

INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Estudo dos Complexos de Cobre(II) com
Triptofilglicina utilizando a técnica
de Ressonância Paramagnética Eletrônica

Carlos Alberto Fonzar Pintão

Dissertação apresentada ao Instituto de
Física e Química de São Carlos, USP para
obtenção do título de Mestre em Física
Aplicada.

Orientador: Prof.Dr.Otaciro Rangel Nascimento

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO - IFQSC
FÍSICA

USP / IFQSC / SB
[REDACTED]
0-2-000003

AC

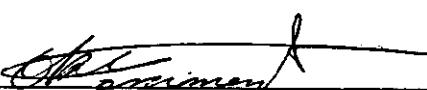
1982

São Carlos - São Paulo

1989

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE
CARLOS ALBERTO FONZAR PINTÃO APRESENTADA
AO INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS, DA UNIVERSI
DADE DE SÃO PAULO, EM 24 DE fevereiro DE 1989.

COMISSÃO JULGADORA:



Dr. Otacílio Rangel Nascimento Orientador



Dr. René Ayres Carvalho



Dr. Paulo Sergio Pizzani

Dedico este trabalho aos

meus pais

e

Marta Alves de Souza

Agradecimentos

Agradeço a todos aqueles que contribuiram de uma forma direta ou indireta neste trabalho.

Em particular ao meu orientador, Otaciro Rangel Nascimento, por ter proposto o tema desta dissertação de mestrado e abrir-me as portas ao grupo de Biofísica para realizá-lo.

Durante o período em que o estive realizando recebi a ajuda de vários colegas, como Sergio Soares Ramos, Carlos de Oliveira Paiva Santos, Carlos Alberto de Simone, Nelson Sato, José Geraldo Catarino e Valdir Camargo Melchior, os quais, além de grandes incentivadores, ajudaram-me na parte de Computação e Cristalografia.

Aos professores Marcel Tabak e Rosemary Sanches por contribuirem na minha formação na técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica e Biofísica.

Ao professor Eduardo Ernesto Castellano que resolveu a estrutura do monocrystal de Triptofilglicina com Cobre(II) e se colocou disponível em discutila conosco.

Aos colegas da Biofísica que convivi durante todo este tempo.

Ao IFQSC-USP por ter oferecido a oportunidade de uso de suas instalações e recursos humanos.

Aos órgãos financiadores de Ensino e Pesquisa, CNPq e FAPESP, por terem dado suporte financeiro.

A todos o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	i
LISTA DE TABELAS.....	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I - COMPLEXOS DE COBRE (II)	
1.1 - As "proteínas Azuis" e os complexos de cobre(II) com pequenos peptídeos	4
CAPÍTULO II - TEORIA DA RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA	
2.1 - Aspectos Gerais	13
2.2 - A Interação Zeeman e uma Analogia Clássica	13
2.3 - Interações	27
2.3.1 - Interação spin-órbita e Interação Zeeman do momento orbital e de Spin	36
2.3.2 - Efeito do Campo Cristalino e Interação Fina	39
2.3.3 - Interação Hiperfina	40
2.3.3.1 - Interação Dipolar ou Anisotrópica	41
2.3.3.2 - Interação de Contato ou de Fermi	42
2.3.4 - O tensor \tilde{A} e sua interpretação	42
2.3.5 - Interação de spins eletrônicos	43
2.3.5.1 - Interação dipolar eletrônica	44
2.3.5.2 - Interação de Intercâmbio eletrônico	44
2.3.5.3 - Outras Interações	44

CAPÍTULO III - ESPECTROS DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (RPE)

3.1 - Característica do ion cobre(II)	46
3.2 - Hamiltoniana de Spin	46
3.3 - Espectros de Solução	51
3.3.1 - Mecanismos de Relaxação	52
3.3.2 - Efeito de Movimento	53
3.3.3 - Interação Dipolar.....	55
3.4 - Espectro em Sólido	56
3.5 - Espectro de Pó	57

CAPÍTULO IV - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 - Preparação da Amostra	59
4.2 - Métodos e Técnicas experimentais	61

CAPÍTULO V - RESULTADOS

5.1 - Espectros de Absorção ótica no visível	63
5.2 - Espectros de RPE em solução	68
5.3 - Diferenças Espectrais	75
5.4 - Cristalografia	85
5.5 - Espectros de RPE do monocrystal	90
5.6 - Comparação dos Complexos de Triptofilglicina(Tro-Gly) e Gliciltriptofano(Gly-Trp) com o ion cobre(II) e o efeito da posição da cadeia lateral pesada nos parâmetros de RPE e Absorção Ótica	96

CAPÍTULO VI - DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

APÊNDICE A	113
------------------	-----

APÊNDICE B	117
------------------	-----

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123
----------------------------------	-----

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1-a) Desdobramento dos níveis de energia do spin eletrônico na presença de um campo magnético	15
FIGURA 1-b) A forma da linha de absorção de energia do campo de microondas	15
FIGURA 1-c) Derivada da linha de Absorção	15
FIGURA 2 - Orientação do campo magnético inicialmente ao acaso. Ao ligar-se H_z produz-se uma magnetização resultante \vec{M} ao longo do eixo z	17
FIGURA 3-a) O campo H_z e o campo girante H_{xy} no plano xy	19
FIGURA 3-b) O torque $\vec{M}_z \times \vec{H}_{xy}$ girando a componente \vec{M}_{xy} de \vec{M} no plano xy	19
FIGURA 3-c) O torque $\vec{M}_{xy} \times \vec{H}_{xy}$ atuando para ocasionar a mudança de sentido de \vec{M}_z	19
FIGURA 4-a) O tempo T_1 esta relacionado com a relaxação longitudinal	19
FIGURA 4-b) O tempo T_2 a relaxação transversal	19
FIGURA 5 - Componentes de \vec{M}_{xy} . A componente \hat{U} esta fora de fase com \vec{H}_{xy} , e \hat{V} esta fora de fase com \vec{H}_{xy}	23
FIGURA 6-a) Sinal de absorção (modo de absorção, ou modo v)	26
FIGURA 6-b) Dispersão do sinal(modo de dispersão, ou modo u)	26
FIGURA 7 - Arranjo experimental esquemático de uma experiência de RMN ou RPE	26
FIGURA 8-a) Os Orbitais s e p	28
FIGURA 8-b) Os orbitais d	28
FIGURA 9 - Configuração proposta	29

FIGURA 10-a) Coordenação tetraédrica e Cubica	31
FIGURA 10-b) Octaédrica	31
FIGURA 10-c) Octaédrica com distorção tetragonal	31
FIGURA 10-d) Quadrado planar	31
FIGURA 11-a) Combinacão ligante $d_{x^2-y^2}$	33
FIGURA 11-b) A combinação fracamente ligante d_{z^2}	33
FIGURA 11-c) Orbitais que não podem formar ligações σ	33
FIGURA 11-d) Orbitais que não podem formar ligações σ	33
FIGURA 12 - Diagramas de nível de energia do orbital molecular de um complexo octaédrico(diagramático)	35
FIGURA 13-a) O núcleo visto de um elétron	37
FIGURA 13-b) Referêncial laboratório	37
FIGURA 14 - Interação do dipolo momento magnético nuclear $\vec{\mu}_n$ e momento magnético do elétron $\vec{\mu}_e$	41
FIGURA 15 - Espectro de pó de uma proteína de cobre típica em solução congelada	58
FIGURA 16-a) Fórmula estrutural do Trp-Gly	60
FIGURA 16-b) Fórmula estrutural do Gly-Trp	60
FIGURA 17 - Espectros de absorção ótica no visível dos complexos Trp-Gly com cobre(II) em função do pH em solução ..	66
FIGURA 18 - Comprimento de onda do máximo da banda de absorção eletrônica em função do pH	67
FIGURA 19 - Espectros de RPE dos complexos Trp-Gly com cobre (III) em função do pH das soluções a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$)	71
FIGURA 20 - Espectros de RPE dos complexos Trp-Gly com cobre(II) em função do pH da solução a temperatura $\sim -150^\circ\text{C}$	72

FIGURA 21 - Gráfico dos parâmetros g_0 e A_0 dos complexos de Trp-Gly + cobre(II) em função do pH das soluções a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$)	74
FIGURA 22 - Diferença espectral dos complexos a pH=5,03(A) e pH=7,99(B) a temperatura próxima de -150°C [(A)-f(B)=(C), onde f=0,4]	78
FIGURA 23 - Diferença espectral dos complexos a pH=4,54(A), pH=7,99(B) e pH=3,45(D) a temperatura próxima de -150°C [(A)-f ₁ (B)=(C), onde f ₁ =0,1 e (C)-f ₂ (D)=(E), onde f ₂ =0,4]	79
FIGURA 24 - Comparação dos espectros resultantes das diferenças efetuadas nas figuras 23 e 24 a temperatura próxima de -150°C	80
FIGURA 25 - Diferença espectral dos complexos a pH=5,03(A) e pH=7,99(B) a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$), (A)-f ₁ (B)=(C), onde f ₁ =0,4]	81
FIGURA 26 - Diferença espectral dos complexos de pH=4,54(A), pH=7,99(B) e pH=3,45(D) a temperatura próxima de 25°C [(A)-f ₁ (B)=(C), onde f ₁ =0,1 e (C)-f ₂ (D)=(E), onde f ₂ =0,3]	82
FIGURA 27 - Comparação dos espectros resultantes das diferenças efetuadas nas figuras 26 e 27 a temperatura próxima de 25°C	83
FIGURA 28 - Diferença espectral dos complexos a pH=5,03(A) e pH=7,99(B) a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$) (A)-f ₁ (B)=(C), onde f ₁ =0,35]. Espectros de absorção ótica no visível	84

FIGURA 29 - Estrutura molecular do complexo Trp-Gly com cobre(II) que ocorre a pH próximo de 5,0, determinado de um dos monocristais crescidos no laboratório de Biofísica e resolvido pelo grupo de Cristalografia do DFQSC(1985)	88
FIGURA 30 - Quadro geral das distâncias e ângulos envolvidos entre os ligantes e o ion cobre(II) para um determinado plano de coordenação que passa pelos ligantes do complexo Trp-Gly+Cu ⁺²	89
FIGURA 31 - Variação angular no plano ab do espectro de RPE do monocrystal do complexo do complexo Trp-Gly com cobre(II) para alguns ângulos medidos a partir do eixo b	94
FIGURA 32 - Variação angular do fator g no plano cristalino ab	95
FIGURA 33 - Variação angular do fator g no plano cristalino bc	95
FIGURA 34 - Variação angular do fator g no plano cristalino ac	96
FIGURA 35 - Direções das normais aos planos de coordenação dos complexos Trp-Gly+Cu ⁺² determinados por cristalografia pelo DFQSC(1985)	97
FIGURA 36 - Sistemas de eixos utilizados para a determinação do tensor giromagnético \bar{g}	116

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Propriedades magnéticas e óticas de algumas proteínas azuis contendo íon de cobre(II)	6
TABELA 2 - Parâmetros de RPE para complexos de Cu ⁺² com moléculas de amino ácidos e peptídeos contendo enxofre (Sugiura, 1975, 1976, 1977, Kozlowski, 1977)	8
TABELA 3 - Parâmetros de RPE de complexos de cobre(II) com dipeptídeos com cadeia lateral pesada, na região de pH alto (Kozlowski, 1978)	ii
TABELA 4 - Classificação segundo a simetria dos orbitais para os complexos octaédricos (os orbitais T _{1g} e T _{2u} foram omitidos).....	34
TABELA 5 - Comprimento de onda do máximo da banda de absorção dos espectros eletrônicos dos complexos de Trp-Gly com cobre(II)	65
TABELA 6 - Valores dos parâmetros de RPE e absorção ótica para os complexos de Trp-Gly com cobre(II)	73
TABELA 7 - Complexos de Trp-Gly e Gly-Trp com o íon cobre(II) e parâmetros espectroscópicos de RPE e absorção ótica	98

RESUMO

Neste trabalho estudou-se os complexos formados pelo íon cobre(II) com o dipeptídeo triptofilglicina na faixa de pH=3,0 a 13,5. A caracterização dos mesmos foram realizadas através das técnicas de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) em duas temperaturas(ambiente e nitrogênio líquido) e Absorção Ótica no visível (350 a 1100 nm). As amostras em solução aquosa obedeceram a relação de 10 ligantes para 1 metal.

Caracterizou-se três tipos de complexos nas faixas de pHs: 4,0 a 6,0; 6,0 a 12,0 e acima de 12,0. Estes complexos foram propostos com base nos dados espectroscópicos e um conhecimento prévio dos pKs dos grupos desprotonáveis, são eles: CuL₂, CuL(H₂O) e CuL(OH)(H₂O).

Estudou-se a influência da cadeia lateral pesada nos parâmetros espectroscópicos e comparativamente ao complexo Gliciltriptofano estudado por Nascimento(1985) no mesmo intervalo de pH, foi possível mostrar que o modelo de não covalênciam (Brill e Bryce(1968)) é o mais adequado em explicar a diminuição da constante hiperfina A₂, constatado em pH elevado.

O complexo tridentado CuL(H₂O) foi cristalizado e medidas da RPE no monocrystal permitiram obter o tensor giromagnético molecular.

Interacção de exchange e/ou dipolar, não permitiram a determinação do tensor hiperfino do complexo. Através das direções principais e valores das componentes do tensor \bar{g}

cristalino e as direções das normais aos planos de coordenação, foi possível detectar uma forte interação de exchange entre dois íons vizinhos.

ABSTRACT

In this work was studied the complex made by the ion copper(II) with the dipeptide tryptophylglicine in the area of pH between 3,0-13,5. The characterizations of them were realized by the electron paramagnetic resonance (EPR) in two temperatures (room and liquid nitrogen) and Optics Absorption in the visible (between 350 - 1100 nm). The samples in aqueous solution got the rate of 10 ligand to one metal.

Three species of complex were characterized: pHs between 4,0-6,0; 6,0-12,0 and above 12,0. These complexes were proposed with foundation in the spectroscopic informations and a previous know of the pKs of the deprotonatable groups, they are: CuL₂; CuL(H₂O) and CuL(OH)(H₂O).

The influency of the lateral chain weighed in the spectroscopies parameter was studied, and in compare with the glycyltryptophan complex studied by Nascimento(1985) in the same intermission of the pH, it was possible to show that the model of no covalente(Brill and Bryce-1968) is the adequader to explain the hiperfine constant A_z diminution, evidenced in heigh pH.

The tridentate complex CuL(H₂O) was crystallized and EPR mensures in the monocrystal allowed to get the molecular gyromagnetic tensor.

Exchange and/or dipolar interaction didn't allow the determination of the hiperfine tensor of the complex. By the main directions and values of the component parts of the tensor

In crystalline and the normal directions to the plans of co-ordination, it was possible to detect a strong interaction of exchange between two neighbour ions.

INTRODUÇÃO

Os peptídeos apresentam um grande número de possibilidades de coordenação com íons metálicos, dependendo dos amino ácidos presentes, do pH e da relação estequiométrica. O fato destes íons apresentarem elétrons desemparelhados, com acentuado paramagnetismo, abre a possibilidade de se utilizar a técnica espectroscópica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) no estudo de diversos complexos estudados.

Entre os resíduos de amino ácidos mais ativos estão os nitrogênios do anel imidazol da Histidina e, por ser tão ativo, tem recebido consideração especial em estudos bioquímicos e em complexos de coordenação metálica (Sundberg and Martin, 1974).

O nitrogênio do grupo amino terminal também é bastante ativo em sua complexação com os íons metálicos e se diferencia do grupo anterior por apresentar-se eletronicamente diferente.

É comum existir grupos aminados, sulfidrilicos e carboxílicos participando da complexação com o íon metálico, assim como o grupo amida da ligação peptídica e o grupo carboxílico da parte terminal da sequência peptídica.

Quando se estuda estes complexos em solução ou em pó (amostra congelada) através de RPE obtém-se informações quanto ao estado de oxidação do íon, os elementos ou grupos que se coordenam com o mesmo, o grau de mobilidade, a orientação dos centros metálicos em relação a molécula como um todo e o tipo

de simetria envolvida(Berliner and Reuben, 1978).

Como o RPE fornece uma visão da simetria local deste ion metálico complexado, isto torna-se uma limitação a esta técnica, quando o mesmo não tem um papel importante como centro ativo nos mecanismos realizados pelos complexos.

Este trabalho enfoca o íon de cobre(II), pois é indiscutível que pequenas quantidades de proteínas com este íon realiza um papel importante em ambas as fisiologias animal e vegetal.

O acúmulo de medidas espectroscópicas ultravioleta, visível e RPE sobre proteínas de cobre(II) tem conduzido ao reconhecimento de três tipos característicos de cobre(II) nos complexos formados.

O cobre(II) do tipo I que é reconhecido por uma intensa coloração azul e apresenta espectro de absorção na região 600nm, têm um coeficiente de extinção da ordem de 100 vezes aquela comumente encontrada em quelatos com um único íon de cobre(II) e onde o espectro de RPE fornece um valor pequeno da constante hiperfina, isto é, $\| A_{zz} \| < 0,01 \text{ cm}^{-1}$ (menos que 100 Gauss) (Brill, 1977).

O cobre(II) do tipo II possui absorção no visível e propriedades espectrais de RPE compatíveis com aquelas dos quelatos que possuem um só íon de cobre(II), onde a constante hiperfina varia entre 14×10^{-4} e $220 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (maior que 140 Gauss).

O cobre(II) do tipo III que não apresenta paramagnetismo, isto pode ser explicado pelo par de íons estarem bastante próximos entre si, estabelecendo desta forma um diamagnetismo. Este acoplamento tem um papel importante de ser doador e/ou receptor de 2 elétrons, o que o distingue na sua função biológica.

Neste trabalho procurou-se estudar os complexos de cobre(II) formados com o dipeptídeo triptofilglicina, em função do pH na faixa 2,50 a 13,50 e compará-lo ao Glicil Triptofano já estudado por Nascimento e Tabak(1985).

Os estudos foram feitos utilizando-se as técnicas de absorção ótica no visível das soluções, em diferentes pHs, e de RPE destas a temperatura ambiente e nitrogênio líquido com a utilização de técnicas computacionais na obtenção de diferenças espectrais e ajustes para caracterização dos complexos.

Um dos complexos foi cristalizado em pH em torno de 5,0 e sua cristalografia foi resolvida pelo grupo de Cristalografia do IFQSC. Estudos de RPE foram feitos neste para três planos perpendiculares entre si, possibilitando a determinação do tensor \bar{g} e suas direções principais.

CAPITULO I

COMPLEXOS DE COBRE(II)

1.1 - As "proteínas Azuis" e os complexos de cobre(II) com pequenos peptídeos.

Existe um grupo muito especial de proteínas que contém o íon de cobre(II) denominadas de "proteínas azuis", por apresentarem propriedades espectroscópicas que a diferenciam de outros complexos de cobre com pequenos peptídeos e até mesmo daquelas proteínas não classificadas dentro deste grupo.

Estas "proteínas azuis" apresentam uma intensidade relativamente alta das bandas de absorção, forte dicroísmo circular associado a estas bandas e baixo valor da interação hiperfina de campo baixo do íon de cobre(II), com uma coloração azul quando cúprico e clara quando cuproso.

A absortividade máxima da banda em $16 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ (600nm), é duas ordens de grandeza maior que aquela apresentada por pequenos complexos de cobre(II)(sulfatos, amino ácidos, e etc) e uma ordem de grandeza maior que na maioria das apresentadas por pequenos peptídeos.

A tabela 1 fornece os valores experimentais de grandezas, medidas em "proteínas azuis" contendo um íon , tais como parâmetros de RPE, absorção ótica e absortividade.

No estudo de complexos contendo cobre(II), por RPE, convém classificar os íons de cobre(II) em duas classes: cobre(II) do tipo I e do tipo II já que o cobre(II) do tipo III

não é detectável por esta técnica(Vanngard,1967).

Conforme já mencionado na introdução, das diferenças existentes entre os mesmos, as "proteínas azuis" são incluídas no cobre(II) do tipo I.

Os íons de cobre(II) do tipo II incluem todos os outros complexos de cobre(II) inclusive as proteínas não azuis; Existem poucas exceções a esta generalização.

Com relação aos ligantes coordenados ao íon cobre(II) nas "proteínas azuis" sabe-se que as possíveis coordenações são o enxofre do resíduo cisteína(Miskowski, 1975; Silman, 1976; Finazzi-Agro, 1973; Katch, 1964; Morpurgo,1974) e um nitrogênio do anel imidazol de uma histidina (Markley, 1975).

Em algumas "proteínas azuis" parece não ser fundamental existir enxofre associado ao íon (Briving, 1975; Witwicki, 1969). Deste modo somente com os grupos envolvidos na complexação do íon, parece difícil explicar os valores experimentais, assim como a cor azul intensa nestas proteínas.

Brill e Bryce(1968) e Brill(1977), calcularam a alta absorvidade molar próxima a $16 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ (600nm), e também os parâmetros de RPE, fazendo um modelo não covalente de funções de ondas, misturando funções de carácter 3d, funções 4p e 4s do íon de cobre.

Proteína	Origem	g_{\perp}	$g_{//}$	A	λ	Absortividade
				(Gauss)	(nm)	($\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
Azurina	Pseudomonas aeruginosa	2,052	2,260	57	625	3,50
Estelacianina	Rhus					
pH neutro	Vermicifera	2,025		33		
		2,077	2,287	$A_x=55$	605	4,08
pH 10-11,5		2,025	2,312	16		
		2,089	2,312	$A_x=71$		
Umeçianina	horseradish					
pH neutro		2,050	2,317	35	606	3,36
Lacasefungal	Polyporus	2,033	2,190	88	610	4,90
	Versicolor	2,051				
Superoxido	Células	2,029	2,265	134		
	Vermelhas					
Dismutase	Bovinas	2,108	2,265	134	---	---

Tabela 1 - Propriedades magnéticas e óticas de algumas proteínas azuis contendo íon de cobre(II).

Estudos posteriores feitos por Gray e Solomon (Gray, 1974; Solomon, 1976) mostraram que uma banda intensa em 600nm, poderia ser explicada por uma transição de transferência de carga do enxofre para o cobre.

Apesar destas propostas na tentativa de justificar aqueles valores, o problema continua em aberto.

Nos dois modelos mencionados acima, Brill e Bryce propõem uma descrição de não covalência contrária a descrição de covalência por Gray e Solomon.

Grande esforço tem sido colocado em complexos de pequenos peptideos com íons de cobre(II), com o objetivo de reproduzir os dados espectroscópicos apresentados pelas "proteínas azuis".

No trabalho de Sugiura(Sugiura, 1970, 1972, 1975, 1976, 1977), onde ele e seus colaboradores exploram a presença do grupo tiol, como ligante do íon cobre(II) e baseado nos valores dos parâmetros $A_{\parallel\parallel}$ pequenos destes complexos de cobre(II), tentam uma possível explicação que possa estar ocorrendo nas "proteínas azuis" por apresentar valores de $A_{\parallel\parallel}$ baixos também. Sugiura supõe simetria axial para todos os complexos investigados e, usando a relação já conhecida para o cálculo do parâmetro de ligação, obtém através da expressão (1) o parâmetro de covalência α^2 . A tabela 2 fornece estes valores.

$$\alpha^2 = \frac{A_{\parallel\parallel}}{P} + \Delta g_{\parallel\parallel} + 3/7 \Delta g_{\perp} + 0,04 \quad (1)$$

onde $P = 0,04 \text{ cm}^{-1}$.

Embora este cálculo seja bastante aproximado, serve para mostrar o deslocamento da densidade eletrônica em direção aos ligantes, caso o enxofre esteja coordenado ao íon cobre(II).

O valor de $\|A_{\parallel\parallel}\|$ pequeno ($\|A_{\parallel\parallel}\| = 93$ Gauss) e uma banda intensa de absorção em torno de 600nm, com absoratividade $830M^{-1}cm^{-1}$ é explicada pelo autor (Sugiura, 1977), pela transição de transferência de carga $\sigma(S) \rightarrow d(Cu)$.

COMPLEXOS	$g_{\parallel\parallel}$	g_{\perp}	$A_{\parallel\parallel}$ (Gauss)	α^2
$Cu^{2+}-\alpha$ -Mercaptopropilglicina				
verde $Cu^{2+}-S$	2,259	2,040	82	0,52
violeta	2,185	2,037	168	0,66
$Cu^{2+}-\gamma$ -Mercaptopropionil-L-histidina				
	2,256	2,043	76	0,51
$Cu^{2+}-N$ -Mercaptoacetil-L-histidina				
	2,301	2,069	93	0,65
Cu^{1+},Cu^{2+} DL-Penicilamina				
	2,414	2,080	123	0,87
Cu^{2+} -Glutationa	2,221	2,062	190	0,88

Tabela 2 - Parâmetros de RPE para complexos de Cu^{2+} com moléculas de amino-ácidos e peptídeos contendo enxofre (Sugiura, 1975, 1976, 1977, Koslowski, 1977).

A presença do enxofre como ligante, é a causa principal para a grande deslocalização eletrônica e da diminuição de $A_{\parallel\parallel}$ explicando a cor azul intensa do complexo.

Existem, entretanto, outros complexos de cobre(II), como penicilamina(Miyoshi, 1976), e Glutationa em suas formas reduzida (Jezowska-Trzebiatowska, 1977) e oxidada (Kroneck, 1975), onde a ligação cobre(II)-S ocorre e, sua ligação covalente é pequena, como em outros complexos axiais (com $\alpha^2 > 0,8$) e o valor de $\|A_{\perp\perp}\| > 100$ Gauss.

A sugestão é que a covalência da ligação cobre(II)-S pode depender das outras coordenações, ou que a simetria tetragonal assumida por Sugiura não esta correta e, desta forma, os valores dos parâmetros α^2 , estão incorretos.

Além do parâmetro $\|A_{\perp\perp}\|$ ser pequeno nas "proteínas azuis", bem como de outras proteínas, estas apresentam a característica de uma baixa simetria dos tensores \bar{A} e \bar{g} (T. Vanggard, 1972).

Os complexos de pequenos peptídeos, em geral, a simetria quadrado planar ou tetragonal é muito pouco distorcida, e com o espectro de RPE apresentando simetria axial; já não ocorrendo nas proteínas; devido aos vínculos estruturais onde a simetria do complexo pode ser mais baixa que axial.

A possível influência de cadeias laterais maiores, em pequenos peptídeos podem, em princípio, gerar distorções na simetria do complexo e, desta forma gerar dados espectroscópicos mais próximos das proteínas que apresentam as mesmas distorções.

Kozlowski(1978) realizou um estudo neste sentido com uma série de dipeptídeos constituidos por Gly-X, onde X é um amino ácido contendo cadeia lateral grande, próxima ao grupo carboxila terminal.

Ao analizar os espectros de RPE destes complexos observa simetria axial em uma faixa de pH até próximo de 11 (Kozlowski, 1977), e os valores de A_{xy} estão em concordância com os outros complexos de peptídeos com cobre(II).

Os complexos de cobre(II) com estes dipeptídeos, na faixa de pH < 11 são, geralmente quelatos tridentados com a participação de grupos NH_2 , N^+ amida e COO^- , e como quarto ligante água ou hidroxila.

Em pH acima de 12, porém fora da faixa mencionada anteriormente, a simetria muda de axial para rômbica, exceto para os complexos Gly-Gly com cobre(II).

Uma possível explicação da diminuição de simetria tem sido dada pelo rompimento da ligação do oxigênio da carboxila com o íon, por razões estéricas, provocadas pelo alto valor de pH(Kozlowski 1977 e 1978; Kaneda, 1977).

O argumento usado por Kozlowski(1978) na importância da cadeia lateral pesada, pode ser vista na tabela 3 pelo grau de distorção $|\mathbf{g}_x - \mathbf{g}_y|$ crescente com o tamanho do resíduo lateral.

Ligantes	pH	g_x	g_y	$g_z=g_{//}$	A_x	$A_z=A_{//}$	$\ g_x-g_y\ $
				(Gauss)		(Gauss)	
Phe-Gly	13,1	2,070	2,050	2,215	30	160	0,020
Gly-Asp	12,6	2,130	2,030	2,246	52	129	0,100
Gly-Met	13,6	2,126	2,016	2,257	25	123	0,110
Met-Val	13,6	2,122	2,014	2,259	30	123	0,100
D-Leu-Tyr	13,1	2,096	2,001	2,282	50	110	0,095
Gly-Glu	12,5	2,142	2,025	2,252	61	107	0,117
Gly-Tyr	12,6	2,155	2,015	2,267	70	98	0,140
Gly-Phe	13,1	2,151	2,020	2,270	67	95	0,131
Ala-Tyr	13,1	2,153	2,005	2,274	74	79	0,148

Tabela 3 - Parâmetros de RPE de Complexos de Cobre(II) com dipeptídeos com cadeia lateral pesada, na região de alto pH (Koslowski, 1978).

Nascimento e Tabak(1985) estudaram o dipeptídeo glicil-Triptofano complexado com cobre(II) e caracterizou três espécies diferentes de complexos por RPE e Absorção Ótica, propondo e discutindo as possíveis coordenações para dois deles a pH=5,0 e pH=13,20, o terceiro complexo a pH=9 foi cristalizado e sua estrutura refinada.

O complexo a pH=13,20 confirmou a importância do resíduo lateral pesado do dipeptídeo na simetria do complexo e apresentou parâmetros espectrais de RPE parecidos com os apresentados pelas "proteínas azuis".

Uma vez confirmada a importância da cadeia lateral pesada do dipeptídeo, convém perguntar se ao trocar esta de posição, continua ocorrendo o mesmo tipo de comportamento e em que afetará os novos parâmetros espectroscópicos.

CAPITULO II

TEORIA DA RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA

2.1 - Aspectos Gerais

Os princípios de RPE são análogos aqueles de RMN. Na ressonância RPE as transições ocorrem entre níveis de energia magnéticos de elétrons desemparelhados em sistemas atômicos ou moleculares.

Esta técnica aplica-se a sistemas que apresentam elétron desemparelhado. Grande parte das moléculas não apresentam esta característica. Isto pode parecer desvantajoso, embora na prática pode resultar em grande benefício.

Como exemplo, a espécie paramagnética bacterioclorofil tem sonda interna que pode ser estudada individualmente, sem apresentar os efeitos de interferência das bandas de absorção de outros grupos presentes. Caso a espécie não apresenta paramagnetismo intrínseco, um "spin-label" (pequena molécula contendo um elétron desemparelhado) pode ser introduzida e as características do "label" podem ser usadas para investigar em detalhes as relações estrutura-função e as vizinhanças dos sitios de ligação.

2.2 - A Interacão Zeeman e uma analogia Clássica

De acordo com a Física clássica o momento magnético ($\vec{\mu}$) interage com o campo magnético (\vec{H}) apresentando uma energia de interacão $E = - \vec{\mu} \cdot \vec{H}$ continua. Na mecânica quântica esta expressão é trocada por um Hamiltoniano de interacão e $\vec{\mu}$ não pode variar livremente ao longo de \vec{H} , possuindo valores bem definidos , onde dizemos que a energia E é quantizada.

O momento magnético $\vec{\mu}$ de um elétron livre pode ser expresso em termos de seu spin como :

$$\vec{\mu} = - g_e \beta_e \vec{S} \quad (2)$$

onde β_e é o magneton de Bohr e vale $9,27 \times 10^{-21}$ ergs/Gauss, g_e é o fator g para o elétron livre, cujo valor é 2,0023 e \vec{S} é o spin do elétron por unidade de \hbar .

A interação deste elétron livre com o campo magnético é expressa pela Hamiltoniana :

$$\hat{H} = - \vec{\mu} \cdot \vec{H} = g_e \beta_e \vec{S} \cdot \vec{H} \quad (3)$$

A solução do Hamiltoniano (3) fornece as possíveis energias para o sistema. Quando se aplica \vec{H} na direção de z tem-se o operador (\hat{H}) e os autovalores (E)

$$\hat{H} = g_e \beta_e H_0 S_z \quad e$$

$$E(M_s) = g_e \beta_e H_0 M_s$$

onde M_s são as possíveis projeções do spin ao longo do eixo z de quantização. Como o elétron possui spin $1/2$, M_s pode assumir $1/2$ e $-1/2$, com as energias

$$E(+1/2) = + 1/2 g_e \beta_e H_0$$

$$E(-1/2) = - 1/2 g_e \beta_e H_0$$

A diferença de energia entre estes dois estados é a quantidade necessária para que ocorra a transição eletrônica de um estado para o outro ; isto é $\Delta E = g_e \beta_e H_0$.

Esta energia é fornecida ao sistema através da exposição a um campo de microondas de frequência fixa perpendicular ao campo \vec{H} estático, o qual é variado de forma adiabática até que ocorra a transição. A absorção de energia da

microonda pelo sistema é registrada mais comumente pela iã-derivada através de um sistema de detecção eletrônico apropriado. A Fig.1 ilustra estas informações.

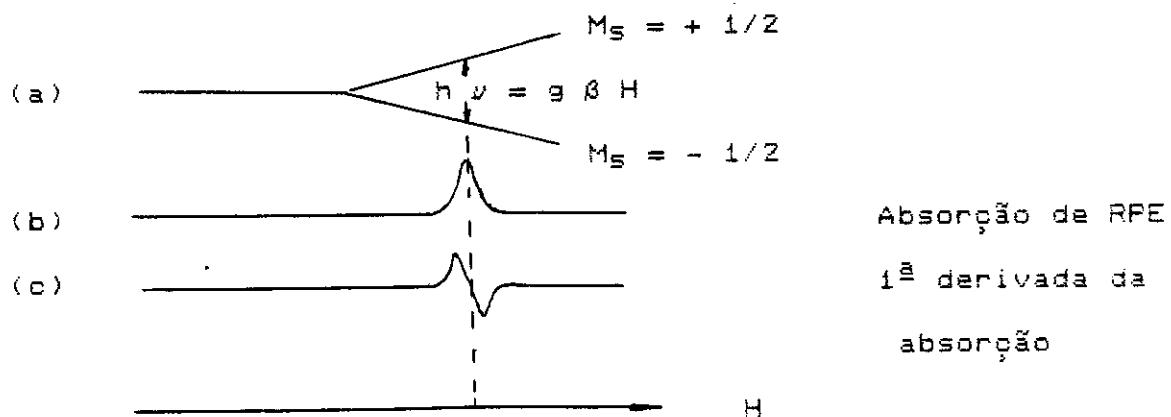


Fig.1 - (a) Desdobramento dos níveis de energia do spin eletrônico na presença de um campo magnético. (b) A forma da linha de absorção de energia do campo de microondas. (c) Derivada da linha de absorção.

Este fenômeno só pode ser entendido de forma plena através da mecânica quântica, porém ao se pensar nas idéias básicas envolvidas de forma clássica, pode-se conseguir um bom esclarecimento físico e é o que será feito.

Considere uma coleção de elétrons livres independentes e que cada um possua um momento magnético $\vec{\mu}_e$ e que na ausência de um campo magnético externo estão orientados aleatoriamente. Imagina-se um campo \vec{H} aplicado, na direção do eixo z. Os elétrons passam a apresentar um alinhamento preferencial ao longo do campo \vec{H} e precessarão em torno deste com a frequência característica ω_0 .

A interação de $\vec{\mu}_e$ com \vec{H} , expressa agora em termos do torque é $\vec{\tau} = \vec{\mu}_e \times \vec{H}$, onde $\vec{\tau}$ atua para produzir uma mudança no momento angular de spin (observe que trata-se apenas de uma visão clássica para melhor compreender o fenômeno).

A equação de movimento que relaciona \vec{S} e $\vec{\tau}$ é :

$$\frac{d\vec{S}}{dt} = \vec{\tau} = \vec{\mu}_e \times \vec{H} \quad (4)$$

com $\vec{\mu}_e = -g_e \beta_e \vec{S} = \gamma_e \vec{S}$, onde γ_e é a relação giromagnética. Também expressa como :

$$\frac{d\vec{\mu}_e}{dt} = \vec{\mu}_e \times \gamma_e \vec{H} \quad (5)$$

Através desta expressão é possível um entendimento da descrição fenomenológica da ressonância de uma forma quantitativa através das equações de Bloch.

Com o tempo, ao aplicar \vec{H} , os momentos magnéticos associados com cada elétron livre tendem a se rearranjar de tal forma a satisfazer a distribuição de Boltzmann, isto é :

$$\frac{N_0^-}{N_0^+} = e^{\frac{-\Delta E}{kT}} = e^{\frac{-\gamma \hbar H_0}{kT}} \quad (6)$$

onde $\frac{N_0^-}{N_0^+}$ corresponde a taxa de n^0S de spins paralelos e antiparalelos a \vec{H} na temperatura T. Em um campo de 3000 Gauss, esta taxa a uma temperatura de 300 K, vale 1,00134. Observa-se um valor pequeno, porém este excesso já é essencial para gerar um sinal de absorção. Caso os dois estados se encontram igualmente populados não há magnetização resultante da amostra e não se observa sinal, neste caso diz-se que a amostra se

encontra saturada. A Fig. 2 elucida o que se comentou.

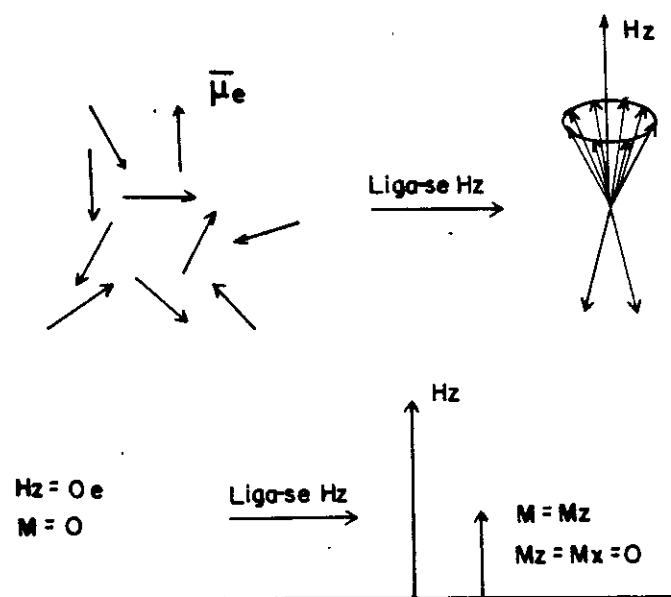


Fig. 2 - Orientação do campo magnético inicialmente ao acaso. Ao ligar-se H_z produz-se uma magnetização resultante \vec{M} ao longo do eixo z .

Então como resultado de um alinhamento líquido na direção de z estabelece-se uma magnetização total M_z nesta direção, onde M_z é a soma de todas as componentes z de $\vec{\mu}_e$ para cada elétron. Esta magnetização no equilíbrio vale M_z e a função que relaciona o valor de M_z num instante t logo após aplicar H_z é :

$$M_z = R_z (1 - e^{\frac{-t}{T_1}}) \quad (7)$$

onde T_1 é o tempo de relaxação longitudinal, isto é, na direção de H_z . Um melhor esclarecimento sobre T_1 se faz ao pensar na

inter-relação elétrons rede, que é de fundamental importância para que a relaxação aconteça .

A magnetização resultante só possui componente diferente de zero na direção z, isto é, $\hat{M}_z = M_z \hat{k}$, onde $M_x = M_y = 0$, pois não possuem orientação preferencial com relação a x e y .

A transição ocorrerá com a aplicação de um campo adicional \hat{H}_{xy} no plano xy que gira a uma frequência ω_0 , a mesma com que os elétrons precessarão em torno do eixo z .

Este campo exercerá um torque $\vec{\tau} = \hat{M}_z \times \hat{H}_{xy}$ sobre \hat{M} , dando origem a uma componente \hat{M}_{xy} de \hat{M} no plano xy 90° fora de fase com relação a \hat{H}_{xy} .

Esta componente \hat{M}_{xy} gera um outro torque $\vec{\tau} = \hat{M}_{xy} \times \hat{H}_{xy}$ que trás como consequência a mudança de \hat{M} , tentando levá-lo a uma configuração antiparalela com relação a H_z , a um valor menor que o equilíbrio M_z . (ver Fig. 3)

Caso desliga-se \hat{H}_{xy} subitamente, a componente M_z de \hat{M} retorna espontaneamente a seu valor de equilíbrio M_z através de um processo térmico que é caracterizado por T_1 .(ver Fig. 4)

O valor de \hat{M}_{xy} decai a zero quando \hat{H}_{xy} é desligado , pois no equilíbrio não existe direção preferencial com relação a x e y .

Esta relaxação é um processo espontâneo advindo da interação spin-spin entre os elétrons e é caracterizado pela constante de tempo T_2 .

A função que descreve o decaimento \hat{M}_{xy} com o tempo é

$M_{xy} = (M_{xy})_0 e^{-t/T_2}$ (8), onde t é o tempo contado logo após desligar-se H_{xy} , quando \vec{M}_{xy} possuia o valor $(\vec{M}_{xy})_0$.

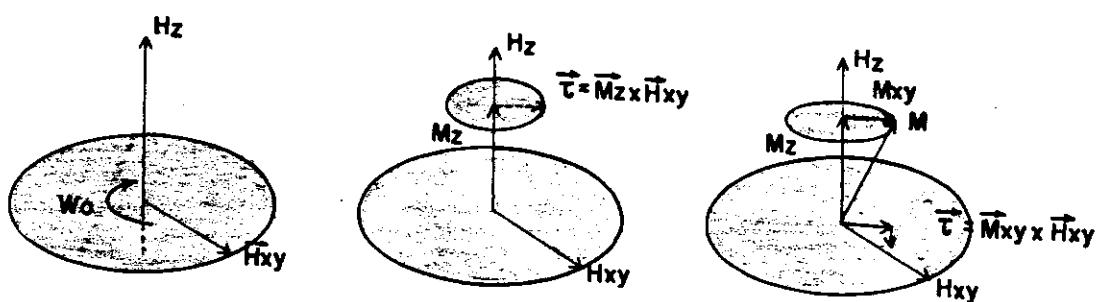


Fig. 3 - Efeitos de \vec{H}_{xy} sobre \vec{M}_z e \vec{M}_{xy}

(a) O campo H_z e o campo girante \vec{H}_{xy} no plano xy . (b) O torque $\vec{M}_z \times \vec{H}_{xy}$ girando a componente \vec{M}_{xy} de \vec{M} no plano xy . (c) O torque $\vec{M}_{xy} \times \vec{H}_{xy}$ atuando para ocasionar a mudança de sentido de \vec{M}_z .

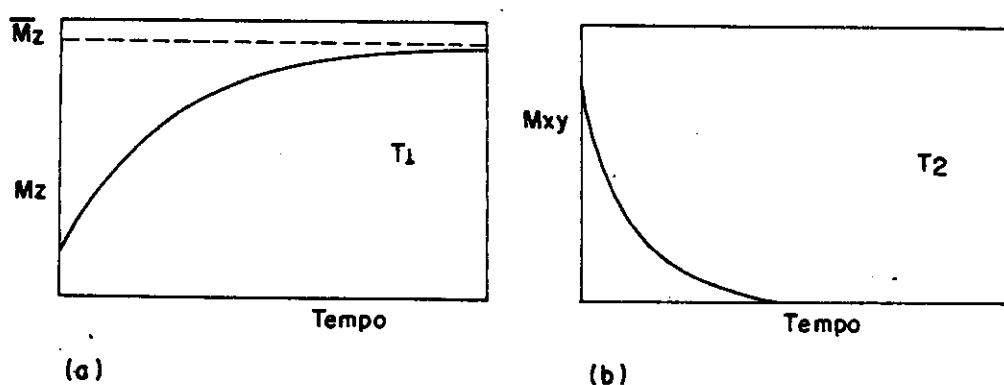


Fig. 4 - Tempos de relaxação . (a) O tempo T_1 está associado com a relaxação longitudinal . (b) O tempo T_2 a relaxação transversal.

Este parâmetro T_2 é também chamado de tempo de relaxação transversal. T_2 nunca pode ser maior que T_1 , caso isto fosse verdade o processo de randomização de \hat{M}_{xy} não ocorreria e \hat{M}_z não seria estabelecido.

Retornando a situação de \hat{H}_z ligado e \hat{H}_{xy} girando a uma frequência ω_0 , observa-se que \hat{M}_{xy} gira 90° fora de fase com \hat{H}_{xy} e que existe um torque $\hat{M}_{xy} \times \hat{H}_{xy}$ atuando sobre a magnetização ao longo de z decrecendo-a para \hat{M}_z , desta forma ocorre a absorção de energia .

Há um esforço contínuo em reestabelecer o valor de equilíbrio \hat{M}_z de \hat{M}_z e da componente transversal \hat{M}_{xy} para seu valor zero de equilíbrio .

Conforme estes processos de relaxação longitudinal e transversal ocorrem eficientemente, verifica-se uma absorção de energia destes dois estados , pois os efeitos de \hat{H}_{xy} sobre \hat{M} são continuamente corrigidos pelo processo de relaxação .

Logo o campo magnético deve oscilar a uma frequência que corresponde ao gap ΔE entre os estados magnéticos adjacentes, isto é :

$$\Delta E = g_e \beta_e H_0 = \gamma_e \hbar H_0 = \hbar \omega_0 = h \nu_0 \quad (9)$$

Do ponto de vista clássico, isto pode ser explicado pela necessidade de manter a 90° a relação de fase entre \hat{H}_{xy} e \hat{M}_{xy} para gerar o sinal de RPE .

Imaginando que ω é significativamente diferente de ω_0 ,em $t=0$, \hat{H}_{xy} atua sobre a componente de \hat{M}_z de \hat{M} para dar um torque que gera $\hat{M}_{xy}(0)$. Neste tempo inicial, \hat{H}_{xy} e $\hat{M}_{xy}(0)$

estão 90° fora de fase, depois de um tempo Δt , a relação de fase é $90^\circ + (\omega - \omega_0) \Delta t$. Portanto, \hat{H}_{xy} está continuamente atuando sobre \hat{M}_z , logo em $t = \Delta t$ por exemplo, ele gera uma componente $\hat{M}_{xy}(i)$ que está 90° fora de fase com \hat{H}_{xy} . Neste ponto, $\hat{M}_{xy}(o)$ e $\hat{M}_{xy}(i)$ estão fora de fase por $(\omega - \omega_0) \Delta t$.

Continuando o processo verifica-se a perda de coerência de fase tal que \hat{M}_{xy} acaba zerando, como consequência \hat{H}_{xy} não pode atuar para mudar a magnetização ao longo do eixo z. Desta forma não pode ocorrer a absorção de energia, pois \hat{M} não é perturbado.

Pode-se utilizar a equação (5) para um entendimento mais quantitativo da descrição fenomenológica anterior, isto é

$$\frac{d\hat{M}}{dt} = \hat{M} \times \gamma \hat{H} \quad (10)$$

onde \hat{M} é a soma dos vetores $\hat{\mu}_e$ de cada elétron e $\hat{H} = \hat{H}_z + \hat{H}_{xy}$ (embora $\hat{H}_z \gg \hat{H}_{xy}$).

Bloch assumiu que qualquer desvio do valor de equilíbrio \hat{M}_z da componente z de \hat{M} resultaria numa relaxação de 1ª ordem retornando o sistema ao estado de equilíbrio e de forma diferencial pode ser descrita como :

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{(M_z - \bar{M}_z)}{T_1} \quad (11)$$

Qualquer desvio de M_x e M_y de zero, com o campo H_z aplicado na direção de z, sofre também o processo de relaxação que pode ser descrito como :

$$\frac{dM_x}{dt} = -\frac{M_x}{T_2} \quad (12.a)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = -\frac{M_y}{T_2} \quad (12.b)$$

Combinando as equações (11) e (12) com (10) obtém-se a expressão:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{M} \times \gamma \vec{H} - \left(\frac{M_x}{T_2} \right) \hat{i} - \left(\frac{M_y}{T_2} \right) \hat{j} - \left[\frac{(M_z - \bar{M}_z)}{T_1} \right] \hat{k} \quad (13)$$

Tomando \vec{H}_{xy} como girando no sentido horário, tem-se:

$$\vec{H}_{xy} = H_x \hat{i} + H_y \hat{j} \quad (14)$$

$$H_x = H_{xy} \cos \omega t \quad \text{e} \quad H_y = - H_{xy} \sin \omega t$$

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \left(\frac{dM_x}{dt} \right) \hat{i} + \left(\frac{dM_y}{dt} \right) \hat{j} + \left(\frac{dM_z}{dt} \right) \hat{k} \quad (15)$$

Desta forma obtém-se as expressões conhecidas como equações de Bloch, isto é :

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma M_y H_z + \gamma M_z H_{xy} \sin \omega t - \left(\frac{M_x}{T_2} \right) \quad (16.a)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = - \gamma M_x H_z + \gamma M_z H_{xy} \cos \omega t - \left(\frac{M_y}{T_2} \right) \quad (16.b)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = - \gamma M_x H_{xy} \sin \omega t - \gamma M_y H_{xy} \cos \omega t - \left[\frac{(M_z - \bar{M}_z)}{T_1} \right] \quad (16.c)$$

É comum relacionar a $\vec{M}_{xy} = M_x \hat{i} + M_y \hat{j}$ um vetor momento magnético girante no plano xy. Este vetor pode ser expresso como a soma de duas componentes \vec{U} e \vec{V} , onde \vec{U} está em fase e \vec{V} está a 90° fora de fase com \vec{H}_{xy} (ver Fig. 5).

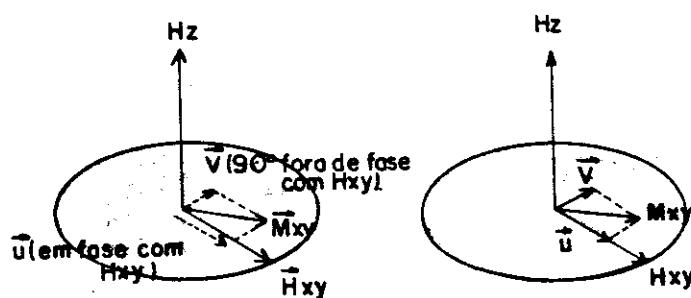


Fig. 5 - Componentes de \vec{M}_{xy} . A componente \hat{u} está em fase com \hat{H}_{xy} , e \hat{v} está fora de fase com \hat{H}_{xy} .

Um vetor unitário \hat{i} na direção de \hat{H}_{xy} é expresso como :

$$\hat{i} = \hat{i} \cos\omega t - \hat{j} \sin\omega t, \text{ tal que}$$

$$u = \vec{M}_{xy} \cdot \hat{i} \text{ ou } u = M_x \cos\omega t - M_y \sin\omega t \quad (17.a)$$

e v é dado por:

$$\begin{aligned} v &= M_x \cos(\omega + 90^\circ)t - M_y \sin(\omega + 90^\circ)t \\ &= -M_y \sin\omega t - M_y \cos\omega t \quad (17.b) \end{aligned}$$

Usando as equações de Bloch (16) em combinação com (17), tem-se:

$$\begin{aligned} \frac{du}{dt} &= \frac{dM_x}{dt} \cos\omega t - M_x \omega \sin\omega t - \frac{dM_y}{dt} \sin\omega t - M_y \omega \cos\omega t \\ &= \gamma M_y H_z \cos\omega t + \gamma M_z H_{xy} \sin\omega t \cos\omega t - \frac{M_x}{T_2} \cos\omega t - \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M_x \omega \sin\omega t - M_y \omega \cos\omega t + \gamma H_z M_x \sin\omega t - \gamma M_z H_{xy} \sin\omega t \cos\omega t \\ + \frac{M_y}{T_2} \sin\omega t = \gamma H_z (M_y \cos\omega t + M_x \sin\omega t) + \frac{1}{T_2} (M_y \sin\omega t - \\ M_x \cos\omega t) - \omega (M_x \sin\omega t + M_y \cos\omega t) \end{aligned}$$

$$\frac{du}{dt} = \gamma H_z (-v) + \frac{1}{T_2} (-u) - \omega (-v)$$

$$\frac{du}{dt} = -(\omega_0 - \omega) v - \frac{u}{T_2} \quad (18.a)$$

De forma análoga obtém-se :

$$\frac{dv}{dt} = (\omega_0 - \omega) u - \frac{v}{T_2} - \gamma H_{xy} M_z \quad (18.b)$$

e finalmente

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{(M_z - \bar{M}_z)}{T_1} + \gamma H_{xy} v \quad (18.c)$$

onde $\omega_0 = \gamma H_z$

Na condição de estado estacionário as derivadas abaixo são nulas

$$\frac{du}{dt} = \frac{dv}{dt} = \frac{dM_z}{dt} = 0 \quad (19)$$

e obtém-se as expressões :

$$M_z = \frac{\bar{M}_z [1 + T_2^2 (\omega_0 - \omega)^2]}{[1 + T_2^2 (\omega_0 - \omega)^2 + \gamma^2 H_{xy}^2 T_1 T_2]} \quad (20.a)$$

$$u = \frac{\bar{M}_z \gamma H_{xy} (\omega_0 - \omega) T_2^2}{[1 + T_2^2 (\omega_0 - \omega)^2 + \gamma^2 H_{xy}^2 T_1 T_2]} \quad (20.b)$$

$$v = \frac{-\bar{M}_z \gamma H_{xy} T_2}{[1 + T_2^2 (\omega_0 - \omega)^2 + \gamma^2 H_{xy}^2 T_1 T_2]} \quad (20.c)$$

Quando $\omega_0 - \omega = 0$ (na ressonância) u zera, tal que M_{xy} é inteiramente determinado pela componente v , como esperado. Logo o vetor \vec{M}_{xy} está 90° fora de fase com \vec{H}_{xy} .

Neste caso o máximo torque possível ($\vec{M}_{xy} \times \vec{H}_{xy}$) pode atuar para produzir uma mudança de \vec{M} com relação ao eixo do campo, envolvendo assim uma mudança na energia de interação magnética $\vec{M} \cdot \vec{H}_z$ do sistema.

De acordo com a equação (20.c), v é negativo se $T>0$, com a condição de estado estacionário a equação (20.c), mostra que $M_z - \bar{M}_z < 0$, donde $M_z < \bar{M}_z$.

Logo a magnetização M_z é empurrada para um valor menor que \bar{M}_z , significando que \hat{M} tem sido levado a uma situação de ser antiparalelo a H_z , o que corresponde a uma absorção de energia pelos elétrons. Note que estas observações concordam com a discussão qualitativa feita anteriormente.

É claro que v fixa a absorção de energia originada de uma mudança em M_z com respeito ao eixo do campo. Uma medida de v pode ser obtida por comparar uma componente de H_{xy} com uma de M_{xy} que está 90° fora de fase.

Por exemplo, na ressonância (quando $u=0$, e \hat{H}_{xy} está 90° fora de fase com \hat{M}_{xy}), a componente H_x está exatamente em fase com M_y . Portanto, se adaptarmos um receptor ao longo do eixo y deixando-o receber um sinal de referência H_x , obtém-se uma medida de v pela medida da corrente induzida por M_y superposta no receptor com o sinal de referência de H_x .

Claramente, quando $\omega = \omega_0$, a amplitude do sinal resultante será um máximo porque H_x e M_y estão em fase, quando $\omega \neq \omega_0$, então H_x e M_y estarão fora de fase e a amplitude resultante será menor. Alternativamente, pode-se fazer medidas equivalentes monitorando a relação de fase entre H_y e M_x .

O sinal de absorção observado será proporcional a magnitude de v , a Fig. 6a e b mostra o esboço deste.

Alternativamente pode-se medir o sinal u através de um

arranjo adequado, a Fig. 7 mostra isto de forma esquemática.

Este texto foi baseado nos autores Cantor e Schimel(1980).

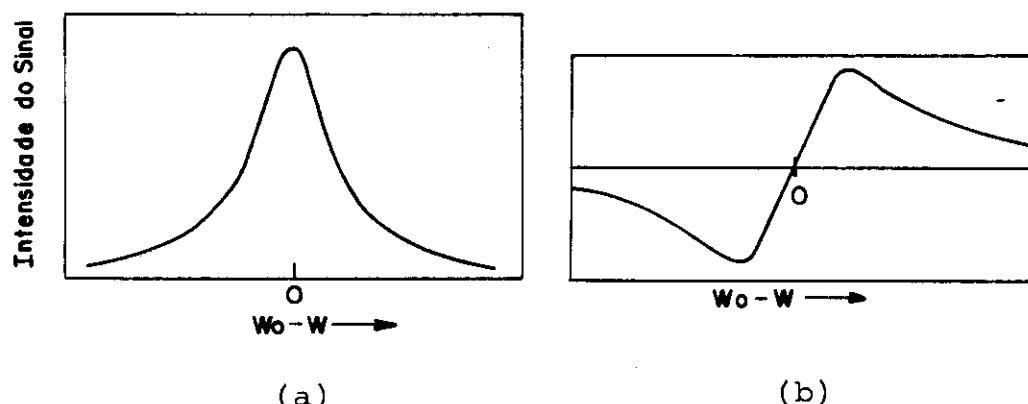


Fig.6- (a) Sinal de absorção(modo de absorção, ou modo v),(b) Dispersão do Sinal(modo de dispersão, ou modo u)

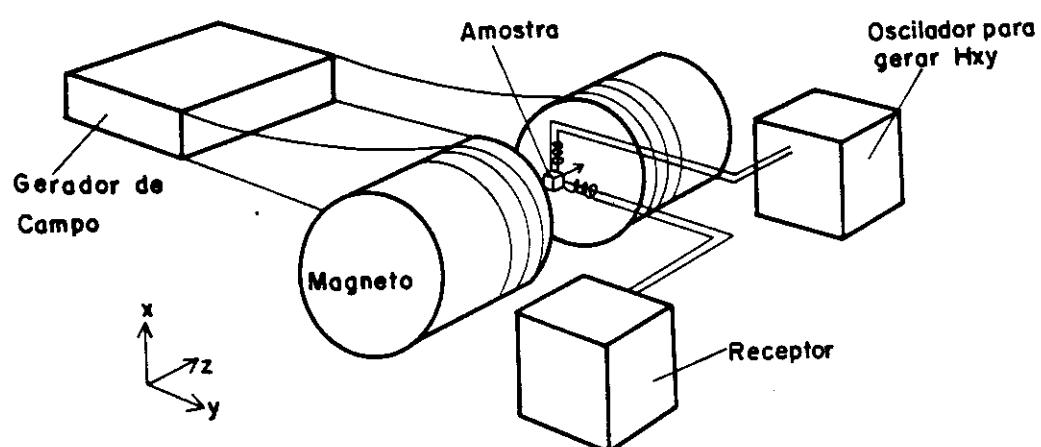


Fig. 7 - Arranjo experimental esquemático de uma experiência de RMN ou RPE.

2.3 - Interacções

Até agora falou-se de elétron desemparelhado representado através de um vetor momento magnético de spin $\vec{\mu}_e$, sem levar em conta que o mesmo pode estar sujeito a outras forças além daquela interação entre o campo magnético (\vec{H}) e o momento de spin ($\vec{\mu}_e$).

Na descrição destes elétrons em átomos e moléculas, pela mecânica quântica, utiliza-se das funções de onda orbital. Pode-se decompor estas funções como o produto de duas outras.

A primeira é função só da distância radial do elétron ao núcleo e a segunda das coordenadas angulares do elétron.

A segunda por apresentar a dependência angular é aquela que determina a simetria espacial das funções de onda.

Este fato é muito importante, pois esta simetria das funções de onda que determina a maneira pela qual se combinam ao se ligar e dai a causa das diferentes propriedades magnéticas e óticas dos compostos.

A teoria do orbital molecular e a do campo cristalino trouxe uma melhor compreensão da estrutura eletrônica das moléculas. Não se deseja expor aqui em profundidade o que são tais teorias, pois foge ao enfoque deste trabalho. Uma descrição breve de cada uma porém será mencionada.

A dependência angular das funções de onda para os elétrons s, p e d são ilustradas na Fig. 8 a e b.

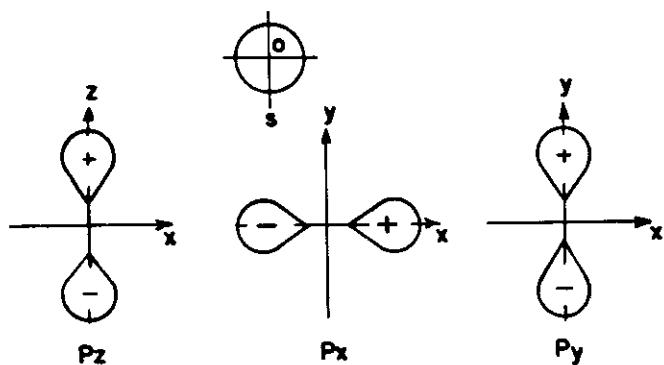


Fig. 8 a - Orbitais s e p

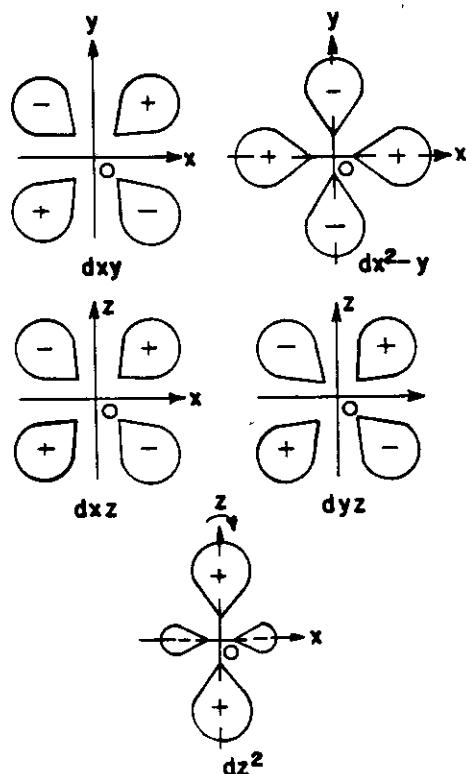


Fig. 8 b - Os orbitais d.

Pode-se notar que existem 3 distribuições angulares para todos os elétrons p e cinco para toda a série de elétrons d.

A teoria eletrostática do campo cristalino trata de agregados de íons e moléculas que interagem eletrostaticamente

e que não trocam elétrons entre si, isto é, não considera a ligação covalente, já a teoria do orbital molecular trata das moléculas covalentes encontrando orbitais para as moléculas resultantes que satisfaçam a mesma função que os orbitais s,p e d para os átomos.

Exemplificando, considera-se os compostos contendo um íon de metal de transição rodeado por um octaedro regular de íons negativos ou moléculas polares, estas dispostas de modo que a extremidade negativa de seus dipolos estejam dirigidas para o íon central, ver Fig. 9.

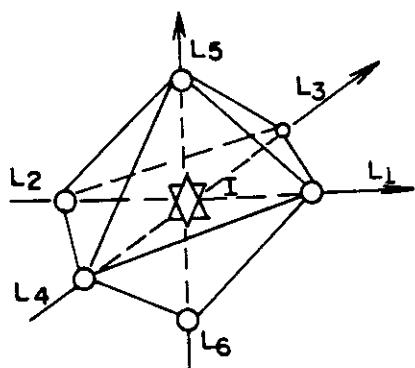


Fig. 9 - Configuração proposta.

A influência dos íons negativos ou dipolos orientados afetam os orbitais mais ou menos, dependendo da simetria angular destes e de suas posições relativas.

Os ligantes L_5 e L_6 , ao longo do eixo z, influenciam de forma semelhante os orbitais $d_{x^2-y^2}$ e d_{xy} .

A situação não é a mesma com os ligantes L_1, L_2, L_3 e L_4 no plano xy. Como a máxima densidade de carga eletrônica para os orbitais $d_{x^2-y^2}$ e d_{xy} situam-se em direções diferentes é de

se esperar que os ligantes influenciam de forma diferente estes orbitais. O orbital $d_{x^2-y^2}$ possui máxima densidade na direção x e y, enquanto d_{xy} nas direções das bissetrizes destes eixos.

Como os ligantes apresentam cargas negativas ou extremidades negativas de dipolos com o mesmo sinal das cargas do elétron, o elétron no orbital $d_{x^2-y^2}$ pode ser repelido mais fortemente pelos ligantes do que os elétrons em d_{xy} .

Os orbitais d_{xz} e d_{yz} possuem mesma orientação em relação ao ligante no plano xy e devem estar degenerados como o orbital d_{xy} .

Como a densidade de carga do orbital d_{z^2} está concentrada ao longo do eixo z este sofre grande influência do ligante na mesma direção L₅ e L₆ e deve existir uma interação da mesma forma que $d_{x^2-y^2}$.

Então é de se esperar que os orbitais $d_{x^2-y^2}$ e d_{z^2} sejam mais modificados que os orbitais d_{xy} , d_{xz} e d_{yz} .

No arranjo octaédrico regular, os cinco orbitais d desdobram-se em dois grupos, tal que um deles abrange os três orbitais d_{xy} , d_{xz} e d_{yz} , enquanto o outro, os orbitais $d_{x^2-y^2}$ e d_{z^2} .

O 1º grupo é designado com os orbitais t_{2g} e o 2º com os orbitais e_g .

Usando o mesmo tipo de raciocínio anterior, trata-se o arranjo tetraédrico e o cubico, onde os orbitais d desdobram-se em um grupo de três orbitais, designados por t_2 e num outro de dois orbitais representado por e .

A ordem destes níveis está invertida em relação a ordem dos arranjos octaédricos, onde o nível t_2 é menos estável que o nível e.

Em nenhum outro caso importante, o desdobramento em grupos de orbitais d é tão simples como os mencionados anteriormente.

O esquema dos níveis de energia para algumas coordenações possíveis seguem na Fig. 10.

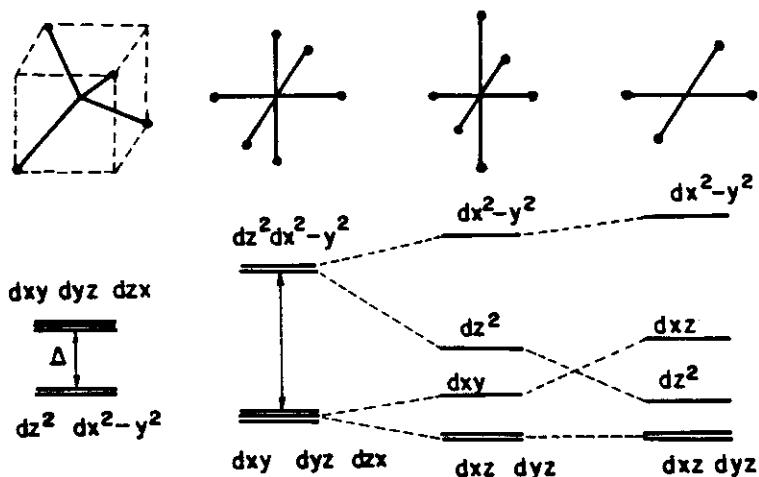


Fig. 10 - Esquemas de níveis de energia.

(a) Coordenação tetraédrica e cubica; (b) Octaédrica; (c) Octaédrica com distorção Tetragonal e (d) Quadrado planar.

Os argumentos de ordem qualitativos na montagem dos diagramas de níveis de energia para as possíveis configurações, mostraram que a teoria do campo cristalino é bastante simples e que se limita a uns poucos casos de coordenação.

Na compreensão da estrutura eletrônica das moléculas covalentes, em particular diatômicas e dos hidrocarbonetos aromáticos abandona-se a teoria do campo cristalino e lança-se mão da teoria do orbital molecular.

Nesta teoria conforme comentado, tenta-se encontrar orbitais para moléculas que satisfaçam a mesma função que os orbitais s, p e d para os átomos e atribui-se dois elétrons de cada vez para os orbitais por ordem crescente de energia.

A regra geral de grupos teóricos, no procedimento da determinação desses orbitais, estabelece que somente os orbitais que se transformam com a mesma representação do grupo pontual molecular podem combinar-se para resultar orbitais moleculares, desta forma se pode obter todos os resultados importantes para os complexos octaédricos, sem recorrer a deduções matemáticas.

Exemplificando o comentado através de uma molécula plana XH_4 e considerando os orbitais d do ion central com os ligantes nas direções dos eixos x e y, tem-se:

Os orbitais d_{xz} e d_{yz} mudam de sinal na reflexão no plano molecular Fig. 11d e não podem combinar-se com os orbitais s, além do que o orbital d_{xy} muda de sinal na reflexão no eixo x ou no y e não podem combinar-se com os orbitais s também.

Já o orbital $d_{x^2-y^2}$ pode combinar-se com a combinação linear dos orbitais do hidrogênio $1/2$ ($\Phi_1 + \Phi_2 - \Phi_3 - \Phi_4$), pois estes dois orbitais são afetados da mesma maneira por todas as

operações de simetria da molécula, ver Fig.11a.

De forma análoga o orbital d_{z^2} pode combinar-se com a combinação linear de $1/2 (\Phi_1 + \Phi_2 + \Phi_3 + \Phi_4)$, ver Fig.11b.

No caso de um complexo octaédrico admitimos que o íon metálico possue disponível para a formação de ligações, os orbitais ns, np e $(n-1)d$, isto é, para a 1^a série de transição $4s, 4p$ e $3d$.

A tabela 4 mostra na coluna 1 o grupo teórico dos orbitais com a abreviação adequada dos orbitais na coluna 2 e os possíveis orbitais moleculares dos ligantes que podem se combinar com os orbitais do metal segundo o tipo de ligação, colunas 3 e 4.

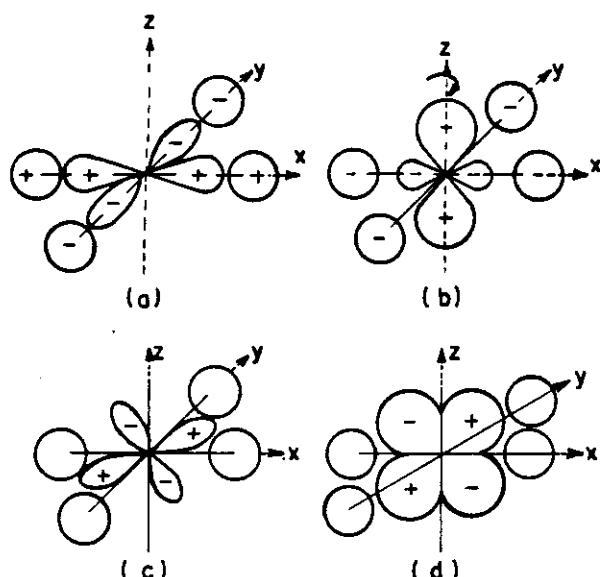


Fig. 11 - Orbitais num complexo X-H₄

(a) Combinação ligante $d_{xy}-d_{yz}$. (b) A combinação fracamente ligante d_{z^2} . (c) e (d) Orbitais que não podem formar ligações σ .

Orbital do Metal		Ligaçāo σ	Ligaçāo π
A_{1g}	$4s$	$x_{a1} = \frac{1}{\sqrt{6}}(\phi_1 + \phi_2 + \phi_3 + \phi_4 + \phi_5 + \phi_6)$	
E_g	$3d_{z^2}$	$x_{e_g, z^2} = \frac{1}{2\sqrt{3}}(2\phi_5 + 2\phi_6 - \phi_1 - \phi_2 - \phi_3 - \phi_4)$	$\pi_{t_{1u}, x} = \frac{1}{2}(\pi_{3x} + \pi_{4x} + \pi_{5x} + \pi_{6x})$
		$x_{e_g, x^2-y^2} = \frac{1}{2}(\phi_1 + \phi_2 - \phi_3 - \phi_4)$	$\pi_{t_{1u}, y} = \frac{1}{2}(\pi_{1y} + \pi_{2y} + \pi_{5y} + \pi_{6y})$
T_{1u}	$4p_x$	$x_{t_{1u}, x} = \frac{1}{\sqrt{2}}(\phi_1 - \phi_2)$	$\pi_{t_{1u}, z} = \frac{1}{2}(\pi_{1z} + \pi_{2z} + \pi_{3z} + \pi_{4z})$
	$4p_y$	$x_{t_{1u}, y} = \frac{1}{\sqrt{2}}(\phi_3 - \phi_4)$	
	$4p_z$	$x_{t_{1u}, z} = \frac{1}{\sqrt{2}}(\phi_5 - \phi_6)$	
T_{2g}	$3d_{xy}$		$\pi_{t_{2g}, xy} = \frac{1}{2}(\pi_{1y} - \pi_{2y} + \pi_{3y} - \pi_{4y})$
	$3d_{xz}$		$\pi_{t_{2g}, xz} = \frac{1}{2}(\pi_{1z} - \pi_{2z} + \pi_{5x} - \pi_{6x})$
	$3d_{yz}$		$\pi_{t_{2g}, yz} = \frac{1}{2}(\pi_{3z} - \pi_{4z} + \pi_{5y} - \pi_{6y})$

Tabela 4 - Classificação segundo a simetria dos orbitais para os complexos octaédricos (os orbitais T_{1g} e T_{2u} foram omitidos).

Sempre que dois orbitais combinam-se para formar orbitais moleculares muito deslocalizados, obtém-se dois novos orbitais, um mais e outro menos estável que qualquer um dos orbitais.

O diagrama de níveis de energia na Fig. 12 mostra isto. Convém lembrar que este diagrama esta de acordo com fundamentos da teoria elementar do orbital molecular e tambem em concordância com a experiência.

O arranjo dos ligantes a_{1g} , t_{1u} e e_g é desconhecido, assim como o arranjo dos orbitais antiligantes a_{1g} e t_{1u} é

incerto e muito provavelmente varia de composto para composto.

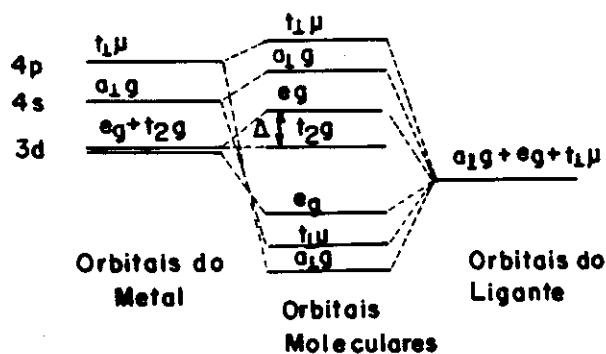


Fig. 12 - Diagramas de nível de energia do orbital molecular de um complexo octaédrico (diagramático).

A explicação resultante, como se pode verificar, é que os orbitais t_{2g} em d não são afetados pela ligação σ , enquanto que os orbitais eg combinam-se com os orbitais dos ligantes para resultar um orbital ligante duplamente degenerado e um orbital antiligante também duplamente degenerado.

Uma vez que os orbitais são mais estáveis que os orbitais do metal, o orbital ligante é sobretudo um orbital do ligante e orbital antiligante é um orbital do metal.

Como mencionado anteriormente, somente os orbitais $d_{x^2-y^2}$ e d_{z^2} podem formar ligação σ com os ligantes.

Cálculos mostram que o orbital $d_{x^2-y^2}$ é mais afetado que o orbital d_{z^2} , e por isto, a combinação antiligante do orbital $d_{x^2-y^2}$ com os orbitais dos ligantes é muito menos estável do que qualquer outro orbital d.

A aplicação desta teoria aos complexos com outras

coordenações é mais complicada, embora seja, em princípio, semelhante.

Encontra-se, em numerosos exemplos, que os aspectos principais do diagrama do nível de energia do orbital para os elétrons d coincidem na teoria orbital molecular e na eletrostática.

Com base nos desenvolvimentos já realizados parece provável que a descrição do orbital molecular está mais próxima da realidade, mas nem por isto a teoria eletrostática tem perdido seu valor.

Um termo "Teoria do Campo Ligante" foi proposto e aceito com a finalidade de dar um tratamento misto mais geral ao estudo da química dos metais de transição.

2.3.1 - Interacão Spin-Orbita e Interacão Zeeman do momento orbital e de spin.

Depois de uma rápida descrição de como o elétron pode ser compreendido dentro de uma estrutura atómica ou molecular e os esforços das teorias existentes em explicar a maneira como estes se arranjam na formação dos complexos, cabe a análise das interacões que este sofrerá.

Do ponto de vista do elétron, o campo magnético produzido pelo movimento aparente do núcleo é:

$$\vec{B} = \frac{Z e}{c r^3} \vec{v}_N \times \vec{r} \quad (20)$$

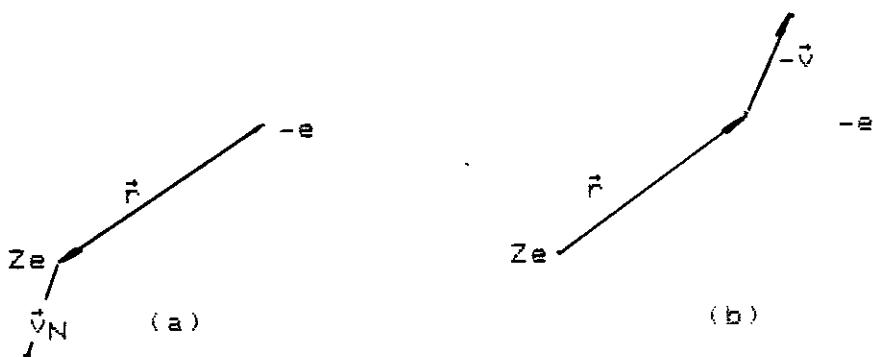


Fig. 13-(a) núcleo visto de um elétron.(b) Referencial Laboratório onde \vec{v}_N é a velocidade do nucleo vista pelo elétron e \vec{r} é o vetor posição do núcleo ao elétron Fig. 13.

Tem-se $\vec{v}_N = -\vec{v}$, onde \vec{v} é a velocidade do elétron em relação ao núcleo.

$$\text{Logo } \vec{B} = \frac{Ze}{cr^3} \vec{r} \times \vec{v} \quad (22)$$

$$\text{Como o campo elétrico do núcleo ao elétron é } \frac{Ze\vec{r}}{r^3}, \\ \text{então } \vec{B} = \frac{\vec{E} \times \vec{v}}{c} \quad (23)$$

A energia de interação spin-orbita entre \vec{B} e o momento magnético de spin $\vec{\mu}_s$ pode ser expressa como segue:

$$E_{s.o.} = -\vec{B} \cdot \vec{\mu}_s = -\frac{(\vec{E} \times \vec{v}) \cdot \vec{\mu}_s}{c} \quad (24)$$

Da eletrostática

$$\vec{F} = -e\vec{E} = -\nabla V \quad (25)$$

Portanto

$$E_{s.o.} = -\frac{(-\nabla V \times \vec{v}) \cdot \vec{\mu}_s}{c} \quad (26)$$

Devido ao efeito relativístico, descoberto por L.H.Thomas em 1926, a equação (26) é dada por

$$E_{s.o.} = \frac{(-\nabla V \times \vec{v}) \cdot \vec{\mu}_s}{2e c} \quad (27)$$

Assumindo a aproximação do campo central, isto é, a energia potencial de um elétron em um átomo é descrito por uma função de r somente, isto é, $V = V(r)$.

$$\text{Tal que } \nabla V = \frac{dV}{dr} \hat{r} \quad (28)$$

$$\text{com } \vec{v} = \frac{\vec{p}}{m}, \vec{\mu}_s = \frac{e}{\hbar} \frac{e\hbar}{\hbar} \vec{s} = - e \frac{e\hbar}{2 m \hbar} \vec{s}$$

$$\vec{\mu}_s = \frac{e}{m\hbar} \vec{s}$$

tem-se

$$E_{s.o.} = \frac{1}{2m^2c^2} \frac{1}{r} \frac{dV}{dr} (\vec{r} \times \vec{p}) \cdot \vec{s} = \lambda \vec{L} \cdot \vec{s} \quad (29)$$

A quantidade $(\vec{r} \times \vec{p})$ é o momento angular orbital eletrônico \vec{L} .

A introdução de operadores nesta equação (29) fornece o que se denomina Hamiltoniana de interação spin-orbita, isto é :

$$H_{s.o.} = \frac{1}{2m^2c^2} \frac{1}{r} \frac{dV}{dr} = \lambda \vec{L} \cdot \vec{s} \quad (30)$$

No caso de muitos elétrons soma-se as interações spin-orbita individuais e chega-se a

$$H_{s.o.} = \frac{1}{2m^2c^2} \sum_i \frac{1}{r_i} \frac{dV(r_i)}{dr_i} \vec{L}_i \cdot \vec{s}_i = \sum_i \epsilon(r_i) \vec{L}_i \cdot \vec{s}_i \quad (31)$$

Na presença de um campo magnético externo \vec{H} , $\vec{\mu}_L$ e $\vec{\mu}_S$ são acoplados para formar um novo estado fundamental e é caracterizado pelo momento angular total $\vec{j} = \vec{L} + \vec{s}$.

Este nível será $(2J+1)$ vezes degenerado e será desdobrado pela interação Zeeman dada pela expressão :

$$\begin{aligned} \Delta E &= - \vec{\mu} \cdot \vec{H} = - (\vec{\mu}_L + \vec{\mu}_S) \cdot \vec{H} \\ &= \beta (\vec{L} + g_e \vec{s}) \cdot \vec{H} \end{aligned} \quad (32)$$

Os auto valores deste Hamiltoniano, isto é, as energias correspondentes serão:

$$E = g_L \beta H M_S \quad (33.a)$$

com $M_J = -J, -J+1, \dots, +J$.

$$\text{onde } g_L = \frac{3 J (J+1) + S (S+1) - L (L+1)}{2 J (J+1)} \quad (33.b)$$

é o fator de Landé.

2.3.2 - Efeito do Campo Cristalino - Interação Fina.

Os elétrons em um átomo ou íon livre encontram-se sujeitos a um campo elétrico central, com interações descritas pela Hamiltoniana

$$\mathcal{H} = \frac{-\hbar^2}{2m} \sum_i \nabla_i^2 + V_{\text{rep.}} + V_{\text{atraç.}} \quad (34)$$

onde $V_{\text{rep.}}$ é o potencial elétrico de repulsão entre os elétrons e $V_{\text{atraç.}}$, o de atração entre elétrons e núcleo.

$$V_{\text{rep.}} = \sum_i \sum_{j \neq i} \frac{e^2}{r_{ij}} \quad (34.a)$$

$$V_{\text{atraç.}} = \sum_i \frac{Ze^2}{r_i} \quad (34.b)$$

Quando o íon está ligado os elétrons deste sentem a presença de um potencial eletrostático adicional, que denomina-se potencial dos ligantes (V_L).

Logo a equação (34) tem a contribuição de um potencial esférico que é o potencial do íon, dados pelas equações 34.a e 34.b e o potencial dos ligantes.

Para casos em que o potencial dos ligantes (V_L) é maior que a interação spin-órbita (por exemplo, para os íons dos

metais de transição do Ferro que é o caso de cobre(II) em estudo), sem levar em conta o efeito da interação Zeeman, o campo elétrico que atua sobre os elétrons perde a simetria esférica do íon livre.

O nível fundamental a ser desdobrado por \vec{H} não é mais caracterizado por J e o fator g medido não é o previsto pela equação (33).

Para casos em que o spin eletrônico resultante é maior que $1/2$ a contribuição do potencial criado pelos ligantes é introduzida acrescentando-se um termo adicional na Hamiltoniana das interações.

Este termo chama-se interação fina e está relacionado aos desdobramentos dos níveis em campo magnético zero. É expresso por

$$\mathcal{H}_f = D (S^2_z - 1/3 S (S + 1) + E (S^2_x + S^2_y)) \quad (35)$$

onde D e E são os parâmetros de desdobramento de campo zero associados ao campo eletrostático ao redor do íon.

2.3.3 – Interação Hiperfina

Os elétrons desemparelhados ou paramagnéticos além da interação do seu momento magnético angular ($\vec{\mu}_L$) com o seu próprio spin ($\vec{\mu}_S$), denominada interação spin-órbita, e a de seus momentos magnéticos orbital $\vec{\mu}_L$ e de spin $\vec{\mu}_S$ na presença de um campo magnético (\vec{H}) externo (interação Zeeman), sofre a interação dos momentos magnéticos dos nucleos vizinhos ($\vec{\mu}_{Ie}$) e de seu nucleo de origem ($\vec{\mu}_{Ii}$).

Esta última denomina-se interação hiperfina. Existem dois tipos distintos de interações hiperfinas.

2.3.3.1 - Interção dipolar ou anisotrópica.

Trata-se de uma interação clássica de dois dipolos magnéticos, no caso $\vec{\mu}_S$ e $\vec{\mu}_I$ separados por uma distância R .

É referida a estados quânticos diferentes de S. Esta interação depende do ângulo entre a linha que liga os dois dipolos e o campo magnético externo como mostra a Fig.14.

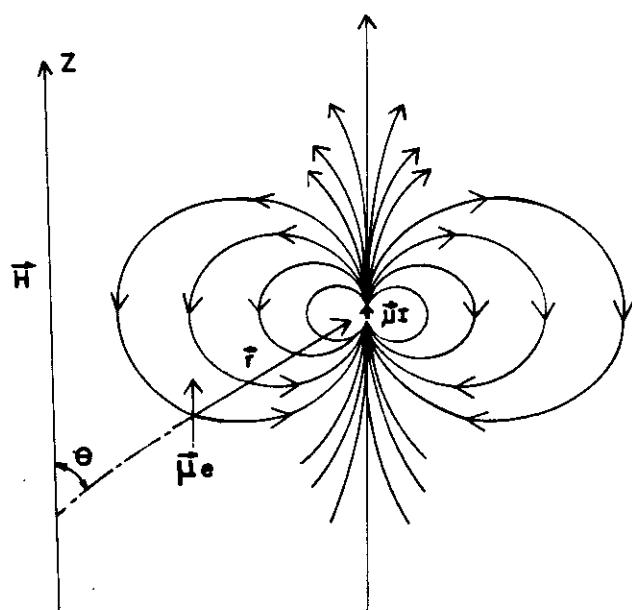


Fig.14 - Interção do dipolo momento magnético nuclear $\vec{\mu}_I$ e momento magnético do elétron $\vec{\mu}_e$.

Devido a sua natureza direcional desempenha um papel importante na determinação de orientações de espécies paramagnéticas em sólidos e em experimentos com spin-label. A Hamiltoniana que representa esta interação é descrita pela equação (36).

$$\begin{aligned} \mathcal{H}_{I.S.} &= \frac{\vec{\mu}_S \cdot \vec{\mu}_I}{r^3} - \frac{3(\vec{\mu}_S \cdot \vec{r})(\vec{\mu}_I \cdot \vec{r})}{r^5} \\ &= \frac{\gamma_e \gamma_N \hbar^2}{r^3} \left[\frac{3(\vec{I} \cdot \vec{r})(\vec{S} \cdot \vec{r})}{r^2} - \vec{I} \cdot \vec{S} \right] \quad (36) \end{aligned}$$

Pode ser visto facilmente que esta interação é de caráter tensorial com traço nulo.

2.3.3.2 - Intereração de Contato ou de Fermi.

Ao contrário da anterior esta interação não é clássica e surge da probabilidade finita de encontrar o elétron na posição do núcleo, isto é, é proporcional ao quadrado da função de onda eletrônica no núcleo.

É uma interação isotrópica e referida a estados quânticos s. É expressa por

$$\begin{aligned} \mathcal{H}_{I.S.} &= \int \psi^* \frac{8\pi}{3} \gamma_e \gamma_n \hbar^2 \vec{I} \cdot \vec{S} \delta(r) \psi d\tau \\ &= \frac{8\pi}{3} \gamma_e \gamma_n \hbar^2 \|\psi(0)\|^2 \vec{I} \cdot \vec{S} \quad (37) \end{aligned}$$

$\psi(0)$ é a função de onda do elétron no núcleo onde contém orbital s.

2.3.4 - O tensor \vec{A} e sua interpretação.

Conforme mencionado, a interação hiperfina compõe-se de duas contribuições e pode-se expressar a Hamiltoniana destas contribuições como segue, isto é:

$$\mathcal{H} = \sum_{\alpha} \vec{I}_{\alpha} \cdot \vec{A}_{\alpha} \cdot \vec{S} \quad (38)$$

$$= \sum_{\alpha} \left(\frac{\gamma_e \gamma_{\alpha} \hbar^2}{(r_{\alpha})^5} \frac{3(S \cdot \vec{r}_{\alpha})(\vec{I}_{\alpha} \cdot \vec{r}_{\alpha}) - (r_{\alpha})^2 \vec{S} \cdot \vec{I}_{\alpha}}{(r_{\alpha})^5} + \frac{8\pi}{3} \gamma_e \gamma_{\alpha} \hbar^2 \vec{S} \cdot \vec{I}_{\alpha} \delta(r_{\alpha}) \right)$$

onde os termos entre colchete é o Hamiltoniano da interação entre dois dipolos magnéticos formados por um spin nuclear \vec{I}_α e por um spin eletrônico \vec{S} . O 1º termo descreve a interação clássica entre dois dipolos magnéticos, o 2º a interação de contato de Fermi e \vec{r}_α é o vetor posição do elétron em relação ao núcleo α .

No caso de o elétron estar interagindo com mais de um núcleo α obtém-se a Hamiltoniana pela soma das interações.

Desta forma ao analisarmos os valores de $\hat{\mathbf{A}}$, este fornece o quanto a densidade eletrônica está próxima ao núcleo que interage e/ou a contribuição de orbitais s nesta interação.

O 1º termo entre chaves é denominado tensor anisotrópico e leva em conta orbitais p, d e f, enquanto o 2º termo é o tensor isotrópico que contém orbitais com caráter s.

2.3.5 - Interação de spins eletrônicos.

Quando os centros paramagnéticos de uma amostra estão próximos, há um aumento na probabilidade de interações entre os spins eletrônicos. Isto pode ocorrer em soluções muito concentradas, e é justamente para evitar este tipo de interação que utiliza-se soluções diluídas em experimento de RPE, e eventualmente em cristais quando as moléculas ficam muito próximas.

No espectro de RPE esta interação reflete-se, normalmente, alargando a linha de absorção.

Existem dois tipos de interações de spins eletrônicos

que são apresentados por dois novos termos na Hamiltoniana das interações dipolar eletrônica(\mathfrak{H}_D) e a de intercâmbio eletrônico (\mathfrak{H}_E).

2.3.5.1 - Interação dipolar eletrônica

Esta interação é como a mencionada em 2.3.3.1, entre dois dipolos magnéticos.

De forma geral pode ser escrita como

$$\mathfrak{H}_D = \frac{\vec{\mu}_1 \cdot \vec{\mu}_2}{r^3} - \frac{3(\vec{\mu}_1 \cdot \vec{r})(\vec{\mu}_2 \cdot \vec{r})}{r^5} \quad (39)$$

onde \vec{r} é o vetor que une os dois dipolos magnéticos.

2.3.5.2 - Interação de intercâmbio eletrônico

Esta interação resulta do intercâmbio entre dois estados de spins devido a sobreposição das funções de onda dos elétrons desemparelhados.

Se a integral de intercâmbio J_{ij} for definida em termos das funções de onda ψ_A e ψ_B de dois elétrons A e B separados pela distância r_{ij} tem-se :

$$J_{ij} = \iint \psi_A(r_i) \psi_B(r_j) \left(\frac{e^2}{r_{ij}} \right) \psi_A(r_j) \psi_B(r_i) dr_i dr_j \quad (40)$$

A expressão de intercâmbio é

$$\mathfrak{H}_E = - \sum_{ij} J_{ij} \vec{S}_i \cdot \vec{S}_j \quad (41)$$

2.3.5.3 - Outras interações

Existem outros tipos de interações que podem ocorrer num experimento de RPE tais como: Interação Zeeman nuclear, Interação quadrupolar elétrica, etc., mas que não serão

descritas aqui porque suas contribuições não são relevantes nos sistemas estudados.

O texto contido neste capítulo foi baseado nos autores: Ballhauser(1962), Orgei(1970), Levine(1974), Cohen(1977) e Slichter(1980).

CAPITULO III

ESPECTROS DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (RPE)

3.1 - Características do íon cobre(II)

A configuração eletrônica de minima energia para este íon de transição do grupo do ferro é $(1s^2\ 2s^2\ 3s^2\ 3p^6\ 4s^2)\ 3d^7$.

A configuração entre parenteses, camada fechada, é um estado diamagnético, de forma que o paramagnetismo reside nos 7 elétrons. Para o íon cobre(II) n vale 9, como a configuração é d^{10} , pode-se tratar teoricamente, através da teoria do campo cristalino, a lacuna deixada pela falta de um elétron, como um buraco positivo.

A 1ª fila dos metais de transição tem a facilidade na capacidade de variações de coordenações em complexos no qual a esteroquímica octaédrica, tetraédrica e quadrado planar predominam. No caso do íon cobre(II) a tendência na formação de coordenação é a mesma que se mencionou, porém a esteroquímica regular octaédrica ou tetraédrica é menos frequente(Vanguard(1972)).

3.2 - Hamiltoniana de Spin

Pelo fato do íon de cobre(II) apresentar uma lacuna de um elétron em sua última camada 3d este pode ser descrito em termos do estado $3d^1$ com os níveis de energia invertidos. Isto permite, inclusive, descrever os espectros de RPE como aquele produzido por um elétron 3d desemparelhado com $S=1/2$.

A Hamiltoniana efetiva de spin pode ser expressa na forma,

$$\mathcal{H} = \beta \vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{S} + \vec{l} \cdot \vec{A} \cdot \vec{S} + \sum_{i=1}^n \vec{l}_i \cdot \vec{A} \cdot \vec{S} \quad (42)$$

onde o 1º termo descreve a interação Zeeman eletrônica, com o tensor \vec{g} acoplando o efeito spin-órbita ao mesmo. A mudança em

\vec{g} reflete a maior ou menor restrição no movimento do elétron depois de se ligar, tendo como informação a intensidade da interação do ligante e a geometria do complexo ao metal.

O 2º termo descreve a interação hiperfina do spin eletrônico com o spin nuclear do íon de cobre(II) ($I=3/2$) e o 3º descreve a interação hiperfina do spin eletrônico com o spin nuclear dos núcleos vizinhos, também chamada interação super-hiperfina.

Os outros termos da hamiltoniana de spin efetivo não serão levados em conta, pois apenas contribuem no alargamento das linhas do espectro.

No 1º termo da equação (42), considerando o eixo z como a direção do vetor $\vec{H} \cdot \vec{g}$, tem-se

$$\mathcal{H}_z = \beta \parallel \vec{H} \cdot \vec{g} \parallel S_z \quad (43)$$

com os autovalores dados por $E = \beta \parallel \vec{H} \cdot \vec{g} \parallel M_S$, com $S = 1/2$. Isto é $M_S = 1/2$ e $-1/2$.

Escrevendo o tensor \vec{g} de 2ª ordem, simétrico, em termos dos três eixos principais e de seus autovalores, segue

$$\vec{H} \cdot \vec{g} = i g_{\xi} l + g_{\eta} m + g_{\delta} n / H_0$$

$$\parallel \vec{H} \cdot \vec{g} \parallel = (\sqrt{g_{\xi}^2} + g_{\eta}^2 + g_{\delta}^2)^{1/2} / H_0 = g / H_0$$

onde $g^2 = (g_{\xi} l)^2 + (g_{\delta} n)^2 + (g_{\eta} m)^2 \quad (44)$

$$\therefore E = g \beta H_0 M_S$$

Pela teoria da RPE, a ressonância ocorre quando se promove a transição de energia do elétron de E_- para E_+ , através de 1 fóton com a mesma diferença de energia, isto é:

$$\hbar \nu = g \beta H_0 = E_+ - E_- \quad (45)$$

Se o tensor \vec{g} for isotrópico, onde o campo cristalino tem simetria cubica tem-se :

$$g_x = g_y = g_z = g_0 \text{ então } g^2 = (g_0)^2 \quad (46)$$

Em caso de simetria axial, onde o campo cristalino tem simetria axial, tem-se:

$$g_x = g_y = g_\perp \text{ e } g_z = g_{//}$$

$$g^2 = (g_\perp)^2 + (g_{//n})^2 + (g_{\perp m})^2$$

$$g^2 = (g_\perp)^2(1^2 + m^2) + (g_{//n})^2$$

$$g^2 = (g_\perp)^2(1 - n^2) + (g_{//n})^2 \quad (47)$$

onde $n = \cos \theta$ e θ é o angulo entre a direção do campo magnético e o eixo axial de simetria.

Em caso de simetria rômbica, onde o campo cristalino tem simetria rômbica, tem-se:

$$g^2 = (g_x)^2 + (g_y)^2 + (g_z)^2 \quad (48)$$

Ao se analisar o 1º termo em (42), juntamente com a interação hiperfina, somente devido ao spin eletrônico com o spin nuclear do íon de cobre(II) ($I=3/2$) é de se esperar um aspecto de quatro linhas; caso em que o termo zeeman é muito maior que o termo hiperfino.

A Hamiltoniana mencionada, usando termos até a primeira ordem é expressa como

$$\mathcal{H} = \beta \parallel \vec{H} \cdot \vec{g} \parallel S_z + \left(\frac{\vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{A} \cdot \vec{I}}{\|\vec{H} \cdot \vec{g}\|} \right) S_z \quad (49)$$

Escolhendo um sistema de coordenadas com Z' na direção $\vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{A}$, pode-se escrever que

$$\mathcal{H} = g \beta H_0 S_z + \left(\frac{\|\vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{A}\|}{g H_0} \right) S_z I_{Z'} \quad (50)$$

Até 1^a ordem, os autovalores de (50) são expressos por:

$$E = g \beta H_0 M_S + A M_S M_I , \text{ onde } A = \frac{\|H \cdot \vec{g} \cdot \vec{A}\|}{g H_0} \quad (51)$$

Se o sistema de eixos principais de \vec{g} e \vec{A} são os mesmos, então

$$A = \frac{((A_\xi g_\xi 1)^2 + (A_\eta g_\eta m)^2 + (A_\zeta g_\zeta n)^2)}{g \beta} \quad (52)$$

Na condição de ressonância, obedecendo as regras de seleção $\Delta M_S = \pm 1$ e $\Delta M_I = 0$ as energias dos fótons e os valores dos campos ressonantes (H_0) são dados por:

$$\hbar \nu = g \beta H_0 + A M_I \quad (53)$$

$$H_0 = \frac{\hbar \nu}{g \beta} - \frac{A M_I}{g \beta} \quad (54)$$

Para as seguintes projeções de M tem-se as seguintes situações:

$$H_1 = \frac{\hbar \nu}{g \beta} - \frac{3}{2} \frac{A}{g \beta} \quad \text{para } M_I = 3/2$$

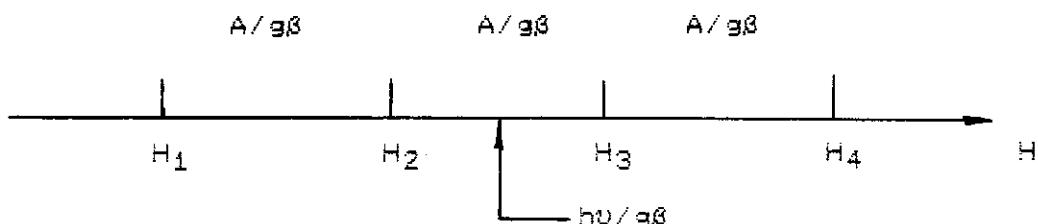
$$H_2 = \frac{\hbar \nu}{g \beta} - \frac{1}{2} \frac{A}{g \beta} \quad \text{para } M_I = 1/2$$

$$H_3 = \frac{\hbar \nu}{g \beta} + \frac{1}{2} \frac{A}{g \beta} \quad \text{para } M_I = -1/2$$

$$H_4 = \frac{\hbar \nu}{g \beta} + \frac{3}{2} \frac{A}{g \beta} \quad \text{para } M_I = -3/2$$

O espectro, portanto, consistirá de quatro linhas de absorção separadas pelo valor $A/g\beta$ em Gauss. De uma forma geral o espectro consistirá de $2I + 1$ linhas igualmente espaçadas, como $I = 3/2$ para o íon de cobre(II), tem-se $2 \cdot (3/2) + 1 = 4$, ou seja 4 linhas.

Esquematicamente, tem-se:



Considerando a contribuição do último termo da Hamiltoniana (42) e denominando esta interação de superhiperfina para distinguir as espécies envolvidas, que neste caso trata-se da interação spin eletrônico com spin nuclear dos vizinhos mais próximos.

A exemplo, se houver um único nitrogênio vizinho ($I_N=1$) coordenado com o íon cobre(II), é esperado que as quatro linhas do espectro de RPE se desdobrem, cada uma, em triplétos correspondentes aos $2I_N + 1$ valores possíveis de M_N .

A separação das linhas dos triplétos medem o valor do tensor \tilde{A} para a direção dada do campo magnético. Este tensor é geralmente, anisotrópico.

O fato de seu valor ser, em alguns casos, menor do que as larguras de linhas do espectro, faz com que o desdobramento não seja observado, a não ser em algumas direções onde o valor

do tensor seja maior que a largura de linha.

No caso de existir mais de um núcleo na coordenação do ion, que possua spin nuclear, ou considera-se cada núcleo individualmente como um termo de interação, e o resultado será a superposição dos desdobramentos de cada um deles, ou se considera grupos de núcleos que possam ser equivalentes.

No último caso o spin nuclear total será a superposição deles, dando desdobramentos correspondente ao spin total e as intensidades das linhas serão proporcionais as suas frequências estatísticas.

Exemplificando, no caso de dois nitrogênios equivalentes coordenados ao íon de cobre(II), tem-se que a Hamiltoniana de interação super hiperfina será :

$$\mathcal{H} = \sum_{i=1}^2 I_N \cdot \bar{A}_i \cdot \vec{S} = I_1 \bar{A}_1 \cdot \vec{S} + I_2 \bar{A}_2 \cdot \vec{S}$$

sendo $\bar{A}_1 = \bar{A}_2 = \bar{A}_N$

ou $\mathcal{H} = I \cdot \bar{A}_N \cdot \vec{S}$ com $I = I_1 + I_2$

como $I_1 = I_2 = 1$, então $I = 2$ e o número de linhas multibóleto será $2 I + 1$ que vale 5.

Alguns dos livros que abordam esta Hamiltoniana de spin em que este texto se baseia são: Abragam e Bleaney(1970), G.E.Pake(1973), Slichter(1980) e Knowles(1976).

3.3 - Espectros de Solução

Se a amostra estiver em solução bastante diluída a

temperatura ambiente, então os movimentos de rotação dos complexos farão uma média angular na Hamiltoniana de spin, e sómente os valores medios dos parâmetros de interação (\bar{g} , \bar{A} e \bar{A}_N) serão observados.

Os valores g_0 , A_0 e A_N serão dados pelas expressões:

$$g_0 = (g_\xi + g_\eta + g_\zeta)/3 \quad (55)$$

$$A_0 = (A_\xi + A_\eta + A_\zeta)/3 \quad (56)$$

$$A_N = (A_{N\xi} + A_{N\eta} + A_{N\zeta})/3 \quad (57)$$

As linhas de absorção nem sempre são idênticas nos espectros de RPE e isto se deve a diversos efeitos que podem alterá-las. Basicamente, esses efeitos são três; mecanismo de relaxação, interação dipolar e efeito de movimento.

3.3.1 - Mecanismos de Relaxação

Dois processos ocorrem no mecanismo de relaxação dos elétrons nos níveis excitados para o fundamental e são caracterizados pelas constantes T_1 e T_2 .

O tempo T_1 está relacionado ao processo da troca de energia do estado excitado para o fundamental, que o elétron realiza com a "rede", e T_2 está relacionado com a troca de energia entre os spins do sistema em estudo.

Usando o princípio de incerteza de Heisenberg, em sua primeira aproximação, tem-se:

$$\Delta E \cdot \Delta t = \hbar \quad \text{ou} \quad \hbar \Delta v \cdot \tau = \hbar$$

$$\text{logo } \Delta v = 1/\tau \quad (58)$$

desta maneira quanto menor (T_1 e/ou T_2) mais larga será a linha

de absorção.

3.3.2 - Efeito de Movimento

Trata-se de um efeito típico de complexos em solução. Exemplificando para o caso de um complexo de simetria axial de spin eletrônico \vec{S} interagindo com um spin nuclear \vec{I} . Esta interação é mais simples que a situação da expressão (42) com o objetivo de facilitar as contas, a nova Hamiltoniana será:

$$\mathcal{H} = \beta \vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{S} + \vec{S} \cdot \vec{A} \cdot \vec{I} \quad (59)$$

Supondo que em um dado instante a orientação do campo magnético com os eixos principais dos tensores \vec{g} e \vec{A} (supostos coincidentes) é dado pelo vetor em coordenadas esféricas;

$$\vec{H} = \begin{bmatrix} \sin\theta & \cos\phi \\ \sin\theta & \sin\phi \\ \cos\theta \end{bmatrix} H \quad (60)$$

Nesta situação os spins \vec{S} e \vec{I} estarão quantizados ao longo do campo magnético \vec{H} , isto é:

$$\vec{S} = S_u \hat{A} = S_u \vec{H}/H \quad (61)$$

$$\vec{I} = I_u \hat{A} = I_u \vec{H}/H \quad (62)$$

Substituindo (61) e (62) em (60), tem-se:

$$\mathcal{H} = \beta \left(\frac{\vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{H}}{H} \right) S_u + \left(\frac{\vec{H} \cdot \vec{A} \cdot \vec{H}}{H^2} \right) S_u I_u \quad (63)$$

Calculando somente $\frac{\vec{H} \cdot \vec{A} \cdot \vec{H}}{H^2}$ uma vez que o resultado da $\frac{\vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{H}}{H}$ é semelhante.

$$\frac{\vec{H} \cdot \vec{A} \cdot \vec{H}}{H^2} = (\sin\theta \cos\phi, \sin\theta \sin\phi, \cos\theta) \begin{pmatrix} A_{\perp} & 0 & 0 \\ 0 & A_{\perp} & 0 \\ 0 & 0 & A_{//} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \sin\theta \cos\phi \\ \sin\theta \sin\phi \\ \cos\theta \end{pmatrix}$$

$$= A_{\perp} \sin^2\theta \cos^2\phi + A_{\perp} \sin^2\theta \sin^2\phi + A_{//} \cos^2\theta$$

$$= A_{\perp} \sin^2\theta + A_{//} \cos^2\theta \quad (64)$$

Fazendo as substituições

$$\cos^2\theta = 1/3 (3 \cos^2\theta - 1) + 1/3 \quad (65)$$

$$\sin^2\theta = -1/3 (3 \cos^2\theta - 1) + 2/3 \quad (66)$$

A equação torna-se :

$$\frac{\vec{H} \cdot \vec{A} \cdot \vec{H}}{H^2} = (2 A_{\perp} + A_{//})/3 + 1/3(A_{//} - A_{\perp})(3 \cos^2\theta - 1) \quad (67)$$

De forma análoga:

$$\frac{\vec{H} \cdot \vec{B} \cdot \vec{H}}{H^2} = (2 B_{\perp} + B_{//})/3 + 1/3(B_{//} - B_{\perp})(3 \cos^2\theta - 1) \quad (68)$$

Substituindo (67) e (68) em (63), tem-se:

$$\mathcal{W} = g_a \beta H S_u + a S_u I_u + g_b \beta H S_u (3 \cos^2\theta - 1) + b S_u I_u (3 \cos^2\theta - 1) \quad (69)$$

onde $g_a = 1/3 B_{//} + 2/3 B_{\perp}$; $g_b = 1/3 (B_{//} - B_{\perp})$; $a = 1/3 A_{//} + 2/3 A_{\perp}$
 $\text{e } b = 1/3 (A_{//} - A_{\perp})$

Deste modo a expressão resultante para a energia contém termos dependentes da orientação e termos independentes, ou seja:

$$E = g_a \beta H M_s + a M_s M_I + (g_b \beta H M_s + b M_s M_I) (3 \cos^2 \theta - 1) \quad (70)$$

No líquido o complexo paramagnético descreve um movimento browniano com um termo característico de movimentação τ_c . Portanto os termos dependentes da orientação são dependentes do tempo.

Se o complexo gira rapidamente esses termos são mediados a zero e a equação para a energia torna-se

$$E = g_a \beta H M_s + a M_s M_I \quad (71)$$

O efeito resultante dos termos dependentes da orientação sobre o espectro de RPE do complexo paramagnético em solução é o de alargar as linhas nas condições de ressonância.

3.3.3 - Intereração Dipolar

Um spin circundado de dipolos magnéticos "sente" a interação destes onde o campo magnético que atua sobre o spin se caracteriza por uma distribuição espectral em torno de um dado valor. Essa distribuição se soma à linha de ressonância alargando-a.

A origem mais comum destes dipolos são átomos de hidrogênios e nitrogênios vizinhos ao spin e complexos paramagnéticos próximos. É por isto que a maior ou menor concentração das soluções altera a forma da linha espectral.

3.4 - Espectro em Sólido (monocristal)

Definiu-se as direções principais (X,Y e Z) do tensor \bar{g} , porém não se sabe a priori estes eixos no monocristal.

Fixando os eixos (a,b,c) como o sistema de laboratório, onde o cristal é assentado, o que se faz é medir o campo H_0 de ressonância em função do ângulo para três planos mutuamente perpendiculares entre si. Sendo então possível a determinação dos tensores \bar{g} principais e consequentemente os ângulos que os eixos principais fazem com a base cubica (a,b,c). Determinando como \bar{g} varia com uma direção arbitrária de \hat{H} nos planos ab, bc e ac e expressando o tensor \bar{g} na base (a,b,c).

Através de uma transformação unitária no sistema principal, tem-se:

$$\bar{g} = R \begin{pmatrix} g_X & 0 & 0 \\ 0 & g_Y & 0 \\ 0 & 0 & g_Z \end{pmatrix} \cdot \tilde{R} = \begin{pmatrix} g_{aa} & g_{ab} & g_{ac} \\ g_{ba} & g_{bb} & g_{bc} \\ g_{ca} & g_{cb} & g_{cc} \end{pmatrix}$$

R é a matriz dos cosenos diretores entre o sistema a,b e c e o sistema de eixos principais X,Y e Z e \tilde{R} a matriz transposta.

O campo magnético expresso em coordenadas esféricas na base (a,b,c) é:

$$\hat{H} = (\sin\theta\cos\phi, \sin\theta\sin\phi, \cos\theta) H$$

Da Hamiltoniana Zeeman, isto é :

$$\mathcal{H} = \beta \hat{H} \cdot \bar{g} \cdot \hat{S}$$

Tomando o vetor $\hat{H} \cdot \bar{g}$ na direção do versor \hat{N} e o módulo $\| \hat{H} \cdot \bar{g} \| = H g_N$

$$\vec{H} \cdot \vec{g} = H g_N \vec{N}$$

$$(\vec{H} \cdot \vec{g}) \cdot (\vec{H} \cdot \vec{g}) = (\vec{H} \cdot \vec{g}) \cdot (\vec{g} \cdot \vec{H}) = \vec{H} \cdot (\vec{g})^2 \cdot \vec{H} = H (g_N)^2 H$$

logo; usando o fato do tensor ser simétrico ,isto é $g_{ij} = g_{ji}$

$$(g_N)^2 = (\sin\theta\cos\phi, \sin\theta\sin\phi, \cos\theta) \begin{pmatrix} (g_{aa})^2 & (g_{ab})^2 & (g_{ac})^2 \\ (g_{ba})^2 & (g_{bb})^2 & (g_{bc})^2 \\ (g_{ca})^2 & (g_{cb})^2 & (g_{cc})^2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \sin\theta\cos\phi \\ \sin\theta\sin\phi \\ \cos\theta \end{pmatrix}$$

onde

$$(g_N)^2 = \cos\phi\sin\theta((g_{aa})^2\cos\phi\sin\theta + (g_{ab})^2\sin\phi\sin\theta + (g_{cc})^2\cos\theta) + \sin\phi\sin\theta((g_{ab})^2\cos\phi\sin\theta + (g_{bb})^2\sin\phi\sin\theta + (g_{bc})^2\cos\theta) + \cos\theta((g_{ac})^2\cos\phi\sin\theta + (g_{bc})^2\sin\phi\sin\theta + (g_{cc})^2\cos\theta) \quad (72)$$

Fazendo $\theta=90^\circ$ e variando ϕ obtém-se a expressão que fornece a variação do fator g no plano ab, isto é:

$$(g(\phi))^2 = (g_{aa})^2\cos\phi + (g_{bb})^2\sin\phi + 2(g_{ab})^2\sin\phi\cos\phi \quad (72.a)$$

De forma análoga, com $\phi=0$ no plano ac, tem-se:

$$(g(\theta))^2 = (g_{cc})^2\cos\theta + (g_{aa})^2\sin\theta + 2(g_{ac})^2\sin\theta\cos\theta \quad (72.b)$$

No plano bc, com $\phi=90^\circ$, tem-se:

$$(g(\theta))^2 = (g_{cc})^2\cos\theta + (g_{bb})^2\sin\theta + 2(g_{bc})^2\sin\theta\cos\theta \quad (72.c)$$

O fato de não se considerar as interações hiperfinas é que estas muitas vezes não são "resolvidas" e isto se deve a interações entre os centros paramagnéticos que estão muitos próximos entre si(menos que 10 Å).

3.5 - Espectro de Pó (Policristalino)

Trata-se de espectros de solução a temperatura bem abaixo da ambiente, em nosso experimento da ordem de $-150^\circ C$ aproximadamente ou de policristais, neste caso a qualquer

temperatura.

Em ambos os casos a distribuição angular do complexo paramagnético é aleatória e todas as orientações dos tensores \bar{g} e \bar{A} com relação ao campo magnético externo são possíveis, tendo o mesmo peso estatístico.

A figura 15 mostra um espectro a -150 °C de cobre(II) com simetria axial. O cálculo da forma de linha mostra que a distância entre picos de absorção a campo baixo, corresponde a constante de desdobramento hiperfino ($A_{//}$) com o campo magnético paralelo ao eixo de simetria do complexo.

O valor de $g_{//}$ é encontrado medindo-se o centro de gravidade destas linhas. Estas duas grandezas são bem definidas no espectro de pó.

No caso de simetria axial o valor de A_{\perp} é facilmente calculado levando-se em conta a simetria e g_{\perp} medindo-se o centro de gravidade da linha espectral para campo alto, como mostra a figura 15.

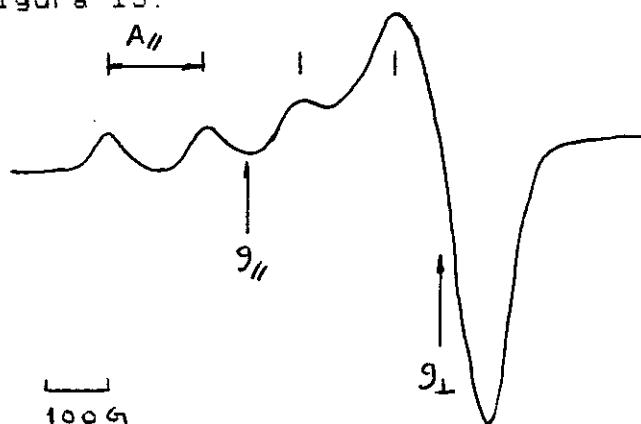


Fig.15 - Espectro de pó de uma proteína de cobre típica em solução congelada.

CAPITULO IV

MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 - Preparação da Amostra

O dipeptídeo (triptofilglicina possui um peso anidro de 261,3 daltons o que é facilmente calculado pela fórmula molecular ($C_{13}H_{15}N_3O_3$) e foi adquirido na Sigma Chemical Company. Ao incorporar uma molécula de água seu peso molecular hidratado será 279,3g.

Pesando 279,3 mg de Trp-Gly e dissolvendo em um volume de 10 ml de solução 0,2 M de NaOH, obtém-se 0,1 M de Trp-Gly em NaOH. Com o objetivo de obter 10 ligantes para 1 metal, adicionou-se a solução preparada anteriormente 10 ml de solução de $CuCl_2$ a 10 mM.

Utilizando solução de HCl e/ou NaOH em um pH-metro da Corning, modelo 130, recolhe-se amostras de 0,5 ml num total de 22 amostras e fixa-se o pH para cada uma dentro de uma faixa de 2,50 a 13,50.

A razão da escolha deste dipeptídeo foi, justamente por apresentar o resíduo lateral grande e pesado do triptofano. A forma como este pode afetar a simetria dos complexos é de interesse, assim como confrontar os resultados deste com um outro dipeptídeo já estudado (gliciltriptofano), onde a diferença básica do anterior se encontra na posição do resíduo lateral pesado em relação ao grupo carboxila.

A figura 16 mostra os dois dipeptídeos em sua forma

zwitteriônica esclarecendo as diferenças.

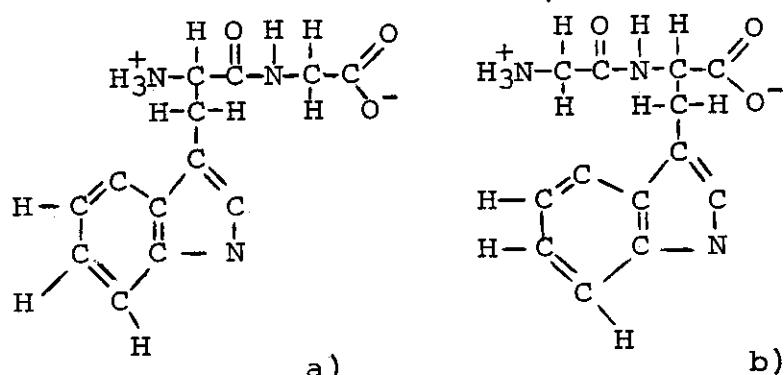


Fig 16 - a)fórmula estrutural do Trp-Gly; b)fórmula do Gly-Trp.

O fato da mudança do pH nas amostras preparadas se deve a formação de mais de uma espécie de complexo, onde desta forma pode-se promover a formação de uma maior ou menor quantidade de uma espécie de complexo, o que facilita a análise dos espectros.

As amostras preparadas como descrito acima estão em solução e bastante diluídas com a finalidade de se evitar interações de spins eletrônicos, predominando só as interações descritas pelo Hamiltoniano da expressão(42).

Na preparação da amostra de monocristal, depois de várias tentativas empíricas em obtê-lo, estabeleceu-se o seguinte procedimento.

Pesou-se 30 mg de Trp-Gly deixando-o em um frasco aberto. Adicionou-se neste frasco 1 ml de NaOH a 0,1 Normal, agitando em seguida até a parte sólida desaparecer. Com 1 ml de CuCl₂ a 0,1 molar adicionado a solução anterior, colocou-se em um dessecador o frasco e esperou-se aproximadamente 1 dia, então poda-se notar a presença de pequenos monocristais.

Neste último processo acrescenta-se um pequeno vácuo no dessecador.

O procedimento na tentativa de se obter cristais dos complexos formados foram realizados nas soluções preparadas com estequiometria ligante-metal nas razões 1:1 e 2:1 em diferentes pHs, isto é, meio ácido, básico e neutro.

As condições mais adequadas na formação dos monocrystalais foram a pH aproximadamente igual a 5,0 na relação estequiométrica 1:1.

Um dos monocrystalais foi selecionado e montado em uma base de KCl, onde se definiu o sistema de eixos ortogonais de laboratório a, b e c, e o mesmo colocado no dedo de um dispositivo denominado Goniômetro. Os outros monocrystalais deste mesmo lote de amostra foram utilizados na técnica de difração de raios X.

4.2 - Métodos e técnicas experimentais

Utilizou-se as técnicas de absorção ótica no visível, Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) e Difração de raio X. A absorção ótica foi utilizada a soluções diluídas para as amostras de diferentes pHs e daí observado a existência ou não de mais de um complexo dentro do intervalo estudado. Estes resultados foram confrontados com os de RPE das mesmas amostras a temperatura ambiente e Nitrogênio líquido (-150 °C).

Com o monocrystal montado no dedo do Goniômetro obtave-se as medidas das variações angulares nos três planos

perpendiculares entre si definidos no sistema de eixos de laboratório, isto é ab,ac e bc.

As medidas de RPE foram feitas em um espectrômetro de RPE da Varian, modelo E-109 de banda X(9 Ghz). Este equipamento trabalha basicamente com opção por duas cavidades ressonantes: Uma retangular (Varian E-231) e uma cilíndrica(Varian E-233).

A cavidade utilizada foi a retangular, para as medidas de solução a temperatura ambiente e de Nitrogênio líquido.

Para evitar perdas dielétricas devido a presença de água (solvente das soluções) na cavidade, utilizou-se uma célula plana de quartzo como porta amostra. O minimo de perda ocorre quando a parte larga da célula encontra-se paralela à lateral da cavidade. Nesta situação a amostra encontra-se na região de minimo campo elétrico e máximo campo magnético de microondas. As amostras congeladas foram obtidas através do sistema de temperatura variável da Varian. Neste sistema é mantido um fluxo de Nitrogênio resfriado por uma serpentina imersa em Nitrogênio líquido, que congela a amostra. As medidas da temperatura da amostra foram realizadas através de um termopar imerso na mesma.

As medidas de absorção ótica no visível foram realizadas no espectro fotômetro Varian DK-2, onde a faixa de onda varrida foi de 400 a 900 nm.

As medidas de Difração de Raio X foram realizadas pelo pessoal do grupo de Cristalografia deste Instituto.

CAPITULO V

RESULTADOS

5.1 - Espectros de Absorção Ótica no visível

A variação do pH em uma solução promoverá a protonação ou desprotonação dos grupos que formam os ligantes, em concorrência com a presença do íon de transição nas possíveis complexações.

No triptofilglicina os grupos que sofrem este processo são os grupos amina, amida e carboxila.

Nos complexos de cobre(II) com dipeptideos é frequente ter dois nitrogênios (amina e amida) e dois oxigênios (carboxila e água).

As transições eletrônicas destes complexos, correspondentes às transições d-d, promovidas por causa do acoplamento com os modos vibracionais, geralmente apresentam bandas de absorção largas ao redor de 600 nm ($\sim 16000 \text{ cm}^{-1}$) na região do visível.

As medidas dos complexos trp-Gly com cobre(II) em solução através da técnica de absorção ótica foram realizadas e estão expostas na tabela 5 e figura 17.

Em nenhum dos espectros de absorção foi observado mais de uma banda, o que demonstra que a largura da mesma não permitiu resolver todas as transições d-d, pelo menos na temperatura estudada (25 °C).

Ao graficar os valores dos comprimentos de onda

máximos, obtidos dos espectros da Fig.17, em função do pH na Fig.18, fica evidente a mudança no campo cristalino, ou aparecimento e desaparecimento de complexos diferentes na solução.

Partindo da existência de espécies distintas de complexos, pois a variação de pH favorecerá aos grupos existentes no dipeptídeo a dissociação de prótons com a possível concorrência na coordenação do cobre(II). Sabe-se que a pH muito baixo (da ordem de 3,0), todos os grupos que apresentam prótons dissociáveis estão protonados e o íon deve estar coordenado com a água, dando por isto uma banda muito larga com absorvividade pequena e com $\lambda_{\text{máximo}}$ perto de 800 nm, característico do íon dissolvido em água.

Ao observar-se os espectros da Fig.17, nota-se que a pH acima de 4,0 estes se modificam.

Os grupos carboxílicos e aminas a pH=5,0 na presença dos íons de cobre(II) se encontram desprotonados e há formação de complexos.

A mudança nos espectros em torno de 5,0 evidenciam este fato, onde a presença de complexos com a proporção dois ligantes para um metal já pode ocorrer, isto é, o complexo da forma CuL_2 .

Dentro de uma faixa de pH 6,0 a 11,0, sabendo-se que a pHs maiores que 6,0 o nitrogênio do grupo amida está desprotonado, é de se esperar a formação do quelato com a presença de dois nitrogênios (amina e amida), e pelo oxigênio

da carboxila. A presença da água como a quarta coordenação através do oxigênio também é possível, pois as simetrias dos campos cristalinos comuns que aparecem nestes tipos de complexos são tetragonal e quadrado planar.

As Figuras 17 e 18 mostram que a pH em torno de 12,0 e acima há possivelmente um novo complexo. Kozlowski(1978) sugere que a possível desprotonização da cadeia lateral do triptofano possa induzir alguma mudança na esterioquímica, como consequência uma distorção do campo cristalino, ou mesmo até obrigar o oxigênio da carboxila a descoordenar-se do complexo e ser substituído por uma água ou um grupo OH⁻.

pH	λ_{Max} (nm)	pH	λ_{Max} (nm)	pH	λ_{Max} (nm)	pH	λ_{Max} (nm)
3,50	646,9	5,42	610,6	7,50	593,7	11,42	603,0
4,03	627,6	6,00	600,9	7,95	588,8	11,99	613,0
4,47	617,9	6,47	598,5	9,10	591,3	12,51	613,0
5,00	613,0	7,00	598,5	9,82	591,3	13,01	613,0

Tabela 5 - Comprimento de Onda do máximo da Banda de Absorção dos Espectros Eletrônicos dos complexos de Trp-Gly com cobre(II).

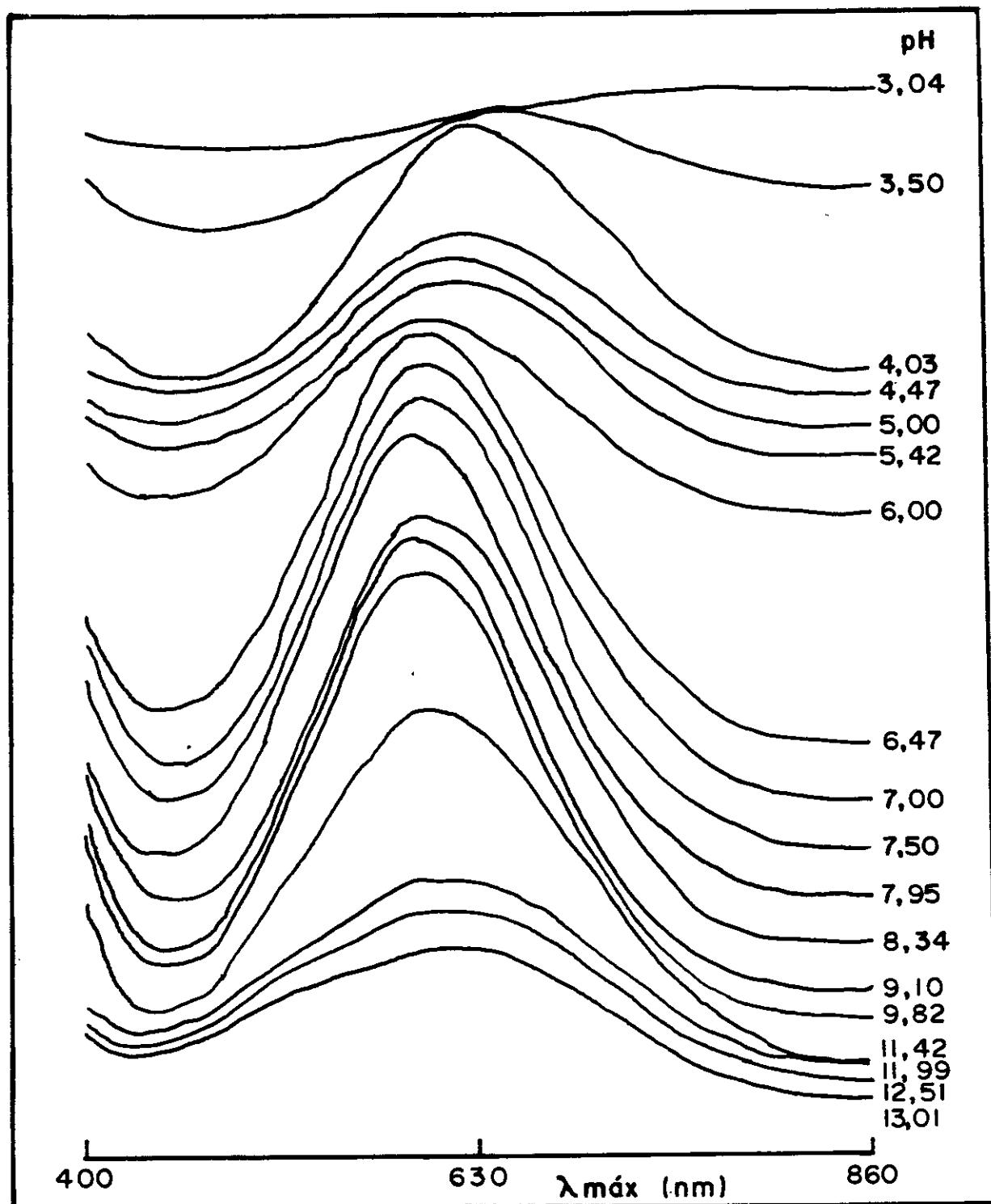


Fig.17 - Espectros de Absorção Ótica no visível dos Complexos Trp-Gly com cobre(II) em função do pH em solução.

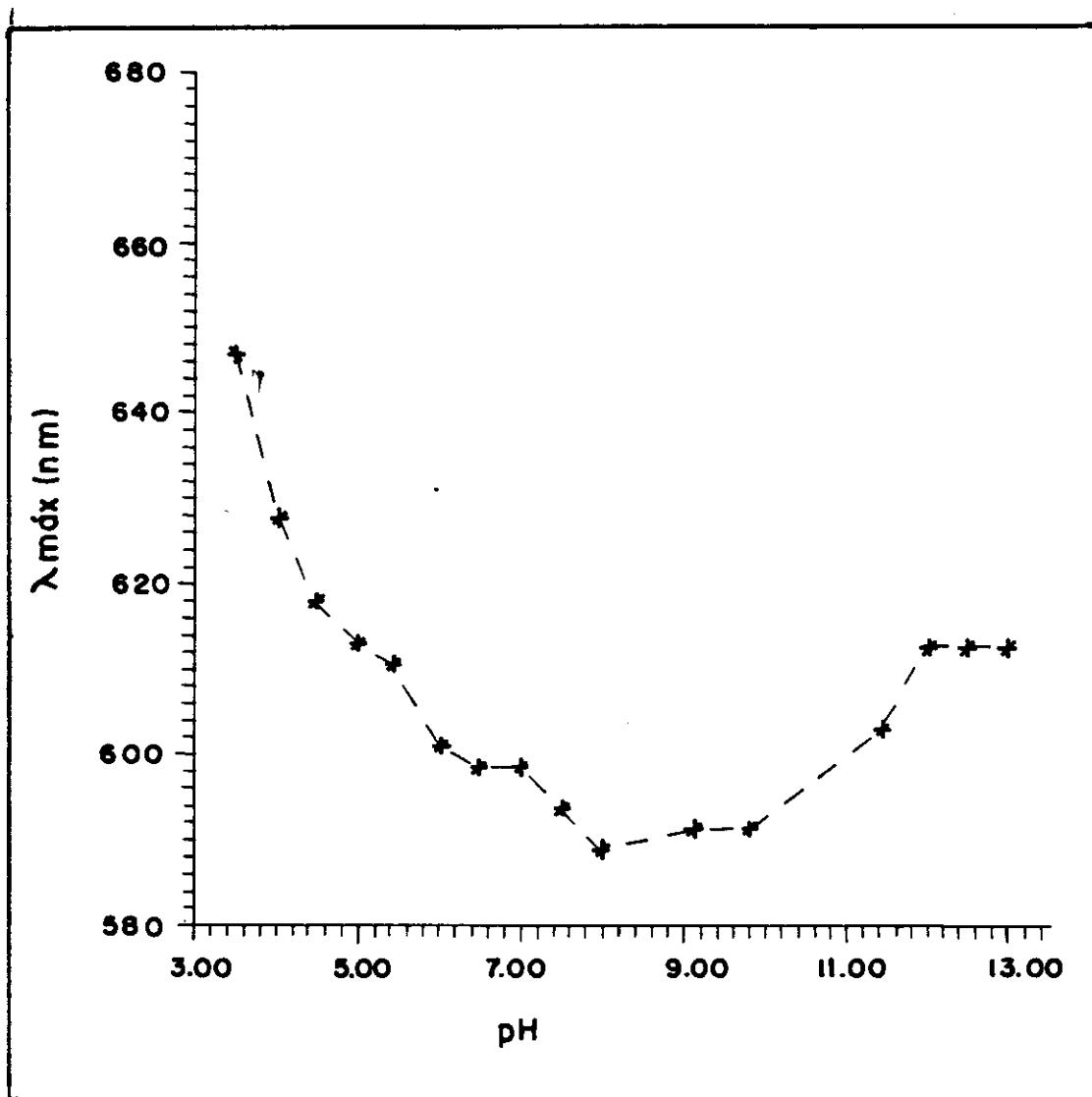


Fig.18 - Comprimento de Onda do máximo da banda de absorção eletrônica em função do pH.

5.2 - Espectros de RPE em solução

Os espectros apresentados na Fig.19 e 20 foram obtidos a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$) e a -150°C , respectivamente.

A tabela 6 fornece os parâmetros magnéticos dos tensores \bar{g} e \bar{A} em função do pH.

Dos espectros a temperatura ambiente obtém-se os valores dos tensores \bar{g} e \bar{A} , dados pela expressão 73a e 73b, que foram graficadas na Fig. 21 para uma melhor análise destes espectros.

Com a simetria axial e considerando que os pequenos complexos se movimentam rapidamente na solução, as expressões tornam-se:

$$g_0 = 1/3 (g_{||} + 2 g_{\perp}) \quad (73 \text{ a})$$

$$A_0 = 1/3 (A_{||} + 2 g_{\perp}) \quad (73 \text{ b})$$

Foi possível através destes mesmos espectros determinar os tensores relacionados a interação super-hiperfina \bar{A}_N para alguns valores de pH.

Observando a Fig.19 nota-se:

A) Na faixa de pH abaixo de 4,0, devido ao movimento bastante rápido dos íons de cobre(II) livres (coordenados por moléculas de água), o espectro é basicamente constituído de uma linha larga, sem apresentar de forma clara a interação hiperfina.

B) Na faixa de pH 4,0 a 6,0, os espectros de RPE apresentaram de forma bem evidente 4 linhas relacionadas a interação hiperfina e de forma não tão clara a interação

superhiperfina.

A interação superhiperfina apresenta-se em campo alto o que evidencia que os elementos que se coordenam ao íon de cobre(II) estão no plano perpendicular ao eixo de simetria.

Sabe-se que o nitrogênio possui $I_N=1$ e este desdobrará as linhas em três outras adicionais. Com a presença de 5 linhas é de se esperar a existência de dois Nitrogênios equivalentes e pode-se afirmar que estão no mesmo plano.

C) Na faixa de pHs 6,0 a 12,0 os espectros não apresentam claramente a interação superhiperfina pelo desdobramento das linhas em campo alto.

Ao examinar tais espectros nota-se a existência da interação superhiperfina, embora não de forma clara, o que pode ser explicado pela existência de dois nitrogênios em posições não equivalentes e, por esta razão, escondidos pela largura e superposição dos dois tripletos resultantes desta interação.

Em relação a interação hiperfina os espectros são semelhantes.

D) Acima de pH 12,0 nota-se de forma bastante clara a existência de 5 linhas demonstrando a interação superhiperfina e a existência de dois nitrogênios equivalentes.

O fato do tensor $\tilde{\Lambda}_0$ ser maior demonstra uma interação mais forte, donde pode-se dizer que a densidade eletrônica se encontra mais próxima ao núcleo do íon de cobre(II).

Observando a Fig.20, espectros a temperatura aproximada de -150 °C, nota-se:

A pH abaixo de 4,0 os espectros apresentam linhas proprias de ions de cobre(II) coordenados com agua, onde a interação hiperfina é pouco resolvida.

Na faixa de pHs 4,0 a 12,0 observou-se o mesmo tipo de interação hiperfina, embora no pH em torno de 5,0 os parâmetros A_{ij} , não podem ser definidos de uma forma clara, pois deve haver sobreposição de espectros de mais de um complexo formado.

Acima de pH 12,0 a interação hiperfina fica mais forte, evidenciando que a densidade eletrônica esta mais próxima do ion cobre(II) ou deve haver uma mistura de outros orbitais, de tal forma a alterar a contribuição isotrópica eletrônica dos orbitais d com a presença de orbitais s do proprio ion cobre, proveniente de uma mudança estereoquímica e/ou uma covalênciia.

A interação hiperfina modificou-se consideravelmente com relação aos espectros de pH menores que 12,0, haja visto que o parâmetro é bem maior.

Das analises espectroscopicas, absorção ótica no visivel e RPE a temperatura ambiente e nitrogênio líquido, existe uma concordância bastante grande em dizer que existe quatro espécies distintas de complexos na faixa de pH estudado.

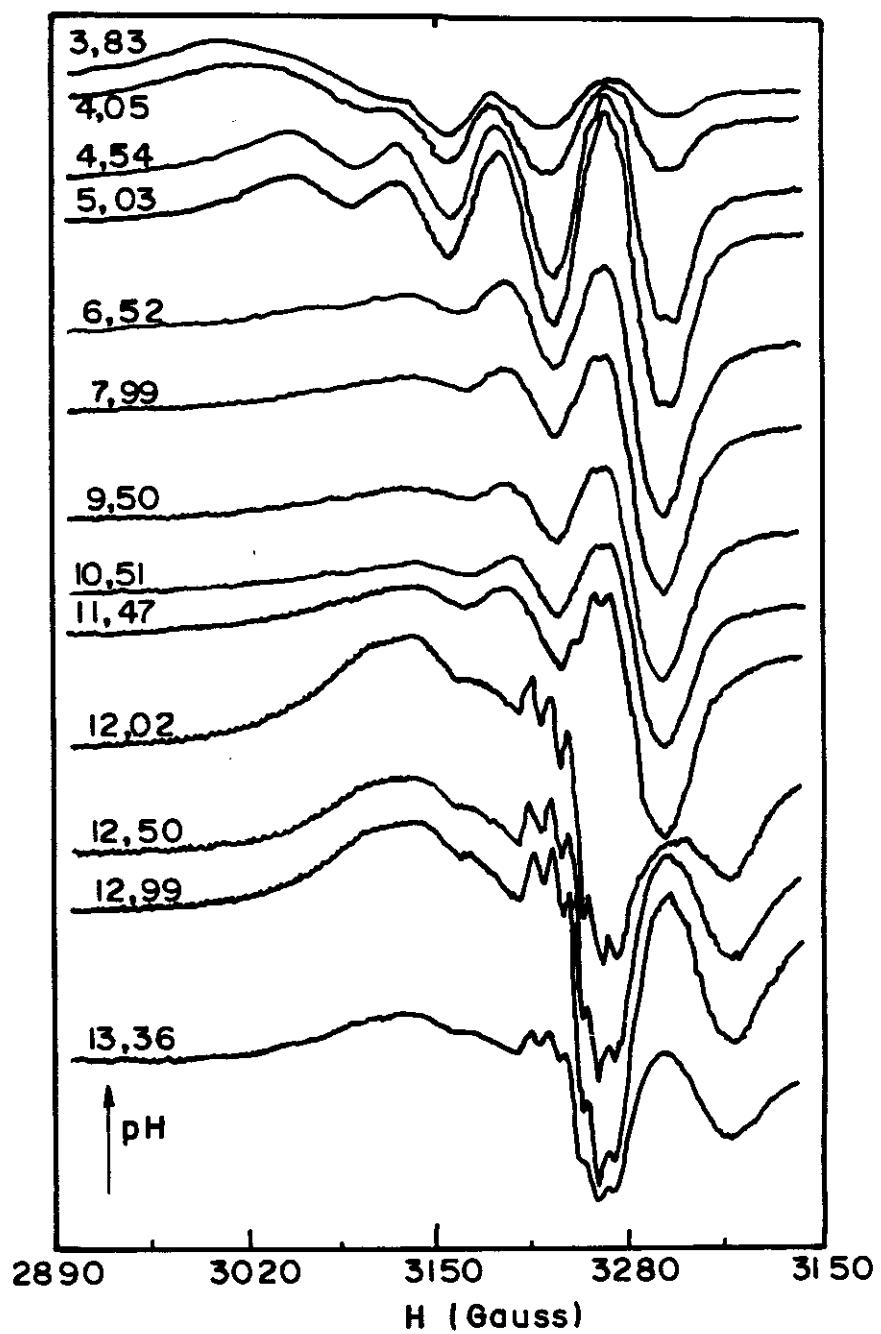


Fig.19 - Espectros de RPE dos complexos Trp-Gly com cobre(II) em função do pH das soluções a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$).

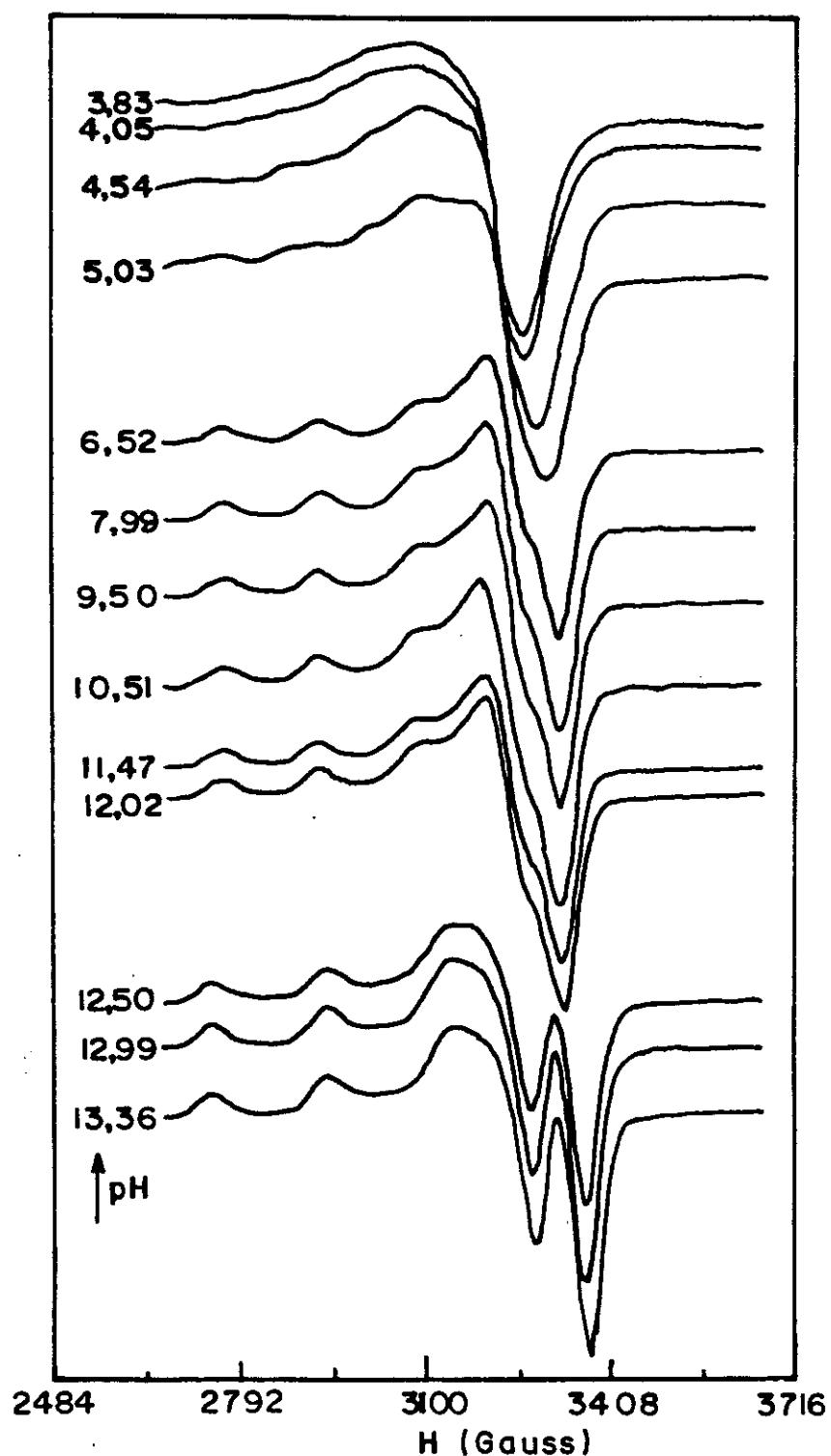


Fig. 20 - Espectros de RPE dos complexos Trp-Gly com cobre(II) em função do pH das soluções a temperatura ~ 150 °C.

pH	G ₀	G ₀ calculado	A ₀ (Gauss)	A _n (Gauss)	G _{//}	G _⊥	A _{//} (Gauss)	A _⊥ (Gauss)
3,83	2,127	-----	63,8	----	?	2,092	?	----
4,05	2,127	-----	65,0	----	?	2,090	?	----
4,54	2,125	-----	71,3	10,0	?	2,080	?	----
5,03	2,125	-----	71,3	----	?	2,072	?	----
5,60	2,124	2,120	71,3	----	2,225	2,068	162,5	25,7
5,98	2,123	2,119	71,3	----	2,226	2,065	160,0	27,0
6,52	2,121	2,116	68,8	----	2,227	2,060	158,8	23,8
7,04	2,119	2,116	63,8	----	2,225	2,061	158,8	16,3
7,52	2,118	2,114	63,8	----	2,224	2,059	160,0	15,7
7,99	2,118	2,116	61,9	----	2,227	2,060	157,5	14,1
8,52	2,118	2,116	62,5	----	2,227	2,060	160,0	13,8
9,01	2,118	2,116	61,9	----	2,227	2,060	157,5	14,1
9,50	2,118	2,115	61,3	----	2,224	2,061	160,0	12,0
9,96	2,118	2,114	60,0	----	2,225	2,058	157,5	11,3
10,51	2,117	2,115	61,3	----	2,224	2,060	160,0	12,0
11,01	2,118	2,113	63,8	----	2,224	2,058	157,5	17,0
11,47	2,118	2,117	65,0	13,1?	2,227	2,062	160,0	17,5
12,02	2,117	2,115	65,3	13,8	2,226	2,060	158,8	55,6
12,50	2,112	2,108	88,1	13,8	2,203	2,061	192,5	35,6
12,99	2,112	2,109	87,9	13,1	2,208	2,059	195,0	34,4
13,36	2,113	2,108	86,9	13,1	2,210	2,057	192,5	34,1
Estes valores foram obtidos de diferenças espectrais a pH=5,03 e 7,99 e desta forma é possível determinar os parâmetros de RPE de um dos complexos predominante no intervalo de pH 4,8 a 6,0.								
4,00 a 6,00	2,127	2,153	74,0	----	2,279	2,090	150,0	36,0

Tabela 6 - Valores dos Parâmetros de RPE e Absorção Ótica para os complexos de Trp-Gly com cobre(II).

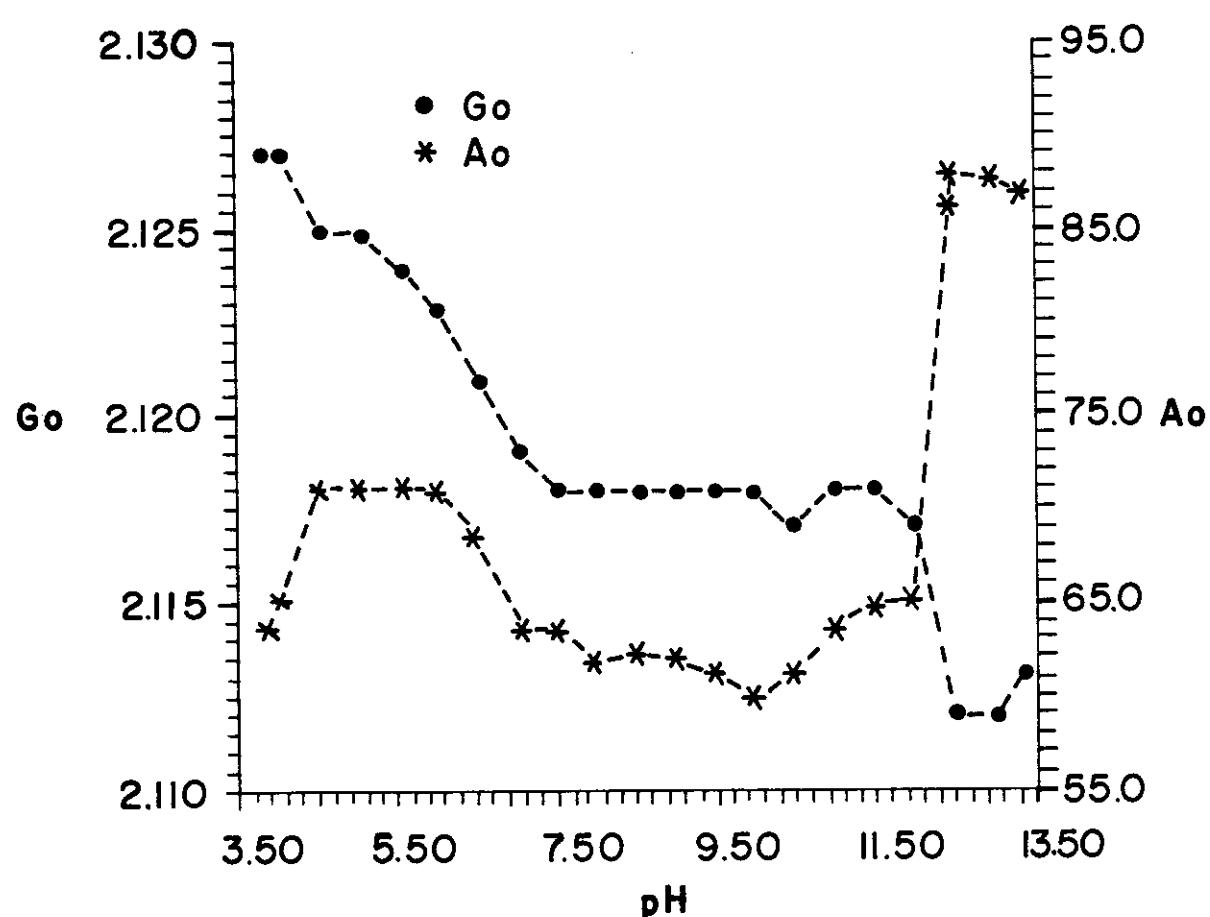


fig.21 - Grafico dos parâmetros g_o e A_o dos complexos de Tro-Gly + cobre(II) em função do pH das soluções a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$).

5.3 - Diferenças Espectrais

Com base nos espectros da Fig.19 e 20 e com a certeza de que há formação de mais de um complexo, resolveu-se fazer diferenças espectrais para alguns valores de pH.

Notou-se que na faixa de pH 6,0 a 12,0 para os complexos em solução havia predominância de uma determinada forma de linha, enquanto que a pH na faixa 4,0 a 6,0 de uma outra, porém com traços característicos da anterior.

Desta forma considerou-se que a pH próximo de 8,0 tem-se a predominância de um único tipo de complexo e a pH próximo de 5,0 a de dois, sendo um destes o de pH 8,0 .

A Fig.22 representa os espectros de RPE a temperatura de nitrogênio líquido em uma escala conveniente, isto é, redução de 1,6 dos espectros reais. O eixo x varia de 0,0 a 40,0 , significando que o campo central mais seu intervalo de variação (3100 ± 500 Gauss/2min), está centrado na abscissa 20,0. O eixo y varia de 0,0 a 24,0 e se refere a intensidade relativa do sinal nesta escala conveniente.

A letra (A) indica o espectro a pH=5,03 onde predominam mais de um complexo, já (B) o espectro de pH=7,99 onde predomina um único complexo que esta contido no anterior.

(C) é o espectro resultante da diferença de (A) com (B), empregando um fator conveniente de 0,4 ($C=A-0,4B$). Logo, a pH=5,03 predomina 40% da espécie em pH=7,99.

A Fig.23 mostra os espectros a temperatura de nitrogênio líquido, onde (A) corresponde aos complexos que

predominam a pH=4,54 inclusive o de pH=7,99 representado por (B). (C) é o espectro resultante da diferença (A) por (B) utilizando um fator 0,1, onde predomina 10% do complexo de pH=7,99 em pH=4,54.

Ao confrontar os espectros (C) resultantes das diferenças (A) por (B) das Figs.22 e 23, minimizou-se esta diferença retirando do espectro (C) da Fig.23 o espectro (D) a pH=3,45.

Desta forma (D) representa o complexo solvatado, o único predominante em pH próximo de 3,0.

A resultante (E) da diferença (C) por (D), na Fig.23, através de um fator 0,4, mostrou uma excelente concordância com o espectro (C) da Fig.22 (ver Fig.24).

Logo a pH=4,54 predomina 40% de complexo solvatado, 10% de complexo a pH=7,99 e o restante do novo complexo.

A Fig.25 representa os espectros de RPE a temperatura ambiente, onde (A) corresponde ao complexo de pH=5,03, (B) aos complexos de pH=7,99, onde não há presença do complexo solvatado e (C) a diferença espectral (A) por (B) através do fator 0,4.

A Fig.26 também representa as diferenças espetrais, só que agora (A) corresponde aos complexos predominantes a pH=4,54, (B) é o mesmo dos caso anterior e (D) o espectro do complexo solvatado a pH=3,45.

(C) e (E) representam os espectros resultantes das diferenças (A) por (B) e (C) por (D), com os fatores 0,1 e

0,3, respectivamente.

A Fig.27 confronta os dois espectros resultantes a temperatura ambiente e pode ser visto uma boa concordância entre eles.

A Fig.28 mostra o espectro de absorção ótica resultante da diferença (A) por (B) utilizando um fator 0,35 nos pHs 5,03 e 7,99 respectivamente.

Foi possível desta forma avaliar o maximo comprimento de onda do complexo que predominava no intervalo de pH 4,0 a 6,0 juntamente com o complexo de pH próximo de 8,0, assim como os parâmetros dos tensores \tilde{A} e \tilde{g} (ver tabela 6 e 7).

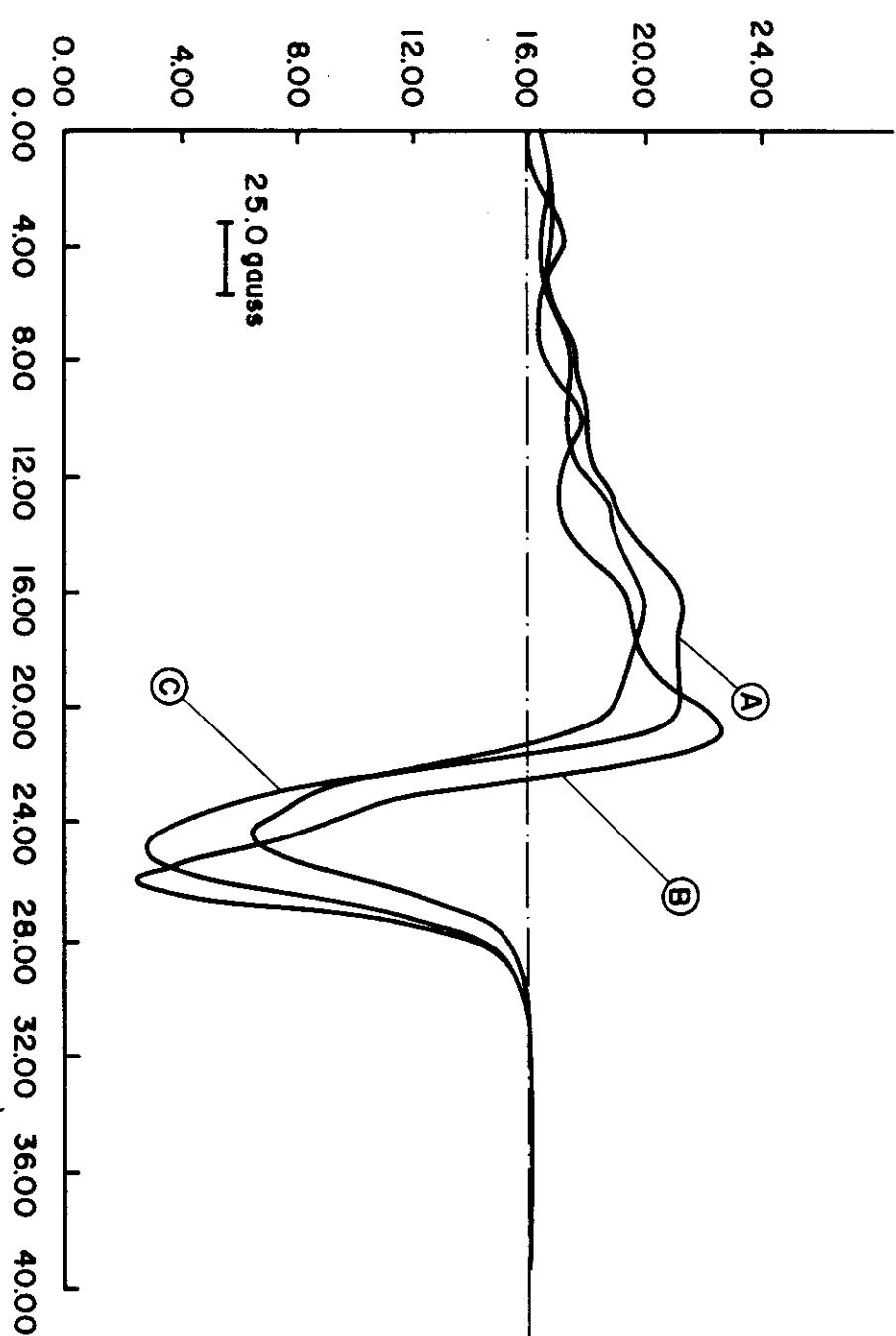


Figura 22 - Diferença espectral dos complexos a pH=5,03(A) e pH=7,99(B) a temperatura próxima de -150°C . [(A)-f(B)=(C), onde $f=0,4$]

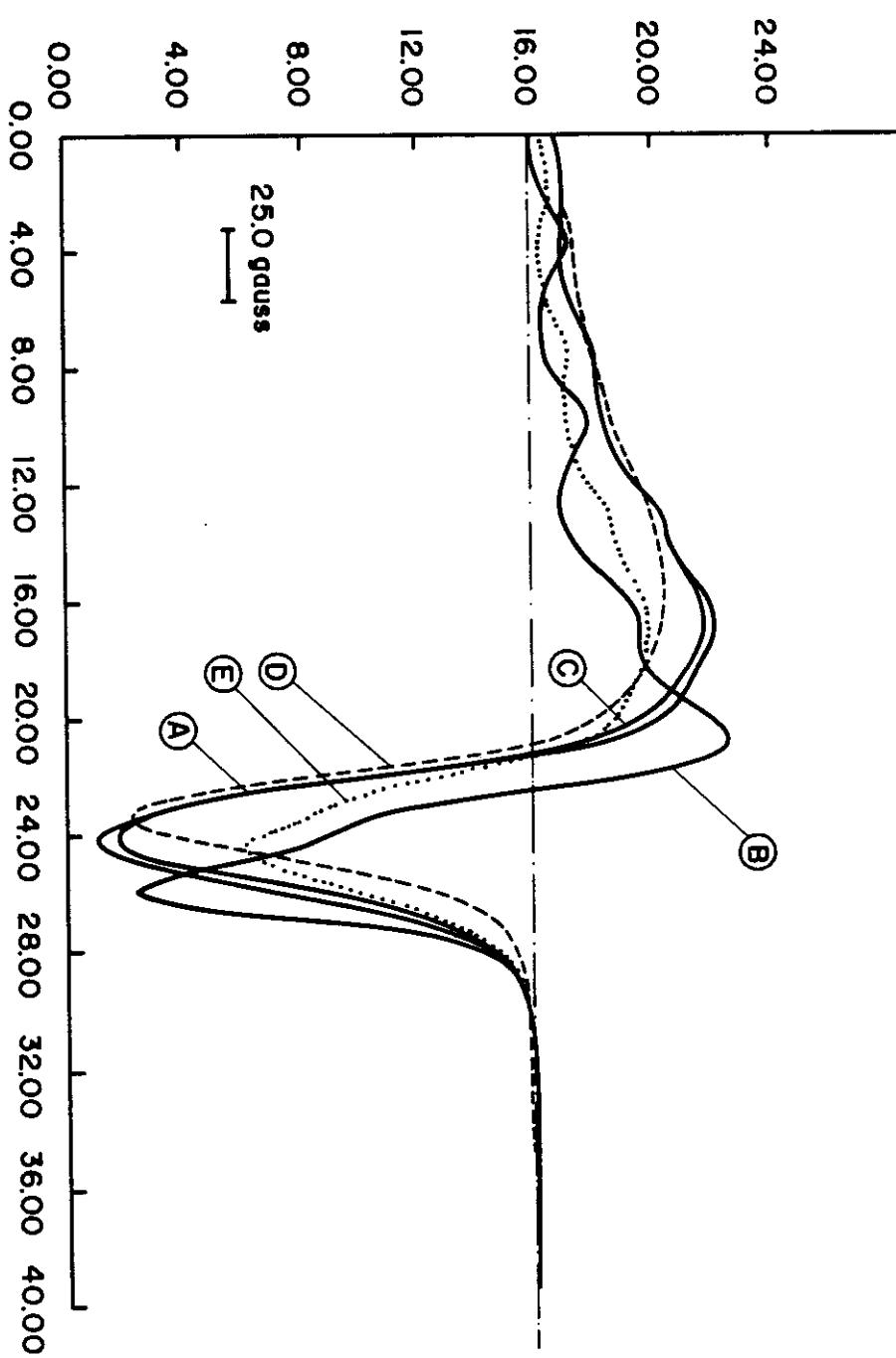


Figura 23 - Diferença espectral dos complexos a $\text{pH}=4,54$ (A), $\text{pH}=7,99$ (B) e $\text{pH}=3,45$ (D) a temperatura próxima de -150°C [(A)- f_1 (B) = (C), onde $f_1=0,1$ e (C)- f_2 (D) = (E), onde $f_2 = 0,4$].

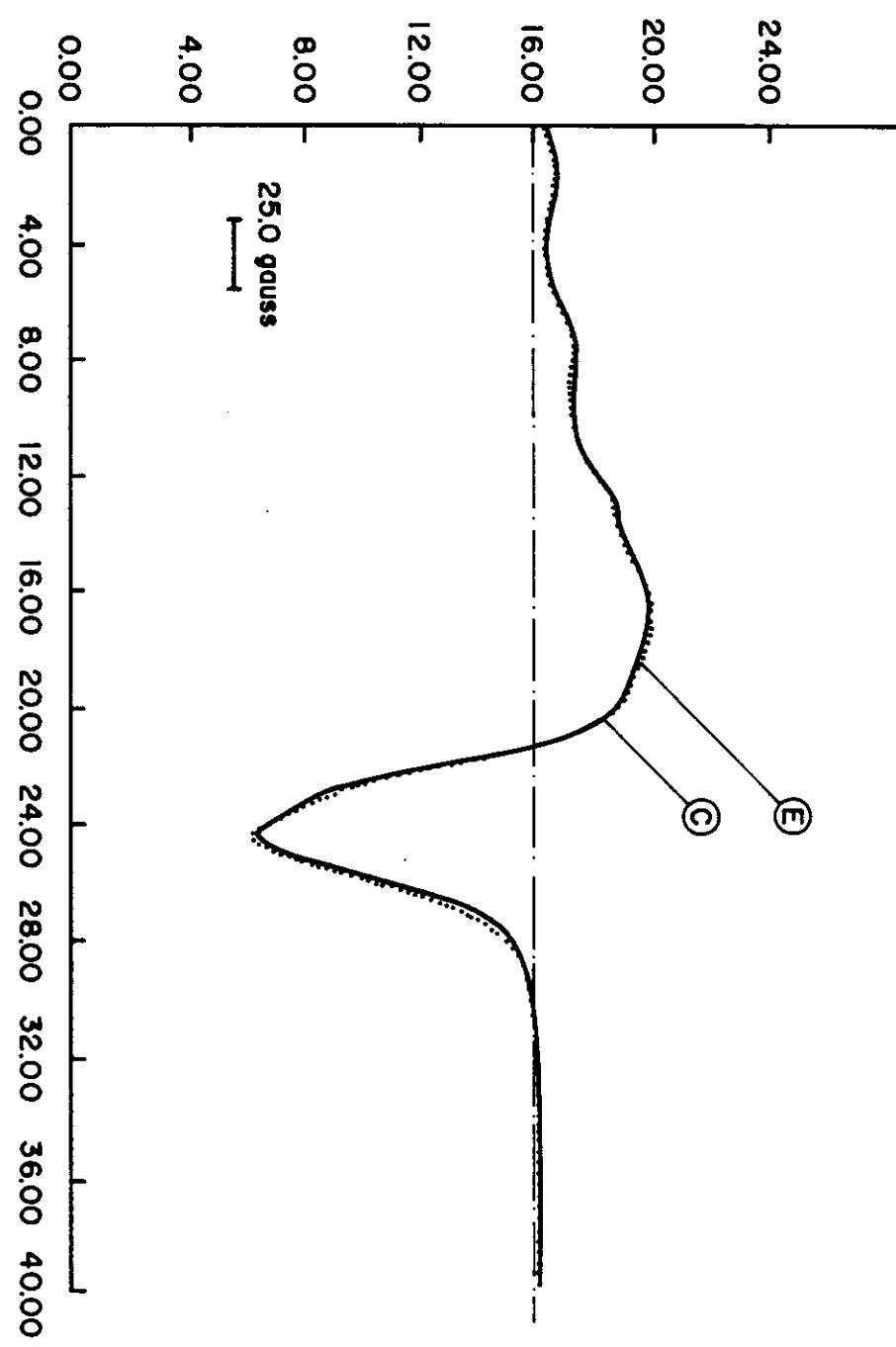


Figura 24 - Comparação dos Espectros resultantes das diferenças efetuadas nas Fig.23 e Fig.24 a temperatura próxima de -150°C .

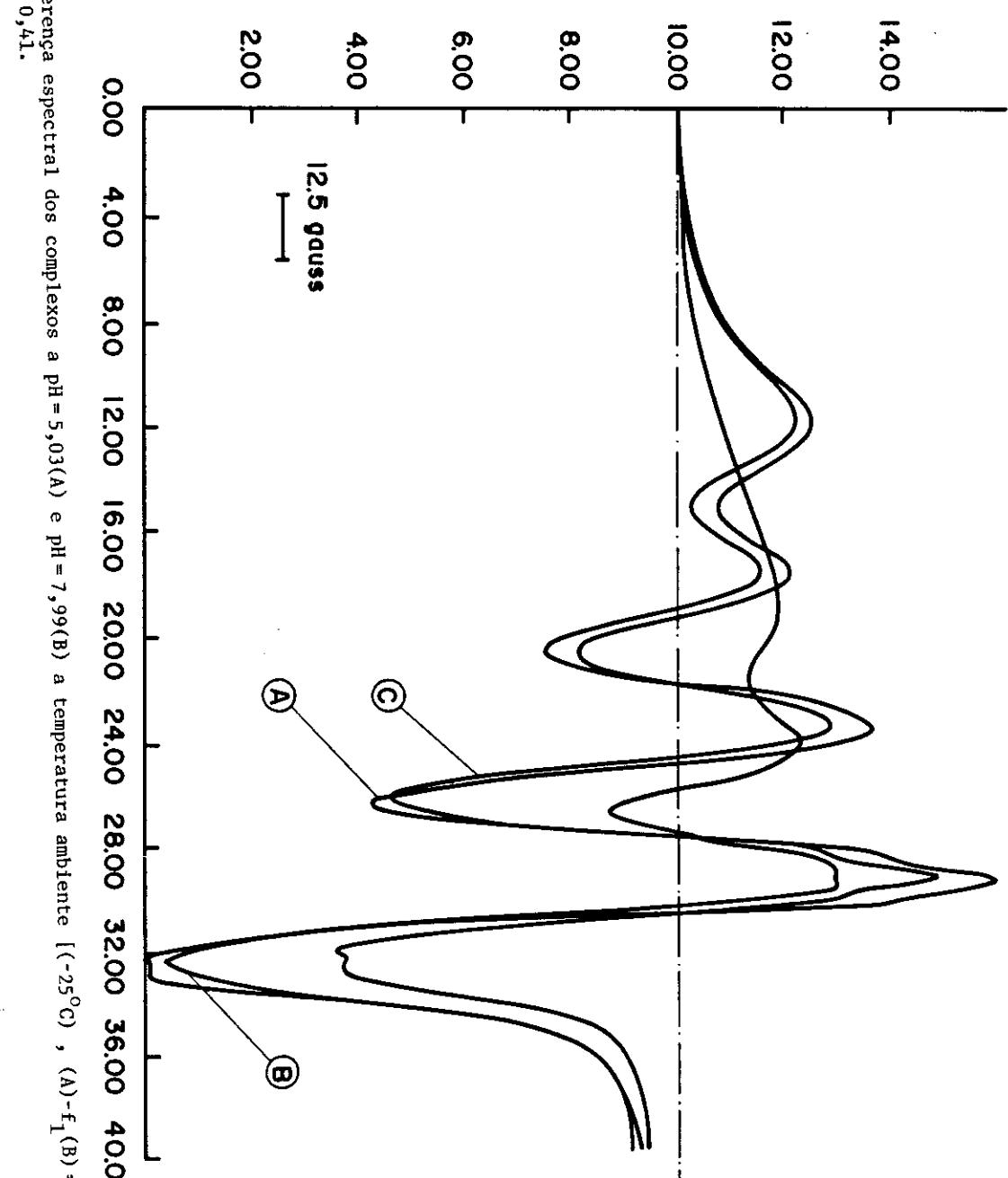


Figura 25 - Diferença espectral dos complexos a pH = 5,03(A) e pH = 7,99(B) a temperatura ambiente [(-25°C)], $(A) - f_1(B) = (C)$, onde $f_1 = 0,41$.

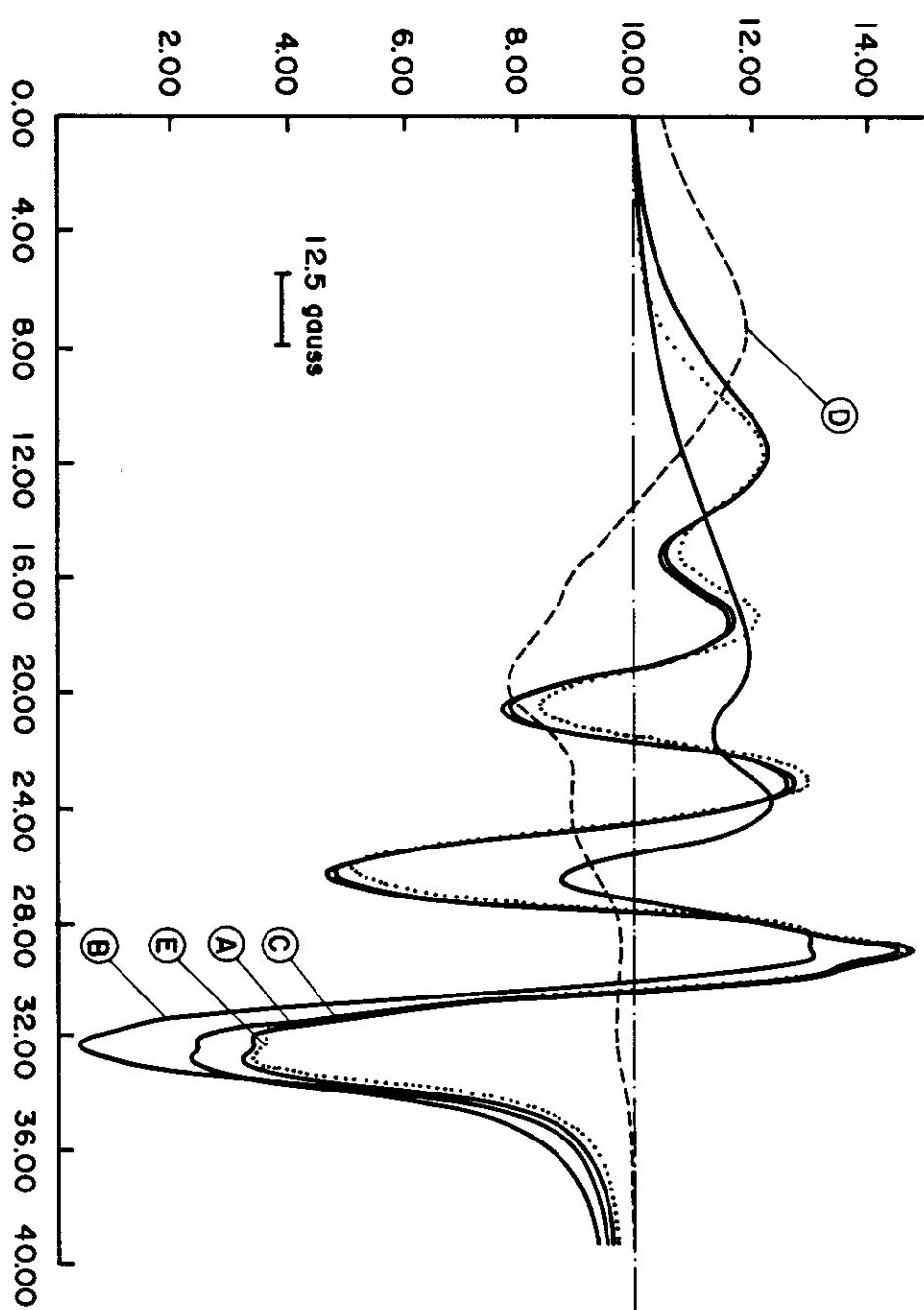


Figura 26 - Diferença espectral dos complexos de pH = 4,54(A), pH = 7,99(B) e pH = 3,45(D) a temperatura próxima de 25°C [(A) - f_1 (B) = (C)], onde $f_1 = 0,1$ e (C)- f_2 (D) = (E), onde $f_2 = 0,31$.

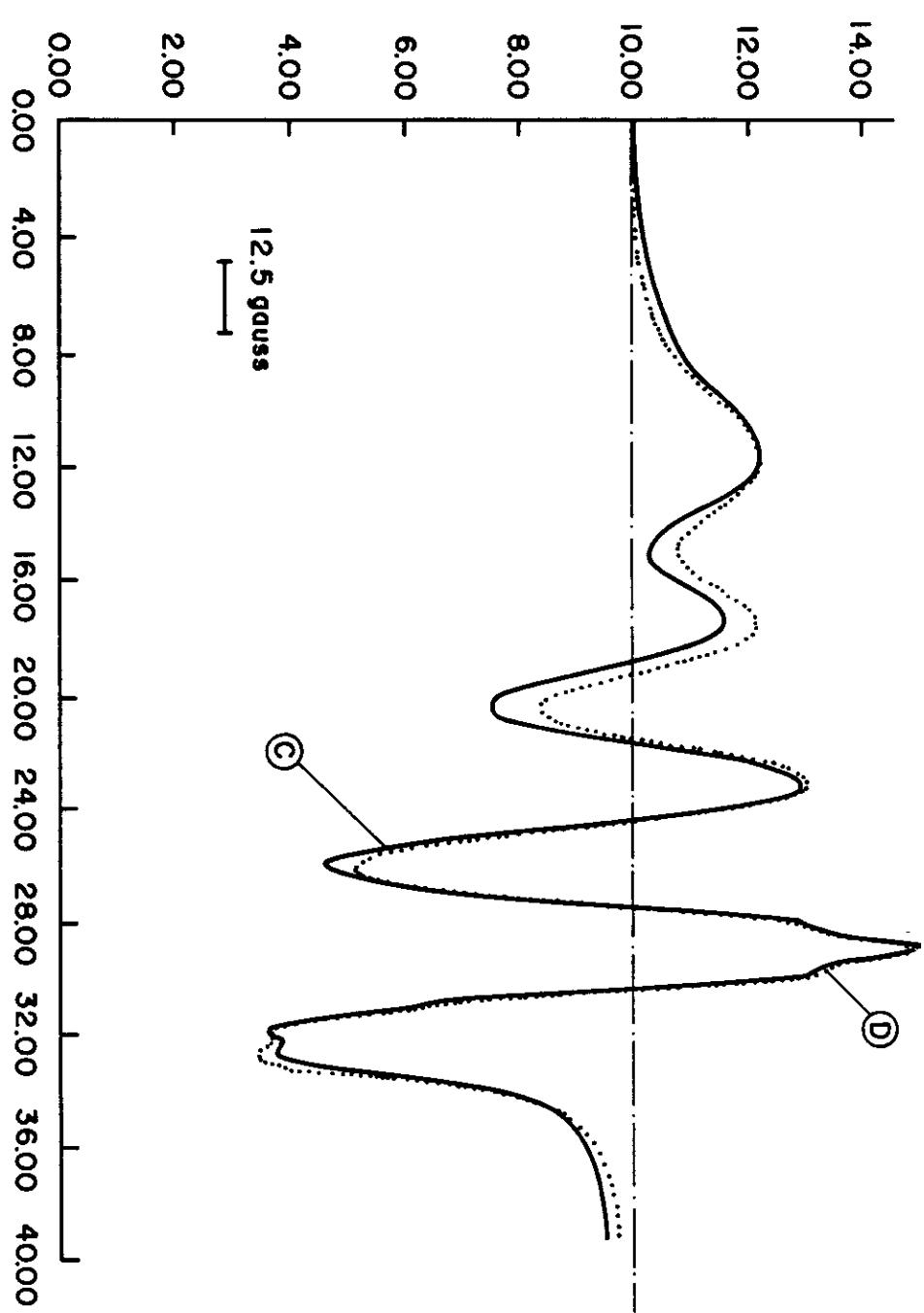


Figura 27 - Comparação dos Espectros resultantes das diferenças efetuadas nas Fig.25 e Fig.26 a temperatura próxima de 25ºC.

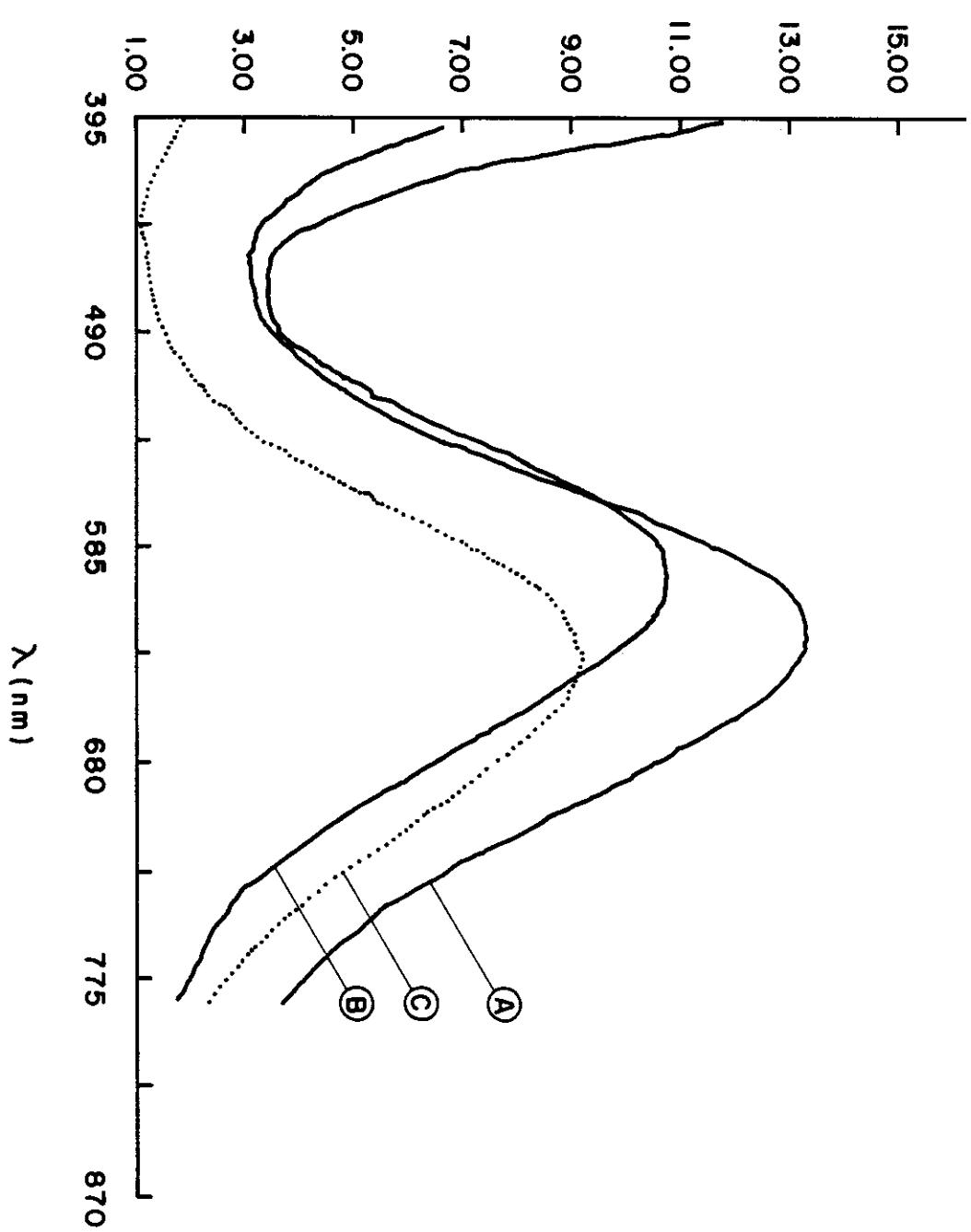


Figura 28 - Diferença espectral dos complexos a pH = 5,03(A) e pH = 7,99(B) a temperatura ambiente [(25°C), (A)- f_1 (B) = (C), onde $f_1 = 0,35$]. Espectros de Absorção Ótica no visível.

5.4 - Cristalografia

A estrutura cristalográfica do complexo cristalizado a pH próximo de 5,0 foi resolvida conforme mencionado na parte introdutória, pelo grupo de Cristalografia do DFCM de São Carlos e os dados fornecidos são:

SISTEMA: ORTORRÔMBICO

GRUPO ESPACIAL: P₂₁2₁2₁

NÚMERO DE MOLECULAS POR CELULA UNITÁRIA: 4

PARÂMETROS DE REDE:

a = 8,284 (6) Å

b = 9,345 (2) Å

c = 16,503(2) Å

VOLUME DA CELULA UNITÁRIA: 1431,8 Å³

DISTÂNCIA DO ION COBRE(II) AOS LIGANTES E OS ÂNGULOS:

DISTÂNCIAS	ÂNGULOS
Cu ²⁺ - O'(2) : 1,86 Å ;	O'(2) - Cu ²⁺ - O (1) : 89,3 °
Cu ²⁺ - O (1) : 2,00 Å ;	O (1) - Cu ²⁺ - N (1) : 84,1 °
Cu ²⁺ - N (2) : 2,04 Å ;	N(1) - Cu ²⁺ - N(2) : 82,5 °
Cu ²⁺ - N (1) : 1,87 Å ;	N(2) - Cu ²⁺ - O'(2) : 103,8 °

Através de técnicas computacionais foi passado um plano medio que continha os ligantes coordenados ao ion cobre(II) e calculada as distâncias destes mesmos elementos, inclusive do ion cobre(II) ao plano, ver abaixo estes valores com os erros associados.

ÁTOMOS	X	Y	Z	DISTÂNCIA	ERRO
O(1) :	0,2320	0,1439	4,0878	0,000	0,004
N(1) :	1,4190	0,8850	1,9127	-0,001	0,004
N(2) :	0,6727	3,3614	1,7559	0,000	0,004
O'(2) :	-0,8151	2,6689	4,3634	0,000	0,004
Cu ²⁺ :	0,3653	1,8877	3,1141	-0,069	0,001

Equação do plano: Ax + By + Cz + D = 0

Parâmetros ajustados :

A	B	C	D
-0,8017	-0,2748	-0,5307	-2,3955

Dos valores mencionados observa-se que a distância dos nitrogênios ao se coordenarem ao ion cobre são diferentes, implicando na não equivalência dos mesmos.

O íon cobre(II) se encontra um pouco fora do plano que passa pelos átomos que se coordenam, indicando uma estereoquímica quadrado planar distorcida.

Um fato bastante relevante é a ausência da água como 4^a coordenação e a participação do oxigênio da carboxila em seu lugar.

A figura 29 mostra a estrutura molecular do complexo Cu²⁺-Trp-Gly determinada na faixa de pH 4,0 a 6,0, onde se pode notar a participação do oxigênio da carboxila como a 4^a coordenação.

A figura 30 fornece um quadro geral das distâncias e ângulos dos átomos coordenados ao íon cobre(II), quando estes são projetados no plano contendo os elementos que se coordenam

ao ion.

As menores distâncias envolvidas entre os ions de cobre(II), tomando como base aquele cuja normal ao plano de coordenação é N₁ e os outros três com normais nas direções N₂, N₃ e N₄ mais próximos ao primeiro, são:

$$\text{Cu}^{2+} (\text{N}_1) - \text{Cu}^{2+} (\text{N}_4) = 5,14 \text{ \AA}$$

$$\text{Cu}^{2+} (\text{N}_1) - \text{Cu}^{2+} (\text{N}_3) = 7,53 \text{ \AA}$$

$$\text{Cu}^{2+} (\text{N}_1) - \text{Cu}^{2+} (\text{N}_2) = 9,69 \text{ \AA}$$

Estas distâncias são pequenas suficientes para mostrar uma possível interação dipolar e/ou de exchange entre os seus spins e resultar em alargamento da linha espectral de RPE no monocrystal.

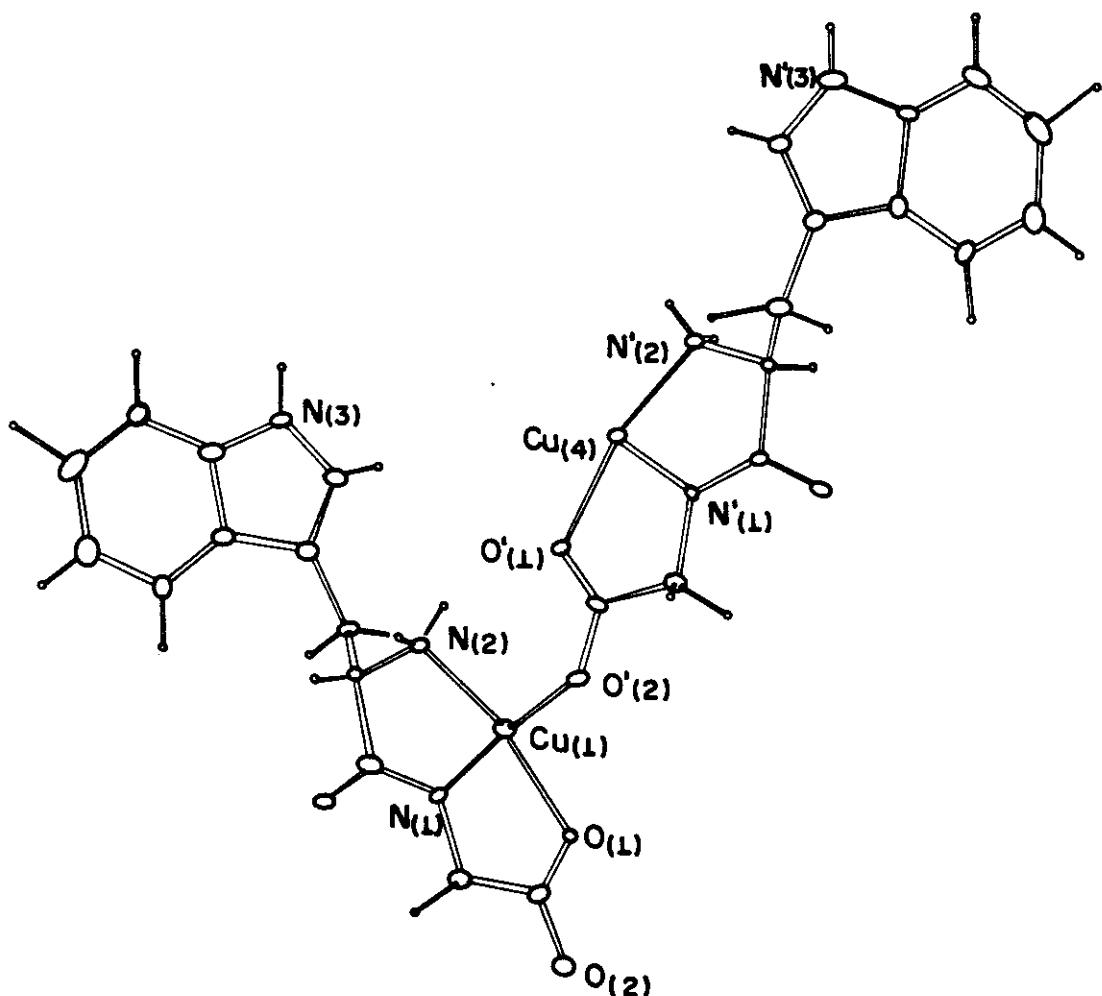


Fig. 29 - Estrutura molecular do complexo Trp-Gly com cobre(II) que ocorre a pH próximo de 5,0, determinado de um dos monocristais crescido pelo laboratório de Biofísica e resolvido pelo grupo de Cristalografia do DFQSC (1987).

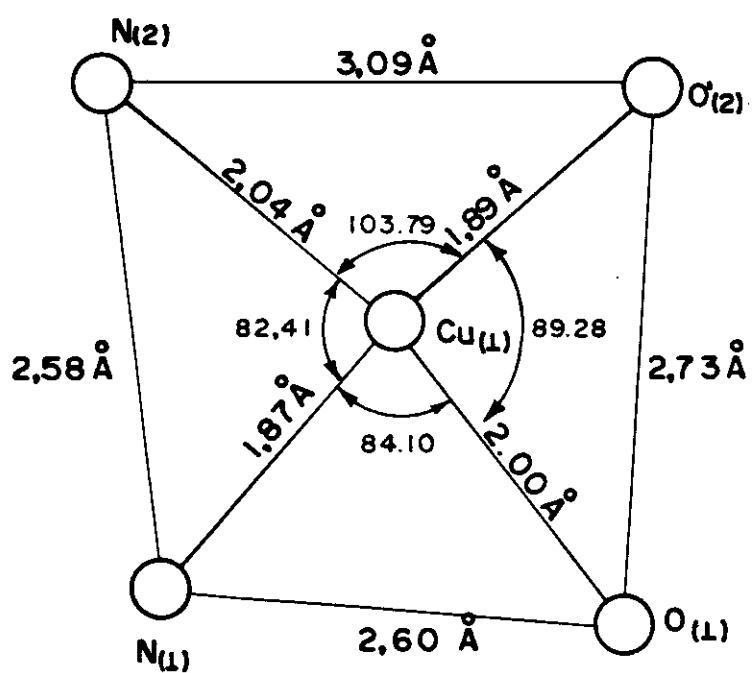


Fig. 30 - Quadro geral das distâncias e ângulos envolvidos entre os ligantes e o íon cobre(II) para um determinado plano de coordenação que passa pelos ligantes do complexo Trp-Gly+ Cu^{+2} .

5.5 - Espectros de RPE do monocrystal

Como já foi mencionado, na tentativa de cristalização dos complexos nos três pHs dominante, isto é , 13,0 , 7,0 e 5,0 conseguiu-se amostras de monocristais a pH=5,0.

Com o dispositivo Goniômetro E-229 e sistema de eixos de laboratório bem definidos sobre o porta amostra de KCl, foi realizado medidas de espectros nos três planos perpendiculares entre si.

Ao variar a direção do campo magnético em torno de um dos eixos , pode-se medir os espectros de RPE nas diversas direções dos planos perpendiculares ao mesmo.

Estes espectros mostram apenas uma linha de largura variável com a orientação do campo magnético em todos os planos,não sendo a interação hiperfina resolvida.

A Fig.32 mostra alguns espectros para determinados ângulos no plano ab.

As Figs.33 , 34 e 35 apresentam os valores dos tensores \bar{g} , obtidos experimentalmente e através de um programa de ajuste,em função da variação angular nos planos ab, bc e ac, respectivamente.

Estes programas em Basic estão listados no Apêndice B.

Com o ajuste das componentes dos tensores \bar{g} de forma a obter a matriz \bar{g} na base a, b e c, através das expressões 72a,b e c,foi possível desta forma diagonalizar esta matriz e encontrar as componentes dos tensores \bar{g} nas direções principais X, Y e Z.

A matriz simétrica das componentes dos tensores \bar{g} na base a, b e c é:

$$\bar{g}^2 = \begin{bmatrix} 4,38668 & 0,1000 & 0,07319 \\ 0,10000 & 4,69869 & 0,03650 \\ 0,07319 & 0,03650 & 4,29169 \end{bmatrix}$$

Quando diagonalizado, isto é, na direção dos eixos principais, torna-se:

$$\bar{g}^2 = \begin{bmatrix} 0,439065D+01 & -0,501830D-21 & 0,000000D+00 \\ 0,000000D+00 & 0,473512D+01 & 0,309179D-13 \\ 0,000000D+00 & 0,000000D+00 & 0,425130D+01 \end{bmatrix}$$

Com autovalores e autovetores a seguir:

autovalores;

autovetores

$$g_1=g_X=2,095; (-0,321582D+00; 0,483517D+00; 0,814123D+00)$$

$$g_2=g_Y=2,176; (-0,946006D+00; -0,127088D+00; -0,298197D+00)$$

$$g_3=g_Z=2,062; (-0,407176D-01; -0,866060D+00; 0,498280D+00)$$

Logo, nota-se uma pequena distorção rômbica na simetria, onde o valor de g_o pela expressão, $g_o = (g_X + g_Y + g_Z)/3$ vale 2,111.

Os valores de g_o , obtidos através dos espectros de RPE em solução e diferenças espectrais a pH próximo da 5,0 , devido a predominância de 2 espécies, são 2,127 para a espécie proposta CuL_2 e 2,118 para o complexo tridentado $Cu(H_2O)L$.

Pode-se notar que o último valor se aproxima mais das medidas de g_0 do monocrystal (ver tabela 6 e 7).

Logo é de se esperar que o monocrystal formado é proveniente da cristalização do complexo tridentado, com $g_0=2,118$.

Na fig.36 foram representados as quatro direções normais aos planos de coordenação dos ions de cobre(II) ($\hat{N}_1, \hat{N}_2, \hat{N}_3$ e \hat{N}_4) e as três direções principais do tensor \bar{g} cristalino (G_1, G_2 e G_3) em relação aos eixos cristalinos.

É sabido que quando ocorre a interação de exchange entre dois ions não equivalentes A e B em uma rede cristalina, e esta é maior que a diferença entre suas energias Zeeman, as linhas de ressonância de ambos os tipos de ions se colapsam dentro de uma única linha (Calvo(1983)).

A posição da única ressonância em função da orientação do campo magnético \hat{H} é determinado pelo fator giromagnético $g(\theta, \phi)$ que é a média aritmética dos fatores giromagnéticos dos ions nos sítios A e B.

Podendo expressar $g(\theta, \phi)$ como:

$$g(\theta, \phi) = [g_A(\theta, \phi) + g_B(\theta, \phi)]/2 \quad (73)$$

$$\text{onde } g_A(\theta, \phi) = (\hat{h} \cdot \bar{g}_A \cdot \bar{g}_A \cdot \hat{h})^{1/2}, \quad g_B(\theta, \phi) = (\hat{h} \cdot \bar{g}_B \cdot \bar{g}_B \cdot \hat{h})^{1/2}$$

$$\text{e } \hat{h} = \frac{\hat{H}}{\|\hat{H}\|} = (\sin\theta \cos\phi, \sin\theta \sin\phi, \cos\theta)$$

Ao se olhar cada íon coordenado isoladamente, dentro da cela unitaria, associando uma simetria axial, identifica-se que as direções das normais a este plano são as mesmas de g_{\parallel} , molecular.

Dos resultados obtidos dos espectros do monocrystal a direção G2, ver fig.36, apesar dos valores de $g(\theta, \phi)$ mostrarem uma pequena distorção rômbica na simetria, mostra que esta direção corresponde a do g_{\parallel} , cristalino.

Um fato relevante é que esta direção (G2) forma um ângulo de 17,9° entre as direções das normais $\hat{N}i$ e $(-\hat{N}4)$ e um ângulo de 17,4° com o plano que passa por $\hat{N}i$ e $\hat{N}4$, logo pertencendo a um plano bissetor entre o ângulo formado por $\hat{N}i$ e $(-\hat{N}4)$.

As distâncias envolvidas com relação a estes íons, acrescido do fato de obter espectros de RPE com um único íon detectado, embora a cristalografia nos apresente quatro por célula unitaria, e a direção de g_{\parallel} , cristalino (G2) se encontrar no plano bissetor a $\hat{N}i$ e $(-\hat{N}4)$, com um pequeno deslocamento na direção $\hat{N}3$, sugere:

1º) Uma interação de exchange entre os íons mais próximos com os planos de coordenação $\hat{N}i$ e $\hat{N}4$, obedecendo a expressão (73) que determina o fator giromagnético $g(\theta, \phi)$ como a média aritmética destes dois sitios ou íons.

2º) Uma interação dipolar e/ou de exchange entre os íons mais próximos com normais $\hat{N}i$, $\hat{N}3$ e $\hat{N}4$ aos seus planos de coordenação, porém menor que a anterior, uma vez que a direção

de g_{\parallel} , cristalino (G2) se encontra mais próximo dos íons com direções normais aos planos de coordenação N1 e N4.

Esta última interação é suficiente para deslocar a direção G2 fora do plano que passa por N1 e N4 em direção ao íon com normal ao plano de coordenação N3 e fazer com que as linhas de ressonância de cada íon se apresentem em uma única.

No apêndice A, mostra-se os cálculos envolvidos na determinação dos tensores \bar{g} moleculares a partir do tensor \bar{g} cristalino, uma vez que as direções dos eixos moleculares são conhecidas pelos dados cristalográficos, onde nota-se uma simetria axial um pouco distorcida com valores próximos ao do complexo tridentado Cu(H₂O)₆²⁺.

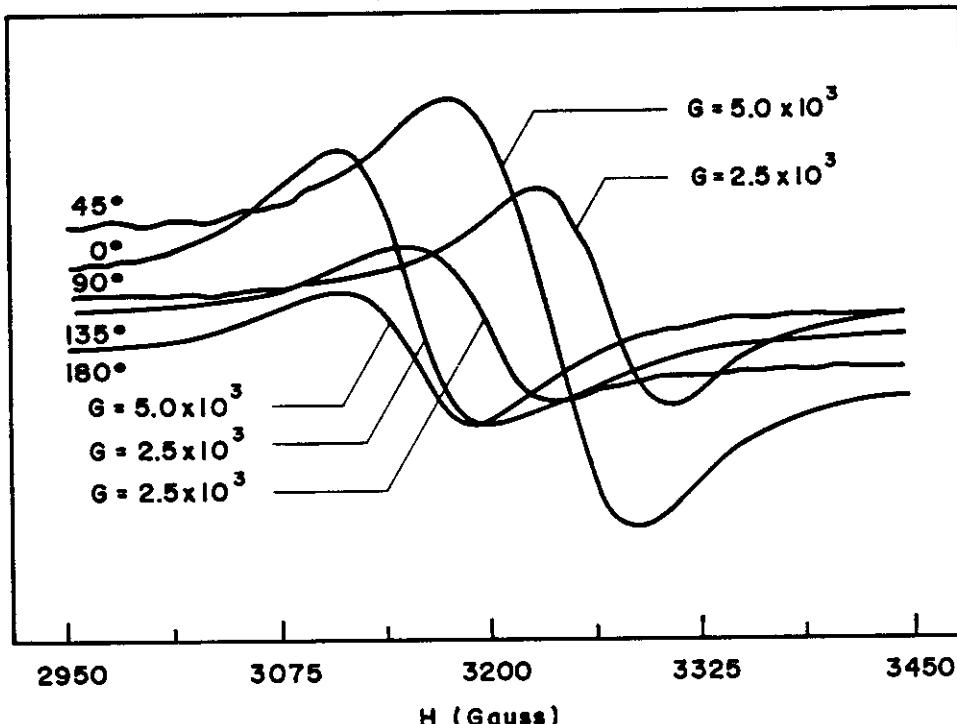


Fig. 31 - Variação Angular no plano ab do espectro de RPE do monocrystal do complexo Trp-Gly com cobre(II) para alguns ângulos medidos a partir do eixo b.

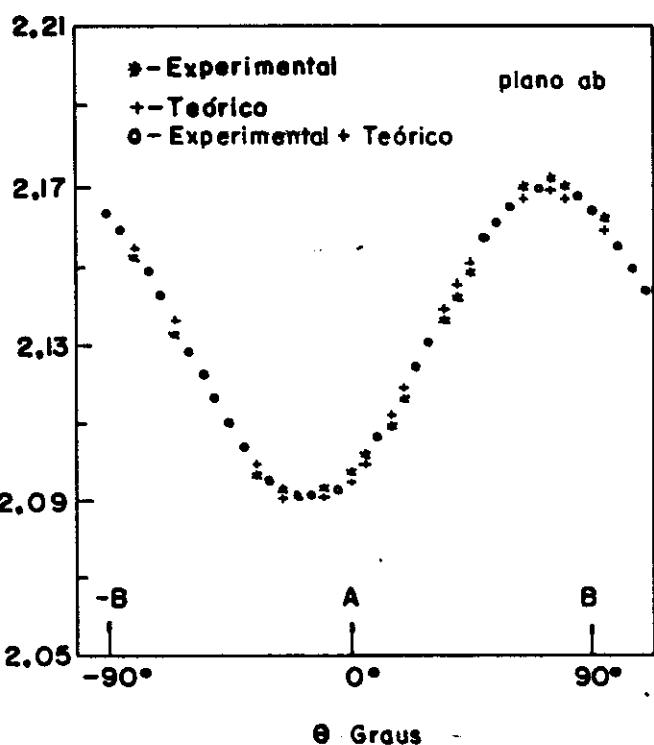


Fig. 32 - Variação angular do fator g no plano cristalino ab.

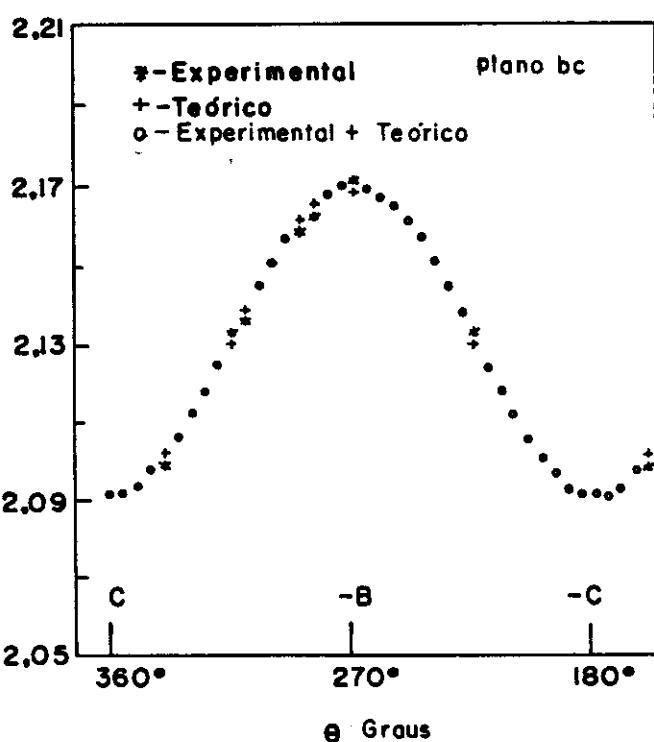


Fig. 33 - Variação angular do fator g no plano cristalino bc.

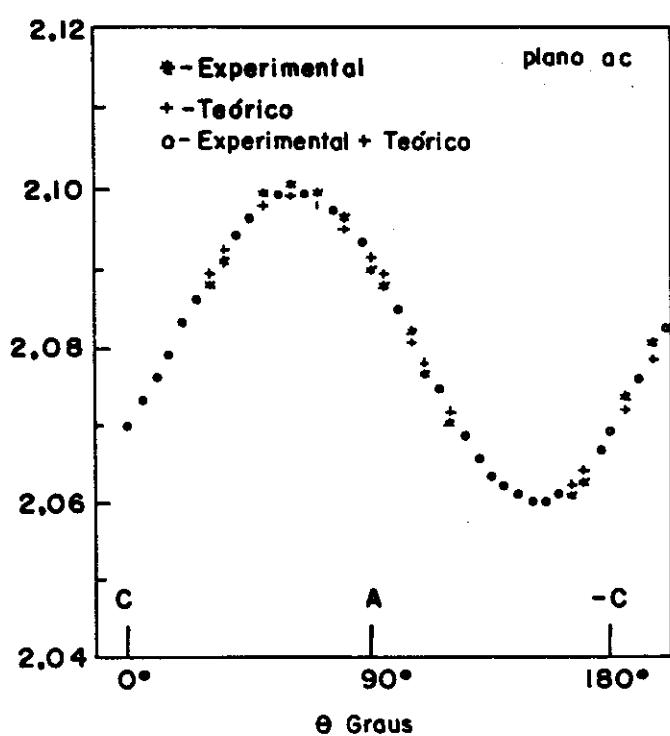


Fig. 34 - Variação angular do fator g no plano cristalino ac.

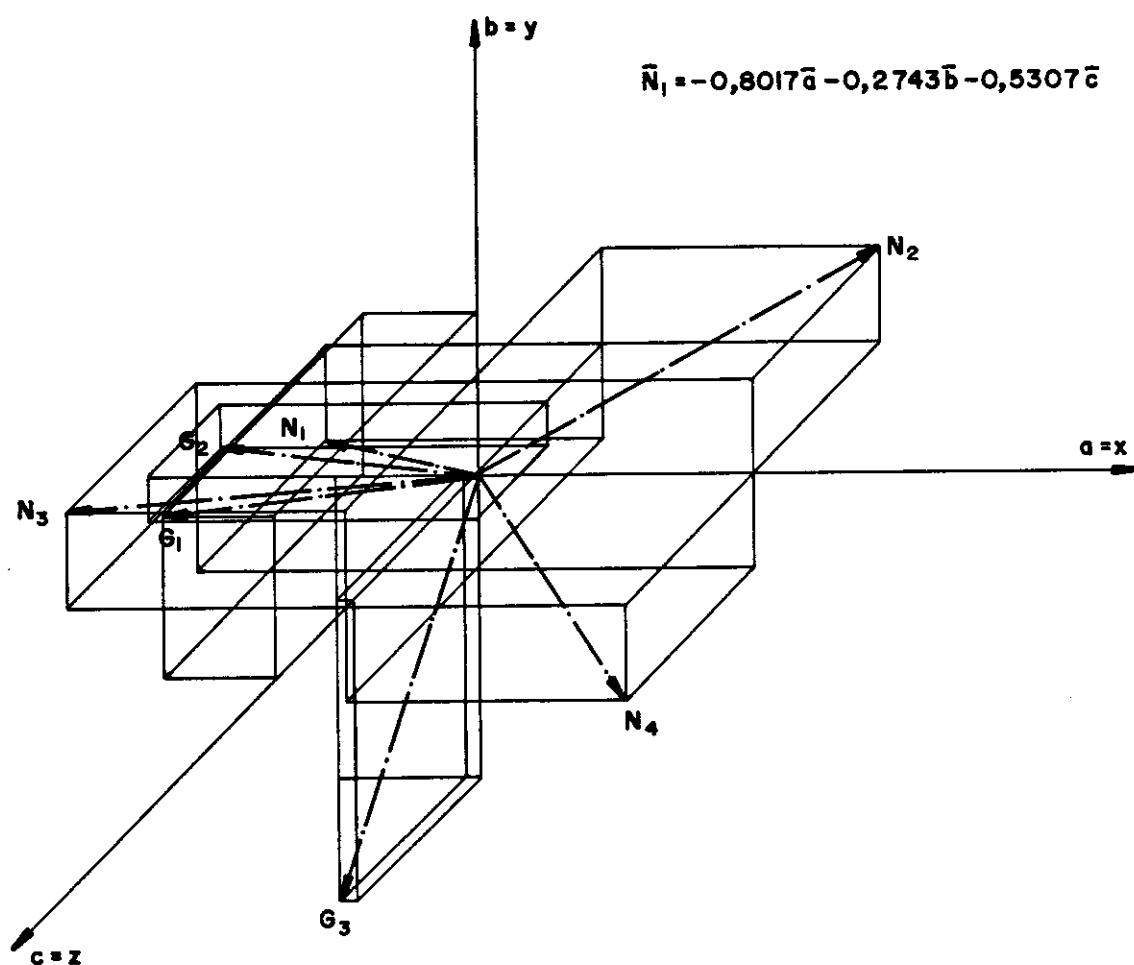


Fig. 35 - Direções das normais aos planos de coordenação Tro-Gly+Cu²⁺ determinados por cristalografia pelo DFQSC(1985).

5.6 -Comparação dos complexos de Trp-Gly e Gly-Trp com o ion cobre(II) e o efeito da cadeia lateral pesada nos parâmetros de RPE e Absorção Ótica.

A tabela 7 fornece um quadro geral dos complexos propostos nas faixas de pH onde predominam e os parâmetros espectroscópicos de RPE e Absorção Ótica.

Tabela 7 - Complexos de Trp-Gly e Gly-Trp⁽¹⁾ com o ion cobre(II) e parâmetros espectroscópicos de RPE e Absorção Ótica

(1a) Trp-Gly + Cobre(II)	(1b) Gly-Trp + Cobre(II)
Complexo- CuL ₂	Complexo- CuL ₂
$g_o = 2,133 \pm 0,008$	$g_o = 2,117 \pm 0,009$
$A_o = (74 \pm 8) \text{ GAUSS}$	$A_o = (73,7 \pm 9) \text{ GAUSS}$
$g_{xx} = (2,279 \pm 0,008)$	$g_{xx} = (2,259 \pm 0,008)$
$g_{\perp} = (2,080 \pm 0,020)$	$g_{\perp} = (2,046 \pm 0,020)$
$A_{xx} = (150 \pm 8) \text{ GAUSS}$	$A_{xx} = (154 \pm 8) \text{ GAUSS}$
$A_{\perp} = (36 \pm 16) \text{ GAUSS}$	$A_{\perp} = (34 \pm 16) \text{ GAUSS}$
$\lambda_{Max} = (633 \pm 16) \text{ nm}$	$\lambda_{Max} = (640 \pm 16) \text{ nm}$
parâmetro de covalência(α^2)=0,97	parâmetro de covalência(α^2)=0,95
coordenação do íon Cu ²⁺ :	coordenação do íon Cu ²⁺ :
2 Nitrogênios (Amina)	2 Nitrogênios (Amina)
2 Oxigênios (Carboxila)	2 Oxigênios (Carboxila)
Faixa de pH predominante-4,0 à 6,0	Faixa de pH predominante-4,0 à 6,0
L=Trp-Gly	L=Gly-Trp

(1) Estes complexos foram propostos por Nascimento e Tabak (1985).

(2a) Trp-Gly + Cobre(II)	(2b) Gly-Trp + Cobre(II)
Complexo- CuL(H ₂ O)	Complexo- CuL(H ₂ O)
$g_0 = 2,118 \pm 0,002$	$g_0 = 2,114 \pm 0,002$
$A_0 = (61,9 \pm 2)$ Gauss	$A_0 = (63 \pm 2)$ Gauss
$g_{\perp} = (2,227 \pm 0,002)$	$g_{\perp} = (2,226 \pm 0,002)$
$g_{\parallel} = (2,060 \pm 0,004)$	$g_{\parallel} = (2,059 \pm 0,004)$
$A_{\perp} = (159 \pm 2)$ Gauss	$A_{\perp} = (160 \pm 2)$ Gauss
$A_{\parallel} = (14 \pm 2)$ Gauss	$A_{\parallel} = (15 \pm 2)$ Gauss
$\lambda_{Max} = (595 \pm 4)$ nm	$\lambda_{Max} = (595 \pm 4)$ nm
parâmetro de covalência(α^2)=0,94	parâmetro de covalência(α^2)=0,94
coordenação do íon Cu ²⁺ :	coordenação do íon Cu ²⁺ :
2 Nitrogênios (Amina e amida)	2 Nitrogênios (Amina e amida)
2 Oxiégenios (Carboxila e água)	2 Oxiégenios (Carboxila e água)
Faixa de pH predominante-6,0 a 12,0	Faixa de pH predominante-6,0 a 12,0
L=Trp-Gly	L=Gly-Trp
(3a) Trp-Gly + Cobre(II)	(3b) Gly-Trp + Cobre(II)
Complexo- CuL(OH)H ₂ O	Complexo- CuL(OH)H ₂ O
$g_0 = 2,109 \pm 0,002$	$g_0 = 2,119 \pm 0,002$
$A_0 = (87 \pm 2)$ Gauss	$A_0 = (51 \pm 2)$ Gauss
$g_{\perp} = (2,210 \pm 0,002)$	$g_{\perp} = (2,260 \pm 0,002)$
$g_{\parallel} = (2,057 \pm 0,004)$	$g_{\parallel} = (2,102 \pm 0,004)$
$A_{\perp} = (192 \pm 2)$ Gauss	$A_{\perp} = (111 \pm 2)$ Gauss
$A_{\parallel} = (34 \pm 2)$ Gauss	$A_{\parallel} = (21 \pm 2)$ Gauss
$A_{anis.} = (105 \pm 4)$ Gauss	$A_{anis.} = (60 \pm 4)$ Gauss
$A_N = (19,8 \pm 0,5)$ Gauss	$A_N = (19,5 \pm 0,5)$ Gauss
$\lambda_{Max} = (530 \pm 4)$ nm	$\lambda_{Max} = (620 \pm 4)$ nm
parâmetro de covalência(α^2)=0,89	parâmetro de covalência(α^2)=0,79
coordenação do íon Cu ²⁺ :	coordenação do íon Cu ²⁺ :
2 Nitrogênios (Amina e amida)	2 Nitrogênios (Amina e amida)
2 Oxiégenios (Hidroxila e carboxila)	2 Oxiégenios (Hidroxila e água)
Faixa de pH predominante-	Faixa de pH predominante-
Acima de 12,0	Acima de 12,0
L=Trp-Gly	L=Gly-Trp

A tabela 7 fornece os resultados espectroscópicos dos três complexos registrados na faixa de pH em estudo, isto é 3,0 a 13,5 para os dois dipeptídeos.

Na faixa de pH 4,0 a 12,0, os complexos Trp-Gly e Gly-Trp com íon cobre(II) apresentaram parâmetros espectroscópicos semelhantes, o que evidencia o mesmo tipo de complexo formado $[CuL_2]$ e $[CuL(H_2O)]$. Neste intervalo a posição da cadeia lateral pesada não parece influenciar o tipo nem a simetria do complexo.

Na faixa de pH 4,0 a 6,0, onde predomina o complexo CuL_2 , observou-se pequena diferença nos valores espectroscópicos de RPE e Absorção Ótica entre os dois dipeptídeos.

Esta pequena diferença reside nos valores \bar{g} e λ_{Max} . Os tensores hiperfinos são praticamente iguais entre si.

Esta diferença possivelmente é proveniente da mudança no campo cristalino ocasionado pela posição do resíduo lateral pesado que influi na esterioquímica do complexo.

No intervalo de pH acima de 12,0, ao comparar os parâmetros espectroscópicos dos complexos Trp-Gly e Gly-Trp com o íon cobre(II) nota-se:

1º) O complexo Trp-Gly+Cobre(II) apresenta uma maior proximidade da densidade eletrônica do elétron d ao núcleo do íon cobre(II), pois $A_g=87$ Gauss, enquanto no outro complexo $A_g=51$ Gauss.

2º) O valor do tensor hiperfino na direção z para o

Trp-Gly+Cobre(II) ($A_{xx}=192$) é bem maior que o Gly-Trp+Cobre(II) ($A_{xx}=111$).

Convém observar que em pH neutro, as proteinas azuis apresentam A_{xx} entre 30×10^{-4} a $60 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$, menor que 100 Gauss [denominado íon de cobre(II) do tipo I], enquanto em pequenos complexos, este valor varia entre 14×10^{-4} a $220 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$, isto é maior que 140 Gauss [denominado de íon cobre(II) do tipo III].

Desta forma a posição da cadeia lateral pesada influencia de forma a reproduzir valores espectroscópicos mais próximos aos íons de cobre(II) do tipo I , encontrados nas proteinas azuis, quando esta se encontra próxima ao grupo carboxila terminal em pH >12,0.

3º) Os tensores superhiperfino \bar{A}_N apresentaram mesmo valor, o que reflete mesmo tipo de ligação entre o elétron d da densidade eletrônica do íon cobre(II) e os orbitais ligantes Nitrogênios(amida e amina).

4º) Os comprimentos de onda máximo para Trp-Gly+cobre(II) evidenciaram uma ligação mais forte neste complexo que o de Gly-Trp+cobre(II).

5º) O complexo de Trp-Gly+Cobre(II) apresentou os tensores g_0, g_x e g_z bem menores que o Gly-Trp+Cobre(II), demonstrando que houve uma mudança na estereoquímica deste complexo.

6º) A simetria apresentada pelo Trp-Gly+Cobre(II) é axial enquanto a do Gly-Trp+cobre(II) não o é, isto se deve a mudança da estereoquímica dos complexos comparados.

7º) Ao se comparar as contribuições do tensor hiperfino relativa a parte anisotropica($A_{anis.}$) constatou-se um valor bem menor para o Gly-Trp+Cu(II), o que deve ser proveniente da mistura de orbitais p em d(Brill,1977).

Comparando os três tipos de complexos existentes na faixa de pH estudada para o Trp-Gly+Cu(II) observa-se:

Para os dois tipos de complexos existentes no intervalo de pH 4,0 a 12,0 que,

1º)Uma maior proximidade da densidade eletrônica do elétron d ao núcleo do íon cobre(II), refletido pelo parâmetro A_0 maior no complexo proposto CuL_2 .

2º)Uma ligação menos intensa para o complexo CuL_2 refletida por λ_{Max} maior.

Para o complexo a pH>12,0, comparado com o CuL_2 e $CuL(H_2O)$ que,

1º) A_0 e A_{xy} são maiores no complexo a pH>12,0.

2º) λ_{Max} e g_0 são menores no complexo a pH>12,0.

De forma analoga a este último caso,quando se compara os complexos de Gly-Trp+Cu(II) existente no intervalo de pH 4,0 a 12,0 com o de pH>12,0 observa-se:

1º) A_0 e A_{xy} são menores no complexo de pH>12,0.

2º) g_0 tem um valor próximo do complexo predominante de pH 4,0 a 6,0 e é maior que o outro complexo [$CuL(H_2O)$].

3º) λ_{Max} é maior que o complexo $CuL(H_2O)$, porém menor que CuL_2 .

CAPITULO VI

Discussão e Conclusão

Kozlowski (1978) estudou complexos de dipeptideos com cobre(II) para soluções aquosas a pH elevado, utilizando RPE e chegou a resultados que vêm de acordo a este trabalho.

Ao analisar os complexos $\text{Cu}(\text{II})+\text{Gly-Aspaa}$ (Glicil-L-ácido Aspártico), $\text{Cu}(\text{II})+\text{Gly-Glua}$ (Glicil-L-ácido Glutâmico) e $\text{Cu}(\text{II})+\text{Gly-Tyr}$ (Glicil-L-ácido Tirosina) nas estequiométrias 1:10 e 1:4 (metal:ligante) observou que:

Os espectros de RPE apresentam no intervalo de pH 9,0 a 11,0 valores de \bar{g} e $\bar{\Lambda}$ para as espécies citadas muito próximos um do outro, onde o ion metálico em cada caso apresenta simetria próximo a D_{4h} com o orbital $d_{x^2-y^2}$ contribuindo para a função de onda do estado fundamental. Provavelmente os grupos que se coordenam em todos os casos são os mesmos, isto é, $-\text{NH}_2$, $-\text{N}^-$ da ligação peptídica e $-\text{COO}^-$.

Quando o pH é maior que 12,0 as espécies CuLOH^- e CuL(OH)_2^{2-} (L= molécula do dipeptídeo) passam a predominar e devido a grande mudança de simetria, torna-se difícil explicá-los sómente com a inclusão deste grupo OH^- no lugar de uma água de coordenação nos complexos de pH 9,0 a 11,0; ressaltando que a inclusão da segunda Hidroxila se faz no mesmo plano de coordenação em substituição ao grupo $-\text{COO}^-$.

Logo, a quebra do anel quelato tridentado pelo ligante pode ser o possível responsável pelo abaixamento da simetria e

pelo decrescimo da energia de transição d-d dos sistemas estudados.

Kozlowski conclui que no caso da coordenação tridentada do dipeptídeo a influência da cadeia lateral é semelhante para as duas ligações metal-nitrogênio da ligação peptídica e metal-grupo carboxílico com simetria do íon cobre(II) próxima a D_{4h}. Quando sómente dois nitrogênios são coordenados a influência das cadeias laterais é significativamente marcante, pois os valores de A_{zz} decrescem segundo a ordem Gly-Aspa+Cu(II), Gly-Glu+Cu(II) e Gly-Tyr+Cu(II), e g_{zzz}, como a distorção rômbica, aumenta na mesma sequência.

Da comparação do Trp-Gly+Cu(II) em pH>12,0 observou-se que a posição do resíduo lateral influenciou bastante nos parâmetros de RPE e Absorção Ótica, levando a concluir que tais mudanças bruscas se deve a quebra da ligação do grupo carboxila (-COO⁻) coordenado ao íon cobre(II) ou a permanência do mesmo e a inclusão de uma hidroxila(OH⁻), uma vez que não ocorre a quebra da simetria axial.

A explicação dada ao complexo Gly-Trp+Cu(II), segundo Nascoimento(1985), é que a evidente distorção e quebra de simetria axial se deve a mudança das distâncias N-C do anel do resíduo pesado de triptofano com a desprotonação do nitrogênio neste pH elevado. Uma justificativa de se observar valores baixos de A_z ou A_{zz}, com base em Brill (1977) é propondo uma mistura de funções p e/ou s do próprio íon cobre(II) como possíveis mecanismos que possam estar ocorrendo.

Nesta proposta justificativa, leva-se em conta uma isotropia eletrônica devido a mistura de orbitais s em d e uma anisotropia eletrônica através da mistura de orbitais p em d, ambas do próprio íon cobre(II), alterando o tensor hiperfino \bar{A} , de tal forma a diminuir o seu valor absoluto.

Dos resultados do item 5.6, ao mudarmos a posição do resíduo lateral pesado em pH>12,0, o parâmetro hiperfino anisotrópico ($A_{anis.}$) é menor quando a cadeia lateral se encontra próximo ao grupo carboxila, evidenciando a participação do orbital p em d do próprio íon cobre(II).

Bates(1962) mostrou que a mistura do orbital p_z a d_{xy} de modo apropriado ao estado fundamental de um sítio tetraédrico é efetivo em estabilizar este estado e em reduzir a separação hiperfina do cobre, isto é, o tensor hiperfino \bar{A} .

Dos mesmos resultados anteriores (item 5.6) observa-se que o parâmetro hiperfino isotrópico (A_0) é menor quando o resíduo lateral pesado esta próximo ao grupo carboxila terminal, mostrando que é possível que ambos os mecanismos mencionados estejam ocorrendo, isto é, mistura dos orbitais s e p em d do íon cobre(II).

Convém notar um traço bem característico em todos estes dipeptídeos complexados com o íon cobre(II), mencionados anteriormente, que é a posição da cadeia lateral pesada mais próxima ao grupo carboxila.

Ao se estudar os complexos de Trp-Gly+Cu(II) notou-se um valor bastante grande de A_z ou A_{yy} , com um λ_{Max} pequeno em

relação aos complexos predominantes em pH menor que 12,0. Esta grande diferença pode ser explicada com a inclusão de um grupo OH⁻ e uma H₂O, como o complexo proposto CuL(OH⁻)H₂O a pH maior que 12,0, com a possível descoordenação do grupo carboxila terminal. Fica difícil, porém, aceitar a não quebra da simetria axial, uma vez que no Gly-Trp+Cu⁺² esta ocorre. Levando em conta o que foi mencionado, abre-se uma outra possibilidade de complexação a ser proposta, isto é, o complexo CuL(OH⁻). Neste caso o grupo carboxila terminal não se descoordena e a simples inclusão de uma hidroxila no lugar da água afetará os valores dos parâmetros A_{yy} e λ_{Max} a pH elevado. Isto é possível se as ligações metal-nitrogênio amida e metal grupo carboxila são diferentes do complexo observado no intervalo de pH 4,0 a 12,0, isto é CuL(H₂O). As únicas mudanças possíveis foram a inclusão da hidroxila no lugar da água de coordenação em CuL(H₂O) e a possível desprotonação do nitrogênio do resíduo lateral pesado. Estas mudanças são capazes de fazer com que o elétron do íon cobre(II) se aproxime mais do seu núcleo e ocorrá uma participação maior do orbital d, o suficiente para se observar as mudanças nos valores dos parâmetros A_{yy} e λ_{Max}.

No caso do complexo tridentado predominante na faixa de pH 4,0 a 12,0 não se observa influência da posição do resíduo lateral e segundo o complexo proposto, isto indica uma grande concordância, no que foi mencionado anteriormente através do trabalho de Kozlowski, isto é, possivelmente as ligações metal-nitrogênio amida e metal-grupo carboxila são semelhantes.

Os estudos de RPE em solução e Absorção Ótica, mostram que a simetria axial se manteve no Trp-Gly+Cu(II) com a existência de dois Nitrogênios(amina e amida) equivalentes com uma maior densidade eletrônica do elétron d ao núcleo do íon cobre(II) em pH maior que 12,0.

Ao se comparar os parâmetros superhiperfinos dos dois complexos Trp-Gly+Cu(II) e Gly-Trp+Cu(II) a pH>12,0, nota-se que estes valores são os mesmos, o que demonstra a existência de elétron d do íon cobre(II) deslocalizado e possivelmente participando dos orbitais dos ligantes.

Assim pode-se justificar as mudanças nos valores de g_0 , $g_{||}$ e g_{\perp} através da maior ou menor covalência da densidade eletrônica d do íon cobre(II) nos orbitais ligantes e/ou uma mudança nos níveis de energia provenientes como consequência de uma pequena mudança na estereoquímica.

Usando a relação já conhecida para o cálculo do parâmetro de covalência (α^2) para os três complexos predominantes na faixa de pH em estudo (ver tabela 7 e relação (i)), observou-se:

Uma maior covalência nos complexos $CuL(H_2O)$ em relação a CuL_2 e uma pequena diferença neste último com a mudança da cadeia lateral pesada, mostrando que a posição do resíduo lateral pesado próximo a carboxila possivelmente induz uma covalência maior.

Nos complexos a pH>12,0 fica evidente a deslocalização da densidade eletrônica d do íon cobre(II), indicando através

do parâmetro de covalência (α^2), uma covalência maior quando o resíduo lateral pesado está próximo ao grupo carboxila e a possível existência de orbitais s e p em d do próprio íon de cobre(II), constatado experimentalmente através dos parâmetros hiperfinais A_{\parallel} , $A_{anis.}$ e A_0 .

Já o inverso ocorre quando este se encontra próximo do grupo amina, onde a densidade eletrônica em d se encontra mais próxima do íon cobre(II) e o parâmetro de covalência (α^2) é maior, indicando uma covalência menor, com a participação maior de orbitais d em relação a s e p do próprio íon cobre(II), constatado experimentalmente através dos parâmetros hiperfinais A_{\parallel} , $A_{anis.}$ e A_0 , quando comparados ao caso anterior.

Conforme Raynor(1974) quanto maior a covalência do complexo metálico, é regra geral esperar valores menores da parte isotrópica do tensor hiperfino \tilde{A} e valores de g_0 mais próximos de 2,0023.

Isto é verdade em todos os casos exceto quando o elétron está no orbital $d_{x^2-y^2}$, onde pode se ligar ao ligante através de uma ligação σ .

Os resultados de RPE mostram, que nos complexos à pH>12,0, quando a cadeia lateral pesada está próxima ao grupo carboxila e com o parâmetro de covalência (α^2) indicando uma covalência maior, que a parte isotrópica do tensor hiperfino \tilde{A} é menor e os valores de g_0 são bastante afastados de 2,0023; Segundo Raynor o elétron deve estar no orbital $d_{x^2-y^2}$.

Como os espectros de RPE mostram uma quebra de simetria

axial neste complexo e a expressão para cálculo de α^2 é baseada nesta hipótese, e com os resultados espectroscópicos indicando a participação de orbitais s e p em $d_{x^2-y^2}$ do próprio íon, possivelmente α^2 não é um bom parâmetro para indicar a maior ou menor covalência do elétron deste íon aos ligantes neste caso, pois o elétron não se encontra unicamente em $d_{x^2-y^2}$. Logo, um modelo como o de Gray(1974), Solomon(1976) e Sugiura(1970,1972,1975,1976,1977), que leva em conta a descrição de covalência, através do parâmetro de covalência (α^2), na tentativa de explicar os parâmetros de A_{yy} , pequenos e intensidades bastante altas da banda de absorção nas "proteinas azuis", não explicam os valores aqui encontrados para o Gly-Trp+Cu⁺² e Trp-Gly+Cu⁺². Neste caso o modelo de não covalência proposto por Brill e Bryce (1968) com a participação de orbitais s e p em d do próprio íon cobre(II) se torna mais adequado em explicar os valores de A_{yy} próximos ao limite superior dos valores encontrados nas "proteinas azuis".

No caso da cadeia lateral se encontrar próxima ao grupo amina em pH>12,0, nota-se uma covalência menor com valor maior da parte isotrópica, porém com g_0 mais próximo de 2,0023 e segundo Raynor o elétron deve estar no orbital $d_{x^2-y^2}$ do íon cobre(II).

Os resultados espectroscópicos indicam uma simetria axial e uma participação maior do orbital d do íon cobre(II), com o possível estado fundamental em $d_{x^2-y^2}$ neste caso.

No caso do Gly-Trp+Cu⁺² o estado fundamental deve ser

uma mistura de orbitais s e p em d do próprio íon cobre(II).

Os resultados cristalográficos do complexo Trp-Gly+Cu²⁺ em pH próximo de 5,0, de forma diferente do Gly-Trp+Cu²⁺em pH próximo de 9,0 não apresentou a água como o quarto ligante ao plano de coordenação do íon cobre(II) e sim um oxigênio do grupo carboxila terminal(ver fig.34). Uma explicação para este fato se encontra na mudança da cadeia lateral pesada do triptofano, que ao estar próximo ao grupo amina terminal, favorece uma maior mobilidade da carboxila terminal, aumentando a possibilidade do oxigênio se coordenar ao íon cobre(II), quando este se cristaliza.

Com certeza conclui-se do que foi discutido e apresentado neste trabalho que:

1º) Três diferentes espécies de complexos do Trp-Gly+Cu²⁺ foram caracterizados por espectroscopia de RPE e Absorção Ótica no visível, dentro do intervalo de pH 3,0 a 13,50, sendo possível a cristalização de um deles a pH=5,0. Estas técnicas espectroscópicas, assim como as diferenças espetrais por técnicas computacionais e difração de raio X do complexo cristalizado mostraram a importância de se empregar mais de uma técnica adequada no estudo realizado.

2º) A influência da cadeia lateral pesada é importante na aproximação da densidade de elétron desemparelhado em d ao núcleo do íon cobre(II) em pH=12,0. Isto demonstra a influência

deste grupo em criar um afastamento ou aproximação desta densidade de elétron desemparelhado dependendo da posição do resíduo lateral pesado em relação a ele. Quanto mais afastada se encontra a cadeia lateral pesada do grupo carboxila terminal e próxima do grupo amina terminal, mais a densidade de elétron desemparelhado esta do núcleo do ion cobre(II).

3º) O complexo Trp-Gly+Cu²⁺ a pH>12,0 apresentou simetria axial com o possível estado fundamental do ion cobre(II) no orbital $d_{x^2-y^2}$ e com uma maior participação dos orbitais d na coordenação com os ligantes em relação ao Gly-Trp+Cu²⁺ no mesmo pH. Neste último complexo há uma menor participação do orbital d com a possível inclusão de orbitais p e s, onde o modelo de não covalência Brill e Bryce(1969) explica melhor os resultados, mostrando que o parâmetro de covalência(α^2) não é adequado neste caso.

Como sugestões a futuros trabalhos que possam vir a ser desenvolvidos aponto:

1º) Um estudo sistemático dos complexos cristalizados de Trp-Gly+Cu²⁺ e Gly-Trp+Cu²⁺ por RPE dentro de uma faixa de temperatura ambiente (~25°C) até próxima de nitrogênio líquido (~-150°C), com a finalidade de melhor conhecer as interações de exchange e/ou dipolar envolvidas e possivelmente resolver as outras linhas da interação hiperfina entre o ion cobre(II) e o seu spin.

2º) Um estudo do mesmo tipo que o realizado neste trabalho com os dipeptídeos Gly-His+Cu⁺², Gly-Phe+Cu⁺², Gly-Ile+Cu⁺² ou Gly-Leu+Cu⁺² e Gly-Cys+Cu⁺², onde pudesse explorar a mudança da posição da cadeia lateral "pesada", correlacionar a influência dos nitrogênios da cadeia lateral da histidina comparativamente ao nitrogênio do triptofano, as mudanças provenientes do fato da cadeia lateral ser aromática ou alifática com ou sem nitrogênios desprotonáveis e a presença do enxôfre na cadeia lateral.

APÊNDICE A

Cálculo do tensor \bar{g} molecular a partir do tensor \bar{g} cristalino

Os espectros de RPE no monocrystal, devido à cristalização do complexo tridentado Trp-Gly+Cu²⁺ ocorrer em quatro posições da cela unitária e um único íon cobre ser detectado, não permitiu calcular de forma direta o fator \bar{g} molecular deste complexo, pois este tensor deve refletir um valor médio entre os anteriores.

Os dados cristalográficos fornecem os eixos moleculares ξ, η e ζ e desta forma é possível calcular os valores de g_ξ , g_η e g_ζ a partir dos valores do tensor \bar{g} cristalino, assumindo que o estado fundamental do elétron desemparelhado é descrito pela função d_{xz-yz} .

Sejam a, b e c os eixos cristalinos e X, Y e Z as direções principais obtidas das medidas e análise dos espectros de RPE da amostra (ver fig.37).

Seja ξ, η e ζ o sistema de eixos moleculares de uma das moléculas que ocorrem na célula unitária.

O eixo ζ é a normal ao plano de coordenação e ξ e η apontam respectivamente nas direções N(2)-O(1) e N(1)-O'(2) no plano de coordenação (ver fig.31).

Pelos dados de RPE e Cristalografia, é possível escrever:

$$\hat{x} = -0,3216 \hat{a} + 0,4835 \hat{b} + 0,8141 \hat{c}$$

$$\hat{y} = -0,9460 \hat{a} - 0,1271 \hat{b} - 0,2982 \hat{c}$$

$$\hat{z} = -0,0407 \hat{a} - 0,8661 \hat{b} + 0,4983 \hat{c}$$

$$\xi = 0,5941 \hat{a} - 0,4690 \hat{b} - 0,6536 \hat{c}$$

$$\eta = 0,1145 \hat{a} + 0,8044 \hat{b} - 0,5830 \hat{c}$$

$$\varsigma = 0,8017 \hat{a} + 0,2748 \hat{b} + 0,5307 \hat{c}$$

Dados cristalográficos utilizados para obter ξ , η e ς :

ÁTOMOS	x/a	y/b	z/c
N(2)	0,0811	0,3606	0,1062
O(1)	0,0257	0,0156	0,2478
N(1)	0,1707	0,0967	0,1159
O'(2)	-0,0984	0,2850	0,2645

Com $a = 8,284 \text{ \AA}$; $b = 9,345 \text{ \AA}$ e $c = 16,503 \text{ \AA}$.

A matriz de transformação que leva o sistema ξ , η e ς em a , b e c é dada por:

$$\bar{T} = \begin{bmatrix} 0,5941 & -0,4690 & -0,6536 \\ 0,1145 & 0,8044 & -0,5830 \\ 0,8017 & 0,2748 & 0,5307 \end{bmatrix}$$

Usando a matriz inversa de \bar{T} para escrever a , b e c em termos de ξ , η e ς pode-se expressar, por simples substituição, X , Y e Z em termos de ξ , η e ς , isto é:

$$\hat{x} = -0,9461 \hat{\xi} - 0,05566 \hat{\eta} + 0,3078 \hat{\varsigma}$$

$$\hat{y} = -0,3062 \hat{\xi} - 0,01145 \hat{\eta} - 0,9516 \hat{\varsigma}$$

$$\hat{z} = -0,1283 \hat{\xi} - 1,0010 \hat{\eta} - 0,002787 \hat{\varsigma}$$

Se \bar{g} esta escrito em relação aos eixos principais moleculares \hat{x} , \hat{y} e \hat{z} , então é possível obter os valores de α_x , α_y e α_z em termos de α_ξ , α_η e α_ζ como segue:

$$\hat{x} \cdot \bar{g} \cdot \hat{x} = \alpha_x; \quad \hat{y} \cdot \bar{g} \cdot \hat{y} = \alpha_y \quad \hat{z} \cdot \bar{g} \cdot \hat{z} = \alpha_z$$

$$\text{Com } \bar{g} = \begin{pmatrix} \alpha_\zeta & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_\xi & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_\eta \end{pmatrix}$$

$$0,8950 \alpha_\zeta + 0,003098 \alpha_\xi + 0,09476 \alpha_\eta = 2,176$$

$$0,09376 \alpha_\zeta + 0,0001311 \alpha_\xi + 0,9055 \alpha_\eta = 2,062$$

$$0,01645 \alpha_\zeta + 1,0022 \alpha_\xi + 0,000007767 \alpha_\eta = 2,095$$

Resolvendo este sistema obtém-se:

$$\alpha_\xi = 2,054; \quad \alpha_\eta = 2,048 \quad \text{e} \quad \alpha_\zeta = 2,207.$$

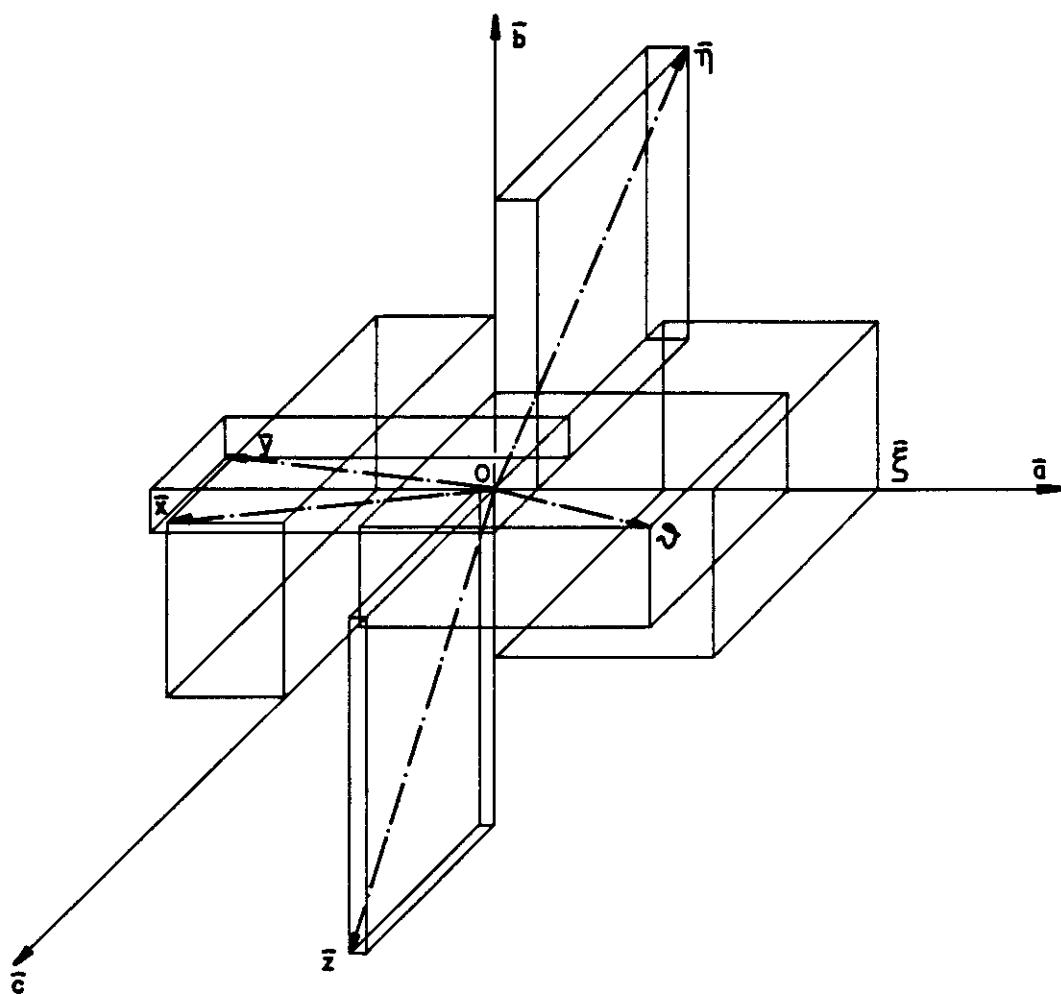


Fig. 36 - Sistemas de eixos utilizados para a determinação do tensor giromagnético \bar{g} .

a,b,c - Sistema de eixos do cristal.

X,Y,Z - Sistema do tensor \bar{g} cristalino.

e,n,s - Sistema do tensor molecular.

APÊNDICE B

Programas utilizados no ajuste dos parâmetros a_{ij} das expressões 72a, 72b e 72c, para os três planos perpendiculares entre si, aos valores de $g(\theta, \phi)$ obtidos experimentalmente.

```

2000 INPUT P,Q,R,S
2001 REM PROGRAM PARA PLOTAR DUAS CURVAS
2002 REM OS DADOS EXPERIMENTAIS DEVEM ENTRAR EM UM
COMANDO DATA EM 2500
2003 REM A VARIÁVEL A(I) CORRESPONDE AOS DADOS
EXPERIMENTAIS .
2004 REM A FUNÇÃO TEÓRICA ENTRA NUMA SUBROTINA A
PARTIR DE 3000
2005 REM A SUBROTINA DEVE ATRIBUIR A VARIÁVEL "F" A
FUNÇÃO TEÓRICA
2006 REM O NÚMERO DE PONTOS EXPERIMENTAIS DEVE SER
FORNECIDO COMO N
2007 REM DIMENÇÃO DAS VARIÁVEIS A(I) E F(I) DEVE SER
IGUAL OU MAIOR QUE N
2008 LET N = 41
2009 DIM A(41), F(41)
2010 LET D = 0
2012 FOR I = 1 TO N
2020 READ A(I)
2030 GOSUB 3000
2035 A(I) = FR/A(I)

```

```

2040 LET F(I) = F
2045 LET D = D + (A(I) - F(I))^2
2050 NEXT I
2051 REM DETERMINAÇÃO DOS MAXIMOS E MINIMOS DA CURVA

```

EXPERIMENTAL

```

2060 LET A0 = A(1)
2070 LET B = A(1)
2080 FOR I = 1 TO N
2090 IF A(I) > A0 THEN 2140
2100 IF A(I) < B THEN 2140
2110 GO TO 2150
2120 LET A0 = A(I)
2130 GO TO 2150
2140 LET B = A(I)
2150 NEXT I
2160 REM DETERMINAÇÃO DOS MAXIMOS E MINIMOS DA CURVA

```

TEÓRICA

```

2170 LET A1 = F(1)
2180 LET B1 = F(1)
2190 FOR I = 1 TO N
2200 IF F(I) > A1 THEN 2230
2210 IF F(I) < B1 THEN 2250
2220 GO TO 2260
2230 LET A1 = F(I)
2240 GO TO 2260
2250 LET B1 = F(I)

```

```

2260  NEXT I
2265  REM COMPARAÇÃO DOS MAXIMOS E MINIMOS DAS CURVAS
2270  IF A0 > = A1 THEN 2290
2280  LET A0 = A1
2290  IF B < = B1 THEN 2310
2300  LET B = B1
2305      REM PLOT DAS DUAS CURVAS NORMALIZANDO O
INTERVALO PARA 70
2310  FOR L = 1 TO N
2320  LET A2 = INT (39 * (A(L) - B)/(A0 - B))
2330  LET F2 = INT (39 * (F(L) - B)/(A0 - B))
2340  IF A2 > = F2 THEN 2370
2350  PRINT TAB( A2 + 1) "*";TAB( F2 + 1) "+"
2360  GO TO 2410
2370  IF A2 = F2 THEN 2400
2380  PRINT TAB( F2 + 1) "+" ;TAB(A2 +1) "*"
2390  GO TO 2410
2400  PRINT TAB( A2 + 1) "X"
2410  NEXT L
2412  PRINT
2415  PRINT "DESVIO="; SQR (D/N)
2416  PRINT
2420  PRINT "MINIMO DE AMBAS AS CURVAS=" ;B
2430  PRINT "MAXIMO DE AMBAS AS CURVAS=" ;A0
2440  PRINT "ESCALA VERTICAL=" ;A0 - B
2450  PRINT P, Q, R, S

```

2499 STOP

2500 DATA

PLANO AC:

5.2,5.7,6.05,6.5,7.0,7.4,7.7,8.2,8.6,8.8,9.2,9.25,9.3,9.27,9.28,
9.0,8.85,8.45,8.05,7.8,7.25,6.85,6.28,5.98,5.4,5.15,4.7,4.4,4.2,
4.05,4.0,3.9,4.1,4.15,4.35,4.85,5.2,5.8,6.1,6.7,7.05.

PLANO AB:

16.88,16.32,15.65,14.92,14.10,13.00,12.40,11.55,10.75,9.90,9.25,
8.45,8.10,7.8,7.55,7.50,7.70,7.85,8.30,8.80,9.40,10.10,10.90,11.
75,12.60,13.50,14.30,15.05,16.00,16.55,17.05,17.45,17.65,17.70,1
7.55,17.25,16.90,16.50,15.70,14.90,14.15.

PLANO BC:

5.3,5.28,5.5,6.1,6.45,7.50,8.25,9.45,10.35,11.5,12.25,13.30,14.3
8,15.15,15.55,16.30,16.90,17.05,17.20,17.00,16.90,16.35,15.75,15
.10,14.20,13.45,12.45,11.48,10.21,9.35,8.31,7.48,6.68,6.10,5.50,
5.10,5.00,5.25,5.50,6.10,6.45.

3000 LET HO = 3365.

3005 FQ = 9568.

3006 FR = FQ * 0.7144487

3007 LET A(I) = HO - 12.5 * A(I)

3009 LET PI = 3.141592 / 180.

3010 T = (-5. + 5. * I + S)

3011 TE = PI * T

3015 CT = COS (TE)

3020 ST = SIN (TE)

3025 CC = CT * CT

```
3030      SS = ST * ST
3035      SC = ST * CT
3040      GG = (P * CC + Q * SS + Z. * R * SC)
3070      LET G = SQR (GG)
3080      LET F = G
3999      RETURN
4000      END
```

RESULTADOS:

PLANO AC:

4.29169,4.38668,0.073189,0.

DESVIO=6.194679E-04

MINIMO DE AMBAS AS CURVAS=2.0613178

MAXIMO DE AMBAS AS CURVAS=2.10414626

ESCALA VERTICAL=0.0428284574

4.29169 4.38668 0.073189 0.

PLANO BC:

4.2896,4.7068,0.,0.

DESVIO=8.3992584E-04

MINIMO DE AMBAS AS CURVAS=2.06990012

MAXIMO DE AMBAS AS CURVAS=2.17010958

ESCALA VERTICAL=0.10020945

4.2896 4.7068 0. 0.

PLANO AB:

4.39, 4.6955, 0.094, 0.

DESVIO=9.75778856E-04

MINIMO DE AMBAS AS CURVAS=2.08889077

MAXIMO DE AMBAS AS CURVAS=2.17442391

ESCALA VERTICAL=0.085533143

4.39 4.6955 0.094 0.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABRAGAM, A. ; BLEANEY, B. **Electron paramagnetic resonance of ions.**
Clarendon Press, oxford, 1970.
- BALLHAUSEN. **Introduction to ligand-field theory.** Mc Graw-hill,
New york, 1962.
- BATES, C. A. ; MOORE, W.S. ; STANLEY, K. J. ; STEVENS, K.W.H. : **Paramagnetic resonance of a Cu⁺² ion in a tetrahedral crystal field.** Proc. Phys. Soc. 79, 73-83, (1962).
- BERLINER, L.J. ; REUBEN, J. **Biological magnetic resonance.**
Plenum press, New york, 1978.
- BRILL, A. S. **Transition metals in biochemistry.** Springer Verlag,
New york, 1977.
- BRILL, A. S. ; BRYCE, G.F. **Cupric ion in blue proteins.** J. Chem.
Phys., 48 , 10, 1968.
- BRIVING, C. ; DEINUM, J. : **Febs letters**, 51, 43, 1975.
- CALVO, R. ; MESA, M. A. : **American Physical Society**, 28, 1244-1248, (1983).
- CANTOR, Charles R. ; SCHIMEL, Paul R. **Biophysical chemistry**
part II: techniques for the study of Biological structure
and function. W. H. Freeman and Company, 1980.
- **Biophysical chemistry part I : the conformation of**
biological macromolecules. W. F. Freeman and Company, 1980.
- COHEN-TANNOUDJI, C. ; DIU, B.; LALOE, F. : **Quantum Mechanics.**
Vol I e II. Hermann and John Wiley & Sons, Paris, France.
- FINAZZI-AGRO, A. et all. **J.Biochem.**, 34, 20, (1973).

- GRAY, H. B. ; Mc MILLIN, D. R. ; ROSENBERG, R. C. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., **71**, 4760, (1974).
- HATHAWAY, B. J.; BILLING, D. E. Coord. chem. rev. **5**, 143-207, 1970.
- JEZOWSKA-TRZEBIATOWSKA, B. ; KOZLOWSKI, H. : Chem. Phys. Letters, **42**, 246, 1976; Erratum, **46**, 398, (1977).
- KATOH, S. ; TAKAMIYA, A. : Biochemistry, **55**, 378, (1964).
- KOZLOWSKI, H. ; JEZOWSKA-TREZE-BITOWSKA, B. : J. Mol. Structure, **45**, 159, (1978).
- KOZLOWSKI, H. : Chem. Phys. Letters, **46**, 519, (1977).
- KRONECK, P. : J. Am. Chem. Soc., **97**, 3839, (1975).
- LEVINE, IRA N. Quantum Chemistry. Allyn and Bacon, Inc. 1974.
- MARKLEY, J.L. ; ULRICH, E. L. ; BERG, S. P. ; KROGMANN, D. W. : Biochemistry, **14**, 1244, (1975).
- MIKOWSKI, V. ; TANG, S.P.W. ; SPIRO, T. G. ; SHAPIRO, E. ; MOSS, T. H. : Biochemistry, **14**, 1244, (1975).
- MIYOSHI, K. ; YOSHIZU, K. ; SUGIURA,Y. : Chem. Letters, **7**, 669, (1976).
- MORPURGO, L. ; FINAZZI-AGRO, A. ; ROTILIO, G. ; MONDAVI, B. : Biochim. Biophys. Acta, **271**, 292, (1972).
- NASCIMENTO, O. R. Complexos do dipeptídeo Glicil-Triptofano com o íon cobre (II). Caracterização por medidas de absorção eletrônica no visível e por RPE. Tese de livre Docência. IFQSC-USP.
- NASCIMENTO, O. R. ; TABAK, M. Jurnal of Inorganic Biochemistry, **23**, 13-27, (1985).

- ORGEI, L. E. *Introdução a química dos Metais de transição*. Ed. Edgard Blucher Ltda. 1970.
- PAKE, G. E. ; ESTLE, T. L. *The Physical Principles of Electron Paramagnetic Resonance*. 2 nd. ed. , W. A. Benjamin, Inc.
- ← - RATTLE, H. W. E. ; MARSH, D. ; KNOWLES, P. F. *Magnetic Resonance of Biomolecules*. John Wiley & Sons, 1976.
- RAYNOR, J.B. *Reprinter from Chemistry in Britain Electron Spin Resonance in Transition-Metal Chemistry*. 10, 7, 1974.
- SILMAN, O. ; YOUNG, N.M. ; CAREY, P. R. : *J. Am. Chem. Soc.* , **98**, 744,(1976).
- SLICHTER, C.P. : *Principles of Magnetic Resonance* Springer. Springer-Verlag Berlin -Heidelberg, New York. 1980.
- SOLOMON, E. I. , NEUBACHER, H. ; LOHmann, W. : *Biophys. Struct. Mech.*, **3**, 317, (1977).
- SUNDBERG, R.J. ; MARTIN, R. B. *Chem. Rev.* , **74**, 471, (1974).
- SUGIURA, Y. ; TANAKA, H. : *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 368, (1970).
- _____ : *Mol. Pharm.*, **8**, 249, (1972).
- SUGIURA, Y. ; HIROYAMA, Y. : *Inorg. Chem.*, **15**, 679, (1976) ; *J. Am. Chem. Soc.* , **99**, 1581, (1976).
- SUGIURA, Y. ; HIROYAMA, Y. ; TANAKA, H. ; YOSHIZU, K. : *J. Am. Chem. Soc.* , **97**, 5577, (1975).
- VANGARD, T. : *Magnetic Resonance in Biological Systems*, EHRENBURG, A. ; MALMSTROM, B.G. ; VANGARD, T. (eds) Oxford, London : Pergamon (1967)
- _____ : *Copper Proteins*. In: *Biological Applications of Electron Spin Resonance*, chap. 9. SWARTZ, H. M. ; BALTON, J. R. ; BORG, D. C. (eds), N. Y. , London: Wiley-Interscience(1972).

-WITWICKI, J. ; ZAKYEWSKI, K. : Eur. J. Biochem. , 10, 284, (1969).