



**Luciana Dornelas Pinto**

**Estudo de complexos de cobre(II) com  
aminoácidos de interesse para a química  
do cérebro**

**Tese de Doutorado**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Química da PUC-Rio, como requisito parcial para  
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadores: Judith Felcman  
Nicolás Adrián Rey

Rio de Janeiro, fevereiro de 2010



**Luciana Dornelas Pinto**

**Estudo de complexos de cobre(II) com aminoácidos de  
interesse para a química do cérebro**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

**Judith Felcman - Orientadora**  
PUC-Rio

**Nicolás Adrián Rey – Coorientador**  
PUC-Rio

**Odivaldo Cambraia Alves**  
UFF

**Marciela Scarpellini**  
UFRJ

**Maurício Lanznaster**  
UFF

**Jacqueline Alves da Silva**  
UEZO

**José Eugenio Leal**  
Coordenador(a) Setorial do Centro Técnico Científico - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 22 de fevereiro de 2010

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do orientador.

### **Luciana Dornelas Pinto**

Graduou-se em Bacharelado em Química Fundamental na Universidade Federal de Juiz de Fora 1999. Fez Mestrado em Química Inorgânica na PUC-Rio, como bolsista CNPq, concluído no período de um ano em março de 2005.

#### Ficha Catalográfica

Pinto, Luciana Dornelas

Estudo de complexos de Cu(II) com aminoácidos de interesse para a química do cérebro / Luciana Dornelas Pinto; orientadora: Judith Felcman ; co-orientador: Nicolás Adrián Rey. – Rio de Janeiro: PUC, Departamento de Química, 2010.

211 f. : il. (color) ; 30 cm

Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química.

Inclui referências bibliográficas.

1. Química – Teses. 2. Alzheimer. 3. Doenças neurodegenerativas. 4. Peptídeo b-amilóide. 5. Aminoácidos. 6. Cobre(II). 7. Complexos de cobre(II) I. Felcman, Judith. II. Rey, Nicolás Adrián. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. IV. Título.

CDD: 540

À minha mãe Lucy, por ter me ensinado  
que cada conquista é fruto de trabalho,  
determinação e coragem e à minha filha  
Raphaela pelo amor e compreensão.

## Agradecimentos

A minha orientadora Profa. Judith Felcman por toda dedicação, carinho e confiança depositados em mim e neste trabalho e por esta oportunidade de crescimento profissional e pessoal.

Ao professor Nicolás Adrián Rey pela coorientação e grande ajuda na etapa final do trabalho.

Ao departamento de Química da PUC-Rio, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

Ao professor Odivaldo Cambraia, por toda ajuda com a realização, interpretação e simulação dos EPRs. E ao Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF) em colaboração com a professora Eliane Wajnberg pela utilização do equipamento de EPR.

Ao professor Ricardo Aucélio da PUC-Rio pela utilização do Láboraório de Análise Eletroquímica e a doutoranda Eliane Monsores pelo carinho e ajuda com a utilização do equipamento.

À professora Bárbara Lúcia por contribuir no dia a dia do laboratório, com informações enriquecedoras para as sínteses.

Ao colega de doutorado Pedro Puppín, agradeço pela contribuição que seus estudos em solução tiveram para o desenvolvimento das sínteses e por todas as discussões de resultados que contribuíram imensamente para este trabalho.

Aos colegas de mestrado Aline e Leonardo sempre dispostos a ajudar e contribuir mesmo nos momentos em que estavam cheios de trabalho a fazer.

À Vanessa Mothé Behring cuja dedicação à iniciação científica vai muito além do trabalho no laboratório, agradeço por todas as horas dedicadas, todas as vezes que ficou até tarde da noite no laboratório, pelos feriados e fins de semana que abriu mão para ajudar.

As alunas de iniciação científica Deborah Flinker e Fernanda que contribuíram na fase inicial do trabalho.

À amiga Jacqueline, que foi responsável pela minha vinda para a PUC-Rio, ao me apresentar à professora Judith, e sempre acreditou no meu potencial.

À ex-aluna de Iniciação Científica Marta que se tornou uma amiga, agradeço pelo carinho e por tornar mais agradáveis os dias longe de casa.

Ao amigo Ilfran por sua presença nos momentos mais difíceis e amizade que levarei pra sempre.

À amiga Sinai, que também levarei pra sempre, cujo bom humor e alegria de viver são contagiantes e foram fundamentais em dias complicados.

Ao colega de doutorado Felipe, agradeço pelo carinho e por ter se tornado um amigo.

Aos demais colegas de laboratório Natalie, Stella, Thaís, Luciene e Renata que fizeram do ambiente de trabalho um lugar agradável.

À Cristiane, Mônica, Débora e Andréa pelo carinho.

À minha tia Leda e as amigas Marília e Rafaela que me receberam e acolheram com tanto carinho no Rio de Janeiro.

Ao José Jorge e Caio pelas análises fundamentais para o trabalho.

À minha família fundamental em todo este processo:

À minha mãe Lucy, por todo seu amor e sua força em toda trajetória.

À minha irmã Michely, pelo apoio.

Meu primo Leonardo e sua esposa Gisela pelo grande carinho.

Minha avó Maria pelo carinho, preocupações e suas orações.

À minha filha Raphaela pela compreensão nos momentos de ausência e correria e por seu grande amor que sempre me deu forças.

Ao José Arthur que passou a fazer parte da minha vida agradeço pela paciência e amor mesmo nos momentos em que estive ausente.

Especialmente a Deus por seu cuidado com a minha vida e por me capacitar a todo instante.

Ao CNPq, pela bolsa concedida durante o curso e a PUC–Rio.

## Resumo

Pinto, Luciana Dornelas; Felcman, Judith. **Estudo de complexos de cobre(II) com aminoácidos de interesse para a química do cérebro.** Rio de Janeiro, 2010. 211p. Tese de Doutorado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Foram sintetizados 16 complexos de cobre(II) coordenados com seis aminoácidos presentes na placa  $\beta$ -amilóide, que está associada à Doença de Alzheimer - ácido aspártico, ácido glutâmico, metionina, glicina, serina e arginina, outros dois aminoácidos também encontrados no cérebro - cisteína e homocisteína, além da L-carnitina e acetil-L-carnitina que vêm sendo utilizados como suplemento alimentar em pacientes com doenças neurodegenerativas. Nosso objetivo foi verificar a afinidade do cobre(II) com estes aminoácidos, uma vez que o envelhecimento provoca aumento no cérebro tanto das concentrações de íons cobre como dos níveis de todos estes aminoácidos (que são consequência de fragmentações peptídicas). Por esta razão, procurou-se trabalhar *in vitro* com condições próximas ao meio biológico utilizando apenas água deionizada como solvente. Os complexos obtidos foram caracterizados pelas seguintes técnicas: análise elementar (espectrometria de absorção atômica e CHN), condutimetria, análise termogravimétrica, ressonância paramagnética eletrônica, voltametria cíclica e espectroscopia no infravermelho. Foi possível verificar que, exceto a acetil-L-carnitina, todos se comportam como ligantes bidentados e complexam facilmente ao cobre(II). Ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, metionina, glicina e arginina se coordenaram através do átomo de oxigênio do grupo carboxilato e do átomo de nitrogênio do grupo amino, cisteína e homocisteína através do átomo de enxofre e do átomo de nitrogênio do grupo amino, L-carnitina através do átomo de oxigênio do grupo carboxilato e do átomo de oxigênio alcoólico e acetil-L-carnitina se coordena monodentadamente através do átomo de oxigênio do grupo carboxilato.

## Palavras-chave

Alzheimer; Doenças neurodegenerativas; Peptídeo  $\beta$ -amilóide; Aminoácidos; Cobre(II); Complexos de cobre(II).

## Abstract

Pinto, Luciana Dornelas; Felcman, Judith (Advisor). **Study of copper(II) complexes containing amino acids of interest for brain chemistry.** Rio de Janeiro, 2010. 211p. PhD. Thesis – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Sixteen complexes of copper(II) with six amino acids that are present in the  $\beta$ -amyloid peptide, which is associated with Alzheimer's disease – aspartic acid, glutamic acid, methionine, glycine, serine and arginine –, two amino acids also found in the brain – cysteine and homocysteine –, as well as L-carnitine and acetyl-L-carnitine, which have been used as food supplement in patients with neurodegenerative diseases, were studied. Our aim was to determine the affinity of copper(II) with these amino acids, since aging causes an increase in brain concentrations of copper ions as well as in the level of all of these amino acids, as a consequence of peptide fragmentation. For this reason, we decided to do an in vitro study in similar conditions as the biological environment, using only deionized water as solvent. These compounds were characterized through the following techniques: elementary analysis (atomic absorption spectrometry and CHN), conductimetry, thermogravimetric analysis, electron paramagnetic resonance, electrochemical analysis, and infrared spectroscopy. It was possible to verify that, except for acetyl-L-carnitine, all amino acids behaved as bidentate ligands. They all form complexes with copper(II) easily. Aspartic acid, glutamic acid, serine, methionine, glycine and arginine coordinate through the oxygen atom of the  $\alpha$ -carboxylate group and the nitrogen atom of the amine group. Cysteine and homocysteine coordinate through the sulfur atom and the nitrogen atom of the amine group, L-Carnitine coordinates through one oxygen atom of the carboxylate group and one oxygen atom of the alcohol group, and acetyl-L-carnitine coordinates through the oxygen atom of the carboxylate group.

## Keywords

Alzheimer; neurodegenerative disease;  $\beta$ -amyloid peptide; amino acids; copper(II); copper(II) complexes.

## Sumário

1 INTRODUÇÃO	19
2 RELEVÂNCIA: ENVELHECIMENTO DA POPULAÇÃO, UMA PREOCUPAÇÃO MUNDIAL	21
3 ENVELHECIMENTO E NEURODEGENERAÇÃO – UMA VISÃO BIOQUÍMICA	22
3.1 Bioquímica e Fisiologia do envelhecimento: Vulnerabilidade para Doenças Neurodegenerativas	22
3.1.1. Alterações fisiológicas macroscópicas do SNC	22
3.1.2. Alterações fisiológicas microscópicas do SNC	24
3.1.3. Radicais livres e o envelhecimento	28
3.2. Desequilíbrio na concentração de íons metálicos e neurodegeneração	30
3.3. Má formação de proteínas: Origem das degenerações	33
3.3.1. Forma estrutural da proteína – Diferentes sítios de mutação	33
3.3.2. Proteínas “misfolded”	35
3.3.3. Neurofibrilas e placas amilóides: Alterações fisiológicas associadas às Doenças Neurodegenerativas (DNs)	36
3.4. Proteínas modificadas: Marcadores patológicos das Doenças Neurodegenerativas (DNs)	38
3.4.1. Proteínas $\beta$ -amilóide e Tau: Doença de Alzheimer (DA)	38
3.4.2. Proteína Priônica PrP <sub>Sc</sub> : Encefalopatia Espongiforme Transmissível (EET)	41
3.4.3. Proteínas alfa-sinucleína e parkina: Doença de Parkinson (DP)	44
3.4.4. Proteína Huntingtina: Doença de Huntington (DH)	45
3.5. Bioquímica das agregações protéicas	45
3.5.1. Serpins: Modelo útil para entender a agregação de proteínas	46
4 OBJETIVO	47

5 JUSTIFICATIVAS	48
6 LIGANTES	50
6.1. Aminoácidos presentes na placa $\beta$ -amilóide	50
6.1.1. Ácido Aspártico	51
6.1.2. Ácido Glutâmico	52
6.1.3. Metionina	53
6.1.4. Glicina	54
6.1.5. Serina	55
6.1.6. Arginina	56
6.2. Outros aminoácidos também presentes no cérebro	57
6.2.1. Cisteína	57
6.2.2. Homocisteína	58
6.3. Compostos usados como suplemento alimentar - auxiliar no tratamento da Doença de Alzheimer	59
6.3.1. L-carnitina	60
6.3.2. Acetil-L-Carnitina	61
7 COBRE(II)	62
7.1. Papel Biológico	62
7.2. Cobre(II) associado à Doença de Alzheimer	63
8 ESTUDOS JÁ REALIZADOS POR NOSSO GRUPO DE PESQUISA COM COBRE E/OU AMINOÁCIDOS PRESENTES NESTE TRABALHO	66
9 EXPERIMENTAL	68
9.1. Materiais e métodos	68
9.1.1. Reagentes e solventes	68
9.1.2. Equipamentos	69
9.2. Síntese dos complexos <b>1-16</b>	70
9.2.1. Complexos do Grupo 1: [Cu(Asp)(Cis)]·H <sub>2</sub> O ( <b>1</b> ); [Cu(Asp)(Met)] ( <b>2</b> ); [Cu(Glu)(Cis)] ( <b>3</b> ) e [Cu(Glu)(Met)]·H <sub>2</sub> O ( <b>4</b> )	70
9.2.1.1. Síntese do complexo [Cu(Asp)(Cis)]·H <sub>2</sub> O ( <b>1</b> )	70

9.2.1.2. Síntese dos complexos [Cu(Asp)(Met)] (2), [Cu(Glu)(Cis)] (3) e [Cu(Glu)(Met)]·H <sub>2</sub> O (4)	71
9.2.2. Complexos do grupo 2: [Cu(hCis) <sub>2</sub> ]·H <sub>2</sub> O (5); [Cu(Asp)(hCis)]·H <sub>2</sub> O (6); [Cu(Glu)(hCis)]·H <sub>2</sub> O (7) e [Cu(Met)(hCis)] (8)	71
9.2.2.1. Síntese do complexo [Cu(hCis) <sub>2</sub> ]·H <sub>2</sub> O (5)	71
9.2.2.2. Sínteses dos complexos [Cu(Asp)(hCis)]·H <sub>2</sub> O (6), [Cu(Glu)(hCis)]·H <sub>2</sub> O (7) e [Cu(Met)(hCis)] (8)	72
9.2.3. Complexos do grupo 3: [Cu(Asp)(Ser)]·H <sub>2</sub> O (9); [Cu(Asp)(Gli)]·H <sub>2</sub> O (10); [Cu(Asp)(Glu)]·H <sub>2</sub> O (11) e [Cu(Asp)(Arg)] (12)	72
9.2.3.1. Síntese do complexo [Cu(Asp)(Ser)]·H <sub>2</sub> O (9)	72
9.2.3.2. Síntese dos complexos [Cu(Asp)(Gli)]·H <sub>2</sub> O (10); [Cu(Asp)(Glu)]·H <sub>2</sub> O (11) e [Cu(Asp)(Arg)] (12)	73
9.2.4. Complexos do grupo 4: [Cu(Lcar)(Cl)(H <sub>2</sub> O)] (13), [Cu(Lcar) <sub>2</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O (14), [Cu(a-Lcar) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ]·H <sub>2</sub> O (15) e [Cu(a-Lcar)(H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O (16)	73
9.2.4.1. Síntese do complexo [Cu(Lcar)(Cl)(H <sub>2</sub> O)] (13)	73
9.2.4.2. Síntese do complexo [Cu(Lcar) <sub>2</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O (14)	74
9.2.4.3. Síntese dos complexos [Cu(a-Lcar)(H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O (15) e [Cu(a-Lcar) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ]·H <sub>2</sub> O (16)	74
9.3. Caracterizações	75
9.3.1. Análise Elementar: (CHN) e absorção atômica	76
9.3.2. Análise condutimétrica	76
9.3.3. Análise termogravimétrica (TGA)	76
9.3.4. Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)	77
9.3.5. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	77
9.3.6. Ressonância paramagnética eletrônica (EPR)	78
9.3.7. Eletroquímica – Voltametria Cíclica	78
10 RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
10.1 Sínteses	79
10.1.1. Considerações Gerais	79
10.1.2. Complexos do grupo 1: [Cu(Asp)(Cis)]·H <sub>2</sub> O (1); [Cu(Asp)(Met)] (2); [Cu(Glu)(Cis)] (3) e [Cu(Glu)(Met)]·H <sub>2</sub> O (4)	81

10.1.3. Complexos do grupo 2: [Cu(hCis) <sub>2</sub> ].H <sub>2</sub> O (5); [Cu(Asp)].H <sub>2</sub> O (6); [Cu(Glu)(hCis)].H <sub>2</sub> O (7) e [Cu(Met)(hCis)] (8)	82
10.1.4. Complexos do Grupo 3: [Cu(Asp)(Ser)].H <sub>2</sub> O (9); [Cu(Asp)(Gli)].H <sub>2</sub> O (10); [Cu(Asp)(Glu)].H <sub>2</sub> O (11) e [Cu(Asp)(Arg)] (12)	82
10.1.5. Complexos do Grupo 4: [Cu(Lcar)(Cl)(H <sub>2</sub> O)] (13); [Cu(Lcar) <sub>2</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .3H <sub>2</sub> O (14); [Cu(a-Lcar) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ].H <sub>2</sub> O (15) e [Cu(a-Lcar)(H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O (16)	83
10.2. Caracterizações	84
10.2.1. Análise Elementar e condutimétrica	84
10.2.2. Análise termogravimétrica (TGA)	87
10.2.3. UV Visível	90
10.2.4. Espectroscopia de Infravermelho (IV)	95
10.2.5. Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)	101
10.2.6. Análise Eletroquímica: Voltametria Cíclica	109
10.2.7. Estruturas Propostas	113
10.2.7.1. Complexos do Grupo 1: 1-4	113
10.2.7.2. Complexos do Grupo 2: 5-8	114
10.2.7.3. Complexos do Grupo 3: 9-12	115
10.2.7.4. Complexos do Grupo 4: 13-16	116
11 CONCLUSÕES	117
12 CONSIDERAÇÕES FINAIS	119
13 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
14 GLOSSÁRIO	141
15 ANEXOS	149

## Lista de figuras

Figura 1 Subdivisões do cérebro	23
Figura 2 Constituição estrutural das proteínas	33
Figura 3 Sequência de aminoácidos da proteína $\beta$ -amilóide (A $\beta$ 1-42)	39
Figura 4 Sítios de clivagem da proteína APP 770	39
Figura 5 Patologia espongiiforme do cérebro nas doenças de Alzheimer (a), e Creutzfeldt-Jakob (b)	41
Figura 6 Estrutura da forma normal (PrP <sub>c</sub> ) e patogênica (PrP <sub>Sc</sub> ) da proteína priônica na Doença de Creutzfeldt-Jakob hereditária	42
Figura 7 Sequência de aminoácidos da proteína $\beta$ -amilóide (A $\beta$ 1-42)	50
Figura 8 Estrutura do ácido aspártico	51
Figura 9 Estrutura do ácido glutâmico	52
Figura 10 Estrutura da metionina	53
Figura 11 Estrutura da glicina	54
Figura 12 Estrutura da Serina	55
Figura 13 Estrutura da arginina	56
Figura 14 Estrutura da cisteína	57
Figura 15 Estrutura da homocisteína	58
Figura 16 Estrutura da L-carnitina	60
Figura 17 Estrutura da acetil-L-carnitina	61
Figura 18 Sítios de coordenação dos íons cobre(II) e comprimentos de onda das bandas d-d nos complexos <b>1-4</b> solubilizados em água	62
Figura 19 Sítios de coordenação dos íons cobre(II) e comprimentos de onda das bandas d-d nos complexos <b>5-8</b> solubilizados em água	92
Figura 20 Sítios de coordenação dos íons cobre(II) e comprimentos de onda das bandas d-d nos complexos <b>9-12</b> solubilizados em água	93
Figura 21 Sítios de coordenação dos íons cobre(II) e comprimentos de onda das bandas d-d nos complexos <b>13-16</b> solubilizados em água	93
Figura 22 EPR sólido à temperatura ambiente dos complexos <b>5-8</b>	103
Figura 23 EPR em solução à temperatura ambiente dos complexos <b>6-8</b>	104
Figura 24 EPR em solução congelada à 77K dos complexos <b>5-8</b>	105

Figura 25 EPR sólido à temperatura ambiente dos complexos <b>9-12</b>	106
Figura 26 EPR em solução congelada à 77K dos complexos <b>9-12</b>	107
Figura 27 EPR em solução à temperatura ambiente e solução congelada dos complexos <b>13-16</b>	108
Figura 28 Voltamogramas cíclicos dos complexos <b>1-4</b> : <b>1</b> e <b>3</b> (preto) e <b>2</b> e <b>4</b> (vermelho), vs Ag / AgCl, 100 mV s <sup>-1</sup>	109
Figura 29 Voltamogramas cíclicos dos complexos <b>5-8</b> , vs Ag / AgCl, 100 mV s <sup>-1</sup>	110
Figura 30 Estruturas propostas para os complexos <b>1-4</b>	113
Figura 31 Estruturas propostas para os complexos <b>5-8</b>	114
Figura 32 Estruturas propostas para os complexos <b>9-12</b>	115
Figura 33 Estruturas propostas para os complexos <b>13-16</b>	116

## Lista de tabelas

Tabela 1 Complexos sintetizados <b>1-16</b> .	70
Tabela 2 Principais características físicas dos complexos <b>1-16</b> e respectivos valores de pH de síntese	84
Tabela 3 Análise elementar dos complexos <b>1-16</b>	85
Tabela 4 Análise condutimétrica dos complexos <b>1-16</b>	86
Tabela 5 Massa molecular e fórmula empírica dos complexos <b>1-16</b>	86
Tabela 6 Valores de TGA dos complexos <b>1-2, 5-10, 12-16</b>	87
Tabela 7 Resultados de UV-Vis dos complexos <b>1-16</b>	90
Tabela 8 Principais bandas de IV dos ligantes Asp, Cis, Met, Glu, hCis, Ser, Gli e Arg.	95
Tabela 9 Principais bandas de IV dos complexos <b>1-12</b>	96
Tabela 10 Principais bandas de infravermelho dos ligantes L-car e a-Lcar e dos complexos <b>13-16</b>	98
Tabela 11 Parâmetros de EPR dos complexos <b>1-14</b>	102
Tabela 12 Dados de voltaetria cíclica dos complexos <b>1-14</b> (vs Ag/AgCl)	109

## Lista de símbolos

Asp – Ácido aspártico

Glu – Ácido Glutâmico

Met – Metionina

Ser – Serina

Arg – Arginina

Gli – Glicina

Cis – Cisteína

hCis – Homocisteína

Lcar – L-carnitina

a-Lcar – Acetil-L-carnitina

IV – Infravermelho

UV – Ultravioleta

TGA – Análise termogravimétrica

EPR – Ressonância paramagnética eletrônica

SNC – Sistema Nervoso Central

AAT – alfa1-antitripsina

APP – Proteína precursora da amilóide

**“O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário.”**

**Albert Einstein**