



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Edinara Luiz

Florianópolis
2024

Edinara Luiz

**DESENVOLVIMENTO DE COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO, MATERIAIS
HÍBRIDOS E Zr-CLUSTERS BIOINSPIRADOS PARA UTILIZAÇÃO COMO
CATALISADORES DA HIDRÓLISE DE TRIÉSTERES DE FOSFATO**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação
em Química da Universidade Federal de Santa
Catarina como requisito parcial para obtenção do
título de Doutor em Química.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Rosely Aparecida Peralta
Coorientador: Prof.^o Dr. Fernando Roberto Xavier

Florianópolis

2024

Luiz, Edinara

DESENVOLVIMENTO DE COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO, MATERIAIS HÍBRIDOS E Zr-CLUSTERS BIOINSPIRADOS PARA UTILIZAÇÃO COMO CATALISADORES DA HIDRÓLISE DE TRIÉSTERES DE FOSFATO / Edinara Luiz ; orientadora, Rosely Aparecida Peralta, coorientador, Fernando Roberto Xavier, 2024.

272 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química. 2. Química Inorgânica. 3. Hidrólise de ésteres de fosfato. 4. Compostos de coordenação de Ferro e Zircônico. 5. Estudos cinéticos. I. Peralta, Rosely Aparecida. II. Xavier, Fernando Roberto. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

Edinara Luiz

Desenvolvimento de compostos de coordenação, materiais híbridos e Zr-Clusters bioinspirados para utilização como catalisadoras da hidrólise de triésteres de fosfato

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, 13 de agosto de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Jaísa Fernandes Soares, Dra.
Universidade Federal do Paraná

Prof. Tiago Antônio da Silva Brandão, Dr.
Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Camila Fabiano de Freitas Marin, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Química.



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Profa. Rosely Aparecida Peralta, Dra.
Orientadora

Florianópolis, 2024.

Dedico esse trabalho aos meus pais, por terem investido na minha educação antes mesmo de eu nascer.

AGRADECIMENTOS

Um dia meu pai me disse que tudo que ele e minha mãe fizeram na vida foi para que eu e minha irmã pudéssemos estudar até onde a gente quisesse. Acho que ele não imaginou que eu levaria isso tão longe. Meus pais não tiveram a chance de terminar o ensino fundamental e, por saberem a importância que a educação tem na vida das pessoas, moveram o mundo para que eu pudesse chegar até aqui. Não há nada no mundo que eu seja mais grata do que meus pais: Ademir e Lola. Obrigada por me ensinarem tanto, por me oferecerem tanto, por me permitirem chegar até aqui, por não me deixar desistir e por apoiarem cada um dos meus sonhos. Essa conquista também é de vocês. A minha irmã, Eliane, que sempre foi um exemplo na minha vida. Você e o Xandy sempre me apoiaram e tiveram um papel importante para que eu pudesse correr atrás dos meus sonhos. Obrigada por tomarem conta de tudo e entenderem a minha ausência durante todos esses anos.

Ao meu futuro marido, Elder. É difícil saber pelo que te agradecer. Você representa tanto para mim. Obrigada pelas discussões químicas durante os jantares, por me ajudar (mesmo quando eu teimava que você estava errado), por dar ideias e ajudar a interpretar resultados. Obrigada por não me deixar desistir e por ficar mais furioso que eu quando alguma coisa dava errado, e muito mais feliz que eu quando alguma coisa dava certo. Obrigada pela confiança, pela parceria e por me aturar durante esses anos. Obrigada por estar do meu lado nos dias mais alegres da minha vida, mas principalmente por ser a minha maior base nesses últimos meses tão difíceis. Eu não teria conseguido sem você.

A minha sogra e sogro, Rose e Antônio, que sempre estiveram presentes e me apoiaram durante esses anos. Obrigada por me abrigarem e cuidarem de mim como uma filha. Sou muito grata por tê-los em minha vida.

Agradeço aos meus grandes amigos, Michele, Márcio e Carlos que serão para sempre os meus vacilões preferidos, mesmo em cantos diferentes do mundo. A amizade de vocês ao longo desses anos contribuiu infinitamente para que esse trabalho fosse possível. A minha amiga Gabriela, que me ajudou muito durante o processo de aquisição do visto do meu doutorado sanduíche. Aos amigos brasileiros que fiz na Bélgica, Amira, Ingra, Gabriel e Cassimiro. Eu tenho um carinho gigante por vocês. Obrigada pelas memórias inesquecíveis que criamos juntos.

A Daniele e ao Vinicius que entre uma mesa de bar e outra, ajudaram a manter a minha sanidade. Aos demais colegas do LABINC, Bruna, Lutuíma, Rafaella, Daniel e aqueles que já passaram por aqui há mais tempo, mas foram importantes para mim: Toigo, Maranha e Cacau. Ao meu IC, Thomas, o qual tenho muito orgulho de ter participado na formação e que foi extremamente guerreiro por me aguentar durante dois anos inteiros.

Agradeço a minha orientadora, Professora Rosely Peralta, por me acompanhar nessa caminhada, pela oportunidade do meu ingresso no mestrado e por continuar nesse papel durante o doutorado. Ao meu Coorientador, Professor Fernando Xavier, que me acompanha desde a graduação, sendo parte importante da minha formação. Obrigada pela oportunidade, há quase 10 anos, de me permitir fazer iniciação científica e descobrir meu caminho como pesquisadora. Também agradeço aos dois pela compreensão e paciência durante esses últimos meses, o apoio de vocês significou muito para mim.

Felizmente esse projeto contou com diversas parcerias nacionais e internacionais. Agradeço imensamente ao meu amigo Giliandro Farias, por toda a ajuda concedida ao longo do caminho e pelas análises de DFT. Ao professor Ignacio Leon, pelos estudos de toxicidade e a Aleksandra Bondzic pelos ensaios enzimáticos. Ao Albert Solé-Daura, Jordi Puiggalí-Jou e Jorge J. Carbó pelos cálculos de DFT. Ao Dalber Sanchez e Marciela Alzamora pelas análises de Mössbauer.

I apologize for the shift in language, though it may not be ideal, I want to ensure that these individuals understand my heartfelt gratitude. Therefore, I extend my sincerest thanks to all the LBC members for their exceptional hospitality during my time in Belgium. From the moment I arrived, I felt incredibly welcomed, and meeting each of you was a true pleasure. Aly, Siene, Givi, Siqi, Cuilian, Sarah, Gabriela, Nada, Killian, David, Charlotte—my gratitude knows no bounds for the time I've spent with you and all that I learned. To Angelo Mulallui for the EXAFS experiments and the coffee time talks. Francisco, words cannot express the profound impact you've had on my life. You made me believe in myself again and helped to unveil my potential as a researcher. I learned so much with you, and for that, I'm forever grateful. To Professor Vogt, when I reached out to you expressing my desire to join your group, my expectations were high. Yet, reality exceeded them in every way. Thank you for granting me this invaluable experience. I have grown immeasurably during my time

with your group, and I congratulate you for bringing together such a remarkable assembly of individuals.

Agradeço também ao LABINC por todos esses anos, e aos demais professores, Elias e Adailton, que juntamente com a Prof Rosely continuam levando o legado do nosso estimado e para sempre lembrado Professor Ademir Neves.

Agradeço ao LABIME pelas análises de Massas, a Central de Análise do Departamento de Química, pelas análises de C, H e N e absorção atômica, ao Elettra Sincrotrone Trieste, pela análise de EXAFS.

Agradeço também ao Departamento de Química e ao Programa de Pós-Graduação em Química, e ao Henrique e Andrezza, da secretaria do Programa.

Finalmente gostaria de agradecer as universidades que tornaram esse projeto possível UFSC, UDESC e KU Leuven. Assim como os órgãos de fomento que financiaram essa pesquisa CNPq, INCT-Catálise em especial a CAPES pela bolsa PROEX e de doutorado sanduíche através do programa CAPES-PRInt.

“Se você acha que a educação é cara, experimente a ignorância.”
(Derek Bok)

RESUMO

Triésteres de fosfato são compostos amplamente utilizados como agroquímicos. Seu risco a segurança humana e ambiental faz com que degradação desses materiais seja de extrema importância. Mesmo que o uso de compostos de coordenação bioinspirados para a hidrólise de ésteres de fosfato tenha atraído atenção no desenvolvimento de novos catalisadores, a literatura carece de exemplos voltados aos problemáticos triésteres. Assim, através dos dois capítulos desenvolvidos nesse trabalho, espera-se contribuir para a evolução de estratégias eficientes para a hidrólise desses compostos. No primeiro capítulo, relatamos cinco complexos mononucleares de Fe^{III} , sua síntese, caracterização e atividade catalítica. Os complexos 4 e 5 contêm grupos benzimidazol (BIMZ) e foram estrategicamente projetados para variar seus comprimentos de cadeia alifática, separando o grupo BIMZ da primeira esfera de coordenação, enquanto o complexo 1, sem tais grupos, foi usado como referência. Outros dois complexos, 2 e 3, contêm cadeias laterais sem BIMZ evidenciando o efeito da presença desse grupo nas propriedades físico-químicas dos complexos. Diversas técnicas forneceram informações estruturais valiosas, incluindo espectrofotometria, espectrometria e eletroquímica. As estruturas sugeridas foram embasadas por análise elementar, e a espectroscopia de Mössbauer de ^{57}Fe confirmou Fe^{III} de alto spin em todos os complexos. A modelagem de teoria do funcional da densidade (DFT) revelou geometrias octaédricas distorcidas e rearranjos na primeira esfera de coordenação causados pela presença do grupo BIMZ. Esse grupo também afetou diretamente os equilíbrios de protonação e a atividade catalítica desses complexos. Em comparação com a reação não catalisada, os catalisadores aceleraram a reação de hidrólise do triéster de fosfato dietil-2,4-dinitrofenilfosfato (DEDNPP) em pelo menos 5 vezes. Os complexos 4 e 5, contendo o grupo BIMZ, mostraram os valores de atividade catalíticas (k_{cat}) mais significativos. Além disso, uma cadeia de carbono mais longa resultou em uma constante hidrolítica mais alta, mas, menor interação com o substrato. Ademais, os complexos 1, 4 e 5 também tiveram sua atividade citotóxica avaliada demonstrando atividade antitumoral, sendo 5 mais ativo que a cisplatina contra osteosarcoma humano. Além disso, no segundo capítulo, também apresentamos um estudo pioneiro e detalhado de reatividade e mecanismo de clusters metálicos de Zr $\{\text{Zr}_6\text{O}_8\}$ como catalisadores para a degradação do pesticida etil-paraoxon. Com base em diversos experimentos mecanísticos e estudos de DFT, demonstramos que a reatividade desses clusters surge de seus sítios Zr^{IV} - Zr^{IV} . Especificamente, a hidrólise em condições ácidas ocorre por meio de um caminho intramolecular. Notavelmente, revelamos o efeito da nuclearidade do cluster e da natureza do ligante na reatividade, além de comprovar a integridade do catalisador mesmo após a reação, possibilitando sua recuperação e reutilização. Essas descobertas delineiam o potencial de tais clusters para a degradação de triésteres de fosfato em condições ácidas e contribuem para o desenvolvimento de novos catalisadores, como os MOFs baseados em Zr. Ambos os estudos aqui desenvolvidos contribuem para o desenvolvimento de estratégias eficientes de design de novos catalisadores e fornecem uma base para investigações adicionais sobre a degradação eficiente de agroquímicos.

Palavras-chave: Complexos de ferro(III); Cluster de zircônio; Hidrólise de triésteres de fosfato.

ABSTRACT

Phosphate triesters are widely used as agrochemicals. Due to their risk to human safety and environment, the degradation of these materials is highly important. Over the years, the use of coordination compounds for the hydrolysis of phosphate esters has attracted attention in the development of new bioinspired catalysts. However, the literature lacks examples showing activity against the problematic phosphate triesters. This work, divided into two chapters, contributes to the evolution of efficient strategies for the hydrolysis of these compounds. Thus, in the first chapter, we report five mononuclear Fe^{III} complexes, their synthesis, characterization, and catalytic activity. Complexes 4 and 5 contain benzimidazole (BIMZ) groups and were designed to vary their aliphatic chain lengths, separating the BIMZ group from the first coordination sphere, while complex 1, without such groups, was used as a reference. Two other complexes, 2 and 3, contain side chains without BIMZ groups to highlight the effect of these groups on the physicochemical and catalytic properties of the complexes. Various techniques provided valuable structural information, including spectrophotometry, spectrometry, and electrochemistry. The suggested structures were confirmed by elemental analysis, and ⁵⁷Fe Mössbauer spectroscopy confirmed high-spin Fe^{III} in all complexes. Density functional theory (DFT) modeling revealed distorted octahedral geometries and rearrangements in the first coordination sphere due to the presence of BIMZ groups. These groups also directly affected protonation equilibria and the catalytic activity of these complexes. The hydrolysis of diethyl-2,4-dinitrophenyl phosphate (DEDNPP) triester was increased by at least 5 times compared to the uncatalyzed reaction. Complexes 4 and 5, containing the BIMZ group, showed higher catalytic rates (k_{cat}). Furthermore, a longer carbon chain resulted in higher hydrolysis rate but lower substrate interaction. Furthermore, complexes 4 and 5 also exhibited antitumor activity, with 5 being more active than cisplatin against human osteosarcoma. Additionally, in the second chapter, we also present a detailed study of reactivity and mechanism, pioneering in metallic clusters {Zr₆O₈} routinely employed as building blocks for Zr-MOFs, as catalysts for the degradation of the pesticide ethyl-paraoxon. Based on various mechanistic experiments and DFT studies, we demonstrate that the reactivity of these clusters arises from their Zr^{IV}-Zr^{IV} sites. Specifically, hydrolysis under acidic conditions occurs through an intramolecular pathway, contrary to what was previously reported for Zr MOFs. Notably, we reveal the effect of cluster nuclearity and ligand nature on reactivity, besides proving the catalyst's integrity even after the reaction, enabling its recovery and reuse. These findings delineate the potential of such clusters for the degradation of phosphate triesters under acidic conditions and contribute to the development of new catalysts, such as Zr-based MOFs. Both studies developed here contribute to the development of efficient strategies for designing new catalysts and provide a basis for further investigation into the efficient degradation of agrochemicals.

Key-words: Iron(III) complexes; Zirconium clusters; Phosphate triesters hydrolysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Alguns organofosforados utilizados como princípio ativo de pesticidas....	29
Figura 2 - Estrutura da pralidoxilamina e algumas outras oximas utilizadas como medicamentos.....	37
Figura 3 - Algumas estruturas citadas nesta seção.....	38
Figura 4 - Ligante e complexos desenvolvidos como potenciais regeneradores da AChE.....	40
Figura 5 - Estrutura do imidazol e alguns derivados.	41
Figura 6 - Sítio ativo da PAPS de feijão vermelho.	44
Figura 7 - Estruturas dos sítios ativos das metalohidrolases 3',5'-exonuclease e Ser/Thr fosfatases onde M1 e M2 são Mn ^{II}	45
Figura 8 - Estrutura do sítio ativo da PTE do <i>M. tuberculosis</i> , determinada por difração de Raios X.....	46
Figura 9 – Exemplo de um dos primeiros miméticos estruturais desenvolvidos pelo LABINC, com seu respectivo ligante.	47
Figura 10 - Ligantes não simétricos miméticos ao sítio ativo das PAPS.....	48
Figura 11 -Estruturas dos complexos citados nessa seção.	51
Figura 12 - Estruturas de complexos contendo grupos IMZ.....	52
Figura 13 – Efeito da segunda esfera de coordenação no mecanismo de hidrólise.	54
Figura 14 - Estruturas de alguns complexos discutidos nessa seção.	56
Figura 15 - Estruturas propostas e nomenclatura dos ligantes sintetizados.	76
Figura 16 - Espectro de IR (resolução de 4 cm ⁻¹) dos ligantes inéditos sintetizados neste trabalho, em ATR (cm ⁻¹).	78
Figura 17 - Espectro de massas do ligante HL4 . Inserido: distribuição isotópica do pico base em m/z 578,35 (experimental em preto, teórico em vermelho).....	84
Figura 18 - Arranjos estruturais propostos para os complexos de ferro(III) discutidos neste capítulo.	85
Figura 19 - Espectros de infravermelho (em ATR, resolução de 4 cm ⁻¹) dos complexos 1(a) , 2 e 3(b) , 4 e 5(c)	86
Figura 20 - Espectros de massas ESI-MS(+) em acetonitrila, dos complexos (a) 2 ; (b) 3 ; (c) 4 ; (d) 5	92
Figura 21 - Distribuição isotópica (teórica em azul, experimental em preto) e atribuição da composição química dos sinais de maior intensidade durante a análise de ESI-MS para o complexo 2 . Em m/z (a) 255,07 (b) 237,09.	93
Figura 22 - Distribuição isotópica (teórica em azul, experimental em preto) e atribuição da composição química dos sinais de maior intensidade durante a análise de ESI-MS para o complexo 3 . Em m/z (a)353,17; (b) 381,27; (c) 437,37.	94

Figura 23- Distribuição isotópica (teórica em azul, experimental em preto) e atribuição da composição química do sinal de maior intensidade durante a análise de ESI-MS para o complexo 4 , em m/z 420,07.	95
Figura 24 - Distribuição isotópica (teórica em azul, experimental em preto) e atribuição da composição química do sinal de maior intensidade durante a análise de ESI-MS para o complexo 5 . Em m/z (a) 578,41 (b) 316,20.	96
Figura 25 – Estruturas otimizadas para o estado fundamental dos complexos 1-5 , com PBE0/Def2-TZVP(-f) (átomos de Fe, N e O) ou Def2-SVP (outros átomos). Hidrogênios ligados a carbonos foram omitidos para clareza. Cores: Carbonos (Cinza), Nitrogênios (Azul), Oxigênio (vermelho). Somente hidrogênios (branco) selecionados foram apresentados. Os demais foram omitidos por clareza.	97
Figura 26 - Espectro de UV-Vis em acetonitrila e acetonitrila água (1:1, v/v) dos complexos.	101
Figura 27 - Espectro de absorção simulado para os complexos 1 e 5 (eixo y à esquerda – linhas contínuas), com PBE0/Def2-TZVP(-f) (Fe, N e O) ou Def2-SVP (outros átomos) e curvas experimentais em CH ₃ CN (eixo y a direita – linhas tracejadas)..	103
Figura 28 – Voltamograma cíclico dos complexos 2 (a); 3 (b); 4 (c); 5 (d) . Condições: CH ₃ OH, Eletrodo de trabalho (Carbono vítreo), eletrodo de referência (Ag/Ag ⁺), Auxiliar (Pt), TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ , Velocidade: 100 mV s ⁻¹	105
Figura 29 - Orbitais de Fronteira para os complexos 1, 2, 3, 4 e 5 , calculados por PBE0/Def2-TZVP(-f) (Fe N, e O) ou Def2-SVP (outros átomos). Os hidrogênios ligados a carbono foram omitidos para aumentar clareza.	106
Figura 30 – Voltamograma de onda quadrada dos ligantes HL₂ e HL₃ , em metanol. Eletrodo de trabalho (carbono vítreo), eletrodo de referência (Ag/Ag ⁺), auxiliar (Pt), TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹	108
Figura 31 -Espectros Mössbauer para os complexos 2-5 , a 298 K.	109
Figura 32 -Espectros Mössbauer para os complexos 4 e 5 , a 4 K.	110
Figura 33 - Titulação espectrofotométrica do complexo 5 , em CH ₃ CN/H ₂ O. Eletrólito suporte KCl 0,1 mol L ⁻¹ , pH 2,57 até 10,33. Espécies determinadas por titulação espectrofotométrica.	116
Figura 34 - Distribuição de espécies de acordo com os pK _a s de cada complexo. (a) 1 ; (b) 2 ; (c) 3 ; (d) 4 ; (e) 5	117
Figura 35 - Efeito da variação do pH na reação catalisada de hidrólise do triéster. Condições: [C] _{complexo} = 6,00×10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , [C] _{substrato} ~5,0×10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ ; CH ₃ CN/tampão (1:1, v/v), [C] _{tampão} = 0,05 mol L ⁻¹ , I=0,05 mol L ⁻¹ . MES (5,0- 6,5), HEPES (7,0-8,5) CHES (9,0-10,0), 25 °C. (a) 1 (b) 2 (c) 3 (d) 4 (e) 5	120
Figura 36 - Espécies referentes aos pHs com maior atividade hidrolítica.	122
Figura 37 – Cinética de variação da concentração do substrato. Condições: [C] _{complexo} = 6,00×10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , [C] _{substrato} = 4,93×10 ⁻⁴ a 2,90×10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; CH ₃ CN/tampão (1:1, v/v), [C] _{tampão} = 0,05 mol L ⁻¹ , I=0,05 mol L ⁻¹ . [C] _{complexo} = 6,00×10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , [C] _{substrato} = 4,93×10 ⁻⁴ a 2,90×10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; Tampão: (1) MES, (2 e 3) CHES (4 e 5) HEPES.	123
Figura 38 - Geometrias do estado fundamental otimizadas para o complexo 1-PO, 2-PO; 3-PO; 4-PO e 5-PO , com PBE0/Def2-TZVP(-f) (átomos de Fe, N, e O) ou Def2-SVP (outros). Hidrogênios ligados a carbonos omitidos para clareza.	125

Figura 39 - Ensaio cinético do complexo 1 adicionando BIMZ in situ nos pHs 5,5 e 7,0. Condições: CH ₃ CN/tampão (1:1, v/v); em pH 5,5 – tampão MES; em pH 7,0 tampão - HEPES; [C] _{complexo} = 6,00×10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , [C] _{BIMZ} = 6,00×10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ [C] _{substrato} = 4,93×10 ⁻⁵ até 1,97×10 ⁻³ mol L ⁻¹ .	128
Figura 40 - Estudos de inibição da enzima Acetilcolinesterase pelos complexos 1-5 .	138
Figura 41 - Estruturas dos MOFs UiO-66 e NU-1000.	147
Figura 42 - Exemplos de modificações pós sintéticas nos MOFs. (a) grupo etilmorfolina foi adicionado; (b) coordenação das piridinas ao zinco.	149
Figura 43 - Estrutura do MOF Zr-UiO-66 e suas subunidades formada por <i>clusters</i> de Zr ₆ .	150
Figura 44 - Representação do Cluster de Zircônio Zr ₆ . (a) poliedros azuis representam o átomo de Zr e sua esfera de coordenação, círculos vermelhos representam oxigênios dos ligantes. (b) átomos de Zr estão contidos nos poliedros azuis, círculos cinza mostram os átomos de carbono dos ligantes acetatos.	165
Figura 45 - Espectro na região do infravermelho do cluster Zr₆ .	166
Figura 46 - Padrão de difração de raios X de pó do cluster de Zr ₆ .	167
Figura 47 - Concentração de nitrofenolato (4-NP) liberado na reação de hidrólise catalisada, após 5h (cores claras) e 24h (cores escuras), em 37°C e 60°C em pH 6,5 e 3,0. [Zr ₆] = 1,5 mmol L ⁻¹ ; [POX] = 25 mmol L ⁻¹ . *	169
Figura 48 – Reação de hidrólise de POX em 60°C, pelo cluster Zr₆ , em pH 3,0 e 6,4, e nas mesmas condições sem catalisador. [Zr ₆] = 1,5 mmol L ⁻¹ ; [POX]= 25 mmol L ⁻¹ ; em água (pH 3,0); HEPES, 0.1mol L ⁻¹ – pH 7,0 (pH 6,4), em 60°C.	171
Figura 49 - Reação de hidrólise de POX , catalisada por ZrCl ₄ , a 60°C. Condições: [ZrCl ₄] = 1,5 mmol L ⁻¹ ; [POX]= 25 mmol L ⁻¹ ; em água (pH 2,7); HEPES, 0.1 mol L ⁻¹ – pH 7,0 (pH 6,7), em 60°C.	173
Figura 50 – Reação de hidrólise de POX , em quantidade equimolar de catalisador e fosfato. Condições: [Zr ₆] = 12 mmol L ⁻¹ ; [POX]= 14 mmol L ⁻¹ ; em água (pH 2,4); HEPES, 0,1 mol L ⁻¹ – pH 7,0 (pH 4,0), em 60°C.	175
Figura 51 - Espectro na região do Infravermelho (em ATR) de Zr₆ antes e depois das reações de hidrólise.	176
Figura 52 - Espectro de ¹ H NMR após digestão do cluster em NaOD, após reação de hidrólise de POX , em pH 3,0.	177
Figura 53 – Dados extraídos do EXAFS para os <i>clusters</i> recuperados das reações em (a) pH 3,0 e (b) pH 6,4. Sinais depois da transformada de Fourier para os <i>clusters</i> recuperados após reação em (c) pH 3,0 e (d) pH 6,4.	178
Figura 54 - Reação de hidrólise de POX , utilizando o cluster recuperado. Condições: [Zr ₆] = 1,5 mmol L ⁻¹ ; [POX] = 25 mmol L ⁻¹ ; Solvente (1 mL – água pH 5,0), 60 °C.	180
Figura 55 - Gráfico de percentual de conversão de POX em 4-NP para os diversos <i>clusters</i> testados. [Zr ₆] = 1,5 mmol L ⁻¹ ; [POX] = 25 mmol L ⁻¹ .	183
Figura 56 - Acompanhamento da reação de hidrólise utilizando MOFs como catalisadores.	185

Figura 57 - Reação de hidrólise de POX , utilizando UiO-66 e Zr₆ , em pH alcalino. [Zr₆] e [UiO-66] = 15 μmol; [POX] = 25 μmol; em TRIS, 0.1M – pH 9,2 em 60°C.	186
Figura 58 - Cinética de hidrólise de POX , em solvente deuterado, utilizando o cluster Zr₆ como catalisador. [Zr₆] = 1,5 mmol L ⁻¹ ; [POX] = 25 mmol L ⁻¹	188
Figura 59 - (a) Curva da titulação potenciométrica do Cluster de Zr₆ e primeira derivada dos dados; (b) espécies encontradas em cada pH, e sua sequência de desprotonação.	190
Figura 60 - Representação das estruturas otimizadas dos estados de transição mais estáveis propostos pelo mecanismo: (a) TS1 - Intra e (b) TS2	197
Figura 61 – Imagem dos frascos com os materiais utilizados e sintetizados nessa seção. (a) Frascos contendo os MOFs UiO-66 e NU-1000; (b) Materiais M1, M3-M6, M9, e M10 e um <i>inset</i> contendo imagem do sólido de M1; (c) Legenda das cores dos materiais para evidenciar as diferenças.	205
Figura 62 - Análise de PXRD dos MOFs NU-1000 e UiO-66 e os derivados sintetizados M1 e M6	206
Figura 63 - Espectro na região do infravermelho dos materiais M5 e M10 , e seus respectivos MOFs de formação, UiO-66 e NU-1000.	207
Figura 64 - Estudo cinético de hidrólise do POX catalisado pelos materiais NU-1000 e seus derivados: M6 , M7 , M9 e M10 . Condições: CH ₃ CN/tampão (1:1, v/v), tampão: HEPES (0,1 mol L ⁻¹) pH 7,0. [POX] = 25 mmol L ⁻¹ ; [Catalisador] = 1,5 mmol L ⁻¹ , 25 °C.	209
Figura 65 - Estudo cinético de hidrólise do POX catalisado pelos complexos 1-5 . Condições: CH ₃ CN/tampão (1:1, v/v), tampão: HEPES (0,1 mol L ⁻¹) pH 7,0. [POX] = 25 mmol L ⁻¹ ; [Catalisador] = 1,5 mmol L ⁻¹ , 25 °C.	210

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de defensivos agrícolas de acordo com índice de LD ₅₀ , em testes com ratos. Dados apresentados para contaminação oral e dérmica, considerando os defensivos na forma sólida e líquida.	30
Tabela 2 - Dados de eficiência catalítica de alguns complexos descritos na literatura. Os valores são resultados da hidrólise do substrato modelo BDNPP, utilizando os complexos como catalisadores.	49
Tabela 3 - Eficiência catalítica de complexos contendo grupos imidazólicos, frente a hidrólise com BDNPP.	52
Tabela 4 – Eficiência catalítica de alguns complexos mencionados nesta seção.	54
Tabela 5 - Atribuições das bandas (cm ⁻¹) dos grupos funcionais presentes nos ligantes.	77
Tabela 6 - Deslocamentos químicos (ppm), multiplicidade e constantes de acoplamento dos hidrogênios atribuídos aos ligantes, observados em análise ¹ H NMR (400 MHz, em CDCl ₃ , TMS - δ = 0.00 ppm)	81
Tabela 7 - Deslocamentos químicos (ppm) dos carbonos atribuídos aos ligantes, observados em análise ¹³ C NMR (100 MHz, em CDCl ₃ , TMS - δ = 0.00 ppm)	82
Tabela 8 - Dados retirados das análises de massas dos ligantes HL₁-HL₄	83
Tabela 9 - Atribuições das bandas nos espectros na região do infravermelho dos complexos de ferro.	87
Tabela 10 – Resultados de análise elementar, em porcentagem de C, H e N.	89
Tabela 11 - Valores experimentais e teóricos de porcentagem de ferro nos complexos.	89
Tabela 12 - Valores de condutividade molar (μS cm ⁻²) dos complexos 1-5 . Condições: [C] = 1,0×10 ⁻³ mol L ⁻¹ , em acetonitrila.	90
Tabela 13 - Valores de m/z de sinais de maior intensidade nos espectros de ESI-MS(+) para os complexos em acetonitrila, atribuições dos sinais e erro associado a distribuição isotópica experimental e teórica.	96
Tabela 14 - Comprimento de ligações calculados para os complexos 1-5 por PBE0/Def2-TZVP(-f) (átomos de Fe, N e O) ou Def2-SVP (outros átomos) comparados com valores experimentais.	98
Tabela 15 – Atribuições de bandas do IR para os complexos 1-5 experimental e calculados por PBE0/Def2-TZVP(-f) (Fe, N e O) e Def2-SVP (outros átomos). Valores calculados entre parênteses.	99
Tabela 16 - Comprimento de onda máximo λ (nm) e coeficiente de absorção molar ε (L mol ⁻¹ cm ⁻¹) para os complexos de ferro.	102
Tabela 17 - Potenciais redox (E _{pa} e E _{pc} em V vs NHE) determinados através de voltametria cíclica a 100 mV s ⁻¹ e parâmetros de reversibilidade.	105
Tabela 18 - Parâmetros obtidos via espectroscopia Mössbauer de ⁵⁷ Fe para os núcleos de ferro a 298 K e 4K.	110

Tabela 19 - Valores de pKa para os complexos via titulação potenciométrica e espectrofotométrica.....	112
Tabela 20 - Parâmetros cinéticos obtidos a partir da variação da concentração do substrato. Condições: CH ₃ CN/tampão (1:1, v/v), [C] _{tampão} = 0,05 mol L ⁻¹ , I=0,05 mol L ⁻¹ . [C] _{complexo} = 6,00×10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , [C] _{substrato} = 4,93×10 ⁻⁴ a 2,90×10 ⁻³ mol L ⁻¹ ; Tampão: (1) MES, (2 e 3) CHES (4 e 5) HEPES.....	124
Tabela 21 - Valores de constante catalítica em água deuterada, relação k _{cat} /k _D , atribuição de tipo de mecanismo associado com o resultado, quantidade de moléculas hidrolisadas por uma molécula de catalisador ao longo do tempo.	131
Tabela 22 - Parâmetros termodinâmicos para a hidrólise do DEDNPP.	135
Tabela 23 - LD ₅₀ dos complexos e cisplatina contra células cancerígenas de-MB-231 e MG-63 após 24h de incubação.	139
Tabela 24- Valores de constantes calculados para Zr₆ , ZrCl ₄ e outros catalisadores reportado na literatura para hidrólise de POX .*	172
Tabela 25 -Parâmetros relevantes de EXAFS em pH = 3,0 e pH = 6,4. Distâncias interatômicas (R), fatores de Debye-Waller (σ ²) e degenerescências do sinal (N) são relatados com os respectivos erros entre parênteses.	179
Tabela 26 – <i>Clusters</i> e ligantes avaliados na conversão de POX em 4-NP , rendimentos obtidos após 24h e pHs medidos no início e final da reação. Condições: [Zr₆] = 1,5 mmol L ⁻¹ ; [POX]= 25 mmol L ⁻¹ ; em água (pH 3,0); HEPES, 0,1 mol L ⁻¹ – pH 7,0 (pH 6,4), em 60°C.	184
Tabela 27 – pH calculado para as soluções considerando diferentes concentrações das espécies majoritárias para Zr₆	193
Tabela 28 - Proporção de complexo para cada unidade de MOF nas amostras. Proporção calculada por diferença da concentração de complexo na solução no início e final do procedimento de incorporação.	204

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Classificação dos ésteres de fosfato de acordo com as substituições a partir do ácido fosfórico.	31
Esquema 2 - Classificação dos Organofosforados e ésteres de fosfato com alguns exemplos de cada classe.	32
Esquema 3 - Mecanismo de inibição da AChE por organofosforados.	35
Esquema 4 - Mecanismo de reativação da enzima AChE pelo nucleófilo.....	36
Esquema 5 – Proposta de equilíbrios de desprotonação do complexo 1	112
Esquema 6 – Proposta de equilíbrios de desprotonação dos complexos 2 e 3	113
Esquema 7 – Proposta de equilíbrios de desprotonação dos complexos 4 e 5	115
Esquema 8 - Hidrólise do DEDNPP.	118
Esquema 9 - Proposta de mecanismo para o complexo 1	132
Esquema 10 - Proposta de mecanismo para os complexos 2 e 3	133
Esquema 11 - Proposta de mecanismo para os complexos 4 e 5	134
Esquema 12 - Formação dos MOFs a partir dos ligantes orgânicos e clusters metálicos.	146
Esquema 13 - Reações catalisadas por subunidades de Zr-MOFs.	153
Esquema 14 - Proposta de intermediários catalíticos nas reações de hidrólise catalisadas pelas subunidades de Zr-MOFs	154
Esquema 15 - Reação de formação de amidas catalisada por Zr-cluster.....	155
Esquema 16- Representação gráfica do modelo estrutural utilizado para a análise de EXAFS. Cada Zr (por exemplo, Zr azul na parte superior) coordenados a oito átomos de oxigênio ($4\mu_3\text{-O} \sim 2,1 \text{ \AA}$ e $4\mu_2\text{-O} \sim 2,2 \text{ \AA}$, descritos por γ_1 e γ_2 , respectivamente), quatro átomos de Zr equatoriais (átomos azuis-claros a $\sim 3,6 \text{ \AA}$) e um átomo de Zr apical (átomo violeta a $\sim 5,0 \text{ \AA}$).....	160
Esquema 17 - Condições experimentais para hidrólise do POX usando Zr₆ como catalisador.....	168
Esquema 18 - Estrutura dos (a) <i>Clusters</i> de Zr ₆ e Zr ₁₂ e (b) dos ligantes carboxílicos utilizados nessa seção.	181
Esquema 19 - (a) ciclo catalítico do mecanismo de hidrólise usando PAPs, (b) mecanismo proposto para hidrólise de POX usando Zr₆	187
Esquema 20 – Processo de hidratação e desprotonação que Zr₆-Cl₃ passa ao ser dissolvido em água.....	192
Esquema 21 – Espécies e valores de pKa determinados por DFT. Valores experimentais entre parênteses.	194
Esquema 22 – Perfil de energia livre de Gibbs (kcal mol ⁻¹) da hidrólise de 1 em 60 °C catalisado por Zr ₆ -(OH) ₄ , em pH 3,0.....	196

Esquema 23 - Energia livre de Gibbs (kcal mol^{-1}) para a reação de hidrólise de POX catalisada por Zr₆(OH)₄ através de mecanismos alternativos	198
Esquema 24 – Representação (a) da desprotonação espontânea de $[\text{P}]^+$; (b) Perfil de energia livre de Gibbs (kcal mol^{-1})*.	200
Esquema 25 - Perfil de energia livre de Gibbs (kcal mol^{-1}) para a hidrólise de POX catalisada por Zr₆(OH)₇ , a forma mais abundante do catalisador a pH 9,0.....	201
Esquema 26 - Condições reacionais dos experimentos cinéticos.....	208

LISTA DE APREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

δ	Deformação angular
δ	Deslocamento químico
δ	Deslocamento isomérico
ϵ	Coefficiente de absorção molar
λ	Comprimento de onda
ΔE_Q	Desdobramento quadrupolar
Γ	Largura de linha
2- PAM	Pralidoximina
4-NP	4-nitrofenol
AChE	Acetilcolinesterase
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
Asp	Aspartato
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATP	Adenosina Trifosfato, do inglês <i>Adenonsine triphosphate</i>
ATR	Refletância total atenuada, do inglês <i>Attenuated total reflectance</i>
BDNPP	2,4-bis(dinitrofenil)fosfato
BIMZ	Benzimidazol
cAMP	3',5' monofosfato de Adenosina, do Inglês <i>Adenosine Monophosphate</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
$CDCl_3$	Clorofórmio deuterado
CHES	Ácido N-ciclohexil-2-aminoetanosulfônico
CV	Voltametria cíclica, do inglês <i>Cyclic voltammetry</i>
DEDNPP	Dietil-2,4-dinitrofenil-fosfato
DEP	Dietilfosfato
DFT	Teoria funcional da densidade, do inglês <i>Density functional theory</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês <i>Deoxyribonucleic acid</i>

DNP	2,4-dinitrofenol
DTNB	5,5-ditio-bis(2-nitrobenzoico)
E	Eficiência Catalítica
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização electrospray, do inglês <i>Electrospray ionization mass spectrometry</i>
Et ₃ N	Trietilamina
EXAFS	Espectroscopia de Estrutura Fina de Absorção de Raios X, do Inglês <i>Extended X-ray Absorption Fine-Structure</i>
Glu	Glutamato
HEPES	Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfônico
His	Histidina
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia, do Inglês <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
IMZ	Imidazol
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IR	Espectroscopia na região do Infravermelho, do inglês <i>Infrared spectroscopy</i>
K _{assoc}	Constante associativa
k _{cat}	Constante catalítica
KCX	Lisina Carboxilada
K _M	Constante de Michaelis-Menten
KU	<i>Katholieke Universiteit Leuven</i>
LABIME	Laboratório de Biologia Molecular Estrutural
LABINC	Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia – Professor Ademir Neves
LBC	Laboratório de Bioinorgânica
LD ₅₀	Dose Letal 50, do inglês <i>Letal Dose</i>
LMCT	Transferência de carga do tipo ligante metal, do Inglês <i>Ligand-to-Metal Charge Transfer</i>
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energia, do Inglês <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
MDA-MB-231	Célula de câncer de mama humano
MES	Ácido 2-(N-morfolino)etanosulfônico

MG-63	Célula de câncer de ossos
MLCT	Transferência de carga do tipo metal ligante, do Inglês <i>Metal-to-Ligand Charge Transfer</i>
MOF	<i>Metal Organic Framework</i>
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolil
NMR	Ressonância Magnética Nuclear, do inglês <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
OP	Organofosfato, do inglês <i>organophosphate</i>
PAP	Fosfatase ácida purpura, do inglês <i>purple acid phosphatase</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
PIB	Produto Interno Bruto
pK _a	Constante de dissociação ácida em escala logarítmica
pK _w	Constante de autoprotólise da água em escala logarítmica
POX	Etil Paraoxon
PTE	Fosfotriesterase, do inglês <i>phosphotriesterase</i>
PXRD	Difração de raio X de pó, do Inglês <i>Powder X-ray diffraction</i>
Py	Piridina
RNA	Ácido ribonucleico, do inglês <i>Ribonucleic acid</i>
t _½	Tempo de meia vida
TMP	Monofosfato de timidina, do Inglês <i>Thymidine monophosphate</i>
TMS	Trimetilsilano
TMSP-d ₄	3-(trimetilsilil)propanoato-2,2,3,3-d ₄ de sódio
TRIS	2-Amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol
TS	Estado de Transição, do Inglês <i>Transition State</i>
Tyr	Tirosina, do inglês <i>Tyrosine</i>
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UV-Vis	Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível
V _{max}	Velocidade Máxima

SUMÁRIO

1	PRIMEIRO CAPÍTULO:	27
1.1	REVISÃO DA LITERATURA	28
1.1.1	<i>O uso de agrotóxicos no Brasil</i>	28
1.1.2	<i>Os ésteres de fosfato</i>	31
1.1.3	<i>Intoxicação por organofosforados e regeneração enzimática</i>	34
1.1.4	<i>Imidazol e benzimidazol</i>	40
1.1.5	<i>Metalohidrolases</i>	43
1.1.6	<i>Metalohidrolases sintéticas</i>	47
1.1.7	<i>Efeitos da segunda esfera de coordenação</i>	53
1.2	OBJETIVOS	58
1.2.1	<i>Objetivo geral</i>	58
1.2.2	<i>Objetivos específicos</i>	58
1.3	PARTE EXPERIMENTAL	59
1.3.1	<i>Materiais e Métodos</i>	59
<u>1.3.1.1</u>	<u><i>Ressonância Magnética Nuclear (NMR)</i></u>	<u>59</u>
<u>1.3.1.2</u>	<u><i>Espectroscopia na região do Infravermelho (IR)</i></u>	<u>59</u>
<u>1.3.1.3</u>	<u><i>Espectrometria de massas por electrospray (ESI-MS)</i></u>	<u>60</u>
<u>1.3.1.4</u>	<u><i>Análise Elementar de C, H e N</i></u>	<u>60</u>
<u>1.3.1.5</u>	<u><i>Espectrometria de absorção atômica (GC-AAS)</i></u>	<u>60</u>
<u>1.3.1.6</u>	<u><i>Condutividade molar</i></u>	<u>61</u>
<u>1.3.1.7</u>	<u><i>Espectroscopia Eletrônica UV-Vis</i></u>	<u>61</u>
<u>1.3.1.8</u>	<u><i>Medidas Eletroquímicas</i></u>	<u>61</u>
<u>1.3.1.9</u>	<u><i>Espectroscopia Mössbauer de ⁵⁷Fe</i></u>	<u>62</u>
<u>1.3.1.10</u>	<u><i>Modelagem teórica</i></u>	<u>62</u>
<u>1.3.1.11</u>	<u><i>Titulações potenciométricas e espectrofotométricas</i></u>	<u>63</u>
<u>1.3.1.12</u>	<u><i>Acompanhamento da reação de hidrólise</i></u>	<u>63</u>
<u>1.3.1.13</u>	<u><i>Ensaio de interação e regeneração da enzima Acetilcolinesterase</i></u>	<u>64</u>
<u>1.3.1.14</u>	<u><i>Estudo de Viabilidade Celular: Ensaio com Brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il) -2,5-Difeniltetrazolil</i></u>	<u>65</u>
<u>1.3.1.15</u>	<u><i>Condições de crescimento celular</i></u>	<u>66</u>

1.3.2	<i>Síntese dos precursores e ligantes</i>	66
1.3.2.1	<i>Síntese do precursor bis-(2-metilpiridil)amina - bpma</i>	66
1.3.2.2	<i>Síntese do precursor 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol - cmff</i> <u>67</u>	
1.3.2.3	<i>Síntese do ligante 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-formilfenol - bpmamff</i>	68
1.3.2.4	<i>Síntese do Ligante 2-(((4-aminobutil)amino)metil)-6-((bis(2-metilpiridil)amino)metil)-4-metilfenol - HL₁</i>	69
1.3.2.5	<i>Síntese do Ligante 2-(((6-aminohexil)amino)metil)-6-((bis(2-metilpiridil)amino)metil)-4-metilfenol - HL₂</i>	70
1.3.2.6	<i>Síntese do Ligante (((1H-benzimidazol-2-il)metil)amino)metil)-6-((bis(2-metilpiridil)amino)metil)-4-metilfenol - HL₃</i>	71
1.3.2.7	<i>Síntese do Ligante 2-(((6-(((1H-benzimidazol-2-il)metil)amino)hexil)amino)metil)-6-((bis(2-metilpiridil)amino)metil)-4-metilfenol - HL₄</i>	72
1.3.3	<i>Síntese dos complexos</i>	73
1.3.3.1	<i>Síntese do complexo [Fe(bpmamff)Cl₂] - 1</i>	73
1.3.3.2	<i>Síntese do complexo [Fe(L₁)(OH₂)₂](ClO₄)₄ - 2</i>	73
1.3.3.3	<i>Síntese do complexo [Fe(L₂OH₂)](ClO₄)₃ - 3</i>	74
1.3.3.4	<i>Síntese do complexo [Fe(L₃)(OH₂)₂](ClO₄)₂ - 4</i>	74
1.3.3.5	<i>Síntese do complexo [Fe(L₄)(OH₂)₂](ClO₄)₃ - 5</i>	75
1.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
1.4.1	<i>Caracterização dos ligantes</i>	76
1.4.1.1	<i>Espectroscopia na Região do Infravermelho (IR)</i>	77
1.4.1.2	<i>Ressonância Magnética nuclear (NMR)</i>	78
1.4.1.3	<i>Espectrometria de Massas por electrospray (ESI-MS)</i>	83
1.4.2	<i>Caracterização dos complexos de ferro(III)</i>	84
1.4.2.1	<i>Espectroscopia na região Infravermelho</i>	85
1.4.2.2	<i>Dosagens de carbono, hidrogênio, nitrogênio e ferro</i>	88
1.4.2.3	<i>Condutividade molar</i>	89
1.4.2.4	<i>Espectrometria de Massas</i>	91
1.4.2.5	<i>Modelagem teórica dos complexos</i>	97
1.4.2.6	<i>Espectrofotometria na região do UV-vis</i>	100
1.4.2.7	<i>Medidas Eletroquímicas</i>	104

1.4.2.8	<u><i>Espectroscopia Mössbauer de ⁵⁷Fe</i></u>	108
1.4.2.9	<u><i>Estudos de equilíbrio de espécies</i></u>	111
1.4.3	<i>Estudos cinéticos</i>	118
1.4.3.1	<u><i>Efeito da variação de pH na reação catalisada</i></u>	119
1.4.3.2	<u><i>Efeito da Concentração de Substrato na Reação Catalisada</i></u>	122
1.4.3.3	<u><i>Proposta de mecanismo</i></u>	130
1.4.4	<i>Estudos biológicos</i>	136
1.4.4.1	<u><i>Testes de inibição e regeneração da enzima Acetilcolinesterase (AChE)</i></u>	137
1.4.4.2	<u><i>Estudos de citotoxicidade</i></u>	139
1.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE O CAPÍTULO 1	141
2	SEGUNDO CAPÍTULO:	144
2.1	REVISÃO DA LITERATURA	145
2.1.1	<i>Estrutura e reatividade dos MOFs</i>	146
2.1.2	<i>Clusters de Zircônio</i>	150
2.1.3	<i>Atividade catalítica dos clusters</i>	152
2.2	OBJETIVOS	156
2.2.1	<i>Objetivos gerais</i>	156
2.2.2	<i>Objetivos específicos</i>	156
2.3	PARTE EXPERIMENTAL	157
2.3.1	<i>Materiais e Métodos</i>	157
2.3.1.1	<u><i>Espectroscopia na Região do Infravermelho (IR) e na região do UV-Vis</i></u>	157
2.3.1.2	<u><i>Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (NMR)</i></u>	158
2.3.1.3	<u><i>Análise de digestão por NMR</i></u>	158
2.3.1.4	<u><i>Difração de raios X de pó (PXRD)</i></u>	158
2.3.1.5	<u><i>Titulação Potenciométrica</i></u>	158
2.3.1.6	<u><i>Espectroscopia de Estrutura Fina de Absorção de Raios X (EXAFS)</i></u>	159
2.3.1.7	<u><i>Estudo de hidrólise do paraoxon-etílico (POX)</i></u>	160
2.3.1.8	<u><i>Estudos computacionais via DFT</i></u>	161
2.3.2	<i>Síntese do Zr-Cluster (Zr₆)</i>	163
2.3.3	<i>Síntese dos materiais híbridos</i>	163
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	165

2.4.1	Caracterização do Cluster.....	165
2.4.1.1	<u>Espectrofotometria de Infravermelho (IR) e difração de Raios X de pó (PXRD).....</u>	166
2.4.1.2	<u>Análise, por ¹H NMR, dos produtos de digestão do cluster .</u>	167
2.4.2	Atividade hidrolítica frente ao substrato paraoxon	168
2.4.3	Análise de estrutura após recuperação do catalisador e reuso ..	175
2.4.3.1	<u>Espectroscopia de IR e digestão por NaOD</u>	175
2.4.3.2	<u>Espectroscopia de Estrutura Fina de Absorção de Raios X (EXAFS)</u>	177
2.4.3.3	<u>Reações de hidrólise utilizando os clusters recuperados</u>	179
2.4.4	Estrutura do catalisador vs atividade hidrolítica	181
2.4.5	Considerações sobre o mecanismo.....	186
2.4.6	Estudos teóricos.....	191
2.4.6.1	<u>Determinação das espécies em solução</u>	191
2.4.6.2	<u>Determinação do mecanismo da reação</u>	195
2.4.7	Ensaio de incorporação dos complexos aos MOFs	202
2.4.7.1	<u>Incorporação dos complexos nos MOFs.....</u>	203
2.4.7.2	<u>Estudos de hidrólise do POX.....</u>	208
2.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE O CAPÍTULO 2.....	212
3	DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA.....	214
4	REFERÊNCIAS	215
	APÊNDICES	242

1 PRIMEIRO CAPÍTULO:
***EFEITOS ESTRUTURAIS E CINÉTICOS CAUSADOS PELA PRESENÇA DE
BENZIMIDAZOL NA SEGUNDA ESFERA DE COORDENAÇÃO DE COMPLEXOS
MONONUCLEARES DE FERRO(III)***

1.1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1.1 O uso de agrotóxicos no Brasil

A agricultura no Brasil representou, em 2022, cerca de 24,8% do PIB (Produto Interno Bruto) nacional, e é responsável por 47,6% das exportações do país. Somente em grãos, em 2023, foram produzidas mais de 300 milhões de toneladas em cerca de 77 milhões de hectares.¹ Devido à extensa área de plantio, o Brasil já foi considerado o maior consumidor de agrotóxicos no mundo,² aplicando cerca de 300 mil toneladas destes produtos anualmente (130 mil toneladas de ingredientes ativos).³ Em 40 anos, houve um aumento de 700% no uso de agroquímicos no país, mesmo que a área agrícola tenha aumentado somente 78% no mesmo período.³ A região sul consome 31% desses compostos, ficando atrás somente da região Sudeste. Santa Catarina, por exemplo, é considerado um dos estados de maior destaque em produtividade agrícola, e conseqüentemente se encontra entre os dez estados que mais consomem agrotóxicos.⁴

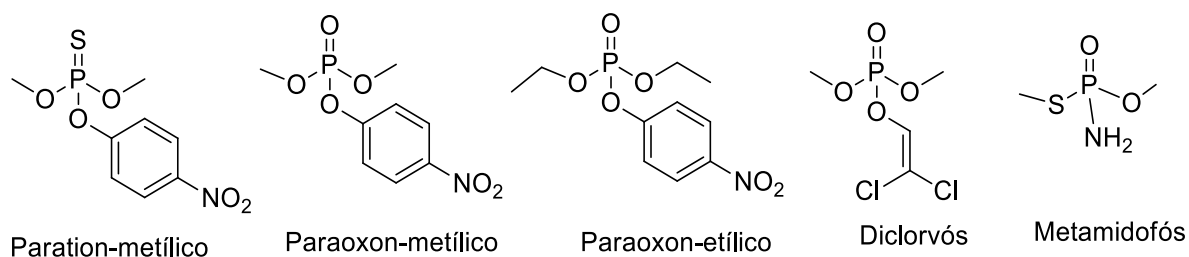
O uso destes compostos pode agravar alguns problemas ambientais, como acelerar processos de erosão, causar perda de *habitat*, alteração de povoamento e população faunística, assim como alterar a biodiversidade local.⁵ Esse desequilíbrio ambiental também faz com que as pragas criem resistência a eles, e como consequência, é necessário aumentar a dosagem utilizada, ou desenvolver novos produtos, gerando um ciclo vicioso.⁵

Os problemas associados aos defensivos agrícolas não ficam restritos ao meio ambiente. Estima-se que a cada ano cerca de um milhão de pessoas sejam intoxicadas de forma involuntária por agroquímicos. Um levantamento de 2007-2017 em 13 estados brasileiros mostra uma forte correlação linear entre o aumento no consumo de agrotóxicos e o número de intoxicações de trabalhadores por estas substâncias.^{6,7} No Brasil, registrou-se quase 57 mil casos de intoxicação por agroquímicos entre os anos de 2010-2019.⁶ Somente no estado de Santa Catarina, foram informados 1663 casos de 2015-2020, dentre os quais 64 vieram a óbito.⁸ No entanto se estima que haja uma subnotificação (na ordem de 1 para 50),⁶ já que estes casos são reportados diretamente por hospitais, ou seja, são referentes a intoxicações agudas que levaram o indivíduo a procurar ajuda médica.

Normalmente intoxicações crônicas não são notificadas, mas a acumulação de pesticidas no ambiente e em alimentos também podem causar intoxicação por contato direto e diário com estes compostos.² Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) contaminações deste tipo podem gerar sintomas preocupantes, como: infertilidade, impotência, facilitar o aborto, malformação e neurotoxicidade.⁹ Além disso, estudos apontam uma relação entre o uso destes compostos e o desenvolvimento de doenças degenerativas, como Alzheimer e Parkinson.¹⁰

A venda e utilização de agroquímicos é controlada por agências reguladoras, devido à alta toxicidade que apresentam. Dentre as diversas classes de agroquímicos disponíveis, os organofosforados fazem parte dos mais problemáticos (Figura 1). As principais adversidades estão relacionadas a sua durabilidade, associada a estabilidade da ligação fósforo-oxigênio,¹¹ além de seu efeito anticolinesterásico (inibindo a ação da enzima acetilcolinesterase).

Figura 1 - Alguns organofosforados utilizados como princípio ativo de pesticidas



Fonte: Adaptado de Domingos *et al.* (2003) e Wanderlind *et al.* (2014).^{12,13}

Dentre eles se destacam os paration-metilico e os metamidofós com venda proibida no país devido à alta toxicidade demonstrada em testes realizados pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA).¹⁴ Os compostos considerados tóxicos são aqueles que apresentam riscos à saúde humana de acordo com testes toxicológicos protocolados na agência e na literatura científica publicamente disponível sobre o assunto.

A classificação dos defensivos agrícolas é dada por dois fatores: toxicidade e persistência. Quanto a toxicidade eles são divididos em 4 classes, apresentadas na Tabela 1. Os valores são expressos em função da dose letal (*Letal dose* -LD) que representa a dose de pesticida necessária para matar 50% da população testada. Desta forma, quanto menor o valor de LD₅₀ mais tóxico é o composto.¹⁵

Tabela 1 - Classificação de defensivos agrícolas de acordo com índice de LD₅₀, em testes com ratos. Dados apresentados para contaminação oral e dérmica, considerando os defensivos na forma sólida e líquida.

Classe	LD ₅₀ para ratos (mg/kg)			
	Oral		Dérmico	
	Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
Ia Extremamente perigoso	<5	<20	<10	<40
Ib Altamente perigoso	5<50	20<200	10<100	40<400
II Moderadamente perigoso	50<500	200<2000	100<1000	400<4000
III Levemente perigoso	>500	>2000	>1000	>4000

Fonte: Adaptado de World Health Organization (2019).¹⁵

A persistência diz respeito ao tempo em que estes compostos permanecem no ambiente sem serem degradados ou terem estrutura alterada, normalmente expresso em valores de tempo de meia vida ($t_{1/2}$). Esse valor indica o tempo necessário para que a concentração original do composto caia pela metade. Alguns agroquímicos apresentam $t_{1/2}$ na casa de centenas de anos,¹⁶ ou seja, compostos utilizados em séculos passados continuam a contaminar solo, água e flora na atualidade.

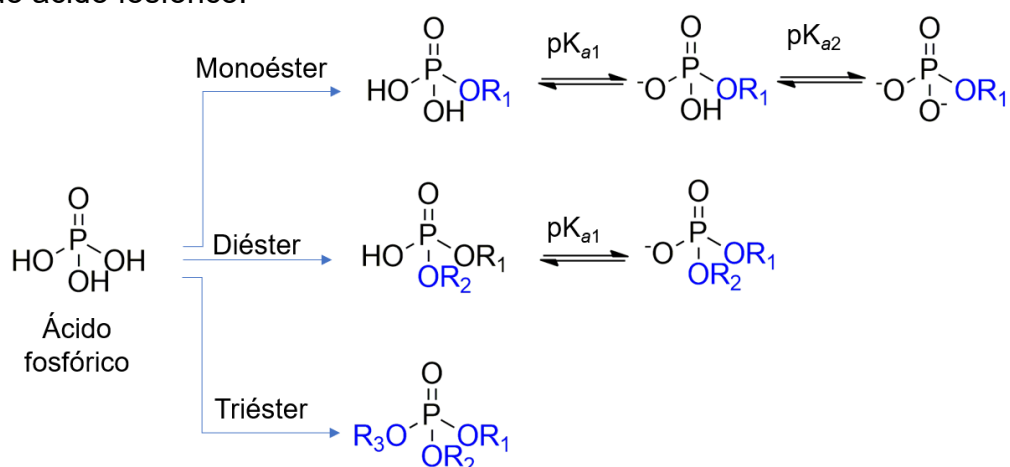
Os compostos paration metílico e etílico (Figura 1), fazem parte da classificação Ia, apresentando valores de LD₅₀ de 14 e 13 mg kg⁻¹, respectivamente.¹⁵ Esses valores justificam a proibição do uso destes compostos no país. Mesmo assim, ainda é possível encontrar resquícios destes compostos em amostras alimentícias, atrelado ao uso ilegal dos agroquímicos.¹⁷ Quando o paration, metílico ou etílico, é absorvido no organismo ele sofre um processo de biotransformação ao metabólito ativo Paraoxon (Figura 1). O paraoxon (POX), foi criado como substituinte do paration e tem venda liberada no país. Seu $t_{1/2}$ é de aproximadamente 780 dias (pH 8,0 à 27 °C) na ausência de catalisador,¹⁸ tempo elevado para um composto permanecer contaminando o ambiente. Nesta forma, este composto faz parte da classe dos triésteres de fosfato e exibe toxicidade elevada na inibição da enzima acetilcolinesterase.

Compostos deste tipo merecem atenção devido aos riscos associados à sua utilização e, portanto, foram escolhidos como objeto de estudo deste trabalho. Para tal, é preciso entender um pouco mais sobre a estrutura e reatividade dos ésteres de fosfato.

1.1.2 Os ésteres de fosfato

Os ésteres de fosfato são considerados compostos derivados do ácido fosfórico, nos quais grupos alcóxila ou arilóxila (anéis aromáticos ligados a oxigênio, tal qual o grupo fenol) substituem os grupos hidroxila. Estas substituições também classificam estes compostos em mono-, di- e tri-ésteres de fosfato, como apresentado no Esquema 1. Um dos fatores que definem a reatividade destes compostos, é a possibilidade de ataques nucleofílicos ao átomo de fósforo ou ao carbono ligado ao oxigênio do próprio grupo de saída, sendo o primeiro caso favorecido pela eletrofilicidade do átomo de fósforo.^{19,20}

Esquema 1 - Classificação dos ésteres de fosfato de acordo com as substituições a partir do ácido fosfórico.



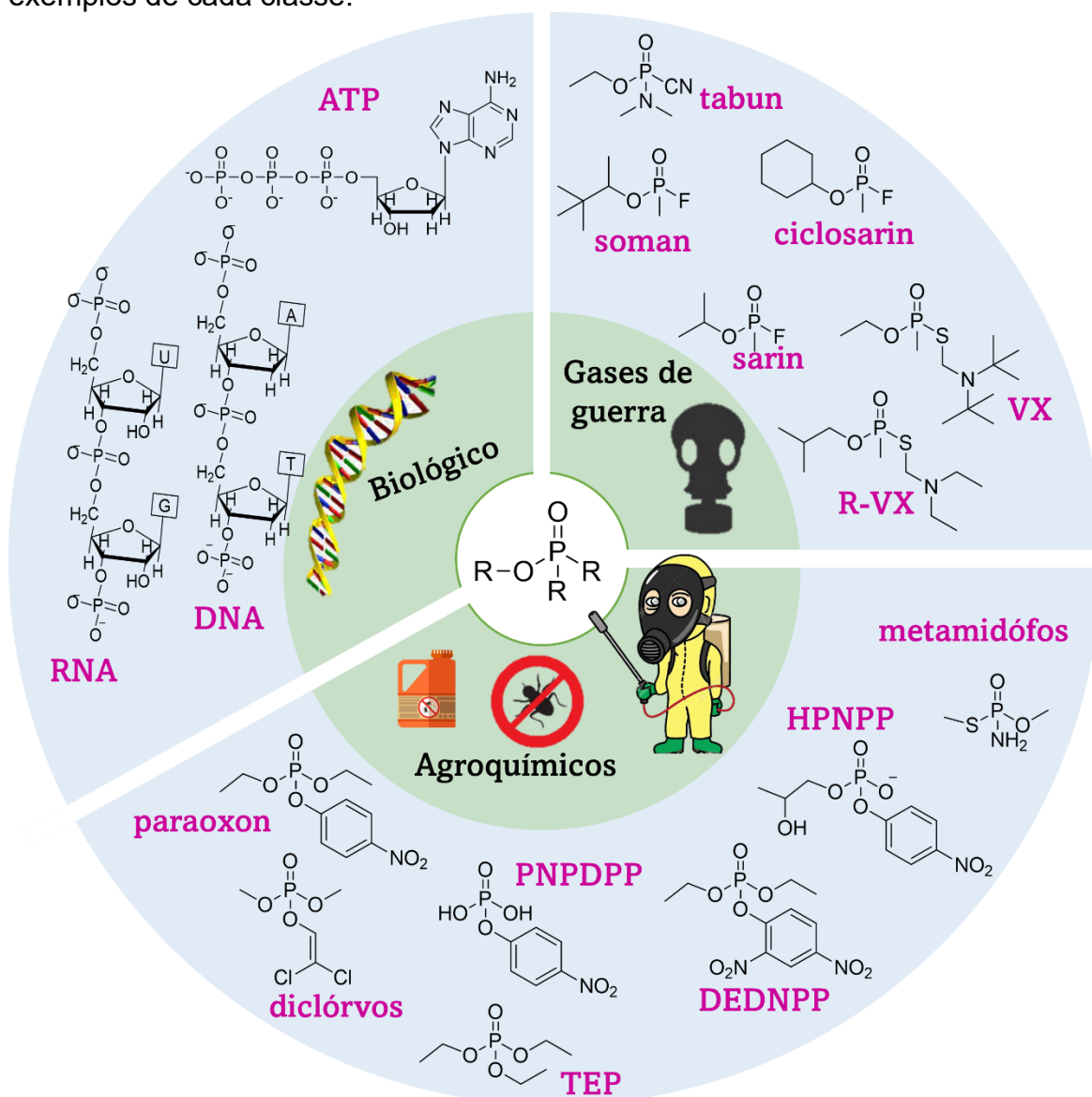
Fonte: Adaptado de Wanderlind (2018) Domingos *et al.* (2003).^{12,21}

Estes compostos são encontrados em diversas formas em sistemas ambientais e biológicos e são, geralmente, são divididos em três categorias (Esquema 2): ácidos nucleicos e derivados; pesticidas fosforados e agentes químicos de guerra.²²

Como apresentado no Esquema 2, os mono- e diésteres de fosfato desempenham várias funções biológicas específicas. São encontrados em partes hidrofílicas dos fosfolipídios que compõem grande parte da membrana celular ou em pequenas moléculas vitais para o metabolismo como Adenosina Trifosfato (ATP) e 3',5'-monofosfato de adenosina (cAMP). Contudo, o papel mais importante destas moléculas é na composição dos ácidos ribonucleicos - RNA e DNA, conectando ácidos nucleicos e permitindo a formação da estrutura polinucleotídica. Além de

funções estruturais, os processos de fosforilação e desfosforilação constituem uma das formas de regulação enzimática mais importantes.²³

Esquema 2 - Classificação dos Organofosforados e ésteres de fosfato com alguns exemplos de cada classe.



Fonte: Adaptado de Jiang *et al.* (2020).²²

Os diésteres de fosfato são tipicamente os menos reativos entre os ésteres de fosfato. Isso ocorre porque, em meio aquoso, eles existem principalmente na sua forma ácida $(RO)_2P(O)OH$, em quase toda faixa de pH. A carga negativa distribuída entre os dois átomos de oxigênio, reduz a eletrofilicidade do átomo de fósforo, ou seja, ele se torna menos atraente para ataques nucleofílicos, em comparação aos triésteres. Além disso, os diésteres não possuem a mobilidade de prótons encontrada

nos monoésteres, que facilita a protonação do grupo de saída durante a reação.^{24,25} Por isso, a hidrólise dos diésteres de fosfato ocorre de maneira muito lenta, a menos que seja catalisada. Os biológicos, como o DNA, podem apresentar $t_{1/2}$ de 10^6 anos, sendo sua hidrólise normalmente catalisada por enzimas, tais como as nucleases e fosfatases.²³ Estima-se que uma enzima que tenha a função de catalisar a hidrólise do DNA deva possuir um fator de aceleração da reação em torno de 10^{17} vezes.²⁶

A segunda e terceira classificações dos ésteres de fosfato é advinda de efeitos neurotóxicos que alguns destes compostos apresentam. As primeiras armas químicas deste tipo foram desenvolvidas por volta do ano 1915.^{12,27} A partir desta época, gases com o intuito de atacar o sistema neurológico foram produzidos como asfixiantes. O desenvolvimento, produção e uso desses materiais é proibido desde a convenção de armas químicas em 1997, mas, o temor relacionado ao uso dos gases de guerra ainda persiste. Além disso, a importância química dos estudos envolvendo estes compostos vêm se tornando conhecida devido à necessidade de degradação e/ou desativação destas moléculas.²⁸ No caso de agroquímicos, esses mesmos efeitos também estão presentes, porém em menor grau de toxicidade que nos gases de guerra.

No Brasil, os organofosforados estão entre as classes de pesticidas e herbicidas mais utilizados na agricultura,²⁹ e no mundo representam 40% do total de pesticidas utilizados.³⁰ Usualmente, os ésteres utilizados nessa categoria são do tipo triésteres (Esquema 2). Esses compostos com ação pesticida, inseticida, e fungicida representam uma classe de compostos criados pelo homem como o objetivo de aumentar a produção agrícola.² Contudo, devido principalmente à toxicidade atribuída a estes compostos, estudos vêm sendo realizados para promover a retenção e/ou degradação eficiente e segura dos ésteres de fosfato. Dentre os métodos descritos na literatura podem ser citados os processos físicos, como absorção,²² químicos pelo uso de fotocatalisadores,^{31,32} nanocatalisadores,³³⁻³⁶ polímeros,^{37,38} bactérias,³⁹⁻⁴¹ ou até por processos de hidrólise,^{42,43} mimetizando o efeito catalítico de algumas enzimas responsáveis por hidrolisar ligações P-O em sistemas biológicos.^{44,45}

A necessidade de degradar esses compostos não fica restrita à sua forma natural. Após a contaminação de um indivíduo por esses compostos neurotóxicos, a principal via de descontaminação é promover a hidrólise do organofosforado (OP) permitindo sua liberação do organismo. Na próxima seção serão apresentados estudos envolvendo os aspectos biológicos acerca das contaminações por ésteres de fosfato.

1.1.3 Intoxicação por organofosforados e regeneração enzimática

Os efeitos dos OPs no corpo humano foram percebidos logo após a primeira síntese desses compostos e que os sintomas eram minimizados pela utilização de atropina, medicamento que inibe o transmissor acetilcolina. Esse efeito indica que a interação dos OPs com o ser humano promove a acumulação da acetilcolina no organismo. Em 1926, percebeu-se que os OPs inibiam diretamente a acetilcolinesterase (AChE), enzima responsável por hidrolisar o substrato acetilcolina. O mecanismo detalhado dessa inibição demorou 13 anos para ser explicado.⁴⁶

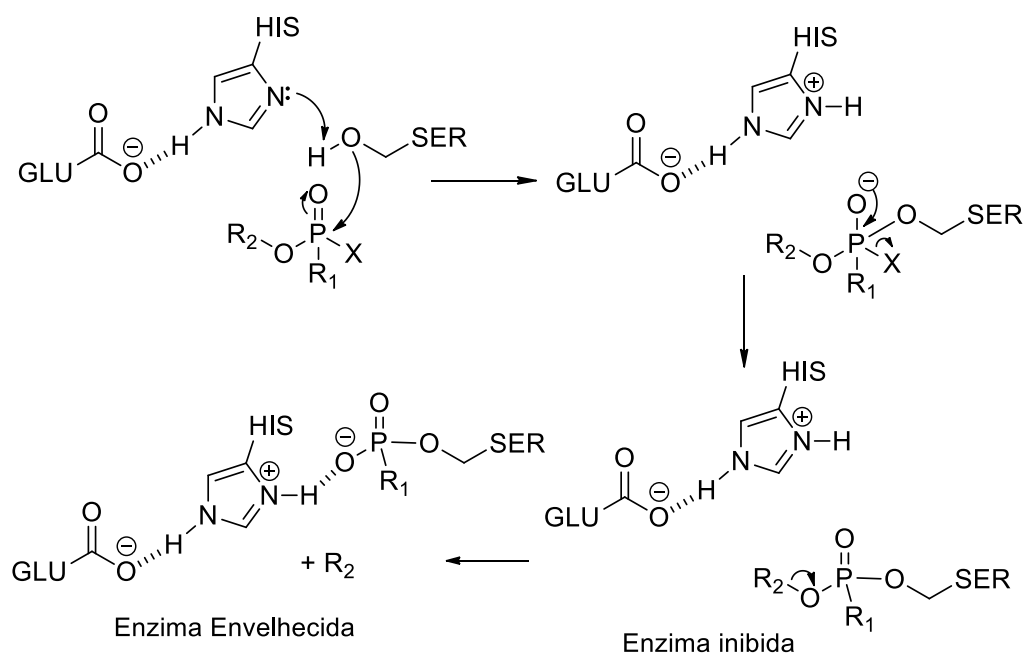
Enzimas do tipo colinesterases são encontradas em diversas partes do corpo e são as responsáveis por finalizar a propagação do impulso nervoso. Isso é feito pela hidrólise da acetilcolina em colina e acetato. A AChE é definida como uma serina hidrolase, e é composta por quatro sítios principais, dois aniônicos, um hidrofóbico e o sítio ativo, onde se encontram os resíduos de aminoácidos de serina, histidina e ácido glutâmico (tríade catalítica) responsáveis pelo processo de hidrólise do neurotransmissor.⁴⁷

Quando o sítio ativo interage com compostos organofosforados, ocorre uma ligação covalente entre o oxigênio da serina e o átomo de fósforo, inibindo a atividade da enzima (Esquema 3). Esse processo pode levar ao envelhecimento da AChE pela interação forte do hidrogênio da histidina protonada com o OP, causando uma inibição irreversível.⁴⁸ Desta forma, a enzima não pode desenvolver seu papel e, como consequência, os neurotransmissores são acumulados no organismo. Em casos de contaminação grave, ocorre um bloqueio neuromuscular que por fim afeta os músculos responsáveis pela respiração, podendo levar a morte do indivíduo.⁴⁹

Testes de citotoxicidade *in vitro* mostram que o paration-metílico é tóxico com concentração de 3×10^{-5} mol L⁻¹ em células retiradas de peixes, mostrando alta sensibilidade ao pesticida.⁵⁰ O índice LD₅₀ (concentração responsável por 50% de morte celular ou, neste caso, inibição da enzima) do paraoxon-etílico frente a enzima monitorada no fígado de ratos é 0,11 mol L⁻¹ aproximadamente.⁵¹ Testes em material humano ainda são pouco explorados, porém, no trabalho de Prugh *et al.* (2017), células tronco mesenquimais, derivadas da medula óssea, foram tratadas com os organofosforados paration-metílico e paraoxon-etílico para investigação da toxicidade destes compostos. A viabilidade celular após tratamento com paration se mostrou aproximadamente nula em uma dose de 0,01 mol L⁻¹ (apresentando resultados

somente nesta concentração), enquanto o paraoxon apresentou um LD₅₀ de 0,02 mol L⁻¹. Nestes casos, a interação dos pesticidas com a AChE também foi testada, diminuindo a atividade da enzima em 50% (paration) e 35% (paraoxon) após 24h.⁵² As constantes de inibição de AChE do paraoxon metílico e etílico são 11,3 e 33,0×10⁵ mol⁻¹ L min⁻¹, respectivamente. Estes valores estão entre os maiores associados a OP utilizados em pesticidas.⁵³

Esquema 3 - Mecanismo de inibição da AChE por organofosforados.

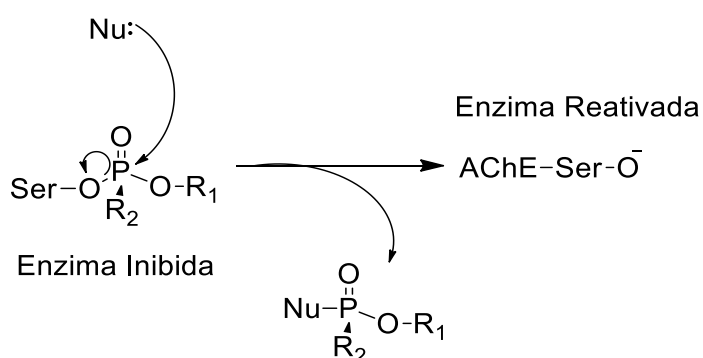


Fonte: Adaptado de Cavalcanti *et al.*(2016).⁴⁷

Tendo em vista a gravidade dos efeitos causados pela contaminação dos OP, trabalhos envolvendo a detecção e degradação^{10,49} destes compostos, bem como a reativação da AChE vêm sendo cada vez mais estudados nos últimos anos.⁵³⁻⁵⁶ As principais vias de contaminação com estes compostos são via absorção dérmica ou ingestão. Em um indivíduo que venha a se contaminar com pesticidas, existem duas vias de ação de desintoxicação. Quando o pesticida ainda não foi absorvido pelo organismo é possível inibir sua toxicidade através da hidrólise do composto, evitando que a substância chegue ao sistema nervoso e ataque a enzima. Quando o composto já causou danos ao sistema nervoso (inibindo a AChE) é possível buscar a reativação enzimática também pela hidrólise da ligação P-O formada entre o OP e a própria enzima.⁴⁹ Esse processo ocorre pelo ataque nucleofílico ao átomo de fósforo liberando

a enzima para restituir a função, deixando o catalisador coordenado ao pesticida (Esquema 4).⁵³ O uso de atropina, citado anteriormente, também é recomendado. O medicamento é responsável por hidrolisar a acetilcolina (o neurotransmissor), enquanto a enzima não é regenerada.⁴⁷ Contudo, a regeneração da enzima só é possível durante determinado período, antecedendo seu envelhecimento (Esquema 3). Em alguns casos, esse período pode ser dias, como o gás VX - 2 dias, horas, gás Sarin - 5 a 12 h, ou minutos, gás Soman 2-5 min (Esquema 2), podendo variar de acordo com o indivíduo.⁵⁶

Esquema 4 - Mecanismo de reativação da enzima AChE pelo nucleófilo.



Fonte: Adaptado de Castro *et al.* (2020).⁴⁸

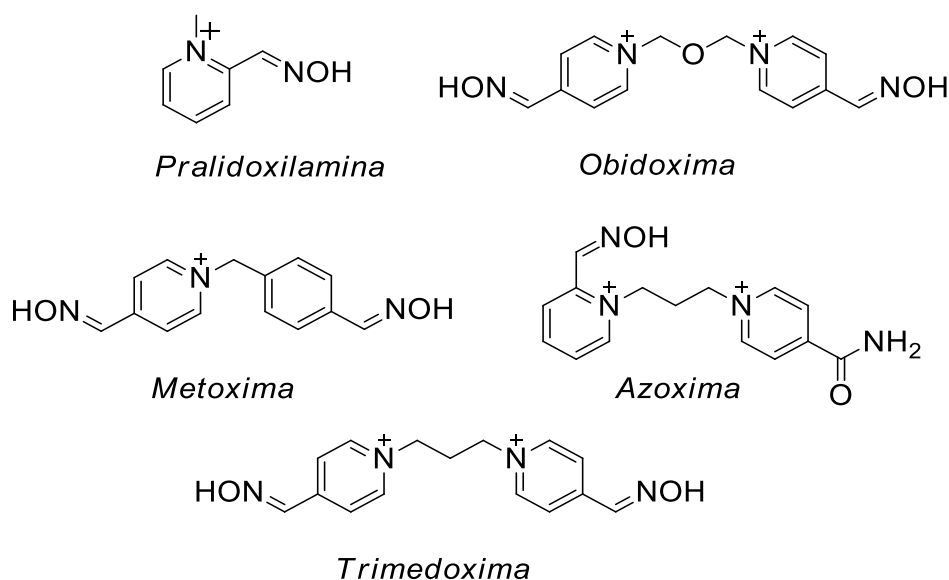
Em 1955, foi apresentada a hidroxilamina como reativador enzimático da AChE, e alguns anos depois a pradoxilamina (2-PAM) foi sintetizada e é utilizada até hoje (Figura 2).⁴⁸ Em geral, as oximas são os compostos mais estudados para desempenhar essa função, entre elas cita-se a metoxima, azoxima e trimedoxima⁵⁷ utilizadas no tratamento de contaminações com OP. A obidoxima (Figura 2), é um dos exemplos mais significativos quando em contaminações por POX, sendo mais ativo que a 2-PAM.⁵³ Oximas são estruturas que possuem o grupo funcional -C=N-OH. É comum que estas estruturas também apresentem anéis piridínicos, principalmente quaternários (N⁺), haja vista que estes podem interagir com partes estruturais aniônicas da AChE, auxiliando na estabilidade destes compostos.^{48,58}

Alguns fatores podem influenciar a eficiência do regenerador:

- I. presença de carga positiva;
- II. presença de nucleófilo,
- III. distância e rigidez da cadeia entre a carga e nucleófilo;
- IV. número de centros nucleofílicos na estrutura;

Esses fatores foram determinados experimentalmente (2006) e servem como base para a modelagem de reativadores até hoje.⁵⁸ Como citado, a carga positiva é responsável pela interação com a enzima, a presença do nucleófilo bem como a quantidade desse grupo, são fatores diretamente ligados a hidrólise do OP. Já a distância da cadeia varia de acordo com o inibidor, mas se percebe que cadeias mais rígidas atrapalham a catálise, uma vez que limitam a mobilidade da molécula, dificultando o encaixe no sítio onde deve acontecer a hidrólise.⁵⁸

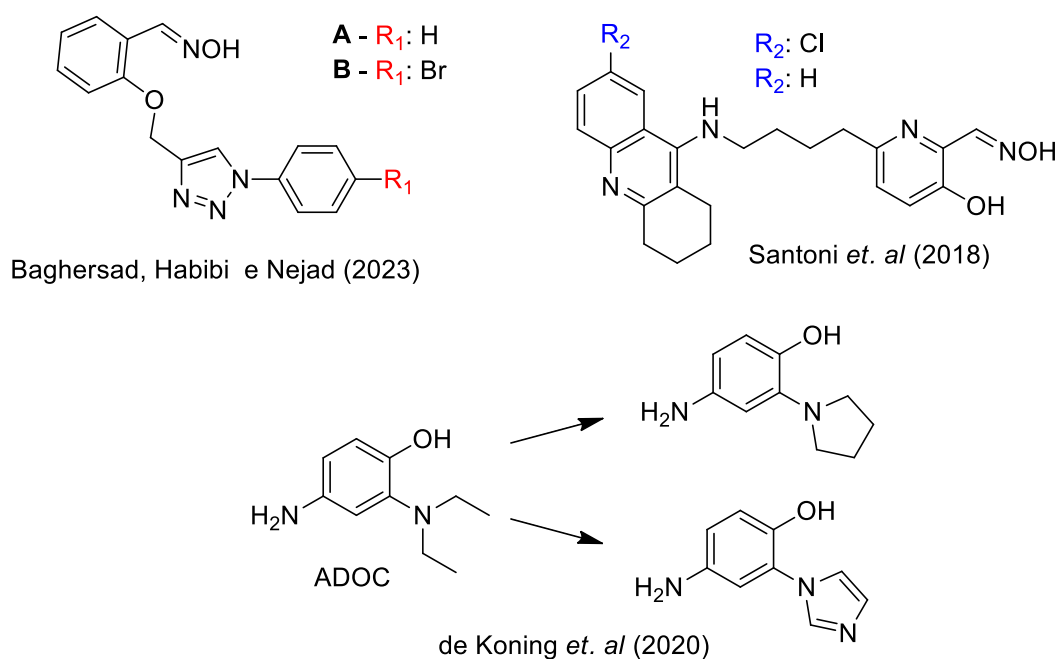
Figura 2 - Estrutura da pralidoxilamina e algumas outras oximas utilizadas como medicamentos.



Durante vários anos as oximas, principalmente as catiônicas, demonstraram boas atividades como regeneradoras. Contudo, estes compostos não são antídotos completos, uma vez que sua eficiência varia de acordo com o inibidor.⁴⁸ Ou seja, normalmente elas não são eficientes para uma vasta gama de pesticidas, sendo específicas a contaminantes isolados.⁵⁹ A carga positiva dessas moléculas também afeta negativamente a penetração delas no sistema nervoso (onde a droga precisa ultrapassar uma camada lipofílica), o que promoveu a exploração de novas oximas neutras e maneiras de entregar essas drogas no local de ação.⁶⁰ Nos recentes estudos de Baghersad, Habibi e Nejad (2023), uma série de oximas aromáticas foram avaliadas, primeiramente via métodos computacionais e *molecular docking*, para avaliar os mecanismos de ação dessas oximas na enzima inibida. Segundo os autores, a proximidade da oxima do grupo triazol facilita o processo de desprotonação

da oxima aumentando sua ação nucleofílica, o que poderia resultar em uma regeneração enzimática mais eficiente. Após determinar computacionalmente as estruturas mais promissoras (estruturas A e B na Figura 3) estas foram sintetizadas e submetidas a ensaios de regeneração da AChE inibida por POX. Infelizmente a porcentagem de reativação gerada pelos exemplos foi quase a metade do observado para 2-PAM nas mesmas condições (A - 15,4%; B -14,3%; 2-PAM – 27,4%).⁵⁷ Até o momento poucos candidatos são capazes de superar as atividades de 2-PAM e principalmente da obidoximina.⁵³ Isso contribuiu para a difusão de pesquisas sobre novos compostos capazes de desempenhar a mesma função de maneira mais eficiente.^{61,62}

Figura 3 - Algumas estruturas citadas nesta seção.



Fonte: Adaptado de Baghersad, Habibi e Nejad (2023),⁵⁷ Koning *et al.* (2020)⁶³ e Santoni *et al.* (2018).⁶⁴

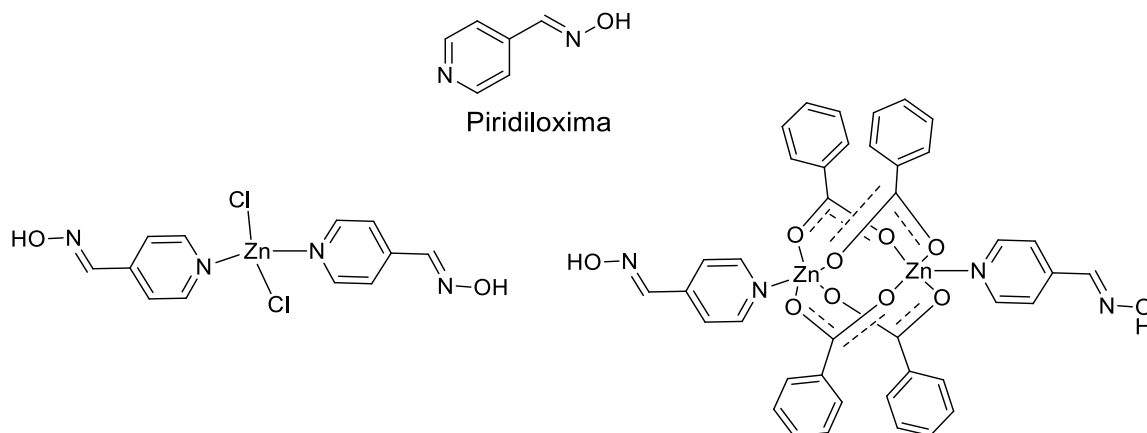
No *design* de oximas sem cargas é comum observar o uso de cadeias longas e grupos aromáticos na terminação contrária ao grupo nucleofílico. Isso não é surpreendente tendo em vista os critérios mencionados e a estrutura da enzima. Grupos aromáticos podem interagir com a cavidade hidrofóbica da AChE, eficientemente substituindo a interação gerada pela carga positiva com o sítio aniônico da enzima.⁶⁵⁻⁶⁷ Um dos trabalhos mais promissores nessa área é de Santoni *et al.* (2018). Ao desenvolver os compostos testes, os autores consideraram três

componentes: a porção de interação com o sítio catalítico (contendo oxima), a cadeia espaçadora, e a porção que deveria interagir com as cadeias laterais da enzima (Figura 3). Eles reportaram dois novos reativadores, sendo o composto clorado 190 e 36 vezes mais ativo que 2-PAM e obidoxima, respectivamente, frente a contaminações com POX. Essa atividade é ampliada quando com o exemplo não clorado, sendo 221 e 58 vezes mais ativo que 2-PAM e obidoxima.⁶⁴

Em estudos de compostos sem oximas,⁶⁸ derivados do ADOC (Figura 3) se destacam. Neste caso é essencial a presença de um nucleófilo (OH) para substituir a função dos grupos oximas, já os grupos em posição *para* e *orto* são responsáveis por interagir com cadeias laterais da enzima e afetam a força da ligação Oxigênio-Inibidor, por efeito indutivo. Dentre os diversos exemplos sintetizados, o contendo um ciclo de 5 membros em posição *orto* se destaca, alcançando 75% de reativação enzimática após contaminação com POX. O exemplo contendo Imidazol (IMZ) nessa mesma posição apresentou efeito regenerativo de 40-100% variando de acordo com o inibidor.^{55,63} Esses exemplos mostram que a atividade frente a reativação da AChE não é restrita a compostos do tipo oxima.

O uso de complexos também não mostrou resultados que indiquem atividade regenerativa comparável com a obidoxima isolada. Apesar disso, a partir dos complexos de Konidares *et al.* (2014) algumas informações podem ser consideradas na modelagem de novos catalisadores (Figura 4). Primeiramente, os complexos mononucleares mostraram maior atividade que o ligante piridoxima sozinho. Ou seja, comparando a atividade do ligante com os complexos houve aumento de até 20 vezes na atividade pela presença de Zn^{II}. Já o complexo binuclear não demonstrou atividade. Estudos de interação mostraram que os complexos mononucleares possuem maior liberdade de interagir e se acomodar no sítio ativo da enzima do que o binuclear.⁶⁹ Além disso, em compostos de coordenação, as estruturas dos ligantes devem ter nucleófilo livre (não coordenado diretamente no metal) para que possam promover a hidrólise da ligação enzima-inibidor.⁷⁰

Figura 4 - Ligante e complexos desenvolvidos como potenciais regeneradores da AChE.



Fonte: Konidares *et al.* (2014).⁶⁹

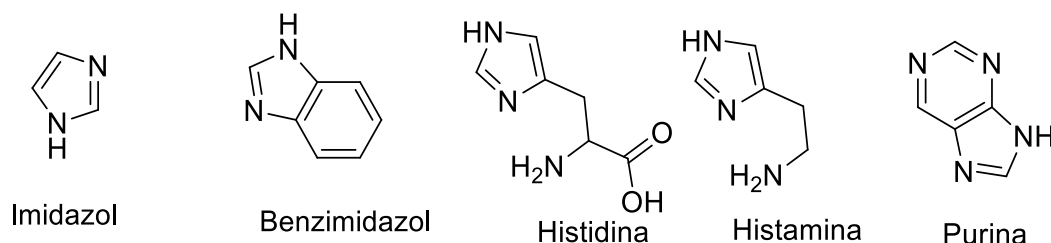
Considerando-se os fatores supracitados, e o aumento da eficiência dos regeneradores, algumas relações podem ser feitas entre estes estudos e o uso de compostos de coordenação como catalisadores. A presença de uma piridina quaternária (carregada positivamente) tem função de aproximar enzima e catalisador pela interação com o sítio aniônico da AChE (a cerca de 20 Å do sítio ativo).⁴⁷ Assim, complexos catiônicos contendo ligantes que sejam bons grupos de saída podem reproduzir essa interação. A hidrólise da ligação, feita pela oxima, pode ser substituída por outros grupos que atuem como nucleófilo, como derivados do imidazol.

1.1.4 Imidazol e benzimidazol

Na química dos heterociclos, aqueles contendo grupos imidazólicos (IMZ, Figura 5) possuem local de destaque. O IMZ é um composto aromático cíclico de 5 membros, contendo 2 nitrogênios em posição não adjacente e duas duplas ligações. Um nitrogênio é ligado a um hidrogênio, sendo chamado de nitrogênio tipo pirrol, o outro (C=N=C) é denominado tipo piridina (py). Comparado com a piridina (pK_a 5,2), o imidazol é um composto mais básico (pK_a 7,1) uma vez que sua forma protonada consegue estabilizar melhor a carga positiva. O ataque a um próton, por exemplo, deve acontecer pelo nitrogênio piridínico porém o nitrogênio pirrólico contribui para o mecanismo ficando na forma protonada.⁷¹ Essa propriedade faz com que o imidazol e seus derivados sejam comumente utilizados como nucleófilos de reações, inclusive em processos biológicos. O IMZ é encontrado naturalmente nos aminoácidos histidina

e histamina (Figura 5) bem como nas bases nitrogenadas do DNA (como as purinas) e desta forma faz parte de diversos processos biológicos.

Figura 5 - Estrutura do imidazol e alguns derivados.



Com viés terapêutico, grupos cíclicos contendo átomos de nitrogênio em sua estrutura têm notoriedade entre pesquisas relacionadas à química medicinal. Dentre esses, o grupo imidazol e seus derivados possuem um destaque ainda maior e são conhecidos por sua vasta gama de utilização. Possuem atividades que vão desde antifúngicas, bactericidas, antivirais, anti-inflamatórias, anticâncer e antidepressiva.⁷² Um dos principais exemplos de medicamentos contendo compostos desse tipo é o Omeprazol, utilizado no tratamento de doenças gastrointestinais.⁷³

Como catalisador, o IMZ se mostra de extrema versatilidade e eficiência. Quando utilizado na reação de hidrólise de triésteres de fosfato, atua como nucleófilo da reação, realizando ataque efetivo ao átomo de fosforo. O uso deste grupo em um catalisador é capaz de acelerar esta reação em 10^4 vezes quando comparado com a hidrólise espontânea.^{74,75} Essa atividade é inspirada em processos naturais, devido à presença destas estruturas em macromoléculas como as enzimas na forma de histidina, que promove reações de desfosforilação em organismos vivos.⁷⁶ Estudos mostram que o IMZ pode atuar como um nucleófilo forte na degradação de OP, além da regioespecificidade da reação, onde somente o átomo de fósforo sofre o ataque nucleofílico.⁷⁷ Essa eficiência e versatilidade em reações de degradação de OP por IMZ inspirou o desenvolvimento de vários catalisadores com estruturas deste tipo incorporadas em polímeros e nanocatalisadores, por exemplo.^{18,37,75-79}

Em ensaios cinéticos desenvolvidos utilizando o substrato modelo dietil-2,4-dinitrofenilfosfato (DEDNPP), nanocompósitos magnéticos tendem a aumentar sua atividade catalítica após serem funcionalizados com IMZ. Acredita-se que isso ocorra pelo mecanismo colaborativo entre as unidades de IMZ do catalisador. O IMZ protonado estabiliza e aproxima o catalisador do substrato por ligações de hidrogênio,

enquanto o par de elétrons do nitrogênio de outro IMZ faz o ataque ao átomo de fósforo promovendo a hidrólise. Em 60 minutos, em pH 7,5, o catalisador é capaz de hidrolisar 100% do substrato em solução, já a reação não catalisada geraria 3% de produto nesse mesmo período.³⁸ O mesmo efeito é observado incorporando o grupo IMZ em superfícies de grafeno. Neste caso, o catalisador é capaz de diminuir o $t_{1/2}$ do DEDNPP de 15 dias (hidrólise espontânea) para 1,8 horas.⁸⁰ Quando os testes são realizados frente ao POX, polímeros contendo unidades de IMZ podem diminuir o $t_{1/2}$ de 780 dias para 25 dias (em pH 8,0). O uso do polímero também gerou melhores resultados que IMZ sozinho em solução (cerca de 7 vezes melhor), resultado justificado pelo mecanismo colaborativo de duas unidades IMZ na catálise.³⁷ Todos esses resultados, brevemente relatados, mostram que o imidazol é capaz de atuar como catalisador da clivagem de ligações fósforo-oxigênio. Além disso, se pode entender que a atividade destes catalisadores é maior quando na presença de um grupo que auxilie na estabilidade da interação substrato-catalisador (por exemplo outro IMZ, composto carregado positivamente ou um íon metálico).

Compostos imidazólicos policíclicos, como o benzimidazol (BIMZ, Figura 5), também demonstraram atividades inibitórias de fosfodiesterases (com foco no tratamento da doença de Parkinson).⁷³ Muitos medicamentos contendo grupos imidazol são compostos por estruturas do tipo BIMZ. As propriedades físico-químicas similares ao imidazol isolado promovem atividades antimicrobianas, antivirais, antifúngicas, anticâncer, anticoagulante, antiinflamatória, entre outras.⁸¹ Esse é um composto bicíclico heteroaromático, onde um anel benzênico está fundido a um anel IMZ em posições 4 e 5. Naturalmente ele é encontrado na estrutura da Vitamina B12.⁸²

Por ser uma estrutura rígida, planar e conjugada este composto pode intercalar entre as bases nitrogenadas do DNA, atuando na degradação e distorção da macromolécula.^{81,83} A promoção da degradação do material genético é objetivo de diversos estudos envolvendo moléculas com potencial anticâncer. Em alguns casos isso ocorre via reações de hidrólise⁸⁴ de maneira similar as metalohidrolases responsáveis por esse processo na natureza. Essas propriedades associadas ao BIMZ fazem com que este composto também apresente uma vasta gama de aplicações.

Na química inorgânica, o IMZ e seus derivados apresentam boa afinidade à íons metálicos e são comumente utilizados em estruturas de ligantes em complexos biomiméticos às metalohidrolases. Os objetivos destes estudos se voltam à

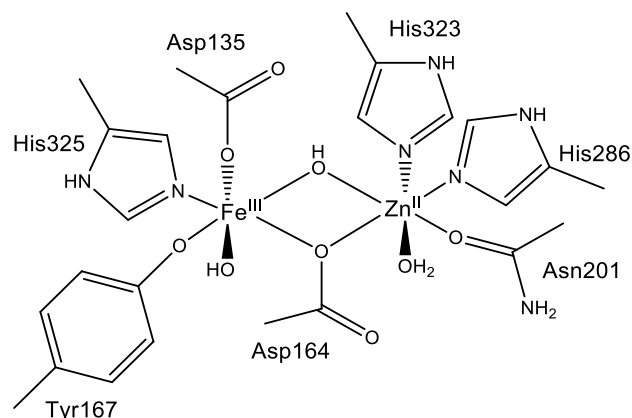
elucidação do mecanismo de ação dos catalisadores e da utilização deles como possíveis fármacos.⁸⁵ Usualmente, a presença desses grupos em metaloenzimas está relacionada a processos hidrolíticos (mesmo sem o sítio metálico), tal qual nas fosfatases ácidas púrpuras (PAPs), serina proteases e nas ribonucleases onde também atuam como nucleófilos da reação de catálise.⁸⁶ Este assunto será mais explanado na próxima seção.

1.1.5 Metalohidrolases

Diversas enzimas envolvidas na replicação do DNA e do RNA ou de clivagem e/ou transporte de compostos fosforilados apresentam íons metálicos em seus sítios ativos, sendo conhecidas como metaloenzimas.⁸⁷ Quando estas enzimas são responsáveis por reações de hidrólise, elas são chamadas de metalohidrolases. Algumas destas macromoléculas serão discutidas a seguir. Entender a estrutura e comportamento natural destas enzimas e seus processos hidrolíticos pode auxiliar na projeção de estruturas não biológicas que desempenhem funções semelhantes.

As PAPs, em específico, receberam grande atenção de químicos bioinorgânicos nos últimos 40 anos.⁸⁸ Elas catalisam especificamente a hidrólise de ligações P-O e são as únicas metalohidrolases que necessitam de centros metálicos heterovalentes ($M^{III}-M^{II}$ onde M=metal). Esta enzima pode ser encontrada em diferentes fontes, como em animais (fluido uterino de suínos, baço de bovinos, lisossomos humanos, ossos de ratos), leveduras, e bactérias.^{89,90} Em fontes vegetais foram encontradas e isoladas estruturas com centros metálicos de $Fe^{III}Mn^{II}$ na batata doce e $Fe^{III}Zn^{II}$ no feijão vermelho, sendo essa, a mais estudada.⁹¹⁻⁹³ Considerando a resolução da estrutura de raios X da PAPs (extraída dos feijões vermelhos) seu sítio ativo (Figura 6) apresenta um centro de Fe^{III} coordenado a resíduos de tirosina (Tyr167), histidina (His325), aspartato (Asp135) e um grupo carboxilato (Asp164) monodentado como ponte os centros metálicos. O centro metálico de Zn^{II} tem seu ambiente de coordenação formado por dois resíduos de histidina (His286) e (His323) e pelo oxigênio do grupo amida da asparagina (Asn201).^{89,94} Apesar de não constar na estrutura de raios X, foram atribuídos ligantes exógenos na estrutura da PAP do feijão vermelho. Propõe-se que o íon ferro(III) esteja coordenado a um ligante hidroxó terminal e o Zn^{II} a uma água, bem como um grupo hidroxó como ponte entre os centros metálicos.⁸⁹

Figura 6 - Sítio ativo da PAPs de feijão vermelho.

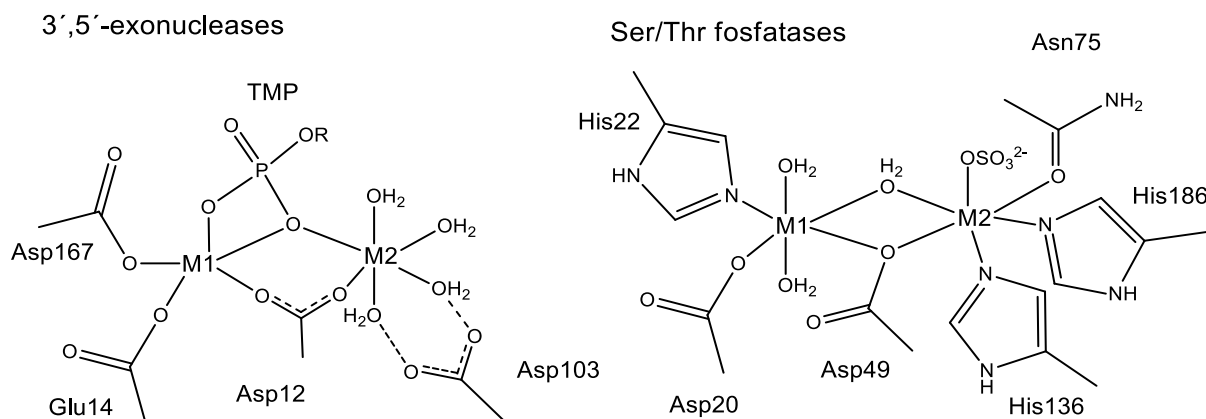


Fonte: Adaptado de Klabunde;Witzel;Krebs (1996).⁸⁹

Outros exemplos de metalohidrolases são as 3',5'-exonucleases e as Ser/Thr fosfatases, sendo que ambas atuam de maneira semelhante às PAPs.⁹⁵ As 3',5'-exonucleases são componentes da DNA-Polimerase (grandes complexos enzimáticos responsáveis pela replicação do material genético) e são responsáveis pela hidrólise do nucleotídeo 3'-terminal. Algumas estruturas desta enzima foram identificadas⁹⁶ e todas exigem a presença de metais(II), sendo Mg^{II}, Zn^{II} ou Mn^{II} e dois centros metálicos.⁹⁵ Estruturas cristalinas foram obtidas somente quando coordenados com monofosfato de timidina (TMP) como mostra a Figura 7. O metal M1 (Mn) é coordenado a cinco oxigênios, três dos resíduos de aminoácidos, aspartato (Asp12 e Asp167), e glutamato (Glu14) e dois do TMP, sendo um como ponte. O M2 (Mn) possui seis ligantes, um da proteína, com aspartato como ponte (Asp12), outra ponte com o TMP, o restante são ligações com água. Pelo ambiente químico em que estão inseridos, o íon M1 é equivalente ao Fe^{III}, encontrado na PAPs e M2 aos metais bivalentes.⁹⁷

Na Ser/Thr fosfatases (Figura 7), os dois íons metálicos se encontram ambos coordenados a um oxigênio de aspartato (Asp42) na forma de ponte monodentada. M1 é ainda coordenado a uma histidina (His22), aspartato (Asp20) e três moléculas de água (uma delas na forma de ponte). M2 tem esfera de coordenação contendo dois nitrogênios provenientes de Histidina (His139 e His186) e três oxigênios, sendo um de asparagina (Asn75).⁹⁸ Os outros dois são decorrentes do grupo sulfato (que pode se encontrar na forma monodentada ou como ponte) e da ponte aquo. Essas enzimas são responsáveis pela reversão da ação da proteína quinase, hidrolisando as ligações de fosfato em Serina e Treonina.⁹⁵

Figura 7 - Estruturas dos sítios ativos das metalohidrolases 3',5'-exonuclease e Ser/Thr fosfatases onde M1 e M2 são Mn^{II} .



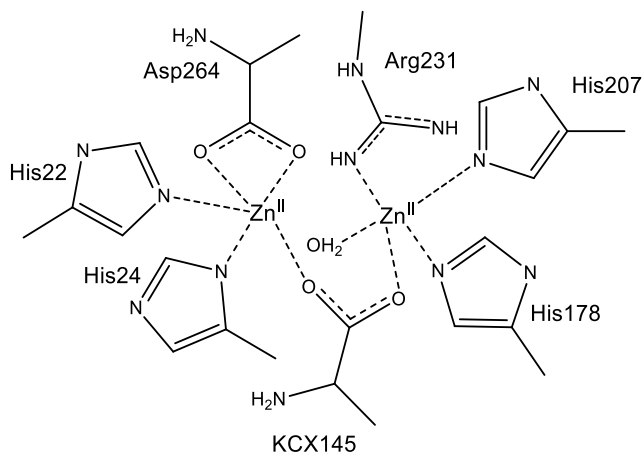
Fonte: Adaptado de Hamdan *et al.* (2002a) e Voetgli *et al.* (2000).^{97,98}

A fosfotriesterase (PTE) por sua vez, é uma das únicas hidrolases capazes de degradar triésteres de fosfato, uma vez que estes compostos não são naturais. Ela é a principal via de degradação de pesticidas, e é extremamente eficaz contra o POX. Já foram identificadas em bactérias, insetos e mamíferos.⁴⁴ Assim como as PAPs, as estruturas das PTEs variam de acordo com o ambiente em que se encontram. Recentemente a estrutura da PTE em *Mycobacterium tuberculosis* foi determinada por difração de raios X. Seu sítio ativo é composto por dois centros metálicos de Zn^{II} , com uma água como ponte entre eles (Figura 8). Um dos íons zinco está coordenado a duas histidinas (His22, His 24), um ácido aspártico (Asp264) e uma lisina carboxilada (KCX145). O segundo também está coordenado a dois resíduos de histidina (His207, His178), um resíduo de arginina (Arg231), a mesma lisina carboxilada que o cátion anterior e uma molécula de água. Essa estrutura é cerca de 35 a 40% similar à presente em outras bactérias. O que é comum em todas é o centro bimetálico de zinco e as presença de 4 resíduos de histidina.⁹⁹

É possível observar semelhanças entre a estrutura da PTE e outras metalohidrolases, como a PAP. O ambiente de coordenação rico em nitrogênio e oxigênio, os resíduos de histidina (IMZ), as formações de pontes entre os sítios metálicos, são exemplos desta similaridade. Quando se fala na atividade destas enzimas, a principal diferença é o pH em que elas atuam. Usualmente, PTE são ativas em pH alcalinos, enquanto as PAPs, são fosfatases ácidas, com atividade entre pH 5-7. Esse efeito é decorrente dos sítios metálicos, onde o metal trivalente presente nas PAPs gera nucleófilos (ligantes hidróxidos pela desprotonação da água) em pH mais

baixos que os átomos de valência 2+. Além disso, estudos sugerem que o mecanismo de reação desta enzima é similar ao reportado para outras metalohidrolases, coordenando o substrato ao centro metálico, eliminando água ao final da reação, e promovendo o ataque nucleofílico via ligantes hidroxos.¹⁰⁰

Figura 8 - Estrutura do sítio ativo da PTE do *M. tuberculosis*, determinada por difração de Raios X.



Fonte: Adaptado de Zhang et.al (2019).⁹⁹

Devido a atividade das PTEs e os problemas relacionados ao uso de pesticidas, alguns estudos exploraram a aplicação das enzimas isoladas na degradação destes compostos.^{101,102} Contudo, mesmo que a estabilidade destas enzimas possa ser aumentada pela sua imobilização, adição de componentes ou modificações químicas, ainda há um alto custo no desenvolvimentos de catalisadores desse gênero.¹⁰³ Assim, pesquisas buscam alternativas sintéticas para diminuir o impacto biológico e ambiental dos agroquímicos.^{19,28,104,105} Uma das principais vertentes da química bioinorgânica é modular complexos para que estes sejam miméticos estruturais e/ou de função de moléculas biológicas. O sítio ativo dessas metaloenzimas apresentam comportamento catalítico e estrutural semelhante ao encontrado para complexos e por isso podem ser tratadas de acordo com as teorias da química de coordenação.¹⁰⁶ Considerando-se que todas as metalohidrolases supracitadas apresentam, em seus sítios ativos, resíduos de histidina, ou seja IMZ, é possível esperar que o uso dessas estruturas em biomiméticos gerem resultados positivos de hidrólise de ligações P-O.

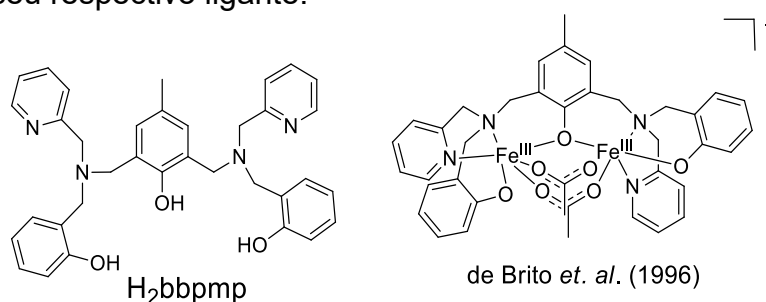
1.1.6 Metalohidrolases sintéticas

Um dos principais desafios associados à degradação de organofosforados é a grande estabilidade das ligações fósforo-oxigênio presentes nos ésteres de fosfato. A química bioinorgânica ao longo dos anos tem apresentado diversos resultados demonstrando que a hidrólise de ligações P-O pode ser acelerada pela coordenação dos átomos de oxigênio a um ácido de Lewis, deixando o composto mais susceptível ao ataque nucleofílico.¹⁰⁷ Dentre os ácidos de Lewis estudados, complexos metálicos e materiais com acidez de Lewis intrínseca estão entre os exemplos mais efetivos para a degradação de organofosforados em geral. Entre os fatores que ajudam a explicar esse comportamento,^{19,108} se pode citar:

- 1) aumento da eletrofilicidade do centro de fósforo, pela coordenação do metal com os átomos adjacentes;
- 2) nucleófilo forte devido a ligação metal-aquo/hidroxo;
- 3) auxilia a retirada do grupo de saída,
- 4) o íon metálico (positivamente carregado) auxilia os intermediários carregados negativamente durante a reação.

O Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia Professor Ademir Neves (LABINC) possui um histórico vasto no desenvolvimento de compostos miméticos estruturais ou de função as PAPs.¹⁰⁹ Inicialmente os estudos se deram buscando miméticos estruturais dessa enzima, como o ligante H₂bbpmp e complexo Fe^{III}Fe^{III} (Figura 9).^{110,111} Nestes casos ligantes contendo um grupo fenoxo em ponte e outro terminal são estruturalmente semelhantes aos resíduos de tirosina, enquanto as piridinas presentes no ligante mimetizam os resíduos de histidinas presentes na metaloenzima nativa.

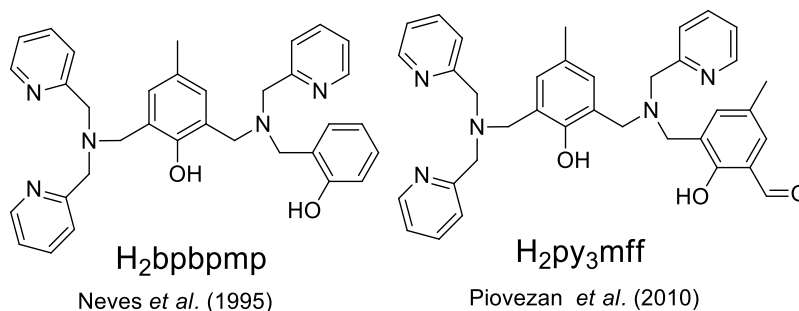
Figura 9 – Exemplo de um dos primeiros miméticos estruturais desenvolvidos pelo LABINC, com seu respectivo ligante.



Fonte: de Brito *et al.* (1996).¹¹⁰

Devido a enzima modelo apresentar sítio ativo bimetálico e heterovalente, os ligantes foram modulados para apresentar uma porção dura e outra macia, considerando os conceitos de Pearson, de acidez e basicidade. Os ligantes (Figura 10) reportados por Neves *et al.* (1995)¹¹¹ e Piovezan *et al.* (2010)¹¹² apresentam características estruturais semelhantes aos resíduos de aminoácidos encontrados pela difração de raios X da PAPs do feijão vermelho.⁹¹ Quando complexado a íons metálicos, como o próprio sítio ativo da enzima, estes compostos demonstraram bons resultados frente a hidrólise do substrato modelo de bis(2,4-dinitrofenil)fosfato (BDNPP) ao longo dos anos.^{114–117} Apesar da catálise acontecer pelos nucleófilos ligados aos íons metálicos, o ambiente de coordenação, assim como a natureza do metal,¹¹⁸ pode afetar diretamente a eficiência do catalisador.^{119–121} Alguns exemplos destas diferenças serão apresentados nessa seção.

Figura 10 - Ligantes não simétricos miméticos ao sítio ativo das PAPs.



Fonte: Neves *et al.* (1995) e Piovezan *et al.* (2010).^{112,113}

Os ligantes supracitados, quando complexados com íons Fe^{III} e Zn^{II} , resultaram em constantes catalíticas (k_{cat}) muito similares na hidrólise do substrato modelo BDNPP, aproximadamente $9,0 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.^{113,115} Apesar de conterem classicamente um sítio ativo binuclear de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{M}^{\text{II}}$ ($\text{M}=\text{Fe}, \text{Zn}, \text{Mn}$) diversos outros centros metálicos já foram estudados,^{117,122–127} como os complexos $\text{Al}^{\text{III}}\text{Cu}^{\text{II}}$ (**H**) e $\text{Al}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ (**I**), com o ligante H_2bpbpmp , que apresentaram valores de k_{cat} de $3,8$ e $4,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, respectivamente.¹²⁸

A Tabela 2 traz um comparativo de uma série de complexos publicados como modelos biomiméticos de metalohidrolases. As discussões acerca dos efeitos catalíticos descritos aos complexos serão feitas ao longo da seção. Os resultados são expressos em eficiência catalítica ($E=k_{\text{cat}}/K_{\text{M}}$ em $\text{L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$). A eficiência catalítica

correlaciona a constante catalítica dos complexos com a sua constante de associação ($K_{\text{assoc}} = 1/K_M$). Essa aproximação da relação da constante de associação com o valor de K_M é possível pelo excesso de substrato que desloca o equilíbrio para formação do aduto complexo-substrato diminuindo a constante de dissociação. É interessante que um bom mimético apresente altos valores de k_{cat} , indicando que este promove a hidrólise de maneira eficiente, mas K_{assoc} pequeno. Associações muito altas podem atrapalhar a cinética, uma vez que o complexo pode se coordenar ao substrato e não ser regenerado, o que não concorda com a função de um catalisador. As estruturas dos complexos citados estão compiladas na Figura 11.

Tabela 2 - Dados de eficiência catalítica de alguns complexos descritos na literatura. Os valores são resultados da hidrólise do substrato modelo BDNPP, utilizando os complexos como catalisadores.

Complexo	E (mol ⁻¹ L s ⁻¹)	Complexo	E (mol ⁻¹ L s ⁻¹)
A^a	0,21	G^f	0,15
B^b	0,25	H^g	0,03
C^c	0,14	I^g	0,03
D^d	0,21	J^h	0,00028
E^e	0,007	K^h	0,04
F^f	0,08	L^h	0,00026

^aNeves *et al.* (2007)¹¹⁵; ^bPiovezan *et al.* (2010)¹¹³; ^cSmith *et al.* (2009)¹²⁵; ^dKarsten *et al.* (2002)¹²²; ^eXavier *et al.* (2009)¹¹⁷; ^gCamargo *et al.* (2021)¹²⁸; ^fLuiz(2022)⁴⁵; ^hPathak *et al.* (2018)⁸⁷.

Observa-se que os melhores resultados obtidos com estes ligantes são atribuídos a complexos contendo Fe^{III}. Metais com raio atômico menor são mais ácidos e geram nucleófilos fortes em pHs mais baixos. Em complexos deste tipo é comum que o substrato se coordene ao metal bivalente, e a hidrólise é realizada pelo hidróxido coordenado ao metal trivalente, ou ainda pela ativação de uma molécula de água por esse mesmo ligante.^{113–115}

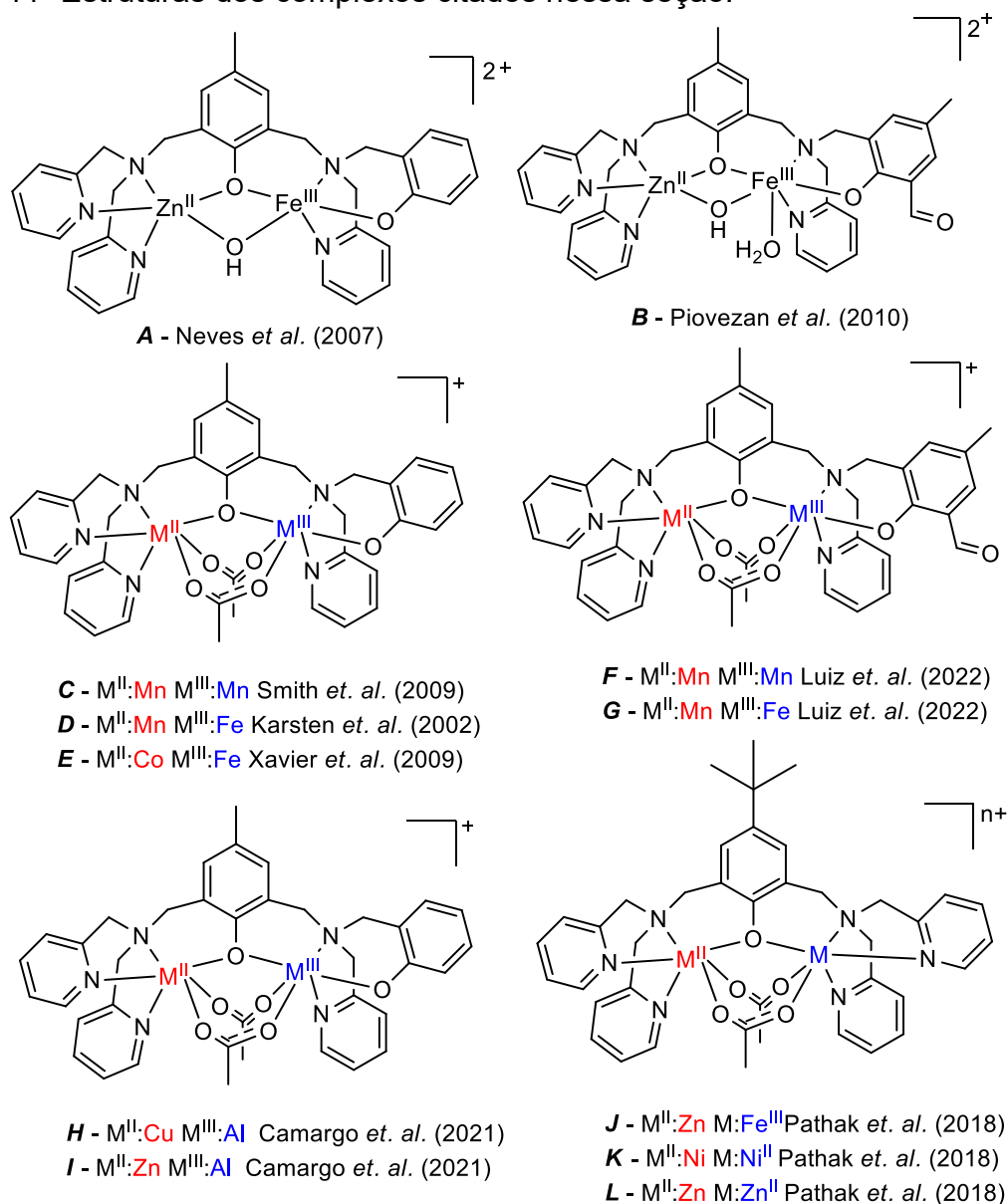
O complexo de Mn^{III}Mn^{II} (**C**) de Smith *et al.* (2009), com o ligante H₂bbpbmp, mostrou uma eficiência catalítica 0,14 mol⁻¹ L s⁻¹,¹²⁵ quase a metade que o reportado para o complexo Fe^{III}Mn^{II} (**D** - 0,21 mol⁻¹ L s⁻¹) com o mesmo ligante.¹²² Em sistemas contendo manganês, a troca do ligante H₂bbpbmp por H₂py₃mff reduziu as atividades catalíticas onde Mn^{III}Mn^{II} (**F**) teve eficiência de 0,08 mol⁻¹ L s⁻¹ e Fe^{III}Mn^{II} 0,15 mol⁻¹ L s⁻¹ (**G**). Apesar disso, estes valores ainda superam outros descritos na literatura. No

caso destes compostos, eles também foram testados frente a hidrólise do substrato modelo de triéster dietil-2,4-dinitrofenilfosfato (DEDNPP). O estudo precursor no uso de compostos de coordenação na clivagem destas moléculas apontou que os biomiméticos podem ser utilizados como catalisadores destas reações de maneira similar à catálise de diésteres. As eficiências, calculadas da mesma maneira para a hidrólise de triéster, mostraram que o complexo de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{II}}$ (**G**) possui uma maior eficiência, $0,12 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$ quando comparado com seu isoestrutural $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{II}}$ (**F**) $0,02 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$,⁴⁵ sendo esse aumento atribuído ao próprio átomo de ferro. As maiores atividades quando catalisando reações de diesterase podem ser atribuídas a carga negativa presente no substrato, que faz com que a interação entre o cátion complexo e o substrato seja maior.

A atividade de íons metálicos na hidrólise de triésteres pode ser corroborada por outros estudos prévios. O íon Cu^{II} , por exemplo, livre em solução, pode acelerar a hidrólise em 10^7 vezes (com relação a hidrólise espontânea, em pH 6,0, substrato: tris-2-piridilfosfato).¹⁹ Nesse caso, o complexo $[\text{Cu}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$ interage com os anéis piridínicos do substrato pelo cátion complexo e uma molécula de água coordenada atua como nucleófilo da reação, promovendo a hidrólise.¹⁹ Estudos teóricos, com um complexo binuclear de Cd^{II} , sugerem que a interação do composto de coordenação com o substrato, nesse caso POX, se dê por interações do íon com o oxigênio da ligação $\text{P}=\text{O}$. A presença de uma ponte hidroxô ou aquo também deve auxiliar na interação.¹⁰⁰ É importante frisar que este complexo não foi sintetizado, o estudo foi realizado de maneira teórica, utilizando teoria do funcional da densidade (DFT) e superfície de energia potencial (PSE). Contudo, ele ajuda a entender a possibilidade de se utilizar compostos de coordenação na hidrólise de triésteres de fosfato.

Como discutido na seção anterior, as PTE classicamente são compostas por dois centros metálicos de Zn^{II} . Os complexos simétricos de Pathak *et al.* (2018) tentam mimetizar a propriedade catalítica dessa enzima. Como observado na Tabela 2, os complexos de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}$ (**J**) e $\text{Ni}^{\text{II}}\text{Ni}^{\text{II}}$ (**K**) mostraram eficiência catalítica maior que o complexo $\text{Zn}^{\text{II}}\text{Zn}^{\text{II}}$ (**L**).⁸⁷ Conforme discutido acima, pode-se atribuir essa tendência pela acidez de Pearson dos diferentes íons. Isso também é observado em outros trabalhos semelhantes e até mesmo comparando complexos binucleares de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}$ e de $\text{Zn}^{\text{II}}\text{Zn}^{\text{II}}$, onde a eficiência catalítica do primeiro é cerca de 180 vezes maior que o segundo.¹²⁹

Figura 11 -Estruturas dos complexos citados nessa seção.



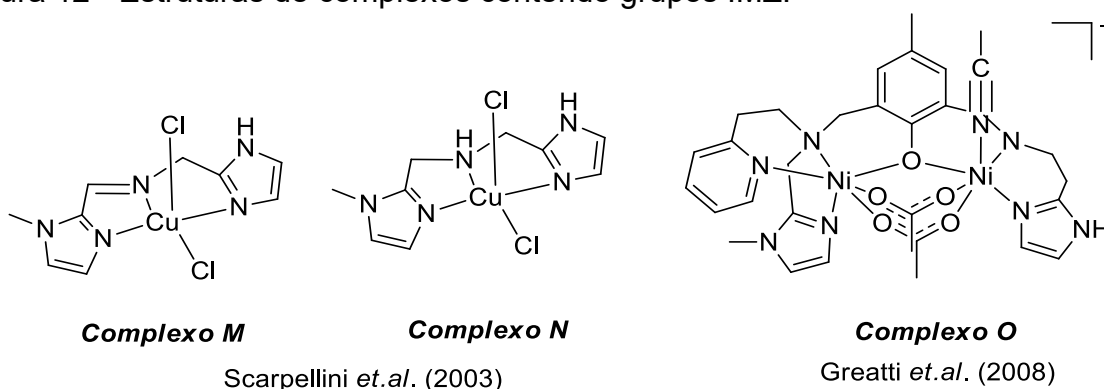
Os complexos de Cu^{II} (**M** e **N**), reportados por Scarpellini *et al.* (2003) também se mostraram capazes de hidrolisar ésteres de fosfato, apresentando valores de eficiência catalítica maiores que alguns previamente citados (Tabela 3).¹³⁰ Esses resultados sugerem que grupos IMZ e seus derivados também podem ser utilizados na clivagem catalítica de ligações fósforo-oxigênio.¹³¹ Além disso, fica clara a capacidade de complexos mononucleares de atuarem em reações dessa natureza.^{132,133} Especificamente neste trabalho, a atividade catalítica é dada pela substituição dos ligantes cloreto (Figura 12) por ligantes aquo em solução. Após a desprotonação de um desses ligantes, o substrato se coordena ao complexo, expulsando o ligante aquo restante, enquanto ligante hidróxido atua como nucleófilo.

Tabela 3 - Eficiência catalítica de complexos contendo grupos imidazólicos, frente a hidrólise com BDNPP.

Complexo	E (mol ⁻¹ L s ⁻¹)
M^a	0,02
N^a	0,05
O^b	68,09

^a Scarpellini (2003), 50°C ¹³⁰; ^bGreatti *et al.* (2008)¹²³.

Figura 12 - Estruturas de complexos contendo grupos IMZ.



Fonte: Scarpellini *et al.* (2003) e Greatti *et al.* (2008).^{123,130}

O complexo binuclear reportado por Greatti *et al.* (2008) (Tabela 3 - **O**) também com ligante contendo IMZ mostrou eficiência muito maior que muitos outros na literatura. Quando os grupos IMZ (Figura 12) são substituídos por piridinas a eficiência do complexo Ni^{II}N^{II} diminui em 2,5 vezes.¹²³ Esse resultado indica que a utilização de ligantes imidazólicos ou derivados pode ser uma alternativa eficiente no aumento da atividade hidrolítica gerada por compostos de coordenação. Além do exemplo supracitado, complexos contendo IMZ também se mostram eficientes na hidrólise de outros substratos. Como exemplo, cita-se o complexo tetranuclear de cobre (APÊNDICE A), que acelerou a reação de hidrólise do 4-nitrofenilfosfato em 10 vezes quando comparado com a hidrólise espontânea nas mesmas condições.¹³⁴

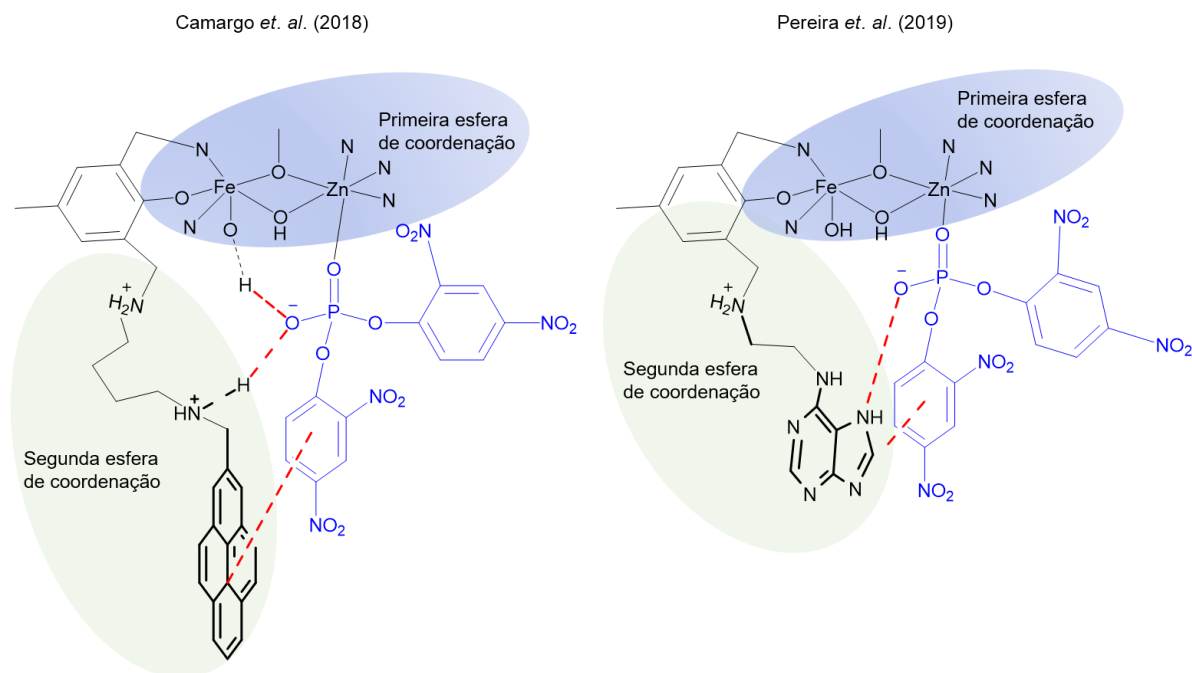
Apesar de se acreditar que compostos de coordenação contendo IMZ possuem potencial de atuarem na clivagem de ligações P-O, outros fatores devem ser considerados na modelagem de complexo para desempenhar essa função. Um dos fatores que pode auxiliar no mecanismo de hidrólise é o efeito de segunda esfera de coordenação.

1.1.7 Efeitos da segunda esfera de coordenação

Esses grupos não fazem parte da primeira esfera de coordenação, mas, contribuem interagindo com o substrato e promovendo a catálise de maneira mais efetiva. Esse efeito é similar ao observado nas próprias enzimas, onde as cadeias de aminoácidos distantes do sítio ativo também podem atuar nos mecanismos reacionais. A Figura 13 utiliza os complexos de Camargo *et al.* (2018) e Pereira *et al.* (2019) para demonstrar o efeito colaborativo que a segunda esfera pode apresentar no modo de coordenação entre complexo-substrato, de acordo com o descrito em cada artigo.^{135,136} Além disso, na figura é ilustrada a diferença entre a primeira esfera de coordenação, ou seja os íons metálicos diretamente coordenados ao ligante e a segunda esfera de coordenação. A Tabela 4 compila os dados de eficiência de alguns complexos que serão discutidos nessa seção.

O tamanho da cadeia influencia diretamente a atividade dos catalisadores. O estudo de Souza *et al.* (2015), mostra que a utilização de uma cadeia lateral aumenta a atividade catalítica, mas até certo limite, onde a alta massa molecular e efeito estérico causado por ela começa a diminuir a velocidade da reação (APÊNDICE A).¹³⁷ O estudo de Chaves *et al.* (2020) também deixa claro o efeito da segunda esfera de coordenação ao variar cadeias espaçadoras em ligantes de igual primeira esfera de coordenação, em complexos Ni^{III}Ni^{II} (Figura 14). A melhor eficiência atribuída ao complexo **U** é decorrente do tamanho da cadeia. Nesse caso, a amina protonada está em posição favorável para interagir com o grupo nitro do substrato, auxiliando na estabilidade e interação complexo-substrato. Os outros dois complexos, com cadeia espaçadora maior (4 carbonos) e menor (2 carbonos) não apresentam esse efeito. Nesses dois casos, se acredita que o efeito de segunda esfera fique restrito a interagir com o grupo OH do próprio complexo.¹³⁸ Novamente, assim como na seção anterior, frisa-se que estes complexos de níquel apresentam valores de eficiência elevados quando comparados com outros sistemas. Mesmo assim, a eficiência descrita para os complexos de Ni com ligantes imidazólicos é maior (Tabela 3).¹²³

Figura 13 – Efeito da segunda esfera de coordenação no mecanismo de hidrólise.



Fonte: Adaptado de Camargo *et al* (2018) e Pereira *et al* (2019).^{135,136}

Tabela 4 – Eficiência catalítica de alguns complexos mencionados nesta seção.

Complexo	E (mol ⁻¹ L s ⁻¹)	Complexo	E (mol ⁻¹ L s ⁻¹)
P^a	0,32	U^c	29,18
Q^a	0,67	V^c	15,30
R^b	0,43	W^d	0,17
S^b	0,63	X^e	3,18
T^c	12,11	Y^e	1,86

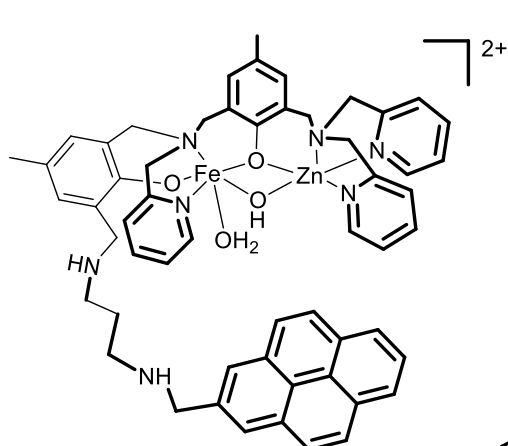
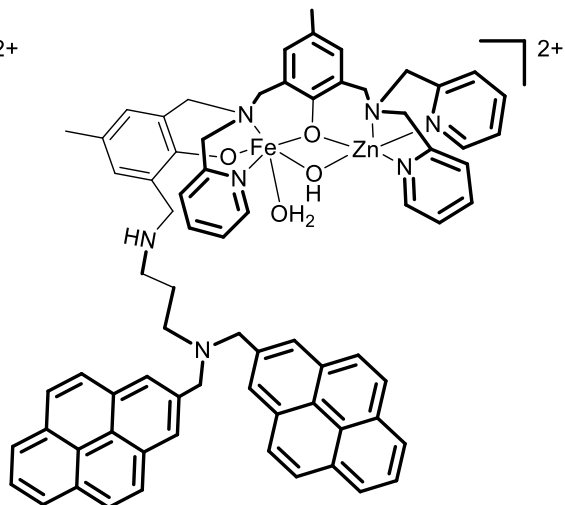
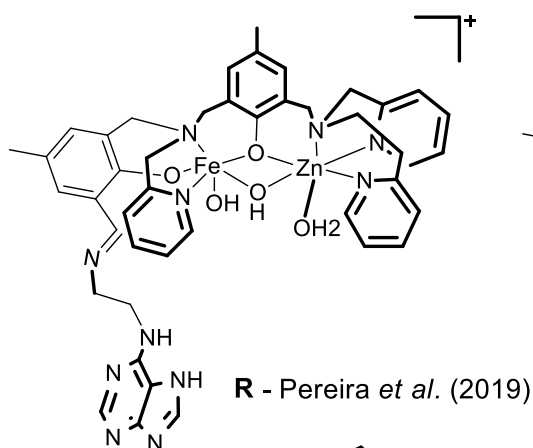
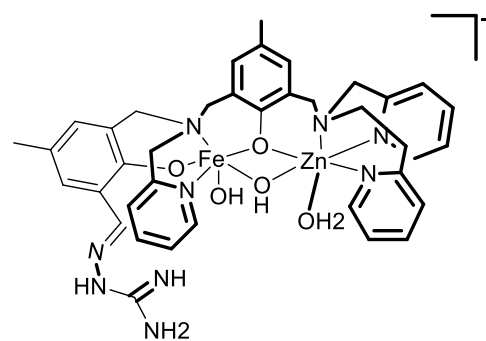
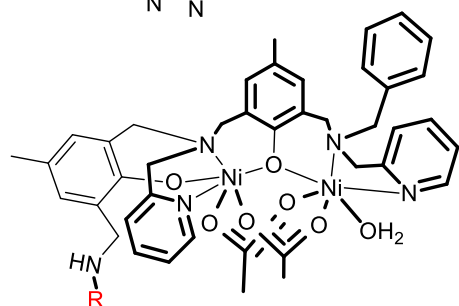
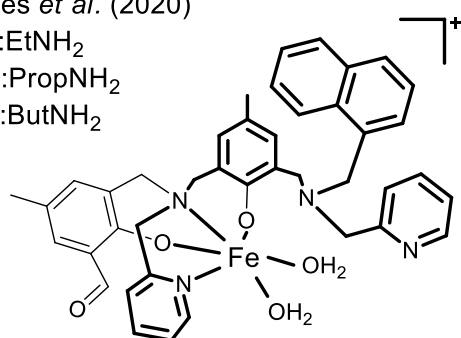
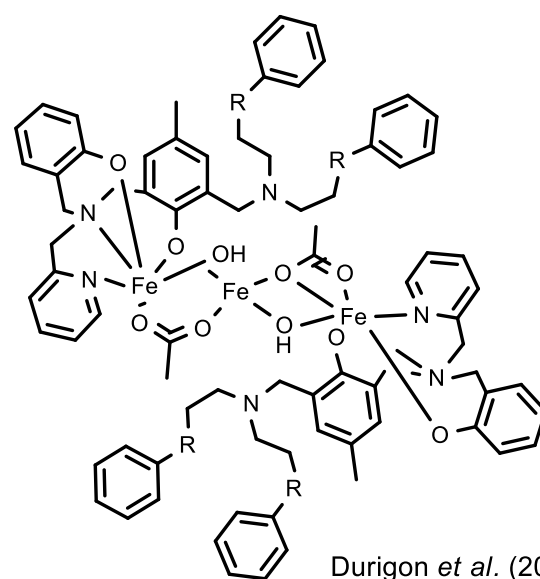
^aCamargo *et al.* (2018)¹³⁵; ^bPereira *et al.* (2019)¹³⁶; ^cChaves *et al.* (2020)¹³⁸; ^dHeying *et al.* (2019)¹³⁹; ^eDurigon *et al.* (2022)¹⁴⁰.

O trabalho de Camargo *et al.* (2018) realiza substituições no anel fenólico de H₂py₃mff de modo a inserir uma cadeia espaçadora de seis carbonos em uma diamina, contendo um ou dois grupos pirenos terminais (**R** e **S**). Essa modificação aumentou a eficiência catalítica do complexo em 2 vezes, quando comparado com o trabalho de Piovezan *et al.* (2010), que apresenta um composto similar sem a cadeia lateral (**B** - Tabela 2). O uso de anéis aromáticos nesse trabalho mostra um efeito de segunda esfera sendo gerado tanto pela amina protonada, como pela interação entre os anéis aromáticos do ligante e do substrato (Figura 14 – **P** e **Q**).¹³⁵ Em outro exemplo, a troca de um ligante alquílico como segunda esfera de coordenação, por uma purina

(estruturalmente similar ao benzimidazol) aumentou a eficiência observada durante a catálise.¹³⁶ Novamente esse efeito é atribuído a interação do ligante com o substrato, pelo anel aromático de ambos e pela interação $N_{\text{ligante}}-O_{\text{substrato}}$ (Figura 14).

Outros exemplos da contribuição de grupos aromáticos não coordenantes para a hidrólise também podem ser observados em complexos com diferentes nuclearidades, como os complexos trinucleares de ferro reportados por Durigon *et al.* (2022) (**X** e **Y**), onde a eficiência catalítica destes supera o observado para complexos binucleares.¹⁴⁰ O complexo mononuclear de Fe^{III} (Figura 14 - **W**) descrito por Heying *et al.* (2019) apresenta mecanismo hidrolítico cooperativo entre duas unidades do complexo. Durante a cinética, a segunda esfera de coordenação atua interagindo com o ligante hidróxido ligado diretamente ao complexo, diferente do sugerido por Camargo *et al.* (2018) - Figura 13. Mesmo assim foi descrito eficiência catalítica de $0,17 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$,¹³⁹ valor comparável a diversos outros para complexos binucleares descritos na literatura. Tendo em vista outros trabalhos contendo segunda esfera de coordenação se esperava que esse valor fosse mais elevado, evidenciando o efeito positivo da cadeia lateral não coordenante. Contudo, complexos mononucleares tendem a apresentar valores catalíticos menores que os binucleares por não possuírem um grupo nucleofílico na sua estrutura.¹⁴¹ Neste caso, a necessidade da aproximação de duas unidades de complexo para que a hidrólise ocorra pode ter contribuído com essa diminuição de eficiência. Ou seja, houve um equilíbrio entre o efeito positivo da segunda esfera de coordenação e a falta de um segundo grupo nucleofílico na mesma estrutura.

Figura 14 - Estruturas de alguns complexos discutidos nessa seção.

**P** - Camargo *et al.* (2018)**Q** - Camargo *et al.* (2018)**R** - Pereira *et al.* (2019)**S** - Pereira *et al.* (2019)Chaves *et al.* (2020)**T** - R:EtNH₂**U** - R:PropNH₂**V** - R:ButNH₂**W** - Heying *et al.* (2019)Durigon *et al.* (2022)**X** - R: S**Y** - R:Se

Considerando essas informações, na modelagem de complexos mononucleares é interessante considerar a presença de um grupo catalítico como segunda esfera de coordenação, para que essa reação não dependa de duas unidades de catalisador. Dessa forma, é possível que a coordenação substrato-complexo ocorra pelo centro metálico, mas que o ataque nucleofílico (que promove a hidrólise da ligação) ocorra pelos grupos presentes na segunda esfera. Além disso, a utilização de compostos aromáticos e /ou contendo aminas em sua estrutura pode colaborar positivamente aumentando a atividade hidrolítica do composto. Assim sendo, sugere-se que a coparticipação entre um complexo catalítico e um derivado imidazólico, como segunda esfera de coordenação provenha bons resultados quanto a hidrólise de ésteres de fosfato.

Visando especificamente a modelagem de catalisadores de ligações P-O com potencial de regenerar a enzima AChE, o uso de complexos contendo segunda esfera de coordenação também é promissor. Como discutido anteriormente, um complexo mononuclear catiônico (de menor tamanho quando comparado aos complexos binucleares) pode atuar interagindo com o sítio aniônico da enzima. Uma vez que o sítio aniônico se distancia do sítio catalítico desta, é possível inserir uma cadeia carbônica de comprimento adequado, contendo um grupo nucleofílico terminal, que possa atuar como catalisador da clivagem da ligação fósforo-oxigênio.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

O objetivo do trabalho apresentado neste capítulo é o desenvolvimento de complexos mononucleares de ferro(III), a partir de ligantes contendo grupos benzimidazol e aminas livres e avaliar a participação desses grupos na catálise de reações de hidrólise de triéster de fosfato.

1.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar ligantes bioinspirados contendo grupos benzimidazólicos e piridínicos;
- Caracterizar os precursores e ligantes via ressonância magnética nuclear (NMR), espectroscopia na região do infravermelho (IR); espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), espectrometria de massas (ESI-MS) e demais técnicas necessárias.
- Preparar complexos mononucleares de Fe^{III} com base nos ligantes previamente obtidos;
- Caracterizar os complexos preparados via IR, UV-Vis, ESI-MS, voltametria cíclica (CV), análise elementar de C, H e N e outras técnicas necessárias;
- Realizar ensaios cinéticos de hidrólise do substrato modelo de triéster de fosfato, dietil-2,4-dinitrofenil-fosfato via análise espectrofotométrica utilizando os complexos como catalisadores.
- Avaliar os complexos como reativadores da acetilcolinesterase após inativação por paraoxon etílico.
- Testar a atividade citotóxica dos complexos frente a células carcinogênicas.

1.3 PARTE EXPERIMENTAL

1.3.1 Materiais e Métodos

Os seguintes reagentes foram utilizados sem purificação prévia: 1,6-hexanodiamina (Aldrich), 2-clorometilbenzimidazol (Aldrich), cloreto de ferro(III) (98%, Acros), perclorato de ferro(III) nonahidratado (Aldrich), acetato de sódio (Vetec), bicarbonato de sódio (PA, Nuclear), borohidreto de sódio (99%, Aldrich) sulfato de sódio anidro (PA, Lafan), hexano (PA, Vetec), acetato de etila (PA, Vetec), éter etílico (PA Vetec), clorofórmio (PA, Vetec), diclorometano (PA, Vetec), metanol (PA, Vetec); tetraidrofurano (PA, Vetec).

Os reagentes 2-piridilcarboxialdeído (Aldrich), 2-aminometilpiridina (99%, Aldrich), 1,4-butanodiamina (Aldrich) foram destilados a pressão reduzida e trietilamina (99%, Vetec) purificada por destilação simples.¹⁴²

1.3.1.1 Ressonância Magnética Nuclear (NMR)

Os espectros de ¹H NMR foram obtidos em espectrômetro Bruker – AC 200 MHz e Varian – AS 400 MHz, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. As amostras foram preparadas utilizando 0,6 mL de clorofórmio deuterado e acondicionadas em tubos de 5 mm. As medidas foram realizadas em ppm, empregando-se como referência interna tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm). As análises de ¹³C NMR do ligante (50 MHz ou 100 MHz) foram realizadas nos mesmos equipamentos e as amostras foram preparadas de maneira semelhante as análises de ¹H.

1.3.1.2 Espectroscopia na região do Infravermelho (IR)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo Spectrum 100 através do acessório de Refletância Total Atenuada (FTIR–ATR) com cristal de ZnSe (45°) e resolução de 4 cm⁻¹, na região de 4000 a 550 cm⁻¹ no LABINC do Departamento de Química – UFSC. As amostras foram analisadas sendo colocadas diretamente sobre o cristal de ZnSe, com média de 20 varreduras. Os espectros das amostras foram corrigidos pelo

background feito com a atmosfera laboratorial ambiente e posteriormente subtraído do espectro da amostra.

1.3.1.3 Espectrometria de massas por *electrospray* (ESI-MS)

As análises de espectrometria de massas com ionização via *electrospray* (ESI-MS) dos ligantes e complexos foram executadas no módulo positivo em um equipamento Amazon - Ion Trap ESI-MS do Laboratório de Biologia Molecular Estrutural (LABIME) – UFSC. As análises foram realizadas em soluções de acetonitrila de grau espectroscópico, com concentração na faixa de nmol L⁻¹ e vazão de 5 µL min⁻¹. A temperatura do capilar foi mantida entre 180 e 200 °C e a voltagem do capilar entre 4500 e 3500 V. Para interpretação dos dados espectrométricos foi utilizado o programa mMass,¹⁴³ onde é possível simular a distribuição isotópica das espécies bem como os sinais obtidos experimentalmente.

1.3.1.4 Análise Elementar de C, H e N

As medidas para a determinação dos percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio para os complexos sintetizados foram realizadas em um analisador elementar CHNS/O PerkinElmer, modelo 2400 Series II, acoplado com balança modelo Autobalance AD 6000 PerkinElmer, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. O aparelho é operado utilizando como gás de arraste hélio (grau 5.0), como gás de combustão oxigênio (grau 6.0), com temperatura de combustão de 925 °C e redução de 640 °C. As amostras foram lavadas solventes adequados gelados, sob filtração a vácuo e secas sob alto vácuo antes serem encaminhados para análise.

1.3.1.5 Espectrometria de absorção atômica (GC-AAS)

A porcentagem de ferro presente nos complexos foi determinada em um espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer pinAAcle 900T, por atomização em forno de grafite, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. As amostras foram preparadas em uma solução aquosa 1% de HNO₃. A concentração de ferro nas amostras foi calculada a partir da equação da reta de calibração do

equipamento com padrões em diferentes concentrações. Os erros apresentados são referentes ao desvio dos pontos de calibração.

1.3.1.6 Condutividade molar

As medidas condutométricas dos complexos foram realizadas no aparelho MS TECNOPON- mCA150, do LABINC – UFSC. Os compostos de coordenação foram dissolvidos em acetonitrila com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O aparelho foi calibrado com uma solução padrão comercial de KCl, cuja condutividade é de $146,9 \text{ cm}^{-1} \pm 0,5\%$ em água a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.¹⁴⁴

1.3.1.7 Espectroscopia Eletrônica UV-Vis

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta, visível e infravermelho próximo foram obtidos para todos os complexos e ligante, em um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo Lambda-750, no LABINC, no Departamento de Química – UFSC. As análises foram realizadas na região de 300 a 800 nm, utilizando cubetas de quartzo de caminho óptico de 1 cm, a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, variando a concentração de complexo de $\sim 2,0 \times 10^{-5}$ até $1,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. As soluções foram preparadas em acetonitrila e acetonitrila/água (1:1, v/v) ambos em pureza de grau espectroscópico

1.3.1.8 Medidas Eletroquímicas

O comportamento redox dos complexos foi investigado por voltametria cíclica (CV) em um potenciostato-galvanostato BAS (Bioanalytical Systems, Inc.) modelo Epsilon, no LABINC – UFSC. Nos experimentos foram utilizadas soluções dos complexos em metanol de grau espectroscópico, sob atmosfera de argônio e com tetrafluorborato de tetrabutílamônio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrólito suporte. A cela eletroquímica foi composta por três eletrodos: trabalho – carbono vítreo; auxiliar – fio de platina e referência: fio de prata revestido com cloreto de prata (Ag/Ag^+). Para correção do eletrodo de referência foi utilizado o par redox ferroceno/ferrocínio ($E_{1/2}$ vs NHE = 400 mV) como padrão.¹⁴⁵

1.3.1.9 Espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe

A Espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe foi conduzida por Mariella Alzamora e Dalber R. Sánchez na Universidade Federal do Rio de Janeiro. As análises foram realizadas em geometria de transmissão utilizando um espectrômetro WISSEL. Os experimentos em baixa temperatura foram realizadas em um criostato JANIS de ciclo fechado. O ^{57}Co na fonte de matriz de Rh, movendo-se em um modo senoidal fora do criostato, foi mantido à temperatura ambiente. Os valores de deslocamento isomérico (δ) foram relativos ao ferro metálico. Todos os espectros foram ajustados com apenas um duplete simétrico. Os parâmetros de ajuste livre foram a desdobramento quadrupolar (ΔE_Q), o deslocamento isomérico δ , a largura de linha (Γ) e a área de absorção (A).

1.3.1.10 Modelagem teórica

A modelagem da geometria dos complexos foi calculada por parceria com o Dr. Giliandro Farias, da Universidade de São Paulo, utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT). A geometria de todos os complexos e seus conjugados com fosfato foi otimizada com o pacote de software Orca 5.0.4,¹⁴⁶ no nível DFT usando a funcional PBE0.^{147,148} O conjunto de base escolhido foi Def2-TZVP para o átomo de ferro, Def2-TZVP(-f) para os átomos de oxigênio e nitrogênio, e Def2-SVP para os outros átomos.^{149,150} Efeitos de dispersão foram incluídos usando a correção D3 de Grimme com amortecimento Becke-Johnson (BJ).^{151,152} A avaliação das integrais de quatro centros foi acelerada com o algoritmo RIJCOSX, utilizando a aproximação de resolução de identidade para a parte de Coulomb (RIJ) e a abordagem de cadeia de esferas para a troca de Fock (COSX).^{153,154} RIJ requer a especificação de um conjunto de base auxiliar para a parte de Coulomb (Def2/J) e uma grade de integração numérica para a parte de troca (DefGrid-2).¹⁵⁵ Cálculos analíticos de frequências vibracionais harmônicas foram conduzidos para verificar se o estado fundamental é mínimo na superfície de energia potencial. Para simular os espectros de absorção, a teoria do funcional da densidade dependente do tempo sob a aproximação Tamm-Dancoff (TD-DFT/TDA)¹⁵⁶ foi empregada para obter as primeiras 50 excitações, utilizando o mesmo protocolo de cálculo, incluindo a correção do solvente, usando o método LR-CPCM (modelo linear de resposta do contínuo polarizável semelhante a

condutor).¹⁵⁷ As representações tridimensionais foram obtidas usando o programa Chemcraft (www.chemcraftprog.com).

1.3.1.11 Titulações potenciométricas e espectrofotométricas

As constantes de protonação foram determinadas via titulação potenciométrica no LABINC – UFSC. As medidas foram feitas utilizando uma cela termostatizada a $25,00 \pm 0,01$ °C, controlada por um banho da Visomes Plus. O titulador automatizado Metrohm modelo Titrino Plus 848 acoplado a um eletrodo combinado com referência de Ag/AgCl, foi calibrado com soluções tampões comerciais, pH 4,0; 7,0 e 9,0. As titulações foram realizadas em triplicata, em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v), $pK_w = 15,19$,¹⁵⁸ em volume de solução final de 50 mL, com aproximadamente 0,030 mmol do complexo presente. A força iônica foi ajustada com KCl em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o sistema titulado com KOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (isento de CO_2). Todas as soluções foram preparadas sob atmosfera de argônio com água bidestilada e fervida. As constantes de equilíbrio foram calculadas com o programa CurTipot, versão 4.2,¹⁵⁹ e diagrama de espécies obtido através do mesmo programa.

As titulações espectrofotométricas foram feitas sob as mesmas condições das potenciométricas, porém em sistema aberto e a adição de base foi feita de forma manual. Alíquotas de aproximadamente 1 mL foram removidas a cada ponto e o espectro de UV-Vis obtido em um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO. Após cada medida a alíquota foi devolvida para a solução que estava sendo titulada. Os valores de pK_a foram determinados pelo gráfico de pH vs Abs em comprimentos de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$). Os erros apresentados estão relacionados ao desvio dos pontos da curva obtida.

1.3.1.12 Acompanhamento da reação de hidrólise

A atividade catalítica dos complexos foi avaliada através da reação de hidrólise do triéster dietil-2,4-dinitrofenilfosfato (DEDNPP).¹⁶⁰ Os experimentos cinéticos foram realizados em triplicata sob condições de excesso de substrato (mínimo 4 vezes) monitorando-se a hidrólise do respectivo substrato através de um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostatizado a 25 ± 1 °C. A variação de absorvância foi acompanhada em 400 nm (pH 5, $\epsilon = 10078$

L mol⁻¹ cm⁻¹; pH 5,5, $\epsilon = 11405$ L mol⁻¹ cm⁻¹; pH 6, $\epsilon = 12004$ L mol⁻¹ cm⁻¹ a partir de pH 6,5, $\epsilon = 12100$ L mol⁻¹ cm⁻¹ em CH₃CN/H₂O 1:1, v/v), avaliando-se a liberação do ânion 2,4-dinitrofenolato (DNP), como produto da reação de hidrólise.^{28,124} O pH foi controlado pelo uso de tampões biológicos MES (pH 5 - 6,5), HEPES (pH 7 – 8,5) e CHES (pH 9 - 10), a 0,05 mol L⁻¹, com LiClO₄ 0,05 mol L⁻¹ para controle da força iônica. As reações foram monitoradas até 5% de conversão de substrato a produto e os dados tratados pelo método das velocidades iniciais (Equação 1).¹⁶¹

Equação 1

$$V_0 = \frac{Abs}{\epsilon 60}$$

As velocidades iniciais foram determinadas pelo gráfico da absorbância do DNP liberado em função do tempo (s) e calculadas via seu coeficiente de absorção molar (ϵ). A análise de adição de benzimidazol ao complexo **1**, foi realizada em quantidade equimolar em pH 5,5 e 7,0, nas mesmas condições descritas acima.

Por meio destes experimentos e utilizando a equação de Michaelis-Menten ou Lineweaver-Burke,^{161,162} foi possível determinar a velocidade máxima (V_{MAX}) e a constante de Michaelis-Menten (K_M). Além disto foi possível determinar a constante catalítica ($k_{cat} = V_{MAX}/[C]$), o fator catalítico de aceleração ($f = k_{cat}/k_{uncat}$), além da eficiência catalítica ($E = k_{cat}/K_M$).

Em todos os experimentos cinéticos a correção da hidrólise espontânea do substrato foi realizada através da diferença direta. Ou seja, experimentos em condições idênticas, exceto pela ausência do complexo foram realizados e acompanhados em paralelo. Os resultados das reações espontâneas foram descontados das reações catalisadas.

1.3.1.13 Ensaios de interação e regeneração da enzima Acetilcolinesterase

Estes experimentos foram realizados em colaboração com a Professora Aleksandra Bondzic, na Universidade de Belgrade, Sérvia. Foram preparadas soluções estoques dos complexos ($1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) em DMSO. As soluções estoques das enzimas (1 UI/mL) foram preparadas em tampão TRIS (0,5 mol L⁻¹), pH 7,4. O iodeto de acetilcolina e 5,5'-ditiobis(ácido-2-nitrobenzóico) (DTNB) foram utilizados como substrato e reagentes cromogênicos. O teste de triagem de potência inibitória

foi realizado a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de complexo. A potência inibitória dos complexos foi avaliada realizando o ensaio colorimétrico de Ellman.¹⁶³ O ensaio foi conduzido da seguinte forma: O complexo em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 8 foi incubado com 20 µL de enzima e 20 µL de DTNB (0,01 mol L⁻¹) por 30 minutos a 37 °C. Após esse tempo, a reação enzimática foi iniciada pela adição de 10 µL de solução estoque de iodeto de acetilcolina (0,075 mol L⁻¹) na solução de trabalho e interrompida pela adição de 50 µL de dodecilsulfato de sódio (0,1 mol L⁻¹) 6 minutos depois. Foram realizados pelo menos três ensaios independentes. Os resultados são expressos como a média da atividade enzimática em percentagem em relação ao valor de controle correspondente. A absorbância foi registrada em 412 nm no espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 35 usando uma cela de quartzo termostática de 1 cm. Os valores de pH das soluções foram medidos por um medidos de pH Metrohm, modelo 713.11.

1.3.1.14 Estudo de Viabilidade Celular: Ensaio com Brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il) -2,5-Difeniltetrazolil

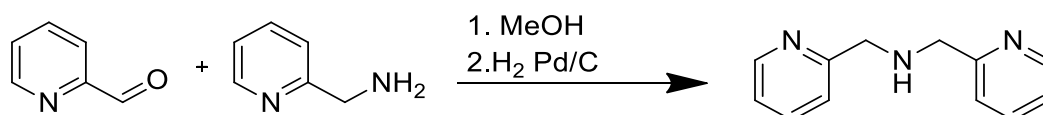
O estudo de viabilidade celular foi realizado em colaboração com o professor Ignacio Leon, Universidade de La Plata, Argentina. Os ensaios foram realizados para células cancerígenas das linhagens MDS-MB-231 (câncer de mama) e MG-63 (câncer de ossos). Todas as células foram providenciadas pelo *American Type Culture Collection* (ATCC). O ensaio de Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolil (MTT) foi realizado de acordo com o método de Mosmann.¹⁶⁴ As células foram colocadas em uma placa com 96 cavidades e incubadas por 24 h antes de serem expostas a várias concentrações dos complexos (variando de 1 a 100 µmol L⁻¹) e mantidas a 37 °C por mais 24 h. Após esse período, o meio em que as células estavam foi substituído, e elas foram tratadas com uma solução de MTT (0,5 mg L⁻¹) sob condições padrão de cultivo por três horas. A capacidade das células de converter o MTT, um composto de tetrazólio, em formazan colorido, um processo mediado pelas enzimas desidrogenases mitocondriais, serviu como indicador de sua viabilidade. A intensidade da cor formada, que reflete a viabilidade celular, foi quantificada usando um aparelho de leitura de microplacas em 570 nm, após a dissolução das células em DMSO (100 µL por cavidade).

1.3.1.15 Condições de crescimento celular

As células MG-63 foram cultivadas em 10% de Soro Bovino Fetal (FBS), 100 U mL⁻¹ de penicilina e 100 µg mL⁻¹ de estreptomicina a 37 °C em uma atmosfera de 5% CO₂. Em seguida, elas foram semeadas em um frasco de 75 cm³ e subcultivadas usando 1 mL de TrypLE™. Para os experimentos, as células foram cultivadas em placas multiwell. Quando as células atingiram a confluência desejada, as monocamadas foram lavadas com PBS e incubadas sob diferentes condições de acordo com os experimentos.

1.3.2 Síntese dos precursores e ligantes

1.3.2.1 Síntese do precursor bis-(2-metilpiridil)amina - bpma

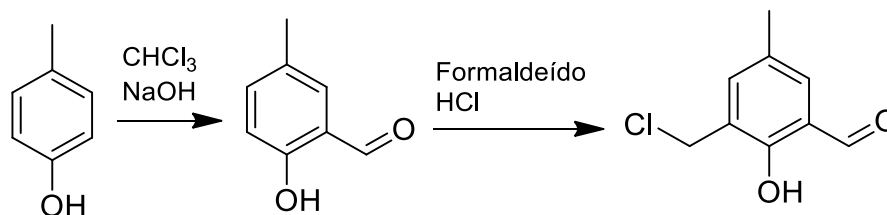


Procedimento segundo Neves *et al.* (1996).¹¹¹ Em um béquer em banho de gelo, contendo 50 mL de metanol, foi adicionado 2-aminometilpiridina (5,15 mL; 50 mmol; 108,14 g mol⁻¹) e 2-piridilcarboxialdeído (4,75 mL; 50 mmol; 107,11 g mol⁻¹). Deixou-se reagir por 1h. A solução foi transferida para um frasco apropriado contendo 0,5 g de paládio/carbono 10% e levado ao hidrogenador a 40 psi por 15 h. Após esse tempo, a solução foi filtrada para retirar o catalisador e o solvente foi evaporado à pressão reduzida. Depois de passar pela bomba de alto vácuo por 5h, foi obtido um óleo incolor. Rendimento 91% (9,04 g; 45,36 mmol; 199,25 g mol⁻¹).

IR (ATR) em cm⁻¹: ν (N-H) 3297; ν (CH_{ar} e CH_{alif}) 3060 - 2824; ν (C=N e C=C) 1590 - 1434; ν (C-N) 1142; δ (CH_{ar}) 746.

¹H NMR (400 MHz; CDCl₃) δ ppm: 8,55 (d, J = 4,5 Hz, 2H); 7,65 (td, J = 7,7 e 1,4 Hz, 2H); 7,37 (d, J = 7,7 Hz, 2H); 7,18 (td, J = 4,8 e 1,4 Hz, 2H); 4,09 (s, 4H).

1.3.2.2 Síntese do precursor 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol - cmff



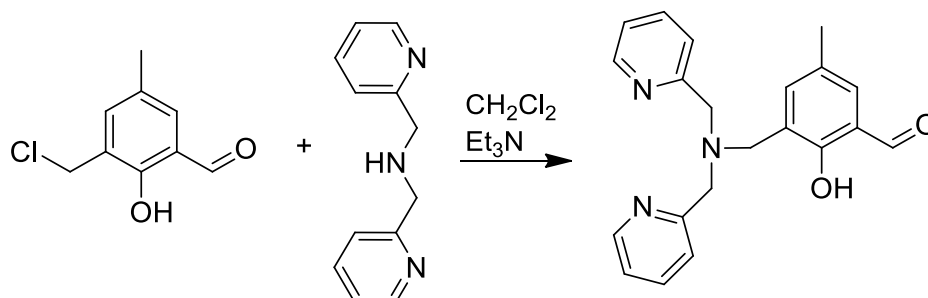
Inicialmente o 2-hidroxi-5-metilbenzaldeído (Hmb) foi preparado através de uma reação de formilação do *p*-cresol.¹⁶⁵ Em um balão de 3 bocas de 5 L, equipado com um agitador mecânico e um condensador, adicionou-se 173,71 g de *p*-cresol (1,6 mol, 108,14 g mol⁻¹) em 3 L de clorofórmio. A solução foi mantida sob agitação com temperatura controlada entre 56 - 60 °C e sob agitação, iniciou-se a adição de 480 g de NaOH (12 mol, 40 g mol⁻¹), solubilizado em aproximadamente 200 mL de água destilada, em pequenas porções durante 3 h. A reação foi mantida sob refluxo por mais uma hora e então deixou-se resfriar à temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se aproximadamente 15 mL de água destilada e ainda sob agitação, acidificou-se o meio com HCl concentrado até pH 2,0. A fase orgânica foi separada, lavada com água destilada, seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente foi retirado à pressão reduzida. O produto foi então destilado à pressão reduzida, onde obteve-se o Hmb como um sólido branco. O sólido foi dissolvido em um mínimo de diclorometano e purificado com coluna cromatográfica em sílica, utilizando diclorometano como eluente. O solvente foi retirado à pressão reduzida e obteve-se um sólido cristalino. Obteve-se 100,0 g (0,73 mol, 136,15 g mol⁻¹) de 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (Hmb) como um sólido branco cristalino com rendimento de 46% em relação ao *p*-cresol.

Em um balão de 500 mL foram adicionados 32,0 g do Hmb (0,235 mol, 136,15 g mol⁻¹), em 37,5 mL de formaldeído 37% (30,03 g mol⁻¹, 1,04 g mL⁻¹) e 125 mL de ácido clorídrico concentrado. O sistema foi mantido sob refluxo e agitação por 45 min e, na sequência, resfriado a 0 °C, formando um precipitado compacto no fundo do balão. O sólido foi triturado, filtrado sob vácuo e recristalizado a quente em diclorometano até a obtenção de um sólido branco, que foi deixado no dessecador com sílica sob vácuo, e armazenado sob argônio em temperatura inferior a -10°C. Rendimento de 60% (26,24 g, 0,142 mol, 184,62 g mol⁻¹) em relação ao Hmb.

IR (ATR) em cm⁻¹: ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3028-2850; ν (C-H_{ald}) 2746; ν (C=O) 1663; ν (C=C) 1600-1470; δ (O-H_{fenol}) 1372; ν (C-O_{fenol}) 1256; δ (C-H_{ar}) 703; ν (C-Cl) 612.

^1H NMR (200 MHz; CDCl_3) δ ppm: 11,25 (s,1H, OH_{fenol}); 9,87 (s,1H, CH_{ald}); 7,47 (s,1H, CH_{ar}); 7,35 (s,1H, CH_{ar}); 4,67 (s,2H, CH_2); 2,39 (s,3H, CH_3).

1.3.2.3 Síntese do ligante 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-formilfenol - bpmamff



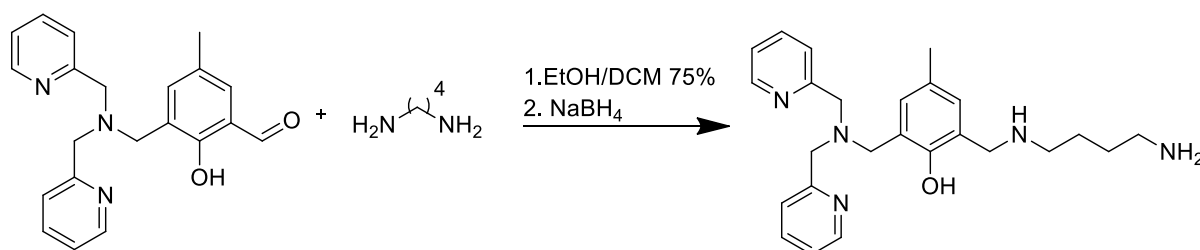
O procedimento experimental foi realizado segundo Karsten e colaboradores.¹²² Em um balão de 250 mL, foi adicionado 3,69 g de cmff (20 mmol, $184,62 \text{ g mol}^{-1}$) dissolvido em 50 mL de diclorometano. Sob agitação e banho de gelo, foram adicionados lentamente, com funil de adição, 50 mL de uma solução de bpma (3,98 g, 20 mmol, $199,26 \text{ g mol}^{-1}$) e trietilamina (2,8 mL, 20 mmol) em diclorometano. Após completa adição, o banho de gelo foi removido e o sistema permaneceu sob agitação por 4 h em temperatura ambiente. Em seguida, a solução foi transferida para um funil de separação e lavada exaustivamente com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob vácuo a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ resultando em um óleo amarelo. Este foi então dissolvido em isopropanol quente e transferido para um béquer. Após algumas horas, formou-se um precipitado amarelo, o qual foi filtrado em funil de placa porosa e lavado com isopropanol gelado. O produto foi novamente transferido para um balão e seco à vácuo. Obteve-se um rendimento de 55% (3,81 g, 10,9 mmol, $347,42 \text{ g mol}^{-1}$).

IR (ATR), em cm^{-1} : ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 2832-3033; ν (C=O) 1679; ν (C=N e C=C) 1593-1431; δ ($\text{O-H}_{\text{fenol}}$) 1376; ν ($\text{C-O}_{\text{fenol}}$) 1226; ν (C-N) 1114; δ (C-H_{Ar}) 767.

^1H NMR (400 MHz; CDCl_3) δ ppm: 10,44 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{aldeído}}$); 8,57 (d, $J = 4.2 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}); 7,66 (td, $J = 7,4$ e $1,5 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}); 7,40 (t, 3H, $J = 7,4 \text{ Hz}$, CH_{ar}); 7,20-7,30 (m, 3H, CH_{ar}); 3,90 (s, 4H, CH_2); 3,81 (s, 2H, CH_2); 2,28 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (100 MHz; CDCl_3) δ ppm: 192,3; 159,1; 158,3; 148,8; 137,8; 136,8; 128,5; 127,9; 125,1; 123,0; 122,2; 59,2; 55,2; 25,3; 20,2.

1.3.2.4 Síntese do Ligante 2-(((4-aminobutil)amino)metil)-6-((bis(2-metilpiridil)amino)metil)-4-metilfenol - HL₁



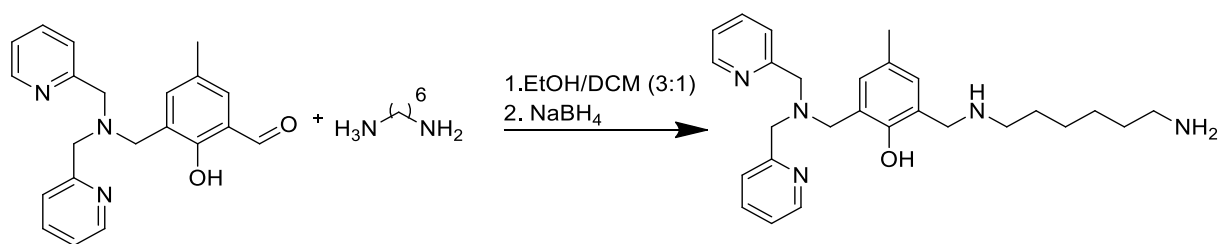
Este procedimento segue o descrito em Chaves *et al.* (2020).¹³⁸ Em um balão de fundo redondo foram dissolvidos 1,73 g (5 mmol; 347,42 g mol⁻¹) de **bpmamff** em 50 mL contendo a mistura dos solventes etanol/diclorometano (3:1, v/v). Em seguida foram adicionados 3,85 mL (4,42 g; 50 mmol; 0,877 g mL⁻¹; 88,53 g mol⁻¹) de 1,4-butanodiamina destilada, sob agitação e em temperatura ambiente. A reação permaneceu nestas condições *overnight*. Após cerca de 16 h foram adicionados 2,00 g (55 mmol; 37,83 g mol⁻¹) de borohidreto de sódio. Após 4 h o pH, que estava próximo de 10,0, foi ajustado a 5,0, utilizando solução 8,0 mol L⁻¹ de HCl. O solvente orgânico foi retirado por rotoevaporação e o óleo remanescente foi dissolvido em 20 mL de clorofórmio e extraído com solução saturada de bicarbonato de sódio (4×20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi rotoevaporado. Obteve-se um rendimento 33% com relação ao **bpmamff** (0,70 g; 1,65 mmol; 419,00 g mol⁻¹).

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (N-H) 3226; ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 2826 -3085; ν (C=N e C=C) 1597-1486; δ (O-H_{fenol}) 1355; ν (C-O_{fenol}) 1220; ν (C-N) 1117; δ (C-H_{Ar}) 751.

¹H NMR (400 MHz; CDCl₃) δ ppm: 8,56 (d, J = 5,0 Hz, 2H, CH_{ar}); 7,64 (td, J = 7,5 e 1,5 Hz, 2H, CH_{ar}); 7,41 (d, J = 7,5 Hz, 2H, CH_{ar}); 7,15 (td, J = 5,0 e 1,5 Hz 2H, CH_{ar}); 6,89 (s, 1H, CH_{ar}); 6,86 (s, 2H, CH_{ar}); 3,86 (m, 6H, CH₂); 3,75 (s, 4H, CH₂); 2,69-2,60 (m, 4H, CH₂); 2,23 (s, 3H, CH₃); 1,56-1,48 (m, 4H, CH₂).

¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ ppm: 158,6; 153,5; 148,9; 136,7; 129,6; 127,4; 125,6; 123,1; 122,8; 122,1; 59,2; 56,0; 50,2; 48,8; 42,0; 31,3; 27,3; 20,4.

1.3.2.5 Síntese do Ligante 2-(((6-amino)hexil)amino)metil)-6-((bis(2-metilpiridil)amino)metil)-4-metilfenol - HL₂



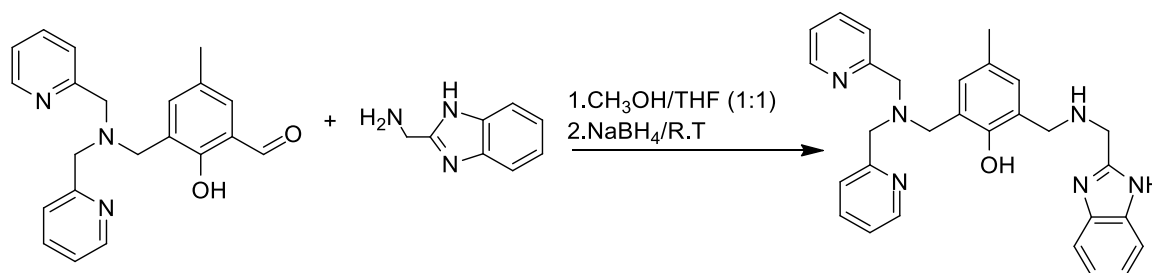
Este procedimento segue o descrito em Chaves *et al.* (2020).¹³⁸ Em um balão de fundo redondo foram dissolvidos 1,73 g (5 mmol; 347,42 g mol⁻¹) de **bpmamff** em 50 mL de etanol/diclorometano (3:1, v/v). A reação foi colocada sob agitação em temperatura ambiente. Em seguida foram adicionados 5,80 g (50 mmol; 116,21 g mol⁻¹) de 1,6-hexanodiamina, lentamente em solução de etanol/diclorometano (3:1), em banho de gelo. A reação permaneceu nestas condições *overnight*. Após aproximadamente 16 h foram adicionados 2,00 g (55 mmol; 37,83 g mol⁻¹) de borohidreto de sódio. Após 4 h o pH, que estava próximo de 10,0, foi ajustado a 5,0, utilizando solução 8,0 mol L⁻¹ de HCl. O solvente orgânico foi retirado por rotoevaporação e o óleo remanescente foi dissolvido em 10 mL de clorofórmio e extraído com solução saturada de bicarbonato de sódio (4×20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi rotoevaporado. Obteve-se um rendimento de 83% com relação ao bpmamff (1,85 g; 4,15 mmol; 447,62 g mol⁻¹).

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (N-H) 3231; ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 2849-3068; ν (C=N e C=C) 1591-1471; δ (O-H_{fenol}) 1364; ν (C-O_{fenol}) 1231; ν (C-N) 1117; δ (C-H_{Ar}) 747.

¹H NMR (400 MHz; CDCl₃) δ ppm: 8,56 (d, J= 5,0 Hz, 2H, CH_{ar}); 7,64 (td, J= 7,7 e 1,5 Hz, 2H, CH_{ar}); 7,41 (d, J= 7,7 Hz, 2H, CH_{ar}); 7,16 (td, J= 5,0 e 1,5 Hz, 2H, CH_{ar}); 6,88 (s, 2H, CH_{ar}); 3,86 (m, 6H, CH₂); 3,75 (s, 4H, CH₂); 2,69-2,61 (m, 4H, CH₂); 2,23 (s, 3H, CH₃); 1,57-1,28 (m, 8H, CH₂).

¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ ppm: 158,6; 153,4; 148,9; 136,7; 129,7; 127,4; 125,4; 123,1; 122,8; 122,1; 59,3; 55,9; 50,3; 49,1; 42,0; 33,6; 27,1; 26,7; 20,4.

1.3.2.6 Síntese do Ligante (((1H-benzimidazol-2-il)metil)amino)metil)-6-((bis-(2-metilpiridil)amino)metil)-4-metilfenol - HL₃



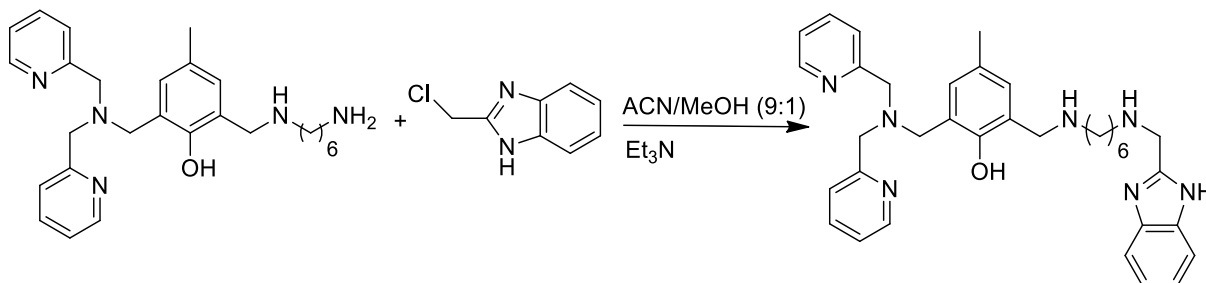
A reação descrita a seguir foi adaptada de Chen *et al.* (2015).¹⁶⁶ Em um balão de fundo redondo, sob agitação e sistema de refluxo, se adicionou o **bpmamff** (0,30 g, 0,86 mmol; 347,42 g mol⁻¹) e aminometilbenzimidazol (0,20 g; 0,86 mmol; 147,18 g mol⁻¹) em 50 mL da mistura de metanol/tetrahidrofurano (1:1, v/v). A reação permaneceu sob refluxo por 8 h. Após esse período, deixou-se a mistura de reação esfriar até atingir temperatura ambiente e se adicionou lentamente 0,06 g de borohidreto de sódio (1,5 mmol; 37,83 g mol⁻¹). Sob agitação e temperatura ambiente, o meio reacional foi mantido *overnight*. A seguir, o solvente foi evaporado a pressão reduzida e o óleo marrom foi solubilizado em 10 mL de diclorometano, ao qual foi adicionado 10 mL de uma solução saturada de bicarbonato de sódio. Essa mistura bifásica permaneceu sob agitação por 15 minutos, e então foi transferida ao funil de separação. A fase aquosa foi então descartada e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de bicarbonato (4×10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente roto evaporado a pressão reduzida. O óleo resultante foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel, eluindo a mistura 3:1 (v/v) de acetato de etila:hexano. O solvente foi rotoevaporado, onde obteve-se um sólido marrom, com rendimento de 58% (0,24 g; 0,5 mmol; 477,58 g mol⁻¹).

IR (ATR), em cm⁻¹: ν (N-H) 3188; ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 2804-3082; ν (C=N e C=C) 1593-1484; δ (O-H_{fenol}) 1369; ν (C-O_{fenol}) 1220; ν (C-N) 1110; δ (C-H_{Ar}) 739.

¹H NMR (200 MHz; CDCl₃) δ ppm: 8,55(d, J = 5,0 Hz, 2H, CH_{Ar}); 7,62-7,56(m, 4H, CH_{Ar}); 7,36(d, J =7,8 Hz, 2H, CH_{Ar}); 7,23-7,21(m, 2H, CH_{Ar}); 7,15(t, J = 5,0 Hz, 2H, CH_{Ar}); 6,90(s, 1H, CH_{Ar}); 6,84(s, 1H, CH_{Ar}); 4,23 (s, 2H, CH₂); 3,91(s, 4H, CH₂); 3,87 (s, 4H, CH₂); 3,78(s, 2H, CH₂); 3,48 (s, 1H, NH); 2,18(s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz; CDCl₃) δ ppm: 158,0; 153,5; 149,0; 136,8; 130,6; 130,5; 128,2; 124,5; 123,3; 122,6; 122,4; 122,0; 59,1; 56,8; 49,4; 46,3; 20,3.

1.3.2.7 Síntese do Ligante 2-(((6-(((1H-benzimidazol-2-il)metil)amino)hexil)amino)metil)-6-((bis-(2-metilpiridil)amino)metil)-4-metilfenol - HL₄



Este procedimento foi baseado na síntese descrita em Castillo *et al.* (2012).¹⁶⁷

Em um balão de fundo redondo foi adicionado 0,45 g do ligante **HL₂** (1 mmol; 447,62 g mol⁻¹) em acetonitrila/metanol (9:1, v/v) e trietilamina 0,1 mL (1,33 mmol; 0,076 g; 0,76 g mL⁻¹; 101,19 g mol⁻¹). Uma solução de clorometilbenzimidazol (0,17 g; 1 mmol; 166,03 g mol⁻¹) em 20 mL acetonitrila/metanol (9:1, v/v) foi adicionada lentamente com funil de adição, e em banho de gelo. A reação permaneceu sob agitação e em temperatura ambiente por 24 h. Em seguida, o solvente foi rotoevaporado e ao óleo obtido foram adicionados 20 mL de água e 10 mL de clorofórmio. A solução foi acidificada até pH_{aparente} 2 com solução 8,0 mol L⁻¹ de HCl. Em seguida, foi realizada uma extração, descartando-se a fase orgânica, para em seguida realizar a neutralização da fase aquosa a pH 7,0, com solução de NaOH 4,0 mol L⁻¹. Finalmente, a solução aquosa foi extraída com 2×20 mL de clorofórmio. Nessa etapa, a fase orgânica foi coletada e lavada com solução saturada de bicarbonato (3×20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e rotoevaporada. Obteve-se um rendimento de 55% (0,31 g; 0,55 mmol; 577,76 g mol⁻¹).

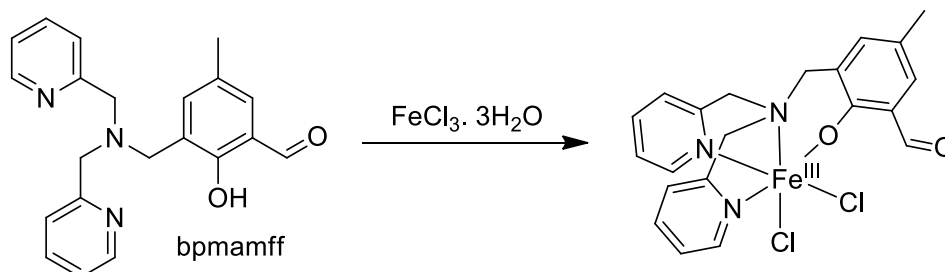
IR (ATR), em cm⁻¹: ν (N-H) 3214; ν (C-H_{Ar} e C-H_{Alif}) 2784-3055; ν (C=N e C=C) 1585-1484; δ (O-H_{fenol}) 1365; ν (C-O_{fenol}) 1216; ν (C-N) 1117; δ (C-H_{Ar}) 739.

¹H NMR (400 MHz; CDCl₃) δ ppm: 8,55 (s, 2H, CH_{Ar}); 7,64-7,75 (m, 6H, CH_{Ar}); 7,17-7,25 (m, 4H, CH_{Ar}); 6,88 (s, 2H, CH_{Ar}); 3,97 (s, 2H, CH₂); 3,90 (s, 2H, CH₂); 3,85 (s, 2H, CH₂); 3,74 (s, 2H, CH₂); 3,68 (s, 2H, CH₂); 2,51-2,70 (m, 4H, CH₂); 2,22 (s, 3H, CH₃); 1,26-1,60 (m, 8H, CH₂).

¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃) δ ppm: 158,6; 158,4; 153,6; 149,0; 136,8; 136,7; 131,7; 130,0; 129,7; 127,8; 127,6; 122,4; 122,2; 121,7; 56,3; 59,2; 56,1; 53,1; 51,9; 50,1; 41,8; 33,1; 32,9; 26,9; 26,6; 26,3; 26,2; 20,4.

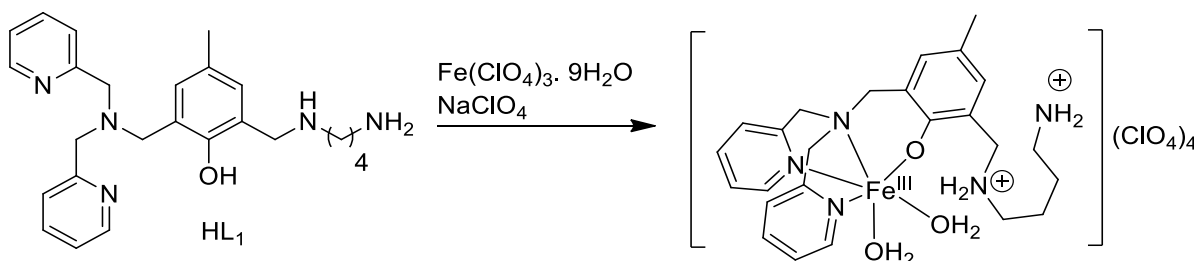
1.3.3 Síntese dos complexos

1.3.3.1 Síntese do complexo $[\text{Fe}(\text{bpmamff})\text{Cl}_2]$ - 1



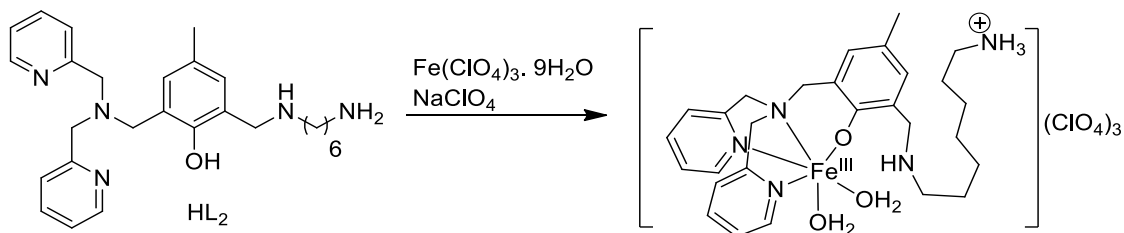
A síntese do complexo foi realizada de acordo com descrito por Vailati *et al.* (2020).¹⁶⁸ Em um béquer 0,17 g (0,5 mmol; 347,42 g mol⁻¹) de **bpmamff** foi dissolvido em 10 mL de metanol, sob agitação a 45 °C. A esta solução, foram adicionados 0,09 g de FeCl₃·3H₂O (0,5 mmol, 198,81 g mol⁻¹) dissolvidos em 10 mL de metanol. Após 30 minutos a solução foi deixada resfriar a temperatura ambiente. O solvente foi rotoevaporado e o sólido roxo resultante, lavado por filtração a vácuo com éter e água, ambos gelados. Rendimento: 45% (0,11 g; 0,22 mmol; 473,16 g mol⁻¹).

1.3.3.2 Síntese do complexo $[\text{Fe}(\text{L}_1)(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_4$ - 2



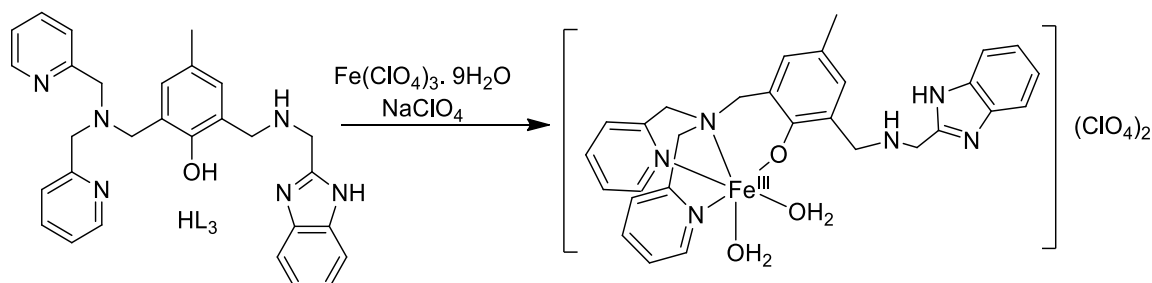
Em um béquer de 50 mL contendo 0,27g (0,64 mmol, 419,00 g mol⁻¹) de **HL₁** e 10 mL de metanol, sob agitação, a 45 °C, NaOH foi adicionado gota a gota até pH_(aparente) 8,0. Em seguida, foram adicionados, gota a gota, uma solução de 10 mL de metanol e 0,33 g (0,64 mmol, 516,20 g mol⁻¹) de Fe(ClO₄)₃·9H₂O. Após 15 minutos, foram adicionados 0,16 g (1,28 mmol, 122,44 g mol⁻¹) de NaClO₄ como contraíon. Decorridos mais 30 minutos, a solução foi resfriada a temperatura ambiente, ainda sob agitação. Em seguida foi realizada filtração lenta do precipitado roxo e a solução permaneceu em estufa de recristalização. Depois de cinco dias, foi obtido um pó roxo. Este, juntamente com o precipitado coletado anteriormente foi lavado sob vácuo com 20 mL de água e 20 mL de éter, ambos gelados. Rendimento: 63% (0,37 g; 0,40 mmol; 907,20 g mol⁻¹).

1.3.3.3 Síntese do complexo $[\text{Fe}(\text{L}_2)\text{OH}_2](\text{ClO}_4)_3 - 3$



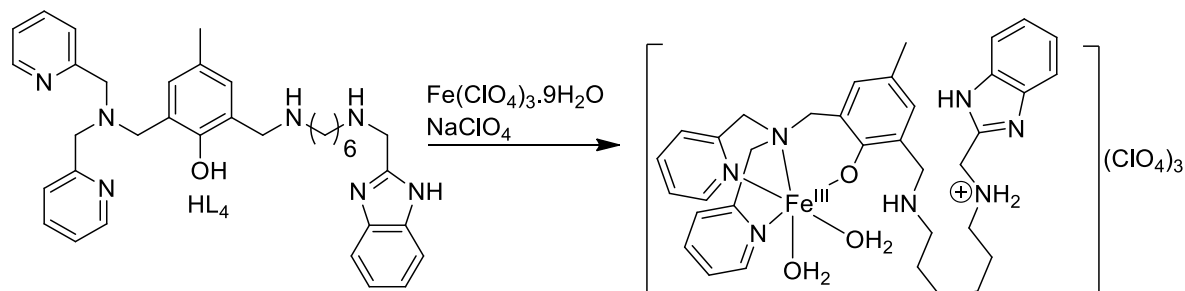
Em um béquer de 50 mL contendo 0,27g (0,60 mmol, 447,62 g mol⁻¹) de **HL₂** e 10 mL de metanol, sob agitação, a 45 °C, NaOH foi adicionado gota a gota até pH_(aparente) 8,0. Em seguida, foram adicionados, gota a gota, uma solução de 10 mL de metanol e 0,31 g (0,60 mmol, 516,20 g mol⁻¹) de Fe(ClO₄)₃·9H₂O. Após 15 minutos, foram adicionados 0,15 g (1,20 mmol, 122,44 g mol⁻¹) de NaClO₄ como contraíon. Decorridos mais 30 minutos, a solução foi resfriada a temperatura ambiente, ainda sob agitação. Em seguida foi realizada filtração lenta do precipitado, e a solução permaneceu em estufa de recristalização onde foi obtido somente pó de coloração roxa. Este, juntamente com o precipitado coletado anteriormente foi lavado sob vácuo com água e éter gelados. Rendimento: 55 % (0,28 g; 0,33 mmol; 851,87 g mol⁻¹).

1.3.3.4 Síntese do complexo $[\text{Fe}(\text{L}_3)(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_2 - 4$



Em um béquer de 50 mL contendo 0,24g (0,5 mmol, 477,58 g mol⁻¹) de **HL₃** e 10 mL de metanol, sob agitação, a 45 °C, NaOH foi adicionado gota a gota até pH_(aparente) 8,0. Em seguida, foram adicionados, gota a gota, uma solução de 10 mL de metanol e 0,25 g (0,5 mmol, 516,20 g mol⁻¹) de Fe(ClO₄)₃·9H₂O. Após 15 minutos, foram adicionados 0,12 g (1,00 mmol, 122,44 g mol⁻¹) de NaClO₄ como contraíon. Após mais 30 minutos, a solução permaneceu sob agitação até resfriar a temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada filtração lenta do precipitado, de coloração roxa e o restante da solução permaneceu em estufa de recristalização. Decorridos aproximadamente três dias, foi obtido um precipitado de mesma cor. Este, juntamente com o coletado anteriormente foi lavado sob vácuo com cerca de 30 mL de água e 30 mL de éter, ambos gelados. Rendimento: 64% (0,24 g; 0,32 mmol; 765,11 g mol⁻¹).

1.3.3.5 Síntese do complexo $[\text{Fe}(\text{L}_4)(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_3$ - 5



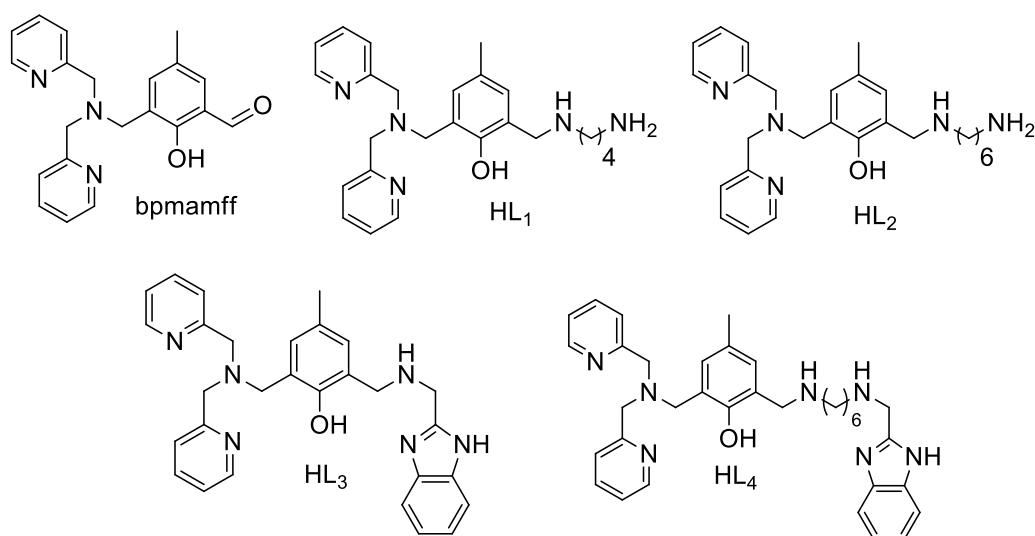
Em um béquer de 50 mL contendo 0,28g (0,5 mmol, 577,76 g mol⁻¹) de **HL₄** e 10 mL de metanol, sob agitação, a 45 °C, NaOH foi adicionado gota a gota até pH_(aparente) 8,0. Em seguida, foram adicionados, gota a gota, uma solução de 10 mL de metanol e 0,25 g (0,5 mmol, 516,20 g mol⁻¹) de $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Após 15 minutos, foram adicionados 0,12 g (1,00 mmol, 122,44 g mol⁻¹) de NaClO_4 como contraíon. Após mais 30 minutos, a solução permaneceu sob agitação até resfriar a temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada filtração lenta do precipitado, de coloração roxa e o restante da solução permaneceu em estufa de recristalização, onde após evaporação do solvente, obteve-se um precipitado de mesma cor. Este, juntamente com o coletado anteriormente foi lavado sob vácuo com água e éter, ambos gelados. Rendimento: 56% (0,27 g; 0,28 mmol; 984,03 g mol⁻¹)

1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1 Caracterização dos ligantes

Foram desenvolvidos quatro ligantes inéditos neste trabalho, os quais quando coordenados a íons metálicos, podem impactar nas propriedades físico-químicas dos seus respectivos complexos. Além disso, essas diferenças entre os complexos, geradas pelos ligantes, podem influenciar a cinética de degradação dos substratos estudados e a reativação enzimática (AChE). A principal diferença entre os ligantes **HL₁** e **HL₂** é o comprimento da cadeia alifática lateral, sendo **HL₂** dois carbonos metilênicos mais longo que **HL₁**. Ambos possuem uma amina terminal, que pode promover interações, tanto com a enzima, substratos e até mesmo com o próprio complexo. A partir do ligante **HL₂**, foi sintetizado o ligante **HL₄** para verificar a atividade associada a presença do grupo BIMZ terminal em substituição a amina. Já o ligante **HL₃**, apresenta o grupo de interesse (BIMZ) mais próximo do restante da molécula que deve atuar como primeira esfera de coordenação. O precursor e ligante **bpmamff** foi utilizado como complexo controle uma vez que não possui nem cadeias laterais, nem grupos BIMZ em sua estrutura química. Os ligantes sintetizados no presente trabalho estão apresentados na figura a seguir.

Figura 15 - Estruturas propostas e nomenclatura dos ligantes sintetizados.



Além das técnicas discutidas a seguir, também foram realizadas análises de espectrofotometria na região do UV-vis de todos os ligantes e caracterização por onda

quadrada dos ligantes contendo BIMZ. Contudo, a discussão destes resultados é mais relevante quando correlacionado com os resultados obtidos para os complexos, e serão discutidos nas seções “1.4.2.6 Espectrometria na Região do UV-Vis e 1.4.2.7 Medidas Eletroquímicas”.

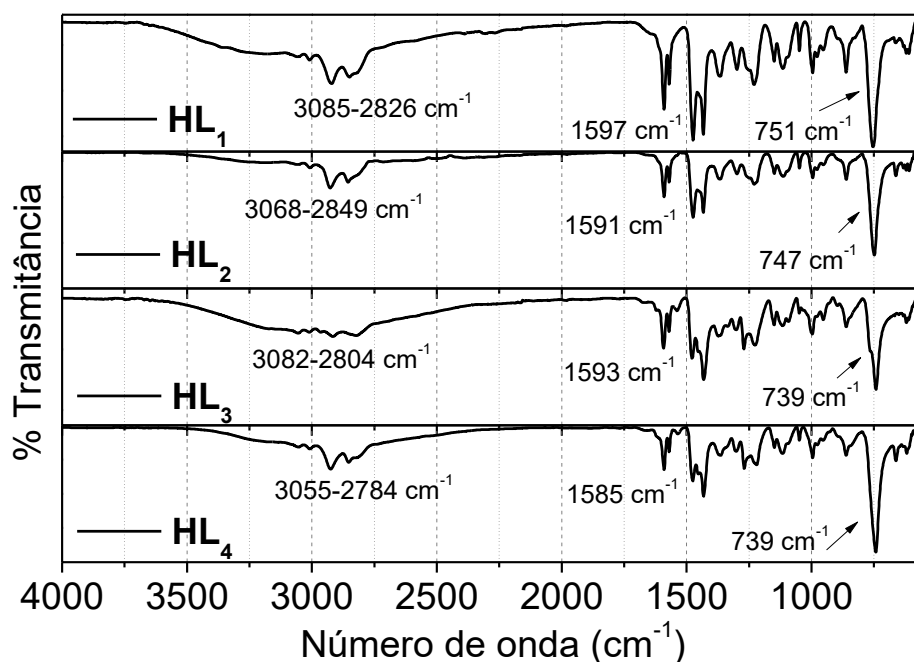
1.4.1.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IR)

A análise de espectroscopia no infravermelho foi a primeira técnica utilizada na caracterização dos compostos orgânicos, desde precursores até ligantes finais inéditos. A partir desta técnica é possível detectar a presença de alguns grupos orgânicos com base nas vibrações promovidas por grupos funcionais característicos, que usualmente aparecem em regiões específicas do espectro. Os deslocamentos e atribuições das respectivas bandas estão descritos na Tabela 5, assim como a Figura 16 apresenta os espectros de IR dos ligantes (**HL₁-HL₄**). Os espectros dos precursores e **bpmamff** são apresentados nos Apêndices (APÊNDICE B – APÊNDICE D), uma vez que são moléculas já reportadas em diversos trabalhos acadêmicos e artigos.¹¹³

Tabela 5 - Atribuições das bandas (cm⁻¹) dos grupos funcionais presentes nos ligantes.

Atribuições	bpmamff	HL ₁	HL ₂	HL ₃	HL ₄
$\nu(\text{N-H})$	-	3226	3231	3188	3214
$\nu(\text{C-H}_{\text{alif/ar}})$	3033-2832	3085-2826	3068-2849	3082-2804	3055-2784
$\nu(\text{C=O})$	1679	-	-	-	-
$\nu(\text{C=C; C=N})$	1593 e 1431	1597 e 1486	1591 e 1471	1593 e 1484	1585 e 1484
$\delta(\text{O-H})$	1376	1355	1364	1369	1365
$\nu(\text{C-O})$	1226	1220	1231	1220	1216
$\nu(\text{C-N})$	1114	1117	1117	1110	1117
$\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$	767	751	747	739	739

Figura 16 - Espectro de IR (resolução de 4 cm^{-1}) dos ligantes inéditos sintetizados neste trabalho, em ATR (cm^{-1}).



A principal diferença dos precursores e ligante **bpmamff** para os espectros de IR dos demais ligantes é a ausência de uma banda intensa na região de 1679 cm^{-1} , sugerindo que a carbonila de aldeído foi substituída pelas aminas de interesse, juntamente com o aparecimento dos estiramentos das ligações NH. Em geral os espectros dos ligantes são similares, onde entre $3500\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ notam-se bandas alargadas e pouco definidas, devido a sobreposição dos sinais de C-H alifáticos ($\sim 3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$), aromáticos ($\sim 3100\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$), O-H_{fenol} ($\sim 3400\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$) e N-H ($\sim 3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$) que também aparecem nessa região. Em todos os espectros é possível observar sinais importantes, como estiramentos C=C/C=N dos anéis aromáticos, O-H do anel fenólico e C-O na região de $1590/1430$, 1370 e 1220 cm^{-1} respectivamente, além da banda de dobramento de C-H_{ar} em $\sim 750\text{ cm}^{-1}$.

1.4.1.2 Ressonância Magnética nuclear (NMR)

A técnica de ^1H NMR foi utilizada para caracterização dos ligantes e seus precursores. Sendo uma das técnicas mais utilizadas na caracterização de compostos orgânicos, ela permite identificar átomos magneticamente distintos do isótopo em estudo. Assim, quando aliada a outras técnicas, permite determinar a conectividade

dos átomos da molécula de interesse. As análises foram realizadas em clorofórmio deuterado e para os precursores, os deslocamentos e integrais foram comparados com a literatura.^{45,113} Além disso, todos os sinais encontrados nos espectros têm correspondência com átomos de hidrogênio presentes em suas respectivas moléculas. Todos os espectros estão apresentados com integrais e deslocamentos nos Apêndices (APÊNDICE E -APÊNDICE K) e a Tabela 6 resume as atribuições sugeridas para os ligantes.

Comparando os ligantes **HL₁-HL₄** com o **bpmamff**, a primeira observação é a ausência do sinal em 10,43 ppm atribuído ao hidrogênio do aldeído. Este é um indicativo que este grupo foi substituído dando origem aos compostos desejados ao longo do processo sintético. Além disso, nota-se o aumento de sinais referentes a hidrogênios metilênicos, em concordância de deslocamento e integral com o sugerido para cada composto. No ligante **HL₃**, estes sinais são referentes aos CH₂ entre anéis, na forma de simpleto em 4,23 e 3,91 ppm. Para **HL₁**, com os mesmos CH₂ entre anéis aromáticos (3,86 ppm) e os sinais referentes a cadeia de -(CH₂)₄- em 2,69 e 1,56 ppm são observados. Da mesma forma, o espectro de **HL₂** apresenta sinais na região de 1,57 e 2,68 ppm, referentes a cadeia -(CH₂)₆- e finalmente para **HL₄**, com os hidrogênios da cadeia lateral aparecendo em 1,26 e 2,51 ppm e uma metila ligada ao BIMZ entres os sinais na região de 3,85 ppm.

Os sinais em região de hidrogênios aromáticos correspondem as piridinas, presentes desde o ligante **bpmamff** (principalmente no hidrogênio do carbono alfa ao nitrogênio, em ~8,5 ppm), e aos hidrogênios do anel fenólico central. Os ligantes **HL₁** e **HL₂** continuam apresentando somente estes sinais nesta região. Por sua vez, os ligantes contendo grupamentos BIMZ apresentam novos sinais correspondentes a esse anel conjugado. O sinal referente a hidrogênio dos grupos amina só é visível no espectro de **HL₃** em 3,48 ppm. É comum que hidrogênios ligados a heteroátomos como nitrogênio ou oxigênio não sejam detectados em espectros de ¹H NMR, ou apareçam em menor intensidade na análise. Isso ocorre devido a labilidade dessa ligação, permitindo a substituição de hidrogênio por deutério do solvente, suprimindo este no espectro de ¹H.

Os ligantes inéditos também foram caracterizados por ¹³C NMR e DEPT-135. Os deslocamentos e atribuições são apresentados na Tabela 7 e os espectros nos Apêndices (APÊNDICE L -APÊNDICE P). Como observado, todos os sinais dos espectros possuem atribuição de carbono correspondente ao seu respectivo ligante,

concordando com as demais técnicas na obtenção dos ligantes de interesse. Quando comparado com o precursor e ligante **bpmamff**, é observado uma maior quantidade de carbonos na região de 20-40 ppm para **HL₁**, **HL₂** e **HL₅**. Quando esses sinais são comparados com a análise de DEPT é possível inferir que são referentes a carbonos metilênicos, presentes nas cadeias laterais de cada ligante. O número de sinais também acorda com o esperado crescendo nos ligantes **HL₂** e **HL₄**, onde a cadeia lateral conta com (CH₂)₆, comparado com os 4 sinais observados para **HL₁**. Nessa região também se observam os carbonos entre os anéis aromáticos, em mesmo deslocamento que o **bpmamff**, o que é esperado tendo em vista que esta parte da estrutura dos ligantes é mantida em todos eles. Um novo sinal é observado em **HL₃**, sendo atribuído ao CH₂ entre amina e BIMZ. Além disso, novos sinais na região aromática, referente a CH_{ar} e C_{ar} são observados para os ligantes onde BIMZ foi inserido (**HL₃** e **HL₄**). Em geral, pode-se inferir que os resultados obtidos acordam com o esperado para os ligantes. Para os precursores, não foi realizada análise de NMR de carbono, pois estes estão descritos na literatura, e as análises de ¹H NMR e IR concordaram com o reportado previamente.

Tabela 6 - Deslocamentos químicos (ppm), multiplicidade e constantes de acoplamento dos hidrogênios atribuídos aos ligantes, observados em análise ^1H NMR (400 MHz, em CDCl_3 , TMS - $\delta = 0.00$ ppm)

Atribuição	bpmamff	HL ₁	HL ₂	HL ₃	HL ₄
CH_{alde}	10,44 (s, 1H)	-	-	-	-
CH_{ar}	8,57 (d, J= 4,2 Hz, 2H)	8,56 (d, J= 5,0 Hz, 2H)	8,56 (d, J=5,0 Hz, 2H)	8,55 (d, J=5,0 Hz,2H)	
	7,66 (td, J=7,4; 1,5 Hz, 2H)	7,64 (td, J = 7,5; 1,5 Hz, 2H)	7,64 (td, J= 7,7; 1,5 Hz, 2H)	7,62-7,56 (m, 4H)	8,55 (s, 2H)
	7,40 (t, J= 7,4, 3H)	7,41 (d, J = 7,5Hz, 2H);	7,41 (d, J= 7,7 Hz, 2H)	7,36 (d, J=7,8 Hz, 2H)	7,64-7,75 (m, 6H)
	7,20-7,30 (m, 3H)	7,15 (td, J = 5,0; 1,5 Hz, 2H)	7,16 (td, J= 5,0; 1,5 Hz, 2H)	7,23-7,21 (m, 2H)	7,17-7,25 (m, 4H)
		6,88 (s, 1H)	6,88 (s, 2H);	7,15 (t, J=5,0 Hz, 2H)	6,88 (s, 2H);
		6,86 (s, 1H)		6,90 (s, 1H)	
				6,84 (s, 1H)	
					3,97 (s, 2H)
					3,90(s, 2H)
	CH₂	3,90 (s, 4H) 3,81 (s, 2H)	3,86 (m,6H) 3,75 (s, 4H) 2,69-2,61 (m, 4H) 1,57-1,28 (m, 8H).	3,86 (m,6H) 3,75 (s, 4H) 2,69-2,61 (m, 4H) 1,57-1,28 (m, 8H)	4,23 (s, 2H) 3,91 (s, 4H) 3,87 (s, 4H) 3,78 (s, 2H)
CH₃	2,28 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,18 (s, 3H)	2,22(s, 3H)
NH	-			3,48 (s, 1H)	-

Tabela 7 - Deslocamentos químicos (ppm) dos carbonos atribuídos aos ligantes, observados em análise ^{13}C NMR (100 MHz, em CDCl_3 , TMS - $\delta = 0.00$ ppm)

Atribuição	bpmamff	HL ₁	HL ₂	HL ₃	HL ₄
CH_{alde}	192,3	-	-	-	-
C_{ar}/CH_{ar}	159,1; 158,3;	158,6; 153,5;	158,6; 153,4;	158,0; 153,5;	153,6; 149,0;
	148,8; 137,8;	148,9; 136,7;	148,9; 136,7;	149,0;136,8;130,6;	136,8; 136,7;
	136,8; 128,5;	129,6; 127,4;	129,7; 127,4;	130,5;128,2;124,5	131,7; 130,0;
	127,9; 125,1	125,6; 123,1;	125,4; 123,1;	123,3;122,6;122,4	129,7; 127,8;
	123,0; 122,2	122,8; 122,1	122,8; 122,1	122,0	127,6; 122,4;
					122,2;121,7
CH₂	59,2; 55,2	59,2; 56,0; 50,2;	59,3; 55,9; 50,3;	59,1; 56,8;	56,3; 59,2; 56,1
		48,8; 42,0; 31,3;	49,1; 42,0; 33,6;		53,1; 51,9; 50,1
		27,3	27,1; 26,7		41,8; 33,1;32,9;
				49,4; 46,3	26,9; 26,6; 26,3;
					26,2
CH/CH₃	20,2	20,4	20,4.	20,3	20,4

1.4.1.3 Espectrometria de Massas por *electrospray* (ESI-MS)

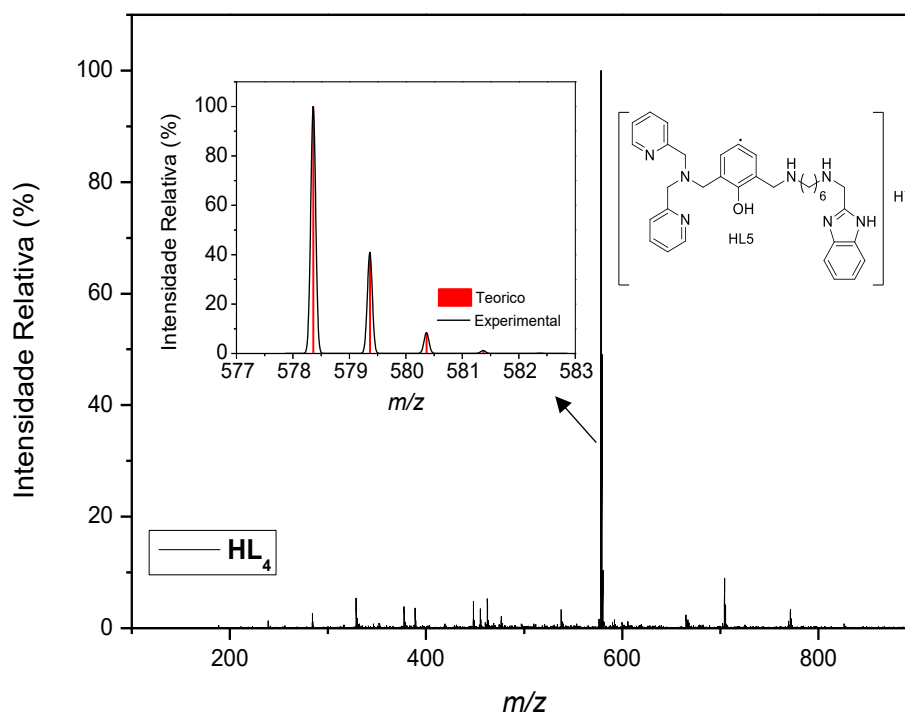
Os ligantes inéditos também foram caracterizados por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* no modo positivo. Para os ligantes **HL₁**–**HL₃** o sinal de maior intensidade corresponde a um aduto resultante do respectivo ligante somado a um próton [**HL_n** + H⁺], o que é comum neste tipo de análise.¹⁶⁹ Isso sugere que a unidade mais estável da amostra seja o próprio ligante, gerando uma maior intensidade do sinal referente a essa massa molecular. Os espectros, assim como a correlação entre distribuição isotópica teórica e experimental, são apresentados nos Apêndices (APÊNDICE Q - APÊNDICE S). A Tabela 8 traz um resumo das relações *m/z* de maior intensidade em cada espectro em comparação com o valor calculado para as respectivas composições químicas atribuídas a cada ligante.

Tabela 8 - Dados retirados das análises de massas dos ligantes **HL₁**–**HL₄**.

Ligante	Atribuição [M+H ⁺]	<i>m/z</i> experimental	<i>m/z</i> calculado
HL₁	C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O + H ⁺	420,27	420,27
HL₂	C ₂₇ H ₃₇ N ₅ O + H ⁺	448,30	448,30
HL₃	C ₂₉ H ₂₉ N ₆ O + H ⁺	479,25	479,25
HL₄	C ₃₃ H ₃₇ N ₇ O + H ⁺	578,35	578,35

Para o ligante **HL₄**, o pico base apresenta uma quantidade de átomos concordante com o ligante, mas com a fragmentação homolítica do grupo metila ligado ao anel fenólico (Figura 17). Esse fenômeno é comum em técnicas de ionização de amostras, onde ocorre a fragmentação em ligações entre heteroátomos ou anéis aromáticos.^{169,170} Na Figura 17 são apresentados, os espectros de massa para este ligante, bem como seus padrões de distribuição isotópica teórica e experimental.

Figura 17 - Espectro de massas do ligante **HL₄**. Inserido: distribuição isotópica do pico base em m/z 578,35 (experimental em preto, teórico em vermelho).



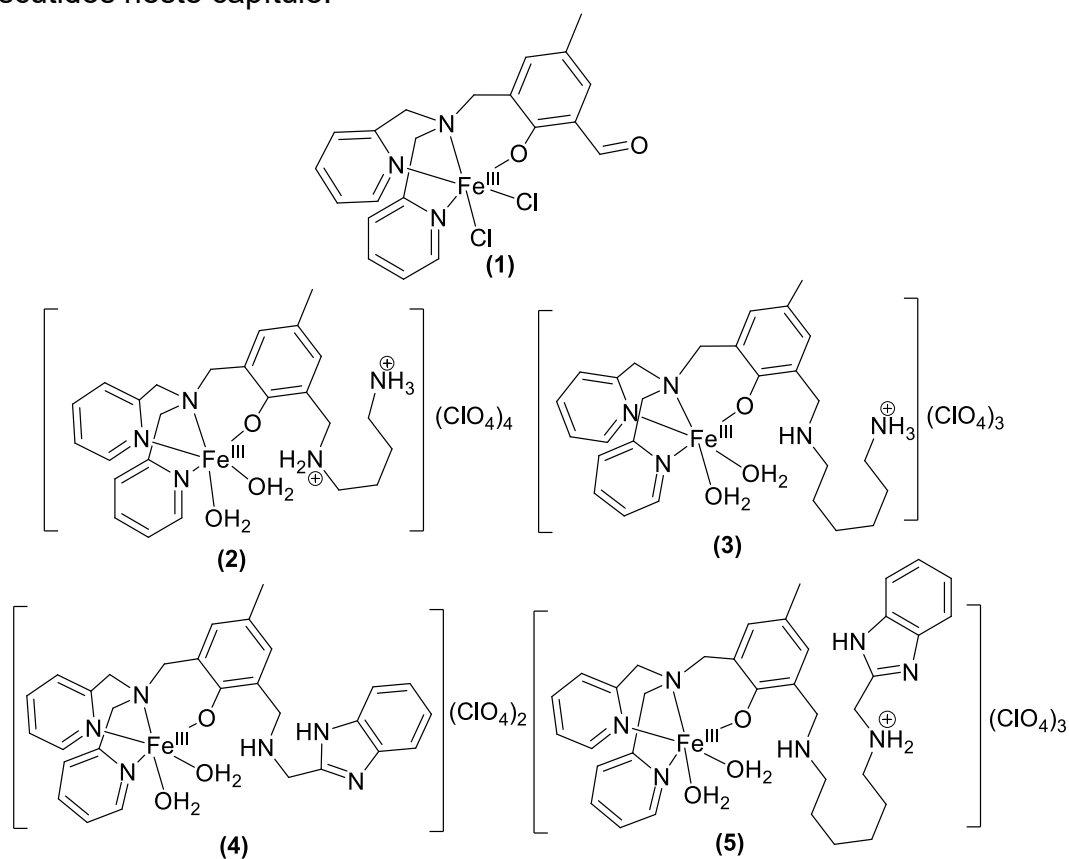
Em geral, a combinação das técnicas espectroscópicas mencionadas corrobora a obtenção das estruturas orgânicas sugeridas. Desta forma, os ligantes foram utilizados na preparação dos complexos que serão discutidos a seguir.

1.4.2 Caracterização dos complexos de ferro(III)

Para caracterizar os complexos sintetizados neste trabalho foram utilizadas diversas técnicas espectrométricas, análise elementar de C, H, N e Fe, condutométricas, eletroquímicas, dentre outras. Os resultados são reportados nas seções a seguir, mostrando dados convergentes com as estruturas propostas na Figura 18. Infelizmente não foram obtidos cristais com qualidade adequada para resolução de estrutura por difração de raios X, mesmo após diversas tentativas de mudanças de contraíon e solventes. Isso é atribuído a mobilidade dos grupos alquil na segunda esfera de coordenação. Essa parte da molécula apresenta liberdade de rotação em torno da ligação sigma, se ajustando em diferentes conformações, variando a orientação espacial dos

átomos de carbono ao longo da cadeia. Desta forma, a organização do sistema é afetada dificultando a formação de uma estrutura cristalina para os complexos.

Figura 18 - Arranjos estruturais propostos para os complexos de ferro(III) discutidos neste capítulo.

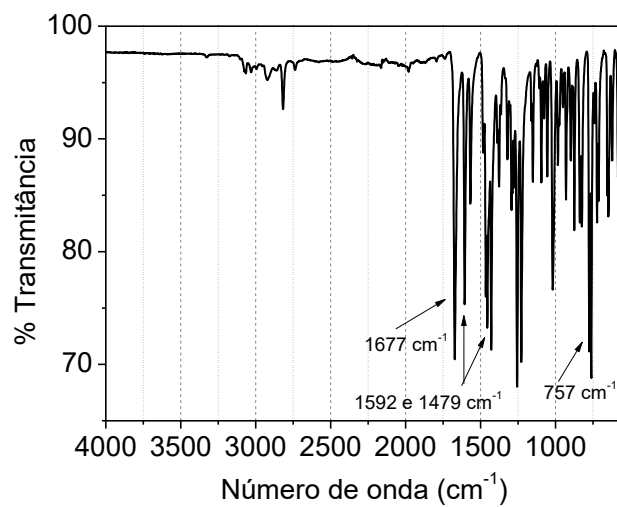


1.4.2.1 Espectroscopia na região Infravermelho

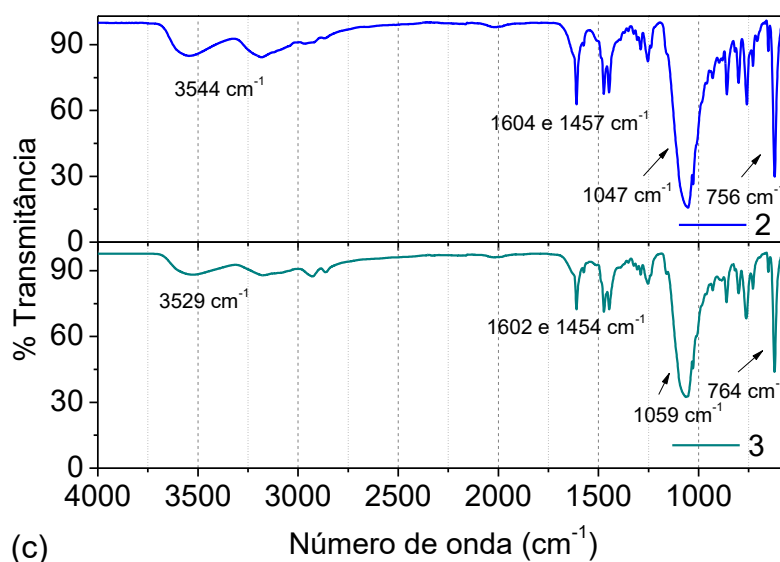
Nos espectros de IR dos complexos (Figura 19) é possível observar sinais referentes aos respectivos ligantes de origem, contudo em menor intensidade e com deslocamentos, sugerindo que houve interação entre metal e ligante. O espectro (a) referente ao complexo **1** é condizente com o observado na literatura.¹⁶⁸

Figura 19 - Espectros de infravermelho (em ATR, resolução de 4 cm^{-1}) dos complexos **1(a)**, **2 e 3(b)**, **4 e 5(c)**

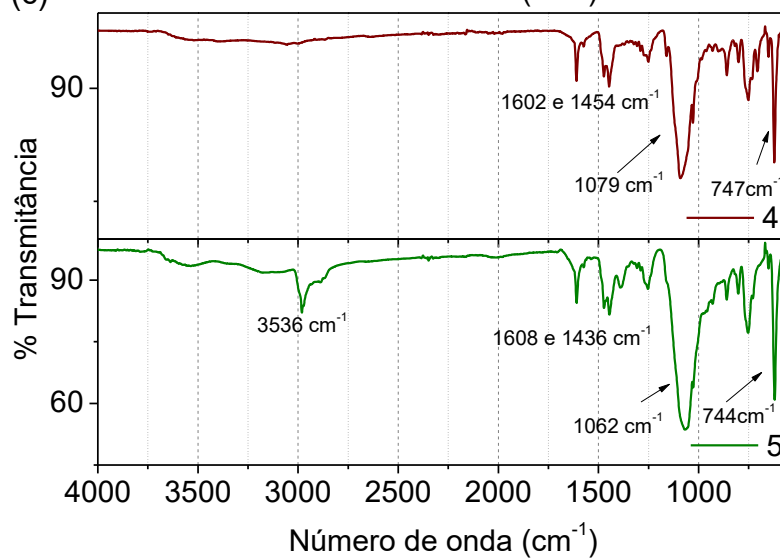
(a)



(b)



(c)



Os sinais observados (em cm^{-1}) e suas respectivas atribuições estão descritos na Tabela 9. Para todos os complexos (**1-5**), as bandas na região de 3070–3000 e 2998–2812 cm^{-1} são atribuídas a estiramentos do tipo C-H aromáticos e alifáticos. Para o complexo **1**, a presença do aldeído pode ser observada na banda de 2728 cm^{-1} . Os estiramentos C=C, C=N continuam na região de ~ 1600 e 1450 cm^{-1} , nos espectros dos complexos **1-5**, assim como em seus respectivos ligantes.

A deformação da ligação O-H fenol, visível em ~ 1300 cm^{-1} nos espectros dos ligantes, está ausente nos espectros dos complexos, o que indica uma coordenação deste grupo na forma de fenolato, ou seja, com oxigênio desprotonado, para todos os casos. Em menor energia, observam-se as bandas de C-O (~ 1250 cm^{-1}) e a deformação dos hidrogênios aromáticos em ~ 750 cm^{-1} .

Tabela 9 - Atribuições das bandas nos espectros na região do infravermelho dos complexos de ferro.

Atribuição	1	2	3	4	5
$\nu(\text{N-H})$	-	3544	3529	-	3536
$\nu(\text{C-H}_{\text{alif/ar}})$	3085- 2812	3028- 2836	2992- 2854	3150- 2948	3008- 2855
$\nu(\text{C-H}_{\text{aldeído}})$	2728	-	-	-	-
$\nu(\text{C=O})$	1677	-	-	-	-
$\nu(\text{C=C; C=N})$	1592 e 1479	1604 e 1457	1602 e 1454	1608 e 1436	1601 e 1457
$\nu(\text{C-O})$	1255	1258	1247	1250	1244
$\nu(\text{Cl-O})$	-	1047	1059	1079	1062
$\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$	757	756	764	747	744

Para os espectros dos complexos **2-5**, as bandas em região de 1050 cm^{-1} aproximadamente, são atribuídas a estiramentos Cl-O presentes nos percloratos, utilizados como contração,¹⁷¹ evidenciando o processo de complexação. Finalmente, as bandas alargadas na região de 3500 cm^{-1} nos complexos **2, 3 e 5** correspondem a estiramentos de aminas protonadas,¹⁷⁰ o que também é sugerido por outras técnicas analíticas discutidas mais adiante.

Esse sinal está em evidência nos complexos contendo aminas primárias - **2** e **3**.

Comparando as intensidades relativas das bandas referentes aos grupos perclorato com as bandas referentes aos estiramentos C=C, em $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$, se observa um aumento da intensidade do estiramento Cl-O, crescendo de **4** < **5** < **3** < **2**. Essa tendência concorda com o aumento do número de íons perclorato na amostra, como sugerido na Figura 18. Uma vez que existem aminas protonadas em **2**, **3** e **5**, o número de contraíons na amostra também deve aumentar, para manter a neutralidade do complexo. No caso do complexo **2** sugere-se que duas aminas estejam protonadas, totalizando um cátion de carga 4+ e, como consequência, maior presença desses contraíons.

1.4.2.2 Dosagens de carbono, hidrogênio, nitrogênio e ferro

Para determinar a fórmula empírica dos complexos foi realizada análise de C, H e N. Nesta análise, uma massa de aproximadamente 2,5 mg de complexo foi queimada em uma atmosfera de excesso de oxigênio, onde é possível detectar a formação de óxidos de carbono, hidrogênio e nitrogênio através da cromatografia gasosa. Esses valores foram convertidos em porcentagem e dispostos na Tabela 10 (referente aos valores experimentais).

A análise elementar se mostrou bastante concordante com as composições químicas de todos os complexos preparados neste capítulo. Os resultados corroboram a hipótese de que **2**, **3** e **5** se encontrem protonados em estado sólido, onde as porcentagens de C, H e N concordam com a presença de uma maior concentração de íons perclorato (ClO_4^-) para balancear as cargas provenientes da porção orgânica. No geral, as atribuições feitas correspondem aos respectivos complexos, e somente no caso do complexo **2** se observa porcentagem solvente residual proveniente da síntese ou do processo de lavagem.

Tabela 10 – Resultados de análise elementar, em porcentagem de C, H e N.

	Formulação proposta	Experimental % (Teórico %)		
		C	H	N
1	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ FeN ₃ O ₂	53,26(53,31)	4,01 (4,26)	8,76(8,88)
2	C ₂₅ H ₃₇ Cl ₄ FeN ₅ O _{19.0,05} CH ₄ O.0,6 C ₄ H ₁₀ O	34,51(34,48)	4,56 (4,66)	7,32(7,32)
3	C ₂₈ H ₄₃ Cl ₃ FeN ₅ O ₁₄	39,85(39,39)	5,07(5,31)	7,96(8,20)
4	C ₃₀ H ₃₅ Cl ₂ FeN ₆ O ₁₀	45,56(45,94)	4,52 (4,75)	10,41(10,71)
5	C ₃₆ H ₅₁ Cl ₃ FeN ₇ O ₁₅	43,14(43,42)	4,82 (4,75)	9,86 (10,13)

Com a técnica de absorção atômica de forno de grafite (GF-AAS) foi possível determinar as porcentagens/teores de ferro presentes nas amostras. Os valores teóricos calculados para as composições químicas propostas para os complexos em questão (Tabela 11), estão de acordo com os valores experimentais observados. Assim como nas análises elementares de C, H e N, os resultados obtidos pela técnica de GF-AAS também concordam com a ideia de que os complexos **2**, **3** e **5**, possuem aminas protonadas na sua estrutura.

Tabela 11 - Valores experimentais e teóricos de porcentagem de ferro nos complexos.

Complexo	Experimental (%)	Teórico (%)
1	10,40 ± 2,10	11,80
2	5,99 ± 1,10	6,14
3	5,82 ± 2,33	6,54
4	7,40 ± 2,48	7,12
5	5,78 ± 1,20	5,68

1.4.2.3 Condutividade molar

Para avaliar a proporção de cátions e ânions gerados em solução pela possível ionização dos complexos, foi empregada a técnica de condutometria molar. As análises foram realizadas em solvente orgânico e os resultados comparados com a base de dados reportados na literatura.^{144,172}

Para o complexo **1**, foi observado uma baixa condutividade, próxima a zero,¹⁶⁸ o que era esperado tendo em vista que o complexo é considerado um

complexo neutro, sem contraíons, e em solvente orgânico os ligantes cloretos devem permanecer coordenados (Tabela 12).

Tabela 12 - Valores de condutividade molar ($\mu\text{S cm}^{-2}$) dos complexos **1-5**. Condições: $[C] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em acetonitrila.

Complexo	Condutividade	Proporção de eletrólitos
1	4,44	neutro
2	197	2:1
3	192	2:1
4	196	2:1
5	250	2:1

Já os complexos **2-5** são estruturas catiônicas, como apresentado na Figura 18. Nas estruturas propostas observa-se com balanço de cargas positivas decorrente do centro metálico e, em alguns casos, das aminas da cadeia lateral na forma protonada. Sendo assim, os contraíons aniônicos estão presentes nas amostras promovendo a eletroneutralidade em estado sólido e solventes próticos. Contudo, a contribuição das aminas quando em solvente orgânico é muito baixa (eletrólitos fracos), não fornecendo uma variação de potencial da mesma forma que os íons inorgânicos (eletrólitos fortes). Além disso, este é um estudo por comparação a dados que foram determinados na literatura, usando somente compostos inorgânicos para atribuição da proporção de eletrólitos descrita acima.^{144,172} Sendo assim, os resultados mostraram proporção compatível com a carga resultante do metal (2+) e seus contraíons (entre 164 e 345).¹⁴⁴ Esse mesmo comportamento também foi descrito por Chaves (2020),¹⁷³ onde os complexos contendo aminas terminais protonadas no estado sólido possuem condutividade comparável somente com a carga do metal. Assim, todos os complexos de ferro contendo aminas na cadeia lateral, ou seja, **2**, **3** e **5** apresentaram uma proporção de eletrólitos do tipo 2:1. A mesma proporção foi observada para **4**, contudo, nesse caso, o valor é concordante com a estrutura proposta, sem grupos amino protonados.

Mesmo que a análise de condutividade molar não tenha sugerido a presença de carga referente as aminas em **2**, **3** e **5** em solução, as análises discutidas até o momento indicam a protonação desses grupos no estado sólido.

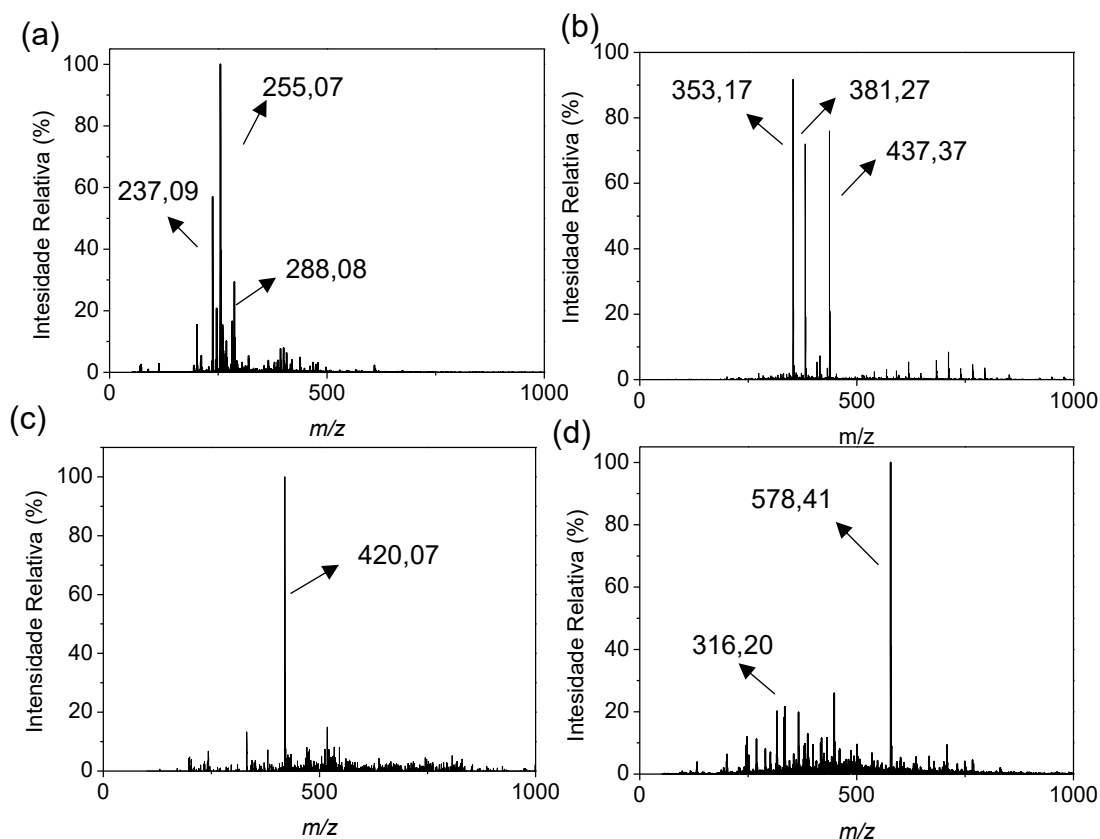
Pelas análises de IR, observam-se as bandas largas em $\sim 3000\text{ cm}^{-1}$, e o aumento entre a proporção de ligantes e contração (sugerido pelo aumento do sinal em $\sim 1060\text{ cm}^{-1}$ em comparação ao estiramento C=C). Já as análises de elementares de C, H, N e Fe concordam com uma massa molar correspondente com três percloratos em **3** e **5**, e quatro contrações para **2**.

1.4.2.4 Espectrometria de Massas

No caso de compostos de coordenação com alta massa molar e não voláteis como os complexos utilizados neste trabalho, a técnica de espectrometria de massas via ionização por *electrospray* (ESI-MS) é a mais indicada.¹⁷⁴ Esta também é uma técnica de determinação em solução, tendo em vista que o composto solubilizado em solvente adequado é dispersado em uma câmara aquecida, de pressão quase atmosférica.

A análise de ESI-MS (Figura 20) foi realizada para os complexos inéditos (**2-5**), tendo em vista que a estrutura de **1** é conhecida na literatura e outras análises concordam com a obtenção do mesmo material já reportado. Para os demais, foram observados sinais relativos ao próprio íon molecular, e/ou produtos de fragmentação derivados dos próprios complexos. Assim como nas análises de condutividade molar, não foi possível detectar o grupo amino protonado, o que já era esperado, tendo em vista as discussões anteriores e a utilização do mesmo o solvente em ambas as análises.

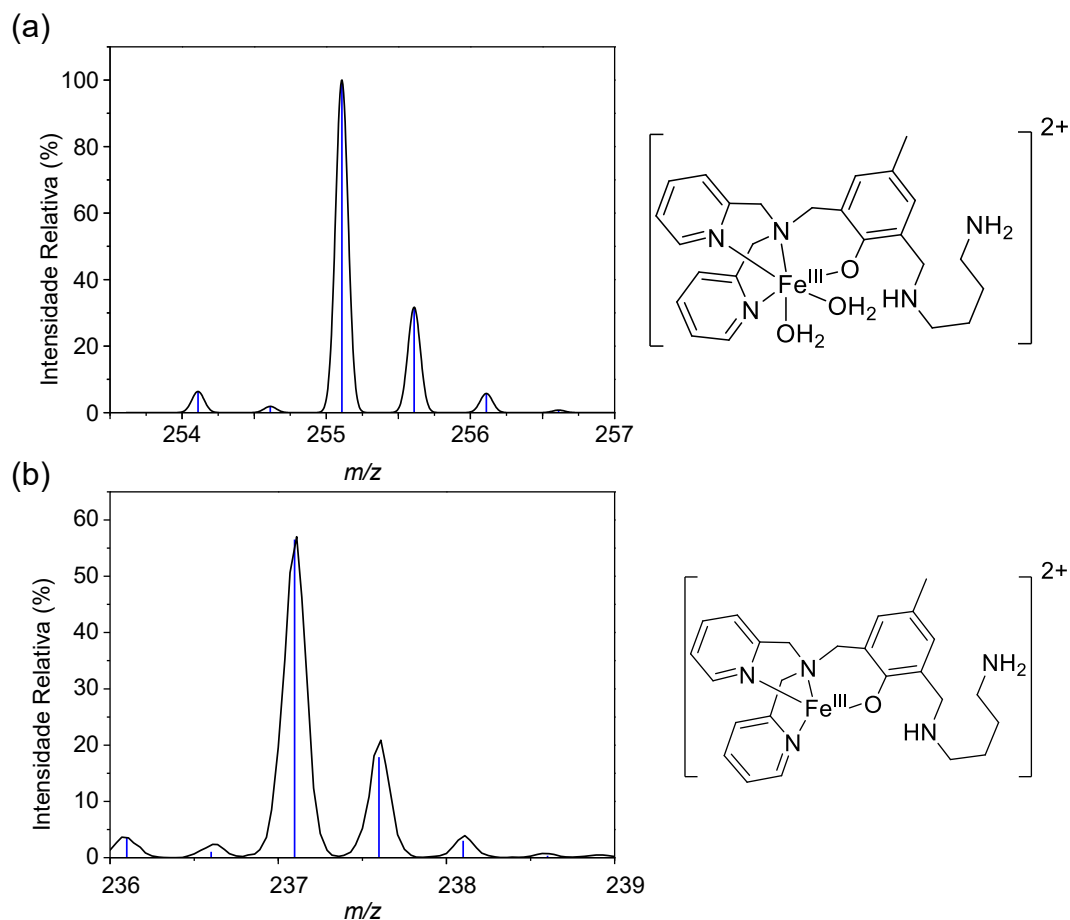
Figura 20 - Espectros de massas ESI-MS(+) em acetonitrila, dos complexos (a) **2**; (b) **3**; (c) **4**; (d) **5**.



Para o composto **2** foi atribuído ao pico base, em m/z 255,07, a estrutura do próprio complexo $[\text{Fe}(\text{L}_1)(\text{OH}_2)_2]^{2+}$, em uma distribuição isotópica correspondente a carga 2+ (Figura 21). O segundo sinal de maior intensidade, em m/z 237,09 corresponde a espécie $[\text{Fe}(\text{L}_1)]^{2+}$. Outros sinais de menor intensidade são encontrados no espectro, como em m/z 288,08 correspondentes a espécie $[\text{Fe}(\text{L}_1)(\text{OH}_2)_2]^{2+} + \text{CH}_3\text{OH}$.

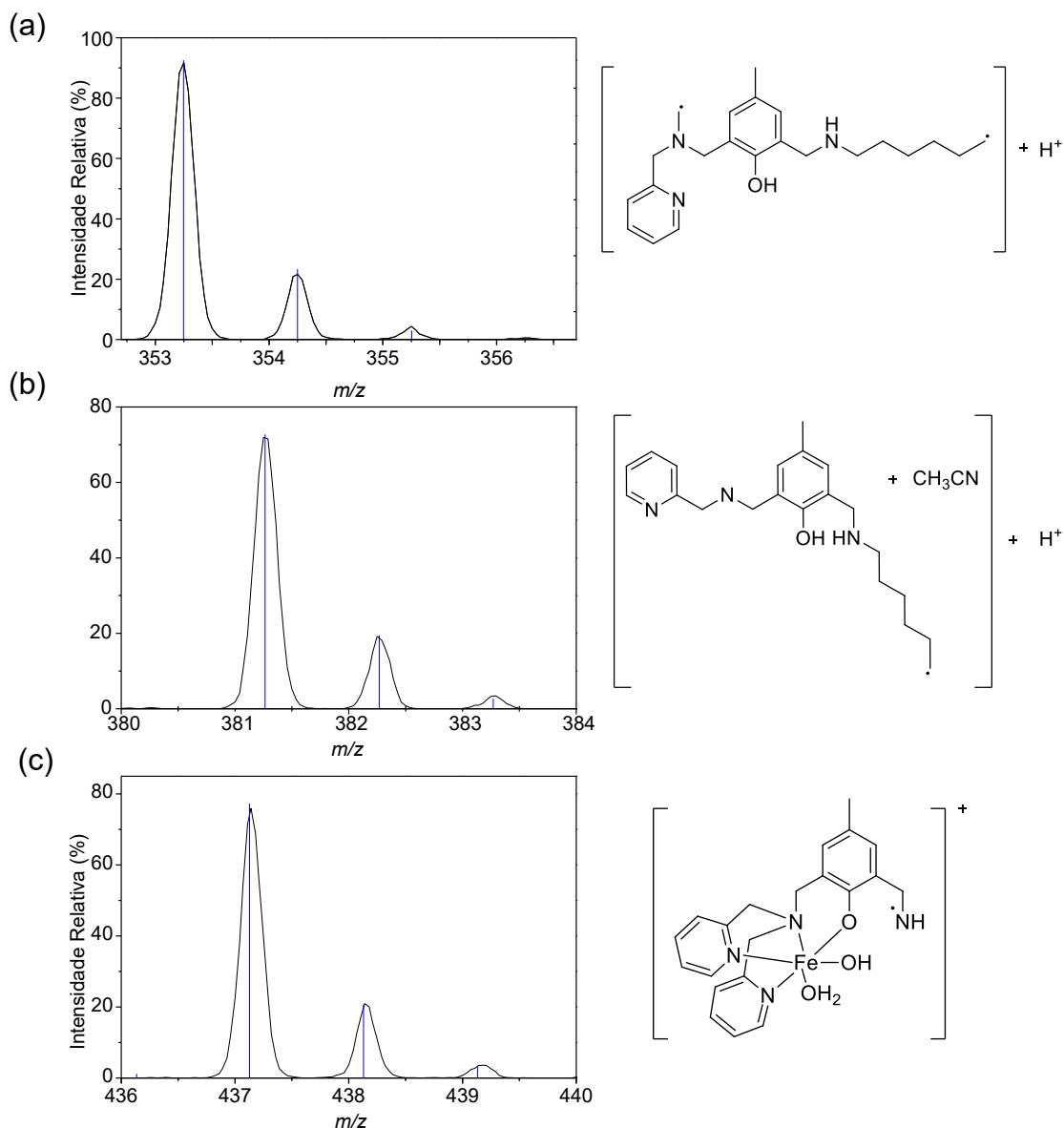
Para os demais complexos, não foram encontrados fragmentos que correspondam ao próprio complexo. Isso é atribuído a uma provável redução dos átomos de ferro durante a análise. Devido a aplicação do potencial para ionização, é possível que o Fe(III) seja reduzido a Fe(II), que é mais lábil em solução e pode resultar em dissociação dos ligantes.¹⁷⁵

Figura 21 - Distribuição isotópica (teórica em azul, experimental em preto) e atribuição da composição química dos sinais de maior intensidade durante a análise de ESI-MS para o complexo **2**. Em m/z (a) 255,07 (b) 237,09.



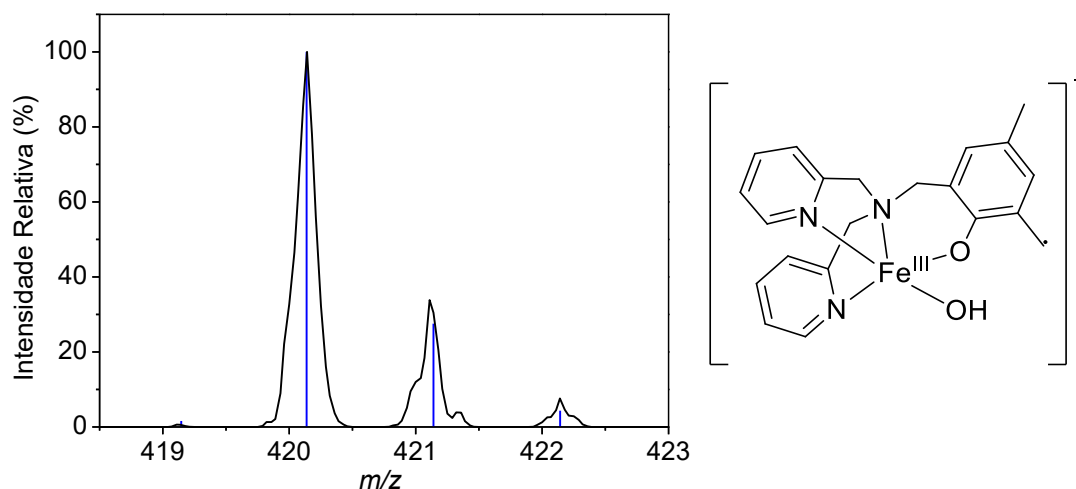
Para complexo **3** é encontrado o sinal de maior intensidade em m/z 353,17, com distância de 1 m/z entre os sinais, indicando um fragmento relativo à carga 1+. Esse sinal foi atribuído a um fragmento do ligante, onde o grupo NH_2 terminal e uma piridina sofreram uma cisão homolítica. Esse tipo de fragmentação é comum em análises de ESI-MS devido a voltagem aplicada para ionização da amostra (Figura 22). Outros sinais de alta intensidade também foram encontrados, como o sinal em m/z 381,27 correspondente a mesma fragmentação do ligante somado a uma molécula de acetonitrila, usada como solvente. Já o sinal em m/z 437,37 é atribuído a parte do complexo, onde a cadeia alquílica lateral sofreu cisão homolítica

Figura 22 - Distribuição isotópica (teórica em azul, experimental em preto) e atribuição da composição química dos sinais de maior intensidade durante a análise de ESI-MS para o complexo **3**. Em m/z (a) 353,17; (b) 381,27; (c) 437,37.



O espectro de massa do complexo **4** apresenta uma única fragmentação de alta intensidade em m/z 420,07 (100%) sendo todas as demais, menores que 10%. Esse fragmento referente ao pico base corresponde a uma fragmentação do ligante, formando $[\text{Fe}(\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{FeN}_3\text{O}_2\cdot)\text{OH}]^+$ (Figura 23). Essa composição química sugere que a parte $-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{BIMZ}$ tenha se fragmentado do restante do complexo durante a análise, assim como um dos ligantes aquo. Isso também corrobora a sugestão que a amina da cadeia lateral não esteja coordenada.

Figura 23- Distribuição isotópica (teórica em azul, experimental em preto) e atribuição da composição química do sinal de maior intensidade durante a análise de ESI-MS para o complexo **4**, em m/z 420,07.



O pico base do espectro de massas do complexo **5** (m/z 578,41), mostrou-se condizente com a composição química do próprio ligante somado a um próton (Figura 24), provavelmente devido a possíveis reduções do centro metálico, como discutido anteriormente. Contudo, em m/z 316,20 e padrão de distribuição referente a carga 2+, foi possível observar uma fórmula química equivalente ao [ligante + Fe], sugerindo um fragmento onde o complexo tenha descoordenado de seus dois ligantes aquo, durante a análise.

De forma geral, as fórmulas químicas determinadas pelo análises de espectrometria de massas, também concordam com as estruturas dos complexos propostos até aqui. A Tabela 13, resume os principais fragmentos encontrados para cada espectro de ESI-MS de cada complexo, com suas respectivas intensidades e valor calculado, comparado com o teórico.

Figura 24 - Distribuição isotópica (teórica em azul, experimental em preto) e atribuição da composição química do sinal de maior intensidade durante a análise de ESI-MS para o complexo **5**. Em m/z (a) 578,41 (b) 316,20.

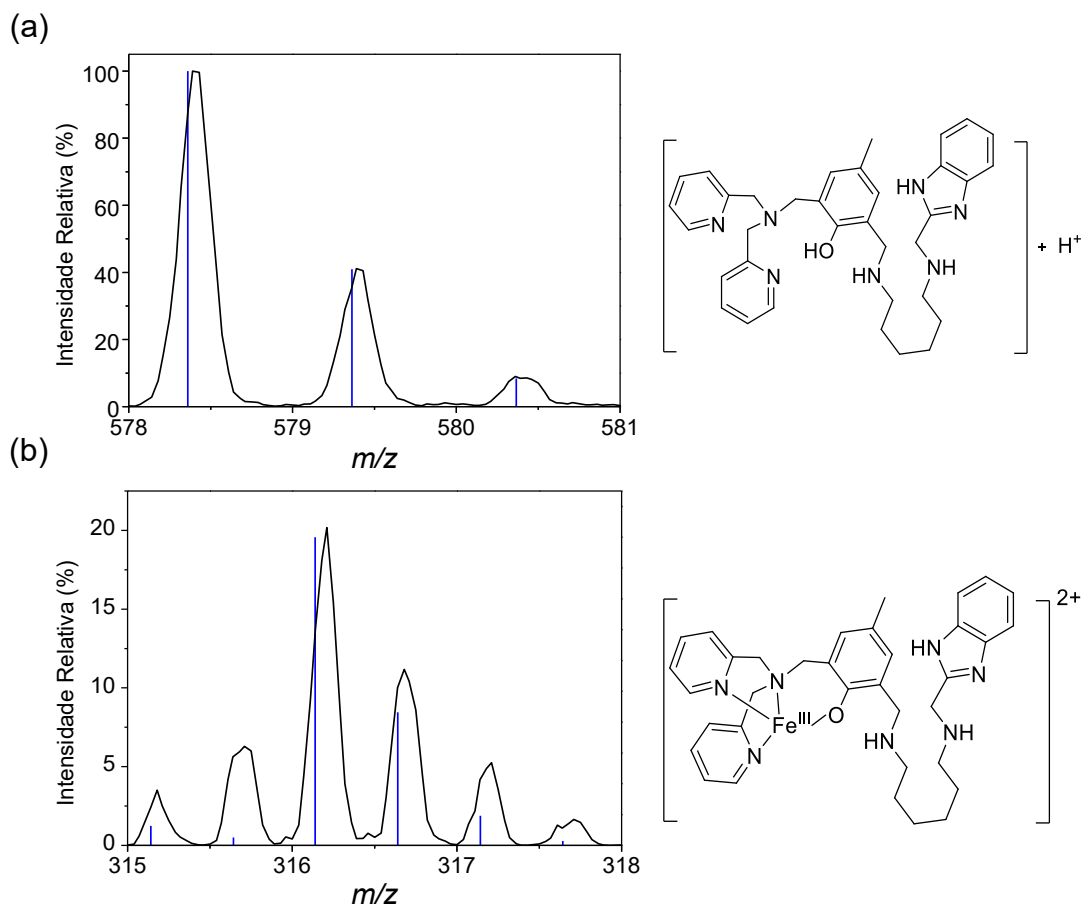


Tabela 13 - Valores de m/z de sinais de maior intensidade nos espectros de ESI-MS(+) para os complexos em acetonitrila, atribuições dos sinais e erro associado a distribuição isotópica experimental e teórica.

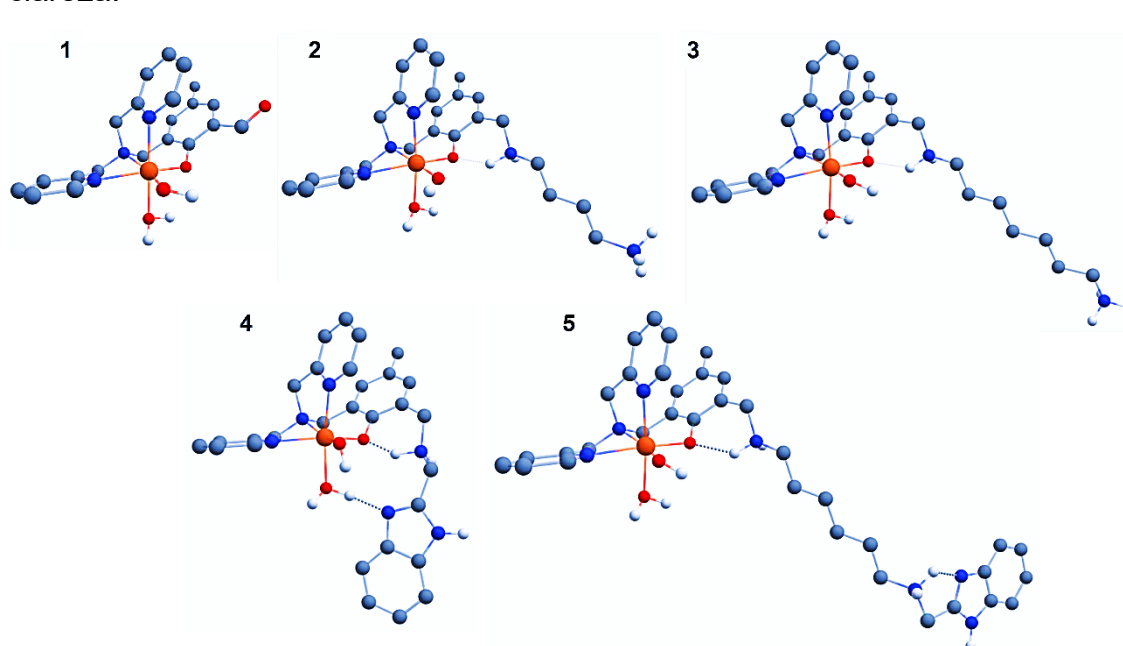
	Atribuição	Intensidade (%)	m/z experimental	m/z calculado
2	$[C_{25}H_{36}FeN_5O_3]^{2+}$	100	255,07	255,07
	$[C_{25}H_{32}FeN_5O]^{2+}$	60	237,10	237,09
3	$C_{22}H_{31}N_3O_2 + H^+$	100	353,17	353,24
	$C_{23}H_{32}N_4O + H^+$	80	381,27	381,26
	$[C_{21}H_{25}FeN_4O_3]^+$	80	437,37	437,12
4	$[C_{22}H_{26}FeN_3O_2]^+$	100	420,07	420,07
5	$C_{36}H_{47}N_7O + H^+$	100	578,41	578,36
	$[C_{36}H_{46}FeN_7O]^{2+}$	20	316,20	316,13

1.4.2.5 Modelagem teórica dos complexos

Como discutido anteriormente, não foi possível determinar as estruturas dos complexos pela técnica de cristalografia, uma vez que não foram obtidos cristais aptos a difração de raios X. Para auxiliar na modelagem das estruturas foi utilizada uma abordagem teórica, através de cálculos computacionais por TD-DFT. As estruturas dos complexos foram calculadas em colaboração com o Dr. Giliandro Farias.

Para os cálculos foram consideradas as estruturas determinadas como mais ativas para os estudos cinéticos. Mais detalhes sobre a determinação destas estruturas será feita nas seções “1.4.2.9 Estudos de equilíbrio de espécies” e “1.4.3 Estudos cinéticos”. As estruturas otimizadas são apresentadas na Figura 25, a seguir, e foram calculadas com base nos complexos considerando a coordenação com os respectivos ligantes, um ligante aquo e um ligante hidróxido, para **1- 5**.

Figura 25 – Estruturas otimizadas para o estado fundamental dos complexos **1- 5**, com PBE0/Def2-TZVP(-f) (átomos de Fe, N e O) ou Def2-SVP (outros átomos). Hidrogênios ligados a carbonos foram omitidos para clareza. Cores: Carbonos (Cinza), Nitrogênios (Azul), Oxigênio (vermelho). Somente hidrogênios (branco) selecionados foram apresentados. Os demais foram omitidos por clareza.



Os complexos **1-5** apresentam uma geometria octaédrica distorcida, com a configuração mais estável sendo com os átomos de nitrogênio e oxigênio em posições faciais. As configurações mais estáveis mostraram valores de comprimento de ligação e ângulos entre as ligações condizentes com a estrutura de raios X reportada previamente para o complexo **1**. Na Tabela 14 são apresentados os principais valores calculados e experimentais (complexo **1**), reportados por Vailati *et al* (2020).¹⁶⁸

Tabela 14 - Comprimento de ligações calculados para os complexos **1-5** por PBE0/Def2-TZVP(-f) (átomos de Fe, N e O) ou Def2-SVP (outros átomos) comparados com valores experimentais.

Teórico	1	Experimental ^a	2	3	4	5
Fe(III)-N _{py-eq}	2,159	2,180	2,161	2,149	2,131	2,150
Fe(III)-N _{alif}	2,297	2,240	2,261	2,274	2,315	2,273
Fe(III)-N _{py-ax}	2,119	2,211	2,105	2,109	2,131	2,107
Fe(III)-O _{fenoxo}	1,904	1,929	1,962	1,968	1,951	1,970
Fe(III)-O _{hidroxo}	1,831	-	1,843	1,823	1,843	1,822
Fe(III)-O _{aquo}	2,218	-	2,222	2,221	2,135	2,221

^aVailati, *et al.* (2020)¹

Notavelmente, a interação do tipo π -stacking presente no complexo **1** (Figura 25), entre um anel piridínico e o anel fenólico, não existe nos complexos inéditos. Essa alteração é atribuída a uma nova interação entre o grupo amino (presente nas cadeias laterais) com o oxigênio do fenolato. Essa interação está presente em todos os complexos, e por isso foram observadas diferenças entre os comprimentos de ligações e para os complexos **2-5**. Quando comparado com o complexo **1**, observa-se que essa interação amina-fenol promoveu um pequeno alongamento da ligação Fe-O_{fenol} nos complexos inéditos, e consequentemente encurtou a ligação N_{py}-Fe em posição *trans* ao fenol. Além disso, o complexo **4**, que apresenta o grupo BIMZ próximo à primeira esfera de coordenação, também apresenta uma ligação de hidrogênio entre o nitrogênio do BIMZ e o ligante aquo. Essa interação acaba alongando levemente as ligações Fe-OH₂ em comparação com os demais complexos. De maneira geral, esses valores concordam com outros complexos de Fe^{III} reportados na literatura

para ligantes N_xO_y coordenantes.^{139,140} A Tabela apresentada nos apêndices (APÊNDICE T) descreve os valores de ângulos calculados para os complexos em comparação com os valores experimentais de **1**.

Como forma de corroborar os resultados experimentais e teóricos, os dados de IR dos compostos foram simulados e comparados com os obtidos experimentalmente, mostrando uma boa correlação. A Tabela 15 mostra os valores de comprimento de onda calculados em comparação com os valores experimentais.

Tabela 15 – Atribuições de bandas do IR para os complexos **1-5** experimental e calculados por PBE0/Def2-TZVP(-f) (Fe, N e O) e Def2-SVP (outros átomos). Valores calculados entre parênteses.

	1	2	3	4	5
ν (NH)	- (-)	3546 (3455-3374)	3525 (3465 - 3382)	- (3475- 3646)	3536 (3439- 3649)
ν (OH)	3135-3655 (-)	3182 (3863-3751)	3173 (3885-3750)	3444-3656 (3808- 3851)	3444-3676 (3750- 3886)
ν (C_{Har}- C_{Halif})	2790-2953 (2980- 3254)	3041 - 2856 (3251-3050)	3079-2860 (3251-3043)	2919-3174 (3052- 3250)	3031-3192 (3044- 3251)
ν (C=O)	1677 (1790)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
ν (C=C,C=N)	1611-1443 (1483- 1693)	1608-1446 (1695-1647)	1609-1445 (1696-1650)	1613-1457 (1482- 1706)	1611-1457 (1487- 1707)
ν (Cl-O)	- (-)	1056 (-)	1060 (-)	1088 (-)	1062 (-)
δ(C-H_{ar})	755 (752-790)	858-759 (947-749)	860-762 (960-749)	748 (747-799)	740 (750-800)

De maneira geral se observam boas correlações entre todos os valores. Pequenas variações são esperadas, uma vez que os valores simulados são

baseados em modelos matemáticos. As interferências entre os movimentos vibracionais das moléculas e interações eletrostáticas entre a parte orgânica dos complexos e os contraíons não são consideradas nas simulações. Além disso, as condições experimentais e/ou pequenos ruídos podem influenciar os valores experimentais observados.

1.4.2.6 Espectrofotometria na região do UV-vis

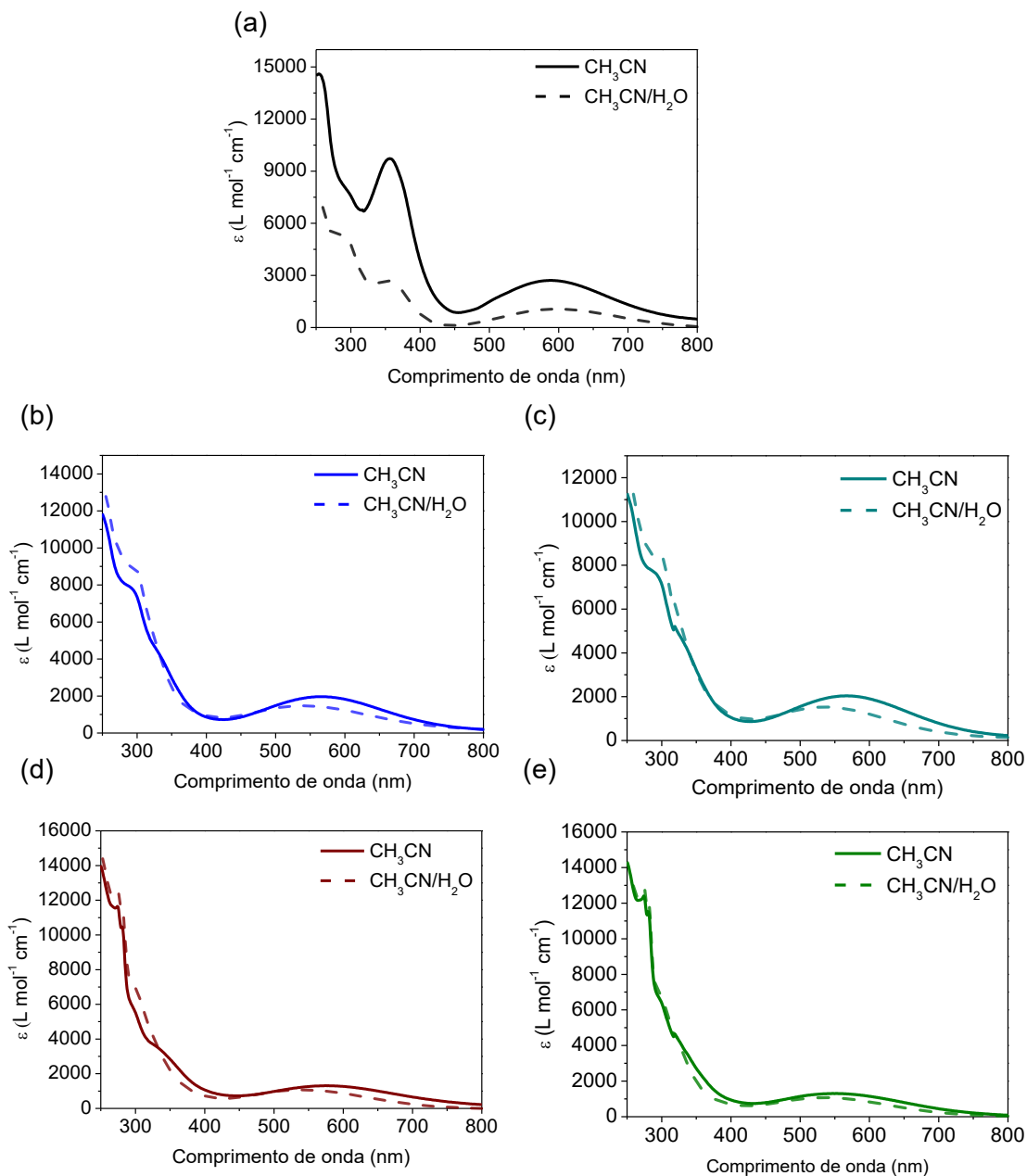
As medidas espectroscópicas de UV-vis foram realizadas em CH₃CN e CH₃CN/H₂O (1:1, v/v) para observar possíveis mudanças nos espectros eletrônicos dos complexos em diferentes condições (Figura 26). Os valores de concentração foram variados para realizar uma curva de calibração onde valores de coeficiente de absorção molar foram calculados através da inclinação da reta obtida.

A banda de menor energia em todos os complexos na região de 500 nm, é atribuída a uma banda de transição do tipo LMCT, normalmente dos orbitais do fenolato para orbitais do centro metálico ($p\pi \rightarrow Fe^{III}d\pi^*$). Um ombro em cerca de 350 nm é atribuído a uma segunda transferência de carga do tipo ligante ao metal (LMCT), também do orbital $p\pi$ do fenolato para o orbital $d\sigma^*$ do centro de Fe^{III}.¹¹³ Já as bandas mais energéticas, em cerca de 250 nm, são referentes a transições internas dos ligantes do tipo $p\pi \rightarrow p\pi^*$, relacionadas aos anéis aromáticos presentes nas estruturas orgânicas. Os espectros de UV-Vis dos ligantes (**bpmamff** e **HL₁-HL₅**) estão presentes no APÊNDICE U e apresentam uma boa concordância com as transições mais energéticas observadas para os complexos nas regiões de maior energia.

Comparando o efeito da segunda esfera de coordenação nas propriedades espectroscópicas, se observa um deslocamento hipsocrômico das bandas de menor energia conforme a cadeia aumenta, deslocando para maior energia na seguinte ordem: **1** < **4** < **2** = **3** < **5**. Esse efeito é causado pela interação dos grupos amino com o anel fenolato, simulando um efeito retirador de elétrons e causando uma distorção geométrica como discutido na seção "1.4.2.5 Modelagem teórica dos complexos", sendo mais evidente no complexo **5**.¹⁷⁶ No caso dos complexos **2** e **3**, não são observadas diferenças entre os espectros, indicando que os dois carbonos a mais na cadeia lateral de **3** não

influenciam as propriedades espectroscópicas quando comparado com **2**. Por sua vez a inserção do BIMZ em **5** causa um acentuado aumento na energia necessária para promoção das transições eletrônicas.

Figura 26 - Espectro de UV-Vis em acetonitrila e acetonitrila água (1:1, v/v) dos complexos.



O efeito do solvente foi avaliado pela mudança de polaridade do solvente, de CH_3CN para $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v). Para o complexo **1**, os ligantes cloretos são substituídos por ligantes aquo, quando em meio aquoso, devido a

labilidade dos cloretos. A mudança espectral observada nesse caso é principalmente relacionada a estas mudanças na esfera da coordenação do metal, influenciando nas contribuições das bandas de transferência de carga. Para os demais complexos, o efeito hipsocrômico observado pode ser atribuído a interações da cadeia lateral com o solvente (interações de hidrogênio) que estabiliza o complexo no seu estado excitado.¹³⁶ Esse tipo de interação e deslocamento, é comum em complexos contendo heteroátomos na segunda esfera de coordenação, como apresentado na Tabela 16.

Tabela 16 - Comprimento de onda máximo λ (nm) e coeficiente de absorção molar ϵ ($L mol^{-1} cm^{-1}$) para os complexos de ferro.

Complexo	CH ₃ CN	CH ₃ CN/H ₂ O
	λ/nm ($\epsilon/ L mol^{-1} cm^{-1}$)	λ/nm ($\epsilon/ L mol^{-1} cm^{-1}$)
1	587(2491)	539(1194)
	355(10208)	349(6080)
2	566 (1850)	534 (1304)
3	566 (1847)	534 (1509)
4	576 (1071)	537 (978)
	338 (ombro)	
5	552(1496)	533 (944)
	329 (ombro)	
P^b	562 (2080)	-
Q^c	512 (2100)	-
W^a	512 (2215)	512 (2326)

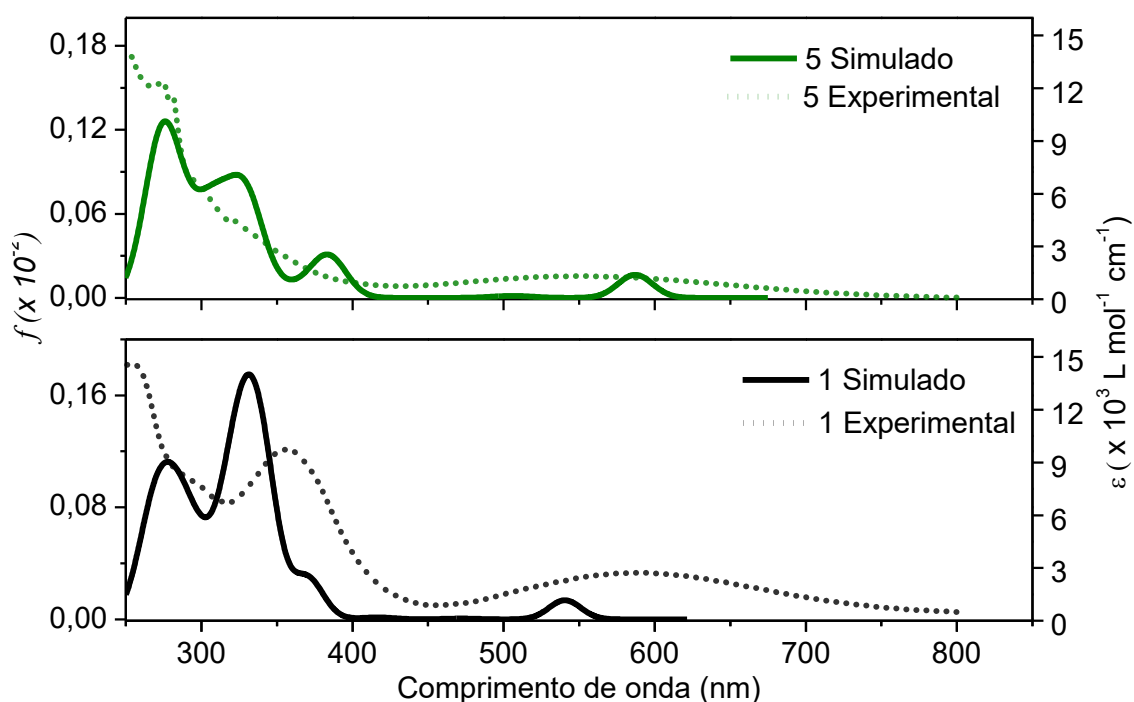
^aHeying, *et al.* (2019)¹³⁹; ^bCamargo, *et al.* (2018)¹⁷⁶

Assim como em solvente orgânico, quando em mistura de solventes (CH₃CN/H₂O), as bandas se deslocam para maior energia conforme a cadeia lateral aumenta, mantendo a sequência descrita acima: **1** < **4** < **2** = **3** < **5**. Os comprimentos de onda máximo observados apresentam uma boa correlação com valores reportados para complexos similares na literatura, e para o complexo **1**, são similares ao reportado previamente.^{135,139,140,168}

Os espectros eletrônicos também foram simulados por DFT, mostrando uma boa correlação entre o experimental e teórico. Como exemplo, a Figura 27 mostra o espectro simulado de **1** e **5**, os demais são apresentados no APÊNDICE

V. A principal diferença entre os espectros simulados e experimentais se deve ao alargamento das bandas nos espectros experimentais, causado pelas interferências vibracionais da molécula, que aumentam as possibilidades de estados excitados. Isso também gera pequenos deslocamentos nos valores de λ_{\max} e na definição das bandas (que aparecem sobrepostas em alguns casos).

Figura 27 - Espectro de absorção simulado para os complexos **1** e **5** (eixo y à esquerda – linhas contínuas), com PBE0/Def2-TZVP(-f) (Fe, N e O) ou Def2-SVP (outros átomos) e curvas experimentais em CH₃CN (eixo y à direita – linhas tracejadas).



Os cálculos mostraram que para todos os complexos, a banda LMCT em menor energia é uma transição do fenolato para o orbital dx^2-y^2 do átomo de ferro, concordando com os resultados experimentais. Já a banda em aproximadamente 350 nm é uma combinação de várias transições, como as bandas de TC dos orbitais $p\pi$ do fenolato para orbitais dxy ou dz^2 do ferro(III), no caso de **1**. Para **5**, por exemplo, além dessas bandas de TC, ainda há contribuições de transições provenientes dos ligantes piridinas aos orbitais dx^2-y^2 e d_{yz} . Ainda em mistura de solventes, observa-se um aumento da intensidade da banda em 350 nm para o complexo **1** em comparação com solvente orgânico. Esse efeito é relacionado a uma transição do tipo LMCT dos ligantes aquo para

o orbital dyz do Fe^{III} que ocorre com uma maior força do oscilador. Já as mudanças de geometrias causadas pela segunda esfera de coordenação geraram uma significativa diminuição da intensidade da banda para os demais complexos, suficiente para que a banda próxima (de alta intensidade) cubra parte desta. Além disso, no caso dos complexos **4** e **5**, o grupo BIMZ também causa um alargamento das bandas, contribuindo para esta sobreposição. O APÊNDICE W mostra uma descrição das atribuições destas bandas com suas respectivas transições associadas.

1.4.2.7 Medidas Eletroquímicas

A voltametria é uma técnica largamente utilizada no ramo da química para determinação de processos redox de compostos químicos em diferentes meios. Os complexos foram analisados por Voltametria Cíclica (CV) em CH_3OH espectroscópico e tetrafluorborato de tetrabutilamônio ($TBAPF_6$) como eletrólito de suporte. Os potenciais redox foram corrigidos em função do eletrodo normal de hidrogênio (NHE) pelo uso de padrão de ferroceno ($E^{1/2} = 0,400\text{ V vs NHE}$).¹⁴⁵ Os voltamogramas dos complexos **2-5** foram medidos de $-0,6$ até $1,30\text{ V vs NHE}$ em 100 mV s^{-1} (Figura 28).

Comparando os valores de potenciais anódicos, é observado um deslocamento à potenciais mais baixos indo do complexo **3** > **2** = **4** > **5** > **1**. Essa variação é atribuída as ligações de hidrogênio observadas nas cadeias laterais. Os potenciais são reportados na Tabela 17, e concordam com o previamente reportado para o complexo **1** e outros na literatura para processos de redução e oxidação de Fe^{II}/Fe^{III} .^{139,168,176} Pelos valores calculados de diferença entre E_{pa} e E_{pc} , bem como os valores de i_{pa}/i_{pc} , pode-se inferir que os potenciais descrevem processos *quasi*-reversíveis. Isso significa que os processos apresentam características de reversibilidade (processos de redução e oxidação) mas com contribuições diferentes, onde um processo é mais evidente que o complementar. Esse efeito deve ocorrer pelas distorções na geometria dos complexos causadas pelos processos de redução e oxidação do centro de ferro. Além disso, processos de redução do ferro(III) a ferro(II) podem causar dissociação do ligante, uma vez que esse íon apresenta uma maior labilidade em solução, justificando a *quasi*-reversibilidade dos processos.

Figura 28 – Voltamograma cíclico dos complexos **2** (a); **3** (b); **4** (c); **5** (d). Condições: CH₃OH, Eletrodo de trabalho (Carbono vítreo), eletrodo de referência (Ag/Ag⁺), Auxiliar (Pt), TBAPF₆ 0,1 mol L⁻¹, Velocidade: 100 mV s⁻¹.

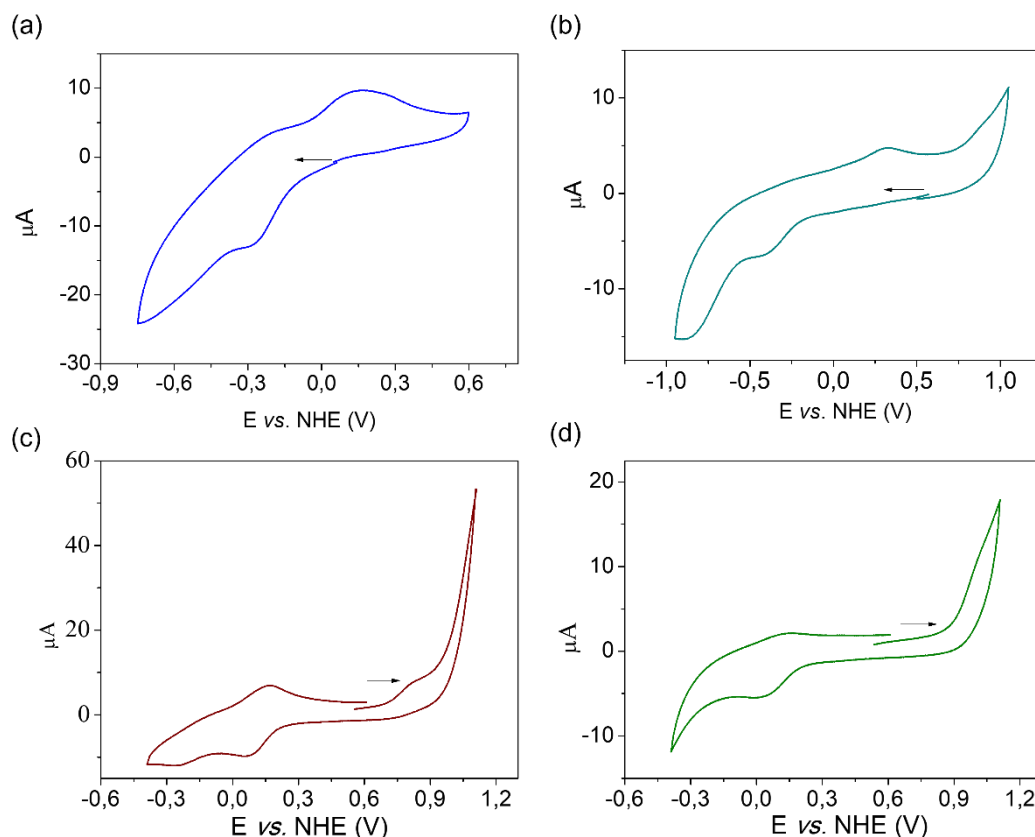


Tabela 17 - Potenciais redox (E_{pa} e E_{pc} em V vs NHE) determinados através de voltametria cíclica a 100 mV s⁻¹ e parâmetros de reversibilidade.

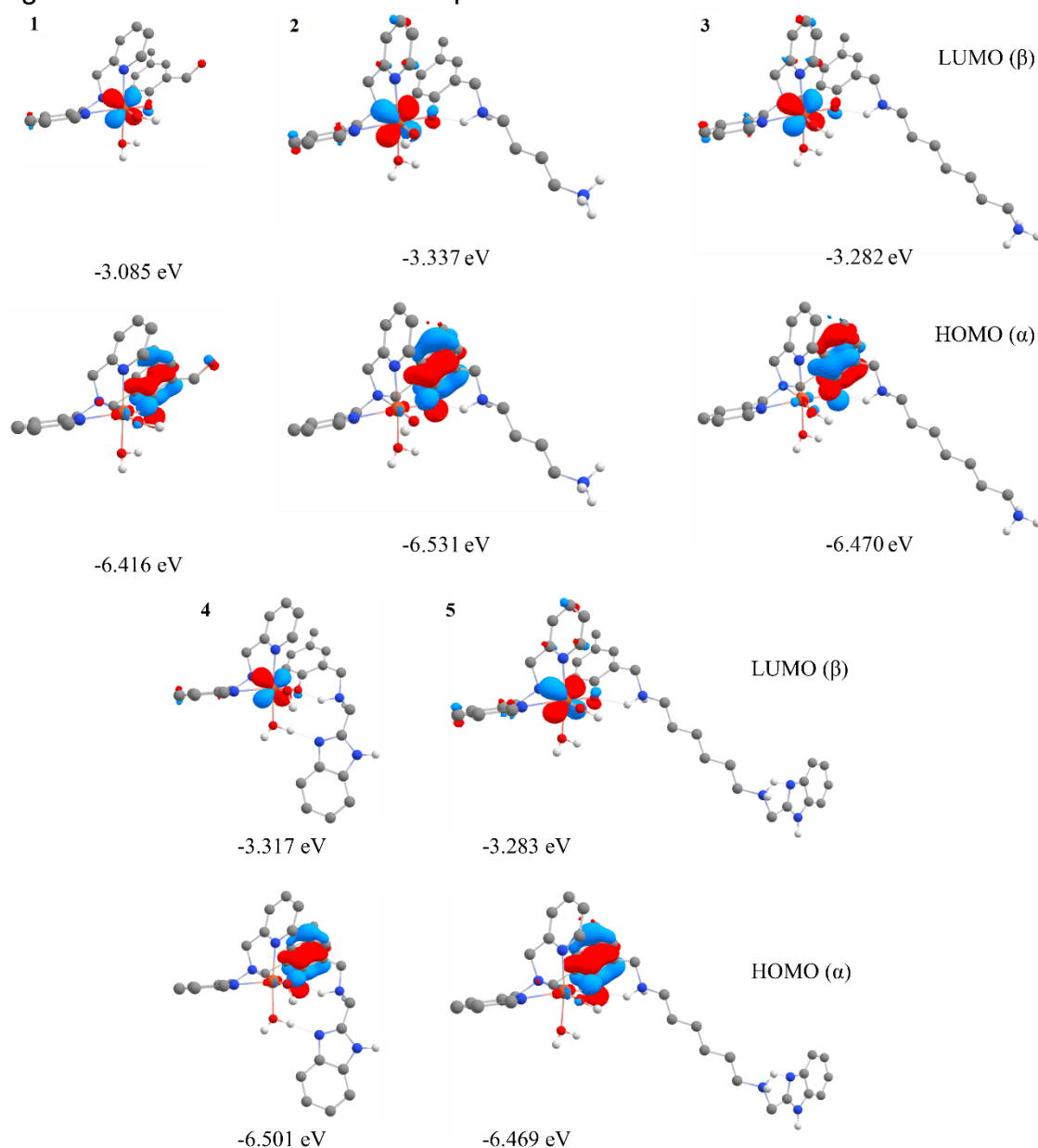
Complexo	E_{pa} Fe ^{II} /Fe ^{III}	E_{pc} Fe ^{III} /Fe ^{II}	$E_{1/2}$	ΔE_p	i_{pa}/i_{pc}
1^a	0,10	-0,08	0,09	0,18	0,90
2	0,17	-0,28	0,22	0,45	1,19
3	0,32	-0,40	0,30	0,72	1,10
4	0,17	0,06	0,05	0,11	1,28
5	0,14	0,00	0,07	0,14	1,08

^a Em CH₃CN, reportado por Vailati e colaboradores¹⁶⁸.

Para auxiliar nesta discussão, foram calculadas as energias e contribuições dos orbitais de fronteira. Nos complexos, o orbital ocupado de maior energia (HOMO, do inglês *highest occupied molecular orbital*) tem uma maior contribuição do anel fenólico coordenado ao metal, como mostrado na

Figura 29. Já o orbital desocupado de menor energia (LUMO, do inglês *lowest unoccupied molecular orbital*) é descrito pelo orbital *d* do próprio metal.

Figura 29 - Orbitais de Fronteira para os complexos **1**, **2**, **3**, **4** e **5**, calculados por PBE0/Def2-TZVP(-f) (Fe N, e O) ou Def2-SVP (outros átomos). Os hidrogênios ligados a carbono foram omitidos para aumentar clareza.



Como discutido anteriormente, o cálculo mostrou que existem interações de hidrogênio entre as aminas na cadeia lateral com o fenolato da primeira esfera de coordenação. Além disso, o complexo **4** também apresenta uma interação do grupo BIMZ com um ligante aquo. Essas interações extras (quando comparado com **1**) promovem uma estabilidade extra aos orbitais π do fenolato (HOMO

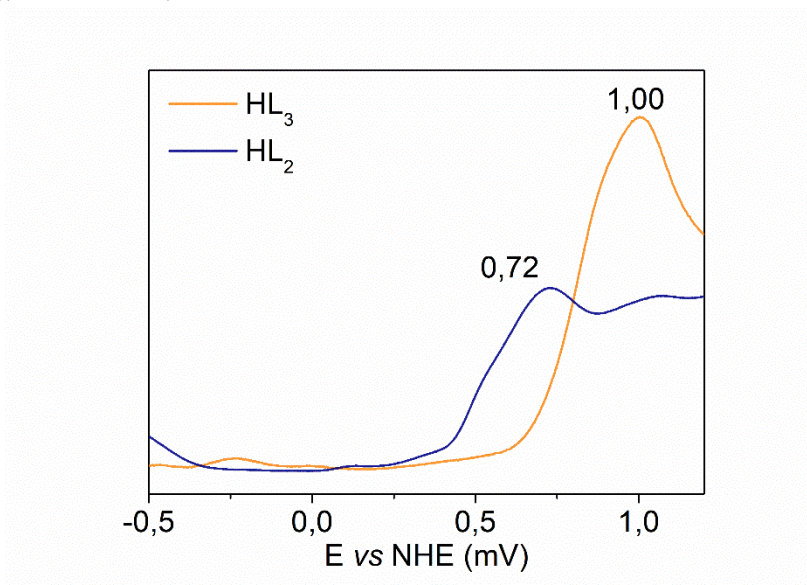
destes complexos). Comparando os complexos **1**, **4** e **5**, observa-se que a ordem de energia dos orbitais HOMO seguem a mesma tendência do potencial anódico, sendo maior para o complexo **4**. Já o complexo **5**, por apresentar uma interação de hidrogênio entre estes grupos possui uma energia do HOMO intermediária entre **1** e **4**, sendo que **1** apresenta o HOMO mais desestabilizado. Da mesma maneira, a energia dos orbitais LUMO seguem a mesma ordem do E_{pc} para **1**, **4** e **5**. Apesar da estabilidade do HOMO gerada pelas interações de hidrogênios, elas também atuam em um efeito retirador de elétrons nos orbitais dx^2-y^2 do metal (o LUMO destes complexos) fazendo com que a energia destes orbitais diminua e deslocando o potencial ao sentido positivo. Estes resultados também concordam com o observado em estudos espectrofotométricos, com compostos contendo segunda esfera de coordenação e com os próprios resultados da seção “1.4.2.6 Espectrofotometria na região do UV-vis”.^{138,176}

Para os complexos **2** e **3**, também é observada uma interação do grupo amina com o fenolato, diminuindo a energia dos orbitais HOMO e consequentemente um valor de E_{pa} mais alto. Esse seria um indicativo que o efeito retirador nos orbitais HOMO é maior que o calculado. É possível que existam interações extras das aminas terminais destes complexos quando em solução além nas observadas por DFT (energia dos orbitais de fronteira foram calculado sem considerar o solvente - metanol). Já para o potencial catódico, um efeito contrário é observado, onde o valor de E_{pc} de **2** e **3** é mais negativo que o os demais complexos. Esse feito também pode ser relacionado a estas interações de hidrogênio entre os ligantes aquo/hidroxo, e as aminas terminais. Enquanto com o BIMZ, em **4**, o nitrogênio do anel atua interagindo com o hidrogênio do ligante aquo, fazendo um efeito retirador no átomo de ferro e deslocando o potencial para valores positivos, para **2** e **3**, é possível que o oxigênio do hidroxo atue na abstração de um próton do nitrogênio, diminuindo a energia dos orbitais LUMO, e gerando valores de E_{pc} negativos.

Para o complexo **4**, também é possível observar um processo de oxidação em aproximadamente 0,85 V vs NHE. Esse processo é atribuído ao grupo BIMZ, que pode sofrer oxidação a N-óxido de benzimidazol, ou sofre abertura do anel pela aplicação do potencial. Sendo assim, também foi realizada a análise eletroquímica dos ligantes contendo BIMZ (**HL₃** e **HL₄**). Os melhores resultados foram obtidos em metanol usando a técnica de onda quadrada e os

voltamogramas são apresentados na Figura 30. Além disso, é possível observar que houve um deslocamento catódico do potencial de oxidação do BIMZ do ligante **HL₃** para o complexo **4**. Isso pode sugerir que este processo tenha ocorrido acima do potencial 1,3 V aplicado para o complexo **5**. Para os demais ligantes não foi observado nenhum processo redox.

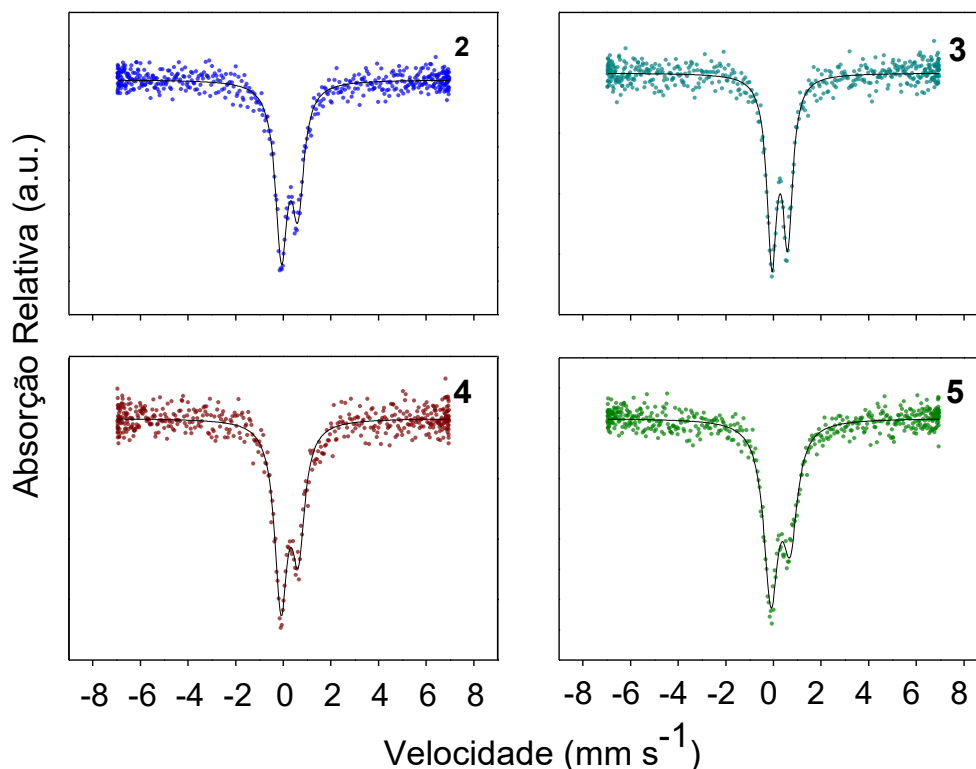
Figura 30 – Voltamograma de onda quadrada dos ligantes **HL₂** e **HL₃**, em metanol. Eletrodo de trabalho (carbono vítreo), eletrodo de referência (Ag/Ag⁺), auxiliar (Pt), TBAPF₆ 0,1 mol L⁻¹.



1.4.2.8 Espectroscopia Mössbauer de ⁵⁷Fe

A espectroscopia Mössbauer de ⁵⁷Fe tem a capacidade de medir pequenos deslocamentos na energia nuclear, proporcionando informações detalhadas sobre o ambiente local do núcleo atômico.¹⁷⁷ Além disso, a técnica também pode detectar pequenas impurezas (contendo Fe) provendo informações sobre a pureza da amostra. Assim, a técnica foi utilizada para determinar o estado de oxidação e o estado de spin do ferro nos complexos inéditos. Os espectros foram medidos no estado sólido a 298 K para todos os quatro compostos (Figura 31), e a 4 K para os complexos contendo BIMZ (Figura 32). Para todos é possível observar um único duplete paramagnético experimental (círculos) e sua devida simulação (linha preta), indicando um único sítio de Fe em cada complexo.

Figura 31 -Espectros Mössbauer para os complexos **2-5**, a 298 K.

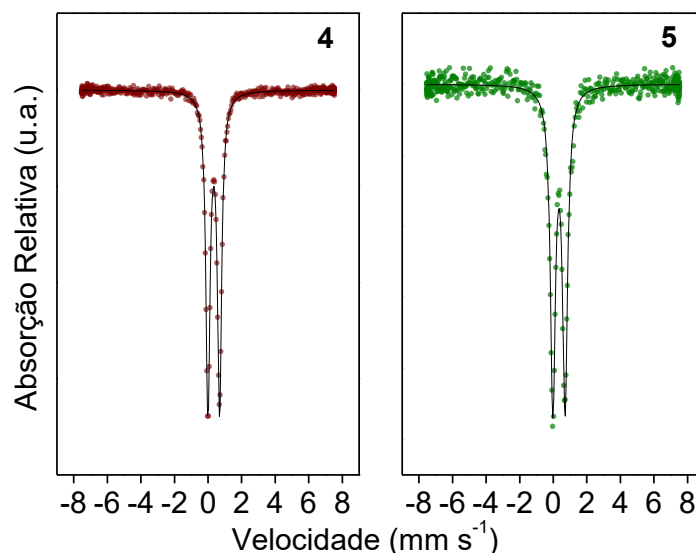


Entre os complexos não são observadas grandes variações espectrais e dos valores dos parâmetros de ajuste livre, o que já era esperado devido ao ambiente de coordenação dos complexos ser similar. As pequenas diferenças encontradas podem ser relacionadas a distorções da molécula (como discutido durante a seção de “1.4.2.5 Modelagem teórica dos complexos”) causados por interações entre a primeira e segunda esfera de coordenação.

Quando a 298 K, observa-se que o comportamento do duplete é assimétrico, indicando a presença de um campo elétrico não uniforme no ambiente ao redor do núcleo. Usualmente isso indica que pelo menos uma das ligações ao redor do átomo de ferro deve ser alongada quando comparada as demais. Isso também é observado pelo valor de desdobramento quadrupolar (ΔE_Q) que indica o grau de distorção em relação à microssimetria cúbica do sítio de ferro. Pelo deslocamento isomérico (δ), que fornece informações sobre o ambiente químico ao redor do núcleo, pode-se determinar o estado de oxidação e spin do núcleo de ferro. Os valores em torno de $\sim 0,3-0,4$ são típicos de complexos de ferro(III) de alto spin, e concordam com o observado para o ΔE_Q .

Além disto, estes valores se mostram em boa concordância com o observado em complexos com ambiente de coordenação ricos em nitrogênio e oxigênio.

Figura 32 -Espectros Mössbauer para os complexos **4** e **5**, a 4 K.



Os valores obtidos (Tabela 18) sugerem um átomo de ferro(III) em campo ligante fraco, onde um ligante apresenta um alongamento distinto em sua distância de ligação.⁹⁴ As distâncias de ligação previstas pelo cálculo DFT (Tabela 14, pág. 98) mostraram que a ligação $O_{\text{fenol}}\text{-Fe}$ ($\sim 1,90 \text{ \AA}$) é mais curta do que as outras ($\sim 2,1$ e $2,3 \text{ \AA}$) em **4** e **5**, concordando com o valor de ΔE_Q .

Tabela 18 - Parâmetros obtidos via espectroscopia Mössbauer de ^{57}Fe para os núcleos de ferro a 298 K e 4K.

Complexo	δ (mm/s)	ΔE_Q (mm/s)	Γ (mm/s)
298 K			
2	0,373	0,693	0,607
3	0,374	0,665	0,499
4	0,374	0,727	0,643
5	0,406	0,809	0,729
4 K			
4	0,455	0,695	0,294
5	0,454	0,733	0,363

Nos espectros de **4** e **5** a 4 K, observa-se uma intensa diminuição da largura das linhas quando comparado a 298 K (veja largura de linha Γ – Tabela 18). Em temperatura ambiente, os sinais podem aparecer alargados devido a um desdobramento adicional das linhas causado pelo efeito Goldanskii-Karyagin. Esse efeito está relacionado à orientação dos momentos magnéticos nucleares e eletrônicos em relação ao campo magnético externo. A figura acima mostra que os dupletos passam a ser mais simétricos em menor temperatura, concordando com a observação deste efeito. Uma vez que a temperatura diminui, a orientação magnética torna-se mais ordenada, e como consequência o efeito Goldanskii-Karyagin diminui.

1.4.2.9 Estudos de equilíbrio de espécies

Uma vez que os estudos cinéticos, foco deste trabalho, são realizados em condições de misturas de solvente ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 1:1, v/v), é imprescindível entender o comportamento dos complexos quando o pH é alterado. Estes são susceptíveis a mudanças em solução aquosa devido aos grupos protonáveis presentes tanto nas porções orgânicas quanto os próprios ligantes aquo. Essas mudanças estruturais afetam diretamente as propriedades físico-químicas dos complexos e, conseqüentemente, sua atividade hidrolítica.

As titulações potenciométricas e espectrofotométricas foram realizadas em condições semelhantes, em meio de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, v/v), usando KCl 0,1 mol L^{-1} para manter a força iônica constante, e variando o pH da solução de ~2,6 até 12,0. A Tabela 19 resume os valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ s encontrados para cada complexo, bem como a comparação com alguns já reportados para complexos similares.

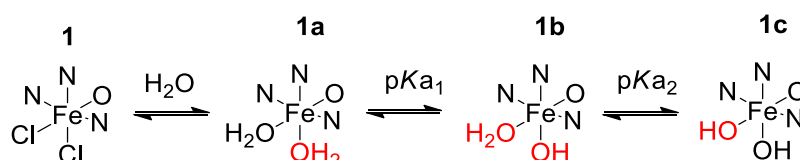
Como discutido na seção “1.4.2.6 Espectrofotometria na região do UV-vis”, quando em solução aquosa, os ligantes cloretos do complexo **1**, são trocados por ligantes do tipo aquo, resultando na espécie $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_1(\text{OH}_2)_2]^{2+}$, (**1a** - Esquema 5). Para esse complexo, o primeiro $\text{p}K_{\text{a}}$ observado, por titulação potenciométrica, é relacionado a desprotonação de um destes ligantes aquo, ($\text{p}K_{\text{a}} = 3,36$) gerando a espécie $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_1(\text{OH}_2)\text{OH}]^+$ (**1b**). A espécie $[\text{FeL}_1(\text{OH})_2]$ (**1c**) é formada após a desprotonação da segunda água em $\text{p}K_{\text{a}} = 8,18$ e é a última espécie do equilíbrio para este complexo.

Tabela 19 - Valores de pKa para os complexos via titulação potenciométrica e espectrofotométrica.

	pKa₁ (OH₂)	pKa₂ (BIMZ)	pKa₃ (OH₂)	pKa₄ (NH₂)	pKa₅ (NH₂)
Titulação potenciométrica					
1	3,36±0,02	-	8,18±0,01	-	-
2	4,14±0,02	-	7,33±0,04	10,40±0,24	11,66±0,24
3	3,71±0,04	-	7,61±0,10	9,91±0,13	10,70±0,26
4	3,86±0,03	-	7,23±0,02	9,11±0,03	
5	3,75±0,01	5,38±0,02	7,68±0,02	10,83±0,33	11,81±0,14
P^a	-	-	-	10,24±0,15	11,01±0,17
V^b	4,21±0,03	-	6,85 ±0,02	9,09±0,02	11,39±0,04
Titulação espectrofotométrica					
1	4,95±0,08	-	8,12±0,03	-	-
2	3,67±0,11	-	7,39±0,03	-	-
3	5,20± 0,10	-	7,22± 0,05	-	-
4	4,60± 0,06	-	7,62±0,04	-	-
5	4,81± 0,06	-	7,84±0,06	-	-
W^c	6,77	-	8,64	-	-

^bChaves, *et al.* (2020)¹³⁸; ^bCamargo, *et al.* (2018)¹⁷⁶; ^cHeying, *et al.* (2019)¹³⁹

Esquema 5 – Proposta de equilíbrios de desprotonação do complexo **1**.

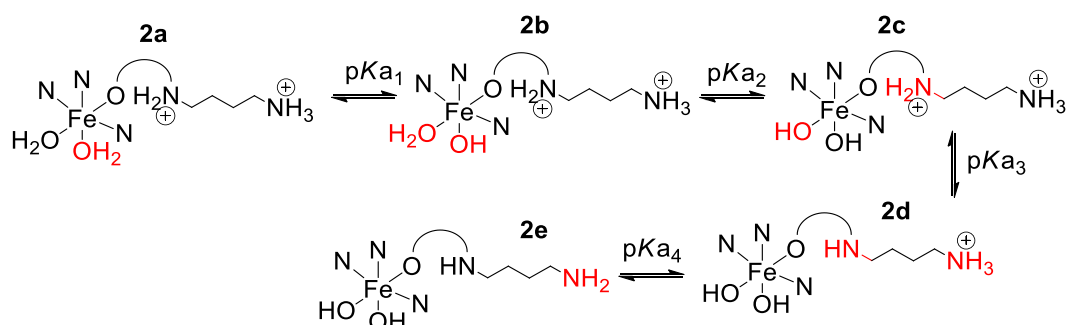


Para os complexos **2** e **3**, foram observados valores de pKa semelhantes. Estes complexos, no início da titulação encontram-se completamente

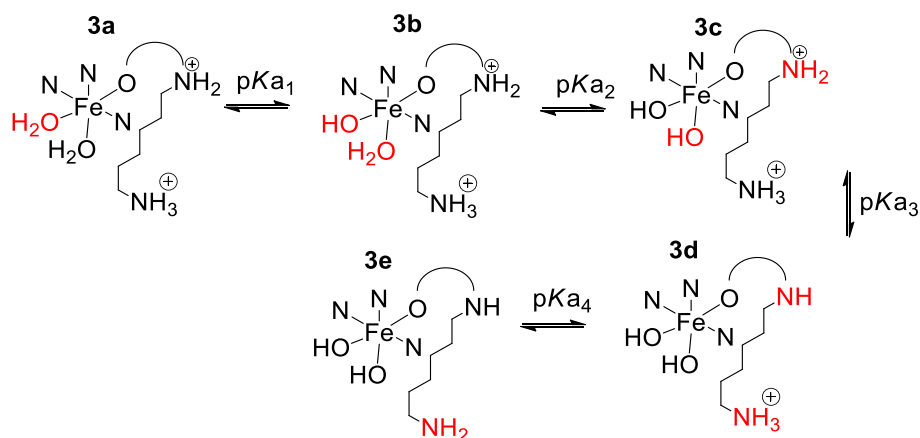
protonados (Espécies **2a** e **3a** - Esquema 6). Assim como o complexo **1**, o primeiro pK_a é relacionado a desprotonação de um ligante aquo, em aproximadamente $pK_a \sim 4,0$, formando a espécie **2b** e **3b**. O segundo pK_a , em aproximadamente 7,3 é atribuído a desprotonação da segunda água formando as espécies $[FeL_n(OH)_2]$. Finalmente, os dois últimos equilíbrios se referem a desprotonação das aminas da cadeia lateral.

Esquema 6 – Proposta de equilíbrios de desprotonação dos complexos **2** e **3**.

Complexo 2:



Complexo 3:



Para avaliar a existência de interações entre as aminas terminais dos complexos **2** e **3** e o ligante hidróxido, os ligantes **HL₁** e **HL₂** também foram titulados. O efeito gerado pela coordenação do ligante com o complexo não deve alterar os valores de desprotonação destas aminas uma vez que elas se encontram distantes da primeira esfera. Assim, alterações de valores de pK_a das aminas coordenadas quando comparados com o ligante isolado podem significar uma interação entre a primeira e segunda esfera. Os ligantes foram titulados nas mesmas condições que os complexos, via titulação potenciométrica e foram obtidos os valores de 9,40 e 10,70 para **HL₁** e 9,01 e 9,64 para **HL₂**. Em ambos

os casos, os valores de pK_a das aminas dos ligantes livres são cerca de uma unidade de pH menores que o obtido para os complexos. Esse efeito ajuda a corroborar que exista uma interação entre as aminas terminais e o ligante hidróxido (formado após pK_{a1}). Caso uma interação entre o oxigênio (OH^-) e o hidrogênio da amina terminal exista, a estabilidade desse grupo aumenta (fica menos propensa a perder um próton) e, conseqüentemente, eleva-se o valor de pK_a dessa amina. Essa interação também ajuda a explicar os deslocamentos de potencial eletroquímicos observados na seção anterior, assim como alguns aspectos cinéticos que serão discutidos na próxima seção.

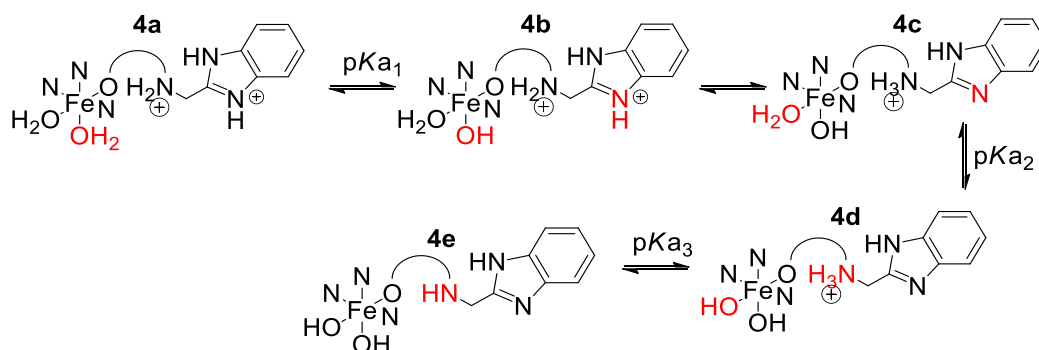
Para os complexos contendo BIMZ, **4** e **5**, suas estruturas também se encontram completamente protonadas no início da titulação (**4a** e **5a** -Esquema 7). A primeira desprotonação, assim como os demais complexos, também é referente a um ligante aquo, em aproximadamente $pK_a = 3,6$, formando as espécies **4b** e **5b**. Para o complexo **4**, a segunda constante de desprotonação é relacionada a dois processos envolvendo dois prótons. Neste $pK_a = 7,24$ ocorre a desprotonação de uma água e do próprio grupo BIMZ, gerando a espécie **4d**. Isso pode ocorrer também devido à proximidade e interação destes dois grupos, como mostrado nas simulações da estrutura, fazendo com que os processos sejam indistinguíveis.¹⁷⁸ Já para o complexo **5**, é possível observar a desprotonação do grupo BIMZ em $pK_a = 5,38$ (espécie **5c**), seguido pela desprotonação do segundo ligante aquo, em 7,68 (**5d**). Uma vez que a interação entre o BIMZ e a primeira esfera de coordenação é enfraquecida pela distância entre os grupos, foi possível determinar cada pK_a separadamente. Finalmente, assim como os complexos **2** e **3**, ocorrem as desprotonações das aminas das cadeias laterais, formando as espécies **4e** (pK_{a4}) e **5e** e **5f** (pK_{a4} e pK_{a5}).¹³⁸

Observando a tendência dos valores obtidos para as constantes de desprotonação dos complexos, observa-se o complexo **1** apresentou o menor e maior valor de pK_a relacionado aos ligantes aquo. Esses valores podem ser associados a um efeito retirador causado pelas interações de hidrogênio dos grupos amino ou BIMZ com a primeira esfera de coordenação, e indicam que as interações das cadeias amínicas laterais são mais fortes e evidentes nos complexos **2** e **3**. Uma vez que a primeira molécula de água é desprotonada, é possível que ocorram novas interações de hidrogênio, que afetem a estabilidade

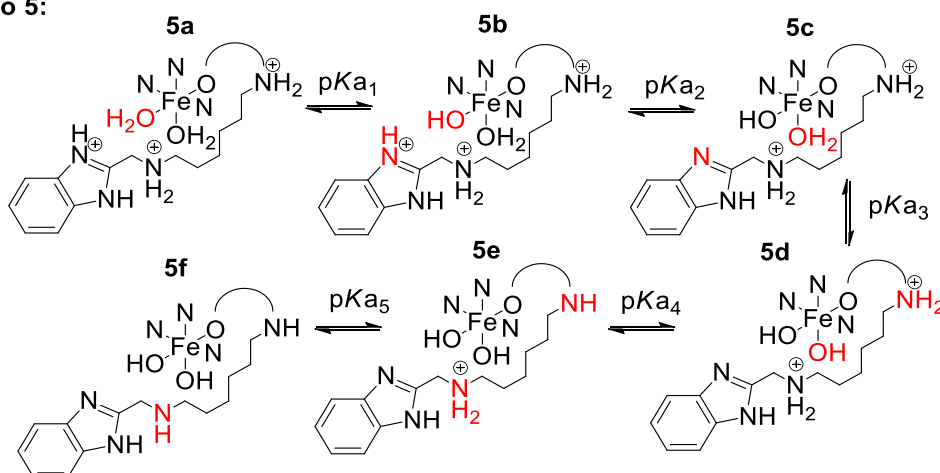
da espécie, fazendo com que a desprotonação do segundo ligante aquo seja facilitada.

Esquema 7 – Proposta de equilíbrios de desprotonação dos complexos **4** e **5**.

Complexo **4**:



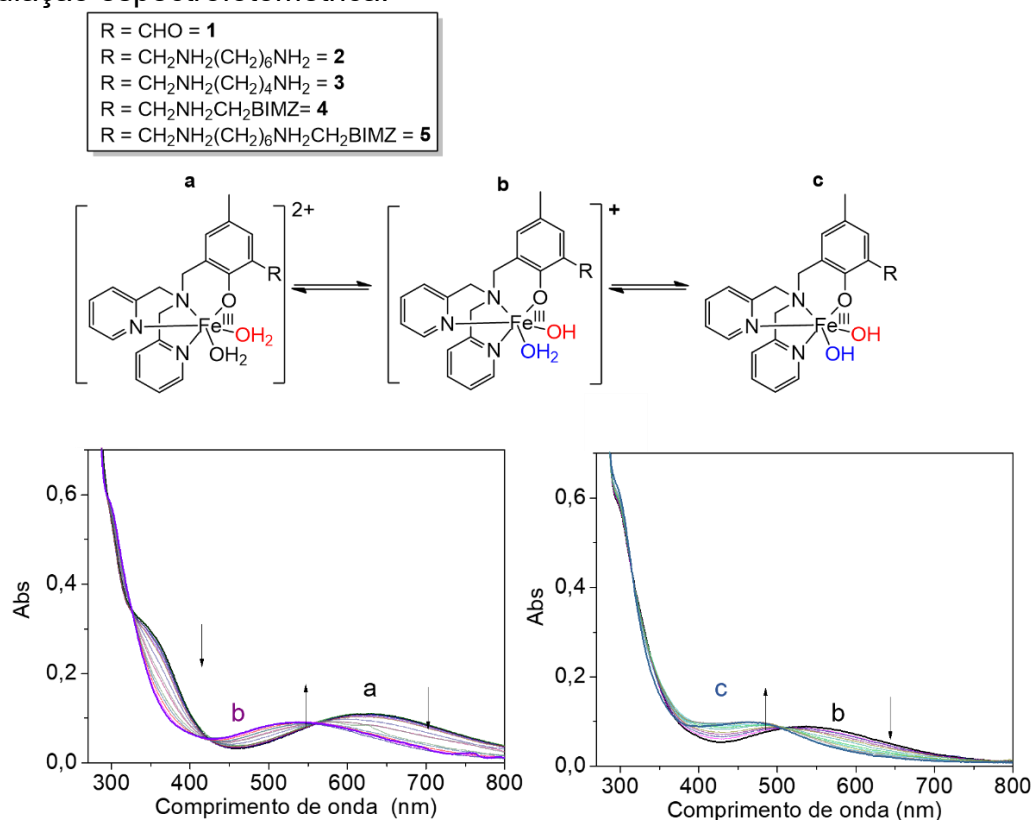
Complexo **5**:



Para a titulação espectrofotométrica, um deslocamento para maior comprimento de onda é observado na banda LMCT de menor energia, em meio ácido ($\text{pH} \sim 2,8$) quando comparado com $\text{CH}_3\text{CN}/\text{água}$ (1:1, v/v). Essa variação espectral é relacionada à diminuição da contribuição do grupo fenol, devido a interação deste grupo com hidrogênios dos solventes, efeito comumente observado para estes grupos.^{117,179} Ao se adicionar pequenas porções de solução alcalina, são observados os efeitos hipsocrômico e hipocrômico, para todos os complexos. Também é visível a formação de dois pontos isobésticos ($\text{pH} \sim 2,6 - 6,5$ e $\text{pH} \sim 6,5 - 11$) indicando a presença de duas espécies em equilíbrio que são diretamente relacionadas a modificações na esfera de coordenação do átomo de ferro. Especificamente, estes equilíbrios são

relacionados a desprotonação dos ligantes aquo, começando da espécie di-aquo dos respectivos complexos (espécies **a** – Figura 33), formando a espécie $[\text{FeL}(\text{OH}_2)\text{OH}]^+$ (espécie **b** - $\text{p}K_{\text{a}1}$) e seguido por $[\text{FeL}(\text{OH})_2]$, (espécie **c** - $\text{p}K_{\text{a}2}$). Os espectros obtidos estão disponíveis nos apêndices (APÊNDICE Z - Cálculos dos valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ dos complexos (a) **2**; (b) **3**, por titulação espectrofotométrica em determinados comprimentos de onda, pela inflexão da curvatura dos pontos com o aumento do pH. Valores experimentais em preto, ajuste da curva em vermelho. APÊNDICE Z - APÊNDICE AA), como exemplo a Figura 33 mostra os dados coletados para o complexo **5** e um esquema de desprotonação atribuído aos valores dos $\text{p}K_{\text{a}}$ s coletados, que representa os obtidos a todos os demais.

Figura 33 - Titulação espectrofotométrica do complexo **5**, em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$. Eletrólito suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,57 até 10,33. Espécies determinadas por titulação espectrofotométrica.

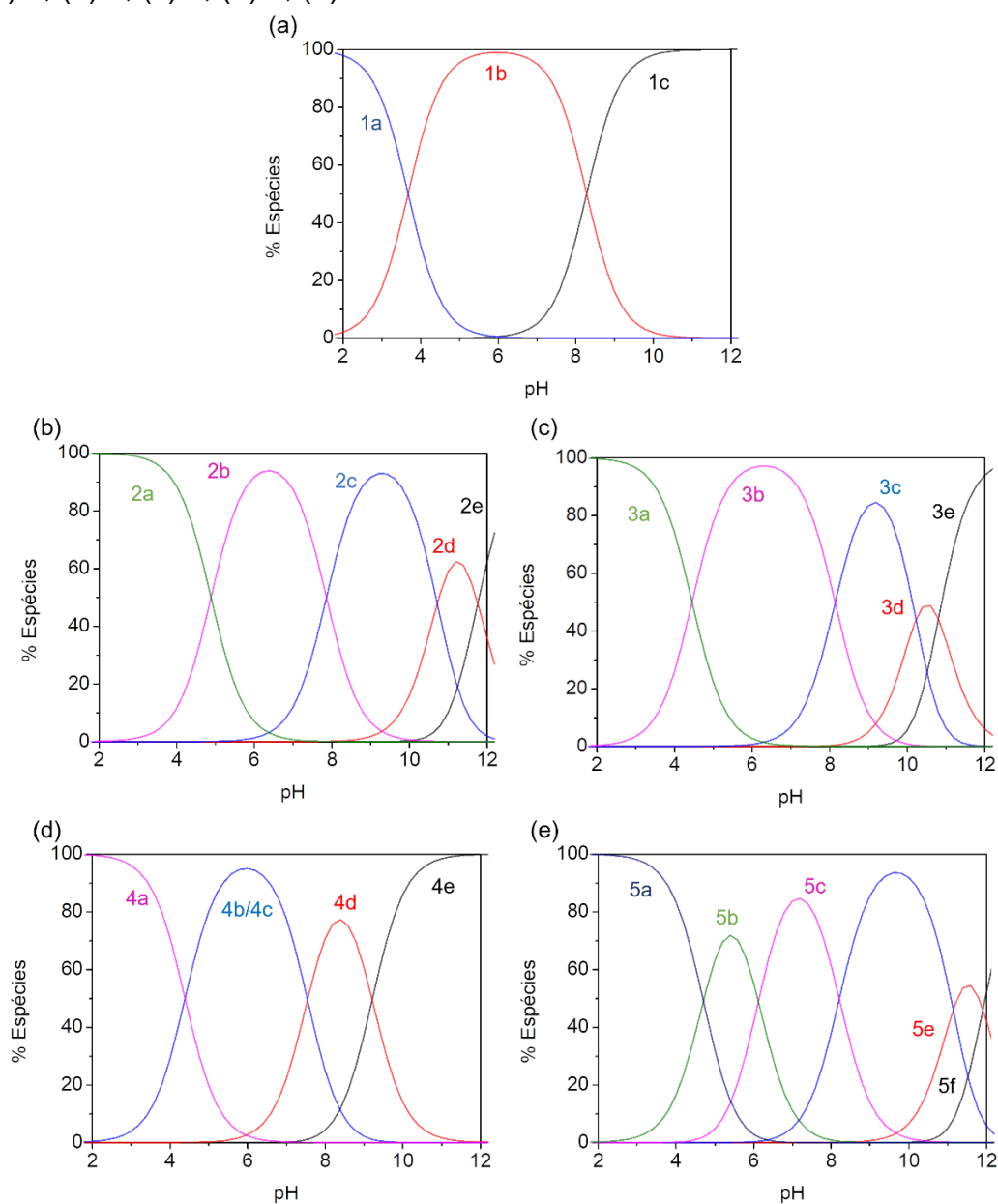


Os valores das constantes de protonação observados pela titulação espectrofotométrica estão dispostos na Tabela 19 e concordam com a literatura e valores observados por titulação potenciométrica.^{23,25,58} As diferenças entre os

valores atribuídos pelas titulações se deve a mudança de atmosfera entre as análises (titulação potenciométrica foi realizada sob atmosfera inerte, enquanto a espectrofotométrica não) que pode ter interferido nos resultados, assim como pequenos erros de pipetagem, concentração e operador durante a análise espectrométrica.

A partir dos dados coletados pela titulação potenciométrica, foi possível gerar um gráfico de distribuição de espécies (Figura 34), que mostra a disponibilidade de cada espécie de acordo com o pH.

Figura 34 - Distribuição de espécies de acordo com os pK_a s de cada complexo. (a) 1; (b) 2; (c) 3; (d) 4; (e) 5.



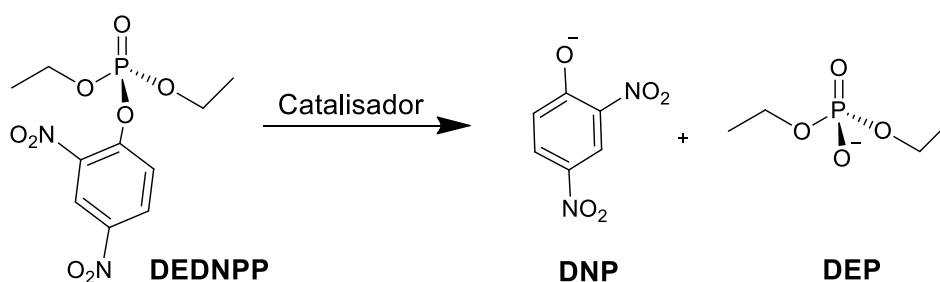
À primeira vista é possível notar que para o complexo **1**, Figura 34(a), em alguns valores de pH como 2, 6 e 11, não há misturas de espécies em solução. Já para os complexos **2** e **3**, Figura 34(b) e (c), respectivamente, as curvas relacionadas as espécies geradas pela desprotonação dos ligantes aquo (espécies **2b/3b** e **2c/3c**), se encontram em alta disponibilidade (~90%), enquanto as curvas onde as amins estão desprotonadas se sobrepõem no final do gráfico (**2d/3d** e **2e/3e**). Para o complexo **4**, Figura 34(d), referente à curva **4b/4c** envolve a desprotonação do grupo BIMZ e ligante aquo, justificando a sua presença em uma larga faixa de pH e alta intensidade, quando em comparação as demais espécies. Finalmente, para o complexo **5**, nota-se que as desprotonações das amins formando as espécies **5e** e **5f**, formam curvas de menor intensidade (~50%), enquanto a curva envolvendo a desprotonação do grupo BIMZ se destaca no gráfico (~90%).

Estes dados ajudam a entender melhor o perfil de atividade cinética de acordo com o pH, como será discutido na próxima seção.

1.4.3 Estudos cinéticos

Como o principal objetivo deste trabalho é avaliar a capacidade hidrolítica dos complexos, esses foram testados como catalisadores da reação de hidrólise do DEDNPP.¹⁶⁰ A atividade catalítica foi avaliada em condições de excesso de substrato, a 25 °C, pelo método das velocidades iniciais,¹⁶¹ onde as reações foram monitoradas espectrofotometricamente em 400 nm pela formação do 2,4-dinitofenolato (DNP) como produto (Esquema 8).

Esquema 8 - Hidrólise do DEDNPP.



1.4.3.1 Efeito da variação de pH na reação catalisada

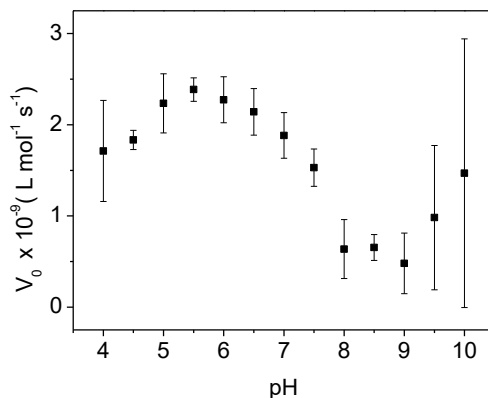
Como discutido na seção anterior, os complexos sofrem processos de desprotonação de acordo com o pH da solução, formando diferentes espécies. Estas espécies podem apresentar maior ou menor atividade hidrolítica frente ao substrato devido as diferentes interações geradas com ele. Sendo assim, foram desenvolvidos estudos cinéticos variando o pH das reações para todos os complexos, as curvas de velocidade de reação pela variação do pH são apresentados na Figura 35.

Para todos os casos, se observaram perfis de “sino”, onde a atividade começa baixa em meio ácido, aumentando até alcançar a maior atividade, para em seguida diminuir. Nos complexos de **2-5** ainda se observa um novo aumento de atividade quando em meio alcalino. Esse perfil é concordante com as mudanças de espécies observadas nas titulações. Inicialmente os complexos são formados por espécies diaquo $[\text{FeL}_n(\text{OH}_2)_2]^{2+}$, sem a presença de nucleófilos fortes em solução, aumentando a atividade pela formação da espécie $[\text{FeL}_n(\text{OH}_2)(\text{OH})]^+$. Com esse arranjo de ligantes, o complexo possui tanto uma posição lábil, onde o substrato pode se coordenar ao centro de Fe^{III} , quando um nucleófilo que pode atuar na reação de hidrólise. No caso do complexo **1**, observa-se que a atividade máxima (pH 5,5), é concordante com a maior abundância dessa respectiva espécie (Figura 35). A diminuição da atividade (após pH 5,5) conforme o pH aumenta é atribuída a formação da espécie $[\text{FeL}_n(\text{OH})_2]$, onde a falta de ligantes aquo impede a coordenação complexo-substrato.

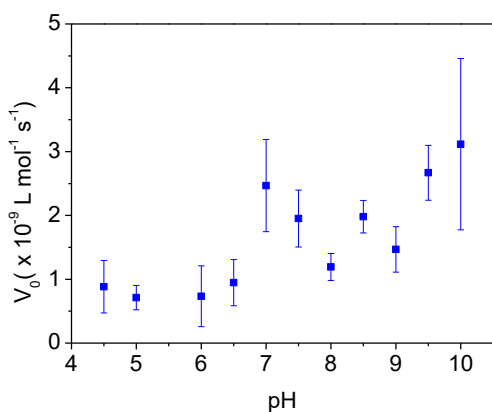
O aumento das barras de erro em meio alcalino para o complexo **1** pode estar relacionado a baixa atividade apresentada pelo catalisador nesses pHs. Um valor baixo de atividade pode aumentar consideravelmente os erros da leitura. Além disso, é possível que em meio alcalino algum dímero seja formado durante a reação interferindo na análise.

Figura 35 - Efeito da variação do pH na reação catalisada de hidrólise do triéster. Condições: $[C]_{\text{complexo}} = 6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $[C]_{\text{substrato}} \sim 5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{CH}_3\text{CN}/\text{tampão}$ (1:1, v/v), $[C]_{\text{tampão}} = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$, $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$. MES (5,0- 6,5), HEPES (7,0-8,5) CHES (9,0-10,0), 25 °C. (a) **1** (b) **2** (c) **3** (d) **4** (e) **5**

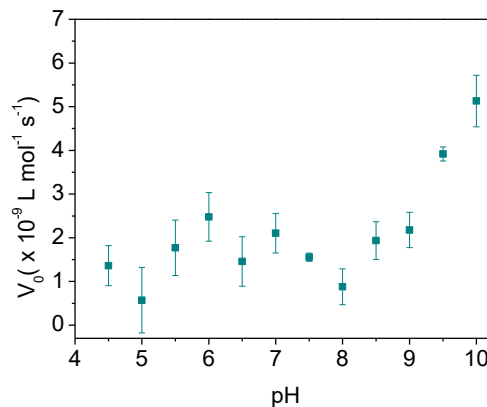
Complexo 1



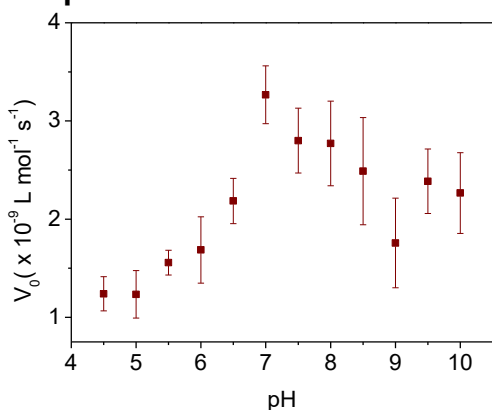
Complexo 2



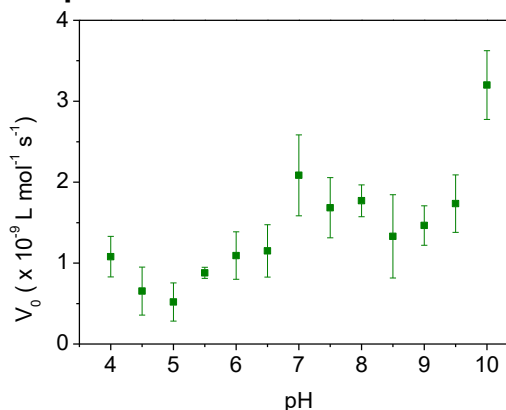
Complexo 3



Complexo 4



Complexo 5



Para os demais complexos é observado um deslocamento deste máximo para regiões neutras (pH 7,0) ou alcalinas (pH 10,0). Esse comportamento sugere que os mecanismos de hidrólise sejam diferentes entre os complexos. No caso do complexo **1**, a hidrólise deve estar somente associada as moléculas de água coordenadas ao centro de ferro. Já os complexos **2** e **3** têm maior atividade em pH 10,0, em uma região próxima ao pK_a de desprotonação das

aminas laterais (Espécie **2d** -Figura 34), indicando que esse processo afeta o mecanismo. Também se observa uma atividade considerável destes complexos em pH~7,0 provavelmente relacionada ao átomo de ferro e a primeira esfera de coordenação, pela formação da espécie catalítica $[\text{Fe}(\text{L}_n)\text{OH}_2\text{OH}]^+$. A formação da espécie di-hidroxo, parece diminuir a atividade destes complexos assim como para os demais (menores atividades entre pH 7,5-9,0). Finalmente, as interações sugeridas entre o grupo hidroxilo e a amina terminal, parecem aumentar novamente a atividade. Sugere-se que nessa região ocorra a abstração de um próton pelo ligante hidróxido, fazendo com que se obtenha novamente a espécie $[\text{FeL}_n(\text{OH}_2)(\text{OH})]^+$ mesmo em pH alcalino.

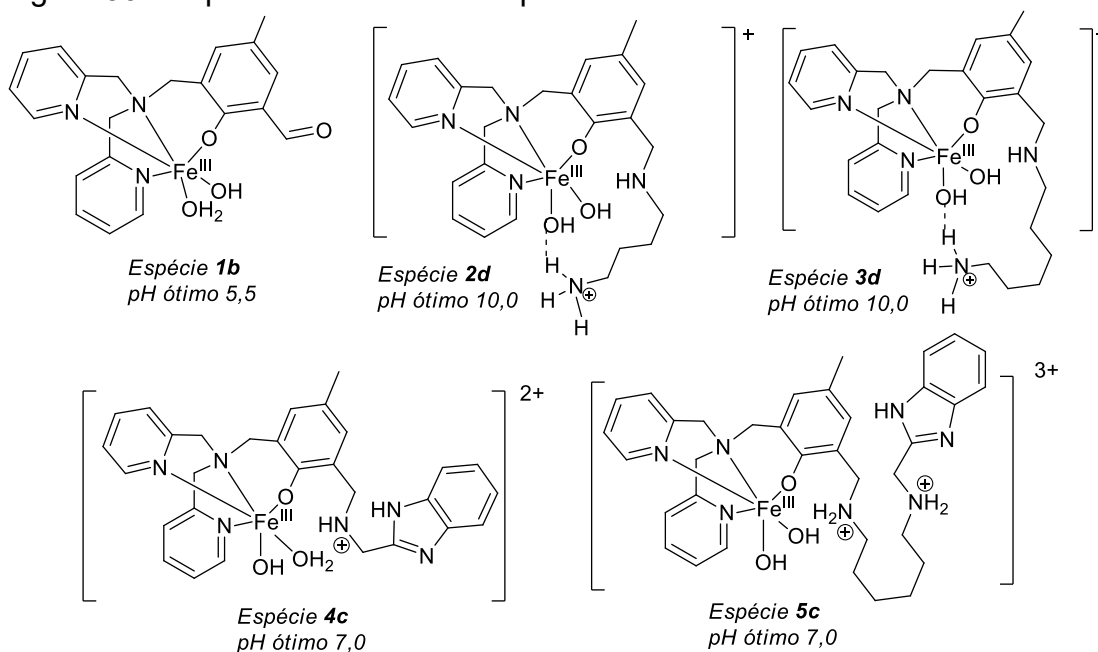
Por sua vez, grupos mais acídicos, como BIMZ promoveram a catálise em valores de pH próximos à neutralidade, onde há maior interesse ambiental e biológico. O efeito destes grupos na segunda esfera é evidente também na inclinação do declínio da atividade dos complexos (Figura 35). Para **1**, após atingir o máximo em pH 5,5 ocorre um decaimento acentuado da atividade conforme a espécie di-hidroxo é formada. Já para os demais, a formação desta espécie diminui a atividade, mas continua a ser relativamente catalítica, por influência destes grupamentos laterais.

No caso dos complexos contendo grupos benzimidazóis, o pH ótimo foi observado em pH 7,0 que assim como **1**, também corresponde a espécie $[\text{FeL}(\text{OH}_2)\text{OH}]^+$. O deslocamento para uma região mais alcalina quando comparado com o primeiro complexo é atribuída principalmente ao efeito causado pelo BIMZ. Mesmo que a desprotonação da primeira água ocorra em pK_a similares entre os complexos, para que **4** e **5** atinjam um máximo de atividade é necessário que o grupo BIMZ também esteja desprotonado. Isso coincide com a distribuição de espécies, onde **4b** e **5c** (Figura 34) são as mais abundantes no pH ótimo. Além disso, observa-se aumento da atividade em pH mais básicos para estes complexos, assim como para **2** e **3** é relativo as desprotonações das aminas, que podem interagir com o substrato (através de ligações de hidrogênio) estabilizando o intermediário da reação e auxiliando na catálise. A Figura 36 resume a espécie de cada complexo atribuído aos pHs ótimos determinados.

De maneira geral, além de determinar os pHs mais ativos para cada complexo, e juntamente com as titulações, compreender as espécies envolvidas no mecanismo de hidrólise, outras considerações importantes podem ser feitas

nessa seção. Em geral, observa-se que a inserção de uma cadeia lateral não coordenada promove interações importantes com o substrato, auxiliando no mecanismo de hidrólise e aumentando a velocidade das reações. Contudo, o efeito destes grupos é muito dependente das espécies envolvidas. No caso das aminas, é necessário que elas possam promover interações de hidrogênio com o substrato e com o complexo, e conseqüentemente a maior atividade é observada em valores de pHs elevados, onde essas estão desprotonadas.

Figura 36 - Espécies referentes aos pHs com maior atividade hidrolítica.



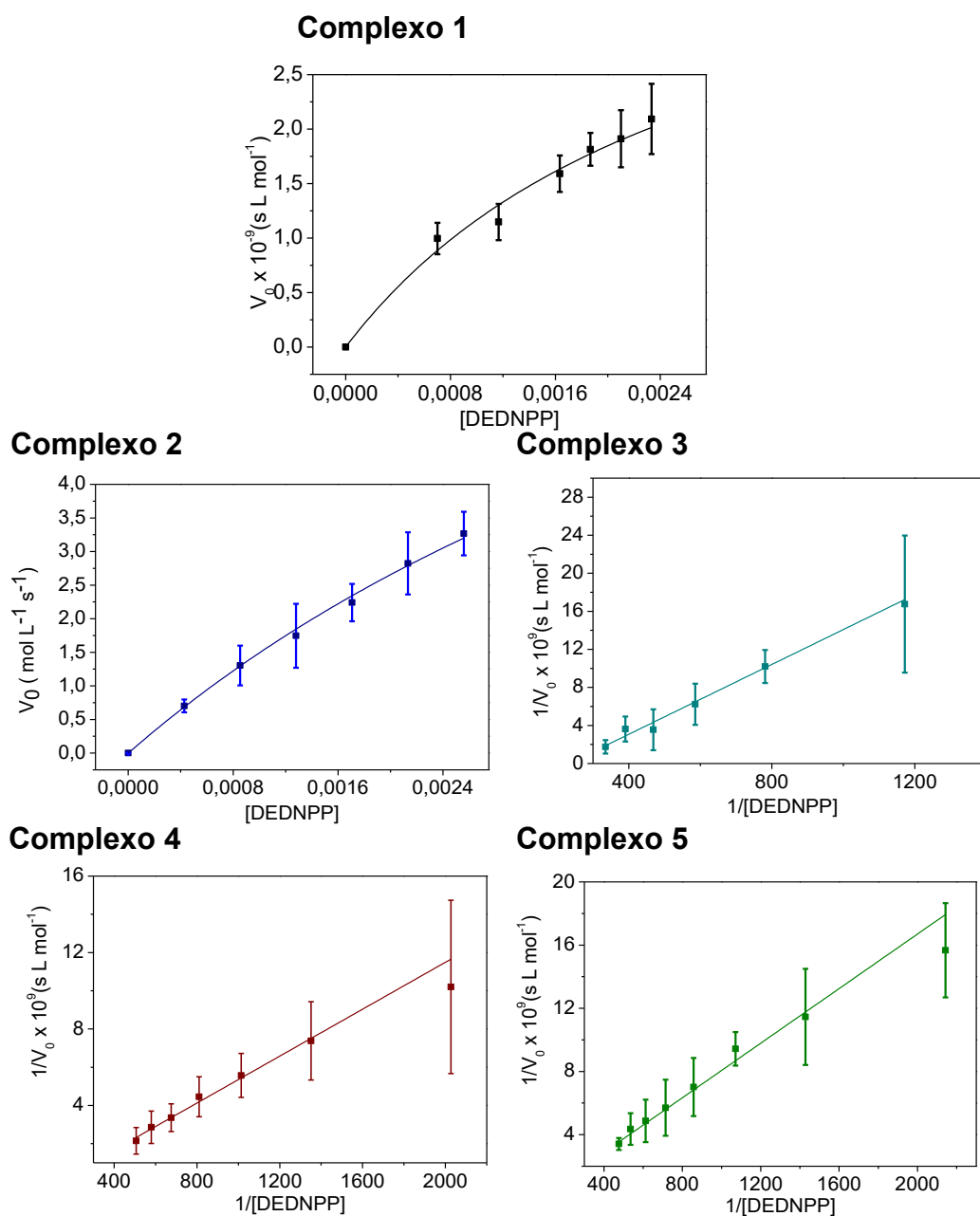
A partir dos dados coletados até aqui, foi possível prosseguir com um estudo cinético mais aprofundado dos complexos **1-5** para determinar os parâmetros cinéticos relevantes, associados a reação.

1.4.3.2 Efeito da Concentração de Substrato na Reação Catalisada

Os ensaios para obtenção dos parâmetros cinéticos foram realizados pela variação da concentração de substrato a 25 °C. Os dados foram tratados pelo método de Michaelis-Menten (complexo **1** e **2**) e pela linearização dos dados, segundo o método de Lineweaver-Burke (Complexos **3-5**).^{161,162} Os resultados obtidos são apresentados na Figura 37 em função das velocidades vs concentração de substrato. A partir destes resultados, foi possível determinar

os parâmetros cinéticos relacionados a reação catalisada. A Tabela 20 combina os valores de velocidade máxima, constante catalítica, constante de Michaelis-Mentes, eficiência e os compara com outros reportados na literatura.

Figura 37 – Cinética de variação da concentração do substrato. Condições: $[C]_{\text{complexo}} = 6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $[C]_{\text{substrato}} = 4,93 \times 10^{-4} \text{ a } 2,90 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{CH}_3\text{CN}/\text{tampão}$ (1:1, v/v), $[C]_{\text{tampão}} = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$, $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$. $[C]_{\text{complexo}} = 6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $[C]_{\text{substrato}} = 4,93 \times 10^{-4} \text{ a } 2,90 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; Tampão: (1) MES, (2 e 3) CHES (4 e 5) HEPES.



Para os complexos 1 e 2, observa-se um comportamento linear da dependência da velocidade em baixas concentrações de substrato. Porém, com

o aumento da concentração ocorre um desvio da linearidade, tendendo a saturação. Para os demais, dentro da faixa de concentração de substrato analisada, não foi possível alcançar a região de saturação. Como a associação complexo-substrato foi determinada pelo inverso da constante de Michaelis-Menten ($1/K_M$), esse resultado indica que a interação dos complexos contendo segunda esfera de coordenação com o substrato é menor que o complexo **1**. Os valores obtidos para esta constante confirmam essa observação, sendo que o K_M cresce de **1** < **3** < **2** < **4** < **5**. Esse efeito pode ser explicado pelo efeito estérico gerado pelos grupos de cadeia lateral e pelas interações de hidrogênios determinadas pelo cálculo.

Tabela 20 - Parâmetros cinéticos obtidos a partir da variação da concentração do substrato. Condições: CH₃CN/tampão (1:1, v/v), [C]_{tampão} = 0,05 mol L⁻¹, *l* = 0,05 mol L⁻¹. [C]_{complexo} = 6,00 × 10⁻⁵ mol L⁻¹, [C]_{substrato} = 4,93 × 10⁻⁴ a 2,90 × 10⁻³ mol L⁻¹; Tampão: (**1**) MES, (**2 e 3**) CHES (**4 e 5**) HEPES.

	Substrato	V_{max} ($\times 10^{-9}$) mol L ⁻¹ s ⁻¹	K_M ($\times 10^{-3}$) mol L ⁻¹	k_{cat} ($\times 10^{-4}$)	E^* ($\times 10^{-2}$) L mol ⁻¹ s ⁻¹	k_{cat}/k_0^{**}
1^a	DEDNPP	4,44	3,0	0,74	2,4	12
2^b	DEDNPP	12,07	7,0	1,66	2,3	20
3^b	DEDNPP	2,34	4,3	0,39	0,9	5
4^c	DEDNPP	12,8	8,0	2,14	2,7	27
5^c	DEDNPP	17,4	15	3,00	2,0	38
F^d	DEDNPP	251	100	125	12	-
G^e	DEDNPP	42,2	60	14,1	2,0	-
J^f	BDNPP	0,01	1,0	2,94	0,03	-
W^g	BDNPP	-	8,0	14,3	17,0	-
Z^h	BNPP	2,66	4,0	0,11	0,20	-

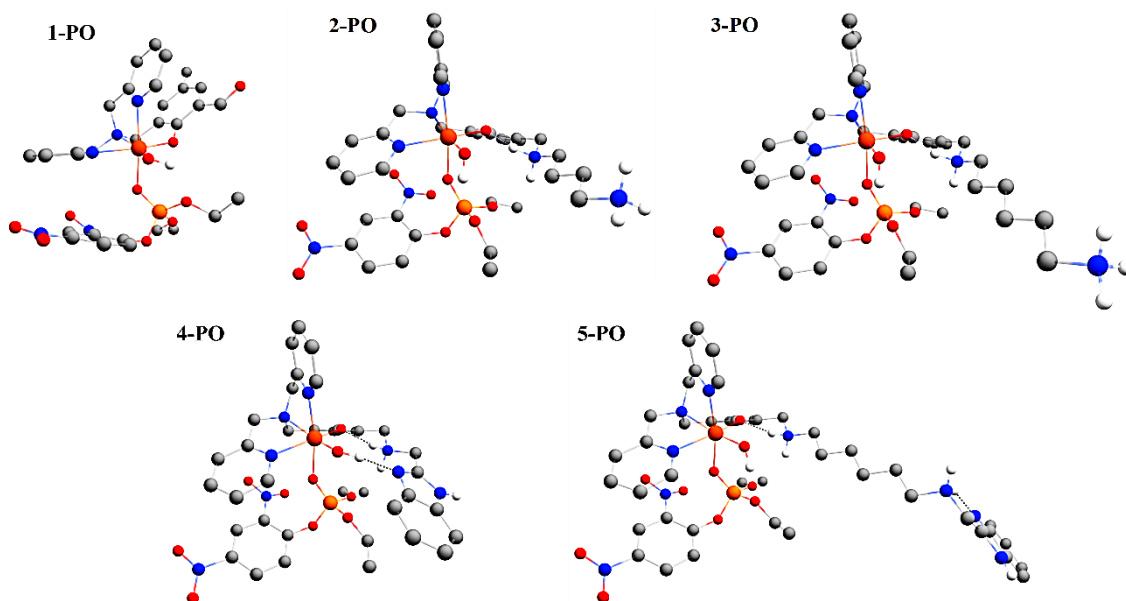
* $E = k_{cat}/K_M$ **Constante não catalisada $k_0 = 8 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$; ¹⁸⁰ apH 5,5; ^bpH 10; ^c pH 7,0; ^dLuiz, *et al.* (2022), pH=8,0¹⁸¹; ^eLuiz, *et al.* (2022)=8,8¹⁸¹; ^fPathak, *et al.* (2018), pH=6,5¹²⁹; ^gHeying, *et al.* (2019), pH=7,5¹³⁹; ^hDutta, *et al.* (2018), pH=9,5¹⁸²;

Os valores de parâmetros cinéticos de **2** e **3** foram concordantes com os observados para os demais complexos, sugerindo que o mecanismo de hidrólise deve ser similar. Para que isso ocorra, é necessário que a espécie catalítica de **2** e **3** também seja a espécie aquo/hidroxo (assim como **1**, **4** e **5**) mesmo que em

meio alcalino. Mais detalhes sobre hipótese serão discutidos na próxima seção, na sugestão de mecanismo.

A distância entre ferro-substrato mostra alguma variação ao determinado experimentalmente para os valores de K_M : **1-PO** (2,130 Å) < **2-PO** (2,173 Å) < **3-PO** (2,183 Å) < **5-PO** (2,185 Å) < **4-PO** (2,258 Å). Em geral, este aumento da distância de ligação e, conseqüentemente, interação é causado pelo aumento do impedimento estérico em decorrência dos grupos laterais em torno do sítio metálico. Ambos, os cálculos e valores experimentais, concordam com uma maior associação de **1** com o substrato, devido à falta de grupos laterais que diminuam a aproximação do substrato da primeira esfera. Além disso, fica claro o aumento desse efeito com a presença de cadeias amínicas laterais e de grupos BIMZ, nessa ordem.

Figura 38 - Geometrias do estado fundamental otimizadas para o complexo **1-PO**, **2-PO**; **3-PO**; **4-PO** e **5-PO**, com PBE0/Def2-TZVP(-f) (átomos de Fe, N, e O) ou Def2-SVP (outros). Hidrogênios ligados a carbonos omitidos para clareza.



Comparando os complexos contendo BIMZ, esperava-se, pelos cálculos, que o complexo **5** mostrasse uma associação maior com o substrato que **4**. No caso do complexo **5**, mesmo que este apresente um grupo lateral volumoso (cadeia + BIMZ), este está afastado da região da primeira esfera de coordenação, onde é esperado que o substrato se coordene. Já no complexo **4**, os grupos secundários se encontram em volta da primeira esfera, dificultando o

acesso do DEDNPP ao centro de Fe^{III}, resultando na maior distância Fe-PO. Contudo, os valores experimentais mostraram uma inversão do esperado pelos cálculos, onde o K_M de **4** é menor que **5**. Esse efeito pode ser causado por interação de hidrogênio do grupo BIMZ (que em **4** é próximo a primeira esfera) com o próprio substrato, sobrepondo o efeito estérico.

Os complexos **2** e **3** também mostram valores de K_M invertidos quando comparando dados experimentais e teóricos. Devido ao maior volume de **3**, esperava-se um maior impedimento estérico diminuindo a interação com substrato. Contudo, novamente, as interações que devem existir entre as aminas terminais e o grupo hidróxido fazem com que a cadeia se distorça e fique muito próxima a primeira esfera de coordenação. Assim, ocorre o aumento do impedimento em torno do centro de ferro, sendo esse efeito mais nítido no complexo **2**, de cadeia menor.

Já a constante catalítica (k_{cat}) claramente mostra o efeito da segunda esfera no catalisador. Comparando os valores dos complexos **2** e **3** (que contêm cadeias laterais contendo aminas), e **4** e **5** (cadeias laterais que contêm BIMZ), com o complexo **1** (sem nenhum grupo lateral), nota-se que a atividade catalítica decresce de **1** para **3**. Por outro lado, o k_{cat} referente aos complexos **2**, **4** e **5**, são maiores. Como discutido anteriormente, a presença de cadeias laterais na segunda esfera de coordenação causa um impedimento estérico em volta no centro metálico. Isso justifica a atividade apresentada pelo complexo **3**. Assim como nos demais complexos, **3** também apresenta menor interação entre ferro-substrato (vide valores de K_M), mas, a contribuição catalítica dos grupos presentes na segunda esfera (aminas) é menor que o caso daqueles contendo BIMZ (**4** e **5**). Isso faz com que a atividade catalítica seja dificultada. Surpreendentemente, o comportamento de **2**, foi diferente do seu análogo. A atividade observada para **2** foi maior que **3**, mesmo que o valor de K_M indique menor associação com o substrato. Essa melhor atuação de **2** como catalisador pode indicar um efeito sinérgico positivo, entre a distância das aminas, na estabilidade do estado de transição (TS) que pode sobrepor o efeito negativo causado pelo efeito estérico, resultando em maiores atividades.

Sobre o aumento da atividade dos complexos **4** e **5**, propõe-se que se deva às interações de hidrogênio dos grupos NH e BIMZ com o complexo e com o substrato. As estruturas otimizadas do complexo **4-PO**, mostram uma distância

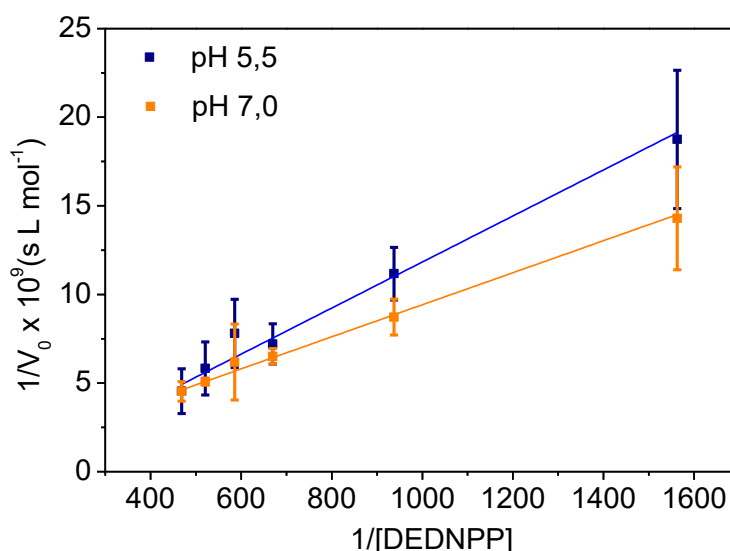
de 2,193 Å entre NH e o substrato. Essa interação promove um decréscimo de energia do TS, e conseqüentemente uma maior atividade. Para o complexo **5-PO**, essa distância aumenta em aproximadamente 0,3 Å devido ao aumento da cadeia alifática, indicando uma interação mais fraca. Contudo, o valor de k_{cat} de **5** é maior que o **4** sendo relativo ao aumento do impedimento estérico em volta do centro metálico, como discutido anteriormente.

Um parâmetro importante nas discussões cinéticas é a eficiência catalítica (E). Esse fator leva em conta o balanço entre a associação complexo substrato (K_M) e a atividade hidrolítica (k_{cat}). Para que um catalisador seja eficiente é necessário que ele apresente uma boa atividade hidrolítica, assim como uma boa associação com o substrato. Contudo, se a associação entre complexo-substrato for muito alta é possível que, após a catálise, o substrato não se dissocie do catalisador, atrapalhando no princípio de reciclagem. Neste aspecto, o **3** apresenta os menores resultados, mostrando que a relação entre k_{cat}/K_M não foi eficiente. O uso de uma cadeia alongada, sem um grupo nucleofílico eficiente terminal, mostrou um impacto negativo na atividade geral do complexo. Para os demais complexos, os valores de eficiência foram similares, mesmo que os k_{cat} dos complexos contendo BIMZ sejam maiores. A eficiência dos exemplos cresceu na ordem **5** < **1** < **2** < **4**, corroborando as discussões acerca do balanço entre proximidade do grupo lateral da primeira esfera de coordenação. O mesmo efeito é observado em **2** e **4**, onde mesmo que haja um grande impedimento estérico em torno do núcleo de ferro, causado pela proximidade da cadeia, as interações causadas pelos grupos terminais, geraram os melhores resultados observados. O complexo **4** mostrou o melhor equilíbrio entre as constantes, sugerindo o melhor balanço entre o uso de grupos aromáticos-nucleofílicos (em comparação com grupos amina – complexo **2** e **3**) e distância entre esses grupos e a primeira esfera de coordenação (em comparação ao complexo **5** com cadeia longa).

A atividade hidrolítica do complexo **1** também foi avaliada pela adição de BIMZ *in situ*. Para isso, as cinéticas foram acompanhadas em pH 5,5 (pH ótimo do complexo **1**) em pH 7,0 (pH ótimo dos complexos contendo BIMZ), adicionando quantidades equivalentes de BIMZ e complexo. Os resultados foram tratados linearmente por Lineweaver-Burk e são apresentados na Figura 39. Os parâmetros cinéticos obtidos em pH 5,5 são bastante similares aos obtidos para

2 e 3 (pH 5,5: $K_M = 11,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $k_{\text{cat}} = 1,43 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; pH 7,0: $K_M = 24,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $k_{\text{cat}} = 4,45 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) mostrando o efeito sinérgico dos catalisadores sintetizados nesse trabalho, como discutido até aqui. Contudo, a adição de BIMZ em pH 7,0 afetou significativamente a constante de Michaelis-Menten, sugerindo que o efeito do impedimento estérico reportado para **4 e 5**, na aproximação do substrato também está presente nesse caso, de maneira mais evidente. Mesmo que o valores de k_{cat} tenham sido maiores nesse experimento que os demais, a restrição gerada pela baixa associação complexo-substrato (K_M alto) resultou em uma eficiência catalítica bastante baixa ($E = 1,28 \times 10^{-2}$ e $1,84 \times 10^{-2} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ em pH 5,5 e 7,0, respectivamente), sendo menor até que o complexo **1** isolado. Esse experimento também corrobora a discussão feita até o momento, onde o complexo **3**, mesmo contendo segunda esfera de coordenação, mostrou ainda menos eficiência que a adição *in situ* do co-catalisador. A partir disso, compreende-se que a relevância dos complexos **4 e 5** é bastante significativa, sendo que estes positivamente combinam os aspectos catalíticos destas duas moléculas distintas em um mesmo composto.

Figura 39 - Ensaio cinético do complexo **1** adicionando BIMZ *in situ* nos pHs 5,5 e 7,0. Condições: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{tampão}$ (1:1, v/v); em pH 5,5 – tampão MES; em pH 7,0 tampão - HEPES; $[C]_{\text{complexo}} = 6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $[C]_{\text{BIMZ}} = 6,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $[C]_{\text{substrato}} = 4,93 \times 10^{-5}$ até $1,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.



De maneira geral, os resultados cinéticos obtidos com os complexos mostram claramente que existe um equilíbrio entre a presença de grupos laterais

com potencial nucleofílico e o impedimento estérico gerado por eles. Somente a presença de átomos não coordenantes que desempenhem o papel de segunda esfera de coordenação (ou cadeias muito alongadas) podem provocar efeitos negativos na catálise promovida pelos compostos de coordenação (baixa atividade de **3**). Contudo, a inserção de moléculas que tenham potencial de interagir com o substrato, seja por interações eletrostáticas, de ligação de hidrogênio, ou com potencial nucleofílico podem aumentar a atividade destes catalisadores. Além disso, a distância destes grupos da primeira esfera de coordenação, também gera efeitos a serem considerados (maiores K_M de **2** e **4**). Grupos próximos, podem interagir diretamente com o substrato mais efetivamente que quando estes se encontram distantes. Porém, o efeito de impedimento estérico ao redor do centro metálico pode suprimir o efeito positivo, fazendo com que a atividade catalítica de grupos mais distantes seja maior (maior k_{cat} do complexo **5**). Mais sobre os efeitos causados pela segunda esfera serão discutidos junto com a proposta do mecanismo, na próxima seção.

Comparando os resultados descritos neste trabalho com os reportados pela literatura (Tabela 20), é observado que os complexos mononucleares promovem uma interação mais forte entre substrato e catalisador (menores valores de K_M), mostrando uma vantagem destes complexos quando comparado com exemplos binucleares. Em um primeiro momento, é esperado que as reações utilizando complexos binucleares como catalisadores possam ser mais ativas que complexos mononucleares. A presença de dois sítios metálicos proporciona um mecanismo coordenado, onde um centro metálico é responsável pela coordenação com o substrato, e o outro em promover o ataque nucleofílico.^{45,128,135} A rigidez desses sistemas também contribuíram para que haja uma menor contribuição entrópica o que pode favorecer a cinética. Os resultados dos complexos mononucleares aqui reportados se mostraram bastante efetivos como catalisadores, não apresentando desvantagens quando comparados aos binucleares. Por exemplo os complexos de FeMn (exemplo **F** – Tabela 20) e MnMn (**G**) são complexos binucleares, contendo uma estrutura central similar ao complexo **1**, onde o fenol se encontra como ponte entre os centros metálicos.⁴⁵ Estes complexos foram testados frente ao mesmo substrato reportado aqui, e mostraram um valor de K_M cerca de 10 vezes (em alguns casos) maior que os complexos mononucleares. Como discutido anteriormente,

uma baixa associação entre complexo-substrato pode desencadear uma baixa constante catalítica, diminuindo a atividade do catalisador. Como consequência, a eficiência catalítica dos complexos contendo BIMZ se mostrou comparável ao complexo **G**.

Devido à falta de resultados cinéticos frente à hidrólise do triéster de fosfato, a Tabela 20 também compara os resultados com outros substratos modelos e diferentes sítios metálicos. O exemplo **W**, traz os resultados de um complexo mononuclear de Fe^{III} frente ao substrato BDNPP.¹³⁹ A maior atividade apresentada para esse complexo pode estar relacionada a estrutura do próprio substrato, uma vez que este é aniônico e espera-se uma maior interação com o complexo catiônico. Mesmo assim, os complexos **4** e **5** se mostraram mais ativos que outros complexos reportados com este mesmo substrato, incluindo complexos tetranucleares e binucleares de ferro(III), exemplos **Z** e **J**, respectivamente.

Finalmente, após os ensaios cinéticos, outros experimentos foram conduzidos, buscando elucidar as diferenças entre os mecanismos de hidrólise promovidos pelos complexos, como discutido a seguir.

1.4.3.3 Proposta de mecanismo

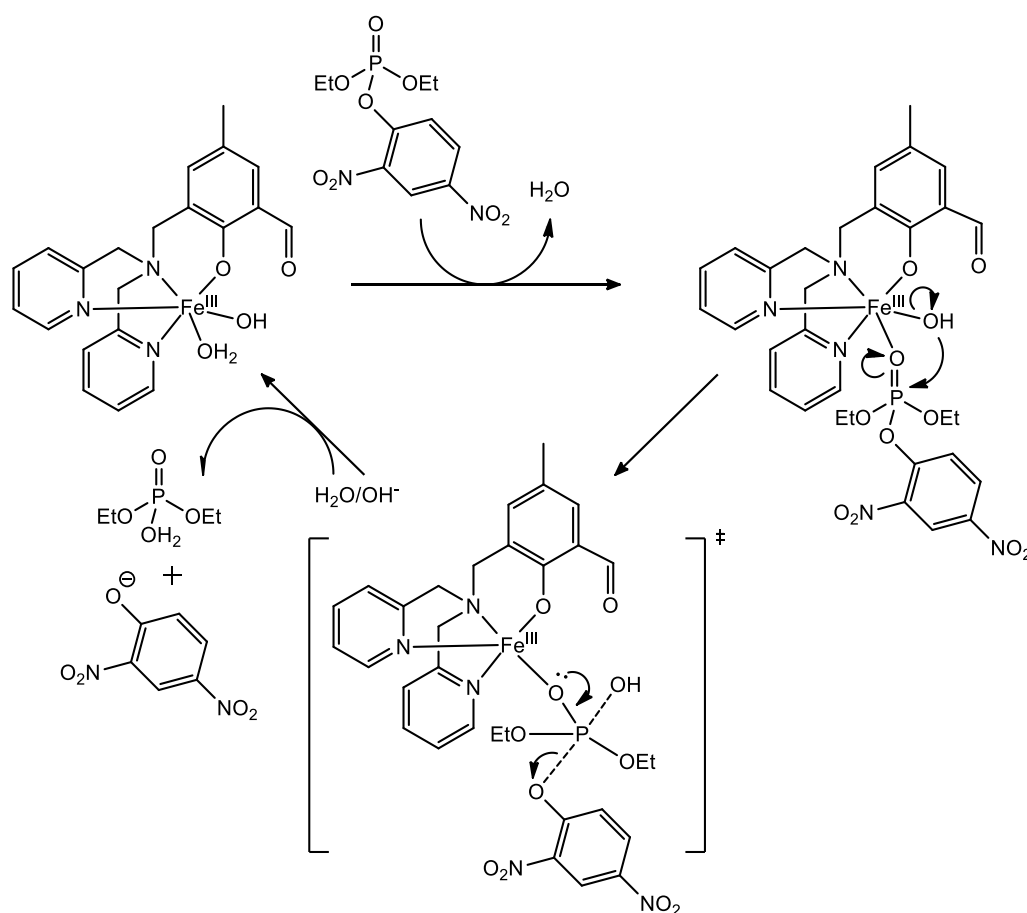
Após determinar quais espécies estão envolvidas na catálise, e como os complexos se comportam nas reações de hidrólise, buscou-se determinar os possíveis mecanismos que estes complexos atuam. Inicialmente, ensaios de efeito isotópico de deutério foram realizados e procederam igualmente aos respectivos testes cinéticos discutidos previamente, contudo utilizando tampões deuterados. Este teste fornece indícios dos mecanismos de hidrólise de ligações fosfoéster através da razão entre as constantes catalíticas (k_{cat}) em H_2O e D_2O . Como a labilidade do hidrogênio e deutério se diferem, caso haja uma molécula de água envolvida no mecanismo, as constantes devem se diferenciar entre si. Quando $k_{\text{H}}/k_{\text{D}} > 2$, o mecanismo atua na forma de catálise básica, ou seja, a água no meio reacional desempenha um papel importante na clivagem destas ligações. Quando este valor varia entre 0,8 e 1,5, considera-se que a reação ocorre por um mecanismo nucleofílico, sem interferência do solvente.¹⁸³ Os resultados foram compilados na Tabela 21. Triésteres de fosfato tendem a ser

mais susceptíveis a mecanismos de hidrólise básica comparado a outros ésteres, e como consequência disso ocorre em pH alcalino, onde a formação de grupos hidróxido é favorecida.^{24,184}

Tabela 21 - Valores de constante catalítica em água deuterada, relação k_{cat}/k_D , atribuição de tipo de mecanismo associado com o resultado, quantidade de moléculas hidrolisadas por uma molécula de catalisador ao longo do tempo.

Complexo	k_D ($\times 10^{-5}$)	k_H/k_D	Catálise	Turnover (moléculas em 8h)
1	9,48	0,78	Intramolecular	1
2	2,80	5,74	Básica	2
3	0,36	10,6	Básica	2
4	14,80	1,43	Intramolecular	3
5	16,00	2,11	Básica	2

Para o complexo **1**, observou-se um mecanismo intramolecular, sem efeito evidente do solvente. Como esse complexo não contém grupos de cadeia lateral, é proposto um mecanismo hidrolítico, considerando que o ligante aquo é liberado promovendo a coordenação do metal com o substrato, e que o ligante hidroxio seja o nucleófilo da reação (Esquema 9).

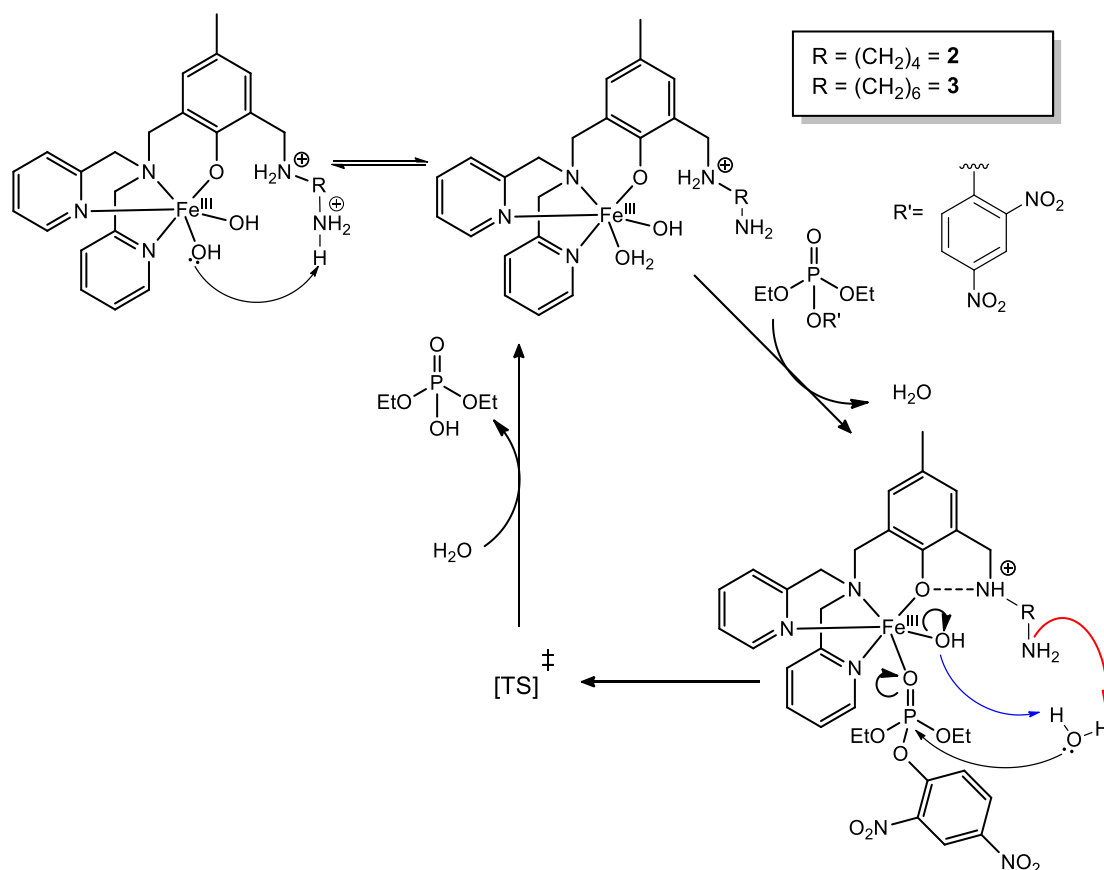
Esquema 9 - Proposta de mecanismo para o complexo **1**.

No caso dos complexos **2** e **3**, já era esperado que o mecanismo seguisse um mecanismo básico geral, principalmente pela disponibilidade dos grupos hidróxidos em solução. Contudo, como mencionado anteriormente, acredita-se que as interações de hidrogênio entre os ligantes hidróxidos e o hidrogênio da amina terminal da segunda esfera de coordenação, causam uma abstração de próton que forma a espécie catalítica aquo/hidróxido, assim como os demais complexos. Caso os complexos atuassem por meio da espécie di-hidroxo (veja diagrama de Distribuição de Espécies - Figura 34 - e Titulações – Seção 1.4.2.9), seria esperado valores discrepantes dos demais, tendo em vista que essa espécie não permite a saída de um grupo para que haja coordenação complexo-substrato.

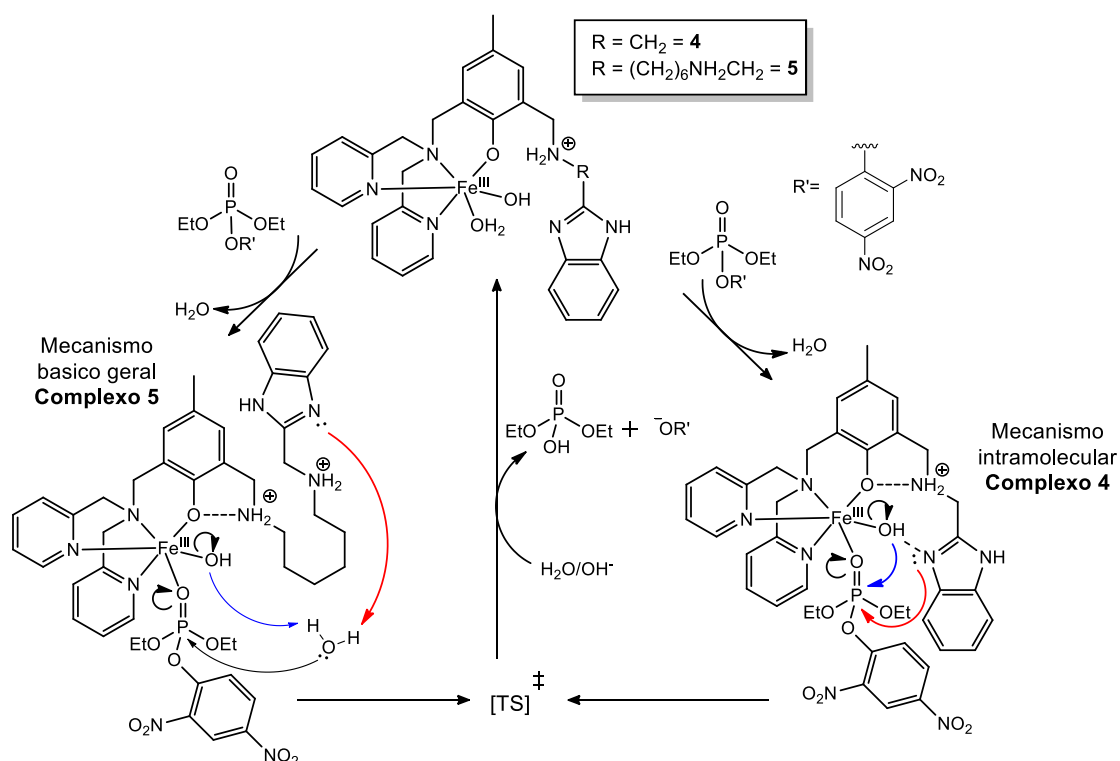
Uma vez que a espécie aquo/hidroxo (Esquema 10) é formada dá-se início ao mecanismo de hidrólise, onde o substrato é coordenado ao complexo, pela dissociação do ligante aquo assim como acontece com o complexo **1**. Em seguida, o ligante hidróxido (seta azul), ou por ação das aminas das cadeias

laterais (seta vermelha), abstraem um próton da própria água (solvente), que age como nucleófilo, atacando o fósforo e causando a hidrólise do substrato.

Esquema 10 - Proposta de mecanismo para os complexos **2** e **3**.



Os resultados obtidos sugerem mecanismos diferentes para os complexos contendo BIMZ. Novamente, o efeito desses grupos na segunda esfera de coordenação e sua proximidade com a primeira esfera ficam evidentes. O valor obtido pelo efeito isotópico, sugere uma catálise intramolecular para o complexo **4** ($k_H/k_D=1,43$). Para ambos os complexos **4** e **5**, é proposto uma coordenação do substrato ao complexo, pela saída do ligante aquo, assim como acontece com o complexo **1**. Contudo, mesmo que o mecanismo **4** seja também intramolecular (Esquema 11 - lado direito), não é possível determinar, sem mais estudos, se o ataque nucleofílico é feito pelo ligante hidroxilo (seta azul), ou pelo BIMZ (seta vermelha). É possível também que os diferentes mecanismos ocorram simultaneamente, onde os dois grupos performam esse papel durante a catálise.

Esquema 11 - Proposta de mecanismo para os complexos **4** e **5**.

Quando a distância entre o BIMZ e a primeira esfera é estendida pela introdução de 6 carbonos entre eles (complexo **5**), o mecanismo é alterado de um mecanismo intramolecular para uma catalise básica geral ($k_H/k_D = 2,11$). Como a principal diferença entre os complexos **4** e **5**, é a distância do BIMZ do átomo de ferro, essa mudança no mecanismo evidencia a participação do grupo na catálise e no ataque nucleofílico. Se o BIMZ não estivesse envolvido, deveria ser observado um mecanismo similar para ambos os complexos (mecanismo intramolecular). Contudo, a entropia necessária para aproximar esse grupo (no caso do complexo **5**) do substrato que se encontra coordenado ao átomo de ferro é muito alta. Como consequência, o caminho da reação é alterado para uma catalise básica, onde os grupos hidróxido do solvente são os nucleófilos, como ilustrado no Esquema 11 (lado esquerdo). Nesse caso, é difícil afirmar se o ligante hidroxido (seta azul) ou o BIMZ (seta vermelha) apresenta uma maior contribuição na ativação da água.

Uma das condições para que um composto seja considerado um catalisador, é que este seja capaz de ser reutilizado. Por esse motivo, foi realizado um teste cinético durante 8h, com excesso de substrato, em estequiometria 50:1, para avaliar o número de moléculas de DEDNPP que os

complexos são capazes de hidrolisar. O experimento foi monitorado espectrofotometricamente em ($\epsilon = 3\,600 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) 445 nm, a 25°C, em pH ótimos de cada teste cinético. Foram observados que uma molécula do complexo **4** é capaz de hidrolisar três moléculas de substrato em 8 horas, já o complexo **5**, duas unidades de substrato, assim como os complexos **2** e **3**. Já o complexo **1**, dentro desse mesmo período hidrolisou somente uma unidade de DEDNPP (Tabela 21). Esses resultados novamente mostram a vantagem do sistema contendo BIMZ e/ou segunda esfera para reações de hidrólise.

Estudos variando a temperatura das reações de hidrólise foram realizados para determinar as contribuições entálpicas e entrópicas da segunda esfera. Para isso, as cinéticas foram realizadas nas mesmas condições previamente escritas para os estudos de variação de substrato, mas nas temperaturas de 20, 25, 30, e 40 °C. As equações de Arrhenius e Eyring foram utilizadas para obter os parâmetros: Energia de ativação (E_a), entalpia de ativação (ΔH^\ddagger), entropia de ativação (ΔS^\ddagger), e energia livre de Gibbs de ativação (ΔG^\ddagger).

A partir da equação de Arrhenius é possível de se expressar, de uma forma geral, o efeito da temperatura na velocidade de uma reação química, sendo possível de se obter a energia de ativação de determinada reação. Uma relação similar pode ser também obtida a partir da equação de Eyring, onde se obtiveram os demais parâmetros termodinâmicos (Tabela 22).

Tabela 22 - Parâmetros termodinâmicos para a hidrólise do DEDNPP.

Complexo	E_a (kJ mol⁻¹)	ΔH^\ddagger (kJ mol⁻¹)	$T\Delta S^\ddagger$ (J mol⁻¹)^a	ΔG^\ddagger (kJ mol⁻¹)
1	109,01	106,49	681,17	96,59
2	196,70	194,20	968,61	94,60
3	136,00	133,86	778,25	98,17
4	103,49	100,97	654,07	94,05
5	139,40	136,49	769,10	92,82

Os gráficos de linearização das equações de Arrhenius e Eyring, são apresentados nos apêndices (APÊNDICE BB e APÊNDICE CC). As semelhanças entre os resultados obtidos também ajudam a corroborar a

proposta que o mecanismo de **2** e **3** seja similar ao demais complexos, e que haja a formação da espécie aquo/hidroxo para dar início ao ciclo catalítico.

Dentre os complexos, **4** mostrou a menor energia de ativação, enquanto **2** mostrou o maior valor. Durante a cinética, para o complexo **4** a distância entre o grupo NH e o grupo etil do substrato é 2,193 Å, indicando uma interação de hidrogênio fraca, que pode diminuir a energia do TS. Já para o complexo **5**, essa interação é alongada a 2,492 Å, causando este aumento da E_a , que indica que o impedimento estérico causado pelo aumento da cadeia desestabiliza o TS. O mesmo pode ser inferido sobre os **2**, **3** que tem E_a aumentada devido ao mesmo impedimento estérico observado para **5**. Além disso, como discutido acima, o mecanismo básico observado para **2**, **3** e **5** requer uma molécula de água do solvente para acontecer, adicionando mais uma molécula a ser considerada no TS, o que aumenta o impedimento estérico. Essa tendência é também observada nas contribuições entrópicas, que seguem a ordem $1 < 4 < 5 < 3 < 2$ e podem ser causadas por essas mesmas interações entre complexo- substrato. Para todos os complexos, um valor positivo de ΔS^\ddagger sugere um TS menos estruturado que os reagentes, com o complexo **4** e **1** mostrando o menor valor, devido as interações mencionadas e mecanismo intramolecular. Já **5**, **3** e **2** apresentam os maiores valores, devido a sua larga cadeia alifática e mecanismo básico. Comparando os mecanismos básicos, o comportamento de **5** ainda é menos entrópico que os demais, possivelmente devido a interações BIMZ e substrato durante a reação. Como resultado, o ΔG^\ddagger indica que as barreiras de ativação para os complexos são menores que para o complexo **1**, com exceção do complexo **3**. Essa redução nas barreiras de ativação aumenta a espontaneidade da reação, o que aumenta a eficiência catalítica, explicando a tendência (e seguindo a mesma ordem) que foi observado para os valores de k_{cat} ($3 < 1 < 2 < 4 < 5$). Esses resultados ajudam a corroborar a potencial contribuição da segunda esfera de coordenação na estabilidade dos intermediários durante catálise.

1.4.4 Estudos biológicos

Além dos estudos cinéticos apresentados nesse capítulo, também se buscou parcerias com instituições estrangeiras para promover ensaios

biológicos utilizando os compostos aqui desenvolvidos. Os resultados apresentados a seguir constituem uma parcela do progresso alcançado até o momento, considerando que investigações adicionais estão em curso para ampliar o escopo de uso destes materiais.

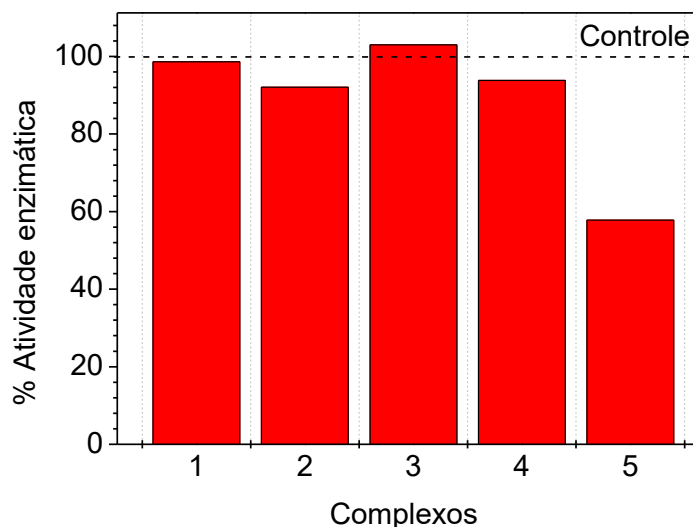
1.4.4.1 Testes de inibição e regeneração da enzima Acetilcolinesterase (AChE)

Como discutido na seção 1.1 Revisão Bibliográfica deste trabalho, um dos principais problemas do uso de OPs é a interação com a enzima AChE, causando inibição desta e conseqüentemente causando graves problemas ao sistema nervoso central.

Para avaliar se os complexos podem ser regeneradores da enzima, precisa-se primeiro investigar a interação do complexo com a enzima. Nesse caso, se os complexos interagirem fortemente com a AChE, eles podem agir como inibidores dela, de maneira semelhante ao pesticida. Estes estudos foram realizados pela Professora Aleksandra Bondzic, na Universidade de Belgrado, Sérvia.

É possível observar que os complexos **1-4** não mostraram inibição da enzima quando comparados com o controle (Figura 40). Já o complexo **5** mostrou 43 % de inibição da enzima. Esse resultado mostra que o *design* sugerido nos objetivos deste trabalho e as considerações feitas durante a Revisão Bibliográfica foi assertiva. Neste trabalho, além da investigação dos efeitos de BIMZ em segunda esfera de coordenação, se buscou desenvolver complexos mononucleares para que este pudesse adentrar a cavidade do sítio ativo da enzima. Contudo, além da região catalítica, esta enzima apresenta duas outras regiões interessantes: um sítio aniônico, e um sítio com grupamentos aromáticos. Sendo assim, o ligante **HL4** foi modulado para que este tivesse grupos aromáticos que pudessem interagir com a região aromática da própria enzima, assim como um sítio catiônico (complexo **5**), que pudesse promover interações com a região aniônica. Essas porções também foram combinadas a uma distância adequada da região onde o nucleófilo se encontra (BIMZ). Os resultados da Figura 40 são excelentes para esse trabalho, deixando claro que esse objetivo foi atingido, tendo em vista que somente o complexo **5** mostrou interação com a enzima.

Figura 40 - Estudos de inibição da enzima Acetilcolinesterase pelos complexos 1-5.



Mesmo que o complexo tenha interagido com a enzima, promovendo uma porcentagem de inibição, frisa-se que ele não pode ser considerado um inibidor da enzima. Inibidores, na sua maioria apresentam uma taxa de desativação acima de 50 %. Sendo assim, foi possível investigar a atividade do complexo **5** frente a regeneração da enzima, após esta estar inibida com pesticidas.

O complexo foi testado como regenerador da enzima inibida por paraoxon – etílico (POX) e clorpirifós. Infelizmente, não foi possível observar reativação da enzima após tratamento com o complexo **5**. Esta falta de atividade regeneradora é atribuída as altas constantes de interação entre os pesticidas testados e a enzima.¹⁸⁵ Mesmo que o complexo tenha apresentado potencial de hidrolisar substrato modelo de triéster de fosfato, os pesticidas utilizados são compostos menos ativados, que diminuem a capacidade hidrolítica do complexo. Além disso, uma vez coordenados a enzima esse processo é dificultado. Neste experimento não foi possível utilizar o mesmo substrato modelo estudo das reações de hidrólise como inibidor da enzima, para verificar se nessas condições **5** poderia ser um regenerador.

Mesmo que os resultados não tenham concordado com o esperado, estes são encorajadores, haja vista a possibilidade de continuar investigando complexos desse tipo, contendo grupos aromáticos na segunda esfera de

coordenação. Existem possibilidades que podem aumentar a eficiência da catálise via primeira esfera de coordenação, como utilizar complexos de metais mais ácidos que o ferro (como Zr^{IV}),³⁵ ou a base de lantânio (que mostraram bons resultados na forma mononuclear¹⁸⁶) ou até ligantes que aumentem o potencial hidrolítico destes compostos.¹⁴⁰

1.4.4.2 Estudos de citotoxicidade

Devido a atividade de complexos similares em estudos de hidrólise de diésteres de fosfato, foram realizados ensaio de citotoxicidade com alguns dos complexos discutidos neste capítulo. Estes estudos foram desenvolvidos pelo professor Ignacio Leon, na Universidade de La Plata, Argentina. Os estudos de atividade antitumoral foram conduzidos via ensaios MTT com os complexos **1**, **4** e **5**, em células humanas MDS-MB-231 (câncer de mama) e MG-63 (câncer de ossos). Cisplatina foi utilizada como referência e a Tabela 23 compila os resultados obtidos para valores de LD_{50} após 24h de incubação. Testes de citotoxicidade em relação a células não tumorais não foram realizados até o momento.

Tabela 23 - LD_{50} dos complexos e cisplatina contra células cancerígenas de-MB-231 e MG-63 após 24h de incubação.

Complexo	MDA-MB-231	MG-63
1	93,6 ± 4,6	>100
4	>100	63,1 ± 0,7
5	40,3 ± 2,3	65,1 ± 0,7
cisplatina	131 ± 18 ¹⁸⁷	39 ± 1,8

O complexo **5** mostrou valores similares de viabilidade celular para os dois grupos de células cancerígenas testados, na região de 25-75 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Enquanto isso, o complexo **1** apresentou a menor atividade anticâncer, com uma taxa de LD_{50} maior que 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ contra câncer de ossos. Já o complexo **4** diminuiu a viabilidade celular de osteosarcoma humano, mas não demonstrou efeitos nas células de câncer de mama.

Assim, esses resultados demonstram que o complexo **5** é o mais ativo entre os testados, sendo mais ativo que a própria *cisplatina*, mostrando valor de LD₅₀ 3 vezes menor que os medicamentos.¹⁸⁷ Na literatura é possível encontrar valores similares aos obtidos para o complexo **5**, para diferentes complexos de ferro.¹⁸⁸

Estes resultados, também mostraram o efeito sinérgico positivo entre os complexos e a presença dos grupos BIMZ na segunda esfera de coordenação. Além disso, fica claro o potencial diverso dos compostos desenvolvidos nesse trabalho.

1.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE O CAPÍTULO 1

Neste primeiro capítulo, foi descrito o desenvolvimento de novos ligantes e complexos de ferro(III), desenhados para atuarem como catalisadores da clivagem hidrolítica de ésteres de fosfato e renegadores da enzima acetilcolinesterase. Cada parte dos ligantes foi projetada para desenvolver uma determinada função nas reações de hidrólise e promover compreensão sobre o efeito da segunda esfera de coordenação e dos grupos BIMZ no processo de catálise. Todos os ligantes e complexos foram devidamente caracterizados por diversas técnicas analíticas, incluindo a modelagem molecular via cálculos computacionais de DFT, que ajudam a corroborar as estruturas propostas.

Os grupos laterais não coordenantes influenciaram diretamente as propriedades físico-químicas dos complexos. Interações de hidrogênio entre as cadeias laterais e o grupo fenólico distorceram a geometria destes compostos quando em comparação com o complexo mononuclear de ferro usado como referência. A quebra da interação π -stacking entre o anel fenólico e piridínico (presente em **1**) aumentou a energia entre orbitais HOMO e LUMO, deslocando os potenciais eletroquímicos dos complexos, assim como aumentou a energia necessária para promoção das transições eletrônicas. O ambiente químico em torno do átomo de ferro também se tornou mais assimétrico quando comparado com **1**.

Já nos ensaios cinéticos, os complexos foram testados na hidrólise de um substrato modelo de triéster de fosfato, apresentando atividade catalítica em todos os casos. O uso de grupos de segunda esfera causou deslocamento do pH de maior atividade, para regiões neutras (com BIMZ) e básicas (grupos amina), através da formação de espécies ativas em diferentes condições. A variação da cadeia impactou diretamente a associação entre complexo-substrato, diminuindo conforme a cadeia aumenta. Contudo, a presença destes grupos aumentou a eficiência dos complexos, principalmente quando o grupo BIMZ se fez presente. O uso destes grupos laterais mostrou um aumento na entropia do sistema (causados por aumento de efeito estérico), mas aumentou a constante catalítica da reação. Dentre todos os exemplos, o complexo **4** foi o que mostrou o balanço mais positivo entre tamanho de cadeia e atividade,

gerando a melhor eficiência catalítica. Já complexo **3**, de cadeia alongada com amina terminal, foi o menos eficiente.

Buscou-se elucidar o mecanismo, avaliando o impacto das mudanças estruturais na atividade, como forma de avançar no *design* de compostos bioinspirados aumentando a eficiência dos modelos sintetizados. O alongamento da cadeia promoveu a transição de um mecanismo intramolecular (observado para **1** e **4**) para uma catálise básica geral (demais complexos) deixando claro que a segunda esfera tem um papel importante no mecanismo reacional. Os parâmetros termodinâmicos se mostram muito similares entre si, indicando que todos os complexos diminuem a energia necessária para que a reação ocorra (atuam como catalisadores). Finalmente, os ensaios de turnover mostraram que **2-5** são capazes de hidrolisar mais de uma unidade de substrato por unidade de complexo.

De modo geral, o trabalho aqui reportado é bastante promissor, mostrando a capacidade catalítica de compostos mononucleares contendo segunda esfera de coordenação. Além disso, o uso destes catalisadores para hidrólise de triésteres de fosfato ainda é uma área pouco explorada. Acredita-se que este trabalho pode impactar diretamente o desenvolvimento de novas pesquisas na área de desenvolvimento de novos catalisadores com esse objetivo.

Não obstante, os estudos de interação com a enzima acetilcolinesterase, revelaram que o complexo **5** promoveu 43% de inibição enzimática. Isso confirma a assertividade da hipótese proposta no trabalho, que buscava desenvolver complexos mononucleares capazes de interagir com o sítio ativo da enzima. Apesar do catalisador não ter sido capaz de promover a regeneração da enzima após contaminação com OPs, os resultados indicam que a inclusão de grupos BIMZ na segunda esfera de coordenação, juntamente com modificações no ligante para possibilitar interações com regiões específicas da enzima, foi eficaz e abrem um ótimo precedente para mais estudos na área.

Finalmente, os ensaios de citotoxicidade indicam que o complexo **5** é o mais ativo entre os testados, demonstrando uma significativa redução na viabilidade celular em comparação com os outros complexos e até mesmo com a *cisplatina*. Esses resultados, em conjunto com os dados de hidrólise de triésteres de fosfato e interação enzimática, evidenciam o potencial dos

complexos desenvolvidos neste estudo para aplicações em diversas áreas do conhecimento.

2 SEGUNDO CAPÍTULO:

***CLUSTER DE ZIRCÔNIO COMO O PRIMEIRO EXEMPLO DE SÍTIO M^{IV} - M^{IV}
BIOINSPIRADO EM PAPS E MATERIAIS HÍBRIDOS DERIVADOS DE MOFS
DE ZIRCÔNIO E COMPLEXOS METÁLICOS DE FERRO(III)***

2.1 REVISÃO DA LITERATURA

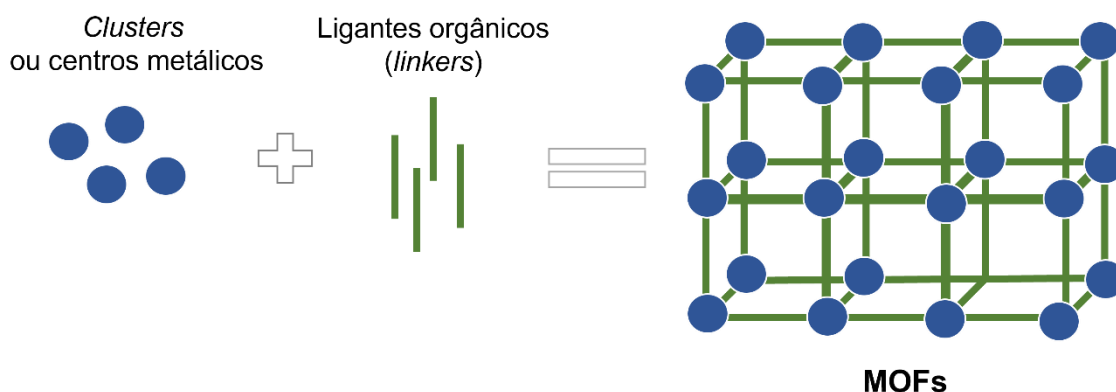
No estudo de degradação de ésteres de fosfato, é comum observar o uso catalisadores sintéticos bioinspirados, com sítios metálicos binucleares do tipo $M^{II}-M^{II}$, $M^{II}-M^{III}$ e até $M^{III}-M^{III}$.^{45,111,115,116,128,136,138,189} Os compostos do tipo $M^{II}-M^{II}$ comumente são ativos em pH alcalinos, sendo miméticos à fosfatases alcalinas, como a PTE,^{129,138} enquanto as unidades $M^{II}-M^{III}$ costumam ser comparadas as fosfatases ácidas, demonstrando boa atividade em pHs ácidos e neutros.^{110,117,136} Já os exemplos do tipo $M^{III}-M^{III}$ normalmente são apresentados como exemplos estruturais, e/ou estão ligados a estudos de formação de espécies heterovalentes *in situ*, para demonstrarem atividade.^{129,189} Como discutido no primeiro capítulo, a dependência da eficiência destes complexos é diretamente relacionada às capacidades destes metais em gerar os sítios adequados para coordenação e hidrólise dos substratos. Tendo em vista a menor atividade relacionada a complexos homo-trivalentes,¹²⁹ os estudos de hidrólise envolvendo compostos de coordenação em maiores estados de oxidação, foram pouco explorados quando comparado aos exemplos divalentes.

Ao mesmo tempo, a utilização de *Metal Organic Frameworks* (MOFs) para reações de hidrólise de triésteres de fosfato, pesticidas e gases de guerra, tem gerado ótimos resultados ao longo dos anos, utilizando metais em estados de oxidação mais altos.¹⁹⁰⁻¹⁹² Contudo, enquanto diversos avanços foram promovidos na química de coordenação relacionando a atividade destes complexos com a sua estrutura, pouco é conhecido sobre como os MOFs performam estes excelentes resultados na hidrólise de fosfatos. O estudo mecanístico de processos catalíticos heterogêneos (como é o caso dos MOFs) geralmente dificulta a elucidação do caminho reacional. Por isso, é comum observar estudos teóricos envolvendo estes compostos como forma de interpretar os resultados experimentais observados.^{43,193} Todos esses estudos concordam que a catálise deve ocorrer na superfície das subunidades que formam esses MOFs. Essas subunidades, em sua maioria, são estáveis e podem ser isoladas e estudadas separadamente, sendo conhecidas como *clusters*. As particularidades e funcionalidades desses catalisadores merecem destaque, principalmente no estudo de hidrólise de ésteres de fosfato, como será apresentado a seguir.

2.1.1 Estrutura e reatividade dos MOFs

Os MOFs têm sido o principal foco de estudos de aplicação de materiais porosos nas últimas duas décadas, principalmente como catalisadores de diversas reações e processos de desintoxicação e biorremediação. Estes compostos consistem em estruturas supramoleculares organizadas formadas por íons metálicos ou *clusters* inorgânicos (subunidades) e conectores (*linkers*) orgânicos (Esquema 12). São materiais interessantes devido à sua capacidade de ajustes finos em suas estruturas, de acordo com a função desejada.¹⁹⁴ Podem ser desenhados para exibir diferentes estados de oxidação e geometrias que podem influenciar as suas propriedades catalíticas. Além disso, os ligantes podem ser modelados para exibirem grupos funcionais específicos que podem promover funcionalidades adicionais no material.¹⁹⁵ Sua síntese normalmente envolve uma reação do metal com o ligante em solvente adequado, em condições de alta temperatura e pressão, e pequenas variações nas condições reacionais podem influenciar a estrutura cristalina do material.

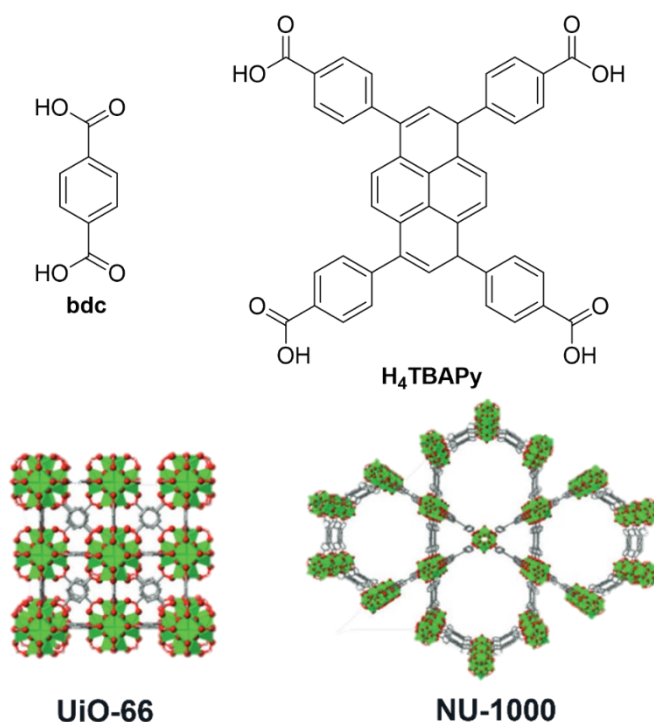
Esquema 12 - Formação dos MOFs a partir dos ligantes orgânicos e clusters metálicos.



MOFs podem apresentar altas áreas superficiais e poros que podem medir desde menos de 1 nm até centenas de nanômetros. O tamanho e formato desses poros também podem ser controlados com boa precisão pelo ligante orgânico usado. Por exemplo, ambos os MOFs de zircônio NU-1000 e UiO-66 são formados a partir de *clusters* metálicos do tipo $\{Zr_6O_8\}$, mas o uso de diferentes componentes orgânicos promove a formação de macroestruturas

diferentes (Figura 41). Enquanto o MOF UiO-66 utiliza o ligante ácido 1,4-benzenodicarboxílico (bdc) e apresenta um poro de cerca de 11,7 Å, o MOF NU-1000 utiliza um ligante muito mais volumoso, o 1,3,6,8-tetrakis(ácido p-benzóico)pireno (H_4TBAPy), o que gera um poro de cerca de 31 Å.

Figura 41 - Estruturas dos MOFs UiO-66 e NU-1000.



MOFs são catalisadores de uma variedade de reações, incluindo oxidação, redução e formação de ligações carbono-carbono. Eles exibem alta atividade catalítica, principalmente por prover um alto número de sítios ativos em cada um dos seus poros.¹⁹⁵ A estabilidade química e térmica desses materiais varia de acordo com sua composição e estrutura, mas, no geral estes são compostos resistentes a variações de pH e temperatura. Essas características permitem com que eles sejam bons substitutos ao uso de enzimas em processos catalíticos. Por muitas vezes, eles são capazes de mimetizar a atividade das enzimas, superando essas tanto na variedade de substratos em que atuam como em diversidade de condições reacionais. Outra vantagem desses sistemas vem do seu baixo custo, uso de materiais facilmente disponíveis e sua possibilidade de reuso.¹⁹²

Uma das principais aplicações destes compostos é na catálise biomimética, como enzimas artificiais para a hidrólise de ligações fosfato e de ligações peptídicas. Por exemplo, a hidrólise de ligações peptídicas por MOFs contendo unidades de Zr^{IV} é particularmente efetiva devido à sua acidez de Lewis. Uma aplicação direta envolvendo estes estudos é para o sequenciamento de proteínas via espectrometria de massas, para os quais é necessário clivar a enzima em fragmentos menores, cuja detecção e estudo são menos complexos. Um dos principais desafios nesse processo é a seletividade da reação de hidrólise, uma vez que esta simplifica a interpretação dos dados, e permite um melhor planejamento dos experimentos a serem executados.¹⁹⁶

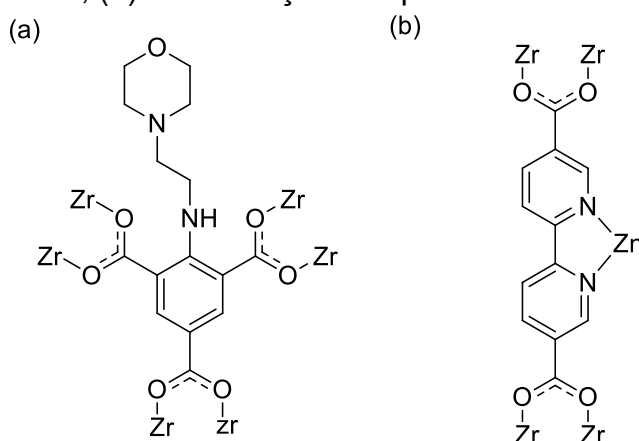
Por serem uma classe de materiais porosos e cristalinos, de alta área superficial específica, eles são capazes de adsorver pequenas estruturas de poluentes. Estudos vêm mostrando que essas estruturas também são capazes de fotocatalisar a degradação destas substâncias. No trabalho de Liu *et al.*,(2017) foram utilizadas algumas estruturas MOFs como catalisadores de reações de hidrólise de ligações P-O em ésteres de fosfato utilizando o paroxon-etílico como substrato modelo. Os resultados, expressos em tempos de meia vida, indicam a eficiência das estruturas como catalisadores da degradação deste triéster, quando comparado com sua degradação natural. Além do triéster, a hidrólise de outros compostos neurotóxicos também foi testada.¹⁰⁷

Muitos outros trabalhos já foram reportados na área, evidenciando a eficácia de MOFs de zircônio como catalisadores dessas reações.^{33,197–199} Alguns desses também tentaram elucidar, por meio de aproximação teórica, a ação dos catalisadores no processo de hidrólise,¹⁹³ e desvendar as condições reacionais de maior atividade.^{200,201} A atividade hidrolítica destes nanocatalisadores pode ser estendida a clivagem de diésteres de fosfato, mostrando atividades que realçam a importância destes compostos e seus estudos.^{202–204}

Além do uso dos MOFs de forma isolada, também é possível aumentar a atividade desses catalisadores pela inserção de novos grupos funcionais na superfície do material. Esse processo de modificação pós sintética pode ser realizado pelo tratamento do MOF em solução contendo as moléculas de interesse, ou através da formação de ligações covalentes entre essas moléculas e os MOFs durante a síntese do próprio material.¹⁹⁵ Esse processo de

incorporação é normalmente utilizado para promover sistemas de “*drug delivery*” pela inserção de medicamentos e biomoléculas nos poros desses materiais.^{34,76,205,206} Outra possibilidade é o uso de *linkers* que permitam a interação com outras moléculas de interesse, como alternativa à incorporação delas aos poros. A inserção desses grupos pode aumentar a atividade de interesse dos MOFs, por exemplo, a modificação pós sintética do MOF-808-NH₂, pela inserção de 4-(2-cloroetil)morfolina (Figura 42a), aumentou a atividade do material frente a hidrólise de um triéster de fosfato, diminuindo o tempo de meia vida de 57 para 24 min.¹⁹¹ Outro exemplo é o uso de ligantes com grupos bipyridinas que permitiram a coordenação de átomos de Zn (Figura 42b) à estrutura dobrando a taxa de hidrólise de bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato.²⁰⁷

Figura 42 - Exemplos de modificações pós sintéticas nos MOFs. (a) grupo etilmorfolina foi adicionado; (b) coordenação das piridinas ao zinco.

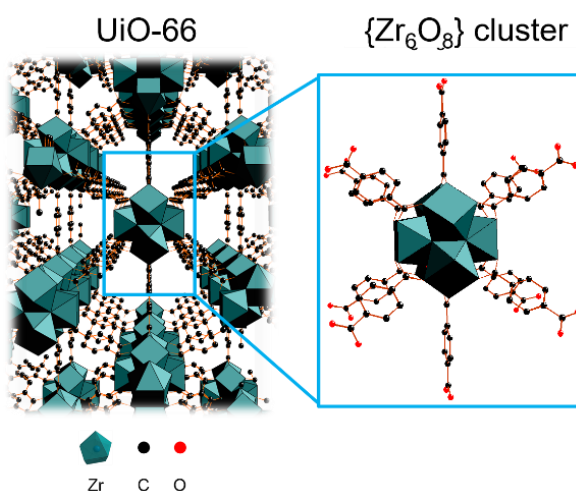


Mesmo que muitos avanços tenham sido realizados no desenvolvimento de MOFs como catalisadores, pouco se sabe sobre os mecanismos em que esses materiais atuam. Por aproximações teóricas, sabe-se que as reações de catálise costumam ocorrer sobre os chamados defeitos sob a estrutura de rede desses MOFs. Nesses casos, parte dos *clusters* não estão coordenados aos ligantes orgânicos, apresentando ligantes aquo e/ou hidróxido na esfera de coordenação do centro metálico.^{193,208} Assim, esses *clusters* são os responsáveis pelo processo catalítico de diversas reações envolvendo os MOFs. Na próxima seção, o efeito catalítico desses *clusters* continuará a ser explorado.

2.1.2 Clusters de Zircônio

Mesmo que boa parte da atividade dos MOFs seja atribuído aos seus *clusters*, a utilização dessas subunidades (Figura 43) ainda é pouco explorada quando em sua forma isolada. Comparando, por exemplo, *Zr-clusters* com os Zr-MOFs, observam-se algumas similaridades, principalmente no que diz respeito a estrutura, modulação do material e porosidade. Além disso a maior força de ligação Zr-O confere características superiores aos *clusters* que aumentam estabilidade e solubilidade, permitindo aplicações em solução.²⁰⁹

Figura 43 - Estrutura do MOF Zr-UiO-66 e suas subunidades formada por *clusters* de Zr₆.



Clusters metálicos são sistemas organizados que combinam estruturas orgânicas e inorgânicas. Sua formação pode depender de fatores como temperatura, pressão, concentração dos metais, proporção entre os conectores inorgânicos/orgânicos, dispersão e outros parâmetros no processo de síntese.²⁰⁹ Devido a essa gama de possibilidades, estes materiais apresentam propriedades particulares devido ao seu tamanho e organização estrutural,²¹⁰ que podem ser moduladas de acordo com a função desejada, de maneira muito similar ao que se observa para os MOFs.

Utilizando os mesmos constituintes em uma síntese é possível se obter diversos *clusters* diferentes. Além disso, estes podem ser modificados após a síntese, alterando suas propriedades. *Clusters* metálicos podem ser obtidos a partir dos sais de metais correspondentes por meio de reação com ácidos carboxílicos insaturados ou sais de carboxilatos. Quando certos alquil óxidos ou

haletos metálicos reagem com ácidos carboxílicos, um ou mais ligantes alquil óxido são substituídos por grupos carboxilato na primeira etapa da reação.²¹¹ O álcool assim liberado pode então passar por formação de éster, na qual a água é produzida. Isso é a fonte dos grupos óxido ou hidróxido nos aglomerados formados do tipo $M_x(O/OH/OR)_y(\text{carboxilato})_z$. A presença dos ligantes orgânicos inibe o crescimento do aglomerado e impede a formação de géis de óxidos metálicos,²¹² resultando em compostos finais geralmente neutros. Normalmente são formados por metais dos grupos III-VI, cujos estados de oxidação mais elevados permitem as múltiplas ligações de oxigênio, resultando em *nanoclusters* poliédricos. Em comparação com outros elementos (por exemplo, lantanídeos), os metal-oxo-*clusters* baseados no grupo IV apresentam alta estabilidade e estruturas facilmente isoláveis.^{213,214} Por exemplo, Zr-oxo-*clusters* podem ser preparados tanto em soluções aquosas quanto em meios orgânicos. Em soluções aquosas, sulfatos e peróxidos frequentemente atuam como ligantes de cobertura comuns, enquanto meios orgânicos possibilitam a formação de *clusters* a base de alcóxidos ou carboxilatos com núcleos de 3 a 26 átomos de Zr.

Clusters de Zr podem ser formados por várias nuclearidades, e são facilmente obtidos em reações à temperatura ambiente. A quantidade de átomos metálicos impacta diretamente no arranjo dos átomos e, por consequência, em suas atividades catalíticas. Por exemplo, *clusters* menores são obtidos via condições específicas: Enquanto *clusters* de Zr_3 tendem a ser planares e simétricos, os de Zr_4 com metacrilato como ligante, podem ser obtidos em arranjos simétricos e não-simétricos, de acordo com a síntese. Já para formar um cluster de Zr_5 , é necessário se utilizar ligantes de cobertura com grande impedimento estérico, prevenindo a organização em um sistema do tipo Zr_6 . Alguns exemplos de arranjo dos *clusters* ainda não foram observados isoladamente, como os *clusters* de Zr_8 e Zr_9 , que são estáveis como subunidades em MOFs. Grandes *clusters*, com mais de dez átomos de metal, também podem ser obtidos, mas nesses casos é comum observar os ligantes, não somente como cobertura do cluster, mas atuando também como ponte (além das pontes oxo e hidrox).²¹⁵

Apesar da vasta gama de *clusters* de Zr, os de Zr_6 e Zr_{12} são os mais comuns e explorados. Estes materiais são bastante estáveis ao ar e água em

condições neutras contudo, são degradados em condições básicas ou ácidas, formando espécies de menores nuclearidades ou se polimerizam.²¹¹ *Clusters* de Zr_6 possuem uma estrutura bastante universal que pode ser obtida com diferentes ligantes, como ácido metacrílico, acético, isobutírico, benzóico, entre outros. Em Zr_6 , cada átomo de Zr é coordenado a outros 8 átomos, sendo três pontes oxo e três pontes hidroxio ($\mu_3\text{-O}$ e $\mu_3\text{-OH}$). Os átomos do metal se organizam normalmente em um arranjo octaédrico, cobertos por cerca de 12 ligantes carboxilatos. É comum que esses ligantes se organizem em três, nas faces dos octaedros, formando um sistema de simetria C_{3V} .²¹¹

Já os *clusters* de Zr_{12} são usualmente constituídos de duas unidades de Zr_6 interconectadas por quatro pontes dos mesmos ligantes de cobertura. Essa dimerização pode acontecer principalmente quando o efeito estérico dos ligantes é pequeno. Em solução, é possível que os *clusters* de Zr_6 e Zr_{12} se interconvertam, o que usualmente gera maior reatividade nos *clusters* de Zr_{12} .²¹⁶

No geral, mesmo sendo moléculas grandes (de alta massa molecular), são normalmente solúveis em água, podem ser purificados e analisados por técnicas analíticas e espectroscópicas, bem como atuarem como catalisadores homogêneos. Em geral, estes *clusters* combinam as melhores características de catalisadores homogêneos como estudo da reatividade e *design*, com a robustez, eficiência e reciclabilidade dos heterogêneos. Normalmente eles também apresentam resistência térmica e oxidativa maior que moléculas orgânicas que permitem que sejam usados em condições reacionais extremas.^{211,217} Muitos destes materiais podem ser facilmente separados da solução, podendo ser recuperados e reutilizados, característica normalmente não encontrada em catalisadores a base de ácidos de Lewis como os compostos de coordenação usuais. Sendo assim, o uso deles representa uma oportunidade no desenvolvimento de uma nova classe de catalisadores que pode ter um impacto direto na atividade e aumento da sustentabilidade.

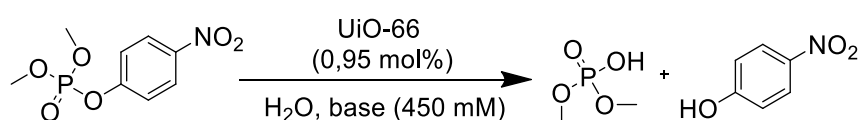
2.1.3 Atividade catalítica dos *clusters*

Atualmente, catalisadores inorgânicos predominantemente dependem de complexos metálicos homogêneos convencionais ou materiais heterogêneos. Em particular, materiais baseados em *clusters*, os MOFs, foram exaustivamente

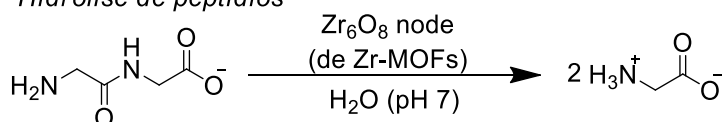
utilizados para facilitar reações de hidrólise de fosfoésteres e peptídeos em soluções aquosas (Esquema 13). Como catalisadores da hidrólise de mono- di- ou triésteres, os MOFs a base de Zr tem recebido destaque na literatura nos últimos anos. Para OPs, eles têm servido tanto para processos de adsorção e desintoxicação, quanto para processos de degradação, promovidos por reações de hidrólise.^{34,197} MOFs como Zr-NU-1000 e UiO-66 foram extensivamente explorados ao longo dos anos, apresentando alta eficiência principalmente em condições alcalinas.^{190,218}

Esquema 13 - Reações catalisadas por subunidades de Zr-MOFs.

• *Hidrólise de ésteres*



• *Hidrólise de peptídios*



Os Zr-MOFs foram pioneiros no uso de catalisadores heterogêneos na hidrólise de vários peptídeos e na clivagem específica de proteínas. Apesar dos diferentes MOFs utilizados como catalisadores desta reação, é comum a todos que a estrutura seja baseada nas subunidades do tipo Zr₆O₈.¹⁹² Uma análise específica comparativa entre o MOF-808 e o NU-1000 destacou ainda mais o papel crucial do núcleo de Zr durante os processos de catálise. MOF-808, com menos ligantes coordenados ao oxo-cluster, expõe mais sítios ativos do que NU-1000, resultando em uma notável diminuição no tempo de meia-vida da reação de hidrólise de peptídeos de 120 para 0,72 h.²¹⁹

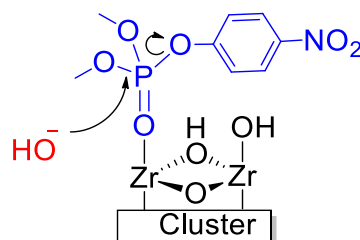
No nível molecular, o sítio ativo desses materiais foi demonstrado por meio de diversos estudos de modelagem. Esses trabalhos evidenciaram os centros Zr^{IV} dos *clusters* como ativadores dos grupos de amida e fosfoéster em direção ao ataque da água, como elucidado no Esquema 14. O mecanismo passa por intermediários de reação muito similares aos descritos para compostos de coordenação usuais. Em geral, pode-se dizer que se os MOFs

são comparados a enzimas artificiais, os *clusters* metálicos, são os seus sítios ativos.

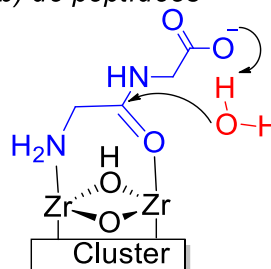
Esquema 14 - Proposta de intermediários catalíticos nas reações de hidrólise catalisadas pelas subunidades de Zr-MOFs

Intermediário de reação de hidrólise:

(a) de ésteres



(b) de peptídeos

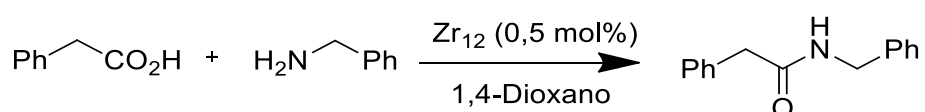


Contudo, mesmo que seja evidente que boa parte da atividade dos MOFs é decorrente da disponibilidade dos *clusters* no material, o uso desses como catalisadores isolados não é amplamente explorado. Eles apresentam uma relação de composição-estrutura bastante nítida que pode ser utilizada para elucidar o mecanismo das reações, uma clara vantagem quando comparado aos MOFs.²²⁰ Além disso, os *clusters* apresentam propriedades físico-químicas extremamente atrativas para o desenvolvimento de catalisadores, dispositivos eletrônicos e fotoquímicos, com uma infinidade de aplicações potenciais em áreas como química e tecnologia. Além disso, já demonstram atividade promissora antiviral, antibacteriana e anticâncer, e têm sido extensivamente estudados em pesquisas cristalográficas envolvendo proteínas e ácidos nucleicos.²²¹

O potencial desses *clusters* como catalisadores foi recentemente explorado como proteases artificiais, na clivagem de proteínas através de *clusters* de Hf^{IV} e polioxometalatos a base de Zr (Zr-POMs – *clusters* aniônicos de alta massa molecular). Além de serem eficientes na hidrólise destas ligações, eles também foram seletivos ao promover a clivagem de resíduos de aspartato.^{221,222} Além disso, Zr-oxo-*clusters* (Zr₆ e Zr₁₂) foram recentemente explorados como novos catalisadores discretos para a formação de ligações amida. Esses catalisadores possibilitaram a formação de um escopo de amidas sem a necessidade de condições anidras ou técnicas de eliminação de água,

resultando em produtos com bons rendimentos, de até 95% (Esquema 15). Todo o caminho reacional pode ser otimizado através das mudanças de condições, elucidando a relação entre componentes e rendimento. Além disso, o catalisador pode ser recuperado e reutilizado, mesmo em baixas concentrações. Assim, pode-se considerar que o uso de catalisadores à base de *clusters* metálicos abre caminho para reações mais eficientes realizadas em condições mais simples. No caso das amidificações, por exemplo, isso poderia significar a realização de reações sem a limitação industrial da eliminação de água.²²³

Esquema 15 - Reação de formação de amidas catalisada por Zr-cluster.



Considerando o uso de *clusters* e o potencial de Zr-MOFs como fosfoesterases, é surpreendente que estes nunca tenham sido investigados isoladamente como catalisadores da hidrólise de ésteres de fosfato. Observando o mecanismo de ação sugerido para as reações de hidrólise e formação de peptídeos, fica evidente a semelhança do sítio de coordenação desses *clusters* com o sítio ativo da PAPs. É comum observar MOFs (e conseqüentemente os *clusters*) como catalisadores alcalinos de OP, sendo que, por algumas vezes esses materiais são comparados a PTE, por atuarem em pH alto. Contudo, alguns estudos demonstraram que MOFs também podem ser ativos em pHs mais baixos.²⁰⁰ Mesmo assim, sabe-se pouco sobre o mecanismo de atuação destes compostos e como os *clusters* podem atuar isoladamente em reações de hidrólise, abrindo espaço para maiores estudos na área. Ao entender a relação entre estrutura do catalisador e rendimento, é possível avançar na busca e *design* de catalisadores mais eficientes, assim como foi feito para compostos de coordenação ao longo das últimas quatro décadas.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivos gerais

Avaliar a atividade de *clusters* de Zircônio como catalisadores da reação de hidrólise de ésteres de fosfato e primeiro exemplo de sítio $M^{IV}M^{IV}$ bioinspirado em PAPs, buscando entender a relação entre o mecanismo de reação com estrutura dos catalisadores.

2.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar o cluster $[Zr_6O_4(OH)_4(C_2H_3O_2)_8(H_2O)(OH)Cl_3]$;
- Testar a atividade do cluster frente ao substrato etil paraoxon;
- Promover ensaios cinéticos que permitam avaliar o mecanismo de ação deste cluster, assim como utilizar estudos teóricos para corroborar os resultados experimentais;
- Realizar ensaios cinéticos utilizando outros *clusters* e MOFs para elucidar a relação entre mecanismo e estrutura dos catalisadores;
- Comparar o mecanismo atribuído com o descrito para a enzima;
- Sintetizar materiais híbridos à base de Zr-MOFs e complexos metálicos;
- Testar a atividade desses materiais híbridos como catalisadores da hidrólise do paraoxon etílico.

2.3 PARTE EXPERIMENTAL

Todos os estudos reportados no segundo capítulo foram desenvolvidos na Universidade Católica de Lovaina (KU Leuven), em Lovaina, Bélgica. As atividades foram conduzidas no Laboratório de Bioinorgânica (LBC), com supervisão da Professora Tatjana Parac-Vogt no período de oito meses como parte do Programa de Internacionalização da Fundação de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (PrINT-CAPES), no formato de doutorado sanduíche.

2.3.1 Materiais e Métodos

Os *clusters* de Zr₆ e Zr₁₂ utilizando os ligantes: ácido acético,²²⁴ ácido benzóico,²²⁵ ácido propiônico,²²⁴ ácido acrílico,²²⁶ ácido butanóico,²¹⁶ ácido metilbutanóico²¹⁶ e ácido metacrílico²²⁷ foram sintetizados de acordo com a literatura, e cedidos por membros do LBC (KU – Leuven, Bélgica). Da mesma forma, os MOFs de Zr UiO-66 e NU-1000²²⁸ também foram cedidos pelo laboratório. Todos os reagentes e solventes foram utilizados sem purificação prévia: Acetonitrila (Aldrich, >99,9%), Acetona (Aldrich, >99,9%), Cloreto de Zircônio (Aldrich); Ácido Acético Glacial (Aldrich, 99,7%), HEPES (Aldrich, 99,5%), Isopropanol (Aldrich, >99,9%), Paraoxon-etílico (Aldrich, 90%), TRIS (Aldrich).

2.3.1.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IR) e na região do UV-Vis

Os espectros de análise de Infravermelho foram coletados em um equipamento Bruker Vertex 70 com transformada de Fourier (FTIR). Os espectros na região de ultravioleta -visível foram medidos em um espectrofotômetro Agilent Cary 6000i UV-Vis-NIR, em cubeta de quartzo (caminho óptico de 1 cm).

2.3.1.2 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (NMR)

Os espectros de NMR de ^1H foram registrados em um espectrômetro Bruker Avance 400 em água deuterada (D_2O - sinal residual em 4,91 ppm) com uma concentração de $0,0016 \text{ mol L}^{-1}$ de 3-(trimetilsilil) propanoato-2,2,3,3- d_4 de sódio (TMSP- d_4) como referência interna.

2.3.1.3 Análise de digestão por NMR

A digestão do cluster foi realizada dissolvendo 12,0 mg de cluster de Zr_6 em 700 μL de NaOD 1 mol L^{-1} , a temperatura ambiente. Após 24 horas, a amostra foi centrifugada por 3 minutos a 15000 rpm. 600 μL da solução sobrenadante foi transferida para um tubo de NMR com 15 μL de uma solução de TMSP- d_4 $0,055 \text{ mol L}^{-1}$, e o espectro de ^1H NMR desta amostra foi medido em um espectrômetro Bruker Avance de 400 MHz. O mesmo procedimento foi utilizado na digestão dos materiais híbridos sintetizados.

2.3.1.4 Difração de raios X de pó (PXRD)

O padrão de difração de raios X de pó (PXRD) foi obtido em um difratômetro Empyrean da Malvern PANalytical (em modo de transmissão) em uma faixa de $1,3$ a $45^\circ 2\theta$, utilizando um detector de estado sólido PIXcel3D e um ânodo de Cu (Cu $\text{K}\alpha_1$: $1,5406 \text{ \AA}$; Cu $\text{K}\alpha_2$: $1,5444 \text{ \AA}$).

2.3.1.5 Titulação Potenciométrica

A titulação foi realizada em um titulador automático Mettler-Toledo T5. A calibração foi efetuada com soluções tampão comerciais de pH 2,00, 4,00, 7,00 e 12,00 (Chem Lab). Zr_6 (52 mg) e KCl (29 mg) foram dissolvidos em água (40 mL). A solução foi coberta com Parafilm[®] deixada sob agitação para equilíbrio do sistema por 2 horas antes da titulação. O pH inicial foi medido e, em seguida, titulado com KOH aquoso $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ até atingir pH 11,5. Os volumes de injeção variaram entre 0,05 mL e 0,005 mL. As titulações foram conduzidas em duplicata. Os pontos de equivalência foram calculados usando a primeira derivada das

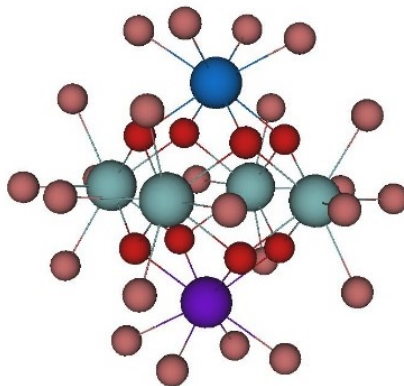
curvas, seguindo a variação de pH em função do volume de titulante adicionado. Os pontos de máximo da derivada indicam os pontos de equivalência. Os valores de pK_a foram determinados como o pH da solução quando metade do volume de titulante necessário para atingir um ponto de equivalência foi adicionado.

2.3.1.6 Espectroscopia de Estrutura Fina de Absorção de Raios X (EXAFS)

As análises e tratamento de dados foram realizados pelo Dr. Angelo Mullallui, da Universidade Católica de Lovaina, Bélgica. Experimentos de Espectroscopia de Estrutura Fina de Absorção de Raios X foram conduzidos na linha de feixe XAFS 11.1 da Elettra - Sincrotrone Trieste (Itália). O anel de armazenamento operou a 2,4 GeV no modo de recarga contínua, com uma corrente típica de 310 mA. Dados de XAFS foram registrados na borda K de Zr no modo de transmissão, utilizando pastilhas preparadas misturando uma quantidade apropriada do *cluster* e celulose. Espectros foram adquiridos de 17698 eV a 19522 eV ao redor da borda K de Zr, com um passo k constante de $0,03 \text{ \AA}^{-1}$ e tempo de aquisição de 2 s/ponto.

A análise estendida de XAFS (EXAFS) foi realizada utilizando o pacote GNXAS, baseado na teoria de espalhamento múltiplo (MS). O sinal senoidal dos espectros experimentais de EXAFS foi descrito considerando apenas algumas contribuições-chave do modelo estrutural mostrado no Esquema 16. Dois termos de dois corpos ($\gamma^{(2)}$) foram utilizados para considerar os dois diferentes oxigênios estruturais no ambiente da primeira camada de Zr ($\gamma_1^{(2)}(\text{Zr} - \text{O}1)$ e $\gamma_2^{(2)}(\text{Zr} - \text{O}2)$, cada um com degenerescência $N = 4$), enquanto dois sinais de dois corpos adicionais foram usados para descrever os pares $\gamma_3^{(2)}(\text{Zr} - \text{Zr})$ com $N = 4$ e $\gamma_4^{(2)}(\text{Zr} - \text{Zr})$ com $N = 1$).

Esquema 16- Representação gráfica do modelo estrutural utilizado para a análise de EXAFS. Cada Zr (por exemplo, Zr azul na parte superior) coordenados a oito átomos de oxigênio ($4\mu_3\text{-O} \sim 2,1 \text{ \AA}$ e $4\mu_2\text{-O} \sim 2,2 \text{ \AA}$, descritos por γ_1 e γ_2 , respectivamente), quatro átomos de Zr equatoriais (átomos azuis-claros a $\sim 3,6 \text{ \AA}$) e um átomo de Zr apical (átomo violeta a $\sim 5,0 \text{ \AA}$).



2.3.1.7 Estudo de hidrólise do paraoxon-etílico (POX)

Em um microtubo de centrifugação de 1,5 mL, o cluster de **Zr₆** (2,0 mg; 1,5 μmol) foi dissolvido em 1 mL de solvente (HEPES 0,1 mol L⁻¹ pH= 7,0, TRIS 0,1 mol L⁻¹ pH= 9,8 ou água destilada). O pH da solução foi medido, e 6 μL de paraoxon-etílico (25 μmol) foram adicionados. A reação foi realizada em um agitador térmico a 60 °C. Amostras (10 μL) foram coletadas em momentos específicos após centrifugação rápida da mistura reacional (3 minutos, 15000 rpm) e imediatamente diluídas com água (1 mL) e analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis, onde se observou a formação do produto **4-NP** em 317 nm (9021 L mol⁻¹ cm⁻¹). A reação foi monitorada por 31 horas, e o pH foi medido novamente neste ponto. O mesmo procedimento foi seguido para experimentos realizados a 37 °C.

A hidrólise espontânea foi investigada realizando reações a 60 °C em condições idênticas às descritas acima para **Zr₆**, mas sem adição de qualquer catalisador. POX (6 μL , 25 μmol) foi adicionado em água (pH 3,0 corrigido com HCl, 37%) ou em tampão (HEPES 0,1 mol L⁻¹ pH= 7,0). Assim como para **Zr₆**, amostras (10 μL) foram coletadas em momentos específicos, diluídas em água e analisadas usando um espectrofotômetro UV-Vis no mesmo comprimento de onda previamente citado.

Experimentos envolvendo outros *clusters* de Zr_6 e Zr_{12} e os MOFs NU-1000 e UiO-66 foram realizados conforme descrito para Zr_6 , utilizando 6% em massa de catalisador no estado sólido. Da mesma forma, a investigação dos efeitos isotópicos na taxa de hidrólise promovida por Zr_6 foi realizada nas mesmas condições descritas acima, mas utilizando água/tampões deuterados (HEPES $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ – pH 6,0) como solvente de reação.

Para os experimentos utilizando $ZrCl_4$ como catalisador, o sal de Zr foi adicionado usando soluções estoque de $ZrCl_4$ em água ou tampão HEPES. Para as reações em água, $600 \mu\text{L}$ ($1,5 \mu\text{mol}$ de Zr) da solução estoque de $ZrCl_4$ ($2,57 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Zr) foram diluídos em $400 \mu\text{L}$ de água. Para a reação em tampão HEPES, $200 \mu\text{L}$ da solução estoque de $ZrCl_4$ ($9,40 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Zr) ($1,5 \mu\text{mol}$) foram diluídos em $800 \mu\text{L}$ de tampão (HEPES $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH= 7,0). As reações foram realizadas e monitoradas como descrito para Zr_6 por 31 horas a $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

Para as reações de hidrólise com os materiais híbridos (MOFs + complexos sintetizados no primeiro capítulo) os MOFs sintetizados ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) foram adicionados a um microtubo de centrifugação de $1,5 \text{ mL}$ e 1 mL de solvente $\text{CH}_3\text{CN}/\text{HEPES } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 (1:1, v/v). Em seguida, $6 \mu\text{L}$ (25 mmol L^{-1}) de POX foram adicionados. A reação permaneceu sob agitação a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, e foi monitorada por até 48 h. Amostras de $10 \mu\text{L}$ foram retiradas periodicamente e diluídas em 1 mL do mesmo solvente para análise via UV-vis.

Os experimentos utilizando os complexos (Capítulo 1) foram realizados também em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{HEPES } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 (1:1, v/v), utilizando $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de cada complexo em 1 mL de solvente. Após a adição de $6 \mu\text{L}$ (25 mmol L^{-1}) de POX a mistura reacional foi mantida sob agitação a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e acompanhada por 60 h, através da retirada de alíquotas de $10 \mu\text{L}$ periodicamente. Estas foram dissolvidas em 1 mL do mesmo solvente e analisadas por UV-vis.

2.3.1.8 Estudos computacionais via DFT

Cálculos de DFT foram realizados pelos colaboradores Albert Solé-Daura, Jordi Puiggali-Jou, e Jorge J. Carbó da Universidade Rovira I Virgili, Espanha, utilizando o código Gaussian 16 (rev. A01).²²⁹ As geometrias de todos os sistemas foram completamente otimizadas sem quaisquer restrições de

simetria no nível B3LYP-D3BJ^{151,152,230–232} utilizando o conjunto de base 6-31G(d,p)^{233–235} para elementos do grupo principal e o conjunto de base LANL2DZ²³⁶ complementado por funções de polarização do tipo f de Frenking²³⁷ para átomos de Zr. Efeitos de solvente da água foram incluídos por meio do modelo de solvente IEF-PCM²³⁸ implementado no Gaussian 16. A natureza de mínimo ou ponto de sela de todas as espécies foi confirmada por meio do cálculo de frequência. Energias eletrônicas foram corrigidas realizando um cálculo de ponto único em estruturas otimizadas usando um conjunto de base mais estendido triplo- ζ (LANL2TZ(f)^{237,239} para Zr e 6-311G(d,p)²⁴⁰ para os elementos restantes). As energias livres foram calculadas na concentração padrão de 1 mol L⁻¹ a 60 °C usando o código GoodVibes,²⁴¹ exceto aquelas usadas para construir o modelo de especiação, que foram obtidas a uma temperatura de 25 °C. Variações de energia livre associadas ao deslocamento do equilíbrio ácido-base (ΔG) foram estimadas por meio da Equação 2:

$$\text{Equação 2: } \Delta G = \Delta G_r^{(1M, 60^\circ\text{C})} - \delta G_{H^+}^{(1\text{atm}, 60^\circ\text{C} \rightarrow 1M, 60^\circ\text{C})} + \delta G_{H^+}^{(1\text{atm}, 60^\circ\text{C} \rightarrow nM, 60^\circ\text{C})}$$

onde $\Delta G_r^{(1M, 60^\circ\text{C})}$ é a energia livre de desprotonação obtida a partir do pK_a por meio da Equação 2, e $\delta G_{H^+}^{(1\text{atm}, 60^\circ\text{C} \rightarrow nM, 60^\circ\text{C})}$ considera a variação de energia livre ao mudar de um estado de referência (de 1 atm a 60 °C) para prótons em um estado diferente que corresponde à sua concentração (n) no pH experimental.

$$\text{Equação 3 : } \Delta G_r^{(1M, 60^\circ\text{C})} = -\ln(10) RT pK_a$$

$$\text{Equação 4: } \delta G_{H^+}^{(1\text{atm}, 60^\circ\text{C} \rightarrow nM, 60^\circ\text{C})} = RT \ln(n RT)$$

Assim, $\delta G_{H^+}^{(1\text{atm}, 60^\circ\text{C} \rightarrow 1M, 60^\circ\text{C})}$ foi determinado como +2,19 kcal mol⁻¹, enquanto $\delta G_{H^+}^{(1\text{atm}, 60^\circ\text{C} \rightarrow nM, 60^\circ\text{C})}$ assume valores de -2,38 e -0,86 kcal mol⁻¹ a pH 3,0 e 2,0, respectivamente. Um conjunto de dados com as estruturas otimizadas das espécies mais relevantes está disponível no repositório ioChem-BD²⁴² e pode ser acessado em <https://iochem-bd.urv.es/browse/handle/100/1190>.

Determinar valores de pK_a com precisão com base exclusiva em dados computacionais ainda é um grande desafio para a química computacional, devido às dificuldades inerentes à modelagem de prótons em solução aquosa. Para contornar esse problema, os valores de pK_a para as espécies baseadas em **Zr₆** foram estimados da seguinte forma. Primeiro, calculamos as diferenças de energia livre entre o conjunto de ácidos inorgânicos compilados no APÊNDICE DD, para os quais valores experimentais de pK_a estão disponíveis,²⁴³ e suas bases conjugadas. Esses dados foram então ajustados a um modelo de regressão linear, mostrado no APÊNDICE EE que fornece uma equação linear para calcular valores de pK_a a partir de diferenças de energia livre entre ácidos e suas bases conjugadas, contornando assim a necessidade de usar qualquer valor para a energia livre de um próton em solução para calcular energias livres de protonação. As diferenças de energia livre entre os aglomerados de **Zr₆** protonados e desprotonados foram finalmente interpoladas no ajuste representado no APÊNDICE EE para obter os valores de pK_a discutidos no texto.

2.3.2 Síntese do Zr-Cluster (**Zr₆**)

O cluster $[Zr_6O_4(OH)_4(C_2H_3O_2)_8(H_2O)_2Cl_3]$ (**Zr₆**) foi sintetizado conforme descrito por Dai *et al.* (2021).²²⁸ $ZrCl_4$ (10 g) foi adicionado a uma mistura de CH_3COOH (15 mL) e isopropanol (25 mL). Após homogeneização, a mistura de reação foi agitada (500 rpm) sob refluxo (em banho de óleo a 120°C) por 60 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, o cluster foi coletado por centrifugação a 5000 rpm por 30 minutos. O sólido branco coletado foi posteriormente lavado duas vezes com acetona (15 mL por 2 h cada porção) e permitido secar ao ar por 3 dias antes da caracterização.

2.3.3 Síntese dos materiais híbridos

Em tubos de centrifugação de 20 mL, foram adicionados aproximadamente 1,5 mmol dos MOFs UiO-66 e NU-1000. Em seguida, cerca de 3,6 mmol dos complexos **1-5** foram adicionados (mantendo uma proporção de 2,4 vezes de excesso de complexo) a cada tubo contendo os MOFs, totalizando 10 amostras diferentes. Foram adicionados 20 mL de acetonitrila, e

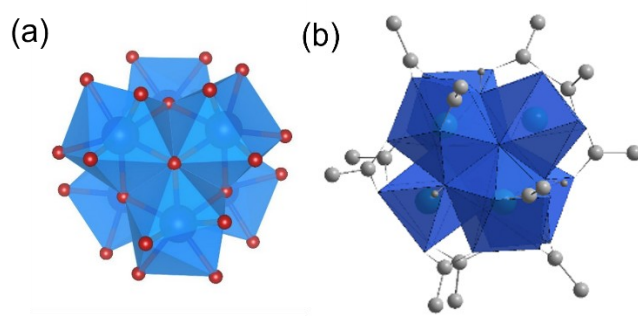
a suspensão foi agitada à temperatura ambiente por aproximadamente 24 h. Após decorrido este tempo, os tubos foram centrifugados por 15 min a 10000 rpm. O sobrenadante foi coletado e analisado via UV-vis para determinação da concentração resultante da solução. O sólido colorido foi lavado com acetonitrila (20 mL) agitando por 30 min, seguido de centrifugação (15 min, 10000 rpm) e descarte do sobrenadante, até se observar descarte de solução incolor. Os sólidos resultantes foram secos sobre pressão reduzida por 24 h antes do uso.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Caracterização do Cluster

O cluster $[\text{Zr}_6\text{O}_4(\text{OH})_4(\text{CH}_3\text{CO}_2)_8(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_3]$ **Zr₆**, foi escolhido para o desenvolvimento deste trabalho, devido sua estrutura ser muito bem definida na literatura, e uma rota sintética de fácil preparação utilizando ZrCl_4 e ácido acético.²²⁸ Ele é composto por um centro oxo-metálico do tipo $\{\text{Zr}_6\text{O}_4(\text{OH})_4\}$, de arranjo octaédrico onde os seis átomos de zircônio estão interligados por pontes oxo ou hidroxio. Esta estrutura está presente em vários Zr-MOFs utilizados na hidrólise de ligações fosfoester.²⁴⁴ Para estabilizar essa estrutura, ligantes derivados de ácidos carboxílicos são utilizados formando uma capa em torno desse oxo-centro. Os ligantes acetatos são então coordenados usualmente de maneira bidentada. Alguns defeitos podem ser encontrados na estrutura, onde ligantes aquo ou cloreto (derivados do ácido clorídrico usado na síntese) podem ser encontrados no lugar de acetatos. Um esquema geral da estrutura proposta para o cluster utilizado neste trabalho é apresentado na Figura 44, a seguir.

Figura 44 - Representação do Cluster de Zircônio Zr_6 . (a) poliedros azuis representam o átomo de Zr e sua esfera de coordenação, círculos vermelhos representam oxigênios dos ligantes. (b) átomos de Zr estão contidos nos poliedros azuis, círculos cinza mostram os átomos de carbono dos ligantes acetatos.

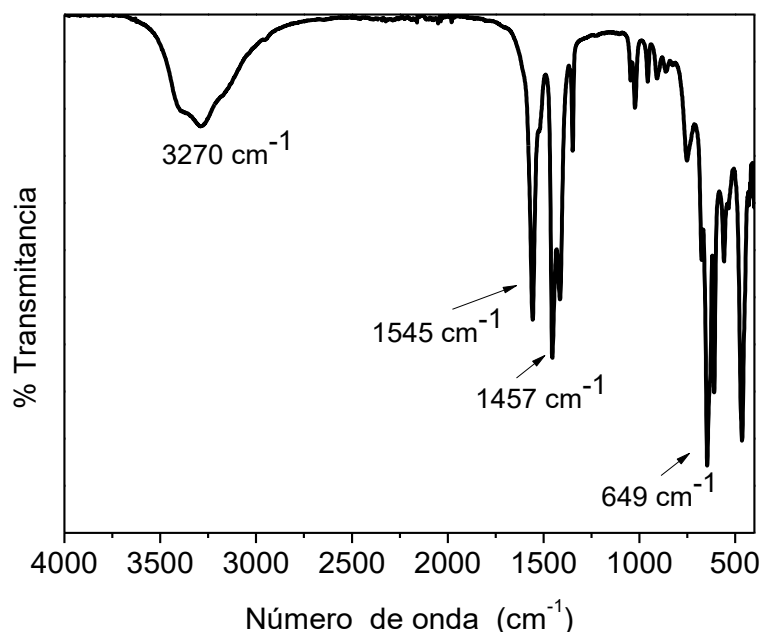


Após a síntese, o cluster foi submetido a algumas análises e comparado com os resultados descritos na literatura. Outras caracterizações foram realizadas para melhor entender a relação da estrutura do cluster em solução com a atividade cinética. Estas análises serão discutidas posteriormente nas seções de “2.4.5 Considerações sobre o mecanismo” e “2.4.6 Estudos teóricos”.

2.4.1.1 Espectrofotometria de Infravermelho (IR) e difração de Raios X de pó (PXRD)

Assim como para os complexos do capítulo 1, a primeira análise realizada foi IR. O espectro disponível na Figura 45 concorda com o disponível na literatura.²²⁸ As bandas em 1457 e 1547 cm^{-1} são referentes aos estiramentos simétrico e assimétrico, respectivamente, dos grupos acetatos coordenados aos átomos de Zr de maneira bidentada ($\Delta\nu < 180 \text{ cm}^{-1}$).¹⁷¹ Além disso, observa-se as bandas em 649 cm^{-1} relacionada a um estiramento da ligação Zr-O, e uma banda de estiramento O-H de água, em 3270 cm^{-1} , ambos relacionados a presença de água como ligante no cluster.

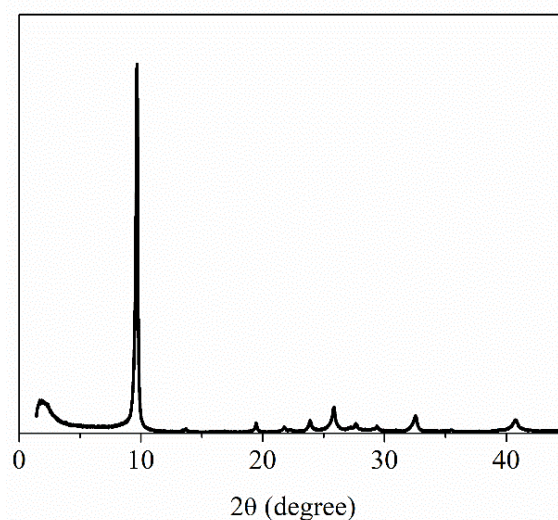
Figura 45 - Espectro na região do infravermelho do cluster **Zr₆**.



A técnica de difração de raios X de pó (PXRD) também foi utilizada para observar a cristalinidade do material e compará-lo com a literatura para corroborar a obtenção do material. O padrão de difração do *cluster* (Figura 46) também se mostrou condizente com o esperado.²²⁸ É observado somente um sinal de alta intensidade, em aproximadamente 10 (em valores de ângulo de 2θ) sugerindo um único padrão de difração, que indica um sistema bastante organizado e simétrico. Em clusters do tipo $[\text{Zr}_6\text{O}_4(\text{OH})_4(\text{OOCR})_{12}]$ é comum que

os átomos de Zr se organizem como um octaedro e estão conectados por μ_3 -pontes de oxigênio. Cada átomo de Zr está coordenado a outros oito átomos em um sistema cúbico, justificando o único sinal observado na análise de raios X de pó.²¹⁶

Figura 46 - Padrão de difração de raios X de pó do cluster de Zr₆.



2.4.1.2 Análise, por ¹H NMR, dos produtos de digestão do *cluster*

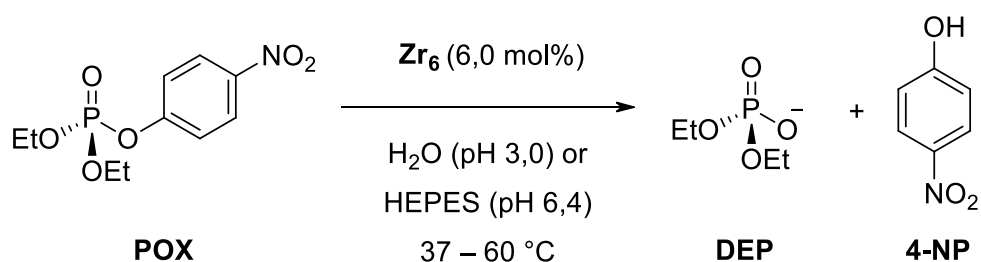
O uso de bases fortes na presença do cluster tende a promover a degradação do material pela dissociação dos grupos acetatos periféricos ao entorno do arranjo de {Zr₆O₈}. Essa dissociação permite que o sinal de hidrogênio referente a esses acetatos seja integrado e comparado com algum padrão externo. Assim, após deixar o material em contato com NaOD 1 mol L⁻¹, por 24 h, a análise de NMR foi realizada utilizando uma concentração conhecida de padrão TMSP-d₄. Pela integração dos sinais de hidrogênio, observa-se a proporção de, aproximadamente, 1:23 (padrão:cluster), contudo, o sinal do padrão é referente a 9H, enquanto o sinal de acetato é referente a 3H, gerando a proporção de aproximadamente 1:8 acetatos. Valor concordante com o proposto para a estrutura do cluster. O espectro de NMR da digestão do material é apresentado no APÊNDICE FF. Mais considerações sobre a estrutura do material serão realizadas na seção “2.4.6.1 Determinação da espécie em solução”.

2.4.2 Atividade hidrolítica frente ao substrato paraoxon

A atividade de *clusters* de zircônio para hidrólise de ésteres de fosfato nunca foi explorada de maneira isolada. Como discutido anteriormente, estes *clusters*, neste caso especificamente *oxo-clusters* do tipo Zr_6O_8 , são comumente encontrados como subunidades dos MOFs. Estas, quando interconectadas por moléculas orgânicas denominadas *linkers* ou conectores formam essa macroestrutura, um catalisador em potencial. Mesmo assim, como discutido na seção anterior, a atividade dessas moléculas é normalmente atribuída a ação do próprio cluster.

Para avaliar o potencial de Zr_6 como catalisador de hidrólise de triésteres de fosfatos, o POX foi selecionado como substrato modelo. Os estudos cinéticos foram realizados em condições ácidas e neutras e acompanhados em 37 e 60°C. Para reações em condições ácidas, o cluster foi simplesmente dissolvido em água, e devido a acidez intrínseca do centro metálico ocorre a desprotonação de algumas águas coordenadas aos sítios de Zr, acarretando a acidificação da solução até pH 3,0. Para as reações em condição próxima a neutralidade foi utilizado tampão 0,1 mol L⁻¹ - HEPES, pH 7,0. A utilização do tampão diminui a influência do cluster no pH da reação, resultando em pH inicial de 6,4. O Esquema a seguir, resume as condições reacionais avaliadas.

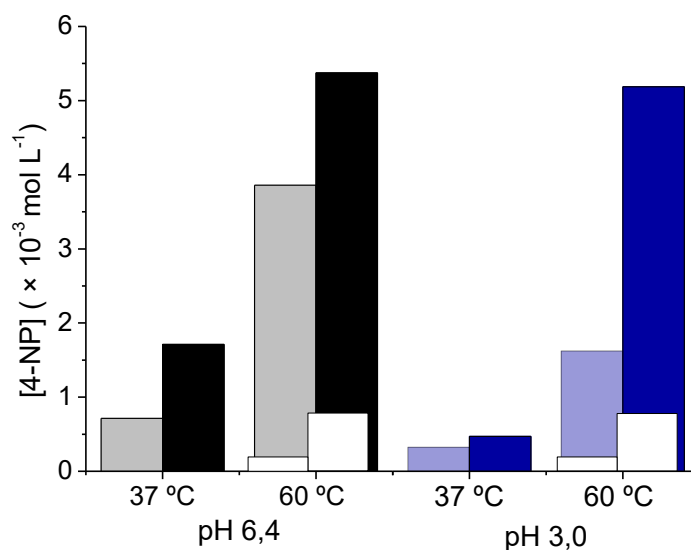
Esquema 17 - Condições experimentais para hidrólise do POX usando Zr_6 como catalisador.



Primeiramente os estudos focaram em elucidar, de maneira mais abrangente, o efeito da temperatura e pH nas reações. Nestas condições, foram desenvolvidos estudos cinéticos em triplicata por 31 h, alíquotas foram retiradas em 5 h e 24 h e analisadas por técnica espectroscópica acompanhando a liberação do produto **4-NP**.

O efeito da temperatura no resultado da reação é mais claro quando em pH 3,0. O aumento de atividade pelo aumento de temperatura é mais evidente nessa condição do que para o pH 6,4, mesmo que também seja visto um aumento da concentração de produto quando a temperatura é elevada, mas de maneira menos evidente. A Figura 47 mostra as concentrações de **4-NP** obtidas após 5 h (cores claras) e 24 h (cores escuras) de reação, para os pH 3,0 e 6,4 e temperaturas de 37 e 60 °C. Como esperado, as reações em 37°C foram menos eficientes que as conduzidas em 60°C, para os dois pHs analisados, e as reações em pH 6,4 foram mais rápidas quando comparado àquelas em pH 3,0, como observa-se nos resultados de 5 h. Contudo, em 60 °C, a reação conduzida em pH ácido teve aumento significativo na conversão de reagente em produto, gerando um resultado similar à reação de pH 6,4 após as 24h.

Figura 47 - Concentração de nitrofenolato (**4-NP**) liberado na reação de hidrólise catalisada, após 5h (cores claras) e 24h (cores escuras), em 37°C e 60°C em pH 6,5 e 3,0. $[Zr_6] = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$; $[POX] = 25 \text{ mmol L}^{-1}$.*



*As colunas em branco representam a hidrólise espontânea, sem catalisador. A 37 °C não foram observados valores consideráveis de hidrólise espontânea.

Para reação em pH 3,0, depois de decorridas 24 h observou-se um rendimento 12 vezes maior em 60°C, quando comparado com a mesma reação a 37°C. Por outro lado, o aumento da temperatura triplicou o rendimento da reação em pH 6,4. Essa diferença da influência da temperatura no rendimento sugere que o mecanismo hidrolítico seja parcialmente diferente e que o estado de transição (TS) da reação conduzida em pH 3,0 é mais energético que a

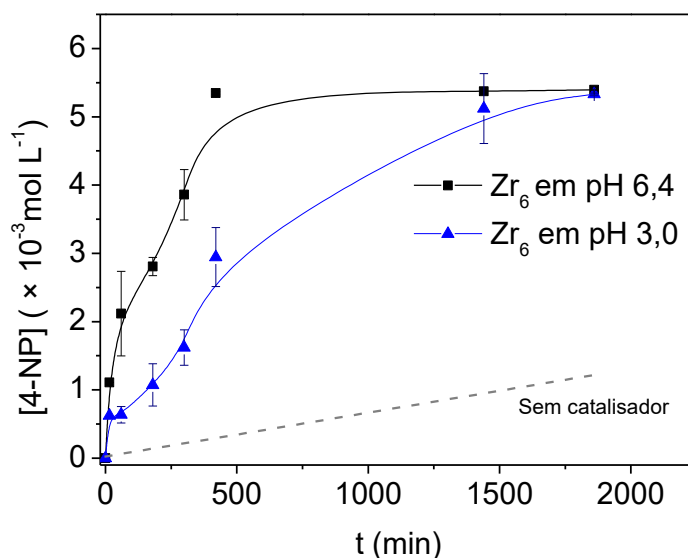
reação em pH 6,4 (uma vez que a influência da temperatura é mais evidente nesta reação). Mesmo que mais valores experimentais sejam necessários para confirmar essa sugestão, ela está condizente com o observado na literatura e com os valores teóricos que serão discutidos na seção de “2.4.6 Estudos teóricos”.

Devido a acidificação das soluções induzidas pelo cluster em solução, e sua clara dependência da temperatura, o pH das reações foram medidos no início das reações e após 31 h. Observou-se acidificação da solução durante todas as reações, contudo, temperaturas mais altas causaram maiores mudanças no pH final. Em 60°C, as reações em água, inicialmente em pH 3,0, acidificaram até pH 2,0, enquanto em HEPES, observou-se um decaimento de pH de 6,4 a 4,2.

Já em 37°C, as mudanças foram menos significativas, quando usando tampão, indo de pH 6,4 para 5,3 e menores ainda quando em água, mudando de pH 3,0 para 2,7. Essas variações indicam que a mudança de pH durante a reação possa estar relacionada com a formação dos produtos, uma vez que as variações de pH acordam com os rendimentos observados. Neste caso, a acidez da mistura de reação deve estar relacionada com a formação do produto dietilfosfato (**DEP** – Esquema 17) que possui pK_a de 1,42.

Uma vez que a dependência da temperatura foi avaliada, e os resultados mostram maiores rendimentos em condições de maior temperatura, optou-se por continuar os estudos de avaliação cinética e do mecanismo em pH 3,0 e 6,4 em temperatura de 60°C. Assim, as reações foram conduzidas nas mesmas condições, por 31 h, e alíquotas foram coletadas em determinados intervalos de tempo e analisadas por espectroscopia de UV-Vis, assim como as análises anteriores. A Figura 48 mostra a curva obtida, em função da concentração do produto **4-NP**, para ambas as condições analisadas. Também foi realizado o acompanhamento cinético da reação sem os catalisadores, em condições semelhantes. Para pH 3,0, utilizou-se HCl 1,0 mol L⁻¹ para se alcançar o pH de interesse, e o tampão HEPES em pH 7,0. Em ambos os casos, as reações sem catalisador demonstraram o mesmo comportamento, gerando valores de liberação de produtos similares. Portanto, a tendência da reação sem catalisador é resultado de uma média entre as duas reações.

Figura 48 – Reação de hidrólise de **POX** em 60°C, pelo cluster **Zr₆**, em pH 3,0 e 6,4, e nas mesmas condições sem catalisador. [**Zr₆**] = 1,5 mmol L⁻¹; [**POX**] = 25 mmol L⁻¹; em água (pH 3,0); HEPES, 0.1 mol L⁻¹ – pH 7,0 (pH 6,4), em 60°C.



Além de influenciar o pH da reação, a formação dos produtos parece influenciar o rendimento final. Surpreendentemente, as reações em pH 3,0 e 6,4 atingem a saturação em uma quantidade de produto similar. Quando em aproximadamente 19% de conversão de reagente em produto ($\sim 5,35 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) ambas as reações atingem estabilidade. Esses rendimentos limitados também são observados em algumas reações envolvendo MOFs de zircônio como catalisadores destas reações (veja “2.4.4 Estrutura do catalisador vs reatividade”). Acredita-se que esse limite de conversão seja relacionado a inibição causada pelo produto fosfato formado que pode se ligar aos átomos de Zr, uma vez que ligantes fosfatos possuem uma maior afinidade com o centro metálico que os ligantes carboxilatos e água (veja “2.4.3 Análise de estrutura após recuperação e reuso”).

Observando-se a figura acima, fica evidente que a reação em condição neutra é mais rápida que em condições ácidas. A reação em pH 6,4 alcança seu valor máximo em cerca de 8 h, enquanto em pH 3,0 esse mesmo valor é obtido após 30 h. As constantes observadas (k_{obs}) foram obtidas por um ajuste da variação da concentração de **4-NP** durante o tempo, por uma equação de primeira ordem (Tabela 24). As reações utilizando o catalisador não se comportam nem de acordo com um gráfico de primeira ordem, nem de segunda

ordem. Isso fica claro principalmente quando estes são linearizados, e de maneira alguma mostram uma reta para os dados. Isso pode ocorrer por uma inibição do catalisador causada pela formação dos produtos. Como discutido, é possível que conforme o produto é formado, esse se coordene ao catalisador, diminuindo sua atividade. Por isso, os gráficos foram usados até 10% de conversão para determinação da constante (via equação cinética de primeira ordem), onde a quantidade do produto ainda é muito baixa para influenciar a curva cinética.¹⁹³ Para a reação espontânea, também foi possível linearizar os dados, resultando em um valor de k_{obs} , bastante similar ao ajuste nas primeiras 5-7 h de reação. Os gráficos estão apresentados no APÊNDICE GG.

Tabela 24- Valores de constantes calculados para Zr_6 , $ZrCl_4$ e outros catalisadores reportado na literatura para hidrólise de **POX**.*

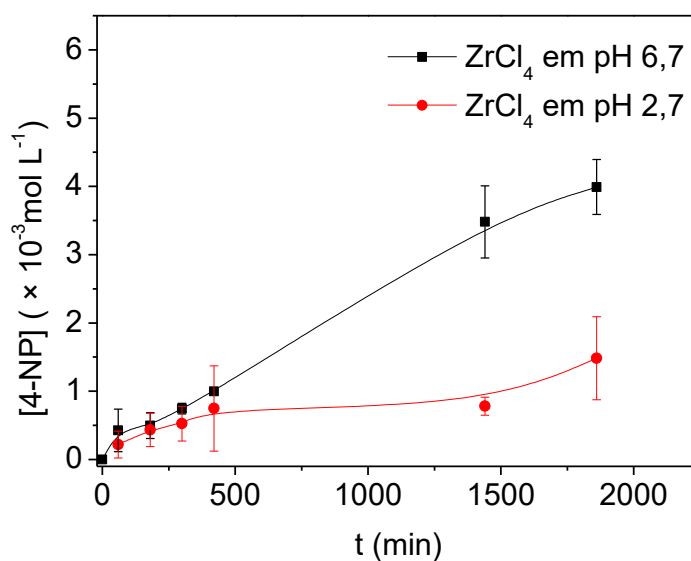
Catalisador	pH	$k (\times 10^{-5} s^{-1})$
Zr_6	3,0	8,00
Zr_6	6,4	46,60
$ZrCl_4$	2,7	5,30
$ZrCl_4$	6,7	6,50
Zn^{2+} -[12]aneN	8,1	1,01 ^a
$[Zn_2(HL_1)_2(Py)_4].2H_2O$	8,5	0,25 ^b
$[Zn_2(H_2L_3)_2(NO_3)_2]$	8,5	0,40 ^b

*Hidrólise espontânea = $4,5 \times 10^{-5} s^{-1}$. ^a50% de H_2O , 37,5% de D_2O e 12,5% de CD_3CN a 50 °C, [12]aneN = 1,4,7,10-tetraazaciclododecano; em DMSO/água tamponada (1:1) a 50 °C, ²⁴⁵ HL_1 = 3-[(1*E*)-N-hidroxietanimidoil]-4-metil-1*H*-pirazol-5-carboxílico, py = piridina, H_2L_3 = (*E,E*)-(4-metil-1*H*-pirazol-3,5-diil)bis(metilmetanona)dioxima.²⁴⁶

Embora as PAPs geralmente exijam um núcleo binuclear heterovalente, alguns miméticos estruturais se mostram eficientes mesmo com metais bivalentes. No entanto, nestes casos, é normalmente necessário aumentar o pH para obter a espécie catalítica. Com *clusters* de Zr^{IV} , é possível alcançar a espécie catalítica em pH ácido, semelhante ao ambiente enzimático natural do que para compostos miméticos anteriormente relatados. Além disso, a utilização de catalisadores inorgânicos homogêneos para clivar organofosfatos tóxicos é salvo engano, um campo pouco explorado. Uma comparação dos resultados com outros compostos de coordenação previamente relatados destaca o potencial promissor dos catalisadores de cluster Zr (Tabela 24).

Para avaliar se atividade cinética é referente ao cluster ou ao átomo de Zr isoladamente, foram feitos experimentos utilizando cloreto de zircônio (ZrCl_4) como catalisador (Figura 49). Nenhum efeito positivo foi observado em condições ácidas, já que a taxa de hidrólise foi a mesma que a reação sem catalisador.

Figura 49 - Reação de hidrólise de **POX**, catalisada por ZrCl_4 , a 60°C . Condições: $[\text{ZrCl}_4] = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{POX}] = 25 \text{ mmol L}^{-1}$; em água (pH 2,7); HEPES, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ – pH 7,0 (pH 6,7), em 60°C .



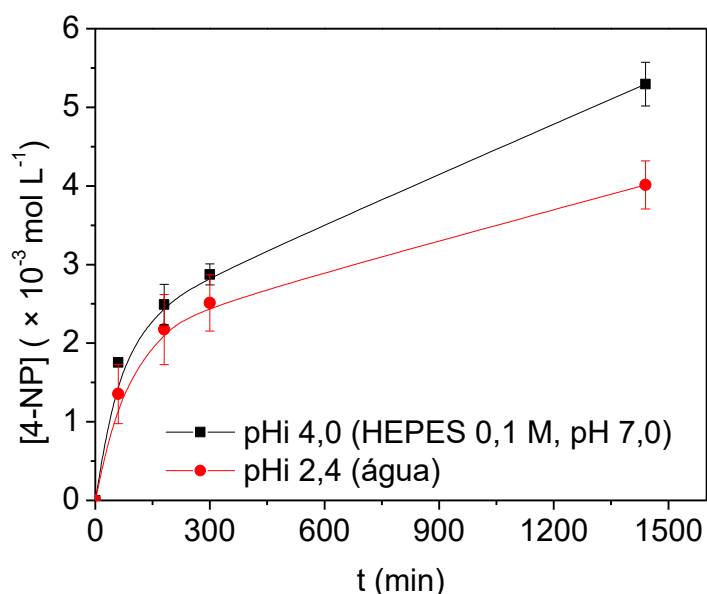
Observou-se que as reações com ZrCl_4 se comportaram de maneira similar durante as primeiras horas de reação, tanto para a reação em condição neutra quanto ácida. Contudo, a atividade gerada pelo sal tende a aumentar depois de algumas horas, quando em pH 6,4. Essa variação de comportamento pode ser relacionada à química do Zr em condições aquosas.²¹⁵ Quando o sal é dissolvido em água, ele rapidamente é hidrolisado formando tetrâmeros $[\text{Zr}_4(\text{OH})_8(\text{OH}_2)_{16}]^{8+}$, similares ao Zr_6 , os ligantes aquo deste *cluster* podem se desprotonar em solução, gerando um ambiente mais ácido. Em concordância com isso, observa-se que a reação do ZrCl_4 em água apresenta pH inicial de 2,7, enquanto isso em tampão HEPES (pH 7,0 – 1 mol L^{-1}) $\text{pH}_i = 6,7$. Sendo assim, a hidrólise com ZrCl_4 pode ser mais ativa nessas condições após passar por reestruturações desses tetrâmeros em espécie mais ativas, que podem acelerar as reações em 6,7 de maneira mais efetiva que 2,7.

Esses experimentos mostraram que mesmo que as reações usando o *cluster* alcancem saturação em um rendimento consideravelmente baixo, elas são eficientes na hidrólise de triésteres. Considerando os valores de constantes de primeira ordem (Tabela 24) observa-se que a catálise em condições neutras usando Zr_6 acelera a reação 7 vezes mais que o sal de zircônio, e é 20 vezes mais rápida que a hidrólise espontânea. Em pH ácido isso também é observado, sendo o cluster 1,5 vezes mais rápido que a reação usando $ZrCl_4$ ou sem catalisador. Além disso, mesmo que a cinética usando o sal seja mais rápida em condição neutra que em condição ácida, não se observa uma mesma taxa de reação, mostrando que o arranjo estrutural do cluster tem um papel importante na reação.

Para tentar elucidar a causa da inibição do catalisador, uma reação em condições similares foi realizada utilizando quantidade estequiométrica (em número de mols) de substrato e catalisador (Zr_6) (Figura 50). Se a inibição do cluster pelo fosfato for o único fator influenciando o rendimento da reação, espera-se que a reação atinja 100% de conversão, ao se utilizar a mesma quantidade de cluster e substrato. Primeiramente, observa-se que o pH inicial das reações se encontra mais ácido que os anteriores. Esse fator é ocasionado pelas maiores concentrações de cluster em solução, que aumentam a disponibilidade de grupos que podem ser desprotonados acidificando o meio reacional.

Os resultados obtidos mostram uma conversão de 40% de reagente em produto, um aumento de 20 % em comparação com as reações em excesso de substrato, mesmo que a quantidade de catalisador tenha sido aumentada em 10 vezes. Esses resultados indicam que a interação do cluster com o fósforo não é o único fator a ser considerado para a limitação da hidrólise do substrato. Isso levantou a hipótese de que o pH e conseqüentemente o decréscimo deste durante as reações possam estar inibindo a continuidade da reação. Mais sobre isso será discutido na seção “2.4.5 Considerações sobre o mecanismo” e “2.4.6 Estudos teóricos”.

Figura 50 – Reação de hidrólise de **POX**, em quantidade equimolar de catalisador e fosfato. Condições: $[\text{Zr}_6] = 12 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{POX}] = 14 \text{ mmol L}^{-1}$; em água (pH 2,4); HEPES, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ – pH 7,0 (pH 4,0), em 60°C .



2.4.3 Análise de estrutura após recuperação do catalisador e reuso

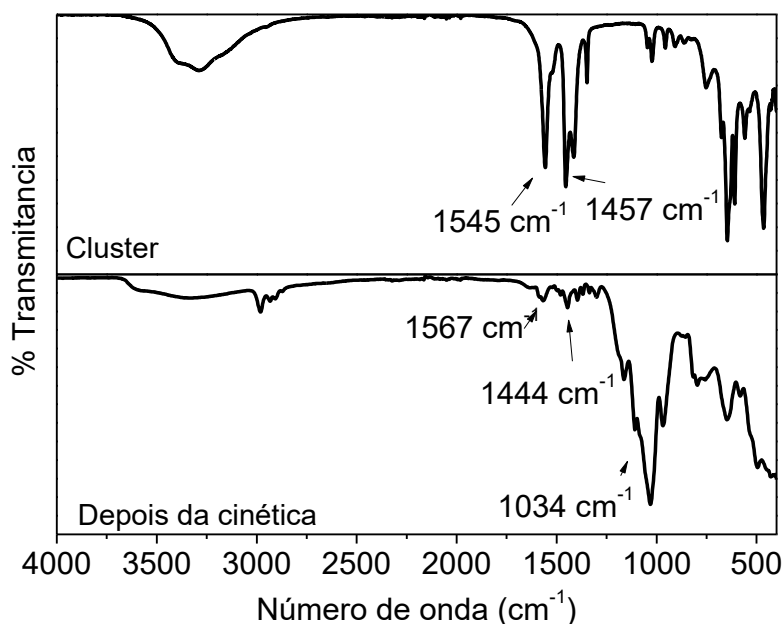
Após as reações, que se iniciam homogêneas, observa-se a formação de um precipitado. Este foi recolhido, lavado com acetona e submetido a análises para avaliar sua composição. Inicialmente, buscou-se compreender se o precipitado encontrado se tratava ainda do cluster, ou se a reação poderia ter destruído a estrutura do material, formando sais de zircônio em solução. Além disso, através destas análises também foi possível observar a presença dos grupos fosfato no material, corroborando a ideia de que o catalisador sofre inibição dos seus sítios ativos durante a cinética.

2.4.3.1 Espectroscopia de IR e digestão por NaOD

Primeiramente o sólido branco foi submetido a análise de Infravermelho o espectro obtido é apresentado na Figura 51, juntamente com o espectro do *cluster* antes da reação de hidrólise. É possível observar que, depois da reação, o material recuperado ainda apresenta os estiramentos simétricos e assimétricos dos ligantes carboxilatos, em 1567 e 1447 cm^{-1} , respectivamente, assim como

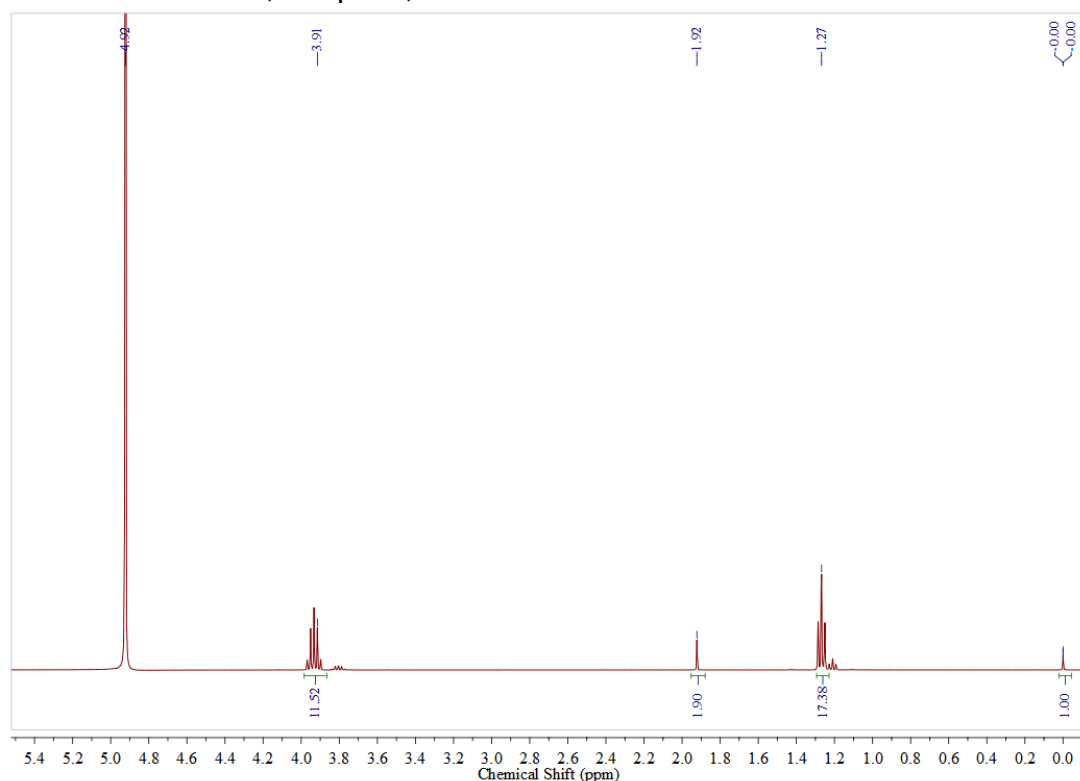
o obtido para **Zr₆**. O sinal de estiramento Zr-Cl em 649 cm^{-1} , também continua visível após a cinética, indicando que o cluster deve continuar organizado de maneira semelhante antes e depois das reações. Além disso, é visível a presença de estiramentos P-O em 1034 cm^{-1} , corroborando a ideia de que o *cluster* está sendo inibido pela coordenação de grupos fosfatos aos centros metálicos.

Figura 51 - Espectro na região do Infravermelho (em ATR) de **Zr₆** antes e depois das reações de hidrólise.



Com o objetivo de se verificar a presença dos grupos fosfatos no material recuperado, foi realizada a digestão do composto em NaOD, e analisado por NMR, assim como feito anteriormente para a caracterização do **Zr₆**. A Figura 52 mostra o espectro obtido para o material recuperado após cinética em pH 3,0. Em $1,28\text{ ppm}$ é observado um tripleto, atribuído ao grupo etil de **DEP**, assim como o quintupletto aparente em $3,93\text{ ppm}$. A ausência de sinais na região de 5-7 ppm indica que não há presença de grupos fenólicos e, conseqüentemente, que o composto presente no material coletado é referente ao produto **2** (Esquema 17), e não ao reagente POX. Além disso, o sinal referente aos ligantes acetatos ($1,92\text{ ppm}$) também permanece aparente no espectro, concordando que o *cluster* permanece presente, como observado pela análise por infravermelho.

Figura 52 - Espectro de ^1H NMR após digestão do cluster em NaOD, após reação de hidrólise de **POX**, em pH 3,0.



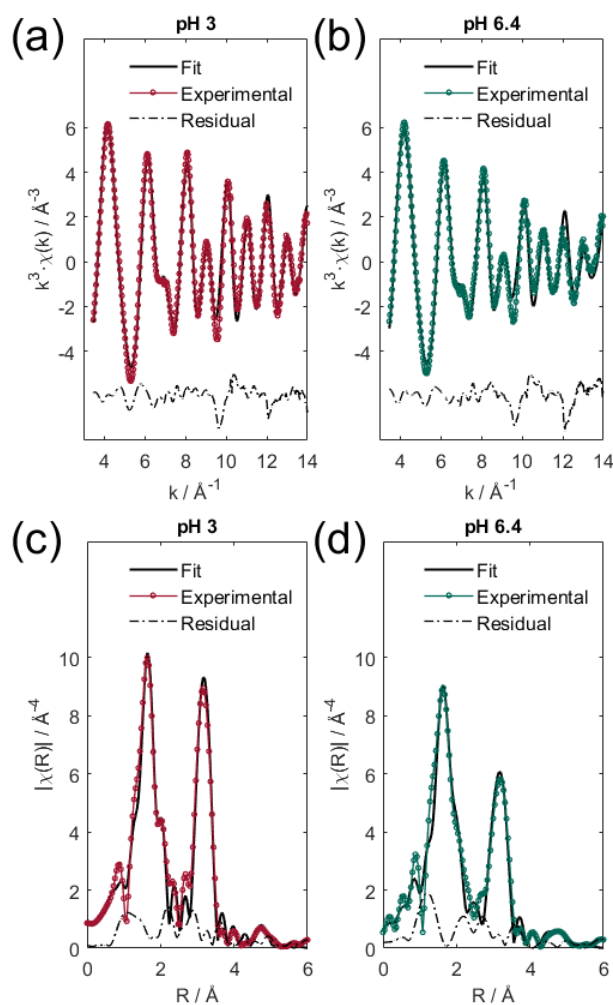
Os resultados obtidos para o material após reação em pH 6,4 são similares (APÊNDICE HH) aos apresentados para pH 3,0, mas também é encontrado sinais referentes ao tampão orgânico utilizado na reação, sugerindo que este também seja adsorvido pelo material. A referência ($\delta = 0$ ppm, TMS- d_4) foi utilizada para integrar os sinais, uma vez que sua concentração é conhecida. Assim, também foi possível observar que a absorção de produto (**DEP**) pelo cluster é maior em pH 3,0 do que pH 6,4. Esse efeito pode estar relacionado com uma mudança na espécie catalítica entre as reações, ou pela absorção de tampão que também é visível no espectro.

2.4.3.2 Espectroscopia de Estrutura Fina de Absorção de Raios X (EXAFS)

O EXAFS permite obter informações valiosas sobre a estrutura local de materiais, especialmente em relação à vizinhança imediata dos átomos de um elemento específico na amostra. Sendo assim, a análise de EXAFS também foi realizada para os materiais recuperados, no Elettra Sincrotrone Trieste (Itália), pelo pós-doutorando Angelo Mulalliu (KU Leuven). Na Figura 53 são

apresentados os resultados obtidos sobrepostos aos sinais calculados pelo modelo apresentado (Esquema 16), mostrando uma excelente correlação. Como o modelo utilizado para previsão teórica é a estrutura do oxo-cluster $\{Zr_6O_8\}$, é possível inferir que as estruturas dos *clusters* continuam intactas após as reações (em ambas as condições).

Figura 53 – Dados extraídos do EXAFS para os *clusters* recuperados das reações em (a) pH 3,0 e (b) pH 6,4. Sinais depois da transformada de Fourier para os *clusters* recuperados após reação em (c) pH 3,0 e (d) pH 6,4.



As contribuições mostram uma boa correlação entre as distâncias entre os átomos adjacentes de zircônio (Zr-Zr, em $\sim 3,5$ Å) no material coletado quando comparado com as medidas relacionadas ao cluster antes das reações. O mesmo se aplica as contribuições em $\sim 1,8$ Å, referente as distancias entre Zr-O, e contribuição em $\sim 4,7$ Å (Figura 53) que foi ajustada considerando o espalhamento Zr-Zr de átomos de Zr opostos.

Ao examinar mais de perto os dados pela Transformada de Fourier, observa-se que o segundo pico, relacionado à coordenação da segunda camada (Zr--Zr), diminui de intensidade a pH = 6,4. Isso se reflete na redução da degenerescência do caminho $\gamma_3^{(2)}$, conforme indicado na Tabela 25 (de 4,0 para 3,6). No entanto, os parâmetros estruturais obtidos são estatisticamente equivalentes, já que as barras de erro se sobrepõem, sugerindo que a estrutura do *cluster* nas duas condições não se diferem significativamente.

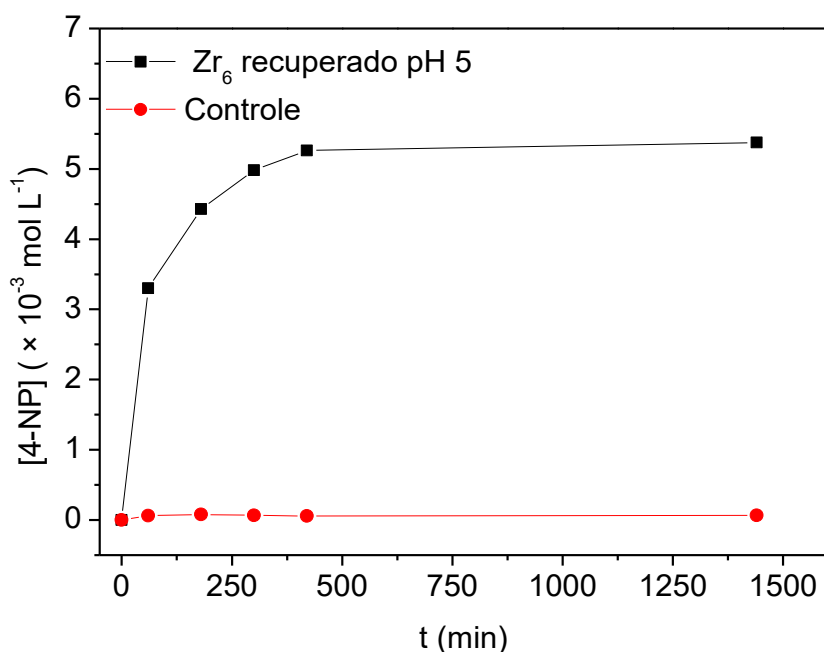
Tabela 25 -Parâmetros relevantes de EXAFS em pH = 3,0 e pH = 6,4. Distâncias interatômicas (R), fatores de Debye-Waller (σ^2) e degenerescências do sinal (N) são relatados com os respectivos erros entre parênteses.

		pH = 3,0	pH = 6,4
$\gamma_1^{(2)} (Zr - O)$	R / Å	2,148(12)	2,160(10)
	$\sigma^2 / \text{Å}^2$	0,007(2)	0,007(2)
	N	4,0(4)	4,0(4)
$\gamma_2^{(2)} (Zr - O)$	R / Å	2,226(12)	2,213(13)
	$\sigma^2 / \text{Å}^2$	0,008(2)	0,011(3)
	N	4,0(6)	4,0(6)
$\gamma_3^{(2)} (Zr - Zr)$	R / Å	3,63(2)	3,63(2)
	$\sigma^2 / \text{Å}^2$	0,010(2)	0,012(3)
	N	4,0(8)	3,6(9)

2.4.3.3 Reações de hidrólise utilizando os *clusters* recuperados

Após as caracterizações do material recuperado, e as indicações que o *cluster* se manteve intacto após a primeira catálise, se avaliou a possibilidade de reutilizá-lo para uma segunda reação de hidrólise. Para isso, o *cluster* recuperado após reação em pH 3,0 foi submetido a uma nova reação nas mesmas condições descritas previamente, em água a 60°C por 24h (Figura 54). Um experimento de controle também foi realizado, dissolvendo o *cluster* recuperado em água, sem adição de **POX**.

Figura 54 - Reação de hidrólise de **POX**, utilizando o cluster recuperado. Condições: $[Zr_6] = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$; $[POX] = 25 \text{ mmol L}^{-1}$; Solvente (1 mL – água pH 5,0), 60 °C.



Nesta reação, a acidificação da solução pela adição do material não foi tão intensa quanto na primeira reação. Quando em água, o *cluster* diminuiu o pH para aproximadamente 5,0 (quando na primeira reação esse valor era ~3,0). Contudo, o pH final após as 24 h foi similar a primeira vez, sendo ~1,8. Isso se atribui a troca dos ligantes fosfatos por novos ligantes aquo e/ou hidroxô diretamente na solução, sem ocorrer o processo de desprotonação como discutido anteriormente. Contudo, ao final da reação, a liberação do produto **DEP** continuou por acidificar a solução, devido ao seu baixo pK_a .

Além de se manter estável durante os ensaios cinéticos e ser recuperável, o *cluster* também se mostrou reutilizável, apresentando uma conversão bastante similar à primeira reação. O experimento controle mostrou que nenhum produto é observado em decorrência do fosfato absorvido no catalisador. Isso já era esperado tendo em vista que o material adsorvido no cluster é o produto **DEP**, não o reagente. Sendo assim, observa-se um padrão de hidrólise muito similar a primeira reação, onde a atividade também é limitada a 20% de conversão. A reação também atinge seu valor máximo em aproximadamente 7 h, assim como a reação em pH 6,4, sendo mais rápida que

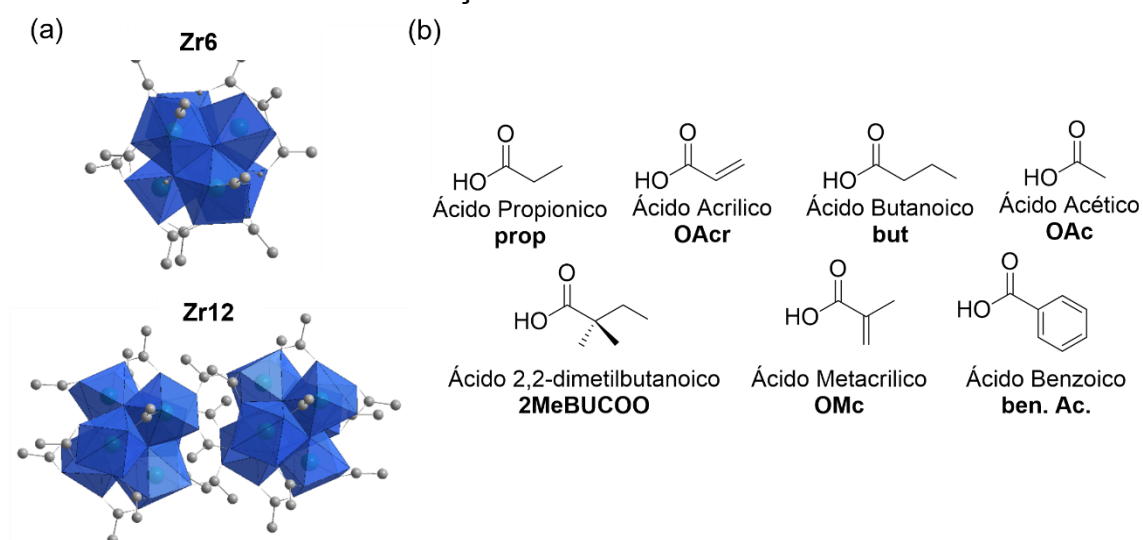
a primeira reação somente em água. Contudo, esse fator deve estar primordialmente relacionado com o pH da reação do que com uma maior eficiência do catalisador na segunda reação.

Infelizmente, devido a perda de material durante a recuperação e lavagem, não foi possível realizar outros experimentos de reuso para verificar em quantas reações um mesmo catalisador poderia atuar.

2.4.4 Estrutura do catalisador vs atividade hidrolítica

Uma vez que os principais aspectos envolvendo a reatividade do cluster na hidrólise do paraoxon foram elucidados, uma investigação mais detalhada da relação entre estrutura-reatividade do cluster foi realizada. Para isso, foram utilizados diferentes *clusters* com diferentes nuclearidades (arranjo dos clusters – Zr_6O_8 e $Zr_{12}O_x$) e ligantes carboxílicos para avaliar o impacto destas diferenças na reação de hidrólise, como apresentado no Esquema 18. As reações foram conduzidas em pH 3,0 em 60°C, de maneira similar ao descrito previamente, e os rendimentos foram calculados após 5 h e 24 h, assim como feito anteriormente.

Esquema 18 - Estrutura dos (a) *Clusters* de Zr_6 e Zr_{12} e (b) dos ligantes carboxílicos utilizados nessa seção.



Os *clusters* de Zr_6 possuem mesmo arranjo espacial que o cluster acetato estudado até aqui. A principal alteração são os ligantes que auxiliam na estabilidade do oxo *cluster*. No caso dos Zr_{12} , eles são formados por dois oxo *clusters* de Zr_6O_8 , conectados por pontes entre si.²¹⁶

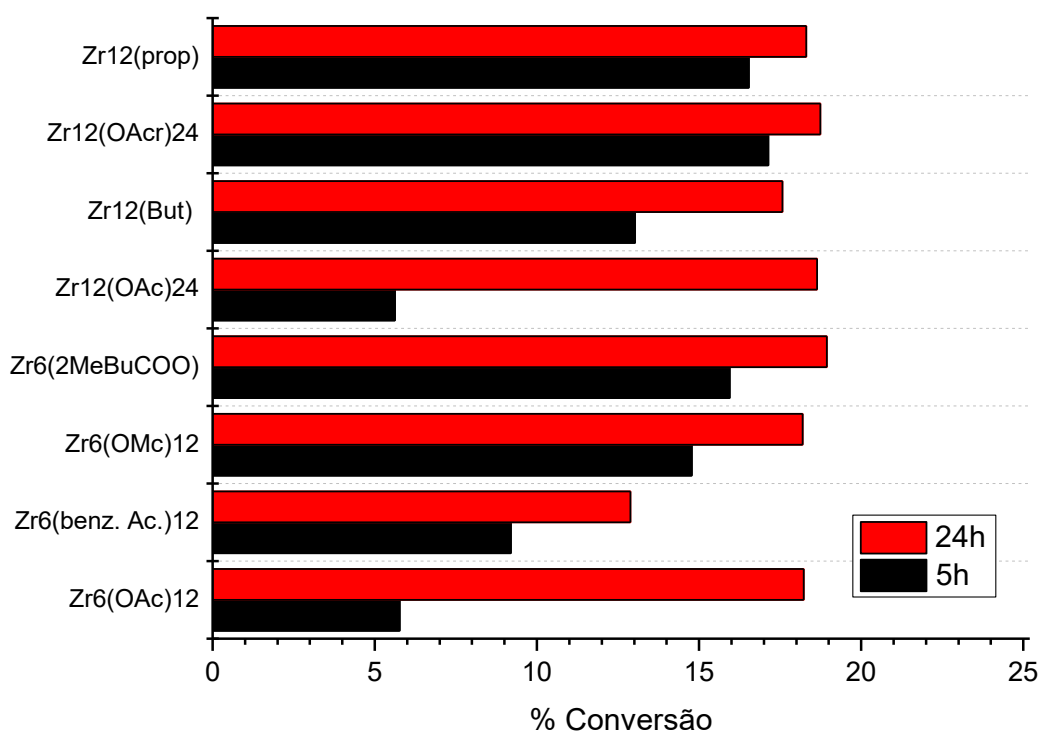
Em geral, a hidrólise de **POX** não é influenciada pela nuclearidade do cluster. Assim como **Zr₆**, os demais *clusters* também mostraram aproximadamente 20% de conversão do produto **4-NP** após 24 h (Figura 55 e Tabela 26). Além disso, os *clusters* com ligantes similares, como os pares **Zr₆/Zr₁₂(OAc)₂₄** e **Zr₆(OMc)₁₂/Zr₁₂(OAc)₂₄** mostraram rendimentos similares. Todos os catalisadores testados foram utilizados na mesma quantidade (em μmol), o que significa que os *clusters* do tipo Zr_{12} , possuem o dobro de sítios coordenantes quando comparado com os tipos Zr_6 . Contudo, considerando que as pontes carboxilatos entre as unidades Zr_6 nos catalisadores Zr_{12} não tenham se rompido, tem-se uma limitação da coordenação dos substratos aos átomos metálicos nas extremidades. Neste caso, assim como para os *clusters* de Zr_6 , há somente seis átomos de Zr disponíveis para a catálise nos *clusters* de Zr_{12} . Os rendimentos similares entre todos os exemplos avaliados deixam claro que a nuclearidade, ou seja, a estrutura oxo-Zr, tem pouca influência no resultado da cinética. Além disso, os resultados também sugerem que não há interconversão entre Zr_6/Zr_{12} (caso houvesse, teríamos o dobro de atividade nos *clusters* Zr_{12} , uma vez que eles representam o dobro de unidades do Zr_6) sendo um contraste interessante a resultados previamente publicados,²¹⁶ bem como os melhores rendimentos reportados aos *clusters* Zr_{12} .²²⁷

Os resultados obtidos também indicam que os *clusters* devem seguir um mesmo mecanismo, independente dos ligantes ao seu redor. Outra observação interessante é a acidificação das soluções aquosas, tanto no início quanto no decorrer da reação. Assim, como para **Zr₆**, os demais *clusters* também mostraram acidificar a solução decaindo de $\text{pH}_i \sim 4,0$ até $\text{pH}_f \sim 2,0$, corroborando a liberação de **DEP** em solução é o responsável pela variação de pH.

Em contraste com a nuclearidade, a natureza dos ligantes claramente afeta a reatividade (Figura 55). Observando a variação das conversões quando em 5 h, e em 24 h, é possível ter ideia da velocidade das reações quando comparados aos exemplos utilizados. Por exemplo, em 5 h, o *cluster* com ligante acetato gera o menor rendimento, independente da nuclearidade (Zr_6 ou Zr_{12}).

Contudo, os ácidos alifáticos e acrílicos se aproximam muito mais da marca de 19% ainda em 5 h, indicando reações mais rápidas que as demais. Mesmo assim não se observa muita diferença entre esses ligantes e seus derivados α -substituídos (2-MeBuCOO vs But, e OMc vs OAcr). Essa maior velocidade, quando comparado aos ligantes acetatos, pode ser atribuída a uma troca mais rápida de ligantes durante a reação, causada pelo efeito estérico (quanto mais volumosos os grupos, mais favorecida a troca de ligantes), como já estabelecido para compostos de coordenação clássicos.²⁴⁷

Figura 55 - Gráfico de percentual de conversão de **POX** em **4-NP** para os diversos *clusters* testados. $[\text{Zr}_6] = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{POX}] = 25 \text{ mmol L}^{-1}$.



Como será discutido mais a frente, é necessário que parte dos ligantes na esfera externa do *cluster* sejam substituídos por unidades de água, para que a reação possa ocorrer (veja a seção “2.4.5 Considerações sobre o mecanismo”). O uso de muitos ligantes volumosos em um único centro metálico tende a saturar o ambiente de coordenação, diminuindo a estabilidade da molécula, fazendo com que a substituição destes por grupos menores (como a água) seja facilitada. Ao encontro dessa hipótese, se observa que o cluster contendo ácido benzóico, $\text{Zr}_6(\text{BzO})_{12}$ mostrou maior rendimento em 5 h que o

cluster de acetato. Contudo, após 24h este mesmo cluster apresentou o menor rendimento (13%), sinalizando que o aumento do efeito estérico, para acelerar a troca de ligantes, é benéfico para a catálise até certo ponto. Quando estes grupos são muito volumosos, os ligantes podem atuar como barreiras impedindo o acesso do substrato ao sítio metálico.

Tabela 26 – *Clusters* e ligantes avaliados na conversão de **POX** em **4-NP**, rendimentos obtidos após 24h e pHs medidos no início e final da reação. Condições: $[\text{Zr}_6] = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{POX}] = 25 \text{ mmol L}^{-1}$; em água (pH 3,0); HEPES, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ – pH 7,0 (pH 6,4), em 60°C .

Cluster	Ligante	Rendimento (%) (24h)	pH _i	pH _f
$\text{Zr}_{12}(\text{prop})^{224}$	Ácido propiônico	18	4,1	2,0
$\text{Zr}_{12}(\text{OAc})^{226}$	Ácido acrílico	19	3,7	2,0
$\text{Zr}_{12}(\text{But})^{216}$	Ácido butanóico	18	3,7	2,0
$\text{Zr}_{12}(\text{OAc})_{24}^{224}$	Ácido acético	19	3,9	2,0
$\text{Zr}_6(2\text{MeBuCOO})^{216}$	Ácido metilbutanóico	19	4,1	2,0
$\text{Zr}_6(\text{OMc})_{12}^{227}$	Ácido metacrílico	18	4,0	1,7
$\text{Zr}_6(\text{BzO})_{12}^{225}$	Ácido benzóico	13	3,5	2,4

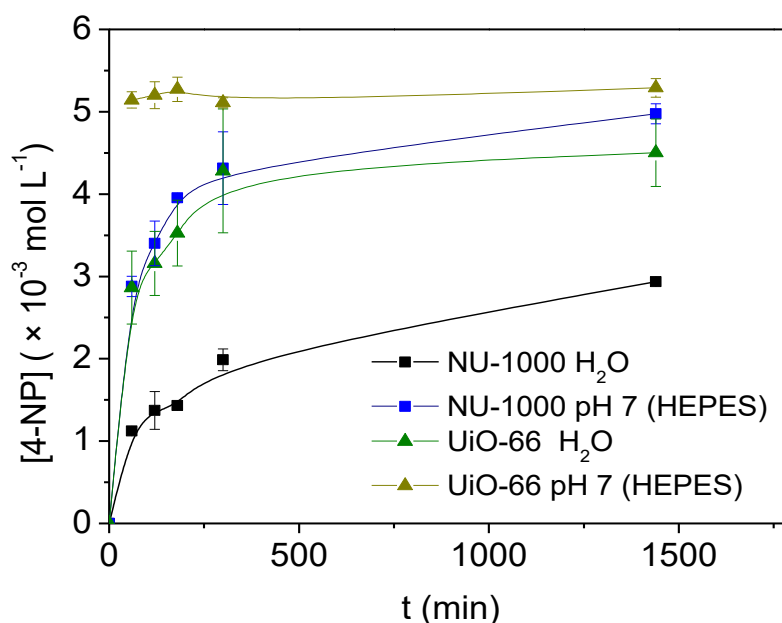
Considerando o valor de saturação de ~19 % obtido para os *clusters*, também foram testados MOFs a base de Zircônio, NU-1000 e UiO-66, para averiguar se a macroestrutura organizada dos MOFs tem um efeito maior na catálise que os próprios *clusters* isolados. A Figura 56 compila os resultados obtidos. Os experimentos foram realizados nas mesmas condições que os *clusters*, em água e tampão a 60°C , com 6% (em mol) de catalisador.

Esses MOFs costumam apresentar alta eficiência como catalisadores da hidrólise de ésteres de fosfato e outros pesticidas.^{55,190,191,218,248} Contudo, na literatura se encontram muitos resultados mostrando a atividade destes materiais em pH alcalinos, diferentemente do apresentado neste trabalho. Surpreendentemente, todas as reações analisadas mostraram saturação em até 20%, assim como os *clusters*.

Quando comparando as reações em pH ácido, observa-se que o cluster mostrou melhores resultados que o MOF NU-1000. A eficiência do UiO-66 se destaca mesmo em condições ácidas, mostrando um comportamento muito

similar ao cluster e ao NU-1000 quando em pH 7,0. Já em condição neutra, nota-se que em 1 h de reação o catalisador UiO-66 atinge seu valor máximo e se mantém estável durante toda a análise. A eficiência desse MOF já é reconhecida na literatura,²¹⁸ e é comumente atribuída aos defeitos apresentados por essa estrutura. Os defeitos nestes casos significam falhas na presença de *linkers* entre as subunidades, que deixam posições vazias nos átomos de Zr que são usualmente ocupadas por ligantes aquo. Os MOFs agem cataliticamente por meio destes defeitos, que permitem a coordenação dos metais com o substrato.^{201,208} Este estudo mostra claramente que mesmo que o MOF afete diretamente a velocidade da reação, o seu rendimento é diretamente interligado com a atividade do próprio cluster.

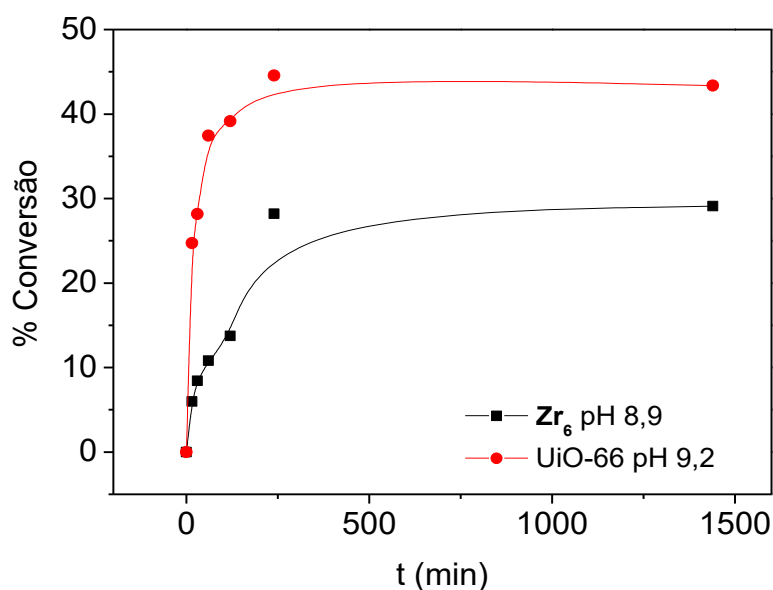
Figura 56 - Acompanhamento da reação de hidrólise utilizando MOFs como catalisadores.



Também foram realizados ensaios cinéticos usando MOFs como catalisadores alcalinos para estas reações, usando tampão TRIS 0,1 mol L⁻¹, pH 9,2 para UiO-66 e o cluster **Zr₆** (Figura 57). Observou-se que as duas reações atingem seu máximo em 4 horas, sendo mais rápidas que as reações estudadas até então. Contudo, mesmo em maiores pH, tem-se rendimento limitado de 43 e 29% respectivamente. Ou seja, mesmo sendo um catalisador mais rápido, o MOF não consegue ser um catalisador 100 % eficiente, mesmo nas condições

que em que ele é mais ativo. Além disso, observa-se que o MOF é muito mais dependente do pH que o cluster. Isso sugere que os bons resultados reportados para MOFs como catalisadores de hidrólise de OP podem estar mais atrelados ao pH utilizado ou a adição de bases, do que uma superioridade intrínseca da porosidade e cristalinidade destes materiais.^{42,191}

Figura 57 - Reação de hidrólise de **POX**, utilizando UiO-66 e **Zr₆**, em pH alcalino. [**Zr₆**] e [UiO-66] = 15 μmol; [**POX**] = 25 μmol; em TRIS, 0.1M – pH 9,2 em 60°C.



2.4.5 Considerações sobre o mecanismo

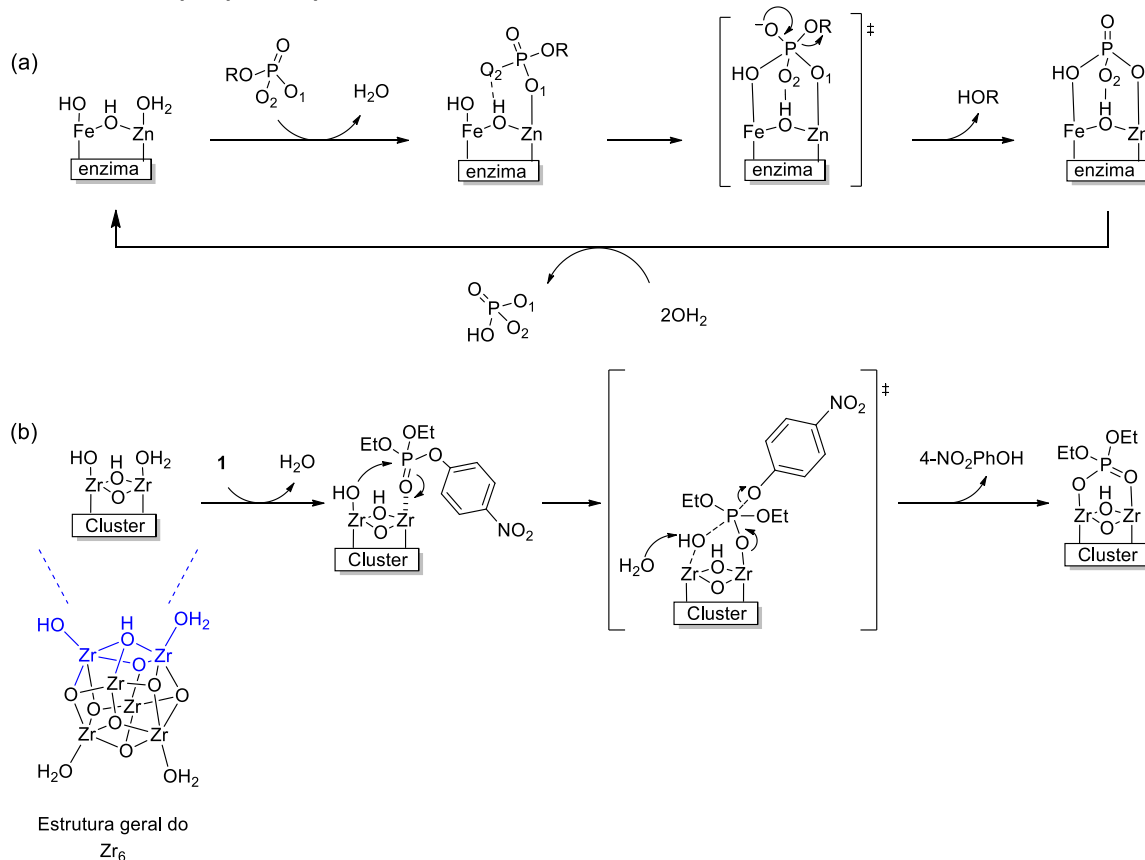
Um dos principais objetivos desse capítulo é apresentar o cluster de **Zr₆** como um composto bioinspirado nas PAPs. Para isso é preciso entender mecanisticamente as semelhanças entre a hidrólise promovida pelo material, na hidrólise de triésteres de fosfato, e da enzima aos diésteres. Para isso, foram realizadas algumas análises que permitiram a sugestão de um mecanismo para reação de hidrólise catalisada.

As PAPs costumam apresentar atividade mais evidente em condições levemente ácidas ou neutras (pH 5,0 a 7,0), devido à formação da espécie catalítica. As PAPs são reconhecidas por serem a única classe de hidrolase que necessita de um sítio heterovalente. Normalmente encontrada na forma de Fe^{III}M^{II} (M= Zn, Fe, Mn), a PAP atua pela formação de um nucleófilo forte em

valores de pH ácidos. Devido a acidez de Lewis do átomo de ferro, a espécie Fe-OH é formada ainda em pH baixo (aproximadamente entre 4 e 5), ao mesmo tempo que o metal bivalente continua coordenado a uma molécula de água que atua como um bom grupo de saída no início da catálise.^{92,95}

Existem algumas sugestões de como o mecanismo de catálise dessa enzima atua, um dos mais aceitos é apresentado no Esquema 19(a). Neste caso, o mecanismo se inicia com a coordenação do substrato ao centro metálico de zinco pela saída de um grupo aquo. A ponte hidróxido entre os centros metálicos atua promovendo estabilidade adicional aos intermediários, ao realizar uma interação de hidrogênio com os oxigênios do substrato. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico ao átomo de fósforo pelo grupo hidróxido coordenado ao átomo de ferro. Esse ataque promove a hidrólise do substrato, liberando os produtos e regenerando o catalisador pela entrada de água e hidróxido no ciclo.¹⁰⁹

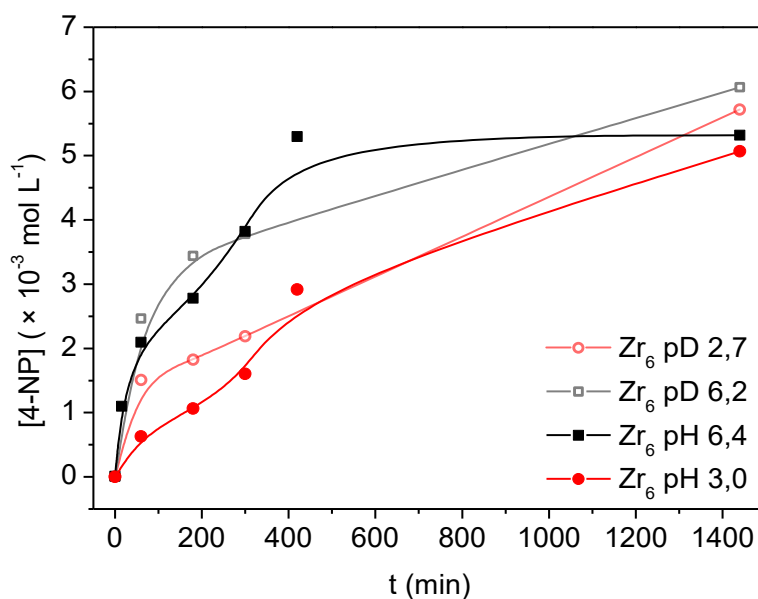
Esquema 19 - (a) ciclo catalítico do mecanismo de hidrólise usando PAPs, (b) mecanismo proposto para hidrólise de **POX** usando **Zr₆**.



Para averiguar as similaridades entre os mecanismos, primeiramente, avaliou-se se a cinética catalisada acontece por um mecanismo do tipo intramolecular (assim como as PAPs), ou via catalise básica geral. No primeiro caso, o próprio catalisador promove o ataque nucleofílico ao substrato, enquanto no outro o catalisador abstrai um próton da água da solução, fazendo com que o hidróxido resultante atue como nucleófilo da reação. Assim, os ensaios cinéticos foram conduzidos em solvente deuterado (D_2O) nas mesmas condições que as demais reações, considerando $pH_{(medido)} = pD + 0,4$.¹⁸³ Como D_2O é menos lábil que H_2O , no caso de um mecanismo básico geral, onde a água do meio tem um papel essencial na catálise, é esperado que a reação seja mais lenta.¹⁸³

Nestas reações não se observou acidificação das soluções, depois da adição do *cluster*. Então, no caso da reação em água, foi utilizado D_2O , e pD foi corrigido a 2,7 usando uma solução comercial de DCI (35%) já para a condição utilizando tampão, este foi preparado usando HEPES em água deuterada, pD 6,2.¹⁸³ As reações foram acompanhadas por 24 h e a Figura 58 apresenta os resultados obtidos. Ao final da reação o pD foi medido novamente, mostrando que houve acidificação durante a reação, caindo para 1,9 e 4,7, similar ao observado nas reações regulares em água.

Figura 58 - Cinética de hidrólise de **POX**, em solvente deuterado, utilizando o cluster **Zr₆** como catalisador. $[Zr_6] = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$; $[POX] = 25 \text{ mmol L}^{-1}$.



Na figura acima, observa-se que não são encontradas grandes diferenças nas reações conduzidas em água ou em solvente deuterado. Inclusive, nota-se que as reações em D₂O apresentam um rendimento um pouco mais elevado que as reações em H₂O. Isso indica que o solvente não deve fazer parte do ciclo catalítico e que a reação segue um caminho intramolecular. Notavelmente, esse mecanismo é diferente do proposto para os MOFs na literatura, onde a catálise segue por um mecanismo básico geral, devido as condições alcalinas em que se encontram, mesmo que a maioria concorde com a coordenação do substrato ao Zr pela saída de uma água.²⁰¹

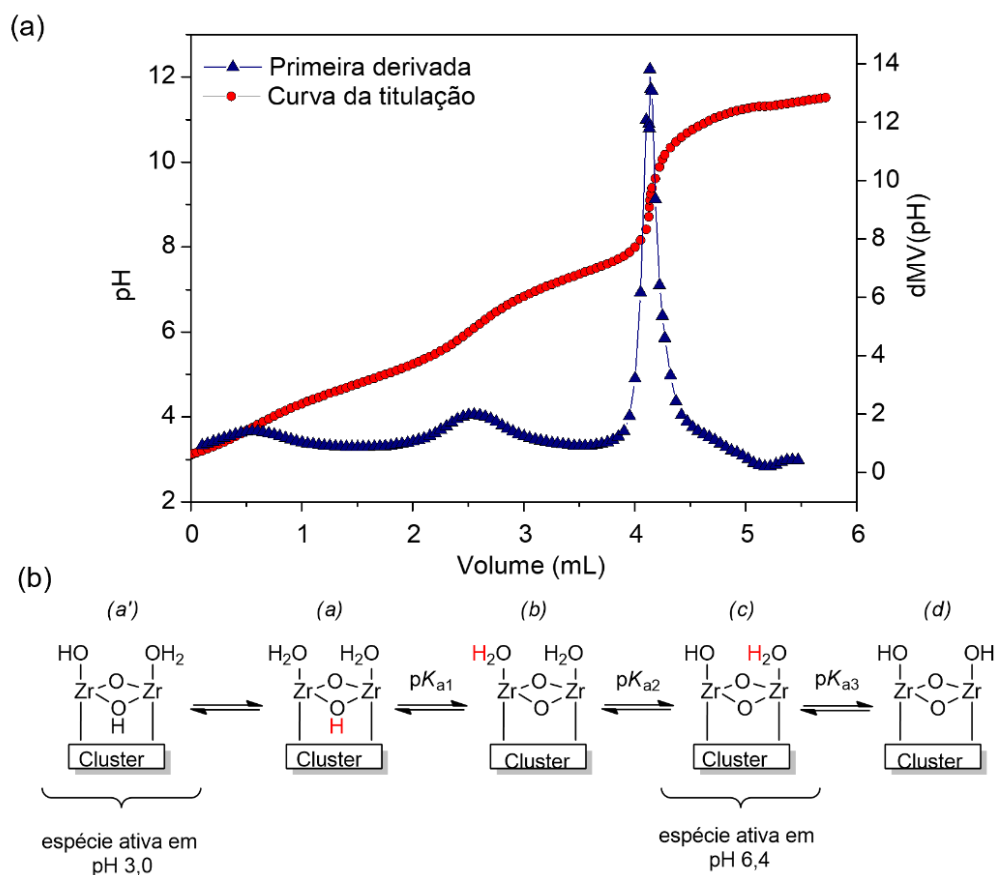
Algumas similaridades estruturais também corroboram a semelhança entre os mecanismos da enzima e cluster. Ambos (sítio ativo da enzima e *cluster*) são formados por dois centros metálicos, coordenados a águas e com pontes hidróxido e oxo entre si, formando unidades catalíticas similares (Esquema 19b). Devido a definição do mecanismo intramolecular realizado pelo cluster, se supõe que este possa ocorrer de maneira similar a enzima, onde o substrato se coordena a um átomo de Zr, pela saída de uma água e o grupo hidróxido coordenado ao Zr adjacente promove o ataque nucleofílico (Esquema 19b). Para que isso seja verdade, duas condições precisam ser determinadas:

- 1) A distância entre os centros metálicos de Zr;
- 2) A espécie majoritária do cluster durante a catálise.

No primeiro caso, é importante observar se as distâncias entre os átomos de Zr permitem com que o ligante hidróxido promova o ataque nucleofílico ao substrato coordenado ao outro. Se essa distância for muito grande, é possível que este não seja capaz de realizar esse processo. Pode-se observar, nos valores medidos por EXAFS que a distância entre Zr-Zr é de 3,6 Å, valor em boa concordância com os determinados para a PAPs (3,1-3,5 Å)⁹⁵ e coincidente com vários exemplos de biomiméticos a PAPs reportados na literatura.^{45,87,109,115,122,129}

Já no segundo caso, é importante entender qual a espécie ativa nos valores de pH onde as reações foram realizadas. Para isso, foi realizada a titulação potenciométrica do *cluster*, para determinar os pK_as onde há formação de novas espécies. Os resultados são apresentados na Figura 59.

Figura 59 - (a) Curva da titulação potenciométrica do Cluster de Zr_6 e primeira derivada dos dados; (b) espécies encontradas em cada pH, e sua sequência de desprotonação.



Foram encontrados três valores de pK_a para o *cluster*, em 3,4; 4,8 e 7,4. Estes foram atribuídos a desprotonação da ponte hidróxio formando uma ponte oxo e a espécie $[(\text{OH}_2)\text{Zr}(\mu\text{-O})\text{Zr}(\text{OH}_2)]$, de uma água coordenada ao centro metálico formando a espécie $[(\text{OH})\text{Zr}(\mu\text{-O})\text{Zr}(\text{OH}_2)]$ e uma segunda unidade de água na espécie $[(\text{OH})\text{Zr}(\mu\text{-O})\text{Zr}(\text{OH})]$ (veja Figura 59b). Devido a desprotonação parcial do cluster quando em água, parte do catalisador assume a forma (a') - Figura 59, que é a espécie catalítica quando nas reações em pH 3,0. Isso justifica também as semelhanças entre as reações, mas a menor atividade em pH ácido, uma vez que nem todo o catalisador em solução estará desta forma desprotonada. Parte dele, se encontra de acordo com a espécie (a) - Figura 59, na forma completamente protonada, e não catalítica, uma vez que não há bons nucleófilos na estrutura. Isso faz com que a disponibilidade do catalisador (da espécie ativa) seja menor, resultando em uma menor conversão de reagente em produto. Já a espécie ativa na reação em pH 6,4 também apresenta um sistema

onde um núcleo de Zr é coordenado a uma água e o outro a um hidróxido, espécie (c) - Figura 59. A principal diferença entre as duas espécies catalíticas se encontra na presença de hidrogênio na ponte. Nas PAPs, esse hidrogênio tem uma contribuição positiva na estabilização dos intermediários da reação. Interessantemente, no caso dos MOFs, a presença desse átomo parece aumentar a energia do estado de transição, baseado em propostas teóricas,¹⁹³ concordando com a maior atividade do cluster em pH 6,4.

Assim, os resultados experimentais coletados até aqui mostraram que a atividade do cluster está relacionada às espécies catalíticas do tipo $[(\text{OH})\text{Zr}(\mu\text{-OX})\text{Zr}(\text{OH}_2)]$, similar ao sítio catalítico da enzima (Figura 59). As reações acontecem via um mecanismo intramolecular, onde o catalisador é responsável pelo ataque nucleofílico ao fosfato (Esquema 19). A distância entre os átomos de Zr permite que um dos centros seja coordenado ao substrato enquanto o outro promove a hidrólise do substrato. Todas estas considerações concordam com a proposta mecanística feita nessa seção, e em muito se assemelham com o sugerido para PAPs.

2.4.6 Estudos teóricos

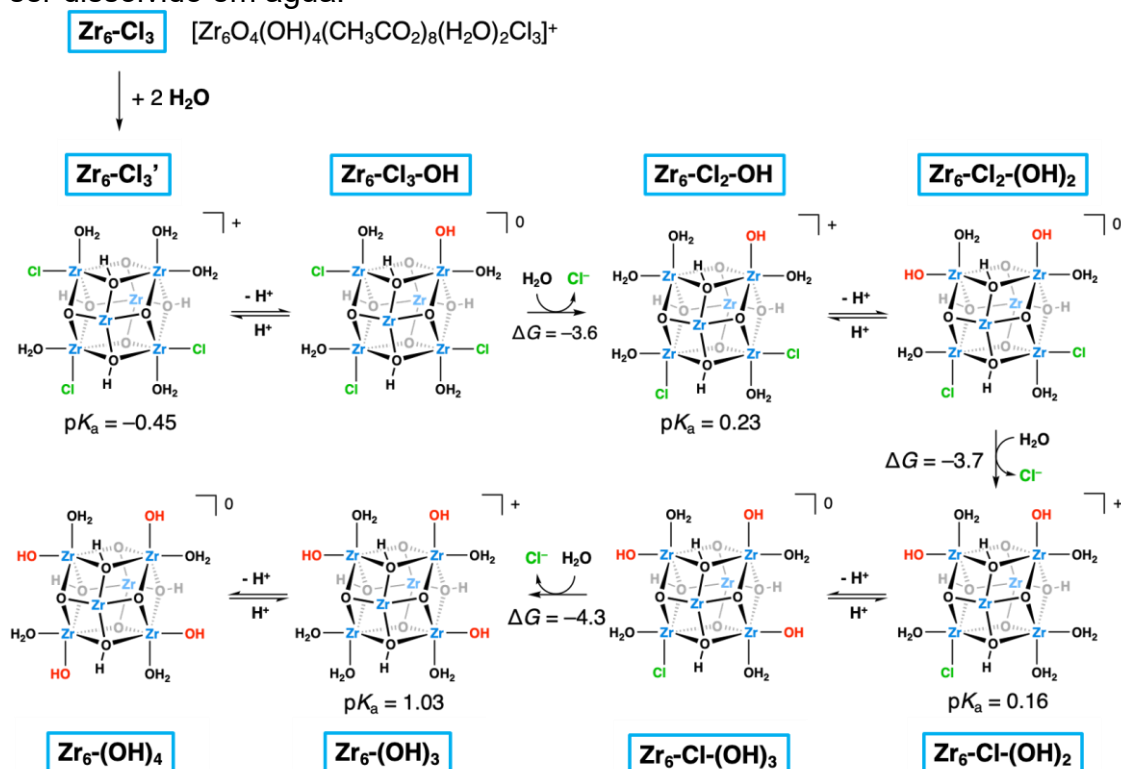
Levando em consideração a estrutura tridimensional do *cluster* foram desenvolvidos estudos teóricos que permitiram a obtenção de informações adicionais sobre o mecanismo de ação destes catalisadores. Estes cálculos foram desenvolvidos por colaboradores da Universidade Rovira i Virgili, Espanha.

2.4.6.1 Determinação das espécies em solução

Para determinar a espécie ativa do catalisador em solução, foi realizado um estudo de especiação por meio de cálculos. As caracterizações prévias reportadas para o catalisador sugerem a presença de múltiplos *clusters* que se diferem no número e natureza dos ligantes terminais, combinando ligantes cloreto e aquo/hidróxido. A espécie mais abundante se mostrou condizente com aquela contendo três ligantes cloretos e dois ligantes aquo: $[\text{Zr}_6\text{O}_4(\text{OH})_4(\text{CH}_3\text{CO}_2)_8(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_3]^+$ (**Zr₆**), chamado de **Zr₆-Cl₃** de agora em diante.

Ao dissolver $\text{Zr}_6\text{-Cl}_3$ em água, é dado início a uma sequência de estágios de hidratação e desprotonação, que são termodinamicamente favoráveis, mostrado no Esquema 20. Inicialmente, ocorre o processo de hidratação de $\text{Zr}_6\text{-Cl}_3$ para $\text{Zr}_6\text{-Cl}_3'$, pela coordenação de duas moléculas de água. Nesse estágio, a esfera de coordenação do zircônio é saturada, onde o número de ligantes é concordante com o que se observar em MOFs de Zr.

Esquema 20 – Processo de hidratação e desprotonação que $\text{Zr}_6\text{-Cl}_3$ passa ao ser dissolvido em água.



*As energias livres de Gibbs para os passos de troca de ligantes cloretos por água são descritas em kcal mol⁻¹. Os ligantes em vermelho significam que estes foram desprotonados em equilíbrios anteriores.

Em seguida, os ligantes cloretos foram substituídos por moléculas de água (apresentados isoladamente no Esquema 20), que espontaneamente são dissociadas formando ligantes hidroxilo terminais por sucessivos processos ácido-base, governados por um pK_a muito baixo (entre -0,45 e 1,03). Isso leva a formação de uma espécie neutra livre de cloretos $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_4$, e é a razão da diminuição do pH das reações no seu início, como discutido anteriormente. A distribuição de prótons é consistente com a configuração mais estável onde há oito ligantes coordenados aos *oxo-clusters* de Zr_6 nos MOFs de zircônio.²⁴⁹ Os

pK_a s apresentados para formação da espécie $Zr_6-(OH)_4$ foram calculados de acordo com o especificado na metodologia. É possível observar que, segundo essas previsões, a espécie mais abundante quando pH 3,0 é concordante com as estipuladas nas seções anteriores.

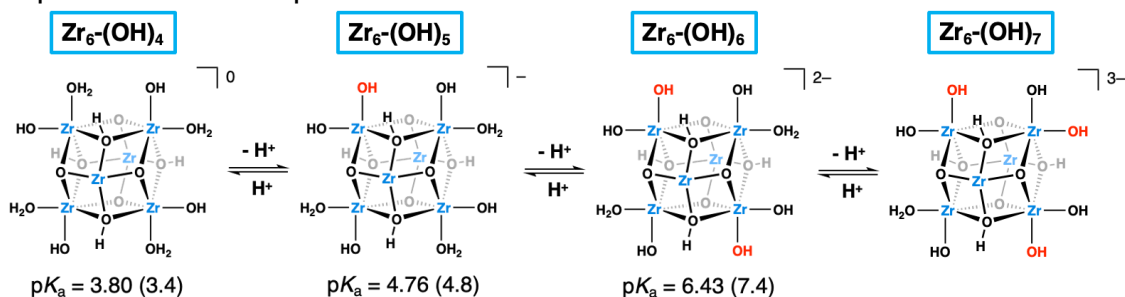
Através deste estudo, fica claro que a acidificação da solução pelo *cluster* é realmente proveniente desta desprotonação parciais das águas presentes na esfera de coordenação do *cluster*. De acordo com as previsões teóricas, a formação do $Zr_6-(OH)_4$ pela dissolução do Zr_6-Cl_3 deveria diminuir o pH da solução até 2,23 (Tabela 27), sendo esses valores mais baixos que o observado experimentalmente (pH 3,0). Do mesmo modo, assumindo que a espécie abundante não é a espécie catiônica, Zr_6-Cl_3 mas, por exemplo a neutra Zr_6-Cl_3-OH também se observa um pH mais ácido que o experimental, de 2,35 (Tabela 27). Por outro lado, se o sal inicial fosse composto somente pelo $Zr_6-(OH)_4$ (que também é consistente com o sinal de pico base para o espectro de massas da referência utilizada²²⁸), seria encontrado um pH levemente mais alto de 3,37. Um pH de 3,0 só é obtido pela mistura de diferentes espécies (Tabela 27). Essa contribuição de várias espécies com diferentes ligantes também deve ser observada no material sintetizado usado como referência para este trabalho, explicando a complexidade do espectro de massas obtido.²²⁸ Sendo assim, existem duas possibilidades de misturas de cluster que geram uma solução a pH 3,0, onde $Zr_6-(OH)_4$ é a espécie majoritária com uma contribuição da espécie Zr_6-Cl_3 ou da espécie Zr_6-Cl_3-OH . O mais importante é que a espécie $Zr_6-(OH)_4$ é a mais abundante em qualquer cenário, e que as demais espécies espontaneamente são interconvertidas nessa, quando em solução.

Tabela 27 – pH calculado para as soluções considerando diferentes concentrações das espécies majoritárias para Zr_6 .

Concentração inicial (mol L ⁻¹)			pH _{equil.}
Zr_6-Cl_3	Zr_6-Cl_3-OH	$Zr_6-(OH)_4$	
$1,5 \times 10^{-3}$	-	-	2,23
-	$1,5 \times 10^{-3}$	-	2,35
-	-	$1,5 \times 10^{-3}$	3,37
$2,0 \times 10^{-4}$	-	$1,3 \times 10^{-3}$	3,00
	$2,0 \times 10^{-4}$	$1,3 \times 10^{-3}$	3,08

Este cenário, com $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_4$ sendo a espécie mais abundante, é suportado pelos valores da titulação potenciométrica de $\text{p}K_{\text{a}1} = 3,4$, $\text{p}K_{\text{a}2} = 4,8$ e $\text{p}K_{\text{a}3} = 7,4$. Uma vez que a espécie mais abundante em solução foi determinada foi possível estipular os valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ teórico para o *cluster* de acordo com suas sucessivas desprotonações. Quando os processos de desprotonação envolvendo a espécie $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_4$ foram estimados, obteve-se valores de 3,80, 4,76 e 6,43, que estão em boa correspondência com os experimentais. Os estudos prévios utilizando Zr-MOFs comumente apresentam 3 desprotonações associadas a ponte $\mu_3\text{-OH}$ ($\text{p}K_{\text{a}1}$) e as águas coordenadas aos centros Zr^{IV} ($\text{p}K_{\text{a}2}$ 4,8 e $\text{p}K_{\text{a}3}$ 7,4).²⁵⁰ Contudo, como apresentado na Esquema 21, os cálculos de DFT indicaram que os prótons dos ligantes aquo terminais são mais ácidos que os prótons das pontes, em todos os casos, por uma diferença de 7-11 kcal mol⁻¹.²⁵¹ Assim, diferentemente do sugerido na seção anterior, atribuem-se todas as desprotonações a processos envolvendo os ligantes aquo na esfera de coordenação do Zr. Essa atribuição não foi possível somente com os resultados experimentais, pois o cluster havia sido limitado ao sítio catalítico, formado por $[(\text{OH}_2)_2\text{Zr}^{\text{IV}}_2(\mu\text{-OH})]$ e tratado como uma unidade bimetálica. Finalmente, conclui-se que os estudos teóricos de desprotonação indicam que a forma neutra $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_4$ é realmente a espécie ativa para a catálise em pH 3,0, enquanto as espécies aniônicas são geradas pelas desprotonações dos ligantes aquo ($\text{Zr}_6\text{-(OH)}_5$, $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_6$ e $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_7$, Esquema 21) são responsáveis pela catálise quando o pH é ajustado a valores mais altos. Estas espécies apresentam alguns isômeros possíveis, que foram levados em consideração para o cálculo. O Esquema 21 apresenta as conformações mais estáveis, as demais são apresentadas no APÊNDICE II.

Esquema 21 – Espécies e valores de $\text{p}K_{\text{a}}$ determinados por DFT. Valores experimentais entre parênteses.

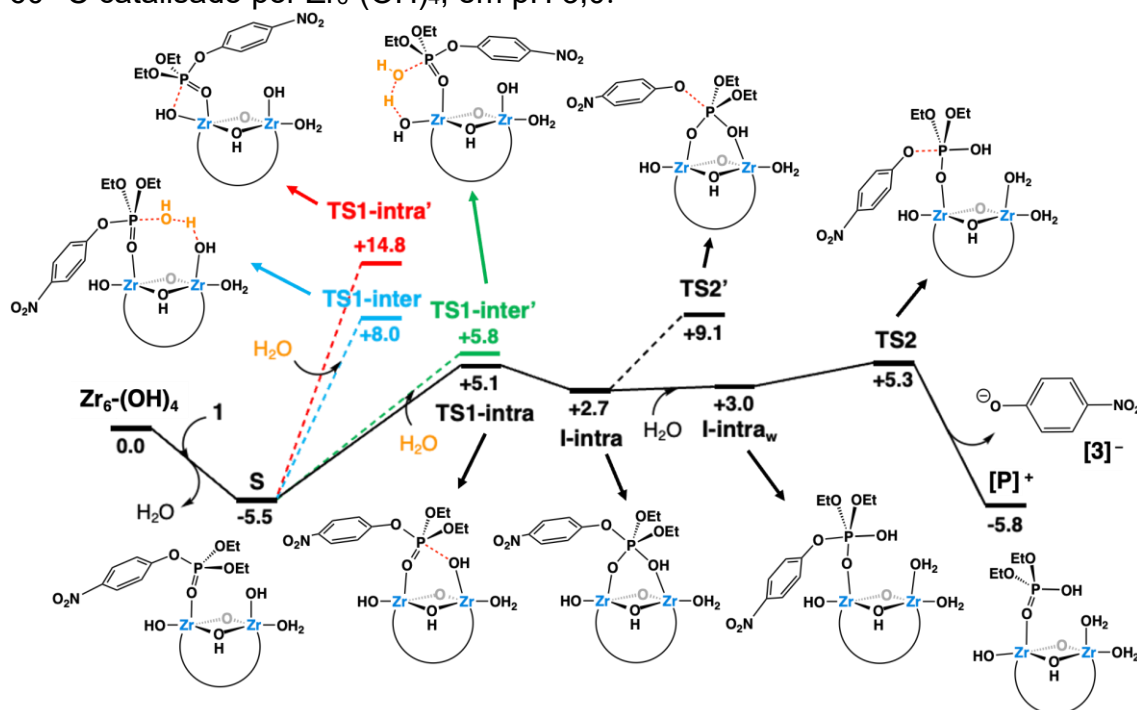


2.4.6.2 Determinação do mecanismo da reação

Depois de determinar a espécie cataliticamente ativa nas reações de hidrólise dos triésteres, cálculos de DFT foram conduzidos para elucidar o mecanismo da reação e promover *insights* da dependência do pH na performance do catalisador, primeiramente, focando na reação em pH 3,0 e usando $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_4$ como espécie mais abundante. Em seguida, comparou-se o mecanismo e as características energéticas com a espécie $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_7$, majoritária em pHs alcalinos. Desta forma, é possível comparar as características de duas reações em extremos (ácido e alcalino), sendo que ambas também foram analisadas experimentalmente.

Como apresentado no Esquema 22, o mecanismo em pH 3,0 é iniciado pela substituição de um ligante aquo de $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_4$ pelo substrato **POX**, formando a espécie **S**. Essa troca de ligante é exergônica ($5,5 \text{ kcal mol}^{-1}$) e ativa o grupo fosfato fazendo com que ele seja suscetível a um ataque nucleofílico. Isso ocorre devido a acidez de Lewis do centro de Zr,^{43,193,201,252} assim como acontece com outros centros metálicos capazes de catalisar reações de hidrólise.^{253–258} Apesar desta primeira etapa ser bastante clara (pela baixa energia) e aceita com base na literatura, as próximas etapas podem acontecer por diferentes caminhos (apresentados em diferentes cores no Esquema 22) devido à complexidade molecular da reação. As opções incluem dois caminhos intramoleculares, onde o ataque nucleofílico pode ser realizado pelo hidróxido coordenado ao Zr vizinho (chamado de caminho **intra**, em preto - Esquema 22) ou no mesmo centro metálico (chamado de caminho **intra'**, em vermelho - Esquema 22). Além destes, dois caminhos intermoleculares (catalise básica) também são possíveis, que da mesma forma que os caminhos intramoleculares podem ser conduzidos por centros metálicos vizinhos (caminho **inter**, em azul - Esquema 22) ou da mesma posição (caminho **inter'**, em verde - Esquema 22).

Esquema 22 – Perfil de energia livre de Gibbs (kcal mol⁻¹) da hidrólise de **1** em 60 °C catalisado por Zr₆-(OH)₄, em pH 3,0.



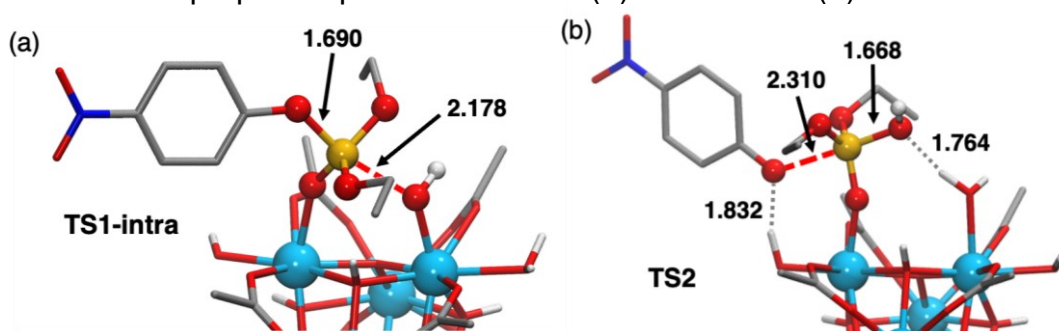
Inicialmente, observa-se que o caminho via **intra'** é o mais energético (14,8 kcal mol⁻¹) e se difere grandemente do caminho **intra**, que é o mais espontâneo entre as possibilidades analisadas (5,8 kcal mol⁻¹). No entanto é surpreendente que para as possibilidades intermoleculares se observa o oposto, com o caminho **inter'** sendo menos energético que o **inter** (5,8 e 8,0 kcal mol⁻¹ respectivamente) e ambas serem menos energéticas que uma possibilidade intramolecular. Usualmente, a entropia de sistemas via catálise básica é aumentada pela inserção das moléculas de água no sistema isso evidencia ainda mais a energia associada (e a 'não espontaneidade') com o caminho **intra'**. As diferenças energéticas entre os caminhos possíveis nesse caso (intermoleculares) também são menores, indicando que o impacto do metal é muito mais evidente nas catálises via mecanismos intramoleculares, o que já era esperado.

Ao analisar todas as possibilidades, é evidente que o caminho mais espontâneo é **intra**, ultrapassando uma barreira energética de 10,6 kcal mol⁻¹ comparado com 11,3, 13,5 e 20,3 kcal mol⁻¹ dos caminhos **inter'**, **inter** e **intra'** respectivamente. Esses resultados concordam com o determinado experimentalmente, onde sugeriu-se que a reação seria conduzida por um

mecanismo intramolecular. O caminho da reação após o ataque nucleofílico segue formando um intermediário (**I-intra**) fosforano bipiramidal trigonal coordenado aos dois centros de Zr, que possui energia de +2,7 kcal mol⁻¹ a mais que o reagente **Zr-(OH)₄**. Nessa parte, existem duas possibilidades para o mecanismo: ou ocorre diretamente a saída do grupo fenólico e formação dos produtos **DEP** e **4-NP**, via **TS2'** (Esquema 22); ou ocorre a entrada de uma água no mecanismo, e está se coordena ao átomo de Zr que efetuou o ataque nucleofílico formando um novo intermediário **I-intra_w** (Esquema 22). Assim, o átomo de fósforo voltaria a estar coordenado somente a um centro metálico, mas agora pentacoordenado, que desencadeia a clivagem da ligação P-fenol, e formação dos produtos, via **TS2**, ultrapassando uma pequena barreira energética de 2,3 kcal mol⁻¹. Por uma diferença energética de 3,8 kcal mol⁻¹, o caminho da formação de **TS2** se mostrou o mais espontâneo.

A barreira energética para se alcançar **TS2** partindo do intermediário mais estável **S** é de 10,8 kcal mol⁻¹, muito similar à energia necessária para **S**→**TS1** (10,6 kcal mol⁻¹, Esquema 22), o que poderia ocasionar um mecanismo concertado. Contudo, todas as tentativas de simular essas condições não tiveram sucesso, sugerindo que o mecanismo precise passar por dois estados de transição durante a reação. As geometrias de ambos os estados transição **TS1** e **TS2** foram otimizadas e são representadas na Figura 60.

Figura 60 - Representação das estruturas otimizadas dos estados de transição mais estáveis propostos pelo mecanismo: (a) **TS1**- Intra e (b) **TS2**.



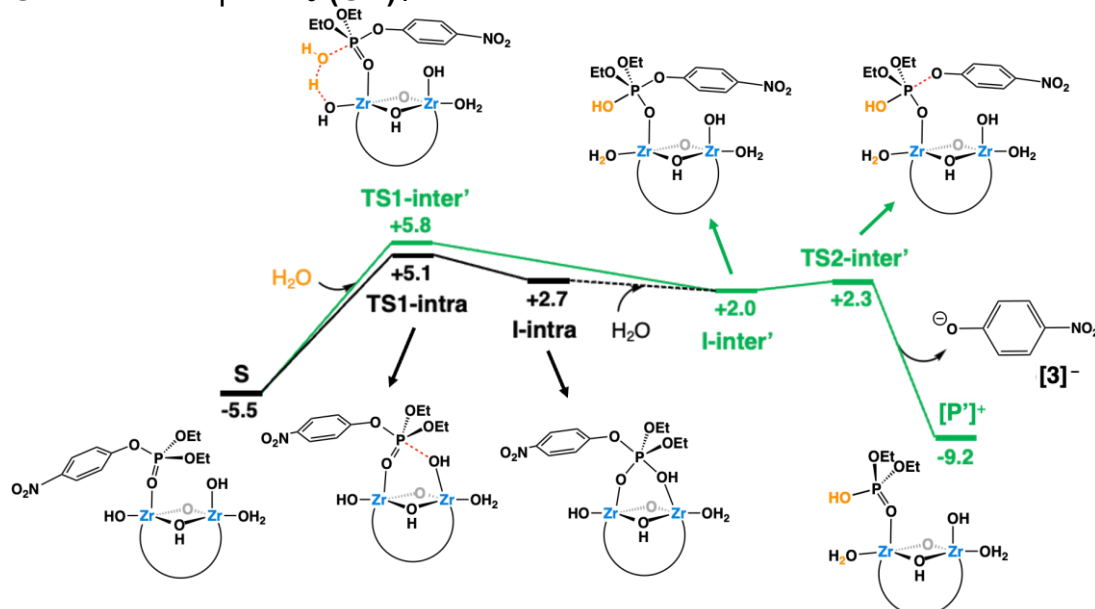
*Zr (azul), C (cinza), H (branco), O (Vermelho), P (amarelo), N(azul escuro).

Na imagem é possível observar a inversão do comprimento das ligações envolvendo P-(4-NP) e P-OH. No primeiro estado de transição, a ligação do fósforo com o fenol é de 1,690 Å, enquanto a ligação com o grupo hidróxido é de 2,178 Å, uma vez que esse ainda se encontra coordenado ao Zr. Já no segundo

estado de transição, a ligação P-OH é fortalecida (1,668 Å) e o grupo hidróxido não se encontra mais coordenado ao Zr, mas fazendo uma interação de hidrogênio com o novo ligante aquo. Ainda no **TS**, observa-se que a ligação P-(4-NP) é enfraquecida (2,310 Å) e a saída desse grupo estabilizada também por uma interação de hidrogênio do oxigênio (do fenolato) com o ligante aquo coordenado ao Zr (o mesmo centro em que o fosfato se encontra coordenado).

Finalmente, o mecanismo da reação acaba com a formação do **[P]⁺** pela dissociação de **4-NP**, em uma etapa exergônica de $-5,8 \text{ kcal mol}^{-1}$. Mesmo que o caminho intramolecular tenha sido o de menor energia, devido à pequena diferença de energia livre entre **TS1-intra** e **TS1-inter'** ($0,7 \text{ kcal mol}^{-1}$ - Esquema 23), não é possível descartar que uma parte minoritária da reação siga pelo caminho **inter'** (linhas verdes). Além disso, a incorporação de uma ligante aquo em **I-intra**, seguida por uma reorganização de prótons, poderia fazer com que os caminhos **intra** (preto) e **inter'** (verde) convergissem na espécie **I-inter'**, permitindo postular uma possível via de reação que passe por **TS1-intra** e **TS2-inter'**, sendo este último estado de transição 3 kcal mol^{-1} mais baixo em energia do que **TS2** (Esquema 23).

Esquema 23 - Energia livre de Gibbs (kcal mol^{-1}) para a reação de hidrólise de **POX** catalisada por **Zr₆-(OH)₄** através de mecanismos alternativos



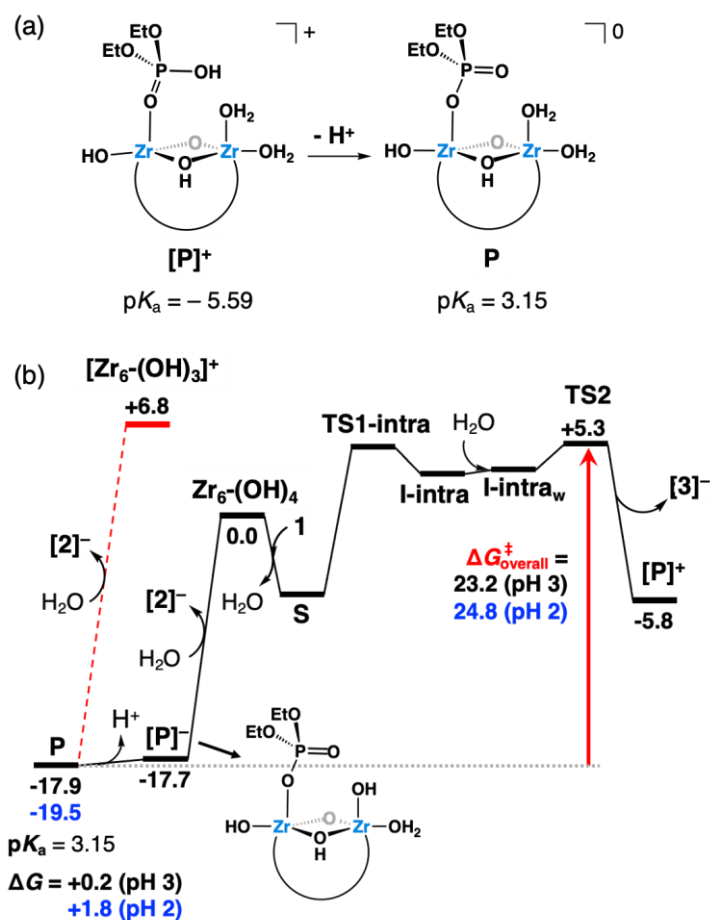
No entanto, analisar a viabilidade e cinética da transformação de **I-intra** para **I-inter'** é bastante complexa e não forneceria informações valiosas

adicionais, dado que as energias livres relativas de **TS1-intra** e **TS2** são muito próximas, e, portanto, a barreira geral da reação permaneceria praticamente inalterada. Contudo, a possibilidade de a reação ser conduzida pelo caminho intermolecular é menos aceita, tendo em vista os resultados experimentais de efeito isotópico discutidos anteriormente. A falta de alteração nos resultados cinéticos quando em solvente regular e deuterado indica que o solvente não desempenhe um papel tão importante no mecanismo, como é necessário em catálises básicas.

Os estudos de DFT também permitiram elucidar o mecanismo de inibição dos catalisadores que resulta em uma reação limitada a 20% de rendimento. Ao final da hidrólise do substrato, o estado **[P]⁺** se torna energeticamente estável (Esquema 24a). Nesse caso o produto **DEP** continua coordenado no catalisador, onde, por um processo de desprotonação (pK_a - 5,59) leva a formação da espécie neutra **P**. Nessa forma, a liberação de **DEP** do catalisador necessita uma alta energia de 24,7 kcal mol⁻¹. Contudo, **P** coexiste em equilíbrio com sua forma aniônica, **[P]⁻** (pK_a 3,15 - Esquema 24b) onde a dissociação de **DEP** pode acontecer com um custo energético de 17,7 kcal mol⁻¹. A estabilidade prevista para o estado **P** e seu conjugado desprotonado, está em acordo com a alta afinidade do produto fosfato com o catalisador, como mostrado nas análises da seção anterior, assim como concordam com a acidificação da solução durante a reação. Ou seja, a acidez observada ao fim da análise é decorrente das desprotonações para formação de **P** e **[P]⁻**.

Essas etapas também ajudam a entender a regeneração lenta do catalisador e o baixo rendimento das reações. Para que o catalisador **Zr₆-(OH)₄** seja regenerado, os cálculos estipulam uma barreira energética de 23,2 e 24,9 kcal mol⁻¹, dependendo do pH da solução (Esquema 24b). Isso também está de acordo com o observado para as reações ácidas em diferentes temperaturas, uma vez que a barreira energética é mais difícil de ser sobreposta em 37 °C do que a 60°C. Surpreendentemente, o cálculo sugere um rendimento 13 vezes superior quando a temperatura é aumentada, valor muito próximo ao rendimento 12 vezes maior observado experimentalmente.

Esquema 24 – Representação (a) da desprotonação espontânea de $[P]^+$; (b) Perfil de energia livre de Gibbs (kcal mol^{-1})*.

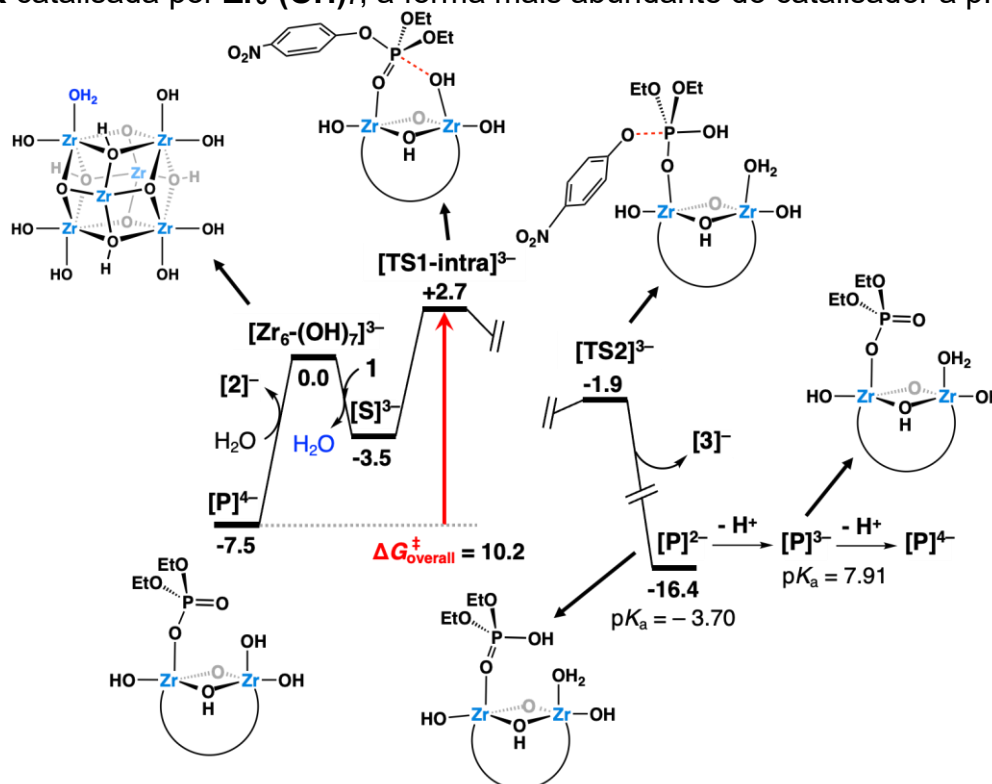


*A seta vermelha a barreira geral de energia livre da hidrólise do estado de repouso P para o estado de transição mais elevado (TS2) em função do pH da solução. Os valores em preto representam as energias livres no pH inicial de 3,0, enquanto os valores em azul foram estimados para um pH de 2,0 (pH experimental no final da reação a 60 °C). Apenas as energias relativas das espécies-chave são mostradas. Linhas pontilhadas vermelhas representam um processo alternativo mais exigente em energia para regenerar o catalisador.

Com o conhecimento adquirido até aqui, foi possível entender como a catálise é mais rápida em pHs mais elevados. Para isso, foi utilizada a espécie $Zr_6-(OH)_7$ como exemplo, uma vez que essa é a espécie mais abundante em pH 9,0. Concordando com os resultados experimentais, observou-se uma menor barreira energética para a hidrólise de **POX**, aproximadamente $10,4 \text{ kcal mol}^{-1}$ (Esquema 25). Esse valor é cerca de 13 kcal mol^{-1} menor que o observado para reação em pH 3,0, e é decorrente de diversos fatores. O primeiro deles é a menor energia requerida ($6,2 \text{ kcal mol}^{-1}$) para que ocorra o ataque nucleofílico intramolecular de Zr-OH ao substrato, formando uma espécie análoga a **S**. Quando em pH 3,0, esse passo requer cerca de $10,6$ e $10,8 \text{ kcal mol}^{-1}$ para ultrapassar **TS1-intra** e **TS2**, respectivamente. Isso pode ser relacionado ao

caráter nucleofílico mais forte dos grupos Zr-OH em $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_7$, que é capaz de compensar o decréscimo da acidez de Lewis dos sítios de Zr^{IV} movendo de um cluster neutro para um aniônico (no caso destes pHs mais altos).

Esquema 25 - Perfil de energia livre de Gibbs (kcal mol⁻¹) para a hidrólise de POX catalisada por $\text{Zr}_6\text{-(OH)}_7$, a forma mais abundante do catalisador a pH 9,0.



O segundo fator se refere a menor energia necessária para remoção do produto em condições alcalinas ($\Delta G = +7,5$ kcal mol⁻¹ em pH 9,0 e 17,9 kcal mol⁻¹ em pH 3,0) atribuído à carga negativa espalhada pelo cluster que deve induzir repulsões Coulômbicas com o produto aniônico formado, favorecendo a dissociação. Como $[\text{P}]^{3-}$ exibe um $\text{p}K_{\text{a}}$ de 7,91, espera-se que $[\text{P}]^{4-}$ se forme espontaneamente no pH da reação de 9,0 e, portanto, ao contrário da reação no pH 3,0 não há custo energético associado à geração da espécie que libera o produto **DEP**.

De maneira geral, estes dois fatores podem explicar a maior atividade e o menor impacto da diferença de temperatura nas reações em maiores pHs. Além disso, esses resultados mostram que o efeito da temperatura e a acidificação da solução durante a reação é diretamente ligado a natureza da espécie ativa e quão rápido ela reage em condições específicas. Isso reforça a

analogia feita entre os mecanismos do cluster e a enzima, uma vez que as PAPs são conhecidas por atuarem em meio reacional ácido.^{109,118}

Assim sendo, os estudos mecanísticos por DFT ajudaram a explorar ainda mais a analogia do cluster como composto bioinspirado, fornecendo informações importantes, como sobrepor as barreiras que limitam os rendimentos observados e aumentar a atividade (turnover) em condições ácidas. O ponto mais importante para isso é considerar que a acidez do meio aumenta pela formação do produto **DEP** e conseqüentemente diminui a disponibilidade da espécie ativa (**Zr₆-(OH)₄** ou **Zr₆-(OH)₆**) no meio reacional e favorece a formação de espécies mais protonadas. Assim, a forte afinidade do produto fosfato e cluster pode não ser a única razão pelo baixo turnover observado. De maneira geral, esses dados não só suportaram os resultados experimentais aqui descritos e a analogia entre o cluster e a PAPs, mas também sugere que identificar novas formas de “tunelar” a topologia destes prótons pode aumentar a atividade hidrolítica.

2.4.7 Ensaios de incorporação dos complexos aos MOFs

Depois dos estudos envolvendo os *clusters* e MOFs, foi observado que a atividade desses materiais pode ser investigada mesmo em condições atípicas. Mesmo que usualmente MOFs sejam reportados como catalisadores em soluções alcalinas, e/ou utilizados co-catalisadores, eles também apresentaram atividades em condições neutras e ácidas, como discutidos no presente capítulo.

Tendo em vista a comparação dos MOFs às enzimas sintéticas, (principalmente as fosfatases alcalinas) e os complexos de coordenação à sítios ativos de fosfoesterases, acredita-se que a combinação destes dois materiais pode aumentar a atividade hidrolítica. Para tal, decidiu-se combinar os MOFs de zircônio UiO-66 e NU-1000 com os complexos **1-5**, reportados no Capítulo 1. A seguir, serão apresentados os processos de incorporação e caracterização destes materiais e os testes de hidrólise do paraoxon, utilizando os materiais híbridos sintetizados.

É importante ressaltar que os resultados apresentados são preliminares e foram desenvolvidos para aumentar a atividade cinética já observada nos

materiais isolados. Embora alguns resultados exijam estudos adicionais e seja crucial elucidar a interação entre os complexos e os MOFs, espera-se que a combinação desses materiais tenha um potencial significativo no desenvolvimento de novos catalisadores.

2.4.7.1 Incorporação dos complexos nos MOFs

Os MOFs NU-1000 e UiO-66 foram escolhidos como objetos de estudo deste trabalho por serem comumente utilizados como catalisadores em hidrólise de paraoxon.^{55,259} Além disso, a cavidade do MOF NU-1000 é uma das maiores entre os MOFs de Zr reportados na literatura. Com 31 Å, é suficiente para incorporar qualquer um dos complexos, incluindo o complexo **5** (21,85 Å), o maior do grupo. Contudo, também é possível que os complexos sejam adsorvidos na superfície do material, e/ou promovam interações que os permitam ser incorporados mesmo sem que sejam inseridos completamente dentro dos poros dos MOFs.

Os complexos foram incorporados em um processo de inserção pós síntese dos MOFs. Desta forma, uma vez obtidos os MOFs isoladamente, esses foram inseridos em uma solução de acetonitrila contendo excesso de complexo. A suspensão foi agitada por 24 h a temperatura ambiente. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante foi coletado e analisado via UV-vis para observar a quantidade de complexo incorporada no material pela diferença entre a concentração inicial e final após o procedimento. Os resultados entre a proporção de complexos, com relação aos MOFs, foram determinados por UV-vis, são apresentados na Tabela 28. Além disso, a tabela mostra os nomes dados aos materiais e os respectivos compostos que os deram origem.

O sólido resultante foi lavado diversas vezes com acetonitrila, para retirar quaisquer resquícios de complexo que não foi adsorvido pelo MOFs. As lavagens foram realizadas até se observar nenhuma coloração no líquido sobrenadante. O complexo **2** (Materiais M2 e M7) mostrou lixiviação, liberando quantidade de complexo durante os procedimentos de lavagem. Dessa forma, ele foi desconsiderado das demais análises. Acredita-se que esse fenômeno tenha ocorrido devido ao complexo ser o mais catiônico dentre o grupo estudado (4+).

Tabela 28 - Proporção de complexo para cada unidade de MOF nas amostras. Proporção calculada por diferença da concentração de complexo na solução no início e final do procedimento de incorporação.

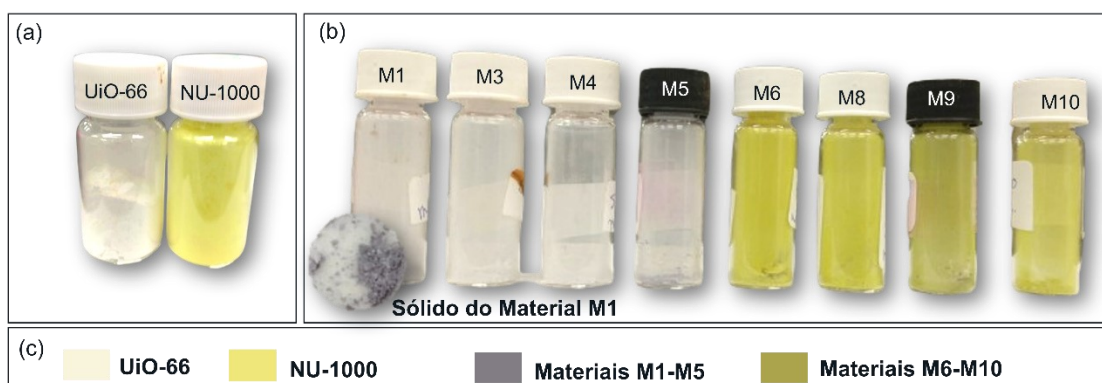
Entrada	Complexo	MOF	Proporção
M1	1	UiO-66	1,16: 1
M2	2	UiO-66	-
M3	3	UiO-66	0,77: 1
M4	4	UiO-66	0,52: 1
M5	5	UiO-66	0,54: 1
M6	1	NU-1000	1,10: 1
M7	2	NU-1000	-
M8	3	NU-1000	0,47: 1
M9	4	NU-1000	-
M10	5	NU-1000	0,79: 1

Os MOFs estudados nesse trabalho são extremamente hidrofóbicos, sendo compostos neutros formados por grandes unidades orgânicas apolares na sua estrutura. Sendo assim, é possível que a diferença de polaridade entre os materiais tenha sido o principal empecilho para incorporação. Isso também é refletido na maior incorporação do complexo **1** (entradas **M1** e **M6**), um complexo neutro. Além disso, esse complexo é o menor dentre os exemplos estudados, sendo possível que sua incorporação nos MOFs tenha sido facilitada, gerando a melhor proporção complexo:MOF. Também se observa que não houve significativa diferença entre a quantidade de complexo **1** incorporada no UiO-66 quando comparado com NU-1000. Esse resultado mostra o impacto do tamanho da cavidade na incorporação dos complexos. Por exemplo, o complexo **5** foi incorporado de maneira significativa no MOF NU-1000 (Material **M10**), enquanto uma menor concentração deste foi observado com o MOF UiO-66 (Material **M5**). Infelizmente não foi possível determinar a quantidade de complexo incorporado para o material **M9**.

O primeiro sinal de que a incorporação dos complexos nos materiais foi bem-sucedida é a cor dos novos materiais. Isoladamente, o UiO-66 é um sólido branco e o NU-1000 apresenta uma coloração amarela. Após a síntese, os derivados de UiO-66 apresentam uma coloração roxa, de acordo com a

coloração dos complexos, e os derivados de NU-1000 se apresentam na coloração amarela escura, como apresentado na Figura 61.

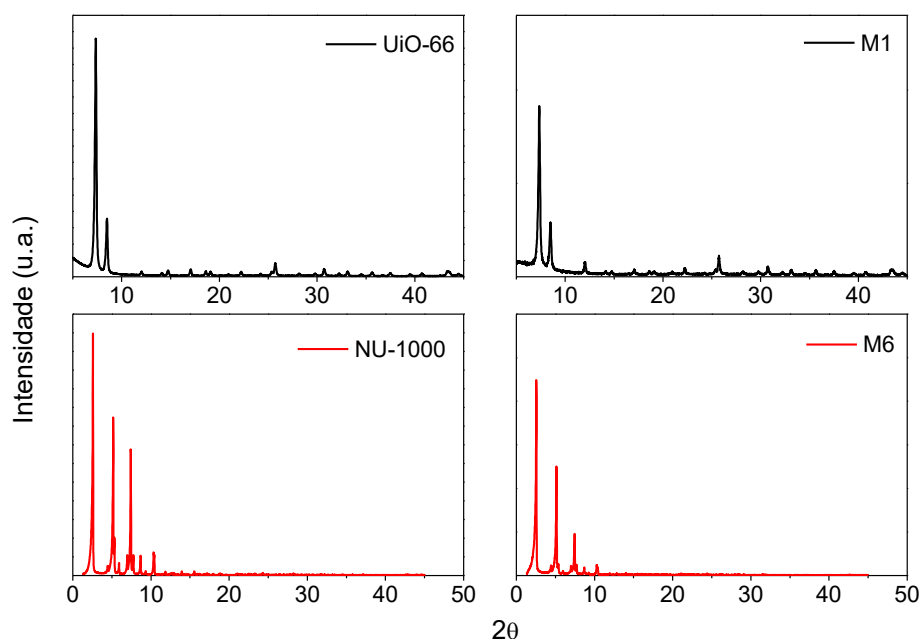
Figura 61 – Imagem dos frascos com os materiais utilizados e sintetizados nessa seção. (a) Frascos contendo os MOFs UiO-66 e NU-1000; (b) Materiais M1, M3, M6, M9, e M10 e um *inset* contendo imagem do sólido de M1; (c) Legenda das cores dos materiais para evidenciar as diferenças.



Para avaliar se houve alguma mudança na cristalinidade dos materiais quando comparado aos MOFs isolados, foram realizadas análises de PXRD. Os padrões de difração observados são os mesmos que os MOFs isolados, indicando que não houve mudança na cristalinidade dos novos materiais. Como exemplo, são apresentados os espectros dos respectivos MOFs e dos materiais **M1** e **M6** na Figura 62. Demais espectros estão contidos nos Apêndices (APÊNDICE JJ e APÊNDICE KK).

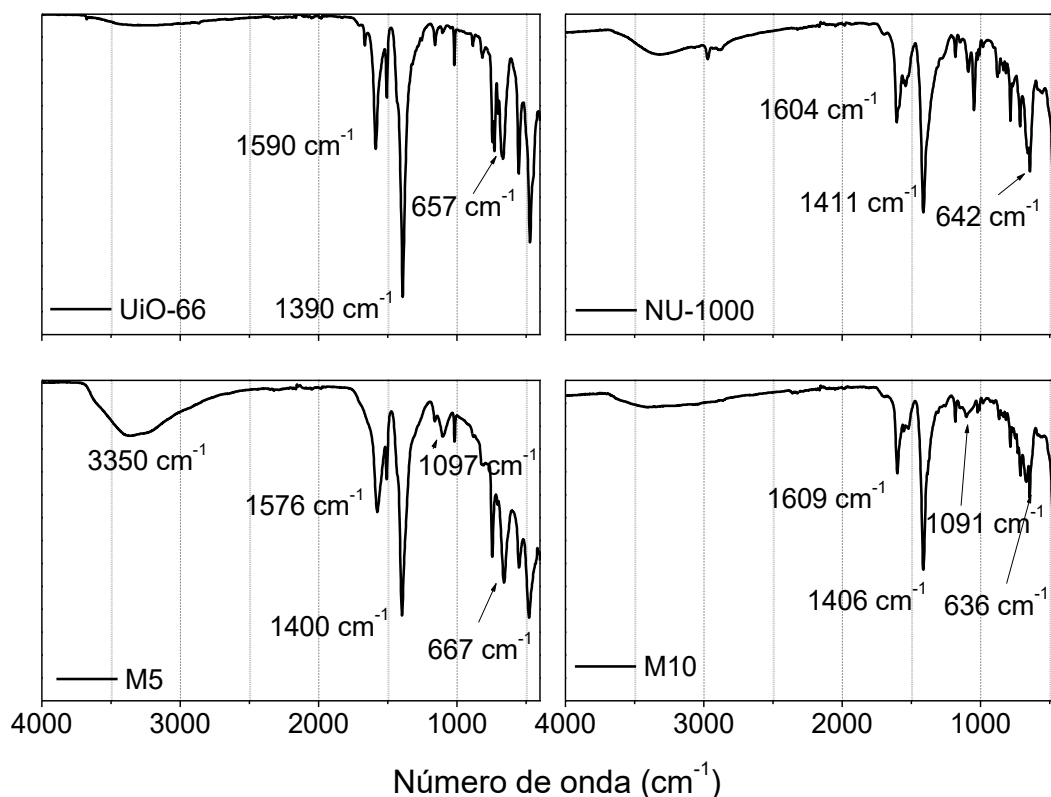
Também foi realizada análise de IR, onde pode-se observar as bandas comuns aos MOFs de origem, relativas aos estiramentos dos grupos carboxilatos dos ligantes orgânicos (*linkers*) em ~ 1570 e 1400 cm^{-1} , e os estiramentos das ligações Zr-O, em $\sim 650\text{ cm}^{-1}$. Além disso, observa-se bandas correspondentes aos estiramentos do contração dos complexos, ClO_4^- em $\sim 1090\text{ cm}^{-1}$. Como o complexo **1** não apresenta contrações, esse estiramento não é observado nos espectros dos materiais **M1** e **M6**.

Figura 62 - Análise de PXRD dos MOFs NU-1000 e UiO-66 e os derivados sintetizados **M1** e **M6**.



Nos espectros dos materiais derivados de UiO-66, também se observa uma larga banda na região de 3300 cm^{-1} , que pode ser correspondente a água. É conhecido na literatura que o MOF UiO-66 apresenta vários defeitos na sua estrutura, ou seja, falta de ligantes orgânicos, que promovem a coordenação dos centros de Zr a moléculas de água. É possível que durante a inserção dos complexos, alguns desses ligantes aqui tenham se desprendido do metal, permitindo que uma nova coordenação do Zr com o ligante ou a formação de pontes aquo entre complexo-MOF tenha acontecido. A Figura 63 apresenta o espectro de IR dos materiais **M5** e **M10**, assim como seus respectivos MOFs de formação. Os demais espectros estão contidos nos apêndices (APÊNDICE LL - APÊNDICE NN).

Figura 63 - Espectro na região do infravermelho dos materiais **M5** e **M10**, e seus respectivos MOFs de formação, UiO-66 e NU-1000.



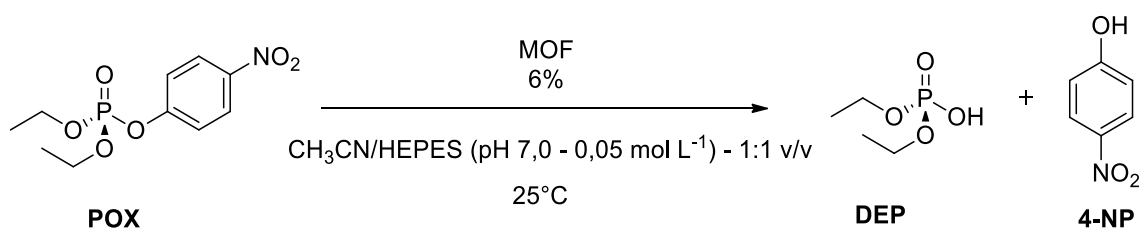
Com as análises desenvolvidas até o momento não é possível afirmar a correta porcentagem de complexo que foi incorporada ao MOFs, nem como a interação entre esses compostos aconteceu. É possível que as interações tenham acontecido na superfície do material, nas porosidades formadas pela estrutura dos materiais, ou que tenham realizado alguma ligação covalente. Contudo, é possível entender que os materiais interagem de alguma forma não destrutiva, onde os complexos e os MOFs mantem sua estrutura em um novo material combinado. Isso fica ainda mais claro na digestão dos materiais **M1** e **M6** (APÊNDICE OO - APÊNDICE PP). Após deixar as amostras desses materiais em NaOD por 24h, e em seguida analisá-los por ¹H NMR, são visíveis os sinais dos anéis aromáticos pertencentes ao ligantes, assim como o sinal referente ao hidrogênio do aldeído em 10 ppm e CH₂ em 3,8 ppm. Infelizmente, devido à alta proporção de *linkers* orgânicos nos MOFs (picos 8,45; 7,88 ppm para UiO-66 e 8,45; 7,88; 7,40 ppm para NU-1000), e a baixa incorporação dos

complexos, as digestões dos demais materiais foi inconclusiva, fazendo com que os sinais referentes aos ligantes fosse muito pequena em relação ao demais.

2.4.7.2 Estudos de hidrólise do POX

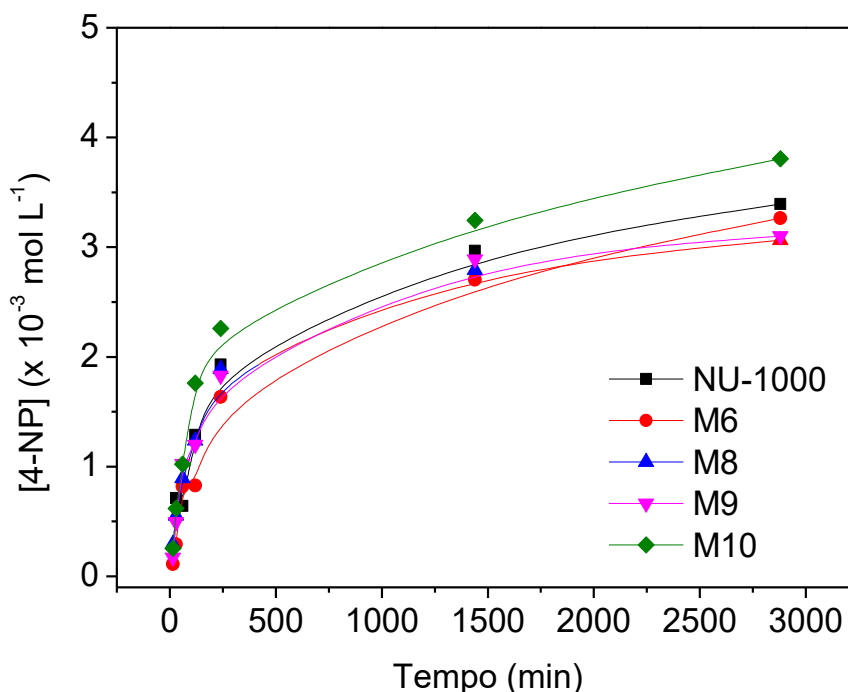
Após a breve caracterização dos materiais, estes foram testados frente a hidrólise do POX. A reação foi conduzida de maneira similar ao descrito nas reações de hidrólise catalisadas pelo *cluster*, 6 mol % de catalisador com relação ao substrato. As reações foram acompanhadas por pelo menos 27 h, e alíquotas de 10 μL diluídas em 1 mL de solvente ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{HEPES}$) e analisadas via UV-vis. Neste caso, as reações foram conduzidas em mistura de solvente (ao invés de somente água como anteriormente) devido a solubilidade dos complexos no solvente. Como será discutido nos parágrafos seguintes, uma reação utilizando somente os complexos também foi conduzida, e nesse caso, os complexos isolados não são solúveis em solução meramente aquosas, mesmo que os materiais híbridos sejam. Para cálculos de concentração de catalisador se considerou a proporção descrita na Tabela 28, para a amostra **M9**, a proporção entre complexo/MOF foi atribuída arbitrariamente descrita como igual para **M4**. O Esquema 26 resume das condições utilizadas nessa seção.

Esquema 26 - Condições reacionais dos experimentos cinéticos.



Comparando as reações utilizando os novos catalisadores, com os MOFs de origem, observou-se pouca alteração entre a curva catalítica gerada pelos dados. Os resultados sugerem que a reação de hidrólise não foi alterada pela inserção dos complexos, sendo a atividade gerada por esses materiais a mesma que os MOFs UiO-66 e NU-1000 isolados. Dentre os oito novos materiais testados, somente **M10** mostrou um pequeno aumento na atividade, como apresentado na Figura 64.

Figura 64 - Estudo cinético de hidrólise do **POX** catalisado pelos materiais NU-1000 e seus derivados: **M6**, **M7**, **M9** e **M10**. Condições: CH₃CN/tampão (1:1, v/v), tampão: HEPES (0,1 mol L⁻¹) pH 7,0. [POX] = 25 mmol L⁻¹; [Catalisador] = 1,5 mmol L⁻¹, 25 °C.

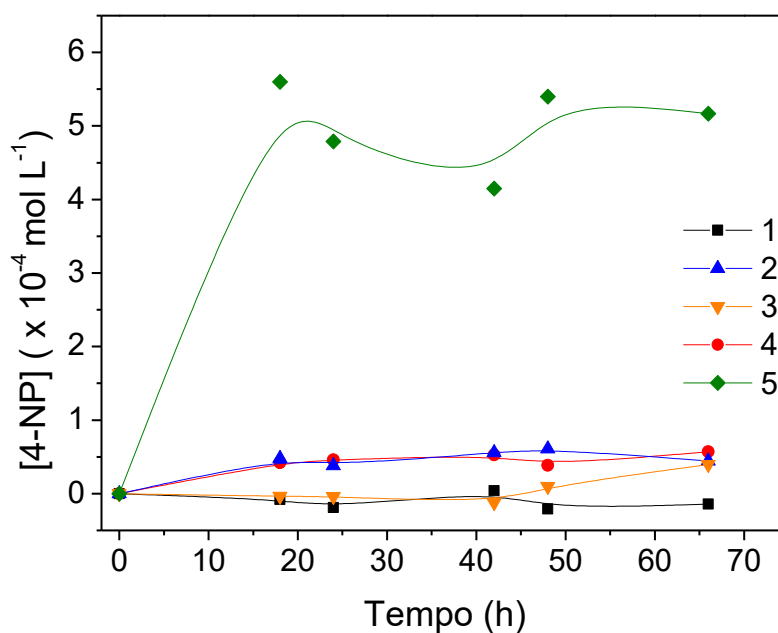


O material combinando os efeitos de **5** com NU-1000 diminuiu o $t_{1/2}$ da reação de hidrólise do substrato, de 3 h para 2 h, em comparação com o MOF sozinho. Em alguns casos, os novos materiais parecem diminuir a atividade quando comparado com os MOFs sozinhos. Isso deve acontecer pela menor concentração do MOFs na mesma quantidade de amostra, já que parte da massa molar desses materiais é parcialmente atribuída ao complexo agora. Os dados referentes aos exemplos com os derivados do UiO-66 estão apresentados no APÊNDICE QQ. Uma reação nas mesmas condições, mas sem a presença de catalisador também foi realizada e não se observou reação de hidrólise espontânea nessas condições.

Após observar a falta de atividade relacionada aos novos materiais sintetizados quando comparada aos MOFs, foi realizado o estudo cinético utilizando somente os complexos como catalisadores. No capítulo anterior, os complexos se mostraram capazes de catalisar a hidrólise de um triéster de fosfato em condições similares. Neste caso, o paraoxon é substrato bastante similar o DEDNPP utilizado anteriormente, contudo, a presença de somente um

grupo nitro do anel aromático faz com que esse seja um grupo menos ativado, por sua vez mais difícil de hidrolisar. Os experimentos foram realizados em mistura de solventes ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{HEPES}$) em pH 7,0 - condição ótima determinado para a hidrólise de DEDNPP no capítulo 1 para os complexos **4** e **5**. A Figura 65 a seguir, mostra que somente o complexo **5** apresentou alguma atividade frente ao paraoxon, concordando com o maior k_{cat} observado na hidrólise do DEDNPP. Mesmo assim, esses valores são muito baixos quando comparados com a atividade gerada pelos MOFs, o que justifica a baixa influência dos complexos na reação de hidrólise. Além disso, se observa que em 18 h (1080 min), onde o primeiro ponto foi coletado, os complexos já haviam atingido a região de máxima atividade. Isso mostra que o aumento da atividade a partir desse ponto na reação catalisada pelos materiais é decorrente em maior parte pelos próprios MOFs. Finalmente os complexos **2** e **4** mostraram alguma atividade hidrolítica, mesmo que muito baixa, enquanto para os complexos **1** e **3** continuaram com valores próximos de zero. Essa tendência também é bastante concordante com os dados observados no primeiro capítulo.

Figura 65 - Estudo cinético de hidrólise do **POX** catalisado pelos complexos **1-5**. Condições: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{tampão}$ (1:1, v/v), tampão: HEPES ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) pH 7,0. $[\text{POX}] = 25 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{Catalisador}] = 1,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$.



Sendo assim, existem duas possíveis hipóteses para que a combinação dos complexos e MOF não tenha aumentado consideravelmente a velocidade das reações de hidrólise.

- 1) A incorporação dos materiais não foi efetiva. Como discutido na seção anterior, estes complexos são catiônicos, e por isso apresentam certa polaridade. Por sua vez, os MOFs, são materiais hidrofóbicos o que pode ter diminuído a interação entre os materiais e consequentemente sua incorporação.
- 2) Os complexos isolados não apresentam atividade. Como a proposta é provocar um efeito sinérgico positivo, é importante que os complexos possuam uma boa atividade hidrolítica frente ao substrato testado. Esse pode ter sido o motivo para somente observar-se atividade no material M10, que contém o complexo **5**, mais ativo frente a hidrólise do POX.

De todo modo, esse estudo mostrou a possibilidade de modelar novos materiais híbridos como forma de aprimorar o uso de MOFs como catalisadores. Mesmo que a atividade dos materiais sintetizados não tenha se sobressaído a eles isolados, foi possível aumentar a atividade hidrolítica do material M10 pela combinação do complexo com o MOFs. Isso mostra que é possível promover um efeito positivo pela incorporação de materiais catalíticos em supramateriais organizados.

A partir desses resultados, novos complexos podem ser sintetizados para apresentar maior atividade hidrolítica isolados, e que sejam de polaridade similar aos MOFs. Assim, os dois fatores de risco supracitados podem ser contornados e devem gerar um novo catalisador eficiente. Outra possibilidade a ser explorada é realizar a incorporação dos complexos durante a síntese dos MOFs, inserindo-os na solução de síntese. Durante a formação das redes dos MOFs, é possível que os complexos sejam incorporados, ficando retidos dentro dos poros dos materiais. Esse procedimento pode aumentar a incorporação dos complexos e consequentemente aumentar sua atividade. Espera-se que esse trabalho preliminar, abra portas para que mais investigações sobre o assunto sejam realizadas.

2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE O CAPÍTULO 2

Até o presente momento, este trabalho é o primeiro descrito na literatura a utilizar *clusters* contendo zircônio como catalisadores ativos na clivagem de pesticidas e/ou ésteres de fosfato. O estudo mecanístico aqui conduzido, tanto experimentalmente quanto pelos estudos teóricos, é pioneiro na elucidação do caminho da reação conduzida por materiais desta natureza em condições acídicas e neutras.

Ao longo de todo o trabalho, foi possível utilizar os *clusters* contendo zircônio como catalisadores. Foram investigados 3 valores de pH, e duas temperaturas que mostraram uma grande dependência da reação com o pH, e maior influência da temperatura sobre a reação em meio ácido. As cinéticas conduzidas em condições ácidas e neutras mostraram reações similares, ambas saturando em uma mesma taxa de conversão de substrato em produto, mas com a reação em condições neutras sendo mais rápida. A acidificação da solução durante a reação, é causada pela liberação do produto fosforado, deslocando o caminho reacional e promovendo a inibição do catalisador. A relação da estrutura do *cluster* com a reatividade foi explorada, dando indícios que os ligantes carboxílicos em torno do oxo-cluster são mais relevantes para a velocidade da reação que a nuclearidade do catalisador (comparando *clusters* a base de Zr). As reações foram conduzidas em mesmas condições usando MOFs como catalisadores, mostrando que a atividade destes materiais é decorrente do próprio cluster que o forma. Observou-se a mesma limitação na conversão de reagente em produto (~19%) tanto para MOFs como *clusters*, indicando que a elevada atividade reportada aos MOFs é mais em decorrência do pH (alcalino) empregado do que uma maior atividade intrínseca à sua estrutura.

O catalisador manteve sua estrutura intacta, mostrando estabilidade durante as reações e, apesar de ser um catalisador homogêneo, pode ser recuperado e reutilizado após a cinética. A estabilidade do material foi confirmada tanto por técnicas espectroscópicas como por EXAFS, mostrando que o sólido obtido ao final da reação é o próprio cluster. Finalmente, por ensaios isotópicos e procedimentos de titulação, o *cluster* Zr_6 mostrou-se atuante em um mecanismo do tipo intramolecular, com características que sugerem um caminho reacional muito similar ao observado para hidrolases ácidas. Portanto, é possível

considerar que este é o primeiro catalisador do tipo M^{IV} - M^{IV} a ser reportado como biomimético da PAPs, sendo capaz de apresentar espécie catalítica comparada com o sítio enzimático mesmo sendo um catalisador homovalente. Os resultados que levaram a estas conclusões foram suportados por um extenso estudo teórico, simulando os processos de desprotonação e determinação das espécies catalíticas durante a reação. Os caminhos reacionais intramoleculares e intermoleculares (catalise básica) foram simulados concordando com a menor energia do caminho intramolecular. A elevada energia necessária ao final da reação para liberar o produto fosforado e regenerar o catalisador justifica a inibição do catalisador observado experimentalmente.

Finalmente, os complexos desenvolvidos no primeiro capítulo foram incorporados aos MOFs UiO-66 e NU-1000, para aumentar a atividade catalítica dos materiais. Somente o complexo **5** com o MOF NU-1000 mostrou um efeito positivo diminuindo o tempo de meia vida da reação de 3 para 2 h.

Essas descobertas abrem caminho para que mais estudos sejam realizados buscando melhorar as características de catalisadores, principalmente daqueles biomiméticos. Elas servem de base para elucidar como os MOFs, reconhecidos catalisadores, atuam, permitindo que estes também sejam aperfeiçoados, buscando maiores rendimentos nas reações. Além disso, expandem e complementam a utilização *clusters* inorgânicos como catalisadores além dos clássicos compostos de coordenação explorados até então.

3 DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

Este trabalho gerou uma publicação em periódicos internacionais até o momento. Um primeiro artigo foi publicado no *European Journal of Inorganic Chemistry* (Fator de Impacto 2,3 – A3). Este artigo (doi.org/10.1002/ejic.202300650) intitulado: “*Phosphate triester hydrolysis by mononuclear iron(III) complexes: the role of benzimidazole in the second coordination sphere*”, trata do primeiro capítulo desta tese, apresentando a síntese e caracterização dos ligantes benzoimidazólicos e complexos **1**, **4** e **5**. Este artigo tornou-se capa do Volume 27, assunto 12 de abril de 2024. Uma cópia da primeira página desta publicação é apresentada no APÊNDICE RR.

Um artigo tratando sobre o capítulo 2, está atualmente sob revisão na revista *Chemical Science* (Fator de Impacto: 8,4 – A1) intitulado: “*Phosphate Hydrolysis Under Acidic Conditions by Binuclear Zr^{IV}–Zr^{IV} Active Sites*”. Além destes, pretende-se escrever um artigo sobre os dados envolvendo os materiais híbridos, descritos no capítulo 2. Um artigo sobre os aspectos biológicos, como os testes de citotoxicidade, enzimáticos e antifúngicos dos cinco complexos de ferro, também deve ser desenvolvido.

4 REFERÊNCIAS

- (1) *Artigo - A evolução da agricultura do Brasil.*
<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/81665485/artigo---a-evolucao-da-agricultura-do-brasil> (accessed 2024-02-29).
- (2) Lara, S. S. de; Pignati, W. A.; Pignatti, M. G.; Leão, L. H. da C.; Machado, J. M. H. A AGRICULTURA DO AGRONEGÓCIO E SUA RELAÇÃO COM A INTOXICAÇÃO AGUDA POR AGROTÓXICOS NO BRASIL. *Hygeia - Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde* **2019**, 15 (32), 1–19.
<https://doi.org/10.14393/Hygeia153246822>.
- (3) *Agrotóxicos no Brasil - Portal Embrapa.* <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/dinamica/agrotoxicos-no-brasil> (accessed 2024-02-29).
- (4) Silva, M. M. da; Domingues, S.; Bonadiman, A. Avaliação de intoxicação por agrotóxicos e práticas de uso de trabalhadores rurais na Serra Catarinense / Evaluation of pesticide poisoning and practices of use of rural workers in Santa Catarina. *Brazilian Journal of Development* **2019**, 5 (9), 15190–15204. <https://doi.org/10.34117/bjdv5n9-107>.
- (5) Almeida, M. D.; Cavendish, T. A.; Bueno, P. C.; Ervilha, I. C.; Gregório, L. D. S.; Kanashiro, N. B. de O.; Rohlf, D. B.; Carmo, T. F. M. do. A flexibilização da legislação brasileira de agrotóxicos e os riscos à saúde humana: análise do Projeto de Lei nº 3.200/2015. *Cad. Saúde Pública* **2017**, 33 (7). <https://doi.org/10.1590/0102-311x00181016>.
- (6) *Uso de agrotóxicos no Brasil dobrou entre 2010 e 2021.*
<https://www.wwf.org.br/?86981/Uso-de-agrotoxicos-no-Brasil-dobrou-entre-2010-e-2021> (accessed 2024-02-29).
- (7) Tavares, D. C. G.; Shinoda, D. T.; Moreira, S. S. da C.; Fernandes, A. da C. Utilização de agrotóxicos no Brasil e sua correlação com intoxicações. *S&G* **2020**, 15 (1), 2–10. <https://doi.org/10.20985/1980-5160.2020.v15n1.1532>.
- (8) *TabNet Win32 3.0: INTOXICAÇÃO EXÓGENA - Notificações registradas no Sinan Net - Santa Catarina.*
<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/IntoxSC.def> (accessed 2021-06-01).
- (9) Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva; (INCA). Nota Pública Acerca Do Posicionamento Do Instituto Nacional de Câncer Sobre o Projeto de Lei Nº 6.299/2002., 2018.
<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//nota-publica-inca-pl-6299-2002-11-de-maio-de-2018.pdf> (accessed 2021-06-30).

- (10) Manco, G.; Porzio, E.; Suzumoto, Y. Enzymatic Detoxification: A Sustainable Means of Degrading Toxic Organophosphate Pesticides and Chemical Warfare Nerve Agents: Enzymes for Decontamination of Organophosphate Compounds. *J. Chem. Technol. Biotechnol* **2018**, *93* (8), 2064–2082. <https://doi.org/10.1002/jctb.5603>.
- (11) Gamoke, B.; Neff, D.; Simons, J. Nature of PO Bonds in Phosphates. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113* (19), 5677–5684. <https://doi.org/10.1021/jp810014s>.
- (12) Domingos, J. B.; Longhinotti, E.; Machado, V. G.; Nome, F. A química dos ésteres de fosfato. *Quím. Nova* **2003**, *26* (5), 745–753. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000500019>.
- (13) Wanderlind, E. H. Cinética e mecanismo de hidólise do triéster dietil 2,4-dinitrofenil fosfato. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.
- (14) ANVISA, A. N. de vigilância S. *Reavaliação de Agrotóxicos - Anvisa*. <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/reavaliacao-de-agrotoxicos> (accessed 2019-11-28).
- (15) The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2019. 100.
- (16) IBAMA. *Manual de Testes Para Avaliação Da Ecotoxicidade de Agentes Químicos*; Brasília, 1990.
- (17) ANVISA, A. N. de vigilância S. *RELATÓRIO DAS ANÁLISES DE AMOSTRAS MONITORADAS NO PERÍODO DE 2013 A 2015*; Brasília, 2016.
- (18) Lima, M. F.; da Cruz, P. A. U.; Fernandes, M. E. C.; Polaquini, C.; Miguel, E. L. M.; Pliego, J. R.; Scorsin, L.; Oliveira, B. S.; Nome, F. Cleaving Paraoxon with Hydroxylamine: Ammonium Oxide Isomer Favors a Frontside Attack Mechanism. *J Phys Org Chem* **2019**, *32* (1), e3866. <https://doi.org/10.1002/poc.3866>.
- (19) Wanderlind, E. H.; Bittencourt, C. R.; Manfredi, A. M.; Gerola, A. P.; Souza, B. S.; Fiedler, H. D.; Nome, F. Cu(II)-Catalyzed Hydrolysis of Tris-2-Pyridyl Phosphate Assisted by Sodium Dodecyl Sulfate Micelles. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2019**, *32* (1), e3837. <https://doi.org/10.1002/poc.3837>.
- (20) Liu, Z.; Rossi, J.-C.; Pascal, R. How Prebiotic Chemistry and Early Life Chose Phosphate. *Life* **2019**, *9* (1), 26. <https://doi.org/10.3390/life9010026>.
- (21) Wanderlind, E. H. Hidrólise de ésteres de fosfato nos estados fundamental e excitado. Efeitos supramoleculares em reatividade e acidez, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

- (22) Jiang, L.; Sun, Y.; Chen, Y.; Nan, P. From DNA to Nerve Agents – The Biomimetic Catalysts for the Hydrolysis of Phosphate Esters. *ChemistrySelect* **2020**, *5* (30), 9492–9516. <https://doi.org/10.1002/slct.202001947>.
- (23) Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Lehninger principles of biochemistry*, 6th ed.; W.H. Freeman: New York, 2013.
- (24) Kirby, A. J.; Mora, J. R.; Nome, F. New Light on Phosphate Transfer from Triesters. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* **2013**, *1834* (1), 454–463. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2012.04.010>.
- (25) Kirby, A. J.; Souza, B. S.; Nome, F. Structure and Reactivity of Phosphate Diesters. Dependence on the Nonleaving Group. *Can. J. Chem.* **2015**, *93* (4), 422–427. <https://doi.org/10.1139/cjc-2014-0358>.
- (26) Schroeder, G. K.; Lad, C.; Wyman, P.; Williams, N. H.; Wolfenden, R. The Time Required for Water Attack at the Phosphorus Atom of Simple Phosphodiester and of DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2006**, *103* (11), 4052–4055. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510879103>.
- (27) Kim, K.; Tsay, O. G.; Atwood, D. A.; Churchill, D. G. Destruction and Detection of Chemical Warfare Agents. *Chem. Rev.* **2011**, *111* (9), 5345–5403. <https://doi.org/10.1021/cr100193y>.
- (28) Manfredi, A. M.; Demos, W.; Wanderlind, E. H.; Silva, B. V.; Pinto, A. C.; Souza, B. S.; Nome, F. Rapid Cleavage of Phosphate Triesters by the Oxime 2-(Hydroxyimino)-N-Phenyl-Acetamide. *J Phys Org Chem* **2016**, *29* (11), 600–603. <https://doi.org/10.1002/poc.3549>.
- (29) Pereira, A. K. S.; Silva, L. F.; Barbosa, G. A. F.; Miranda, T. G.; Sousa, R. R.; Sarmiento, R. A.; Souza, N. L. G. D.; Pereira, D. H.; Cavallini, G. S. The Socio-Environmental and Human Health Problems Related to the Use of Pesticides and the Use of Advanced Oxidative Processes for Their Degradation: Brazil. *Water* **2023**, *15* (8), 1608. <https://doi.org/10.3390/w15081608>.
- (30) Kaushal, J.; Khatri, M.; Arya, S. K. A Treatise on Organophosphate Pesticide Pollution: Current Strategies and Advancements in Their Environmental Degradation and Elimination. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2021**, *207*, 111483. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111483>.
- (31) Zhu, J.; Liao, M.; Zhao, C.; Liu, M.; Han, A.; Zhu, C.; Sun, Y.; Zhao, M.; Ye, S.; Cao, H. A Comprehensive Review on Semiconductor-Based Photocatalysts toward the Degradation of Persistent Pesticides. *Nano Res.* **2023**, *16* (5), 6402–6443. <https://doi.org/10.1007/s12274-023-5428-6>.
- (32) Bagal, M. V.; Nandgawle, B. A.; Thosar, R. V.; Mohod, A. V.; Gogate, P. R. Degradation of Pesticides Using Hybrid Processes Based on

- Cavitation and Photocatalysis: A Review. *Environmental Quality Mgmt* **2023**, tqem.22097. <https://doi.org/10.1002/tqem.22097>.
- (33) Wen, Y.; Feng, M.; Zhang, P.; Zhou, H.-C.; Sharma, V. K.; Ma, X. Metal Organic Frameworks (MOFs) as Photocatalysts for the Degradation of Agricultural Pollutants in Water. *ACS EST Eng.* **2021**, acsestengg.1c00051. <https://doi.org/10.1021/acsestengg.1c00051>.
- (34) Rojas, S.; Rodríguez-Diéguez, A.; Horcajada, P. Metal–Organic Frameworks in Agriculture. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2022**, *14* (15), 16983–17007. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c00615>.
- (35) Bondžić, A. M.; Lazarević Pašti, T. D.; Pašti, I. A.; Bondžić, B. P.; Momčilović, M. D.; Loosen, A.; Parac-Vogt, T. N. Synergistic Effect of Sorption and Hydrolysis by NU-1000 Nanostructures for Removal and Detoxification of Chlorpyrifos. *ACS Appl. Nano Mater.* **2022**, *5* (3), 3312–3324. <https://doi.org/10.1021/acsanm.1c03863>.
- (36) de Koning, M. C.; Peterson, G. W.; van Grol, M.; Iordanov, I.; McEntee, M. Degradation and Detection of the Nerve Agent VX by a Chromophore-Functionalized Zirconium MOF. *Chem. Mater.* **2019**, *31* (18), 7417–7424. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.9b02073>.
- (37) Leopoldino, E. C.; Pinheiro, G.; Alves, R. J.; Gerola, A.; Souza, B. S. Post-Modified Polymer with Imidazole Groups as an Efficient and Reusable Heterogeneous Catalyst for Organophosphate Degradation. *Materials Today Communications* **2021**, *26*, 101904. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2020.101904>.
- (38) Ruschel Campedelli, R.; Keller, M. H.; Pinheiro, G.; Campos, C. E. M.; Zaramello, L.; Silveira de Souza, B. From the Shelf to the Particle: Preparation of Highly Organic-Functionalized Magnetic Composites via 4-Nitrophenyl Reactive Ester. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (16), 9975–9983. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b01122>.
- (39) Kumar, S.; Kaushik, G.; Dar, M. A.; Nimesh, S.; López-chuken, U. J.; Villarreal-chiu, J. F. Microbial Degradation of Organophosphate Pesticides: A Review. *Pedosphere* **2018**, *28* (2), 190–208. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60017-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60017-7).
- (40) Cheng, M.; Chen, D.; Parales, R. E.; Jiang, J. Oxygenases as Powerful Weapons in the Microbial Degradation of Pesticides. *Annu. Rev. Microbiol.* **2022**, *76* (1), 325–348. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-041320-091758>.
- (41) Matúš, P.; Littera, P.; Farkas, B.; Urík, M. Review on Performance of *Aspergillus* and *Penicillium* Species in Biodegradation of Organochlorine and Organophosphorus Pesticides. *Microorganisms* **2023**, *11* (6), 1485. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061485>.
- (42) Kirlikovali, K. O.; Chen, Z.; Islamoglu, T.; Hupp, J. T.; Farha, O. K. Zirconium-Based Metal–Organic Frameworks for the Catalytic Hydrolysis

- of Organophosphorus Nerve Agents. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, *12* (13), 14702–14720. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b20154>.
- (43) Chen, H.; Liao, P.; Mendonca, M. L.; Snurr, R. Q. Insights into Catalytic Hydrolysis of Organophosphate Warfare Agents by Metal–Organic Framework NU-1000. *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122* (23), 12362–12368. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b03641>.
- (44) Bigley, A. N.; Raushel, F. M. Catalytic Mechanisms for Phosphotriesterases. *Biochim Biophys Acta* **2013**, *1834* (1), 443–453. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2012.04.004>.
- (45) Luiz, E.; Farias, G.; Bortoluzzi, A. J.; Neves, A.; de Melo Mattos, L. M.; Pereira, M. D.; Xavier, F. R.; Peralta, R. A. Hydrolytic Activity of New Bioinspired MnIIIMnII and FeIIIMnII Complexes as Mimetics of PAPs: Biological and Environmental Interest. *J. Inorg. Biochem* **2022**, *236*, 111965. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.111965>.
- (46) Costa, L. G. Organophosphorus Compounds at 80: Some Old and New Issues. *Toxicological Sciences* **2018**, *162* (1), 24–35. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx266>.
- (47) Cavalcanti, L. P. A. N.; Aguiar, A. P.; Lima, J. A.; Lima, A. L. S. Organophosphorous Poisoning: Treatment and Analytical Methodologies Applied in Evaluation of Reactivation and Inhibition of Acetylcholinesterase. *Revista Virtual de Química* **2016**, *8*. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20160056>.
- (48) de Castro, A. A.; Assis, L. C.; Soares, F. V.; Kuca, K.; Polisel, D. A.; da Cunha, E. F. F.; Ramalho, T. C. Trends in the Recent Patent Literature on Cholinesterase Reactivators (2016–2019). *Biomolecules* **2020**, *10* (3), 436. <https://doi.org/10.3390/biom10030436>.
- (49) Tang, S.; Wong, P. T.; Cannon, J.; Yang, K.; Bowden, S.; Bhattacharjee, S.; O’Konek, J. J.; Choi, S. K. Hydrophilic Scaffolds of Oxime as the Potent Catalytic Inactivator of Reactive Organophosphate. *Chemico-Biological Interactions* **2019**, *297*, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.10.022>.
- (50) Li, H.; Zhang, S. In Vitro Cytotoxicity of the Organophosphorus Pesticide Parathion to FG-9307 Cells. *Toxicology in Vitro* **2001**, *15* (6), 643–647. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(01\)00090-X](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(01)00090-X).
- (51) Atterberry, T.; Burnett, W.; Chambers, J. Age-Related Differences in Parathion and Chlorpyrifos Toxicity in Male Rats: Target and Nontarget Esterase Sensitivity and Cytochrome P450-Mediated Metabolism. *Toxicology and Applied Pharmacology* **1997**, *147* (2), 411–418. <https://doi.org/10.1006/taap.1997.8303>.
- (52) Prugh, A. M.; Cole, S. D.; Glaros, T.; Angelini, D. J. Effects of Organophosphates on the Regulation of Mesenchymal Stem Cell

- Proliferation and Differentiation. *Chemico-Biological Interactions* **2017**, *266*, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.01.020>.
- (53) Worek, F.; Thiermann, H.; Wille, T. Organophosphorus Compounds and Oximes: A Critical Review. *Arch Toxicol* **2020**, *94* (7), 2275–2292. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02797-0>.
- (54) Kuca, K.; Jun, D.; Junova, L.; Musilek, K.; Hrabínová, M.; da Silva, J.; Ramalho, T.; Valko, M.; Wu, Q.; Nepovimová, E.; França, T. Synthesis, Biological Evaluation, and Docking Studies of Novel Bisquaternary Aldoxime Reactivators on Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibited by Paraoxon. *Molecules* **2018**, *23* (5), 1103. <https://doi.org/10.3390/molecules23051103>.
- (55) de Koning, M. C.; van Grol, M.; Breijaert, T. Degradation of Paraoxon and the Chemical Warfare Agents VX, Tabun, and Soman by the Metal–Organic Frameworks UiO-66-NH₂, MOF-808, NU-1000, and PCN-777. *Inorg. Chem.* **2017**, *56* (19), 11804–11809. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b01809>.
- (56) Malinák, D.; Korabecný, J.; Soukup, O.; Gorecki, L.; Nepovimová, E.; Pšotka, M.; Doležal, R.; Nguyen, T. D.; Mezeiova, E.; Musilek, K.; Kuca, K. A Review of the Synthesis of Quaternary Acetylcholinesterase Reactivators. *COC* **2018**, *22* (16), 1619–1648. <https://doi.org/10.2174/1385272822666180711123529>.
- (57) Hadi Baghersad, M.; Habibi, A.; Nejad, A. D. Novel Uncharged Triazole Salicylaldoxime Derivatives as Potential Acetylcholinesterase Reactivators: Comprehensive Computational Study, Synthesis and in Vitro Evaluation. *RSC Advances* **2023**, *13* (41), 28527–28541. <https://doi.org/10.1039/D3RA05658A>.
- (58) Kuca, K.; Jun, D.; Musilek, K. Structural Requirements of Acetylcholinesterase Reactivators. *MRMC* **2006**, *6* (3), 269–277. <https://doi.org/10.2174/138955706776073510>.
- (59) Ramalho, T. C.; De Castro, A. A.; Leal, D. H. S.; Teixeira, J. P.; Da Cunha, E. F. F.; Kuca, K. Assessing the Therapeutic and Toxicological Profile of Novel Acetylcholinesterase Reactivators: Value of *In Silico* And *In Vitro* Data. *CMC* **2023**, *30* (36), 4149–4166. <https://doi.org/10.2174/0929867330999221014104610>.
- (60) Parvaz, S.; Taheri-Ledari, R.; Esmaeili, M. S.; Rabbani, M.; Maleki, A. A Brief Survey on the Advanced Brain Drug Administration by Nanoscale Carriers: With a Particular Focus on AChE Reactivators. *Life Sciences* **2020**, *240*, 117099. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117099>.
- (61) Ratandeeep; Ayushi; Garima; Devi, L. S.; Pooja. Role of Acetylcholinesterase (AChE) Reactivators in the Treatment of Organophosphorus Poisoning: In Vivo, in Vitro, and in Silico Studies. *Chemical Biology Letters* **2023**, *10* (2), 538–538.

<https://scholar.google.com/scholar?q=urn:nbn:sciencein.cbl.2023.v10.538>

- (62) Thakur, A.; Patwa, J.; Sharma, A.; Flora, S. J. S. Synthesis, Molecular Docking, BSA, and In Vitro Reactivation Study of Imidazopyridine Oximes Against Paraoxon Inhibited Acetylcholinesterase. *MC* **2022**, *18* (2), 273–287. <https://doi.org/10.2174/1573406417666210208223240>.
- (63) de Koning, M. C.; Horn, G.; Worek, F.; van Grol, M. Synthesis and in Vitro Evaluation of Novel Non-Oximes for the Reactivation of Nerve Agent Inhibited Human Acetylcholinesterase. *Chemico-Biological Interactions* **2020**, *326*, 109139. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109139>.
- (64) Santoni, G.; de Sousa, J.; de la Mora, E.; Dias, J.; Jean, L.; Sussman, J. L.; Silman, I.; Renard, P.-Y.; Brown, R. C. D.; Weik, M.; Baati, R.; Nachon, F. Structure-Based Optimization of Nonquaternary Reactivators of Acetylcholinesterase Inhibited by Organophosphorus Nerve Agents. *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (17), 7630–7639. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00592>.
- (65) Figueroa-Villar, J. D.; Petronilho, E. C.; Kuca, K.; Franca, T. C. C. Review about Structure and Evaluation of Reactivators of Acetylcholinesterase Inhibited with Neurotoxic Organophosphorus Compounds. *CMC* **2021**, *28* (7), 1422–1442. <https://doi.org/10.2174/0929867327666200425213215>.
- (66) Da Silva, O.; Probst, N.; Landry, C.; Hanak, A.-S.; Warnault, P.; Coisne, C.; Calas, A.-G.; Gosselet, F.; Courageux, C.; Gastellier, A.-J.; Trancart, M.; Baati, R.; Dehouck, M.-P.; Jean, L.; Nachon, F.; Renard, P.-Y.; Dias, J. A New Class of Bi- and Trifunctional Sugar Oximes as Antidotes against Organophosphorus Poisoning. *J. Med. Chem.* **2022**, *65* (6), 4649–4666. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01748>.
- (67) Thakur, A.; Patwa, J.; Pant, S.; Jeet Singh Flora, S.; Sharma, A. Synthesis and Evaluation of Small Organic Molecule as Reactivator of Organophosphorus Inhibited Acetylcholinesterase. *Drug and Chemical Toxicology* **2024**, *47* (1), 26–41. <https://doi.org/10.1080/01480545.2022.2150210>.
- (68) Lindgren, C.; Forsgren, N.; Hoster, N.; Akfur, C.; Artursson, E.; Edvinsson, L.; Svensson, R.; Worek, F.; Ekström, F.; Linusson, A. Broad-Spectrum Antidote Discovery by Untangling the Reactivation Mechanism of Nerve-Agent-Inhibited Acetylcholinesterase. *Chemistry – A European Journal* **2022**, *28* (40), e202200678. <https://doi.org/10.1002/chem.202200678>.
- (69) Konidaris, K. F.; Dalkas, G. A.; Katsoulakou, E.; Pairas, G.; Raptopoulou, C. P.; Lamari, F. N.; Spyroulias, G. A.; Manessi-Zoupa, E. ZnII/Pyridyloxime Complexes as Potential Reactivators of OP-Inhibited Acetylcholinesterase: In Vitro and Docking Simulation Studies. *J. Inorg. Biochem* **2014**, *134*, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.12.011>.

- (70) Nedzhib, A.; Stoykova, S.; Atanasov, V.; Pantcheva, I.; Antonov, L. Pd(II) Complexes of Acetylcholinesterase Reactivator Obidoxime. *Interdisciplinary Toxicology* **2014**, *7* (3), 139–145. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0019>.
- (71) Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P. *Organic Chemistry*; Oxford University Press: New York, 2001.
- (72) Shalini, K.; Sharma, P. K.; Kumar, N. Imidazole and Its Biological Activities: A Review. **2010**, *12*.
- (73) Zhang, L.; Peng, X.-M.; Damu, G. L. V.; Geng, R.-X.; Zhou, C.-H. Comprehensive Review in Current Developments of Imidazole-Based Medicinal Chemistry: Imidazole-Based Medicinal Chemistry. *Med. Res. Rev.* **2014**, *34* (2), 340–437. <https://doi.org/10.1002/med.21290>.
- (74) Campos, R. B.; Santos, E. H.; Oliveira, A. R. M.; Ocampos, F. M. M.; Souza, B. S.; Barison, A.; Orth, E. S. Reactivity of Imidazole Derivatives toward Phosphate Triester in DMSO/Water Mixtures: A Comprehensive Study on the Solvent Effect. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (15), 7572–7580. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b01152>.
- (75) Wanderlind, E. H.; Liz, D. G.; Gerola, A. P.; Affeldt, R. F.; Nascimento, V.; Bretanha, L. C.; Montecinos, R.; Garcia-Rio, L.; Fiedler, H. D.; Nome, F. Imidazole-Functionalized Pillar[5]Arenes: Highly Reactive and Selective Supramolecular Artificial Enzymes. *ACS Catal.* **2018**, *8* (4), 3343–3347. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b00901>.
- (76) Nothling, M. D.; Xiao, Z.; Hill, N. S.; Blyth, M. T.; Bhaskaran, A.; Sani, M.-A.; Espinosa-Gomez, A.; Ngov, K.; White, J.; Buscher, T.; Separovic, F.; O'Mara, M. L.; Coote, M. L.; Connal, L. A. A Multifunctional Surfactant Catalyst Inspired by Hydrolases. *Sci. Adv.* **2020**, *6* (14), eaaz0404. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz0404>.
- (77) Silva, V.; Orth, E. IMIDAZOL E CATÁLISE: UM PAR PERFEITO. *Quím. Nova* **2020**. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170659>.
- (78) Campos, R. B.; Silva, V. B.; Menezes, L. R. A.; Ocampos, F. M. M.; Fernandes, J. M.; Barison, A.; Oliveira, A. R. M.; Tantillo, D. J.; Orth, E. S. Competitive Reactivity of Tautomers in the Degradation of Organophosphates by Imidazole Derivatives. *Chem. Eur. J.* **2020**, *26* (22), 5017–5026. <https://doi.org/10.1002/chem.201905379>.
- (79) Luo, H.-B.; Castro, A. J.; Wasson, M. C.; Flores, W.; Farha, O. K.; Liu, Y. Rapid, Biomimetic Degradation of a Nerve Agent Simulant by Incorporating Imidazole Bases into a Metal–Organic Framework. *ACS Catal.* **2021**, *11* (3), 1424–1429. <https://doi.org/10.1021/acscatal.0c04565>.
- (80) Hostert, L.; Blaskiewicz, S. F.; Fonsaca, J. E. S.; Domingues, S. H.; Zarbin, A. J. G.; Orth, E. S. Imidazole-Derived Graphene Nanocatalysts for Organophosphate Destruction: Powder and Thin Film Heterogeneous

- Reactions. *Journal of Catalysis* **2017**, *356*, 75–84.
<https://doi.org/10.1016/j.jcat.2017.10.008>.
- (81) Manna, S.; Das, T.; Samanta, S. Polycyclic Benzimidazole: Synthesis and Photophysical Properties. *ChemistrySelect* **2019**, *4*, 8781–8790.
<https://doi.org/10.1002/slct.201901941>.
- (82) Gaba, M.; Mohan, C. Development of Drugs Based on Imidazole and Benzimidazole Bioactive Heterocycles: Recent Advances and Future Directions. *Med Chem Res* **2016**, *25* (2), 173–210.
<https://doi.org/10.1007/s00044-015-1495-5>.
- (83) Lungu, C. N.; Bratanovici, B. I.; Grigore, M. M.; Antoci, V.; Mangalagiu, I. I. Hybrid Imidazole-Pyridine Derivatives: An Approach to Novel Anticancer DNA Intercalators. *CMC* **2020**, *27* (1), 154–169.
<https://doi.org/10.2174/0929867326666181220094229>.
- (84) Masaryk, L.; Tesarova, B.; Choquesillo-Lazarte, D.; Milosavljevic, V.; Heger, Z.; Kopel, P. Structural and Biological Characterization of Anticancer Nickel(II) Bis(Benzimidazole) Complex. *J. Inorg. Biochem* **2021**, *217*, 111395. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111395>.
- (85) Orth, E. S.; Wanderlind, E. H.; Medeiros, M.; Oliveira, P. S. M.; Vaz, B. G.; Eberlin, M. N.; Kirby, A. J.; Nome, F. Phosphorylimidazole Derivatives: Potentially Biosignaling Molecules. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (19), 8003–8008. <https://doi.org/10.1021/jo2017394>.
- (86) Török, I.; Gajda, T.; Gyurcsik, B.; Tóth, G. K.; Péter, A. Metal Complexes of Imidazole Ligands Containing Histamine-like Donor Sets: Equilibrium, Solution Structure and Hydrolytic Activity ‡. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1998**, No. 7, 1205–1212. <https://doi.org/10.1039/a707408e>.
- (87) Pathak, C.; Kumar, D.; Gangwar, M. K.; Mhatre, D.; Roisnel, T.; Ghosh, P. Heterodinuclear Zn(II)–Fe(III) and Homodinuclear M(II)–M(II) [M = Zn and Ni] Complexes of a Bicompartamental [N 6 O] Ligand as Synthetic Mimics of the Hydrolase Family of Enzymes. *J. Inorg. Biochem* **2018**, *185*, 30–42.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.04.018>.
- (88) Chakraborty, T.; Dasgupta, S.; Zangrando, E.; Das, D. Portraying the Role of Halo Ligands and the Auxiliary Part of Ligands of Mononuclear Manganese(III)-Schiff Base Complexes in Catalyzing Phospho–Ester Bond Hydrolysis. *New J. Chem.* **2018**, *42* (18), 14933–14942.
<https://doi.org/10.1039/C8NJ02634C>.
- (89) Klabunde, T.; Witzel, H.; Krebs, B. Mechanism of Fe(III)–Zn(II) Purple Acid Phosphatase Based on Crystal Structures. **1996**, *259*, 12.
<https://doi.org/0022-2836/96/240737-12>.
- (90) Sträter, N.; Klabunde, T.; Tucker, P.; Witzel, H.; Krebs, B. Crystal Structure of a Purple Acid Phosphatase Containing a Dinuclear Fe(III)–Zn(II) Active Site. *Science* **1995**, *268* (5216), 1489–1492.
<https://doi.org/10.1126/science.7770774>.

- (91) Schenk, G.; Ge, Y.; Carrington, L. E.; Wynne, C. J.; Searle, I. R.; Carroll, B. J.; Hamilton, S.; de Jersey, J. Binuclear Metal Centers in Plant Purple Acid Phosphatases: Fe–Mn in Sweet Potato and Fe–Zn in Soybean. *Arch. Biochem. Biophys.* **1999**, *370* (2), 183–189. <https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1407>.
- (92) Schenk, G.; Mitić, N.; Hanson, G. R.; Comba, P. Purple Acid Phosphatase: A Journey into the Function and Mechanism of a Colorful Enzyme. *Coordination Chemistry Reviews* **2013**, *257* (2), 473–482. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.03.020>.
- (93) Feder, D.; McGeary, R. P.; Mitić, N.; Lonhienne, T.; Furtado, A.; Schulz, B. L.; Henry, R. J.; Schmidt, S.; Guddat, L. W.; Schenk, G. Structural Elements That Modulate the Substrate Specificity of Plant Purple Acid Phosphatases: Avenues for Improved Phosphorus Acquisition in Crops. *Plant Science* **2020**, *294*, 110445. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110445>.
- (94) Comba, P.; Gahan, L. R.; Mereacre, V.; Hanson, G. R.; Powell, A. K.; Schenk, G.; Zajaczkowski-Fischer, M. Spectroscopic Characterization of the Active Fe^{III} Fe^{III} and Fe^{III} Fe^{II} Forms of a Purple Acid Phosphatase Model System. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (22), 12195–12209. <https://doi.org/10.1021/ic301347t>.
- (95) Mitić, N.; Smith, S. J.; Neves, A.; Guddat, L. W.; Gahan, L. R.; Schenk, G. The Catalytic Mechanisms of Binuclear Metallohydrolases. *Chem. Rev.* **2006**, *106* (8), 3338–3363. <https://doi.org/10.1021/cr050318f>.
- (96) Hamdan, S.; Bulloch, E. M.; Thompson, P. R.; Beck, J. L.; Yang, J. Y.; Crowther, J. A.; Lilley, P. E.; Carr, P. D.; Ollis, D. L.; Brown, S. E.; Dixon, N. E. Hydrolysis of the 5'-*p*-Nitrophenyl Ester of TMP by the Proofreading Exonuclease (ϵ) Subunit of *Escherichia Coli* DNA Polymerase III[†]. *Biochemistry* **2002**, *41* (16), 5266–5275. <https://doi.org/10.1021/bi0159480>.
- (97) Hamdan, S.; Carr, P. D.; Brown, S. E.; Ollis, D. L.; Dixon, N. E. Structural Basis for Proofreading during Replication of the *Escherichia Coli* Chromosome. *Structure* **2002**, *10* (4), 535–546. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(02\)00738-4](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(02)00738-4).
- (98) Voegtli, W. C.; White, D. J.; Reiter, N. J.; Rusnak, F.; Rosenzweig, A. C. Structure of the Bacteriophage λ Ser/Thr Protein Phosphatase with Sulfate Ion Bound in Two Coordination Modes[†]·[‡]. *Biochemistry* **2000**, *39* (50), 15365–15374. <https://doi.org/10.1021/bi0021030>.
- (99) Zhang, L.; Wang, H.; Liu, X.; Zhou, W.; Rao, Z. The Crystal Structure of the Phosphotriesterase from *M. Tuberculosis*, Another Member of Phosphotriesterase-like Lactonase Family. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2019**, *510* (2), 224–229. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.01.069>.

- (100) Chagas, M. A.; Pereira, E. S.; Godinho, M. P. B.; Da Silva, J. C. S.; Rocha, W. R. Base Mechanism to the Hydrolysis of Phosphate Triester Promoted by the Cd²⁺/Cd²⁺ Active Site of Phosphotriesterase: A Computational Study. *Inorg. Chem.* **2018**, *57* (10), 5888–5902. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b00361>.
- (101) Sharma, G.; Jayasinghe-Arachchige, V. M.; Hu, Q.; Schenk, G.; Prabhakar, R. Effect of Chemically Distinct Substrates on the Mechanism and Reactivity of a Highly Promiscuous Metallohydrolase. *ACS Catal.* **2020**, *10* (6), 3684–3696. <https://doi.org/10.1021/acscatal.9b04847>.
- (102) Sharma, G.; Hu, Q.; Jayasinghe-Arachchige, V. M.; Paul, T. J.; Schenk, G.; Prabhakar, R. Investigating Coordination Flexibility of Glycerophosphodiesterase (GpdQ) through Interactions with Mono-, Di-, and Triphosphoester (NPP, BNPP, GPE, and Paraoxon) Substrates. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2019**, *21* (10), 5499–5509. <https://doi.org/10.1039/C8CP07031H>.
- (103) Pedroso, M. M.; Hine, D.; Hahn, S.; Chmielewicz, W. M.; Diegel, J.; Gahan, L.; Schenk, G. Pesticide Degradation by Immobilised Metalloenzymes Provides an Attractive Avenue for Bioremediation. *EFB Bioeconomy Journal* **2021**, *1*, 100015. <https://doi.org/10.1016/j.bioeco.2021.100015>.
- (104) Daumann, L. J.; Marty, L.; Schenk, G.; Gahan, L. R. Asymmetric Zinc(II) Complexes as Functional and Structural Models for Phosphoesterases. *Dalton Trans.* **2013**, *42* (26), 9574. <https://doi.org/10.1039/c3dt50514f>.
- (105) Gerola, A. P.; Wanderlind, E. H.; Gomes, Y. S.; Giusti, L. A.; García-Río, L.; Nome, R. A.; Kirby, A. J.; Fiedler, H. D.; Nome, F. Supramolecular Polymer/Surfactant Complexes as Catalysts for Phosphate Transfer Reactions. *ACS Catal.* **2017**, *7* (3), 2230–2239. <https://doi.org/10.1021/acscatal.7b00097>.
- (106) Xavier, F. R. Desenvolvimento de complexos heterobinucleares a partir de ligantes binucleantes contendo braços macrocíclicos piridínicos e fenólicos como modelo de hidrolases/nucleases químicas. Tese, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- (107) Liu, Y.; Howarth, A. J.; Vermeulen, N. A.; Moon, S.-Y.; Hupp, J. T.; Farha, O. K. Catalytic Degradation of Chemical Warfare Agents and Their Simulants by Metal-Organic Frameworks. *Coordination Chemistry Reviews* **2017**, *346*, 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.11.008>.
- (108) Bhattacharya, S.; Kumari, N. Metallomicelles as Potent Catalysts for the Ester Hydrolysis Reactions in Water. *Coordination Chemistry Reviews* **2009**, *253* (17–18), 2133–2149. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.01.016>.
- (109) Wilson, L. A.; Pedroso, M. M.; Peralta, R. A.; Gahan, L. R.; Schenk, G. Biomimetics for Purple Acid Phosphatases: A Historical Perspective. *J.*

- Inorg. Biochem.* **2023**, *238*, 112061.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112061>.
- (110) de Brito, M. A.; Neves, A.; Vencato, I.; Zucco, C.; Drago, V.; Griesar, K.; Haase, W. A New Di- μ -Sulfate Complex as a Model of Purple Acid Phosphatase-Sulfate Complexes. *J. Braz. Chem. Soc.* **4**.
- (111) Neves, A.; de Brito, M. A.; Vencato, I.; Drago, V.; Griesar, K.; Haase, W. Fe^{III} Fe^{III} and Fe^{II} Fe^{III} Complexes as Synthetic Analogues for the Oxidized and Reduced Forms of Purple Acid Phosphatases. *Inorg. Chem.* **1996**, *35* (8), 2360–2368. <https://doi.org/10.1021/ic950456v>.
- (112) Neves, A.; Aires de Brito, M.; Drago, V.; Griesar, K.; Haase, W. A New Asymmetric N5O2-Donor Binucleating Ligand and Its First FeII/FeIII Complex as a Model for the Redox Properties of Uteroferrin. *Inorganica Chimica Acta* **1995**, *237* (1), 131–135. [https://doi.org/10.1016/0020-1693\(95\)04678-3](https://doi.org/10.1016/0020-1693(95)04678-3).
- (113) Piovezan, C.; Jovito, R.; Bortoluzzi, A. J.; Terenzi, H.; Fischer, F. L.; Severino, P. C.; Pich, C. T.; Azzolini, G. G.; Peralta, R. A.; Rossi, L. M.; Neves, A. Heterodinuclear Fe^{III} Zn^{II}-Bioinspired Complex Supported on 3-Aminopropyl Silica. Efficient Hydrolysis of Phosphate Diester Bonds. *Inorg. Chem.* **2010**, *49* (6), 2580–2582. <https://doi.org/10.1021/ic902489j>.
- (114) Camargo, T. P.; Maia, F. F.; Chaves, C.; de Souza, B.; Bortoluzzi, A. J.; Castilho, N.; Bortolotto, T.; Terenzi, H.; Castellano, E. E.; Haase, W.; Tomkowicz, Z.; Peralta, R. A.; Neves, A. Synthesis, Characterization, Hydrolase and Catecholase Activity of a Dinuclear Iron(III) Complex: Catalytic Promiscuity. *J. Inorg. Biochem.* **2015**, *146*, 77–88. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.02.017>.
- (115) Neves, A.; Lanznaster, M.; Bortoluzzi, A. J.; Peralta, R. A.; Casellato, A.; Castellano, E. E.; Herrald, P.; Riley, M. J.; Schenk, G. An Unprecedented FeIII(μ -OH)ZnII Complex That Mimics the Structural and Functional Properties of Purple Acid Phosphatases. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (24), 7486–7487. <https://doi.org/10.1021/ja071184l>.
- (116) Silva, G. A. dos S.; Amorim, A. L.; Souza, B. de; Gabriel, P.; Terenzi, H.; Nordlander, E.; Neves, A.; Peralta, R. A. Synthesis and Characterization of Fe^{III} (μ -OH)Zn^{II} Complexes: Effects of a Second Coordination Sphere and Increase in the Chelate Ring Size on the Hydrolysis of a Phosphate Diester and DNA. *Dalton Trans.* **2017**, *46* (34), 11380–11394. <https://doi.org/10.1039/C7DT02035J>.
- (117) Xavier, F. R.; Neves, A.; Casellato, A.; Peralta, R. A.; Bortoluzzi, A. J.; Szpoganicz, B.; Severino, P. C.; Terenzi, H.; Tomkowicz, Z.; Ostrovsky, S.; Haase, W.; Ozarowski, A.; Krzystek, J.; Telsler, J.; Schenk, G.; Gahan, L. R. Unsymmetrical FeIII/CoII and GaIII/CoII Complexes as Chemical Hydrolases: Biomimetic Models for Purple Acid Phosphatases (PAPs). *Inorg. Chem.* **2009**, *48* (16), 7905–7921. <https://doi.org/10.1021/ic900831q>.

- (118) Jayasinghe-Arachchige, V. M.; Serafim, L. F.; Hu, Q.; Ozen, C.; Moorkkannur, S. N.; Schenk, G.; Prabhakar, R. Elucidating the Roles of Distinct Chemical Factors in the Hydrolytic Activities of Hetero- and Homonuclear Synthetic Analogues of Binuclear Metalloenzymes. *ACS Catal.* **2023**, 3131–3147. <https://doi.org/10.1021/acscatal.2c05758>.
- (119) Foley, W.; Arman, H.; Musie, G. T. Homodinuclear Copper(II) and Zinc(II) Complexes of a Carboxylate-Rich Ligand as Synthetic Mimics of Phosphoester Hydrolase in Aqueous Solutions. *J. Inorg. Biochem* **2021**, 225, 111589. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111589>.
- (120) Grossenbacher, M.; Foley, W.; Musie, G. T. Tetranuclear Iron(III) Complexes with a Carboxylate-Rich Ligand as Synthetic Mimics of Phosphoesterases in Aqueous Media. *Inorg. Chim. Acta* **2022**, 543, 121195. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2022.121195>.
- (121) Costa, L. M. O.; Reis, I. S.; Fernandes, C.; Marques, M. M.; Resende, J. A. L. C.; Krenske, E. H.; Schenk, G.; Gahan, L. R.; Horn, A. Synthesis, Characterization and Computational Investigation of the Phosphatase Activity of a Dinuclear Zinc(II) Complex Containing a New Heptadentate Asymmetric Ligand. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2023**, 239, 112064. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.112064>.
- (122) Karsten, P.; Neves, A.; Bortoluzzi, A. J.; Lanznaster, M.; Drago, V. Synthesis, Structure, Properties, and Phosphatase-Like Activity of the First Heterodinuclear Fe^{III} Mn^{II} Complex with the Unsymmetric Ligand H₂ BPBPMP as a Model for the PAP in Sweet Potato. *Inorganic Chemistry* **2002**, 41 (18), 4624–4626. <https://doi.org/10.1021/ic025674k>.
- (123) Greatti, A.; Scarpellini, M.; Peralta, R. A.; Casellato, A.; Bortoluzzi, A. J.; Xavier, F. R.; Jovito, R.; de Brito, M. A.; Szpoganicz, B.; Tomkowicz, Z.; Rams, M.; Haase, W.; Neves, A. Synthesis, Structure, and Physicochemical Properties of Dinuclear Ni^{II} Complexes as Highly Efficient Functional Models of Phosphohydrolases. *Inorganic Chemistry* **2008**, 47 (3), 1107–1119. <https://doi.org/10.1021/ic702132t>.
- (124) Batista, S. C.; Neves, A.; Bortoluzzi, A. J.; Vencato, I.; Peralta, R. A.; Szpoganicz, B.; Aires, V. V. E.; Terenzi, H.; Severino, P. C. Highly Efficient Phosphate Diester Hydrolysis and DNA Interaction by a New Unsymmetrical Fe^{III}Ni^{III} Model Complex. *Inorg. Chem. Commun.* **2003**, 6 (8), 1161–1165. [https://doi.org/10.1016/S1387-7003\(03\)00219-3](https://doi.org/10.1016/S1387-7003(03)00219-3).
- (125) Smith, S. J.; Riley, M. J.; Noble, C. J.; Hanson, G. R.; Stranger, R.; Jayaratne, V.; Cavigliasso, G.; Schenk, G.; Gahan, L. R. Structural and Catalytic Characterization of a Heterovalent Mn(II)Mn(III) Complex That Mimics Purple Acid Phosphatases. *Inorg. Chem.* **2009**, 48 (21), 10036–10048. <https://doi.org/10.1021/ic9005086>.
- (126) Lanznaster, M.; Neves, A.; Bortoluzzi, A. J.; Aires, V. V. E.; Szpoganicz, B.; Terenzi, H.; Severino, P. C.; Fuller, J. M.; Drew, S. C.; Gahan, L. R.; Hanson, G. R.; Riley, M. J.; Schenk, G. A New Heterobinuclear Fe^{III}Cu^{II}

- Complex with a Single Terminal Fe(III)–O(Phenolate) Bond. Relevance to Purple Acid Phosphatases and Nucleases. *J Biol Inorg Chem* **2005**, *10* (4), 319–332. <https://doi.org/10.1007/s00775-005-0635-7>.
- (127) Smith, S. J.; Peralta, R. A.; Jovito, R.; Horn, A.; Bortoluzzi, A. J.; Noble, C. J.; Hanson, G. R.; Stranger, R.; Jayaratne, V.; Cavigliasso, G.; Gahan, L. R.; Schenk, G.; Nascimento, O. R.; Cavalett, A.; Bortolotto, T.; Razzera, G.; Terenzi, H.; Neves, A.; Riley, M. J. Spectroscopic and Catalytic Characterization of a Functional Fe^{III}–Fe^{II} Biomimetic for the Active Site of Uteroferrin and Protein Cleavage. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (4), 2065–2078. <https://doi.org/10.1021/ic201711p>.
- (128) Camargo, T. P.; Oliveira, J. A. F.; Costa, T. G.; Szpoganicz, B.; Bortoluzzi, A. J.; Marzano, I. M.; Silva-Caldeira, P. P.; Bucciarelli-Rodriguez, M.; Pereira-Maia, E. C.; Castellano, E. E.; Peralta, R. A.; Neves, A. New Al(III)Zn(II) and Al(III)Cu(II) Dinuclear Complexes: Phosphatase-like Activity and Cytotoxicity. *J. Inorg. Biochem* **2021**, *219*, 111392. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111392>.
- (129) Pathak, C.; Gangwar, M. K.; Ghosh, P. Homodinuclear [Fe(III)–Fe(III)] and [Zn(II)–Zn(II)] Complexes of a Binucleating [N₄O₃] Symmetrical Ligand with Purple Acid Phosphatase (PAP) and Zinc Phosphoesterase like Activity. *Polyhedron* **2018**, *145*, 88–100. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.01.029>.
- (130) Scarpellini, M.; Neves, A.; Hörner, R.; Bortoluzzi, A. J.; Szpoganics, B.; Zucco, C.; Nome Silva, R. A.; Drago, V.; Mangrich, A. S.; Ortiz, W. A.; Passos, W. A. C.; de Oliveira, M. C. B.; Terenzi, H. Phosphate Diester Hydrolysis and DNA Damage Promoted by New *Cis*-Aqua/Hydroxy Copper(II) Complexes Containing Tridentate Imidazole-Rich Ligands. *Inorg. Chem.* **2003**, *42* (25), 8353–8365. <https://doi.org/10.1021/ic026277c>.
- (131) Mersal, G. A. M.; El-Sheshtawy, H. S.; Amin, M. A.; Mostafa, N. Y.; Mezni, A.; Alharthi, S.; Boukherroub, R.; Ibrahim, M. M. Simultaneous Hydrolysis and Detection of Organophosphate by Benzimidazole Containing Ligand-Based Zinc(II) Complexes. *Crystals* **2021**, *11* (6), 714. <https://doi.org/10.3390/cryst11060714>.
- (132) Duarte, L. S.; Durigon, D. C.; Braga, A. L.; Peralta, R. A. Hydrolysis of Phosphate Diester Catalyzed by New Mononuclear Copper(II) Complexes Containing Selenium Ligands. *J of Physical Organic Chem* **2023**, e4596. <https://doi.org/10.1002/poc.4596>.
- (133) Biswas, S.; Chowdhury, T.; Dutta, K.; Saha, S.; Das, D. Biochemical Resistivity against Free Radicals and Microbes: Cooperative Action of Zn(II)/Imidazole in Phosphoesterase-Mediated Cell Death. *ACS Appl. Bio Mater.* **2023**, *6* (8), 3278–3290. <https://doi.org/10.1021/acsabm.3c00365>.
- (134) Okeke, U. C.; Gultneh, Y.; Jasinski, J. P.; Butcher, R. J. A Novel Cu(II) Tetranuclear Complex, Chemical Properties and Catalysis of Hydrolysis of

- Phosphate Esters. *Inorg. Chem. Commun.* **2019**, *102*, 45–50.
<https://doi.org/10.1016/j.inoche.2019.02.012>.
- (135) Camargo, T. P.; Neves, A.; Peralta, R. A.; Chaves, C.; Maia, E. C. P.; Lizarazo-Jaimes, E. H.; Gomes, D. A.; Bortolotto, T.; Norberto, D. R.; Terenzi, H.; Tierney, D. L.; Schenk, G. Second-Sphere Effects in Dinuclear Fe^{III}Zn^{II} Hydrolase Biomimetics: Tuning Binding and Reactivity Properties. *Inorg. Chem.* **2018**, *57* (1), 187–203.
<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b02384>.
- (136) Pereira, C.; Farias, G.; Maranhã, F. G.; Castilho, N.; Schenk, G.; de Souza, B.; Terenzi, H.; Neves, A.; Peralta, R. A. Guanidine- and Purine-Functionalized Ligands of Fe^{III}Zn^{II} Complexes: Effects on the Hydrolysis of DNA. *J Biol Inorg Chem* **2019**, *24* (5), 675–691.
<https://doi.org/10.1007/s00775-019-01680-3>.
- (137) De Souza, B.; Heying, R.; Bortoluzzi, A. J.; Domingos, J. B.; Neves, A. The Effect of Chain Size on the Modeling of Second Sphere Effects in Biomimetic Complexes. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2015**, *397*, 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2014.11.006>.
- (138) Chaves, C. C. V.; Farias, G.; Formagio, M. D.; Neves, A.; Peralta, R. M.; Mikcha, J. M. G.; de Souza, B.; Peralta, R. A. Three New Dinuclear Nickel(II) Complexes with Amine Pendant-Armed Ligands: Characterization, DFT Study, Antibacterial and Hydrolase-like Activity. *Inorg. Chim. Acta* **2020**, *507*, 119559.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119559>.
- (139) Heying, R. S.; da Silva, M. P.; Wecker, G. S.; Peralta, R. A.; Bortoluzzi, A. J.; Neves, A. Unusual Hydrolase-like Activity of a Mononuclear Fe(III) Complex. *Inorg. Chem. Commun.* **2019**, *102*, 245–250.
<https://doi.org/10.1016/j.inoche.2019.01.035>.
- (140) Durigon, D. C.; Duarte, L.; Fonseca, J.; Tizziani, T.; R. S. Candela, D.; Braga, A. L.; Bortoluzzi, A. J.; Neves, A.; Peralta, R. A. Synthesis, Structure and Properties of New Triiron(III) Complexes: Phosphodiester Cleavage and Antioxidant Activity. *Polyhedron* **2022**, *225*, 116050.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2022.116050>.
- (141) Yadav, V.; Kumar, R.; Rishu; Bhardwaj, V. K. Comparative DNA Binding Ability and Phosphatase-like Activity of Mono and Dinuclear Ni (II) Complexes: A Structure-Activity Correlation. *J Chem Sci* **2024**, *136* (1), 9.
<https://doi.org/10.1007/s12039-023-02242-6>.
- (142) Gokel, G. W.; Dean, J. A. *Dean's Handbook of Organic Chemistry*, 2nd ed.; McGraw-Hill handbooks; McGraw-Hill: New York, 2004.
- (143) Strohalm, M.; Kavan, D.; Novák, P.; Volný, M.; Havlíček, V. *mMass 3: A Cross-Platform Software Environment for Precise Analysis of Mass Spectrometric Data*. *Anal. Chem.* **2010**, *82* (11), 4648–4651.
<https://doi.org/10.1021/ac100818g>.

- (144) Velho, R. G. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico. Dissertação, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos -SP, 2006.
- (145) Gagne, R. R.; Koval, C. A.; Lisensky, G. C. Ferrocene as an Internal Standard for Electrochemical Measurements. *Inorg. Chem.* **1980**, *19* (9), 2854–2855. <https://doi.org/10.1021/ic50211a080>.
- (146) Neese, F. Software Update: The ORCA Program System, Version 4.0. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2017**, *8*, e1327.
- (147) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77* (18), 3865–3868. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.3865>.
- (148) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple [Phys. Rev. Lett. 77, 3865 (1996)]. *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78* (7), 1396–1396. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.78.1396>.
- (149) Weigend, F.; Ahlrichs, R. Balanced Basis Sets of Split Valence, Triple Zeta Valence and Quadruple Zeta Valence Quality for H to Rn: Design and Assessment of Accuracy. *Phys Chem Chem Phys* **2005**, *7* (18), 3297–3305. <https://doi.org/10.1039/b508541a>.
- (150) Schäfer, A.; Huber, C.; Ahlrichs, R. Fully Optimized Contracted Gaussian Basis Sets of Triple Zeta Valence Quality for Atoms Li to Kr. *J. Chem. Phys.* **1994**, *100* (8), 5829–5835. <https://doi.org/10.1063/1.467146>.
- (151) Grimme, S.; Antony, J.; Ehrlich, S.; Krieg, H. A Consistent and Accurate Ab Initio Parametrization of Density Functional Dispersion Correction (DFT-D) for the 94 Elements H-Pu. *J. Chem. Phys.* **2010**, *132* (15), 154104. <https://doi.org/10.1063/1.3382344>.
- (152) Grimme, S.; Ehrlich, S.; Goerigk, L. Effect of the Damping Function in Dispersion Corrected Density Functional Theory. *J Comput Chem* **2011**, *32* (7), 1456–1465. <https://doi.org/10.1002/jcc.21759>.
- (153) Izsák, R.; Neese, F. An Overlap Fitted Chain of Spheres Exchange Method. *J. Chem. Phys.* **2011**, *135* (14), 144105. <https://doi.org/10.1063/1.3646921>.
- (154) Izsák, R.; Neese, F.; Klopper, W. Robust Fitting Techniques in the Chain of Spheres Approximation to the Fock Exchange: The Role of the Complementary Space. *J. Chem. Phys.* **2013**, *139* (9), 094111. <https://doi.org/10.1063/1.4819264>.
- (155) Helmich-Paris, B.; de Souza, B.; Neese, F.; Izsák, R. An Improved Chain of Spheres for Exchange Algorithm. *J. Chem. Phys.* **2021**, *155* (10), 104109. <https://doi.org/10.1063/5.0058766>.

- (156) Petrenko, T.; Kossmann, S.; Neese, F. Efficient Time-Dependent Density Functional Theory Approximations for Hybrid Density Functionals: Analytical Gradients and Parallelization. *J. Chem. Phys.* **2011**, *134* (5), 054116. <https://doi.org/10.1063/1.3533441>.
- (157) Cammi, R.; Mennucci, B.; Tomasi, J. Fast Evaluation of Geometries and Properties of Excited Molecules in Solution: A Tamm-Dancoff Model with Application to 4-Dimethylaminobenzonitrile. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104* (23), 5631–5637. <https://doi.org/10.1021/jp000156l>.
- (158) Mitra, R.; Peters, M. W.; Scott, M. J. Synthesis and Reactivity of a C3-Symmetric Trinuclear Zinc(II) Hydroxide Catalyst Efficient at Phosphate Diester Transesterification. *Dalton Trans.* **2007**, No. 35, 3924–3935. <https://doi.org/10.1039/B706386E>.
- (159) Gutz, I. G. R. *Curvas de titulação, cálculos de pH e de equilíbrios ácido-base em planilha Excel*. <http://www.iq.usp.br/gutz/Curtipot.html> (accessed 2019-12-12).
- (160) Casellato, A. Síntese e Reatividade de complexos Biomiméticos para as Fosfatases ácidas púrpuras, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- (161) Piskiewicz, D. *Kinetics of Chemical and Enzyme-Catalyzed Reactions*; Oxford University Press: New York, 1977; Vol. cap. 5,.
- (162) Lineweaver, H.; Burk, D. The Determination of Enzyme Dissociation Constants. *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, *56* (3), 658–666. <https://doi.org/10.1021/ja01318a036>.
- (163) Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V.; Featherstone, R. M. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochemical Pharmacology* **1961**, *7* (2), 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- (164) Mosmann, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Methods* **1983**, *65* (1–2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- (165) Thoer, A.; Denis, G.; Delmas, M.; Gaset, A. The Reimer-Tiemann Reaction in Slightly Hydrated Solid-Liquid Medium: A New Method for the Synthesis of Formyl and Diformyl Phenols. *Synthetic Communications* **1988**, *18* (16–17), 2095–2101. <https://doi.org/10.1080/00397918808068278>.
- (166) Chen, Z.; Zhang, J.; Zhang, S. Oxidative DNA Cleavage Promoted by Two Phenolate-Bridged Binuclear Copper(II) Complexes. *New J. Chem.* **2015**, *39* (3), 1814–1821. <https://doi.org/10.1039/C4NJ01623H>.
- (167) Castillo, I.; Ugalde-Saldívar, V. M.; Rodríguez Solano, L. A.; Sánchez Eguía, B. N.; Zeglio, E.; Nordlander, E. Structural, Spectroscopic, and

- Electrochemical Properties of Tri- and Tetradentate N3 and N3S Copper Complexes with Mixed Benzimidazole/Thioether Donors. *Dalton Trans.* **2012**, 41 (31), 9394. <https://doi.org/10.1039/c2dt30756a>.
- (168) Vailati, A. F.; Huelsmann, R. D.; Martendal, E.; Bortoluzzi, A. J.; Xavier, F. R.; Peralta, R. A. Multivariate Analysis Applied to Oxidation of Cyclohexane and Benzyl Alcohol Promoted by Mononuclear Iron and Copper Complexes. *New J. Chem.* **2020**, 44 (6), 2514–2526. <https://doi.org/10.1039/C9NJ05534G>.
- (169) Steckel, A.; Schlosser, G. An Organic Chemist's Guide to Electrospray Mass Spectrometric Structure Elucidation. *Molecules* **2019**, 24 (3), 611. <https://doi.org/10.3390/molecules24030611>.
- (170) Pavia, D.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R. *Introdução à espectroscopia*, 4ed ed.; Cengage Learning, 2010.
- (171) Nakamoto, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination compounds*, Third Edition.; John Wiley & Sons, Inc: New York, 1922.
- (172) Geary, W. J. The Use of Conductivity Measurements in Organic Solvents for the Characterisation of Coordination Compounds. *Coordination Chemistry Reviews* **1971**, 7 (1), 81–122. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80009-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80009-0).
- (173) Chaves, C. C. V. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA. **2020**, 181.
- (174) Moraes, M. C. B.; Lago, C. L. do. Espectrometria de Massas Com Ionização Por "Electrospray" Aplicada Ao Estudo de Espécies Inorgânicas e Organometálicas. *Quím. Nova* **2003**, 26 (4), 556–563. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000400019>.
- (175) Melotti, M.; S. S. Paqui, M.; Amorim, A. L.; P. de Paula, C.; Rocha, M. C.; Malavazi, I.; Cunha, A.; S. Santana, F.; Ribeiro, R. R.; Gariani, R. A.; Mendes, S. R.; Xavier, F. R. Polypyridyl Iron(III) Complexes Containing Long Alkyl Chains: Synthesis, Characterization, DFT Calculations and Biological Activity. *New J. Chem.* **2021**, 45 (29), 12902–12914. <https://doi.org/10.1039/D0NJ00895H>.
- (176) Camargo, T. P.; Neves, A.; Peralta, R. A.; Chaves, C.; Maia, E. C. P.; Lizarazo-Jaimes, E. H.; Gomes, D. A.; Bortolotto, T.; Norberto, D. R.; Terenzi, H.; Tierney, D. L.; Schenk, G. Second-Sphere Effects in Dinuclear Fe^{III} Zn^{II} Hydrolase Biomimetics: Tuning Binding and Reactivity Properties. *Inorg. Chem.* **2018**, 57 (1), 187–203. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b02384>.
- (177) Gütllich, P.; Link, R.; Trautwein, A. *Mössbauer Spectroscopy and Transition Metal Chemistry*; Springer Berlin Heidelberg, 2013.

- (178) Kortum, G.; Vogel, W.; Andrussow, K. DISSOCIATION CONSTANTS OF ORGANIC ACIDS IN AQUEOUS SOLUTION.
- (179) Maranhã, F. G.; dos Santos Silva, G. A.; Bortoluzzi, A. J.; Nordlander, E.; Peralta, R. A.; Neves, A. A New Heteropentanuclear Complex Containing the [Fe²III Zn³II(μ-OH)₃] Structural Motif as a Model for Purple Acid Phosphatases. *Inorg. Chim. Acta* **2020**, *502*, 119280. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2019.119280>.
- (180) Orth, E. S.; Campos, R. B. Multifunctional Imidazole-Derived Polymeric Catalyst for Dephosphorylation Reactions Potentiated by Cationic and Anionic Micelles. *J. Braz. Chem. Soc.* **2015**, *00* (00), 1–10. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150228>.
- (181) Hydrolytic Activity of New Bioinspired Mn^{III}Mn^{II} and Fe^{III}Mn^{II} Complexes as Mimetics of PAPs: Biological and Environmental Interest | Elsevier Enhanced Reader. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.111965>.
- (182) Dutta, N.; Haldar, S.; Vijaykumar, G.; Paul, S.; Chattopadhyay, A. P.; Carrella, L.; Bera, M. Phosphatase-like Activity of Tetranuclear Iron(III) and Zinc(II) Complexes. *Inorg. Chem.* **2018**, *57* (17), 10802–10820. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b01441>.
- (183) Deal, K. A.; Hengge, A. C.; Burstyn, J. N. Characterization of Transition States in Dichloro(1,4,7-Triazacyclononane)Copper(II)-Catalyzed Activated Phosphate Diester Hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (7), 1713–1718. <https://doi.org/10.1021/ja952306p>.
- (184) Meza-González, B.; Cortés-Guzmán, F. Hydrolysis of Ester Phosphates Mediated by a Copper Complex. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2023**, *25* (28), 18652–18658. <https://doi.org/10.1039/D3CP00146F>.
- (185) Kousba, A. A. Comparison of Chlorpyrifos-Oxon and Paraoxon Acetylcholinesterase Inhibition Dynamics: Potential Role of a Peripheral Binding Site. *Toxicological Sciences* **2004**, *80* (2), 239–248. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh163>.
- (186) Muxel, A. A.; Neves, A.; Camargo, M. A.; Bortoluzzi, A. J.; Szpoganicz, B.; Castellano, E. E.; Castilho, N.; Bortolotto, T.; Terenzi, H. New La(III) Complex Immobilized on 3-Aminopropyl-Functionalized Silica as an Efficient and Reusable Catalyst for Hydrolysis of Phosphate Ester Bonds. *Inorg. Chem.* **2014**, *53* (6), 2943–2952. <https://doi.org/10.1021/ic402705r>.
- (187) Balsa, L. M.; Ferraresi-Curotto, V.; Lavecchia, M. J.; Echeverría, G. A.; Piro, O. E.; García-Tojal, J.; Pis-Diez, R.; González-Baró, A. C.; León, I. E. Anticancer Activity of a New Copper(II) Complex with a Hydrazone Ligand. Structural and Spectroscopic Characterization, Computational Simulations and Cell Mechanistic Studies on 2D and 3D Breast Cancer Cell Models. *Dalton Trans.* **2021**, *50* (28), 9812–9826. <https://doi.org/10.1039/D1DT00869B>.

- (188) Matos, C. P.; Albino, M.; Lopes, J.; Viana, A. S.; Côrte-Real, L.; Mendes, F.; Pessoa, J. C.; Tomaz, A. I.; Reis, C. P.; Gaspar, M. M.; Correia, I. New Iron(III) Anti-Cancer Aminobisphenolate/Phenanthroline Complexes: Enhancing Their Therapeutic Potential Using Nanoliposomes. *International Journal of Pharmaceutics* **2022**, *623*, 121925. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121925>.
- (189) Scarpellini, M.; Neves, A.; Bortoluzzi, A. J.; Vencato, I.; Drago, V.; Ortiz, W. A.; Zucco, C. A New FeIII(μ -OCH₃)₂(μ -OAc)FeIII Complex Containing Phenolate and Imidazole Ligands as a Structural Model for the Active Site of Non-Heme Diiron Enzymes. *Dalton Trans.* **2001**, No. 18, 2616–2623. <https://doi.org/10.1039/B100913N>.
- (190) Ryu, S. G.; Kim, M.-K.; Park, M.; Jang, S. O.; Kim, S. H.; Jung, H. Availability of Zr-Based MOFs for the Degradation of Nerve Agents in All Humidity Conditions. *Microporous and Mesoporous Materials* **2019**, *274*, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2018.07.027>.
- (191) Garibay, S. J.; Tovar, T. M.; Iordanov, I. O.; Peterson, G. W.; DeCoste, J. B. Enhancement of Catalytic Hydrolysis Activity for Organophosphates by the Metal–Organic Framework MOF-808-NH₂ via Post-Synthetic Modification. *J. Mater. Chem. A* **2023**, *11* (25), 13300–13308. <https://doi.org/10.1039/D3TA01898A>.
- (192) Simms, C.; Mullaliu, A.; Swinnen, S.; Azambuja, F. de; Parac-Vogt, T. N. MOF Catalysis Meets Biochemistry: Molecular Insights from the Hydrolytic Activity of MOFs towards Biomolecules. *Mol. Syst. Des. Eng.* **2023**, *8* (3), 270–288. <https://doi.org/10.1039/D2ME00213B>.
- (193) Liao, Y.; Sheridan, T.; Liu, J.; Lu, Z.; Ma, K.; Farha, O.; Hupp, J. Probing the Mechanism of Hydrolytic Degradation of Nerve Agent Simulant with Zirconium-Based Metal–Organic Frameworks. **2023**. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2023-8tm82>.
- (194) Kung, C.-W.; Goswami, S.; Hod, I.; Wang, T. C.; Duan, J.; Farha, O. K.; Hupp, J. T. Charge Transport in Zirconium-Based Metal–Organic Frameworks. *Acc. Chem. Res.* **2020**, *53* (6), 1187–1195. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.0c00106>.
- (195) Felix Sahayaraj, A.; Joy Prabu, H.; Maniraj, J.; Kannan, M.; Bharathi, M.; Diwahar, P.; Salamon, J. Metal–Organic Frameworks (MOFs): The Next Generation of Materials for Catalysis, Gas Storage, and Separation. *J Inorg Organomet Polym* **2023**, *33* (7), 1757–1781. <https://doi.org/10.1007/s10904-023-02657-1>.
- (196) Ly, H. G. T.; Fu, G.; Kondinski, A.; Bueken, B.; De Vos, D.; Parac-Vogt, T. N. Superactivity of MOF-808 toward Peptide Bond Hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140* (20), 6325–6335. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b01902>.

- (197) González, L.; Gil-San-Millán, R.; Navarro, J. A. R.; Maldonado, C. R.; Barea, E.; Carmona, F. J. Green Synthesis of Zirconium MOF-808 for Simultaneous Phosphate Recovery and Organophosphorus Pesticide Detoxification in Wastewater. *J. Mater. Chem. A* **2022**, *10* (37), 19606–19611. <https://doi.org/10.1039/D2TA02074B>.
- (198) Devulapalli, V. S. D.; Richard, M.; Luo, T.-Y.; De Souza, M. L.; Rosi, N. L.; Borguet, E. Tuning the Lewis Acidity of Metal–Organic Frameworks for Enhanced Catalysis. *Dalton Trans.* **2021**, *50* (9), 3116–3120. <https://doi.org/10.1039/D1DT00180A>.
- (199) Plonka, A. M.; Wang, Q.; Gordon, W. O.; Balboa, A.; Troya, D.; Guo, W.; Sharp, C. H.; Senanayake, S. D.; Morris, J. R.; Hill, C. L.; Frenkel, A. I. In Situ Probes of Capture and Decomposition of Chemical Warfare Agent Simulants by Zr-Based Metal Organic Frameworks. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (2), 599–602. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b11373>.
- (200) Katz, M. J.; Klet, R. C.; Moon, S.-Y.; Mondloch, J. E.; Hupp, J. T.; Farha, O. K. One Step Backward Is Two Steps Forward: Enhancing the Hydrolysis Rate of UiO-66 by Decreasing [OH⁻]. *ACS Catal.* **2015**, *5* (8), 4637–4642. <https://doi.org/10.1021/acscatal.5b00785>.
- (201) Xu, M.; Feng, L.; Yan, L.-N.; Meng, S.-S.; Yuan, S.; He, M.-J.; Liang, H.; Chen, X.-Y.; Wei, H.-Y.; Gu, Z.-Y.; Zhou, H.-C. Discovery of Precise pH-Controlled Biomimetic Catalysts: Defective Zirconium Metal–Organic Frameworks as Alkaline Phosphatase Mimics. *Nanoscale* **2019**, *11* (23), 11270–11278. <https://doi.org/10.1039/C9NR02962A>.
- (202) Luong, T. K. N.; Shestakova, P.; Absillis, G.; Parac-Vogt, T. N. Detailed Mechanism of Phosphoanhydride Bond Hydrolysis Promoted by a Binuclear ZrIV-Substituted Keggin Polyoxometalate Elucidated by a Combination of 31P, 31P DOSY, and 31P EXSY NMR Spectroscopy. *Inorg. Chem.* **2016**, *55* (10), 4864–4873. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b00385>.
- (203) Luong, T. K. N.; Shestakova, P.; Mihaylov, T. T.; Absillis, G.; Pierloot, K.; Parac-Vogt, T. N. Multinuclear Diffusion NMR Spectroscopy and DFT Modeling: A Powerful Combination for Unraveling the Mechanism of Phosphoester Bond Hydrolysis Catalyzed by Metal-Substituted Polyoxometalates. *Chem. - Eur. J.* **2015**, *21* (11), 4428–4439. <https://doi.org/10.1002/chem.201405810>.
- (204) Absillis, G.; Cartuyvels, E.; Van Deun, R.; Parac-Vogt, T. N. Hydrolytic Cleavage of an RNA-Model Phosphodiester Catalyzed by a Highly Negatively Charged Polyoxomolybdate [Mo7O24]6⁻ Cluster. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (51), 17400–17408. <https://doi.org/10.1021/ja804823g>.
- (205) Yang, Y.; Liu, J.; Liu, L.; Zhou, Y.; Zhang, L.; Zhong, Y.; Zhao, D.; Wang, Y. Cation-Exchangeable Pralidoxime Chloride@bio-MOF-1 as a Treatment for Nerve Agent Poisoning and Sulfur Mustard Skin Poisoning

- in Animals. *ACS Omega* **2022**, *7* (35), 30720–30729. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01240>.
- (206) Lin, S.-X.; Pan, W.-L.; Niu, R.-J.; Liu, Y.; Chen, J.-X.; Zhang, W.-H.; Lang, J.-P.; Young, D. J. Effective Loading of Cisplatin into a Nanoscale UiO-66 Metal–Organic Framework with Preformed Defects. *Dalton Trans.* **2019**, *48* (16), 5308–5314. <https://doi.org/10.1039/C9DT00719A>.
- (207) Zhou, Y.-H.; Zhang, Z.; Patrick, M.; Yang, F.; Wei, R.; Cheng, Y.; Gu, J. Cleaving DNA-Model Phosphodiester with Lewis Acid–Base Catalytic Sites in Bifunctional Zr–MOFs. *Dalton Trans.* **2019**, *48* (23), 8044–8048. <https://doi.org/10.1039/C9DT00719A>.
- (208) Gibbons, B.; Bartlett, E. C.; Cai, M.; Yang, X.; Johnson, E. M.; Morris, A. J. Defect Level and Particle Size Effects on the Hydrolysis of a Chemical Warfare Agent Simulant by UiO-66. *Inorg. Chem.* **2021**, *60* (21), 16378–16387. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c02224>.
- (209) El-Sayed, E.-S. M.; Yuan, Y. D.; Zhao, D.; Yuan, D. Zirconium Metal–Organic Cages: Synthesis and Applications. *Acc. Chem. Res.* **2022**, *55* (11), 1546–1560. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.1c00654>.
- (210) Wang, Y.; Wan, X.-K.; Ren, L.; Su, H.; Li, G.; Malola, S.; Lin, S.; Tang, Z.; Häkkinen, H.; Teo, B. K.; Wang, Q.-M.; Zheng, N. Atomically Precise Alkynyl-Protected Metal Nanoclusters as a Model Catalyst: Observation of Promoting Effect of Surface Ligands on Catalysis by Metal Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (10), 3278–3281. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b12730>.
- (211) Van den Eynden, D.; Pokratath, R.; De Roo, J. Nonaqueous Chemistry of Group 4 Oxo Clusters and Colloidal Metal Oxide Nanocrystals. *Chem. Rev.* **2022**, *122* (11), 10538–10572. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c01008>.
- (212) Schubert, U. Cluster-Based Inorganic–Organic Hybrid Materials. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (2), 575–582. <https://doi.org/10.1039/C0CS00009D>.
- (213) Xu, Y.; Bai, T.; Yan, Y.; Zhao, Y.; Yuan, L.; Pan, P.; Jiang, Z. Enhanced Removal of Hexavalent Chromium by Different Acid-Modified Biochar Derived from Corn Straw: Behavior and Mechanism. *Water Science and Technology* **2020**, *81* (10), 2270–2280. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.290>.
- (214) Sun, S.-N.; Niu, Q.; Lin, J.-M.; He, L.-L.; Shi, J.-W.; Huang, Q.; Liu, J.; Lan, Y.-Q. Sulfur Atom-Directed Metal–Ligand Synergistic Catalysis in Zirconium/Hafnium-Oxo Clusters for Highly Efficient Amine Oxidation. *Science Bulletin* **2024**, *69* (4), 492–501. <https://doi.org/10.1016/j.scib.2023.11.047>.
- (215) Zhang, Y.; de Azambuja, F.; Parac-Vogt, T. N. The Forgotten Chemistry of Group(IV) Metals: A Survey on the Synthesis, Structure, and Properties

- of Discrete Zr(IV), Hf(IV), and Ti(IV) Oxo Clusters. *Coordination Chemistry Reviews* **2021**, *438*, 213886. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.213886>.
- (216) Van den Eynden, D.; Pokratath, R.; Mathew, J. P.; Goossens, E.; De Buysser, K.; De Roo, J. Fatty Acid Capped, Metal Oxo Clusters as the Smallest Conceivable Nanocrystal Prototypes. *Chem. Sci.* **2023**, *14* (3), 573–585. <https://doi.org/10.1039/D2SC05037D>.
- (217) Wang, X.; Brunson, K.; Xie, H.; Colliard, I.; Wasson, M. C.; Gong, X.; Ma, K.; Wu, Y.; Son, F. A.; Idrees, K. B.; Zhang, X.; Notestein, J. M.; Nyman, M.; Farha, O. K. Heterometallic CeIV/ VV Oxo Clusters with Adjustable Catalytic Reactivities. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143* (49), 21056–21065. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c11208>.
- (218) Cho, K. Y.; Seo, J. Y.; Kim, H.-J.; Pai, S. J.; Do, X. H.; Yoon, H. G.; Hwang, S. S.; Han, S. S.; Baek, K.-Y. Facile Control of Defect Site Density and Particle Size of UiO-66 for Enhanced Hydrolysis Rates: Insights into Feasibility of Zr(IV)-Based Metal-Organic Framework (MOF) Catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental* **2019**, *245*, 635–647. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.01.033>.
- (219) Loosen, A.; de Azambuja, F.; Smolders, S.; Moons, J.; Simms, C.; De Vos, D.; Parac-Vogt, T. N. Interplay between Structural Parameters and Reactivity of Zr₆-Based MOFs as Artificial Proteases. *Chem. Sci.* **2020**, *11* (26), 6662–6669. <https://doi.org/10.1039/D0SC02136A>.
- (220) Ogiwara, N.; Uchida, S. Metal–Oxo-Cluster-Based Crystals as Solid Catalysts. *Chem Catalysis* **2023**, *3* (7), 100607. <https://doi.org/10.1016/j.checat.2023.100607>.
- (221) Azambuja, F. de; Moons, J.; Parac-Vogt, T. N. The Dawn of Metal-Oxo Clusters as Artificial Proteases: From Discovery to the Present and Beyond. *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54* (7), 1673–1684. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.0c00666>.
- (222) Moons, J.; Azambuja, F. de; Mihailovic, J.; Kozma, K.; Smiljanic, K.; Amiri, M.; Velickovic, T. C.; Nyman, M.; Parac-Vogt, T. N. Discrete Hf₁₈ Metal-Oxo Cluster as a Heterogeneous Nanozyme for Site-Specific Proteolysis. *Angewandte Chemie International Edition* **2020**, *59* (23), 9094–9101. <https://doi.org/10.1002/anie.202001036>.
- (223) Zhang, Y.; Azambuja, F. de; Parac-Vogt, T. N. Zirconium Oxo Clusters as Discrete Molecular Catalysts for the Direct Amide Bond Formation. *Catal. Sci. Technol.* **2022**, *12* (10), 3190–3201. <https://doi.org/10.1039/D2CY00421F>.
- (224) Puchberger, M.; Kogler, F. R.; Jupa, M.; Gross, S.; Fric, H.; Kickelbick, G.; Schubert, U. Can the Clusters Zr₆O₄(OH)₄(OOCR)₁₂ and [Zr₆O₄(OH)₄(OOCR)₁₂]₂ Be Converted into Each Other? *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, *2006* (16), 3283–3293. <https://doi.org/10.1002/ejic.200600348>.

- (225) Noh, H.; Kung, C.-W.; Islamoglu, T.; Peters, A. W.; Liao, Y.; Li, P.; Garibay, S. J.; Zhang, X.; DeStefano, M. R.; Hupp, J. T.; Farha, O. K. Room Temperature Synthesis of an 8-Connected Zr-Based Metal–Organic Framework for Top-Down Nanoparticle Encapsulation. *Chem. Mater.* **2018**, *30* (7), 2193–2197.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b00449>.
- (226) Zhang, Y.; Azambuja, F. de; Parac-Vogt, T. N. Zirconium Oxo Clusters as Discrete Molecular Catalysts for the Direct Amide Bond Formation. *Catal. Sci. Technol.* **2022**, *12* (10), 3190–3201.
<https://doi.org/10.1039/D2CY00421F>.
- (227) Zhang, Y.; Kokculer, I. Y.; de Azambuja, F.; Parac-Vogt, T. N. Dynamic Environment at the **Zr** 6 Oxo Cluster Surface Is Key for the Catalytic Formation of Amide Bonds. *Catal. Sci. Technol.* **2023**, *13* (1), 100–110.
<https://doi.org/10.1039/D2CY01706G>.
- (228) Dai, S.; Simms, C.; Dovgaliuk, I.; Patriarche, G.; Tissot, A.; Parac-Vogt, T. N.; Serre, C. Monodispersed MOF-808 Nanocrystals Synthesized via a Scalable Room-Temperature Approach for Efficient Heterogeneous Peptide Bond Hydrolysis. *Chem. Mater.* **2021**, *33* (17), 7057–7066.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.1c02174>.
- (229) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Li, X.; Caricato, M.; Marenich, A. V.; Bloino, J.; Janesko, B. G.; Gomperts, R.; Mennucci, B.; Hratchian, H. P.; Ortiz, J. V.; Izmaylov, A. F.; Sonnenberg, J. L.; Williams, Ding, F.; Lipparini, F.; Egidi, F.; Goings, J.; Peng, B.; Petrone, A.; Henderson, T.; Ranasinghe, D.; Zakrzewski, V. G.; Gao, J.; Rega, N.; Zheng, G.; Liang, W.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Throssell, K.; Montgomery Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M. J.; Heyd, J. J.; Brothers, E. N.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T. A.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A. P.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Millam, J. M.; Klene, M.; Adamo, C.; Cammi, R.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Fox, D. J. Gaussian 16 Rev. A.03, 2016.
- (230) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Phys. Rev. B* **1988**, *37* (2), 785–789.
<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>.
- (231) Becke, A. D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. *The Journal of Chemical Physics* **1993**, *98* (7), 5648–5652.
<https://doi.org/10.1063/1.464913>.
- (232) Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Chabalowski, C. F.; Frisch, M. J. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra

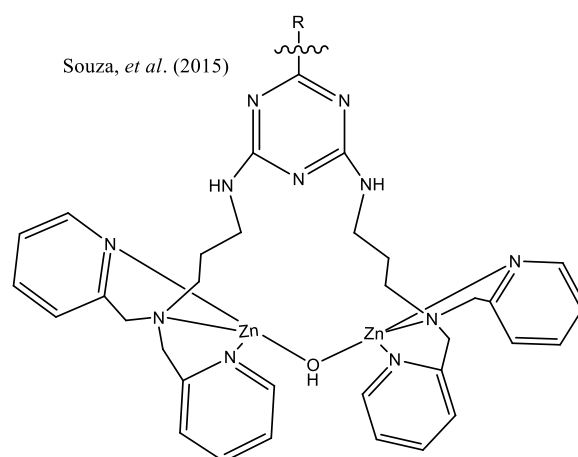
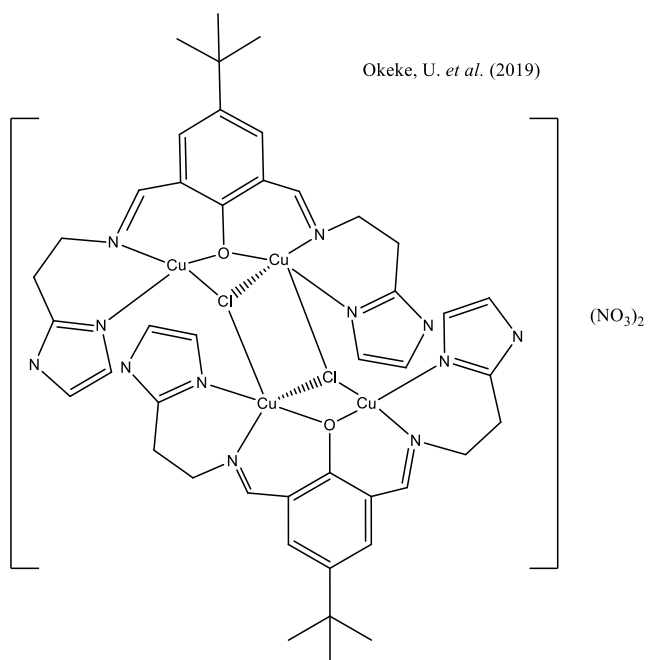
- Using Density Functional Force Fields. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98* (45), 11623–11627. <https://doi.org/10.1021/j100096a001>.
- (233) Hehre, W. J.; Ditchfield, R.; Pople, J. A. Self—Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian—Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. *The Journal of Chemical Physics* **2003**, *56* (5), 2257–2261. <https://doi.org/10.1063/1.1677527>.
- (234) Hariharan, P. C.; Pople, J. A. The Influence of Polarization Functions on Molecular Orbital Hydrogenation Energies. *Theoret. Chim. Acta* **1973**, *28* (3), 213–222. <https://doi.org/10.1007/BF00533485>.
- (235) Francl, M. M.; Pietro, W. J.; Hehre, W. J.; Binkley, J. S.; Gordon, M. S.; DeFrees, D. J.; Pople, J. A. Self-consistent Molecular Orbital Methods. XXIII. A Polarization-type Basis Set for Second-row Elements. *The Journal of Chemical Physics* **1982**, *77* (7), 3654–3665. <https://doi.org/10.1063/1.444267>.
- (236) Hay, P. J.; Wadt, W. R. Ab Initio Effective Core Potentials for Molecular Calculations. Potentials for K to Au Including the Outermost Core Orbitals. *The Journal of Chemical Physics* **1985**, *82* (1), 299–310. <https://doi.org/10.1063/1.448975>.
- (237) Ehlers, A. W.; Böhme, M.; Dapprich, S.; Gobbi, A.; Höllwarth, A.; Jonas, V.; Köhler, K. F.; Stegmann, R.; Veldkamp, A.; Frenking, G. A Set of F-Polarization Functions for Pseudo-Potential Basis Sets of the Transition Metals Sc□Cu, Y□Ag and La□Au. *Chemical Physics Letters* **1993**, *208* (1), 111–114. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(93\)80086-5](https://doi.org/10.1016/0009-2614(93)80086-5).
- (238) Cancès, E.; Mennucci, B.; Tomasi, J. A New Integral Equation Formalism for the Polarizable Continuum Model: Theoretical Background and Applications to Isotropic and Anisotropic Dielectrics. *The Journal of Chemical Physics* **1997**, *107* (8), 3032–3041. <https://doi.org/10.1063/1.474659>.
- (239) Roy, L. E.; Hay, P. J.; Martin, R. L. Revised Basis Sets for the LANL Effective Core Potentials. *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4* (7), 1029–1031. <https://doi.org/10.1021/ct8000409>.
- (240) Krishnan, R.; Binkley, J. S.; Seeger, R.; Pople, J. A. Self-consistent Molecular Orbital Methods. XX. A Basis Set for Correlated Wave Functions. *The Journal of Chemical Physics* **2008**, *72* (1), 650–654. <https://doi.org/10.1063/1.438955>.
- (241) Luchini, G.; Paton, R.; Alegre-Requena, J.; Rodríguez-Guerra, J.; Berquist, E.; Chen, J.; IFunes; Velmiskina, J.; froessler; Mayes, H.; Vejaykummar, S. S. S.; sibo. Patonlab/GoodVibes: Bug Fixes & Updated References, 2022. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6977304>.

- (242) Álvarez-Moreno, M.; De Graaf, C.; López, N.; Maseras, F.; Poblet, J. M.; Bo, C. Managing the Computational Chemistry Big Data Problem: The **ioChem-BD** Platform. *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, *55* (1), 95–103. <https://doi.org/10.1021/ci500593j>.
- (243) Williams, R. *pKa data compiled by R. Williams*. https://organicchemistrydata.org/hansreich/resources/pka/pka_data/pka-compilation-williams.pdf (accessed 2023-09-02).
- (244) Loosen, A.; de Azambuja, F.; Parac-Vogt, T. N. Which Factors Govern the Adsorption of Peptides to Zr(IV)-Based Metal–Organic Frameworks? *Mater. Adv.* **2022**, *3* (5), 2475–2487. <https://doi.org/10.1039/D1MA01027A>.
- (245) Kennedy, D. J.; Mayer, B. P.; Baker, S. E.; Valdez, C. A. Kinetics and Speciation of Paraoxon Hydrolysis by Zinc(II)–Azamacrocyclic Catalysts. *Inorg. Chim. Acta* **2015**, *436*, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2015.07.035>.
- (246) Penkova, L. V.; Maciąg, A.; Rybak-Akimova, E. V.; Haukka, M.; Pavlenko, V. A.; Iskenderov, T. S.; Kozłowski, H.; Meyer, F.; Fritsky, I. O. Efficient Catalytic Phosphate Ester Cleavage by Binuclear Zinc(II) Pyrazolate Complexes as Functional Models of Metallophosphatases. *Inorg. Chem.* **2009**, *48* (14), 6960–6971. <https://doi.org/10.1021/ic900520j>.
- (247) Richens, D. T. Ligand Substitution Reactions at Inorganic Centers. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (6), 1961–2002. <https://doi.org/10.1021/cr030705u>.
- (248) Yang, Q.; Wang, J.; Chen, X.; Yang, W.; Pei, H.; Hu, N.; Li, Z.; Suo, Y.; Li, T.; Wang, J. The Simultaneous Detection and Removal of Organophosphorus Pesticides by a Novel Zr-MOF Based Smart Adsorbent. *J. Mater. Chem. A* **2018**, *6* (5), 2184–2192. <https://doi.org/10.1039/C7TA08399H>.
- (249) Planas, N.; Mondloch, J. E.; Tussupbayev, S.; Borycz, J.; Gagliardi, L.; Hupp, J. T.; Farha, O. K.; Cramer, C. J. Defining the Proton Topology of the Zr₆-Based Metal–Organic Framework NU-1000. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5* (21), 3716–3723. <https://doi.org/10.1021/jz501899j>.
- (250) Klet, R. C.; Liu, Y.; Wang, T. C.; Hupp, J. T.; Farha, O. K. Evaluation of Brønsted Acidity and Proton Topology in Zr- and Hf-Based Metal–Organic Frameworks Using Potentiometric Acid–Base Titration. *J. Mater. Chem. A* **2016**, *4* (4), 1479–1485. <https://doi.org/10.1039/C5TA07687K>.
- (251) Chen, H. Computational Study of Brønsted Acidity in the Metal–Organic Framework UiO-66. *Chemical Physics Letters* **2022**, *800*, 139658. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2022.139658>.
- (252) Mondloch, J. E.; Katz, M. J.; Isley III, W. C.; Ghosh, P.; Liao, P.; Bury, W.; Wagner, G. W.; Hall, M. G.; DeCoste, J. B.; Peterson, G. W.; Snurr, R. Q.; Cramer, C. J.; Hupp, J. T.; Farha, O. K. Destruction of Chemical Warfare

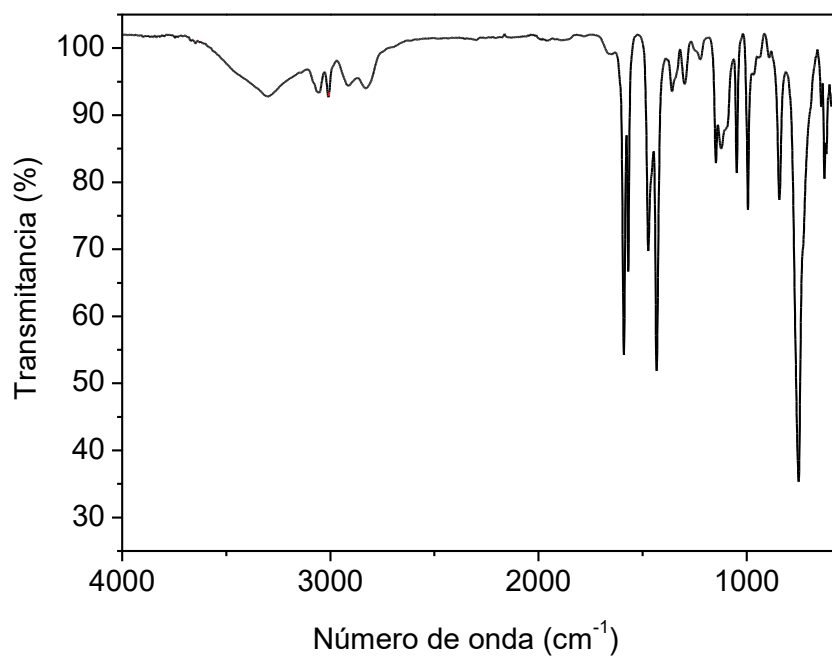
- Agents Using Metal–Organic Frameworks. *Nature Mater* **2015**, *14* (5), 512–516. <https://doi.org/10.1038/nmat4238>.
- (253) Gil, A.; Carbó, J. J. Computational Modelling of the Interactions Between Polyoxometalates and Biological Systems. *Frontiers in Chemistry* **2022**, *10*.
- (254) Ly, H. G. T.; Mihaylov, T.; Absillis, G.; Pierloot, K.; Parac-Vogt, T. N. Reactivity of Dimeric Tetrazirconium(IV) Wells–Dawson Polyoxometalate toward Dipeptide Hydrolysis Studied by a Combined Experimental and Density Functional Theory Approach. *Inorg. Chem.* **2015**, *54* (23), 11477–11492. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5b02122>.
- (255) Jayasinghe-Arachchige, V. M.; Hu, Q.; Sharma, G.; Paul, T. J.; Lundberg, M.; Quinonero, D.; Parac-Vogt, T. N.; Prabhakar, R. Hydrolysis of Chemically Distinct Sites of Human Serum Albumin by Polyoxometalate: A Hybrid QM/MM (ONIOM) Study. *J Comput Chem* **2019**, *40* (1), 51–61. <https://doi.org/10.1002/jcc.25528>.
- (256) Ly, H. G. T.; Mihaylov, T. T.; Proost, P.; Pierloot, K.; Harvey, J. N.; Parac-Vogt, T. N. Chemical Mimics of Aspartate-Directed Proteases: Predictive and Strictly Specific Hydrolysis of a Globular Protein at Asp–X Sequence Promoted by Polyoxometalate Complexes Rationalized by a Combined Experimental and Theoretical Approach. *Chem. - Eur. J.* **2019**, *25* (63), 14370–14381. <https://doi.org/10.1002/chem.201902675>.
- (257) Lanuza, J.; Sánchez–González, Á.; Bandeira, N. A. G.; Lopez, X.; Gil, A. Mechanistic Insights into Promoted Hydrolysis of Phosphoester Bonds by $\text{MoO}_2\text{Cl}_2(\text{DMF})_2$. *Inorg. Chem.* **2021**, *60* (15), 11177–11191. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c01088>.
- (258) Solé-Daura, A.; Rodríguez-Fortea, A.; Poblet, J. M.; Robinson, D.; Hirst, J. D.; Carbó, J. J. Origin of Selectivity in Protein Hydrolysis by Zr(IV)-Containing Metal Oxides as Artificial Proteases. *ACS Catal.* **2020**, *10* (22), 13455–13467. <https://doi.org/10.1021/acscatal.0c02848>.
- (259) Elumalai, P.; Elrefaei, N.; Chen, W.; Al-Rawashdeh, M.; Madrahimov, S. T. Testing Metal–Organic Framework Catalysts in a Microreactor for Ethyl Paraoxon Hydrolysis. *Catalysts* **2020**, *10* (10), 1159. <https://doi.org/10.3390/catal10101159>.

APÊNDICES

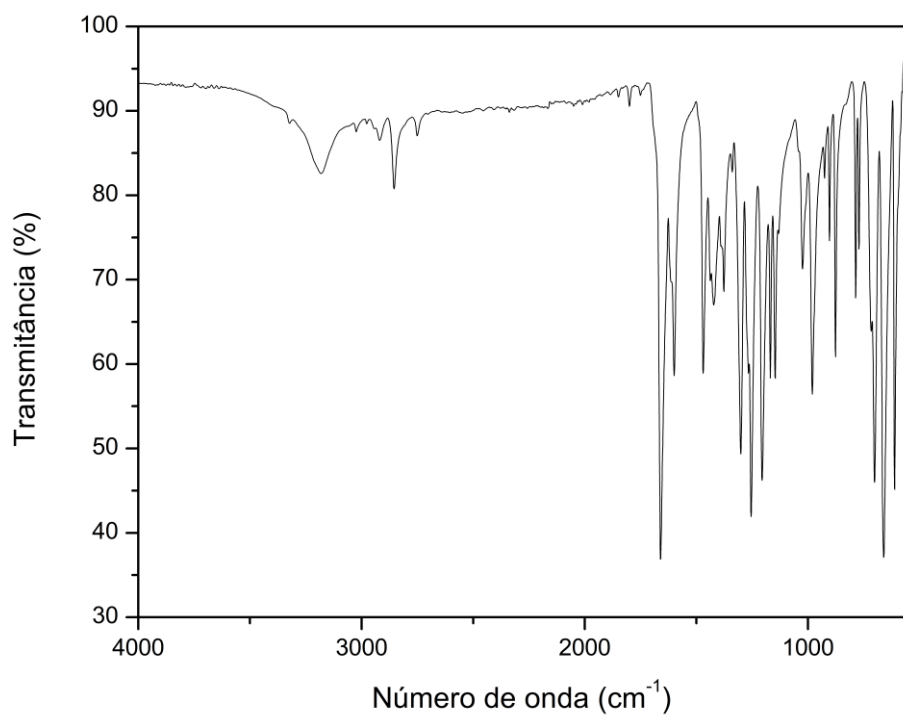
APÊNDICE A - Estruturas citadas no texto.



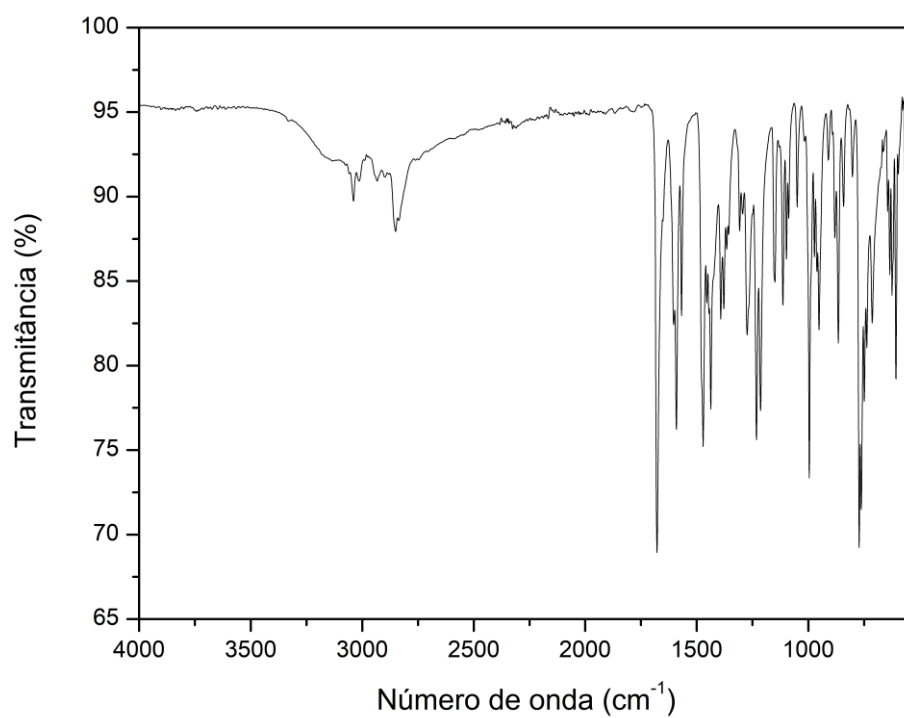
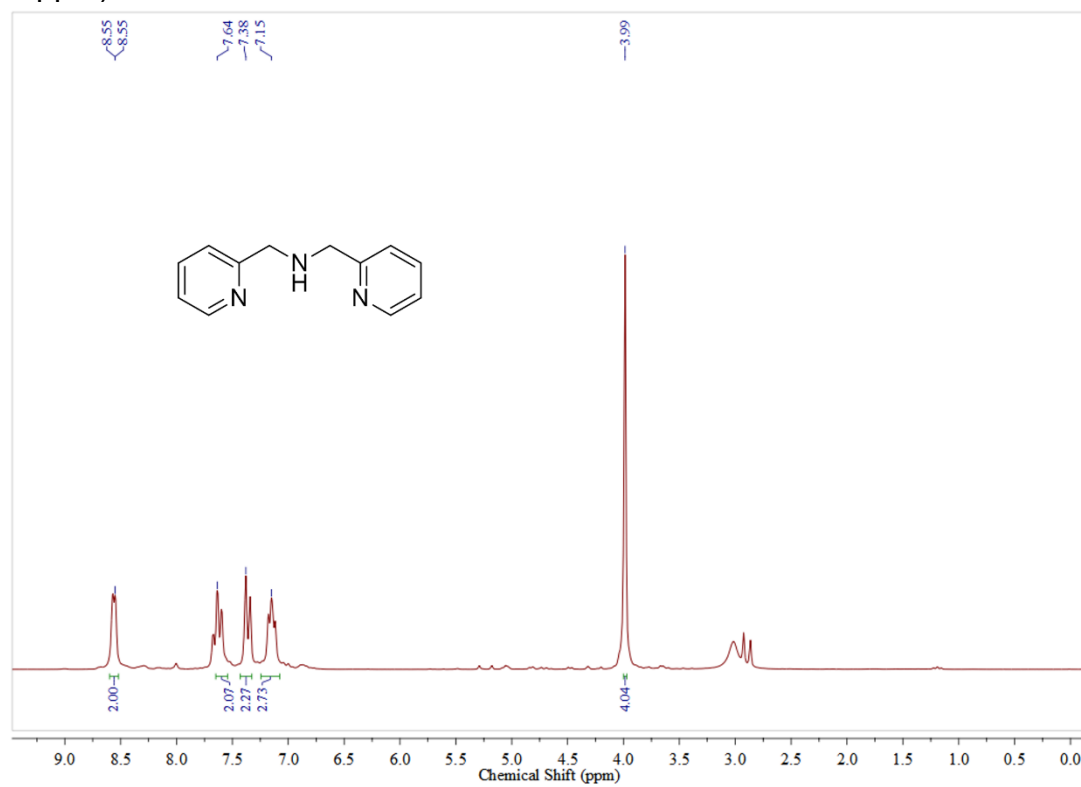
APÊNDICE B - Espectro de IR do precursor bpma



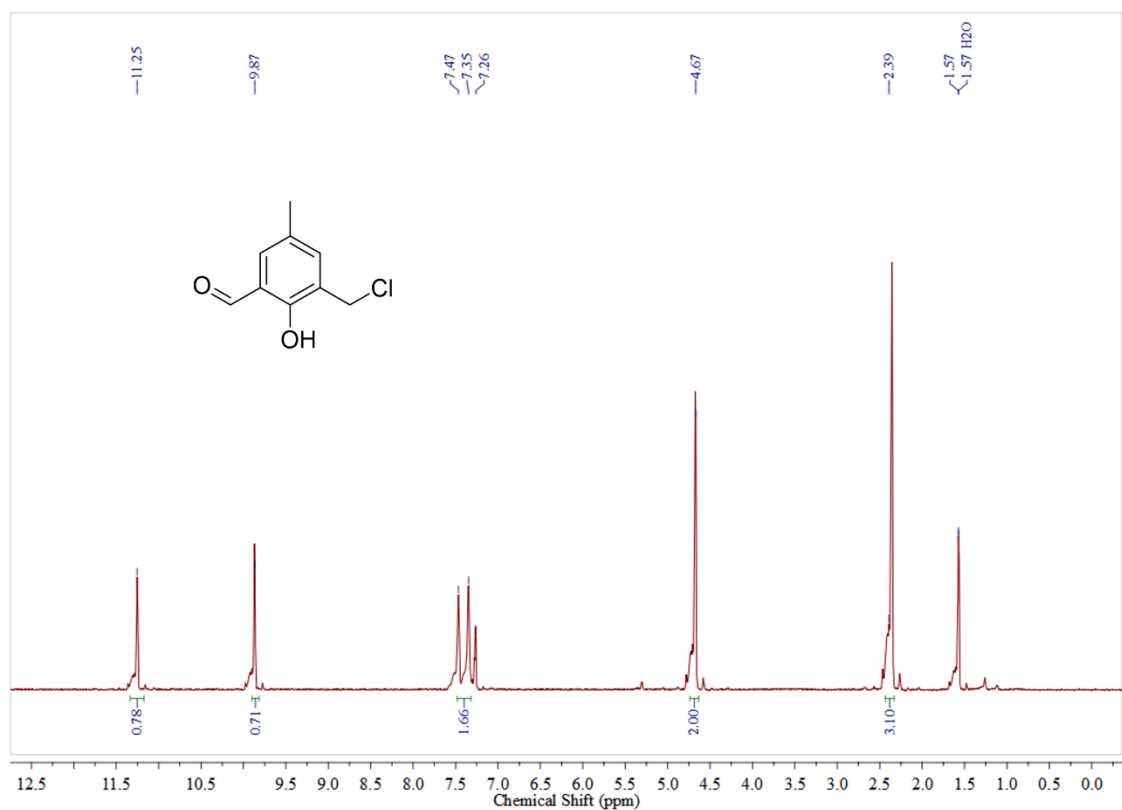
APÊNDICE C - Espectro de IR do precursor cmff



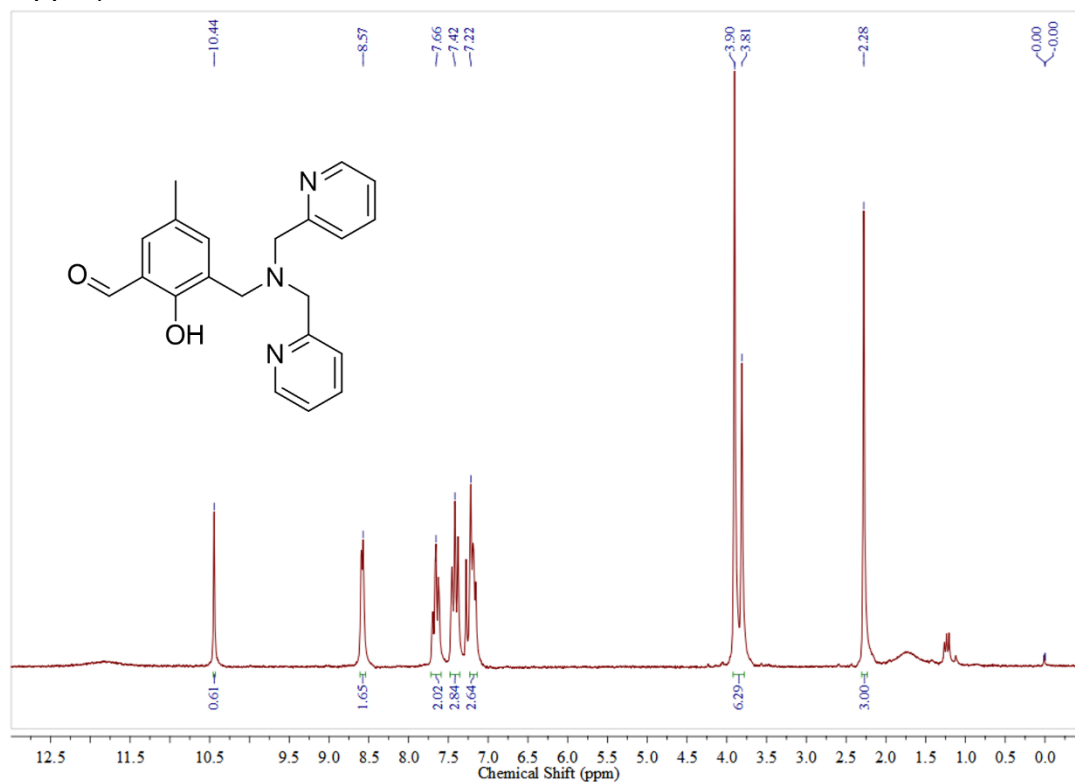
APÊNDICE D - Espectro de IR do ligante bpmamff

APÊNDICE E - Espectro de ¹H NMR do precursor bpma (400 MHz, CDCl₃, TMS = 0 ppm).

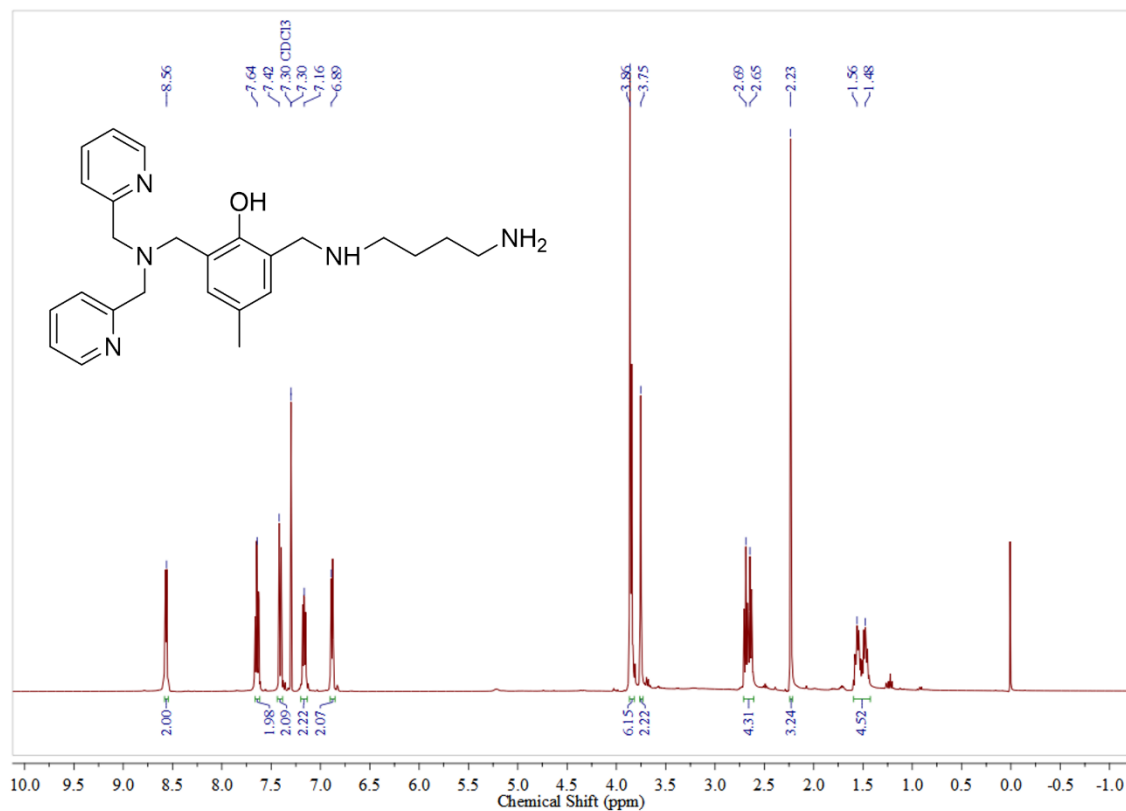
APÊNDICE F - Espectro de ^1H NMR do precursor **cmff** (400 MHz, CDCl_3 , TMS = 0 ppm).



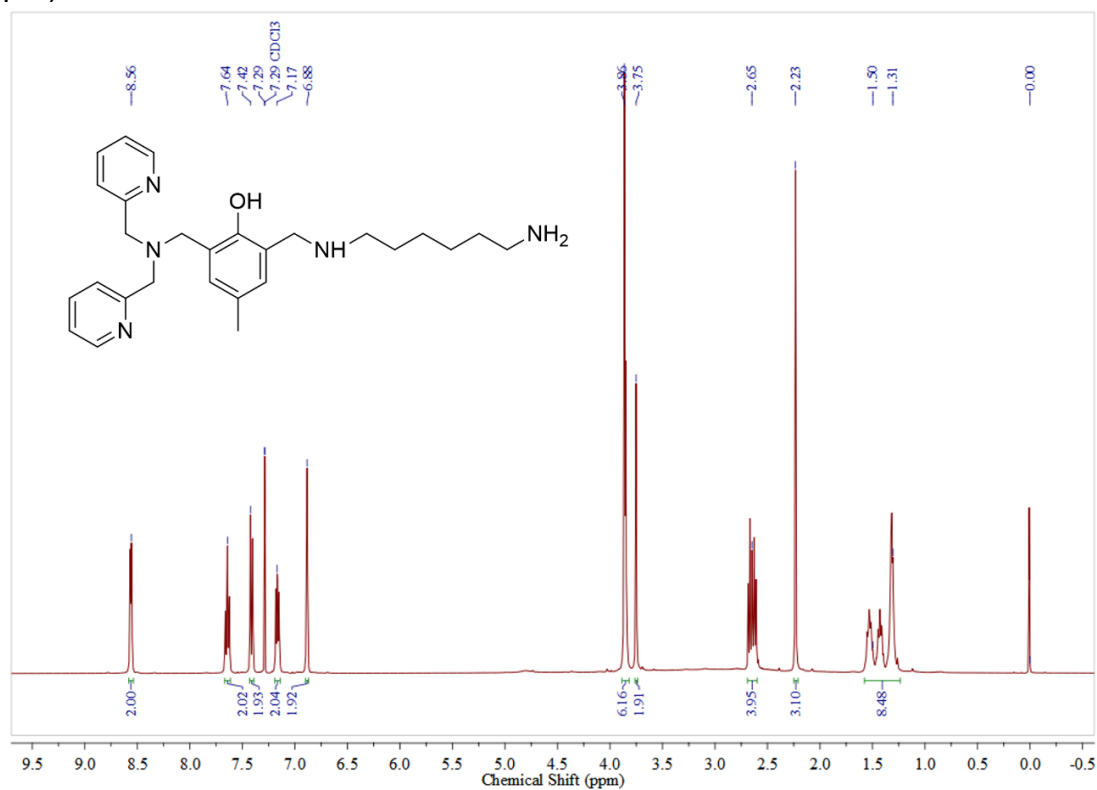
APÊNDICE G - Espectro de ^1H NMR do ligante **bpmamff** (400 MHz, CDCl_3 , TMS = 0 ppm).



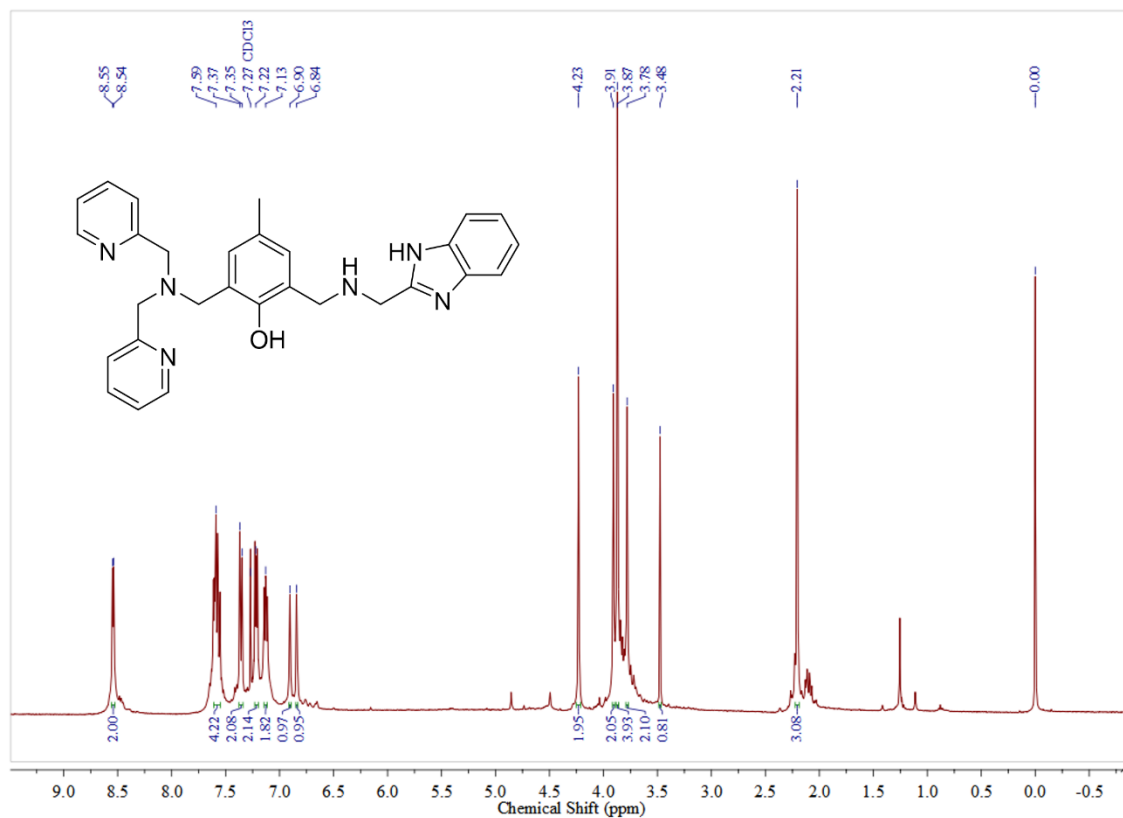
APÊNDICE H - Espectro de ^1H NMR do ligante **HL₁** (400 MHz, CDCl_3 , TMS = 0 ppm).



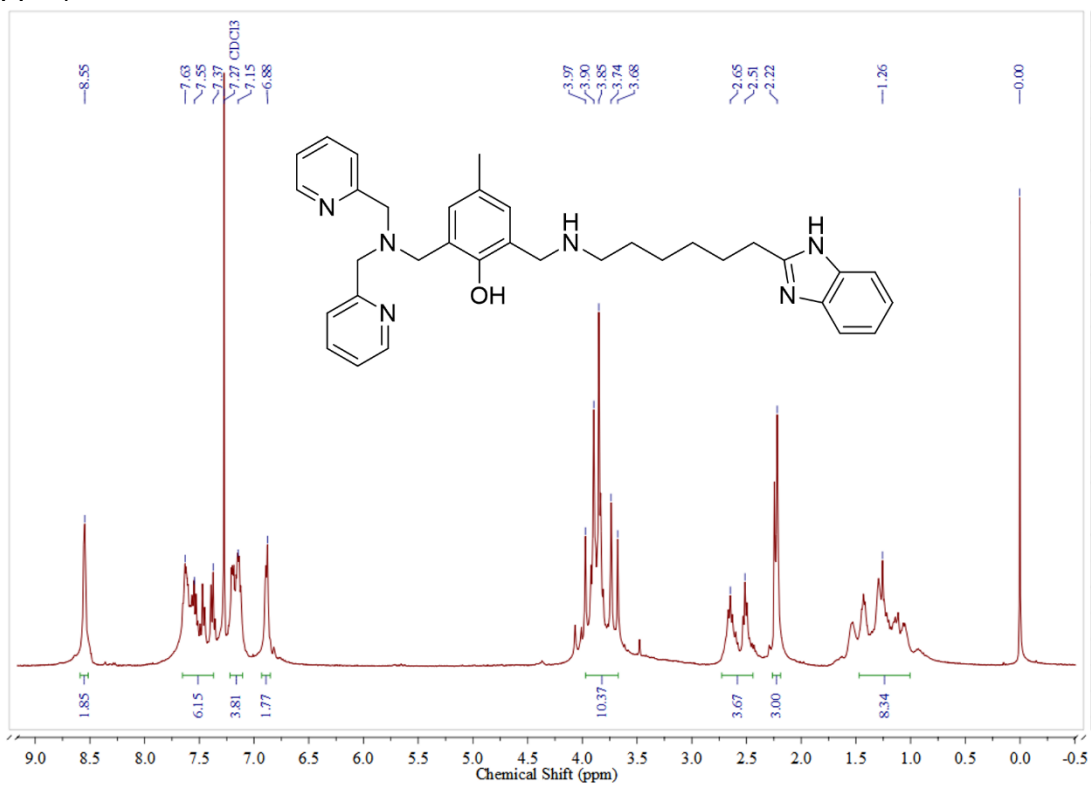
APÊNDICE I - Espectro de ^1H NMR do ligante **HL₂** (400 MHz, CDCl_3 , TMS = 0 ppm).



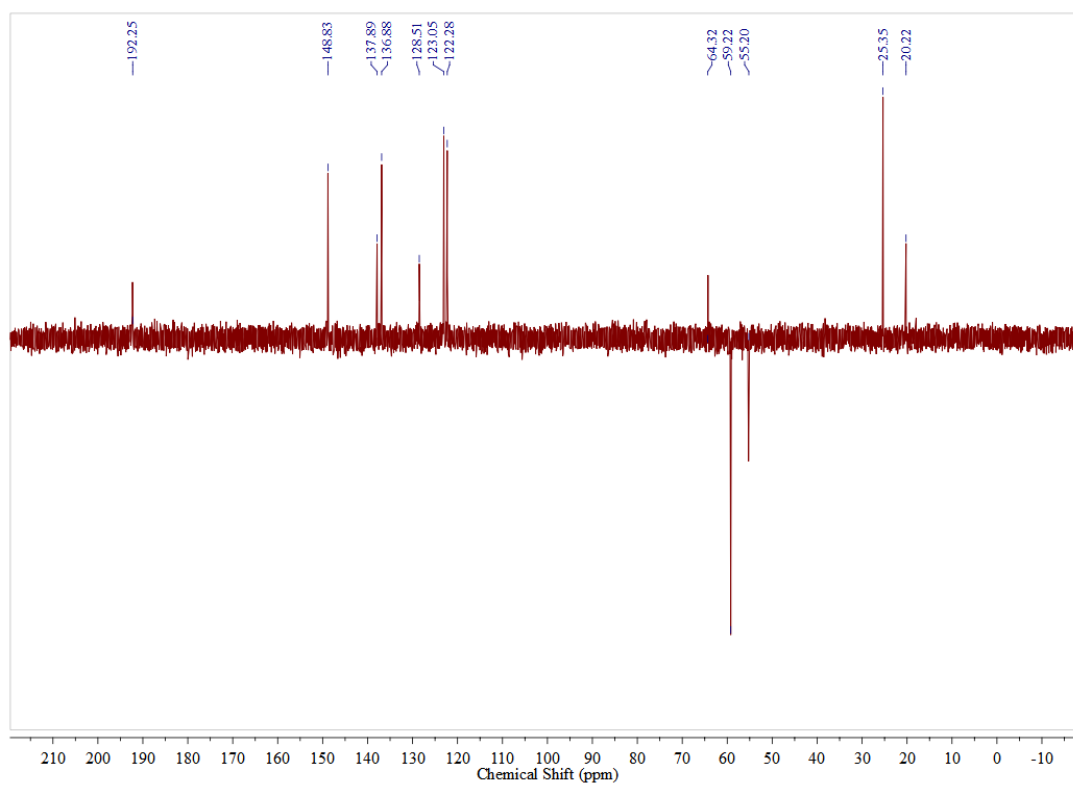
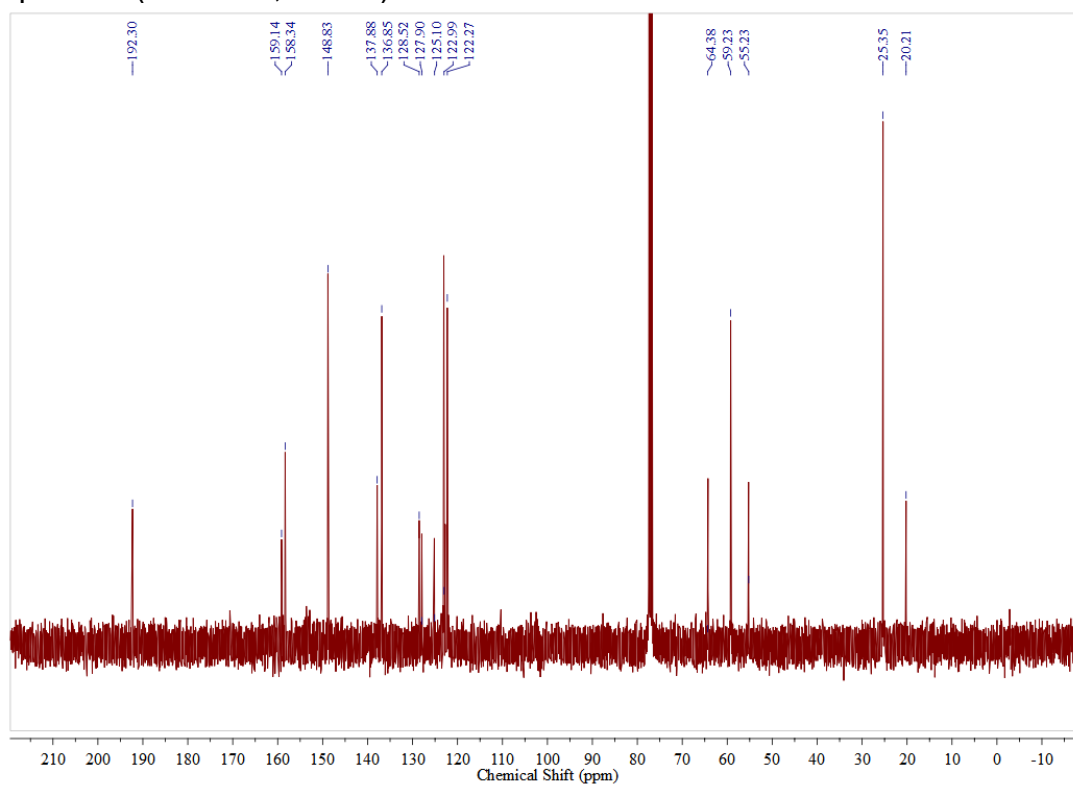
APÊNDICE J - Espectro de ^1H NMR do ligante **HL₃** (400 MHz, CDCl_3 , TMS = 0 ppm).



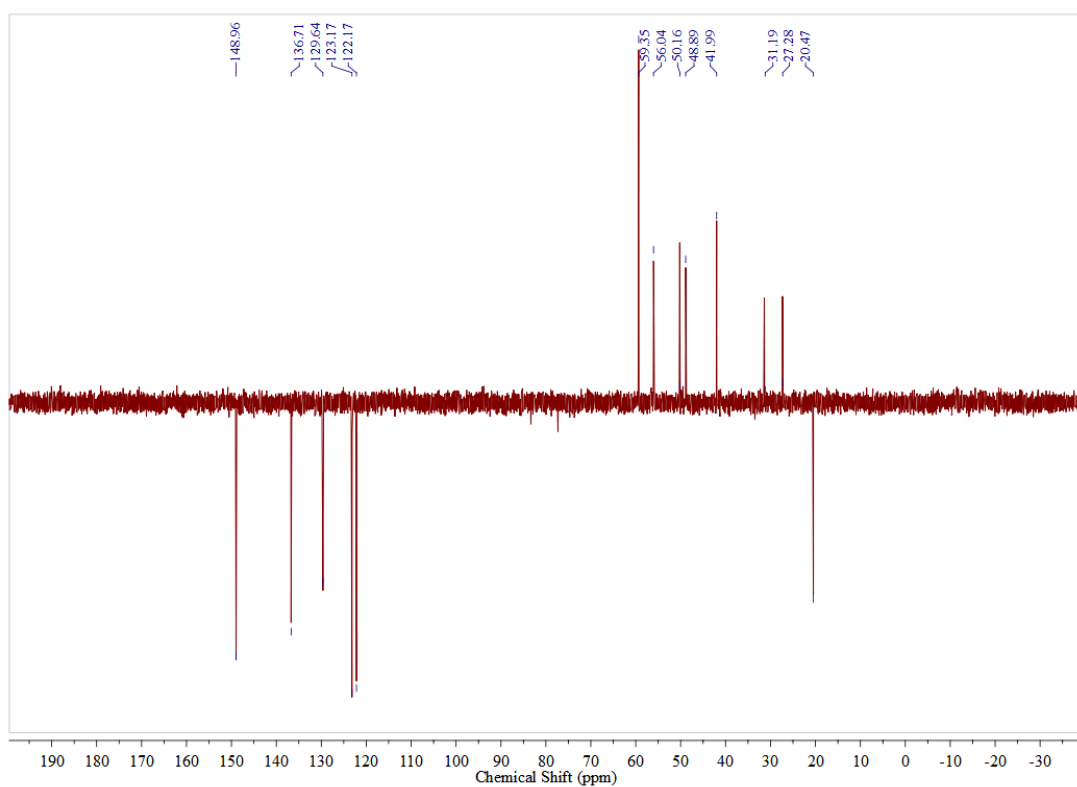
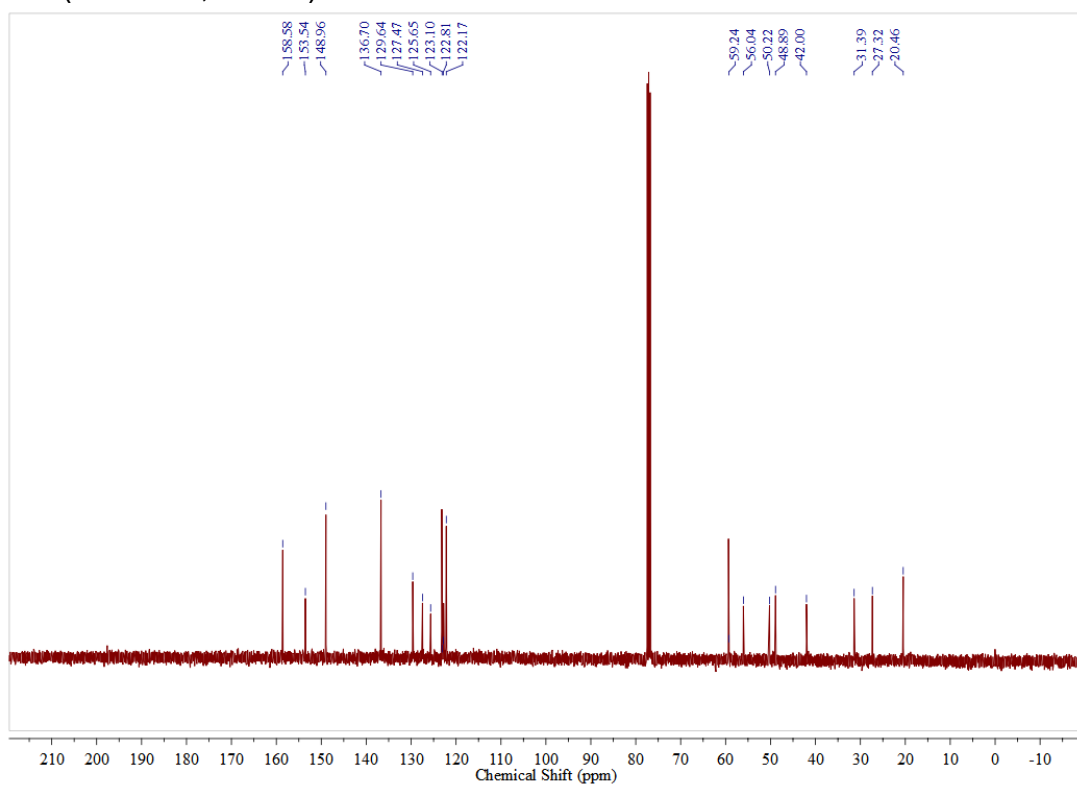
APÊNDICE K - Espectro de ^1H NMR do ligante **HL₄** (400 MHz, CDCl_3 , TMS = 0 ppm).



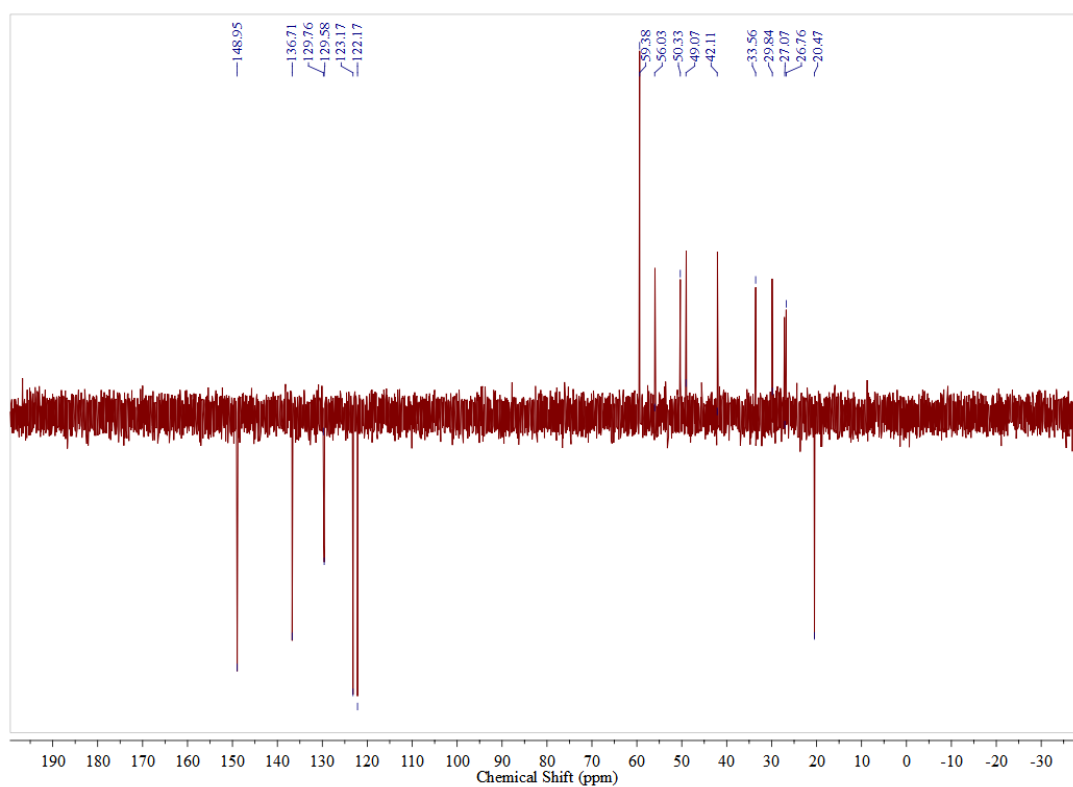
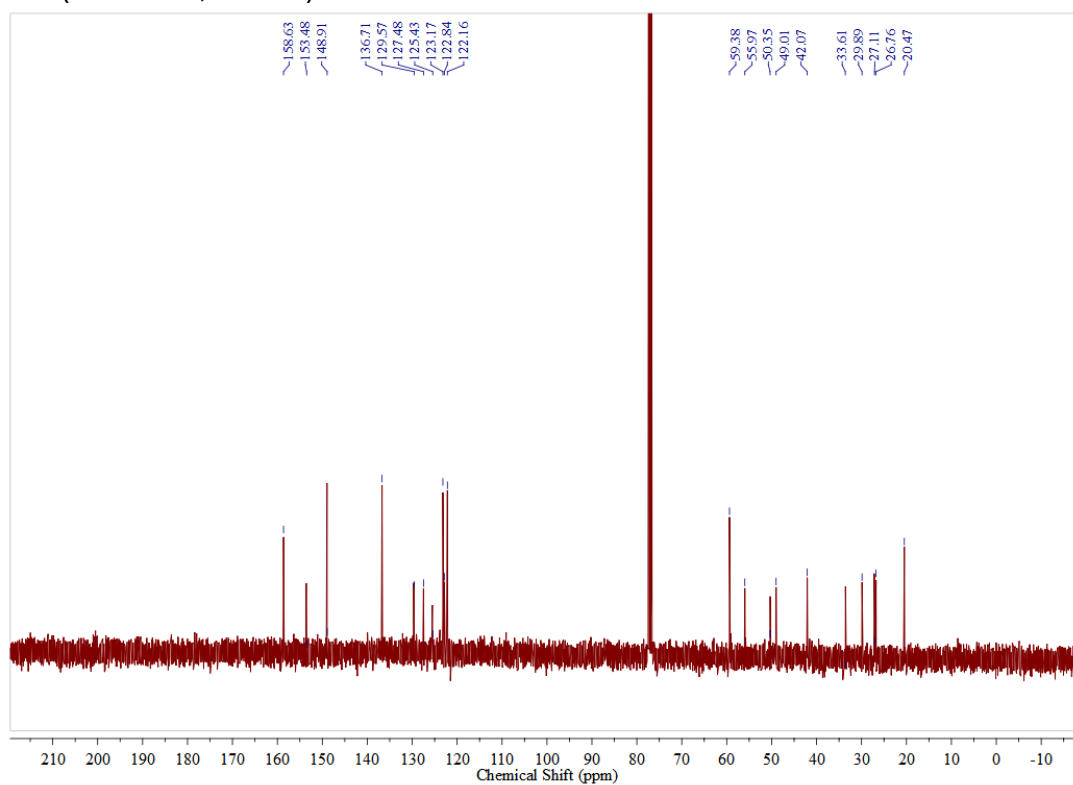
APÊNDICE L - Espectro de ^{13}C NMR (acima) e $^{135}\text{-DEPT}$ (abaixo) do ligante bpmamff (100 MHz, CDCl_3).



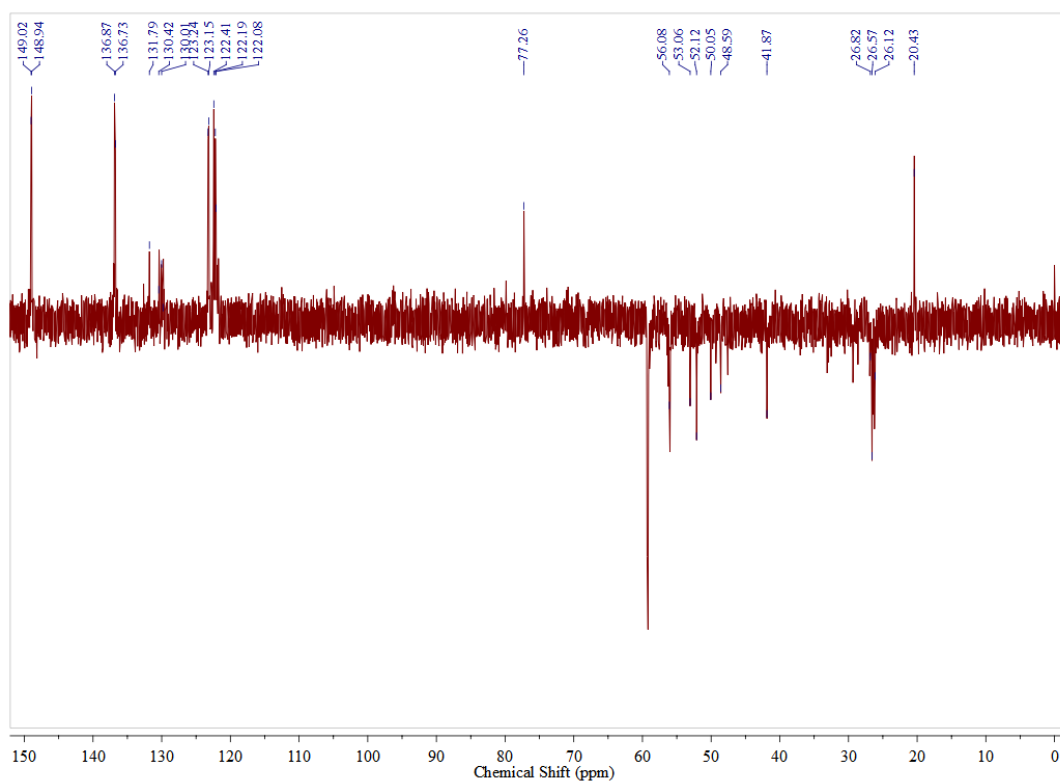
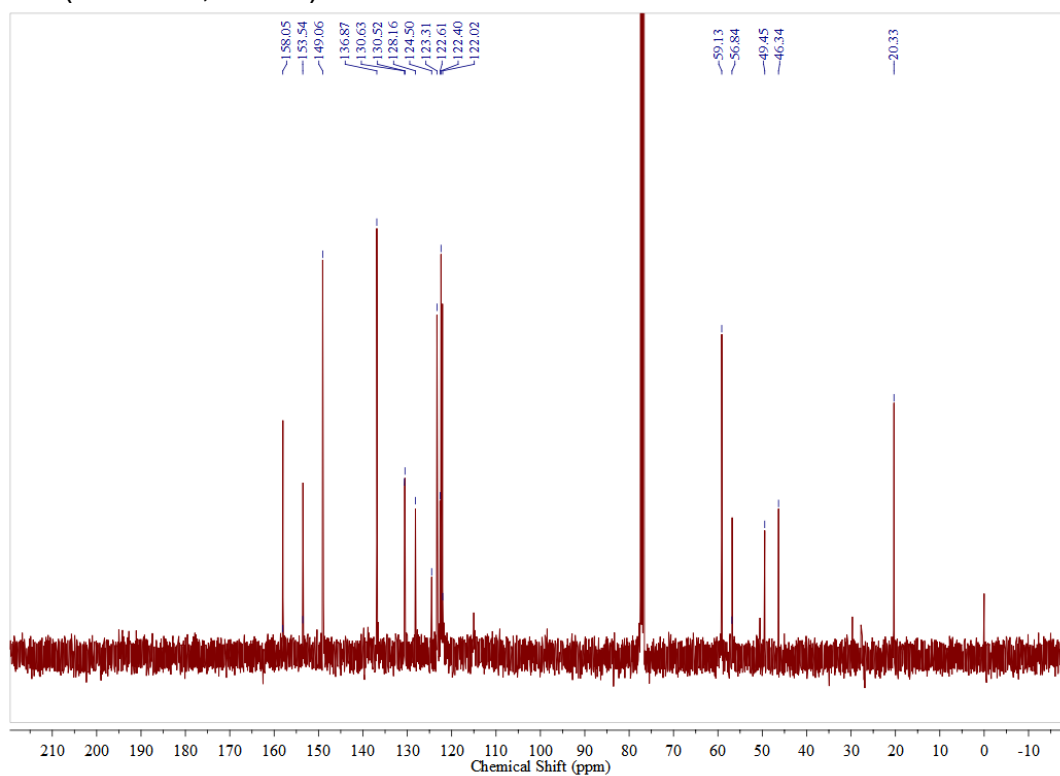
APÊNDICE M - Espectro de ^{13}C NMR (acima) e $^{135}\text{-DEPT}$ (abaixo) do ligante HL_1 (100 MHz, CDCl_3).



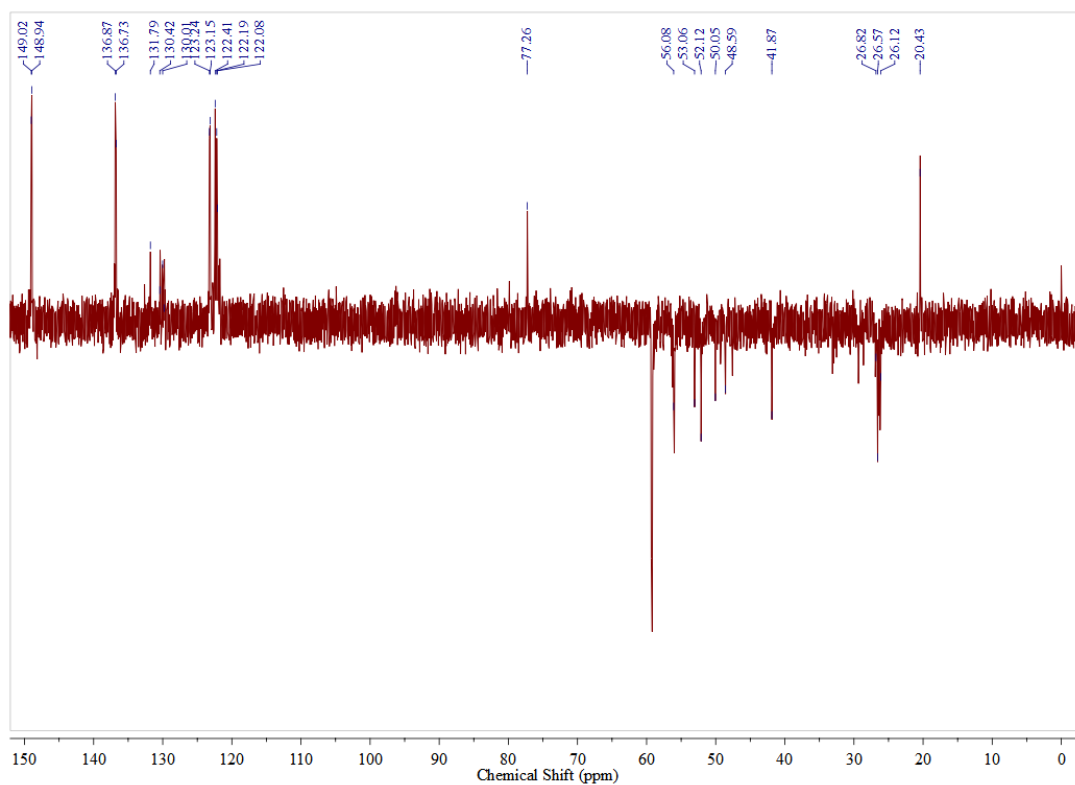
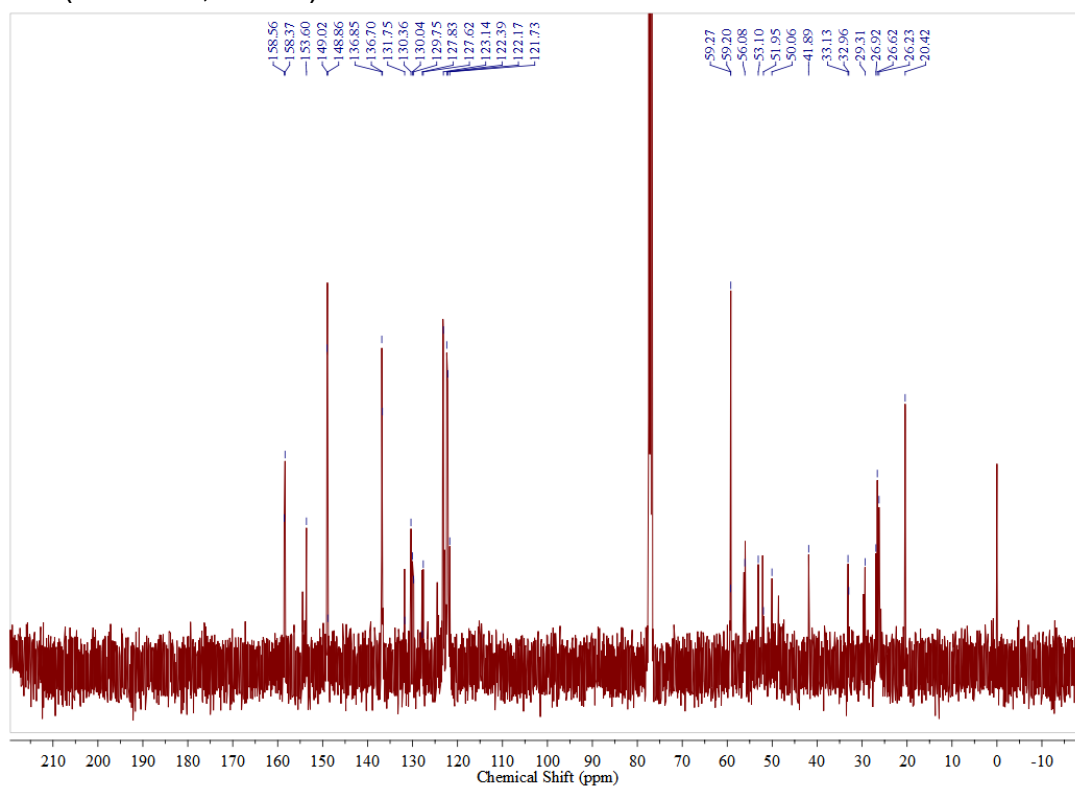
APÊNDICE N - Espectro de ^{13}C NMR (acima) e $^{135}\text{-DEPT}$ (abaixo) do ligante HL_2 (100 MHz, CDCl_3).



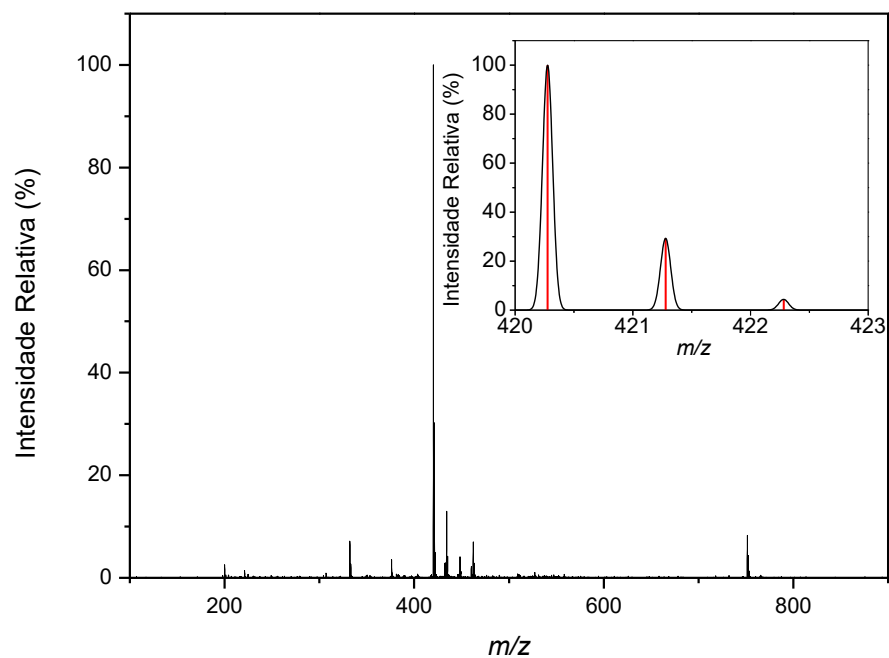
APÊNDICE O - Espectro de ^{13}C NMR (acima) e $^{135}\text{-DEPT}$ (abaixo) do ligante HL_3 (100 MHz, CDCl_3).



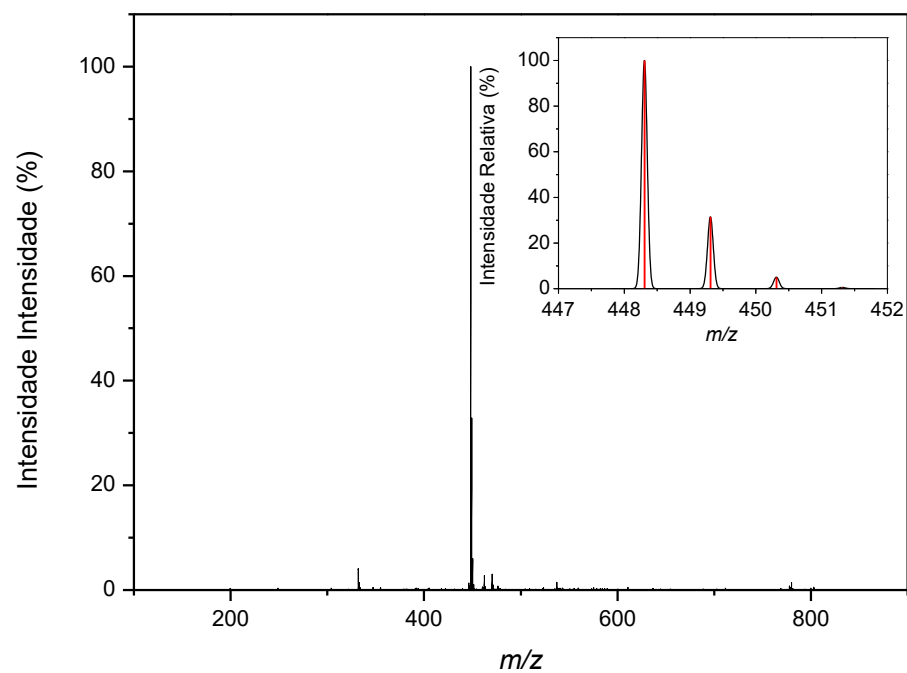
APÊNDICE P - Espectro de ^{13}C NMR (acima) e $^{135}\text{-DEPT}$ (abaixo) do ligante HL₄ (100 MHz, CDCl_3).



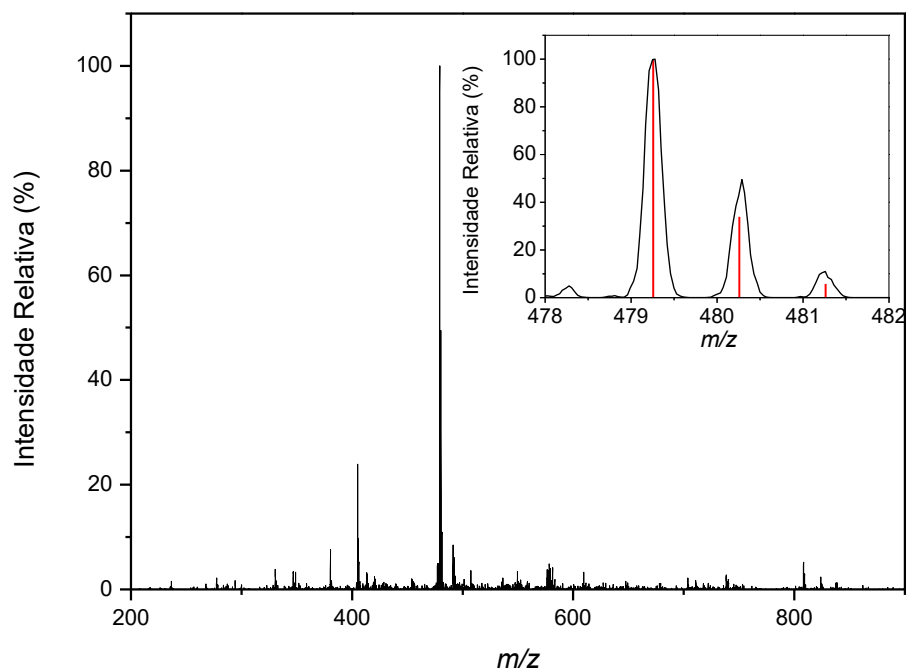
APÊNDICE Q - Espectrometria de massas do ligante **HL₁**. Inset: distribuição isotópica do pico base, em m/z 420,27 (experimental em preto e teórico em vermelho).



APÊNDICE R -Espectrometria de massas do ligante **HL₂**. Inset: distribuição isotópica do pico base, em m/z 448,30 (experimental em preto e teórico em vermelho).



APÊNDICE S - Espectrometria de massas do ligante HL₃. Inset: distribuição isotópica do pico base, em m/z 479,25 (experimental em preto e teórico em vermelho).

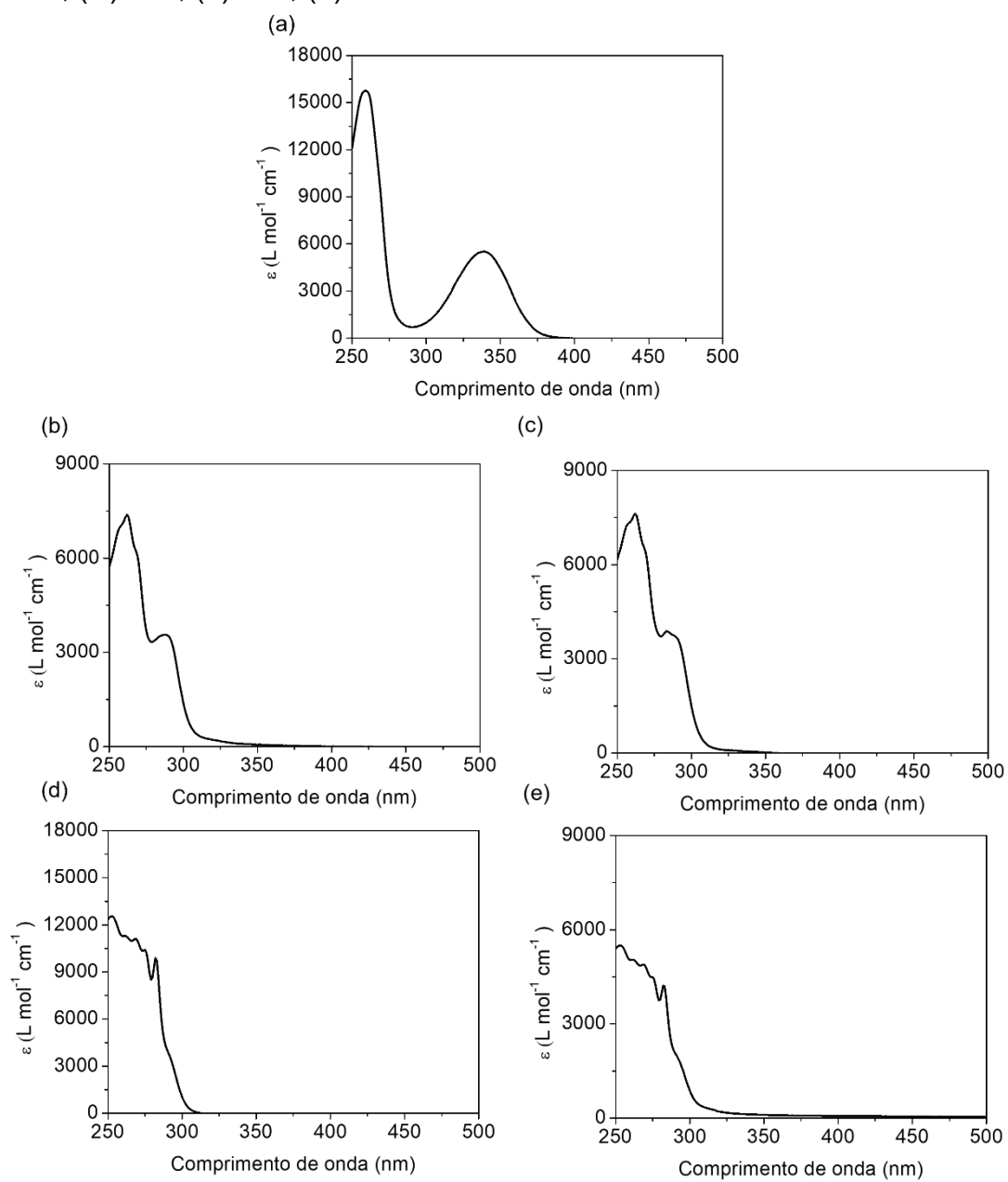


APÊNDICE T - Ângulos entre ligações calculados para os complexos **1-5** por PBE0/Def2-TZVP(-f) (átomos de Fe, N e O) ou Def2-SVP (outros átomos) comparados com valores experimentais.

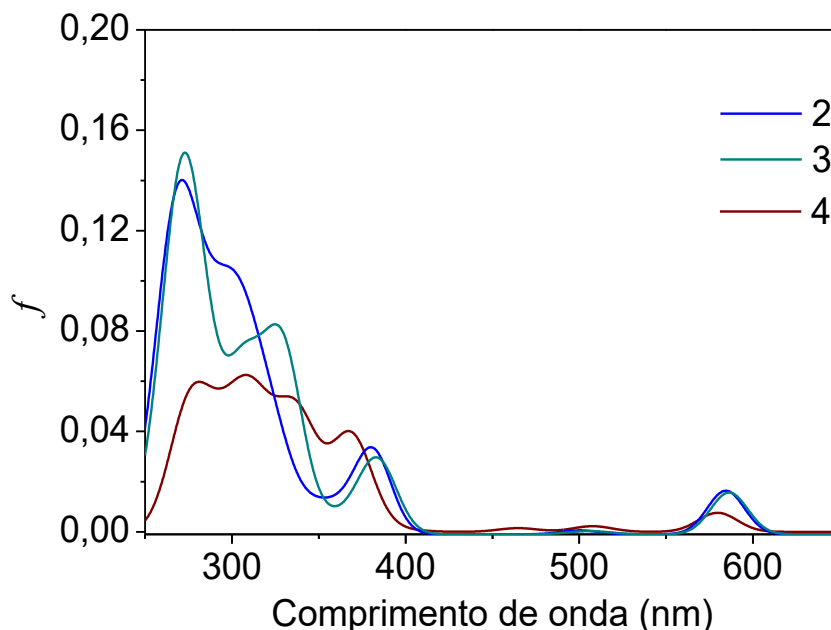
Teórico	1	Experimental ^a	2	3	4	5
N _{py-eq} -Fe(III)- N _{alif}	74,08	73,01	74,45	74,44	74,23	74,38
N _{py-eq} -Fe(III)- N _{py-ax}	97,47	86,92	95,72	96,31	98,01	96,49
N _{py-eq} -Fe(III)- O _{fenolato}	157,50	161,13	160,41	160,39	153,36	160,22
N _{py-ax} -Fe(III)- O _{água}	163,79	-	163,13	163,53	170,81	163,57
N _{aliph} -Fe(III)- O _{hidroxo}	164,70	-	175,19	166,43	164,14	166,24
O _{hidroxo} -Fe(III)- O _{fenolate}	108,08	-	95,74	104,05	105,99	104,22
O _{hidroxo} -Fe(III)- O _{água}	96,03	-	96,32	96,90	94,51	96,96

^aValores experimentais reportados por Vailati e colaboradores para **1**.¹⁶⁸

APÊNDICE U - Espectros de UV-Vis dos Ligantes em CH₃CN. (a) **bpmamff**; (b) **HL₁**; (c) **HL₂**; (d) **HL₃**; (e) **HL₄**.



APÊNDICE V - Espectro de absorção simulado para os complexos 2-4, com PBE0/Def2-TZVP(-f) (Fe, N, e O) ou Def2-SVP (outros átomos) em CH₃CN



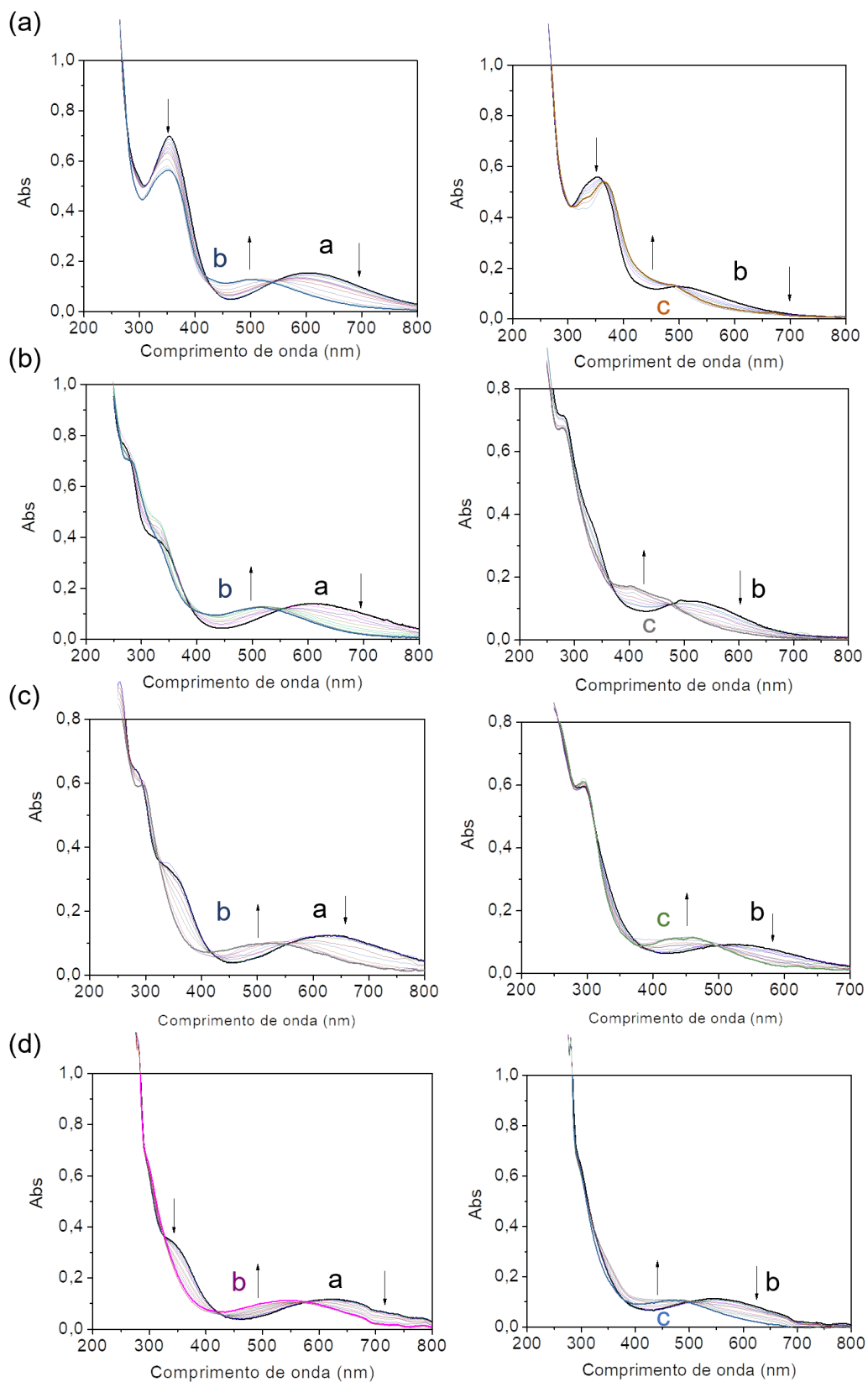
APÊNDICE W - Dados de TDDFT/TDA para excitações dos complexos 1, 4, e 5 por PBE0/Def2-TZVP(-f) (Fe, N e O) ou Def2-SVP (outros átomos).

Energia				
Estado	eV	nm	f	Atribuição ^a
1				
1	2,293	540	0,0136	LMCT ($p\pi$ fenolato $\rightarrow dx^2-y^2$ Fe(III))
7	3,348	370	0,0255	LMCT ($p\pi$ fenolato $\rightarrow dxy$ Fe(III))
12	3,648	340	0,0982	LMCT ($p\pi$ fenolato $\rightarrow dz^2$ Fe(III))
17	3,792	327	0,0421	LMCT ($OH_2 \rightarrow dyz$ Fe(III))
35	4,354	285	0,0444	$\pi-\pi^*$ ($p\pi$ fenolato $\rightarrow p\pi^*$ phenolate)
40	4,495	276	0,0135	LMCT ($p\pi$ py $\rightarrow dx^2-y^2$ Fe(III))
50	4,685	264	0,0127	LMCT ($OH_2 \rightarrow dz^2$ Fe(III))
2				
1	2.122	584	0.0173	LMCT ($p\pi$ fenolato $\rightarrow dxy$ Fe(III))
4	3.251	381	0.0314	LMCT ($p\pi$ fenolato $\rightarrow dx^2-y^2$ Fe(III))
9	3.533	351	0.0077	LMCT (n $O_{hidroxo} \rightarrow dyz$ Fe(III))
18	3.852	322	0.0143	LMCT ($p\pi$ py $\rightarrow dxy$ Fe(III))
21	4.033	307	0.0316	$\pi-\pi^*$ ($p\pi$ fenolato $\rightarrow p\pi^*$ pyridine + $p\pi^*$ fenolato)
22	4.060	305	0.0187	$\pi-\pi^*$ ($p\pi$ fenolato $\rightarrow p\pi^*$ py + $p\pi^*$ fenolato) LMCT ($p\pi$ fenolato $\rightarrow dz^2$ Fe(III))

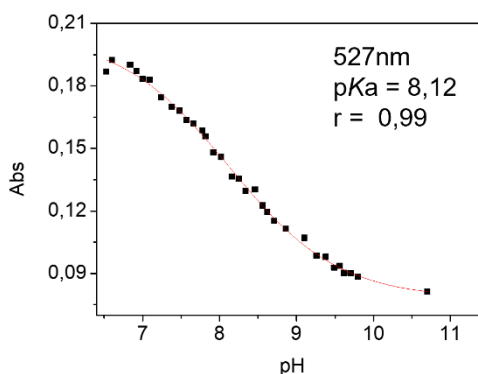
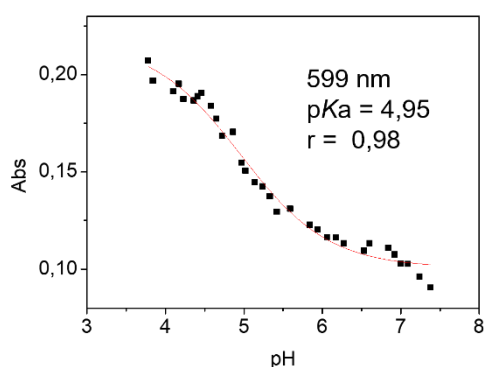
28	4.235	292	0.0357	LMCT ($n N_{\text{alif}} + n O_{\text{hidroxo}} + n O_{\text{fenolato}} \rightarrow dxz \text{ Fe(III)}$)
44	4.682	265	0.2700	$n-\pi^*$ ($n N_{\text{alif}} + n O_{\text{hidroxo}} + n O_{\text{fenolato}} \rightarrow p\pi^* py$) LMCT ($n N_{\text{alif}} + n O_{\text{hidroxo}} + n O_{\text{fenolato}} \rightarrow dxz \text{ Fe(III)}$)
3				
1	2.115	586	0.0165	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow dxy \text{ Fe(III)}$)
4	3.205	387	0.0145	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow d x^2-y^2 \text{ Fe(III)}$) LMCT ($p\pi py \rightarrow dx^y \text{ Fe(III)}$)
5	3.256	381	0.0160	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow dx^2-y^2 \text{ Fe(III)}$) LMCT ($p\pi py \rightarrow dxy \text{ Fe(III)}$) LMCT ($n O_{\text{hidroxo}} \rightarrow dxy \text{ Fe(III)}$)
14	3.759	330	0.0353	LMCT ($p\pi py \rightarrow dyz \text{ Fe(III)}$)
15	3.788	327	0.0248	LMCT ($p\pi py \rightarrow dyz \text{ Fe(III)}$) $\pi-\pi^*$ ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow p\pi^* py$)
21	4.035	307	0.0203	LMCT ($n O_{\text{hidroxo}} \rightarrow dxz \text{ Fe(III)}$)
41	4.455	272	0.0427	LMCT ($p\pi py \rightarrow dx^2-y^2 \text{ Fe(III)}$)
43	4.629	268	0.0227	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow dxy \text{ Fe(III)}$) $\pi-\pi^*$ ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow p\pi^* py$)
4				
1	2,139	580	0,0075	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow dx^2-y^2 \text{ Fe(III)}$)
10	3,277	368	0,0232	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} + py + BIMZ \rightarrow dx^2-y^2 \text{ Fe(III)}$)
15	3,659	339	0,0229	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow dz^2 \text{ Fe(III)}$)
17	3,712	334	0,0125	LMCT ($p\pi py \rightarrow dx^2-y^2 \text{ Fe(III)}$)
25	3,897	318	0,0094	$\pi-\pi^*$ ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow p\pi^* \text{ pyridine}$)
27	3,970	312	0,0157	LMCT ($OH \rightarrow dyz + dz^2 \text{ Fe(III)}$)
28	4,024	308	0,0193	$\pi-\pi^*$ ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow p\pi^* \text{ pyridine}$)
43	4,440	279	0,0077	LMCT ($p\pi py + BIMZ \rightarrow dxy + dx^2-y^2 + dz^2 \text{ Fe(III)}$)
47	4,516	275	0,0109	LMCT ($p\pi py \rightarrow dxy \text{ Fe(III)}$)
5				
1	2,112	586	0,0164	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow dx^2-y^2 \text{ Fe(III)}$)
4	3,203	387	0,0147	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow dxy \text{ Fe(III)}$)
5	3,254	381	0,0159	LMCT ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow dxy \text{ Fe(III)}$) + LMCT ($p\pi py \rightarrow dx^2-y^2 \text{ Fe(III)}$) + LMCT ($OH \rightarrow dx^2-y^2 \text{ Fe(III)}$)
16	3,760	330	0,0342	LMCT ($p\pi py \rightarrow dyz \text{ Fe(III)}$) + $\pi-\pi^*$ ($p\pi \text{ fenolato} \rightarrow p\pi^* \text{ pyridine}$)

17	3,787	327	0,0261	LMCT ($p\pi$ py \rightarrow d_{yz} Fe(III))
26	4,033	307	0,0236	LMCT (OH \rightarrow d_{yz} Fe(III))
29	4,080	304	0,0146	LMCT (OH \rightarrow $d_{x^2-y^2}$ Fe(III))
44	4,477	277	0,0133	π - π^* ($p\pi$ fenolato \rightarrow $p\pi^*$ pyridine)
49	4,566	272	0,0448	LMCT ($p\pi$ py \rightarrow d_{xy} Fe(III))

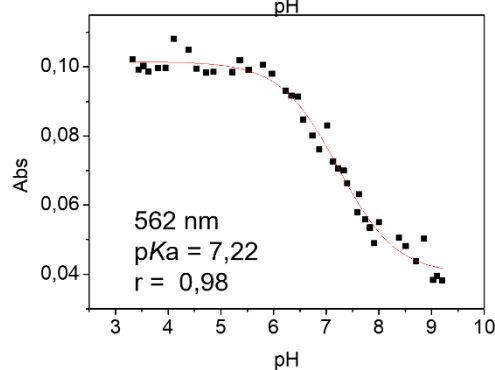
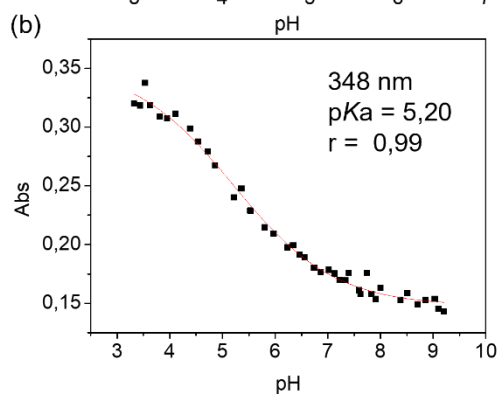
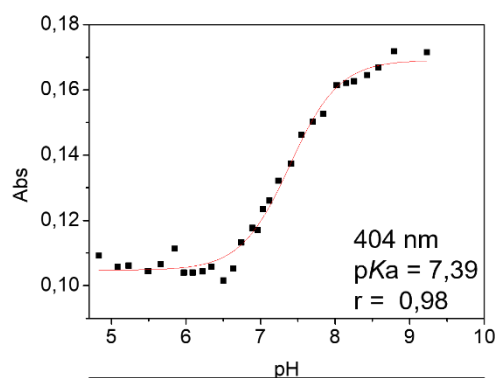
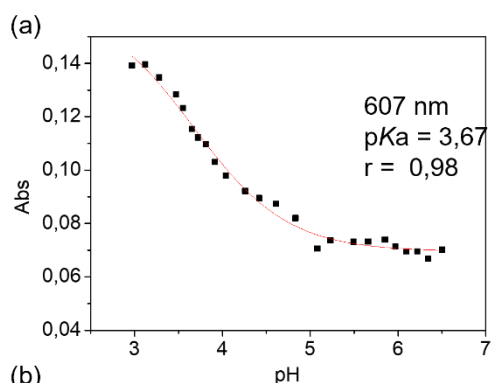
APÊNDICE X - Curvas de Titulação espectrofotométrica dos complexos (a) **1**; (b) **2**; (c) **3**; (d) **4**. Indicações do sentido de mudança das bandas pela adição de base, e formação das espécies a, b e c correspondentes.



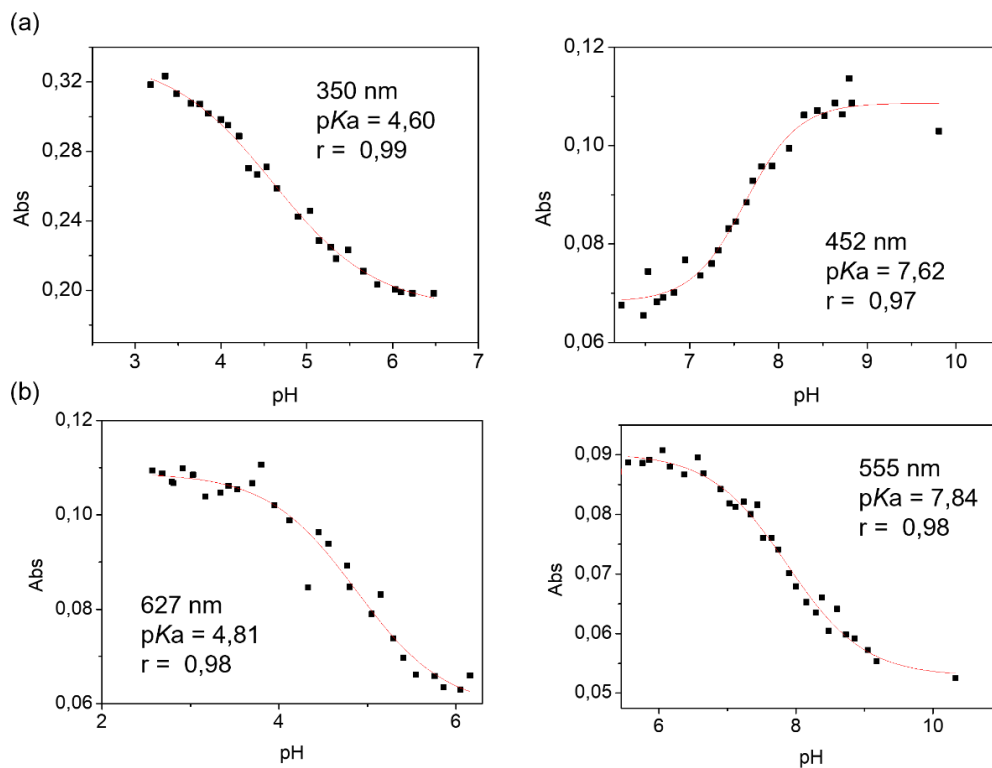
APÊNDICE Y - Cálculos dos valores de pK_a do complexo **1**, por titulação espectrofotométrica em determinados comprimentos de onda, pela inflexão da curvatura dos pontos com o aumento do pH. Valores experimentais em preto, ajuste da curva em vermelho.



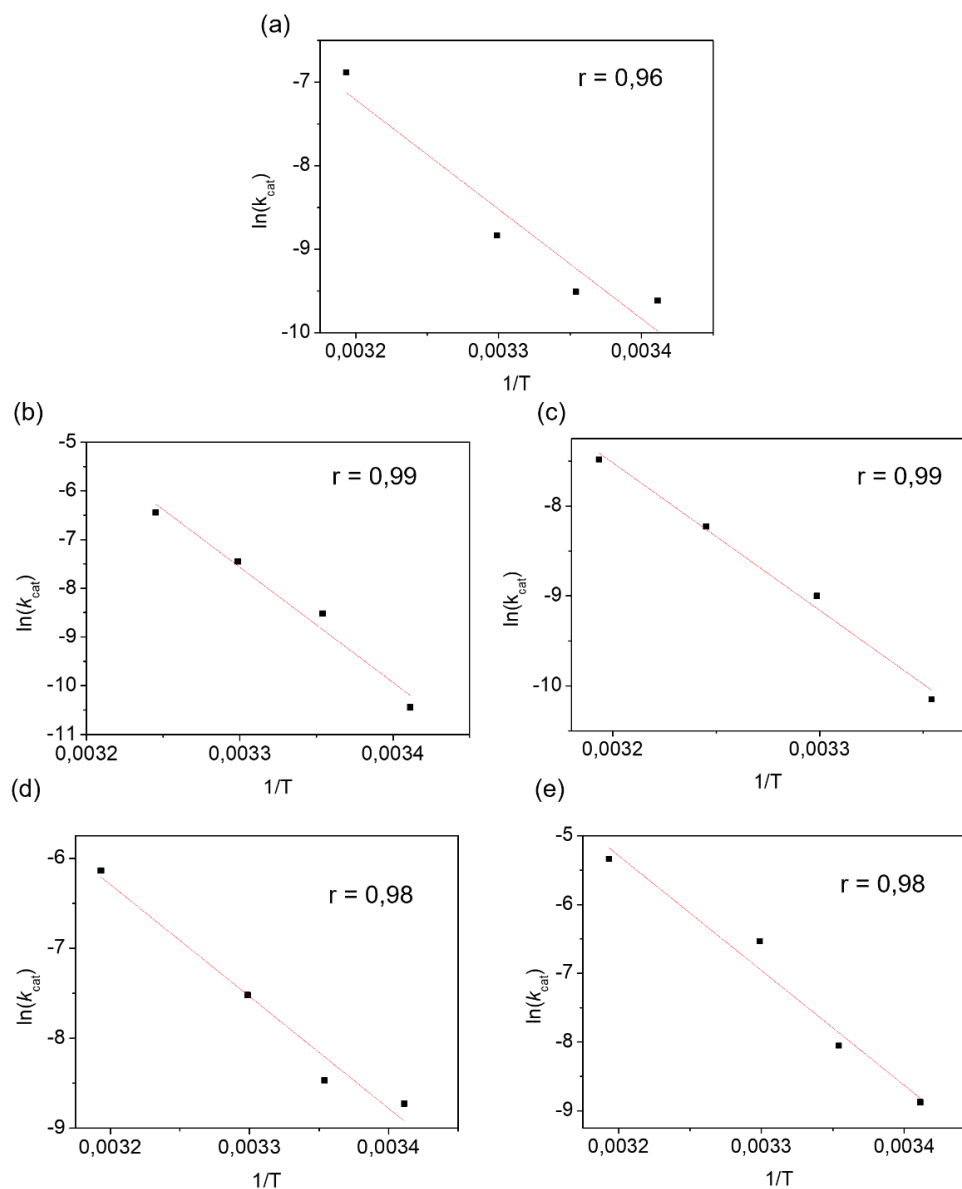
APÊNDICE Z - Cálculos dos valores de pK_a dos complexos (a) **2**; (b) **3**, por titulação espectrofotométrica em determinados comprimentos de onda, pela inflexão da curvatura dos pontos com o aumento do pH. Valores experimentais em preto, ajuste da curva em vermelho.



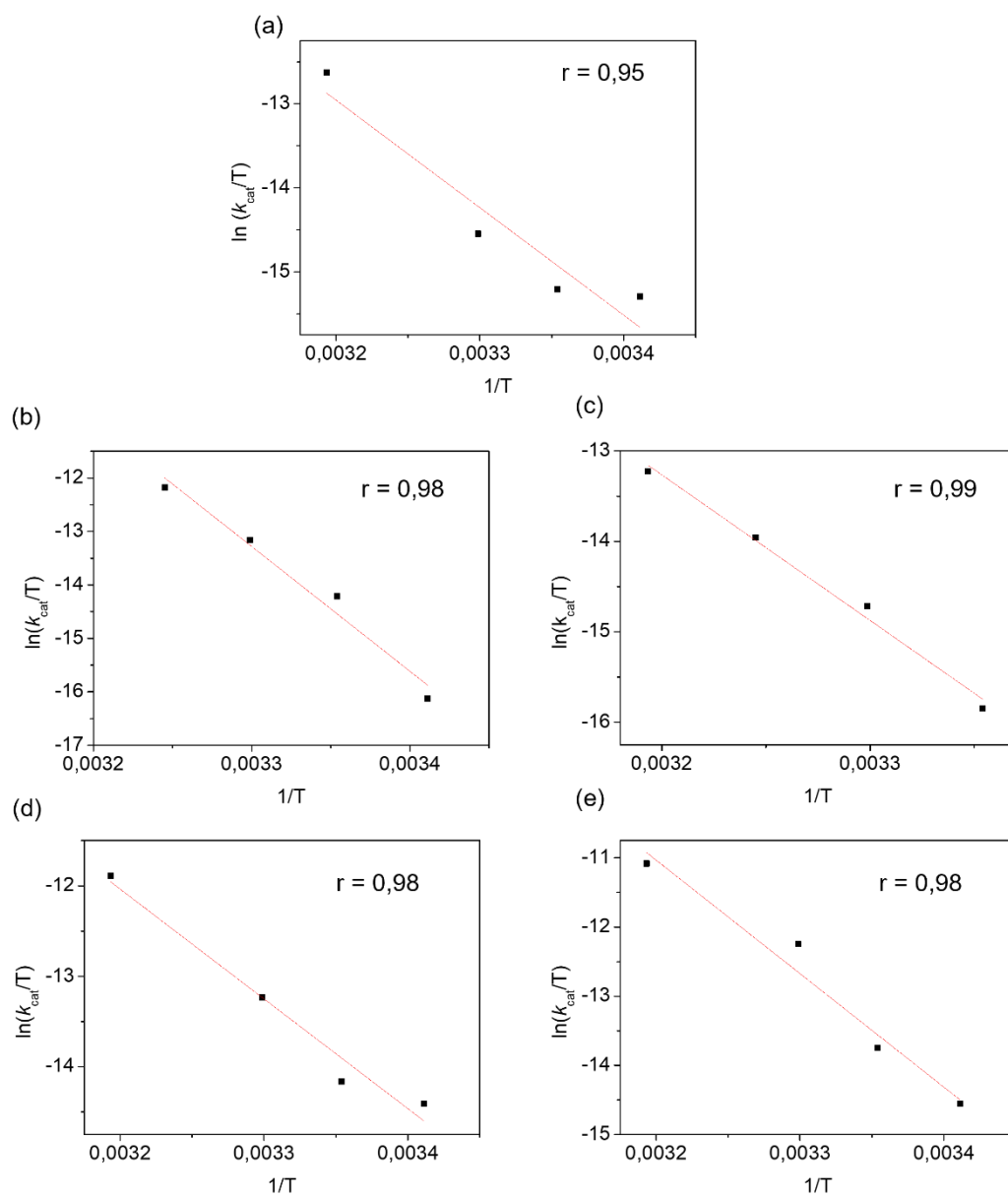
APÊNDICE AA - Cálculos dos valores de pK_a dos complexos (a) **4**; (b) **5**, por titulação espectrofotométrica em determinados comprimentos de onda, pela inflexão da curvatura dos pontos com o aumento do pH. Valores experimentais em preto, ajuste da curva em vermelho.



APÊNDICE BB - Linearizações de k_{cat} (Equação de Arrhenius) observadas para a reação de hidrólise do DEDNPP na presença dos complexos (a) **1**; (b) **2**; (c) **3**; (d) **4**; (e) **5**.



APÊNDICE CC - Linearizações de k_{cat}/T (Equação de Eyring) observadas para a reação de hidrólise do 2,4-DEDNPP na presença dos complexos (a) **1**; (b) **2**; (c) **3**; (d) **4**; (e) **5**.

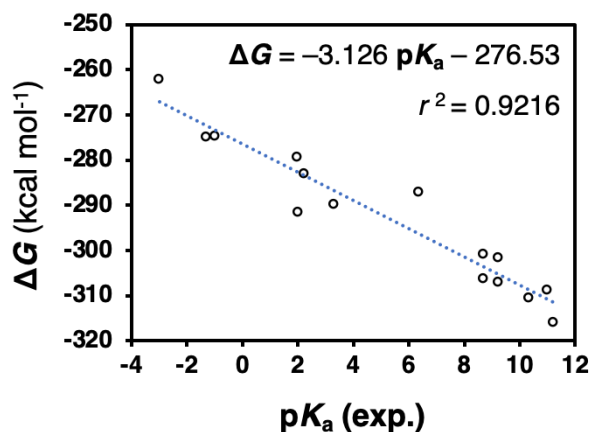


APÊNDICE DD - Compilado dos valores de pK_a reportados experimentalmente para vários ácidos inorgânicos as suas energia livre de Gibbs (determinada por cálculo) considerando a diferença entre o ácido e sua base conjugada.

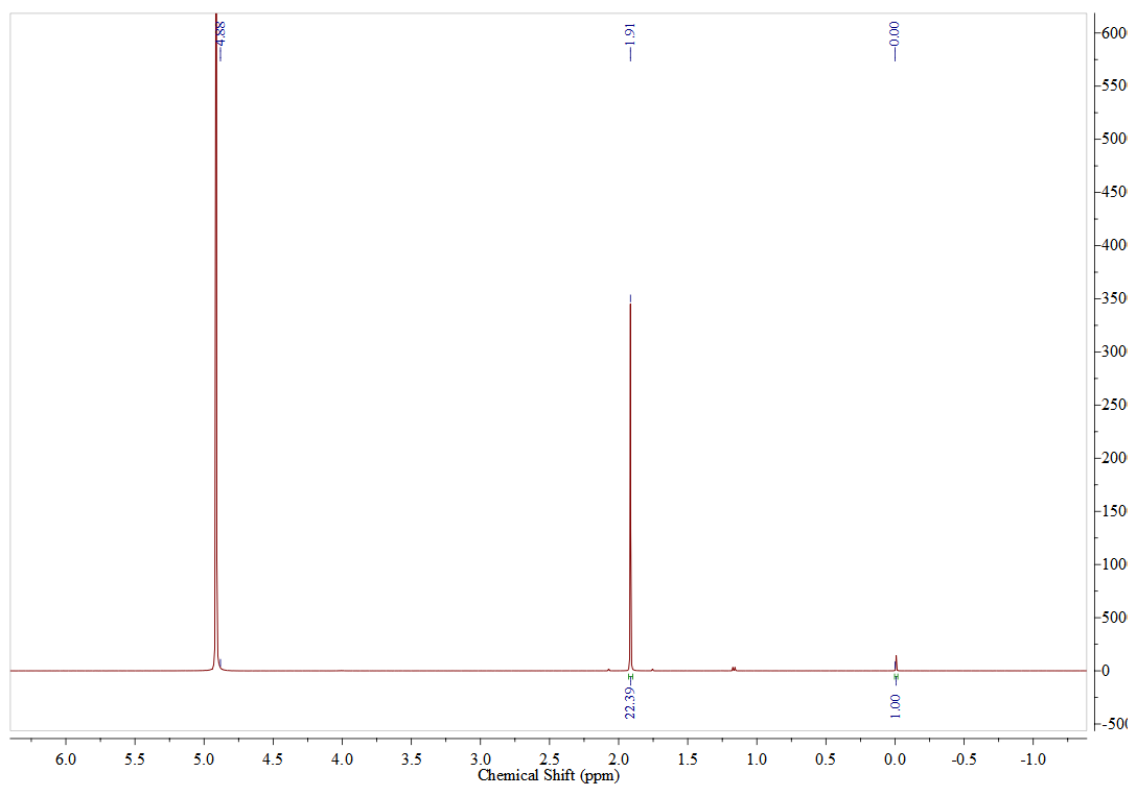
Acido	pK_a (exp.) ^b	$\Delta G_{\text{acido-base}}$ (kcal mol ⁻¹)
H ₃ PO ₄	1,97	-279,40
H ₃ AsO ₄	2,22	-283,08
HNO ₂	3,29	-289,90
H ₃ AlO ₃	11,2	-316,06
H ₃ AsO ₃	9,22	-301,75
BrOH	8,70	-306,34
IOH	11,00	-308,82
H ₄ GeO ₄	8,68	-300,97
H ₃ BO ₃	9,23	-307,04
HClO ₃	-1,00	-274,73
HNO ₃	-1,30	-274,88
H ₃ GaO ₃	10,32	-310,67
H ₂ SO ₄	-3,00	-262,16
H ₃ PO ₃	2,00	-291,69
H ₂ CO ₃	6,37	-287,07

^a Todos os sistemas foram completamente otimizados no nível de Teoria B3LYP-D3BJ usando a base de dados LANL2TZ(f) e pseudopotenciais para elementos pesados e 6-311G(d,p) para elementos leves. O efeito da água como solvente foi incluído através do modelo IEF-PCM. ^b Dados obtidos de Williams (2022),²⁴³

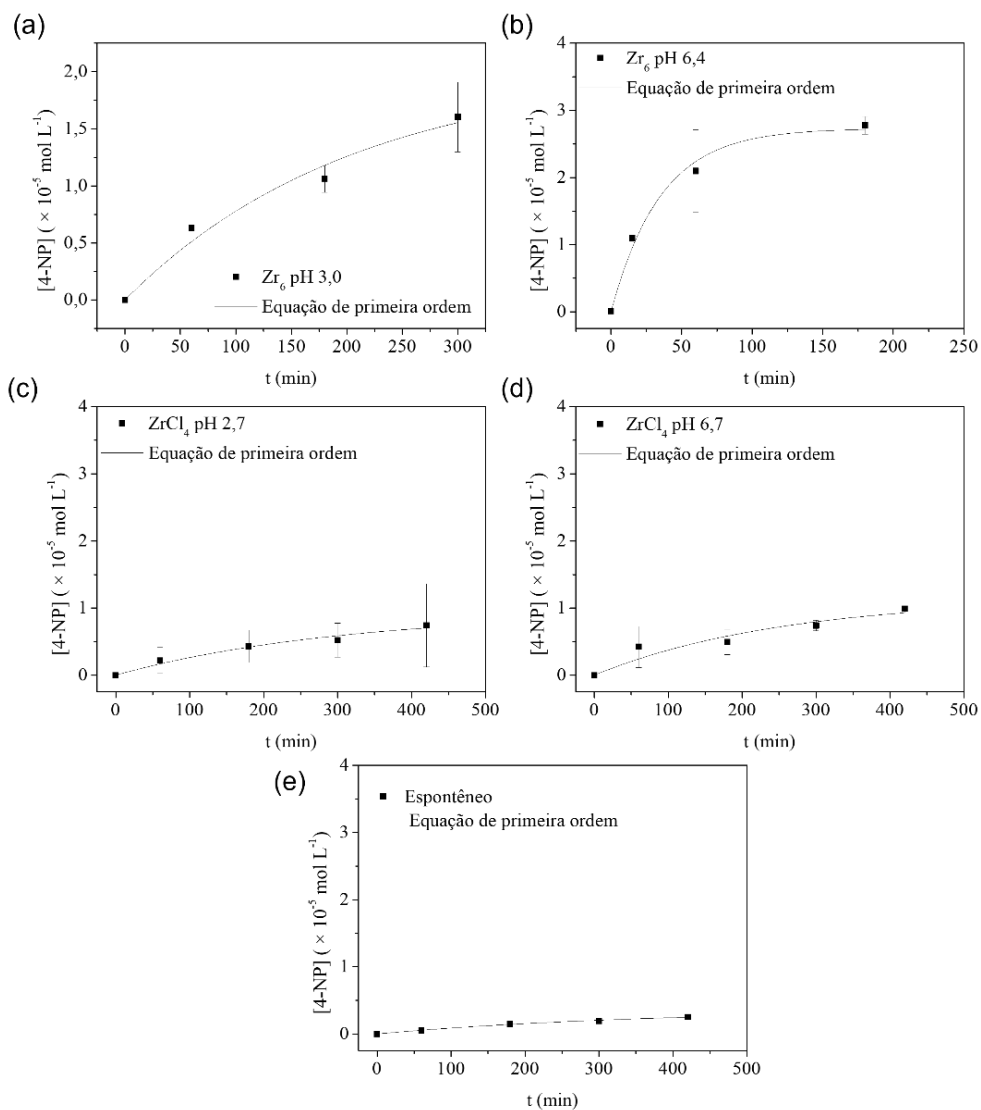
APÊNDICE EE - Ajuste linear dos dados de energia livre de Gibbs calculados por DFT para os ácidos inorgânicos listados no APÊNDICE DD versus seus valores experimentais de pK_a . Valores de ΔG foram calculados pela diferença entre as energias livres de Gibbs entre cada ácido e seu conjugado: $\Delta G = G_{\text{ácido}} - G_{\text{base}}$,



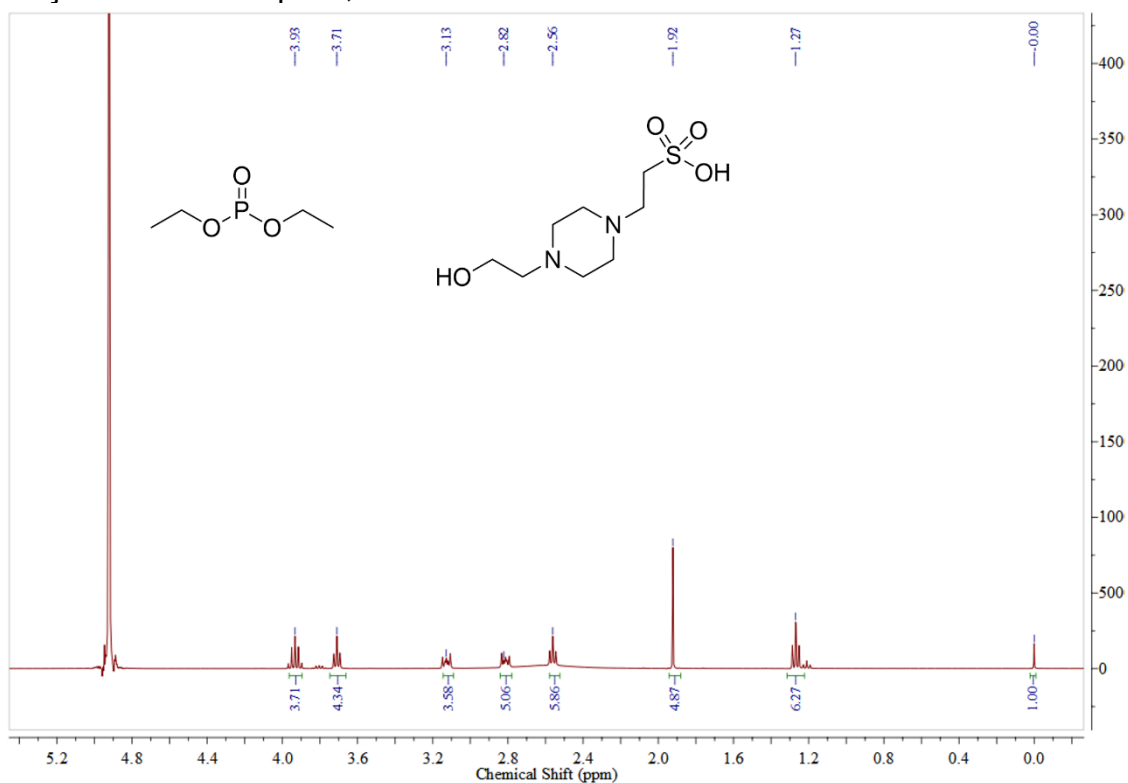
APÊNDICE FF - Espectro de NMR da digestão do cluster em NaOD.



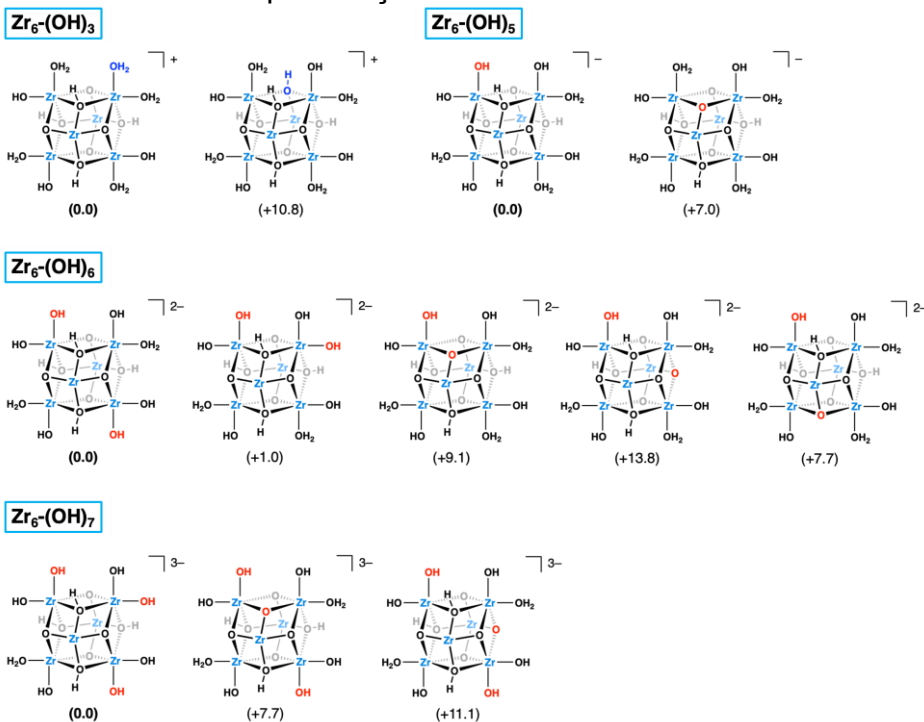
APÊNDICE GG -- Equações de primeira ordem para os catalisadores testados (a) Zr_6 pH 3,0; (b) Zr_6 pH 6,4; (c) $ZrCl_4$ pH 2,7; (d) $ZrCl_4$ pH 6,7; (e) hidrólise espontânea.



APÊNDICE HH - Espectro de NMR da digestão do cluster em NaOD, após reação cinética em pH 6,4.

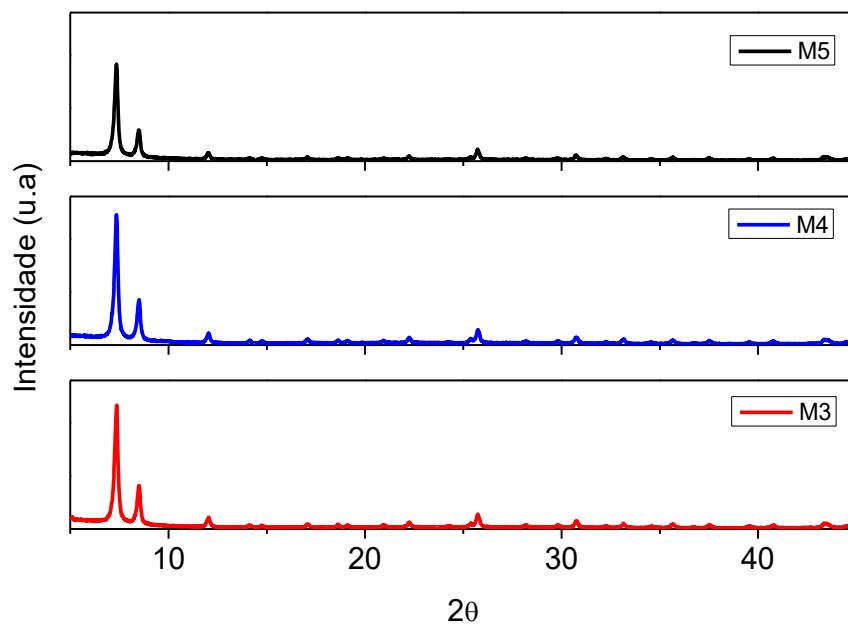


APÊNDICE II - Energia Livre de Gibbs kcal mol⁻¹ os isômeros estruturais de Zr₆ em diferentes estados de protonação.*

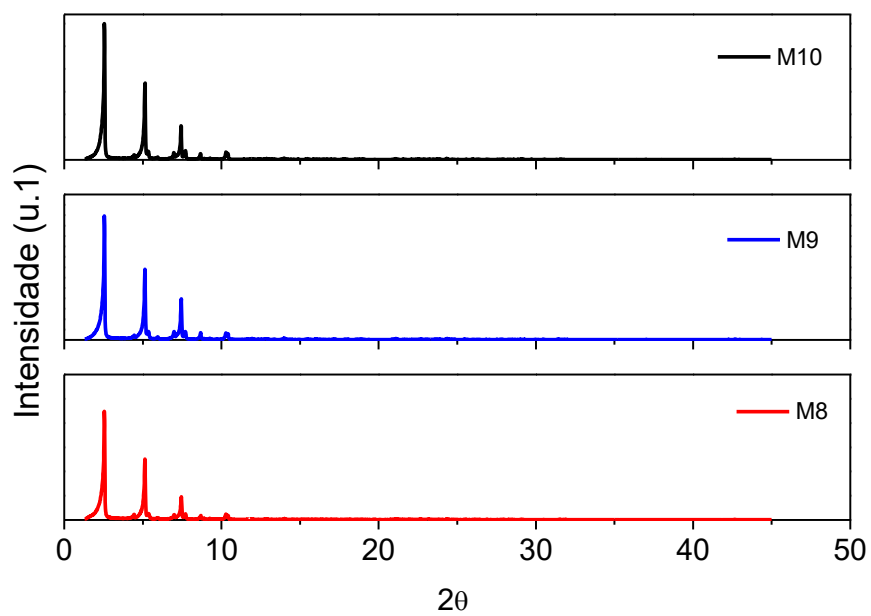


*Os valores de referência (0,00) são correspondentes as estruturas de configurações mais estáveis para cada espécie desprotonadas e baseados no espécie mais estável com um proton a mais. Isso significa que o isomerismo do **Zr₆-(OH)₆** foi calculado a partir da espécie mais estável de **Zr₆-(OH)₅** e assim por diante.

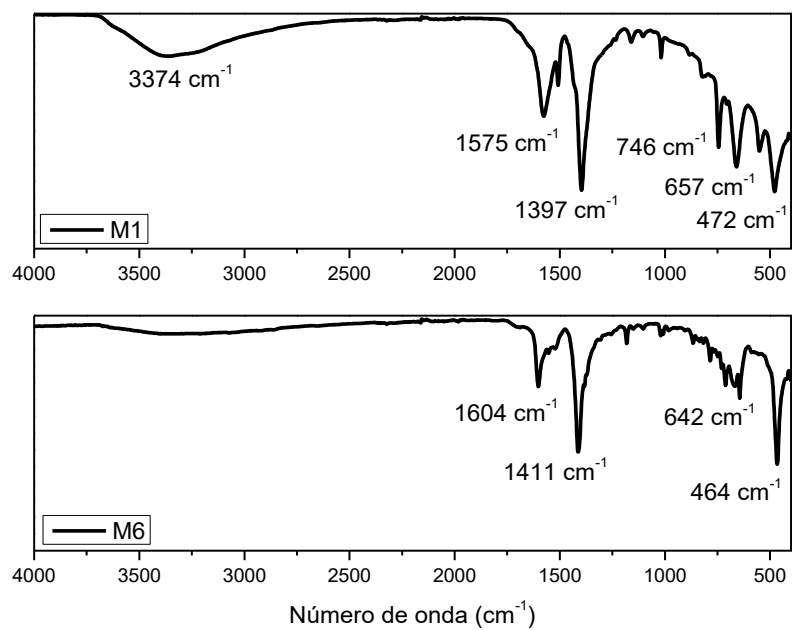
APÊNDICE JJ - Espectro PXRD dos materiais derivados do UiO-66, M2-M5.



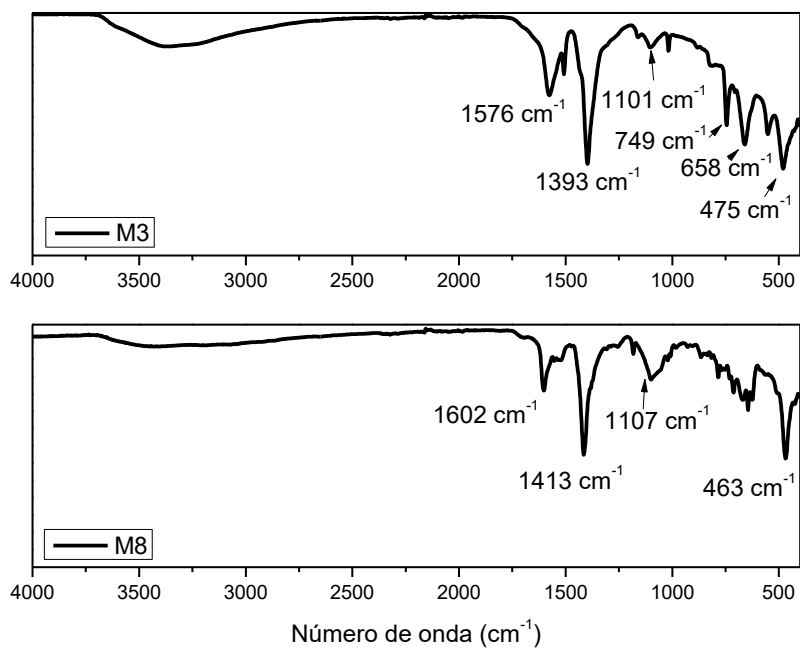
APÊNDICE KK - Espectro PXRD dos materiais derivados do NU-1000, M8-M10.



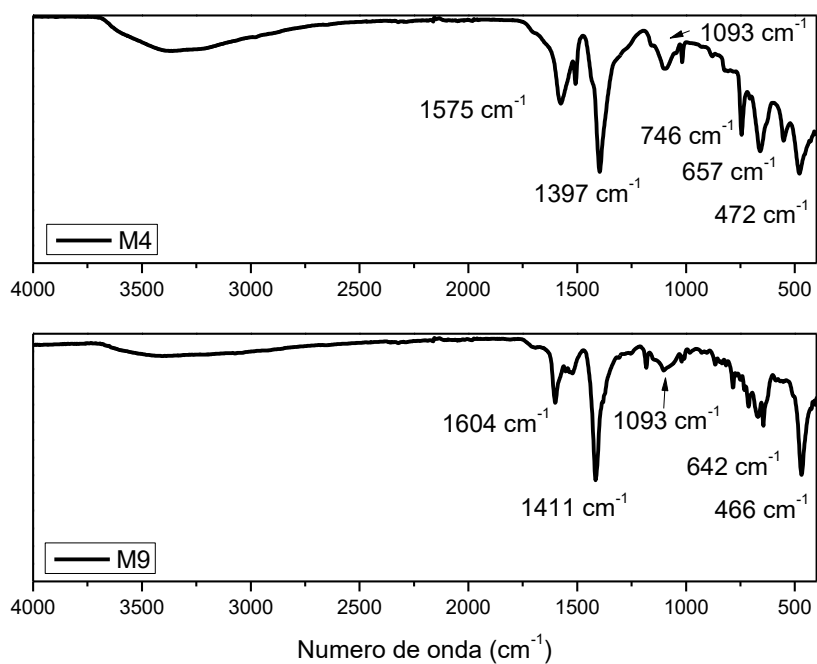
APÊNDICE LL - Espectro de IR dos materiais derivados do complexo 1.



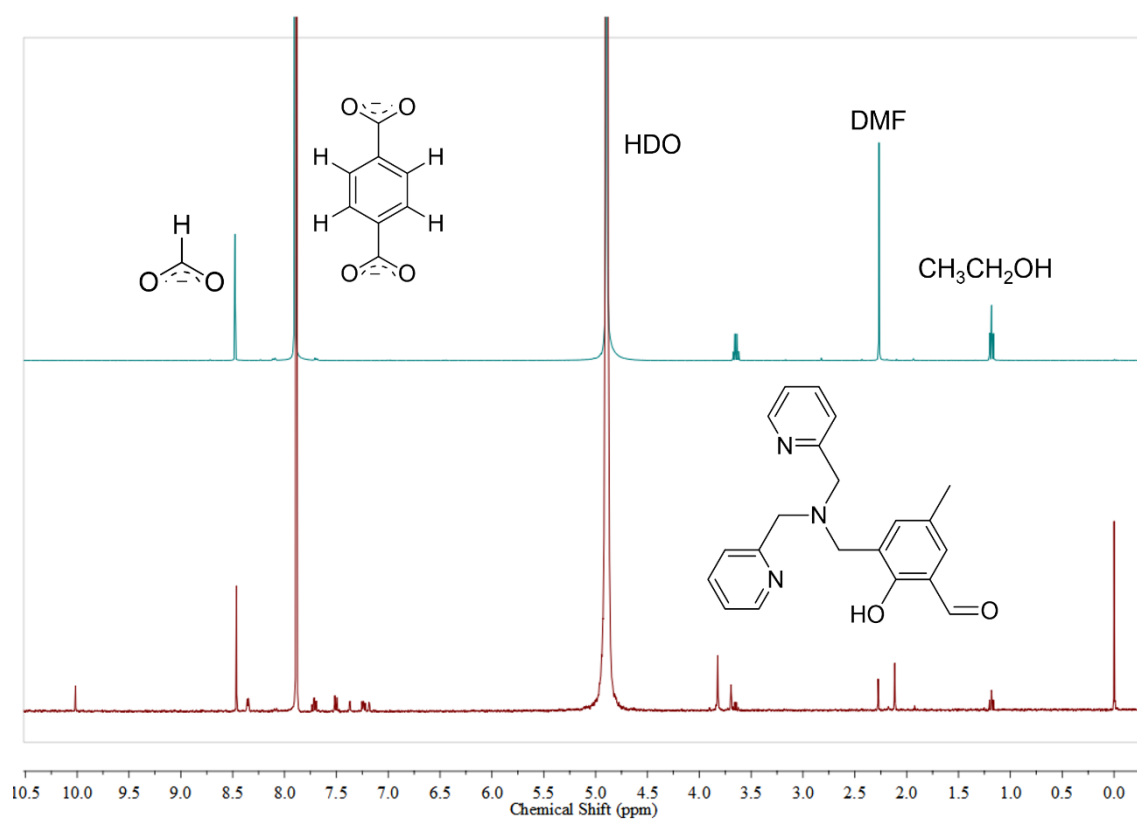
APÊNDICE MM - Espectro de IR dos materiais derivados do complexo 3.



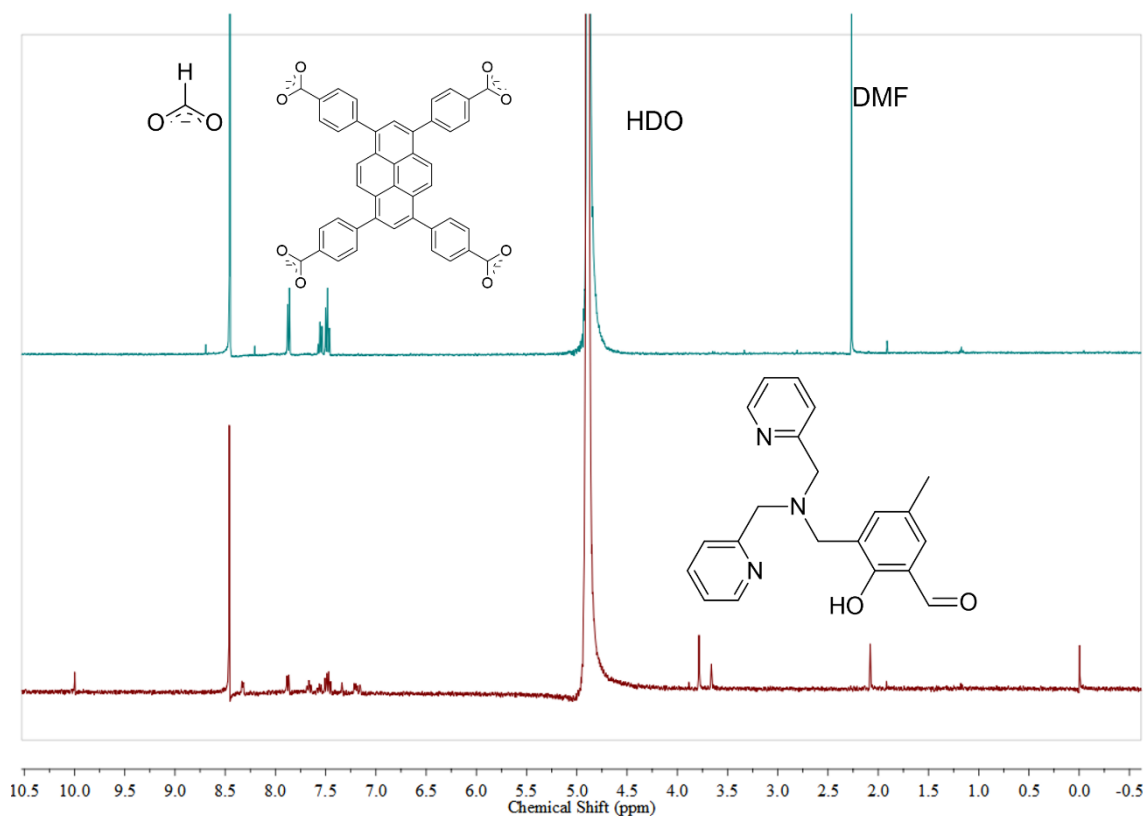
APÊNDICE NN - Espectros de IR dos materiais derivados do complexo 4



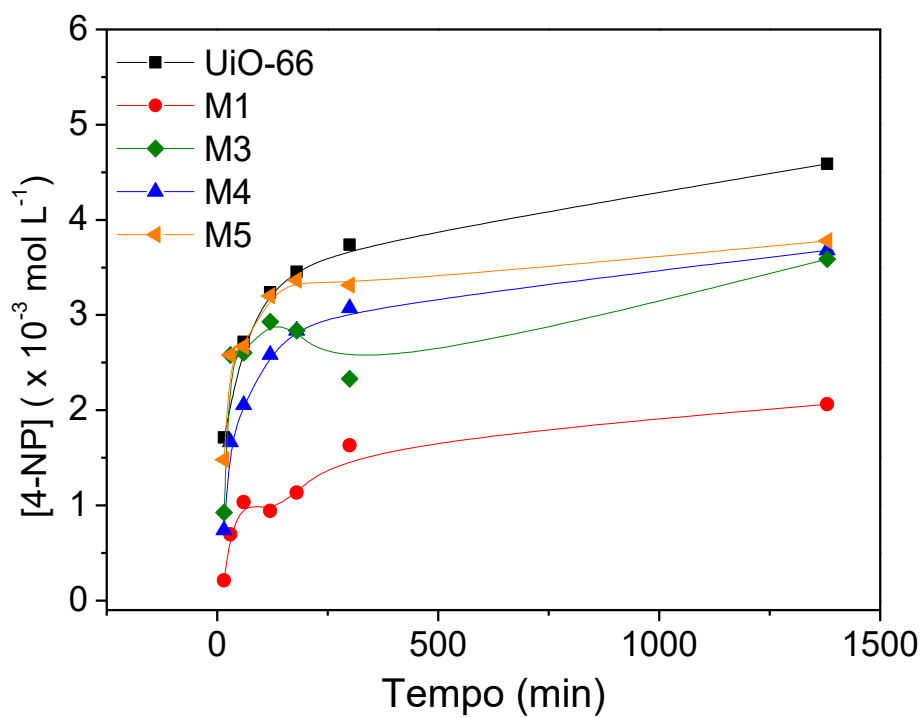
APÊNDICE OO - Espectro de ¹H NMR (400 MHz) em D₂O. Em vermelho UiO-66, e em azul Material M1.

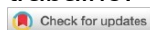


APÊNDICE PP - Espectro de ^1H NMR (400 MHz) em D_2O . Em vermelho NU-1000, e em azul Material M6.



APÊNDICE QQ - Reação de hidrólise do POX catalisada pelo UiO-66 e materiais derivados desse MOF. Condições:





Phosphate Triester Hydrolysis by Mononuclear Iron(III) Complexes: the Role of Benzimidazole in the Second Coordination Sphere

Edinara Luiz,^[a] Giliandro Farias,^[a] Mariella Alzamora,^[b] Dalber R. Sánchez,^[c]
Fernando R. Xavier,^{*,[d]} and Rosely A. Peralta^{*,[a]}

Over the years, phosphate ester hydrolysis catalyzed by coordination compounds has attracted extensive research on developing new bioinspired compounds. However, the literature lacks sufficient examples displaying activity toward phosphate triesters specifically, limiting the understanding of efficient strategies for the hydrolysis of this compound hydrolysis. Herein, we report preparing and characterizing three mononuclear iron(III) complexes (1, 2, and 3) and their hydrolyase-like activity. Complexes 2 and 3 have benzimidazole (BIMZ) moieties and were strategically designed to separate the BIMZ moiety from the first coordination sphere, and complex 1 (without BIMZ) was used as a reference. Several techniques provided structural information, including spectrophotometry,

spectrometry, electrochemistry, elemental analysis, and ⁵⁷Fe Mossbauer. Density functional theory (DFT) revealed distorted octahedral geometries due to the presence of the BIMZ groups. These groups also directly affected the protonation equilibria and catalytic activity. The phosphate triester diethyl-2,4-dinitrophenylphosphate (DEDNPP) hydrolysis was enhanced at least 27 times compared to the uncatalyzed reaction, with complexes 2 and 3, thus showing higher catalytic rates (k_{cat}). Moreover, a longer carbon chain led to a higher hydrolysis rate but less interaction with substrate. These findings provide background for further investigations and the development of efficient catalysts for agrochemical degradation.

Introduction

The population increase caused a significant surge in food demand and consequently in the production and development of effective crop-protecting measures against pests.^[1,2] This includes using of phosphate triesters (PT) as insecticides.^[3] However, due to their inherent toxicity,^[4-6] there has been a growing interest in exploring a safe and secure way to destroy these compounds, ranging from physical procedures such as adsorption^[7,8] and chemical methodologies employing nanocarriers,^[9-11] bacteria,^[12] to enzymatic hydrolysis.^[6,13-16] Phosphatases are one of these enzymes that specifically target and

break the P–O bonds.^[14,19] Notably, phosphotriesterase (PTE) is one of the few metallohydrolases capable of efficiently degrading PTs,^[20] and is found in various organisms, including bacteria and certain plants. Its unique divalent zinc cation ($Zn^II Zn^II$) cofactor^[21] plays a crucial role in the enzyme catalytic activity, facilitating the hydrolysis of PTs, which usually occurs in alkaline pH conditions.^[14]

Strategies have been developed to mimic these enzymes' behavior synthetically. For P–O bond hydrolysis specifically, purple acid phosphatases (PAPs) bioinspired compounds have gained the attention of chemists over the last three decades.^[22-32] Structurally similar to PTE, PAPs can be found in several sources, ordinarily in their $Fe^II M^II$ form ($M^II = Zn, Mn$ or Fe).^[33,34] For PAP mimetics, iron-based complexes typically exhibited superior catalytic results.^[25,26,32,35] While this metal acidity generates more efficient nucleophiles under milder conditions (pH 5 to 7),^[36] the M^II metal is responsible for substrate coordination and for helping to reach optimal conditions to promote hydrolysis.^[37] However, these reactions can work even with mononuclear compounds if the complex presents an available position to interact with the substrate and another to promote hydrolysis.^[38,39] In addition, groups known as the second coordination sphere can perform one of these roles in catalysis. They are not directly coordinated to the metal center and can interact with the substrate, enhancing the catalytic activity.^[40] Aromatic moieties, for example, already exhibited interactions with the aromatic ring in the substrates, stabilizing the reaction intermediates.^[23,26] Moreover, besides providing these electronic interactions, species such as imidazole and its derivatives like benzimidazole (BIMZ) could be

[a] E. Luiz, G. Farias, R. A. Peralta
Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Catarina,
Florianópolis, Santa Catarina, 88040-900 (Brazil)
E-mail: rosely.peralta@ufsc.br

[b] M. Alzamora
Campus Duque de Caxias
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Duque de Caxias, Rio de Janeiro, 25240-005 (Brazil)

[c] D. R. Sánchez
Instituto de Física
Universidade Federal Fluminense Niterói, Rio de Janeiro, 24210-346 (Brazil)

[d] F. R. Xavier
Departamento de Química
Universidade do Estado de Santa Catarina,
Joinville, Santa Catarina, 89219-710 (Brazil)
E-mail: fernando.xavier@udes.br

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/ejic.202300650>