



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Curso de Graduação em Química Bacharelado

**ESTUDO DA HIDRÓLISE DO 8-QUINOLIL FOSFATO NA
PRESENÇA DE ÍONS LANTÂNIO III**

BRUNO SILVEIRA DE SOUZA

FLORIANÓPOLIS/SC
NOVEMBRO – 2005

BRUNO SILVEIRA DE SOUZA

**ESTUDO DA HIDRÓLISE DO 8-QUINOLIL FOSFATO NA
PRESENÇA DO ÍON LANTÂNIO III**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Química (área de concentração: Físico-Química Orgânica), da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Química

Coordenadora de Estágio: Prof^a. Dra. Iolanda da Cruz Vieira

Orientador: Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

FLORIANÓPOLIS / SC

NOVEMBRO - 2005

RESUMO

Monoésteres de fosfato estão presentes em diversos sistemas biológicos, principalmente nos processos de regulação da atividade metabólica, onde a reação de transferência do grupo fosforila é catalisada por fosfatases e cinases. É conhecido que esses sistemas enzimáticos utilizam muitas vezes íons metálicos nos seus centros ativos. Embora lantanídeos não estejam presentes nos sistemas biológicos, seu efeito catalítico acentuado e especial poderá ser útil na construção dos novos catalisadores que poderão ser utilizados na indústria ou em terapias médicas.

Nesse trabalho foi estudada a reação de hidrólise do 8-quinolil fosfato (8QP) na presença do íon La^{3+} e 1,3-bis[tris(hidroximetil)metilamino]propano (BTP). Os estudos de associação demonstraram a formação de um complexo do tipo 1:1 entre o 8QP e o La^{3+} e entre o 8-quinolinol (8QOH) e La^{3+} .

A constante de velocidade para hidrólise do 8QP na presença do íon lantanídeo é sensível ao pH do meio, indicando a participação de íons hidróxido. O ataque do íon hidróxido sobre o átomo de fósforo do 8QP pode ocorrer através do ataque de um íon hidróxido coordenado ao íon La^{3+} ou diretamente de um íon hidróxido proveniente do restante da solução. Esses dois caminhos são indistinguíveis através dos experimentos cinéticos realizados no presente trabalho.

Não houve efeito do tampão BTP na cinética da reação, indicando que ele não afeta a coordenação entre o substrato e o lantanídeo. O íon La^{3+} apresentou uma grande eficiência sobre a reação de hidrólise do 8QP. A comparação do perfil de pH para a hidrólise do 8QP na ausência e presença do íon La^{3+} demonstrou um fator catalítico superior a 10^7 vezes em pHs superiores a 7,0.

Através de estudos teóricos observou-se que a complexação muda o caráter da ligação $\text{P-O}_{\text{fenol}}$, que passa a exibir um caráter menos covalente no complexo $\text{La}(\text{8QP})(\text{H}_2\text{O})_5^+$ do que no complexo $\text{8QP}(\text{H}_2\text{O})_3$, o que favorece o ataque nucleofílico sobre o átomo de fósforo e facilita a expulsão do grupo de saída.

Esse trabalho demonstrou uma eficiência catalítica bem pronunciada do íon lantânio (III) sobre a reação de hidrólise de monoésteres de fosfato. Assim, os resultados demonstrados aqui são úteis para a elaboração de novos catalisadores, como também demonstram que o íon lantânio (III) por si só pode ser utilizado como um catalisador em diversas reações.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a meus pais, Mário e Maria, o exemplo de honestidade, perseverança e caráter. Sem o apoio dos mesmos e sem a educação por eles transmitida certamente não conseguiria concluir esta etapa de minha vida e não teria vontade de enfrentar desafios maiores. Agradeço também a meu irmão Samuel o companheirismo e amizade que a cada encontro tornam-se mais forte. Minhas avós, Riqueta e Nina, pela preocupação e amor que sempre demonstraram.

Também gostaria de agradecer ao professor Rosendo a oportunidade de ingressar em seu grupo de pesquisa. Na época tive o prazer de aprender muito do que sei com a hoje doutora Paula. Agradeço também ao professor Faruk a orientação e exemplo de amor à pesquisa, e ao Tiago, que desde o começo de meu trabalho no LACFI mostrou-se um profissional de primeira e um verdadeiro amigo, sempre disposto a me orientar, pagar e corrigir painéis, resumos e inclusive o TCC, até mesmo nos feriados e fins de semana em sua casa. Além dele, todos os outros colegas do laboratório me ensinaram algo. Muito obrigado a todos, principalmente Jacks e Elisa.

Não poderia esquecer de agradecer a meus amigos o companheirismo e apoio nos momentos de dificuldade. Eles sempre souberam me animar e a grande maioria foi paciente quando nas noites que saíamos eu insistia em falar de química. Espero sempre ter ao meu lado bons e divertidos amigos, principalmente Jean, Fernando, Jeovane, Adriano, Mallman, Mônica, Andressa, Ihor, Chiara, Rodrigo, Juliana, Daniel, Larissa, Paula, Maria Alice, Marco, André, Marcelo e Eduardo, entre outros amantes do maracujá. Vocês são muito importantes, mesmo quando me distanciam do trabalho e estudo e insistem para sair inclusive nos dias de semana. Muito obrigado a todos.

Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico a bolsa de Iniciação Científica e também à Universidade Federal de Santa Catarina pelo espaço físico. Por fim, agradeço a contribuição valiosa que o Professor Ricardo Longo, da Universidade Federal de Pernambuco, tem dado ao nosso trabalho.

“As terras raras desnorteiam-nos em nossas pesquisas, confundem-nos em nossas especulações, e assombram-nos em nossos sonhos. Elas estendem-se como um desconhecido ante nós, zombando, mistificando e murmurando revelações e possibilidades estranhas.”

Sir William Crooke, 1832-1919

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Hidrólise de monoésteres de fosfato não-catalisada por íons metálicos	2
1.2 Catálise da hidrólise de monoésteres de fosfato por íons lantanídeos	5
2. JUSTIFICATIVA	10
3. OBJETIVOS	11
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
4.1 Equipamentos	12
4.2 Reagentes	12
4.3 Síntese do 8-quinolil fosfato (8QP)	12
4.4 Medidas cinéticas	13
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
5.1 Estudos de Associação do 8-Quinolil Fosfato e o 8-Quinolilol com Ion La^{3+} Através de Espectroscopia no UV-Vis	15
5.2 Estudos Cinéticos da Hidrólise do 8-Quinolil Fosfato na Presença do Íon La^{3+}	19
5.3 Cálculos dos orbitais moleculares	24
6. CONCLUSÃO.....	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Raio iônico para íons lantanídeos de carga +3 e número de coordenação 8...	7
Figura 2. Logaritmo das constantes de estabilidade dos complexos entre os lantanídeos e tampões biológicos.....	8
Figura 3. Espectros de UV-VIS de soluções $3,33 \times 10^{-5}$ M do 8QP (a) e 8QOH (b) na presença de 0,32 a 3,2 mM de LaCl_3 , em pH 7,00, 0,01 M de BTP e 25,0 °C.....	16
Figura 4. Absorbância de soluções $3,33 \times 10^{-5}$ M do complexo $\text{La}(\text{8QOH})^{2+}$ em 255 nm <i>versus</i> $[\text{La}^{3+}]$ em diferentes pHs e 25,0 °C.....	17
Figura 5. Espectros de UV-VIS de uma solução $4,18 \times 10^{-5}$ M de 8QP em (a) pH 2,02, (b) pH 4,94 e (c) pH 7,75, a 25,0 °C.....	19
Figura 6. Constantes de velocidade observadas para a reação de hidrólise de soluções $3,33 \times 10^{-5}$ M do 8QP na presença de La^{3+} em diferentes pHs, 0,01 M de BTP e 25,0 °C. As linhas contínuas representam os valores calculados utilizando a Eq.2	20
Figura 7. Logaritmo da constante de primeira ordem <i>versus</i> o pH para a reação de hidrólise do complexo $\text{La}(\text{8QP})^+$, 0,01 M de BTP e 25,0 °C.....	21
Figura 8. Dois possíveis caminhos para o ataque do íon hidróxido sobre o átomo de fósforo do 8QP.....	22
Figura 9. Gráfico da constante de velocidade observada <i>versus</i> pH para a reação de hidrólise do 8QP na ausência (\square) e presença (\bullet) de La^{3+} , a 25,0 °C.....	22
Figura 10. Efeito da concentração do tampão bis-tris propano sobre a constante de velocidade de hidrólise do 8QP na presença de 1mM de La^{3+} , pH 8,0 e 25,0 °C...	24
Figura 11. Estruturas otimizadas para os complexos do 8QP e três moléculas de água e para o complexo entre o 8QP, La^{3+} e cinco moléculas de água utilizando ECP/B3LYP/6-31+G(d).....	25

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Valores das constantes de associação e das absorvidades molar para o complexo $\text{La}(\text{8QOH})^{2+}$ em 255 nm a diferentes pHs, 0.01 M de BTP e 25,0 °C....	18
--	----

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

RNA – Ácido Ribonucléico

Ln – Lantanídeos

BTP – Bis-Tris Propano

8QP – 8-quinolil fosfato

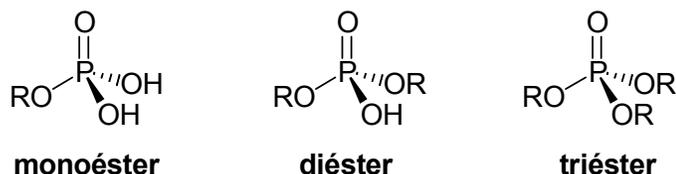
8QOH – 8-quinolinol

DFT – do inglês, *Density Functional Theory*

ECP – do inglês, *Effective Core Potential*

1. INTRODUÇÃO

Os ésteres de fosfato constituem uma classe extremamente abrangente de compostos, podendo ser classificados em mono, di ou triésteres dependendo do número de grupos alquil ou aril presentes em sua estrutura. É importante ressaltar que mono e diésteres de fosfato podem atuar como ácidos mono e dipróticos, respectivamente.



Esses compostos estão presentes em diversos processos industriais como plastificantes, complexantes e reagentes para preparação de polímeros. Além destas aplicações, a estrutura dos ésteres de fosfato também é a base de diversos pesticidas, como o paration e o profenofos, e de gases tóxicos utilizados como armas de guerra como o agente VX¹.

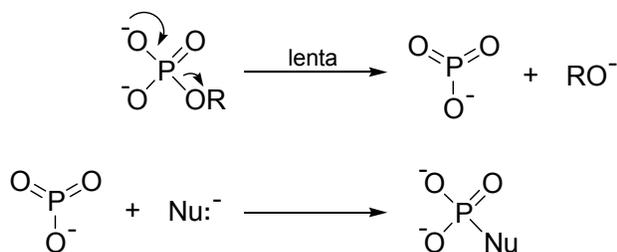
Por outro lado, com exceção dos triésteres, estes compostos estão presentes nos sistemas biológicos, por exemplo, diésteres de fosfato participam das composições do DNA e do RNA, onde os grupos fosfato conferem a estabilidade requerida para a manutenção do código genético. Outra classe de compostos de extrema importância nos sistemas biológicos são os monoésteres de fosfato, eles estão presentes em diversos processos de regulação da atividade metabólica, onde a reação de transferência do grupo fosforila é catalisada por fosfatases e cinases². Estas reações são extremamente lentas na ausência de catalisadores, por exemplo, o tempo de meia-vida para a clivagem da forma dianiônica do metil fosfato é da ordem de 10^{-14} s^{-1} , ou seja, este composto possui um tempo de vida que chega a ser superior ao da idade da Terra³. Contudo, esta mesma reação sofre um aumento de 10^{15} vezes quando na presença da fosfatase alcalina presente na *Escherichia coli*⁴. Esses fatos tornam difíceis e ao mesmo tempo interessante o estudo dessas reações e a forma como são catalisadas.

Nos últimos anos, os íons metálicos e seus complexos vêm sendo bastante estudados nas reações de hidrólise de ésteres de fosfato por apresentarem um efeito catalítico extremamente elevado, algumas vezes comparável aos efeitos catalíticos de algumas enzimas. Dentre os íons metálicos utilizados como catalisadores destacam-se atualmente os lantanídeos e seus complexos, que apesar de não estarem presentes nos sistemas biológicos apresentam uma catálise bem elevada de forma que poderiam ser aplicados futuramente na construção de novos catalisadores para inúmeros processos biológicos e industriais, ou mesmo atualmente na destruição de depósitos de armas de guerra ou na recuperação de áreas contaminadas com agentes agrícolas.

1.1 Hidrólise de monoésteres de fosfato não-catalisada por íons metálicos

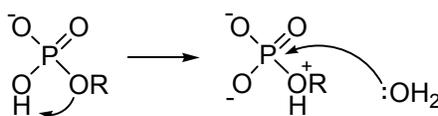
A hidrólise de ésteres de fosfato pode se dar através da quebra da ligação C-O ou P-O. Enquanto a clivagem através da ligação C-O ocorre somente para ésteres alquílicos, em ésteres arílicos o único processo observado é a quebra da ligação P-O. Basicamente, a reação pode caminhar em dois sentidos, via um mecanismo dissociativo ou via um mecanismo associativo. Em geral, os fatores envolvidos na hidrólise e transferência do grupo fosforila de ésteres de fosfato dependem do grupo de saída, do pH do meio e do efeito do solvente⁵. O pH do meio é bem importante, em geral as espécies dos monoésteres de fosfato apresentam diferentes reatividades, onde se observa que acima de pH 5 a hidrólise da espécie dianiônica é a mais importante, entre pHs 2-5 a espécie monoaniônica e somente abaixo de pH 2 a espécie mais reativa é a neutra.

No caso de diânions de monoésteres, as primeiras propostas para o mecanismo de hidrólise eram do tipo $S_N1(P)$, formação do íon metafosfato planar que sofre ataque de um nucleófilo presente no meio (**Esquema 1**). Porém, a ocorrência de uma fraca dependência com a basicidade de nucleófilos e a existência de inversão da configuração nos produtos de hidrólise indicaram um mecanismo associativo em meio aquoso^{6,7}.



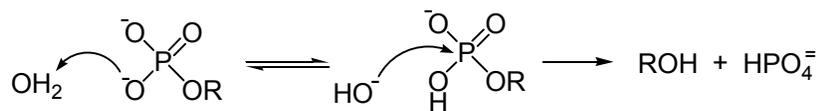
Esquema 1

A hidrólise de monoânions de monoésteres é geralmente mais rápida do que a de diânions, devido principalmente à transferência de próton interna que estabiliza o grupo de saída (**Esquema 2**).



Esquema 2

Na região de hidrólise do diânion, baseado nos dados cinéticos de Wolfenden³ e Williams², outro mecanismo proposto indicou a possibilidade de abstração de um próton de uma molécula de água próxima levando a formação da espécie monoaniônica do monoéster, seguido do ataque do hidróxido presente (**Esquema 3**).

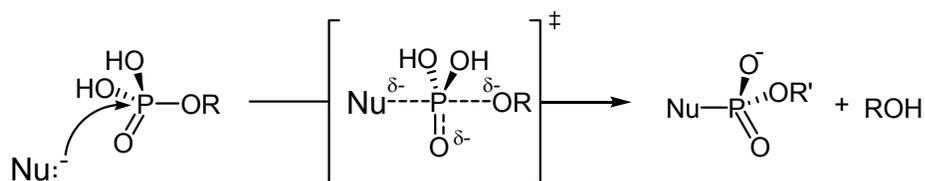


Esquema 3

Por outro lado, Herschlag e col.⁸ estudaram a reação de hidrólise do monoânion do 2,4-dinitrofenil fosfato e do seu análogo metil 2,4-dinitrofenil fosfato. Comparando o valor da constante de velocidade de segunda ordem (k_{HO^-}) para o metil 2,4-dinitrofenil fosfato com o valor calculado segundo a proposta do **Esquema 3** para o 2,4-dinitrofenil fosfato, concluíram que o valor desta constante deveria ser 10^9 vezes maior para o 2,4-dinitrofenil fosfato do que para o metil 2,4-dinitrofenil. Assim, concluíram que esse processo é extremamente desfavorável e o mecanismo improvável. Contudo, análises

mais recentes colocam em dúvida este tipo de correlação e ainda hoje existe grande discussão com relação a esse mecanismo.

Em condições ácidas, a hidrólise da espécie neutra de monoésteres é muito mais rápida que a hidrólise das espécies aniônicas. O mecanismo de hidrólise é do tipo adição-eliminação, com estado de transição pentacoordenado. No estado de transição o grupo de saída e o nucleófilo ocupam as posições apicais, um processo conhecido como “ataque em linha”^{9, 10} (**Esquema 4**).



Esquema 4

Lahiri e col.¹¹ demonstraram através de um estudo recente a existência de um intermediário fosforano pentacoordenado, de geometria bipirâmide trigonal, numa reação de isomerização catalisada pela β-fosforil glucomutase. O intermediário é estabilizado por resíduos de aminoácidos presentes no sítio ativo da enzima e o comprimento da ligação apical entre o átomo de fósforo, grupo de saída e nucleófilo demonstram um fraco grau de ligação.

Apesar de certa discordância, o ponto de vista atual em relação ao mecanismo de hidrólise de monoésteres de fosfato considera um caminho com características dissociativas com certa dependência da nucleofilicidade do grupo de ataque. Assim, o metafosfato livre não é formado necessariamente como intermediário, mas o estado de transição da reação envolve a quebra da ligação do grupo de saída com pequena formação de ligação com o nucleófilo¹².

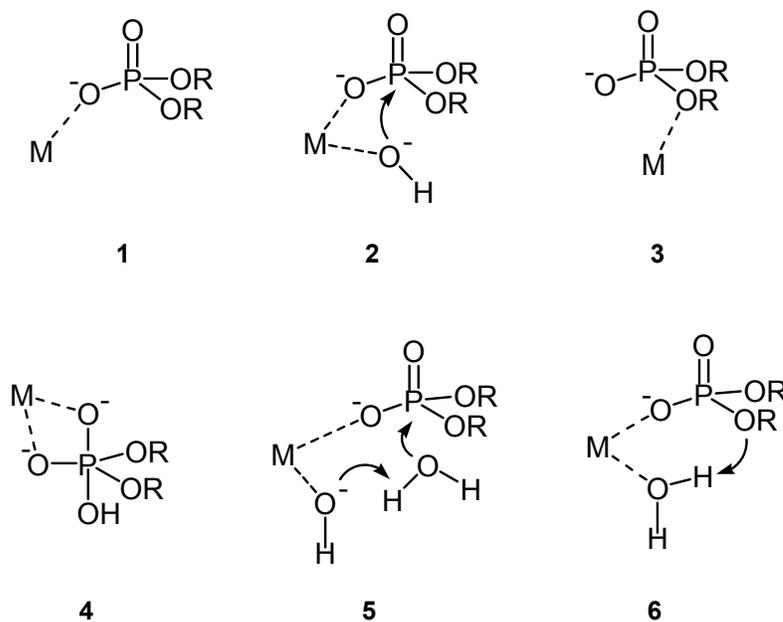
1.2 Catálise da hidrólise de monoésteres de fosfato por íons lantanídeos

Como visto, a hidrólise de ésteres de fosfato é extremamente lenta na ausência de catalisadores. Nos sistemas biológicos, muitas enzimas catalisam reações onde ésteres de fosfato estão envolvidos, sendo que freqüentemente íons metálicos estão presentes como cofatores da atividade enzimática¹³. Os íons metálicos presentes nessas enzimas são responsáveis por contribuírem com a conformação adotada pela enzima, bem como podem participar diretamente no sítio ativo como ácidos de Lewis, acelerando as reações num fator muitas vezes em torno de 10^{17} vezes¹⁴.

Diversos modelos da catálise enzimática vêm sendo utilizados para elucidar o papel de íons metálicos a nível molecular. Morrow e col¹⁵ estudaram a reação de hidrólise do modelo de RNA propileno glicol 4-nitrofenil fosfato, observando que a reação desse éster é catalisada por diferentes íons metálicos, La^{3+} , Gd^{3+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Ca^{2+} . Entre as características mais importantes que propiciaram a catálise pelos metais, esses autores ressaltaram a acidez, raio iônico, número de coordenação e formação de espécies contendo íons hidróxido.

A interação entre o metal e o substrato ocorre através de duas formas, direta ou indireta. Na ativação direta, também chamada de esfera interna, o íon metálico interage com o substrato catalisando a reação de diferentes maneiras (**Esquema 5**)^{14, 16}: (i) a ativação por ácido de Lewis **1**, que permite um aumento do caráter eletrofílico do átomo de fósforo, aumenta a carga do complexo e favorece o ataque de nucleófilos; (ii) ativação nucleofílica **2**, consiste da coordenação de um nucleófilo tal como o íon hidróxido, este processo pode ocorrer mesmo em meio neutro e decorre da diminuição do $\text{p}K_a$ do ácido conjugado do nucleófilo, este processo também permite a orientação e aproximação adequada entre os grupos reativos; (iii) ativação do grupo de saída **3**, coordenação ao oxigênio do grupo de saída ao íon metálico, equivalente a diminuir a basicidade do grupo de saída; (iv) quelação ao estado de transição pentacoordenado **4**, estabilizando e controlando o curso estereoquímico da reação. Adicionalmente, os modos indiretos de ativação, também conhecidos como de esfera externa são: (v) o complexo entre o íon hidróxido e o íon metálico, que age como um catalisador base-geral intramolecular **5**; (vi) através de moléculas de água que coordenadas ao metal podem agir como um catalisador ácido-geral intramolecular **6**; (vii) através da interação

eletrostática do metal com um fosfato ou com moléculas do nucleófilo não-coordenadas, que também pode prover aceleração na constante de velocidade.



Esquema 5

A utilização de íons lantanídeos como catalisadores de reações de transferência do grupo fosforila tem sido bem documentada. Nos próximos parágrafos será feita uma breve revisão sobre as características principais dos lantanídeos, bem como a formação de espécies de coordenação destes metais em água e seu papel na catálise.

O estado de oxidação +3 é o mais estável para os metais dessa série, com exceção do íon Ce, com estado de oxidação +4. Estes íons possuem configurações eletrônicas do tipo $[\text{Xe}] 4f^n$ ($n = 0-14$), onde se observa que os orbitais $4f$ estão localizados na parte interna do átomo e são parcialmente protegidos pelos elétrons dos orbitais $5s$ e $5p$. Assim, os elétrons nos orbitais $4f$ não participam das ligações e possuem muito pouco envolvimento com os orbitais dos ligantes. Devido a este fato, os íons lantanídeos formam complexos com alto caráter iônico^{17, 18}.

Outra propriedade interessante dos Ln^{3+} , é a diminuição gradativa do raio iônico com o aumento do número atômico desses elementos, conhecida como “contração lantanídica” (**Figura 1**)¹⁹. A causa principal para este fenômeno é o efeito eletrostático associado com o aumento da carga nuclear blindada imperfeitamente pelos elétrons $4f$,

além de outras contribuições, como em torno 10% devido a efeitos relativísticos²⁰. Desta forma, a densidade eletrônica dos íons dessa série aumenta no sentido de La para o Lu. É interessante notar que os raios iônicos dos íons dessa série são muito similares ao do Na^+ e do Ca^{2+} (1,02 e 1,00 Å, respectivamente), os quais possuem um forte caráter iônico nas suas ligações, mas possuem densidade de carga (q/r) mais baixa em relação aos lantanídeos, formando complexos mais fracos. Assim, é comum que esses metais sejam permutados por íons lantanídeos em complexos¹⁸.

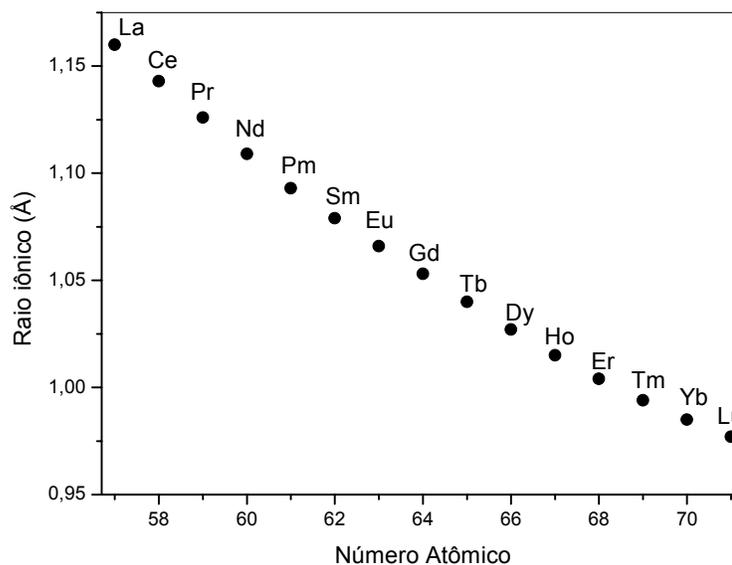


Figura 1. Raio iônico para íons lantanídeos de carga +3 e número de coordenação 8.

Um fato importante relacionado com a diminuição do raio iônico desses cátions é o aumento da acidez com o aumento do número atômico, por exemplo, o pK_a da água coordenada a La^{3+} , o maior lantanídeo, é de 9,33, enquanto no menor dos lantanídeos, Lu^{3+} , o pK_a é de 8,17. Devido a isso, mesmo em pH 7, ocorre formação significativa de complexos contendo íons hidróxido coordenados aos lantanídeos. Esses complexos agregam e formam espécies polinucleares que tendem a formar géis ou precipitados, mesmo em pHs neutros. Devido a este fato, o estudo com lantanídeos em pHs acima de 5 são extremamente difíceis de serem reproduzidos. Uma alternativa bem atrativa que tem sido utilizada para evitar a agregação e precipitação de lantanídeos é o uso de complexantes, tais como os tampões biológicos (**Figura 2**), que estabilizam os íons em

solução e não diminuem substancialmente a atividade fosfoesterolítica do íon livre²¹,

22.

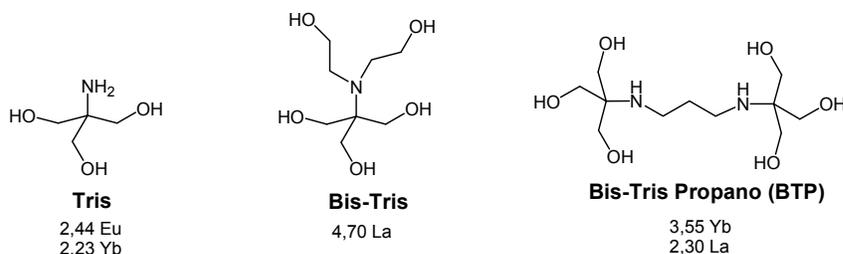
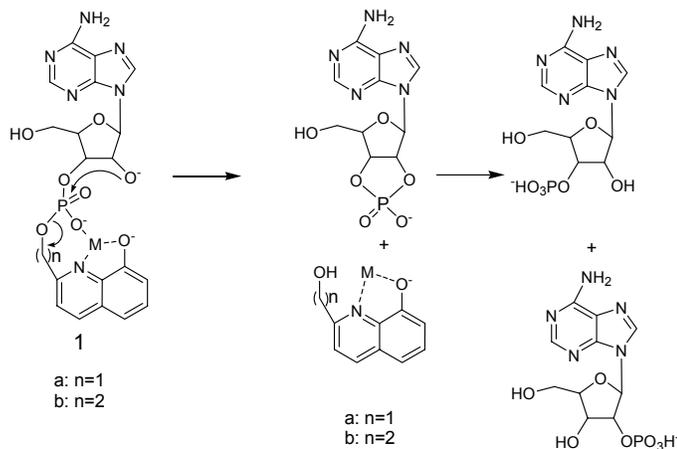


Figura 2. Logaritmo das constantes de estabilidade dos complexos entre os lantanídeos e tampões biológicos²³.

O efeito dos íons lantanídeos nas reações de substituição nucleofílica em ésteres de fosfato vêm sendo bem explorado. Estes metais, devido à alta razão carga raio, ao elevado número de coordenação em solução e à sua restrição geométrica relativamente pequena, oferecem vantagens sobre os demais metais de transição¹⁵.

Os fosforodiesteres **1a** e **1b** foram usados como modelos para a clivagem do RNA promovida pelos íons metálicos Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} e La^{3+} (**Esquema 6**). Estes metais foram utilizados para catalisar a transesterificação desses compostos, ou seja, a formação da 2',3'-cicloadenosina monofosfato e do naftol correspondente²⁴.



Esquema 6

O fator catalítico alcançado pelos íons metálicos na reação de transesterificação foi de 10^3 para Mg^{2+} , 10^5 com Cu^{2+} e Zn^{2+} e 10^9 para La^{3+} . Por outro lado, a constante de associação foi da ordem de 10^2 vezes menor para complexos com La^{3+} do que para complexos com Zn^{2+} . Assim, o aumento da constante de velocidade para hidrólise do complexo com La^{3+} pode ter origem na combinação da catálise pelo ácido de Lewis, devido à coordenação com oxigênios do fosfato, e também a interações com o oxigênio do grupo de saída no estado de transição, além da estabilização do grupo de saída. Estudos de modelagem molecular nos compostos **1a** e **1b** mostraram que o íon La^{3+} é o único dos metais que pode oferecer essa diversidade de efeitos, que se deve à inexistência de uma geometria de coordenação rigorosa presente nos metais de transição²⁴.

Como visto, os íons lantanídeos oferecem vantagens sobre os demais metais de transição, apresentam maior carga, número de coordenação mais elevado e menor restrição geométrica. Esses fatos têm feito que alguns autores especulem que a natureza poderia ter utilizado lantanídeos ao invés dos metais encontrados nos sistemas biológicos se sua biodisponibilidade fosse diferente no passado²³. Baseado nos aspectos especiais dos íons da série dos lantanídeos, os mesmos poderão ser utilizados na síntese de novos catalisadores. Os íons livres e seus complexos mais simples podem ser extremamente úteis em diversos processos químicos, como na destruição de armas de guerra e degradação de inseticidas²⁵.

2. JUSTIFICATIVA

A importância da química do átomo de fósforo nos sistemas biológicos por si só justificaria o estudo das reações onde este elemento está presente. Os ésteres derivados do ácido fosfórico são extremamente importantes nos sistemas ligados à vida.

O entendimento dos mecanismos envolvidos nos processos biológicos vêm sendo estudados a décadas por vários pesquisadores. Até o presente, muitas questões sobre tais mecanismos foram respondidas ao passo que muitas outras ainda precisam ser exploradas. Para um entendimento mais aprofundado de tais processos, diversos modelos de reações de transferência do grupo fosforila vêm sendo propostos com o intuito de esclarecer, pelo menos em parte, os mecanismos pelo quais as enzimas naturais atuam.

Além desses aspectos, a importância deste trabalho justifica-se pela utilização de íons lantanídeos no estudo nas reações de hidrólise de compostos fosfatados. A aplicação destes metais e seus complexos é uma área que experimenta um crescimento acelerado, impulsionado pela possibilidade de atuarem como agentes destoxicantes ou futuramente em processos relacionados à terapia médica.

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

De acordo com o apresentado anteriormente o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito do íon lantânio (III) sobre a reação de hidrólise do 8-quinolil fosfato (8QP).

Objetivos Específicos

- Síntese e caracterização do 8QP;
- Determinar as constantes cinéticas e de equilíbrio utilizando técnicas de espectroscopia no UV-Vis;
- Avaliar o efeito catalítico do La^{3+} nas reações de hidrólise do 8QP;
- Avaliar os efeitos de pH e do tampão Bis-Tris Propano (BTP);
- Realizar estudos teóricos utilizando metodologias DFT combinado com ECP_D.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Equipamentos

Os espectros de UV/VIS, bem como as medidas cinéticas foram realizadas em um espectrofotômetro HP 8453, acoplado a um microcomputador, contendo um sistema de aquisição e tratamento de dados cinéticos HP ChemStation versão A.02.05. O espectrofotômetro era acoplado a um banho termostático da Microquímica calibrado para $25,0 \pm 0,1$ °C.

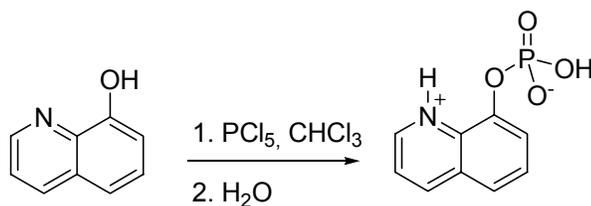
As medidas de pH nos procedimentos cinéticos foram realizadas em um potenciômetro digital Hanna, calibrado previamente com soluções padrão pHs 4,00, 7,00 e 10,00 (Carlo Erba).

4.2 Reagentes

Com exceção do 8-quinolil fosfato, sintetizado em nosso laboratório, os demais reagentes foram adquiridos comercialmente e purificados previamente quando necessário. O íon lantânio (III) utilizado foi adquirido da Acros[®] na forma hidratada de LaCl_3 a 64% e o bis-tris propano (BTP) no grau de pureza 99% da Sigma[®]. Todas as soluções utilizadas nos estudos com La^{3+} foram preparadas com água destilada, deionizada e fervida para eliminação de carbonatos.

4.3 Síntese do 8-quinolil fosfato (8QP)

O 8-quinolil fosfato (8QP) foi obtido através de método desenvolvido em nosso laboratório, uma solução de 8-quinolinol (3,45 mM) em CHCl_3 (15 mL) foi gotejada lentamente sobre uma solução de PCl_5 (3,45 mM) em CHCl_3 (15 mL) sob banho de gelo. A mistura foi refluxada por uma hora e meia para completar a reação, deixada resfriar, adicionado excesso de água (0,25 mL) e deixada reagir sob agitação por mais 12 horas à temperatura ambiente. A mistura foi rotaevaporada obtendo-se um óleo amarelo, o qual com adição de acetona (20 mL) e água (5 mL) levou à formação de cristais pálidos (40 %) que fundem a 200 °C (**Esquema 7**).



Esquema 7

A caracterização do produto foi realizada por RMN utilizando como solvente D_2O e como referência interna para RMN 1H tetradeutero-3-(trimetilsilil)propionato de sódio (TSP) e como referência interna RMN ^{31}P (81 MHz) ácido fosfórico 85%. Os seguintes resultados foram obtidos, RMN 1H (200 MHz): δ 7,8-8,1 (m, 4H); 9,08 (d, 1H); 9,14 (s, 1H) e RMN ^{31}P (81 MHz): δ 0,63 ppm.

4.4 Medidas cinéticas

As reações foram feitas adicionando uma alíquota de 10 μL da solução estoque do substrato (0,01 M em água, pH 10) em 3 mL da mistura reacional. A temperatura em todos os experimentos foi mantida em 25,0 $^{\circ}C$, o aparecimento do complexo do 8-quinolinol com lantânio (III) foi acompanhado em 255 nm em um espectrofotômetro com detector tipo arranjo de diodo munido com uma célula termostatizada. As reações foram acompanhadas no mínimo por cinco tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) e resultaram em uma cinética de primeira ordem em excesso de água. As constantes de velocidade observadas (k_{obs}) foram calculadas do gráfico de absorbância em função do tempo utilizando o ajuste iterativo não-linear de primeira-ordem, que está presente no programa HP ChemStation; o coeficiente de correlação, r , foi sempre superior a 0,996 para todas as corridas cinéticas. Bis-tris propano (BTP) em uma concentração de 0,01 M foi utilizado tanto como tampão como para prevenir a precipitação de hidróxidos de lantânio²².

As regressões não-lineares foram realizadas com o programa de computação ORIGIN versão 5.0 (Microcal Software, 1999) utilizando o método de mínimos-quadrados e o algoritmo de Levenberg-Marquardt.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os objetivos desse trabalho, inicialmente foi estudada a associação do 8-quinolil fosfato e 8-quinolinol com o íon La^{3+} através da espectroscopia no UV-Vis. Após isso, foi estudado a hidrólise do 8-quinolil fosfato na presença do íon La^{3+} em diferentes pHs. Nesses estudos foi possível avaliar o efeito da concentração do lantanídeo e da concentração de íons hidróxido, os quais como visto na introdução desse trabalho, desempenham um papel importante na catálise por lantanídeos. Por fim, foram realizados alguns cálculos teóricos utilizando DFT combinados com ECP para avaliar mais especificamente o papel dos íons lantanídeos na hidrólise do 8QP.

5.1 Estudos de Associação do 8-Quinolil Fosfato e 8-Quinolinol com Ion Lantânio (III) através de Espectroscopia no UV-Vis

As constantes de associação entre o 8-quinolil fosfato (8QP) e o 8-quinolinol (8QOH) com o íon La^{3+} foram determinadas através do espectro de UV-Vis da solução no início e fim da reação de hidrólise do 8QP, **Figura 3a e 3b**, respectivamente. Enquanto que 8QP apresentou apenas um decréscimo pequeno na absorvância, 8QOH sofreu um efeito pronunciado com aumento da concentração do íon La^{3+} , onde se observou um aumento em 239 e 302 nm e um decaimento em 257 e 357 nm. Esse fato foi considerado na determinação das constantes de associação (K_{ass}) do La^{3+} com o 8QOH. No caso do 8QP, como não foi observada uma mudança significativa nos valores de absorvância, a determinação das K_{ass} com 8QP foram determinadas através de medidas cinéticas.

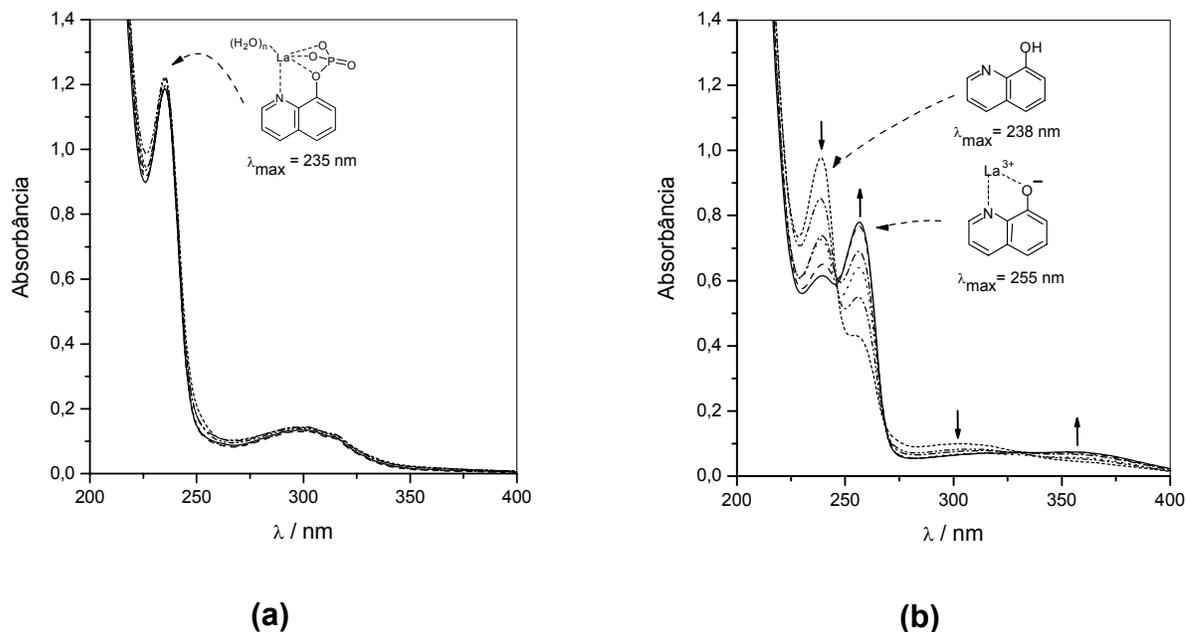


Figura 3. Espectros de UV-VIS de soluções $3,33 \times 10^{-5} \text{ M}$ do 8QP (a) e 8QOH (b) na presença de 0,32 a 3,2 mM de LaCl_3 , em pH 7,00, 0,01 M de BTP e $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Em (b), as setas contínuas indicam o aumento ou diminuição da banda de acordo com o aumento da concentração de LaCl_3 .

Na **Figura 4** estão mostrados os dados de absorvância para o aparecimento do complexo $\text{La}(\text{8QOH})^{2+}$ em função da concentração do La^{3+} em diferentes pHs. Estes resultados são consistentes com uma isoterma do tipo 1:1 entre o metal e o ligante. Um ajuste não-linear desses resultados utilizando a **Equação 1**²⁶ levou aos resultados apresentados na **Tabela 1**.

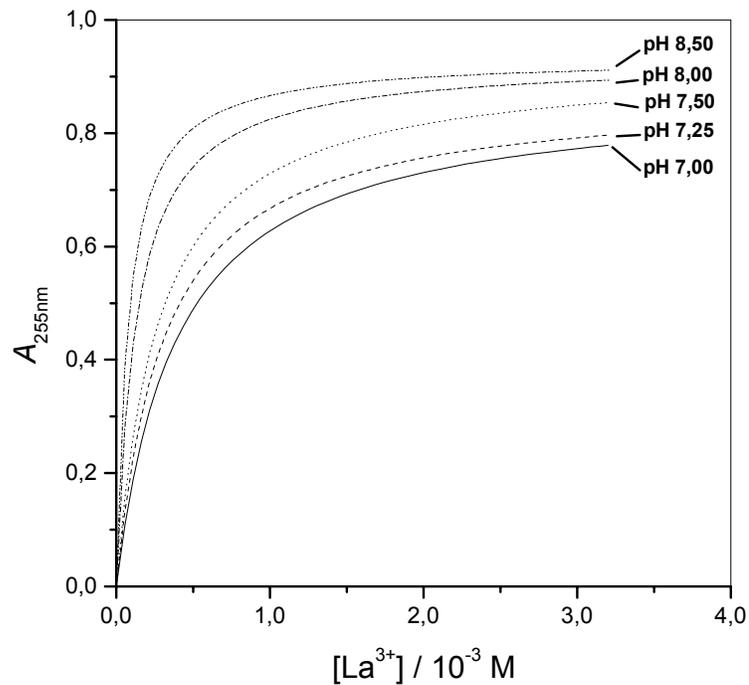


Figura 4. Absorbância de soluções $3,33 \times 10^{-5} \text{ M}$ do complexo $\text{La}(\text{8QOH})^{2+}$ em 255 nm *versus* $[\text{La}^{3+}]$ em diferentes pHs e 25,0 °C. As linhas foram calculadas de acordo com a **Eq. 1** e os parâmetros encontram-se na **Tabela 1**.

$$A_{\text{obs}} = \frac{\epsilon_c b K_{\text{ass}} [\text{La}(\text{8QOH})^{3+}] [\text{La}^{3+}]}{1 + K_{\text{ass}} [\text{La}^{3+}]} \quad (1)$$

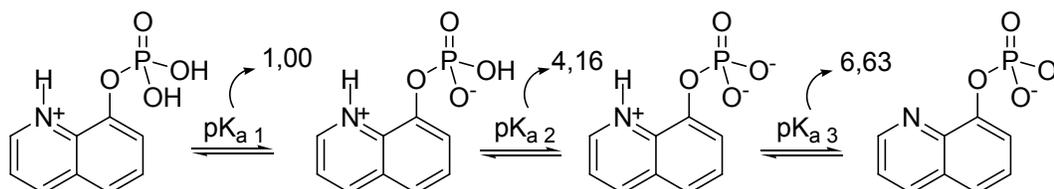
onde b é o caminho ótico da cubeta e ϵ_c é a absorvidade molar do complexo entre o íon La^{3+} e 8QOH, $[\text{La}(\text{8QOH})^{2+}]$ é a concentração total formada do complexo, a qual foi igual a $3,33 \times 10^{-5} \text{ M}$.

Tabela 1. Valores das constantes de associação e das absorvidades molar para o complexo $\text{La}(\text{8QOH})^{2+}$ em 255 nm a diferentes pHs, 0.01 M de BTP e 25,0 °C. Os desvios são relativos e dados em porcentagens.

pH	$K_{\text{ass}} / 10^3 \text{ M}^{-1}$	$\epsilon_c / \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
7,00	$2,55 \pm 3\%$	$26246 \pm 1\%$
7,25	$3,24 \pm 6\%$	$26186 \pm 2\%$
7,50	$3,69 \pm 3\%$	$27808 \pm 1\%$
8,00	$7,86 \pm 18\%$	$27897 \pm 4\%$
8,50	$13,0 \pm 18\%$	$28018 \pm 2\%$

De acordo com os dados na **Tabela 1**, observa-se um aumento na absorvidade molar do complexo $\text{La}(\text{8QOH})^{2+}$ em função do aumento do pH, o que se deve provavelmente a formação de espécies com maior densidade de carga. Já o aumento da constante de associação entre o íon La^{3+} e o 8QOH deve-se à desprotonação do grupo hidroxila do fenol ($\text{p}K_a = 9,82$) que, conseqüentemente, aumenta a afinidade do substrato pelo íon metálico.

Espectros de UV-Vis para 8QP na ausência de íon La^{3+} foram realizados para observar se a complexação de um próton produz o mesmo efeito da complexação do íon La^{3+} (**Figura 5**). Foram obtidos espectros em três pHs diferentes de acordo com as espécies iônicas demonstradas no **Esquema 8**²⁷. Assim, nos pHs 2,02, 4,94 e 7,75, se encontram predominantemente as espécies bipolar, monoaniônica e dianiônica, respectivamente.



Esquema 8

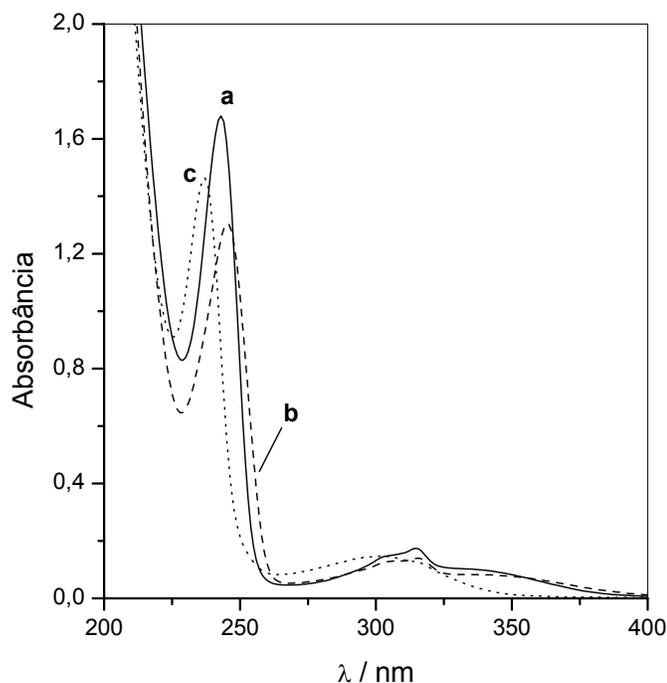


Figura 5. Espectros de UV-VIS de uma solução $4,18 \times 10^{-5}$ M de 8QP em (a) pH 2,02, (b) pH 4,94 e (c) pH 7,75, a $25,0$ °C.

Intuitivamente a complexação da espécie dianiônica do 8QP pelo íon La^{3+} deve ser equivalente a protonação do nitrogênio quinolínico e deslocamento do λ_{max} de 235 para 245 nm. Entretanto, é bem conhecido que centros moles coordenam fracamente a lantanídeos, o que pode ser responsável pela pequena mudança espectral observada com a complexação de um lantanídeo. É interessante notar também que nenhuma mudança espectral significativa foi observada que poderia indicar a complexação do grupo fosforila através deste método. Isto se provavelmente ao fato da baixa influência na variação espectral causada pela complexação do grupo fosfato.

5.2 Estudos Cinéticos da Hidrólise do 8-Quinolil Fosfato na Presença do Íon Lantânio (III)

A hidrólise do 8QP na presença de La^{3+} foi estudada em diferentes pHs, dentro da faixa de 6,4 a 8,5. Na **Figura 6** está representado um gráfico das constantes de velocidade observadas (k_{obs}) em função da concentração de La^{3+} .

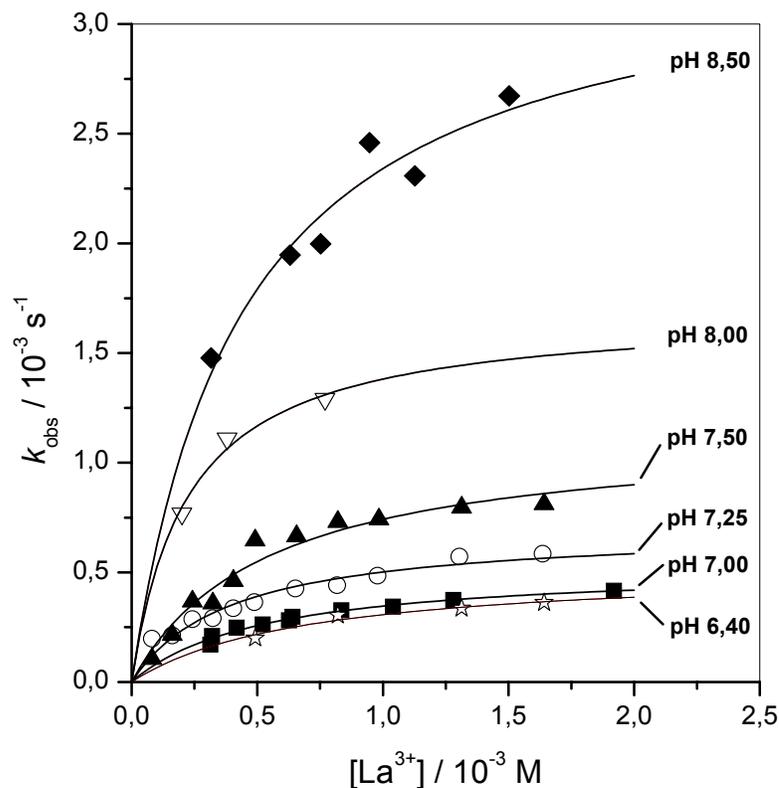
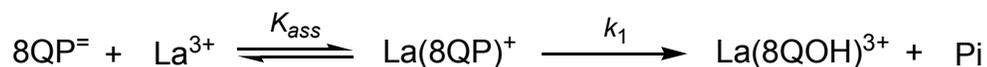


Figura 6. Constantes de velocidade observadas para a reação de hidrólise de soluções $3,33 \times 10^{-5}$ M do 8QP na presença de La^{3+} em diferentes pHs, 0,01 M de BTP e $25,0$ °C. As linhas contínuas representam os valores calculados utilizando a **Eq. 2**.

Um caminho intuitivo para a hidrólise do 8QP na presença de La^{3+} dentro da faixa de pH estudada nesse trabalho encontra-se no **Esquema 9**. Inicialmente ocorre a formação do complexo entre 8QP e La^{3+} , o qual sofre hidrólise através de k_1 para formar os produtos.



Esquema 9

A partir do **Esquema 9** foi derivada a **Eq. 2**, a qual foi utilizada através de um ajuste iterativo dos resultados na **Figura 6**, obtendo os valores de K_{ass} e k_1 em diferentes pHs.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1 K_{\text{ass}} [\text{La}^{3+}]}{1 + K_{\text{ass}} [\text{La}^{3+}]} \quad (2)$$

Enquanto as K_{ass} nos diferentes pHs foram similares e em torno de $(1,9 \pm 0,3) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, os valores de k_1 exibiram um forte incremento com o aumento do pH (**Figura 7**).

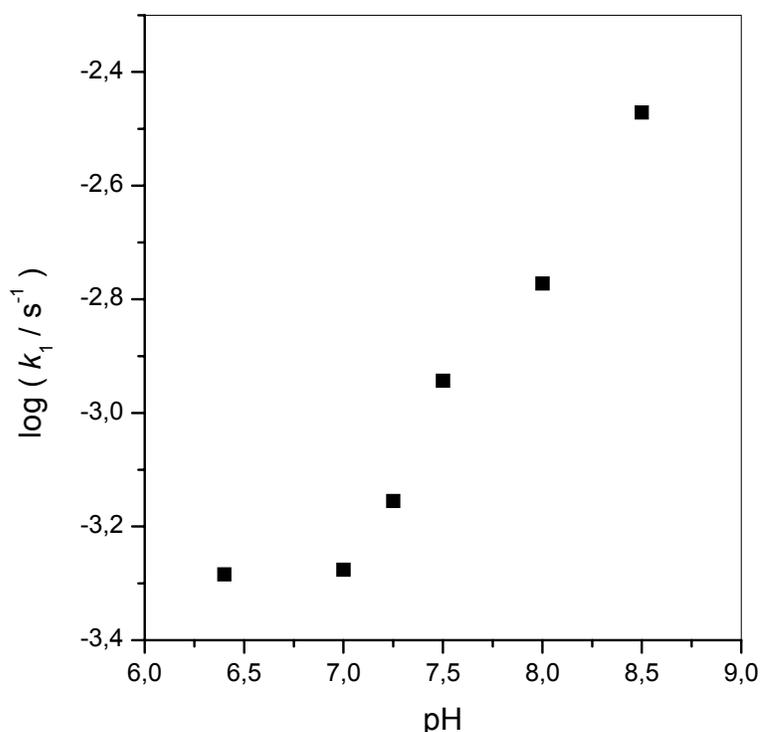


Figura 7. Logaritmo da constante de primeira ordem *versus* o pH para a reação de hidrólise do complexo $\text{La}(\text{8QP})^+$, 0,01 M de BTP e 25,0 °C.

O comportamento observado na **Figura 7** indica a participação de íons hidróxido na hidrólise do 8QP. Dois possíveis caminhos que podem ser indicados para o ataque do íon hidróxido sobre o átomo de fósforo de 8QP são: (i) ataque de um íon hidróxido complexado ao íon La^{3+} ; (ii) ataque direto de um íon hidróxido não complexado com o íon La^{3+} (**Figura 8**).

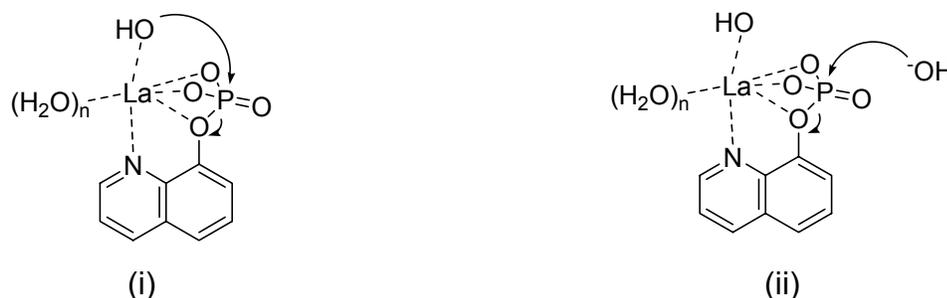


Figura 8. Dois possíveis caminhos para o ataque do íon hidróxido sobre o átomo de fósforo do 8QP.

O aumento praticamente linear nos valores de $\log k_1$ de pH 7,0 a 8,5 (**Figura 7**) tem um coeficiente angular igual a 0,5. Como é conhecido este tipo de relação pode indicar a ordem da reação em relação ao íon hidróxido. Entretanto, um valor de 0,5 não é uma ordem de reação coerente para um ataque direto do íon hidróxido, senão indica a ocorrência de equilíbrios complexos envolvendo o íon hidróxido. O fato que poderia indicar claramente a segunda proposta seria a observação de um nítido pK_a aparente, mas dentro da faixa de pH estudada este fato não pôde ser observado.

Está bem documentado que íons lantanídeos podem formar diferentes espécies com íons hidróxido, essas podem apresentar diferentes atividades catalíticas, de modo que cineticamente os dois caminhos demonstrados na **Figura 8** são indistinguíveis e não podem ser diferenciados através dos experimentos cinéticos. Essa é a conclusão mais apropriada que poderia ser considerada até aqui com relação à forma de ataque do íon hidróxido.

O íon La^{3+} apresentou uma grande eficiência sobre a reação de hidrólise do 8QP. Uma comparação do perfil de pH para a hidrólise do 8QP na ausência e presença do íon La^{3+} demonstrou um fator catalítico superior a 10^7 vezes em pH 7,0 (**Figura 9**).

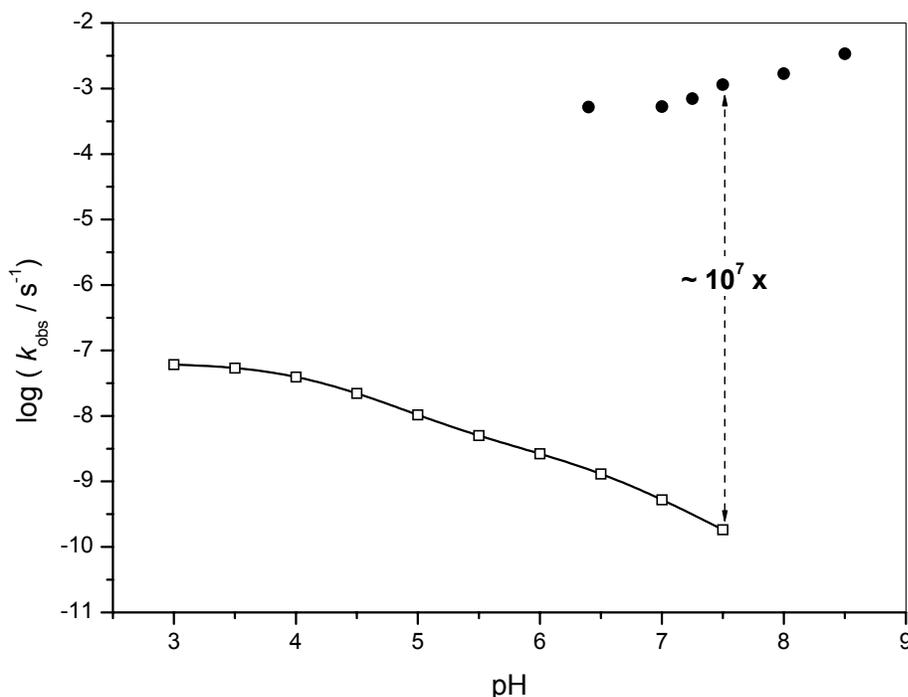


Figura 9. Gráfico da constante de velocidade observada *versus* pH para a reação de hidrólise do 8QP na ausência (□) e presença (●) de La³⁺, a 25,0 °C. Dados na ausência de metal foram obtidos em 60, 70 e 80 °C por Murakami e col.²⁷ e extrapolados para 25° C. Na presença do metal os dados são para a hidrólise do complexo La(8QP)⁺ obtidos na presença de 0,01 M de BTP.

A influência da concentração do tampão Bis-Tris Propano (BTP) na catálise do íon La³⁺ foi examinada em pH 8,0 com concentração do metal de 1,0 mM (**Figura 10**). É conhecido que o efeito do tampão em diminuir a quantidade livre do metal, e conseqüentemente a agregação e precipitação nos pHs acima de 5, pode igualmente desfavorecer a associação do substrato com o íon lantanídeo inibindo a reação de hidrólise em relação ao íon livre²⁸. No entanto, nesse trabalho foi observado que as velocidades de hidrólise, dentro do erro experimental, permaneceram constantes com a variação na concentração do BTP de 10 vezes, indicando que o BTP não afeta a coordenação entre o 8QP e o La³⁺. Estes resultados concordam com o observado em outros casos²⁶, onde a constante de associação do tampão com o íon lantanídeo é inferior em pelo menos em 10 vezes. Assim, a $K_{\text{ass}} = 200 \text{ M}^{-1}$ entre o BTP e o íon La³⁺

é suficiente apenas para diminuir a quantidade livre do íon La^{3+} , mas não é suficientemente grande para competir com a associação do 8QP pelo metal.

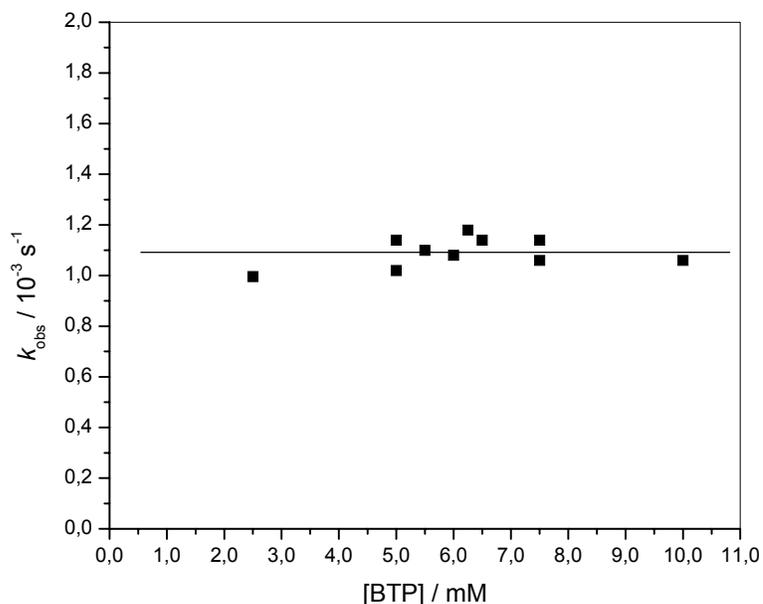


Figura 10. Efeito da concentração do tampão bis-tris propano sobre a constante de velocidade de hidrólise do 8QP na presença de 1mM de La^{3+} , pH 8,0 e 25,0 °C.

5.3 Cálculos dos orbitais moleculares

Com o intuito de avaliar com mais detalhes a natureza da ligação entre La^{3+} e 8QP assim como o efeito sobre a reação de hidrólise, foram realizados cálculos teóricos utilizando como metodologia computacional a teoria do funcional da densidade (DFT), utilizando o funcional híbrido B3LYP como uma função de base 6-31G(d) com adição de função difusa para os átomos de nitrogênio e oxigênio. No íon La^{3+} foi utilizado o potencial efetivo para o caroço quasi-relativístico (ECP) desenvolvido por Dolg²⁹, o qual considera os orbitais 4f no caroço eletrônico, tratando rigorosamente somente os elétrons de valência com uma função contraída do tipo [5s4p3d]. Esta metodologia reduz substancialmente a demanda computacional e não constitui um problema, porque os orbitais 4f são espacialmente internos e não interagem com os ligantes nos complexos de lantanídeos.

Na **Figura 11** estão representados as estruturas otimizadas para os complexos $8QP(H_2O)_3$ e $La(8QP)(H_2O)_5^+$.

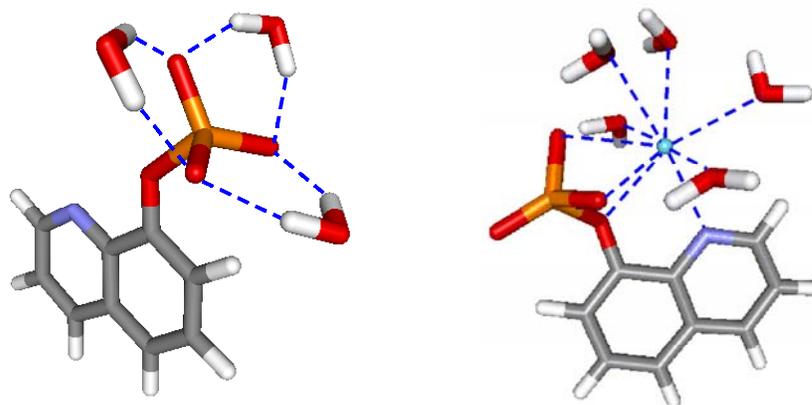


Figura 11. Estruturas otimizadas para os complexos do 8QP e três moléculas de água e para o complexo entre o 8QP, La^{3+} e cinco moléculas de água utilizando ECP/B3LYP/6-31+G(d).

Entre os parâmetros estruturais e eletrônicos de interesse nesse estudo, o comprimento de ligação $P-O_{\text{fenol}}$ no complexo $8QP(H_2O)_3$ e $La(8QP)(H_2O)_5^+$ foram iguais a 1,80 e 1,78 Å, enquanto que as cargas de Mulliken foram iguais a $P^{+1,93}-O^{-0,64}$ e $P^{+2,09}-O^{-0,88}$, respectivamente. Esses fatos são muito interessantes, pois embora os comprimentos das ligações $P-O_{\text{fenol}}$ sejam muito similares, a complexação leva a uma maior separação de carga nessa ligação, demonstrando que o caráter da ligação $P-O_{\text{fenol}}$ está mudando com a complexação do La^{3+} , ou seja, a ligação perde a covalência e passa a exibir um caráter mais iônico em $La(8QP)(H_2O)_5^+$. O efeito final desta interação é que o ataque nucleofílico sobre o átomo de fósforo é facilitado, assim como a expulsão do grupo de saída.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados nesse trabalho pode-se concluir que:

(i) Através dos estudos de associação entre 8QP e 8QOH com o íon La^{3+} observou-se a formação de um complexo do tipo 1:1. A associação La^{3+} com o 8QOH é mais forte do que a observada com 8QP;

(ii) A constante de velocidade para hidrólise do 8QP na presença do íon lantanídeo é sensível ao pH do meio, indicando a participação de íons hidróxido. O ataque do íon hidróxido sobre o átomo de fósforo de 8QP pode ocorrer através do ataque de um íon hidróxido complexado ao íon La^{3+} ou diretamente de um íon hidróxido proveniente do meio, entretanto os dois caminhos foram indistinguíveis através dos experimentos cinéticos;

(iii) Não houve efeito do tampão BTP, indicando que ele não afeta a coordenação do substrato com o íon lantanídeo;

(iv) O íon La^{3+} apresentou uma grande eficiência sobre a reação de hidrólise do 8QP. A comparação do perfil de pH para a hidrólise do 8QP na ausência e presença do íon La^{3+} demonstrou um fator catalítico superior a 10^7 vezes em pHs superiores a 7,0;

(v) Através dos estudos teóricos observou-se que a complexação muda o caráter da ligação $\text{P-O}_{\text{fenol}}$, que perde o caráter covalente covalência e passa a exibir um caráter mais iônico no complexo $\text{La}(\text{8QP})(\text{H}_2\text{O})_5^+$ do que no complexo $\text{8QP}(\text{H}_2\text{O})_3$, o que conseqüentemente favorece o ataque nucleofílico sobre o átomo de fósforo e facilita a expulsão do grupo de saída.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DOMINGOS, J.B., LONGHINOTTI, E., MACHADO, V.G. e NOME, F. A Química dos Ésteres de Fosfato. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 745-753, 2003.
2. WILLIAMS, N.H. Models for Biological Phosphoryl Transfer. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1697, p. 279-287, 2004.
3. WOLFENDEN, R., RIDGWAY, C. e YOUNG, G. Spontaneous Hydrolysis of Ionized Phosphate Monoesters and Diesters and the Proficiencies of Phosphatases and Phosphodiesterases as Catalysts. **Journal of the Americal Chemical Society**, v. 120, n. 4, p. 833-834, 1988.
4. WILLIAMS, A. e NAYLOR, R.A. Evidence For SN2(P) Mechanism in Phosphorylation of Alkaline Phosphatase by Substrates. **Journal of The Chemical Society B-Physical Organic**, p. 1973-1979, 1971.
5. BUNTON, C.A. e al., e. The Reactions of Organic Phosphate. The Hydrolysis of Methyl Dihydrogen Phosphate. **Journal Chemical Society**, p. 3574-3587, 1958.
6. JENCKS, W.P. When is an Intermediate not an Intermediate? Enforced Mechanisms of General Acid-Base, Catalyzed, Carbocation, Carbanion, and Ligand Exchange Reaction. **Accounts of Chemical Research**, v. 13, n. 6, p. 161-169, 1980.
7. KNOWLES, J.R. Enzyme-Catalyzed Phosphoryl Transfer Reactions. **Annual Review of Biochemistry**, v. 49, p. 877-919, 1980.
8. ADMIRAL, S. e HERSCHLAG, D. The Substrate-Assisted General Base Catalysis Model for Phosphate Monoester Hydrolysis: Evaluation Using Reactivity Comparisons. **Journal of the Americal Chemical Society**, v. 122, n. 10, p. 2145-2148, 2000.
9. FERSHT, A. **Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding**. Nova Iorque: W.H. Freeman and Company, 1999. 259-260 p.
10. HOLMES, R.R. Phosphoryl Transfer Enzymes and Hypervalent Phosphorus Chemistry. **Accounts of Chemical Research**, v. 37, n. 10, p. 746-753, 2004.
11. LAHIRI, S.D., ZHANG, G., DUNAWAY-MARIANO, D. e ALLEN, K.N. The Pentacovalent Phosphorus Intermediate of a Phosphoryl Transfer Reaction. **Science**, v. 299, p. 2067-2071, 2003.
12. ÅQVIST, J., KOLMODIN, K., FLORIAN, J. e WARSHEL, A. Mechanistic Alternatives in Phosphate Monoester Hydrolysis: What Conclusions Can Be Drawn from Available Experimental Data? **Chemistry & Biology**, v. 6, n. 3, p. R71-R80, 1999.
13. WALSH, C. **Enzymatic Reaction Mechanisms**. San Francisco, CA: 1979. Cap. 6-8.

14. WILLIAMS, N.H., TAKASAKI, B., WALL, M. e CHIN, J. Structure and Nuclease Activity of Simple Dinuclear Metal Complexes: Quantitative Dissection of the Role of Metal Ions. **Accounts of Chemical Research**, v. 32, n. 6, p. 485-493, 1999.
15. MORROW, J.R., BUTTREY, L.A. e BERBACH, K.A. Transterification of a Phosphate Diester by Divalent and Trivalent Metal Ions. **Inorganic Chemistry**, v. 31, p.16-20, 1992.
16. BENKOVIC, S.J. e SCHRAY, K.J. The Mechanism of Phosphoryl Transfer. In: **Transition states of biochemical processes**. (Eds.). Nova Iorque: Plenum Press, 1978. p. 493-527.
17. MARTINS, T.S. e ISOLANI, P.C. Terras Raras: Aplicações Industriais e Biológicas. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 111-117, 2005.
18. CHOPPIN, G.R. Chemical Properties of the Rare Earth Elements. In: **Lanthanide probes in life, chemical and earth sciences - Theory and practice**. (Eds.). Amsterdam: Elsevier, 1989. p. 1-41.
19. SHANNON, R.D. Revised Effective Ionic-Radii and Systematic Studies of Interatomic Distances in Halides and Chalcogenides. **Acta Crystallographica - Section A**, v. 32, p. 751-767, 1976.
20. YOUNG, D.C. **Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems**. Nova Iorque: Wiley, 2001.
21. ANWAR, Z.M. e AZAB, H.A. Ternary Complexes Formed by Trivalent Lanthanide Ions, Nucleotides, and Biological Buffers. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 46, n. 3, p. 613-618, 2001.
22. GÓMEZ-TAGLE, P. e YATSIMIRSKY, A.K. Phosphodiester Hydrolysis by Lanthanide Complexes of Bis-tris-propane. **Inorganic Chemistry**, v. 40, n. 15, p. 3786-3796, 2001.
23. SCHNEIDER, H.-J. e YATSIMIRSKY, A.K. Lanthanide-Catalysed Hydrolysis of Phosphate Esters and Nucleic Acids. In: **Metal ions in biological systems - lanthanides: Their interrelations with biosystems**. (Eds.). Nova Iorque e Basel: M. Dekker, 2003. p. 369-462.
24. BLASKÓ, A. e BRUCE, T.C. Recent Studies of Nucleophilic, General-Acid, and Metal ion Catalysis of Phosphate Diester Hydrolysis. **Accounts of Chemical Research**, v. 32, n. 6, p. 475-484, 1999.
25. YANG, Y.-C. Chemical Detoxification of Nerve Agent VX. **Accounts of Chemical Research**, v. 32, p. 109-115, 1998.

26. BRUICE, T.C., TSUBOUCHI, A., DEMPCY, R.O. e OLSON, L.P. One- and Two-metal Ion Catalysis of the Hydrolysis of Adenosine 3'-Alkyl Phosphate Esters. Models for One- and Two-Metal Ion Catalysis of RNA Hydrolysis. **Journal of the Americal Chemical Society**, v. 118, n. 41, p. 9867-9875, 1996.
27. MURAKAMI, Y., SUNAMOTO, J. e HIROMI, S. Solvolysis Reactions of 3-Pyridyl and 8-Quinolyl Phosphate. **Chemical Communications**, p. 983-984, 1969.
28. LONGHINOTTI, E. **Efeito Catalítico de Íons Lantanídeos na Hidrólise de Ésteres de Fostato**. 2003. 102 f. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina.
29. DOLG, M., STOLL, H., SAVIN, A. e PREUSS, H. Energy-Adjusted Pseudopotentials for the Rare Earth Elements. **Theoretica Chimica Acta**, v. 75, p. 173-194, 1989.