



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Estudo teórico de complexos binucleares de manganês(II) com o
ligante 2-hidroxibenzilglicina, possíveis miméticos para catecol
oxidase

Everton Tomaz da Silva

Rio de Janeiro
2013

Estudo teórico de complexos binucleares de manganês(II) com o
ligante 2-hidroxibenzilglicina, possíveis miméticos para catecol
oxidase

Everton Tomaz da Silva

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Química da
Universidade Federal do Rio de Janeiro, como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Ciências.

Orientador: Sérgio de Paula Machado

Rio de Janeiro
2013

S586

Silva, Everton Tomaz da.

Estudo teórico de complexos binucleares de manganês(II) com o ligante 2-hidroxibenzilglicina, possíveis miméticos para catecol oxidase. / Everton Tomaz da Silva – Rio de Janeiro : UFRJ, 2013.

62 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, 2013.

Orientador: Sérgio de Paula Machado.

1. Química inorgânica. 2. Bioinorgânica. 3. Catecol oxidase. 4. Complexos de manganês. 5. DFT. 6. Química computacional. I. Machado, Sérgio de Paula (orient.). III. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação Química. IV. Título.

CDD 546

Everton Tomaz da Silva

Estudo teórico de complexos binucleares de manganês(II) com o
ligante 2-hidroxibenzilglicina, possíveis miméticos para catecol
oxidase

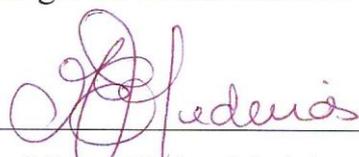
Dissertação submetida ao corpo docente do Instituto de Química da
Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Ciências.

Rio de Janeiro, 04 de novembro de 2013.

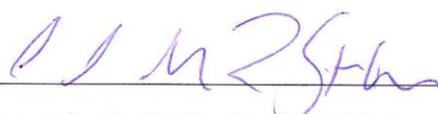
Aprovada por:



Prof.º Dr. Sérgio de Paula Machado – IQ-UFRJ



Prof.ª Dra. Marta Eloisa Medeiros – IQ-UFRJ



Prof.º Dr. Carlos Maurício Rabello de Sant'Anna – DQ-UFRRJ

Rio de Janeiro
2013

Dedico este trabalho com amor aos meus pais, Claudete e Geneval,
irmãos Gedson e Rayssa e minha namorada Stephania.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, saúde e ânimo para concluir este trabalho.

Aos meus pais, irmãos e namorada pela compreensão e motivação a mim concedida. Amo muito vocês.

Ao Prof^o Dr. Sérgio de Paula Machado por seu companheirismo desde o início do trabalho, o que lhe faz tão querido não só por mim, mas também pelos outros alunos da instituição. Além disso, seu conhecimento e experiência contribuíram relevantemente para o meu crescimento pessoal e profissional. A você o meu muito obrigado!

A Prof^a Dra. Annelise Casellato pela experiência e dado experimental compartilhado.

Aos Prof^o Dr. Carlos Maurício Rabello de Sant'anna e a Dra. Marta Eloisa Medeiros pela participação na banca de defesa dessa dissertação.

Aos amigos nestes dois anos de mestrado Thaís, Alana, Cristiano, Adriana, Nívea, Rômulo e outros, obrigado pela amizade.

Aos colegas de laboratório Júlio, Guilherme, Willian e Marcelo, obrigado pela ajuda com o programa e idéias trocadas.

Aos professores Faria, Pierre, Marciela, Henrique, Mônica e Rodrigo que contribuíram para minha formação através das disciplinas ministradas.

Aos professores Marchiori e Omar pela ajuda e amizade.

Ao Ary e Marcílio pela ajuda na secretaria.

Ao CNPQ e a FAPERJ pelo apoio financeiro.

Mais uma vez, obrigado a todos!!!

RESUMO

SILVA, Everton Tomaz da. Estudo teórico de complexos binucleares de manganês(II) com o ligante 2-hidroxibenzilglicina, possíveis miméticos para catecol oxidase. Rio de Janeiro, 2013. Dissertação (Mestrado em química) – Programa de Pós-graduação em química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

A Química Bioinorgânica estuda o papel dos metais nos sistemas vivos. Nesta área se destaca o estudo das metaloenzimas. A catecol oxidase é uma metaloenzima que catalisa a oxidação do substrato catecol à correspondente quinona. O interesse de mimetizar esta metaloenzima está na possibilidade de utilizar complexos como biossensores para quantificação de catecóis neurotransmissores como, por exemplo, a dopamina. Neste trabalho usou-se a Teoria do Funcional de Densidade para estudar complexos binucleares de Mn^{2+} com o ligante 2-hidroxibenzilglicina substituído com os grupos $-OCH_3$, $-Br$, $-Cl$ e $-NO_2$. Foi utilizado o funcional híbrido B3LYP com o conjunto de bases LanL2DZ para obtenção das estruturas otimizadas dos ligantes, substrato e dos complexos. Foram analisados as energias, os percentuais dos coeficientes de participação e representações dos orbitais de fronteira, a dureza absoluta e os valores das cargas de Mulliken a fim de compreender e propor os parâmetros estruturais e eletrônicos que influem na reatividade. Tais informações possibilitaram a previsão da estabilidade dos complexos formados, a interação dos complexos com o substrato e a correlação dos percentuais de participação com a possível atividade catalítica desempenhada por cada complexo substituído. Os resultados apontam para a seletividade de um dos complexos com a estrutura do isômero 2 (Figura) e multiplicidade 11-eto como sendo o mais estável. Dentre os complexos substituídos, os com os substituintes $-NO_2$, $-H$ e $-Br$ apresentaram a maior propensão a desempenhar a atividade catalítica da catecol oxidase.

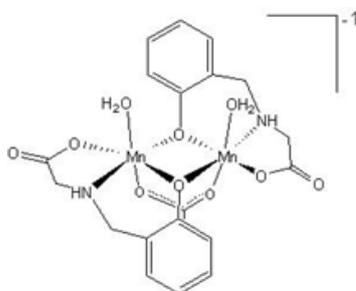


Figura: estrutura do isômero 2

Palavras-chave: Bioinorgânica, Catecol Oxidase, Complexos de Manganês, DFT, Química computacional.

ABSTRACT

SILVA, Everton Tomaz da. Estudo teórico de complexos binucleares de manganês(II) com o ligante 2-hidroxibenzilglicina, possíveis miméticos para catecol oxidase. Rio de Janeiro, 2013. Dissertação (Mestrado em química) – Programa de Pós-graduação em química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

The Bioinorganic Chemistry studies the role of metals in living systems. In this area highlights the study of metalloenzymes. The catechol oxidase is a metalloenzyme that catalyzes the oxidation of substrate catechol to the quinone corresponding. Interest to mimic this metalloenzyme is in the possibility to use complex as biosensors for the measurement of neurotransmitters catechols as, for instance, dopamine. This work used the Density Functional Theory for study of the binuclear complex of Mn^{2+} with ligand 2-hydroxybenzylglycine substituted with $-OCH_3$, $-Br$, $-Cl$ e $-NO_2$ groups. In this work was used the hybrid functional B3LYP with LanL2DZ basis set for obtainment of optimized structures of ligands, substrate and complex. Were analysed the energies, percentage of the coefficients of participation and representations of the frontier orbitals, absolute hardness and Mulliken charges in order that to comprehend and to propound structural and electronics parameters that influence in reactivity. These informations showed that the complex formed, interaction of the complex with substrate and the correlation of percentage of participation with possible catalitic activity performed for each substituted complex. Results showed that the selectivity of a complex with structure of isomer 2 (Figure) and multiplicity 11-ete as being the more stable. Among the substituted complex, the with groups $-NO_2$, $-H$ e $-Br$ presented major propension for to perform catalitic activity of catechol oxidase.

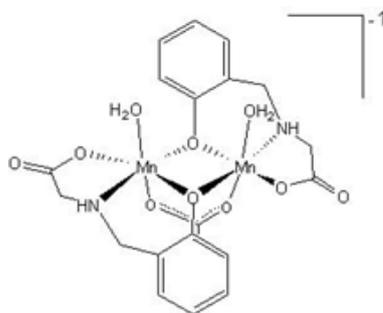


Figure: structure of isômer 2

Keywords: Bioinorganic, Catechol Oxidase, Complex of manganese, DFT, Computacional Chemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Interdisciplinaridade da Química Bioinorgânica	1
Figura 2: Reação promovida pela catecol oxidase	5
Figura 3: Sobreposição das estruturas da ibCO e Hc	5
Figura 4: Ação da catecol oxidase na casca da banana formando a melanina.....	6
Figura 5: Estrutura da forma <i>met</i> da catecol oxidase.....	6
Figura 6: Ponte do tipo $\mu-\eta^2:\eta^2$ para o peróxido na forma <i>oxi</i> da catecol oxidase	7
Figura 7: Forma <i>met</i> da CO e com o inibidor feniltiouréia	8
Figura 8: Mecanismo proposto por Eicken e colaboradores	8
Figura 9: Estrutura usada como ponto de partida na proposta mecanística de Guell e Siegbahn.....	10
Figura 10: Mecanismo proposto por Guell e Siegbahn em 2007	10
Figura 11: Biossíntese das catecolaminas hormonais a partir da tirosina	11
Figura 12: Miméticos da CO sintetizados por Torelli e colaboradores.....	13
Figura 13: Síntese dos complexos do artigo de Peralta	13
Figura 14: HOMO, LUMO e dureza dos haletos	16
Figura 15: Representação estrutural dos ligantes 2-hidroxibenzilglicina com os substituintes.....	30
Figura 16: Representação estrutural dos ligantes	31
Figura 17: Comparação entre os espectros teórico e experimental	32
Figura 18: Diagramas de contorno dos HOMOs dos ligantes	35
Figura 19: Diagramas de contorno dos LUMOs dos ligantes	36
Figura 20: Estrutura otimizada para o catecol	37
Figura 21: HOMO do catecol	38
Figura 22: LUMO do catecol.....	38

Figura 23: Diagrama simplificado da distribuição dos elétrons nos orbitais <i>d</i> dos íons Mn ²⁺	39
Figura 24: Representações estruturais do dois complexos isômeros estudados	40
Figura 25: Estruturas dos complexos singlete e tripleto do isômero 1.....	41
Figura 26: Estruturas do complexo 11-eto do isômero 1.....	41
Figura 27: Estruturas dos complexos singlete e 11-eto do isômero 2.....	43
Figura 28: Estruturas dos isômeros 1 e 2.....	44
Figura 29: Representação estrutural numerada do complexo com os substituintes	45
Figura 30: Representação estrutural dos complexos substituídos	48
Figura 31: SOMOs dos complexos substituídos.....	50
Figura 32: LUMOs dos complexos substituídos	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentração dos íons metálicos nos organismos	2
Tabela 2: Funções biológicas desempenhadas pelos metais.....	2
Tabela 3: Doenças e sintomas causados pela deficiência de metais	3
Tabela 4: Classificação das metaloenzimas pela IUBMB	4
Tabela 5: Classificação de alguns ácidos de Lewis	15
Tabela 6: Classificação de algumas bases de Lewis.....	15
Tabela 7: Principais comprimentos de ligação calculados dos ligantes	31
Tabela 8: Comparação das principais bandas dos espectros de infravermelho calculado e da literatura	33
Tabela 9: Energias dos HOMOs e LUMOs e dureza absoluta para os ligantes	33
Tabela 10: Cargas de Mulliken dos átomos doadores coordenantes dos ligantes	34
Tabela 11: Energia dos orbitais de fronteira e dureza absoluta do substrato	37
Tabela 12: Percentual dos coeficientes de participação dos oxigênios no HOMO do substrato.....	38
Tabela 13: Comparação das energias das estruturas otimizadas do isômero 1	42
Tabela 14: Comparação das energias das estruturas das multiplicidades do isômero 2	43
Tabela 15: Energia estrutural e relativa dos representantes mais estáveis de cada isômero	44
Tabela 16: Comprimentos de ligação do complexo mais estável com os substituintes	46
Tabela 17: Principais ângulos de ligação dos complexos	47

Tabela 18: Energia do SOMO e LUMO, e dureza absoluta para os complexos e substrato	49
Tabela 19: Valores das cargas de Mulliken para os íons metálicos nos complexos	49
Tabela 20: Percentual dos coeficientes de participação no LUMO dos oxigênios em ponte	52
Tabela 21: Percentual dos coeficientes de participação no LUMO dos íons Mn ²⁺	53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

3,5-DTBC: 3,5-di-terc-butilcatecol

3,5-DTBQ: 3,5-di-terc-butilquinona

CO: Catecol oxidase

DFT: Teoria do Funcional de Densidade (do inglês)

EPR: Ressonância Paramagnética Eletrônica (do inglês)

EXAFS: Extended X-Ray Absorption Fine Structure

GGA: Generalized-Gradient Approximation

HBG: Ácido [(2-hidroxibenzil)amino]acético

HBG-Br: Ácido [(5-bromo-2-hidroxibenzil)amino]acético

HBG-Cl: Ácido [(5-Cloro-2-hidroxibenzil)amino]acético

HBG-NO₂: Ácido [(2-hidroxi-5-nitrobenzil)amino]acético

HBG-OCH₃: Ácido [(2-hidróxi-5-metoxibenzil)amino] acético

Hc: Hemocianina

HFR: Hartree-Fock-Roothaan

HK: Hohenberg-Kohn

HOMO: Orbital ocupado de energia mais alta (do inglês)

ibCO: Catecol oxidase da batata-doce *Ipomoea Batatas*

IUBMB: International Union of Biochemistry and Molecular Biology

KS: Kohn-Sham

LDA: Local Density Approximation

LUMO: Orbital não ocupado de menor energia (do inglês)

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

SOMO: Orbital molecular unicamente ocupado (do inglês)

Tir: Tirosinase

TD-DFT: Teoria do Funcional de Densidade Dependente do Tempo (do inglês)

XC: Funcional de troca e correlação (do inglês)

SUMÁRIO

1 <u>INTRODUÇÃO</u>	1
1.1 Bioinorgânica	1
1.1.1 A importância biológica dos metais	1
1.1.2 Metaloenzimas	3
1.2 Catecol Oxidase	4
1.2.1 Mecanismo de reação	8
1.2.2 Aplicação	11
1.2.3 Miméticos para Catecol Oxidase	12
1.3 Ácidos e bases de Pearson	14
1.3.1 Aplicações da teoria HSAB de Pearson	17
1.4 Modelagem molecular	17
1.5 Teoria do Funcional de Densidade (DFT)	18
1.5.1 Teoremas de Hohenberg-Kohn (HK)	19
1.5.2 Equações de Kohn-Sham	21
1.5.3 Conceitos importantes para reatividade química	22
1.5.3.1 Potencial químico e a eletronegatividade	23
1.5.3.2 Dureza (η) e maciez (σ) absoluta	23
1.5.3.3 Índices de reatividade de Fukui	23
1.5.4 Funcionais de troca e correlação	24
1.5.5 Aplicações da DFT	25
2 <u>OBJETIVOS</u>	27
2.1 Objetivo Geral	27
2.2 Objetivos Específicos	27
3 <u>METODOLOGIA</u>	29
4 <u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	30
4.1 Estudos dos ligantes	30
4.1.1 Comprimentos de ligação	31
4.1.2 Espectro de infravermelho	32
4.1.3 Energia dos orbitais de fronteira e dureza absoluta (η)	33

4.1.4	Análise das cargas de Mulliken	34
4.1.5	Representação gráfica dos orbitais de fronteira	34
4.2	Estudo do substrato catecol	37
4.3	Estudo dos íons complexos	39
4.3.1	Seleção do complexo mais estável	40
4.3.1.1	Avaliação da estabilidade das multiplicidades propostas do isômero 1	40
4.3.1.2	Avaliação da estabilidade das multiplicidades propostas do isômero 2	42
4.3.1.3	Comparação da estabilidade dos isômeros 1 e 2	44
4.3.2	Comprimentos e ângulos de ligação do complexo mais estável com os substituintes	45
4.3.3	Energia dos orbitais de fronteira e dureza absoluta (η)	47
4.3.4	Análise das cargas de Mulliken	49
4.3.5	Representação gráfica dos orbitais de fronteira	49
4.3.6	Coefficientes de participação dos oxigênios em ponte e dos íons metálicos no LUMO	52
5	<u>CONCLUSÕES</u>	55
	<u>REFERÊNCIAS</u>	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 Bioinorgânica

Geralmente atribui-se a elementos como carbono, oxigênio e hidrogênio o título de elementos “orgânicos” devido à presença destes, em grande quantidade, nos organismos vivos. Entretanto, os metais também possuem papel fundamental na manutenção da vida, apesar de estarem em menor quantidade que os elementos já citados. Devido a essa importância vital, os metais dão origem a um ramo da química inorgânica chamado de bioinorgânica. (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007; LIPPARD; BERG, 1994)

A Química bioinorgânica é uma área que ganhou grande atenção nos últimos tempos por parte dos químicos inorgânicos. Seu caráter interdisciplinar exige conhecimentos das mais diversas áreas como: a química inorgânica, química orgânica, bioquímica, biologia, farmácia, medicina e outras (Figura 1). Ela tem como objetivo o estudo das funções desempenhadas pelos metais nos sistemas vivos quer sejam de origem endógenos ou exógenos, no caso de agentes diagnósticos ou terapêuticos. (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007)

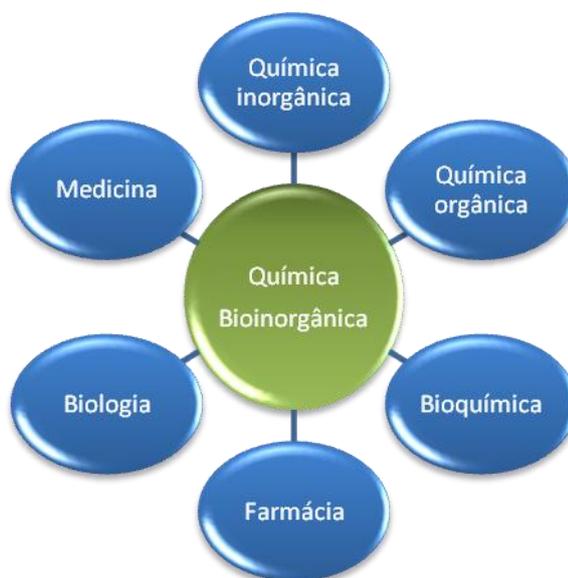


Figura 1: Interdisciplinaridade da Química Bioinorgânica.

1.1.1 Importância biológica dos metais

Os metais encontram-se em quantidades pequenas nos seres vivos, no entanto, são de suma importância ao bom funcionamento dos organismos (Tabela 1).

Tabela 1: Concentração dos íons metálicos nos organismos. Adaptado de SHRIVER et al., 2008.

Concentração de Metais em mol/dm³		
Metal	Plasma sanguíneo	Citoplasma
Na	10^{-1}	$< 10^{-2}$
K	4×10^{-3}	$\leq 3 \times 10^{-1}$
Mg	10^{-3}	$\approx 10^{-3}$
Ca	10^{-3}	$\approx 10^{-7}$
Fe	10^{-16}	$< 10^{-7}$
Zn	10^{-9}	$< 10^{-11}$
Cu	10^{-12}	$< 10^{-15}$
Mn	-	$\approx 10^{-6}$
Co	-	$< 10^{-9}$
Ni	-	$< 10^{-10}$
Mo	-	$< 10^{-7}$

A Tabela 2 lista os íons metálicos com suas respectivas funções biológicas desempenhadas:

Tabela 2: Funções biológicas desempenhadas pelos metais. (LIPPARD; BERG, 1994)

Metal	Função
Na	Balanço osmótico; transportador de carga
K	Balanço osmótico; transportador de carga
Mg	Estrutura; hidrolase; isomerase
Ca	Estrutura; transportador de carga
V	Fixação de nitrogênio; oxidase
Cr	Possivelmente na tolerância a glicose
Mo	Fixação de nitrogênio; oxidase; transferência de grupo oxo
W	Dehidrogenase
Mn	Fotossíntese; oxidase; estrutura
Fe	Oxidase; transporte e armazenamento de oxigênio; transferência de elétrons; fixação de nitrogênio
Co	Oxidase; transferência de grupos alquila
Ni	Hidrogenase; hidrolase
Cu	Oxidase; transporte de oxigênio; transferência de elétrons
Zn	Estrutura; hidrolase;

A deficiência de alguns íons metálicos acarreta em doenças que podem levar, inclusive, a morte. Daí a necessidade de uma alimentação rica em alimentos que forneçam a quantidade requerida destes íons. É comum, inclusive, a administração de suplementos minerais para alcançar o valor ideal.

A Tabela 3 destaca os metais com as respectivas doenças e sintomas causados pela sua carência:

Tabela 3: Doenças e sintomas causados pela deficiência de metais. (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007; LIPPARD; BERG, 1994)

Metal	Doença e sintomas
Cálcio	Osteoporose e retardo no crescimento ósseo
Cobalto	Anemia perniciosa
Cobre	Desordem de Menkes: desordens sanguíneas
Cromo	Intolerância a glicose e risco de doenças cardiovasculares
Estanho	Retardo do crescimento
Ferro	Anemia
Magnésio	Disfunções neuromusculares, cirrose hepática, deficiências diuréticas e defeitos de absorção de nutrientes
Manganês	Retardo do crescimento
Molibdênio	Carcinogênese nos seios; câncer no esôfago
Níquel	Retardo do crescimento ósseo e anormalidades dos hepatócitos
Potássio	Bulimia; anorexia nervosa; acidez renal
Sódio	Hiponatremia; síndrome da secreção inapropriada de hormônio antidiurético
Zinco	Retardo no crescimento, atrofia testicular, lesões na pele e perda de apetite.

1.1.2 Metaloenzimas

Nos sistemas biológicos os metais encontram-se na forma de íons coordenados por cadeias proteicas formando as metaloproteínas. Se essa metaloproteína catalisa alguma reação é chamada de metaloenzima. (LIPPARD; BERG, 1994)

As metaloenzimas são classificadas pela International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) de acordo com a função biológica que desempenham. De uma forma geral, as enzimas são classificadas em seis classes: óxido-redutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases (Tabela 4). (DEVLIN, 1997)

Tabela 4: Classificação das metaloenzimas pela IUBMB.

Classe	Nome	Função	Exemplo
1	Óxido-reduções	Catalisar reações de óxido-redução	Catecol oxidase, citocromo oxidase, tirosinase, catalase
2	Transferases	Transferir grupos funcionais entre moléculas	Alanina aminotransferase, quinase
3	Hidrolases	Catalisar a reação de hidrólise com a clivagem de ligação C-O, C-N, O-P ou C-S	Fosfatase ácida púrpura, peptidases, urease
4	Liasas	Adicionar ou remover água, amônia ou dióxido de carbono	Fumarase, Glutamato descarboxilase, Anidrase carbônica
5	Isomerasas	Catalisar a interconversão entre isômeros	Fosfoglicomutase
6	Ligases	Catalisar a ligação entre duas moléculas	DNA ligase

A metaloenzima alvo deste trabalho é a catecol oxidase. Diversos trabalhos têm sido realizados com o objetivo de estudá-la devido a sua capacidade de oxidar catecóis. Isso dá a possibilidade de usá-la como biossensor para quantificação de catecóis neurotransmissores importantes.

1.2 Catecol oxidase

As metaloproteínas binucleares de cobre desempenham funções vitais aos organismos. São elas a hemocianina (Hc), a tirosinase (Tir) e a catecol oxidase (CO). Essas três possuem características estruturais muito semelhantes, embora possuam funções diferentes. A Hc encontrada em artrópodes e moluscos desempenha o papel de transporte do oxigênio. A Tir promove a hidroxilação de monofenóis a catecóis (atividade de cresolase) e a oxidação dos catecóis as correspondentes quinonas. Já a CO realiza a oxidação do catecol à correspondente o-quinona, com a redução do oxigênio à água (Figura 2). Tal atividade é chamada de catecolase. Apesar destas definições reacionais, sabe-se que a CO, por exemplo, possui fraca atividade de cresolase e catalase. Assim também é para a Hc e Tir, as quais podem possuir fracas atividades, além das suas propriamente ditas. (GERDEMANN; EICKEN; KREBS, 2002)

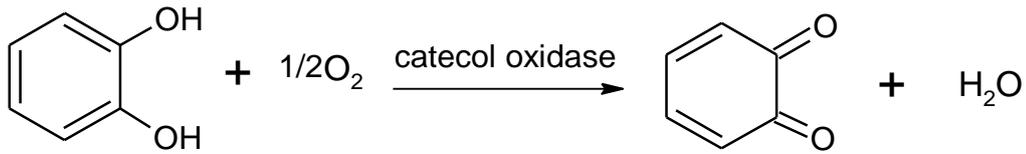


Figura 2: Reação promovida pela catecol oxidase (atividade de catecolase).

Uma comparação feita entre a catecol oxidase da batata-doce *Ipomoea Batatas* (ibCO) com a Hc de um artrópode revelou grande similaridade nas estruturas (Figura 3). No entanto a estrutura da hemocianina mostrou ter um resíduo de fenilalanina (Phe49), o qual bloqueia o acesso do substrato ao centro metálico, sendo a provável causa da inatividade desta quanto à oxidação de substratos. Além disso, a distância Cu-Cu de 2,9 Å nas CO são menores que nas outras duas metaloproteínas de cobre citadas anteriormente, justificando as diferentes funções por elas desempenhadas. (EICKEN et al., 1998; GERDEMANN; EICKEN; KREBS, 2002)

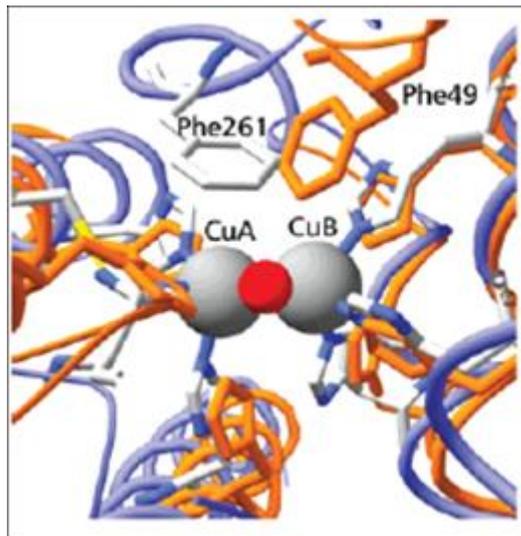


Figura 3: Sobreposição das estruturas da ibCO (azul) e Hc (laranja) GERDEMANN; EICKEN; KREBS, 2002.

A CO é encontrada principalmente em diversos frutos e vegetais, e em alguns insetos e crustáceos. Sua provável função nas plantas é a proteção contra patógenos e insetos pela formação da melanina (Figura 4), um pigmento escuro, que provém da polimerização das quinonas geradas pela reação de catecolase. (BEN-SHALON et al., 1977; EICKEN et al., 1998; GERDEMANN; EICKEN; KREBS, 2002)



Figura 4: Ação da catecol oxidase na casca de banana formando a melanina.

A estrutura cristalina da catecol oxidase da batata doce *Ipomoea batatas* (ibCO) foi estabelecida para a forma nativa, a forma *met*, de 39 kDa no estado $\text{Cu}^{2+} - \text{Cu}^{2+}$ (Figura 5). As dimensões da metaloenzima são de aproximadamente 55 x 45 x 45 Å. Cada íon de cobre está coordenado aos nitrogênios de três resíduos de histidinas. Uma ponte hidróxido foi estabelecida entre os íons cúpricos de acordo com os dados de Ressonância Paramagnética Eletrônica, os quais apresentaram um forte acoplamento antiferromagnético. Esse grupo em ponte encontra-se a 1,9 Å do CuA e 1,8 Å do CuB. Através de EXAFS foi possível atribuir para esta forma a distância $\text{Cu}^{2+} - \text{Cu}^{2+}$ de 2,9 Å.

Uma característica interessante da ibCO é a existência de uma ligação covalente entre o enxofre do resíduo de cisteína (cys 92) e o carbono da histidina (His 109) ligada ao CuA (EICKEN; KREBS; SACCHETTINI, 1999). Essa ligação tioéter possui a função de estabilizar radicais tirosil no processo catalítico de uma outra metaloenzima de cobre. No entanto, na catecol oxidase, esta não parece ter envolvimento com a transferência de elétrons, pois, está ausente na hemocianina de artrópodes e na tirosinase humana. (KOVAL et al., 2006)

A importância desta ligação deve estar relacionada ao aspecto estrutural que ela promove principalmente na geometria do sítio do CuA e no posicionamento do resíduo His109 (Figura 5). (KOVAL et al., 2006; GUELL; SIEGBAHN, 2007)

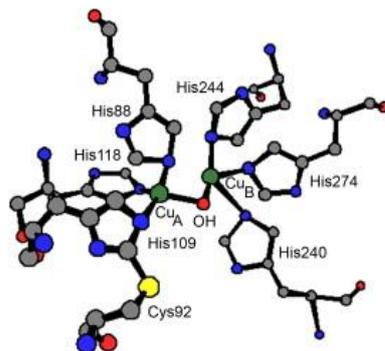


Figura 5: Estrutura da forma *met* da catecol oxidase. (BELLE, C. et al., 2007)

A forma *oxi* da enzima pode ser obtida a partir do tratamento da forma *met* com H_2O_2 . Foi observada uma banda adicional no espectro UV-VIS em 343 nm ($\epsilon = 6500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e outra em 580 nm ($\epsilon = 450 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) as quais atingiram absorvância máxima com 6 equivalentes de H_2O_2 . Essas bandas são atribuídas à transferência de carga entre o íon peróxido para os íons Cu^{2+} . A distância entre os íons metálicos nesta forma cresce para 3,8 Å. A partir da ligação do oxigênio molecular há a formação de uma ponte do tipo $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ para o peróxido que é sustentado pelos dados espectroscópicos (Figura 6). (EICKEN et al., 1998; EICKEN; KREBS; SACCHETTINI, 1999)

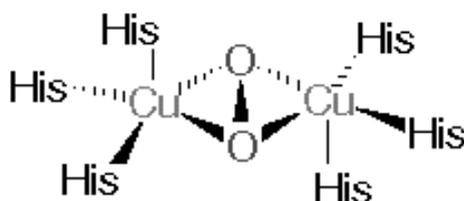


Figura 6: Ponte do tipo $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ para o peróxido na forma *oxi* da catecol oxidase.

Para a forma reduzida (*desoxi*) $\text{Cu}^+ - \text{Cu}^+$, com a ausência da ponte entre os íons, a distância para os íons cúpricos aumenta para 4,4 Å. Neste estado o CuB tem um sítio de coordenação vago e uma geometria quadrática plana enquanto o CuA mantém-se coordenado a uma molécula de água e aos três resíduos de histidinas apresentando uma geometria pirâmide trigonal distorcida. (EICKEN; KREBS; SACCHETTINI, 1999)

Ainda no trabalho de Eicken e colaboradores, foi realizado um estudo de inibição com a feniltiouréia, no qual este inibidor se ligou aos centros de cobre da forma *met*, de modo monodentado, ocupando o lugar da ponte hidroxilo (Figura 7). A distância metal-metal foi de 4,2 Å. Após a ligação do inibidor há mudanças conformacionais no complexo, como o resíduo Phe261, cuja rotação governa o acesso ao centro metálico. As interações de van der Waals dos anéis aromáticos dos resíduos Phe261, His244 e do inibidor refletem a grande afinidade deste último com a metaloenzima. (EICKEN; KREBS; SACCHETTINI, 1999; KOVAL et al., 2006)

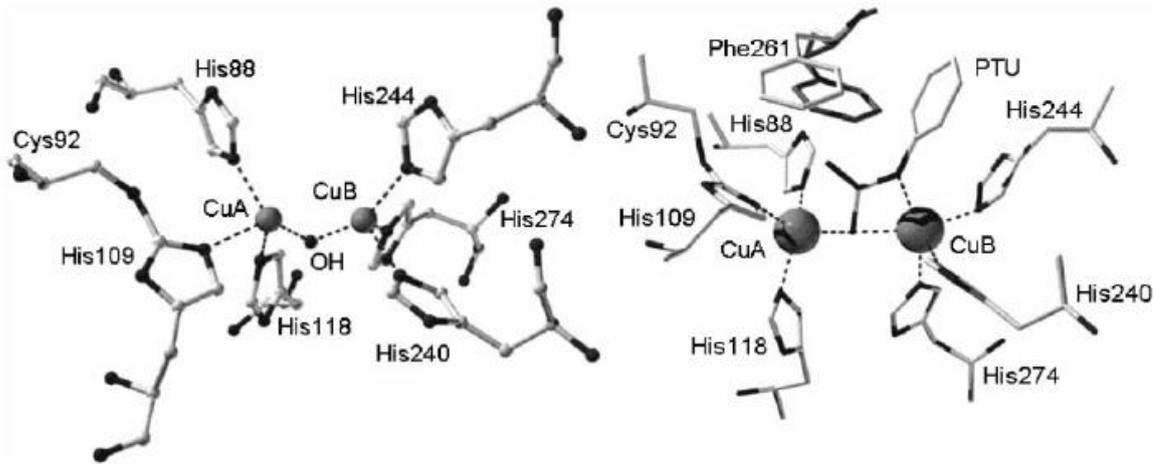


Figura 7: Forma *met* (esquerda) da CO e com o inibidor feniltiouréia (direita). (KOVAL et al., 2006)

Para entender a dinâmica ocorrida na catálise desempenhada pela catecol oxidase foram propostos diversos mecanismos para esta reação.

1.2.1 Mecanismo de reação

Com base em dados estruturais, bioquímicos e espectroscópicos, Eicken e colaboradores propuseram um mecanismo para a oxidação do catecol pela catecol oxidase (Figura 8):

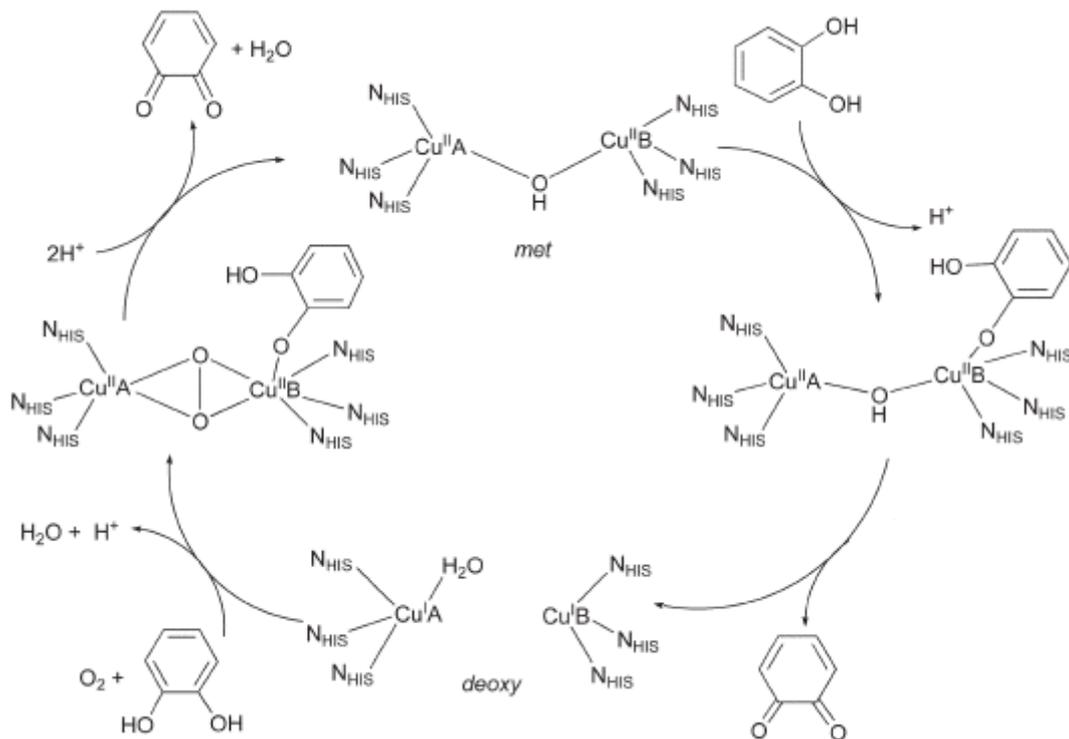


Figura 8: Mecanismo proposto por Eicken e colaboradores. (KOVAL et al.,2006)

O ciclo inicia-se com a forma *met* da enzima, uma vez que essa é a forma nativa. A forma *oxi* só foi obtida com a adição de H_2O_2 (Figura 6), por isso, foi descartada como a espécie inicial. Através do estudo de inibição com a feniltiouréia, anteriormente citado, foi proposta uma ligação monodentada do substrato ao centro de CuB. A forma *met* reage com um mol de catecol e gera um mol da quinona correspondente. O centro de $\text{Cu}^{2+} - \text{Cu}^{2+}$ sofre redução para a forma *desoxi* $\text{Cu}^+ - \text{Cu}^+$ possuindo uma molécula de solvente no CuA. Esta etapa é justificada pela formação de quantidades estequiométricas de quinona formadas na ausência de O_2 . Em seguida a forma *desoxi* se liga simultaneamente ao dioxigênio e a uma molécula de catecol. Quando o dioxigênio se liga aos íons Cu^+ é formada a ponte do tipo $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ e ocorre a oxidação dos íons cuprosos a cúpricos (forma *oxi*). No complexo CO-O_2^{2-} -catecol, dois elétrons são transferidos do substrato para o peróxido, seguido da quebra da ligação O-O, com a perda de água e a geração da quinona. Com isso, a forma *met* é restabelecida e o ciclo pode ser reiniciado. (KOVAL et al., 2006)

Um mecanismo muito parecido foi sugerido por Solomon e colaboradores para a tirosinase, outra enzima de cobre que possui atividade de catecolase. A diferença se dá no modo de ligação do substrato. Cada átomo de oxigênio do substrato se liga a um dos dois centros de Cu^{2+} formando um anel de sete membros. (SOLOMON; SUNDARAM; MACHONKIN, 1996; KOVAL et al., 2006; GUELL; SIEGBAHN, 2007)

Em 2004 Siegbahn usou a Teoria do Funcional de Densidade para propor um novo mecanismo para catecol oxidase. A partir de dados teóricos e experimentais disponíveis na literatura, ele considerou que, durante o ciclo catalítico, não deveria haver mudança na carga total do sítio ativo. Nos mecanismos propostos anteriormente a carga total varia de +3 a +1. Essa variação sugere a necessidade de bases para receber os prótons oriundos do ciclo catalítico. Porém não há evidências, na estrutura cristalina obtida com raios-X, da existência dessas bases. (KOVAL et al., 2006; GUELL; SIEGBAHN, 2007)

Com isso em mente, Siegbahn propôs um mecanismo radicalar no qual admitia a existência de um ânion radical em ponte do tipo $\mu\text{-}1,1\text{-superóxido}$. No entanto, esse mecanismo não pôde ser validado, pois, não foi encontrada evidência deste tipo de ponte no ciclo catalítico para espécies de cobre. (KOVAL et al., 2006; GUELL; SIEGBAHN, 2007)

Em 2007, Guell e Siegbahn propuseram um outro mecanismo usando também a Teoria do Funcional de Densidade. Esta proposta usou como ponto de partida a estrutura do raios-X da enzima modelada com a ponte peróxido $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ a qual é observada experimentalmente (Figura 9).

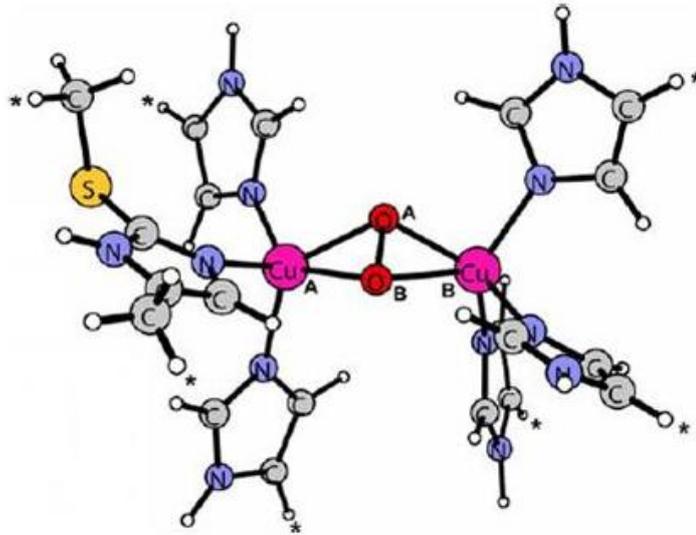


Figura 9: Estrutura usada como ponto de partida na proposta mecânica de Guell e Siegbahn. Os átomos marcados com uma estrela foram fixados de acordo com os dados de raio-X.

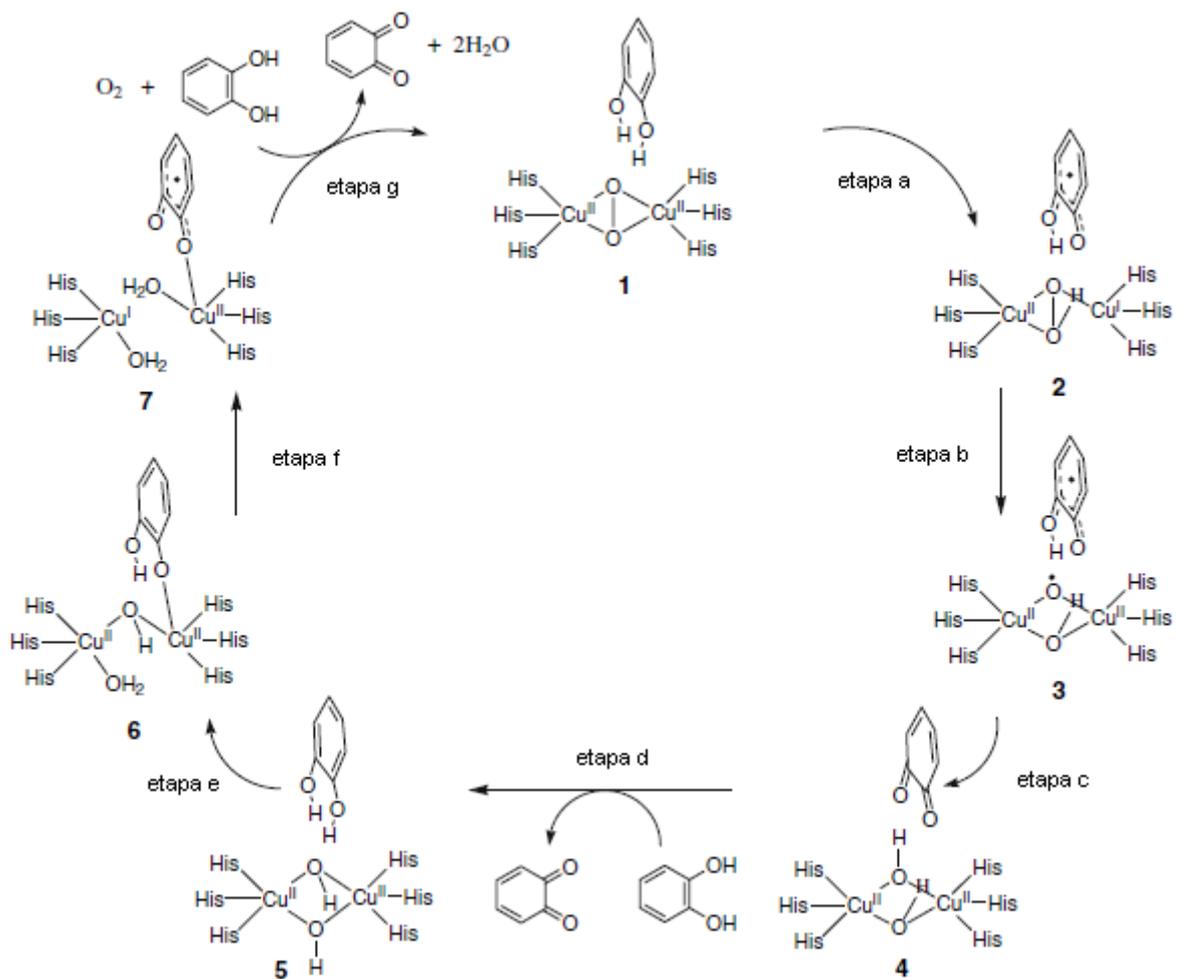


Figura 10: Mecanismo proposto por Guell e Siegbahn em 2007.

O ciclo catalítico (Figura 10) inicia com a oxidação do complexo binuclear de Cu^{2+} a Cu^+ . O peróxido abstrai um hidrogênio do substrato com subsequente quebra da ligação O–O. Há em seguida a transferência de um segundo próton gerando a primeira molécula da quinona. Com a entrada da segunda molécula de catecol há a transferência de um próton gerando uma molécula de água. Com mais um hidrogênio transferido um dos átomos de Cu é reduzido a +1 e outra molécula de água é obtida. Com mais uma molécula de oxigênio e catecol o ciclo pode ser reiniciado. (GUELL; SIEGBAHN, 2007)

1.2.2 Aplicação

Uma aplicação da catecol oxidase é o seu uso no diagnóstico médico como biossensor. Isso porque catecolaminas hormonais como a dopamina, adrenalina e noradrenalina podem ser quantificadas com a reação de produção de quinonas por ela promovida. (EICKEN; KREBS; SACCHETTINI, 1999)

A Figura 11 apresenta a biossíntese das catecolaminas neurotransmissoras a partir da tirosina:

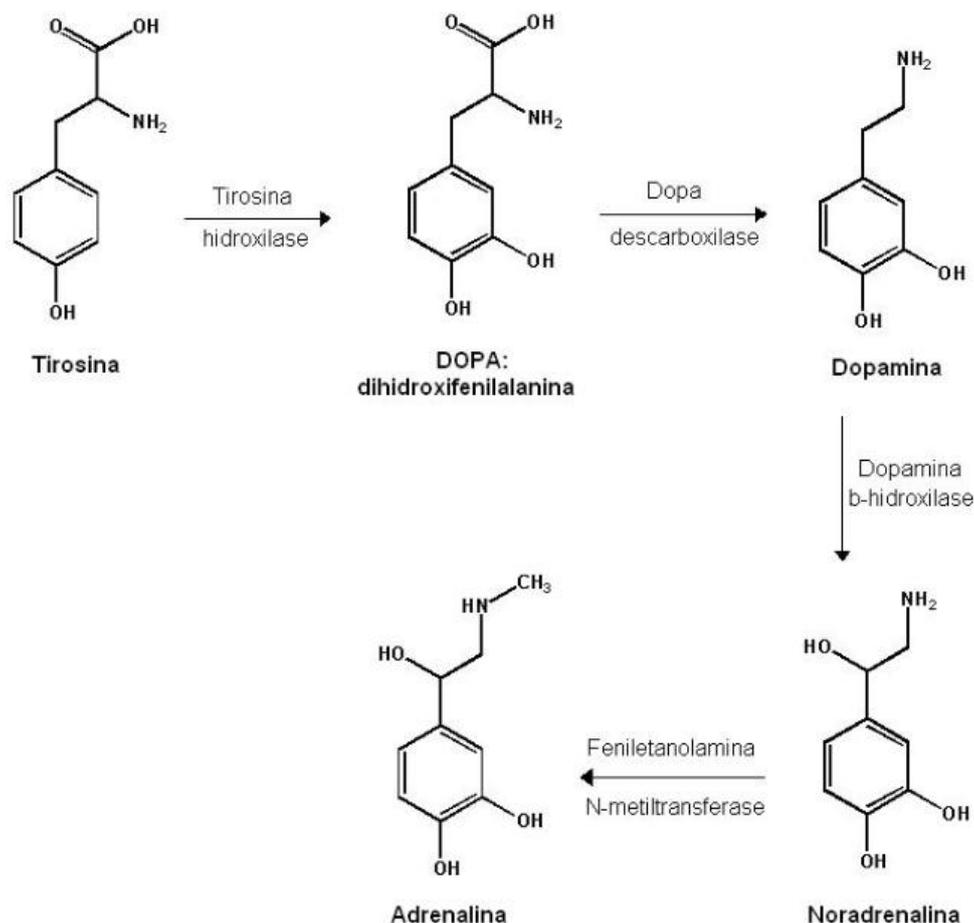


Figura 11: Biossíntese das catecolaminas hormonais a partir da tirosina.

No trabalho de Lupetti e colaboradores a enzima extraída do abacate foi usada para determinação de dopamina em formulações farmacêuticas com o auxílio da espectrofotometria. (LUPETTI; RAMOS; FATIBELLO-FILHO, 2003)

Outra possível aplicação é como agente oxidante de compostos poluentes em efluentes de despolpa do café, no caso, catecóis. (GONÇALVES et al., 2008)

Os catecóis, apesar de presentes no organismo humano, são tóxicos. Esta toxicidade é atribuída às diversas reações que este pode realizar *in vivo*. No trabalho de Schweigert e colaboradores essas reações são abordadas. Dentre as quais estão: a geração de espécies radicais que são capazes de quebrar o DNA, desnaturação de proteínas e a geração de espécies reativas de oxigênio. (SCHWEIGERT; ZEHNDER ; EGGEN, 2001)

1.2.3 Miméticos para Catecol Oxidase

Tendo em vista a complexidade do estudo da metaloenzima natural, a construção de complexos miméticos faz-se necessária para investigar aspectos estruturais, espectroscópicos e catalíticos das metaloenzimas. Deste modo dois conceitos são importantes: Análogo sintético e modelo sintético.

É considerado um análogo sintético o complexo que reproduza as propriedades estruturais do sítio ativo, como o ambiente de coordenação e a geometria, e propriedades físico-químicas da metaloenzima como, por exemplo, a espectroscópica. Já o modelo sintético é capaz de reproduzir apenas algumas dessas propriedades, auxiliando, no entanto, na elucidação do sítio ativo enzimático. (COUTO, 2007)

Diversos complexos foram sintetizados no intuito de mimetizar a CO. Complexos mono e binucleares com os metais Cu, Mn, Ni e Co são alguns exemplos destes.

Num trabalho recente, Biswas e colaboradores sintetizaram e analisaram a capacidade de três complexos binucleares de Ni(II) de oxidarem o substrato 3,5-di-terc-butilcatecol (3,5-DTBC) a 3,5-di-terc-butilquinona (3,5-DTBQ). O acompanhamento da reação foi feito espectrofotometricamente pelo aumento da banda em 400 nm, a qual indica a formação da quinona. A maior atividade foi observada no complexo com um anel diamina de seis membros o qual conferiu maior flexibilidade conformacional ao complexo para a ligação com o substrato. (BISWAS et al., 2012)

A maioria dos complexos miméticos da CO são de cobre. Não é de surpreender tendo em vista que o centro metálico da metaloenzima também o é.

No trabalho de Torelli e co-autores, complexos de cobre com ligantes substituídos (R) com $-\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_3$ e $-\text{F}$, e pontes μ -hidroxo e bis-aqua foram investigados quanto à atividade de catecolase (Figura 12). (TORELLI et al., 2002)

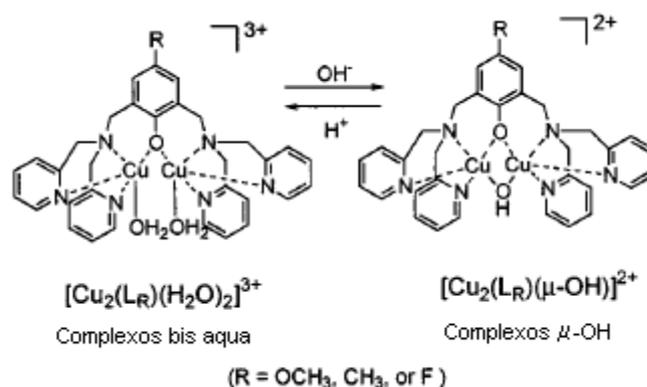


Figura 12: Miméticos da CO sintetizados por Torelli e colaboradores.

O complexo com ponte μ -hidroxo e substituinte $-\text{OCH}_3$ mostrou ser mais ativo que os demais. Os com ponte bis-aqua não apresentaram atividade.

No artigo de Peralta e colaboradores, complexos binucleares de cobre substituídos com $-\text{CH}_3$, $-\text{H}$ e $-\text{NO}_2$ foram avaliados quanto à atividade de catecolase (Figura 13).

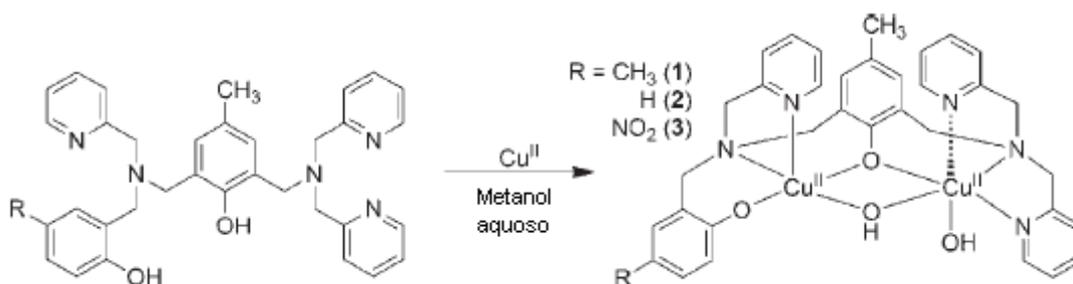


Figura 13: Síntese dos complexos do artigo de Peralta. (PERALTA et al., 2010)

Foi observado na introdução deste artigo que a diferença dos potenciais redox dos centros metálicos tem correlação linear com a atividade catalítica. A maior atividade catalítica foi observada no complexo 3 com o substituinte $-\text{NO}_2$ que é um bom retirador de densidade eletrônica. Isso indica que a natureza doadora ou retiradora dos substituintes influenciaram na atividade. (PERALTA et al., 2010)

Complexos de manganês também têm sido sintetizados como modelos para CO e têm apresentado boa atividade de catecolase. (YUTAKA et al., 2005; KAIZER et al., 2008; MAJUMDER et al., 2006; LI, et al., 2012)

A complexação dos metais Mn, Ni, Co e Cu com diclofenaco revelou que a capacidade catalítica de cada complexo formado seguiu a ordem: $Mn \gg Cu > Co > Ni$. Quanto mais facilmente redutível for o complexo melhor sua ação catalítica. (KOVALA-DEMERTZI et al., 1998)

A comparação da atividade catalítica de complexos binucleares de manganês(IV) com substituintes de diferentes naturezas eletrônicas foi usada no trabalho de Blay e co-autores. Eles concluíram que a maior atividade dos complexos se deveu a natureza doadora do grupo substituinte $-CH_3$ em contraste com os outros dois H e Cl. (BLAY et al., 2006)

Na dissertação de Couto foram sintetizados quatro complexos binucleares de manganês(II,III) com ligantes diferenciados por um substituinte com naturezas eletrônicas diferentes: di-terc-butila, $-Br$, $-CH_3$ e $-NO_2$. A maior atividade de catecolase foi conferida ao complexo sem estes substituintes tendo em vista que ele possui o maior potencial de redução dos centros metálicos ($E_{1/2}$). A distância dos centros metálicos e a diferença do potencial redox destes não influenciaram na atividade catalítica. (COUTO, 2007)

1.3 Ácidos e bases de Pearson

Em 1958, Ahrland, Chatt e Davies, avaliaram a estabilidade na formação de compostos de íons de metais de transição, ácidos de Lewis, com ligantes, bases de Lewis, e dividiram essas espécies em duas diferentes classes: “a” e “b”. Na classe “a” estavam os metais alcalinos, alcalino-terrosos, metais com elevado número de oxidação e o cátion hidrônio. Na classe “b” estavam os íons de metais mais pesados com baixos estados de oxidação. (GISPERT, 2008)

Posteriormente em 1963, Pearson introduziu os conceitos de dureza e maciez para espécies químicas, os quais explicam o comportamento das classes anteriormente mencionadas. Dessa forma os pertencentes à classe “a”, foram denominados “duros” e os da classe “b”, “macios”. (PEARSON, 1963; GISPERT, 2008; MIESSLER; TARR, 2010)

A teoria de ácidos e bases duros e macios (hard and soft acids and bases – HSAB) de Pearson tem como enunciado: “Ácidos duros preferem ligar-se a bases duras e ácidos macios preferem ligar-se a bases macias”. Esta preferência se reflete na constante de formação do

produto, a qual será grande se uma destas condições for satisfeita. Vale ressaltar que há outros fatores a considerar que podem influenciar na estabilidade dos complexos, sendo assim, a teoria de Pearson não é uma regra absoluta. (PEARSON, 1990; SHRIVER et al., 2008)

A ligação envolvida num par duro-duro será principalmente de natureza iônica, enquanto no par macio-macio será de natureza covalente. (PEARSON, 1990)

Os ácidos duros possuem, em geral, como principais características: pequeno tamanho, número de oxidação elevado e não é facilmente polarizado. Já uma base dura possui alta eletronegatividade e difícil polarização. O oposto é verdadeiro em relação à ácidos e bases macias. (PEARSON, 1990)

Dessa forma, podemos classificar íons positivos, negativos e moléculas neutras quanto a sua dureza e maciez, como nas tabelas abaixo:

Tabela 5: Classificação de alguns ácidos de Lewis.

Ácidos de Lewis		
Duros	Fronteira	Macios
H ⁺ , Li ⁺ , Na ⁺	Fe ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺	Cu ⁺ , Au ⁺ , Ag ⁺
K ⁺ , Be ²⁺ , Mg ²⁺	Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺	Pd ²⁺ , Cd ²⁺ , Pt ²⁺
Ca ²⁺ , Cr ³⁺ , Ga ³⁺	Sn ²⁺ , SO ₂ , BBr ₃	Hg ²⁺ , Tl ⁺ , BH ₃ ,
Al ³⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺		Br ₂ , I ₂
Co ³⁺ , AlCl ₃		
SO ₃ , BF ₃		

Tabela 6: Classificação de algumas bases de Lewis.

Bases de Lewis		
Duras	Fronteira	Macias
F ⁻ , H ₂ O	Br ⁻ , NO ₂ ⁻ , N ₃ ⁻	H ⁻ , I ⁻ , H ₂ S
OH ⁻ , O ²⁻ , ROH	SO ₃ ²⁻ , C ₅ H ₅ N	SH ⁻ , S ²⁻ , SCN ⁻
RO ⁻ , CH ₃ COO ⁻	N ₂	PR ₃ , CN ⁻ , CO
NO ³⁻ , ClO ₄ ⁻		C ₆ H ₆ , S ₂ O ₃ ²⁻
CO ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻		RCN, C ₂ H ₄
PO ₄ ³⁻ , NH ₃		

Pearson e Parr, em 1988, estabeleceram uma maneira de atribuir valores à dureza, a qual denominou dureza absoluta (η). Esta pode ser calculada a partir dos valores de energia de

ionização (I) e afinidade eletrônica (A) pela equação 1: (PEARSON, 1988; PARR; YANG, 1989; MIESSLER; TARR, 2010)

$$\eta = \frac{I - A}{2} \quad \text{Equação 1}$$

Considerando o teorema de Koopmans que a energia de ionização corresponda à energia do orbital ocupado de energia mais alta (HOMO) com sinal negativo e a afinidade eletrônica corresponda à energia do orbital não ocupado de menor energia (LUMO) também com sinal negativo, pode-se reescrever a equação 1 como: (PEARSON, 1990; COSTA et al., 2005; MIESSLER; TARR, 2010)

$$\begin{aligned} \text{Considerando: } I &= -E_{\text{HOMO}} \\ A &= -E_{\text{LUMO}} \end{aligned} \quad \eta = \frac{E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}}{2} \quad \text{Equação 2}$$

Com base na equação 2, quanto maior a diferença nas energias do HOMO e LUMO maior a dureza da espécie. A maciez (σ) é inversamente proporcional a dureza: $1/\eta$

A Figura 14 mostra que a dureza dos haletos segue a ordem $\text{F}^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ (COSTA et al., 2005). Além disso, a energia do LUMO é praticamente a mesma em todos eles, sendo de maior influência à dureza, a energia do HOMO.

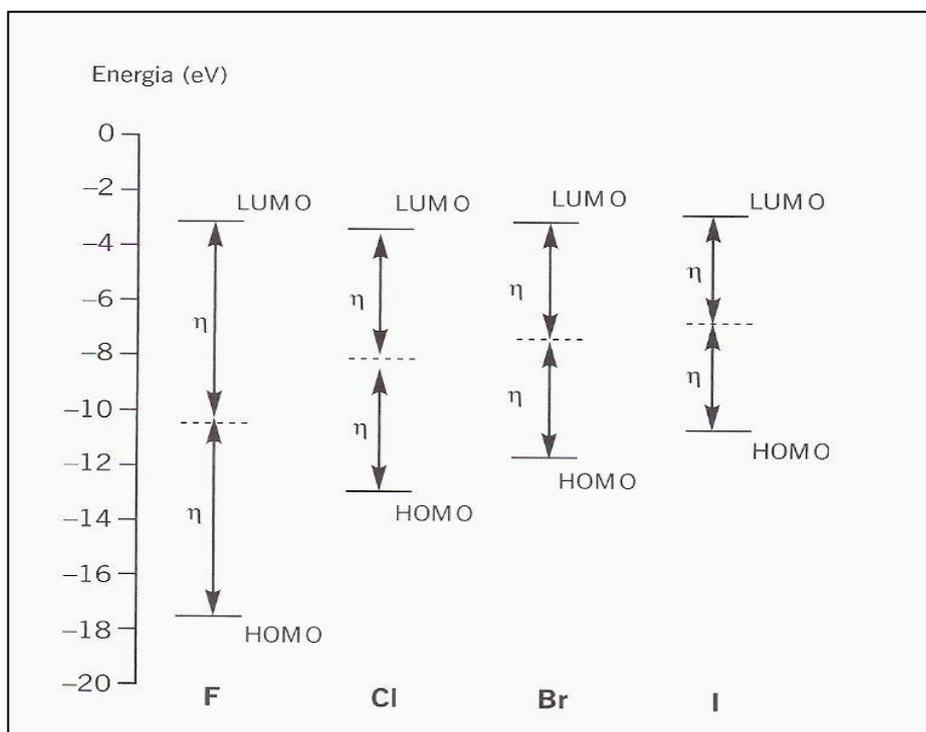


Figura 14: HOMO, LUMO e dureza dos haletos. (COSTA et al., 2005)

1.3.1 Aplicações da teoria HSAB de Pearson

A aplicação desta teoria nos ajuda a explicar muitos comportamentos químicos. Um exemplo clássico disto é a coordenação preferencial de ligantes ambidentados como o SCN^- , o qual pode se ligar com seu lado mais duro, N, ou com seu lado mais macio, S, dependendo do metal envolvido. (MIESSLER;TARR, 2010)

A distribuição dos elementos em suas formas minerais na crosta terrestre também segue o princípio enunciado por Pearson. Metais duros serão encontrados na forma de óxidos (base dura) e metais mais macios se encontrarão na forma de sulfetos (base macia). (SHRIVER et al., 2008)

Outra contribuição desta teoria é dada a bioinorgânica. Nos organismos vivos constituem-se bases de Lewis as proteínas e demais biomoléculas, as quais se encontram ligadas preferencialmente a metais seguindo a teoria de Pearson. Assim, íons duros como os dos metais alcalinos e alcalino-terrosos como o Ca^{2+} estão coordenados, principalmente, aos oxigênios dos carboxilatos, por serem estes bases duras. Já os íons Cu^{2+} , considerados de fronteira, estão coordenados aos nitrogênios de histidinas. (LIPPARD; BERG, 1994)

As proteínas chamadas metalotioneínas, que possuem resíduos de cisteína, conseguem com os grupos sulfidril deste aminoácido, proteger o corpo da toxidez de metais macios como Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Tl^+ através da interação macio-macio entre eles. Lopachin e colaboradores usaram cálculos da DFT para correlacionar a dureza e maciez de eletrófilos e nucleófilos com a toxicidade destes no organismo. (LIPPARD; BERG, 1994; LOPACHIN et al., 2012)

Um dos exemplos de aplicação mais importante desta teoria é a previsão da estabilidade de complexos. Balderas-Hernández e colaboradores confirmaram a previsão da estabilidade de três complexos entre o indicador azul de timol (TB) e os íons metálicos Hg^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} . Através das durezas para cada íon e a dureza do azul de timol, a qual foi calculada por DFT, eles puderam indicar a ordem de estabilidade para os complexos: $K_{\text{HgTB}} > K_{\text{PbTB}} > K_{\text{CdTB}}$. Para confirmação experimental das constantes foi usada a espectrofotometria. (BALDERAS-HERNÁNDEZ et al., 2007)

1.4 Modelagem Molecular

Nos últimos anos a química computacional tem sido amplamente utilizada na elucidação de sistemas. O crescimento dessa utilização acompanha o desenvolvimento de

computadores mais potentes e o acesso a eles. Além disso, diversos programas computacionais para cálculos químicos vêm sendo desenvolvidos, os quais apresentam confiabilidade ao ponto de serem usados como ferramenta na elucidação para indagações experimentais. (MORGON, 2001)

Diversos métodos estão disponíveis e são usados conforme o problema a ser trabalhado. Os principais métodos quânticos são o *ab initio*, o semi-empírico e a Teoria do Funcional de Densidade (do inglês DFT). Já o método clássico tem como representante a Mecânica Molecular (MM) (MORGON; COUTINHO et al., 2007).

Um dos fatores para a escolha do melhor método é o custo computacional, ou seja, o tempo que o cálculo levará para ser concluído. Atrelado ao tempo está o tamanho do sistema estudado. De uma forma geral, para sistemas com até 100 átomos usa-se o método *ab initio*. A partir deste número é recomendado usar os métodos na ordem: DFT, Semi-empírico (1.000 átomos) e Mecânica Molecular (100.000 átomos). Vale ressaltar que essa restrição está diretamente relacionada com o equipamento disponível no laboratório (FARIAS et al., 2009).

Outro fator não menos importante é a confiabilidade dos resultados para o sistema especificamente. Um método pode reproduzir melhor um resultado experimental com menor tempo de cálculo que um método mais sofisticado. (FARIAS et al., 2009)

Para o objetivo deste trabalho a Teoria do Funcional de Densidade se mostrou mais adequada devido ao tamanho razoável do sistema e por ser utilizada com sucesso em casos envolvendo metais de transição, como será abordado mais a frente na seção 1.5.5.

1.5 Teoria do Funcional de Densidade (DFT)

A Teoria do Funcional de Densidade (do inglês Density Functional Theory – DFT) surgiu na década de 60 pelo trabalho principalmente de Hohenberg, Kohn e Sham. Surgiu como uma alternativa ao método *ab initio* padrão, o qual é limitado a sistemas menores do que os tratados com DFT. Isso porque o tempo gasto no cálculo na DFT para um sistema qualquer com N funções de bases é N^3 , consideravelmente menor do que o *ab initio* padrão N^4 ou N^5 . Além disso, os resultados são de igual qualidade ou até mesmo melhores. Tendo em vista que na DFT não há ajuste empírico nos parâmetros da equação, esta pode ser considerada *ab initio*. Por isso a distinção no texto acima “*ab initio* padrão” (MORGON; CUSTODIO, 1995)

Desde o início do século XX, o uso da densidade eletrônica, $\rho(r)$, para descrever sistemas eletrônicos vinha sendo explorado. Com a evolução dos modelos propostos por Drude, Sommerfeld, Thomas, Fermi, Dirac e outros, a aplicação deste conceito de forma eficaz pôde ser gerada. (MORGON; COUTINHO et al., 2007)

Em 1964 Hohenberg e Kohn com seu trabalho sobre gás de elétrons não-homogêneos sugeriram a determinação das propriedades eletrônicas e energia molecular no estado fundamental a partir do funcional da densidade eletrônica, $\rho(r)$. Desta forma, a DFT usa como base a densidade eletrônica, $\rho(r)$, em contraste com a função de onda do modelo *ab initio* Hartree-Fock-Roothaan (HFR) obtido pela resolução da equação de Schrödinger. (MORGON; CUSTODIO, 1995; FREITAS, 1999)

1.5.1 Teoremas de Hohenberg-Kohn (HK)

O primeiro teorema de Hohenberg-Kohn (HK) enuncia que o potencial externo, \hat{U} , é um funcional único da densidade eletrônica, $\rho(r)$, além de uma constante aditiva. Isso significa que através da densidade eletrônica, $\rho(r)$, podemos obter o potencial externo, \hat{U} , e o número de elétrons, N , os quais definem completamente o sistema de muitos elétrons. A energia do sistema eletrônico é determinada pela densidade eletrônica, $\rho(r)$ (Equação 3): (DUARTE, 2001; MORGON; COUTINHO et al., 2007)

$$E = E_v[\rho] \quad \text{Equação 3}$$

O segundo teorema de HK estabelece que qualquer aproximação da densidade eletrônica, de forma que esta seja maior ou igual a 0, e que sua integral seja igual a N , a energia total aproximada será maior ou igual a energia exata do estado fundamental do sistema (Equação 4). (DUARTE, 2001; MORGON; COUTINHO et al., 2007)

$$\tilde{\rho}(r) \geq 0 \text{ e } \int \tilde{\rho}(r) dr = N \rightarrow E_v[\tilde{\rho}] \geq E[\rho] \quad \text{Equação 4}$$

Pode-se definir um funcional universal onde T refere-se à energia cinética e V_e é o operador de repulsão elétron-elétron (Equação 5):

$$F[\rho] = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_e | \Psi \rangle \quad \text{Equação 5}$$

A partir da densidade eletrônica aproximada é obtido o potencial externo aproximado e , portanto, o Hamiltoniano e a função de onda aproximada. Esta função pode ser usada como tentativa para o sistema com potencial externo $v(r)$. (DUARTE, 2001; MORGON; COUTINHO et al., 2007)

Usando o princípio variacional tem-se (Equação 6):

$$E_0 = E_v[\rho] = F[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr \leq E_v[\tilde{\rho}] = F[\tilde{\rho}] + \int \tilde{\rho}(r)v(r)dr \quad \text{Equação 6}$$

Os dois teoremas mostram que é possível usar a densidade eletrônica para determinar o estado fundamental de um sistema ao invés da função de onda que é mais complexa. (MORGON; COUTINHO et al., 2007)

Para ser válida a densidade eletrônica precisa ser N e v -representável. A densidade eletrônica é N-representável se ela pode ser obtida a partir de uma onda antissimétrica. Para que esta densidade seja N-representável as seguintes condições precisam ser satisfeitas (Equação 7):

$$\begin{aligned} \rho(r) &\geq 0 \\ \int \rho(r)dr &= N \\ \int |\nabla \rho(r)^{1/2}|^2 dr &< \infty \end{aligned} \quad \text{Equação 7}$$

A densidade eletrônica v -representável é aquela que determina o verdadeiro potencial externo do sistema. Para que esta seja obtida é usada a formulação de Levy da procura restrita que consiste em testar todas as densidades tentativas e selecionar as funções de onda que minimizem $F[\rho]$ e que gerem aquela densidade (Equações 8 e 9).

$$F[\rho] = \langle \Psi_0 | \hat{T} + \hat{V}_e | \Psi_0 \rangle = \min_{\Psi \rightarrow \rho} \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_e | \Psi \rangle \quad \text{Equação 8}$$

Substituindo a Equação 8 na 6 tem-se a Equação 9:

$$E_0 = \min_{\rho} \{ \min_{\Psi \rightarrow \rho} \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_e | \Psi \rangle + \int \rho(r)v(r)dr \} = \min_{\rho} E_v[\rho] \quad \text{Equação 9}$$

Esta formulação de Levy elimina o problema dos teoremas de HK do estado fundamental ser não-degenerado. (MORGON; COUTINHO et al., 2007)

1.5.2 Equações de Kohn-Sham

A densidade eletrônica do estado fundamental satisfaz o princípio estacionário, como requerido pelo princípio variacional (Equação 6):

$$\delta\{E_v[\rho] - \mu[\int \rho(r)dr - N]\} = 0 \quad \text{Equação 10}$$

Na Equação 10, o multiplicador de Lagrange, μ , é o potencial químico que representa a tendência dos elétrons em sair de um sistema em equilíbrio.

Kohn e Sham escreveram uma equação na qual evidenciam a repulsão elétron-elétron de Coulomb e uma nova função universal $G[\rho]$: (DUARTE, 2001; MORGON; COUTINHO et al., 2007)

$$E_v[\rho] = G[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_1-r_2|} dr_1 dr_2 + \int \rho(r)v(r)dr \quad \text{Equação 11}$$

$$\text{Onde:} \quad G[\rho] = T_S[\rho] + E_{XC}[\rho] \quad \text{Equação 12}$$

O termo $T_s[\rho]$ é o funcional de energia cinética de um sistema de elétrons que não interagem e possui a mesma densidade eletrônica do sistema dos elétrons que interagem. A $E_{xc}[\rho]$ inclui os termos de interação elétron-elétron não-clássica (troca e correlação) e a parte residual da energia cinética, a qual é dado pela diferença entre a energia cinética exata do sistema de elétrons que interagem, $T[\rho]$, e o termo $T_s[\rho]$.

Através de um procedimento auto-consistente, a energia cinética pode ser exatamente calculada a partir do orbital de um elétron (Equação 13):

$$T_S[\rho] = \sum_i^N \left\langle \Psi_i^{KS} \left| -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \right| \Psi_i^{KS} \right\rangle \quad \text{Equação 13}$$

Os orbitais são auto-funções do Hamiltoniano KS efetivo de um elétron:

$$H_{KS} = -\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{\text{eff}}(r) \quad \text{Equação 14}$$

Onde o potencial efetivo é definido como:

$$v_{\text{eff}}(\mathbf{r}) = v(\mathbf{r}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + v_{\text{XC}}(\mathbf{r}) \quad \text{Equação 15}$$

Onde:

$$v_{\text{XC}}(\mathbf{r}) = \frac{\delta E_{\text{XC}}[\rho]}{\delta \rho(\mathbf{r})} \quad \text{Equação 16}$$

A densidade eletrônica é dada por:

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_i^N |\Psi_i(\mathbf{r})|^2 \quad \text{Equação 17}$$

Logo, os orbitais de Kohn-Sham são obtidos a partir da equação de Schrödinger de um elétron:

$$\left(\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{\text{ef}} \right) \Psi_i^{\text{KS}} = \varepsilon_i \Psi_i^{\text{KS}} \quad \text{Equação 18}$$

Dessa forma, no esquema Kohn Sham, a densidade eletrônica de um sistema de elétrons que interagem é obtida a partir da solução de um problema de elétrons que não interagem definido para fornecer a mesma densidade eletrônica do estado fundamental.

A energia total pode ser obtida usando-se a Equação 11 ou pela equação abaixo:

$$E = \sum \varepsilon_i - \frac{1}{2} \int \frac{\rho(\mathbf{r}_1)\rho(\mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r}_1-\mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 + E_{\text{XC}}[\rho] - \int \rho(\mathbf{r})v_{\text{XC}}(\mathbf{r})d\mathbf{r} \quad \text{Equação 19}$$

O esquema KS permite calcular a densidade eletrônica do estado fundamental. Daí as propriedades podem ser calculadas, necessitando apenas dos funcionais de densidade apropriados. (DUARTE, 2001; MORGON; COUTINHO et al., 2007)

1.5.3 Conceitos importantes para reatividade química

A DFT fornece informações preciosas para o entendimento da estrutura e reatividade química. Através de definições desta teoria conceitos como potencial químico, eletronegatividade, funções de Fukui, dureza e maciez, as quais são fundamentais para a teoria de ácidos e bases duros e macios, podem ser calculados.

1.5.3.1 Potencial químico e a eletronegatividade

Como anteriormente mencionado na seção 1.5.2 na equação 10, o multiplicador de Lagrange, μ , foi interpretado por Parr e colaboradores como o potencial químico. Eles igualaram μ à derivada parcial da energia do sistema pela derivada do número de elétrons num potencial externo, $v(r)$, fixo:

$$\mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad \text{Equação 20}$$

Aproximando-se a equação 20 da definição de potencial químico por meio da diferença finita obtém-se:

$$\mu = -\chi_M = -\frac{I+A}{2} \quad \text{Equação 21}$$

Onde I é o potencial de ionização vertical e A é a afinidade eletrônica vertical. O potencial químico, μ , é o negativo do conceito de eletronegatividade, χ_M .

1.5.3.2 Dureza (η) e maciez (σ) absoluta

O conceito de dureza (η) e maciez (σ) absoluta evocado por Pearson inicialmente em 1963 pôde ser confirmado pela DFT: (PEARSON, 2005)

$$\eta = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(r)} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(r)} = \frac{I-A}{2} \quad \text{Equação 22}$$

Já a maciez (σ) é definida como o inverso da dureza (η):

$$\sigma = \frac{1}{\eta} \quad \text{Equação 23}$$

A dureza e maciez podem ser calculadas localmente, ou seja, diferentes valores entre sítios de uma mesma molécula. (DUARTE, 2001)

1.5.3.3 Índices de reatividade de Fukui

Pode ser usado para medir a reatividade em relação a um ataque nucleofílico, eletrofílico ou radicalar. As funções de Fukui estão representadas nas equações 24, 25 e 26:

$$f^+(r) = \left(\frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right)_{v(r)}^+ \approx \rho_{N=N_0+1}(r) - \rho_{N=N_0}(r) = \rho_{LUMO}(r) \quad \text{Equação 24}$$

$$f^-(r) = \left(\frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right)_{v(r)}^- \approx \rho_{N=N_0}(r) - \rho_{N=N_0-1}(r) = \rho_{HOMO}(r) \quad \text{Equação 25}$$

$$f^0(r) = \left(\frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right)_{v(r)}^0 \approx \frac{1}{2} (f^+(r) + f^-(r)) \quad \text{Equação 26}$$

Usando-se a aproximação da diferença finita percebe-se que a função de Fukui para o ataque nucleofílico está relacionada ao LUMO. Já o ataque eletrofílico está associado ao HOMO. E por fim o ataque radicalar está relacionado com a média das duas funções. (MORGON; COUTINHO et al., 2007)

1.5.4 Funcionais de troca e correlação

A existência de um funcional de densidade eletrônica é estabelecida nos teoremas de Hohenberg-Kohn, no entanto, ele não é conhecido. Para sanar este problema, diversos funcionais de troca e correlação (XC) têm sido construídos a fim de reproduzir determinadas propriedades e sistemas. Deste modo, há um funcional de XC adequada para uma propriedade específica. Esta escolha geralmente é feita pela observação da exatidão do funcional de XC em reproduzir esta propriedade.

Os funcionais de XC mais comuns são os que possuem a Aproximação Local da Densidade (Local Density Approximation – LDA) e os que possuem a Aproximação do Gradiente Generalizado (Generalized-Gradient Approximation – GGA).

Os funcionais híbridos tem sido largamente usados devido aos seus melhores resultados. Um dos mais conhecidos é o funcional híbrido B3LYP – Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr – obtido pela combinação do funcional de troca B88 e o funcional de correlação de Lee, Yang e Parr. Dos anos 1990-2006 cerca de 80% dos nomes de funcionais em artigos no Web of Science foi deste funcional. Ele possui 20% do termo de troca e reproduz com boa concordância sistemas com metais de transição. Por isso, ele foi usado neste trabalho. (CRAMER; TRUHLAR, 2009; JENSEN, 2009)

1.5.5 Aplicações da DFT

Uma série de aplicações têm sido feitas baseadas em cálculos usando a DFT.

Em 2003, Lovell e colaboradores revisam a aplicação da DFT no estudo de metaloenzimas. Enzimas de manganês ou ferro como a superóxido dismutase, galactose oxidase, glioxalase I e metano monooxigenase são abordadas neste trabalho. Propriedades redox e mecanismos de reação puderam ser melhor compreendidos com o uso desta ferramenta. (LOVELL et al., 2003)

No trabalho de dissertação de Mendes a DFT foi usada para otimização das estruturas de imidazol e imidazolina nas formas protonada, neutra, positiva e negativa. Em seguida, usando o funcional B3LYP, um átomo de Fe foi colocado com o imidazol e imidazolina para análise da interação destes. Com base nos orbitais de fronteira das espécies neutras e protonadas do imidazol sugeriu-se que estes são melhores inibidores de corrosão em meio neutro do que ácido. Foram também analisados os pontos prováveis de doação de par de elétrons. Por fim, através das energia de interação, sugeriu-se que o imidazol é melhor inibidor de corrosão em meio neutro e a imidazolina em meio ácido. (MENDES, 2008)

Na tese de Lima foi estudada a complexação de íons de metais de transição por macrociclos N e O doadores. As frequências foram calculadas para cada complexo a fim de verificar se as estruturas otimizadas estavam no mínimo de energia. O funcional B3LYP com o conjunto de base LanL2DZ foi usado para os cálculos da energia de interação dos complexos. Os orbitais de fronteira foram calculados para os complexos. A estabilidade dos complexos pôde ser verificada. (LIMA, 2008)

No artigo de revisão de Cramer e Truhlar uma série de aplicações para DFT é abordada. Dentre elas propriedades magnéticas e de spin; espectroscopia vibracional e eletrônica; estrutura, reatividade e outras propriedades de complexos da maioria dos metais de transição, incluindo aqueles envolvidos em sistemas biológicos; estudo de sólidos; superfícies e nanopartículas; catálise heterogênea e outros. (CRAMER; TRUHLAR, 2009)

Os estudos computacionais da ligação em ponte de O₂ ao centro binuclear de Cu foi revisado por Gherman e Cramer. Cálculos quânticos incluindo a DFT têm ajudado na elucidação da estrutura, espectroscopia e reatividade destes complexos. (GHERMAN; CRAMER, 2009)

Jensen e Cirera realizaram um estudo de complexos de ferro e cobalto onde usaram funcionais de densidade para prever o estado eletrônico (alto ou baixo spin) destes complexos. Eles investigaram as entalpias de mudança de estado de spin e compararam com resultados

experimentais. O funcional híbrido TPSSh mostrou melhor concordância. (JENSEN; CIRERA, 2009)

A estrutura e o espectro de absorção eletrônica foram investigados para complexos polipiridil Rutênio(II) intercalados com bases do DNA. O funcional usado foi o conhecido B3LYP. Para os espectros foi empregado o método DFT dependente do tempo (TD-DFT) no vácuo e com correção do efeito do solvente para água e acetonitrila. (AMBROSEK et al., 2010)

Em 2010, Rey e colaboradores estudou complexos binucleares de cobre com atividade de hidrólise de fosfatos. O estudo estrutural teve boa concordância com os dados de Raios-X. Ainda calcularam, usando TD-DFT, o espectro de UV-VIS obtendo-se um bom acordo com o experimental. E por fim, a interação do substrato com o complexo pôde ser analisada. (REY et al., 2010)

Com o uso do funcional B3LYP, a contribuição dos grupos aos orbitais de fronteira de complexos de manganês(II) foram analisadas. A participação do grupo nitrofenol no LUMO está de acordo com os dados da ressonância paramagnética eletrônica (do inglês EPR). (ROMANOWSKI et al., 2010)

Estruturas eletrônicas de complexos metalocorrole com os metais do grupo 9 foram estudadas por Dong e colaboradores. A geometria do estado fundamental, orbitais moleculares e o cálculo dos potenciais de redução foram obtidos e apresentaram bom acordo com os dados experimentais. (DONG et al., 2011)

O estudo teórico das propriedades de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{19}F para compostos orgânicos perfluorados foi feito no vácuo e com correção para solventes. Os valores dos deslocamentos foram comparados com o experimental e apresentaram bom acordo. Ainda foi possível prever, através da maior dureza global das moléculas, que aquelas que possuam a cadeia com 4 carbonos são mais resistentes a reações indesejáveis ao meio ambiente. Deste modo essas moléculas podem ser usadas como alternativa ao outro grupo de moléculas com 8 carbonos mais prejudiciais. (MEJÍA-URUETA; MESTRE-QUINTERO; VIVAS-REYES, 2011)

2 OBJETIVOS

O ligante 2-hidroxibenzilglicina (HBG) e derivados têm sido usados na síntese de diversos complexos miméticos de sistemas bioinorgânicos como os que envolvem a insulina e haloperoxidasas. (HAI-YAN et al., 2009; NILSSON et al., 2011)

Tendo em vista a importância relevante deste ligante na bioinorgânica, foram estabelecidos os seguintes objetivos:

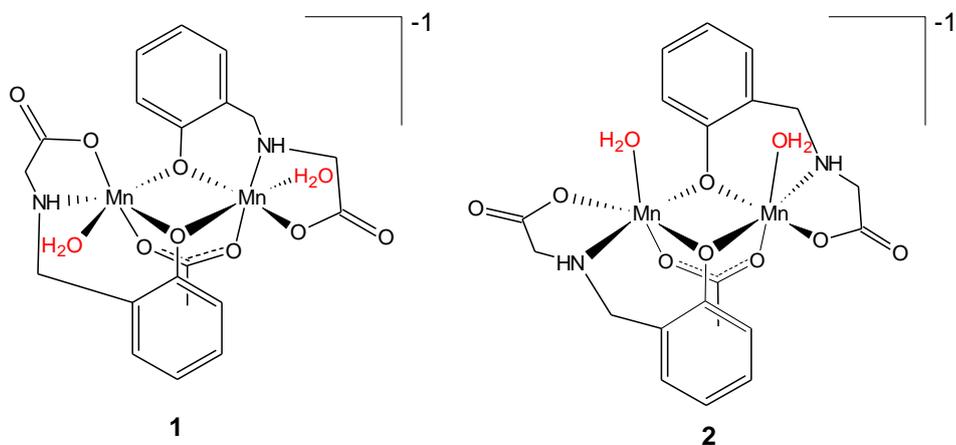
2.1 Objetivo Geral

- Realizar um estudo teórico de complexos binucleares de Mn^{2+} com o ligante 2-hidroxibenzilglicina (HBG) substituído com os grupos $-OCH_3$, $-Br$, $-Cl$ e $-NO_2$, visando a compreensão e a correlação estrutural e/ou eletrônica destes com a possível atividade da catecol oxidase.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar o estudo dos ligantes a fim de obter parâmetros para entender a coordenação destes com o íon Mn^{2+} .
- Propor a ordem na estabilidade dos complexos formados com os ligantes usando dados como a dureza absoluta e as cargas de Mulliken.
- Realizar o estudo do substrato nos aspectos estrutural e eletrônico.
- Obter a estrutura otimizada mais estável dos complexos a partir das diferentes multiplicidades possíveis.

- Obter a estrutura otimizada mais estável entre os dois isômeros propostos (Figura).



- Realizar o estudo das propriedades estruturais e eletrônicas do isômero mais estável com os substituintes.
- Correlacionar os dados obtidos com a possível atividade catalítica buscando auxiliar a síntese de novos complexos miméticos para a catecol oxidase.

3 METODOLOGIA

O estudo foi realizado no Laboratório de Química Inorgânica Computacional do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro em um computador com processador AMD Athlon(tm) 64 X2 Dual Core Processor 6000 + 3,00 GHz com 8 GB de memória RAM.

Os cálculos foram realizados no programa Gaussian 09. As estruturas otimizadas dos ligantes e complexos foram obtidas usando a Teoria do Funcional de Densidade (DFT) com o funcional híbrido B3LYP – Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr – obtido pela combinação do funcional de troca B88 e o funcional de correlação de Lee, Yang e Parr, o qual é um dos funcionais mais utilizados no campo dos metais de transição como citado na seção 1.5.5 que trata das aplicações da DFT (CRAMER; TRUHLAR, 2009; JENSEN, 2009). O conjunto de base escolhido associado a este funcional foi LanL2DZ, que é equivalente a uma função de base 6-31G para os átomos leves e aplica pseudo-potencial para o metal de transição.

Para alguns cálculos foi preciso usar a opção “use Quadratically Convergent SCF” tendo em vista que não houve convergência num primeiro momento devido a aproximações do modo normal de cálculo. A opção selecionada não usa tais aproximações de forma que o cálculo é mais apurado e, conseqüentemente, mais demorado.

Para análise dos valores dos coeficientes de participação nos orbitais de fronteira dos complexos foi usado o comando “pop=full”.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo dos Ligantes

O ligante usado como base neste estudo é o ácido [(2-hidroxibenzil)amino]acético chamado de 2-hidroxibenzilglicina (HBG), onde nesse caso X é um H (Figura 15).

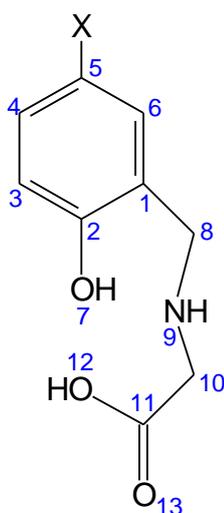


Figura 15: Representação estrutural genérica dos ligantes 2-hidroxibenzilglicina (HBG) com substituintes (X).

O ligante acima possui três átomos coordenantes: os oxigênios do fenol e carboxila e o nitrogênio da amina. Deste modo ele, geralmente, possui caráter tridentado como evidenciado no trabalho de Reddy e colaboradores. (REDDY; NETHAJI; CHAKRAVARTY, 2002)

Este ligante foi usado no trabalho de Nilsson e colaboradores para sintetizar complexos de vanádio com propriedades semelhantes as da insulina. (NILSSON et al., 2011)

No trabalho de Hai-Yan e colaboradores um ligante parecido, com a diferença de apresentar uma imina ao invés da amina, foi usado para sintetizar complexos de vanádio modelos para haloperoxidases. (HAI-YAN et al., 2009)

Os cinco ligantes estudados se diferenciam pela variação do grupo X na posição *para* à hidroxila do fenol os quais são: -OCH₃, -H, -Br, -Cl ou -NO₂ (Figura 16).

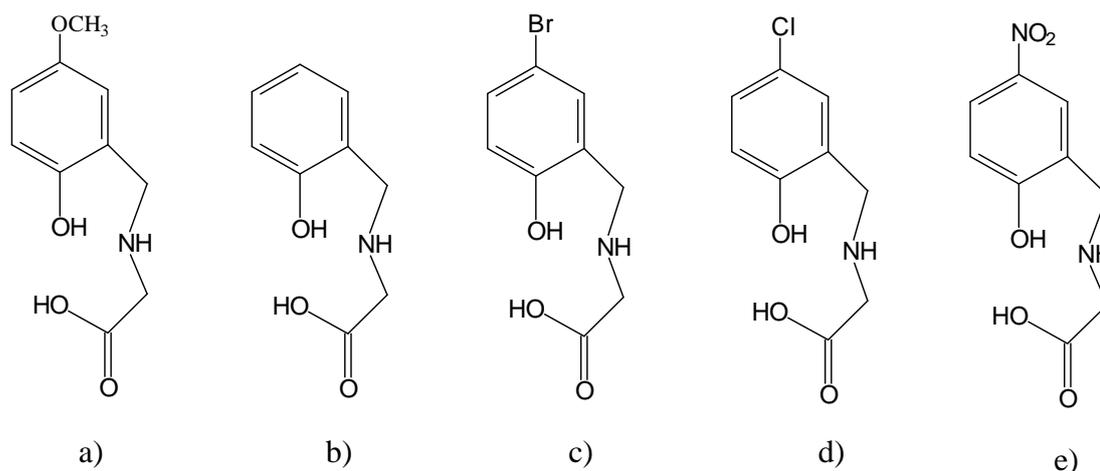


Figura 16: Representação estrutural dos ligantes: a) Ácido [(2-hidróxi-5-metoxibenzil)amino] acético (HBG-OCH₃) b) Ácido [(2-hidroxibenzil)amino]acético (HBG); c) Ácido [(5-bromo-2-hidroxibenzil)amino]acético (HBG-Br); d) Ácido [(5-Cloro-2-hidroxibenzil)amino]acético (HBG-Cl); e) Ácido [(2-hidroxibenzil)amino]acético (HBG-NO₂)

4.1.1 Comprimentos de ligação

Após a obtenção da estrutura otimizada dos ligantes as principais distâncias de ligação foram obtidas e são apresentadas na Tabela 7. Todas as estruturas representam mínimos de energia, pois, não apresentaram frequências imaginárias. A numeração nos átomos é a adotada na Figura 15.

Tabela 7: Principais comprimentos de ligação calculados em ângstroms (Å) dos ligantes.

Ligação	HBG-OCH ₃	HBG	HBG-Br	HBG-Cl	HBG-NO ₂
O(7)-H (fenol)	1,00	1,01	1,00	1,01	1,00
C(2)-O(7)	1,39	1,39	1,38	1,39	1,37
O(12)-H (Ac. carb.)	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
C(11)=O(13)	1,24	1,24	1,24	1,24	1,24
C(1)-C(8)	1,52	1,52	1,52	1,52	1,52
C(8)-N(9)	1,49	1,49	1,49	1,49	1,49
N(9)-C(10)	1,46	1,47	1,46	1,48	1,47
C(10)-C(11)	1,53	1,52	1,53	1,52	1,53
X-C(5)	1,40	1,09	1,97	1,83	1,46

As distâncias das principais ligações são bem semelhantes variando entre si apenas por cerca de 0,01 Å. A única ligação que mostra comprimentos de ligação distintos é a referente aos grupos substituintes [X-C(5)], o que é esperado.

4.1.2 Espectro de Infravermelho

A Figura 17 apresenta o espectro no infravermelho do ligante HBG-Br calculado e o experimental para efeito de comparação. Este foi o único espectro experimental conseguido.

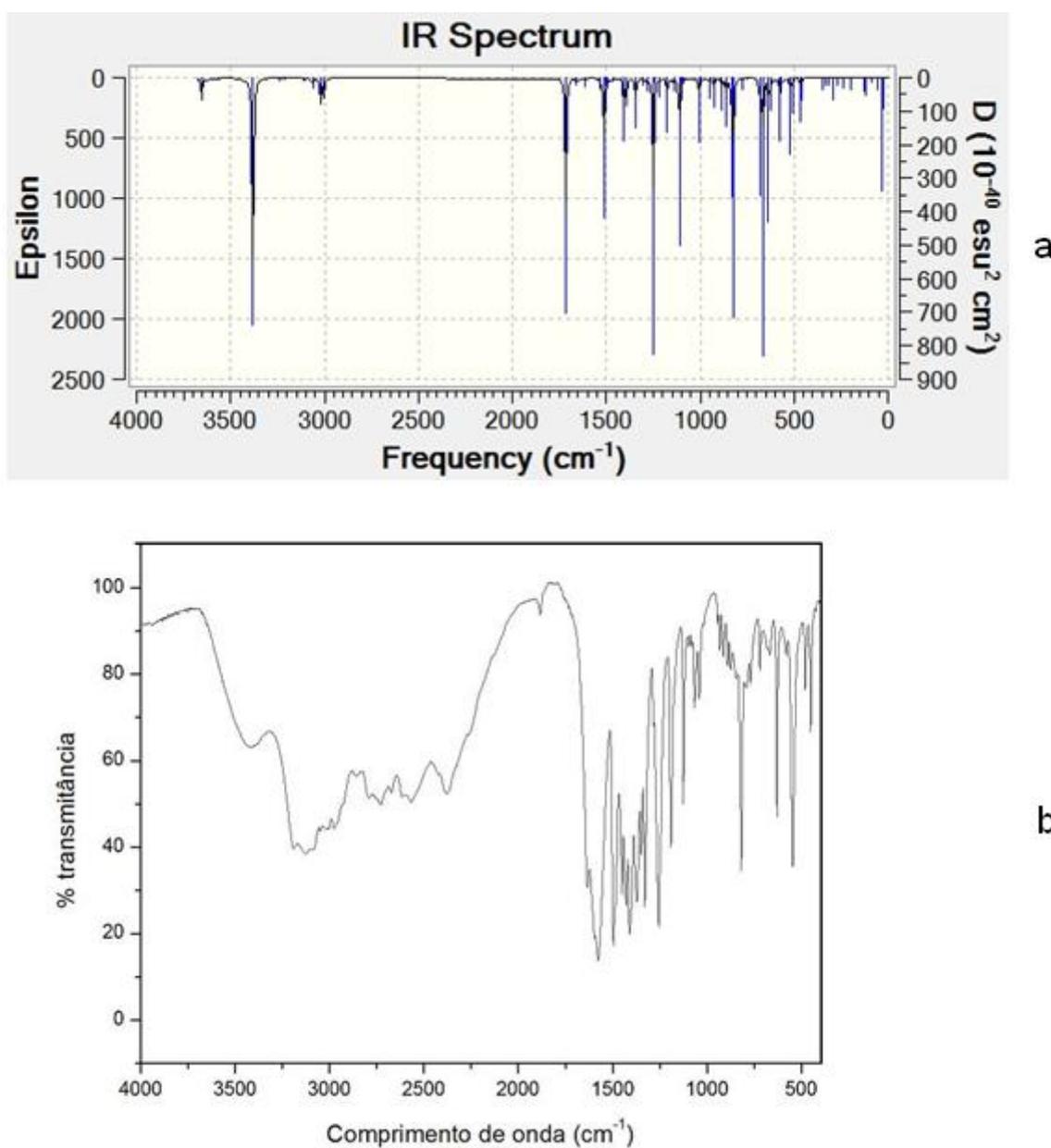


Figura 17: Comparação entre os espectros teórico (a) e experimental (b).

Deve-se considerar que o espectro teórico foi obtido na fase gasosa, além de não considerar as contribuições rotacionais. Daí a diferença observada entre eles: o teórico com bandas muito finas e o experimental apresentando bandas mais alargadas.

As frequências dos espectros teórico e experimental são bem semelhantes como, por exemplo, diversas bandas na região entre 500 e 1700 cm^{-1} . Aparece também na região de 3000 a 3700 cm^{-1} bandas correspondentes nos espectros. Todos os demais espectros dos ligantes possuem este perfil.

A Tabela 8 mostra uma comparação entre os valores das principais bandas obtidas dos espectros teórico e da literatura.

Tabela 8: Comparação das principais bandas (cm^{-1}) dos espectros de infravermelho calculado e da literatura. (SILVERSTEIN, 2000)

Atribuição	Dados da literatura	Calculado
Estiramento (ν) O-H (Ác. carboxílico)	3520	3655
Estiramento (ν) N-H (amina secundária)	3310-3350	3566
Estiramento (ν) O-H (fenol)	3584-3650	3380
Estiramento (ν) C=O	1760	1715
Estiramento (ν) C-N (amina secundária)	1020-1250	1175

As bandas dos espectros calculados estão dentro das faixas apresentadas na literatura e/ou dentro do erro experimental requerido.

4.1.3 Energia dos orbitais de fronteira e dureza absoluta (η)

Também foram obtidas as energias relativas aos orbitais de fronteira HOMO e LUMO em eletrovolts (eV) mostradas na Tabela 9. Com a determinação dessas energias, o valor da dureza absoluta (η) de cada ligante foi obtido (Tabela 9).

Tabela 9: Energias em eletrovolts do HOMO e LUMO e dureza absoluta para os ligantes.

Ligantes	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Dureza Absoluta (η)
HBG-OCH ₃	-5,39	-0,95	2,22
HBG	-5,90	-1,12	2,39
HBG-Br	-6,05	-1,13	2,46
HBG-Cl	-6,11	-1,26	2,43
HBG-NO ₂	-6,88	-2,91	1,99

A dureza absoluta (η) para o íon Mn^{2+} é 9,02 (MIESSLER; TARR, 2010). Deste modo, usando o enunciado de Pearson, a estabilidade dos complexos formados a partir desse íon duro e os ligantes acima deve seguir a ordem $HBG-Br \approx HBG-Cl > HBG > HBG-OCH_3 > HBG-NO_2$, ou seja, quanto maior a dureza absoluta do ligante maior a estabilidade do complexo formado.

4.1.4 Análise das cargas de Mulliken

A análise dos valores das cargas de Mulliken pode indicar que átomos têm maior propensão de coordenar-se ao metal. Considerando um íon metálico com carga positiva, o átomo que possuir valores mais negativos deverá coordenar-se preferencialmente ao íon.

Com a obtenção destes valores para todos os ligantes e a exclusão de átomos com impedimento estérico, pôde ser evidenciado que os átomos mais propensos a ligar-se ao íon metálico são os O(7) do fenol, o O(12) do ácido carboxílico e o N.

Na Tabela 10 é apresentado o valor das cargas de Mulliken dos átomos coordenantes para cada ligante.

Tabela 10: Cargas de Mulliken dos átomos doadores coordenantes dos ligantes: O(7) do fenol, N e O(12) do ácido carboxílico.

Ligantes	O(7)	N	O(12)
HBG-OCH₃	-0,49	-0,40	-0,45
HBG	-0,47	-0,44	-0,47
HBG-Br	-0,48	-0,41	-0,46
HBG-Cl	-0,47	-0,45	-0,47
HBG-NO₂	-0,45	-0,42	-0,46

Os valores, em geral, estão muito próximos entre si. Nos ligantes HBG-OCH₃ e HBG-Br o átomo O(7) apresenta o valor mais negativo. Nos ligantes HBG e HBG-Cl os átomos O(7) e O(12) apresentam os mesmos valores. Apenas no HBG-NO₂ o O(12) é o mais negativo. Vale lembrar que estes valores podem ser diferentes em solução aquosa.

4.1.5 Representação gráfica dos orbitais de fronteira

Os diagramas de contorno dos HOMOs foram calculados e estão representados na Figura 18.

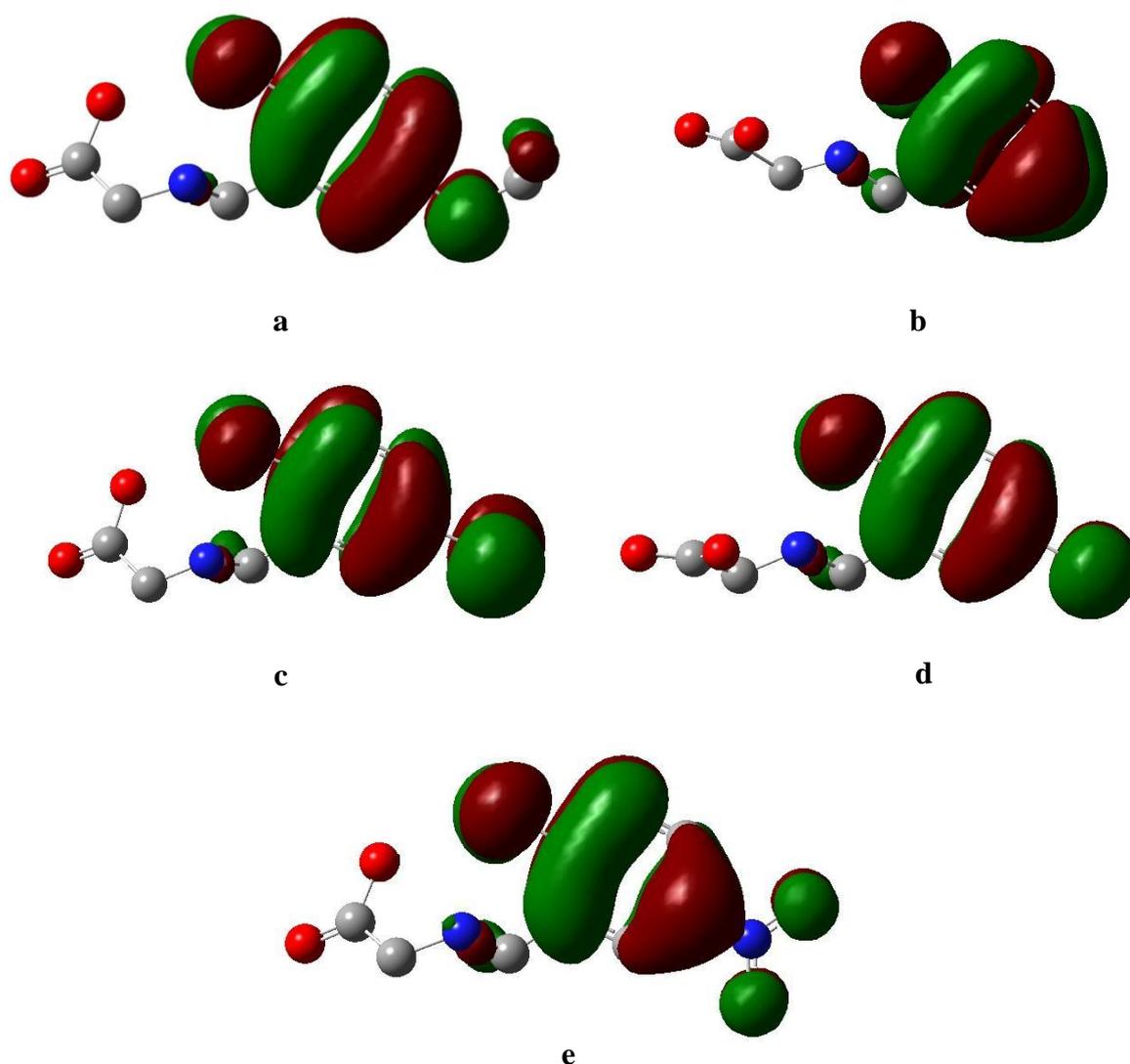


Figura 18: Diagramas de contorno dos HOMOs dos ligantes. a) HBG-OCH₃; b) HBG c) HBG-Br; d) HBG-Cl e e) HBG-NO₂. Os hidrogênios foram omitidos para melhor visualização.

Todos os HOMOs dos ligantes mostram um perfil semelhante apresentando caráter ligante. Há grande participação do anel fenólico e substituintes e pequena participação relativa do nitrogênio amínico. Isso indica que a mudança do substituinte pode causar alterações na estabilidade dos complexos formados já que estes participam ativamente do HOMO, responsável pela coordenação ao centro metálico.

Além disso, numa reação de coordenação deste ligante com um metal espera-se que a primeira coordenação seja feita pelo átomo de oxigênio do fenol, O(7), já que este possui participação predominante no HOMO, em detrimento dos outros átomos coordenantes: O do carboxilato e o N amínico. Também os LUMOs estão representados na Figura 19:

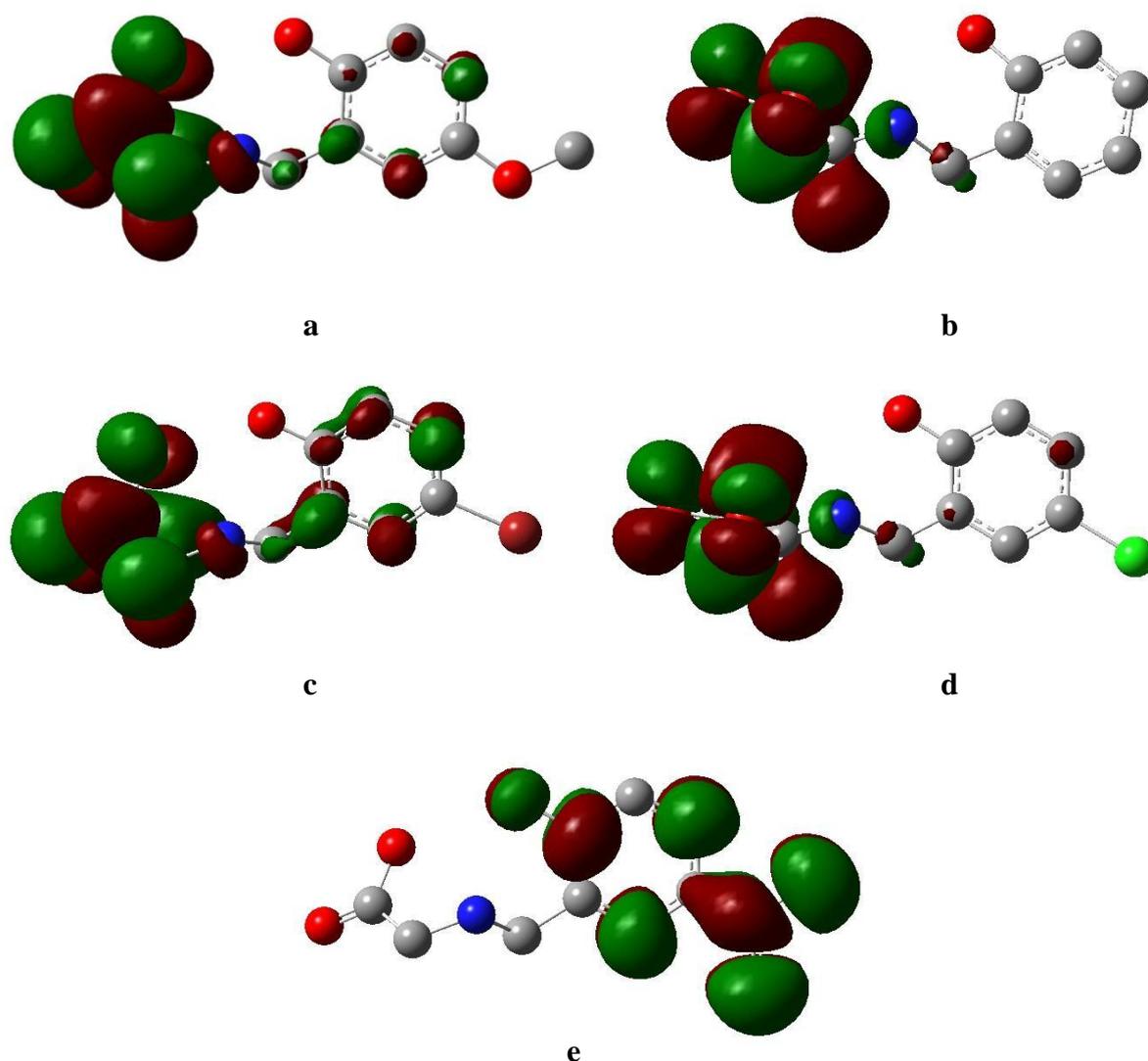


Figura 19: Diagramas de contorno dos LUMOs dos ligantes: a) HBG-OCH₃; b) HBG c) HBG-Br d) HBG-Cl e e) HBG-NO₂. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza.

Os LUMOs possuem caráter antiligante. Para os ligantes HBG-OCH₃, HBG, HBG-Br e HBG-Cl, a principal participação provém dos grupos carboxílico e do nitrogênio amínico. Os ligantes HBG-Cl, HBG-OCH₃ e HBG-Br possuem participação neste orbital do anel fenólico, sendo que neste último ligante esta participação é mais significativa.

Para o ligante HBG-NO₂ a principal participação para o LUMO é exclusivamente do anel fenólico e substituinte.

Apesar dos dados acima, estes orbitais não tem tanto significado analítico para o objetivo deste trabalho.

4.2 Estudo do Substrato

O substrato envolvido na ação catalítica da catecol oxidase é o catecol. A Figura 20 mostra a estrutura otimizada calculada com as cargas de Mulliken dos átomos de oxigênio para o catecol:

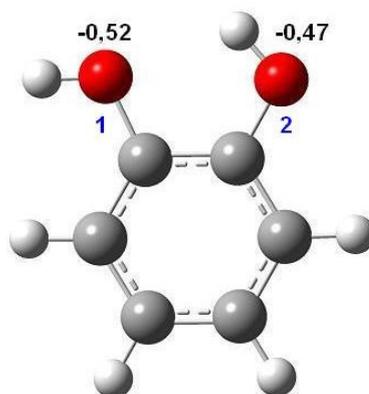


Figura 20: Estrutura otimizada para o catecol. Os valores em preto são referentes as cargas de Mulliken dos oxigênios 1 e 2.

Como já mencionado na introdução, a distância entre os centros de Cu^{2+} no sítio ativo da metaloenzima é de 2,9Å. A distância calculada entre os átomos de oxigênio é de cerca de 2,7Å. Logo, isso sustenta a possibilidade de uma ligação bidentada, onde cada oxigênio do catecol coordena-se a um dos dois íons metálicos formando uma estrutura com um anel de sete membros. Tais anéis são considerados instáveis, apesar de existirem.

Observando os valores das cargas de Mulliken dos átomos de oxigênio, conclui-se que o átomo de oxigênio 1 é mais negativo que o átomo de oxigênio 2, apesar de serem valores bem próximos. No entanto, a estrutura otimizada representa uma conformação do substrato num mínimo de energia, portanto, não foi considerado a livre rotação da ligação C-OH. Por isso, os valores diferentes para as cargas de Mulliken. Nesta estrutura há a existência de uma ligação de hidrogênio intramolecular que a estabiliza.

A Tabela 11 mostra as energias para os orbitais de fronteira e a dureza absoluta calculada:

Tabela 11: Energia dos orbitais de fronteira em eletrovolts e dureza absoluta do substrato.

Substrato	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Dureza Absoluta (η)
Catecol	-6,02	-0,29	2,87

O HOMO do substrato está representado na Figura 21. Ele apresenta caráter ligante e tem participação principalmente dos orbitais p dos carbonos aromáticos e de ambos os átomos de oxigênio. Nos mecanismos propostos este orbital age como uma base de Lewis coordenando-se ao metal.

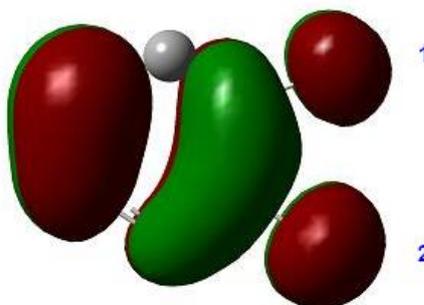


Figura 21: HOMO do catecol. Os hidrogênios foram omitidos.

O percentual de participação dos átomos de oxigênio no HOMO foram verificados e são apresentados na Tabela 12:

Tabela 12: Percentual (%) dos coeficientes de participação dos oxigênios no HOMO do substrato.

Átomo	Percentual (%)
O (1)	14,59
O (2)	19,05

Estes valores mostram que o oxigênio 2 possui maior percentual de participação (19,05%) no HOMO. No entanto, deve-se considerar a justificativa dada acima que a estrutura otimizada representa uma conformação do substrato num mínimo de energia.

O LUMO, por sua vez, apresenta caráter antiligante. A maior participação provêm dos orbitais p dos carbonos e uma menor participação dos orbitais p dos oxigênios. (Figura 22).

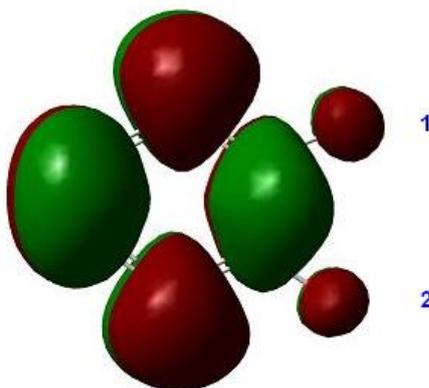


Figura 22: LUMO do catecol. Os hidrogênios foram omitidos.

4.3 Estudo dos íons complexos

O complexo proposto para o estudo é o $[\text{Mn}_2(\text{HBG})_2(\mu\text{-OAc})(\text{H}_2\text{O})_2]^-$, ânion μ -acetatodiaquodi(2-hidroxibenzilglicinato)dimanganato(II).

As estruturas otimizadas dos íons complexos binucleares de Mn^{2+} foram estudadas teoricamente. Cada íon de Mn^{2+} possui configuração d^5 perfazendo um total de 10 elétrons. Deste modo, usando a fórmula $2S+1$, três multiplicidades foram escolhidas para o estudo: singlete, tripleto e 11-eto. Estas apresentam respectivamente nenhum, dois e dez elétrons desemparelhados como mostrado na Figura 23 através do diagrama simplificado dos orbitais e_g e t_{2g} dos íons metálicos, aplicando a simplificação de que os dois íons Mn^{2+} apresentarão uma simetria octaédrica.

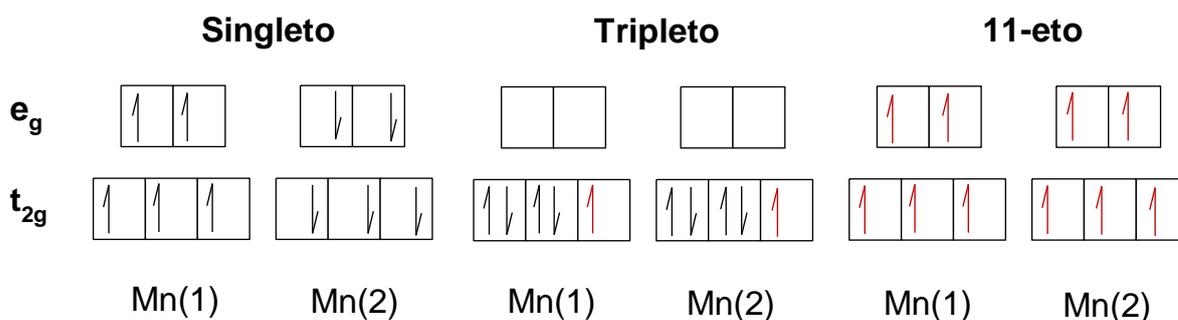


Figura 23: Diagrama simplificado da distribuição dos elétrons nos orbitais d dos íons Mn^{2+} nas multiplicidades estudadas. Os elétrons desemparelhados estão em vermelho para melhor visualização.

Considerando a carga de cada ligante HBG que é -2 referente à ponte fenolato e ao carboxilato, a carga de -1 da ponte acetato e a carga de +2 de cada íon de Mn^{2+} , a carga total dos íons complexos é -1.

Duas estruturas isoméricas foram calculadas nas multiplicidades acima citadas. As duas estruturas diferenciam-se pela posição dos dois ligantes H_2O na esfera de coordenação. No isômero 1, encontram-se em posições equatoriais opostas. Enquanto que no isômero 2 os ligantes H_2O estão em posições axiais paralelas.

As representações estruturais dos complexos isômeros podem ser visualizadas na Figura 24:

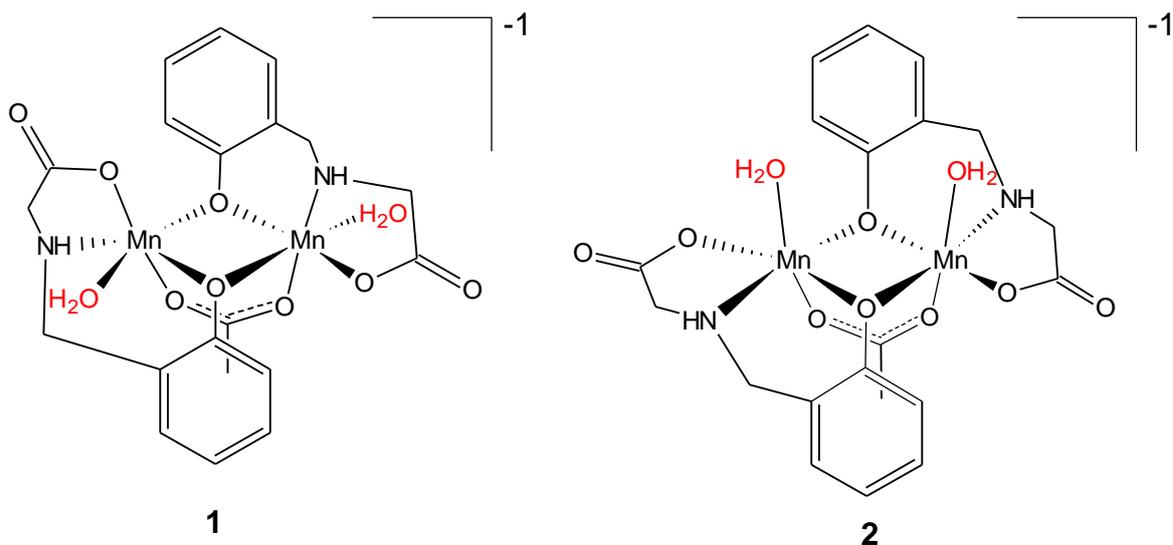


Figura 24: Representações estruturais dos dois complexos isômeros estudados. As posições dos ligantes H_2O que diferenciam os dois isômeros estão em vermelho para maior clareza.

4.3.1 Seleção do complexo mais estável

Primeiramente, as energias das estruturas calculadas das três multiplicidades estudadas foram comparadas para se atribuir a multiplicidade mais estável para cada um dos dois isômeros. Após esta etapa, foram comparadas as energias das estruturas mais estáveis encontradas para cada um dos dois isômeros. Portanto, foi possível inferir qual dos dois isômeros é o mais estável teoricamente.

4.3.1.1 Avaliação da estabilidade das multiplicidades propostas do isômero 1

Foram calculadas as estruturas otimizadas para o complexo do isômero 1 nas três multiplicidades propostas: singleto, tripleto e 11-eto. Nenhuma dessas estruturas apresentou frequências imaginárias evidenciando que estas estão no mínimo de energia.

A Figura 25 mostra as estruturas otimizadas obtidas para as multiplicidades singleto e tripleto. Elas mostraram-se bem semelhantes na disposição espacial dos átomos como pode ser visto nas perspectivas frontal e de cima em relação aos íons Mn^{2+} .

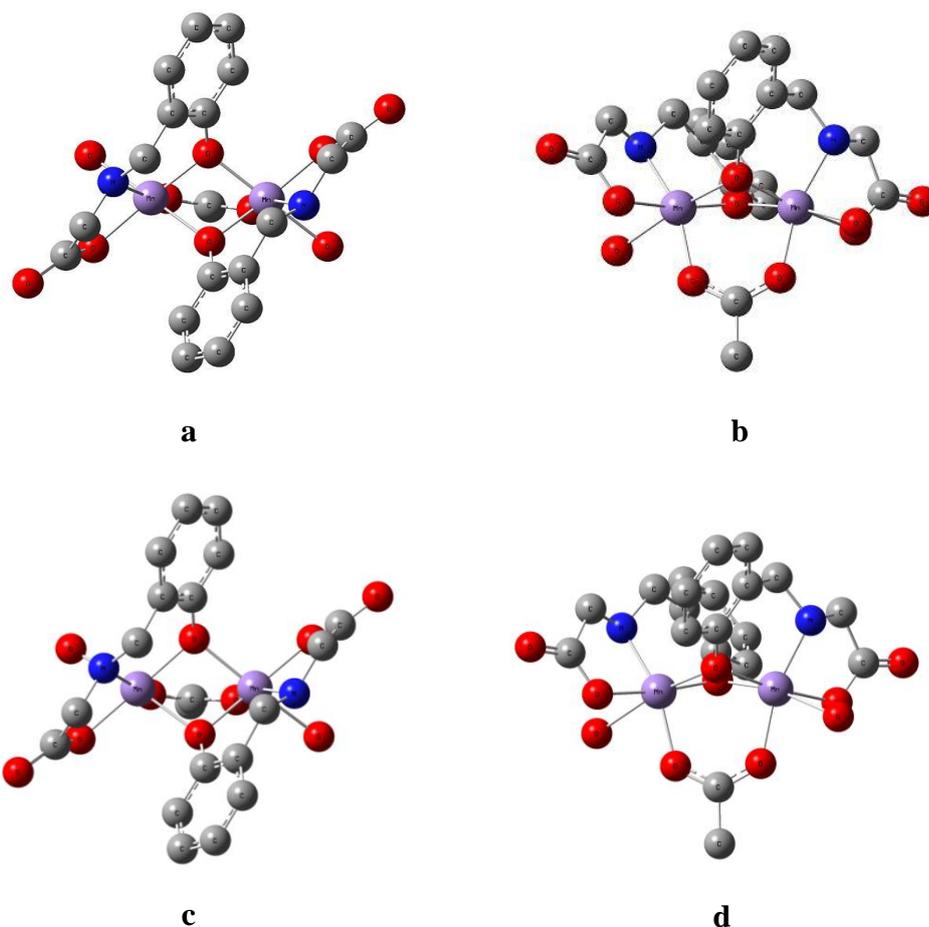


Figura 25: Estruturas dos dois complexos: singleto (de cima) e tripleto (de baixo). letras **a** e **c** visão de cima dos ânions. Letras **b** e **d** visão frontal em relação aos íons Mn^{2+} . Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza.

A estrutura proposta do complexo 11-eto não foi obtida, pois ocorreu quebra na molécula nas ligações dos ligantes H_2O , ocasionando numa deformação geral da estrutura (Figura 26). Logo, esta multiplicidade foi descartada na avaliação da estabilidade.

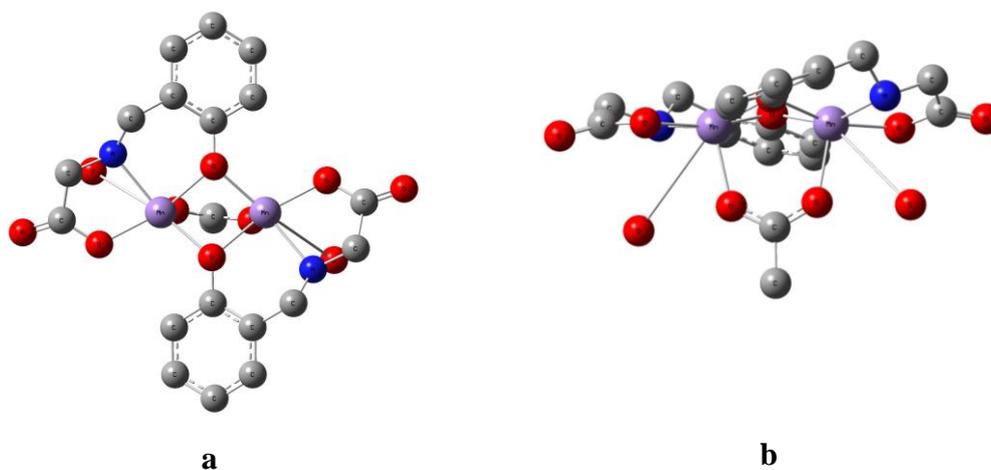


Figura 26: a) Visão de cima do complexo 11-eto e b) Visão frontal dos Mn^{2+} . Os hidrogênios foram omitidos.

A partir das energias das estruturas otimizadas obtidas foi verificado que a multiplicidade tripleto é mais estável do que a singleto. Em termos de estabilidade relativa, os cálculos mostraram que a estrutura tripleto é quase 57 Kcal/mol mais estável que a singleto (Tabela 13).

Tabela 13: Comparação das energias das estruturas otimizadas do isômero 1.

Multiplicidade	Energia (Hartree)	Energia relativa (Kcal/mol)
Singleto	-1846,84	56,86
Tripleto	-1846,93	0,00

Tendo em vista sua maior estabilidade, a multiplicidade tripleto foi considerada para posterior comparação com a estrutura mais estável do isômero 2.

4.3.1.2 Avaliação da estabilidade das multiplicidades propostas do isômero 2

Da mesma maneira que foi realizado para o isômero 1, a partir das diferentes multiplicidades do isômero 2 foram obtidas as estruturas otimizadas. Novamente as estruturas calculadas obtidas representam o mínimo de energia, ou seja, não apresentaram frequências imaginárias.

As estruturas das multiplicidades singleto e 11-eto deste isômero foram obtidas e são apresentadas na Figura 27.

A estrutura obtida para a multiplicidade singleto apresenta uma estrutura com os ligantes 2-hidroxibenzilglicina (HBG) mais planarizados que na 11-eto, como pode ser visto na Figura 27- b e d. Além disso, os dois ligantes H₂O paralelos, apresentam comprimentos de ligação visivelmente diferentes, o que não é esperado de uma estrutura com certa correlação entre as ligações.

A multiplicidade tripleto não foi obtida, pois, a estrutura proposta não convergiu. Por isso, esta foi descartada na avaliação da estabilidade.

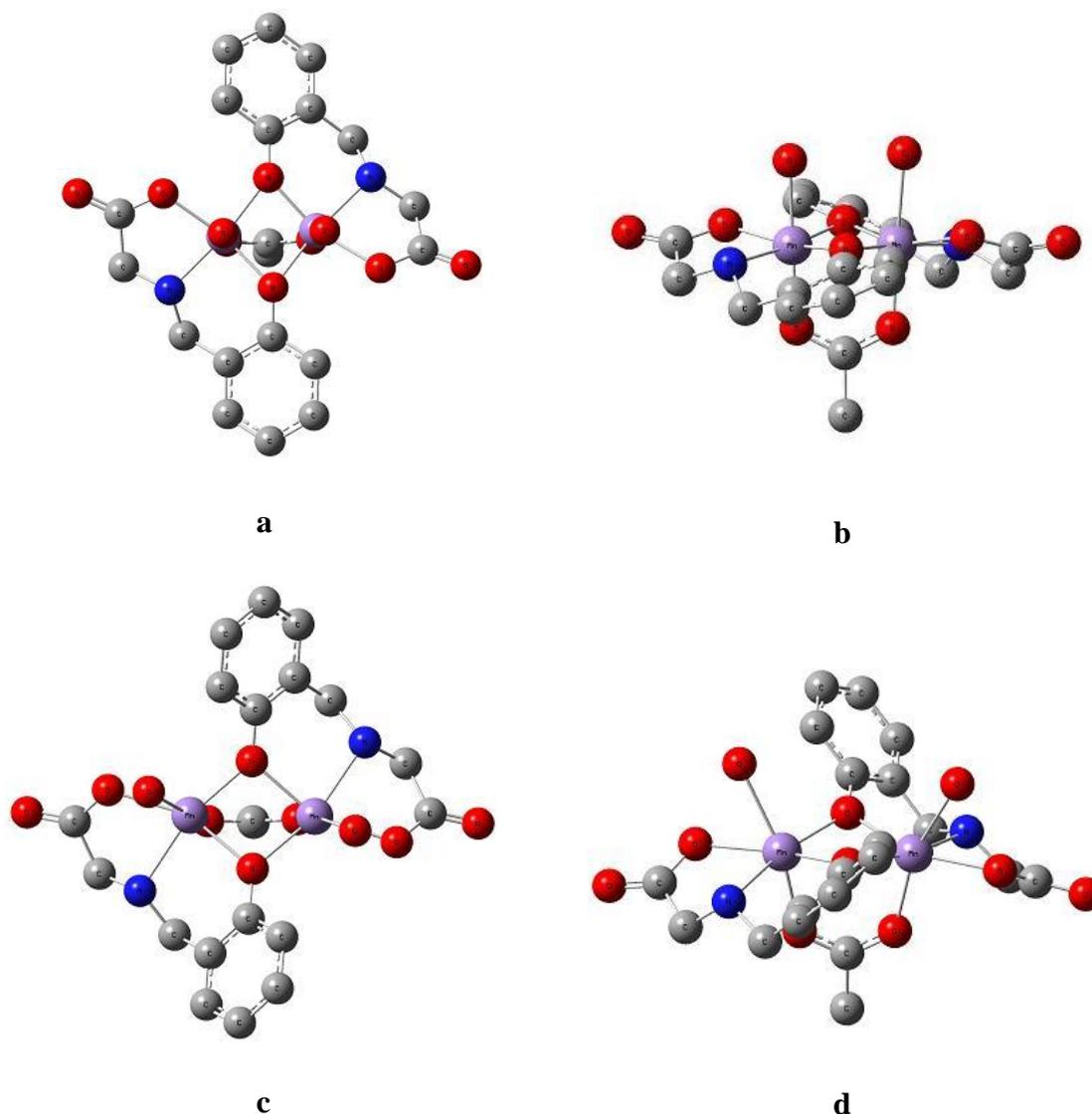


Figura 27: Estruturas dos complexos singto (de cima) e 11-eto (de baixo). Letras **a** e **c** visão de cima do ânion. Letras **b** e **d** Visão frontal em relação aos íons de Mn. Os hidrogênios foram omitidos.

A Tabela 14 apresenta os valores das energias das duas multiplicidades consideradas:

Tabela 14: Comparação das energias das estruturas das multiplicidades do isômero 2.

Multiplicidade	Energia (Hartree)	Energia relativa (Kcal/mol)
Singto	-1846,88	114,23
11-eto	-1847,07	0,00

A multiplicidade 11-eto do isômero 2 é cerca de 114 Kcal/mol mais estável que a singto. Por isso, esta foi selecionada para comparação posterior.

4.3.1.3 Comparação da estabilidade dos isômeros 1 e 2

Após a determinação das formas mais estáveis de ambos os isômeros foi feita a comparação das energias destes para a seleção do isômero mais estável.

A Tabela 15 mostra as energias dos representantes mais estáveis de cada isômero:

Tabela 15: Energia estrutural e relativa dos representantes mais estáveis de cada isômero.

Isômero	Multiplicidade	Energia (Hartree)	Energia relativa (Kcal/mol)
1	Tripleto	-1846,93	84,14
2	11-eto	-1847,07	0,00

O isômero 2 é cerca de 84 Kcal/mol mais estável que o isômero 1. Esta estabilidade relativa pode ser melhor compreendida através da análise das estruturas na Figura 28:

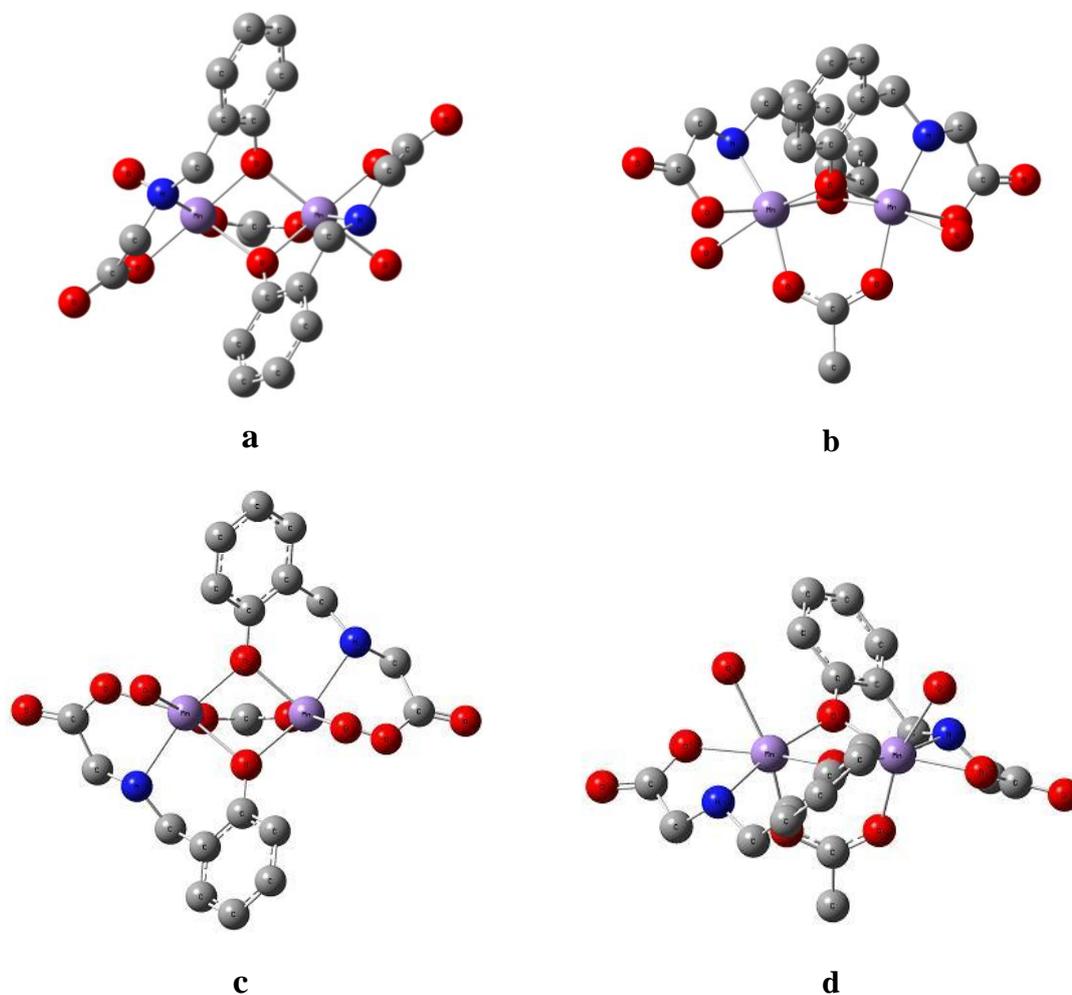


Figura 28: Estruturas dos isômeros: 1 (de cima) e o 2 (de baixo). Letras **a** e **c** visão de cima. Letras **b** e **d** Visão frontal em relação aos íons de Mn^{2+} . Os hidrogênios foram omitidos.

A estabilidade relativa obtida pode ser explicada pela repulsão eletrônica. No isômero 1 (Figura 28- a e b), os grupos fenolato, amínico e carboxilato de cada íon Mn^{2+} , estão próximos uns dos outros e por isso experimentam uma maior repulsão eletrônica. Nesse isômero, a menor distância entre átomos dos dois ligantes HBG é de cerca de 3,8 Å. Já no isômero 2 esta repulsão é minimizada devido a posição dos ligantes H_2O , fazendo com que aqueles grupos de maior volume ocupem posições equatoriais no complexo, resultando em um maior afastamento e, portanto, uma menor repulsão. Nesse isômero, a menor distância entre átomos dos ligantes HBG é de cerca de 4,3 Å, ou seja, maior que a do isômero 1.

O isômero 2 na multiplicidade 11-eto é a estrutura selecionada para o estudo posterior com os substituintes propostos no trabalho.

Vale ressaltar que o fato de a multiplicidade 11-eto ser a mais estável, não exclui a possibilidade da síntese do isômero 1 com multiplicidade tripleto. Isso porque, a estrutura do complexo depende da rota sintética escolhida, das condições reacionais e outros fatores experimentais envolvidos.

4.3.2 Comprimentos e ângulos de ligação para o complexo mais estável com os substituintes

A representação estrutural numerada do isômero 2 multiplicidade 11-eto, o qual é o mais estável, é apresentada na Figura 29:

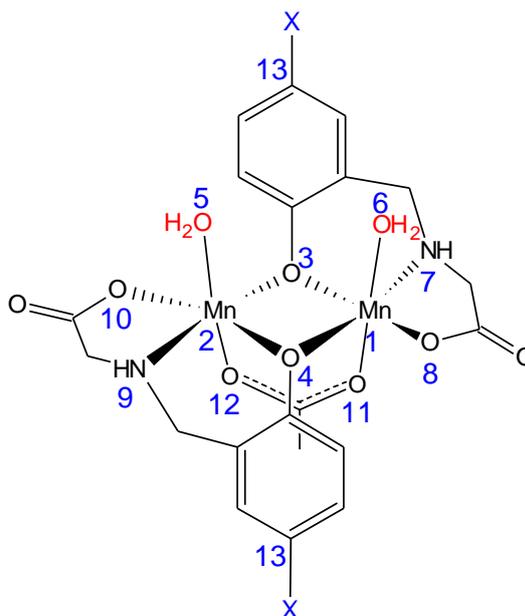


Figura 29: Representação estrutural numerada do complexo, onde X são os substituintes -H, -OCH₃, -Br, -Cl e -NO₂.

As estruturas otimizadas do complexo mais estável com os substituintes -H, -OCH₃, -Br, -Cl e -NO₂ foram obtidas com sucesso.

Baseado na numeração da Figura 29, os principais comprimentos de ligação destes complexos são apresentados na Tabela 16:

Tabela 16: Comprimentos de ligação em ângstrons (Å) do complexo mais estável com os substituintes:

Ligação	X= -H	X= -OCH ₃	X= -Br	X= -Cl	X= -NO ₂
Mn(1)-Mn(2)	3,17	3,17	3,18	3,19	3,23
Mn(2)-O(4)	2,15	2,15	2,15	2,16	2,18
Mn(1)-O(3)	2,16	2,15	2,16	2,16	2,18
Mn(1)-O(4)	2,12	2,12	2,12	2,13	2,15
Mn(2)-O(3)	2,12	2,12	2,12	2,13	2,16
Mn(2)-O(12)	2,18	2,18	2,18	2,18	2,16
Mn(1)-O(11)	2,18	2,18	2,17	2,17	2,16
Mn(2)-O(5)	2,43	2,42	2,43	2,42	2,36
Mn(1)-O(6)	2,43	2,42	2,43	2,42	2,36
Mn(2)-N(9)	2,34	2,34	2,34	2,34	2,32
Mn(1)-N(7)	2,34	2,34	2,34	2,34	2,32
Mn(2)-O(10)	2,19	2,19	2,19	2,18	2,16
Mn(1)-O(8)	2,19	2,19	2,19	2,18	2,16
C(13)-X	1,09	1,43	1,98	1,84	1,45

Os comprimentos de ligação para os complexos, com exceção da C(13)-X, são muito semelhantes com leve diferença para o complexo X= -NO₂. Os comprimentos para a ligação entre o C(13) e os substituintes (X) praticamente não apresentaram variação em relação ao comprimento desta nos ligantes.

A distância de cerca de 3,18 Å dos íons Mn²⁺ possibilita a ligação do substrato de forma bidentada sob a forma de uma ponte entre esses íons, uma vez que a distância entre os oxigênios do catecol é de 2,69 Å.

Os ângulos de ligação apresentaram valores bem próximos para os complexos substituídos. Na Tabela 17 são apresentados os principais ângulos de ligação:

Tabela 17: Principais ângulos de ligação em graus (°) dos complexos:

Ligações	X= -H	X= -OCH₃	X= -Br	X= -Cl	X= -NO₂
Mn(1)-O(3)-Mn(2)	95,75	95,89	95,81	95,95	96,39
Mn(1)-O(4)-Mn(2)	95,79	95,94	95,85	96,01	96,44
O(5)-Mn(2)-O(3)	91,91	92,01	91,85	91,68	91,80
O(6)-Mn(1)-O(4)	91,84	91,91	91,78	91,60	91,74
O(5)-Mn(2)-N(9)	94,28	94,51	94,34	94,65	94,37
O(6)-Mn(1)-N(7)	94,20	94,37	94,25	94,52	94,24
O(5)-Mn(2)-O(10)	65,42	65,61	65,38	65,57	66,43
O(6)-Mn(1)-O(8)	65,40	64,58	65,36	65,54	66,41
O(5)-Mn(2)-O(4)	107,01	106,74	107,08	106,88	105,82
O(6)-Mn(1)-O(3)	106,98	106,72	107,06	106,85	105,77
O(5)-Mn(2)-O(12)	162,26	162,59	162,27	162,73	164,49
O(6)-Mn(1)-O(11)	162,38	162,79	162,40	162,91	164,68
O(10)-Mn(2)-O(3)	121,79	121,76	121,75	121,72	121,12
O(8)-Mn(1)-O(4)	121,78	121,71	121,74	121,69	121,10
O(3)-Mn(2)-O(4)	80,57	80,57	80,52	80,46	80,14
O(3)-Mn(1)-O(4)	80,55	80,56	80,51	80,44	80,13
N(9)-Mn(2)-O(4)	84,26	84,27	84,27	84,21	84,38
N(7)-Mn(1)-O(3)	84,26	84,28	84,27	84,21	84,38
O(10)-Mn(2)-N(9)	73,47	73,56	73,53	73,72	74,47
O(8)-Mn(1)-N(7)	73,46	73,57	73,52	73,72	74,47

4.3.3 Energia dos orbitais de fronteira e dureza absoluta (η)

Para o cálculo da dureza absoluta utiliza-se os valores dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO. No entanto, na multiplicidade 11-eto há dez elétrons desemparelhados (Figura 23), sendo o HOMO nos ânions ocupado por um elétron apenas. Por esse motivo ele será chamado SOMO (do inglês singly occupied molecular orbital).

A Figura 30 mostra as representações estruturais consideradas para os complexos substituídos. A estrutura do complexo com -H já foi vista na Figura 24 (2).

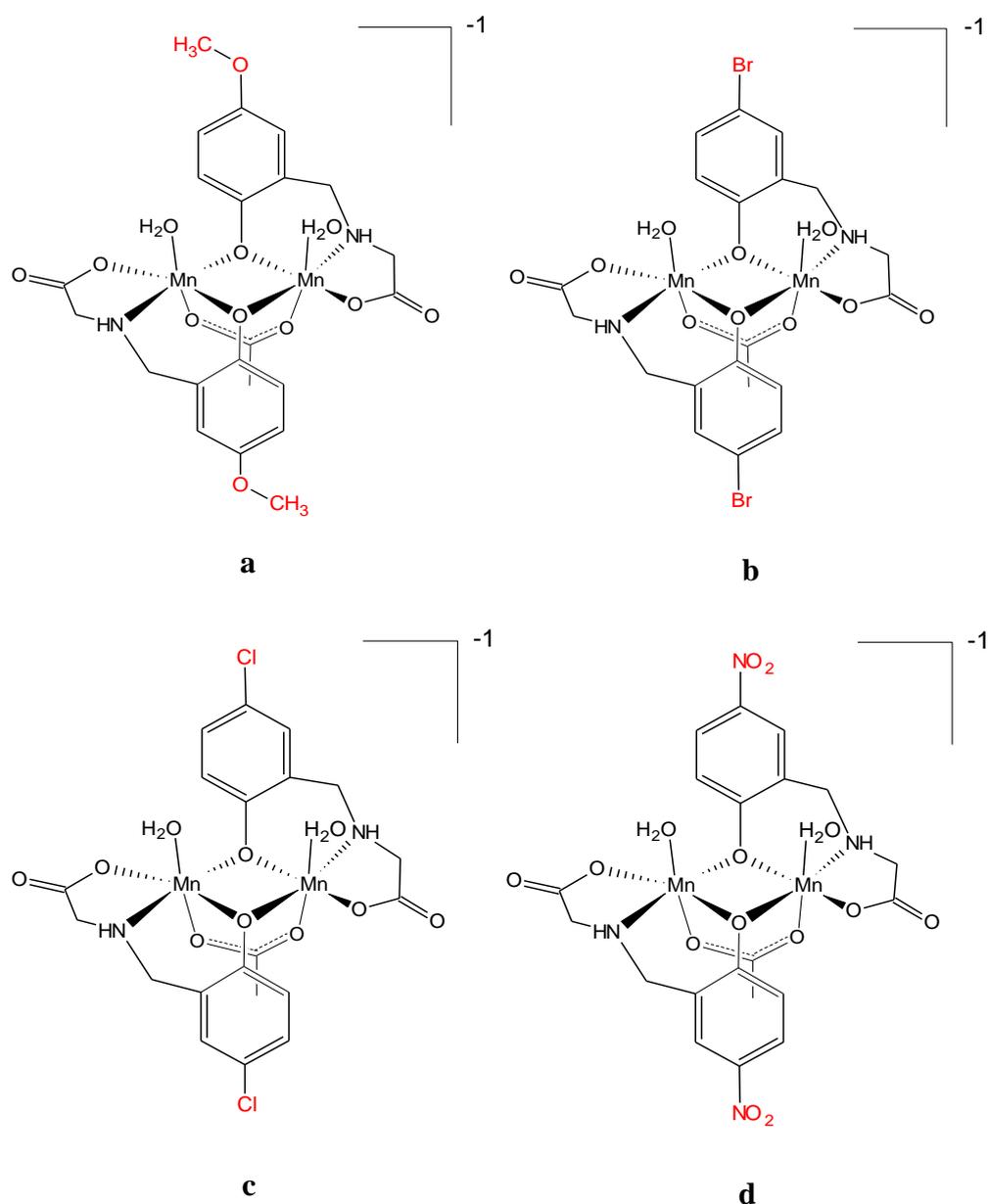


Figura 30: Representações estruturais dos complexos substituídos. O substituintes estão em vermelho.

- a) X= -OCH₃: Ânion μ -acetatodiaquodi(2-hidroxi-5-metóxi-benzilglicinato)dimanganato(II)
 b) X= -Br: Ânion μ -acetatodiaquodi(5-bromo-2-hidroxi-benzilglicinato)dimanganato(II)
 c) X= -Cl: Ânion μ -acetatodiaquodi(5-cloro-2-hidroxi-benzilglicinato)dimanganato(II)
 d) X= -NO₂: Ânion μ -acetatodiaquodi(2-hidroxi-5-nitro-benzilglicinato)dimanganato(II)

Com as energias dos orbitais de fronteira SOMO e LUMO calculadas, foi obtido o valor da dureza absoluta para os complexos. Para comparação foi obtida a dureza absoluta do substrato catecol já abordado na seção 4.2. Tais valores são apresentados na Tabela 18:

Tabela 18: Energia em eletrovolts do SOMO e LUMO, e dureza absoluta para os complexos e substrato.

Complexo	SOMO (eV)	LUMO (eV)	Dureza Absoluta (η)
X= -OCH ₃	-3,50	-0,78	1,36
X= -H	-2,47	1,96	2,22
X= -Br	-2,84	1,69	2,26
X= -Cl	-2,82	1,70	2,26
X= -NO ₂	-2,51	1,91	2,21
Catecol	-6,02	-0,29	2,87

A partir da análise das durezas absolutas dos complexos, conclui-se que o complexo com menor interação com o substrato catecol é o com o substituinte -OCH₃. O caráter doador de densidade eletrônica do grupo -OCH₃ resultou em uma menor dureza absoluta. Os demais complexos apresentaram valores muito próximos.

Os complexos que apresentaram os valores de maior dureza foram os com os substituintes -H, -Cl, -Br e -NO₂, os quais são próximos do valor do substrato catecol de 2,87. Portanto, estes complexos terão melhor interação com o substrato, de acordo com o enunciado do princípio de dureza e maciez de Pearson.

4.3.4 Análise das cargas de Mulliken

As cargas de Mulliken demonstram que os centros metálicos são praticamente iguais. Fato esse que já é esperado devido a equivalência estrutural em ambos os íons metálicos. A Tabela 19 mostra os valores das cargas de Mulliken:

Tabela 19: Valores das cargas de Mulliken para os íons metálicos nos complexos.

Complexo	Mn(1)	Mn(2)
X= -OCH ₃	0,81	0,80
X= -H	0,81	0,81
X= -Br	0,82	0,81
X= -Cl	0,82	0,81
X= -NO ₂	0,83	0,82

4.3.5 Representação gráfica dos orbitais de fronteira

A representação gráfica dos orbitais de fronteira foi gerada para cada complexo. A Figura 31 mostra os SOMOs destes complexos:

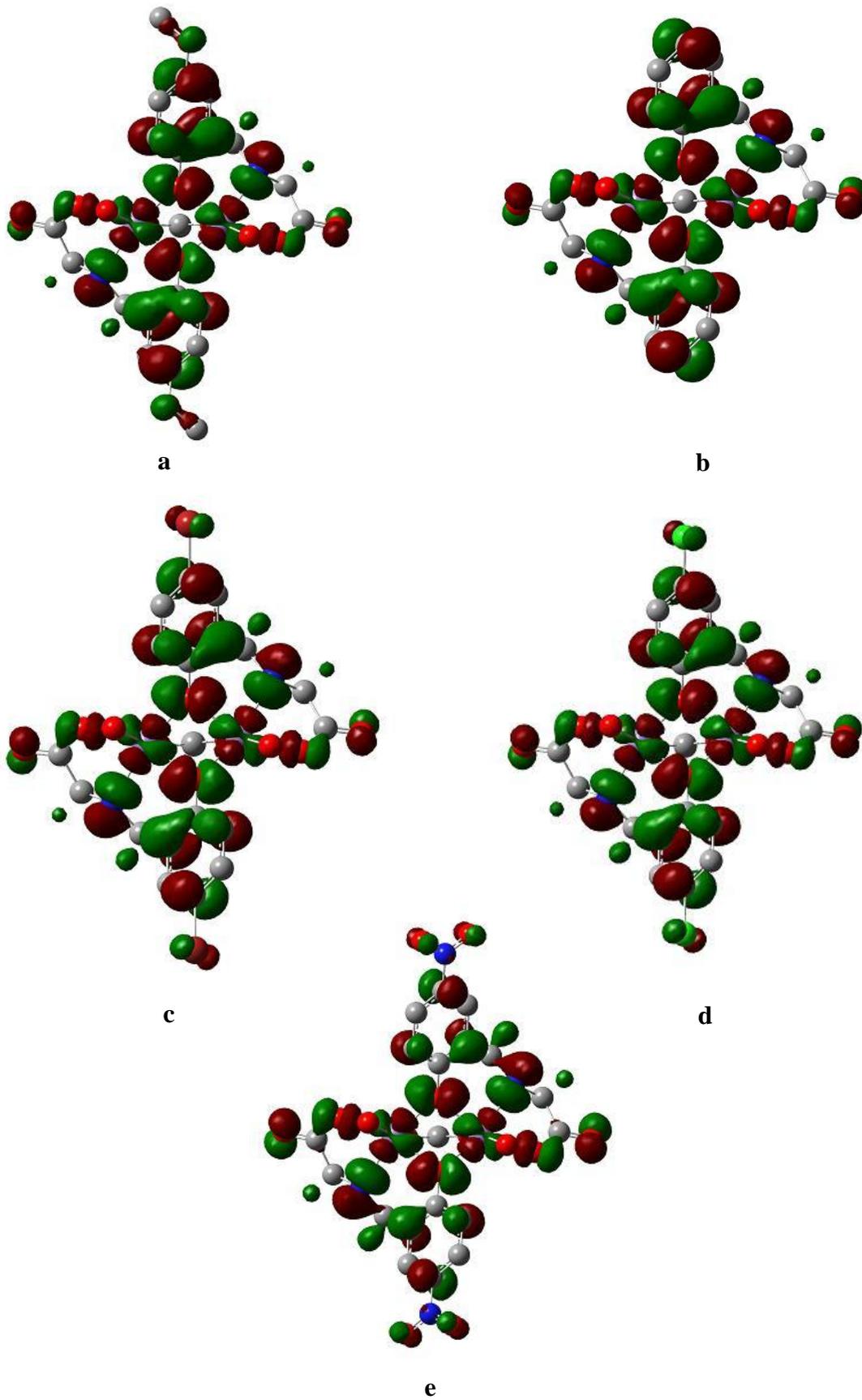


Figura 31: SOMOs dos complexos substituídos: a) X= -OCH₃; b) X= -H; c) X= -Br; d) X= -Cl e) X= -NO₂. Os hidrogênios foram omitidos.

Os SOMOs dos complexos apresentam perfis semelhantes. As principais contribuições para este orbital provêm dos orbitais d_{xy} dos metais e orbitais p dos outros átomos com exceção dos ligantes H_2O .

O orbital de fronteira LUMO pode fornecer a informação necessária para analisar os complexos quanto a possível atividade catalítica da catecol oxidase desempenhada por estes. De acordo com o mecanismo proposto, na reação, a metaloenzima sofre uma redução pela transferência de dois elétrons para oxidar o substrato catecol. Deste modo, deve haver transferência de elétrons para o orbital vazio de menor energia: o LUMO.

A Figura 32 apresenta a representação gráfica dos LUMOs dos complexos:

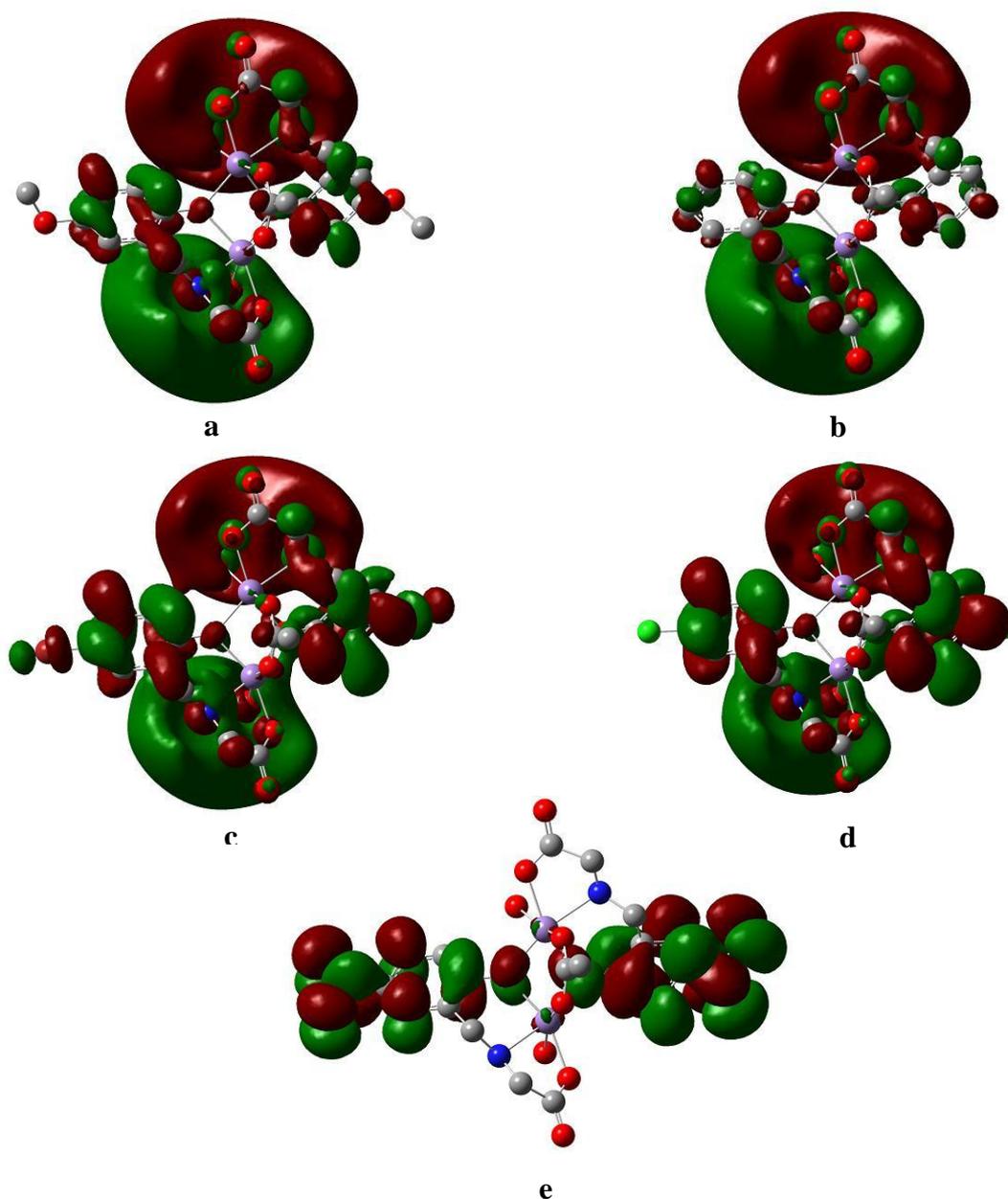


Figura 32: LUMOs dos complexos substituídos: a) $\text{X} = -\text{OCH}_3$; b) $\text{X} = -\text{H}$; c) $\text{X} = -\text{Br}$; d) $\text{X} = -\text{Cl}$; e) $\text{X} = -\text{NO}_2$. Os hidrogênios foram omitidos.

O perfil dos LUMOs dos quatro primeiros complexos é muito semelhante: grande participação dos grupos H₂O e participação menor dos anéis aromáticos, dos nitrogênios e dos grupos carboxilatos. O complexo com -NO₂ apresenta o LUMO com participação relativa quase que exclusivamente dos anéis fenólicos com o substituinte -NO₂. Os íons metálicos apresentaram pequena participação relativa em todos os complexos.

4.3.6 Coeficientes de participação dos oxigênios em ponte e dos íons metálicos no LUMO

Nos mecanismos propostos para catecol oxidase e para outras metaloenzimas, o substrato se liga ao íon metálico. No caso da catecol oxidase, o substrato é oxidado e o íon metálico é reduzido. Deste modo, é preciso analisar o HOMO do substrato e o LUMO no complexo.

Para avaliar o efeito dos grupos substituintes, foram analisados os coeficientes de participação no LUMO dos oxigênios em ponte, os quais estão na posição *para* em relação aos substituintes.

Os valores percentuais dos coeficientes dos oxigênios no LUMO foram obtidos e são demonstrados na Tabela 20:

Tabela 20: Percentual (%) dos coeficientes de participação no LUMO dos oxigênios em ponte.

Orbital	X= -OCH ₃		X= -H		X= -Br		X= -Cl		X= -NO ₂	
	O(4)	O(3)	O(4)	O(3)	O(4)	O(3)	O(4)	O(3)	O(4)	O(3)
s	0,16	0,16	0,32	0,33	0,30	0,31	0,14	0,15	0,61	0,60
p	0,60	0,60	0,59	0,58	0,66	0,71	0,66	0,73	0,76	0,89
Total	0,76	0,76	0,91	0,91	0,96	1,02	0,80	0,88	1,37	1,49

O complexo com o substituinte -NO₂, um forte retirador de densidade eletrônica apresentou o maior valor de participação dos oxigênios no LUMO, cerca de 1,43% na média. Logo após este, o com o substituinte -Br com 0,99% em média, seguido pelo complexo com o substituinte -H com 0,91%. Os que apresentaram os valores percentuais mais baixos foram os complexos com -Cl e o com -OCH₃ nesta ordem, os quais apresentaram na média respectivamente 0,84% e 0,76%.

Pelos valores obtidos é possível inferir que quanto mais desativado o anel aromático principalmente na posição *para*, maior será o percentual de participação do oxigênio no LUMO.

Considerando a particularidade das metaloenzimas de possuírem um metal, foi realizada a análise dos percentuais de participação do metal no LUMO, sobretudo dos orbitais *d*, os quais devem ser os principais responsáveis pela atividade catalítica.

O percentual dos coeficientes de participação dos íons metálicos neste orbital são apresentados na Tabela 21:

Tabela 21: Percentual (%) dos coeficientes de participação no LUMO dos íons Mn^{2+} . Os percentuais dos orbitais *d* estão grifados em vermelho.

Orbital	X= -OCH ₃		X= -H		X= -Br		X= -Cl		X= -NO ₂	
	Mn(1)	Mn(2)	Mn(1)	Mn(2)	Mn(1)	Mn(2)	Mn(1)	Mn(2)	Mn(1)	Mn(2)
s	2,97	2,98	1,88	1,68	1,39	1,34	2,22	2,22	0,49	0,62
p	13,36	13,35	4,91	5,19	11,72	12,01	10,45	10,52	8,38	7,83
d	0,33	0,33	10,95	11,02	4,65	4,48	0,32	0,29	12,73	12,39
Total	16,67	16,67	17,74	17,89	17,76	17,83	12,99	13,03	21,60	20,83

Os valores percentuais demonstram que, o complexo com o grupo -NO₂ como substituinte, apresenta maior contribuição no LUMO por parte dos íons metálicos o que favorece sua ligação com o substrato. Além disso, esta participação é principalmente, feita pelos orbitais *d* dos íons metálicos, os quais são cruciais na atividade catalítica desempenhada por estes. O valor para o complexo com -H foi o segundo maior, apresentando grande participação dos orbitais *d* metálicos (cerca de 11%), frente ao total de cerca de 17,8% em média. O complexo com o grupo -Br como substituinte, apresentou o terceiro maior valor percentual. Apesar disso, a contribuição dos orbitais *d* dos metais não foi tão expressiva. Por fim, os dois últimos foram os com os grupos -OCH₃ e -Cl, os quais apresentaram baixíssimos percentuais referentes aos orbitais *d* e os menores na composição total.

De maneira indireta o maior percentual dos orbitais *d* para o complexo com o grupo -NO₂ deve ser consequência do forte caráter π -aceptor deste, retirando a densidade eletrônica do anel aromático.

O substituinte -OCH₃ possui caráter π -doador doando densidade eletrônica ao anel aromático. Daí o seu menor percentual de participação no LUMO, referente aos orbitais *d* do metal.

O hidrogênio na posição *para* ao fenolato no complexo é apenas σ -doador não apresentando nenhum caráter π .

Por fim, temos os grupos -Cl e -Br que são π -doadores e mais eletronegativos que o carbono do anel aromático. Assim sendo, estes grupos recebem densidade eletrônica pela ligação σ e fazem a retrodoação pela ligação π ao anel aromático. O efeito da retrodoação π nesses dois, reflete os resultados obtidos e apresentados na Tabela 21. O grupo -Br não possui uma capacidade de retrodoação π tão boa quanto o -Cl, porque esta implica na superposição do orbital $4p$ do -Br com um $2p$ do carbono. Uma vez que esses orbitais possuem tamanhos diferentes, o efeito de retrodoação não será tão efetivo. Já com o -Cl há a superposição de um orbital $3p$ com um $2p$ do carbono, a qual será mais favorável do que o anterior refletindo na maior efetividade da ligação π retrodoativa.

Esse efeito de retroadoação π estabiliza o anel, de forma que o anel aromático com o grupo -Cl é menos desativado que o anel com o grupo -Br. Daí o resultado apresentado na Tabela 21, indicando uma maior participação dos orbitais d do íon metálico no complexo com o grupo -Br, quando comparado com o complexo com o grupo -Cl.

5 CONCLUSÕES

Através dos dados de dureza absoluta dos ligantes pode-se concluir que a estabilidade dos complexos formados destes com os íons Mn^{2+} deve seguir a ordem $HBG-Br \approx HBG-Cl > HBG > HBG-OCH_3 > HBG-NO_2$. Os HOMOs dos ligantes, principal responsável pela coordenação com o íon metálico, possuem perfis semelhantes.

A estrutura otimizada do substrato mostrou a possibilidade do mecanismo proposto por Solomon e colaboradores devido a distância dos átomos de oxigênio de cerca de $2,7\text{Å}$, contra $2,9\text{Å}$ dos centros de Cu^{2+} na enzima nativa. Neste mecanismo o substrato se coordena simultaneamente aos dois centros metálicos formando uma estrutura com um anel de sete membros. Vale ressaltar que o mecanismo de Eicken e colaboradores não foi descartado. A dureza absoluta do substrato catecol é de 2,87. O percentual dos coeficientes de participação dos oxigênios no HOMO mostrou que o oxigênio 2 possui maior participação (19,05%) que o oxigênio 1 (14,59%), considerando a estrutura no mínimo de energia obtida.

Para os dois isômeros complexos propostos neste trabalho foi obtido a estrutura para a multiplicidade mais estável. Para o isômero 1, com os ligantes H_2O em posições opostas entre si, a multiplicidade mais estável foi a tripleto sendo esta cerca de 57 Kcal/mol mais estável que a singleto. Já para o isômero 2, cujos ligantes H_2O estão em posições paralelas, a multiplicidade mais estável foi a 11-eto, a qual é cerca de 114 Kcal/mol mais estável que a singleto.

Comparando os dois isômeros, o isômero 2 com a multiplicidade 11-eto é mais estável que a estrutura do isômero 1 na multiplicidade tripleto. A diferença de energia entre as duas estruturas chega a 84 Kcal/mol. Esta estabilidade é explicada pela repulsão eletrônica dos grupos fenolato, amínico e carboxilato do ligante HBG nos íons Mn^{2+} . No isômero 2 esta repulsão é minimizada pela coordenação dos ligantes em posições equatoriais resultando numa maior distância entre os grupos mais volumosos.

A partir do complexo mais estável obtido, foram calculadas as estruturas otimizadas com os substituintes $-OCH_3$, $-Br$, $-Cl$ e $-NO_2$. Os valores dos comprimentos e ângulos de ligação entre tais estruturas foram bem semelhantes.

Com o valor da dureza absoluta calculado para cada complexo, concluiu-se que os complexos com os substituintes $-Br$, $-Cl$, $-H$ e $-NO_2$ apresentaram, respectivamente, maior interação com o substrato catecol. Por outro lado, o complexo com $-OCH_3$ apresentou menor interação relativa com esse substrato.

Os valores das cargas de Mulliken para os dois centros metálicos de Mn^{2+} são praticamente iguais.

A representação do SOMO de maior energia de cada complexo apresentou o mesmo perfil. Já para o LUMO apresentaram um perfil semelhante os complexos com os substituintes $-OCH_3$, $-H$, $-Br$ e $-Cl$: grande participação dos grupos H_2O e participação menor dos anéis aromáticos, dos nitrogênios e dos grupos carboxilatos. O complexo com $-NO_2$ como substituinte, apresentou participação relativa quase que exclusivamente dos anéis fenólicos com o substituinte $-NO_2$.

Os complexos com os substituintes $-NO_2$, $-Br$ e $-H$, apresentaram, nesta ordem, os maiores percentuais de participação dos oxigênios dos fenolatos no LUMO. Já os com os substituintes $-Cl$ e $-OCH_3$ apresentaram os menores percentuais.

Por fim, os complexos com $-NO_2$ e $-H$ foram os que apresentaram maior percentual de participação dos orbitais d dos íons metálicos no LUMO. Um menor percentual apresentou o complexo com o substituinte $-Br$ seguido pelos complexos com $-OCH_3$ e $-Cl$, os quais apresentaram valores percentuais muito baixos. Os valores percentuais parecem estar correlacionados com o caráter π -doador e π -acceptor dos substituintes. O substituinte $-Br$ apresentou maior percentual dos orbitais d que o $-Cl$, devido a seu menor potencial de retrodoação π . Esse efeito fez com que o anel aromático ligado ao $-Br$ ficasse com menos densidade eletrônica que o ligado ao $-Cl$.

Tendo em vista a maior interação com o catecol e os maiores percentuais de participação dos oxigênios em ponte e dos orbitais d do metal no LUMO os complexos mais promissores a desempenharem a possível atividade catalítica da catecol oxidase são os com os substituintes $-NO_2$ e $-H$ seguidos pelo com $-Br$.

REFERÊNCIAS

AMBROSEK, D.; LOOS, P-F.; ASSFELD, X.; DANIEL, C. A theoretical study of Ru(II) polypyridyl DNA intercalators Structure and electronic absorption spectroscopy of $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ and $[\text{Ru}(\text{tap})_2(\text{dppz})]^{2+}$ complexes intercalated in guanine-cytosine base pairs. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 104, 893-901, 2010.

BALDERAS-HERNÁNDEZ, P; ROJAS-HERNÁNDEZ, A.; GALVÁN, M.; ROMO, M.R.; PALOMAR-PARDAVÉ, M.; RAMÍREZ-SILVA, M.T. Determination of the complexation constants of Pb(II) and Cd(II) with thymol blue using spectrophotometry, SQUAD and the HSAB principle. *Spectrochimica Acta Part A*, 66, 68-73, 2007.

BELLE, C.; SELMECZI, K.; TORELLI, S.; PIERRE, J-L. Chemical tools for mechanistic studies related to catechol oxidase activity. *Comptes Rendus Chimie*, 10, 4-5, 271-283, 2007.

BENITE, A.M.C; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. *Quim. Nova*, Vol. 30, 8, 2062-2067, 2007.

BEN-SHALOM, N.; KAHN, V.; HAREL, E.; MAYER, A.M. Catechol oxidase from green olives: properties and partial purification. *Phytochemistry*, 16, 1153-1158, 1977.

BESOMBES, J.-L., COSNIER, S., LABBÉ, P. Polyphenol oxidase-catechol: an electroenzymatic model system for characterizing the performance of matrices for biosensors. *Talanta*, 43, 1615-1619, 1996.

BISWAS, A.; DAS, L. K.; DREW, M. G. B.; AROMÍ, G.; GAMEZ, P.; GHOSH A. Synthesis, Crystal Structures, Magnetic Properties and Catecholase Activity of Double Phenoxido-Bridged Penta-Coordinated Dinuclear Nickel(II) Complexes Derived from Reduced Schiff-Base Ligands: Mechanistic Inference of Catecholase Activity. *Inorg. Chem.*, 51, 7993-8001, 2012.

BLAY, G.; FERNÁNDES, I.; PEDRO, J. R.; RUIZ-GARCÍA, R.; TEMPORAL-SANCHÉS, T.; PARDO, E.; LLORET, F.; MUÑOZ, M. C. Chemistry and reactivity of dinuclear manganese oxamate complexes: Aerobic catechol oxidation catalyzed by high-valent bis(oxo)-bridged dimanganese(IV) complexes with a homologous series of binucleating 4,5-disubstituted-o-phenylenedioxamate ligands. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 250, 20-26, 2006.

COSTA, P.R.R.; FERREIRA, V. F.; ESTEVES, P. M.; VASCONCELLOS, M.L.A.A. Ácidos e Bases em Química Orgânica. Porto Alegre: Bookman, 2005.

COUTO, R. A. A. Atividade de catecolase de uma série de complexos binucleares de manganês(II,III). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

CRAMER, C.J; TRUHLAR, D.G. Density functional theory for transition metals and transition metal chemistry. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 11, 10757-10816, 2009.

DEVLIN, T. M. *Textbook of Biochemistry with clinical correlations*. 4a. New York: Wiley-Liss, 1997.

DONG, S. S.; NIELSEN, R. J.; PALMER, J. H.; GRAY, H.B.; GROSS, Z.; DASGUPTA S.; GODDARD III, W. A. Electronic Structures of Group 9 Metallocorroles with Axial Ammines. *Inorg. Chem.*, 50, 764-770, 2011.

DUARTE, H. A. Índices de reatividade química a partir da Teoria do Funcional de Densidade: Formalismo e perspectivas. *Quim. Nova*, Vol. 24, 4, 501-508, 2001.

EICKEN, C; ZIPPEL, F.; BÜLDT-KARENTZOPOULOS, C.; KREBS, B. Biochemical and spectroscopic characterization of catechol oxidase from sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) containing a type-3 dicopper center. *Federation of European Biochemical Societies*, 436, 293-299, 1998.

EICKEN, C.; KREBS, B.; SACCHETTINI, J.C. Catechol oxidase - structure and activity. *Current Opinion in Structural Biology*, 9, 677-683, 1999.

FARIAS, R.F. (org); OLIVEIRA, A.B.; HOLANDA, A.K.M.; BEZERRA, C.W.B.; AIROLDI, C.; DEMICHELI, C.P.; SILVA, E.H.S.; MAIA, E.C.P.; LOPES, L.G.F.; SALLES, M.R.; GONÇALVES, N.S.; OLIVEIRA, O.A.; BUFFON, R.; MACHADO, S.P. *Química de coordenação: fundamentos e atualidades*. 2 ed. Campinas: Ed. Átomo, 2009.

FREITAS, L. C. G. Prêmio Nobel de Química em 1998: Walter Kohn e John A. Pople. *Quím. Nova*, Vol. 22, 2, 1999.

GERDEMANN, C.; EICKEN, C.; MAGRINI, A.; MEYER, H. E.; ROMPEL, A.; SPENER, F.; KREBS, B. Isozymes of *Ipomoea batatas* catechol oxidase differ in catalase-like activity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1548, 94-105, 2001.

GERDEMANN, C.; EICKEN, C.; GALLA, H.; KREBS, B. Comparative modeling of the latent form of a plant catechol oxidase using a molluscan hemocyanin structure *Journal of Inorganic Biochemistry*, 89, 155-158, 2002.

GERDEMANN, C.; EICKEN; C.; KREBS, B. The Crystal Structure of Catechol Oxidase: New Insight into the Function of Type-3 Copper Proteins. *Acc. Chem. Res.*, 35, 183-191, 2002.

GHERMAN, B.F.; CRAMER, C.J. Quantum chemical studies of molecules incorporating a $\text{Cu}_2\text{O}_2^{2+}$ core. *Coordination Chemistry Reviews*, 253, 723-753, 2009.

GISPERT, J. R. *Coordination Chemistry*. Weinheim: Ed. Wiley-VCH, 2008.

GONÇALVES, M.; GUERREIRO, M. C.; OLIVEIRA, L. C. A.; ROCH, C. L. Materiais à base de óxido de ferro para oxidação de compostos presentes no efluente da despolpa do café. *Quim. Nova*, Vol. 31, 7, 1636-1640, 2008.

GUELL, M. ; SIEGBAHN, P. E. M. Theoretical study of the catalytic mechanism of catechol oxidase. *J Biol Inorg Chem*, 12, 1251-1264, 2007.

HAI-YAN, Zhao; YONG-HENG, Xing; YUN-ZHU, Cao; ZHANG-PENG, Li; DONG-MING, Wei; XIAO-QING, Zeng; MAO-FA, Ge. Synthesis, structure and properties of three new oxidovanadium complexes containing a tridentate salicylaldehydeglycine. *Journal of Molecular Structure*. 938, 54-64, 2009.

JENSEN, K.P. Metal-Ligand Bonds of Second- and Third-Row d-Block Metals Characterized by Density Functional Theory. *J. Phys. Chem. A*, 113, 10133-10141, 2009.

JENSEN, K.P.; CIRERA, J. Accurate Computed Enthalpies of Spin Crossover in Iron and Cobalt Complexes. *J. Phys. Chem. A*, 113, 10033-10039, 2009.

KAIZER, J.; BARÁTH, G.; CSONKA, R.; SPEIER, G.; KORECZ, L.; ROCKENBAUER, A.; PÁRKÁNYI, L. Catechol oxidase and phenoxazinone synthase activity of a manganese(II) isoindoline complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 102, 773-780, 2008.

KOVAL, I.A.; GAMEZ, P.; BELLE, C.; SELMECZI, K.; REEDIJK, J. Synthetic models of the active site of catechol oxidase: mechanistic studies. *Chem. Soc. Review*, 35, 814-840, 2006.

KOVALA-DEMERTZI D.; HADJIKAKOU, S. K.; DEMERTZIS, M. A.; DELIGIANNAKIS, Y. Metal ion-drug interactions. Preparation and properties of manganese (II), cobalt (II) and nickel (II) complexes of diclofenac with potentially interesting anti-inflammatory activity: Behavior in the oxidation of 3,5-di-tert-butyl-o-catechol. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 69, 223-229, 1998.

LI, W.; XIANG-GAO, M.; DONG-SHENG, D.; YA-MEI, P.; LI-MEI, W. Synthesis, temperature-controlled structures and polyphenol oxidase activities of dinuclear manganese(II) complexes with N,N,N',N'-tetrakis(20-benzimidazolylmethyl)- 1,4-diethylene amino glycol ether. *Inorganica Chimica Acta* 387, 181-185, 2012.

LIMA, F.C.A. Estudo teórico de propriedades químicas de sistemas hetero-macro-cíclicos que complexam metais de transição divalentes da primeira e segunda filas. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

LIPPARD, S.J.; BERG, J.M. *Principles of Bioinorganic Chemistry*. Califórnia: University Science Books, 1994.

LOPACHIN, R. M.; GAVIN, T.; DECAPRIO, A.; BARBER, D. S. Application of the Hard and Soft, Acids and Bases (HSAB) Theory to Toxicant-Target Interactions. *Chem. Res. Toxicol.*, 25, 239-251, 2012.

LOVELL, T.; HIMO, F.; HAN, W-G.; NOODLEMAN, L. Density functional methods applied to metalloenzymes. *Coordination Chemistry Reviews*, 238-239, 211-232, 2003.

LUPETTI, K. O.; RAMOS, L. A.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação enzimática de dopamina em formulações farmacêuticas utilizando sistema de análise por injeção de fluxo com extrato de abacate (*Persea americana*). *Quim. Nova*, Vol. 26, 2, 197-201, 2003.

MAJUMDER, A.; GOSWAMI, S.; BATTEN, S. R.; FALLAH, M. S. E.; RIBAS, J.; MITRA, S. Catalytic oxidation of 3,5-di-tert-butylcatechol by a manganese(III) 18-azametallacrown-6 compound: Synthesis, crystal structure, fluorescence, magnetic and kinetic investigation. *Inorganica Chimica Acta*, 359, 2375-2382, 2006.

MEJÍA-URUETA, R.; MESTRE-QUINTERO, K.; VIVAS-REYES, R. DFT-GIAO Calculation of Properties of ^{19}F NMR and Stability Study of Environmentally Relevant Perfluoroalkylsulfonamides (PFASAmide). *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 22, 12, 2268-2274, 2011.

MENDES, J. O. Estudo teórico da estrutura e reatividade do imidazol e da imidazolina. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MIESSLER, G.L.; TARR, D. A. *Inorganic Chemistry*. 4a. Northfield: Prentice Hall. 2010.

MORGON, N. H.; CUSTODIO, R. Teoria do Funcional de Densidade. *Quim. Nova*, Vol. 18, 1, 1995.

MORGON, N. H. Computação em química teórica: informações técnicas. *Quim. Nova*, Vol. 24, 5, 676-682, 2001.

MORGON, N.H; COUTINHO, K (Eds.) et al. *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*. São Paulo: Livraria da Física, 2007.

NILSSON, J.; SHTEINMAN, A. A.; DEGERMAN, E.; ENYEDY, E. A.; KISS, T.; BEHRENS, U.; REHDER, D.; NORDLANDER, E. Salicylamide and salicylglycine oxidovanadium complexes with insulin-mimetic properties. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105, 1795-1800, 2011.

PARR, R. G., YANG, W. *Density-Functional Theory of atoms and molecules*. Oxford: Oxford University Press, 1989.

PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases. *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 3533, 1963.

PEARSON, R. G. Absolute electronegativity and Hardness: Application to inorganic chemistry. *Inorg. Chem.*, 27, 734, 1988.

PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases - The evolution of a chemical concept. *Coordination Chemistry Reviews*, 100, 403-425, 1990.

PEARSON, R. G. Chemical hardness and density functional theory. *J. Chem. Sci.*, Vol. 117, 5, 369-377, 2005.

PERALTA, R. A.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; BRANDÃO, T. A. S.; CASTELLANO, E. E.; OLIVEIRA, M. B.; SEVERINO, P. C.; TERENCEZI, H.; NEVES, A. Catecholase and DNase activities of copper(II) complexes containing phenolate-type ligands. *J. Phys. Org. Chem.*, 23, 1000-1013, 2010.

REY, N. A.; NEVES A.; ALMEIDA, W.B.; SANTOS, H. F.; COSTA, L. A. S. A Promiscuous Dicopper(II) System Promoting the Hydrolysis of Bis(2,4-dinitrophenyl)phosphate: Gaining Mechanistic Insight by Means of Structural and Spectroscopic DFT Studies. *International Journal of Quantum Chemistry*, Vol 110, 1432-1442, 2010.

ROMANOWSKI, S. M. M.; MACHADO, S.P.; FRIEDERMAN, G. R.; MANGRICH, A.S.; HERMANN, M. F.; LIMA, H. O.; NAKAGAKI, S. Synthesis, Characterization, EPR Spectroelectrochemistry Studies and Theoretical Calculations of Manganese(II) Complexes with the Ligands H₃bpeten and H₃bnbpeten. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 21, 5, 842-850, 2010.

SCHWEIGERT, N.; ZEHNDER, A. J. B. ; EGGEN, R. I. L. Chemical properties of catechols and their molecular modes of toxic action in cells, from microorganisms to mammals. *Environmental Microbiology*, 3(2), 81-91, 2001.

SHRIVER, D.F.; ATKINS, P.W.; OVERTON, T.L.; ROURKE, J.P.; WELLER, M.T.; ARMSTRONG, F.A. *Química Inorgânica*, 4a. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 6a. ed. Rio de Janeiro; LTC, 2000.

SOLOMON, E. I.; SUNDARAM, U. M.; MACHONKIN T. E. Multicopper Oxidases and Oxygenases. *Chem.*, 96, 2563-2605, 1996.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. *Química Orgânica*. 8ª. ed. Vol 1. Rio de Janeiro; LTC, 2005.

TORELLI, S.; BELLE, C.; HAMMAN, S.; PIERRE, J-L.; SAINT-AMAN, E. Substrate Binding in Catechol Oxidase Activity: Biomimetic Approach. *Inorg. Chem.*, 41, 3983-3989, 2002.

YUTAKA, H.; AKIRA, A.; HAJIME, M.; TOMOYUKI, I.; TSUNEHIRO, T.; SEJI, O.; TAKUZO, F. Aerobic Catechol Oxidation Catalyzed by a Bis(μ -oxo)dimanganese(III,III) Complex via a Manganese(II)-Semiquinonate Complex. *Inorg. Chem.*, 44, 3473-3478, 2005.