelo menos 4 átomos de nitrogênio ao redor do íon metálico. Quando o sistema atinge a equivalência molar da concentração de L-dopa em relação ao complexo em solução, observa-se uma intensificação destas super-hiperfinas, característica de interação da L-dopa com o complexo pelo nitrogênio, *vide* Esquema 3 e Figura 39.

Esquema 3- Representação da reação entre $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ e L-dopa em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v).

¹²² G.J. Anthony, A. Koolhaas, P.M. van Berkel, S.C. van der Slot, G.M.-Diaz, W.L. Driessen, J. Reedijk, H. Kooijman, N. Veldman, A.L. Spek, *Inorg. Chem.* 35 (1996) 3525.

Figura 39- Espectros de EPR do complexo 6 em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v), após adição de L-dopa. T = 77K, ganho = $2,83 \times 10^3$. (A) [complexo] (3,0 mM); (B) [complexo] (2,6 mM) + [L-dopa] (2,6 mM); (C) [complexo] (2,3 mM) + [L-dopa] (2,3 mM).

Por outro lado, resultados na literatura¹²³ mostram interação dos catecóis, L-dopa e dopamina, pelos oxigênios ligados no anel ao complexo de cobre(II) em solução aquosa. Particularmente, nesta solução, a molécula neutra da L-dopa pode sofrer até três equilíbrios de dissociação ácida, cujos pKa correspondem a 9,30, 10,13 e 11,72, conforme representado no Esquema 4.¹²⁴

¹²³ (a) L. Lamarque, P. Navarro, C. Miranda, V.J. Arán, C. Ochoa, F. Escartí, E. García-España, J. Latorre, S.V. Luis, J.F. Miravet, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 10560; (b) D.G. Brown, J.T. Reinprecht, G.C. Vogel, Inorg. Nucl. Chem. Letters 12 (1976) 399.

¹²⁴ F.N. Rein, *Estudo da Química de Dioxolenos de Rutênio*, Tese de Doutorado; Orientador: H.E. Toma, Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

Esquema 4- Equilíbrios de dissociação ácida.¹²⁴

Logo, espera-se também uma interação pelos oxigênios do anel da L-dopa com o complexo $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ em solução aquosa ($\text{pH} \sim 5,5$). Esta coordenação difere do modo de interação anteriormente discutido, envolvendo solução de $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, v/v), onde provavelmente o nitrogênio não se encontra protonado.

Esquema 5- Prováveis complexos em solução aquosa.

Dados de espectroscopia eletrônica na região do visível, em solução aquosa, não mostraram nenhuma banda referente ao produto de oxidação da L-dopa (475 nm , $\epsilon = 3600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$),^{40a} mas somente um pequeno deslocamento e intensificação da banda d-d, após 8 horas de reação (Figura

40). Este comportamento é atribuído provavelmente à formação das espécies mono- $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{L-dopa})]^{2+}$ e/ou dinuclear $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2(\text{L-dopa})]^{2+}$ no meio reacional (Esquema 5).

Figura 40- Espectro eletrônico da mistura: [complexo] (4 mM) + L-dopa (8 mM) em solução aquosa.

4.1.2.8. Oxidação da *N, N, N', N'*-tetrametil-*p*-fenilenodiamina (TMPD)

Realizaram-se experimentos cinéticos para comparar a atividade catalítica dos compostos preparados na oxidação da TMPD, uma amina aromática impedida estericamente que favorece a formação da correspondente espécie radicalar $\text{TMPD}^{\bullet+}$, monitorada espectrofotometricamente a 565 nm (Figura 41).¹²⁵ Nestes experimentos utilizaram-se concentrações de $[\text{TMPD}] = 2,5 \times 10^{-4}$ M, e $[\text{catalisador}] = 2,5 \times 10^{-5}$ M, exceto o complexo **3**, $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+} = 5,0 \times 10^{-5}$ M, em soluções metanólicas, a $(25,0 \pm 0,3)^\circ\text{C}$.

¹²⁵ (a) J.-M. Lü, X.-L. Wen, L.-M. Wu, Y.-C. Liu, Z.-L. Liu, *J. Phys. Chem. A* 105 (2001) 6971; (b) A.L. Abuhijleh, *Polyhedron* 15 (1996) 285; (c) O. Poizat, A. Bourkba, G. Buntinx, A. Deffontaine, M. Bridoux, *J. Chem. Phys.* 87 (1987) 6379; (d) C. Lapinte, G.M. et L. Nadjjo, H. Rivière, *Nouveau Journal de Chimie* 8 (1984) 165.

Figura 41– Monitoramento espectrofotométrico na formação do $TMPD^{\bullet+}$ a 565 e 608 nm. $[TMPD] = 2,5 \times 10^{-4}$ M, $[Cu_2(apyambi)_2Cl_2](NO_3)_2 = 2,5 \times 10^{-5}$ M, em solução metanólica, a $(25,0 \pm 0,3) ^\circ C$.

Em solução metanólica, foi observado que estes compostos dinucleares, contendo ligantes cloreto em ponte, catalisam eficientemente a oxidação da TMPD. Neste caso, os estudos mostraram que os complexos dinucleares $[Cu_2(apyambi)_2Cl_2]^{2+}$ possuem alta atividade catalítica, quando comparada com a correspondente espécie mononuclear, devido à possibilidade de se ter mais centros de cobre acessíveis ao substrato em solução. Os complexos dinucleares 5, 6 e 7, com diferentes contra-íons, tiveram aproximadamente o mesmo comportamento cinético. Estes experimentos indicam que a estrutura dimérica das espécies de cobre(II) é um fator determinante na reatividade, enquanto que não se observa grande contribuição na variação do contra-íon na oxidação da TMPD.

Figura 42– Dependência da velocidade inicial de oxidação da TMPD nas diferentes concentrações do catalisador e substrato à temperatura de $(25,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. (A) $[\text{TMPD}] = 2,50 \times 10^{-4} \text{ M}$ e (B) $[\text{catalisador}] = 2,50 \times 10^{-5} \text{ M}$.

Nishida e colaboradores estudaram a importância do fator estrutural na atividade catalítica dos complexos de cobre(II) na oxidação aeróbica da TMPD.¹²⁶ Neste caso, os estudos mostraram que os complexos dinucleares de cobre(II) são bons catalisadores, quando comparados com complexos mononucleares, mas são praticamente inativos quando apresentam uma geometria quadrado planar regular, uma vez que dois centros metálicos próximos são necessários para formação de um intermediário, envolvendo duas moléculas de TMPD, a espécie dinuclear de cobre(II) e a molécula dioxigênio.^{126,127} A formação deste intermediário é necessária para haver transferência de dois elétrons simultaneamente da TMPD para o dioxigênio, de acordo com o mecanismo proposto. Além disso, o processo de transferência de dois elétrons é mais favorável para a redução do dioxigênio, do ponto de vista termodinâmico, quando comparado com o mecanismo envolvendo duas etapas monoelétrônicas.¹²⁸ Particularmente, as curvas cinéticas obtidas mostram uma saturação com a variação da concentração de substrato, que corrobora a necessidade de haver a interação do substrato com os centros de cobre. Neste caso, o fator limitante é a quantidade de catalisador usado (Figura 42B). Os resultados obtidos divergem em relação aos discutidos anteriormente por Nishida,^{126c} onde se propõe um mecanismo de esfera externa, baseado em potenciais de oxi-redução.

¹²⁶ (a) Y. Nishida, M. Takeuchi, N. Oishi, S. Kida, *Inorg. Chim. Acta* 96 (1985) 81; (b) Y. Nishida, H. Shimo, H. Machara, S. Kida, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1985) 1945; (c) Y. Nishida, M. Takeuchi, N. Oishi, S. Kida, *Inorg. Chim. Acta* 75 (1983) 169.

¹²⁷ K.D. Karlin, Y. Gultneh, *Prog. Inorg. Chem.* 35 (1987) 219.

¹²⁸ (a) J.E. Harrison, J. Schultz, *J. Biol. Chem.* 251 (1976) 1371; (b) C.S. Foote, T.E. Goynes, R.I. Lehrer, *Nature* 301 (1983) 715.

A lei de velocidade determinada na oxidação da TMPD indicou uma dependência de primeira ordem em relação à concentração do catalisador, e uma dependência de primeira ordem seguida de saturação com relação ao substrato (Figura 42). Neste caso, os dados experimentais foram ajustados pela equação de Michaelis-Menten, e os parâmetros cinéticos $V_{\text{máx}}$ e K_M foram obtidos através da curva $1/V_i$ versus $1/[TMPD]$, como mostrado na Tabela 7. $V_{\text{máx}}$ é a velocidade máxima para atingir a concentração de saturação do substrato, $k_{\text{cat}} = V_{\text{máx}}/[\text{catalisador}]$ (o chamado *turnover rate*) e K_M é a constante de dissociação do substrato proveniente do complexo catalisador-substrato.¹²⁹ Neste caso, o complexo mononuclear $[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ **3** mostrou a menor atividade catalítica na série devido ao menor valor de k_{cat} , apesar de possuir uma alta afinidade pelo substrato (menor valor de K_M). Adicionalmente, o valor determinado para a constante de velocidade de segunda ordem k_{cat}/K_M é a mesma em relação ao complexo dinuclear **6** $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$, corroborando o fato das duas espécies produzirem, quando em concentrações em que possam ter o mesmo número de centros ativos, a mesma quantidade de produto, mas com diferentes velocidades de conversão.

Tabela 7– Parâmetros cinéticos determinados na oxidação do TMPD catalisada pelos complexos diimínicos de cobre(II).

<i>Compostos</i>	k_{cat} , 10^3 min^{-1}	K_M , $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$	k_{cat}/K_M , $10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$
$[\text{Cu}(\text{apyambi})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ 3	0,53	1,71	3,09
$[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$ 6	1,44	4,66	3,09
* $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}_2$ 7	1,41	2,81	5,02

*Em equilíbrio com a respectiva espécie mononuclear **2** em solução metanólica.

Os complexos dinucleares $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2$ **6** e $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}_2$ **7** mostram a mesma velocidade de *turnover*, porém diferentes valores de K_M , o que resulta numa grande diferença nas constantes de velocidades de segunda ordem k_{cat}/K_M , provavelmente devido à maior afinidade do complexo dinuclear **7** pelo substrato.

Também estudamos a dependência da velocidade da reação com a variação da concentração de íons cloreto em solução, na oxidação da TMPD. Neste experimento, utilizaram-se as seguintes concentrações: $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{NO}_3)_2 = 2,5 \times 10^{-5} \text{ M}$, e $[\text{TMPD}] = 2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ em solução metanólica contendo diferentes concentrações de KCl, a $(25,0 \pm 0,3)^\circ\text{C}$.

¹²⁹ D.B. Northrop, J. Chem. Educ. 75 (1998) 1153.

As curvas cinéticas na Figura 43 mostram dois estágios: uma etapa inicial rápida de oxidação, seguida por uma lenta. Particularmente, a velocidade inicial de oxidação da TMPD permanece inalterada na presença de diferentes concentrações de KCl ($3,0 - 263 \times 10^{-5}$ M). Porém, verifica-se uma diminuição na segunda etapa da reação com aumento da concentração de KCl, seguida da saturação quando $[KCl] > 25 \times 10^{-5}$ M, isto é, quando a razão $[Cl^-]/[TMPD] \geq 1$. Uma possível explicação para este resultado seria o deslocamento do equilíbrio di-/mononuclear, favorecendo a formação da espécie mononuclear **4**, e adicionalmente a formação de um par iônico estável $[TMPD^{\bullet+}Cl^-]$ em solução, com o aumento da concentração de íons cloreto, que pode dificultar a subsequente formação de outros produtos de oxidação que absorvem na mesma região do espectro.¹³⁰ Um par iônico similar contendo ânion perclorato, $[TMPD^{\bullet+}ClO_4^-]$, foi preparado e isolado por meio da oxidação da TMPD com perclorato de oxoamônio de 2,2,6,6-tetrametil-4-acetoxipiperidina, em acetonitrila anidra.^{125a}

Figura 43– (A) Curvas cinéticas de oxidação da TMPD, catalisada pelo composto **6**, em solução metanólica, a $(30,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, na presença de diferentes concentrações de KCl, $[\text{catalisador}] = 2,50 \times 10^{-5}$ M e $[\text{TMPD}] = 2,50 \times 10^{-4}$ M; (B) Influência da concentração de íons cloreto na segunda etapa da velocidade de oxidação da TMPD.

¹³⁰ L. Michaelis, M.P. Schubert, S. Granick, J. Am. Chem. Soc. 61 (1939) 1981.

4.1.3. Compostos mono- e dinucleares de cobre(II) derivados do ligante (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyhist*) e (4-imidazolil)etileno-2-aminometilpiridina (*2-pyhist*) contendo pontes cloreto

Interações magnéticas em complexos dinucleares de cobre(II), $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** e $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9** com ligante imínico tridentado contendo pontes cloreto (onde, *apyhist* = (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina e *2-pyhist* = (4-imidazolil)etileno-2-aminometilpiridina) foram estudados com objetivo de melhor elucidar a correlação entre estrutura e propriedade magnética em tais sistemas, tanto no estado sólido quanto em solução.

Para o composto **8**, dados de cristalografia de raios-X revelaram que os íons de cobre(II) estão unidos entre si pelos ligantes cloreto, numa distância entre Cu-Cl iguais a 2,271 e 2,737 Å, com ângulo de ligação Cu-Cl-Cu de 87,46°. Cada átomo de cobre está também coordenado a três átomos de nitrogênio provenientes do ligante imínico, numa geometria pirâmide tetragonal distorcida. Medidas magnéticas realizadas na região de 1,8-290 K num campo magnético de 0,5 kOe, e estudos de magnetização em função do campo magnético, indicaram que além do acoplamento magnético intramolecular entre os centros de cobre [$J/k = -(1,38 \pm 0,03) \text{ cm}^{-1}$], interações intermoleculares entre as espécies diméricas também estão presentes [$J'z = -(0,9 \pm 0,1) \text{ cm}^{-1}$]. Resultado similar também foi observado para o composto **9** [$J/k = -(3,05 \pm 0,02) \text{ cm}^{-1}$] e [$J'z = -(2,64 \pm 0,07) \text{ cm}^{-1}$]. Em solução, a interconversão da espécie dimérica **8** na correspondente espécie mononuclear $[\text{Cu}(\text{apyhist})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ **10** monitorada por EPR, mostrou ser dependente do solvente utilizado.

Parte dos resultados descritos a seguir deu origem a dois artigos, em revista especializada.^{116,131}

4.1.3.1. Cristalografia de raios-X do composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8**

A estrutura de raios-X do complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** está representada nas Figuras 44 e 45. As características da célula unitária, coordenadas dos átomos, comprimentos das ligações e os ângulos são listados nas Tabelas 8-11.

¹³¹ (a) W.A. Alves, R.H.A. Santos, A. Paduan-Filho, C.C. Becerra, A.C. Borin, A.M.D.C. Ferreira, *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 2269.

Figura 44– ORTEP da unidade $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ 8.

Figura 45– Representação da célula unitária do composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ 8.

A estrutura do composto consiste de uma unidade dimérica discreta $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4)_2](\text{ClO}_4)_2$. Cada íon de cobre no monômero interage com o cobre adjacente para formar uma unidade dimérica assimétrica, interligada por átomos de cloro, como mostrado na Figura 44. Cada átomo de cobre possui número de coordenação igual a 5, dentro de uma geometria pirâmide tetragonal distorcida ($\tau = 0,1$). Valor de $\tau = 0$ indica uma configuração pirâmide de base quadrada, ao passo que $\tau = 1$ indica uma configuração bipirâmide trigonal.²⁰ Adicionalmente, observou-se uma coordenação do ligante *apyhist* na posição equatorial e de 2 íons cloretos, um na posição axial e outro na equatorial. A representação da célula unitária (Figura 45) mostrou a interação dos íons percloratos entre duas unidades diméricas.

A distância axial Cu-Cl (2,737 Å) é maior quando comparada ao plano equatorial 2,271. Resultados semelhantes são descritos na literatura para o composto mononuclear $[\text{CuCl}_2(\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4)(\text{H}_2\text{O})]$, contendo a mesma geometria ao redor do íon de Cu(II), cujas distâncias Cu-Cl são 2,538 e 2,302 Å.¹⁰⁹

O ângulo entre Cu-Cl-Cu (87,46°) e a distância de ligação entre os íons metálicos (3,478 Å) são comparáveis com os valores para outros compostos dinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto, descritos na literatura.^{118,132} Os comprimentos das ligações N-C e C-C nos ligantes orgânicos, piridina e imidazol, estão na região esperada.

A estrutura do composto foi consolidada através de extensivas ligações de hidrogênio entre as espécies dinucleares e os íons percloratos, formando um sistema supramolecular do tipo 3D no estado sólido (Figura 45).

¹³² W.E. Marsh, K.C. Patel, W.E. Hatfield, D.J. Hodgson, *Inorg. Chem.* 22 (1983) 511.

Tabela 8– Dados da coleta de intensidade e do refinamento da estrutura cristalina/molecular do complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$. Desvio padrão entre parênteses.

Fórmula empírica	$[\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{Cu}_2\text{N}_8] 2(\text{ClO}_4)$
Peso molecular	825,44
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	$\text{P}\bar{1}$
a [Å]	7,461(1)
b [Å]	9,454(1)
c [Å]	12,479(1)
α [°]	72,28(1)
β [°]	74,26(1)
γ [°]	69,74(1)
V [Å ³]	772,89(16)
Z	1
D(calc) [Mg/m ³]	1,773
λ (MoK α) [mm ⁻¹]	1,783
F(000)	418
Tamanho do cristal [mm]	0,10 x 0,20 x 0,50
Temperatura (K)	293
λ MoK α [Å]	0,71073
θ Min-Max [°]	3,5 – 30,0
Dataset	$\bar{1}0$ -: 0 ; $\bar{1}3$: 12 ; $\bar{1}7$: 16
Tot., Uniq. Data, R(int)	4812, 4494, 0.051
Observed data [I > 2,0 σ (I)]	2186
Nref, Npar	4494, 209
R, wR2, S	0,0546; 0,1306; 0,99
$w = 1/[\sigma^2(\text{Fo}^2) + (0,0481\text{P})^2 + 0,0105\text{P}]$	onde, $\text{P} = (\text{Fo}^2 + 2\text{Fc}^2)/3$
Máx. and Av. Shift/Error	0,01; 0,00
Mín. and Máx. Resd. Dens. [e/Å ³]	-0,69; 0,49

Tabela 9– Coordenadas atômicas e parâmetros de deslocamentos térmicos isotrópicos equivalentes dos átomos não hidrogenóides, $U(eq)$ [$\text{\AA}^2$] do complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$. Desvio padrão entre parênteses.

Átomos	x	y	z	$U(eq)$ [$\text{\AA}^2$]
Cu	0,24600(8)	0,48211(6)	0,94781(5)	0,0310(2)
Cl1	0,00854(16)	0,68982(12)	0,99980(10)	0,0380(4)
N1	0,2315(5)	0,5697(4)	0,7856(3)	0,033(1)
N2	0,1733(6)	0,7251(5)	0,6226(3)	0,048(1)
N3	0,4729(5)	0,2977(4)	0,9151(3)	0,031(1)
N4	0,3142(5)	0,3913(4)	1,1040(3)	0,030(1)
C1	0,1558(7)	0,7162(5)	0,7321(4)	0,040(2)
C2	0,2607(7)	0,5806(6)	0,6024(4)	0,048(2)
C3	0,2988(7)	0,4842(5)	0,7018(4)	0,036(2)
C4	0,3877(7)	0,3128(5)	0,7329(4)	0,043(2)
C5	0,5492(7)	0,2645(5)	0,8006(4)	0,038(2)
C6	0,5481(6)	0,2088(5)	1,0015(4)	0,029(1)
C7	0,4552(6)	0,2536(5)	1,1123(4)	0,030(1)
C8	0,5018(7)	0,1637(5)	1,2155(4)	0,041(2)
C9	0,4028(7)	0,2163(6)	1,3148(4)	0,048(2)
C10	0,2647(7)	0,3558(6)	1,3060(4)	0,044(2)
C11	0,2244(7)	0,4412(6)	1,1998(4)	0,040(2)
C12	0,7170(6)	0,0677(5)	0,9995(4)	0,040(2)
Cl2	0,06077(18)	0,14983(13)	0,63652(9)	0,0416(4)
O1	-0,0018(7)	0,3119(4)	0,6034(4)	0,074(2)
O2	0,0495(5)	0,0984(4)	0,7569(3)	0,060(1)
O3	0,2560(6)	0,0931(6)	0,5832(3)	0,097(2)
O4	-0,0607(8)	0,0889(5)	0,6035(4)	0,088(2)

Tabela 10– Distâncias de ligação e ângulos de ligação selecionados para o complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$.

Cu	C/I	2,271(1)	Cu	C/I*	2,737(1)		
Cu	N1	1,957(4)	Cu	N3	2,021(4)		
Cu	N4	2,003(4)	Cu	Cu*	3,478(1)		
C/I	Cu	C/I*	92,54(5)	Cu	C/I	Cu*	87,46(4)
C/I	Cu	N1	92,2(1)	C/I*	Cu	N1	98,1(1)
C/I	Cu	N3	173,4(1)	C/I*	Cu	N3	90,9(1)
C/I	Cu	N4	93,8(1)	C/I*	Cu	N4	90,7(1)
N1	Cu	N3	92,8(2)	N1	Cu	N4	169,1(2)
N3	Cu	N4	80,6(2)				

Tabela 11– Ligações de hidrogênio para o composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$.

	A-H...B		dA...H	dH...B	dA...B	Ângulo	Simetria
N2	H2N	O4	0,86	2,2462	3,000(6)	146,4	-x, 1-y, 1-z
C1	H1	C11	0,93	2,7504	3,181(5)	109,3	
C9	H9	O3	0,93	2,4549	3,208(6)	138,2	x, y, 1+z
C11	H11	C11	0,93	2,6407	3,215(5)	120,6	
C12	H123	O2	0,96	2,4038	3,360(6)	174,7	1+x, y, z

4.1.3.2. Espectroscopia no infravermelho

Os complexos estudados mostraram bandas de intensidade média em torno de $3500\text{--}3328\text{ cm}^{-1}$, atribuídas aos estiramentos simétricos e anti-simétricos do grupo -OH das moléculas de água de hidratação. A banda observada em 3150 cm^{-1} foi relacionada ao estiramento vibracional N-H do anel imidazólico. Posteriormente, foram observadas diversas bandas referentes aos estiramentos C-H, de CH, CH₂ e CH₃ alifáticos, e C-H aromáticos, na região de $3145\text{--}2897\text{ cm}^{-1}$. Os compostos estudados exibiram uma banda de intensidade média em torno de 1592 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação C=N, característica de formação da base de Schiff, acompanhada de bandas relativas aos estiramentos aromáticos C-C e C-N em 1632 cm^{-1} e na região entre 1494 e 1441 cm^{-1} . Os complexos **8** e **9** mostraram bandas adicionais em 1084 e 624 cm^{-1} , característica do ânion perclorato não-coordenado.¹¹² Estes resultados são bastante consistentes com a estrutura determinada para o composto **8** por cristalografia de raios-X.

Figura 46– Espectros comparativos na região do infravermelho. (A) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** e (B) $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9**.

4.1.3.3. Espectroscopia eletrônica

No estado sólido, através de medidas de reflectância difusa, observou-se somente uma banda larga em 652 nm para ambos os compostos. Verificou-se um pequeno deslocamento quando os compostos foram solubilizados em DMF ou MeOH, caracterizando uma distorção na geometria do íon de cobre devido à quebra das pontes cloreto. Para o composto **8**, uma banda larga em 277 nm ($\epsilon = 16 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) foi observada em solução de DMF. Já para o complexo **9** em solução metanólica, verificaram-se duas transições contendo os máximos em 203 ($\epsilon = 16 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e 299 nm ($\epsilon = 8 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), todas atribuídas às transições intraligantes.

4.1.3.4. Espectroscopia EPR e estudos de equilíbrios em solução

Os espectros de EPR dos compostos **8** e **9** em solução MeOH / H₂O (4:1, v/v) à temperatura de 77 K estão ilustrados nas Figuras 47 e 48. Semelhante aos compostos dinucleares derivados do ligante 2-(benzimidazol)metileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyambi*), contendo diferentes contra-íons, estes novos complexos dinucleares também mostraram um equilíbrio em solução dependendo do tipo de solvente utilizado, monitorado pela intensidade do sinal na região de ~1500 G e pequenos desdobramentos hiperfinos na região de alto campo (Esquema 7 e Figura 49).

Esquema 7- Representação dos equilíbrios em solução.

Figura 47– (A) Espectro de EPR dos compostos (A) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8**, $\text{ganho} = 2,83 \times 10^3$, e (B) $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9**, $\text{ganho} = 1,78 \times 10^3$, em solução $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, v/v) (3,0 mM), $T = 77\text{K}$, $\text{ganho} = 2,83 \times 10^3$. (B) Espectro de EPR do composto **8** em solução metanólica, indicando o equilíbrio entre o complexo mononuclear $[\text{Cu}(\text{apyhist})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, e a correspondente espécie dinuclear $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$. Análise comparativa dos espectros simulados utilizando os valores de g experimentais, $D_{\text{calc}} = 0,02 \text{ cm}^{-1}$ e largura de linha = 50 G.

Figura 48– Espectro EPR do composto $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9** em solução de $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, v/v) (3 mM), $T = 77 \text{ K}$.

Figura 49– Espectro de EPR do composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** utilizando diferentes solventes ou mistura de solventes MeOH/H₂O (4:1, v/v) (3,0 mM), indicando equilíbrio mono-/dinuclear.

No caso do complexo **8**, verificou-se um desdobramento das hiperfinas em solução metanólica na região de $g = 2$ (~3100 G), provavelmente devido à substituição dos íons cloreto por moléculas de água presentes na solução e à conseqüente formação da espécie mononuclear $[\text{Cu}(\text{apyhist})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ **10**, promovendo então uma mistura de compostos. Em solução MeOH / H₂O (4:1, v/v) somente a espécie mononuclear **10** é favorecida, enquanto que em DMF a espécie dinuclear **8** aparenta ser um pouco mais estável, monitorada através da existência de desdobramento hiperfino na região de ~1500 G ($g \sim 4$, $\Delta M_S = \pm 2$).^{107b} Os sinais $\Delta M_S = \pm 2$ são de baixa probabilidade sendo atribuídos a transições proibidas por spin, conforme descrito no Apêndice 1. Nestes sistemas eram esperadas 16 linhas $[(2l_1 + 1)(2l_2 + 1)]$, onde $l_1 = l_2 = 3/2$ para os núcleos de cobre. Entretanto, essas interações hiperfinas podem ser usualmente simplificadas para 7 linhas $[2(l_1 + l_2) + 1]$, com intensidades relativas na razão 1:2:3:4:3:2:1.^{107b,133} Particularmente, as transições $\Delta M_S = \pm 2$ estão mais resolvidas para o complexo dinuclear **9** com surgimento de aproximadamente 7 linhas e desdobramento hiperfino da ordem de 75 G, mesmo em solução MeOH / H₂O (4:1, v/v), conforme mostrado na Figura 48, indicando possivelmente uma menor

¹³³ (a) H.-L. Zhu, L.-M. Zheng, D.-G. Fu, P. Huang, W.-M. Bu, W.-X. Tang, *Inorg. Chim. Acta* 287 (1999) 52; (b) C. Béguin, P. Chautemps, J.-L. Pierre, E. Saint-Aman, G. Serratrice, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 134 (1997) 635; (c) M.G.B. Drew, S.M. Nelson, J. Reedijk, *Inorg. Chim. Acta* 64 (1982) 189; (d) M.S. Haddad, D.N. Hendrickson, *Inorg. Chem.* 17 (1978) 2622; (e) C.-L. O'Young, J.C. Dewan, H.R. Lilienthal, S.J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 7291.

labilidade dos íons cloretos $\mu\text{-Cl}^-$ em solução aquosa. Provavelmente, devido a distorções geométricas ao redor do íon de cobre(II) a energia de estabilização do campo ligante é aumentada neste caso.

De uma maneira resumida, as diferenças espectrais entre os complexos metálicos estão relacionados com a anisotropia do sistema, uma vez que as posições e os desdobramentos das linhas (especificados pelos valores de g , constantes hiperfinas A e desdobramentos no campo zero D e E) dependem da direção do campo magnético com relação aos eixos moleculares, isto é, da simetria molecular. A forma geral do Hamiltoniano de spin pode ser representada pela seguinte expressão:

$$H = \beta.S.g.H_o + \sum S.A_n.I_n - 2\sum J_{ij}.S_i.S_j + D(S_z^2 - S(S+1)/3) + E/2(S_+^2 - S_-^2)$$

onde: o primeiro termo representa o efeito Zeeman que descreve a interação entre o campo magnético e o momento magnético de spin, o segundo termo é chamado de componente hiperfina que aparece quando o elétron desemparelhado interage com o spin nuclear, o terceiro termo é relativo à interação magnética isotrópica e os últimos dois termos são conhecidos como desdobramentos no campo zero ou acoplamento dipolar spin-spin ou acoplamento anisotrópico (“*anisotropic exchange*”), sendo que E não é zero somente para sistemas assimétricos.¹³⁴ Maiores detalhes do cálculo das energias e funções de ondas de spin *vide* o Apêndice 1 e 2. A Figura a seguir ilustra algumas componentes do Hamiltoniano para um sistema dinuclear de cobre(II) num estado triplete:

Figura 50– Representação esquemática dos níveis de energia de um complexo dinuclear de cobre(II).

¹³⁴ T.E. Machonkin, P. Mukherjee, M.J. Henson, T.D.P. Stack, E.I. Solomon, Inorg. Chim. Acta 341 (2002) 39; (b) C. More, V. Belle, M. Asso, A. Fournel, G. Roger, B. Guigliarelli, P. Bertrand, Biospectroscopy 5 (1999) 3; (c) A.I. Shames, M.I. Belinsky, Phys. Stat. Sol. 235 (1997) 235.

Verifica-se na Figura 50 a influência da interação $2J$ e o efeito do desdobramento no campo zero nos níveis de energia de um complexo dinuclear de cobre(II). Porém, para os compostos **8** e **9** somente um pequeno desdobramento hiperfino foi observado no estado sólido, à temperatura ambiente e a 77 K (Figura 51), indicando um valor desprezível para o parâmetro D ($0,02\text{ cm}^{-1}$). Os espectros de EPR destes compostos no estado sólido são característicos de uma simetria axial ($E = 0$).

Figura 51– Espectro de EPR das espécies dinucleares no estado sólido à temperatura ambiente, ganho = $3,56 \times 10^3$. (A) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** e (B) $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9**.

Além disso, os compostos **8** e **9** em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) e DMF mostraram estruturas super-hiperfinas, provenientes da ligação de átomos ^{14}N ao íon de Cu^{2+} ($A_{\text{N.L}} = 14,08\text{ G}$), na região de $g = 2$.^{105,122} Neste caso foram observadas 7 linhas, correspondentes à coordenação de pelo menos 3N ao centro metálico (Figura 52).

Figura 52– Espectro EPR do composto **9** em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) (3 mM), T = 77 K, ganho $3,99 \times 10^3$.

Os respectivos parâmetros de EPR dos compostos **8-10** estão correlacionados na Tabela 12. No caso do composto **8** os parâmetros foram determinados pela comparação com a respectiva espécie mononuclear [Cu(apyhist)(H₂O)₂]²⁺ **10** e através da análise comparativa dos espectros para uma espécie mono- e outra dimérica (Figura 47B).

Tabela 12– Parâmetros de EPR para os complexos de cobre(II) estudados.

Compostos		Parâmetros de EPR			
		$g_{\perp}$	$g_{\parallel}$	$A_{\parallel}, 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$	$g_{\parallel}/A_{\parallel}, \text{ cm}$
[Cu ₂ (apyhist) ₂ Cl ₂](ClO ₄) ₂	8^a	2,063	2,320	176	131
[Cu ₂ (2-pyhist) ₂ Cl ₂](ClO ₄) ₂	9^b	2,063	2,272	175	130
[Cu(apyhist)(H ₂ O) ₂](ClO ₄) ₂	10^b	2,070	2,270	180	126

^a Espectros em N,N-dimetilformamida; ^b Espectros em metanol/água (4:1, v/v).

Todos os compostos estudados apresentam $g_{\parallel} > g_{\perp}$, o que é sugestivo de uma simetria axial, típica de uma configuração d⁹ no estado fundamental, na qual o elétron desemparelhado ocupa um orbital $d_{x^2-y^2}$.^{105,106} Sugere-se ainda que os ligantes nitrogenados estejam ligados ao plano equatorial dos compostos.^{122,135} Comparando-se os parâmetros espectroscópicos para as espécies

¹³⁵ Y. Nishida and K. Takahashi, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1988) 691.

[Cu₂(apyhist)₂Cl₂](ClO₄)₂ **8** e [Cu(apyhist)(H₂O)₂](ClO₄)₂ **10**, verifica-se uma distorção na simetria ao redor do íon de cobre(II) devido à substituição dos íons cloretos, como átomos coordenantes, por oxigênio, indicado por menores valores de $g_{\parallel}$ e maiores valores de $A_{\parallel}$ (Tabela 12). Resultados semelhantes envolvendo substituição de ligantes ao redor dos íons de cobre(II) têm sido descritos na literatura.^{122,136} Estas distorções na geometria foram também observadas para os compostos mono-/dinucleares derivados do ligante 2-(benzimidazolil)metileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyambi*), discutidos anteriormente.

4.1.3.5. Propriedades magnéticas

Medidas de propriedades magnéticas para os compostos [Cu₂(apyhist)₂Cl₂](ClO₄)₂ **8** e [Cu₂(2-pyhist)₂Cl₂](ClO₄)₂ **9** foram também realizadas. Neste caso, as curvas dos dados experimentais, $\chi_M \times T$, não foram ajustadas pela equação Bleaney-Bowers (eq. 1), devido à existência de interações significativas entre as espécies diméricas (acoplamentos intermoleculares, J'), que devem ser também consideradas.^{119b,137} O desenvolvimento desta nova equação contendo interação *exchange* molecular será detalhado a seguir, através de resultados experimentais obtidos para o composto dinuclear **8**.

Inicialmente, no modelo dimérico “isolado”, utilizado para cálculo da propriedade magnética, foi adicionado um termo Zeeman ao Hamiltoniano de Heisenberg, tornando-se igual a:

$$H = -2JS_L S_2 + g \mu_B S' \cdot H \quad (\text{eq. 3})$$

onde: S' é o operador de spin total ($S_1 - S_2$) e H é o campo magnético aplicado. M é a magnetização de um mol de espécies diméricas isoladas. A susceptibilidade por mol é definida então como:

$$\chi_o = M/H = 2N\beta^2 g^2 / kT [3 + \exp(-2J/kT)]^{-1} \quad (\text{eq. 4})$$

Usualmente uma contribuição paramagnética independente da temperatura (TIP) é também observada na medida de susceptibilidade magnética destes compostos, incluindo o paramagnetismo de Van Vleck e a contribuição diamagnética dos ligantes e contra íons. Sendo assim, uma solução

¹³⁶ E.-Q. Gao, W.-M. Bu, G.-M. Yang, D.-Z. Liao, Z.-H. Jiang, S.-P. Yan, G.-L. Wang, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (2000) 1431.

¹³⁷ (a) S. Laborda, R. Clérac, C.E. Anson, A.K. Powell, Inorg. Chem. 43 (2004) 5931; (b) C. Desplanches, E. Ruiz, A. Rodriguez-Forteza, S. Alvarez, J. Am. Chem. Soc. 124 (2002) 5197.

parcial para o comportamento magnético é contornada pela introdução do termo $N\alpha$ na equação anterior. Uma pequena contribuição paramagnética dependente da temperatura relacionada às espécies monoméricas livres (com concentração $p \ll 1$), que podem estar presentes na amostra, foi também considerada na equação 4, tornando-se igual a:

$$\chi = \chi_o(1-p) + [N\beta^2 g^2 / 2kT]p + N\alpha \quad (\text{eq. 1})$$

A equação 1 já tinha sido introduzida na seção 4.1.2.6., denominada equação de Bleaney-Bowers. Ela pode ser utilizada numa primeira tentativa de aproximação aos resultados experimentais de susceptibilidade e estimativa dos valores de J/k envolvendo sistemas diméricos.

A Figura 53 mostra a variação da susceptibilidade magnética em função da temperatura para o composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8**. Observa-se um máximo em 2,4 K, indicando uma interação magnética intramolecular, com $J/k \approx -1,32 \text{ cm}^{-1}$. Entretanto, a susceptibilidade não pode ser satisfatoriamente ajustada pela equação 1. Próximo ao máximo da curva, verifica-se que o ajuste não correlaciona muito bem com os dados experimentais. Interações intermoleculares envolvendo espécies diméricas podem também ocorrer, influenciando a susceptibilidade próxima ao $T_{\text{máx.}}$. A existência destas interações não pode ser excluída, pois são fundamentais para o melhor entendimento das propriedades físicas dos materiais no estado sólido.

Figura 53- Curva de $\chi_M \times T$ para o composto **8**.

As medidas de magnetização em alto campo magnético e baixas temperaturas foram decisivas para inferir a existência de uma outra interação magnética no sistema.

A magnetização prevista em função do campo aplicado de uma espécie dimérica de Cu(II) “isolada”, com acoplamento do tipo Heisenberg antiferromagnético, tem a seguinte forma:

$$M = 2Ng \mu_B \{ \exp(2J/kT) \sinh(g \mu_B H/kT) \} / \{ 1 + \exp(2J/kT) * [1 + 2 \cosh(g \mu_B H/kT)] \} \quad (\text{eq. 5})$$

Esta expressão possui um único comportamento e também único pico na derivada da magnetização com respeito ao campo aplicado, dM/dH . A curva teórica $M \times H$ para um modelo dimérico isolado pode mostrar dois tipos de comportamentos, conforme mostrado na Figura 54. No primeiro caso, observou-se uma dependência do campo magnético aplicado em relação à magnetização até um campo crítico $H_1 \sim 24$ kOe. Acima deste campo verifica-se também uma dependência linear, porém mais acentuada. Neste último caso, pequenas variações no campo provocam grandes variações na magnetização do sistema até atingir uma saturação acima de campo $H_2 \sim 46$ kOe. Adicionalmente, verifica-se nesta mesma figura que a curva experimental obtida para o composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** não coincide com a curva esperada para uma espécie dimérica “isolada”, ou seja, compostos que não apresentam interações inter-dímeros.

Figura 54- Curva de $M \times H$ para o composto **8**.

Os resultados experimentais de $M \times H$ a baixa temperatura indicam claramente a necessidade de um modelo mais elaborado, que descreva com maior precisão a interação magnética do sistema. Portanto, uma nova componente chamada de MFA (*mean field approximation*) foi introduzida no

modelo, correspondendo à interação *exchange* molecular γM . Neste caso o campo efetivo na amostra é $H_{\text{eff}} = H + \gamma M$, onde: H é o campo magnético externo aplicado, $\gamma = 2J'z/Ng^2\mu_B^2$ e z é o número de espécies diméricas que estão interagindo entre si, através de uma constante de acoplamento J' . A susceptibilidade corrigida será então:

$$\chi' = M/H_{\text{eff}} = M/(H + \gamma M), \text{ ou } \chi' = \chi/(1 - \gamma \chi) \quad (\text{eq. 6})$$

Como $\chi = M/H$ é dada na equação 4, substituindo eq. 4 em eq. 6 temos:

$$\chi' = 2Ng^2\mu_B^2/\{3kT[1+0,333\exp(-2J/kT)] - 2J'z\} \quad (\text{eq. 7})$$

Adicionando-se os parâmetros $N\alpha$ e p , descritos na equação 1, obtemos:

$$\chi' = 2Ng^2\mu_B^2(1-p)/\{3kT[1+0,333\exp(-2J/kT)] - 2J'z\} + [N\beta^2g^2/2kT]p + N\alpha \quad (\text{eq. 8})$$

A equação 8 descreve muito bem os dados experimentais de $\chi_M \times T$ para o composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8**, com valores de $J/k = -(1,38 \pm 0,03) \text{ cm}^{-1}$, $J'z = -(0,9 \pm 0,1) \text{ cm}^{-1}$, $N\alpha = 0,00$ e $p = 0,02$.

De maneira análoga, pode-se melhorar a equação 5, que relaciona a magnetização em função do campo para uma espécie dimérica “isolada”, através da adição do termo MFA. Sendo a $M = f(H_{\text{eff}}, T)$ e $H_{\text{eff}} = (H + \gamma M)$, temos uma equação de magnetização onde o processo iterativo é necessário para a obtenção de uma curva $M \times H$. Partindo-se da equação 5, depois de sucessivas interações, considerando o termo $J'z$ incorporado nesta expressão por meio do campo efetivo que contém γ , obtém-se uma curva que melhor representa os dados experimentais de magnetização (Figura 54). Os parâmetros obtidos pelo processo iterativo a $T = 0,8 \text{ K}$ são: $J/k = -(1,32 \pm 0,10)$ e $J'z = -(0,8 \pm 0,2) \text{ cm}^{-1}$. Estes resultados estão de acordo com os dados de medidas magnéticas realizadas na região de 1,8-290 K, num campo magnético de 0,5 kOe.

Empregando a mesma metodologia descrita anteriormente, utilizou-se a equação 8 para descrever a curva experimental obtida, $\chi_M \times T$, para o composto $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9**, conforme mostrado na Figura 55. Observa-se novamente um comportamento antiferromagnético ($J/k < 0$), contendo um máximo em torno de 4 K.

Figura 55- Curva de $\chi_M \times T$ para o composto $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9**.

Os parâmetros obtidos a partir da equação 8 estão representados na Tabela 13, para os dois compostos dinucleares de cobre(II) estudados.

Tabela 13- Dados magnéticos para os complexos dinucleares do tipo $\text{Cu}(\mu\text{-Cl})_2\text{Cu}$.

Compostos	$2J/k$, cm^{-1}	$J'z$, cm^{-1}	g	p	$N\alpha$
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ 8	-2,76	-0,9	2,1	0,02	0,00
$[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ 9	-6,10	-2,6	2,1	0,06	0,00

Valores negativos de $J'z$ para os compostos **8** e **9** indicam também uma interação antiferromagnética entre as espécies dinucleares. Observa-se que o composto dinuclear $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9** possui maior acoplamento antiferromagnético, intra- e intermolecular, quando comparado ao composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8**. Provavelmente, devido à maior distorção na geometria espacial do cobre, aumentando a interação dos orbitais $d_{x^2-y^2}$ com os orbitais p do cloro, favorecendo o *superexchange* entre os centros metálicos. De fato, verifica-se uma relação de $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ um pouco maior para o complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ (131 cm) em relação ao $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ (130 cm) numa solução MeOH / H₂O (4:1, v/v), que poderia explicar este comportamento. Além disso, o complexo $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9** é menos

impedido estericamente, devido à ausência do grupamento $R = -CH_3$, aumentando a interação intermolecular (J_z) entre as espécies diméricas.

Utilizou-se dados de cristalografia de raios-X do composto $[Cu_2(apyhist)_2Cl_2](ClO_4)_2$ **8** na tentativa de correlacionar estrutura com propriedade magnética. Particularmente, estudos envolvendo interação magnética entre os íons metálicos e características estruturais têm sido propostos para uma série de complexos dinucleares de cobre(II) do tipo bis(μ -cloro).^{118-120,138,139} Neste caso, três tipos de geometria são esperadas, *vide* Figura 56.

Figura 56– Classificação das estruturas geométricas, para compostos do tipo $Cu(\mu-Cl)_2Cu$.

Todas estas três classificações são utilizadas para compostos diméricos de cobre do tipo pirâmide tetragonal, porém cada uma delas apresenta algumas características peculiares. Nos dois primeiros casos, TIPO 1 e 2, as distâncias Cu-Cl não são iguais e um dos Cl está localizado na posição axial. Porém, no TIPO 3 os dois íons cloretos estão localizados no plano equatorial e possuem as mesmas distâncias.

Uma correlação bastante utilizada envolvendo sistemas do TIPO 1 e 2 foram desenvolvidas por Hatfield e Hodgson.^{118,119} Neste caso, a constante de acoplamento $2J/k$ de diferentes compostos de mesma geometria, incluindo os resultados obtidos para o composto **8**, estão relacionados com θ/R ; onde: θ é o ângulo entre Cu-Cl-Cu* e R é a maior distância de ligação Cu-Cl' (posição axial), *vide* Tabela 14 e Figura 57.

¹³⁸ (a) W.E. Marsh, W.E. Hatfield, D.J. Hodgson, *Inorg. Chem.* 21 (1982) 2679; (b) P.J. Hay, J.C. Thibeault, R. Hoffmann, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 4884.

¹³⁹ (a) E. Kavlakoglu, A. Elmali, Y. Elerman, I. Svoboda, *Polyhedron* 21 (2002) 1539; (b) C.J. Calzado, J. Cabrero, J.P. Malrieu, R. Caballol, *J. Chem. Phys.* 116 (2002) 3985. (c) Y.-H. Chung, H.-H. Wei, Y.-H. Liu, G.-H. Lee, Y. Wang, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1997) 2825.

Tabela 14– Relação entre estrutura e propriedade magnética envolvendo compostos dinucleares do tipo $\text{Cu}(\mu\text{-Cl})_2\text{Cu}^{\text{a}}$.

<i>Compostos</i>	$\text{Cu-Cu}'$, Å	$\text{Cu-Cl}'$ (R, Å)	$\text{Cu-Cl-Cu}'$ (θ , graus)	θ/R , (graus/ Å)	$2J/k$, cm^{-1}	geom.
$[\text{Cu}(\text{dmgH})\text{Cl}_2]_2$	3,445	2,698	88,0	32,62	+6,3	TP
$[\text{Cu}(\text{dmen})\text{Cl}_2]_2$	3,458 (3)	2,734 (3)	86,13 (8)	31,50	-2,1	TP
$[\text{Cu}(\text{GuaH})\text{Cl}_3]_2$	3,575	2,447 (1)	97,9	40,01	-82,6	TBP
$[\text{Cu}(\text{Et}_3\text{en})\text{Cl}_2]_2$	3,703 (1)	2,728 (1)	94,84 (4)	34,75	+0,1	TBP
$[\text{Cu}(4\text{-Metz})(\text{DMF})\text{Cl}_2]_2$	3,721	2,724	95,3	34,99	-3,6	TBP
$[\text{Co}(\text{en})_3]_2[\text{Cu}_2\text{Cl}_8]\text{Cl}_2$	3,722 (5)	2,703 (5)	95,2 (1)	35,22	-14,6	TBP
$[\text{Cu}(\text{TMSO})\text{Cl}_2]_2$	3,737 (2)	3,020 (2)	88,5 (1)	29,30	-17,0	TP
$[\text{Cu}(\text{tmen})\text{Cl}_2]_2$	4,089 (4)	3,147 (4)	96,8 (1)	30,76	-5,6	TP
$[\text{Cu}(2\text{-pic})_2\text{Cl}_2]_2$	4,404 (1)	3,364 (1)	100,63 (3)	29,91	-7,4	TP
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$	3,478	2,737	87,46	31,95	-2,76	TP

^aAbreviaturas: dmgH = dimetilglioxima; dmen = *N,N*-dimetilenodiamina; GuaH = íon guanínio; Et₃en = *N,N,N'*-tri-etilenodiamina; 4-Metz = 4-metiltiazol; DMF = *N,N*-dimetilformamida; TMSO = tetrametileno sulfóxido; tmen = *N,N,N',N'*-tetrametilenodiamina; 2-pic = 2-metilpiridina; TP = pirâmide tetragonal, TBP = bipirâmide trigonal.

Figura 57– Relação entre $2J/k$ e θ/R .

Observa-se uma dependência polinomial, ou seja, $2J/k$ aumenta à medida que θ/R aumenta até atingir um máximo, posteriormente ocorre uma diminuição no valor $2J/k$ em função do aumento θ/R . Para determinados valores de θ/R a componente antiferromagnética é compensada pela

componente ferromagnética, e a diferença de energia entre os estados singleto-triplete é zero, isto é:

$$2J/k \text{ (cm}^{-1}\text{)} = -1,59 (\theta/R)^2 + 104 (\theta/R) - 1700$$

Quando $2J/k = 0$, $\theta/R = 32,07$ e $33,33$ graus/Å. Ou seja, quando $32,07 \leq \theta/R \leq 33,33$ o estado fundamental é tripleto (ferromagnético) e para valores menores que $32,07$ ou maiores que $33,33$ graus/Å o estado fundamental é singleto (antiferromagnético).

Não foi possível realizar este mesmo estudo de correlação magneto-estrutural para os compostos $[\text{Cu}_2(\text{apyambi})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **5** e $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9**, devido às dificuldades encontradas de otimização de geometria utilizando o programa HyperChem. Neste caso, quando se otimizou a geometria do composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** através deste mesmo programa, verificou-se uma mesma distância entre Cu-Cl. Este resultado é incoerente com os dados de cristalografia de raios-X de compostos análogos.

Cálculos de energia entre os orbitais de fronteiras (HOMO e LUMO) foram realizados para o composto **8**, através do método Hückel estendido baseado nas coordenadas cristalográficas do composto, utilizando o programa HyperChem, na tentativa de correlacionar estrutura com propriedade magnética (Figura 58). A pequena diferença de energia observada entre os orbitais de fronteira, $\Delta E = 0,028$ eV, está de acordo com outros compostos dinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto do TIPO 2, descritos na literatura.^{119b,139,140} Nos sistemas diméricos com uma geometria do tipo pirâmide de base quadrada ideal, não existem orbitais do ligante-ponte de simetria apropriada para interagir com os orbitais $d_{x^2-y^2}$ do íon metálico e, portanto, com integral de *overlap* igual a zero, nenhum acoplamento magnético entre os íons metálicos é esperado.^{138b} No caso do complexo **8** um pequeno valor de J/k observado está relacionado ao pequeno desvio estrutural na geometria pirâmide de base quadrada, com fator $\sigma = 0,1$.

¹⁴⁰ M. Rodríguez, A. Llobet, M. Corbella, Polyhedron 19 (2000) 2483.

Figura 58– Cálculo das energias dos orbitais de fronteira para o composto 8.

4.1.4. Composto dinuclear de cobre(II) derivados do ligante (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyhist*) contendo pontes azida

Dando continuidade ao trabalho descrito anteriormente para o complexo dinuclear de cobre(II) com pontes cloreto derivado do ligante (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyhist*), uma nova espécie dinuclear foi obtida pela substituição do íons cloreto pela azida ou azoteto, N_3^- , conforme mostrado no esquema a seguir.

Esquema 8- Representação dos equilíbrios envolvidos no sistema em solução aquosa.

4.1.4.1. Espectroscopia Eletrônica

Os espectros eletrônicos na região do UV/Vis dos compostos $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ **8** e $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2]^{2+}$ **11**, foram registrados em solução aquosa. A Figura 59 mostra esses espectros na região entre 190–1000 nm e os parâmetros espectrais bem como as atribuições das bandas de absorção correspondentes encontram-se na Tabela 15.

Figura 59– Espectros eletrônicos dos compostos (—) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ **8** e (---) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2]^{2+}$ **11** em solução aquosa.

Tabela 15– Parâmetros espectrais na região do UV/Vis para os complexos de cobre(II) em solução aquosa.

Compostos	$\lambda_{\text{máx.}}(\text{nm}) (\epsilon, \text{mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{cm}^{-1})$		
	$n \rightarrow \pi$ e $\pi \rightarrow \pi^*$	$\pi \rightarrow d\pi$ (LMCT)	$d \rightarrow d$
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ 8	200 (58370), 285 (19767)	-----	641 (90)
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2]^{2+}$ 11	197 (69615), 285 (16141)	365 (1356)	618 (179)

Os espectros eletrônicos mostram bandas de absorção mais intensas, situadas na região do ultravioleta, relacionadas com as transições internas dos ligantes. Além disso, observa-se uma banda de transferência de carga do tipo LMCT para o complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2]^{2+}$ **11** em 365

nm, identificada como transição $N_3^- \rightarrow Cu$.¹⁴¹ No caso do composto **8**, observa-se um ombro nesta mesma região atribuída à transição $Cl \rightarrow Cu + N \rightarrow Cu$.^{51c,142}

Nestes complexos, a posição da banda d-d indica uma geometria do tipo pirâmide tetragonal com transições do tipo ${}^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$. O complexo **11** possui uma banda d-d deslocada para região de menor comprimento de onda, caracterizando uma distorção na geometria do íon de cobre devido à coordenação do íon azida.

4.1.4.2. Determinação das constantes de equilíbrio (Titulação com azida)

A adição de alíquotas de solução de NaN_3 a uma solução aquosa do complexo **8** levou à formação de um complexo bastante estável em solução, exibindo uma banda de absorção dependente da concentração do ligante na região próxima ao ultra-violeta (Figura 60). Os dados experimentais foram ajustados utilizando a equação 9,¹⁴³ considerando os seguintes equilíbrios em solução:

onde: $[M]_0 = [M] + [ML] + [ML_2]$

$[L]_0 = L + [ML] + 2[ML_2]$, para um tratamento mais completo e rigoroso.^{141a} Entretanto, nas condições experimentais usadas, isto é, com $[M]_0 \gg [L]_0$ a aproximação $[L]_0 = L$ foi utilizada. Estas condições são apropriadas para constantes de equilíbrio da ordem de grandeza obtida.^{141b,144}

$$[M]_0 = [M] + K_1 \cdot [M] \cdot [L] + K_1 \cdot K_2 \cdot [M] \cdot [L]^2$$

$$[M] = [M]_0 / (1 + K_1 \cdot [L] + K_1 \cdot K_2 \cdot [L]^2)$$

$$[ML] = K_1 \cdot [M]_0 \cdot [L] / (1 + K_1 \cdot [L] + K_1 \cdot K_2 \cdot [L]^2)$$

$$[ML_2] = K_1 \cdot K_2 \cdot [M]_0 \cdot [L]^2 / (1 + K_1 \cdot [L] + K_1 \cdot K_2 \cdot [L]^2)$$

$$Abs = \epsilon_M \cdot [M] + \epsilon_{ML} \cdot [ML] + \epsilon_{ML_2} \cdot [ML_2]$$

$$Abs = (\epsilon_M \cdot [M]_0 + \epsilon_{ML} \cdot [M]_0 \cdot K_1 \cdot [L] + \epsilon_{ML_2} \cdot [M]_0 \cdot K_1 \cdot K_2 \cdot [L]^2) / (1 + K_1 \cdot [L] + K_1 \cdot K_2 \cdot [L]^2)$$

$$\Delta Abs = (\Delta A_{\infty}' \cdot K_1 \cdot [L] + \Delta A_{\infty}'' \cdot K_1 \cdot K_2 \cdot [L]^2) / (1 + K_1 \cdot [L] + K_1 \cdot K_2 \cdot [L]^2) \quad (\text{eq. 9})$$

$$\text{onde: } \Delta A_{\infty}' = [M]_0 \cdot (\epsilon_{ML} - \epsilon_M) \text{ e } \Delta A_{\infty}'' = [M]_0 \cdot (\epsilon_{ML_2} - \epsilon_M)$$

¹⁴¹ (a) L.A. Morino, H.E. Toma, *Talanta* 31 (1984) 224; (b) L. Casella, O. Carugo, M. Gullotti, S. Doldi, M. Frassoni, *Inorg. Chem.* 35 (1996) 1101.

¹⁴² S.C. Chan, L.L. Koh, P.-H. Leung, J.D. Ranford, K.Y. Sim, *Inorg. Chim. Acta* 236 (1995) 1001.

¹⁴³ K.A. Connor, *Binding Constants, The Measurement of Molecular Complex Stability*, Wiley-Interscience: New York, 1987.

Figura 60– (A) Acompanhamento espectrofotométrico da titulação do complexo **8** (2 mM) com alíquotas de solução NaN_3 em solução aquosa; (B) Determinação das constantes K_1 e K_2 através da equação 9.

As constantes de equilíbrios determinadas $K_1 = 3,0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ e $K_2 = 325 \text{ M}^{-1}$ para o complexo **8** na presença de NaN_3 estão na mesma ordem de grandeza em relação aos demais compostos dinucleares de cobre(II) descritos na literatura, contendo a mesma geometria.^{115,132,144} O maior valor de K_1 indica primeiramente uma rápida coordenação da azida como ligante-ponte entre duas espécies monoméricas, a qual seria favorecida pela diminuição da entropia do sistema, seguida da adição da segunda azida numa etapa mais lenta, ocasionada por um maior impedimento histérico entre as espécies monoméricas (Esquema 9).

Esquema 9– Representação dos equilíbrios envolvidos durante adição de NaN_3 .

¹⁴⁴ E. Monzani, G. Battaini, A. Perotti, L. Casella, M. Gullotti, L. Santagostini, G. Nardin, L. Randaccio, S. Geremia, P. Zanello, G. Oromolla, *Inorg. Chem.* 38 (1999) 5359.

4.1.4.3. Espectroscopia vibracional

O complexo dinuclear **11**, após ser isolado no estado sólido como sal perclorato, foi estudado por espectroscopia Infravermelho e Raman, e comparado com a respectiva espécie **8**. O espectro de Infravermelho, mostrado na Figura 61, foi obtido através da utilização do acessório de reflectância atenuada (ATR), que dispensa a utilização de pastilhas de KBr. Os espectros Raman foram realizados com diferentes fontes de excitação: 457, 488, 1064 nm e podem ser vistos na Figuras 62 e 63. As principais bandas e suas respectivas atribuições serão discutidas a seguir.

Figura 61– Espectros comparativos FTIR-ATR dos complexos (A) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** e (B) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2](\text{ClO}_4)_2$ **11**.

Verificou-se na Figura 61 que os complexos dinucleares apresentam bandas em torno de 1090 e 630 cm^{-1} atribuídas ao ânion perclorato, revelando que este não está coordenado ao íon metálico.¹¹² Além disso, observa-se que a principal diferença entre os compostos é um forte estiramento vibracional assimétrico do ligante azida $\nu_{\text{as}}\text{N}_3^-$ em 2050 cm^{-1} , indicando uma possível coordenação na forma $\mu_{1,1}$ (Esquema 8).¹⁴⁵ O estiramento vibracional simétrico surge em 1343 cm^{-1} com uma intensidade média.^{145c}

¹⁴⁵ (a) S. Koner, S. Saha, T. Mallah, K.-I. Okamoto, *Inorg. Chem.* 43 (2004) 840; (b) S. Koner, S. Saha, K.-I. Okamoto, J.-P. Tuchagues, *Inorg. Chem.* 43 (2004) 840; (c) D. Ghoshal, T.K. Maji, E. Zangrando, T. Mallah, E. Rivière, N.R. Chaudhuri, *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 1031.

Figura 62– Espectros comparativos FTRaman ($\lambda = 1064$ nm) do complexo **11** no estado sólido e solução, assim como os ligantes separados: histamina (hist), 2-acetilpiridina (apy) e NaN_3 .

Os espectros de FTRaman para o composto **11** no estado sólido mostrou as mesmas frequências vibracionais para os ligantes azidas coordenados, descritos anteriormente para o FTIR-ATR. Porém em solução aquosa observou-se uma diminuição das intensidades relativas dos $\nu_{\text{as}}\text{N}_3^-$ e $\nu_{\text{s}}\text{N}_3^-$ em 2050 e 1343 cm^{-1} , respectivamente, uma vez que o padrão interno utilizado foi o estiramento simétrico do íon perclorato $\nu_{\text{s}}(\text{ClO}_4^-)$, em 932 cm^{-1} .¹¹² Além disso, observou-se um desdobramento dos estiramentos assimétricos em 2060 e 2075 cm^{-1} , quando o material foi solubilizado em água (Figura 62B), provavelmente devido à presença de dois diferentes modos de coordenações do ligante azida entre os íons metálicos $\mu_{1,1}$ e $\mu_{1,3}$, no mesmo complexo.^{145c}

Análise comparativa das bandas com os ligantes livres (L-histamina, 2-acetilpiridina e azida de sódio) e estudos dos espectros Raman utilizando outras radiações excitantes, 457 e 488 nm, foram importantes na tentativa de atribuições das frequências para os demais ligantes na região entre 900 e 1700 cm^{-1} e podem ser vistos nas Figuras 62 e 63. Particularmente, verifica-se nesta última figura uma situação de pré-ressonância devido ao aumento das intensidades relativas de algumas bandas Raman na medida que se aproxima de uma transição intraligante da histamina, em 285 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$, $\epsilon = 16141 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{cm}^{-1}$).

Figura 63– (A) Espectros comparativos Raman na situação de pré-Ressonância do complexo **11** em solução aquosa; (B) Espectro eletrônico na região do ultravioleta.

As bandas intensificadas em 1643, 1325 e 1270 cm^{-1} são atribuídas à respiração do anel aromático da histidina ($\nu\text{C-C}$, C-N), vide Figura 63A. Além disso, observou-se no espectro eletrônico um desdobramento da transição eletrônica na região próxima ao ultra-violeta, devido ao acoplamento eletrônico-vibracional desse ligante, cujas distâncias estão na ordem de 1180 cm^{-1} (Figura 63B). Estas transições por sua vez estão correlacionadas com as frequências vibracionais ressonantes que estão próximas desta região, de acordo com as projeções de Franck-Condon, neste caso os picos em 1270 e 1325 cm^{-1} . De fato, Takeuchi e colaboradores¹⁴⁶ realizaram estudos de espectros Raman sobre sítios de coordenação de íons metálicos aos resíduos histidina de peptídeos e proteínas, e neste caso os resultados obtidos mostraram que as bandas a 1260 e 1385 cm^{-1} podem ser utilizadas como marcadores da coordenação do íon metálico ao N_π da histidina.

O valor da frequência correspondente à respiração do anel piridínico ($\nu\text{C-C}$, C-N), observada para o complexo dinuclear **11** em 1026 cm^{-1} , está acima do observado em relação ao ligante piridínico livre, em 991 cm^{-1} (Figura 63A), indicando uma possível interação com o íon de cobre(II). Além disso, observa-se uma diminuição na intensidade relativa e um pequeno deslocamento de aproximadamente 10 cm^{-1} do estiramento vibracional ($\nu\text{C-C}$) do anel piridínico para região de menor frequência, tipicamente observado em 1574 e 1581 cm^{-1} no ligante livre.¹¹² No complexo observa-se somente um único pico em 1572 cm^{-1} , provavelmente devido ao fato do nitrogênio do anel ser um dos pontos coordenantes.

¹⁴⁶ T. Miura, T. Satoh, A. Hori-i, H. Takeuchi, J. Raman Spectroscopy 29 (1998) 41.

Observou-se o surgimento de uma nova banda em 1594 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação C=N, indicando a formação da base de Schiff.

4.1.4.4. Espectroscopia EPR

Os espectros de EPR das duas espécies dinucleares em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) estão representados na Figura 64. Observou-se um aumento nas distâncias hiperfinas do íon de cobre(II) para o complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3)_2]^{2+}$ **11**, quando comparado com a respectiva espécie contendo íons cloretos em ponte, uma vez que a variação nos valores de $g_{\parallel}$ e $A_{\parallel}$ depende da simetria do sítio de coordenação e dos átomos coordenados. Além disso, foi observado um aumento na resolução das estruturas super-hiperfinas, proveniente da ligação de mais átomos ^{14}N ao íon Cu(II) na região de $g = 2$.

Figura 64– (A) Espectro EPR dos compostos $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ **8** e $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3)_2]^{2+}$ **11** em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) ($\sim 3\text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$), $T = 77\text{ K}$. (B) Correlação entre o espectro de EPR experimental e calculado para o composto **11** utilizando os valores de g experimentais, $D_{\text{calc}} = 0,02\text{ cm}^{-1}$ e largura de linha = 50 G .

Tabela 16– Parâmetros de EPR dos complexos dinucleares em solução MeOH/H₂O (4:1, v/v), $T = 77\text{ K}$.

Compostos	$g_{\parallel}$	$g_{\perp}$	$A_{\parallel}$	$A_{\parallel} (10^{-4}\text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel}/A_{\parallel} (\text{cm})$
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ 8	2,320	2,063	162	176	131
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3)_2]^{2+}$ 11	2,300	2,050	167	179	128

$$A_{\parallel} (\text{cm}^{-1}) = A_{\parallel}(\text{G}) \cdot g_{\parallel} \cdot 0,46686 \times 10^{-4}$$

Em ambos os casos $g_{\parallel} > g_{\perp}$ o que sugere uma geometria tetragonal distorcida e a localização do elétron desemparelhado, típico de uma configuração d^9 no estado fundamental, no orbital $d_{x^2-y^2}$.

Adicionalmente, na região de $g \sim 4$, atribuída às transições $\Delta M_S = \pm 2$, observa-se nitidamente o aparecimento de aproximadamente 7 linhas referentes à interação magnética entre os íons $\text{Cu}^{\text{II}} \dots \text{Cu}^{\text{II}}$, conforme representado na Figura 65.

Figura 65– Espectro EPR dos compostos (A) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ **8** (ganho $4,48 \times 10^5$) e (B) $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2]^{2+}$ **11** (ganho $6,32 \times 10^5$) em solução de $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, v/v) (~ 3 mM), $T = 77$ K.

Como podemos observar através dos espectros de EPR e do diagrama de energia (Figura 50), a intensidade das transições eletrônicas está diretamente relacionada ao tipo de ligante-ponte, capaz de promover o fenômeno da interação magnética entre os íons metálicos. No caso dos compostos dinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto, $\text{Cu}(\mu\text{-Cl})_2\text{Cu}$, diferentes comportamentos magnéticos são esperados, dependendo do ângulo (Cu-Cl-Cu) e da distância de ligação (Cu-Cl), conforme discutido na seção anterior. O mesmo raciocínio pode ser aplicado aos sistemas dinucleares de cobre(II) contendo pontes azida do tipo $\mu_{1,1}\text{-N}_3^-$, na tentativa de correlacionar estrutura com propriedade magnética.^{147c} Geralmente, este modo de coordenação é responsável pelo acoplamento ferromagnético entre os íons metálicos.¹⁴⁷ Por outro lado, compostos dinucleares do tipo $\mu_{1,3}\text{-N}_3^-$ apresentam forte acoplamento antiferromagnético, desde que os orbitais envolvidos tenham simetrias apropriadas, caso contrário um comportamento ferromagnético será observado.^{147b} Medidas de susceptibilidade magnética em função da temperatura no estado sólido

¹⁴⁷ (a) J.D. Woodward, R.V. Backov, K.A. Abboud, D. Dai, H.-J. Koo, M.-H. Whangbo, M.W. Meisel, D.R. Talham, *Inorg. Chem.* (2005) *in press*; (b) F.F. de Biani, E. Ruiz, J. Cano, J.J. Novoa, S. Alvarez, *Inorg. Chem.* 39 (2000) 3221; (c) O. Kahn, *Inorg. Chim. Acta* 62 (1982) 3; (d) T.R. Felthouse, D.N. Hendrickson, *Inorg. Chem.* 17 (1978) 444.

foram fundamentais na tentativa de elucidar a estrutura e o comportamento magnético deste novo sistema.

Medidas de EPR no estado sólido e em solução MeOH/ H₂O (4:1, v/v), à temperatura ambiente e 77 K, também foram realizadas para o complexo **11**, na tentativa de verificar alguma influência do desdobramento no campo zero ou “*zero field splitting*” (tensor D) nos níveis de energia.^{147c} Uma simulação espectral foi realizada para estimar o valor da energia, conforme mostrado na Figura 66.

Figura 66– (A) Espectro EPR no estado sólido do composto **11** à $T = 77$ K e (B) Simulação do espectro no estado sólido, utilizando os valores de g experimentais e $D_{\text{calc}} = 0,02 \text{ cm}^{-1}$.

Verifica-se no espectro da Figura 66 uma ausência do desdobramento hiperfino para o composto **11** no estado sólido, à temperatura ambiente e 77 K, mostrando uma influência desprezível do tensor D no desdobramento dos níveis de energia ($D_{\text{calc}} = 0,02 \text{ cm}^{-1}$). O espectro de EPR obtido é característico de uma simetria axial.

Cálculo da energia das transições eletrônicas utilizando os parâmetros de EPR

$$\begin{aligned} \text{Cu}^{\text{II}} &\Rightarrow d^9 & M_L &= L = 2 \\ & & M_S &= S = \frac{1}{2} \\ & & 2S + 1 &= 2 \quad \therefore \mathbf{{}^2D} \end{aligned}$$

As representações de simetria podem ser definidas através da tabela de caracteres ou pela tabela de correlação.

A partir da Tabela de caracteres:

Δ_1 e Δ_2 são as energias das transições eletrônicas $^2B_{2g} \rightarrow ^2B_{1g}$ e $^2E_g \rightarrow ^2B_{1g}$, respectivamente. Elas aparecem largas e sobrepostas em solução, e conforme esperado observou-se somente uma banda na região do visível para os complexos de cobre(II) (vide Tabela 15, p. 98). Através dos parâmetros de EPR foi possível desdobrar as transições dentro de uma possível geometria para o íon de cobre(II). Particularmente, foi atribuída uma geometria tetragonal distorcida para os dois complexos dinucleares estudados, baseado nos parâmetros de EPR e nas bandas de absorção no espectro eletrônico. Neste caso, o estado fundamental $^2B_{1g}$ não possui nenhum momento angular orbital, uma vez que $\langle d_{x^2-y^2}^2 / L_u / d_{x^2-y^2}^2 \rangle = 0$, L_u ($u = x, y, z$). Por outro lado, o estado $^2B_{1g}$ pode acoplar através da componente L_z do momento orbital com o estado $^2B_{2g}$, e também com o estado 2E_g através das componentes L_x e L_y (elemento de matriz $\neq 0$), logo:

$$\langle d_{xy} / L_z / d_{x^2-y^2}^2 \rangle = 2i$$

$$\langle d_{yz} / L_x / d_{x^2-y^2}^2 \rangle = \langle d_{zx} / L_y / d_{x^2-y^2}^2 \rangle = -i$$

Tendo estes elementos de matrizes, juntamente com os operadores de spin S_u ($u = x, y, z$), a função de onda $\Psi\alpha$ e $\Psi\beta$ associadas com o estado fundamental (primeira ordem) são:

$$\begin{aligned} \Psi\alpha = & d_{x^2-y^2}^2 \alpha - \langle d_{xy} \alpha / \lambda L_z S_z / d_{x^2-y^2}^2 \alpha \rangle d_{xy} \alpha / \Delta_1 \\ & - (\langle d_{yz} \beta / \lambda L_x S_x / d_{x^2-y^2}^2 \alpha \rangle d_{yz} \beta \\ & + \langle d_{zx} \beta / \lambda L_y S_y / d_{x^2-y^2}^2 \alpha \rangle d_{zx} \beta) / \Delta_2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Psi\beta = & d_{x^2-y^2}^2 \beta - \langle d_{xy} \beta / \lambda L_z S_z / d_{x^2-y^2}^2 \alpha \rangle d_{xy} \beta / \Delta_1 \\ & - (\langle d_{yz} \alpha / \lambda L_x S_x / d_{x^2-y^2}^2 \beta \rangle d_{yz} \alpha \\ & + \langle d_{zx} \alpha / \lambda L_y S_y / d_{x^2-y^2}^2 \beta \rangle d_{zx} \alpha) / \Delta_2 \end{aligned}$$

onde: Δ_1 e Δ_2 são as energias de separação:

$$\Delta_1 = E(^2B_{2g}) - E(^2B_{1g})$$

$$\Delta_2 = E(^2E_g) - E(^2B_{1g})$$

Aplicando os operadores nas funções, obtemos as seguintes funções:

$$\Psi\alpha = d_x^2 - y^2 \alpha - i\lambda d_{xy}\alpha / \Delta_1 + \lambda (id_{yz}\beta - d_{zx}\beta) / 2\Delta_2$$

$$\Psi\beta = d_x^2 - y^2 \beta - i\lambda d_{xy}\beta / \Delta_1 + \lambda (id_{yz}\alpha - d_{zx}\alpha) / 2\Delta_2$$

As componentes g_z e $g_x = g_y$ correlacionam-se com fator g_e de Landé (“*spin only*”), através das seguintes expressões:

$$\langle \Psi\alpha / k_{//} L_z + g_e S_z / \Psi\alpha \rangle = \langle \Psi\alpha / g_z S_z / \Psi\alpha \rangle$$

$$\langle \Psi\alpha / k_{\perp} L_x + g_e S_x / \Psi\beta \rangle = \langle \Psi\alpha / g_x S_x / \Psi\beta \rangle$$

onde: $k = N^2 (1 + 4\alpha S_{d,p}) = 1 - \alpha^2 N^2$.

Aplicando os operadores e resolvendo as equações, finalmente chegamos às seguintes equações, que relacionam os valores de g com as transições eletrônicas:

$$g_z = g_e - 8k_{//}^2 \lambda / \Delta_1$$

$$g_x = g_y = g_e - 2k_{\perp}^2 \lambda / \Delta_2$$

onde: $k_{//}$ e $k_{\perp}$ são os fatores de redução dos orbitais,¹⁴⁸ e λ seria o acoplamento de spin-órbita para o íon de cobre livre ($\lambda = -828 \text{ cm}^{-1}$).

Na Tabela 17, a seguir, são apresentados os dados experimentais obtidos para os dois complexos dinucleares de cobre(II) estudados.

Tabela 17– Valores aproximados para as energias de transições eletrônicas obtidas a partir dos parâmetros experimentais dos espectros de EPR.

<i>Compostos</i>	$k_{//}$	$k_{\perp}$	Δ_1 , cm^{-1}	λ_1 , nm	Δ_2 , cm^{-1}	λ_2 , nm	Δ_{exp} , cm^{-1}	λ_{exp} , nm
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ 8	0,76	0,76	14732	679	16577	603	15600	641
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2]^{2+}$ 11	0,75	0,75	16582	603	15869	630	16181	618

Os resultados obtidos estão de pleno acordo com a posição da banda d-d vista anteriormente por espectroscopia eletrônica, em solução aquosa (Tabela 15). É possível verificar que a espécie

¹⁴⁸ E.I. Solomon, A.B.P. Lever, *Inorganic Electronic Structure and Spectroscopy*, eds. John Wiley & Sons. Inc., USA, 1999, vol. 2.

dinuclear contendo pontes cloreto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ **8** possui maior distorção tetragonal comparada com o complexo $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2]^{2+}$ **11**.

4.1.4.5. Propriedades magnéticas

Medidas de susceptibilidade magnética do complexo **11** foram realizadas na região de temperatura entre 2–300 K, conforme ilustrado na Figura 67. A curva de $\chi_M \times T$ mostra um comportamento antiferromagnético, ou seja, à medida que a temperatura abaixa, ocorre um aumento da susceptibilidade magnética até atingir um máximo em torno de 4 K, quando rapidamente diminui em função da temperatura. Utilizou-se a equação de Bleaney-Bowers modificada com a componente MFA (equação 8) para o ajuste da curva experimental $\chi_M \times T$, para o composto **11**, obtendo-se os seguintes parâmetros: $J/k = -(2,65 \pm 0,02) \text{ cm}^{-1}$, $Jz = -(1,5 \pm 0,1) \text{ cm}^{-1}$, $N\alpha = 0,00$ e $p = 0,04$.

Figura 67- Curva de $\chi_M \times T$ para o composto $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3^-)_2](\text{ClO}_4)_2$ **11**.

Ruiz e colaboradores^{147a,149} estudaram, através de cálculos de DFT, a natureza do acoplamento magnético entre as espécies dinucleares de cobre(II) contendo ligantes azida coordenadas na forma $\mu_{1,1}$, considerando dois parâmetros geométricos fundamentais: ângulo Cu-N_{azida}-Cu e distância de ligação entre Cu-N_{azida}. Neste caso, espera-se um comportamento ferromagnético quando o ângulo

¹⁴⁹ E. Ruiz, J. Cano, S. Alvarez, P. Alemany, J. Am. Chem. Soc. 120 (1998) 11122.

de ligação está na região entre 94-104°; caso contrário um comportamento antiferromagnético será observado. Estes resultados corroboram a predição de Thompson¹⁵⁰ baseada na extrapolação do seu modelo experimental relacionando estrutura com propriedade magnética para diferentes sistemas dinucleares contendo azida coordenada na forma $\mu_{1,1}$. Por outro lado, complexos dinucleares contendo ligantes azidas na forma $\mu_{1,3}$ são geralmente antiferromagnéticos devido à maior simetria dos orbitais envolvidos na coordenação, embora o grau desse acoplamento magnético dependa também do ângulo e da distância de ligação M-N₃.¹⁵¹ Para o complexo estudado [Cu₂(apyhist)₂(N₃⁻)₂](ClO₄)₂ **11**, observaram-se dois valores diferentes no acoplamento magnético entre os íons metálicos, onde a primeira componente $J/k = -(2,65 \pm 0,02) \text{ cm}^{-1}$ foi atribuída ao ligante azida coordenada na forma $\mu_{1,1}$ e o segundo valor $J/z = -(1,5 \pm 0,1) \text{ cm}^{-1}$ ao mesmo ligante na forma $\mu_{1,3}$, conforme ilustrado na Figura 68.

Figura 68- Representação estrutural do composto [Cu₂(apyhist)₂(N₃⁻)₂](ClO₄)₂ **11**.

Uma das possíveis explicações para o pequeno acoplamento magnético intra- e intermolecular desse sistema está relacionado com as orientações dos orbitais do ligante ponte em relação aos orbitais *d* do íon metálico. Desta forma, considerando uma geometria pirâmide de base quadrada para o íon de cobre(II) e a coordenação da azida na forma $\mu_{1,1,3}$, verifica-se que um dos ligantes pontes está coordenado ao plano equatorial de uma espécie monomérica, orbital $d_{x^2-y^2}$, e ao mesmo tempo na posição axial de um outro íon metálico pelo orbital d_z^2 . Logo, espera-se maior deslocalização da densidade eletrônica sobre a azida que está diretamente coordenada ao orbital $d_{x^2-y^2}$ do íon metálico, quando comparada com a coordenação ao orbital d_z^2 , contendo maior

¹⁵⁰ S.S. Tandon, L.K. Thompson, M.E. Mannuel, J.N. Bridson, *Inorg. Chem.* 33 (1994) 5555.

¹⁵¹ (a) S. Dalai, P.S. Mukherjee, M.G.B. Drew, T.-H. Lu, N.R. Chaudhuri, *Inorg. Chim. Acta* 335 (2002) 85; (b) O. Kahn, *Molecular Magnetism*, VCH, New York, 1993.

distância de ligação devido ao efeito Jahn-Teller.^{145c,152} Portanto, pequeno acoplamento magnético entre os íons metálicos é esperado, conforme visto experimentalmente. Além disso, o menor valor encontrado para interação intermolecular mediada pela azida na forma $\mu_{1,3}$ está relacionado com a maior distância de ligação $\text{Cu}^{\text{II}} \dots \text{Cu}^{\text{II}}$.

Variações significativas nas interações magnéticas entre os íons metálicos foram observadas entre as duas espécies dinucleares derivados do ligante (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyhist*), contendo cloreto ou azida como ligantes ponte, *vide* Tabela 18. Estas variações foram ocasionadas principalmente pelas distorções estruturais verificadas na geometria do íon de cobre(II) e ao modo de coordenação do ligante-ponte, capaz de promover o fenômeno da interação magnética entre os íons metálicos.

Tabela 18– Comparação entre as propriedades magnéticas das duas espécies dinucleares derivados do ligante *apyhist*.

<i>Compostos</i>	$J/k, \text{cm}^{-1}$	$J'/z, \text{cm}^{-1}$	<i>g</i>	<i>p</i>	$N\alpha$
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ 8	-1,38	-0,93	2,1	0,02	0,00
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2(\text{N}_3)_2](\text{ClO}_4)_2$ 11	-2,65	-1,51	2,0	0,04	0,00

4.1.5. *Composto polinuclear de cobre(II) derivados do ligante 2-(4-imidazolil)-etilamino-6-metilpiridina (2pyMe-hist) contendo pontes cloreto*

A investigação da estrutura e das propriedades magnéticas de sistemas polinucleares envolvendo metais de transição tem se tornado um campo fascinante dentro da química de coordenação, química dos materiais e física da matéria condensada. Vários complexos contendo diferentes ligantes-ponte têm sido sintetizados nas últimas décadas, visando promover o fenômeno da interação magnética entre os íons metálicos. Neste caso, o recobrimento orbital entre os centros é desprezível e a interação magnética se propaga através desta espécie conectora intermediária. Conseqüentemente, pequenas modificações ao redor do íon metálico provocam variações significativas na resposta magnética destes materiais. Por esta razão, estudos de correlação entre estrutura e propriedade magnética para sistemas di- e polinucleares têm merecido estudos intensos com o objetivo de construir uma variedade de materiais funcionais, através do *design* ou planejamento racional de estrutura molecular. Neste contexto, ligantes polidentados do tipo base de

¹⁵² T.K. Maji, P.S. Mukherjee, S. Koner, G. Mostafa, J.-P. Tuchagues, N.R. Chaudhuri, *Inorg. Chim. Acta* 314 (2001) 111.

Schiff parecem representar um papel promissor no esforço de obtenção de materiais magnéticos moleculares.

Nesta parte do trabalho, descrevemos a síntese, estrutura e propriedades magnéticas de uma nova espécie polinuclear de cobre(II), derivada do ligante 2-(4-imidazolil)-etilamino-6-metilpiridina (*2pyMe-hist*) contendo ponte cloreto, que será utilizada futuramente como precursor na obtenção de compostos cíclicos pelo processo de auto-construção (*self-assembly*), via ligante ponte imidazolato, por meio da variação de pH.

Inicialmente, analisando a metodologia de síntese dos compostos di- e polinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto, verificou-se que as espécies são isoladas em meio ácido, utilizando um dos reagentes na forma de dicloridrato. Um outro fator importante é o tipo de sal de cobre utilizado, uma vez que isolamos uma espécie polinuclear de cadeia linear $[\text{Cu}(2\text{pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$ **12**, pelo simples fato de utilizarmos perclorato de cobre(II) como um dos reagentes (*vide* os resultados de cristalografia de raios-X que serão descritos a seguir). Porém, esta mesma espécie imínica foi obtida na forma mononuclear $[\text{Cu}(2\text{pyMe-hist})\text{Cl}_2]$, por Matsumoto e colaboradores,⁹⁶ utilizando cloreto de cobre(II) como material de partida (Figura 69). Estes resultados corroboram a existência de equilíbrios envolvendo espécies mono- e polinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto, sendo deslocados em função da quantidade de íons cloretos em solução (Esquema 10). Comportamento análogo já tinha sido observado para os complexo de cobre(II) derivados do ligante 2-(benzimidazolil)metileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyambi*), com diferentes contra-íons, conforme discutido na seção 4.1.2.

Esquema 10– Representação dos equilíbrios em solução.

Figura 69– Cristalografia de raios-X do composto $[\text{Cu}(\text{2Mepy-hist})\text{Cl}_2]$.⁹⁶

4.1.5.1. Cristalografia de raios-X do composto $[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$ 12

A estrutura de raios-X do complexo $[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$ 12 está representada nas Figuras 70 e 71. As características da célula unitária, as coordenadas dos átomos, os correspondentes comprimentos e os ângulos das ligações estão listados nas Tabelas 19-22.

Figura 70– Representação ORTEP simplificada da unidade polimérica $[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$ 12, com as respectivas numerações dos átomos.

plano ab plano ac

plano bc

Figura 71– Representação da célula unitária do composto **12** em diferentes planos.

A estrutura deste composto consiste de uma unidade polimérica infinita $[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$, onde cada monômero interage com o cobre adjacente através de átomos de cloro, como mostrado nas Figuras 70 e 71. Cada átomo de cobre possui número de coordenação igual a 5, dentro de uma geometria pirâmide tetragonal ($\tau = 0,2$),²⁰ coordenado ao ligante 2pyMe-hist e a um dos íons Cl^- na posição equatorial e a outro na posição axial.

As distâncias axiais Cu-Cl1* e Cu-Cl1 são diferentes, correspondendo a 2,614 e 2,322 Å, respectivamente, caracterizando uma geometria pirâmide tetragonal distorcida do íon de cobre(II), caso contrário as duas distâncias Cu-Cl seriam idênticas. Resultado semelhante está descrito na literatura para o composto polinuclear $[\text{Cu}(\text{imH})_2\text{Cl}_2]_\infty$,¹⁵³ contendo a mesma geometria ao redor do íon de Cu(II), cujas distâncias Cu-Cl relatadas são 2,751 e 2,365 Å.

¹⁵³ (a) W.E. Estes, W.E. Hatfield, J.A.C. van Ooijen, J. Reedijk, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1980) 2121; (b) B.K.S. Lundberg, Acta Chem. Scand. 26 (1972) 3977; (c) J.A.C. van Ooijen, J. Reedijk, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1978) 1170.

Os ângulos entre Cu-Cl1-Cu1* (118,02°) são também comparáveis com os de outros compostos polinucleares de cobre(II) de cadeia linear do tipo μ -cloro, descritos na literatura,^{153,154} com Cu-Cl-Cu1* igual a 117°. Os comprimentos das ligações N-C e C-C nos ligantes orgânicos, piridina e imidazol, estão na região esperada.

A estrutura supramolecular deste composto foi consolidada através de ligações de hidrogênio extensivas entre as cadeias poliméricas lineares e os íons percloratos no estado sólido (Tabela 22).

Tabela 19– Dados da coleta de intensidade e do refinamento da estrutura cristalina/molecular do composto **12**. Desvio padrão entre parênteses.

Fórmula empírica	CuClN ₄ C ₁₂ H ₁₄ ·ClO ₄ ·H ₂ O
Peso molecular	1631,24
Sistema cristalino	Triclinico
Grupo espacial	P21/a
a (Å)	7,6775(10)
b (Å)	15,528(2)
c (Å)	14,045(2)
β [°]	96,22 (1)
V [Å ³]	1664,5(4)
Z	1
D _{calc} (g/cm ³)	1,627
μ (Mo K α) (mm ⁻¹)	1,653
F(000)	828
Tamanho do cristal (mm)	0,05 x 0,10 x 0,30
Temperatura (K)	293
λ Mo K α (Å)	0,71073
θ Min-Máx (°)	2,6;28,5
Dataset	0: 10 ; 0: 20 ; $\overline{18}$: 18
Total, unique data, R _{int}	4539, 4234, 0.078
Observed data [I > 2,0 sigma(I)]	1447
N _{ref} , N _{par}	4234, 221
R, wR ₂ , S	0,0659; 0,2068; 0,92
$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0879P)^2]$	$P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
Máx. and Av. Shift/Error	0,30; 0,02
Mín. and Máx. Resd. Dens. (e/Å ³)	-0,55; 0,67

¹⁵⁴ (a) R.D. Willett, K. Chang, *Inorg. Chim. Acta* 4 (1970) 447; (b) R.A. Bream, E.D. Estes, D.J. Hodgson, *Inorg. Chem.* 14 (1975) 1672.

Tabela 20– Distâncias de ligações (Å) para o composto **12**.

Cu	Cl1	2,322(2)	Cu	Cl1*	2,614(2)
Cu	N1	1,941(6)	Cu	N3	2,014(6)
Cu	N4	2,045(7)	N4	C11	1,33(1)
N1	C1	1,325(10)	N1	C3	1,380(10)
N2	C2	1,356(13)	N2	C1	1,327(11)
N3	C5	1,437(11)	N3	C6	1,266(11)
C2	C3	1,33(1)	C3	C4	1,50(1)
C4	C5	1,50(1)	C6	C7	1,48(1)
C7	C8	1,39(1)	C8	C9	1,37(2)
C9	C10	1,37(1)	C10	C11	1,37(1)
C11	C12	1,509(11)	N4	C7	1,361(10)
Cl2	O1	1,61(3)	Cl2	O2	1,44(2)
Cl2	O3	1,55(2)	Cl2	O4	1,49(2)
Cl2	O12	1,42(2)	Cl2	O13	1,410(19)
Cl2	O15	1,39(3)	Cl2	O16	1,40(3)
Cl2	O22	1,38(3)	Cl2	O25	1,38(3)
O5	H1O	1,00	O5	H2O	0,805

Tabela 21– Ângulos de ligações (°) para o complexo 12.

Cl1	Cu	Cl1*	119,82(7)	Cu	Cl1	Cu1*	118,02(8)
Cl1	Cu	N4	92,53(2)	Cl1*	Cu	N4	89,6(2)
Cl1	Cu	N1	94,6(2)	Cl1*	Cu	N1	89,7(2)
Cl1	Cu	N3	136,0(2)	Cl1*	Cu	N3	103,9(2)
N1	Cu	N3	90,7(3)	N1	Cu	N4	172,2(3)
N3	Cu	N4	81,9(3)	Cu	N1	C3	127,0(5)
Cu	N1	C1	127,5(5)	C1	N1	C3	105,5(6)
C1	N2	C2	106,6(7)	C5	N3	C6	119,9(7)
Cu	N3	C5	126,8(5)	Cu	N3	C6	113,3(6)
Cu	N4	C7	110,1(5)	Cu	N4	C11	131,1(5)
N1	C1	N2	111,3(7)	N1	C3	C2	108,2(8)
N3	C5	C4	110,8(7)	N3	C6	C7	118,4(7)
N4	C7	C6	115,1(7)	N4	C7	C8	122,7(8)
N4	C11	C10	120,8(7)	N4	C11	C12	118,7(7)
C7	N4	C11	118,6(7)	C10	C11	C12	120,5(8)
C2	C3	C4	131,3(8)	C3	C4	C5	113,8(7)
C6	C7	C8	122,2(8)	C7	C8	C9	117,4(9)
C8	C9	C10	119,1(9)	C9	C10	C11	121,3(8)
H1O	O5	H2O	122				

*= $1/2+x, 3/2-y, z$ **= $-1/2+x, 3/2-y, z$ **Tabela 22**– Ligações de hidrogênio para o composto 12.

	dC—H	dH....B	dC...B	Ângulo
C1—H1....Cl1	0,93	2,805	3,256(8)	111,0
C1—H1....O2	0,93	2,356	3,235(18)	157,4
C9—H9....O2 ^a	0,93	2,43	3,20(2)	141,0

^a $= 3/2-x, 1/2+y, 1-z$

4.1.5.2. Espectroscopia vibracional

O complexo polinuclear **12** apresenta bandas no FTIR-ATR em torno de 1090 e 625 cm^{-1} atribuídas ao ânion perclorato, revelando que este não está coordenado ao íon metálico. Além disso, observa-se uma banda a 3309 cm^{-1} de intensidade média atribuída ao estiramento do grupo –OH, relacionado com as moléculas de água de hidratação. Uma banda de intensidade fraca a 3147 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento vibracional N-H, proveniente do anel imidazólico da histamina. Adicionalmente, bandas de intensidade média em 1655 e 1602 cm^{-1} foram atribuídas à respiração do anel aromático da histidina ($\nu\text{C-C}$, C-N) e ao estiramento C=N característico de formação da base de Schiff, respectivamente.

4.1.5.3. Espectroscopia Eletrônica

Os espectros eletrônicos na região do UV/Vis em solução metanólica do composto **12** mostraram bandas referentes às transições internas dos ligantes *N*-heterocíclicos em 203 nm ($\epsilon = 22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e 299 nm ($\epsilon = 8 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), e uma banda fraca na região do visível em 744 nm ($\epsilon = 135 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), atribuída à transição d-d, sugerindo uma estrutura pirâmide tetragonal distorcida para o íon de cobre(II).

Os espectros de EPR do composto **12** em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) mostraram o equilíbrio totalmente deslocado para a formação da espécie mononuclear $[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, devido à ausência de duplicação de desdobramento hiperfino na região de ~3100G e também de nenhum sinal na região de ~1500G. Além disso, observa-se o mesmo comportamento espectroscópico e as mesmas variações nos parâmetros de EPR em função da variação do solvente para o composto **12**, conforme discutido anteriormente para as espécies dinucleares contendo pontes cloreto (Figura 72 e Tabela 23).

Estruturas super-hiperfinas na região de ~3200 G (7 linhas) também foram observadas para este composto, caracterizando a coordenação de pelo menos 3N ($A_{\text{N}\perp} = 14,65$) ao redor do íon de cobre(II), conforme mostrado na Figura 73.

Tabela 23– Parâmetros de EPR em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) ou DMF*, T = 77K.

Compostos	$g_{\perp}$	$g_{\parallel}$	$A_{\parallel}$	$A_{\parallel} (10^{-4} \text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel}/A_{\parallel} (\text{cm})$
$*[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})\text{Cl}]_n^{\text{m}+}$	2,055	2,223	174,1	181	123
$[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$	2,070	2,290	162,1	173	132

$$A_{\parallel} (\text{cm}^{-1}) = A_{\parallel} (\text{G}) \cdot g_{\parallel} \cdot 0,46686 \times 10^{-4}$$

Figura 72– Espectros de EPR do composto **12** utilizando diferentes solventes ou mistura de solventes MeOH/H₂O (4:1, v/v) (3,0 mM), indicando equilíbrio mono-/polinuclear.

Figura 73– Espectro EPR do composto **12** em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) (3 mM), T = 77 K, ganho $2,00 \times 10^3$.

Os parâmetros de EPR do composto **12** em diferentes solventes são característicos de uma simetria axial com elétron desemparelhado no orbital $d_{x^2-y^2}$, uma vez que $g_{||} > g_{\perp}$. Além disso, através da comparação da razão $g_{||}/A_{||}$ (Tabela 24), é possível verificar algumas distorções na

geometria pirâmide tetragonal desse complexo. Sugere-se ainda que os ligantes nitrogenados estejam ligados ao plano equatorial dos compostos em virtude dos desdobramentos super-hiperfinos observados, ocasionado pela menor distância de ligação e maior deslocalização da densidade eletrônica.^{105,122}

Verifica-se ainda uma pequena distorção na simetria ao redor do íon de cobre(II) devido à substituição do cloreto, como átomo coordenante, por oxigênio, indicada por maiores valores de $g_{\parallel}$ e menores valores de $A_{\parallel}$ (Tabela 23).

4.1.5.4. Propriedades magnéticas

Medidas de susceptibilidade magnética a várias temperaturas foram também realizadas para o composto $[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$ **12**. Neste caso, os dados experimentais de $\chi_M \times T$ são descritos pela equação 12, desenvolvida a partir do modelo de Fisher para cadeias lineares (infinito spin) contendo interação Heisenberg do tipo antiferromagnética (eq. 10).^{153,155}

$$\chi_{\text{cadeia}} = N g^2 \mu_B^2 S(S+1)/3kT \{(1-u)/(1+u)\} \quad (\text{eq. 10})$$

onde: $u = (T/T_0) - \cos th(T_0/T)$ e $T_0 = 2JS(S+1)/k$

Neste modelo foi introduzida a interação de troca (*exchange*) molecular γM devido à presença de interações entre as cadeias lineares. Neste caso, o campo magnético efetivo na amostra é dado por $H_{\text{eff}} = H + \gamma M$, onde: H é o campo magnético externo aplicado, $\gamma = 2J'z/Ng^2\mu_B^2$ e z é o número de cadeias lineares que estão interagindo através de uma constante de acoplamento J' . A susceptibilidade corrigida será dada então por:

$$\chi_{\text{cadeia}} = M/H_{\text{eff}} = M/(H + \gamma M), \text{ ou } \chi = \chi_{\text{cadeia}} / (1 - \gamma \chi_{\text{cadeia}}) \quad (\text{eq. 11})$$

Substituindo a equação 10 em 11 temos:

$$\begin{aligned} \chi_M = \{ & 0,0937(A/X)[1-0,67(X/B) + \text{COSH}(1,5(B/X))/\text{SENH}(1,5(B/X))]/ \\ & [1+0,67(X/B) - \text{COSH}(1,5(B/X))/\text{SENH}(1,5(B/X))]\} / \{1+C[0,0937(A/X) \\ & [1-0,67(X/B)+\text{COSH}(1,5(B/X))/\text{SENH}(1,5(B/X))]/[1+0,67(X/B)- \\ & \text{COSH}(1,5(B/X))/\text{SENH}(1,5(B/X))]]\} + N\alpha \end{aligned} \quad (\text{eq. 12})$$

onde: $A = S(S+1)$; $B = J/k$; $C = J'z$

¹⁵⁵ W.E. Estes, D.P. Gavel, W.E. Hatfield, D.J. Hodgson, Inorg. Chem. 17 (1978) 1415.

A Figura 74 mostra a variação da χ_{Cu} e μ_{ef} em função da temperatura para o composto **12**, onde χ_{Cu} e μ_{ef} são, respectivamente, a susceptibilidade magnética e o momento magnético efetivo por íon de cobre. Observou-se um máximo em 9,4 K, indicando uma interação antiferromagnética. O momento magnético efetivo por íons de cobre, à temperatura de 285 K, é igual a $1,68 \mu_B$, valor próximo a uma situação de *spin-only* de $1,73 \mu_B$ para $S = 1/2$. Os parâmetros obtidos a partir da equação 12 foram:

$$J/k = -8,64 \text{ cm}^{-1}; J^Z = -0,96 \text{ cm}^{-1} \text{ e } g = 2,0.$$

Figura 74- Curva de χ_M e $\mu_{ef} \times T$ e para o composto **12**.

Semelhante ao descrito anteriormente, para os compostos dinucleares contendo pontes cloreto, os dados de cristalografia de raios-X do composto **12** foram utilizados na tentativa de correlacionar estrutura com propriedade magnética. Estudos semelhantes envolvendo interações magnéticas entre os íons metálicos e suas características estruturais têm sido proposto para alguns complexos polinucleares de cobre(II) do tipo μ -cloro,^{153,154a,156} vide Tabela 24 e Figura 75.

¹⁵⁶ (a) R.A. Bream, E.D. Estes, D.J. Hodgson, *Inorg. Chem.* 14 (1975) 1672; (b) N.T. Watkins, D.Y. Jeter, W.E. Hatfield, S.M. Horner, *Trans. Faraday Soc.* 67 (1971) 2531.

Tabela 24– Relação entre estrutura e propriedade magnética envolvendo compostos polinucleares do tipo $\mu\text{-Cl}^a$.

<i>Compostos</i>	R (Cu-Cl), Å	Cu-Cl-Cu' (θ , graus)	θ/R , (graus/ Å)	J/k , cm^{-1}
$[\text{Cu}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]_\infty$	2,702	144,6	53,5	-6,1
$[\text{Cu}(\text{imH})_2\text{Cl}_2]_\infty$	2,751	117	42,5	-2,1
$[\text{Cu}(\text{maep})\text{Cl}_2]_\infty$	2,785	113,6	40,8	+1,58
$[\text{Cu}(\text{dipm})\text{Cl}_2]$	2,652	144,6	54,5	-3,2
$[\text{Cu}(\text{dpp})\text{Cl}_4]$	2,56	98,46	38,5	+6,0
$[\text{Cu}(\text{bpy})\text{Cl}_2]$	2,67	107,5	40,3	-2,3
$[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$	2,614	118,02	45,1	-8,64

^aAbreviaturas: DMSO= dimetilsulfóxido; imH = Imidazol; maep = 2-(2-metil-aminoetil)piridina; dipm = amino-bis(2-pirimidina); dpp = 2,3-bis(2-piridil)pirazina; bpy = 2,2'-bipiridina.

Figura 75– Relação entre J/k e θ/R .

Observa-se uma dependência polinomial, ou seja, J/k diminui à medida que θ/R aumenta até atingir um mínimo; posteriormente ocorre um aumento no valor J/k em função do aumento de θ/R . Para determinados valores de θ/R a componente antiferromagnética é compensada pela componente ferromagnética e a diferença de energia entre os estados singlete-triplete é zero, isto é:

$$J/k (\text{cm}^{-1}) = 0,151 (\theta/R)^2 - 14,65 (\theta/R) + 345,9$$

Quando $J/k = 0$, $\theta/R = 40,60$ e $56,41$ graus/Å. Ou seja, quando $40,60 \leq \theta/R \leq 56,41$ o estado fundamental é singlete (antiferromagnético) e para valores menores que $40,60$ ou maiores que $56,41$ graus/Å o estado fundamental é tripleto (ferromagnético).

Esta correlação polinomial entre J/k em função de θ/R para sistemas polinucleares de cobre(II) contendo uma simples ponte cloreto permite uma melhor classificação dos compostos segundo suas propriedades magnéticas, quando comparado à correlação linear simples entre $J/k \times \theta$, proposta alternativamente por Reedijk e colaboradores.¹⁵⁷

4.2. Sistemas polinucleares de cobre(II) contendo ponte imidazolato formados através de desprotonação e auto-organização estrutural

O interesse na síntese e caracterização de sistemas polinucleares envolvendo diferentes metais de transição deriva do esforço de compreender suas diferentes propriedades físico-químicas, tais como: eletroquímica, óptica, magnética, mecânica e atividade catalítica, com potenciais aplicações desde a bioinorgânica até dispositivos eletrônicos e ainda em ciências dos materiais.¹⁵⁸ Particularmente, existem certas proteínas multimetaladas de cobre, como as lacases, ascorbato oxidase e ceruloplasmina, que apresentam diferentes tipos de sítios ativos, alguns arranjados na forma de *clusters* trinucleares, em que a interação entre os centros metálicos é um dos fatores importantes para sua reatividade, promovendo uma rápida transferência eletrônica.^{2c,159} De fato, este arranjo parece favorecer a redução do oxigênio até água, num ciclo catalítico envolvendo 4 elétrons, com oxidação simultânea de substratos (fenóis, ascorbato, etc.). Portanto, complexos polinucleares podem ajudar na elucidação da ação cooperativa entre os centros metálicos no sítio ativo de tais enzimas.^{2c}

Na seção anterior foram discutidas a síntese e a caracterização de alguns compostos mono-, di- e polinucleares de cobre(II) contendo pontes cloreto, possuindo pelo menos um grupo imidazol incorporado no ligante imina. Estes compostos serão utilizados como precursores para obtenção de espécies oligoméricas (macrocíclica ou zig-zag), visando compreender e racionalizar alguns fatores

¹⁵⁷ G.A. van Albada, O. Roubeau, P. Gamez, H. Kooijman, A.L. Spek, J. Reedijk, *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 4522.

¹⁵⁸ (a) E. Yang, J. Zhang, Z.-J. Li, S. Gao, Y. Kang, Yu-Biao Chen, Y.-Hang Wen, Y.-Gen Yao, *Inorg. Chem.* 43 (2004) 6525; (b) L.M. Field, P.M. Lahti, F. Palacio, A. Paduan-Filho, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 10110; (c) A. Miyazaki, K. Okabe, K. Enomoto, J. Nishijo, T. Enoki, F. Setifi, S. Golhen, L. Ouahab, T. Toita, J. Yamada, *Polyhedron* 22 (2003) 2227; (d) P.H. Dinolfo, J.T. Hupp, *Chem. Mater.* 13 (2001) 3113; (e) G.F. Swiegers, T.J. Malefetse, *Chem. Rev.* 100 (2000) 3483; (f) O. Kahn, *Acc. Chem. Res.* 33 (2000) 647; (g) O.M. Yaghi, H. Li, C. Davis, D. Richardson, T.L. Groy, *Acc. Chem. Res.* 31 (1998) 474; (h) J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, 1995.

¹⁵⁹ A. Messerschmidt, R. Huber, *Eur. J. Biochem.* 187 (1990) 341.

de interesse no processo de auto-construção ou *self-assembly*, além do mecanismo de interação magnética entre os íons metálicos intermediada pelo grupo imidazol em ponte. Posteriormente, quer-se estudar os fatores relacionados com a reatividade de tais espécies como catalisadores na oxidação de substratos de interesse, como o 3,5-DTBC, através da variação do tamanho da cavidade nas estruturas cíclicas ou de variações no ligante coordenado ao redor do íon metálico. O esquema a seguir mostra as estruturas de alguns dos compostos de cobre(II) do tipo macrocíclico ou zig-zag, que foram isolados em meio alcalino.

Parte dos resultados descritos a seguir deu origem a um artigo, em revista especializada.¹¹⁶

Esquema 11- Representação dos complexos polinucleares de cobre(II) estudados.

4.2.1. Compostos polinucleares de cobre(II) derivados dos ligantes 2- ou 4-[[*(imidazolil-2-metilideno)amino*)]etil]piridina (2 ou 4imepy)

Quando os complexos mononucleares **1** e **2** foram tratados com um excesso de trietilamina, a desprotonação do ligante imidazol promoveu uma auto-organização estrutural, através da coordenação do átomo de nitrogênio não-coordenado de uma unidade monomérica ao centro de cobre(II) de uma outra unidade adjacente, direcionando a formação de duas espécies isoméricas. Isto resultou na formação de um complexo polimérico com cadeia infinita zig-zag **13** e um complexo cíclico tetranuclear **14** (Esquema 11).

Através da espectroscopia Raman no estado sólido foi possível observar esta desprotonação do grupo NH do anel imidazol na formação das respectivas espécies polinucleares, através do monitoramento da banda característica em 3150 cm^{-1} (Figuras 76 e 77).

Figura 76– Espectros Raman dos complexos (A) $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}_2]$ **1** e (B) $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}]_n$ **13**.

Figura 77– Espectros Raman dos complexos (A) $[\text{Cu}(\text{4imepy})\text{Cl}_2]$ **2** e (B) $[\text{Cu}_4(\text{4imepy})_4](\text{ClO}_4)_4$ **14**.

Além disso, observaram-se variações significativas nas intensidades relativas e um pequeno deslocamento de alguns modos vibracionais, a 1330, 1252, 1205 e 975 cm^{-1} , que são atribuídos à respiração do anel imidazólico ($\nu_{\text{C-C}}$, C-N).^{146,160} Neste caso, indicaram a formação de uma espécie contendo grupo imidazol como ligante ponte entre os centros metálicos.

A banda situada em torno de 1600 cm^{-1} foi atribuída aos estiramentos vibracionais C-N do anel imidazólico e também da base de Schiff. No FTIR-ATR, esta banda aparece desdobrada em 1609 e 1569 cm^{-1} . Para o complexo **14**, observou-se ainda o estiramento simétrico do íon perclorato $\nu_{\text{s}}(\text{ClO}_4^-)$ em 932 cm^{-1} (Figura 77B).¹¹²

4.2.1.1. Propriedades magnéticas e espectros de EPR

A susceptibilidade magnética de **13** e **14** foi medida na região entre 1,8 e 290 K, na presença de um campo magnético de 500 Oe, como mostrado na Figura 78, onde χ_M é a susceptibilidade magnética molar. As curvas mostram os máximos em 68 e 118 K para os compostos **13** e **14**, respectivamente, claramente indicando uma interação antiferromagnética entre os centros metálicos.

¹⁶⁰ (a) D.A. Carter, J.E. Pemberton, *J. Raman Spectroscopy* **28** (1997) 939; (b) S. Dong, T.G. Spiro, *J. Am. Chem. Soc.* **120** (1998) 10434; (c) H. Baránska, J. Kuduk-Jaworska, *J. Raman Spectroscopy* **28** (1997) 1.

Figura 78- Curvas de $\chi_M \times T$ para os compostos (A) $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}]_n$ 13 e (B) $[\text{Cu}_4(\text{4imepy})_4](\text{ClO}_4)_4$ 14.

Para o complexo 13, os dados de susceptibilidade magnética foram ajustados utilizando a equação 13, baseado no modelo de Bonner e Fisher para cadeia infinita unidimensional, para $J/k < 0$, onde o Hamiltoniano de spin é definido como $H = -2\sum J_{ij}S_iS_j$ e $K = J/k$ T.^{153,155,161}

$$\chi_M = (N\beta^2 g^2 / kT) ((0,25 + 0,14995 K + 0,30094 K^2) / (1 + 1,9862 K + 0,68854 K^2 + 6,0626 K^3)) (1-p) + p(N\beta^2 g^2 / 2kT) + N\alpha \quad (\text{eq. 13})$$

Uma contribuição independente da temperatura, $N\alpha$, foi também adicionada na equação. Isto incluiu as constantes paramagnéticas e diamagnéticas dos ligantes e ânions, e o paramagnetismo de Van Vleck. Uma pequena contribuição paramagnética dependente da temperatura, correspondente às espécies monoméricas livres que podem também estar presente na amostra, sendo proporcional a $1/T$ (numa concentração $p \ll 1$), foi também considerada na expressão de χ_M . Os parâmetros magnéticos que deram o melhor ajuste da curva experimental foram: $J/k = -(32,4 \pm 1,2) \text{ cm}^{-1}$; $g = 2,03$; $p = 0,03$ e $N\alpha = 165 \times 10^{-6} \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$.

Para o complexo 14, os dados de susceptibilidade magnética foram interpretados quantitativamente utilizando a equação 14, considerando uma estrutura cíclica tetranuclear,¹⁶¹ onde o Hamiltoniano de spin é definido como $H = -2J(S_1S_2 + S_2S_3 + S_3S_4 + S_4S_1)$ e $K = J/k$ T.

$$\chi_M = (N\beta^2 g^2 / 2kT) (2 + 5\exp(2K) + \exp(-2K) / (7 + \exp(2K) + 3\exp(-2K) + \exp(-4K))) (1-p) + p(Ng^2 \beta^2 / 4kT) + N\alpha \quad (\text{eq. 14})$$

Neste caso os melhores parâmetros foram: $J/k = -(55,5 \pm 0,4) \text{ cm}^{-1}$; $g = 2,29$; $p = 0,02$ e $N\alpha = 432 \times 10^{-6} \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$. A magnitude da integral de troca (exchange) J/k para o complexo 14 foi

¹⁶¹ M. Mimura, T. Matsuo, T. Nakashima, N. Matsumoto, Inorg. Chem. 37 (1998) 3553.

similar aos complexos cíclicos tetra- e hexanuclear descritos por Matsumoto e colaboradores,¹⁰⁴ utilizando o ligante tridentado 4-[(2-substituted-imidazol-ylmethylidene)amino]ethyl]pyridine, onde o 2-substituinte é o grupo metil ($J/k = -54,7 \text{ cm}^{-1}$) ou fenil ($J/k = -45,7 \text{ cm}^{-1}$), respectivamente. Como esperado, o moderado acoplamento antiferromagnético observado para o complexo **14** pode ser explicado através da natureza do substituinte na posição 2 do anel imidazólico, onde o impedimento estérico é mínimo quando comparado com outras espécies similares.¹⁰⁴ Analisando a diferença no comportamento magnético de diferentes complexos imínicos tetra- e hexanucleares de cobre(II) verifica-se que as principais mudanças estruturais concentram-se no ângulo vetorial Cu-N (imidazol) e N-N (imidazol), que são afetados através do ângulo diedro entre o plano de coordenação do cobre e o plano do anel imidazol, em função do menor impedimento estérico em torno do ligante, diminuindo assim o recobrimento dos orbitais do metal com os orbitais *p* do nitrogênio.

As diferenças observadas entre as espécies isoméricas **13** ($J/k = -32,4 \text{ cm}^{-1}$) e **14** ($J/k = -55,5 \text{ cm}^{-1}$), com relação à amplitude da interação antiferromagnética, podem ser também atribuídas à variação do ângulo diedro, uma vez que os valores de J/k obtidos para ambos os compostos sugerem uma coordenação na posição equatorial dos íons de cobre(II) do grupo imidazolato, dentro de uma geometria pirâmide de base quadrada.

Os espectros de EPR, em banda X, dos compostos mono- e polinucleares foram registrados em solução de MeOH/H₂O (4:1, v/v) e no estado sólido, à temperatura ambiente e a 77 K, na tentativa de compreender um pouco mais a natureza desse acoplamento magnético. No estado sólido, valores de $g_{\text{iso}} = 2,106$ e $2,110$ foram observados para os complexos **13** e **14**, respectivamente (Figura 79B), enquanto que em solução observou-se um desdobramento hiperfino para o composto macrocíclico **14**, provavelmente devido à pequena fração de espécies monoméricas presentes em solução (Figura 80). Entretanto, estruturas hiperfinas análogas não foram observadas para o complexo de cadeia linear **13**, apesar de possuir maior quantidade de impurezas paramagnéticas no estado sólido, quantificada anteriormente por medidas de susceptibilidade magnética, provavelmente devido ao alargamento do sinal causado pelas interações dipolares e de troca (*exchange*).¹⁶² Esta interação dipolar é facilmente verificada comparando-se os espectros no estado sólido dos compostos **1** e **13** (Figura 79). Para o composto mononuclear **1**, a largura de linha está relacionada com a interação dipolar ($g_{\text{iso}} = 2,109$, e largura de linha = 140 G), enquanto para o complexo **13** a largura de linha

¹⁶² (a) W.-H. Gu, X.-Y. Chen, L.-H. Yin, A. Yu, X.-Q. Fu, P. Cheng, *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 4085; (b) J.M. Schweigkardt, A.C. Rizzi, O.E. Piro, E.E. Castellano, R. Costa de Santana, R. Calvo, C.D. Brondino, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2002) 2913; (c) T.D. Black, R.S. Rubins, D.K. De, R.C. Dickinson, W.A. Baker, Jr., *J. Chem. Phys.* 80 (1984) 4620.

(123 G) está no limite da interação *exchange*, ocasionado pelo estreitamento da linha de ressonância e a interação dipolar que provoca o alargamento do sinal.

Figura 79- Espectros EPR no estado sólido à temperatura 77 K. (A) Compostos mononucleares **1** e **2** e (B) compostos polinucleares **13** e **14**.

Figura 80- Espectro de EPR das espécies polinucleares em solução $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, v/v), à $T = 77$ K. (A) $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}]_n$ **13** e (B) $[\text{Cu}_4(\text{4imepy})_4](\text{ClO}_4)_4$ **14**.

Os espectros de EPR para todos os compostos no estado sólido à temperatura ambiente e a 77 K são similares e, no caso do composto **2**, é possível atribuí-los a uma simetria axial, exibindo $g_{\perp} = 2,059$ e $g_{\parallel} = 2,236$. Este mesmo complexo em solução $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ exibe estruturas hiperfinas, com $g_{\perp} = 2,065$, $g_{\parallel} = 2,274$ e $A_{\parallel} = 180 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. A ausência destas estruturas hiperfinas no estado sólido para ambos os complexos mononucleares é devido às interações dipolares. O alargamento do sinal para o complexo **14** no estado sólido ($g_{\text{iso}} = 2,103$, e largura de linha = 284 G) é resultado de um alto valor de J/k , desdobramento no campo zero e também devido à sobreposição ou *overlap*

dos acoplamentos hiperfinos, uma vez que estas últimas interações são responsáveis pelo aumento da anisotropia em função do campo magnético aplicado e de uma diminuição no tempo de relaxação.^{162,163}

4.2.1.2. Espectrometria de massa

Embora a síntese e a caracterização de sistemas polinucleares tenham sido extensivamente investigadas nos últimos anos, principalmente no estado sólido,^{111b,164} a estabilidade e a reatividade destas espécies oligoméricas em solução são relativamente desconhecidas, geralmente devido a problemas de solubilidade em determinados solventes. A caracterização através de MS de tais complexos tem sido uma tarefa difícil. A técnica de electrospray (ESI-MS),¹⁶⁵ que é capaz de transferir íons pré-formados¹⁶⁶ diretamente da solução para a fase gasosa, vem se tornando uma técnica usual para estudos de massa e análise estrutural de uma grande variedade de complexos metálicos iônicos ou neutros.¹⁶⁷ ESI-MS tem sido também utilizada para caracterizar complexos polinucleares. Recentemente, Stoeckli-Evans e colaboradores estudaram dois novos complexos tetranucleares de cobre(II) e níquel(II) provenientes do ligante pirazina-2,3-dicarboxilato-bis[(2-metilpiridil)amida], ou *pyrazin-2,3-dicarboxylic acid bis[(pyridine-2-ylmethyl)amide]*, com diferentes ânions encapsulados, e usaram ESI-MS para estimar sua estabilidade em solventes como metanol e água.¹⁶⁸ Através desta técnica foi possível mostrar que os ânions não são essenciais para formação de complexos macrocíclicos como proposto anteriormente,¹⁶⁹ sugerindo que a formação de espécies polinucleares está relacionada com a modulação do ligante coordenado e a escolha do íon metálico.

¹⁶³ (a) A.I. Shames, M.I. Belinsky, *Phys. Stat. Sol.* 203 (1997) 235; (b) L. Banci, A. Bencini, D. Gatteschi, *Inorg. Chem.* 22 (1983) 2681.

¹⁶⁴ (a) L.K. Thompson, *Coord. Chem. Rev.* 233-234 (2002) 193; (b) Y. Sunatsuki, Y. Motoda, N. Matsumoto, *Coord. Chem. Rev.* 226 (2002) 199; (c) J.A.R. Navarro, B. Lippert, *Coord. Chem. Rev.* 222 (2001) 219; (d) N. Matsumoto, T. Nozaki, H. Ushio, K.-I. Motoda, M. Ohiba, G. Mago, H. Okawa, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1993) 2157.

¹⁶⁵ (a) R.B. Cole, *Electrospray Ionization Mass Spectroscopy*; John Wiley & Sons Inc.: New York, 1997; (b) J.B. Fenn, M. Mann, C.K. Meng, S.F. Wong, C.M. Whitehouse, *Science* 246 (1989) 64.

¹⁶⁶ (a) K.J. Koch, F.C. Gozzo, S.C. Nanita, Z. Takats, M.N. Eberlin, R.G. Cooks, *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002) 1721; (b) R.G. Cooks, D.X. Zhang, K.J. Koch, F.C. Gozzo, M.N. Eberlin, *Anal. Chem.* 73 (2001) 3646.

¹⁶⁷ (a) R. Colton, A. D'Agostinho, J.C. Traeger, *Mass Spectrom. Rev.* 1995, 14, 79; (b) P. Chen, *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (2003) 2832; (c) G. Cerchiari, P. Saboya, D. Tomazela, M.N. Eberlin, A.M.D.C. Ferreira, *Transit. Metal Chem.* 29 (2004) 495; (d) S.H. Toma, M. Uemi, S. Nikolaou, D.M. Tomazela, M.N. Eberlin, H.E. Toma, *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 2253; (e) R.M.S. Pereira, V.I. Paula, R. Buffon, D.M. Tomazela, M.N. Eberlin, *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 2100; (f) A.A. Sabino, A.H.L. Machado, C.R.D. Correia, M.N. Eberlin, *Angew. Chem. Int. Ed.* 43 (2004) 2514; (g) B.A. da Silveira, G. Ebeling, R.S. Gonçalves, F.C. Gozzo, M.N. Eberlin, J. Dupont, *Syntheses* 8, (2004) 1155.

¹⁶⁸ D.S. Cati, J. Ribas, J. Ribas-Arino, H. Stoeckli-Evans, *Inorg. Chem.* 43 (2004) 1021.

¹⁶⁹ C.S. Campos-Fernandez, R. Clerae, K.R. Dunbar, *Angew. Chem. Int. Ed.* 38 (1999) 3477.

A população de íons gerados em fase gasosa pela técnica de electrospray, ESI, frequentemente reflete o que se encontra em solução. Neste trabalho, nós usamos a técnica de espectrometria de massas Tandem (ESI-MS/MS) para verificar a estabilidade dos complexos polinucleares **13** e **14** em fase gasosa e em solução, através da caracterização estrutural de tais espécies isoméricas, termicamente lábeis, via ESI-MS e CID (*collision-induced dissociation*).

O espectro ESI-MS do complexo **13** em solução metanólica (Figura 81) mostra uma série de íons carregados contendo uma simples carga de m/z 262, 294, 559, 723 e 856 e uma dupla carga de m/z 492,5. A razão de m/z refere-se aos isótopos ^{63}Cu e ^{35}Cl , que estão relacionados aos íons formados durante a ionização da estrutura polimérica neutra **13**, em solução metanólica. A representação estrutural de tais íons é mostrada na Figura 81, sendo corroborada pelas distribuições isotópicas dos átomos de cobre ($^{63}\text{Cu} : ^{65}\text{Cu}$ na razão 1 : 0,44) e cloro ($^{35}\text{Cl} : ^{37}\text{Cl}$ na razão 1 : 0,33), além dos experimentos de ESI-MS/MS. Neste caso, o íon contendo uma dupla carga de m/z 492,5 dissocia para formar dois fragmentos iônicos de m/z 262 e 723 (conforme Esquema 12), devido à quebra heterolítica da ligação Cu-N (Figura 82). Similarmente, o íon contendo uma simples carga de m/z 856 dissocia-se em uma espécie neutra de 297 u (Esquema 13) para formar o íon de m/z 559 (Figura 83). O íon de m/z 723 decompõe-se, através da perda de uma espécie neutra de 199 u, para formar o íon de m/z 524, enquanto que o íon de m/z 559 decompõe-se por sua vez para produzir principalmente o íon de m/z 262 (Esquema 13).

Figura 81- Espectro de ESI-MS em modo positivo do composto $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}]_n$ **13** em solução metanólica.

Esquema 12– Padrão de fragmentação proposto para o ion contendo dupla carga de m/z 492,5 no espectro ESI do composto 13.

Esquema 13– Padrão de fragmentação proposto para o ion contendo uma simples carga de m/z 856 e 723 no espectro ESI do composto 13.

Figura 82- Espectro CID do íon m/z 492,5.

Figura 83- Espectro CID do íon m/z 856.

Através da técnica de ESI-MS/MS para o isômero tetranuclear **14** (Figura 84) foi possível também propor um mecanismo de fragmentação, semelhante ao descrito anteriormente. Neste caso, foram observados fragmentos de íons homólogos com diferentes cargas (simples, dupla e tripla) via fonte CID da espécie gasosa **14** pela perda de unidades monoméricas (conforme Esquema 14), sendo os quatros íons de m/z 262 observados como espécies minoritárias. Entretanto, devido à alta carga da espécie **14** observou-se a formação de espécies gasosas associadas com o contra-íon ClO_4^- : $[\mathbf{14} + \text{ClO}_4]^{+3}$ de m/z 382,3 e $[\mathbf{14} + (\text{ClO}_4)_2]^{+2}$ de m/z 623. Os íons minoritários de m/z 361, $[\mathbf{4} + \text{Cl}]^{+3}$ e m/z 591 $[\mathbf{4} + \text{Cl} + \text{ClO}_4]^{+2}$ são formados devido à associação com o resíduo Cl^- . A representação estrutural de tais íons está na Figura 84, sendo também suportada pelas distribuições isotópicas dos átomos de cobre ($^{63}\text{Cu} : ^{65}\text{Cu}$ na razão 1 : 0,44) e cloro ($^{35}\text{Cl} : ^{37}\text{Cl}$ na razão 1 : 0,33), além dos experimentos de ESI-MS/MS. Neste caso, o íon tetrâmero contendo uma tripla carga de m/z 382,3 (Figura 85) decompõe-se em dois processos sequenciais. Inicialmente, através da liberação de uma espécie monomérica de m/z 262 e um trímero de carga m/z 442,5, seguido da liberação de um monômero contendo uma simples carga m/z 262 e a formação de um dímero de

m/z 623 (associado com o contra-íon). Este íon (m/z 623) libera por sua vez uma espécie neutra para formar também o monômero de m/z 262 (Esquema 14). Esta fragmentação é corroborada pelos espectros de ESI-MS/MS dos íons de m/z 442,5 e 623 (espectros não mostrados).

Figura 84- Espectro de ESI-MS em modo positivo do composto $[\text{Cu}_4(4\text{imepy})_4](\text{ClO}_4)_4$ 14 em solução metanólica.

Figura 85- Espectro CID do íon m/z 382,3.

Esquema 14- Padrão de fragmentação do íon $[14 + \text{ClO}_4]^+3$ de m/z 382,3 em fase gasosa.

4.2.2. Compostos polinucleares de cobre(II) derivados dos ligantes: (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (*apyhist*); (4-imidazolil)etileno-2-aminometilpiridina (*2-pyhist*) e 2-(4-imidazolil)-etilamino-6-metilpiridina (*2pyMe-hist*)

Na seção anterior, verificamos uma influência estrutural da posição de ligação do anel imidazólico na orientação espacial (zig-zag ou macrocíclica) nos compostos imínicos $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}]_n$ **13** e $[\text{Cu}_4(\text{4imepy})_4](\text{ClO}_4)_4$ **14**, respectivamente. Porém, fatores estéricos relacionados ao tipo de ligante coordenado ao redor do íon metálico podem também influenciar na formação da cavidade dos compostos macrocíclicos. Neste caso, verificamos um aumento da cavidade para o composto $[\text{Cu}_6(\text{2pyMe-hist})_6](\text{ClO}_4)_6$ **17** ocasionado pela presença de um grupo metil na posição *orto*- do anel piridínico, quando comparado com as espécies tetranucleares $[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ **15** e $[\text{Cu}_4(\text{2-pyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ **16** (vide Esquema 11, p. 125). O composto **17** já havia sido descrito na literatura, cuja estrutura de raios-X está representada na Figura 86.⁹⁶ Existem também na literatura outros compostos imínicos de cobre(II) contendo grupos imidazólicos, em que o autor estuda a influência estérica do ligante na formação de espécies oligoméricas.¹⁰⁴

Figura 86- Representação ORTEP do complexo macrocíclico hexanuclear **17**.⁹⁶

4.2.2.1. Estudo de equilíbrios em solução (Titulação ácido-base)

Foram registrados os espectros eletrônicos em diferentes pHs partindo-se dos compostos $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2]^{2+}$ **8** e $[\text{Cu}(\text{2Mepy-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$ **12** em solução aquosa, visando obter informações sobre mudanças na simetria ao redor do cobre. Preparou-se uma solução estoque dos respectivos complexos de concentração igual a 2 mM, em 10 mL de água, registrando os espectros à temperatura ambiente, após adições de alíquotas de 0,4 μL de NaOH (0,1 M) ou 0,4 μL de HCl (0,1 M), a fim de obter diferentes pHs. Em ambos os casos, observou-se um aumento no valor da absorbância e um deslocamento no comprimento de onda para região de maior energia com o aumento do pH, conforme mostrado na Figura 87.

Figura 87- Estudo da variação do pH partindo do composto **8** em solução aquosa. (A) adição NaOH (0,1 M) e (B) adição de HCl (0,1 M).

Assim, monitorando a absorbância de uma amostra em um comprimento de onda específico em função do pH da solução, é possível obter o valor do pK_a a partir do coeficiente linear da curva construída tomando-se a relação $\text{pH vs. } \log f(A-A_{\min})/(A_{\max}-A)$,¹⁷⁰ onde:

$A_{\min}$ = menor absorbância da amostra;

$A_{\max}$ = maior absorbância da amostra;

A = absorbância total da mistura para um dado pH.

Neste caso, as absorbâncias foram acompanhadas em $\lambda = 570 \text{ nm}$ ($\text{pK}_a = 8,5$) e 640 nm ($\text{pK}_a = 8,6$) para os compostos **8** e **12**, respectivamente. Os mesmos valores de pK_a para ambos os compostos são coerentes, uma vez que os ligantes são análogos diferenciando-se somente na

¹⁷⁰ (a) H.H. Willard, L.L. Merritt, Jr., J.A. Dean, F.A. Settle, Jr., *Instrumental Methods of Analysis*, 7^a ed.; Wadsworth Pub. Co.; California, 1998; (b) P.W. Atkins, *Physical Chemistry*, 4^a ed.; Oxford University Press; Oxford, 1990.

posição do $-\text{CH}_3$ ao redor do anel piridínico, tendo pouca ou nenhuma influência na acidez do anel imidazólico. De fato, para os dois complexos imínicos descritos na literatura¹⁰⁴ utilizando o ligante tridentado 4-[(2-substituted-imidazol-ylmethylidene)amino]ethyl]pyridine, onde o 2-substituinte é o grupo metil ($\text{pK}_a = 7,5$) ou fenil ($\text{pK}_a = 7,0$), respectivamente, já se observa uma diferença um pouco maior entre os pK_a s das espécies precursoras. Neste caso, este substituinte na posição 2 do anel imidazólico resulta num grande aumento do caráter doador de elétrons do 2-metil- comparado ao 2-fenilimidazol.

O esquema a seguir ilustra para o complexo **12**, por exemplo, todos os equilíbrios envolvidos em solução aquosa. De uma maneira geral, as espécies di- e polinucleares contendo pontes cloreto, mostraram desdobramentos das hiperfinas nos espectros de EPR, na região de ~ 3100 G, relacionados à presença do equilíbrio com a respectiva espécie mononuclear, devido à labilidade dos íons cloretos, dependendo do contra-íon e do tipo de solvente utilizado (*vide* seção 4.1). Adicionalmente, em solução aquosa, estes compostos estão em equilíbrio com as correspondentes espécies polinucleares (macrocíclica ou zig-zag), onde os centros de cobre estão ligados através de um ligante ponte imidazolato, evidenciados por medidas espectroscópicas em diferentes pHs. Em meio alcalino, os compostos polinucleares contendo ponte imidazolato também foram isolados e caracterizados por diferentes técnicas espectroscópicas.

Esquema 15– Representação dos equilíbrios em solução.

Este mesmo estudo de variação do pH também foi realizado para o complexo **6** derivado do ligante 2-(benzimidazol)metileno-2-amino-1-etilpiridina = *apyambi*), vide seção 4.1.2, monitorado pela técnica de EPR, uma vez que este sistema mostrou uma melhor resolução das hiperfinas nas regiões de ~3100 e 1500 G (Figura 88). Preparou-se uma solução do complexo **6** em MeOH / H₂O (4:1, v/v), registrando os espectros a 77 K, após adições de alíquotas de 10 µL de NaOH ou HCl (0,1 M), afim de obter diferentes pHs.

Figura 88- Espectros de EPR do composto **6** em solução de MeOH / H₂O (3 mM), T = 77 K, em diferentes pHs.

Neste caso, foi possível detectar uma diminuição das hiperfinas nas regiões de $g = 2$ e $g \sim 4$ com o aumento do pH (Figura 88). Verificou-se que a faixa de maior probabilidade de encontrar ambas as espécies mono- (aquo) e dinuclear em solução MeOH / H₂O (4:1, v/v) está entre pH 3,4 – 4,8. Neste último pH observa-se uma diminuição e desaparecimento das hiperfinas em ambas as regiões do campo magnético, mostrando o equilíbrio aparentemente deslocado na formação da correspondente espécie mononuclear. Entre pH ~5 e ~8, observou-se o equilíbrio entre as espécies mono- e polinuclear. Em meio básico, somente um sinal isotrópico e alargado em 3100 G foi observado, provavelmente devido às interações magnéticas entre os íons metálicos, indicando a formação de uma espécie polinuclear contendo ponte benzimidazolato,¹⁷¹ e também devido à sobreposição ou *overlap* dos acoplamentos hiperfinos.

¹⁷¹ R.I. Daly, L.L. Martin, Inorg. Chem. Comm. 5 (2002) 777.

4.2.2.2. Espectroscopia eletrônica e vibracional

Todos os compostos polinucleares estudados contendo ponte imidazolato mostraram uma banda d-d deslocada para região de menor comprimento de onda, quando comparada com as respectivas espécies precursoras (Tabela 25). Em todos os casos a posição da banda d-d indica uma geometria do tipo pirâmide tetragonal.¹⁰⁴

Tabela 25- Dados de espectroscopia eletrônica em solução aquosa^(*) ou DMF dos compostos de cobre(II).

<i>Compostos</i>	<i>d → d', λ_{máx.} (nm)</i>
*[Cu(2imepy)Cl ₂] 1	670
*[Cu(2imepy)Cl] _n 13	632
[Cu(4imepy)Cl ₂] 2	682
[Cu ₄ (4imepy) ₄](ClO ₄) ₄ 14	632
[Cu ₂ (apyhist) ₂ Cl ₂](ClO ₄) ₂ 8	664
[Cu ₄ (apyhist) ₄](ClO ₄) ₄ 15	596
[Cu ₂ (2-pyhist) ₂ Cl ₂](ClO ₄) ₂ 9	664
[Cu ₄ (2-pyhist) ₄](ClO ₄) ₄ 16	596
[Cu(2pyMe-hist)Cl] _n (ClO ₄) _m 12	778
[Cu ₆ (2pyMe-hist) ₆](ClO ₄) ₆ 17	686

Além disso, observaram-se variações nas intensidades relativas nos espectros Raman em 1321, 1252, 1200 e 971 cm⁻¹, atribuídas à respiração do anel imidazólico (νC-C, C-N),^{146,160} podendo funcionar como ligante ponte entre os centros metálicos (Figura 89 e 90). Neste caso, utilizou-se como padrão interno o estiramento simétrico do íon perclorato ν_s(ClO₄⁻), em 930 cm⁻¹, para monitorar as intensidades relativas.¹¹² Comportamentos semelhantes já haviam sido discutidos anteriormente para os compostos **11**, **13** e **14**. A banda em 1649 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento vibracional C-N do anel imidazólico.

Na região de alta frequência, em torno de 3100 cm⁻¹, observou-se somente uma diminuição na intensidade relativa do estiramento N-H do anel imidazólico, quando comparado com os espectros das respectivas espécies polinucleares, enquanto que o esperado seria o desaparecimento total da banda. Neste caso, podemos inicialmente considerar que o material não está puro, porém existem nesta mesma região estiramentos vibracionais C-H de intensidades menores atribuídos ao anel piridínico. Portanto, bandas em outras regiões, também atribuídas aos estiramentos vibracionais do grupo imidazol devem ser consideradas.

Figura 89– Espectros vibracionais Raman dos complexos (A) $[\text{Cu}_2(2\text{-pyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **9** e (B) $[\text{Cu}_4(2\text{-pyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ **16**.

Figura 90– Espectros vibracionais Raman dos complexos (A) $[\text{Cu}(2\text{pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$ **12** e (B) $[\text{Cu}_6(2\text{pyMe-hist})_6](\text{ClO}_4)_6$ **17**.

4.2.2.3. Propriedades magnéticas e espectros de EPR

Medidas de susceptibilidade magnética, na presença de um campo magnético de 0,5 kOe, na região entre 1,8 e 290 K, foram também realizados para as espécies polinucleares **15-17** no estado sólido. As curvas experimentais de $\chi_M \times T$ estão representadas nas Figuras 91 e 92. Estes dados foram interpretados quantitativamente baseado no modelo de estrutura cíclica tetranuclear e hexanuclear, utilizando o Hamiltoniano de spin $H = -2J\sum_{i=1,n-1} S_i \cdot S_{i+1} - 2JS_1 \cdot S_n$, onde $n=4$ (**15** e **16**) e $n=6$ (**17**), e J é a integral de troca ou *exchange* Heisenberg entre dois ions adjacentes Cu(II). Este operador foi utilizado para calcular os níveis de energias dos anéis contendo 4 e 6 spins, através da variação da simetria do spin total. Seis estados de spin com valores de S_{total} entre 0 a 2 são obtidos para os complexos tetranucleares, enquanto que 20 estados de spins com S_{total} entre 0 a 3 são esperados para as espécies cíclicas hexanucleares de cobre(II).¹⁰⁴ Para o composto **17**, utilizou-se o programa CLUMAG para diagonalizar os elementos de matrizes contendo vários blocos S .^{148,151b} A susceptibilidade por mol foi finalmente calculada através da equação de Van Vleck.^{151b}

$$\chi = [Ng^2\beta^2\sum_i S(S+1)(2S+1)\exp(-E_i/kT)]/[3kT\sum_i (2S+1)\exp(-E_i/kT)] \quad (\text{eq. 15})$$

onde: N = número de Avogadro; k = constante de Boltzmann; e a soma estendida para todos os estados de spins do anel.

Na prática utilizou-se a equação 14 para o ajuste dos dados experimentais dos compostos **15** e **16**, conforme mostrado na Figura 91. Já para o composto **17**, com 6 centros metálicos, utilizou-se o formalismo descrito anteriormente para o ajuste da curva experimental, utilizando o programa CLUMAG, sendo que este trabalho foi realizado em colaboração com o Professor N. Matsumoto da Universidade de Kumamoto, Japão (Figura 92).

Figura 91– Curvas de $\chi_M \times T$ para os compostos (A) $[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ **15** e (B) $[\text{Cu}_4(2\text{-pyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ **16**.

Figura 92– Curvas de $\chi_M \times T$ para o composto $[\text{Cu}_6(2\text{pyMe-hist})_6](\text{ClO}_4)_6$ 17.

Os parâmetros magnéticos estão representados na Tabela 26, para todos os cinco compostos polinucleares contendo ponte imidazolato.

Tabela 26- Dados magnéticos para os complexos polinucleares estudados.

Compostos	$J/k, \text{cm}^{-1}$	g	p	$N\alpha, \text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$
$[\text{Cu}(2\text{imepy})\text{Cl}]_n$ 13	$-(32,4 \pm 1,2)$	2,0	0,03	165×10^{-6}
$[\text{Cu}_4(4\text{imepy})_4](\text{ClO}_4)_4$ 14	$-(55,5 \pm 0,4)$	2,3	0,02	432×10^{-6}
$[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ 15	$-(17,2 \pm 0,2)$	2,2	0,06	483×10^{-6}
$[\text{Cu}_4(2\text{-pyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ 16	$-(32,8 \pm 0,3)$	2,0	0,02	60×10^{-6}
$[\text{Cu}_6(2\text{pyMe-hist})_6](\text{ClO}_4)_6$ 17	-24,6	2,0	0,05	-----

Esquema 16- Representação dos complexos polinucleares de cobre(II) contendo ponte imidazolato.

Os altos valores calculados para a integral de troca ou *exchange* J/k sugerem uma coordenação do ligante ponte pela posição equatorial entre os íons metálicos, sendo compatíveis com outros compostos imínicos di- e polinucleares de cobre(II) contendo ponte imidazolato descritos na literatura.^{104,161,164} Uma análise comparativa entre as espécies foi então feita na tentativa de correlacionar estruturas com propriedades magnéticas, uma vez que pequenas variações nos ligantes coordenados podem modular as interações eletrônicas e magnéticas entre os íons metálicos. Inicialmente, observou-se que os complexos polinucleares estudados possuem estrategicamente a mesma base estrutural (Esquema 16), ou seja, ligantes do tipo imínico contendo anéis piridínico e imidazólico ao redor do íon metálico contendo pequenas variações estruturais. Por exemplo, verifica-se que os complexos 15, 16 e 17 são análogos diferenciados somente pela presença e pela posição do grupo $-CH_3$ em torno ou na proximidade do anel piridínico. Esta simples modificação estrutural ocasiona uma variação na densidade eletrônica causada pela adição

le um grupo receptor de elétrons ao redor do ligante imínico, além de provocar um aumento no impedimento estérico, forçando com isso uma distorção na geometria do íon cobre(II), corroborada pela banda d-d no espectro eletrônico em solução DMF (Tabela 26). Esta variação estrutural aumenta ou diminui a interação magnética entre os íons metálicos, dependendo do grau de recobrimento dos orbitais do metal com os orbitais *p* do nitrogênio. De fato, no composto **16** um maior acoplamento magnético foi observado devido ao menor efeito estérico do ligante, favorecendo o alinhamento dos orbitais envolvidos na comunicação magnética entre os íons de cobre(II).

A diferença entre os valores J/k calculados para os compostos **14** e **16** está relacionada com a maior sobreposição ou *overlap* entre os orbitais magnéticos, uma vez que a espécie **16** possui um resíduo de histidina em relação ao **14**. Além disso, espera-se uma maior deslocalização da densidade eletrônica para o complexo **14**, ocasionada pela presença de um grupo imínico próximo ao anel imidazólico, aumentando o grau de ressonância e conseqüentemente a comunicação eletrônica entre os íons metálicos.

Os espectros de EPR no estado sólido e em solução MeOH / H₂O (4:1, v/v), para todos os sistemas polinucleares em estudo, mostraram um forte alargamento do sinal, que pode ser explicado em função das diferentes interações anisotrópicas dos tensores *g*, *A* e *D* em função dos diferentes ângulos entre o campo magnético aplicado e a orientação molecular. Sendo assim, é possível fazer alguns comentários gerais a respeito da forma e da largura dos espectros de EPR para estes sistemas. Particularmente, quando os estados excitados estão próximos ao estado fundamental, ocasionado pela interação spin-spin e/ou pelo acoplamento spin-órbita dos íons metálicos, espera-se uma diminuição no tempo de relaxação e um alargamento das linhas de ressonância. Esta situação acontece com bastante frequência em sistemas envolvendo vários íons de cobre(II). Além disso, observam-se para todos os compostos polinucleares em estudo uma diminuição e um estreitamento da linha de ressonância à medida que abaixamos a temperatura, conforme mostrado na Figura 93. A causa do estreitamento e diminuição na intensidade da banda é devido ao acoplamento eletrônico entre os íons metálicos, favorecido a baixas temperaturas.

Particularmente, é conveniente pensar na interação *exchange* em termos de frequência em vez de em energia, uma vez que este tipo de interação causa uma rápida movimentação dos spins individuais ao longo dos centros metálicos, causando um alargamento do sinal devido ao efeito de interação média, por exemplo, os acoplamentos hiperfinos e os dipolos magnéticos.^{162c,172} As interações hiperfinas não resolvidas são as principais responsáveis pelo alargamento do sinal,

⁷² F.E. Mabbs, D. Collison, *Electron Paramagnetic Resonance of d Transition Metal Compounds*, Elsevier, Amsterdam, 1992.

principalmente em se tratando de sistemas polinucleares com empacotamento bi- ou tridimensional, onde as linhas tornam-se alargadas devido à sobreposição das hiperfinas individuais. Além disso, a interação *exchange* anisotrópica, descrita formalmente para uma espécie dimérica no Apêndice 1, pode também influenciar na largura da linha de ressonância. Ela surge devido ao efeito combinado da interação *exchange* isotrópica e do acoplamento spin-orbital. Em sistemas com uma simetria axial, este efeito tem uma contribuição, D_{ex} , sendo aproximadamente representado pela expressão $|D_{ex}| = J(g_{||} - g_{\perp})^2/g^2$.¹⁷³ No caso do composto **12**, contendo uma simetria axial (Figura 93A), estimou-se um valor de $0,23 \text{ cm}^{-1}$ para a interação anisotrópica, utilizando os seguintes parâmetros espectroscópicos: $g_{\perp} = 2,116$; $g_{||} = 2,483$; $J = -8,64 \text{ cm}^{-1}$.

Figura 93– Espectros EPR no estado sólido à temperatura 77 K. (A) $[\text{Cu}(\text{2pyMe-hist})\text{Cl}]_n(\text{ClO}_4)_m$ **12** e (B) $[\text{Cu}_6(\text{2pyMe-hist})_6](\text{ClO}_4)_6$ **17**.

4.2.2.4. Voltametria cíclica

Estudos eletroquímicos foram realizados para os complexos $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** e $[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ **15** em DMF, utilizando como eletrólito suporte uma solução 0,1 M de perclorato de tetraetilamônio (TEAClO_4). Utilizou-se o eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho, o eletrodo de rede de platina como eletrodo auxiliar e o eletrodo de Ag/AgCl como o de referência. Todos os potenciais obtidos foram acrescidos de +0,503 V para obtermos referência em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio (EPH).

Através do voltamograma cíclico mostrado na Figura 94A observa-se que o complexo **8** possui uma onda reversível, correspondente ao par $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$, com valores de $E_{1/2} = -0,20 \text{ V}$ *versus* EPH, enquanto o complexo **15** apresenta um comportamento quase-reversível, com valores de $E_{1/2} = -0,26 \text{ V}$ *versus* EPH, como mostra o voltamograma cíclico da Figura 94B. Na Tabela 27 encontram-se os valores de potenciais *versus* EPH para os dois complexos estudados.

¹⁷³ K.T. McGregor, Z.G. Soos, *Inorg. Chem.* 15 (1976) 2159.

Figura 94- Voltamogramas cíclicos para os complexos $[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ **8** e $[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ **15** em DMF contendo TEAClO_4 (0,10 M) vs Ag/Ag^+ , sob atmosfera de argônio.

Tabela 27– Relação Valores de potencial para os complexos de cobre(II) estudados vs. EPH.

<i>Compostos</i>	E_{pc} (V)	E_{pa} (V)	ΔE , mV	$E_{1/2}$ (V)
$[\text{Cu}_2(\text{apyhist})_2\text{Cl}_2](\text{ClO}_4)_2$ 8	-0,24	-0,16	80	-0,20
$[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4](\text{ClO}_4)_4$ 15	-0,36	-0,16	210	-0,26

Comparando-se os potenciais de pico catódico para os dois sistemas em estudo, verifica-se que a espécie tetranuclear possui um menor potencial de redução ($E_{\text{pc}} = -0,36$ V) quando comparada com a respectiva espécie **8**, indicando uma forte interação eletrônica entre os íons metálicos.

4.2.2.5. Atividade catalítica na oxidação do 3,5-DTBC

Nos últimos anos, vimos preparando e estudando vários compostos imínicos de cobre,^{41,44,108,116,131} incluindo espécies dinucleares, que se mostraram bons catalisadores na oxidação de fenóis, mimetizando características tanto estruturais com funcionais de enzimas de cobre, como tirosinases e catecol oxidases.^{41,44} Novos experimentos cinéticos são agora discutidos para as espécies polinucleares de cobre(II). Neste caso, utilizou-se a seguinte ordem de adição: solução tampão carbonato pH 7,64 ou 9,74 (2,0 mL; 50 mM); catalisador dissolvido em metanol

(0,12 mL; $4,98 \times 10^{-5}$ M) e por último 3,5-DTBC também dissolvido em metanol (0,38 mL; $7,60 \times 10^{-4}$ M), a $(25,0 \pm 0,3)^\circ\text{C}$. O catecol e o catalisador foram adicionados em sequência dentro de uma cela espectrofotométrica, de caminho óptico igual a 1,00 cm ($V = 3,00$ mL), e a reação foi monitorada espectrofotometricamente a 390 nm.^{51,116} A mesma quantidade equimolar de íons cobre foi considerada no cálculo da concentração do catalisador.

As curvas cinéticas obtidas mostraram uma dependência de primeira ordem com relação à concentração do catalisador e uma dependência de primeira ordem seguida de um efeito de saturação com variação da concentração do substrato (Figura 95).

Figura 95– Dependência da velocidade inicial de oxidação do 3,5-DTBC nas diferentes concentrações do catalisador e substrato, à temperatura de $(25,0 \pm 0,3)^\circ\text{C}$, numa solução-tampão carbonato de pH 9,74 (50mM). (A) $[\text{3,5-DTBC}] = 7,60 \times 10^{-4}$ M e (B) $[\text{catalisador}] = 4,98 \times 10^{-5}$ M.

Neste caso, os dados experimentais foram ajustados pela equação de Michaelis-Menten, e os parâmetros cinéticos, $V_{\text{máx}}$ e K_M , obtidos através da curva $1/V_i$ versus $1/[\text{TMPD}]$, como mostrado na Tabela 28. $V_{\text{máx}}$ é a velocidade máxima para atingir a concentração de saturação do substrato, $k_{\text{cat}} = V_{\text{máx}}/[\text{catalisador}]$ (conhecido como *turnover rate*) e K_M é a constante de dissociação do substrato proveniente do complexo catalisador-substrato.¹²⁹

Tabela 28– Parâmetros cinéticos determinados na oxidação do 3,5-DTBC catalisada pelos complexos imínicos de cobre(II).

<i>Compostos</i>	$k_{\text{cat}}, \text{min}^{-1}$	$K_M, \text{mol.dm}^{-3}$	k_{cat}/K_M
$[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}]^{\text{n}+}$ 13	$5,81 \times 10^3$	$6,37 \times 10^{-4}$	$9,12 \times 10^6$
$[\text{Cu}_4(\text{4imepy})_4]^{4+}$ 14	$5,80 \times 10^3$	$6,65 \times 10^{-4}$	$8,73 \times 10^6$
$[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4]^{4+}$ 15	$3,37 \times 10^3$	$12,5 \times 10^{-4}$	$2,70 \times 10^6$
$[\text{Cu}_4(\text{2-pyhist})_4]^{4+}$ 16	$4,28 \times 10^3$	$6,61 \times 10^{-4}$	$6,47 \times 10^6$
$[\text{Cu}_6(\text{2pyMe-hist})_6]^{6+}$ 17	$7,35 \times 10^3$	$4,03 \times 10^{-4}$	$18,2 \times 10^6$

Verifica-se que o complexo $[\text{Cu}_6(\text{2pyMe-hist})_6]^{6+}$ **17** é o que converte uma maior quantidade de produto por unidade de tempo e tem maior afinidade pelo substrato (menor K_M), conseqüentemente maior relação k_{cat}/K_M . Além disso, esta relação é praticamente 3 vezes maior quando comparado com a respectiva espécie tetranuclear $[\text{Cu}_4(\text{2-pyhist})_4]^{4+}$ **16**, indicando uma possível influência da cavidade na interação com o substrato 3,5-DTBC. Estudos de otimização da geometria, utilizando o programa HyperChem, foram realizadas para os dois complexos **16** e **17**, afim de se obter informações sobre as dimensões das cavidades e os fatores estéricos relacionados (Figura 96).

Figura 96– Geometrias dos complexos (A) $[\text{Cu}_6(\text{2pyMe-hist})_6]^{6+}$ **17** e (B) $[\text{Cu}_4(\text{2-pyhist})_4]^{4+}$ **16** otimizadas pelo programa HyperChem.

No cálculo de otimização da geometria do substrato 3,5-DTBC verifica-se que a maior distância entre carbono-carbono está em torno de 6,56 a 7,52 Å, correspondendo aproximadamente às dimensões da cavidade do composto tetranuclear **16**, dificultando a sua interação no interior do

catalisador. Por outro lado, a espécie hexanuclear **17** possui uma dimensão de cavidade em torno de 11,32 a 11,56 Å possibilitando facilmente a inserção do substrato. Em todos os casos, a catálise da reação pode também ocorrer na superfície do complexo.

Além disso, observa-se que as duas espécies isoméricas $[\text{Cu}(\text{2imepy})\text{Cl}]^{n+}$ **13** e $\text{Cu}_4(\text{4imepy})_4^{4+}$ **14** possuem a mesma eficiência catalítica e também a mesma afinidade pelo substrato, indicando que a catálise da reação ocorre preferencialmente na superfície do catalisador, em se tratando das espécies macrocíclicas tetranucleares. A diferença de reatividade entre os complexos tetranucleares está relacionada ao fator estérico, porém diferenças no potencial de oxidação é outro fator importante na reatividade.

Medidas cinéticas em solução-tampão carbonato pH 7,64 (50 mM) foram também realizadas para o composto **15**. Neste pH existe um equilíbrio entre as espécies mono- e tetranuclear e à medida que elevamos o pH do meio ocorre um aumento da velocidade da reação, devido ao deslocamento do equilíbrio para a formação do composto macrocíclico, além da facilidade de coordenação do substrato ao centro de cobre(II), favorecendo a reação catalítica (Tabela 29). Porém, mesmo para a reação não catalisada a velocidade aumenta, em pequenas proporções, a pHs mais alcalinos.

Tabela 29– Constantes cinéticas calculadas para o complexo **15**.

<i>Compostos</i>	pH	k_{cat} , min^{-1}	K_M , $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	k_{cat}/K_M
$[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4]^{4+}$ 15	7,64	$1,55 \times 10^3$	$63,8 \times 10^{-4}$	$2,43 \times 10^5$
	9,74	$3,37 \times 10^3$	$12,5 \times 10^{-4}$	$2,70 \times 10^6$

Observa-se que o valor de K_M em pH 9,74 é aproximadamente 5 vezes menor comparado ao pH 7,64, indicando uma maior interação com o substrato 3,5-DTBC e, conseqüentemente, maior relação k_{cat}/K_M , provavelmente devido à maior quantidade de espécies polinucleares em solução. Por outro lado, este valor de K_M em pH 9,74 é o dobro do valor quando comparado com as outras espécies tetranucleares (Tabela 28). Mostrando uma forte influência estérica do ligante, devido à presença do grupo $-\text{CH}_3$, e com isso dificultando a acessibilidade do substrato ao íon metálico.

4.3. Complexos heteronucleares de cobre e ferro como miméticos do sítio Cu_B na citocromo c oxidase: caracterização estrutural e investigação das espécies intermediárias provenientes de interações com moléculas pequenas

Novos sistemas heteronucleares envolvendo cobre(II) e ferro(III), utilizados como modelos da citocromo *c* oxidase, foram estudados por diferentes técnicas analíticas e espectroscópicas durante o período de estágio no exterior, no grupo do Prof. Luigi Casella, na Universidade de Pavia, Itália, no período de 10 de novembro de 2003 a 10 de maio de 2004. Este grupo tem projeção internacional, com contribuições relevantes na área de Bioinorgânica, focalizando principalmente proteínas de cobre.

Atualmente, para dar continuidade a este trabalho, os estudos foram divididos em duas partes, sendo que uma delas relacionada à caracterização do intermediário heme/Cu/O₂ formado em solução, a baixa temperatura (–55 °C), utilizando as técnicas de ¹H-RMN e Raman ressonante está em andamento no grupo do Prof. Casella, Itália. A outra parte deste trabalho está sendo realizada no Brasil por mim, no grupo da Profa. Ana Maria da Costa Ferreira, e focaliza a caracterização da geometria e dos estados de spin dos complexos heteronucleares anteriormente isolados, pela técnica de EPR.

Assim, nesta parte da tese, uma descrição completa das atividades desenvolvidas durante o período de estágio no exterior, além dos resultados já obtidos no Instituto de Química – USP/SP, são apresentados. Optou-se em apresentar este tópico em inglês, já que durante todo o trabalho realizado os relatórios foram também redigidos em inglês, para facilitar sua leitura e discussão pelos Professores Luigi Casella e Enrico Monzani, que ainda continuam me orientando no seu desenvolvimento, e também pelo aluno de doutorado Corrado Dallacosta, que tanto me ajudou. Os complexos sintetizados foram sugeridos pelo Prof. Casella e foram modulados utilizando como base alguns sistemas miméticos da CcO já reportados pelo seu grupo.^{89,90}

Resultados parciais destes estudos já foram apresentados em congressos europeu e brasileiro,^{a,b} e dados mais recentes deverão ser apresentados na Reunião Anual da SBQ, em maio/2005.^c Um manuscrito mais completo está em preparação.

^a W.A. Alves, C. Dallacosta, E. Monzani, L. Casella, 7th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EUROBIC 7), 2004, Garmish-Partenkirchen.

^b A.M.D.C. Ferreira, XII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry (XII BMIC) and II Join Brazilian/Italian Meeting on Inorganic Chemistry, L11, 2004, São Carlos, SP.

^c W.A. Alves, C. Dallacosta, E. Monzani, L. Casella, A.M.D.C. Ferreira, 28a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (28a. RASBQ), 2005, Poços de Caldas, MG.

Introduction

Cytochrome *c* oxidase (CcO), a membrane-bound metalloenzyme, is a member of the heme-copper terminal oxidase superfamily. It is involved in the respiratory chain of mitochondria and aerobic bacteria, and catalyzes the $4e^-/4H^+$ reduction of O_2 to water.^{46b,174} The three-dimensional structures of CcOs from *Paracoccus denitrificans*¹⁷⁵ and bovine heart^{61d,72a} demonstrate that the distal O_2 -binding activating site in CcO is composed of a myoglobin-type iron center (heme a_3) and a copper atom (Cu_B) with three histidine ligands, see Figure 97.^{61d} The Cu_B is located 4.5 Å from heme a_3 and about 1 Å away from the heme normal at Fe_{a_3} position toward one of the pyrrole nitrogens. His240, one of the distal histidines of bovine heart CcO, has a conjugate bound to the *ortho*-carbon of the phenolic OH of Tyr244. The Tyr hydroxyl group is also present within hydrogen-bonding distance of the dioxygen molecule bound to heme a_3 .

Figure 97- O_2 metabolic site of bovine heart cytochrome *c* oxidase.^{61d}

Though the detailed mechanism of the catalytic cycle has not been fully elucidated, some intermediates in the cycle have been assigned by time-resolved resonance Raman spectroscopy.^{46b,176} Therefore, a number of heme-based iron-copper dinuclear complexes have been synthesized to elucidate the mechanism of O_2 reduction in CcO,^{46b} but few research groups have generated new model systems, in which natural heme groups are utilized for generating an

¹⁷⁴ S. Ferguson-Miller, G.T. Babcock, Chem. Rev. 96 (1996) 2889.

¹⁷⁵ S. Iwata, C. Ostermeyer, B. Ludwig, H. Michel, Nature 376 (1995) 660.

¹⁷⁶ (a) T. Kitagawa, T. Ogura, J. Bioenerg. Biomembr. 30 (1998) 71; (b) T. Kitagawa, T. Ogura, Prog. Inorg. Chem. 45 (1997) 431.

analogue of a heme a_3 site. In this context, Casella's group reported the synthesis of porphyrin complexes modified with covalently linked chelating ligands for copper,^{89b} and L-histidine or glycyl-histidine residue to give the chelate deuterohemin / copper complex as shown in Figure 98.^{89a,90}

Figure 98- Synthetically derived heme-Cu assemblies.^{46b,89,90}

For all of the complexes in this series, the redox potential of the $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ couple seems to be experimentally higher than that of heme centers, allowing the researchers to generate a partially reduced $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{I}}$ or a fully reduced $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cu}^{\text{I}}$ form by utilizing various reductants, such as ascorbate or dithionite. Upon exposure of the fully reduced heme-copper complexes 1-4 to dioxygen at -45°C , direct oxidation occurs to give the fully oxidized $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ species without generating any O_2 intermediates, as determined by UV/Vis spectroscopy.^{89a,90} No porphyrin degradation is involved in this oxidation process at -45°C , but 1 and 2 show rather different O_2 reactivity at higher temperatures, where complete porphyrin degradation occurs, as shown by loss of intensity of the strong Soret absorption. However, for 3 and 4, which contain a heme-axial base, the room temperature oxygenation results in little or no porphyrin degradation. In present work, new complexes have been prepared replacing the porphyrin previously studied in the deuterohemin complexes with protoporphyrin IX or heme *b* which is contained in the heme-copper oxidases superfamily (Figure 99). Furthermore, microperoxidase-8 (MP8) has been modified by linking a polybenzimidazole residue at the *N*-terminal position, thus providing an efficient chelate for copper ion, as shown in Figure 99. The present system introduces significant new electronic, structural, and mechanistic features into the dioxygen chemistry of heme-Cu systems. The insights obtained may be useful to clarify the heme-copper oxidase O_2 -binding and the reduction

mechanism, as well as chemical or biochemical processes involving dioxygen-binding to metals, O₂-activation, and O-O reductive cleavage.

Figure 99- Minimized structures of two synthetic models of CcO obtained using HyperChem program, version 5.1 (from Hypercube Inc., Gainsville, FL, USA).

Experimental Section

Materials and Instrumentation: Dimethylformamide was purified by treatment with barium oxide, and distilled on calcium hydride under reduced pressure. The ligand *N,N*-bis[2-(1-methylbenzimidazol-2-yl)ethyl]amine (BB) was synthesized according to a published procedure.¹⁷⁷ All the other reagents were of highest purity available and used as received. Optical absorbance spectra were recorded with a HP 8452A diode array spectrophotometer. Mass spectra were recorded with a Finnigan LCQ ion trap mass spectrometer: the solution was introduced into the electrospray source at 8 $\mu\text{L min}^{-1}$ using the syringe pump of the instrument; the ESI source operates at 3.5 kV, the capillary temperature was set at 200 °C, and its voltage at 10 V; the experiments were performed in both positive and negative ion mode. ¹H-NMR spectra were recorded using a Bruker AMX Advance instrument operating at 400 MHz. HPLC purification of microperoxidase-8 was performed at room temperature using a SUPELCO C18 reverse phase

¹⁷⁷ L. Casella, M. Gullotti, R. Radaelli, P. Di Gennaro, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1991) 1611.

analytical column, with 5 μm particles. The eluate was monitored at 390 nm. The solvents chosen were: *solvent A*, 0.1% trifluoroacetic acid (TFA) in milli-Q water and *solvent B*, 0.1% TFA in CH_3CN ; gradient runs were performed with a flow rate of 1 mL min^{-1} . The elution was performed running for 2.5 column volumes with 20% B eluent and then with a gradient to 55% B in 7 column volumes.¹⁷⁸ EPR spectra were recorded in a Bruker EMX instrument, operating at X-band frequency, using standard Wilmad quartz tubes, at room temperature or at 77 K. $[\text{Cu}(\text{edta})]^{2+}$ solution (1.00 mmol.dm^{-3}) was used as frequency calibrant for frozen solutions.

Iron analysis was carried out by atomic emission spectrometry in an ICP-OES, Jobin Yvon – JY138 Ultrace model. Combining iron analysis and a UV/Vis spectrum in DMSO solvent, the extinction coefficient for the Soret band of Hm-GHBB and Hm-BB has been calculated.

Imidazole binding experiments with hemin complexes were performed spectrophotometrically upon addition of increasing amounts of concentrate ligand solutions (9.5 mM, 0.095 M, or 0.95 M) to dilute solutions of the hemin Hm-BB (6.3 μM), Hm-GHBB (4.2 μM), or Hm-GHBBCu^{2+} (5.3 μM) in DMSO.¹⁷⁹ In addition, azide binding experiments with hemin complexes were also followed spectrophotometrically by adding ligand solutions (1.8 mM, 0.018 M, or 0.18 M) to dilute solutions of Hm-GHBB (5.3 μM) or Hm-GHBBCu^{2+} (5.9 μM), both in MeOH solvent.

Low-Temperature Spectroscopy: The low-temperature UV/Vis spectra (-55°C) recorded during oxygenation of Hm-GHBB were obtained with a custom-designed immersible fiber-optic quartz probe (Hellma) fitted to a Schlenk vessel and connected to a HP 8453 diode array spectrophotometer. Preparation and handling of air-sensitive materials were carried out under an argon atmosphere using standard Schlenk techniques. Solvents and solutions were deoxygenated by repeated cycles of argon and vacuum directly through the solution. The experiments were performed in different solvents and reducing agents, but herein we reported the results obtained from the most relevant experiments.

Kinetic Experiments: The catalyzed oxidation of *p*-cresol in the presence of H_2O_2 was performed in a thermostated, magnetically stirred quartz cell, with 1 cm optical length and 3.00 ml volume, at $(25.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$, following the formation of the dimeric product at 300 or 316 nm, depending on the pH studied. The solvent used for the catalytic reactions were 200 mM acetate buffer at pH 5, and a mixture of methanol/aqueous phosphate or borate buffer 10 mM (7:3, v/v) at pH 7 and pH 9,

¹⁷⁸ L. Casella, L. De Gioia, G.F. Silvestri, E. Monzani, C. Redaelli, R. Roncone, L. Santagostini, J. Inorg. Biochem. 79 (2000) 31.

¹⁷⁹ E. Monzani, L. Linati, L. Casella, L. De Gioia, M. Favretto, M. Gullotti, F. Chillemi, Inorg. Chim. Acta 273 (1998) 339.

respectively. In these experiments the concentration of the substrate was set at 0.8 mM, while that of hydrogen peroxide was varied from 0.2 to 3 mM. The initial rates were evaluated from the slope of the absorbance versus time plots in the first few seconds of the reaction, in order to apply the pseudo zero-order approximation. The sequential addition of reagents in quartz cell were: buffer solution (pH 5) or mixture of methanol/aqueous phosphate or borate buffer (pH 7 and 9) sufficient for complete the total volume to 1600 μl ; buffer solution of *p*-cresol (10 μl , 0.8 mM); methanolic solution of the catalyst {Hm-GH (2.7 μM); Hm-GHBB (4.18 μM); or Hm-GHBBCu²⁺ (2.9 μM) } and hydrogen peroxide from 2 to 25 μl (171 mM). The reaction was initiated by the addition of H₂O₂ as the last reactant.

The transformation of the kinetic data from absorbance s⁻¹ to M·s⁻¹ was obtained by using the difference in the extinction coefficient between products and reactants at the appropriate wavelength. In the experiments at pH 5 and 7, the reactions were followed at 300 nm using $\Delta\epsilon$ value of 2350 M⁻¹ cm⁻¹; instead, in the experiments at pH 9 the working wavelength was 316 nm, with $\Delta\epsilon$ value of 7300 M⁻¹ cm⁻¹. These values were determined by enzymatic oxidation of *p*-cresol with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide following a procedure previously reported.¹⁷⁹

Measurement of Magnetic Properties: The Evans NMR method was used to determine the paramagnetic susceptibility of the complexes in solution. This method is based on the principle that the position of a given proton resonance in the NMR spectrum of a molecule is dependent on the bulk susceptibility of the medium in which the molecule is found.¹⁸⁰

The special NMR tubes used for these measurements consisted of precision-made coaxial outer and inner tubes. The sample in the inner tube was the solution of the paramagnetic hemin complex in CD₃OD with 2% CH₂Cl₂, and the solution in the outer tube was 2% CH₂Cl₂ in CD₃OD. The spectra were recorded on a Bruker Advance instrument operating at 400 MHz. The proton signals of CH₂Cl₂ in the inner and outer tubes were recorded and the separation of the two signals ($\Delta\nu$) was monitored and regarded as the paramagnetic shift. Mass magnetic susceptibility (χ_p) is correlated to the above measured $\Delta\nu$ as given in equation 16, where *c* is the concentration of the solution (mol/L), *M* the molecular weight of the complex, ν_0 the operating radiofrequency of the spectrometer, and χ_0 the susceptibility of pure solvent.

$$\chi_p = \chi_0 + (3000 \cdot \Delta\nu) \cdot (4\pi\nu_0 c M)^{-1} \quad (\text{eq. 16})$$

¹⁸⁰ (a) D.F. Evans, *J. Chem. Soc.* (1959) 2003; (b) J. Loliger, R. Scheffold, *J. Chem. Educ.* 49 (1972) 646; (c) S.K. Sur, *J. Magn. Reson.* 82 (1989) 169.

Molar magnetic susceptibility (χ_M) can then be calculated after the usual corrections.¹⁸¹ The magnetic moment in solution (μ_{eff}) was then obtained from the same shift data as reported in the literature.¹⁸²

Synthesis of Hm-GHBB

Figure 100- Schematic structure of Hm-GHBB.

Preparation of glycyl-L-histidine methyl ester dihydrochloride (GH): The ligand was prepared according to elsewhere described procedure.¹⁷⁹

¹H-NMR (D₂O) δ_H : 3.2-3.4 (m, 2H, CH₂-imidazol); 3.80 (s, 3H, OCH₃); 3.87 (s, 2H, CH₂-NH₃⁺); 4.7-5.0 (m, 1H, α -CH); 7.34 (d, 1H, imidazol 4-CH); 8.65 (d, 1H, imidazol, 2-CH).

Scheme 17-

¹⁸¹ R.L. Carlin, Magnetochemistry, Sprinter, New York (1986).

¹⁸² I. Bestini, C. Luchinat, NMR of Paramagnetic Substances, Elsevier, Amsterdam (1996).

Figure 99- ^1H -NMR spectrum of GH compound in D_2O .

Activation of bovine hemin with pentafluorophenyl trifluoroacetate: Activation of the protoporphyrin IX was based in a previously described procedure,¹⁸³ with suitable modifications. Commercial bovine hemin chloride (Aldrich) (500 mg, 0.77 mol) was dissolved in anhydrous pyridine (1.65 mL) and DMF (2.48 mL). The pentafluorophenyl trifluoroacetate (Aldrich) (1.32 mL, 7.67 mmol) was added to the solution, and the mixture was stirred at room temperature. After 12 h, TLC analysis (eluent CH_2Cl_2 / MeOH, 8:2, v/v) showed the complete conversion of the starting material into the ester containing pentafluorophenyl. The solvent was then removed under vacuum, and the residue dissolved in MeOH. The resulting solution was centrifuged, the solid was collected and dried under reduced pressure.

¹⁸³ V. Esposito, A. Galeone, L. Mayol, G. Oliviero, A. Randazzo, M. Varra, Eur. J. Org. Chem. (2002) 4228.

Tentative of preparation of the modified hemin complex Hm-GHBB:

Scheme 18-

A solution of the activated bovine hemin (842 mg, 0.85 mmol) was treated with triethylamine (564 μL , 4.25 mmol) in a minimum volume of fresh distilled DMF, followed by the addition of GH (295 mg, 0.93 mmol), and BB (284 mg, 0.85 mmol), both previously dissolved in the minimum amount of anhydrous DMF. The resulting solution was maintained under continuous stirring at room temperature, followed by TLC analysis (eluent CH_2Cl_2 / MeOH, 9:1, v/v). The solvent was then removed under vacuum and the residue dissolved in the minimum volume of CH_2Cl_2 . The resulting solution was purified on a chromatographic silica gel column, eluted with CH_2Cl_2 / MeOH (9:1, v/v). All the fractions were separately evaporated to dryness under vacuum. Six different products were separated, but only four of these compounds have been identified by ESI-MS and electronic spectra. Surprisingly, the formation of the Hm-GHBB was not observed probably due to different reactivity of GH and BB species with activated porphyrin. Furthermore,

there is steric restriction caused by intermolecular stacking interactions between the BB ligand hindering the access of GH to the other carboxylic group and allowing an easier formation of Hm-bis(BB). In addition, the presence of two fractions was observed, consisting of mono-substituted hemin complexes (Hm-GH and Hm-BB).

Particularly, Hm-GH and Hm-bis(GH) showed a single TLC spot (silica gel, 1-butanol-acetic acid-water, 4:1:1, v/v/v; $R_F = 0.37$ and 0.10, respectively), similarly to what has been found for deuterohemin-2(18)-glycyl-L-histidine methyl ester (DH-GH) and deuterohemin-2,18-bis(glycyl-L-histidine)dimethyl ester (DH-bis(GH)).¹⁷⁹

ESI-MS: Calcd. for Hm-bis(GH) 1033, found 1032;

ESI-MS: Calcd. for Hm-bis(BB) 1247, found 1246 and 1304 (impurity);

ESI-MS: Calcd. for {Hm-BB + H₂O} 950, found 950;

ESI-MS: Calcd. for Hm-GH 825, found clusters of peaks centered at m/z 826.

Figure 100- ESI-MS spectrum for Hm-GH.

Preparation of the modified hemin complex Hm-GHBB:

The reagent Hm-GH (117 mg, 1.42×10^{-4} mol) obtained as above was treated with triethylamine (60 μ L, 4.64×10^{-4} mol), hydroxybenzotriazole (94 mg, 7×10^{-4} mol), and *o*-benzotriazol-1-yl-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium hexafluorophosphate (54 mg, 1.42×10^{-4} mol) in a minimum

volume of fresh distilled DMF. The solution was stirred for 20 min at room temperature and finally BB was added (100 mg, 2.84×10^{-4} mol). The progress of the reaction was monitored by TLC analysis (eluent CH_2Cl_2 / MeOH, 8:2, v/v). The solvent was then removed in vacuum and the residue dissolved in CH_2Cl_2 . The resulting solution was purified on a silica gel column, eluted by CH_2Cl_2 / MeOH (8:2, v/v). Fractions containing the product, taken to dryness, afforded the compound Hm-GHBB. The ESI-MS spectra showed a peak at m/z 1139, in good agreement with calculated m/z 1140. The complex Hm-GHBB showed a single TLC spot in silica gel at $R_F = 0.72$ (eluent CH_2Cl_2 / MeOH, 8:2, v/v).

Figure 101- ESI-MS spectrum for Hm-GHBB.

Synthesis of the MP8-BB

MP8 is a heme octapeptide obtained by hydrolytic digestion of horse heart cytochrome *c*. At pH above 3-4, the imidazole side chain of His18 is deprotonated and can bind the iron, and a water molecule acts as the sixth axial ligand. From pH 9, the water molecule is replaced by OH^- ion, causing a thermal equilibrium mixture between high and low-spin forms. This system and related microperoxidases (MPs) are often used as model systems for heme proteins, in particular for

cytochromes P450 or peroxidases.^{178,184,185} Our interest here is focused on the combination of MP8 and copper complex containing modified BB ligand, to obtain an interesting model for the active site of cytochrome *c* oxidase. Moreover, the isolation and reactivity of such hetero-dimetallic complex as a model for heme-copper oxidase has never been reported.

Figure 102- Minimized structure of MP8-BB obtained using HyperChem program, version 5.1 (from Hypercube Inc., Gainsville, FL, USA).

Purification of microperoxidase 8 (MP8): Microperoxidase-8 was prepared by sequential peptic and tryptic digestion of horse-heart cytochrome *c* (Sigma) as previously described.¹⁸⁵ The solution was concentrated by ultrafiltration using an Aminco ultrafiltration cell (YM2 membrane). The resulting octapeptide was then purified by HPLC using a SUPELCO C₁₈ reverse phase column.¹⁷⁸

¹⁸⁴ (a) D.A. Baldwin, H. Marques, J.M. Pratt, *J. Inorg. Biochem.* 30 (1987) 203; (b) A.M. Osman, J. Koerts, M.G. Boersma, S. Boeren, C. Veeger, I. Rietjens, *Eur. J. Biochem.* 240 (1996) 232; (c) M.G. Boersma, J.L. Primus, J. Koerts, C. Veeger, I.M. Rietjens, *Eur. J. Biochem.* 267 (2000) 6673.

¹⁸⁵ C. Dallacosta, E. Monzani, L. Casella, *J. Biol. Inorg. Chem.* 8 (2003) 770.

Figure 103- Minimized structure of MP8.

Preparation of $\text{BB}(\text{CH}_2)_2\text{COOMe}$:

The ester and the corresponding acid $\text{BB}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ were prepared according to previously described procedure.¹⁸⁶ A solution of BB (140 mg, 0.42 mmol) in methyl acrylate (4 mL) was stirred at 70°C for three days. TLC analysis (eluent MeOH / CH_2Cl_2 / Et_3N , 4:1:1, v/v/v) showed partial conversion of the starting material into the corresponding ester. The solvent was then removed under vacuum and the solid dissolved in MeOH. The resulting solution was purified on a silica gel column, eluted with MeOH / CH_2Cl_2 / Et_3N (4:1:1, v/v/v).

^1H -NMR (CDCl_3) of **BB** δ_{H} : 7.8-7.6 and 7.3-7.1 (m, 8H, phenyl H + benzimidazolyl H); 3.70 (s, 6H, CH_3N); 3.25 (t, 2H, benzimidazole CH_2); 3.05 (t, 2H, CH_2N); 1.70 (s, 1H, NH).

Scheme 19

¹⁸⁶ Tesi Sperimentale di Laurea in Chimica di Corrado Dallacosta (2002), Dipartimento di Chimica Generale, Università Degli Studi di Pavia, Italia.

Figure 104- ¹H-NMR spectrum of BB compound in CDCl₃.

Figure 105- ¹H-NMR spectrum of BB(CH₂)₂COOMe compound in CDCl₃.

Preparation of BB(CH₂)₂COOH:

BB(CH₂)₂COOMe was dissolved in the minimum amount of MeOH. Then, 10% methanolic KOH (5 mL) was slowly added, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 24 h. Then, the solvent was removed in vacuum and the product extracted with CH₂Cl₂.

Figure 106- ¹H-NMR spectrum of BB(CH₂)₂COOH compound in D₂O.

Activation of BB(CH₂)₂COOH with pentafluorophenyl trifluoroacetate:

The acid BB(CH₂)₂COOH (16.21 mg, 0.04 mmol) was dissolved in minimum amount of anhydrous DMF and pyridine (88.2 μL). The pentafluorophenyl trifluoroacetate (Aldrich) (49 μL, 0.28 mmol) was added to solution, and the mixture was stirred at room temperature for 12 h. The solvent was then removed in vacuum, and the product utilized in the reaction with MP8.

Preparation of the complex MP8-BB:

Activated BB(CH₂)₂COOH was treated with triethylamine (37 μL, 0.26 mmol) in the minimum volume of fresh distilled DMF, followed by addition of MP8 (1.8 mL, 0.036 mmol). The resulting solution was maintained under continuous stirring at room temperature for 12 h. HPLC analysis of MP8 showed two peaks at different retention time.

Figure 107- HPLC analysis of reaction between MP8 and $\text{BB}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ activated with pentafluorophenyl trifluoroacetate.

Figure 108- Electronic spectrum of MP8-BB compound from HPLC.

Results and Discussion

Characterization and Ligand-Binding Properties

The ESI-MS spectra of the ligands prepared were consistent with the proposed formulas as shown in the experimental section, and are corroborated by electronic spectra. The UV/Vis spectra of Hm-GHBB and Hm-BB complexes in DMSO solutions showed intense absorption bands in the range 230-300 nm, attributed to $n \rightarrow \pi$ and $\pi \rightarrow \pi^*$ transitions in the benzimidazole ligand, and a typical Soret band at 404 nm, with splitting of visible band around 550 nm, characteristic of high-spin complexes (Figure 109). Hm-bis(GH) exhibits optical features typical of low-spin complexes even in non-coordinating solvent, indicating that both imidazole groups remain axially coordinated to the iron center. Calculated extinction coefficient values for Hm-GHBB and Hm-BB, at 404 nm in DMSO, were $141000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ and $111000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, respectively. Similarly to the autohemimono-peptide adducts,¹⁷⁹ Hm-GHBB was obtained as an isomeric mixture, since the two ligands can be linked to both propionate groups. The separation of the two isomers was not carried out due to little amount of available material, and because both isomers show almost identical chemical properties.

The mixed-metal complex Hm-GHBBCu^{2+} was obtained mixing equimolar methanolic solutions of the modified hemin complex Hm-GHBB and of copper(II) perchlorate. The addition of the metal ions causes only negligible perturbation in the electronic spectrum of Hm-GHBB, as shown in Figure 110.

Figure 109- Electronic spectra of hemin complexes in different solvents: Hm-GHBB (DMSO), Hm-BB (DMSO), Hm-bis(GH) (MeOH), Hm-bis(BB) (CH_2Cl_2).

Figure 110- Electronic spectra of Hm-GHBB, and HmGHBBCu²⁺ complexes in methanol.

Spectrophotometric titration of Hm-GHBB, Hm-GHBBCu²⁺, and Hm-BB with exogenous imidazole in DMSO (Figures 111-113) allowed the determination of the corresponding binding constants as shown in Table 30. Since in coordination sphere of the hemin complexes containing bis(benzimidazole) ligand the presence of an imidazole group axially bound to the iron(III) center promotes the folding of the bis(benzimidazole) arm towards the opposite part of the porphyrin plane, a decreasing in the affinity for additional exogenous imidazole to give the six-coordinate low-spin adduct was observed.⁹⁰

Table 30- Binding constants of imidazole to hemin complexes determined by spectral titration in DMSO.

<i>Complexes</i>	K_1, M^{-1}	K_2, M^{-1}
Hm-BB	190 ± 10	910 ± 50
Hm-GHBB	9500 ± 700	410 ± 50
Hm-GHBBCu ²⁺	6500 ± 100	240 ± 10

It is also apparent that the glycyL-L-histidine side chain in Hm-GHBB increases the stability of the six-coordinate adduct with respect to the corresponding Hm-BB complex, with $K_1 = (9500 \pm 700) M^{-1}$ for Hm-GHBB and $K_2 = (910 \pm 50) M^{-1}$ for Hm-BB/imidazole (this constant refers to the binding of the second imidazole ligand to Hm-BB compound). The presence of a chelated imidazole residue increases the binding constant for the exogenous sixth imidazole ligand by one order of magnitude. Similar conclusion has been described previously for deuterohemins lacking the bis(benzimidazole) arm.⁹⁰ Particularly, the values found in this work are both higher than those found for K for imidazole binding to DH-GHBB and DH-BB/imidazole,⁹⁰ due to only in part to the increase polarity of the solvent employed here. The relative ease with which replacement of the imidazole residues from glycyL-L-histidine in Hm-GHBB occurs at higher imidazole concentrations with $K_2 = (410 \pm 50) M^{-1}$ may be related to conformational mobility of the chelated arm.

The binding constants of imidazole to Hm-GHBBCu²⁺ complex $K_1 = (6500 \pm 100) M^{-1}$ and $K_2 = (240 \pm 10) M^{-1}$ are comparable to those of Hm-GHBB (Figures 114), probably due to small interaction between the metallic ions having the BB residue coordinate to the copper(II) ion. This BB residue avoids the interaction of the exogenous imidazole ligand towards the porphyrin plane, and increases the stability of complex formed by the replacement of the imidazole residues from glycyL-L-histidine, at higher imidazole concentration.

The binding constants were determined from experimental curves of increasing ΔAbs (difference between maximum and minimum at Soret bands) as a function of imidazole concentration in solution, and fitted by the equation of reduced affinity containing two steps,¹⁸⁷ as shown in Figure 114.

Figure 111- Difference spectra, titration of Hm-GHBB with imidazole in DMSO.

Figure 112- Difference spectra, titration of Hm-GHBBCu²⁺ with imidazole in DMSO.

¹⁸⁷ L. Casella, M. Gullotti, L. De Gioia, E. Monzani, F. Chillemi, J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1991) 2945.

Figure 113- Difference spectra, titration of Hm-BB with imidazole in DMSO.

Figures 114- Determination of K_1 and K_2 using fitting program version 2.2 (from Fig.P Software Corporation, Durham, NC, USA).

Azide binding experiments were also performed for Hm-GHBB and Hm-GHBBCu²⁺ complexes, but in this case the titrations were carried out in methanol solution (Figures 115 and 116). An analysis of the titration data according to a procedure similar to that employed for the imidazole ligand leads to analogous azide binding constants, in both cases. Interestingly, the azide association constant to the complex containing copper(II) ion, $K_1 = (169000 \pm 7000) \text{ M}^{-1}$, is 5-fold larger than that for Hm-GHBB, $K_1 = (33000 \pm 2500) \text{ M}^{-1}$, since the Hm-GHBBCu²⁺ seems available to adopt a closed conformation in the presence of small anionic ligands that can form intramolecular bridges between the Fe(III) and Cu(II) ions. On the other hand, the adduct Hm-GHBBCu²⁺ with azide-bridge formed appears to be unstable at higher azide concentrations, leading to the coordination of additional azide molecules to the iron(III) or copper(II) ions, separately, with $K_2 = (4500 \pm 300) \text{ M}^{-1}$. However, for Hm-GHBB the second binding constant $K_2 = (1700 \pm 100) \text{ M}^{-1}$ is related to the replacement of the iron-bound imidazole residues from glycyl-L-histidine by added azide ligand. Those data were fitted using the equation of reduced affinity containing two steps for both systems, and are shown on Table 31 and Figure 117.

Table 31- Binding constants of azide to hemin complexes determined by spectral titration in methanol.

<i>Complexes</i>	K_1, M^{-1}	K_2, M^{-1}
Hm-GHBB	33000 ± 2500	1700 ± 100
Hm-GHBBCu ²⁺	169000 ± 7000	4500 ± 300

Figure 115- Difference spectra, titration of Hm-GHBB with azide in methanol.

Figure 116- Difference spectra, titration of Hm-GHBBCu²⁺ with azide in methanol.

Figure 117- Experimental determination of K_1 and K_2 with azide.

Low-Temperature Spectroscopy

The reduction of Hm-GHBB complex was easily realized by addition of an equivalent amount of pyridine, both dissolved in freshly distilled DMF solvent and bubbling CO through this solution. The spectra changed, as shown in Figures 118. The CO facilitates the reduction process

increasing the $E^\circ(\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}})$ values. It is important to notice that the subsequent exposition of the solution to dioxygen is accompanied by the formation of the corresponding iron(III) complex without significant degradation (Figures 119).

Figures 118- UV/Vis spectra recorded during the reduction of Hm-GHBB by pyperidine (Aldrich) in DMF, in the presence of CO at room temperature.

Figures 119- UV/Vis spectra recorded during exposition to air of reduced Hm-GHBB(CO) in DMF, at room temperature.

Initial indication that reduced hemin compound forms a dioxygen adduct came from low-temperature UV/Vis spectroscopy (Figures 120). Bubbling O_2 through a solution of reduced Hm-GHBB(CO) $\{\lambda_{\max} = 420 \text{ nm (Soret); and } 540, 565 \text{ nm}\}$ in DMF solvent, at -55°C , reveals the presence of a new species, formulated as the heme-superoxo complex Hm-GHBB(O_2^-) $\{\lambda_{\max} = 412 \text{ nm (Soret); and } 545, 575 \text{ nm}\}$ which was found to be stable at low temperatures. While rising temperature (to approximately 0°C), it was observed an initial shift of the Soret band to give back the reduced complex Hm-GHBB(CO), returning to the initial position $\{\lambda_{\max} = 400 \text{ nm (Soret); } 580 \text{ and } 600 \text{ (sh) nm}\}$ at room temperature, without any significant oxidative decomposition of the porphyrin. A similar behavior could be observed for Hm-GHBBCu $^{2+}$, indicating that the oxygenated species is a superoxo rather than a peroxo-bridge (Figures 121), probably due to non-reducing of the copper(II) ion in the presence of pyperidine reducing agent, or because the interaction between the iron and copper is small, due to the reduced electronic density from bidentate amino bis(benzimidazole) ligand over copper(I) ion, blocking the formation of an intramolecular Fe(III)- O_2^{2-} -Cu(II) complex. Particularly, extensive studies on copper (only) dioxygen systems have shown that even subtle changes in ligand structure can dramatically alter the nature of the [(ligand)Cu I /O $_2$] product.^{9b,24,144} On the other hand, we have seen, by azide binding experiments, that the azide binding constant to the complex containing copper(II) ion is much higher when compared with the same compound without copper, indicating that Hm-GHBBCu $^{2+}$ seems suitable to adopt a closed conformation in which an azide-bridge is formed between the Fe III and Cu II ions. This indicates that this ligand can be utilized as a model system for the dioxygen binding in binuclear sites.¹⁴⁴

Figures 120- UV/Vis spectra of Hm-GHBB, Hm-GHBB(CO), and Hm-GHBB(O₂⁻) in DMF, at -55 °C.

Figures 121- UV/Vis spectra of Hm-GHBBCu²⁺, Hm-GHBBCu²⁺(CO), and Hm-GHBBCu²⁺(O₂⁻) in DMF, at -55 °C.

We repeated the previous experiments with Hm-GHBB complex in CH₂Cl₂, with CO bubbling and using pyperidine as reducing agent. The temperature was lowered to -55 °C and pure oxygen was added, producing the corresponding superoxo-intermediate species. After this, an equimolar

amount of $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{CH}_3\text{CN})_4](\text{PF}_6)$ previously dissolved in CH_2Cl_2 was added to the solution, but no significant spectral variation was observed during the monitoring time of a few hours (Figures 122).

Figures 122- UV/Vis spectra of Hm-GHBBCu^{2+} , $\text{Hm-GHBBCu}^{2+}(\text{CO})$, and $\text{Hm-GHBBCu}^{2+}(\text{O}_2^-)$ in CH_2Cl_2 , at $-55\text{ }^\circ\text{C}$.

In another set of experiments, triethylamine and hydrogen peroxide were added subsequently in DMF solution containing Hm-GHBBCu^{2+} complex in the oxidized form, at $-55\text{ }^\circ\text{C}$, to verify possible formation and the spectral features of a peroxo-intermediate species in solution. In this case, we observed a species with different spectral characteristics from the heme-superoxo complex described before, indicating that the adduct formed is probably a peroxo-bridge species, as shown in Figures 123 and 124. Further structural studies in this system, using $^1\text{H-NMR}$, resonance Raman, and magnetic investigations are presently in progress in Casella's group, to establish the nature of the interaction of oxygen with both the Fe^{III} and Cu^{II} centers, and will be reported later, in a full paper.

Figures 123- UV/Vis spectra of Hm-GHBBCu²⁺ (1.1×10^{-5} M, 8.9×10^{-8} mol) with addition of triethylamine (5.4×10^{-7} mol) and hydrogen peroxide (2.8×10^{-7} mol) in DMF solution, at -55 °C.

Figures 124- Comparative UV/Vis spectra of Hm-GHBBCu²⁺, Hm-GHBBCu²⁺(O₂²⁻), and Hm-GHBBCu²⁺(O₂⁻) in DMF, at -55 °C.

Catalytic Oxidations

Heme peroxidases and related porphyrin models oxidize phenolic compounds in the presence of hydrogen peroxide, giving rise initially to a phenoxy radical and, subsequently, to a mixture of oligomeric products. When the initial phase of the reaction is taken into account, the formation of higher products can be neglected and the only products formed are the α - α dimer (I) and the dimer called Pummere's ketone (II).¹⁸⁸ The overall reaction can be written as:

An important step in the catalytic process is the transformation of the catalyst into a high valent species upon reaction with hydrogen peroxide. In peroxidases, the heterolytic cleavage of the iron bound peroxide is facilitated by a hydrogen bond between the coordinated peroxide and the protonated distal histidine.¹⁸⁹ Moreover, the presence of the coordinated histidine residue facilitates the transformation of the catalyst in a high valence state species, after reaction with the peroxide, but at the same time accelerates the phenol oxidation process.¹⁹⁰

Particularly, in the peroxidase oxidation of phenols the catalyst must react with hydrogen peroxide before the oxidation of the substrate takes place. The slowest reaction of the two processes is the rate-determining step. To characterize the activation step, the concentration of the substrate was kept to a high value in order to increase the rate of the steps requiring participation of the phenol. In this condition, the rate-determining step is the formation of the high valence state of the catalyst, which subsequently reacts with the substrate in a fast step. The determined rate law follows the equation:

$$\text{Rate} = k_1 \cdot [\text{Catalyst}] \cdot [\text{H}_2\text{O}_2]$$

Analyzing the dependence of the reaction rate on the peroxide concentration, the k_1 constant for Hm-GH, Hm-GHBB and Hm-GHBBCu²⁺ at pH 5, pH 7 and pH 9 could be obtained (Table 32). In these experiments a moderately high concentration of *p*-cresol (0.8 mM) was used.

¹⁸⁸ L. Casella, S. Poli, M. Gullotti, C. Selvaggini, T. Beringhelli, A. Marchesini, *Biochemistry* 33 (1994) 6377.

¹⁸⁹ (a) T.L. Poulos, *Adv. Inorg. Biochem.* 7 (1988) 1; (b) P.R. Ortiz de Montellano, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 33 (1992) 89; (c) L. Casella and S. Colonna, in F. Montanari and L. Casella (eds.), *Metalloporphyrins Catalyzed Oxidations*, Kluwer, Dordrecht (1994).

¹⁹⁰ L. Casella, E. Monzani, P. Fantucci, M. Gullotti, L. De Gioia, A. Strini, F. Chillemi, *Inorg. Chem.* 35 (1996) 439.

Table 32- Second-order kinetic constants for the oxidation of *p*-cresol by hemin complexes, at $(25 \pm 0.1)^\circ\text{C}$, in 200 mM acetate buffer (pH 5), and a mixture of methanol/aqueous phosphate or borate buffer 10 mM (7:3, v/v), at pH 7 and pH 9, respectively.

Complexes	k_1 ($\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), pH 5	k_1 ($\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), pH 7	k_1 ($\text{M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), pH 9
Hm-GH	20 ± 2	3161 ± 85	591 ± 15
Hm-GHBB	74 ± 1	1232 ± 36	228 ± 6
Hm-GHBBCu ²⁺	102 ± 3	1099 ± 12	46 ± 1
MP8 (ref. 185)	680 ± 10	-----	13300 ± 350

Figures 125- Plots of *p*-cresol oxidation rates vs. $[\text{H}_2\text{O}_2]$ for hemin complexes, at $(25 \pm 0.1)^\circ\text{C}$, in 200 mM acetate buffer (pH 5).

Data analysis at pH 5 showed that the presence of a distal protonated benzimidazole ligand, or the presence of a copper(II) ion coordinated to the benzimidazole residue, increases approximately 5-fold the rate of the peroxidative reactions when compared to Hm-GH, with $k_1 = (20 \pm 2) \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ (Table 32, Figures 125), since the Hm-GHBB(H^+) and Hm-GHBBCu²⁺ species have positive charge that facilitates the heterolytic cleavage of the iron-bound peroxide by a dipole interaction between them.

It must be considered that the presence of the Gly-His motif forces the bis(benzimidazole) residue to fold in the distal side of the hemin.

The values of k_1 are higher in the experiments performed at pH 7 (Table 32). Increasing of the pH increases the fraction of anionic peroxide (HO_2^-) present in solution, facilitating its coordination to iron. A steric match at the distal side of Hm-GHBB and Hm-GHBBCu²⁺ seems to be a determining factor in its reactivity. In fact, minimized structures were obtained for Hm-GHBBCu²⁺ using the HyperChem program, which is only indicative, and showed that the side chain containing BB ligand is very flexible, allowing its approach to the heme group through favorable hydrophobic interaction (*stacking*). This arrangement leads to a decrease in the k_1 value for Hm-GHBB and Hm-GHBBCu²⁺ compared to Hm-GH. The smallest reactivity of the compound Hm-GHBBCu²⁺ could be explained by the formation of an iron-copper bridged hydroxo complex. In this case the interaction of H_2O_2 with the iron is slower because requires the replacement of the bridged hydroxide. Another possible explanation for the lowest activity of Hm-GHBBCu²⁺ is a possible additional catalase activity of the copper(II) complex.

Surprisingly, at pH 9 the reaction rate is slower than that at pH 7 probably due to the facilitated coordination of a hydroxo group to the iron. The formation of the active species requires the slow dissociation of the iron(III)-bound hydroxide and the subsequent binding of hydrogen peroxide. The k_1 value observed for Hm-GHBB is further reduced due to the presence of the stacking interaction of bulky benzimidazole groups. In the Hm-GHBBCu²⁺ complex the presence of a bridged hydroxo group causes a dramatic drop in k_1 . Different behavior had been observed with MP8 at pH 9, indicating a biggest influence of the electronic density of the porphyrin in this reactivity due to heme *c* in MP8 (see Table 32), but others studies using different models of peroxidase should be performed in order to compare their structural properties with the corresponding peroxidase-like activity.

In particular, in alkaline medium ferric derivatives of several model and native hemeproteins showed apparently intermediate spin values due to the existence of a thermal equilibrium between high and low-spin forms.¹⁹¹ However, in this case we observed only high spin forms for all complexes studied in alkaline solution, as shown in Figures 126.

¹⁹¹ E. Antonini and M. Brunori, Hemoglobin and Myoglobin in Their Reactions With Ligands, North – Holland Publishing Company, Amsterdam – London (1971).

Figures 126- UV/Vis spectra of Hm-GHBB and *p*-cresol in mixture of methanol/aqueous borate buffer 10 mM (7:3, v/v), at pH 9.

Measurement of Magnetic Properties and ^1H -NMR Spectra

From Evans susceptibility method, the room temperature magnetic moment of Hm-GHBB in CH_2Cl_2 solution is 5.33 BM, following Curie law behavior as shown in Figures 127, and indicating a high-spin $S = 5/2$ for the heme a_3 center.

Figures 127- Plots of χ_M versus Temperature for Hm-GHBB, using Evans method.

Preparation of analogous complexes

Simple Cu^{II} complexes with the ligands BB and AcBB were prepared, with the aim of characterizing the geometry and number of coordination of the sites around copper ions and comparing to those in Hm-GHBBCu^{2+} species, since the BB and AcBB are tri- and bidentate ligands, respectively. The *N*-Acetyl-*N,N*-bis[2-(1-methylbenzimidazol-2-yl)ethyl]-amine AcBB was used for comparison purposes as a ligand with lower denticity, since *N*-acetylation prevents the central nitrogen atom of the chain from acting as a donor atom. It was prepared according to previously described procedure.^{89b}

Figures 128- ^1H -NMR spectrum of AcBB compound in CDCl_3 .

^1H -NMR (CDCl_3) of AcBB δ_{H} : 7.8-7.6 and 7.3-7.1 (m, 8H, phenyl H + benzimidazolyl H); 4.1-3.8 (m, 4H, benzimidazole CH_2); 3.76 (s, 3H, CH_3N); 3.58 (s, 3H, CH_3N); 3.3-2.9 (m, 4H, CH_2N); 2.11 (s, 3H, CH_3CO).

Characterization of the mononuclear copper(II) complexes prepared

The UV/Vis spectra of the complexes studied in methanol solutions showed intense intraligand absorptions below 300 nm, associated with benzimidazole $\pi \rightarrow \pi^*$ transitions. The spectra of the copper(II) complexes display a band near 350 nm, and for AcBB a detectable shoulder near 300 nm. These bands can be attributed to $\pi(\text{benzimidazole}) \rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$ and $\sigma(\text{amino}) \rightarrow \text{Cu}^{\text{II}}$ LMCT transitions, respectively, according to previous results reported for the same complexes.¹⁴¹

Figures 129- Electronic spectra of the $[\text{Cu}(\text{BB})]^{2+}$ and $[\text{Cu}(\text{AcBB})]^{2+}$ complexes in MeOH solution.

EPR Spectra

With the aim of comparing the structural environment around copper ions in those complexes, spectroscopic studies by EPR were then carried out. Spectra in different frozen solutions, at 77 K, are shown in Figures 130-133. As expected, no forbidden $\Delta M_S = \pm 2$ transition at half-field was observed in the spectra for both mononuclear compounds.

The EPR spectra of $[\text{Cu}(\text{AcBB})]^{2+}$ species in frozen methanol / acetonitrile solution (4:1, v/v) exhibit a resolved hyperfine structure in the $g_{\parallel}$ region, around 3100 G, with several detectable lines, as shown in Figures 130 and 131. This feature arises from the overlap of two sets of peaks, corresponding to two different copper(II) centres in tetragonal environments, resulting from the addition of Cu^{II} to the ligand AcBB, as shown in Figures 131. These data are characteristic of tetragonal structures ($g_{\parallel} > g_{\perp}$) (Table 33). The reduced values of the hyperfine constant $A_{\parallel}$ suggest some significant pseudo-tetrahedral distortion in tetragonal structures of copper(II) compounds.¹⁴¹

Beside this, the EPR spectra of the copper(II) with the ligand BB and AcBB show some solvent dependence, due to the availability of co-ordination positions at Cu^{II} . Particularly, the spectrum recorded in frozen DMSO solution for $[\text{Cu}(\text{BB})]^{2+}$ appears to be rhombic (Figures 133), and differs remarkably from that obtained in other solvents.

Figures 130- EPR spectra of the copper complexes studied, in frozen MeOH solutions, at 77 K. Modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 15 G; receiver gain, 3.99×10^3 for $[\text{Cu}(\text{BB})]^{2+}$, and 1.12×10^3 for $[\text{Cu}(\text{AcBB})]^{2+}$; microwave power, 19.78 mW; time const., 10.24 ms.

Figures 131- EPR spectra of the copper complexes studied, in frozen MeOH / CH_3CN (4:1, v/v) solutions, at 77 K. Modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 15 G; receiver gain, 3.56×10^3 for $[\text{Cu}(\text{AcBB})]^{2+}$, and 2.83×10^2 for $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$; microwave power, 19.78 mW; time const., 10.24 ms.

Figures 132- EPR spectra of $[\text{Cu}(\text{AcBB})]^{2+}$ in frozen DMSO solutions, at 77 K. Modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 15 G; receiver gain, 5.02×10^2 ; microwave power, 19.78 mW; time const., 20.48 ms.

Figures 133- EPR spectra of $[\text{Cu}(\text{BB})]^{2+}$ in frozen solutions at 77 K. (A) DMSO, modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 15 G; receiver gain, 2.52×10^3 ; time const., 40.96 ms; and (B) MeOH / CH_3CN (4:1, v/v), modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 15 G; receiver gain, 3.17×10^3 ; time const., 20.48 ms.

Table 33– EPR parameters of the copper(II) complexes studied in frozen solutions, at 77 K.

Compound	Solvent	g_{iso}	$g_{//}$	$g_{\perp}$	$10^{-4}/A_{//} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$
$[\text{Cu}(\text{BB})]^{2+}$	MeOH/ CH_3CN (4:1, v/v)	2.154	2.250	2.107	132
	MeOH	2.188	2.318	2.124 (?)	169
	DMSO	2.135	-----	-----	-----
$[\text{Cu}(\text{AcBB})]^{2+}$	MeOH/ CH_3CN (4:1, v/v)	2.161	2.336 ^a	2.074	144
	DMSO	2.161	2.325	2.079	157
(ref. 141)	MeCN	2.154	2.332	2.065	144

^a Major complex formed. A $g_{//}$ signal at 2.43 ($1/A_{//} = 124 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) was also observed in the mixture resulting from addition of Cu^{II} to ligand AcBB, corresponding to another minor species.

$$g_{iso} = 1/3(g_{//} + 2g_{\perp});$$

$$A_{//} \text{ (cm}^{-1}\text{)} = A_{//}(\text{G}) \cdot g_{//} \cdot 0,46686 \times 10^{-4}.$$

The EPR spectra, in frozen methanol solutions at 77 K, of Hm-GHBB and Hm-GHBBCu²⁺ are shown in Figures 134 and 135. Both spectra show a rhombic distortion, and a mixture of high- and low-spin species, with $g \sim 5.80$, 2.70, 2.29, and 1.74.

Binding of copper(II) to Hm-GHBB occurs with extremely high affinity and can be followed by small perturbation produced in the EPR spectrum of Hm-GHBB (Figures 134 and 135). Typical copper(II) features can be observed in the EPR spectrum of Hm-GHBBCu²⁺ complex, as well as of its simple Cu^{II} analogue with the AcBB ligand, in frozen methanol solutions at 77 and 170 K (Figures 136 and 137).

Figures 134- EPR spectra recorded in frozen MeOH solutions at 77 K of (A) Hm-GHBBCu²⁺, and (B) Hm-GHBB. Instrument settings are the same for both spectra: modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 10 G; receiver gain, 2.24×10^4 ; microwave power, 19.78 mW; number of scans, 4; time const., 40.96 ms.

Figures 135- EPR spectra recorded in frozen MeOH solutions at 77 K of (A) Hm-GHBBCu²⁺, and (B) Hm-GHBB. Instrument settings are the same for both spectra: modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 10 G; receiver gain, 7.10×10^4 ; microwave power, 19.82 mW; number of scans, 2; time const., 40.96 ms.

Figures 136- EPR spectra recorded in frozen MeOH solutions for (A) Hm-GHBBCu^{2+} and MeOH/ CH_3CN (4:1, v/v) for (B) $[\text{Cu}(\text{AcBB})]^{2+}$ complexes at 77 K. Instrument settings: (A) Modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 15 G; receiver gain, 7.96×10^4 ; microwave power, 20.12 mW; number of scans, 42; time const., 40.96 ms; (B) Modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 15 G; receiver gain, 1.12×10^3 ; microwave power, 20.12 mW; time const., 10.24 ms.

Figures 137- EPR spectra at 170 K of (A) Hm-GHBBCu^{2+} in MeOH solution with baseline correction; (B) $[\text{Cu}(\text{AcBB})]^{2+}$ and (C) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ in frozen MeOH / CH_3CN (4:1, v/v) solutions at 77 K.

When a system contains several paramagnetic centers characterized by different relaxation properties, their spectral components can be discriminated by recording the EPR spectrum at different temperatures, with the case of Hm-GHBBCu²⁺ have two different metal centers. The Fe^{III} ions are generally characterized by high relaxation rates, whereas the spin-lattice relaxation times of Cu^{II} center is so long that its signals can be detected at room temperature (see Figures 136 and 137).

For the bis(benzimidazole) derivative of hemin complex Hm-GHBBCu²⁺, the major Cu^{II} species observed in methanolic solution at 170 K has a similar signal to the [Cu(AcBB)]²⁺ complex (Figures 137), indicating that the bis(benzimidazole) side arm derivative of the porphyrin is a bidentate ligand. In this case, it was also observed a mixture resulting from addition of Cu^{II} to Hm-GHBB complex, corresponding to another minor species (probably aqua-copper(II) species). The copper(II) spectra ($g_{\parallel} > g_{\perp}$, and rather large $|A_{\parallel}|$ values) are indicative of tetragonal stereochemistry and for the Cu^{II}-bis(benzimidazole) units, the $|A_{\parallel}|$ values below $150 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ suggest the presence of five-coordinated species, with additional three solvent molecules bound to the metal ion.

Another aspect of the reactivity of the mixed hemin-Cu complexes, which is relevant for modeling cytochrome *c* oxidase, is the attempt to couple the metal centers intramolecularly through a small bridging ligand. In the oxidized state, the magnetic properties of the enzymes¹⁹² and the absence of EPR signals for an odd-spin species¹⁹³ are consistent with a strong antiferromagnetic interaction ($-J > 200 \text{ cm}^{-1}$) between the Fe^{III} and Cu^{II} sites, yielding an $S = 2$ ground-spin state. Recently, we investigated the possible formation of an intramolecular Fe^{III}-N₃⁻-Cu^{II} bridged species in solution, by addition of azide, monitored by electronic spectra (vide section *Characterization and Ligand-Binding Properties*). This reaction was also followed by EPR spectroscopy, to monitor its effects at the Cu^{II} site and spin-state of Fe^{III} during the reaction of Hm-GHBBCu²⁺ with the azide ligand, as illustrated in Figures 138 and 139.

¹⁹² (a) M.F. Tweedle, L.J. Wilson, L. Garcia-Iniguez, G.T. Babcock, G. Palmer, *J. Biol. Chem.*, 1978, 253, 8065; (b) T.H. Moss, E. Shapiro, T.E. King, H. Beinert, C. Hartzell, *J. Biol. Chem.*, 1978, 253, 8072.

¹⁹³ G.W. Brudvig, R.H. Morse, S.I. Chan, *J. Magn. Reson.*, 1986, 67, 189.

Figures 138- EPR spectra at 77 K of HmGHBBCu^{2+} in MeOH solution in the absence or presence of NaN_3 . Conditions: $[\text{Hm-GHBBCu}^{2+}] = 1.92 \text{ mM}$; $[\text{NaN}_3] = 0.077 \text{ M}$. From bottom to top: 0 M, 0.95 mM, 1.88 mM, 2.78 mM, 4.53 mM, 7.0 mM, 9.31 mM. Instrument settings are the same for all spectra: modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 10 G; receiver gain, 7.10×10^4 ; microwave power, 19.78 mW; number of scans, 4; time const., 40.96 ms.

Figures 139- EPR spectra at 77 K of HmGHBBCu^{2+} in MeOH solution in the absence or presence of NaN_3 . Conditions: $[\text{Hm-GHBBCu}^{2+}] = 1.92 \text{ mM}$; $[\text{NaN}_3] = 0.077 \text{ M}$. From bottom to top: 0 M, 0.95 mM, 1.88 mM, 2.78 mM, 4.53 mM, 7.0 mM, 9.31 mM. Instrument settings are the same for all spectra: modulation frequency, 9.32 GHz; modulation amplitude, 10 G; receiver gain, 7.10×10^4 ; microwave power, 19.78 mW; number of scans, 5; time const., 40.96 ms.

Addition of N_3^- to such solutions resulted in the disappearance of the high-spin signals, monitored by the decreasing of the signal at $g \sim 5.80$, and the appearance of signals at $g \sim 2.78$, 2.20, and 1.74, corresponding to the formation of low-spin $\text{Hm-GHBBCu}^{2+}(\text{N}_3^-)$ showing the same geometry. The addition of N_3^- causes little decrease of the Cu^{II} and Fe^{III} EPR signals, caused by the interaction between paramagnetic centers, probably due to the equilibrium mixture between high and low-spin forms of the Fe^{III} ions, as a result of its reduced affinity for azide ligands. On the other hand, the adduct with azide-bridge $\text{Hm-GHBBCu}^{2+}(\text{N}_3)$ formed appears to be unstable at higher azide concentrations, leading to the coordination of additional azide molecules to the iron(III) or copper(II) ions, separately.

Decoupling of heme a_3 - Cu_B pair have been reported by a number of investigators using different techniques. For example, Brudvig et al.¹⁹⁴ reported decoupling of the heme a_3 - Cu_B center by binding NO to the Cu_B site of the oxidized CcO. Reinhammar et al.¹⁹⁵ and Karlsson et al.¹⁹⁶ have reported a Cu_B signal at $g = 2$ by reduction of the iron of heme a_3 thus uncoupling it from Cu_B . Wilson et al.¹⁹⁷ have reported both heme a_3 and Cu_B spectra under turnover conditions by slow-freeze techniques.

Conclusion

New mimics of CcO have been prepared and characterized using the protoporphyrin IX covalently linked to *N,N*-bis[2-(1-methylbenzimidazol-2-yl)ethyl]amine (BB), a suitable chelating ligand for copper, and glycyl-histidine residue (GH) axially coordinated to the iron center. The binucleating ligand Hm-GHBB obtained was then metallated using copper(II) perchlorate, and studied by EPR spectroscopy with the aim of characterizing the geometry and identifying the number of coordination sites linked to copper ion in Hm-GHBBCu^{2+} . In this case, it was verified that the BB side arm in the porphyrin acts as a bidentate ligand in a tetragonal structure, with basically two N equatorially coordinated and a weak axial interaction. Besides this, analyses of the EPR spectra showed that a mixture results from the addition of Cu^{II} ions to the hemin complex, corresponding to the desired mimic and another minor species. The presence of a chelated imidazole residue, in any case, increases the binding constant for the additional exogenous sixth imidazole ligand. Analogously, azide binding experiments were also performed for Hm-GHBB and Hm-GHBBCu^{2+} complexes, showing that the azide association constant to the complex containing

¹⁹⁴ G.W. Brudvig, T.H. Stenven, S.I. Chang, *Biochemistry* 19 (1980) 5275.

¹⁹⁵ B. Reinhammar, R. Malkin, P. Jensen, B. Karlsson, L.E. Andreasson, R. Aasa, T. Vanngard, B.G. Malmstrom, *J. Biol. Chem.* 255 (1980) 5000.

¹⁹⁶ B. Karlsson, L.E. Andreasson, *Biochim. Biophys. Acta* 635 (1981) 73.

¹⁹⁷ M. Wilson, P. Jensen, R. Aasa, B.G. Malmstrom, T. Vanngard, *Biochem. J.* 203 (1982) 483.

copper(II) ion is 5-fold larger than that for Hm-GHBB, indicating that Hm-GHBBCu²⁺ has a suitable conformation for an azide-bridge be formed between the Fe^{III} and Cu^{II} ions. However, it appears to be unstable at higher azide concentrations, leading to the probable binding of the second azide only to the iron centre. The EPR spectra at 77 K of the iron-copper complex showed a rhombic distortion, with a little decrease of the EPR signals and the formation of a low-spin hemin complex, upon addition of small amounts of N₃⁻. Reduction experiments showed that upon treatment with pyperidine, both dissolved in DMF solvent, and bubbling CO through this solution, the fully or partially reduced species Fe^{II}-Cu^I(CO) or Fe^{II}-Cu^{II}(CO) can be obtained, and the subsequent exposition to dioxygen at low temperature (about -50 °C) occurs without significant degradation of the porphyrin, and gives a Fe^{III}-(O₂⁻) or an Fe^{III}-(O₂²⁻)-Cu^{II} complex as product.

Further structural studies in this system, using ¹H-NMR and resonance Raman are necessary for better understanding of the nature of the interaction of dioxygen with both the Fe^{III} and Cu^{II} centers. A steric match at the distal side of Hm-GHBB and Hm-GHBBCu²⁺ at pH 7 seems to be a determining factor in catalytic peroxidation, since the side chain containing the BB ligand is very flexible, allowing its approach to the heme group through favorable hydrophobic interactions. The smaller reactivity of the compound Hm-GHBBCu²⁺ at pH 7 and 9, compared to that at pH 5, could be explained by the formation of an iron-copper hydroxo-bridged complex.

5. Conclusões

Neste trabalho, diversos compostos de cobre com ligantes imínicos foram isolados e tiveram suas propriedades estruturais, espectroscópicas, magnéticas e catalíticas estudadas. De um lado, o interesse focalizado foi bioinorgânico, já que as espécies dinucleares foram capazes de atuar como miméticos de tirosinases e catecol oxidases, proteínas de cobre envolvidas no metabolismo de fenóis e catecóis, catalisando sua oxidação pelo oxigênio molecular. De outro, o interesse crescente por novos materiais com propriedades espectroscópicas e magnéticas peculiares levou à obtenção de estruturas mais complexas, polinucleares, que adicionalmente podem fornecer informações importantes sobre *clusters* de cobre, encontrados em proteínas mais elaboradas, como lacases e ascorbato oxidase. Adicionalmente, espécies miméticas do sítio Cu_B da citocromo *c* oxidase foram também preparadas e caracterizadas, permitindo elucidar pelo menos em parte a interação da molécula dioxigênio com os centros de cobre e de ferro.

Diferentes complexos de cobre(II) contendo um ligante tridentado do tipo base de Schiff e um grupo imidazol foram preparados na forma de sais perclorato, nitrato ou cloreto e caracterizados através de diferentes técnicas espectroscópicas (UV/Vis, IR, Raman e EPR), além de análise elementar, condutividade molar, medidas de susceptibilidade magnética em função da temperatura e, em determinados casos, medidas de magnetização em função do campo magnético, obtendo-se seus parâmetros espectroscópicos e estruturais. Adicionalmente, alguns destes compostos, obtidos como cristais adequados, tiveram suas estruturas determinadas por cristalografia de raios-X.

Os espectros de EPR dos complexos di- e polinucleares contendo pontes cloreto mostraram desdobramento dos sinais para o íon de cobre(II), na região 2500-3600G, relacionado à presença do equilíbrio com a respectiva espécie mononuclear, devido à labilidade dos íons cloretos, dependendo do tipo de solvente utilizado e da concentração em solução. Adicionalmente, em solução aquosa, a pH elevados, estes compostos estão em equilíbrio com as correspondentes espécies polinucleares (macrocíclica ou zig-zag), onde os centros de cobre estão ligados através de um ligante ponte imidazolato. Em meio alcalino, estes compostos polinucleares contendo ponte imidazolato foram também isolados e caracterizados por diferentes técnicas espectroscópicas, incluindo espectrometria de massa Tandem (ESI-MS/MS). Evidências deste outro equilíbrio em solução aquosa foram também obtidas através de medidas espectroscópicas em diferentes pHs, calculando-se a correspondente constante de equilíbrio em determinados casos.

Os espectros de EPR mostraram um alargamento do sinal para as espécies polinucleares contendo ponte imidazolato tanto no estado sólido quanto em solução, o que pode ser explicado em função das diferentes interações anisotrópicas dos tensores *g*, *A* e *D* em função dos diferentes

ângulos entre o campo magnético aplicado e a orientação molecular. Adicionalmente, quando os parâmetros J e D são grandes, a modulação da interação spin-spin provoca uma diminuição no tempo de vida do estado excitado de spin, com forte alargamento das linhas de ressonância. Neste caso, todos os compostos oligoméricos contendo ponte imidazolato apresentaram um forte acoplamento antiferromagnético, da ordem de -15 a -55 cm^{-1} , corroborando a largura da linha de ressonância observada tanto no estado sólido quanto em solução. Alguns dos espectros de EPR destes compostos polinucleares mostraram desdobramentos hiperfinos na região ao redor de 2800 G , em solução $\text{MeOH} / \text{H}_2\text{O}$ (4:1, v/v), a 77 K , indicando a presença de impurezas de espécies monoméricas em solução. Estas impurezas foram também quantificadas por medidas de susceptibilidade magnética no estado sólido e não superaram 3% .

Medidas de susceptibilidade magnética em função da temperatura, no estado sólido, utilizando o aparelho SQUID, sob aplicação de um campo magnético constante de 500 Oe , foram realizadas para as espécies di- e polinucleares contendo diferentes ligantes em ponte. Posteriormente, os resultados experimentais de propriedades magnéticas foram correlacionados com parâmetros estruturais, como por exemplo, ângulo entre metal e ligante ponte e distorções na geometria do íon de cobre(II). Este tipo de correlação entre propriedade magnética e características estruturais permitiu elucidar e até mesmo prever o comportamento magnético de novos compostos di- ou polinucleares envolvendo estes íons.

Adicionalmente, para alguns compostos dinucleares de cobre(II) contendo ponte cloreto verificou-se que o ajuste teórico da susceptibilidade magnética, utilizando a equação de Bleaney-Bowers, não correlacionava bem os dados experimentais. Interações intermoleculares envolvendo espécies diméricas podem ocorrer, influenciando a susceptibilidade próxima ao $T_{\text{máx}}$. Medidas de magnetização em alto campo magnético e baixas temperaturas, corroboradas por dados de cristalografia de raios-X, mostraram uma outra interação magnética no sistema, indicando claramente a necessidade de um modelo mais elaborado para descrever a interação magnética dos sistemas. Portanto, uma nova componente MFA (*mean field approximation*) foi introduzida no modelo, correspondendo à interação *exchange* molecular, γM . Este novo modelo descreveu muito bem os dados experimentais de $\chi_M \times T$, para os compostos dinucleares contendo ponte cloreto. A mesma metodologia, porém partindo-se do modelo de Fisher, descreveu também o comportamento magnético de um sistema polinuclear contendo pontes cloreto. Portanto, os resultados obtidos, corroborados pelas análises de cristalografia de raios-X, mostraram a existência de interações intra- e intermoleculares nos sistemas.

No estudo da reatividade dos compostos dinucleares na oxidação da N,N,N',N' -tetrametil- p -fenilenodiamino (TMPD), monitorada espectrofotometricamente a 565 nm , particularmente para os

complexos de cobre(II) derivados do 2-acetilpiridina e 2-(aminometil)benzoimidazol (*apyambi*), utilizando diferentes contra-íons, verificou-se que existe uma discreta contribuição da variação do contra-íon dessas espécies dinucleares. Adicionalmente, observou-se maior reatividade das espécies dinucleares quando comparadas com o respectivo composto mononuclear, devido à possibilidade de se ter mais centros de cobre acessíveis ao substrato, em solução. Particularmente, as curvas cinéticas obtidas mostraram uma saturação com a variação da concentração do substrato, que corrobora a necessidade de interação do substrato ao centro de cobre. Neste caso, o fator limitante é a quantidade de catalisador usada. Estes resultados obtidos divergem em relação aos discutidos anteriormente por Nishida e colaboradores, onde propõem um mecanismo de esfera externa, baseado em potenciais de oxi-redução.

Realizaram-se também experimentos cinéticos para comparar a atividade catalítica dos compostos di- e polinucleares preparados (macrocíclicos ou zig-zag) na oxidação do 3,5-di-*terc*-butilcatecol, favorecendo a obtenção da respectiva quinona, monitorada espectrofotometricamente a 390 nm. Verificou-se que o complexo hexanuclear $[\text{Cu}_6(2\text{pyMe-hist})_6]^{6+}$ **17** é o que converte maior quantidade de produto por unidade de tempo e que apresenta maior afinidade pelo substrato, conseqüentemente maior relação k_{cat}/K_M . Observou-se que esta relação é praticamente 3 vezes maior quando comparada com a respectiva espécie tetranuclear $[\text{Cu}_4(2\text{pyhist})_4]^{4+}$ **16**, indicando forte influência do tamanho da cavidade na interação com o substrato. No cálculo de otimização da geometria do 3,5-DTBC verificou-se que a maior distância entre carbono-carbono nesta estrutura está em torno de 6,56 a 7,52 Å, correspondendo aproximadamente à dimensão da cavidade do composto tetranuclear e, portanto, dificultando a sua interação no interior do catalisador. Por outro lado, a espécie hexanuclear **17** possui uma dimensão de cavidade em torno de 11,32 a 11,56 Å, possibilitando a inserção do mesmo. Neste último caso, a catálise da reação pode também ocorrer na superfície do complexo. De fato, observou-se que as duas espécies isoméricas $[\text{Cu}(2\text{imepy})]^{n+}$ **13** e $[\text{Cu}_4(4\text{imepy})_4]^{4+}$ **14**, com estruturas bem diferentes, possuem praticamente a mesma eficiência catalítica e também a mesma afinidade pelo substrato, indicando que a catálise neste caso ocorre preferencialmente na superfície do catalisador, em se tratando das espécies macrocíclicas tetranucleares. A diferença de reatividade entre as espécies tetranucleares $[\text{Cu}_4(4\text{imepy})_4]^{4+}$ **14**, $[\text{Cu}_4(\text{apyhist})_4]^{4+}$ **15** e $[\text{Cu}_4(2\text{pyhist})_4]^{4+}$ **16** está relacionada também com o fator estérico, porém a diferença nos potenciais de oxi-redução é provavelmente outro fator importante a ser considerado na determinação da reatividade.

Finalmente, novos complexos-modelos da CcO foram sintetizados e caracterizados, utilizando a protoporfirina IX covalentemente condensada ao ligante quelato *N,N*-bis[2-(1,2-metilbenzimidazolil)etil]amino (BB) e ao resíduo de glicil-L-histidina (GH), axialmente

coordenado ao íon de ferro(III), sendo o ligante final Hm-GHBB posteriormente metalado com íons de cobre(II). A espécie final, Hm-GHBBCu^{2+} , foi então analisada por diferentes técnicas espectroscópicas. Neste caso, através de uma análise comparativa dos espectros de EPR utilizando diferentes complexos de cobre mononucleares derivados do ligante BB, verificou-se que este resíduo quando condensado ao anel porfirínico apresenta-se na forma bidentada ao redor do Cu^{II} , numa geometria tetragonal.

A potencialidade de interação do dioxigênio com os dois centros metálicos, ferro e cobre, foi avaliada através da inserção de ligante azida, com determinação espectrofotométrica das correspondentes constantes de formação. Esta titulação dos complexos Hm-GHBB e Hm-GHBBCu^{2+} utilizando o ligante azida mostrou uma maior constante de associação para a espécie contendo íon de cobre(II), aproximadamente 5 vezes maior em relação ao complexo Hm-GHBB, sem cobre, indicando que Hm-GHBBCu^{2+} favorece a interação com a azida, inserida em ponte entre os centros metálicos. Os espectros de EPR, do complexo heteronuclear a 77 K, mostraram uma geometria rômica para o íon de ferro e a formação de um complexo hemina de baixo-spin, com pequeno decréscimo nas intensidades das hiperfinas, sob adição de alíquotas de solução de NaN_3 a uma solução aquosa do complexo Hm-GHBBCu^{2+} . Esta mesma espécie heteronuclear mostrou uma completa ou parcial redução na presença de piperidina, ambos dissolvidos em DMF e borbulhando CO através da solução, dando origem a um dos seguintes intermediários, $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-Cu}^{\text{I}}(\text{CO})$ ou $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-Cu}^{\text{II}}(\text{CO})$ em solução.

Através de reações da espécie totalmente oxidada, $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Cu}^{\text{II}}$, com peróxido de hidrogênio, ou a partir da espécie reduzida, $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$, com borbulhamento de oxigênio numa solução saturada com CO, diferentes adutos Fe/Cu/O_2 foram detectados e se mostraram estáveis a baixa temperatura (-55°C). A subsequente oxidação através da exposição do intermediário $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-Cu}^{\text{I}}(\text{CO})$ ou $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-Cu}^{\text{II}}(\text{CO})$ ao oxigênio à baixa temperatura ($\sim -50^\circ\text{C}$) ocorreu sem degradação significativa do anel porfirínico, levando aos prováveis produtos $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-(O}_2^-)$ ou $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-(O}_2^{2-})\text{-Cu}^{\text{II}}$. Futuros estudos estruturais deste sistema, usando principalmente ^1H -RMN e Raman ressonante, são necessários para compreender melhor a natureza da interação do oxigênio com ambos os centros metálicos na sua forma reduzida.

Além disso, os compostos estudados mostraram-se bons catalisadores da oxidação do *p*-cresol na presença de H_2O_2 , em pH 5 a 9. A menor reatividade do composto Hm-GHBBCu^{2+} a $\text{pH} \geq 7$ pode ser explicada através da formação de nova espécie, com ponte hidroxio entre os centros metálicos.

Apêndice 1

Nesta parte da tese mostraremos os cálculos de energia dos estados e as funções de onda de spin para um sistema dinuclear de cobre(II). A demonstração a seguir foi inicialmente baseada no trabalho de Smith e colaboradores,^{107b} porém contendo várias modificações na forma de expressão e no aprofundamento no desenvolvimento das equações,¹⁷² tornando-se um pouco mais compreensiva. Particularmente, acredita-se que esta etapa é de fundamental importância para melhor entendimento dos espectros de EPR de compostos di- e polinucleares de cobre(II).

Inicialmente, expandiu-se o operador de acoplamento spin-spin na seguinte forma: $-2\mathbf{J}\mathbf{S}_1 \cdot \mathbf{S}_2 = -2J(S_{z1}S_{z2} + S_{x1}S_{x2} + S_{y1}S_{y2})$. As funções de spin para um sistema dinuclear são descritas como $|S_1, M_{S1}, S_2, M_{S2}\rangle$, onde todas as possíveis combinações de M_{S1} e M_{S2} devem ser levadas em consideração. Então, num sistema onde dois centros de cobre interagem entre si, cada um contendo um simples elétron desemparelhado, tem-se as seguintes funções:

$$\psi_1 = |S_1, 1/2, S_2, 1/2\rangle$$

$$\psi_2 = |S_1, -1/2, S_2, -1/2\rangle$$

$$\psi_3 = |S_1, 1/2, S_2, -1/2\rangle$$

$$\psi_4 = |S_1, -1/2, S_2, 1/2\rangle$$

As energias e as funções de onda de spin de ordem zero são obtidas aplicando-se o Hamiltoniano de acoplamento spin-spin nas funções de onda e resolvendo o determinante secular. Mostraremos a resolução da primeira componente deste determinante H_{11} :

$$\begin{aligned} \langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | -2\mathbf{J}\mathbf{S}_1 \cdot \mathbf{S}_2 | S_1, 1/2, S_2, 1/2 \rangle &= \langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | -2J(S_{z1}S_{z2} + S_{x1}S_{x2} + S_{y1}S_{y2}) | S_1, \\ 1/2, S_2, 1/2 \rangle &= -2J[\langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_{z1}S_{z2} | S_1, 1/2, S_2, 1/2 \rangle + \langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_{x1}S_{x2} | S_1, 1/2, S_2, \\ 1/2 \rangle &+ \langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_{y1}S_{y2} | S_1, 1/2, S_2, 1/2 \rangle]. \end{aligned}$$

Neste caso, por exemplo, o operador S_{z1} somente opera na função de spin contendo M_{S1} , deixando os demais invariáveis. Lembrando que os autovalores de S_1 e S_2 são iguais a $1/2$ e utilizando as seguintes definições para $S_i |M_s\rangle$:

$$S_z | \pm 1/2 \rangle = \pm 1/2 | \pm 1/2 \rangle; S_x | \pm 1/2 \rangle = \pm 1/2 | \mp 1/2 \rangle; S_y | \pm 1/2 \rangle = \pm i/2 | \mp 1/2 \rangle.$$

Os elementos individuais de matrizes da expressão de H_{11} se reduzem para:

$$\langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_{z1}S_{z2} | S_1, 1/2, S_2, 1/2 \rangle = 1/2 \cdot 1/2 \langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_1, 1/2, S_2, 1/2 \rangle = 1/4$$

$$\langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_{x1}S_{x2} | S_1, 1/2, S_2, 1/2 \rangle = 1/2 \cdot 1/2 \langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_1, -1/2, S_2, -1/2 \rangle = 0$$

$$\langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_{y1}S_{y2} | S_1, 1/2, S_2, 1/2 \rangle = i/2 \cdot i/2 \langle S_1, 1/2, S_2, 1/2 | S_1, -1/2, S_2, -1/2 \rangle = 0$$

$$\text{Desta forma, a expressão: } \langle \psi_1 | -2\mathbf{J}\mathbf{S}_1 \cdot \mathbf{S}_2 | \psi_1 \rangle = -J/2$$

A evolução dos demais elementos da matriz utilizando a mesma metodologia descrita anteriormente, leva ao seguinte determinante secular:

	$ \psi_1\rangle$	$ \psi_2\rangle$	$ \psi_3\rangle$	$ \psi_4\rangle$	
$\langle\psi_1 $	$-J/2-E$	0	0	0	
$\langle\psi_2 $	0	$-J/2-E$	0	0	$= 0$
$\langle\psi_3 $	0	0	$J/2-E$	$-J$	
$\langle\psi_4 $	0	0	$-J$	$J/2-E$	

Resolvendo este determinante obtêm-se as seguintes energias: $E_1=E_2=E_3= -J/2$ e $E_4 = 3J/2$. Além disso, pela teoria da perturbação é possível obter os coeficientes e, conseqüentemente, as respectivas funções de onda dos estados de spin:

Para a energia $-J/2$: $\phi_1 = |\psi_1\rangle$ (1)

$\phi_2 = |\psi_2\rangle$

$\phi_3 = 1/2^{1/2}(|\psi_3\rangle + |\psi_4\rangle)$

Para a energia $3J/2$: $\phi_4 = 1/2^{1/2}(|\psi_3\rangle - |\psi_4\rangle)$ (2)

As novas funções de spin podem ser utilizadas para calcular os tensores g de um nível degenerado tripleto. Se perturbarmos o sistema com um campo magnético numa direção arbitrária, necessitaremos utilizar o operador de perturbação $H = \beta_e B \cdot g_1 \cdot S_1 + \beta_e B \cdot g_2 \cdot S_2$. Este operador é agora aplicado nas funções de onda do estado tripleto e aplicando a teoria dos cossenos diretores, obtêm-se um novo determinante secular:

	$ \phi_1\rangle$	$ \phi_3\rangle$	$ \phi_2\rangle$	
$\langle\phi_1 $	$1/2(G_{z1} + G_{z2}) - E$	$1/2 \cdot 2^{1/2} (G_{x1} + G_{x2}) -$ $i/2 \cdot 2^{1/2} (G_{y1} + G_{y2})$	0	
$\langle\phi_3 $	$1/2 \cdot 2^{1/2} (G_{x1} + G_{x2})$ $+ i/2 \cdot 2^{1/2} (G_{y1} + G_{y2})$	$0-E$	$1/2 \cdot 2^{1/2} (G_{x1} + G_{x2}) -$ $i/2 \cdot 2^{1/2} (G_{y1} + G_{y2})$	$= 0$
$\langle\phi_2 $	0	$1/2 \cdot 2^{1/2} (G_{x1} + G_{x2}) +$ $i/2 \cdot 2^{1/2} (G_{y1} + G_{y2})$	$-1/2(G_{z1} + G_{z2}) - E$	

onde: $G_{z(j)} = \beta_e B \cos\theta \ g_{zz(j)}$; $G_{x(j)} = \beta_e B \sin\theta \cos\phi \ g_{xx(j)}$; $G_{y(j)} = \beta_e B \sin\theta \sin\phi \ g_{yy(j)}$.

Este determinante é mais facilmente resolvido quando o campo magnético é paralelo aos três eixos principais. Fazendo isto podemos mostrar que os principais valores de g para uma espécie dimérica são:

$$g_{xx} = 1/2[g_{xx1} + g_{xx2}]$$

$$g_{yy} = 1/2[g_{yy1} + g_{yy2}]$$

$$g_{zz} = 1/2[g_{zz1} + g_{zz2}]$$

Desta forma, podemos mostrar que os principais valores de g para uma espécie dimérica contendo $S = 1/2$ é uma média dos principais valores de g de cada centro individual. Este resultado pode ser generalizado para as espécies poliméricas contendo interações do tipo $S = 1/2$. Os principais valores de g requerido no Hamiltoniano:

$$H = \beta_e B (g_{xx} S_x + g_{yy} S_y + g_{zz} S_z) + D(S_z^2 - S(S+1)/3) + E/2(S_+^2 - S_-^2),$$

que é aplicado a cada possível estado de spin do cluster, é uma média correspondente aos principais valores de g de cada centro individual, isto é: $g_{ii} = \sum_n g_{ii}(n)/n$.

Interações magnéticas entre os íons metálicos correspondem a perturbações que afetam os níveis de energias dos estados de spin. Considerando a perturbação de troca (*exchange*) isotrópica muito maior em relação ao desdobramento no campo zero, efeito Zeeman, ou a interações hiperfinas. Em determinados *clusters*, caso os estados de spin possuam uma diferença de energia maior do que a frequência na região de microondas nos experimentos de EPR, observam-se somente transições individuais nesses espectros, dentro de cada estado. Por exemplo, em sistemas diméricos contendo dois centros metálicos do tipo $S=1/2$ haverá somente transições no estado tripleto. O que acontecerá em tais espécies diméricas, quando a interação do tipo troca (*exchange*) torna-se pequena o suficiente para que a separação entre os estados singleto-tripletto esteja na região da microondas? Neste caso, haverá as mesmas transições no estado tripleto, mas também transições entre os estados. As funções de spin geradas pela interação de troca (*exchange*) isotrópica estão representadas nas equações 1 e 2, sendo ortogonais entre si. Aplicando-se uma perturbação destas funções de spin através de um campo magnético, dada pela equação 3, não se observa nenhuma conexão entre ϕ_4 ($S = 0$) e as funções ϕ_1 , ϕ_2 ou ϕ_3 ($S = 1$).

$$H_v = \beta_e H_1 \sum_{i=1,2} [l_{(i)} g_{xx(i)} S_{x(i)} + m_{(i)} g_{yy(i)} S_{y(i)} + n_{(i)} g_{zz(i)} S_{z(i)}] \quad (3)$$

onde: $l_{(i)}$, $m_{(i)}$, $n_{(i)}$ são os cossenos diretores entre o campo magnético aplicado e os principais eixos do tensor g de cada centro metálico ($l = \sin\theta \cos\phi$, $m = \sin\theta \sin\phi$ e $n = \cos\theta$).

Alguns elementos de matrizes entre ϕ_4 e ϕ_1 , ϕ_2 ou ϕ_3 sob ação do operador (3) são:

$$\langle \phi_1 | H_v | \phi_4 \rangle = 1/2 \cdot 2^{1/2} [\{l_{(2)}g_{xx(2)} - l_{(1)}g_{xx(1)}\} - i\{m_{(2)}g_{yy(2)} - m_{(1)}g_{yy(1)}\}] \quad (4)$$

$$\langle \phi_2 | H_v | \phi_4 \rangle = 1/2 \cdot 2^{1/2} [\{l_{(1)}g_{xx(1)} - l_{(2)}g_{xx(2)}\} + i\{m_{(1)}g_{yy(1)} - m_{(2)}g_{yy(2)}\}] \quad (5)$$

$$\langle \phi_3 | H_v | \phi_4 \rangle = 1/2 [n_{(1)}g_{zz(1)} - n_{(2)}g_{zz(2)}] \quad (6)$$

Em sistemas diméricos simétricos contendo centros paramagnéticos idênticos os elementos de matrizes 4 a 6 são todos iguais a zero. Isto advém do fato de $g_{ii(1)} = g_{ii(2)}$, $l_{(1)} = l_{(2)}$, $m_{(1)} = m_{(2)}$ e $n_{(1)} = n_{(2)}$. Assim, não há presença de desdobramento de campo zero no estado tripleto, nem campo magnético aplicado para relaxar a regra de seleção permitindo a transição entre os estados singleto e tripleto. Porém, existem alguns compostos dinucleares de cobre(II) reportados na literatura que mostram fracas transições $\Delta M_s = \pm 2$. Alguns exemplos são: $[\text{Cu}_2(\text{Me}_5\text{-dien})(\text{DHBQ})](\text{BPh}_4)_2$ e $[\text{Cu}_2(\text{tren})_2(\text{OCN})_2](\text{BPh}_4)_2$, onde: $\text{Me}_5\text{-dien}$ = 1,1,4,7,7-pentametildietilenotriamina, DHBQ = diânion de 2,5-dihidroxi-1,4-benzoquinona e tren = 2,2',2''-triaminotrietilamina.¹⁹⁸

Como uma transição formalmente proibida pode torna-se permitida? As equações 4-6 mostram algumas condições nas quais estas transições tornam-se possíveis. Inicialmente seria o fato dos tensores g dos dois íons metálicos não serem idênticos, porém estando simetricamente dispostos com respeito ao campo magnético, então os elementos de matrizes nas equações 4-6 não serão iguais a zero. Desta forma podemos observar linhas satélites fracas devido às transições singleto-tripletto, como ilustrado na Figura 140. Considerando uma simetria axial e o campo magnético paralelo ao eixo z da espécie dimérica, além de um pequeno desdobramento no campo zero, estas linhas satélites poderão ser utilizadas para estimar a separação entre os estados singleto-tripletto. Neste caso, a distância entre as transições satélites fracas são aproximadamente $|4J/g_{zz}\beta_e|$, em unidades de campo magnético. A magnitude de $4J$, que pode ser medido no espectro de EPR, dependerá da energia de microonda. Quando existe uma separação maior entre os estados de spin, uma frequência maior de microonda será necessária. Anisotropia no metal ou interações hiperfinas podem também ser responsáveis por tornar a transição $\Delta M_s = \pm 2$ fracamente permitida.¹⁹⁹

¹⁹⁸ (a) C.G. Pierpont, L.C. Francesconi, D.N. Hendrickson, *Inorg. Chem.* 16 (1977) 2367; (b) D.M. Duggan, D.N. Hendrickson, *Inorg. Chem.* 13 (1974) 2929.

¹⁹⁹ T. Lund, W.E. Hatfield, *J. Chem. Phys.* 59 (1973) 885.

$$B_1 = (h\nu - 2J - D)/g_{zz}\beta_e, \quad B_2 = (h\nu + 2J + D)/g_{zz}\beta_e, \quad B_2 - B_1 = (4J + 2D)/g_{zz}\beta_e$$

Figura 140- Diagrama de níveis de energia, com um campo magnético paralelo ao eixo z, ilustrando as transições proibidas entre os estados de spin $S = 0$ e $S = 1$ de uma espécie dimérica com $S = 1/2$. A posição da transição permitida estão pontilhados.

Em dímeros onde não existem centros de simetria que relacionem os centros individuais paramagnéticos entre si, a troca (*exchange*) anisotrópico pode também ser responsável por tornar a transição $\Delta M_s = \pm 2$ fracamente permitida. O Hamiltoniano H_{ae} , mostrado a seguir, expressa esta troca (*exchange*) anisotrópica:

$$H_{ae} = d \cdot S_1 \times S_2$$

onde: $S_1 \times S_2$ é o produto vetorial entre os vetores S_1 e S_2 . Expandindo este hamiltoniano para uma diagonal, temos:

$$H_{ae} = d \cdot S_1 \times S_2 = d_x(S_{y(1)}S_{z(2)} - S_{z(1)}S_{y(2)}) + d_y(S_{z(1)}S_{x(2)} - S_{x(1)}S_{z(2)}) + d_z(S_{x(1)}S_{y(2)} - S_{y(1)}S_{x(2)})$$

A perturbação através do hamiltoniano H_{ae} dá origem aos seguintes elementos de matriz não-zero entre ϕ_4 e ϕ_1 , ϕ_2 , ϕ_3 , direcionando a uma mistura dos estados singlete e tripleto de uma espécie dimérica:

$$\langle \phi_4 | d \cdot S_1 \times S_2 | \phi_1 \rangle = 1/2\sqrt{2}[d_y - id_x]$$

$$\langle \phi_4 | d \cdot S_1 \times S_2 | \phi_2 \rangle = 1/2\sqrt{2}[d_y + id_x]$$

$$\langle \phi_4 | d \cdot S_1 \times S_2 | \phi_3 \rangle = i/2d_z$$

Assumindo que a interação de troca (*exchange*) anisotrópica é uma perturbação pequena comparada à troca (*exchange*) isotrópica, então a expressão para as energias e funções de onda de cada um dos estados singlete e tripleto podem ser obtidas *via* equação 7 e 8, descritas a seguir:

$$E_r = E_1^0 + \alpha E_r^{(1)} + \alpha^2 \sum_i [H_{ri}^{(1)} H_{ir}^{(1)} / (E_1^0 - E_i^0)] \quad (7)$$

$$\psi_r = \phi_r + \alpha \sum_i [\sum_{n=1}^{\infty} c_r H_{ir}^{(1)} \psi_i^0 / (E_1^0 - E_i^0)] \quad (8)$$

onde: ϕ_r é uma combinação linear das funções de onda não perturbadas, ou seja, $\phi_r = \sum_{i=1}^n c_r \psi_i^0$. Sendo assim:

$$E(S=0) = 3J/2 + d^2/8J \quad (9)$$

$$\phi_4 = [1 + d^2/16J^2]^{-1/2} [\phi_4 + 1/4\sqrt{2}J \{(d_y + id_x)\phi_1 + (d_y - id_x)\phi_2\} - id_z/4J \phi_3] \quad (10)$$

$$E_3(S=1) = -J/2 - d_z^2/8J \quad (11)$$

$$\phi_3 = [1 + d_z^2/16J^2]^{-1/2} [\phi_3 - id_z/4J \phi_4] \quad (12)$$

$$E_1(S=1) = E_2(S=1) = -J/2 - (d_x^2 + d_y^2)/16J \quad (13)$$

$$\phi_1 = [1 + (d_y^2 + d_x^2)/32J^2]^{-1/2} [\phi_1 - (d_y - id_x)/4\sqrt{2}J \phi_4] \quad (14)$$

$$\phi_2 = [1 + (d_y^2 + d_x^2)/32J^2]^{-1/2} [\phi_2 - (d_y + id_x)/4\sqrt{2}J \phi_4] \quad (15)$$

$$\text{onde: } d^2 = d_x^2 + d_y^2 + d_z^2$$

Algumas conclusões podem ser obtidas a partir das expressões anteriores:

- (i) as equações 9, 11 e 13 mostram que a troca (*exchange*) anisotrópica suprime a interação isotrópica e, experimentalmente, é difícil separar estes dois efeitos.
- (ii) nas equações 11 e 13 notamos que a interação de troca (*exchange*) anisotrópica introduz um desdobramento no campo zero dentro do estado $S = 1$. Este desdobramento será adicionado a outras interações que também desdobram os níveis de energia do estado excitado, na ausência do campo magnético (interação dipolo-dipolo e acoplamento spin-órbita). Experimentalmente é difícil diferenciar os tipos de desdobramentos no campo zero.
- (iii) Provavelmente, a consequência mais importante da espectroscopia de EPR refere-se à mistura das funções de onda dos estados singlete e tripleto. Esta mistura possibilita a visualização de linhas de intensidades fracas resultantes das transições $\Delta M_s = \pm 2$. A origem desta intensidade é proveniente das componentes ϕ_1 a ϕ_3 do estado tripleto na função ϕ_4 (eq. 10). Por outro lado, observou-se que as funções ϕ_1 a ϕ_3 não se relacionam entre si, na presença de um campo magnético e/ou de microondas.

Apêndice 2

Interação com o spin nuclear do metal

Assim como a interação entre o spin do elétron e o campo magnético é expresso através do tensor $\mathbf{g}$, a interação do spin do elétron e o spin nuclear do metal deve ser representado através de um tensor, definido como acoplamento hiperfino $\mathbf{A}$. Em geral, o hamiltoniano de spin é descrito como:

$$H = \beta_e \mathbf{B} \cdot \mathbf{g} \cdot \mathbf{S} + \mathbf{S} \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{I}$$

onde:

$$\mathbf{S} \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{I} = \begin{bmatrix} S_x & S_y & S_z \end{bmatrix} \begin{bmatrix} A_{xx} & A_{xy} & A_{xz} \\ A_{yx} & A_{yy} & A_{yz} \\ A_{zx} & A_{zy} & A_{zz} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} I_{xx} \\ I_{yx} \\ I_{zx} \end{bmatrix}$$

Num sistema dinuclear paramagnético isotrópico com um elétron desemparelhado, o hamiltoniano de spin é definido como:¹⁷²

$$H = \beta_e \mathbf{B} \cdot \mathbf{g} \cdot \mathbf{S} + \mathbf{S} \cdot \mathbf{A}_1 \cdot \mathbf{I}_1 + \mathbf{S} \cdot \mathbf{A}_2 \cdot \mathbf{I}_2$$

onde: $\mathbf{A}_i$ e $\mathbf{I}_i$ são os tensores e operadores dos spins nucleares, respectivamente.

A função de onda de spin para o dímero será descrito como produto das funções entre dois centros individuais, i.e. $|S, m_s, I(1), m_I(1), I(2), m_I(2)\rangle$. O tratamento teórico será construído partindo-se de um sistema simples ($I = 1/2$) para o mais complexo contendo diferentes valores de I .

O exemplo mais simples consiste de um elétron desemparelhado com dois núcleos metálicos equivalentes com $I = 1/2$.¹⁷² As funções requeridas para descrever este sistema são todas as possíveis combinações de $|S, m_s, I(1), m_I(1), I(2), m_I(2)\rangle$. Uma vez que, podemos abreviar as suas representações omitindo os valores de S , $I(1)$ e $I(2)$, lembrando-se que cada uma dessas componentes possui um valor igual $1/2$. Logo, as funções serão representadas como $|m_s, m_I(1), m_I(2)\rangle$. O hamiltoniano de spin apropriado para este dímero é:

$$H = g_{iso} \beta_e B S_z + A_{iso} [S_x I_x(1) + S_y I_y(1) + S_z I_z(1) + S_x I_x(2) + S_y I_y(2) + S_z I_z(2)] \quad (16)$$

Se assumirmos que a interação hiperfina pode ser tratada como uma perturbação no efeito Zeeman, os níveis de energia e as funções de onda de spin serão obtidos através do método da teoria da perturbação. Aplicando-se o hamiltoniano 16 nas respectivas funções:

$$\phi_1 = |1/2, 1/2, 1/2\rangle$$

$$\phi_2 = 1/2^{1/2} [|1/2, 1/2, -1/2\rangle + |1/2, -1/2, 1/2\rangle]$$

$$\phi_3 = 1/2^{1/2} [|1/2, 1/2, -1/2\rangle - |1/2, -1/2, 1/2\rangle]$$

$$\phi_4 = |1/2, -1/2, -1/2\rangle$$

$$\phi_5 = |-1/2, 1/2, 1/2\rangle$$

$$\phi_6 = 1/2^{1/2} [| -1/2, 1/2, -1/2\rangle + | -1/2, -1/2, 1/2\rangle]$$

$$\phi_7 = 1/2^{1/2} [| -1/2, 1/2, -1/2\rangle - | -1/2, -1/2, 1/2\rangle]$$

$$\phi_8 = |-1/2, -1/2, -1/2\rangle$$

O termo do efeito Zeeman é dado pela expressão $\langle \phi_i | g_{iso} \beta_e B S_z | \phi_i \rangle$, e como o operador não atua sobre o número quântico de spin nuclear, temos vários elementos de matrizes que não são nulos.

Exemplo 1:

$$\langle \phi_1 | g_{iso} \beta_e B S_z | \phi_1 \rangle = \langle 1/2, 1/2, 1/2 | g_{iso} \beta_e B S_z | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle = 1/2 g_{iso} \beta_e B \langle 1/2, 1/2, 1/2 | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle = 1/2 g_{iso} \beta_e B$$

Exemplo 2:

$$\begin{aligned} \langle \phi_1 | g_{iso} \beta_e B S_z | \phi_2 \rangle &= 1/2^{1/2} [\langle 1/2, 1/2, 1/2 | g_{iso} \beta_e B S_z | (|1/2, 1/2, -1/2\rangle + |1/2, -1/2, 1/2\rangle) \rangle] \\ &= 1/2^{1/2} [\langle 1/2, 1/2, 1/2 | g_{iso} \beta_e B S_z | 1/2, 1/2, -1/2 \rangle + \langle 1/2, 1/2, 1/2 | g_{iso} \beta_e B S_z | 1/2, -1/2, 1/2 \rangle] \\ &= 1/2^{1/2} [1/2 g_{iso} \beta_e B \langle 1/2, 1/2, 1/2 | 1/2, 1/2, -1/2 \rangle + 1/2 g_{iso} \beta_e B \langle 1/2, 1/2, 1/2 | 1/2, -1/2, 1/2 \rangle] = 0 \end{aligned}$$

Os dois últimos elementos de matrizes no exemplo 2 são zero porque num dos casos os valores de $m_I(2)$ diferem entre si, enquanto que no outro são os valores de $m_I(1)$. Isto faz a função ortogonal. Evoluindo todos os elementos de matrizes encontraremos que ϕ_1, ϕ_2, ϕ_3 e ϕ_4 são iguais a $E_2 = 1/2 g_{iso} \beta_e B$, enquanto que ϕ_5, ϕ_6, ϕ_7 e ϕ_8 são iguais a $E_1 = -1/2 g_{iso} \beta_e B$, conforme mostrado na Figura 141.

O cálculo da variação de primeira ordem na energia devido à interação hiperfina requer a evolução dos elementos de matriz $\langle \phi_i | H(h) | \phi_j \rangle$, onde $H(h)$ é dado pela expressão:

$$H(h) = A_{iso} [S_x I_x(1) + S_y I_y(1) + S_z I_z(1) + S_x I_x(2) + S_y I_y(2) + S_z I_z(2)]$$

Exemplo: $\langle \phi_1 | H(h) | \phi_1 \rangle =$

$$\langle 1/2, 1/2, 1/2 | A_{iso} (S_x I_x(1) + S_y I_y(1) + S_z I_z(1) + S_x I_x(2) + S_y I_y(2) + S_z I_z(2)) | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle$$

$$\begin{aligned}
&= A_{\text{iso}}[\langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_x I_x(1) | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle + \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_y I_y(1) | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle + \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_z I_z(1) | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle + \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_x I_x(2) | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle + \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_y I_y(2) | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle + \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_z I_z(2) | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle] \\
&= A_{\text{iso}}[1/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_x | 1/2, -1/2, 1/2 \rangle + i/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_y | 1/2, -1/2, 1/2 \rangle + 1/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_z | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle + 1/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_x | 1/2, 1/2, -1/2 \rangle + i/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_y | 1/2, 1/2, -1/2 \rangle + 1/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | S_z | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle] \\
&= A_{\text{iso}}[1/2 \cdot 1/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | -1/2, -1/2, 1/2 \rangle + i/2 \cdot i/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | -1/2, -1/2, 1/2 \rangle + 1/2 \cdot 1/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle + 1/2 \cdot 1/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | -1/2, 1/2, -1/2 \rangle + i/2 \cdot i/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | -1/2, 1/2, -1/2 \rangle + 1/2 \cdot 1/2 \langle 1/2, 1/2, 1/2 | 1/2, 1/2, 1/2 \rangle] \\
&= A_{\text{iso}}[1/2 \cdot 1/2 \cdot 0 + i/2 \cdot i/2 \cdot 0 + 1/2 \cdot 1/2 \cdot 1 + 1/2 \cdot 1/2 \cdot 0 + i/2 \cdot i/2 \cdot 0 + 1/2 \cdot 1/2 \cdot 1] = 1/2 A_{\text{iso}}
\end{aligned}$$

Figura 141- Diagrama ilustrando as mudanças nas energias e as composições das funções de onda para um sistema dinuclear paramagnético com $S = 1/2$ e $I(1)=I(2)= 1/2$. (a) Efeito Zeeman, (b) Interação hiperfina de primeira ordem, (c) Interação hiperfina de segunda ordem.

A evolução dos elementos de matriz produz um determinante secular para cada um dos níveis E_1 e E_2 . Estes determinantes resultam nas seguintes energias de primeira ordem (Figura 141):

$$E_2'(\phi_1) = 1/2 g_{\text{iso}} \beta_e B + 1/2 A_{\text{iso}}$$

$$E_1'(\phi_5) = 1/2 g_{\text{iso}} \beta_e B - 1/2 A_{\text{iso}}$$

$$E_2'(\phi_2) = 1/2 g_{\text{iso}} \beta_e B$$

$$E_1'(\phi_6) = -1/2 g_{\text{iso}} \beta_e B$$

$$E_2'(\phi_3) = 1/2g_{iso}\beta_e B$$

$$E_1'(\phi_7) = -1/2g_{iso}\beta_e B$$

$$E_2'(\phi_4) = 1/2g_{iso}\beta_e B - 1/2A_{iso}$$

$$E_1'(\phi_8) = -1/2g_{iso}\beta_e B + 1/2A_{iso}$$

Entretanto, uma segunda ordem na correção da energia pode ser realizada, aplicando-se as equações 7 e 8 descritas no apêndice 1, na tentativa de obter uma melhor aproximação.

$$E_2''(\phi_1'') = 1/2g_{iso}\beta_e B + 1/2A_{iso}$$

$$\phi_1'' = \phi_1$$

$$E_2''(\phi_2'') = 1/2g_{iso}\beta_e B + A_{iso}^2/2g_{iso}\beta_e B$$

$$\phi_2'' = \phi_2 + (A_{iso}/2^{1/2}g_{iso}\beta_e B)\phi_5$$

$$E_2''(\phi_3'') = 1/2g_{iso}\beta_e B$$

$$\phi_3'' = \phi_3$$

$$E_2''(\phi_4'') = 1/2g_{iso}\beta_e B - 1/2A_{iso} + A_{iso}^2/2g_{iso}\beta_e B$$

$$\phi_4'' = \phi_4 + (A_{iso}/2^{1/2}g_{iso}\beta_e B)\phi_6$$

$$E_1''(\phi_5'') = -1/2g_{iso}\beta_e B - 1/2A_{iso} - A_{iso}^2/2g_{iso}\beta_e B$$

$$\phi_5'' = \phi_5 - (A_{iso}/2^{1/2}g_{iso}\beta_e B)\phi_2$$

$$E_1''(\phi_6'') = -1/2g_{iso}\beta_e B - A_{iso}^2/2g_{iso}\beta_e B$$

$$\phi_6'' = \phi_6 - (A_{iso}/2^{1/2}g_{iso}\beta_e B)\phi_4$$

$$E_1''(\phi_7'') = -1/2g_{iso}\beta_e B$$

$$\phi_7'' = \phi_7$$

$$E_2''(\phi_8'') = -1/2g_{iso}\beta_e B + 1/2A_{iso}$$

$$\phi_8'' = \phi_8$$

As seguintes transições serão observadas, aplicando-se a regra de seleção $\Delta M_S = \pm 1$, $\Delta M_I = 0$ e a condição de $\Delta E = h\nu$:

$$E_1''(\phi_5'') \rightarrow E_2''(\phi_1'')$$

$$E_1''(\phi_6'') \rightarrow E_2''(\phi_2'')$$

$$E_1''(\phi_7'') \rightarrow E_2''(\phi_3'')$$

$$E_2''(\phi_8'') \rightarrow E_2''(\phi_4'')$$

Estas transições ocorrerão nos seguintes campos magnéticos:

$$h\nu = E_2''(\phi_1'') - E_1''(\phi_5'') = 1/2g_{iso}\beta_e B + 1/2A_{iso} - (-1/2g_{iso}\beta_e B - 1/2A_{iso} - A_{iso}^2/2g_{iso}\beta_e B)$$

$$h\nu = 1/2g_{iso}\beta_e B + 1/2A_{iso} + 1/2g_{iso}\beta_e B + 1/2A_{iso} + A_{iso}^2/2g_{iso}\beta_e B$$

$$h\nu = g_{iso}\beta_e B + A_{iso} + A_{iso}^2/2g_{iso}\beta_e B$$

$$g_{iso}\beta_e B = h\nu - A_{iso} - A_{iso}^2/2g_{iso}\beta_e B$$

$$B_1 = B_0 - A_{iso}/g_{iso}\beta_e - A_{iso}^2/2g_{iso}^2\beta_e^2 B_0, \text{ onde: } B_0 = h\nu/g_{iso}\beta_e$$

Aplicando-se a mesma metodologia para as demais transições, temos:

$$B_2 = B_0 - A_{iso}^2/g_{iso}^2\beta_e^2 B_0$$

$$B_3 = B_0$$

$$B_4 = B_0 + A_{iso}/g_{iso}\beta_e - A_{iso}^2/2g_{iso}^2\beta_e^2 B_0$$

Estas últimas equações mostram que numa primeira aproximação haverá três transições, com relativa intensidade 1:2:1, separados por uma componente A_{iso} . O efeito de segunda ordem pode remover a degenerescência do duplete central dependendo da dimensão do desdobramento hiperfino e do campo magnético aplicado (Figura 142).

Figura 142- Simulação dos desdobramentos hiperfinos para um sistema dinuclear paramagnético contendo $S = \frac{1}{2}$, $I(1)=I(2) = \frac{1}{2}$, $g_{iso} = 2,00$, $\Delta B(p-p) = 5$ mT (c) e $\Delta B(p-p) = 1$ mT.

Para um sistema dimérico envolvendo dois centros paramagnéticos equivalentes e com os mesmos tensores g e A , podemos estender o tratamento matemático descrito anteriormente para um

valor geral de I. Portanto, teremos os seguintes valores de $I_{ef} = 2I, 2I-1, 2I-2, \dots 0$. Sendo que em cada um desses níveis haverá as seguintes funções $|\pm 1/2, I_{ef}, M_I\rangle$, contendo os seguintes valores de energia:

$$E_1''(|-1/2, I_{ef}, M_I\rangle) = -1/2 g_{iso} \beta_e B - 1/2 A_{iso} M_I - (A_{iso}^2 / 4 g_{iso} \beta_e B) [I_{ef}(I_{ef} + 1) - M_I(M_I - 1)]$$

$$E_2''(|1/2, I_{ef}, M_I\rangle) = 1/2 g_{iso} \beta_e B + 1/2 A_{iso} M_I + (A_{iso}^2 / 4 g_{iso} \beta_e B) [I_{ef}(I_{ef} + 1) - M_I(M_I + 1)]$$

A posição do campo magnético onde ocorre a transição entre os níveis de energia, $E_1''(|-1/2, I_{ef}, M_I\rangle) \rightarrow E_2''(|1/2, I_{ef}, M_I\rangle)$, são:

$$B(I_{ef}, M_I) = B_0 - A_{iso} M_I / g_{iso} \beta_e - (A_{iso}^2 / 2 g_{iso}^2 \beta_e^2 B_0) [I_{ef}(I_{ef} + 1) - M_I^2] \quad (17)$$

Para um sistema paramagnético polinuclear contendo vários centros metálicos equivalentes, a equação 17 com um valor apropriado de A_{iso} poderá ser utilizado. Entretanto, quando maior o número de centros metálicos equivalentes maior será o número de transições a serem consideradas, pois aumentam-se os valores de I_{ef} .