

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

JULIANO MONTEIRO FERNANDES

**A DEGRADAÇÃO NUCLEOFÍLICA DE ORGANOFOSFATOS
PROMOVIDA POR 1,2,4 TRIAZOL**

CURITIBA

2021

JULIANO MONTEIRO FERNANDES

**A DEGRADAÇÃO NUCLEOFÍLICA DE ORGANOFOSFATOS
PROMOVIDA POR 1,2,4 TRIAZOL**

Nucleophilic Degradation Of Organophosphates Promoted By 1,2,4 Triazole

Dissertação apresentado como requisito para
obtenção do título de Mestre em Química da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Área de concentração: Físico-Química.

Orientador: Prof. Dr. Renan Borsoi Campos

CURITIBA

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao autor e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Curitiba



JULIANO MONTEIRO FERNANDES

**A DEGRADAÇÃO NUCLEOFÍLICA DE ORGANOFOSFATOS PROMOVIDA
POR 1,2,4 TRIAZOL.**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Físico-Química.

Data de aprovação: 16 de Dezembro de 2021

Prof Renan Borsoi Campos, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Cristiane Pilissao, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Elisa Souza Orth, Doutorado - Universidade Federal do Paraná (Ufpr)

Aos meus pais, Sandra e Mário, as minhas irmãs,
Vanessa e Fernanda, e aos meus sobrinhos,
Bruna, Laura e Rafael.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, em tempos de pandemia, em que o isolamento se torna um gatilho emocional, a fé é algo que pode tornar sua estrutura inabalável.

Agradeço ao Professor Renan Borsoi Campos que me proporcionou grande experiência na área da Físico-Química Orgânica, pela compreensão do grande desafio que é realizar mestrado sem bolsa, e pelo apoio e amizade durante esses anos em que estivemos trabalhando juntos, tenho muito orgulho e honra em fazer parte do seu grupo de pesquisa.

Ao GCC pelo espaço cedido para realização de muitos experimentos que foram cruciais para os resultados obtidos neste trabalho. Ao Leociley Menezes pelo auxílio durante os experimentos de RMN no departamento de Química da UFPR. Aos membros da banca, Professora Elisa S. Orth e Professora Cristiane Pilissão, agradeço por terem aceito o convite para participar da banca de avaliação e pelas contribuições que vem a potencializar o trabalho que desenvolvi. Agradeço também aos membros do laboratório de pesquisa pela companhia enquanto não estávamos em *Lockdown* e por toda ajuda remota. Agradeço aos meus amigos, que dividiram inúmeros momentos comigo e fazem que meus dias sejam mais leves.

Minha gratidão também vai ao homem que está ao meu lado todos os dias, me ajudando, me dando forças e segurando minha mão. Você é minha fonte de coragem, pra enfrentar os desafios da vida, as dificuldades e o preconceito. Obrigado Junior Fernandes, por ser essa pessoa incrível pra mim. Além disso, agradeço aos meus pais Mario Fernandes e Sandra Miquelini por serem minha fortaleza, sempre acreditando e auxiliando nas minhas decisões, me aconselhando e estando ao meu lado até mesmo quando quis desistir de tudo. Às minhas irmãs Vanessa e Fernanda Monteiro por serem a luz da minha vida, sempre brilhando quando passo por momentos de escuridão. Sem vocês, eu não teria como enxergar os caminhos da vida, e simplesmente seguir em frente. Aos meus cunhados Fernando Santos e Washington Gomes, que sempre acreditaram em mim e me apoiaram.

Este penúltimo parágrafo eu quero dedicar exclusivamente aos meus sobrinhos Bruna, Laura e Rafael Santos, que são o calor que aquece meu coração, vocês são tudo que tenho de mais precioso nessa vida. Esses anos que estamos distantes devido a pandemia do COVID-19 está sendo muito doloroso, mas não se compara ao quanto eu

amo vocês. Prometo estar ao lado de vocês para tudo na vida, abraçando, rindo, acolhendo e enxugando cada lágrima que a vida vai arrancar de seus rostos. Obrigado simplesmente por todo amor que vocês me dão.

Por fim, agradeço a UTFPR pelos 7 anos que estamos juntos, anos de aprendizado, parceria e de humanização. Reforçando a importância do ensino gratuito e de qualidade. A ciência que se desenvolve dentro da universidade é séria, precisamos que a comunidade não só entenda o impacto que a universidade pública tem na sociedade, mas que também se insira nela. Passamos por períodos complicados, com inúmeros cortes do governo e falta de incentivo a pesquisa, e não só isso, nós cientistas passamos por deboche vindo de quem mais deveria apoiar, em pleno período de pandemia. Por isso sempre vamos ser RESISTÊNCIA frente a isso, porque a cada palavra torta dita aos cientistas, mais vontade temos de contribuir para a evolução da sociedade.

“We gather stones, never knowing what they'll mean.

Some to throw, some to make a diamond ring.”

Taylor Swift.

“He who is not aware of his ignorance will

be only misled by his knowledge”

Richard Whatley.

RESUMO

Organofosfatos e derivados são compostos vastamente utilizados como defensivos agrícolas devido a sua alta estabilidade e considerável eficiência. Apesar de sua importância, a utilização irresponsável e recorrentes proibições por malefícios à saúde humana e ao meio ambiente tem requerido métodos eficientes de degradação de estoques obsoletos de pesticidas, visando evitar intoxicações e inúmeras mortes humanas que ocorrem todos os anos. A substituição nucleofílica é um método importante para mitigar a toxicidade de organofosfatos. No presente estudo, a degradação do organofosfato dietil-2,4-dinitrofenilfosfato (DEDNPP) e do pesticida dietil-4-nitrofenilfosfato (Paraoxon) promovida por 1,2,4-triazol (TAZ) foi investigada através de estudos cinéticos, análises por ressonância magnética nuclear (RMN) e cálculos computacionais utilizando a teoria do funcional da densidade. Os resultados mostraram que a rápida degradação dos organofosfatos é promovida principalmente pela forma aniônica do nucleófilo (TAZ(-)) em pH superior a 8 (ótimo em pH = 11) com incrementos catalíticos na ordem de 10^6 e 10^5 vezes em relação à hidrólise espontânea do DEDNPP e Paraoxon, respectivamente. Através de análises por RMN foi observada que a rota exclusiva de degradação do DEDNPP mediada por TAZ(-) ocorre via clivagem da ligação P–O, por mecanismo concertado com alto grau de sincronicidade. O intermediário fosforilado resultante foi monitorado por RMN de ^{31}P e sua rápida hidrólise leva a formação de diéster atóxico e regeneração do TAZ(-) como catalisador autêntico da reação. Conforme indicado por cálculos computacionais em nível M06-2X/6-311++G(d,p), o principal centro nucleofílico da molécula corresponde nitrogênios equivalentes do TAZ(-) (1 e 2). No geral, por meio desse estudo, foi constatada a eficiência e seletividade do TAZ(-) atuando em meio aquoso como agente detoxificante de organofosfatos, e os resultados podem instigar a projeção de novos catalisadores para degradação eficiente e racional de pesticidas dessa classe.

Palavras-chave: detoxificação, organocatálise nucleofílica, 1,2,4-triazol.

ABSTRACT

Organophosphates and derivatives are compounds widely used as agrochemicals due to their high stability and considerable efficiency. Despite its importance, the imprudent use and numerous prohibitions motivated by the harm to human health and the environment have required efficient methods of degrading obsolete stocks of pesticides, to avoid poisoning and countless human deaths that occur every year. Nucleophilic substitution is an important method to mitigate the toxicity of organophosphates. In the present study, the degradation of organophosphate diethyl-2,4-dinitrophenylphosphate (DEDNPP) and of the pesticide diethyl-4-nitrophenylphosphate (Paraoxon) promoted by 1,2,4-triazole (TAZ) was investigated by means of kinetic studies, nuclear magnetic resonance (NMR) analyses and computational calculations using density functional theory. Results showed that the rapid degradation of organophosphates is mainly promoted by the anionic form of the nucleophile (TAZ(-)) at pH higher than 8 (optimal at pH = 11). Rate enhancements on the order of 10^6 and 10^5 times were observed compared to spontaneous hydrolysis of DEDNPP and Paraoxon, respectively. NMR analyses indicated that the exclusive route of degradation of DEDNPP promoted by TAZ(-) occurs via P–O bond cleavage in a highly synchronous concerted mechanism. Rapid hydrolysis of the phosphorylated intermediate was observed by ^{31}P NMR, leading to the formation of a non-toxic diester and regeneration of TAZ(-) as an authentic catalyst for the reaction. As indicated by computational calculations at the M06-2X/6-311++G(d,p) level, equivalent nitrogens of the TAZ(-) (1 and 2) are the main nucleophilic center of the anion. Overall, the efficiency and selectivity of TAZ(-) was verified, acting as a detoxifying agent for organophosphates in aqueous medium. Results may instigate the projection of new catalysts for the efficient and rational degradation of organophosphate pesticides.

Key words: detoxification, nucleophilic organocatalysis, 1,2,4-triazole.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1-MEI	1-Metilimidazol
2-HZ	2-Hidroxiimidazol
4-HMZ	4-Hidroximetilimidazol
5-MEI	5-metilimidazol
AChE	Acetilcolinesterase
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
A_ND_N	Mecanismo concertado
A_N+D_N	Mecanismo associativo
BHO⁻	Benzohidroxamato
DEDNPP	Dietil-2,4-dinitrofenilfosfato
DEP	Dietil fosfato
DFT	Teoria do Funcional da Densidade (<i>do inglês: Density Functional Theory</i>)
DMPT	ácido O-metil-O-paranitrofenil-tiofosfato
DNP	2,4-Dinitrofenol
D_N+A_N	Mecanismo dissociativo
EDNPP	Etil-2,4-dinitrofenilfosfato
EET	Estrutura do Estado de Transição
ET	Estado de transição

FDNB	1-fluor-2,4-dinitrobenzeno
His	Histidina
IMZ	Imidazol
MP	Metil-Paraoxon
MPT	Metil-Paraoxon
MTBD	7-metil-1,5,7-triazobiciclo[4.4.0]dec-5-eno
NBO	<i>Natural Bond Orbitals</i>
NP	Nitrofenol
OTP	Organotiofosfato
pH	Potencial hidrogeniônico
p-NP	p-Nitro-fenolato
pK_a	cologaritmo da constante de ionização
RMN	Ressonância Magnética nuclear
SMD	Modelo de solvatação implícita (do inglês: <i>solvation model density</i>)
SnAr	Substituição Nucleofílica Aromática
TAZ	1,2,4-triazol
TAZDNP	1- (2,4-dinitrofenil) -1,2,4-triazol
TBD	1,5,7-triazobiciclo [4.4.0] dec-5-eno
TMG	Trimetil-guanidina
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

N	Número de elétrons
n	Núcleos
E	Elétrons
Ψ	Função de onda
ρ	Densidade de probabilidade
\hat{H}	Operador hamiltoniano de energia
E	Energia do sistema quântico
\hat{H}_0	Operador hamiltoniano para a energia no estado fundamental
E_0	Energia no estado fundamental
R	Região do espaço
ϵ	Absortividade molar
B	Caminho óptico da cubeta
ΔG^\ddagger	Energia livre de Gibbs de ativação
ΔH^\ddagger	Entalpia de ativação
ΔS^\ddagger	Entropia de ativação

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Parâmetros cinéticos obtidos da reação de TAZ com DEDNPP e Paraoxon, e comparações entre constantes cinéticas.56
- Tabela 2** – Parâmetros de ativação obtidos para a reação de TAZ ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 11,4 e DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) a $25 \text{ }^\circ\text{C}$62
- Tabela 3** – Deslocamentos químicos relevantes de espectros de RMN de ^1H e ^{31}P para a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) com TAZ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), em 1:9 ACN/ H_2O e D_2O (10% v/v), pH 8,5 a $25 \text{ }^\circ\text{C}$67
- Tabela 4** – Barreiras calculadas ($\Delta G^\ddagger/\text{kcal mol}^{-1}$) para a reação do TAZ com DEDNPP.71
- Tabela 5** – Valores de energia de ativação calculada em M06-2X/6-311++G(d,p) para cada tautômero e rotâmero. As distâncias de ligação internuclear entre Nucleófilo e centro eletrofílico do DEDNPP, e distâncias entre átomo eletrofílico e grupo de saída constam na tabela, bem como o ângulo diedral.77

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Distribuição das classes de pesticidas responsáveis por casos de intoxicação em Juangsu entre 2007 e 201825
- Figura 2** – Distribuição de tipos de intoxicação por pesticidas no Brasil entre 2007 e 2014.....26
- Figura 3** – Diagrama de More O’Ferral-Jencks contendo os possíveis mecanismos de reação envolvendo substituição nucleofílica via fósforo.29
- Figura 4** – A) Espectros típicos de pré e pós reação da clivagem do DEDNPP via fósforo. B) Perfil de pseudo-primeira ordem obtido pelos dados referentes ao monitoramento da banda em 400 nm.....45
- Figura 5** - IRC para um ET conectado ao reagente A formando o produto B.50
- Figura 6** – A) Espectro UV-Vis indicando aumento da absorbância nas bandas características de clivagem do DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em reação com TAZ ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 7,5 a 25°C. B) Perfil de pseudo-primeira ordem obtido pelo monitoramento espectrofotométrico em 400 nm da reação em pH 7,5 a 25°C. C) Perfil de pseudo-primeira ordem para a clivagem de DEDNPP com TAZ em outra reação, alterando o pH para 10,5 e a concentração de TAZ para $0,1 \text{ mol L}^{-1}$52
- Figura 7** – A) Espectro UV-Vis indicando aumento da absorbância na banda característica de clivagem do Paraoxon para a reação com TAZ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 10,51. B) Perfil de pseudo-primeira ordem obtido pelo monitoramento espectrofotométrico em 400 nm a 25 °C.....53
- Figura 8** – Perfil cinético de pH para a reação de TAZ (-) ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) com DEDNPP (■, eixo esquerdo) a 25 °C e a hidrólise DEDNPP⁶⁸ (□, eixo direito). B. Perfil cinético de pH para a reação de TAZ (-) ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) com Paraoxon (●, eixo esquerdo) a 25 °C e a hidrólise de Paraoxon⁶⁹ (○, eixo direito).....54
- Figura 9** – Comparação entre as constantes nucleofílicas do TAZ e IMZ para os pHs 7,6 e 10,6, T= 25 °C.57
- Figura 10** – Espectros sucessivos de UV-Vis obtidos para a reação de TAZ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em água, pH = 11) e FDNB ($10 \mu\text{L}$, $6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em acetonitrila) a 25 °C. (B) Perfil cinético em 230 nm ajustado com equações de pseudo-primeira ordem.....58
- Figura 11** – Espectros sequenciais de UV-Vis obtidos para a hidrólise alcalina (pH 11,8) de DNFB ($6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) a 25 °C.....58

Figura 12 – Espectros de UV-Vis obtidos a 25 °C para (A) hidrólise alcalina (pH 11,8) de DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹) e (B) reação entre TAZ (0,1 mol L ⁻¹ , pH 11,8) e DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹).	59
Figura 13 – Caminhos propostos para a reação entre TAZ e OFs, em A as três possíveis rotas para os tautômeros neutros; em B os dois possíveis ataques nucleofílicos possíveis rotas para o TAZ (-)	61
Figura 14 – Regressão Linear para o perfil de temperatura das reações do TAZ 0,5 mol L ⁻¹ em pH 9,0 com DEDNPP.	62
Figura 15 – Regressão Linear para o perfil de concentração da reação do TAZ em pH 9,0 com DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹) a 25 °C.	63
Figura 16 – ³¹ P{ ¹ H} espectro de RMN para a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹) com TAZ (0,1 mol L ⁻¹), em 1:9 acetonitrila/H ₂ O e D ₂ O (10% v/v), pH 8,5 a 25 °C.	64
Figura 17 – ³¹ P{ ¹ H} espectro de RMN para a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹) com TAZ (0,05 mol L ⁻¹), em 1:9 acetonitrila/H ₂ O e D ₂ O (10% v/v), pH 8,5 a 25 °C.	66
Figura 18 – Expansão dos espectros de RMN de ¹ H, destacando sinais para hidrogênios aromáticos e metílicos para a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-2}$ mol L ⁻¹) com TAZ (0,1 mol L ⁻¹) (pH 9,0, 25° C, H ₂ O/ACN com gotas de D ₂ O a 600 MHz).	68
Figura 19 – EETs referentes a cada caminho reacional do TAZ e TAZ (-) promovendo a clivagem do DEDNPP via P obtidas com M06-2X/6-311++G(d,p). Distâncias relevantes estão apresentadas em Å.	70
Figura 20 – Gráfico comparativo entre as barreiras calculadas com duas metodologias de cálculo para a reação de TAZ/TAZ(-) com DEDNPP. Em azul as barreiras calculadas em M06-2X/6-311++g(d,p); em vermelho as barreiras calculadas em B3LYP-6-31+g(d,p)	72
Figura 21 – A) Perfis de IRC para o TAZ (-) calculado em B3LYP/6-31+G(d,p). B) Perfis de IRC para o TAZ (-) calculado em M06-2X/6-311++G(d,p).	74

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Estrutura geral dos organofosforados.....	20
Esquema 2 – Rota de hidrólise do ATP.....	21
Esquema 3 – Estruturas de alguns Organofosforados: Armas Químicas.....	22
Esquema 4 – Mecanismo de clivagem da Acetilcolina pela AChE.....	23
Esquema 5 – Mecanismo da atuação da oxima como catalisador da reativação da AChE.....	24
Esquema 6 – Organofosforados com restrições de uso pela Organização Mundial da Saúde, União Europeia e Estados Unidos.....	27
Esquema 7 – Rotas de substituição de triésteres de fosfato.....	28
Esquema 8 – Mecanismo de hidrólise do difenil-2-nitro-fosfato.....	30
Esquema 9 – Estrutura molecular de uma (I) hidroxilamina; (II) oxima e (III) hidrazina.....	31
Esquema 10 – Ataque suicida do BHO ⁻ ao DEDNPP.....	32
Esquema 11 – Proposta de mecanismo da reação entre Hidroxilamina e DEDNPP...	33
Esquema 12 – Mecanismo de reação do IMZ com DEDNPP e EDNPP.....	34
Esquema 13 – Rotas plausíveis de reação do IMZ com MPT e MP.....	35
Esquema 14 – Equilíbrio tautomérico em metilimidazóis.....	36
Esquema 15 – Mecanismo concertado proposto para a reação do 5-AZ com DEDNPP a partir de cálculos realizados em nível B3LYP/6-31+g(d,p).....	37
Esquema 16 – Estrutura do MP e compostos nitrogenados avaliados.....	38
Esquema 17 – Equilíbrio tautomérico entre as espécies do TAZ.....	39
Esquema 18 – Mecanismos de reação da hidroxilamina com um triéster de fosfato e ET do caminho a).	42
Esquema 19 – Estrutura dos OFs avaliados com TAZ.....	43
Esquema 20 – Rotas de degradação do DEDNPP e Paraoxon.....	45
Esquema 21 – Resumo da metodologia aplicada na pesquisa	48

Esquema 22 – Estruturas do TAZ avaliadas e seus centros nucleofílicos.....69

Esquema 23 – Ciclo catalítico para a desfosforilação de DEDNPP e Paraoxon
mediada por TAZ (-)78

SUMÁRIO

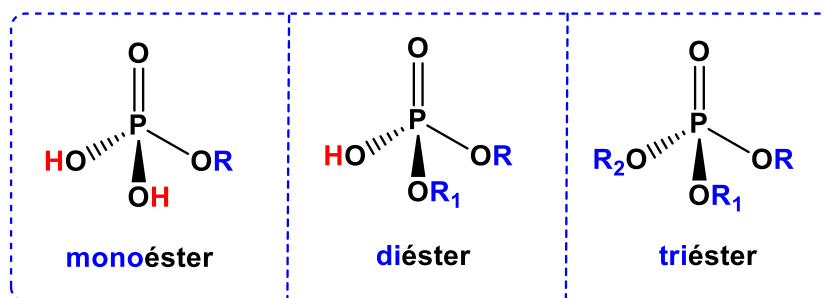
1. INTRODUÇÃO	20
1.1 A Química dos organofosfatos: processos biológicos, armas químicas e estoques obsoletos de pesticidas.....	20
1.2 Mecanismos de degradação de triésteres de fosfato: rotas de substituição nucleofílicas e hidrólise.	27
1.3 Reações de transferência do grupo fosforila promovidas por nucleófilos.....	30
1.3.1 A reatividade de α -nucleófilos frente a reações de desfosforilação.....	31
1.3.2 Processos catalíticos em reações de desfosforilação: a reatividade do imidazol e derivados.	33
1.3.3 Outros compostos nitrogenados como agentes detoxificantes de OFs ...	37
1.3.4 A química do heterocíclico 1,2,4-triazol	38
1.4 Algumas aplicações de cálculos baseados na teoria do funcional da densidade na química de organofosfatos.	40
2. OBJETIVOS	43
2.1 Objetivo geral	43
2.2 Objetivos específicos.....	43
3. METODOLOGIA	44
3.1 Reagentes	44
3.2 Estudo cinético	44
3.3 Ressonância Magnética Nuclear.....	48
3.4 Cálculos teóricos	49
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
4.1 Estudos cinéticos.....	51
4.1.1 Investigação da reação via Substituição Nucleofílica Aromática (SnAr). .	57
4.1.2 Obtenção de parâmetros de ativação e de molecularidade	61
4.2 Elucidação mecanística através de análises por RMN.....	64
4.3 Estudos teóricos.....	68
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
REFERÊNCIAS	81
ANEXOS	87

1. INTRODUÇÃO

1.1 A Química dos organofosfatos: processos biológicos, armas químicas e estoques obsoletos de pesticidas.

Os organofosfatos são uma classe de compostos organofosforados, comumente também denominados ésteres de fosfato. São derivados do ácido fosfórico em que um a três hidrogênios são substituídos por grupos arila ou alquila. A quantidade desses grupos arremetem à classificação dessas espécies químicas, que podem ser mono-, di- ou trissubstituídos, conforme mostrado no Esquema 1, sendo tipicamente formados através de reações de esterificação.¹

Esquema 1 – Estrutura geral dos organofosforados.

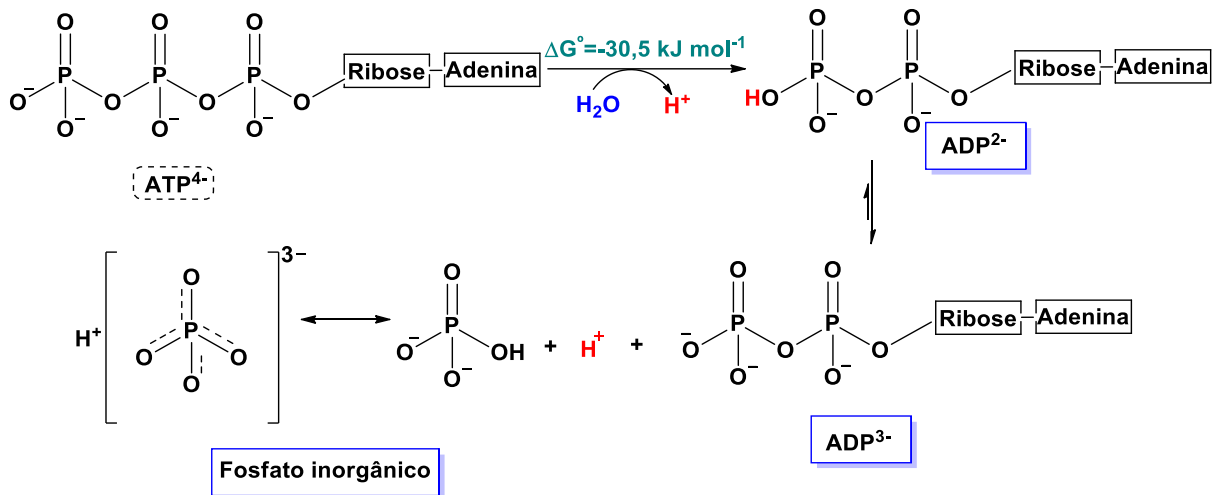


Fonte: autoria própria

Um dos grandes interesses em estudar essas estruturas recai em explorar a alta estabilidade das ligações entre os átomos de fósforo e oxigênio, sendo que, por essa razão, a natureza vem utilizando dessas para composição de estruturas fundamentais no organismo.² Pode-se citar, por exemplo, o DNA e RNA, diésteres de fosfato em que os nucleotídeos são conectados por esse tipo de ligação. Essa alta estabilidade resulta em elevados tempos de meia-vida, superando 13 milhões de anos no caso de hidrólise espontânea de diésteres de fosfato.³ Dentre diversas outras funções dos ésteres de fosfato no organismo pode ser destacado o fornecimento de energia, com a hidrólise da adenosina trifosfato (ATP) para a formação da adenosina difosfato (ADP), liberando $30,5 \text{ kJ mol}^{-1}$, como ilustrado no Esquema 2. Apesar de fornecer energia para transporte ativo de moléculas, locomoção e divisão celular,⁴ essa reação apenas é espontânea ao receber atuação da enzima ATPase para a catálise do processo, superando a grande

estabilidade das ligações P–O e a inerente repulsão eletrostática proveniente dos oxigênios adjacentes ao fósforo.⁵

Esquema 2 – Rota de hidrólise do ATP.

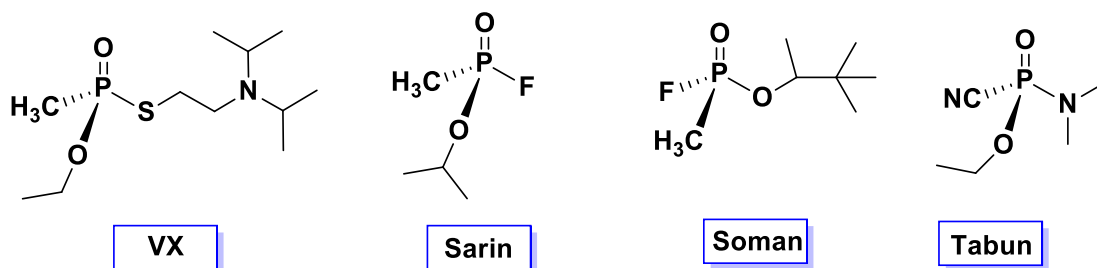


Fonte: Adaptado de Princípios de Bioquímica de Lehninger.⁴

Assim como o fez a natureza, o homem também se aproveitou da alta estabilidade de organofosfatos, utilizando-a como base para a síntese de substâncias com outras finalidades. Dentre essas, os populares organofosforados,⁶ que são organofosfatos não naturais (*i.e.* sintéticos), que podem ser utilizados como agentes tóxicos, sejam pesticidas, inseticidas e até mesmo armas químicas de guerra.⁶ De fato, desde o início do século XX tem-se utilizado armas químicas, visto que a utilização em massa dessas substâncias extremamente tóxicas pode reduzir drasticamente o custo militar, se comparado a armas convencionais.⁷ Por essa razão, a primeira guerra mundial ficou conhecida como “Guerra Química”. As bem conhecidas armas químicas derivadas de organofosforados (Esquema 3), como Tabun e Sarin, foram descobertas na década de 30 pelo químico alemão Gerhard Schrader⁸ que, devido à similaridade estrutural entre pesticidas e armas químicas, sintetizou-os acidentalmente enquanto buscava novos agrotóxicos para controle de pragas nas lavouras alemãs. Entretanto, o primeiro relato de utilização do Sarin foi apenas em 1988, quando Sadam Hussain autorizou os militares iranianos a atacarem mais de 40 aldeias de povos Curdos, momento que ficou conhecido como Massacre de Halabja durante a guerra Irã-Iraque, o qual deixou cerca de 180 mil mortos devido a intoxicação por este organofosfato.⁹ A

utilização massiva dessas substâncias levou à necessidade da criação da Convenção sobre Armas Químicas, um acordo realizado em 1997 que formaliza a proibição de produção e utilização dessas substâncias — mais de 190 países aderiram a este acordo que foi realizado pela Organização para a Proibição de Armas Químicas (do inglês, OPCW).¹⁰ Mesmo assim, essas substâncias ainda são utilizadas de forma irregular causando intoxicações severas.

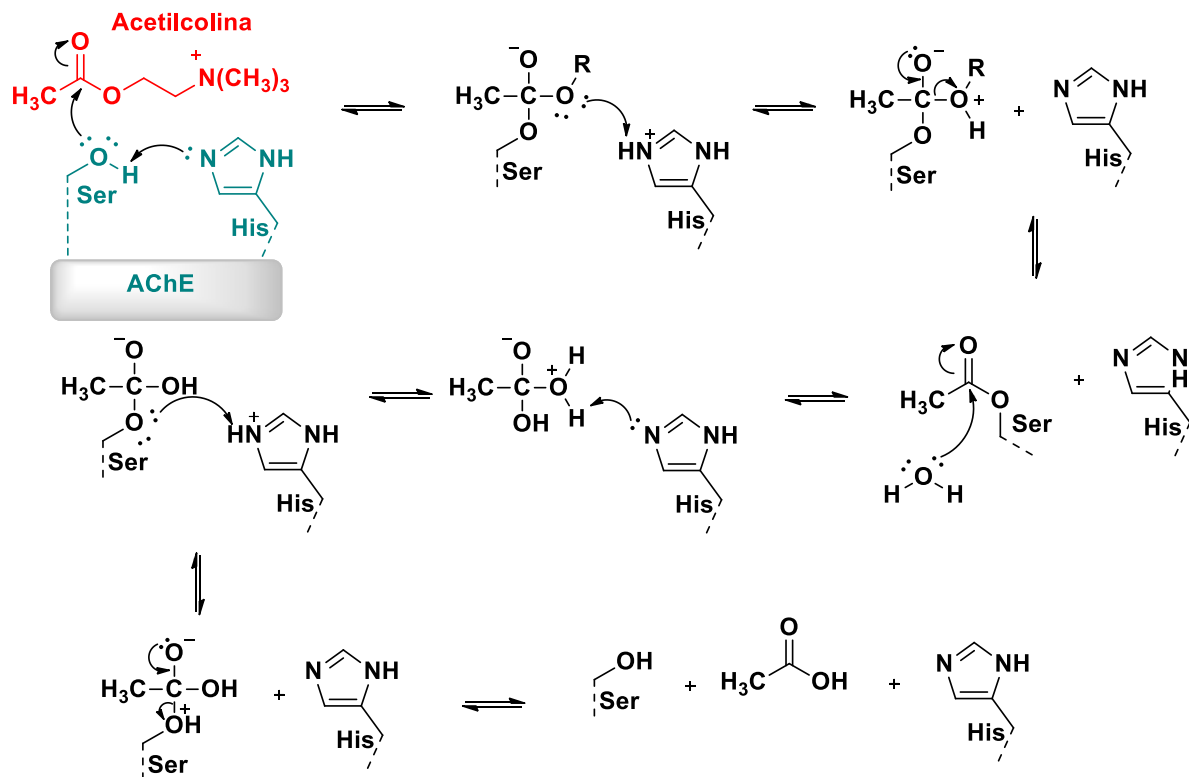
Esquema 3 – Estruturas de alguns organofosforados: Armas Químicas.



Fonte: Adaptado de Campos (2009).¹¹

No organismo as armas químicas derivadas de organofosforados tem atuação como inibidor da enzima acetilcolinesterase (AChE). Uma vez inibida no organismo, esta enzima não tem capacidade de clivagem da acetilcolina, um neurotransmissor de fundamental importância. O Esquema 4 apresenta a rota mecanística da hidrólise da acetilcolina, que consiste inicialmente em um ataque nucleofílico da hidroxila do α -aminoácido serina (Ser) à carbonila da acetilcolina, auxiliado pelo grupo imidazol (IMZ) da histidina (His), que atua como catalisador básico ao retirar o próton da Ser, elevando sua reatividade. Após a formação do intermediário tetraédrico, o IMZ se comporta como catalisador ácido ao favorecer a saída do grupo OR. Assim, a molécula de água realiza um ataque nucleofílico ao carbono da carbonila do éster formado, com IMZ atuando novamente como catalisador básico e posteriormente ácido, levando a formação de um novo intermediário tetraédrico. A última etapa da reação é referente à formação do ácido carboxílico e a regeneração da Ser.¹²

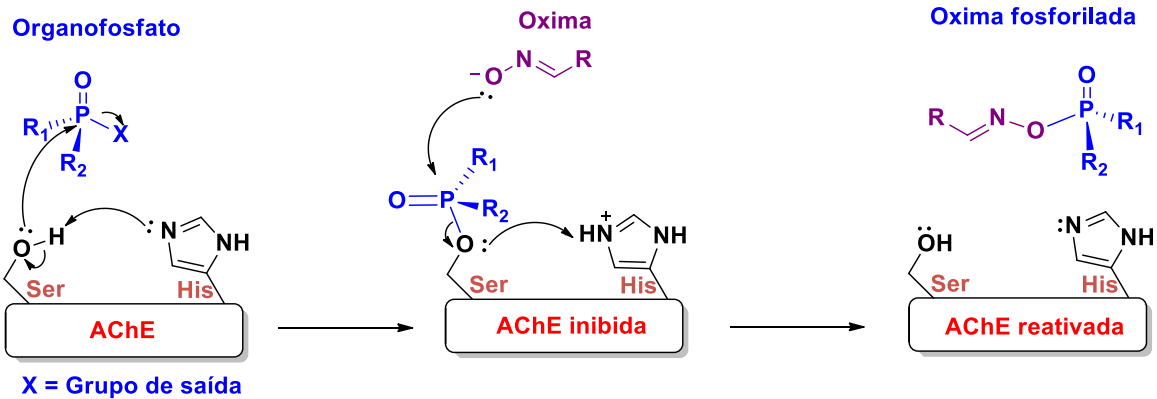
Esquema 4 – Mecanismo de clivagem da Acetilcolina pela AChE.



Fonte: Adaptado de Campos (2017).¹¹

As oximas são uma classe de substâncias capazes de reativar a AChE inibida e, inclusive, compõem o material distribuído a soldados nos Estados Unidos¹³ (Esquema 5). Apesar disso, as oximas apresentam alta toxicidade e baixa seletividade,^{14,15} instigando a necessidade de novos catalisadores para esta finalidade. De fato, apesar de agentes externos poderem, em certo casos, reativar a AChE no organismo, o processo deve ocorrer no prazo máximo de 48 horas, visto que durante este período a enzima sofre um processo irreversível chamado envelhecimento, perdendo sua atividade biológica permanentemente.¹⁶ Apesar das limitações, elas conseguem, de forma razoavelmente satisfatória no organismo, promover reações de transferência do grupo fosforila, comumente chamadas de desfosforilação. Além disso, um estudo recente indicou que também podem ser aplicadas como detoxificantes de pesticidas, diminuindo a ação tóxica de organofosfatos devido a sua degradação, ainda que não ocorra de forma catalítica, conforme discutido em detalhes posteriormente.¹⁷

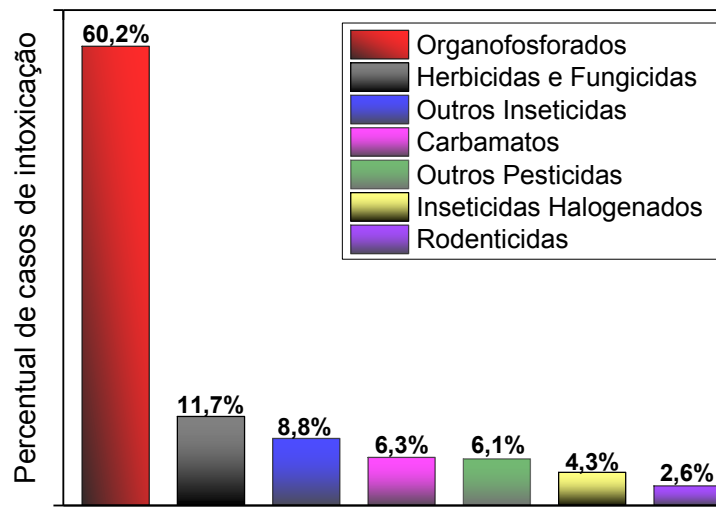
Esquema 5 – Mecanismo da atuação da oxima como catalisador da reativação da AChE.



Fonte: Adaptado de Campos (2017).¹¹

Dentre as aplicações benéficas de compostos da classe dos organofosforados, estão sua ampla utilização como defensores agrícolas, com o intuito de controlar pragas em lavouras de cultivo, potencializando a produção. Porém, o uso indiscriminado, irresponsável e exagerado tem levado a severas consequências à saúde e ao meio ambiente. Cabe ressaltar que esses são apenas uma classe de pesticidas, e ainda que haja outras bastante utilizadas, como organoclorados, carbamatos, piretróides, piretrinas, etc, os organofosforados têm sido os maiores responsáveis pelos casos de intoxicação. A proibição total de organoclorados, como é o caso do diclorodifeniltricloroetano, mais conhecido DDT,¹⁸ é um reflexo do aumento de casos de intoxicação por organofosforados, chegando, por exemplo, a 60,2% dos casos reportados na Província de Juangsu, na China entre 2008 e 2018, conforme apresentado na Figura 1. A efeitos comparativos, em 2005 os Estados Unidos reportavam 37% dos casos de intoxicação por organofosforados,¹⁸ evidenciando ainda mais a crescente taxa de intoxicação por organofosforados ao longo do tempo.¹⁹

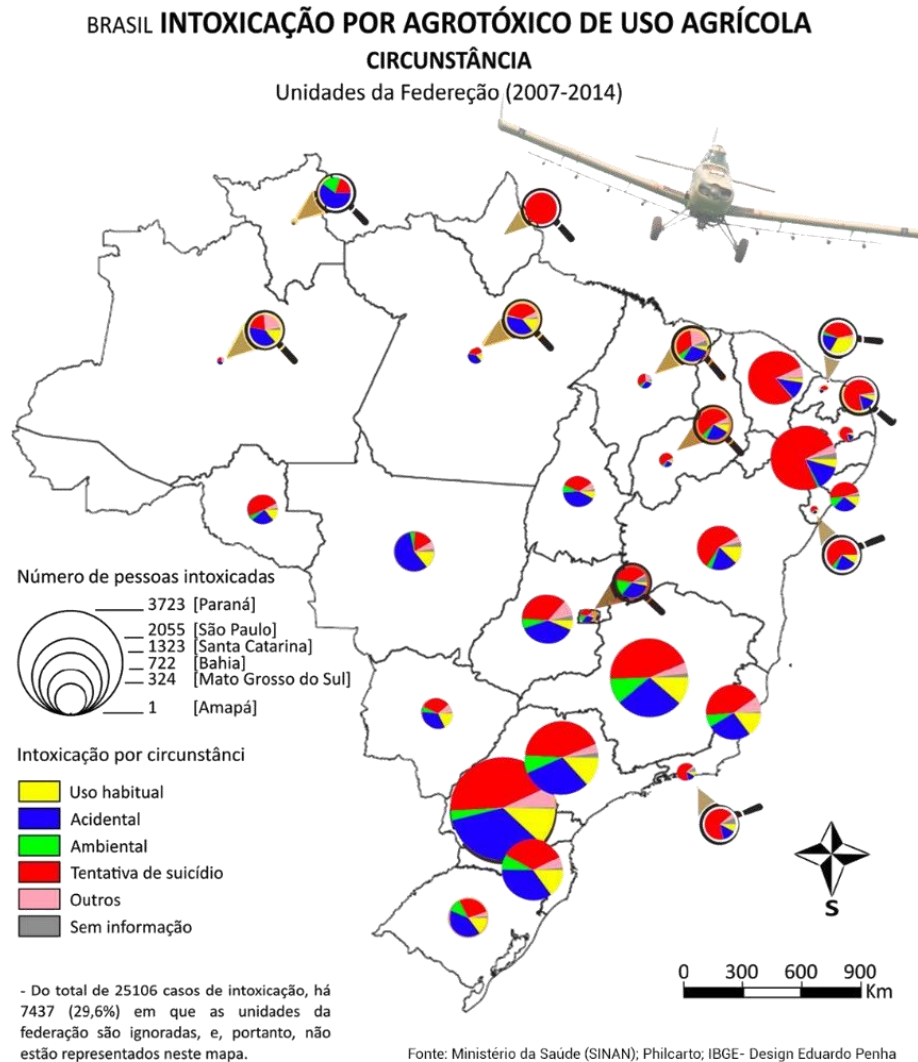
Figura 1 – Distribuição das classes de pesticidas responsáveis por casos de intoxicação em Juangsu entre 2007 e 2018.



Fonte: Adaptado de Wang, et.al. (2019).¹⁹

Enquanto a figura anterior apresentava a distribuição de intoxicação por diferentes classes de pesticidas em Juangsu, a Figura 2 apresenta a forma que as pessoas são contaminadas no Brasil por essas mesmas substâncias. O grande potencial agrícola do Brasil torna seus trabalhadores rurais extremamente expostos a essas substâncias tóxicas. A falta de controles rigorosos de utilização, armazenamento, gerenciamento de resíduos e até mesmo de quais pessoas tem acesso aos pesticidas, faz com que haja grande contaminação por essas substâncias. Além disso, há regiões do país que a maior causa de intoxicação é por tentativa de suicídio e não somente pelo uso habitual durante o trabalho nas lavouras, evidenciando ainda mais a falha do sistema de controle de pesticidas. Apesar do surpreendente número de intoxicações por pesticidas no Brasil entre 2007 e 2014 (25.106 casos), cabe mencionar que aproximadamente 29,6% dos casos de intoxicação não são reportados, majorando ainda mais este número para mais de 32.500 casos de intoxicação por agrotóxicos.²⁰

Figura 2 – Distribuição de tipos de intoxicação por pesticidas no Brasil entre 2007 e 2014.



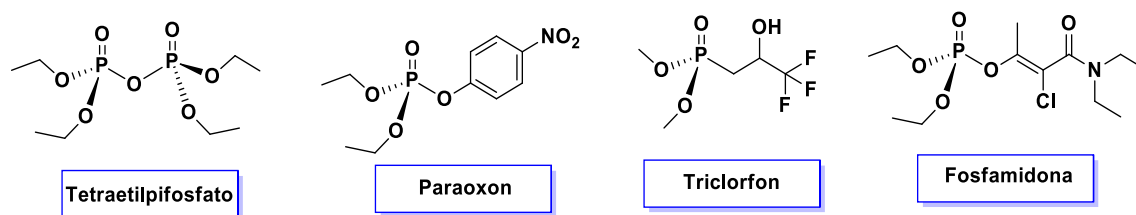
Fonte: Bombardi (2017).¹⁸

Como mencionado, apesar de possuir importância na produção de alimentos, várias evidências científicas têm mostrado malefícios ao meio ambiente e principalmente à saúde humana, causado pelo uso de muitas dessas substâncias. Podemos citar alguns desses malefícios que levam a intoxicações agudas e crônicas, os mais comuns são falência no sistema nervoso central, efeitos neurológicos, esquizofrênicos e carcinogênicos.²¹ Órgãos internacionais, como União Européia e Organização Mundial da Saúde, possuem sério controle e monitoramento de pesticidas, com recorrentes proibições; em contraste ao Brasil, onde muitos desses ainda são

amplamente utilizados. Tendo em vista que recentemente nos tornamos um dos principais consumidores de agrotóxicos no mundo, a situação se torna alarmante, visto que a utilização massiva dessas substâncias leva ao acúmulo de pesticidas obsoletos estocados e descartados de forma irregular.²² A estrutura de alguns defensivos agrícolas com restrições de uso internacionais estão apresentadas no Esquema 6.

Com finalidade de degradação de organofosforados, reações de substituição nucleofílica tem atraído muita atenção nas últimas décadas, levando a mitigação sua ação tóxica.^{5,23–25} Estudos conduzidos pela avaliação detalhada dos mecanismos dessas reações de desfosforilação, da reatividade de nucleófilos e das rotas reacionais possíveis tem sido pauta de estudos e estão atrelados a projeção de novos catalisadores para detoxificação química.

Esquema 6 – Organofosforados com restrições de uso pela Organização Mundial da Saúde, União Europeia e Estados Unidos.

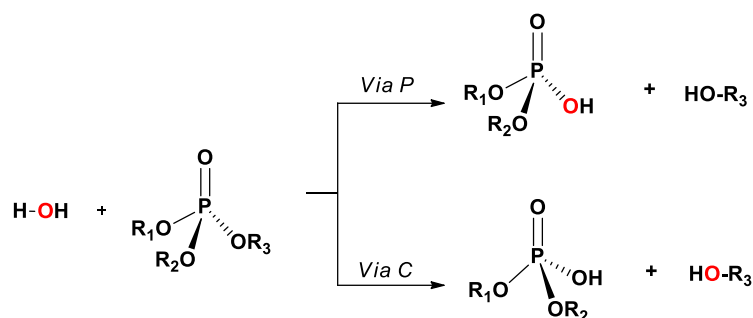


Fonte: Adaptado de Campos (2017).¹¹

1.2 Mecanismos de degradação de triésteres de fosfato: rotas de substituição nucleofílicas e hidrólise.

As reações de desfosforilação de Organofosforados com grupo P=O e bons grupos abandonadores promovidas por agentes nucleofílicos ocorrem tipicamente via fósforo (Via P), em que o ataque nucleofílico leva à clivagem da ligação P–O, como indicado no Esquema 7. A reação via carbono (Via C), ocorre competitivamente apenas em alguns casos particulares,⁵ ou em organofosforados contendo ligação P=S envolvendo nucleófilos fortes.²⁶

Esquema 7 – Rotas de substituição de triésteres de fosfato.



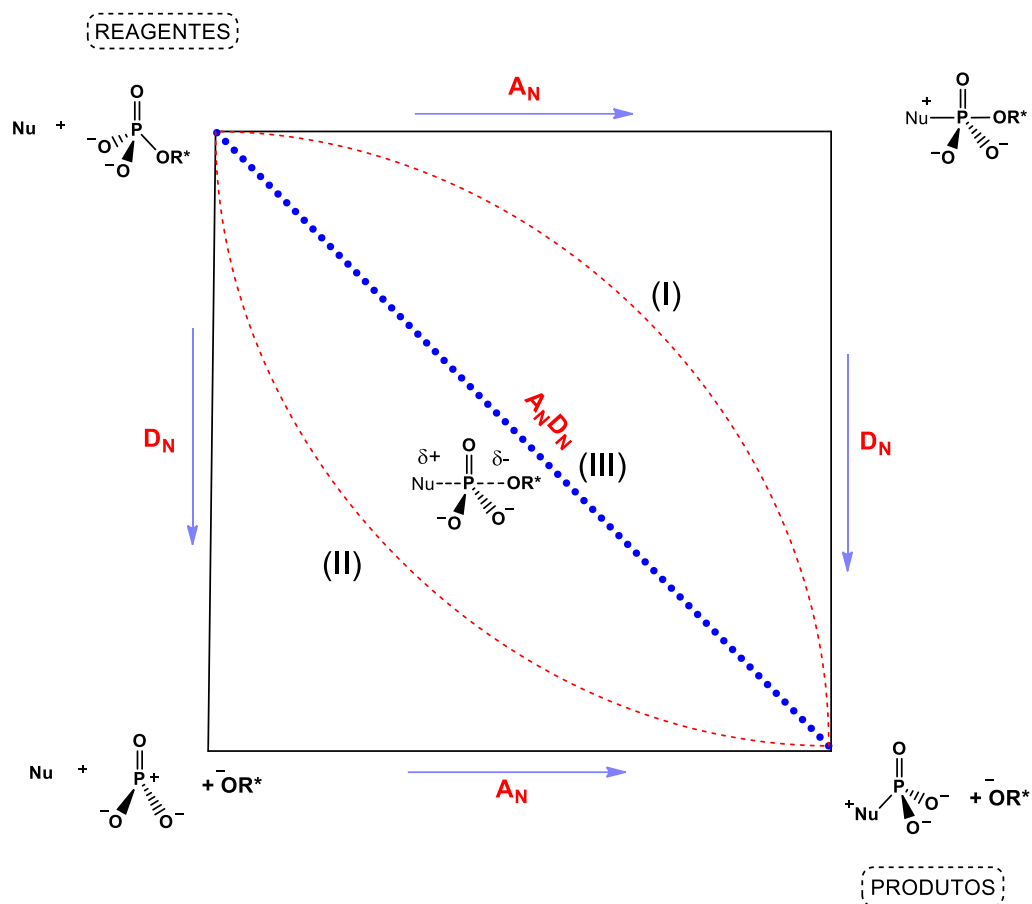
R₁, R₂ = Grupos expectadores

Fonte: Adaptado de Campos (2017).¹¹

Os mecanismos de substituição nucleofílica via fósforo podem ser classificados em três categorias, sendo eles: (I) associativo (A_N+D_N), em duas etapas com formação de intermediário pentacoordenado após adição do nucleófilo e posterior eliminação do grupo abandonador; (II) dissociativo (D_N+A_N), também em duas etapas, com grupo abandonador eliminado primeiramente, levando a um intermediário muito eletrofílico de geometria trigonal plana, com a formação da nova ligação entre o nucleófilo e o fósforo; (III) concertado (A_ND_N), com simultâneo ataque nucleofílico e saída do grupo abandonador, em uma etapa única.⁵

A Figura 3 apresenta o diagrama bidimensional de More O’Ferral-Jencks, que ilustra os três mecanismos e cada distintos plausíveis etapa reacional. As divisões I e II estão nas arestas do diagrama, levando aos intermediários formados, que podem ser encontrados nos primeiros vértices do diagrama, a partir dos reagentes. No interior do diagrama encontra-se o mecanismo concertado. As curvas representadas pelo pontilhado vermelho são relacionadas ao postulado de Hammond e característica do estado de transição (ET), indicando que o mecanismo concertado pode ser assíncrono, com caráter associativo ou dissociativo, resultante de fatores estéricos e eletrônicos de cada sistema envolvido no ET.²⁷

Figura 3 – Diagrama de More O’Ferral-Jencks contendo os possíveis mecanismos de reação envolvendo substituição nucleofílica via fósforo.

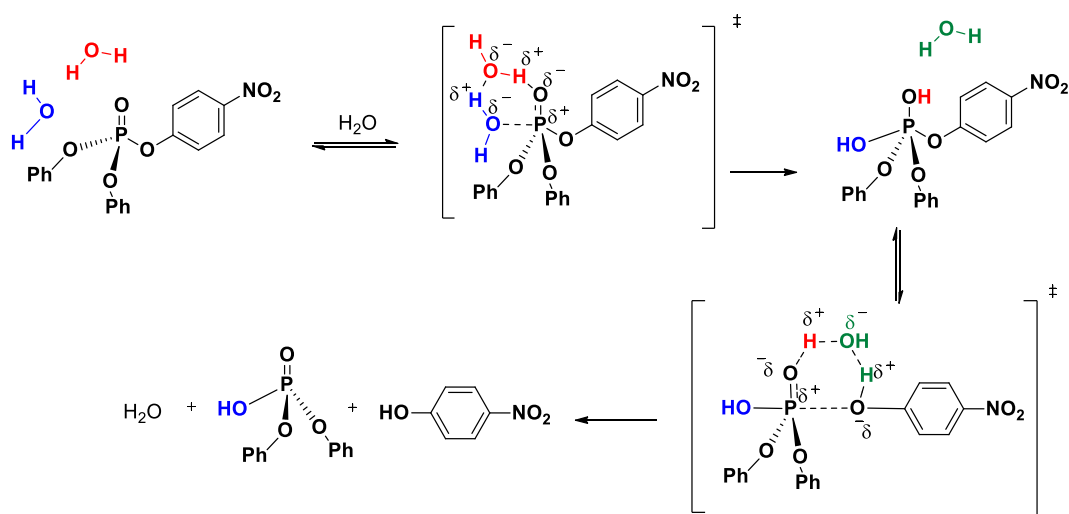


Fonte: Adaptado de Campos (2017).¹¹

As reações envolvendo hidrólise de organofosforados estão entre as mais estudadas, evidenciando a regioespecificidade da reação via fósforo,²⁸ em competição entre os mecanismos associativo (i) e concertado (iii).^{23,29} Nesse contexto, através de cálculos computacionais, Kirby e colaboradores avaliaram a hidrólise do triéster difenil-2-nitro-fosfato.³⁰ A divergência de resultados teóricos iniciais com dados experimentais de décadas antes, levaram a hipótese de que mais do que uma molécula de água estariam envolvidas no ET, e não apenas uma atuando como nucleófilo da reação. Nesse estudo, então, verificou-se que três moléculas de água atuam no ET, em que através de ligação de hidrogênio e prototropismo a barreira de ativação diminui drasticamente se comparado a apenas uma molécula de água, chegando a resultados concordantes com o valor de energia de ativação obtido experimentalmente. Assim, o

mecanismo proposto pelos autores está representado no Esquema 8. Nota-se que enquanto uma molécula de água atua como nucleófilo, outra atua como mediadora de transferência de um próton até o grupo fosforila. Por fim, uma terceira molécula de água promove a desprotonação da fosforila e transferência de próton ao grupo abandonador, que sai neutro. Resultados mostraram que esse mecanismo é mais favorável em relação ao concertado, com diferença na barreira de ativação de 3,12 kcal mol⁻¹.

Esquema 8 – Mecanismo de hidrólise do difenil-2-nitro-fosfato.



Fonte: Adaptado de Kirby.³⁰

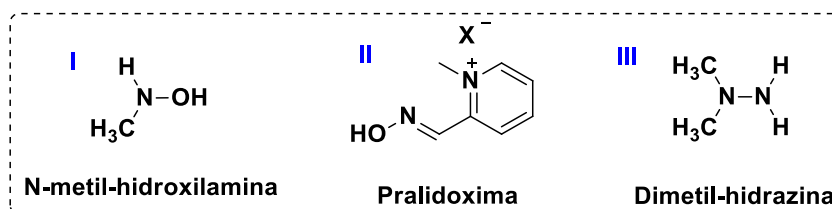
1.3 Reações de transferência do grupo fosforila promovidas por nucleófilos.

Os mecanismos citados anteriormente no item 1.1 norteiam estudos envolvendo a transferência do grupo fosforila através de diversos nucleófilos diferentes. Estes, por sua vez, estão dentro de classes específicas de compostos químicos que podem ser avaliados individualmente, cada um com sua particularidade de reatividade, seletividade e principalmente, o mecanismo que o distingue. Podemos citar, por exemplo, nucleófilos do tipo α^{31} , heterociclos³² e outros nucleófilos³³.

1.3.1 A reatividade de α -nucleófilos frente a reações de desfosforilação.

Nucleófilos do tipo alfa (α -nucleófilos) são conhecidos por sua elevada nucleofilicidade, inclusive acima da prevista por escalas de pK_a . Dentre as explicações mais aceitas está a característica de apresentarem um par de elétrons livre no átomo ligado diretamente ao centro nucleofílico.¹ Hidroxamatos,³⁴ hidrazina²¹, hidroxilaminas³⁵ e as oximas (Esquema 9) são exemplos de classes que detêm efeito alfa e muitas já tiveram sua reatividade investigada em reações com organofosfatos.^{34,36} Os incrementos catalíticos de reações podem chegar a ordem de 10^8 em relação à hidrólise espontânea.³⁶

Esquema 9 – Estrutura molecular de uma (I) hidroxilamina; (II) oxima e (III) hidrazina.



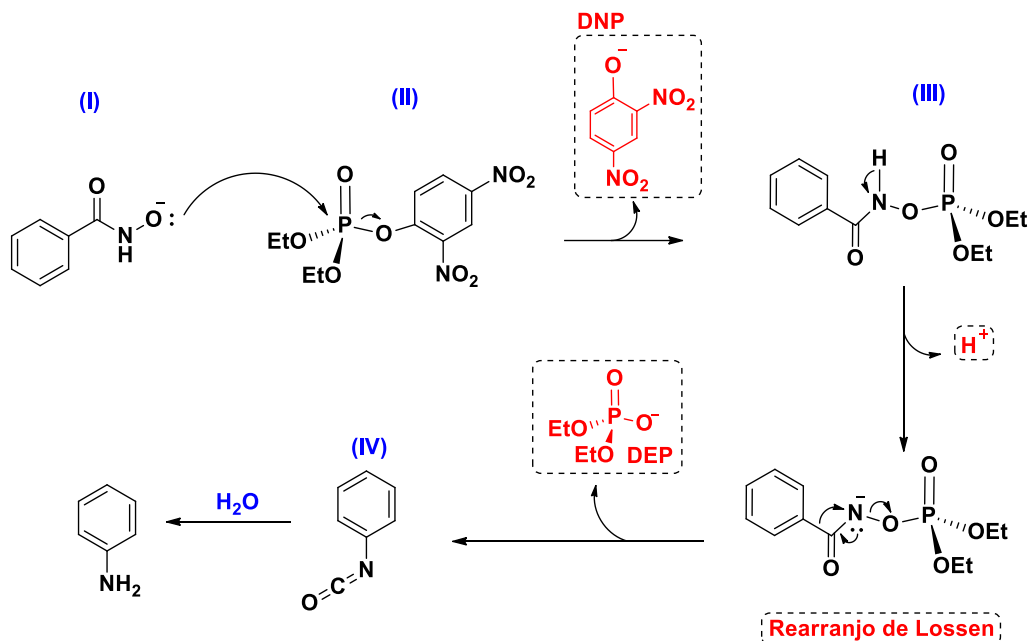
Fonte: Aatoria Própria

A grande desvantagem da utilização dessas substâncias é que em alguns casos há formação de novas espécies fosforiladas impassíveis a solvólises, processo que caracterizaria uma reação catalítica. Em outros casos, a espécie sofre outras reações secundárias em que o produto final não é o nucleófilo regenerado, ou seja, eles não são seletivos e ainda podem percorrer caminhos paralelos na reação.

Como denominado por Orth e colaboradores, hidroxamatos e oximas podem realizar reações de “ataque suicida”, devido a conversão de um nucleófilo extremamente forte em um nucleófilo fraco sem atividade catalítica.²¹ O Esquema 10 descreve um desses casos, em que o íon benzohidroxamato (BHO⁻) ataca o fósforo do triéster dietil-2,4-dinitrofenil fosfato (DEDNPP) liberando o grupo abandonador 2,4-dinitro-fenolato (DNP). Além disso, o ataque nucleofílico resulta na formação de um intermediário que rapidamente sofre o rearranjo de Lossen para a formação do fenil-isocianato. A hidrólise do fenil-isocianato resulta no dietil-fosfato (DEP) e na anilina, que é um nucleófilo fraco incapaz de realizar um subsequente ataque nucleofílico para a transferência do grupo fosforila de outra molécula de DEDNPP, um dos requisitos fundamentais para a

ocorrência de um processo catalítico, além de não ser facilmente conversível ao nucleófilo original. Além disso, a reação não é seletiva, visto que o íon BHO^- tem capacidade de atacar o carbono alifático.

Esquema 10 – Ataque suicida do BHO^- ao DEDNPP.

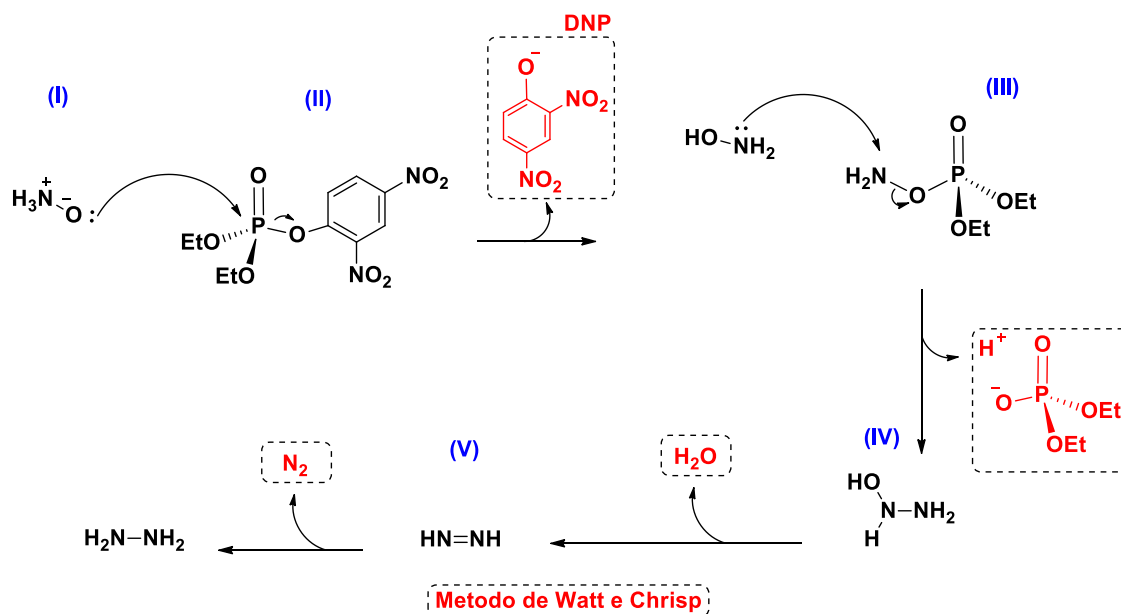


Fonte: Adaptado de Orth (2009).²¹

Outro nucleófilo com efeito alfa que também é importante mencionar é a hidroxilamina que, apesar de ser um nucleófilo ambidentado, geralmente apresenta fosforilação seu através do oxigênio, que é favorecido devido ao caráter mais duro em relação ao nitrogênio.³⁷ Entretanto, Kirby e colaboradores constataram que o produto formado e observado na Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^{31}P não era referente ao zwitterion fosforilado. A evidente formação de hidrazina como subproduto os levou a percepção de que outra molécula de hidroxilamina livre em solução estaria atuando como base,³⁸ conforme descrito no Esquema 11. Assim, foi proposto que a hidroxilamina na sua forma zwitteriônica (I) ataca o fósforo do triéster (II) levando a formação de um intermediário (III) o qual rapidamente reage com outra molécula de hidroxilamina, agora pelo nitrogênio, formando um intermediário instável (IV) (HONHNH_2). A literatura descreve o método de Watt e Chrisp para produção de hidrazina e nitrogênio gasosos como produtos da reação entre duas diimidás (V) que,

nesse caso, foi formada pelo intermediário (IV).³⁴ Assim, o produto final da reação é uma hidrazina, e a hidroxilamina não é regenerada ao fim do processo.

Esquema 11 – Proposta de mecanismo da reação entre Hidroxilamina e DEDNPP.



Fonte: Adaptado de Kirby (2008).³⁸

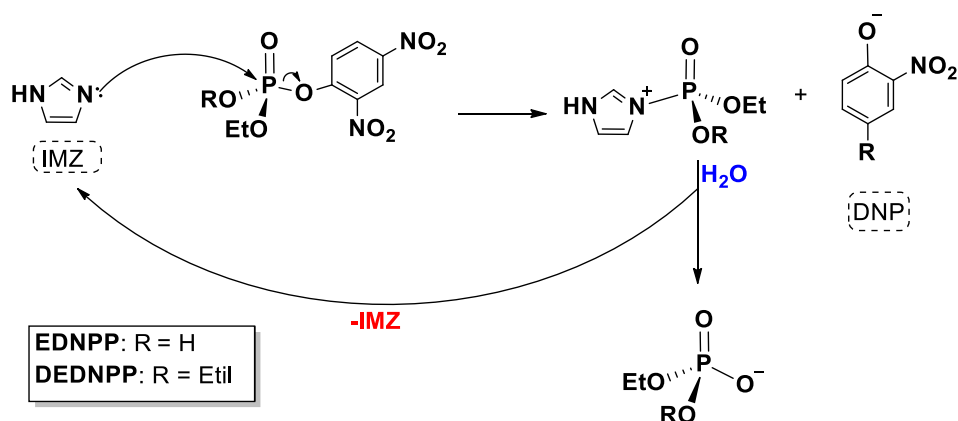
1.3.2 Processos catalíticos em reações de desfosforilação: a reatividade do imidazol e derivados.

Um processo se torna autenticamente catalítico em reações de desfosforilação se o intermediário fosforilado for hidrolisado (ou solvolisado), de modo que o agente promotor da clivagem do organofosforado seja regenerado e, idealmente, utilizado em baixa concentração relativa ao substrato. Essas características têm sido observadas em reações envolvendo estruturas micelares,³⁹ complexos metálicos⁴⁰ e materiais funcionalizados,⁴¹ os quais têm se mostrado extremamente eficientes para as reações de transferência do grupo fosforila.

Buscar novas espécies de baixa massa molecular tem sido um significativo norteador para projeção de sistemas para detoxificação de organofosforados. As enzimas são inspiradoras por seu sítio ativo extremamente eficiente, seletivo e específico à reação que catalisa, se beneficiando de interações intermoleculares fracas

com o soluto.^{4,42} Nesse contexto, como citado anteriormente, o IMZ é um resíduo de aminoácido da His que, por exemplo, exerce papel fundamental na catálise da hidrólise da acetilcolina e na desfosforilação do RNA, durante processo de síntese de proteínas.²¹ Essa versatilidade do IMZ inspirou estudos que puderam avaliar e confirmar a eficiência do IMZ também frente a degradação de organofosfatos, sendo, de fato, catalítica. Tal observação foi proposta em estudo de sua reatividade diante de uma série de organofosfatos, como o etil-2,4 dinitrofenil fosfato (EDNPP) e DEDNPP, promovendo degradação com incrementos catalíticos acima de 10^3 vezes²¹ em relação a suas hidrólises espontâneas. Espectros sucessivos de RMN indicaram mecanismo via fósforo, condizente com ataque nucleofílico do nitrogênio imínico do IMZ, levando a formação de intermediário fosforilado rapidamente hidrolisado, conforme mostrado no Esquema 12.

Esquema 12 – Mecanismo de reação do IMZ com DEDNPP e EDNPP.

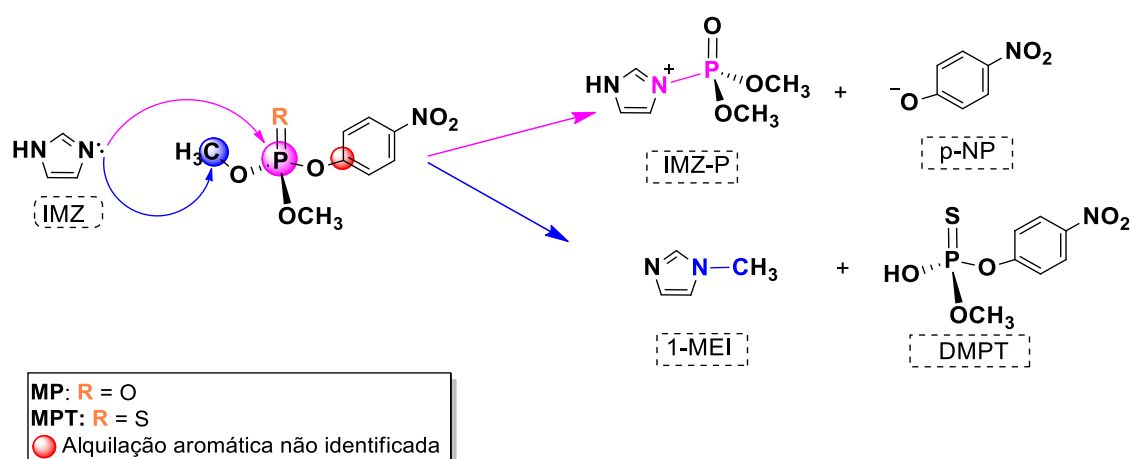


Fonte: Adaptado de Orth (2011).²¹

A eficiência catalítica do IMZ em processos de transferência do grupo fosforila no organismo (vide supra) também tem estimulado outros estudos envolvendo seu uso em reações com pesticidas reais, sendo tipicamente observado comportamento catalítico. Estudos tem mostrado que o IMZ atua de forma eficiente na degradação do Paraoxon, levando a incrementos catalíticos na ordem de 10^6 quando comparado à hidrólise espontânea deste pesticida,⁴³ em processo exclusivamente via clivagem da ligação P–O. Também fora observado alta reatividade com outros organofosforados, inclusive

com ligações P=S, apesar de, nesse caso, haver competição entre rotas via fósforo e carbono.²⁶ Por exemplo, Silva e colaboradores avaliaram a reatividade do IMZ frente ao organotiofosfato (OTP) Metil-Paration (MPT), e compararam com o organofosfato Metil-Paraoxon (MP) em termos da competição de rotas e reatividade. Como já mencionado, o produto de degradação desejado desse tipo de reação é via fósforo, uma vez que a solvólise do produto é facilmente efetivada para regeneração do catalisador. Já o produto formado via carbono leva a alquilação do nucleófilo pelo carbono alifático, reduzindo sua atividade catalítica. A reação do IMZ com o MP resulta na reação via P, formando o IMZ fosforilado (IMZ-P) e o p-nitro-fenolato (p-NP), conforme indicado na cor rosa no Esquema 13. Por sua vez, a reação do IMZ com o MPT está demarcado pela coloração azul no mesmo esquema, resultando na alquilação do nucleófilo que forma o 1-metilimidazol (1-MEI), cuja nucleofilicidade é inferior à do IMZ.⁴⁴ Apesar da competitividade das rotas, essa reação via fósforo (IMZ – P) leva a apenas 1% do produto, enquanto o nucleófilo alquilado é formado majoritariamente na reação. Além disso, o produto formado da reação é o ácido-O-metil-O-paranitrofenil-tiofosfato (DMPT), espécie cuja toxicidade não é tão atenuada quanto a produtos formados de reações via P.³³

Esquema 13 – Rotas plausíveis de reação do IMZ com MPT e MP.

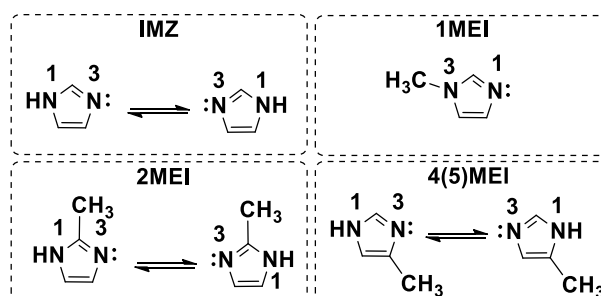


Fonte: Adaptado de Silva.²⁶

A fim de potencializar a reatividade do IMZ frente a reações de desfosforilação, Campos e colaboradores realizaram estudos teóricos e experimentais envolvendo derivados do IMZ para verificar a influência de substituintes (Esquema 14). Em um

primeiro trabalho foram investigados derivados metilados monosubstituídos, visto que grupos alquila podem atuar como indutores de carga. Dos 4 derivados avaliados nos estudos cinéticos, pode-se destacar o 4,5-metilimidazol (4(5)MEI), foi o único que apresentou reatividade maior que o anel não substituído. Essa espécie conta com equilíbrio tautomérico envolvendo duas espécies diferentes: 5-metilimidazol e 4-metilimidazol. A reatividade de ambos os tautômeros foi distinguida através de cálculos teóricos e análises por RMN de ^{31}P , mostrando que tautômero metilado na posição 5 é o responsável por tornar o IMZ mais reativo, enquanto o tautômero 4MEI apresentou baixa reatividade relativa. Análises por RMN de ^{31}P indicaram que o processo também é catalítico para o 4(5) MEI e, como mencionado, surpreendentemente a reatividade de ambos os tautômeros pôde ser acessada, através da detecção e monitoramento da formação e degradação de dois intermediários fosforilados diferentes.⁴⁵

Esquema 14 – Equilíbrio tautomérico em metilimidazóis.

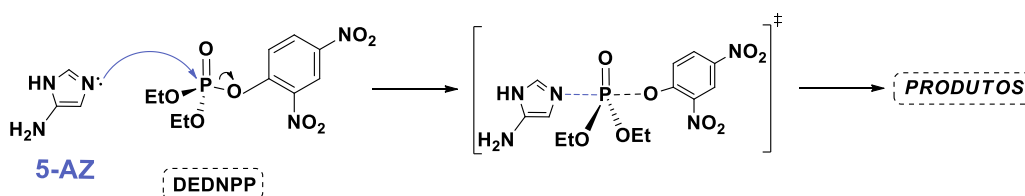


Fonte: Adaptado de Campos.¹¹

Em estudo subsequente, foram investigados substituintes no anel que pudessem estabilizar o ET através da capacidade de ligação de hidrogênio entre nucleófilo e eletrófilo ou serem indutores de carga para aumentar a nucleofilicidade do nitrogênio. Com isso, foram realizados cálculos teóricos em nível B3LYP/6-31+g(d,p) para vários derivados de IMZ 4,5-monossubstituídos (grupos SH, NH₂ e OH), com destaque ao 5-aminoimidazol (Esquema 15) que apresentou menor barreira de ativação. Uma explicação plausível para este resultado é a maior ativação do anel imidazólico por conjugação do par de elétrons do nitrogênio, levando a diminuição da barreira necessária para atingir o ET. De fato, os cálculos acusaram barreira sutilmente menor

(0,4 kcal mol⁻¹) em relação ao IMZ não substituído,¹¹ mais uma vez indicando que sua reatividade é mais influenciada através de grupos doadores instalados na posição 5.

Esquema 15 – Mecanismo concertado proposto para a reação do 5-AZ com DEDNPP a partir de cálculos realizados em nível B3LYP/6-31+g(d,p).

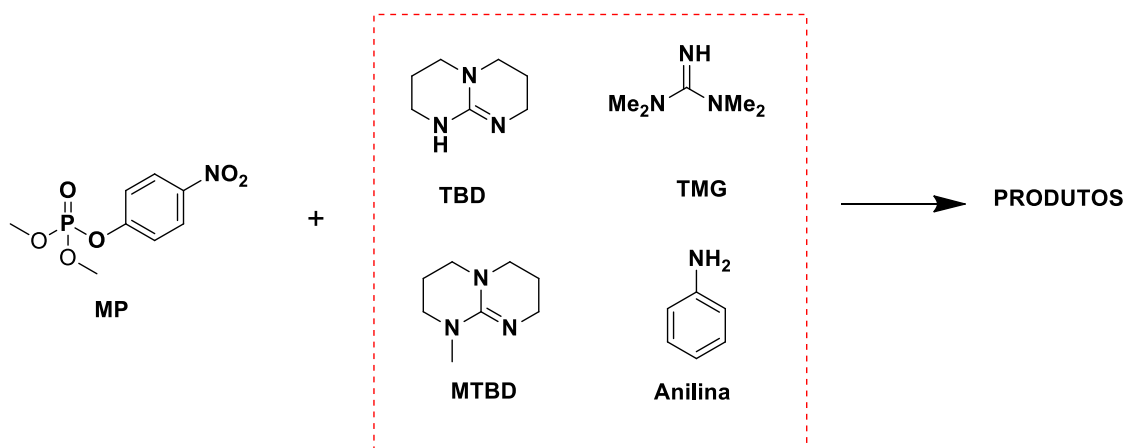


Fonte: Adaptado de Campos (2017).¹¹

1.3.3 Outros compostos nitrogenados como agentes detoxificantes de Organofosfatos

Além dos famosos gases VX e GB, os autores também utilizaram o pesticida MP, visto que esse é considerado estruturalmente simulante para estudos de reações com agentes nervosos. Dentre as espécies avaliadas, o estudo destaca compostos imínicos como o 1,5,7-triazobiciclo [4.4.0] dec-5-eno (TBD), 7-metil-1,5,7-triazobiciclo[4.4.0]dec-5-eno (MTBD) e trimetil-guanidina (TMG) como excelentes promotores da degradação do MP (Esquema 16). O poder nucleofílico destes compostos imínicos levaram a completa conversão do MP em um diéster atóxico em até 60 minutos para o TBD e MTBD, período extremamente curto frente a hidrólise desse organofosfato, que em 7 meses apenas 24% foi convertido em produto atóxico.⁴⁶ Por meio de estudos cinéticos por RMN, foi possível observar a diminuição da intensidade do sinal referente ao MP e a confirmação da formação do intermediário fosforilado seguida de sua hidrólise, levando a regeneração dos nucleófilos. Espectros sucessivos de RMN também foram obtidos para outros compostos nitrogenados, porém estas substâncias não apresentaram resultados tão satisfatórios quanto os compostos que possuem o grupo imina. A anilina, por exemplo, que é um nucleófilo fraco,²¹ levou cerca de 68 dias para completar a reação.

Esquema 16 – Estrutura do MP e compostos nitrogenados avaliados.



Fonte: Adaptado de Wilson.⁴⁶

Os estudos apontam que compostos imínicos, em geral, se comportaram de maneira eficaz frente a desfosforilação de organofosfatos, evidenciando o alto poder nucleofílico de moléculas que possuem o grupo imina. Além disso, ressalta-se a facilidade de hidrólise dos intermediários com ligação N(imina)–P, indicativo da regeneração do nucleófilo como catalisador autêntico da reação, porém, em certos casos, apenas em condições reacionais específicas, com controle do número de equivalentes de catalisador.⁴⁶

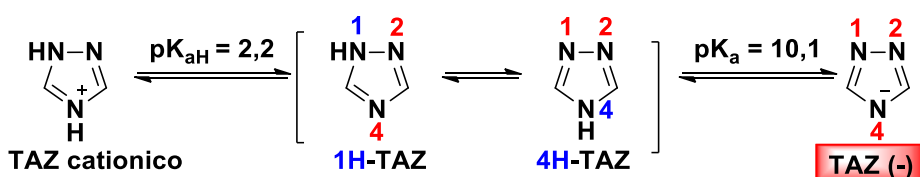
1.3.4 A química do heterocíclico 1,2,4-triazol

Compostos heterocíclicos possuem importância incontestável — sua versátil atuação permite uma vasta aplicação já conhecida e reportada na literatura, permitindo a realização da síntese de moléculas que são facilmente encontradas no dia a dia, como vitaminas, medicamentos e até mesmo em dispositivos eletrônicos e sensores.⁴⁷ Um caso interessante para reações nucleofílicas é o 1,2,4-triazol (TAZ), um heterociclo imínico que pode ser obtido através de reações de ciclo desidratação de N-N diacil-hidrazinas com aminas.⁴⁷ O TAZ é um precursor responsável na produção de uma série de medicamentos, como o Anastrozol, amplamente utilizado no tratamento de câncer de mama,⁴⁸ o Fluconazol, conhecido pelo tratamento de infecções fúngicas⁴⁹ e, na

classe dos fungicidas, temos o Tebuconazol, utilizado para o tratamento de fungos patogênicos em plantas.⁵⁰

Sendo análogo do IMZ, o foco do presente estudo envolvendo a reatividade do TAZ foi encorajada pela hipótese de que o nitrogênio piridínico adicional, que o torna mais ácido,¹ (pK_a de 10,1⁵¹) permitiria o acesso a sua forma aniônica — sendo essa mais nucleofílica que a forma neutra — em pH mais baixo que o IMZ ($pK_a^{IMZ} = 14,0$ ⁵²). Além disso, o TAZ apresenta equilíbrio tautomérico em sua forma neutra, e essa versatilidade estrutural pode ser importante para sua reatividade.⁵³ O Esquema 17 apresenta o tautomerismo, as diferentes espécies e centros nucleofílicos, sendo o número dos nitrogênios de cada tautômero representados pelas cores (i) azul, remetendo ao nome da estrutura tautomérica; (ii) vermelho, indicando os centros nucleofílicos do tautômero em questão.

Esquema 17 – Equilíbrio tautomérico entre as espécies do TAZ.



Fonte: Autoria Própria

O 1H-TAZ possui dois centros nucleofílicos distintos representados pelos nitrogênios 2 e 4 (1H-TAZ N2; 1H-TAZ N4), enquanto o 4H-TAZ possui um único centro nucleofílico, visto que o plano horizontal de simetria molecular indica que os nitrogênios 1 e 2 são idênticos. Devido a perda do próton, a formação da espécie aniônica leva a perda do tautomerismo. Entretanto, esta espécie ainda possui dois centros nucleofílicos não equivalentes, o primeiro sendo representado pelo nitrogênio 4 (TAZ (-) N4), e o segundo representado pelos nitrogênios 1 e 2 (TAZ (-) N2), idênticos por simetria molecular.¹

Em trabalho realizado há mais de quatro décadas, com o intuito de investigar o equilíbrio tautomérico do TAZ, técnicas experimentais foram realizadas através da incidência de radiação microondas nessa espécie em fase gasosa. O estudo não detectou a presença do tautômero 4H-TAZ, evidenciando que o tautômero 1H-TAZ é

predominante em fase gasosa.⁵⁴ Entretanto, ainda com esse foco, em 1990 Cox e colaboradores realizaram um estudo teórico para averiguar o quão predominante é o tautômero 1H-TAZ em relação ao 4H-TAZ. Através de simulações computacionais por cálculos *ab Initio*, utilizando o nível de teoria MP2/3-21G, foi possível determinar a constante de equilíbrio de 2×10^{-5} para a interconversão entre os dois tautômeros, sugerindo a presença do 4H-TAZ, ainda que minoritariamente.⁵⁵

Com isso, o TAZ é candidato a potencial catalisador para reações de degradação de organofosforados, pois, hipoteticamente, seu grupo imina altamente reativo poderia formar um intermediário passível de ser hidrolisável para regeneração do catalisador. Nesse contexto, com o intuito de obter maiores detalhes acerca da reatividade dessa espécie que até o momento não havia sido estudado frente a degradação de organofosfatos, estudos cinéticos e cálculos mecânico-quânticos se mostram promissores para investigação dos sistemas. Isso porque associação entre as técnicas experimentais e teóricas permite a complementaridade, minimizando limitações de cada abordagem. Ademais, investigar a atividade catalítica desse heterociclo e efeitos de substituintes pode levar a catalisadores ainda mais efetivos, auxiliando a projeção de novos *scaffolds* moleculares para processos de detoxificação e encorajando o desenvolvimento de novos materiais.

1.4 Algumas aplicações de cálculos baseados na teoria do funcional da densidade na química de organofosfatos.

Para uma melhor compreensão de mecanismos de reação, cálculos computacionais têm sido ferramenta fundamental, sendo utilizados desde determinação de fatores que governam a quebra e formação de ligações químicas, localização de ETs, determinação de barreiras de ativação, dentre outras aplicações, permitindo explorar qualquer sistema químico para determinar e explorar suas propriedades para diversos propósitos. Dentre os métodos de aproximação de resolução da equação de Schrodinger para sistema polieletrônicos, por exemplo para aplicação na química de organofosforados, a teoria do funcional da densidade (DFT, do inglês density functional theory) tem tido grande êxito e ampla utilização, visando elucidação de mecanismos de reação e até mesmo a projeção e design de catalisadores para sua degradação, uma

vez que as simulações computacionais podem levar a obtenção de estruturas mais específicas para a degradação do organofosforado em questão. A DFT, diferente de outros métodos baseados em funções de onda, utiliza a densidade eletrônica distribuída pela molécula, que é propriedade observável do sistema.^{56,57} A partir disso, W. Kohn e L.J Sham (1965) propuseram equações em função de um único elemento de volume, essa equação – conhecida como Equações de Kohn-Shan – determina a energia do sistema por meio da densidade de probabilidade (ρ) em encontrar um elétron em determinada região (r) do espaço. A expressão $E[\rho(r)]$ representa essa equação, em que, como mencionado, a energia do sistema é uma função da densidade eletrônica que, por conseguinte, é função da região do espaço. Em termos matemáticos, expressões deste tipo são chamadas de funcional.⁵⁸ Os termos de energia que estão relacionados à esse funcional estão contidos na Equação 1, em que E^T é o termo relacionado a energia cinética e eletrônica considerando a aproximação de Born-Oppenheimer, E^V é a energia de atração núcleo-elétron e repulsão nuclear, E^J que considera a energia relativa à repulsão eletrônica e por fim (E^{CT}), que contempla a interação de correlação e troca entre elétrons com spins paralelos, além de estar ligado a aproximação da relação entre energia do sistema e densidade eletrônica.

$$E[\rho(r)] = E^T [\rho(r)] + E^V [\rho(r)] + E^J [\rho(r)] + E^{CT}[\rho(r)] \quad (1)$$

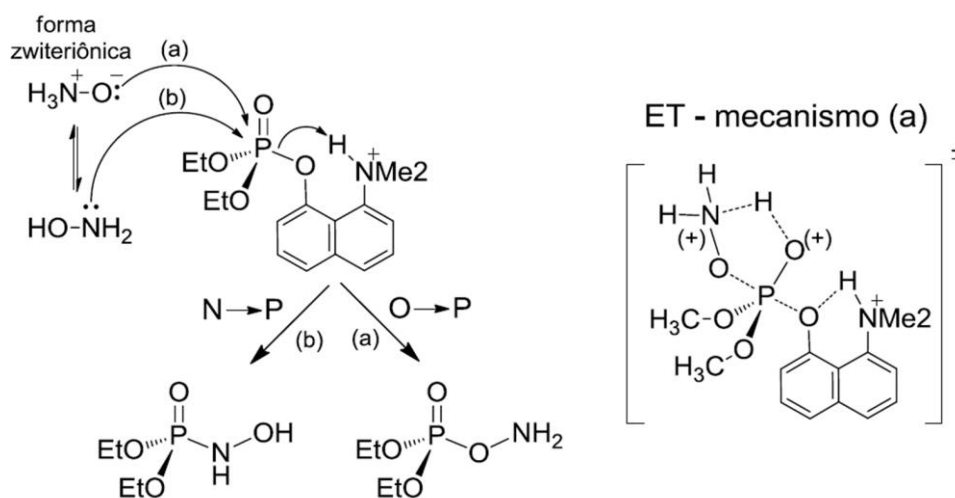
Não existe função conhecida que possa estimar E^{CT} exatamente, para que relacione com precisão a densidade eletrônica e a energia. Por isso, faz-se necessário a utilização de outras aproximações para representar este termo, originando vários funcionais e a escolha desses é fundamental para que haja representatividade de dados experimentais.^{11,58} Para cálculos de geometria de moléculas orgânicas, o funcional B3LYP⁵⁹ tem sido amplamente utilizado, enquanto que para determinação de barreiras de reação e quantificação de interações, por exemplo, o M06-2X⁶⁰ têm apresentado resultados confiáveis.

Além dos estudos já mencionados (vide supra), recentemente Kamerlyn e colaboradores desenvolveram a projeção de novas enzimas que são capazes de catalisar a degradação de organofosforados com grupos abandonadores mais resistentes. Na situação, foram realizadas simulações envolvendo o gás VX e com o organofosfato diisopropilfluorofosfato, comparando as eficiência catalíticas dessas

enzimas projetadas com hidrolases, as quais já possuem comprovação de eficiência catalítica na detoxificação de organofosforados com estabilidade menor.⁶¹

Esse tipo de cálculo também é muito visado para sistemas nucleofílicos, como mencionado anteriormente, a hidroxilamina é um α -nucleófilo ambidentado com grande potencial nucleofílico para promover reação de desfosforilação, sabendo disso, estudos envolvendo sua reatividade frente ao triéster dietil-8-dimetilamônio-1-naftol foram realizados através de cálculos teóricos para determinar o mecanismo da reação. Cálculos realizados em nível Hartree-Fock com o conjunto de base 6-31/+G(d,p) determinaram que a estrutura zwitteriônica deste ligante ($^+NH_3O^-$) é a mais reativa, sendo o ataque nucleofílico realizado preferencialmente pelo oxigênio aniônico³⁸ (mecanismo (a), Esquema 18) devido a possibilidade de ligação de hidrogênio com a fosforila, conforme indicado pelo ET apresentado neste mesmo esquema.

Esquema 18 – Mecanismos de reação da hidroxilamina com um triéster de fosfato e ET do caminho a).



Fonte: Adaptado de Kirby.³⁸

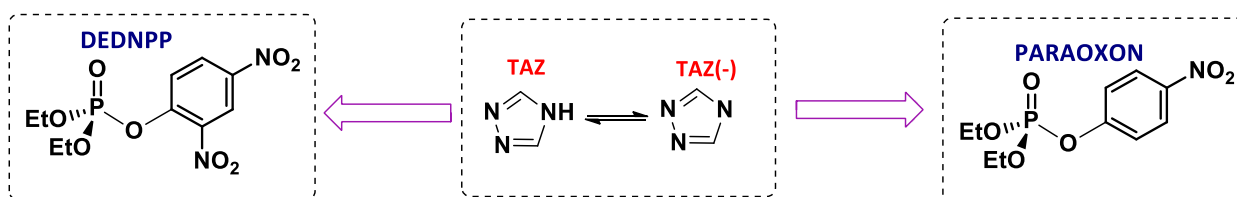
Assim, os cálculos computacionais tem se mostrado ferramentas muito importantes para elucidação de mecanismos de reação, pois sistemas complexos podem ser estudados e avaliados através de cálculos computacionais, que simulam a reação de uma forma muito precisa. Dentre várias aplicações dos cálculos computacionais, ele pode simplificar a elucidação de um mecanismo de reação, auxiliando no confronto de resultados obtidos experimentalmente e podendo reduzir custos de reações *in vitro* e até mesmo otimizar o tempo de bancada.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a degradação dos organofosfatos DEDNPP e Paraoxon por meio de estudos cinéticos e computacionais utilizando TAZ.

Esquema 19 – Estrutura dos organofosfatos avaliados com TAZ.



Fonte: autoria própria

2.2 Objetivos específicos

- Realizar estudos cinéticos da reação do TAZ com DEDNPP e Paraoxon, para avaliar a reatividade do nucleófilo na degradação dos substratos e comparar com estruturas similares propostas na literatura;
- Avaliar a influência do pH do meio reacional;
- Determinar os parâmetros de ativação como entalpia, entropia e energia de ativação para as reações entre o TAZ e DEDNPP;
- Realizar análises por RMN de ^1H e ^{31}P da reação do TAZ apenas com DEDNPP para verificar se o processo é catalítico e determinar a rota preferencial de reação;
- Realizar cálculos teóricos para propor, com detalhes, os mecanismos de reação mais favoráveis entre TAZ e DEDNPP;
- Avaliar a escolha do funcional nos cálculos teóricos de barreiras reacionais frente aos resultados experimentais.

3. METODOLOGIA

3.1 Reagentes

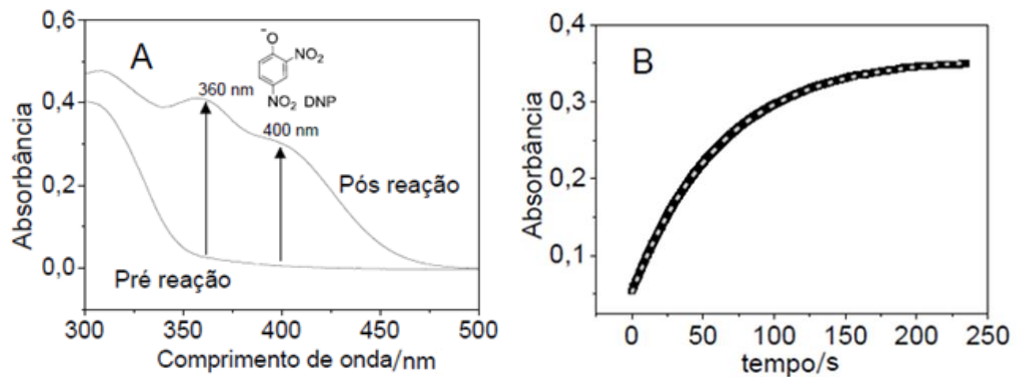
Os nucleófilos e tampões foram obtidos comercialmente pela Merck e não purificados antes da utilização. Já os organofosfatos foram obtidos em parceria com o grupo da prof. Dr^a Elisa Souza Orth, no Grupo de Catálise e Cinética (UFPR).

3.2 Estudo cinético

As reações foram realizadas em cubeta de quartzo de tampa redonda, utilizando um espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary, disponível no Laboratório Multiusuários de Análises Químicas (LAMAQ – UTFPR), e em espectrofotômetro UV-Vis Agilent Cary 60.

Nos estudos cinéticos avaliou-se os fatores: (i) efeito do pH; (ii) efeito da Temperatura; (iii) efeito da concentração do nucleófilo e (iv) Possibilidade de reação via Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr). Os estudos cinéticos foram realizados em condições de pseudo-primeira ordem, com base no monitoramento das reações através da técnica de espectroscopia de UV-Vis, registrando a absorvância referente aos produtos de clivagem do Paraoxon e DEDNPP via fósforo nos comprimentos de onda de 360 e 400 nm. Conforme estudo similar,³² preparou-se TAZ a 0,5 mol L⁻¹ em água e adicionou-se 3 mL dessa solução em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1cm. Posteriormente adicionou-se a esta cubeta 10µL da solução de organofosfato a 10⁻² mol L⁻¹ (solvente: acetonitrila). Os seguintes tampões a 0,01 mol L⁻¹ foram usados: citrato de sódio (de pH 3 a 6,2) e 2-Amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (de pH 7 a 9). As soluções foram auto-tamponadas com TAZ para valores de pH superiores a 9,0. Ao adicionar os orgafosfatos, a reação se inicia no espectrofotômetro a 25 °C. Espectros pré e pós-reação foram adquiridos, similar ao indicado na Figura 4.A, quando não foi possível monitorar por meio de espectros sucessivos, devido a rapidez das reações em certas condições. Os perfis cinéticos obtidos foram satisfatoriamente ajustados à equação de primeira ordem, como exemplificado na Figura 4.B.

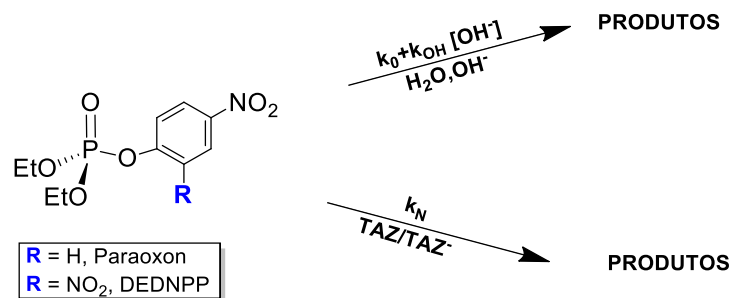
Figura 4 – A) Espectros típicos de pré e pós reação da clivagem do DEDNPP via fósforo. B) Perfil de pseudo-primeira ordem obtido pelos dados referentes ao monitoramento da banda em 400 nm.



Fonte: Campos (2009)¹¹

A lei de velocidade completa para as reações de consumo dos substratos (DEDNPP ou Paraoxon) está apresentada na Equação 2 e considera o esquema cinético de reações paralelas (Esquema 20), sendo contabilizadas as contribuições da hidrólise espontânea (k_0), hidrólise alcalina (k_{OH}) e a própria constante do nucleófilo (k_N), que será determinada a partir dos experimentos.

Esquema 20 – Rotas de degradação do DEDNPP e Paraoxon.



Fonte: Autoria própria

$$\frac{d[\text{Substrato}]}{dt} = -k_0[\text{Substrato}] - k_{OH}[\text{OH}][\text{Substrato}] - k_N[\text{Nu}][\text{Substrato}] \quad (2)$$

A equação pode facilmente ser reescrita como:

$$\frac{d[\text{Substrato}]}{dt} = -[\text{Substrato}](k_0 + k_{OH}[\text{OH}] + k_N[\text{Nu}]) \quad (3)$$

A equação de ajuste de reações em condições de pseudo-primeira ordem se baseia na variação da concentração do nucleófilo ser insignificante em relação à concentração do substrato, permitindo então que os parâmetros cinéticos sejam obtidos apenas em função da espécie que possui a menor concentração. Com isso, a Equação 3 pode ser reescrita em função da constante observada (k_{obs}), uma vez que as contribuições das constantes e concentrações de hidróxido e TAZ podem ser consideradas constantes (Equação 4).

$$k_{obs} = k_0 + k_{OH}[OH] + k_N[Nu] \quad (4)$$

Substituindo a Equação 6 em 5, tem-se que:

$$\frac{d[Substrato]}{dt} = -k_{obs}[Substrato]_t \quad (5)$$

A concentração do substrato é expressa em mol L⁻¹, o tempo (t) em segundos e k_{obs} em s⁻¹. A lei de velocidade representada na Equação 5 pode ser integrada no intervalo de tempo inicial (t=0) até um tempo t qualquer da reação levando a Equação 6.

$$[Substrato]_t = [Substrato]_0 e^{-k_{obs} t} \quad (6)$$

Algumas relações são importantes destacar considerando um balanço de massa entre o substrato e o produto formado. Em um tempo t qualquer de reação, a concentração do substrato é equivalente à diferença entre a concentração final do produto e a concentração nesse instante de tempo.

$$[Substrato]_t = [Produto]_{\infty} - [Produto]_t \quad (7)$$

Além disso, a concentração inicial do substrato é igual a concentração final do produto.

$$[Substrato]_0 = [Produto]_{\infty} \quad (8)$$

Substituindo as Equações 4 e 5 em 6, tem-se a equação 9 de pseudo-primeira ordem referente a formação do produto.

$$[Produto]_t = [Produto]_{\infty} (1 - e^{-k_{obs} t}) \quad (9)$$

Como o produto pode ser monitorado através da espectroscopia UV-Vis, pode-se utilizar a lei de Lambert-Beer (Equação 10) para relacionar a concentração do produto formado com a absorbância A , fazendo uso da absorvidade molar do produto (ε) em $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o caminho óptico da amostra (b) em cm.

$$A = \varepsilon b [\text{Produto}] \quad (10)$$

Assim, combinando as equações 9 e 10, obtém-se uma relação (Equação 11) entre k_{obs} e absorbância, podendo ajustar os dados diretamente das medidas espectrofotométricas.

$$A_t = A_0 + (A_\infty - A_0)(1 - e^{-k_{\text{obs}} t}) \quad (11)$$

Os termos A_t , A_0 e A_∞ são referentes às absorbâncias no tempo t , inicial e infinito respectivamente. O ajuste permite obter a constante observada, a qual está relacionada a parâmetros termodinâmicos do sistema, como no caso da energia de ativação (ΔG^\ddagger) de uma reação, que pode ser obtida através da Equação 12.

$$\Delta G^\ddagger = - \ln \left(\frac{k_{\text{obs}} h}{k_b T} \right) RT \quad (12)$$

Sendo k_b a constante de Boltzmann ($1,381 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$), h a constante de Planck ($6,626 \times 10^{-34} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-1}$) e R a constante dos gases ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$).

Outros parâmetros termodinâmicos foram obtidos através da realização das reações com variação da temperatura (T). Valores experimentais de Entalpia de ativação (ΔH^\ddagger) e Entropia de ativação (ΔS^\ddagger) foram obtidos utilizando o coeficiente angular e linear do Plot de Eyring (Equação 13) e através da Equação 14.

$$\ln \left(\frac{k_{\text{obs}}}{T} \right) = \left[\ln \left(\frac{k_b}{h} \right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \right] - \frac{\Delta H^\ddagger}{R} \left(\frac{1}{T} \right) \quad (13)$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger \quad (14)$$

3.3 Ressonância Magnética Nuclear

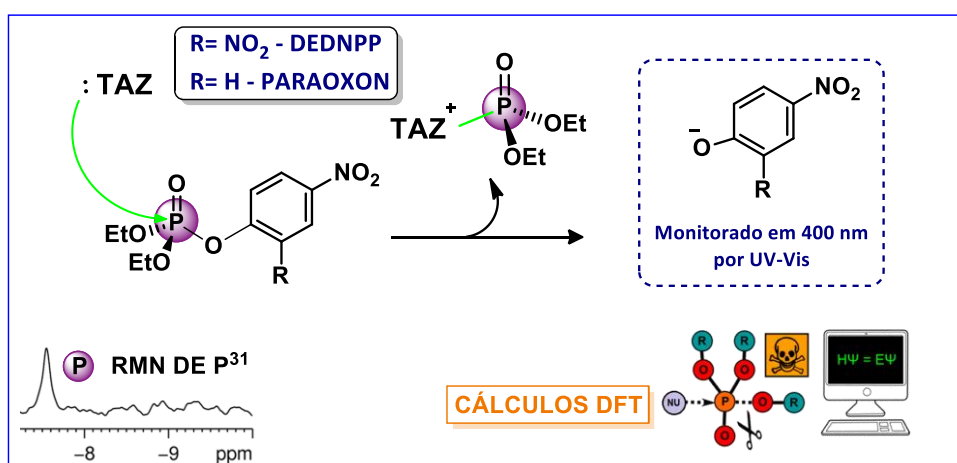
Os espectros de RMN unidimensionais (1D) foram adquiridos apenas para as reações de TAZ com DEDNPP. A reação foi realizada no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LabRMN) localizado na UFPR em um espectrômetro de RMN Bruker AVANCE III HD 400 operando a 9,4 T, equipado com uma sonda multinuclear de detecção direta de 5 mm com gradiente z.

Em um tubo de RMN, 50 μL de DEDNPP concentrado em acetonitrila ($2,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foram adicionados a 450 μL de solução de TAZ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os experimentos foram adquiridos usando 500 μL de CDCl_3 para moléculas isoladas e 1:9 acetonitrila / H_2O contendo 10% (v/v) de D_2O (para bloqueio e shimming) para monitorar as reações a 25°C .

Através da técnica de RMN de ^{31}P , pôde-se avaliar se o processo é catalítico monitorando as intensidades dos sinais referentes ao consumo de DEDNPP, hidrólise do intermediário formado ou do produto dietilfosfato. As análises de RMN foram realizadas em parceria com o professor Dr. Anderson Barison e o Dr. Leociley R. A. Menezes, na ocasião aluno do programa de pós-graduação em Química da UFPR.

Um resumo ilustrado da metodologia utilizada nesse trabalho está apresentado no Esquema 21.

Esquema 21 – Resumo da metodologia aplicada na pesquisa



Fonte: Autoria própria.

3.4 Cálculos teóricos

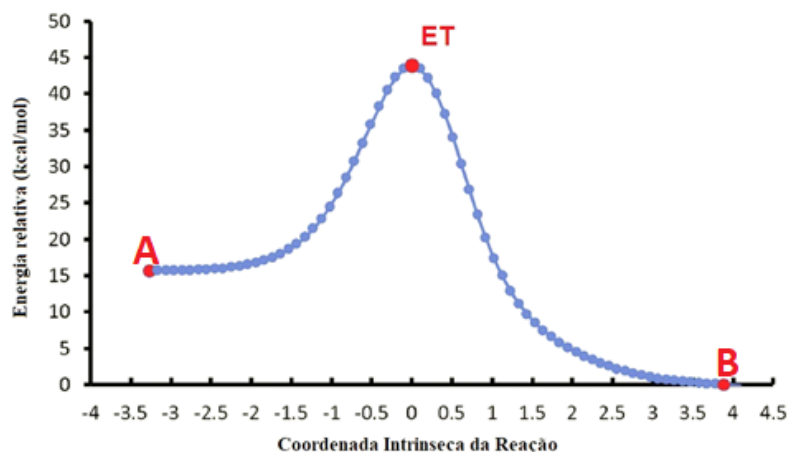
Os cálculos teóricos foram realizados apenas para a reação de TAZ e DEDNPP. Foram performados utilizando o *cluster* do Departamento de Física (DAFIS) da UTFPR e as máquinas do nosso grupo de pesquisa.

Inicialmente, o funcional B3LYP⁵⁹ combinado com o conjunto de base 6-31+G(d,p) foi utilizado para otimização da geometria molecular dos reagentes, produtos e ET propostos. Posteriormente, cálculos completos de otimização de energia utilizando o funcional M06-2X⁶⁰ combinado ao conjunto de base 6-311++G(d,p) foram realizados. Com isso, pode-se verificar a dependência da escolha do nível de teoria em relação a reatividade do TAZ. Foi utilizada a solvatação de modo implícito (smd – *do inglês: solvation model density*),⁶² metodologia em que o solvente é considerado com um contínuo visando redução de custo computacional.

O mapeamento da superfície de energia potencial de uma reação foi realizado através de *scans* de ligação. Assim, realizou-se a aproximação gradativa do nucleófilo ao substrato, até que o perfil de energia envolvido na formação e quebra de ligações apresentou um ponto de máximo. Essa geometria de ponto de máximo foi utilizada como ponto de partida para o cálculo do ET, que, após otimização completa, pode ser identificado por apresentar uma única frequência imaginária referente ao modo vibracional adequado para a reação de interesse.

Cálculos de coordenada intrínseca da reação⁶³ (IRC – *do inglês: Intrinsic reaction coordinate*) foram realizados para confirmar a estrutura do ET e identificar os mínimos de energia conectados a essa, conforme a Figura 5.

Figura 5 - IRC para um ET conectado ao reagente A formando o produto B.



Fonte: Adaptado de Wazzan & Safi.⁶⁴

As barreiras de ativação foram calculadas subtraindo o valor de energia de Gibbs encontrado para o ET do somatório de energia entre os reagentes, considerando os mínimos de energia infinitamente separados. Por fim, os resultados calculados foram comparados com a energia de ativação obtida experimentalmente para propor o mecanismo mais adequado. Todos os cálculos mecânico-quânticos foram realizados utilizando o software *Gaussian09*⁶⁵.

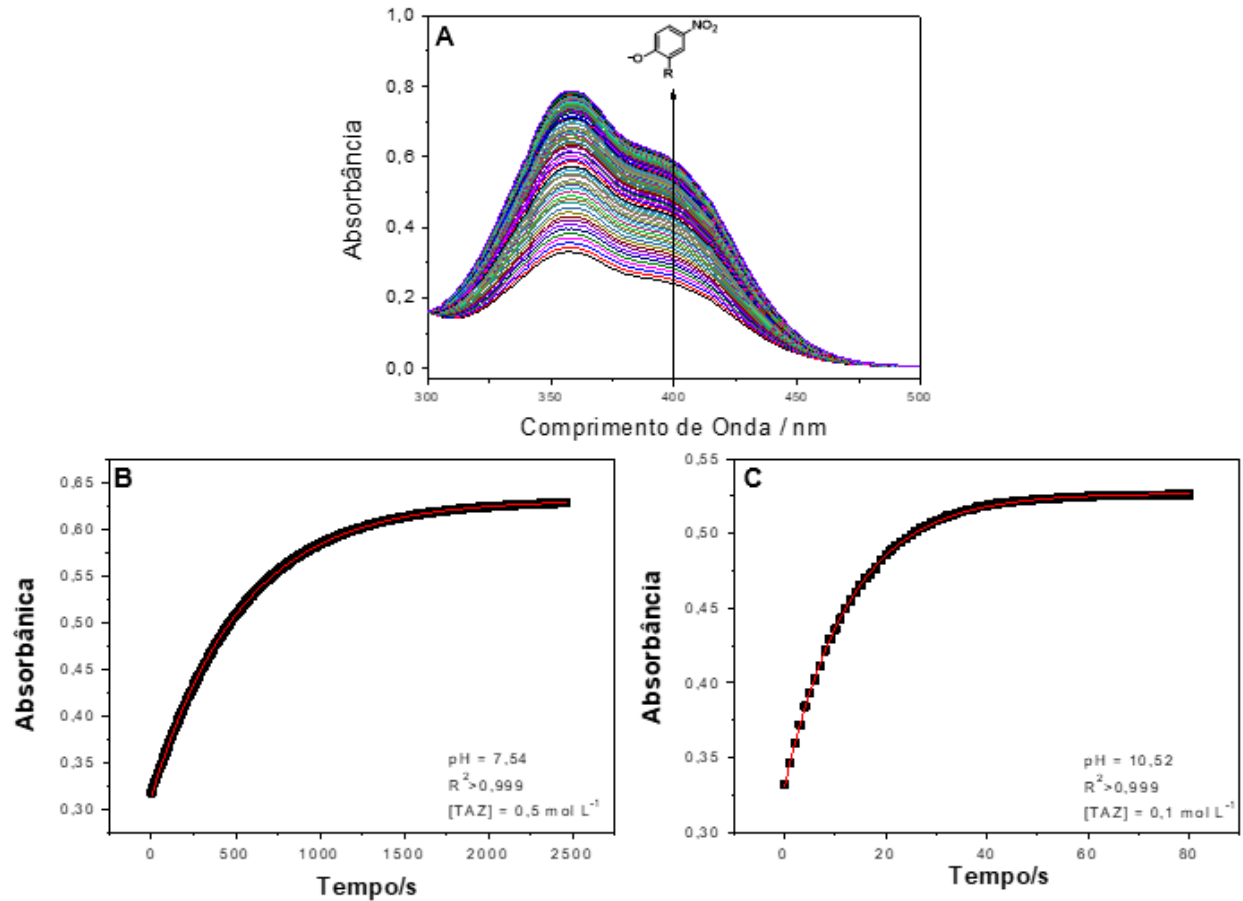
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

De antemão, cabe ressaltar que a elevada reatividade observada para o TAZ em sua forma aniônica permitiu que estudos cinéticos fossem realizados com Paraoxon mesmo em temperatura ambiente, conforme detalhes discutidos a seguir. Tal reatividade do TAZ frente ao DEDNPP e Paraoxon foi avaliada através de estudos cinéticos, enquanto, com o primeiro, foram também realizados cálculos teóricos e análises por RMN. É importante ressaltar que o DEDNPP é um triéster ativado que possui tempo de meia vida para a hidrólise espontânea de aproximadamente 50 dias, permitindo que as reações propostas fossem realizadas em tempo hábil. O Paraoxon apresenta tempo de meia vida para a hidrólise espontânea de aproximadamente 3×10^4 anos,⁴³ cerca de $2,0 \times 10^5$ maior que a do DEDNPP e, pela menor reatividade, os estudos de RMN foram realizados apenas com o triéster ativado para otimizar a aquisição de resultados. Pode-se projetar os resultados obtidos com DEDNPP ao Paraoxon, visto que estes organofosfatos possuem muita similaridade estrutural, sugerindo que os centros reativos são os mesmos, levando a mecanismos similares de reação para um mesmo nucleófilo proposto.⁴³

4.1 Estudos cinéticos

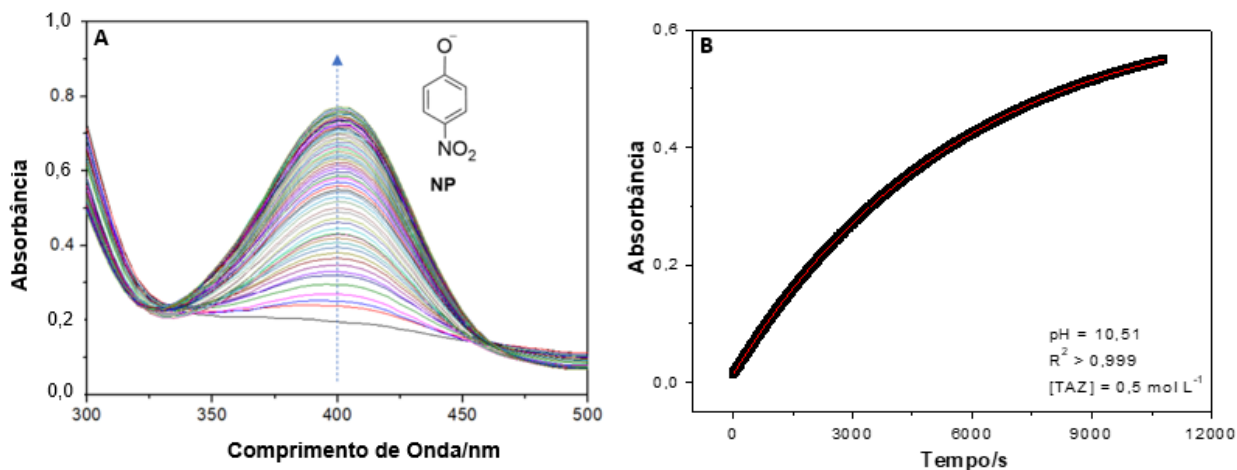
Inicialmente a reatividade do TAZ foi investigada frente ao triéster ativado DEDNPP através de estudos cinéticos utilizando espectrofotometria de UV-Vis monitorando a banda em 400 nm, referente ao produto DNP (vide supra)). Em estudos cinéticos preliminares propusemos avaliar o TAZ em sua forma neutra em pH 7,5, uma vez que, nessa condição, seria garantido que a população de triazolato seria insignificante, baseado em seu alto pK_a . Isso porque, conforme mencionado, o TAZ apresenta pK_a 10,1.⁵¹ Assim, a Figura 6A apresenta os espectros sucessivos de varredura UV-Vis para a reação realizada em condições de pseudo-primeira ordem com DEDNPP a $5,2 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Os espectros apresentam absorbância nas bandas de 360 e 400 nm, sinalizando a formação do DNP, produto típico de clivagem do DEDNPP via fósforo. A Figura 6B apresenta o perfil cinético da absorbância em 400 nm em função do tempo de reação, que permite obter a constante de primeira ordem da reação através da utilização da Equação 13. Na Figura 6C pode-se observar o perfil cinético da reação, porém em pH 10,5.

Figura 6 – A) Espectro UV-Vis indicando aumento da absorbância nas bandas características de clivagem do DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em reação com TAZ ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 7,5 a 25°C . B) Perfil de pseudo-primeira ordem obtido pelo monitoramento espectrofotométrico em 400 nm da reação em pH 7,5 a 25°C . C) Perfil de pseudo-primeira ordem para a clivagem de DEDNPP com TAZ em outra reação, alterando o pH para 10,5 e a concentração de TAZ para $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



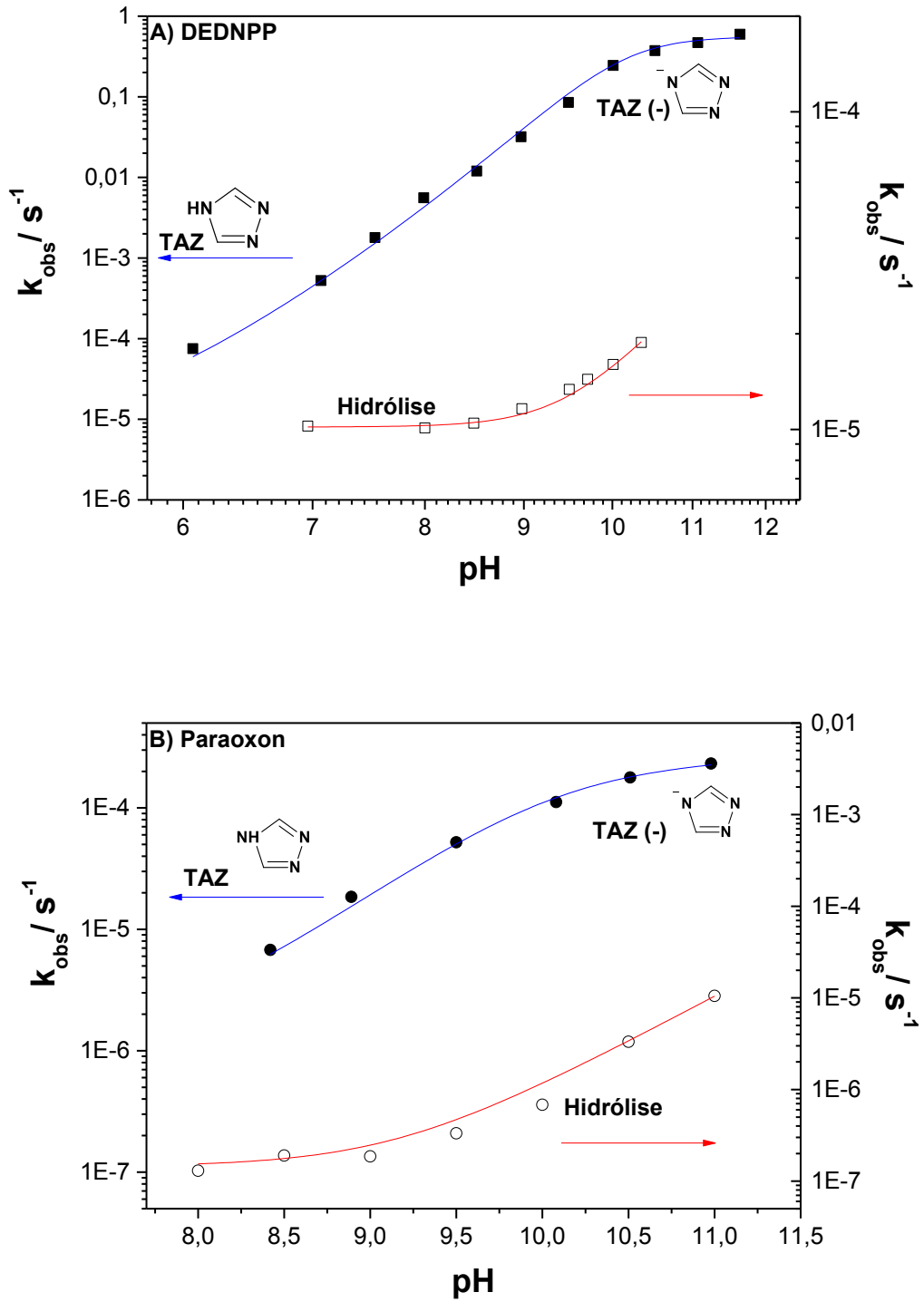
A Figura 7A apresenta os espectros sucessivos típicos obtidos para a reação de TAZ com Paraoxon. Diferente da reação com DEDNPP, esta apresenta apenas uma banda característica da reação localizada em 400 nm. A Figura 7B apresenta o perfil cinético da reação considerando a absorbância de 400 nm em função do tempo.

Figura 7 – A) Espectro UV-Vis indicando aumento da absorbância na banda característica de clivagem do Paraoxon para a reação com TAZ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 10,5. B) Perfil de pseudo-primeira ordem obtido pelo monitoramento espectrofotométrico em 400 nm a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.



Assim, para uma maior compreensão da reatividade do TAZ em sua forma neutra e iônica, realizou-se uma série de reações de TAZ com DEDNPP e Paraoxon, variando-se o pH gradativamente (em torno de 0,5 unidade). A Figura 8 (A – DEDNPP; B – Paraoxon) apresenta estes perfis de pH, sendo o eixo vertical da direita representando a hidrólise espontânea de cada organofosfato, e o eixo da esquerda representando a degradação destes promovida por TAZ. Observa-se que a velocidade aumenta conforme o pH é elevado e isso é notado com mais facilidade na reação de TAZ com DEDNPP, em que a reação começa a ter um aumento expressivo na velocidade de reação na faixa de pH 8,1. Isso porque, conforme mencionado, devido ao pK_a do TAZ de 10,1, é possível ter acesso a quantidade significativa ($\sim 1\%$) de sua espécie aniônica e mais reativa em soluções com pH duas unidades abaixo desse valor. A menor reatividade apresentada pelo Paraoxon está associada ao seu pior grupo abandonador (nitrofenol (NP)) que apresenta pK_a 7,2, enquanto pK_a de 4,1 é observado para o DNP,⁶⁶ grupo abandonador do DEDNPP.

Figura 8 – Perfil cinético de pH para a reação de TAZ (-) ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) com DEDNPP (■, eixo esquerdo) a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e a hidrólise DEDNPP⁶⁷ (□, eixo direito). B. Perfil cinético de pH para a reação de TAZ(-) ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) com Paraoxon (●, eixo esquerdo) a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e a hidrólise de Paraoxon⁶⁸ (○, eixo direito).



Resultados indicam que em soluções mais ácidas ($\text{pH} < 6$) a taxa de formação de DNP diminui severamente, confirmando o observado nos estudos cinéticos preliminares, sugerindo que a forma neutra de TAZ apresenta baixa reatividade, consistente com seu pK_{aH} de 2,2.⁵¹ Foi observado que em pH 3,6, por exemplo, que a degradação de DEDNPP promovida por TAZ é apenas duas vezes mais rápida que a hidrólise espontânea e, por essa razão, não foi possível ajustar o perfil de pH utilizando dois valores de pK_{a} . A clivagem do Paraoxon avaliada na faixa de pH 8,4 - 11 também indica a forma aniônica do nucleófilo é responsável por sua reatividade expressiva. No geral, pode-se verificar que a clivagem do DEDNPP e do Paraoxon mediadas por TAZ(-) apresentou elevado incremento catalítico, na ordem de 10^6 e 10^5 vezes respectivamente com relação à hidrólise espontânea. Reiterando, essa alta reatividade se deve à forma aniônica do heterociclo, sendo essa evidência justificada pelo aumento da reatividade à medida em que o TAZ(-) apresenta-se em maior população no meio. Em contraste ao observado com DEDNPP, em soluções ácidas não foi observada atividade nucleofílica do TAZ com Paraoxon, reafirmando que a espécie neutra não é capaz de degradá-lo. Apesar disso, é interessante notar que uma quantidade muito pequena do ânion do nucleófilo já é tão eficiente para detoxificar o pesticida, reduzindo o tempo de meia-vida de hidrólise para apenas 113,4 s, mesmo em pH ameno de 8,5. Em pH 10, por exemplo, seu tempo de meia vida (para formação do diéster correspondente) cai drasticamente para 6,0 s. Alguns parâmetros cinéticos relevantes estão apresentados na Tabela 1 bem como algumas evidentes comparações, mostrando que o TAZ mostra um poder nucleofílico similar a alfa-nucleófilos e oximas.

Tabela 1 – Parâmetros cinéticos obtidos da reação de TAZ com DEDNPP e Paraoxon, e comparações entre constantes cinéticas.

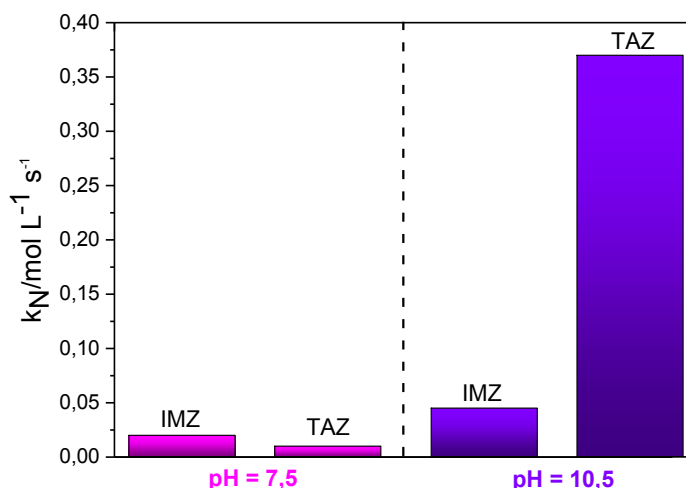
Parâmetro	Valor	Parâmetro	Valor
$k_{0, \text{DEDNPP}}^{\text{a}}$	$8,0 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$	$k_{0, \text{Paraoxon}}^{\text{b}}$	$3,88 \times 10^{-11} \text{ s}^{-1}$
$k_{\text{N}, \text{DEDNPP}}$	$1,10 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$k_{\text{N}, \text{Paraoxon}}$	$4,86 \times 10^{-4} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$
$k_{\text{N}}/k_{0, \text{DEDNPP}}$	$7,63 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1}$	$k_{\text{N}}/k_{0, \text{Paraoxon}}$	$1,87 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$
$k_{\text{N}, \text{TAZ}}/k_{\text{N}, \text{IMZ}}^{\text{a}}, \text{DEDNPP}$	62,1	$k_{\text{N}, \text{TAZ}}/k_{\text{N}, \text{IMZ}}^{\text{b}}, \text{Paraoxon}$	190
$k_{\text{N}, \text{TAZ}}/k_{\text{N}, \text{Hidroxilamina}}^{\text{c}}$	3,8	$k_{\text{N}, \text{TAZ}}/k_{\text{N}, \text{Pralidoxima}}^{\text{c}}$	~1,0

a) Obtido da referência ²¹; b) Obtido da referência ⁴³; c) Reações com DEDNPP, obtido da referência⁶⁸.

Como mencionado, o IMZ tem sido amplamente utilizado no desenvolvimento de catalisadores para degradação de compostos organofosfatos. Por essa razão, realizamos algumas comparações da reatividade das formas neutra e aniônica do TAZ com aquele nucleófilo. Em pH 7,5 o TAZ consta em solução exclusivamente na sua forma neutra e, especificamente nessas condições, apresentou atividade nucleofílica moderada para degradação de DEDNPP, com incremento catalítico para essa reação na ordem de 10^2 comparado à hidrólise espontânea do triéster. Em solução com esse pH o nucleófilo apresentou reatividade 6 vezes menor que do IMZ.^{32,69} Quando elevado o pH da solução a 10,6, o cenário se inverte: o TAZ passa a ser 16 vezes mais reativo que o IMZ, com incremento catalítico na ordem de 10^4 ao comparar com sua hidrólise espontânea. Isso porque seu baixo valor de pK_a (ver rodapé¹) permite acesso à sua forma aniônica em pHs mais amenos — aproximadamente 4 unidades de pK_a abaixo daquele observado para o IMZ — enaltecendo sua reatividade. A Figura 9 apresenta um gráfico comparativo das constantes de segunda ordem do TAZ e IMZ nos pHs acima citados. Cabe ressaltar que considerando k_{N} obtido a partir do perfil de pH, a diferença de reatividade é ainda maior, sendo o TAZ(-) 62 vezes mais reativo (Tabela 1).

¹ pK_a TAZ= 10,1; pK_a IMZ= 14,5

Figura 9 – Comparação entre as constantes nucleofílicas do TAZ e IMZ com DEDNPP para os pHs 7,5 e 10,5, T= 25 °C.

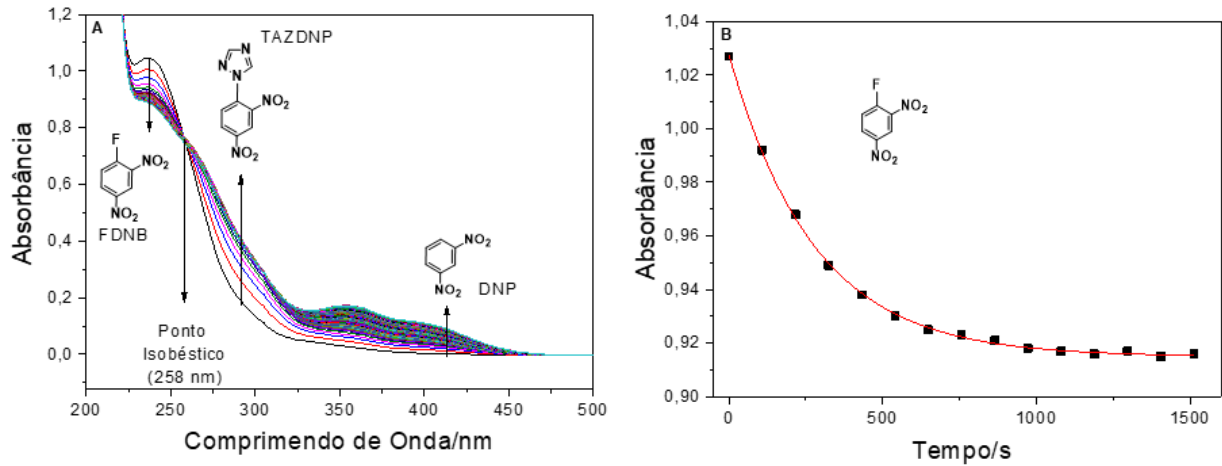


Diante da formação dos produtos relativos a cada reação (conforme indicado pela magnitude da banda observada em 400 nm), é plausível sugerir que a clivagem desses organofosfatos ocorre total ou majoritariamente via fósforo, como discutido em detalhes posteriormente. Cabe ressaltar que foi isso foi confirmado posteriormente por análises por RMN, conforme será discutido no item 4.2. Apesar disso, a propensão do TAZ(-) em promover a degradação do DEDNPP via SnAr foi investigada utilizando espectrofotometria.

4.1.1 Investigação da reação via Substituição Nucleofílica Aromática

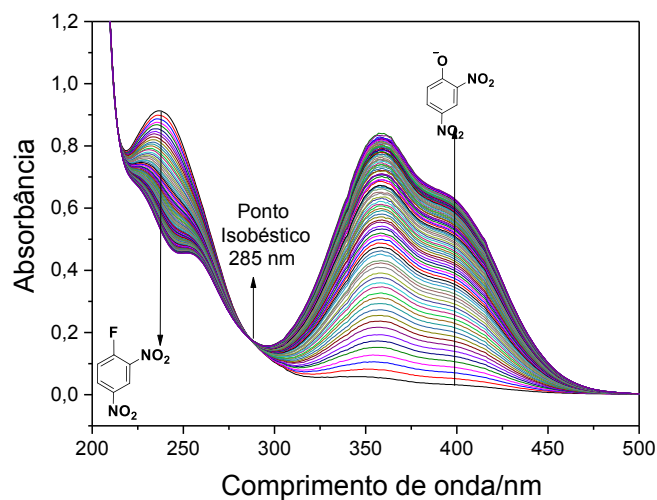
Para avaliar a possibilidade de que TAZ(-) possa promover reações via SnAr, realizou-se o monitoramento da reação em condições de pseudo-primeira ordem do nucleófilo (0,1 mol L⁻¹) em pH 11 com 1-fluor-2,4-dinitrobenzeno (FDNB) a 6x10⁻⁵ mol L⁻¹, escolhido devido a sua estrutura ser similar ao DNP. Os espectros de varredura apresentados na Figura 10A são condizentes com consumo de FDNB em 230 nm, conforme proposto por Hellinger e colaboradores,⁷⁰ sendo seu consumo em função do tempo apresentado na Figura 10B. Utilizando o ajuste da equação 4 (e considerando 3,0x10⁻⁷ s⁻¹ (k_{H2O}) e 0,12 L mol⁻¹ s⁻¹ (k_{OH}))⁷⁰ obteve-se k_{TAZ} de 3,5x10⁻² L mol⁻¹ s⁻¹.

Figura 10 – Espectros sucessivos de UV-Vis obtidos para a reação de TAZ (0,1 mol L⁻¹ em água, pH = 11) e FDNB (10 μL, 6x10⁻⁵ mol L⁻¹ em acetonitrila) a 25 °C. (B) Perfil cinético em 230 nm ajustado com equações de pseudo-primeira ordem



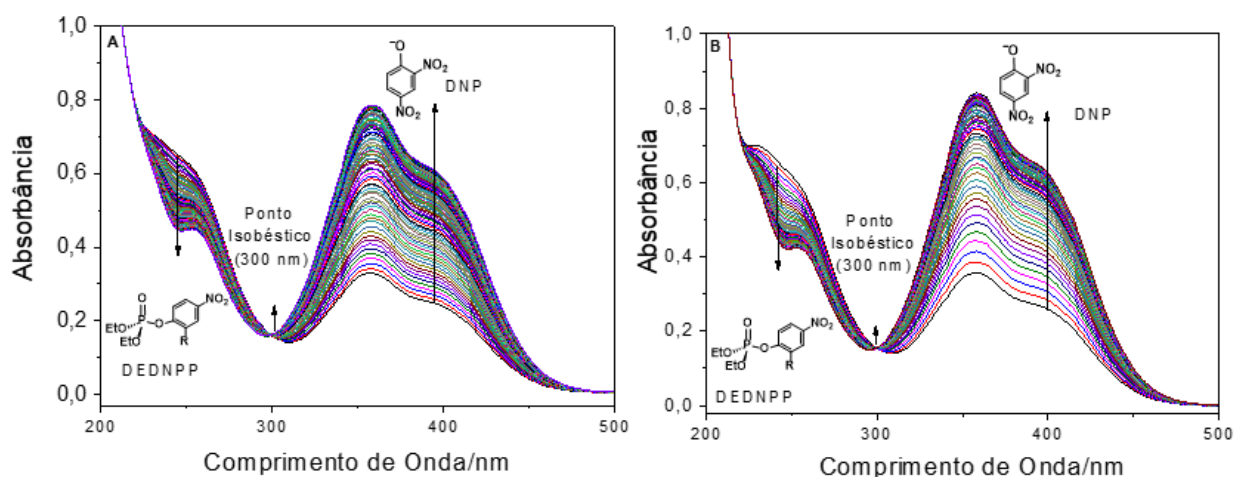
De fato, embora a hidrólise alcalina do FDNB seja mais de três vezes mais rápida (com base nos valores de constantes de segunda ordem de cada reação), a ocorrência de substituição nucleofílica aromática pelo TAZ foi confirmada. Nesse sentido, a formação da banda em 280 nm nos espectros de UV-Vis foi atribuída ao produto 1-(2,4-dinitrofenil)-1,2,4-triazol (TAZDNP), uma vez que esse não é observado em espectros de UV-Vis sequenciais adquiridos para hidrólise alcalina do FDNB (Figura 11).

Figura 11 – Espectros sequenciais de UV-Vis obtidos para a hidrólise alcalina (pH 11,8) de FDNB (6x10⁻⁵ mol L⁻¹) a 25 °C.



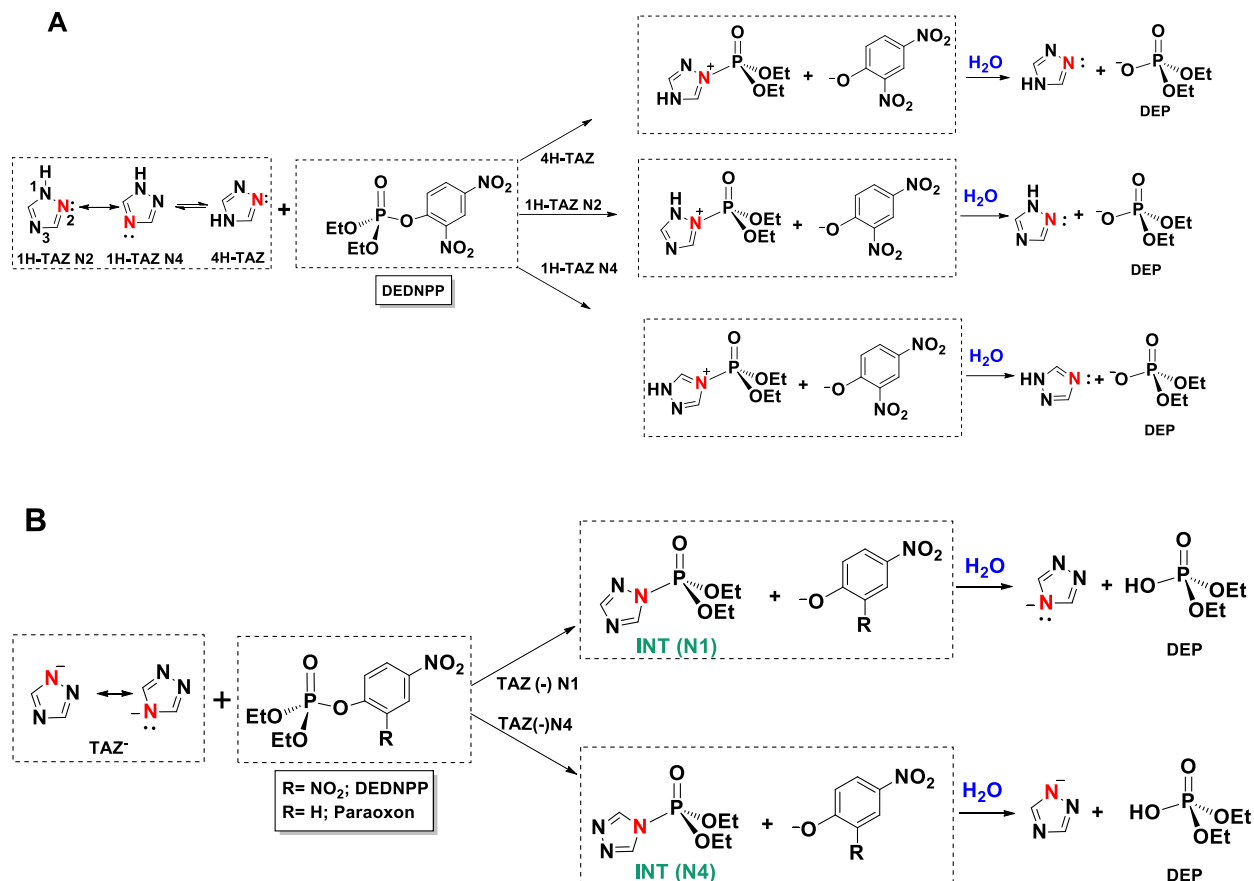
O estudo envolvendo FDNB foi importante para mostrar que o TAZ tem potencial para realizar reações do tipo S_NAr , o que poderia diminuir sua seletividade ao fósforo nas reações com DEDNPP. Porém, partindo agora para a reação de TAZ com DEDNPP, comparamos os espectros de UV-Vis sequenciais desta reação (Figura 12A) com aqueles espectros obtidos para a hidrólise alcalina do organofosfato em pH 11,8 (Figura 12B). Observou-se que não ocorre reação de TAZ com DEDNPP via S_NAr devido a dois motivos, sendo: (i) a banda de absorção referente à formação do produto de S_NAr TAZDNP (280 nm) não é observada (Figura 12B), em contraste à reação do TAZ com FDNB (Figura 10A), (ii) o aumento da absorbância do primeiro ao último espectro (Δabs) em 280 nm é apenas 0,006 maior ($\Delta \Delta abs$) para a reação de TAZ com DEDNPP (Figura 12B) em comparação com a hidrólise (Figura 12A) após a formação completa de DNP, que consideramos desprezível, ou seja, perfis das bandas iguais. Esses dois fatores combinados nos levaram a sugerir que não ocorre nenhum ataque nucleofílico significativo do TAZ ao carbono aromático de DEDNPP. A diferença na seletividade da reação de clivagem de DEDNPP e FDNP pode estar relacionada a um maior impedimento estérico causado pelo grupo fosfato no primeiro, desfavorecendo o ataque nucleofílico do ânion TAZ ao carbono aromático do triéster.

Figura 12 – Espectros de UV-Vis obtidos a 25 °C para (A) hidrólise alcalina (pH 11,8) de DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e (B) reação entre TAZ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 11,8) e DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$).



Resultados, então, sugerem reatividade seletiva e pronunciada do TAZ(-) para reação de substituição nucleofílica via fósforo, em comparação com outros heterociclos imínicos relatados anteriormente. Em relação à degradação do DEDNPP, o TAZ(-) se mostrou quatro vezes mais eficaz do que o íon hidróxido e apresenta reatividade semelhante a alfa-nucleófilos poderosos como a Pralidoxima ($k_N = 1,11 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$)¹⁷. Apesar da similaridade na reatividade com nucleófilos do tipo alfa, cabe ressaltar que eles são nucleófilos suicidas, enquanto a regeneração de TAZ é observada, conforme será discutido nas seções seguintes. Além disso, a degradação do Paraoxon promovida por TAZ(-) é até 190 vezes mais rápida do que seu análogo IMZ⁴³ em condições de reação semelhantes, uma vez que a espécie mais reativa imidazolato só é acessível em meio básico consideravelmente superior ($\text{pK}_a(\text{IMZ}) = 14,0$)⁷¹. Com todas essas evidências, podemos organizar na Figura 13 possíveis rotas de mecanismo de reação exclusivamente via P sendo a Figura 13 A referente as três possibilidades de ataque do TAZ através de seus tautômeros na forma neutra, e a Figura 13 B referente a espécie aniônica atacando ao fosforo do DEDNPP.

Figura 13 – Caminhos propostos para a reação entre TAZ e organofosfatos, em A as três possíveis rotas para os tautômeros neutros; em B os dois possíveis ataques nucleofílicos possíveis rotas para o TAZ (-)

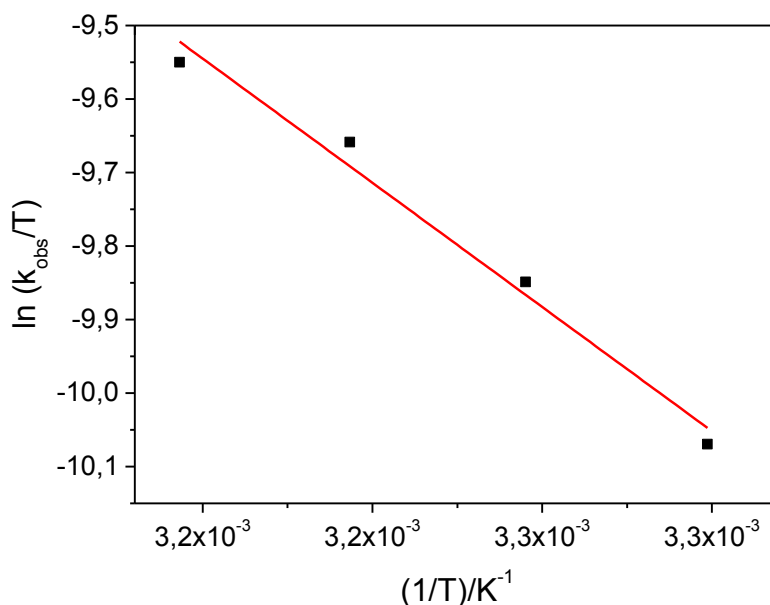


4.1.2 Obtenção de parâmetros de ativação e de molecularidade

A fim de angariar mais informações acerca do mecanismo de reação, foi avaliada a influência da temperatura nas constantes de velocidade, que permite acessar parâmetros de ativação do processo. Com foco na reação envolvendo DEDNPP, utilizando a Equação 14, determinou-se que o ΔG^\ddagger da reação com TAZ apresenta valor de $+17,4 \text{ kcal mol}^{-1}$ em pH 11.4, condição em que a espécie aniônica tem população maior que 90%. Os outros parâmetros de ativação foram obtidos através do monitoramento da reação em quatro temperaturas diferentes. O ajuste linear dos valores experimentais de k_{obs} (Figura 14) foi realizado através da equação de Eyring (Equação

13), em que o coeficiente angular da reta está relacionado à entalpia de ativação da reação, fator relativo à formação e ruptura de ligações envolvidas no ET.

Figura 14 – Regressão Linear para o perfil de temperatura das reações do TAZ 0,5 mol L⁻¹ em pH 9,0 com DEDNPP.



Combinando a energia de ativação calculada anteriormente com o ΔH^\ddagger obtido pelo *plot* de Eyring, pôde-se utilizar a Equação 14 para obter a entropia de ativação. Os parâmetros obtidos estão contidos na Tabela 2.

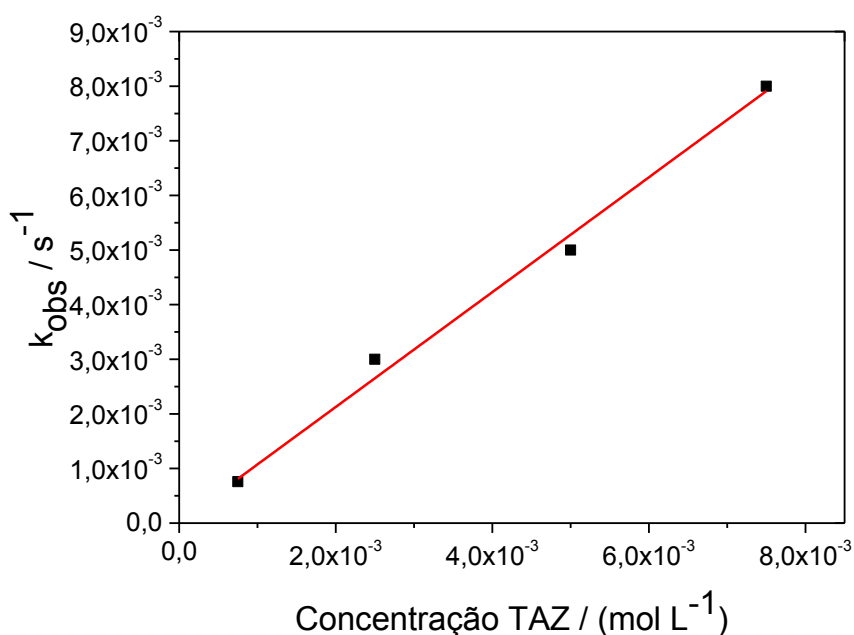
Tabela 2 – Parâmetros de ativação obtidos para a reação de TAZ (0,5 mol L⁻¹) em pH 11,4 e DEDNPP (5,2x10⁻⁵ mol L⁻¹) a 25 °C.

Parâmetro	Valor
$\Delta H^\ddagger/\text{kcal mol}^{-1}$	7,9
$\Delta G^\ddagger/\text{kcal mol}^{-1}$	17,4
$\Delta S^\ddagger/\text{cal K}^{-1} \text{mol}^{-1}$	-31,9

A Entropia de ativação de $-31,9 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ é um parâmetro muito informativo, pois valores muito negativos de ΔS^\ddagger em reações sem transferência de próton na etapa determinante, estão relacionados a mecanismos nucleofílicos concertados,²⁷ devido à

diminuição dos graus de liberdade no ET em relação aos reagentes. Nenhuma etapa envolvendo transferência de próton foi identificada em estudo de efeito isotópico em D₂O (pD 11,2 e 12,0), evidenciando ainda mais que a reação se sucede em mecanismo nucleofílico concertado, visto que ambas as constantes de velocidade foram muito próximas daquelas obtidas em H₂O. Evidências adicionais sugerindo mecanismo nucleofílico foram observadas através de um perfil linear obtido para k_{obs} versus concentração de TAZ (Figura 15), com coeficiente de correlação maior que 0,99. Isso consiste com uma única molécula de nucleófilo envolvida na etapa determinante da velocidade da reação.

Figura 15 – Regressão Linear para o perfil de concentração da reação do TAZ em pH 9,0 com DEDNPP ($5,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) a 25 °C.



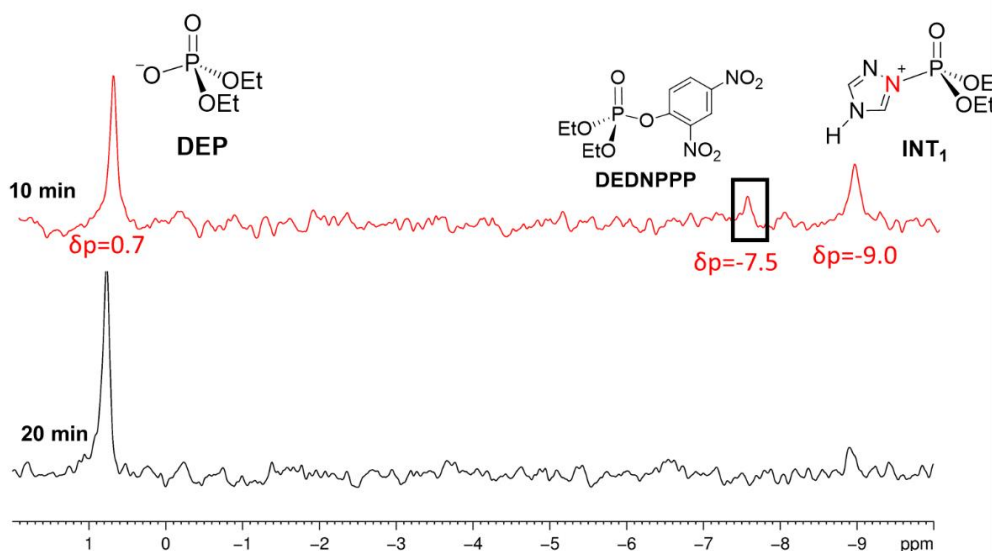
Assim, os estudos cinéticos apresentaram que TAZ (-) é o responsável pela alta reatividade e mais eficiente que a hidrólise alcalina, além disso, pode-se comprovar que a reação é regioespecífica via P e o mecanismo se sucede pelos caminhos da Figura 13, os quais serão abordados com mais detalhe na seção 4.3. O Processo se mostrou ser nucleofílico e bimolecular através de *plot* de Eyring e experimentos de efeito isotópico utilizando água deuterada. Análises de RMN foram realizadas para confirmar os

mecanismos e confirmar se a reação é catalítica, com a regeneração do TAZ(-) posterior ao ataque nucleofílico, explorado na seção seguinte.

4.2 Elucidação mecanística através de análises por RMN

Para uma melhor compreensão acerca do mecanismo de reação do TAZ com DEDNPP, técnicas de análise por RMN foram empregadas, visando principalmente verificar a autenticidade do processo catalítico. A Figura 16 apresenta espectros sucessivos de RMN de ^{31}P , adquiridos ao longo do processo reacional. No espectro adquirido em 10 minutos de reação, três sinais foram detectados, sendo aqueles com deslocamentos químicos de -7,5 e 0,7 ppm deles atribuídos ao DEDNPP e ao dietilfosfato (DEP), respectivamente, com base na literatura.³² O terceiro sinal, que foi detectado em -9,0 ppm, é referente ao intermediário fosforilado.

Figura 16 – $^{31}\text{P}\{1\text{H}\}$ espectro de RMN para a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) com TAZ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), em 1:9 acetonitrila/ H_2O e D_2O (10% v/v), pH 8,5 a 25 °C.

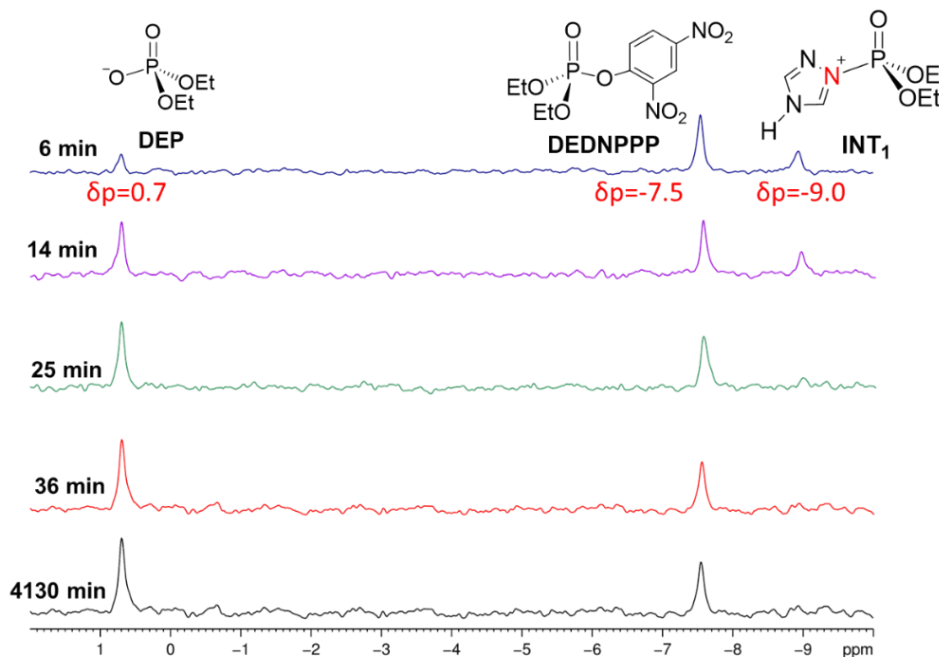


Ainda sobre a Figura 16, o pequeno sinal de DEDNPP em 10 minutos de reação indica o rápido ataque nucleofílico do TAZ ao centro eletrofílico principal do DEDNPP. Isso porque o organofosfato foi rapidamente consumido — para formação do DEP, produto formado exclusivamente através da hidrólise do intermediário fosforilado —

antes da aquisição do primeiro espectro de RMN. O segundo espectro já mostra a ausência de sinal referente ao DEDNPP e apenas um resíduo do intermediário fosforilado, indicando que além da forma aniônica do TAZ ser um poderoso nucleófilo para degradação do DEDNPP, o processo é catalítico por ocorrer fácil hidrólise do intermediário fosforilado.

A fim de obter melhor acompanhamento da formação do DEP, consumo de DEDNPP e da hidrólise do intermediário para regeneração do TAZ, outro experimento de RMN de ^{31}P foi realizado com TAZ mais diluído ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$). Assim, pôde-se monitorar a formação e consumo desses substratos com mais espectros sucessivos (Figura 17). De maneira similar, quando a reação atingiu 25 minutos pôde-se verificar o completo desaparecimento do sinal do intermediário fosforilado, e o aumento gradativo na intensidade do sinal do DEP, reafirmando a grande eficiência do TAZ regenerado como catalisador, como proposto na Figura 13, o qual ilustra o mecanismo plausível para a desfosforilação do DEDNPP e Paraoxon, com a formação do intermediário mediado por um dos tautômeros do TAZ e/ou pelo TAZ(-). A segunda etapa mostra o TAZ se regenerando após a hidrólise do intermediário fosforilado. Apesar disso, nesse caso não houve consumo completo do organofosfato, indicando que a ocorrência do processo catalítico é dependente das condições experimentais, em contraste ao observado no primeiro experimento (Figura 16).

Figura 17 – $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ espectro de RMN para a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) com TAZ ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$), em 1:9 acetonitrila/ H_2O e D_2O (10% v/v), pH 8,5 a 25°C .



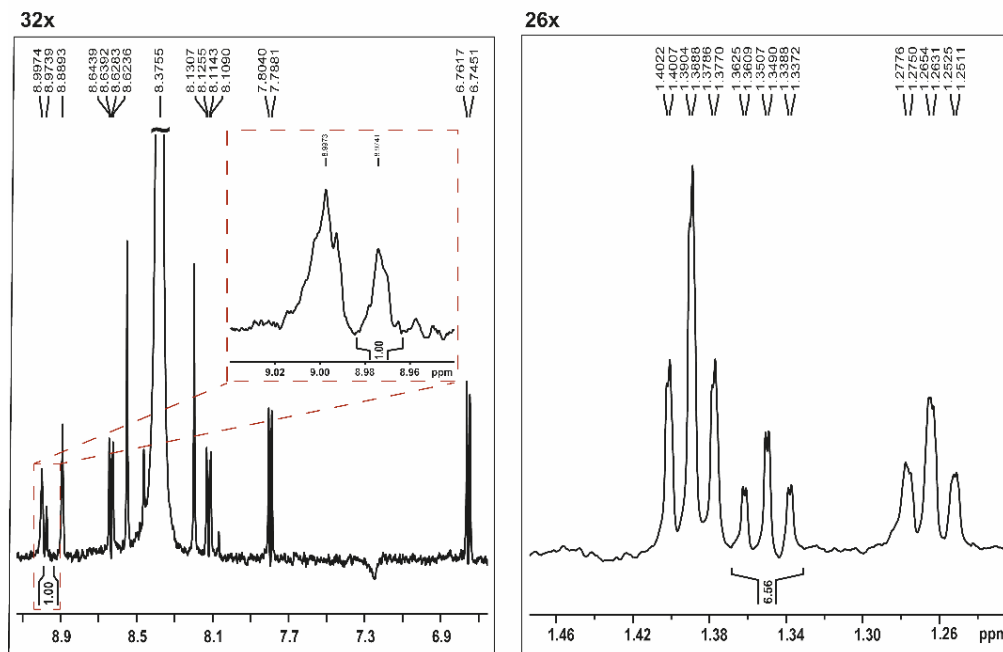
Baseado na proposta mecanística da Figura 13, dois isômeros intermediários podem ser esperados na reação entre TAZ(-) e DEDNPP, sendo eles provenientes do ataque nucleofílico pelo nitrogênio 1 do TAZ (-) (e seu equivalente N2), ou pelo nitrogênio 4 do TAZ (-) (demarcado em verde na Figura 13 – seção 4.1.1 página 61). Através de análise de RMN de ^1H (ver Anexos – Figura A1), observou-se apenas um sinal referente ao hidrogênio aromático do intermediário (8,97 ppm) pois o sinal em 9,0 ppm é referente ao hidrogênio aromático do DEDNPP.⁷² Deslocamentos químicos relevantes referente ao RMN estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 – Deslocamentos químicos relevantes de espectros de RMN de ^1H e ^{31}P para a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) com TAZ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), em 1:9 ACN/ H_2O e D_2O (10% v/v), pH 8,5 a 25 °C.

Composto	δH	δP
TAZ (-)	8,36 (s, 2H, Ar)	
INT (N1)	8,97 (s, 1H, Ar) e 1,35 (td. 7,1 e 1,0 Hz, 6H, CH_3)	-9,0
DEDNPP	9,00 (d. 2,9 Hz, 1H, Ar), 8,63 (dd. 9,4 e 2,9 Hz, 1H, Ar), 7,79 (d. 9,4 Hz, 1H, Ar), 4,35 (m. 4H, CH_2), e 1,39 (td. 7,1 e 1,0 Hz, 6H, CH_3)	-7,5
DNP	8,89 (d. 3,2 Hz, 1H, Ar), 8,12 (dd. 9,7 e 3,2 Hz, 1H, Ar), 6,75 (d. 9,7 Hz, 1H, Ar)	
DEP	3,92 (dq. 7,2 and 7,0 Hz, 4H, CH_2) e 1,26 (td. 7,2 and 1,8 Hz, 6H, CH_3)	0,7

O sinal observado em 8,9 ppm na Figura 18 sugere, de forma preliminar, que o INT (N4) seria formado durante o progresso da reação, porém, a integração dos sinais na proporção de 6:1 entre a metila (8,97 ppm) e o hidrogênio detectado indicou que o INT (N1) estaria se formando. Com essa controversa entre sinal obtido e valor de integração de sinais, realizou-se análises de espectroscopia por difusão ordenada, em que resultados apontam que o TAZ(-) e o intermediário possuem coeficientes de difusão muito similares (ver Anexos – Figura A2), sugerindo, então, que o sinal do TAZ(-) livre deve estar sobrepondo o sinal que seria esperado para o segundo hidrogênio aromático do INT(N1).

Figura 18 – Expansão dos espectros de RMN de ^1H , destacando sinais para hidrogênios aromáticos e metílicos para a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) com TAZ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) (pH 9,0, 25° C , $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ com gotas de D_2O a 600 MHz).



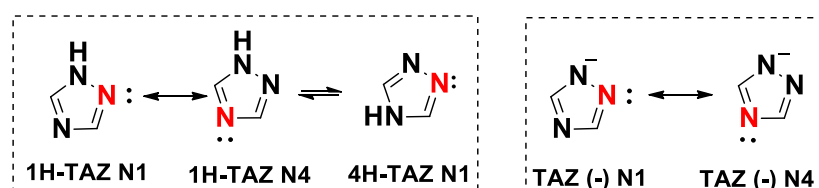
Para uma proposta ainda mais aprofundada a respeito do mecanismo da reação, abrangendo a verificação de qual tautômero é responsável pelo ataque e qual é o centro nucleofílico principal, seja do ânion ou da espécie neutra, cálculos teóricos foram realizados. Na verdade, os cálculos DFT estão de acordo com a formação preferencial de INT(N1), conforme discutido anteriormente.

4.3 Estudos teóricos

Os cálculos foram realizados inicialmente com a forma neutra do TAZ e, posteriormente, a aniônica e, assim, pôde-se averiguar se a barreira de ativação é condizente com aquela obtida experimentalmente nas faixas de pH compatíveis com a presença dessas espécies (vida supra). Todos os tautômeros e seus respectivos centros nucleofílicos (Esquema 22) foram avaliados para determinar qual deles possui a menor barreira energética de ativação. Utilizando o organofosfato DEDNPP, os

cálculos foram realizados com os funcionais M06-2X e B3LYP, conforme descrito na seção de metodologia, e foram escolhidos devido à alta concordância de resultados experimentais e teóricos para esse tipo de reação já descritos na literatura. Cabe ressaltar que ambos os níveis de teoria forneceram resultados equivalentes, entretanto, a discussão apresentada a seguir é focada no nível mais completo M06-2X/6-311++G(d,p), que apresentou barreiras mais compatíveis com as experimentais, apesar de subestimadas.

Esquema 22 – Estruturas do TAZ avaliadas e seus centros nucleofílicos.



De fato, foi possível localizar os ET referentes ao ataque de cada tautômero/centro nucleofílico do TAZ ao fósforo, conforme apresentado pelas estruturas do estado de transição (EET) na Figura 19. Os valores respectivos à energia livre de ativação de cada caminho estão apresentados na Tabela 4.

Figura 19 – EETs referentes a cada caminho reacional do TAZ e TAZ (-) promovendo a clivagem do DEDNPP via P obtidas com M06-2X/6-311++G(d,p). Distâncias relevantes estão apresentadas em Å.

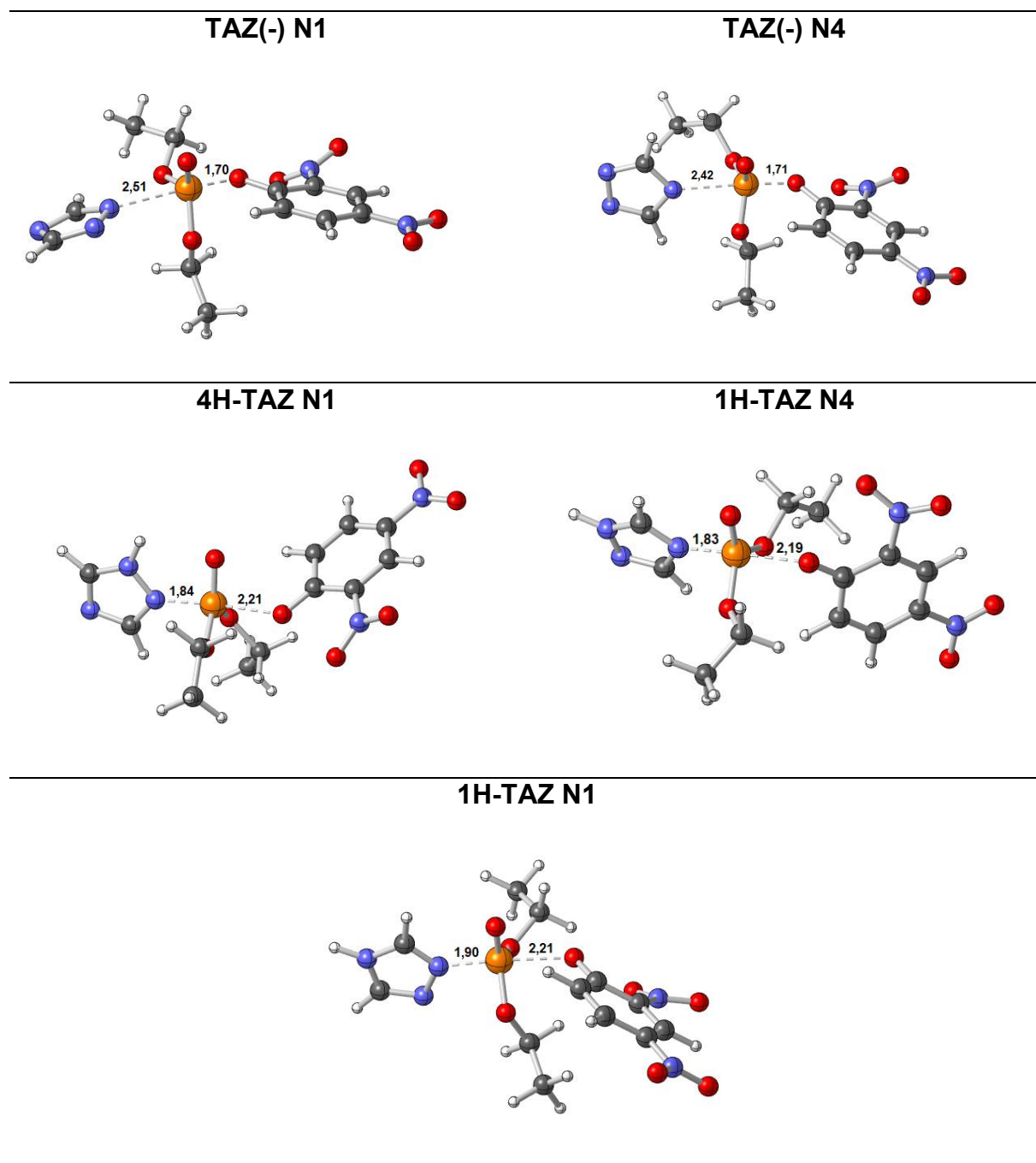


Tabela 4 – Barreiras calculadas ($\Delta G^\ddagger/\text{kcal mol}^{-1}$) para a reação do TAZ com DEDNPP.

Tautômero	(M06-2X/6-311++G(d,p))/ kcal mol ⁻¹	(B3LYP 6-31+G(d,p)) / kcal mol ⁻¹
TAZ(-) N1	12,8	22,1
TAZ(-) N4	14,3	23,8
4H TAZ N1	17,6	26,6
1H TAZ N4	22,5	30,2
1H TAZ N1	25,6	32,8

Valores experimentais em nota de rodapé.²

Dentre as espécies neutras, o tautômero 4H-TAZ apresentou a menor energia de ativação, sendo 4,9 e 8,0 kcal mol⁻¹ mais baixa que o 1H-TAZ (N4) e 1H-TAZ (N1), respectivamente. Ainda que estudos anteriores comprovaram a baixa população tautomérica⁵⁵ do 4H-TAZ, os cálculos evidenciam que a diferença de reatividade não está relacionada a concentração relativa de cada tautômero, mas sim à distinção estrutural. Isso está de acordo com o proposto por *Curtin-Hammett*,²⁷ em que apesar de ocorrer competição entre duas reações, a interconversão entre os reagentes tem barreira muito baixa e, portanto, o mecanismo majoritário se dá ao que possui menor barreira energética para alcançar o ET da reação, nesse caso, o ataque ao fósforo do organofosfato.

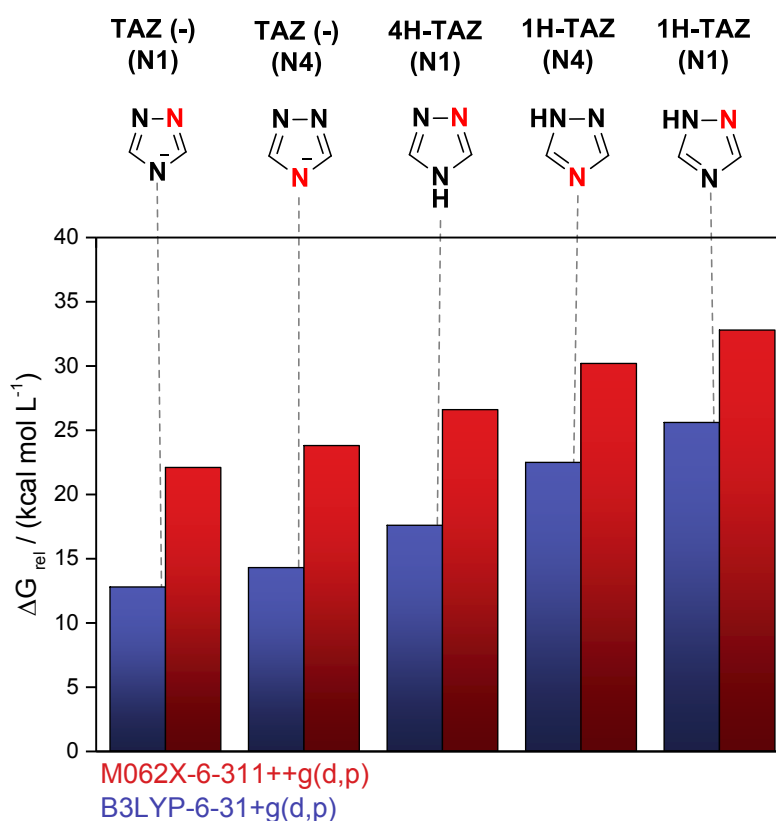
A elevada reatividade do TAZ é, de fato, enaltecida em pH próximo ao seu pK_a, ainda que em faixa de pH mais amena, em que a população do TAZ (-) ainda não é majoritária. Para a espécie desprotonada, cálculos indicam que a reação via nitrogênio 1 apresentou barreira 1,5 kcal mol⁻¹ inferior àquela via nitrogênio 4, indicando que o primeiro possui maior nucleofilicidade que último. Essa diferença, aparentemente pequena, indica que mais de 90% da reação deve seguir via nitrogênio 1, o que está

² $\Delta G^\ddagger = 19,4 \text{ kcal mol}^{-1}$ para pH 7,5; $\Delta G^\ddagger = 17,4 \text{ kcal mol}^{-1}$ para pH 11,5.

em bom acordo com dados experimentais que mostram que o processo ocorre exclusivamente por essa via.

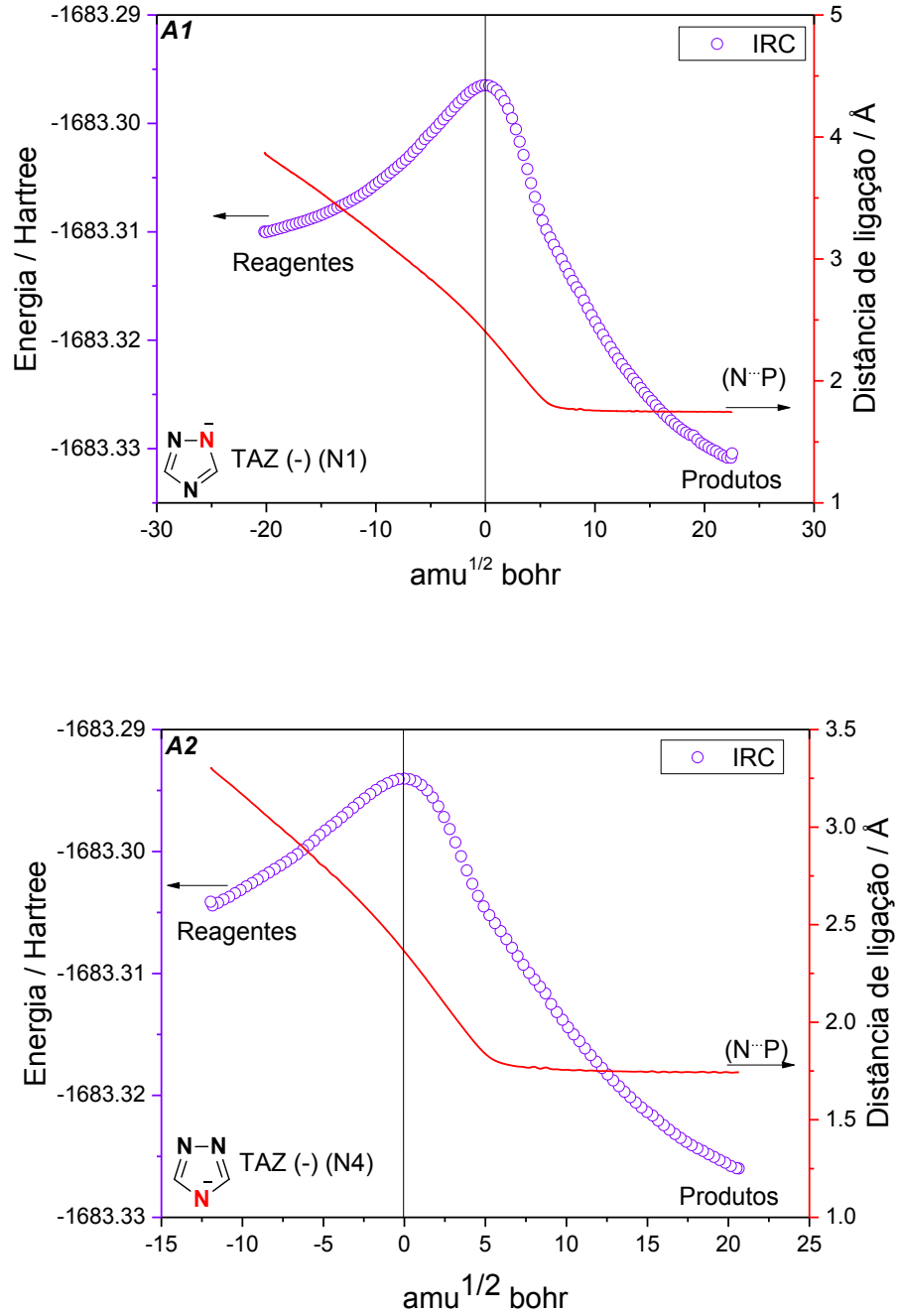
O gráfico presente na Figura 20 mostra os valores encontrados para os ET de cada tautômero para ambos os métodos M06-2X/6-311++G(d,p) e B3LYP/6-31+G(d,p), de coloração azul e rósea, respectivamente. Conforme mencionado, o gráfico indica que a metodologia mais apropriada para o estudo teórico dos sistema de interesse é a M06-2X/6-311++G(d,p), visto que os valores de menor energia para os tautômeros neutros e aniônicos se aproximam mais dos resultados experimentais, sendo utilizada para as discussões subsequentes.

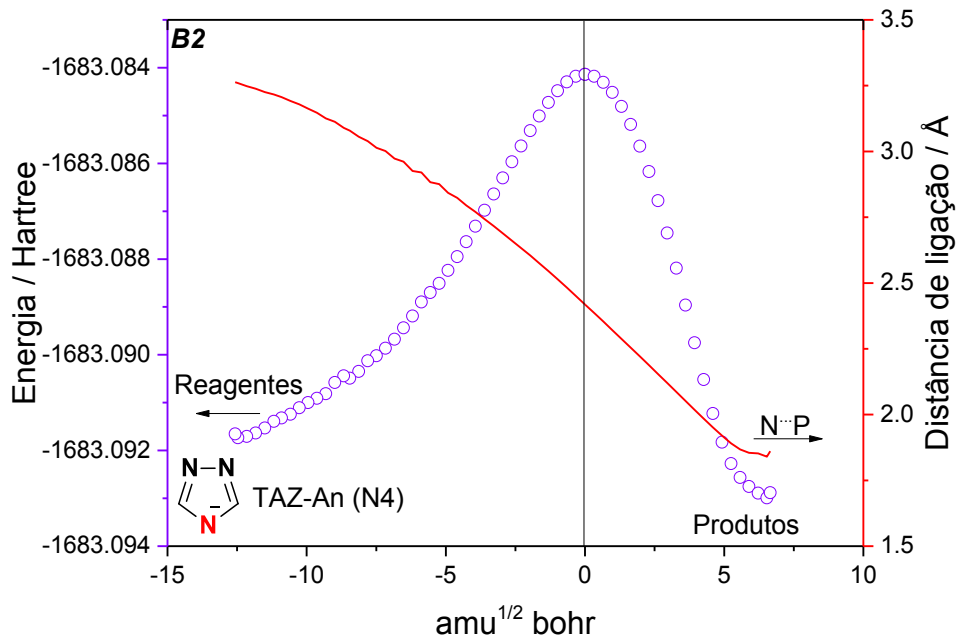
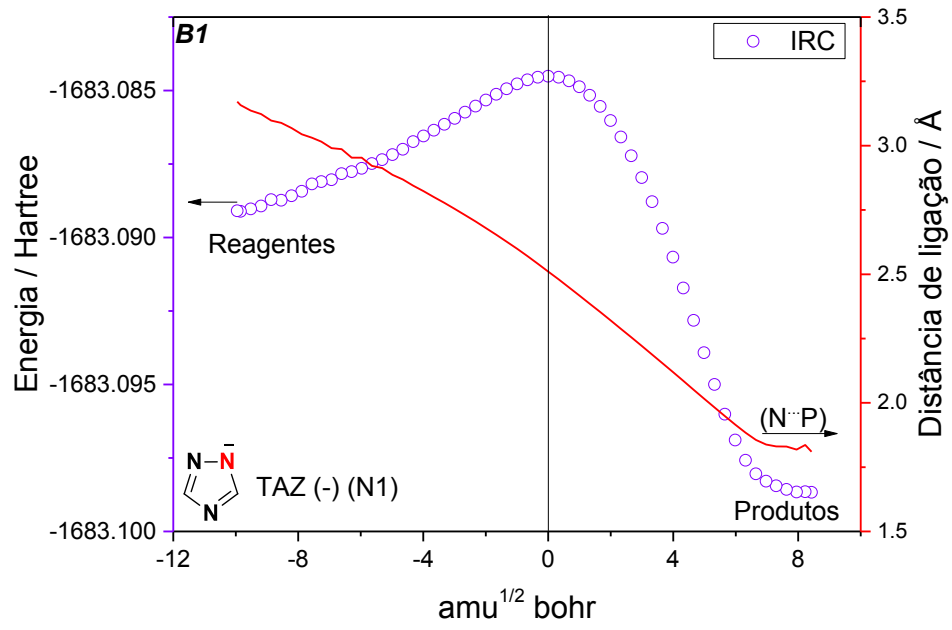
Figura 20 – Gráfico comparativo entre as barreiras calculadas com dois níveis de teoria para a reação de TAZ/TAZ(-) com DEDNPP. Em azul as barreiras calculadas em M06-2X/6-311++g(d,p); em vermelho as barreiras calculadas em B3LYP-6-31+g(d,p)



Cabe ressaltar que os ETs foram confirmados através de cálculos IRC, que também revelou que todos os mecanismos são do tipo concertado bimolecular, como proposto através de técnicas experimentais apresentadas no item 4.1.2. e 4.1.3. Todos os perfis de IRC indicam processo com elevado sincronismo entre os mínimos de energia conectados ao ET, condizente com o nitrogênio do TAZ realizando um ataque nucleofílico ao centro eletrofílico principal do DEDNPP, levando à formação de intermediário fosforilado e DNP. A Figura 21 apresenta o perfil típico obtido da IRC para os cálculos referentes ao ataque nucleofílico do TAZ(-) ao centro eletrofílico principal do DEDNPP pelos dois diferentes nitrogênios reativos. Ressalta-se que os perfis de IRC para as espécies neutras também apresentaram este comportamento, com elevado sincronismo entre os pontos que conectam o ET, confirmando o mecanismo concertado.

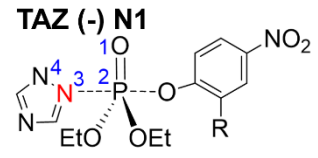
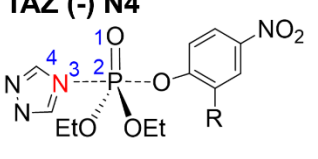
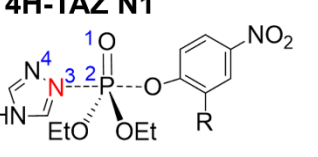
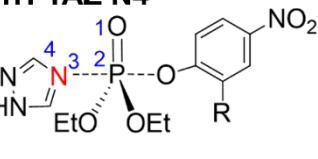
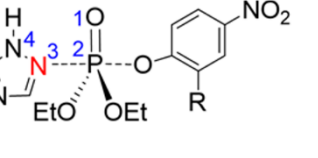
Figura 21 – A) Perfis de IRC para o TAZ(-) calculado em B3LYP/6-31+G(d,p). B) Perfis de IRC para o TAZ (-) calculado em M06-2X/6-311++G(d,p).





Ainda foi levantada a hipótese de que parâmetros geométricos específicos, envolvidos no atingimento dos ET, pudessem estar envolvidos na ordem de reatividade entre o TAZ e o DEDNPP observada. Assim, novos cálculos foram realizados visando analisar a influência do ângulo diedro 1-2-3-4 (sendo 4 nitrogênio ou carbono), conforme mostrado nas estruturas planas dos ET na Tabela 5. Cada tautômero foi avaliado com rotâmeros diferentes permitindo uma melhor avaliação conformacional da estrutura dos ET, ou seja, para propor nova geometria de partida para cálculos de otimização deste, a estrutura do TAZ neutro e do TAZ(-) foi rotacionada, alterando o ângulo mencionado, mantendo a porção referente ao DEDNPP fixa. A Tabela 6 apresenta os valores de energia de ativação obtidos para diferentes rotâmeros do TAZ, constatando que o ângulo diedral entre o nucleófilo e o eletrófilo não interfere na ordem de reatividade dos tautômeros

Tabela 5 – Valores de energia de ativação calculada em M06-2X/6-311++G(d,p) para cada tautômero e rotâmero. As distâncias de ligação internuclear entre Nucleófilo e centro eletrofílico do DEDNPP, e distâncias entre átomo eletrofílico e grupo de saída constam na tabela, bem como o ângulo diedral.

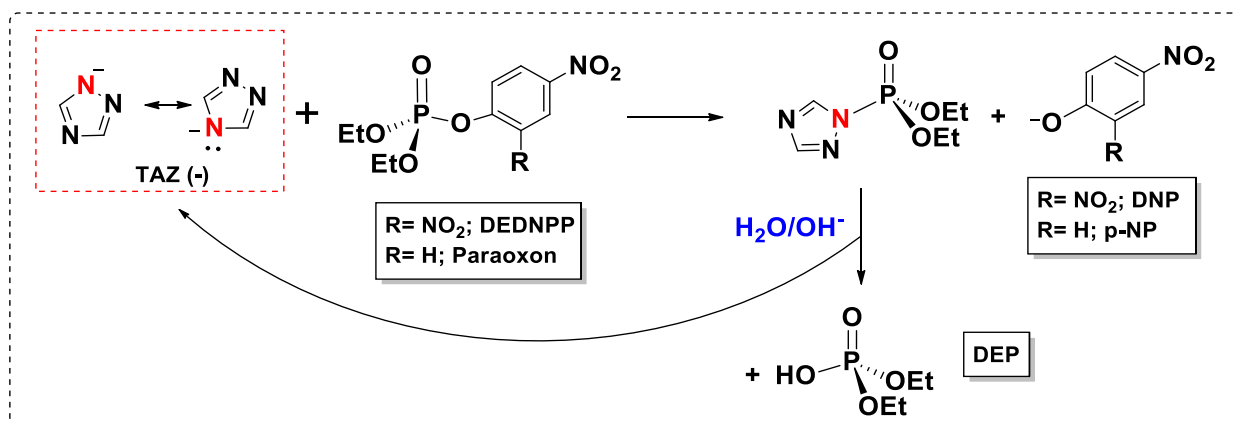
Estrutura plana do ET	Distância internuclear N – P / Å	Distância internuclear P – O / Å	Ângulo diedral	$\Delta G^\ddagger/\text{kcal mol}^{-1}$
TAZ (-) N1 	2,51	1,69	54,10	12,8
	2,51	1,69	179,13	13,8
	2,50	1,69	-64,33	14,6
TAZ (-) N4 	2,42	1,70	-42,14	14,3
	2,41	1,71	-41,44	15,2
	*	*	*	*
4H-TAZ N1 	1,84	2,21	176,55	17,6
	1,85	2,17	57,61	18,5
	1,84	2,19	-62,35	18,6
1H-TAZ N4 	1,83	2,19	11,34	22,5
	1,84	2,23	95,90	22,6
	*	*	*	*
1H-TAZ N1 	1,83	2,21	-14,96	25,6
	1,83	2,35	163,44	27,1
	*	*	*	*

*Terceiro rotâmero não avaliado devido a simetria molecular

Por serem mais reativos, as formas aniônicas do TAZ possuem ET mais adiantados que as formas neutras, evidenciado pela longa distância internuclear na formação da ligação N – P para o TAZ (-) N1 (2,51 Å) e para o TAZ (-) N4 (2,42 Å), conforme apresentado na Figura 15 e Tabela 5. Os cálculos permitiram obter o ângulo diedral ideal de ataque nucleofílico do TAZ no centro eletrofílico principal do DEDNPP, visto que apesar das distâncias entre o rotâmero da própria estrutura serem próximos, os valores de energia são diferentes, conforme destacado na tabela acima. Para explorar os fatores envolvidos na diferença de reatividade entre os centros nucleofílicos da espécie aniônica, cálculos de NBO (Do Inglês: *Natural Bond Orbitals*) foram realizados. Resultados revelaram que a EET envolvida na reação via N1 apresenta menores impedimentos estéricos se comparado a reação competitiva.

Assim, por meio de cálculos DFT, foi possível sugerir a ordem de reatividade entre os tautômeros e centros nucleofílicos do TAZ. O mecanismo para todos os tautômeros também foram obtidos, mas os resultados apontam que a reatividade é extremamente favorecida com TAZ(-), não somente por ser um ânion que tem densidade de carga maior se comparado ao seu tautômero protonado, mas devido a facilidade que o TAZ tem em perder este hidrogênio em pHs mais brandos, diminuindo drasticamente as barreiras de ativação e aumentando a velocidade da reação. O Esquema 23 mostra detalhadamente o mecanismo completo para essa reação, considerando inclusive, a autenticidade catalítica confirmada para o processo.

Esquema 23 – Ciclo catalítico para a desfosforilação de DEDNPP e Paraoxon mediada por TAZ (-)



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse trabalho, com base em estudos experimentais e teóricos, foi mostrado que o TAZ apresenta grande potencial para realizar a degradação de compostos organofosforados de forma seletiva e eficiente. A avaliação da reatividade do TAZ diante de DEDNPP e Paraoxon foi inicialmente realizada através de estudos cinéticos, em que as constantes de velocidade obtidas confirmaram a facilidade que essa espécie possui em promover reações de desfosforilação. Através do perfil de pH pode-se obter o incremento catalítico das reações e determinar a constante de segunda ordem para as reações de TAZ frente aos organofosfatos, indicando que, apesar de sua espécie neutra ser pouco reativa, sua forma aniônica levou a degradação de DEDNPP 10^6 vezes mais rapidamente que se comparada a sua hidrólise espontânea. Não somente neste triéster ativado, o TAZ (-) também mostrou elevada reatividade frente a detoxificação do pesticida real, com incremento catalítico na ordem de 10^5 ao comparar com a hidrólise espontânea do Paraoxon.

Os parâmetros termodinâmicos que foram obtidos também foram fundamentais para avaliar a reatividade do TAZ, contribuindo com resultados importantes acerca do mecanismo da reação. Além de apresentar baixa energia de ativação ($17,4 \text{ kcal mol}^{-1}$), a entropia de ativação está diretamente relacionada a desordem do ET, em que o valor de $-31,9 \text{ cal K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ se remete a um ET com poucos graus de liberdade, sugerindo mecanismo nucleofílico bimolecular.

A autenticidade do processo catalítico foi comprovada através das técnicas de RMN, em que os espectros sucessivos foram essenciais para esta determinação, visto que o aumento da intensidade do sinal do DEP, produto resultante da clivagem da ligação N-P, foi claramente observado, regenerando o TAZ/TAZ(-) para que ele possa atuar como catalisador autêntico da reação, mostrando então seu potencial para a degradação catalítica de organofosforados. Além disso, a técnica permitiu mostrar o grande potencial catalítico do TAZ(-), uma vez que foi necessário aumentar a concentração do DEDNPP para poder avaliar os sinais, visto que em pouco tempo de reação o substrato já havia sido completamente consumido.

Cálculos para todos os tautômeros do TAZ e seus respectivos rotâmeros foram realizados e indicaram mecanismo concertado para todas as rotas avaliadas, concordando com os resultados obtidos pelo perfil de Eyring acerca da entropia de ativação. Cálculos de IRC indicaram elevado sincronismo durante a ocorrência das

reações. A ordem de reatividade dos cinco tautômeros foi comprovada utilizando duas metodologias distintas de cálculo, com a forma aniônica apresentando as menores barreiras, indicando que esta ordem independe do conjunto de bases e do funcional escolhido para a realização dos cálculos teóricos.

Sistemas catalíticos envolvendo TAZ(-) podem ser eficientes para degradação de compostos organofosfatos. Sua forma aniônica extremamente reativa é acessada em pHs relativamente amenos (~8,5), indicando que o TAZ(-) possa atuar como agente detoxificante de forma vigorosa. Por fim, resultados encorajam estudos envolvendo materiais, sensores entre outros sistemas que podem ser explorados utilizando sua versatilidade.

REFERÊNCIAS

- (1) Clayden, J.; Greeves, N.; Warees, S. *Organic Chemistry*, 2^a.; Oxford University Press: Nova York, 2012.
- (2) Westheimer, F. H. Why Nature Chose Phosphates. *Science* **1987**, 235 (1), 1173–1178.
- (3) Wolfenden, R. Degrees of Difficulty of Water-Consuming Reactions in the Absence of Enzymes. *Chem. Rev.* **2006**, 106, 27599.
- (4) Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, 6^a edição.; Artmed, 2014.
- (5) Cox, J. R.; Ramsay, O. B. Mechanisms of Nucleophilic Substitution in Phosphate Esters. *Chem. Rev.* **1964**, 64, 317–352.
- (6) Kim, K.; Tsay, O. G.; Atwood, D. A.; Churchill, D. G. Destruction and Detection of Chemical Warfare Agents. *Chem. Rev.* **2015**, 111, 5345–5403.
- (7) Jared B. Ledgard. *A Laboratory History of Chemical Warfare Agents*, 2^a.; Paranoid Publications Group, 2006.
- (8) Silva, G. R.; Jr, I. B.; Figueroa-Villar, J. D. Defesa Química: Histórico, Classificação Dos Agentes de Guerra e Ação Dos Neurotóxicos. *Quim. Nova* **2012**, 35 (10), 2083–2091.
- (9) Palkki, D. D.; Rubin, L. Saddam Hussein's Role in the Gassing of Halabja. *Nonproliferation Rev.* **2021**, 0 (0), 1–15.
- (10) Affairs, P. I. of I. *Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and Use of Chemical Weapons and on Their Destruction*; Pakistan Institute of International Affairs, 1994.
- (11) Campos, R. B. A Reatividade de Derivados de Imidazol Na Transferência Do Grupo Fosforila, Universidade Federal do Paraná, 2017.
- (12) Quinn, D. M. Acetylcholinesterase: Enzyme Structure, Reaction Dynamics, and Virtual Transition States. *Chem. Rev.* **1987**, 87 (5), 955–979.
- (13) Lima, A.; Santos, L. Intoxicação Por Organofosforados: Tratamento e Metodologias Analíticas Empregadas Na Avaliação Da Reativação e Inibição Da Acetilcolinesterase. *Rev. Virtual Química* **2016**, 8 (3), 739–766.
- (14) Delfino, R. T.; Ribeiro, T. S.; Figueroa-Villar, J. D. Organophosphorus Compounds as Chemical Warfare Agents: A Review. *Sect. Title Toxicol.* **2009**, 20 (3), 407–428.
- (15) Fossier, P.; Tauc, L.; Baux, G. Side Effects of Phosphorylated Acetylcholinesterase Reactivators on Neuronal Membrane and Synaptic Transmission. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* **1983**, 396 (1), 8–14.
- (16) Chan, J.; Yeung, R.; Tang, S. An Overview of Chemical Warfare Agents. *Hong*

- Kong J. Emerg. Med.* **2002**, 9 (4), 201–205.
- (17) 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.
- (18) Calvert, G. M.; Petersen, A. M.; Sievert, J.; Mehler, L. N.; Das, R.; Harter, L. C.; Romoli, C.; Becker, A. Acute Pesticide Poisoning in the U . S . Retail Industry , 1998 – 2004. *Public Health Rep.* **2007**, 122, 232–244.
- (19) Wang, N.; Jiang, Q.; Han, L.; Zhang, H.; Zhu, B.; Liu, X. Epidemiological Characteristics of Pesticide Poisoning in Jiangsu Province, China, from 2007 to 2016. *Sci. Rep.* **2019**, 9 (1), 1–8.
- (20) Bombardi, L. M. *Geografia Do Uso de Agrotóxicos No Brasil e Conexões Com a União Européia.*; Eduardo Penha, 2017.
- (21) Orth, E. S. Reações Nucleofílicas de Desfosforilação Com Imidazol e Hidroximato: Modelagem Em Sistemas Intra- e Intermolecular, Polimérico e Micelar., Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.
- (22) Carneiro, F. F.; Augusto, L. G. da S.; Rigotto, R. M.; Frierich, K.; Búrigo, A. C. *Dossiê ABRASCO, Um Alerta Sobre Os Impactos Dos Agrotóxicos Na Saúde. - Parte 1 - Agrotóxicos, Segurança Alimentar e Nutricional e Saúde, Expressão.; Expressão Popular: Rio de Janeiro/São Paulo, 2015.*
- (23) Kirby, A. J.; Varvoglis, A. G. The Reactivity of Phosphate Esters. Monoester Hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89 (2), 415–423.
- (24) Castro, E. A.; Ugarte, D.; Rojas, M. F.; Pavez, P.; Santos, G.; Qu, F. De. Nucleophilic Substitution Reactions of Diethyl 4-Nitrophenyl Phosphate Triester : Kinetics and Mechanism. *Int. Journl Chem. Kinet.* **2011**, 43 (12), 708–714.
- (25) Medeiros, M.; Orth, E. S.; Manfredi, A. M.; Pavez, P.; Micke, G. A.; Kirby, A. J.; Nome, F. Dephosphorylation Reactions of Mono-, Di-, and Triesters of 2,4-Dinitrophenyl Phosphate with Deferoxamine and Benzohydroxamic Acid. *J. Org. Chem.* **2012**, 77 (23), 10907–10913.
- (26) Silva, V. B.; Nascimento, L. L. Q.; Nunes, M. C.; Campos, R. B.; Oliveira, A. R. M.; Orth, E. S. Puzzling Reaction of Imidazole with Methyl Parathion: P=S vs P=O Mechanistic Shift Dilemma in Organophosphates. *Chem. - A Eur. J.* **2018**, 25, 817–822.
- (27) Anslyn, E. V.; Dougherty, D. A. *Modern Physical Organic Chemistry*; University Science Books, 2006.
- (28) Khan, S. A.; Kirby, A. J. The Reactivity of Phosphate Esters. Multiple Structure-Reactivity Correlations for the Reactions of Triesters with Nucleophiles. *J. Chem. Soc. B Phys. Org.* **1970**, 22 (1172), 1172–1182.
- (29) Kirby, A. J.; Nome, F. Fundamentals of Phosphate Transfer. *Acc. Chem. Res.* **2015**, 48 (7), 1806–1814.

- (30) Kirby, A. J.; Mora, J. R.; Nome, F. New Light on Phosphate Transfer from Triesters. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **2013**, *1834* (1), 454–463.
- (31) Medeiros, M.; Wanderlind, E. H.; Moreira, R.; Kirby, A. J.; Nome, F. Major Mechanistic Differences between the Reactions of Hydroxylamine with Phosphate Di- and Tri-Esters. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, No. 207890.
- (32) Campos, R. B.; Santos, E. H.; Oliveira, A. R. M.; Maria, F.; Ocampos, M.; Souza, B. S.; Barison, A.; Orth, E. S. Reactivity of Imidazole Derivatives towards Phosphate Triester in DMSO / Water Mixtures : A Comprehensive Study on the Solvent Effect Reactivity of Imidazole Derivatives towards Phosphate Triester in DMSO / Water Mixtures : A Comprehensive Study on the Solvent Effect. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 7572–7580.
- (33) Silva, V. B.; Campos, R. B.; Pavez, P.; Medeiros, M.; Orth, E. S. Nucleophilic Neutralization of Organophosphates: Lack of Selectivity or Plenty of Versatility? *Chem. Rec.* **2021**, 1–29.
- (34) Medeiros, M. Estudo Mecanístico Da Reação Entre Hidroxilamina e Um Triéster de Fosfato: Caracterização de Produtos e Intermediários, Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.
- (35) Manfredi, A. M. Estudo Mecanístico Da Reação Entre Alfa-Nucleófilos e Um Diéster de Fosfato, Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.
- (36) Manfredi, A. M. Desfosforilação Do Dietil-2,4-Dinitrofenilfosfato: Reações Em Meio Aquoso e Catálise Micelar, Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.
- (37) Domingos, J. B.; Longhinotti, E.; Bunton, C. A.; Nome, F. Reactions of Bis(2,4-Dinitrophenyl) Phosphate with Hydroxylamine. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (18), 7051–7058.
- (38) Kirby, A. J.; Souza, B. S.; Medeiros, M.; Priebe, J. P. Hydroxylamine as an Oxygen Nucleophile . Chemical Evidence from Its Reaction with a Phosphate Triester with a Phosphate Triester. *Chem. Commun.* **2008**, 4428–4429.
- (39) Orth, E. S.; Campos, R. B. Multifunctional Imidazole-Derived Polymeric Catalyst for Dephosphorylation Reactions Potentiated by Cationic and Anionic Micelles. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27* (2), 285–294.
- (40) Melnychuk, S. A.; Neverov, A. A.; Brown, R. S. Catalytic Decomposition of Simulants for Chemical Warfare V Agents: Highly Efficient Catalysis of the Methanolysis of Phosphonothioate Esters. *Angew. Chemie* **2006**, *45*, 1767–1770.
- (41) 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. *J. Catal.* **2017**, *356*, 75–84.
- (42) Kraut, D. A.; Carroll, K. S.; Herschlag, D. Challenges in Enzyme Mechanism and Energetics. *Annu. Rev. Biochem.* **2003**, *72* (1), 517–571.

- (43) Orth, E. S.; Almeida, T. G.; Silva, V. B.; Oliveira, A. R. M.; Maria, F.; Ocampos, M.; Barison, A. Mechanistic Insight on the Catalytic Detoxification of Paraoxon Mediated by Imidazole: Furnishing Optimum Scaffolds for Scavenging Organophosphorus Agents. *Journal Mol. Catal. A, Chem.* **2015**, *403*, 93–98.
- (44) Soares, P. M. Reações de Metilimidazóis Com Organo(Tio)Fosforados: Reatividade, Modulação Mecanística e Segurança Química, Universidade Federal do Paraná, 2020.
- (45) Campos, R. B.; Menezes, L. R. A.; Barison, A.; Tantillo, D. J.; Orth, E. S. The Importance of Methyl Positioning and Tautomeric Equilibria for Imidazole Nucleophilicity. *Chem. - A Eur. J.* **2016**, *22* (43), 15521–15528.
- (46) Wilson, C.; Cooper, N. J.; Briggs, M. E.; Cooper, A. I.; Adams, D. J. Investigating the Breakdown of the Nerve Agent Simulant Methyl Paraoxon and Chemical Warfare Agents GB and VX Using Nitrogen Containing Bases. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16* (47), 9285–9291.
- (47) John A. Joule, K. M. *Heterocyclic Chemistry*; Blackwell Publishing, 2000.
- (48) J. Bonnetterre, B. Thuñrlimann, J.F.R. Robertson, M. Krzakowski, L. Mauriac, P. Koralewski, I. Vergote, A. Webster, M. Steinberg, M. von E. Anastrozole versus Tamoxifen as First-Line Therapy for Advanced Breast Cancer in 668 Postmenopausal Women: Results of the Tamoxifen or Arimidex Randomized Group Efficacy and Tolerability Study (Journal of Clinical Oncology (2000) 18, (3748-3757)). *J. Clin. Oncol.* **2012**, *30* (3), 343.
- (49) Debruyne, D.; Ryckelynck, J. P. Clinical Pharmacokinetics of Fluconazole. *Clin. Pharmacokinet.* **1993**, *24* (1), 10–27.
- (50) Muñoz-Leoz, B.; Ruiz-Romera, E.; Antigüedad, I.; Garbisu, C. Tebuconazole Application Decreases Soil Microbial Biomass and Activity. *Soil Biol. Biochem.* **2011**, *43* (10), 2176–2183.
- (51) K.T. Potts. The Chemistry of 1,2,4-Triazoles. *Chem. Rev* **1961**, *61*, 87–127.
- (52) Walba, H.; Isensee, R. W. Acidity Constants of Some Arylimidazoles and Their Cations. *J. Org. Chem.* **1961**, *26* (8), 2789–2791.
- (53) Silva, V. B.; Orth, E. S. Are Imidazoles Versatile or Promiscuous in Reactions with Organophosphates? Insights from the Case of Parathion. *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, *30* (10), 2114–2124.
- (54) K. Bolton, R. D. Brown, F.R. Burden, A. M. The Microwave Spectrum and Structure of 1,2,4-Triazole. *J. Mol. Struct.* **1975**, *27*, 261–266.
- (55) Cox, J. R.; Woodcock, S.; Hillier, I. H.; Vincent, M. a. Tautomerism of 1,2,3- and 1,2,4-Triazole In the Gas Ohase and In Aqueous Solution: A Combined an Initio Mechanics and Free Energy Perturbation Study. *Society* **1990**, *95* (9), 5499–5501.
- (56) Luís Alencar. *Introdução a Química Quântica Computacional*; IST Press, 2007.
- (57) Barth, U. von. Basic Density-Functional Theory an Overview. *Phys. Scr.* **2004**,

T109, 9–39.

- (58) Maringolo, M. P. Um Estudo Sobre o Emprego de Funções de Base Gaussianas Geradas Pelo Método Da Coordenada Geradora Em Cálculos de Propriedades Eletrônicas de Átomos e Moléculas, Universidade de São Paulo, 2014.
- (59) Reiher, M.; Salomon, O.; Hess, B. A. Reparameterization of Hybrid Functionals Based on Energy Different of States of Different Multiplicity. *Theor. Chem. Acc.* **2001**, *107*, 48–55.
- (60) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. A New Local Density Functional for Main-Group Thermochemistry , Transition Metal Bonding , Thermochemical Kinetics , and Noncovalent Interactions A New Local Density Functional for Main-Group Thermochemistry , Transition Metal Bonding , Thermochemical Kin. *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 194191-(1-18).
- (61) Purg, M.; Elias, M.; Caroline, S.; Kamerlin, L. Similar Active Sites and Mechanisms Do Not Lead to Cross-Promiscuity in Organophosphate Hydrolysis : Implications for Biotherapeutic Engineering Similar Active Sites and Mechanisms Do Not Lead to Cross- Promiscuity in Organophosphate Hydrolysis : Implicat. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**.
- (62) Marenich, A. V; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113* (18), 6378–6396.
- (63) Maeda, S.; Harabuchi, Y.; Ono, Y.; Taketsugu, T.; Morokuma, K. Intrinsic Reaction Coordinate: Calculation, Bifurcation, and Automated Search. *Int. J. Quantum Chem.* **2015**, *115* (5), 258–269. <https://doi.org/10.1002/qua.24757>.
- (64) Wazzan, N.; Safi, Z. DFT Calculations of the Tautomerization and NLO Properties of 5-Amino-7-(Pyrrolidin-1-Yl)-2,4,4-Trimethyl-1,4-Dihydro-1,6-Naphthyridine-8-Carbonitrile (APNC). *J. Mol. Struct.* **2017**, *101*, 1–22.
- (65) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E. ; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B. ; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P. ; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M. ; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M. . N.; T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery Jr., J. A. ; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M. J.; Heyd, J.; Brothers, E. N. ; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T.; Kobayashi, R.; Normand, J. ; Raghavachari, K.; Rendell, A. P.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S. . T.; J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, N. J.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B. . ; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E. ; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W. . ; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A. . S.; P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö. . ; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian, Inc.*; Gaussian 09, Revision D. 01, Gaussian INC: Wallingford, CT, US, 2010.
- (66) 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. - A Eur. J.* **2020**, *26* (22), 5017–5026.
- (67) 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.
- (68) 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), 1–11.
- (69) Hostert, L.; Campos, R. B.; Fonsaca, J. E. S.; Silva, V. B.; Blaskiewicz, S. F.; Ferreira, J. G. L.; Takarada, W.; Naidek, N.; Santos, Y. H.; Nascimento, L. L. Q.; Zarkin, A. J. G.; Orth, E. S. Targeted Catalytic Degradation of Organophosphates : Pursuing Sensors. *Pure Appl. Chem.* **2018**, *90*, 1593–1603.
- (70) Hellinger, R.; Silva, V. B.; Orth, E. S. Colorimetric Detection of Glyphosate: Towards a Handmade and Portable Analyzer. *Pure Appl. Chem.* **2020**, *92* (4), 601–616.
- (71) 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*, 8003–8008.
- (72) Campos, R. B.; Menezes, L. R. A.; Barison, A.; Tantillo, D. J.; Orth, E. S. The Importance of Methyl Positioning and Tautomeric Equilibria for Imidazole Nucleophilicity. **2016**, 1–9.

ANEXOS

A. Dados Experimentais

Tabela A1. Dados de perfil de pH (k_{obs} vs pH) para reação do TAZ a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com DEDNPP a 25°C .

pH	$k_{\text{obs}}/\text{s}^{-1}$
6,07	7,50E-05
7,07	5,25E-04
7,54	1,79E-03
7,99	5,57E-03
8,51	1,20E-02
8,97	3,19E-02
9,49	8,51E-02
10,01	2,45E-01
10,52	3,74E-01
11,07	4,69E-01
11,64	5,96E-01

Tabela A2. Dados de perfil de pH (k_{obs} vs pH) para reação do TAZ a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com Paraoxon a 25°C .

pH	$k_{\text{obs}}/\text{s}^{-1}$
8,42	6,77E-06
8,89	1,85E-05
9,50	5,20E-05
10,08	1,12E-04
10,28	1,87E-04
10,98	2,32E-04

Tabela A3. Dados do Perfil de Temperatura para as reações do TAZ a $0,5 \text{ M}$ em pH 9,0

T / $^\circ\text{C}$	$k_{\text{obs}}/\text{s}^{-1}$
30	1,28E-02
35	1,62E-02
40	2,00E-02
45	2,27E-02

Tabela A4. Dados do Perfil de Concentração para as reações do TAZ a 0,5 M em pH 9,0

[TAZ] / (mol L ⁻¹)	k _{obs} /s ⁻¹
7,50E-03	8,00E-03
5,00E-03	5,00E-03
2,50E-03	3,00E-03
7,50E-04	7,58E-04

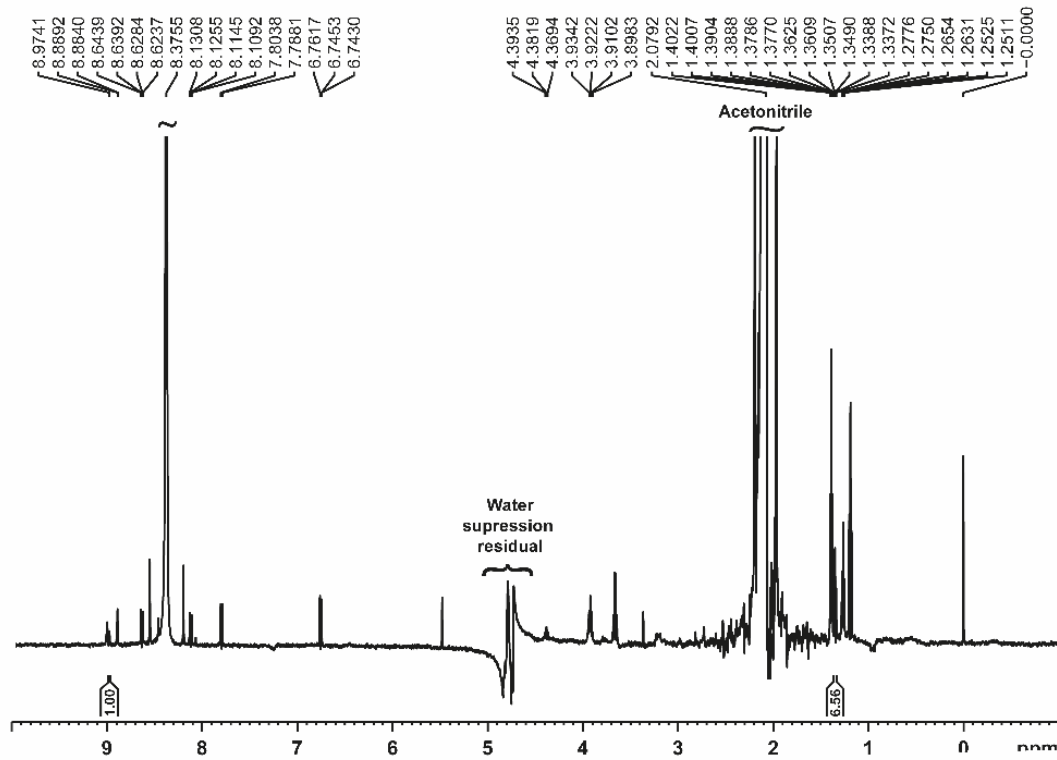
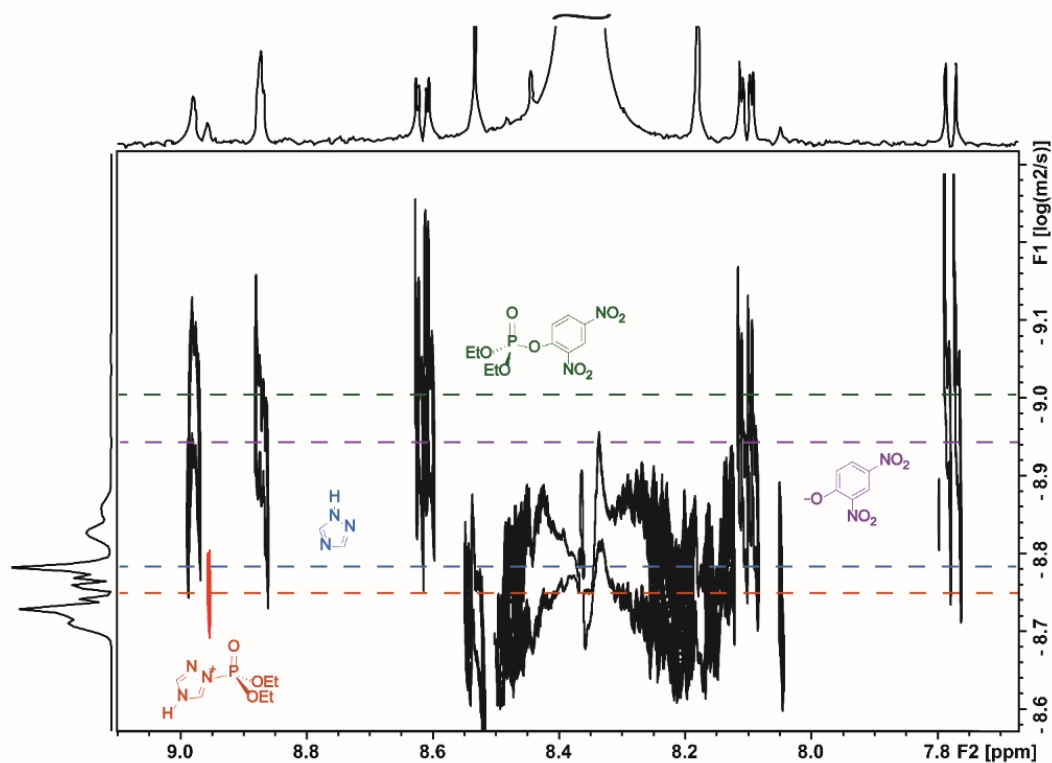
Figura A1. Espectro de ¹H RMN para a reação de DEDNPP (2,6x10⁻² mol L⁻¹) com TAZ (0,1 mol L⁻¹) (pH 9,0, 25° C, H₂O/ACN com gotas de D₂O a 600 MHz).

Figura A2. Expansão do espectro de ^1H DOSY a 600 MHz referente a reação de DEDNPP ($2,6 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) com TAZ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) (pH 9,0, 25° C , $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ com gotas de D_2O a 600 MHz). O hidrogênio aromático de INT (N1) é destacado em vermelho. O espectro de ^1H é plotado no topo e a projeção integral (soma) no eixo de difusão à esquerda



B. Dados Computacionais para elucidação de mecanismo.

M06-2X/6-311++G(d,p)

Tabela B1. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação mais estável do DEDNPP

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	15	-2,396924	0,352344	0,234534
2	8	-1,724378	0,286175	1,652065
3	8	-1,158144	0,469132	-0,824767
4	8	-2,931834	-1,122521	0,122392
5	8	-3,33785	1,446787	-0,064108
6	6	-3,490908	-1,601638	-1,141375
7	1	-2,723941	-1,487063	-1,910146
8	1	-4,352058	-0,978476	-1,386243
9	6	-1,012169	1,440296	2,211232
10	1	-1,709347	1,937209	2,884303

11	1	-0,743987	2,121284	1,400801
12	6	0,208697	0,922139	2,927831
13	1	0,72934	1,762116	3,391964
14	1	-0,075589	0,215638	3,709435
15	1	0,891945	0,430371	2,230836
16	6	-3,873207	-3,044188	-0,941211
17	1	-4,293593	-3,43267	-1,870531
18	1	-2,99783	-3,640384	-0,67824
19	1	-4,62246	-3,137975	-0,153735
20	6	0,094618	-0,001415	-0,571153
21	6	1,191466	0,849456	-0,739006
22	6	0,310245	-1,322856	-0,192127
23	6	2,486285	0,414525	-0,523932
24	6	1,595275	-1,772634	0,054554
25	1	-0,538007	-1,988732	-0,088396
26	6	2,656464	-0,893079	-0,111737
27	1	3,324554	1,085047	-0,657841
28	1	1,771418	-2,794042	0,363884
29	7	1,018372	2,248355	-1,148629
30	8	0,032257	2,845372	-0,77598
31	8	1,89756	2,735737	-1,829727
32	7	4,021046	-1,365461	0,154429
33	8	4,159058	-2,498760	0,566362
34	8	4,940443	-0,599595	-0,050383

Tabela B2. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação mais estável do TAZ (-)

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	7	0,001274	1,185053	-0,000115
2	6	-1,028881	0,322136	0,000022
3	7	-0,684712	-0,957761	-0,000033
4	7	0,682566	-0,959024	0,000055
5	6	1,029657	0,320097	0,000082
6	1	-2,063701	0,63648	-0,000057
7	1	2,065147	0,632245	0,000082

Tabela B3. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação mais estável do 4H-TAZ

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	7	0,001231	1,078057	-0,000047
2	6	-1,075864	0,255655	0,000028
3	7	-0,68969	-0,991941	0,000018
4	7	0,687397	-0,993387	-0,000064
5	6	1,076477	0,253307	0,000075
6	1	-2,095097	0,605784	0,000042
7	1	2,096505	0,601115	0,000087
8	1	0,002348	2,090226	-0,000096

Tabela B4. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação mais estável do 1H-TAZ

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	7	-0,389276	-1,148096	-0,000088
2	6	-1,113566	-0,001187	0,000292
3	1	-2,191900	0,014974	0,000318
4	7	-0,409181	1,108187	-0,000356
5	6	0,851412	-0,695989	-0,000060
6	1	1,756234	-1,282383	-0,000197
7	7	0,850337	0,637820	0,000103
8	1	1,645440	1,265084	0,000866

Tabela B5. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET 1H-TAZ N2

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	1,570034	-1,263647	0,099437
2	6	1,366419	0,129986	0,398667
3	6	2,534988	0,956605	0,227157
4	6	3,756842	0,458026	-0,194441
5	6	3,874306	-0,893315	-0,443608
6	6	2,774874	-1,763204	-0,298883
7	7	5,148851	-1,41786	-0,856316
8	7	2,470558	2,383027	0,456102
9	8	0,239814	0,571353	0,76165
10	15	-1,793691	-0,184771	-0,048818
11	8	-0,470532	-1,314662	-0,470532
12	8	-1,121535	1,201649	-1,121535

13	8	1,263064	0,408515	1,263064
14	6	2,441781	-0,393095	2,441781
15	6	2,578648	-1,557366	2,578648
16	6	-0,718326	2,592923	-0,718326
17	6	-0,425843	-1,546124	3,159934
18	8	3,31044	3,095917	-0,079764
19	8	5,23705	-2,614582	-1,092782
20	8	6,09964	-0,655023	-0,958825
21	8	1,593583	2,834215	1,172672
22	1	0,717909	-1,921611	0,216733
23	1	4,603015	1,121087	-0,311441
24	1	2,894724	-2,819655	-0,500983
25	1	-0,819302	2,352149	-0,71074
26	1	-1,947758	3,267358	0,309521
27	1	-2,683995	1,763196	-2,273473
28	1	-2,60353	3,518554	-2,073072
29	1	-3,84568	2,593105	-1,209584
30	1	-2,494474	-0,908839	3,099271
31	1	-1,328939	0,346772	2,615529
32	1	-0,642386	-2,611111	3,059427
33	1	-0,323635	-1,313475	4,222202
34	1	0,517727	-1,320612	2,66206
35	7	-5,31395	-1,125339	-1,709093
36	6	-5,600939	-1,102	-0,408693
37	7	-4,515592	-0,849476	0,308234
38	1	-6,567037	-1,265345	0,042581
39	6	-4,003119	-0,877346	-1,757212
40	1	-3,400776	-0,814354	-2,649713
41	7	-3,48314	-0,713573	-0,544673
42	1	-4,387557	-0,782625	1,317629

Tabela B6. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET 1H-TAZ N4

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	-1,491786	-0,921548	1,101356
2	6	-1,262046	0,410613	0,62928
3	6	-2,408697	1,062015	0,067316
4	6	-3,650563	0,456054	-0,026608
5	6	-3,787115	-0,840799	0,423886
6	6	-2,709081	-1,534918	0,998833
7	7	-5,070521	-1,490666	0,301555
8	7	-2,31829	2,416488	-0,449978

9	8	-0,118219	0,970068	0,716119
10	15	1,738279	-0,109036	0,375056
11	8	1,706696	-0,565628	1,782836
12	8	0,955209	-0,841518	-0,777111
13	8	2,191759	1,317959	-0,126296
14	6	2,623195	2,348151	0,813495
15	6	4,014781	2,058331	1,329569
16	6	0,417654	-0,18714	-1,97158
17	6	-0,677223	-1,06765	-2,51844
18	8	-3,340954	3,085322	-0,487055
19	8	-5,17701	-2,642791	0,692797
20	8	-6,002252	-0,86913	-0,185973
21	8	-1,244535	2,834988	-0,842388
22	1	-0,654956	-1,441289	1,549501
23	1	-4,484495	0,986667	-0,465502
24	1	-2,848141	-2,54639	1,357487
25	1	1,88636	2,41024	1,615681
26	1	2,590833	3,265089	0,229143
27	1	4,030272	1,172881	1,969783
28	1	4,35503	2,910211	1,921803
29	1	4,708988	1,912175	0,498739
30	1	1,246307	-0,081797	-2,673125
31	1	0,048594	0,79972	-1,693213
32	1	-0,292812	-2,060936	-2,75627
33	1	-1,063438	-0,616999	-3,435039
34	1	-1,498632	-1,162041	-1,804539
35	7	3,358495	-0,890115	-0,081267
36	6	4,021959	-0,793738	-1,27287
37	7	5,185195	-1,377152	-1,228024
38	1	3,620031	-0,292751	-2,139327
39	6	4,173058	-1,559969	0,731789
40	1	3,990666	-1,81985	1,762216
41	7	5,255112	-1,848468	0,037333
42	1	6,070908	-2,360561	0,35991

Tabela B7. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET 4H-TAZ N1

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	1,499971	-0,82847	-1,261995
2	6	1,211278	0,445296	-0,675062
3	6	2,307388	1,055165	0,019165
4	6	3,554679	0,463555	0,130958
5	6	3,746822	-0,779679	-0,435571
6	6	2,721428	-1,430143	-1,143538
7	7	5,032995	-1,419306	-0,294179
8	7	2,154472	2,349802	0,659041
9	8	0,063766	0,99116	-0,779812
10	15	-1,798404	-0,146317	-0,535277
11	8	-1,776093	-0,499111	-1,971427
12	8	-0,947027	-0,977682	0,504076
13	8	-2,320179	1,230465	0,020139
14	6	-2,166359	2,519193	-0,650679
15	6	-3,469273	3,262465	-0,500509
16	6	-0,516043	-0,452011	1,798046
17	6	0,564175	-1,365982	2,318111
18	8	3,156272	3,031586	0,821507
19	8	5,18486	-2,530505	-0,778201
20	8	5,922378	-0,830903	0,301887
21	8	1,049708	2,706736	1,025159
22	1	0,701516	-1,313788	-1,808675
23	1	4,348453	0,96152	0,671045
24	1	2,904997	-2,39831	-1,590834
25	1	-1,917879	2,341313	-1,696756
26	1	-1,337955	3,030174	-0,164863
27	1	-4,280552	2,729459	-0,998823
28	1	-3,368016	4,249251	-0,957071
29	1	-3,720311	3,392968	0,553551
30	1	-1,392113	-0,440134	2,450148
31	1	-0,156301	0,567771	1,65537
32	1	0,190301	-2,386279	2,421518
33	1	0,882171	-1,012005	3,300829
34	1	1,429698	-1,366526	1,651231
35	7	-3,353132	-0,994495	-0,012948
36	6	-3,51274	-1,984821	0,840802
37	7	-4,543017	-0,644461	-0,571983
38	7	-4,812676	-2,287786	0,846756
39	1	-2,744764	-2,46745	1,423647
40	6	-5,417084	-1,44293	-0,035164
41	1	-6,473631	-1,450462	-0,246095

42	1	-5,254962	-3,012792	1,404116
----	---	-----------	-----------	----------

Tabela B8. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET TAZ(-) N1

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	1,561252	-1,223577	-0,410507
2	6	1,372132	0,124814	-0,078284
3	6	2,519018	0,915108	0,122936
4	6	3,799661	0,417856	-0,013311
5	6	3,934182	-0,920513	-0,328723
6	6	2,834192	-1,746842	-0,527501
7	7	5,278976	-1,47617	-0,457533
8	7	2,396298	2,329455	0,483082
9	8	0,177763	0,706915	0,034122
10	15	-1,315067	0,014646	-0,372696
11	8	-1,163979	-0,453137	-1,767297
12	8	-1,378072	-1,089261	0,754115
13	8	-2,145767	1,293526	0,025536
14	6	-1,709673	2,644424	-0,325874
15	6	-2,92845	3,528783	-0,273017
16	6	-1,628156	-0,730764	2,142325
17	6	-1,394534	-1,967363	2,97141
18	8	3,218985	3,096126	0,021002
19	8	5,386659	-2,653991	-0,738186
20	8	6,226636	-0,735295	-0,279511
21	8	1,505954	2,661331	1,236322
22	1	0,7073	-1,864473	-0,579204
23	1	4,659132	1,057273	0,138156
24	1	2,972716	-2,790479	-0,776344
25	1	-1,269814	2,621493	-1,324447
26	1	-0,951758	2,945159	0,39666
27	1	-3,675123	3,202472	-0,998505
28	1	-2,635528	4,553785	-0,508647
29	1	-3,369384	3,514867	0,725257
30	1	-2,65986	-0,380756	2,21279
31	1	-0,948163	0,078189	2,419406
32	1	-2,069539	-2,768518	2,66476
33	1	-1,583276	-1,736024	4,021334
34	1	-0,363195	-2,309461	2,869154
35	7	-3,682536	-0,807542	-0,518108
36	6	-4,260391	-1,789397	0,15894
37	7	-4,646321	-0,277533	-1,316002
38	7	-5,561705	-1,958626	-0,134202

39	1	-3,721649	-2,392648	0,877084
40	6	-5,733734	-0,99048	-1,05358
41	1	-6,677251	-0,799641	-1,545377

Tabela B9. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET TAZ(-) N4

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	1,64433	-1,055762	-0,769253
2	6	1,401968	0,272383	-0,39171
3	6	2,50428	1,045856	0,016367
4	6	3,794841	0,556206	0,032348
5	6	3,979923	-0,763228	-0,334128
6	6	2,923546	-1,575269	-0,731265
7	7	5,332195	-1,314283	-0,298065
8	7	2,319987	2,430907	0,456185
9	8	0,203276	0,855389	-0,437649
10	15	-1,289736	0,032274	-0,548613
11	8	-1,306916	-0,51685	-1,923828
12	8	-1,050668	-0,941938	0,677009
13	8	-2,089485	1,321317	-0,117302
14	6	-3,122862	1,938879	-0,939238
15	6	-4,332511	2,21085	-0,080785
16	6	-0,779516	-0,437897	2,01722
17	6	-0,515452	-1,63628	2,891703
18	8	3,187189	3,230291	0,161559
19	8	5,483301	-2,480442	-0,606731
20	8	6,242962	-0,581853	0,037744
21	8	1,337069	2,704605	1,111293
22	1	0,826481	-1,67707	-1,107433
23	1	4,62011	1,182897	0,343755
24	1	3,102844	-2,602537	-1,019041
25	1	-3,355093	1,28064	-1,776015
26	1	-2,685333	2,860237	-1,323511
27	1	-4,763927	1,281792	0,296182
28	1	-5,083687	2,729212	-0,680747
29	1	-4,066327	2,849833	0,763432
30	1	-1,65482	0,125329	2,346768
31	1	0,083253	0,231389	1,977052
32	1	-1,383696	-2,297364	2,911609
33	1	-0,309119	-1,299561	3,909286
34	1	0,349904	-2,191833	2,525301
35	7	-3,476102	-0,978043	-0,330226

36	6	-4,518154	-1,060305	-1,177901
37	6	-4,063102	-1,246336	0,851079
38	7	-5,660751	-1,365654	-0,580061
39	1	-4,435112	-0,901668	-2,244289
40	7	-5,36197	-1,487624	0,75094
41	1	-3,530514	-1,271223	1,792061

B3LYP/6-31+G(d,p)

Tabela B10. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação mais estável do DEDNPP

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	-1,03716	1,240782	-0,43227
2	6	-0,50535	0,02007	0,004597
3	6	-1,39642	-1,01998	0,354398
4	6	-2,77368	-0,85265	0,267179
5	6	-3,26204	0,377686	-0,15279
6	6	-2,40935	1,427261	-0,50637
7	7	-4,70491	0,571548	-0,22418
8	7	-0,91819	-2,32101	0,817018
9	8	0,828801	-0,20565	0,105961
10	15	2,038093	0,538694	-0,7433
11	8	1,717957	0,67789	-2,18979
12	8	2,303465	1,929718	-0,03791
13	8	3,263258	-0,36881	-0,31893
14	6	3,405003	-1,76634	-0,78243
15	6	4,750766	-2,26559	-0,31289
16	6	2,581958	2,068643	1,408476
17	6	2,696296	3,54435	1,708908
18	8	-1,61237	-3,30947	0,555182
19	8	-5,12959	1,665877	-0,61181
20	8	-5,44265	-0,36435	0,104899
21	8	0,133746	-2,37558	1,457341
22	1	-0,37433	2,05264	-0,7051
23	1	-3,43978	-1,66173	0,535667
24	1	-2,81246	2,378059	-0,83142
25	1	3,324921	-1,76742	-1,87174
26	1	2,581126	-2,33879	-0,35007
27	1	5,56308	-1,67029	-0,7407
28	1	4,873467	-3,30329	-0,6404
29	1	4,822095	-2,23831	0,778688
30	1	3,510532	1,53371	1,617451
31	1	1,756455	1,602217	1,950957

32	1	3,513741	3,9998	1,141756
33	1	2,906422	3,668677	2,776445
34	1	1,763943	4,068189	1,477596

Tabela B11. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação mais estável do TAZ (-)

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	7	0,001645	1,19048	-0,00013
2	6	-1,03953	0,325225	0,000031
3	7	-0,69312	-0,96365	-0,000050
4	7	0,690337	-0,96528	0,000053
5	6	1,040547	0,322588	0,000092
6	1	-2,07478	0,643859	-0,000048
7	1	2,076667	0,638406	0,000092

Tabela B12. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação mais estável do 4H-TAZ

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	7	0,000435	1,0831	-0,000068
2	6	-1,08166	0,258394	0,000040
3	7	-0,696	-0,99922	0,000026
4	7	0,695185	-0,99974	-0,000091
5	6	1,081884	0,257562	0,000107
6	1	-2,10231	0,610056	0,000061
7	1	2,102815	0,608412	0,000125
8	1	0,000829	2,096773	-0,000138

Tabela B13. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação mais estável do 1H-TAZ

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	7	0,388392	1,154132	0,000445
2	6	-0,86169	0,697706	-0,00014
3	7	-0,85776	-0,64327	-0,00022
4	7	0,41688	-1,11469	0,000671
5	6	1,124749	0,00593	-0,00072
6	1	-1,76662	1,287072	-0,00029
7	1	2,204789	-0,00538	-0,00045
8	1	-1,64914	-1,27671	-0,00043

Tabela B14. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET 1H-TAZ N2

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	1,570034	-1,263647	0,099437
2	6	1,366419	0,129986	0,398667
3	6	2,534988	0,956605	0,227157
4	6	3,756842	0,458026	-0,194441
5	6	3,874306	-0,893315	-0,443608
6	6	2,774874	-1,763204	-0,298883
7	7	5,148851	-1,41786	-0,856316
8	7	2,470558	2,383027	0,456102
9	8	0,239814	0,571353	0,76165
10	15	-1,793691	-0,184771	-0,048818
11	8	-0,470532	-1,314662	-0,470532
12	8	-1,121535	1,201649	-1,121535
13	8	1,263064	0,408515	1,263064
14	6	2,441781	-0,393095	2,441781
15	6	2,578648	-1,557366	2,578648
16	6	-0,718326	2,592923	-0,718326
17	6	-0,425843	-1,546124	3,159934
18	8	3,31044	3,095917	-0,079764
19	8	5,23705	-2,614582	-1,092782
20	8	6,09964	-0,655023	-0,958825
21	8	1,593583	2,834215	1,172672
22	1	0,717909	-1,921611	0,216733
23	1	4,603015	1,121087	-0,311441
24	1	2,894724	-2,819655	-0,500983
25	1	-0,819302	2,352149	-0,71074
26	1	-1,947758	3,267358	0,309521
27	1	-2,683995	1,763196	-2,273473
28	1	-2,60353	3,518554	-2,073072
29	1	-3,84568	2,593105	-1,209584
30	1	-2,494474	-0,908839	3,099271
31	1	-1,328939	0,346772	2,615529
32	1	-0,642386	-2,611111	3,059427
33	1	-0,323635	-1,313475	4,222202
34	1	0,517727	-1,320612	2,66206
35	7	-5,31395	-1,125339	-1,709093
36	6	-5,600939	-1,102	-0,408693
37	7	-4,515592	-0,849476	0,308234
38	1	-6,567037	-1,265345	0,042581
39	6	-4,003119	-0,877346	-1,757212
40	1	-3,400776	-0,814354	-2,649713
41	7	-3,48314	-0,713573	-0,544673

42	1	-4,387557	-0,782625	1,317629
----	---	-----------	-----------	----------

Tabela B15. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET 1H-TAZ N4

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	15	1,781688	0,484194	0,057613
2	8	1,371808	-0,5031	-1,13484
3	8	-0,18252	1,094023	0,093821
4	8	1,562875	-0,30563	1,426661
5	8	2,15349	1,92765	-0,0795
6	6	1,028987	0,327047	2,646987
7	1	-0,05964	0,298821	2,584354
8	1	1,36497	1,365732	2,677101
9	6	1,766783	-0,20489	-2,52182
10	1	2,852519	-0,07716	-2,55458
11	1	1,28159	0,729656	-2,81406
12	6	1,316921	-1,36562	-3,37952
13	1	1,592976	-1,16188	-4,41945
14	1	1,802671	-2,29593	-3,06958
15	1	0,231641	-1,49499	-3,33011
16	6	1,544065	-0,46444	3,827865
17	1	1,132944	-0,03074	4,745724
18	1	1,224722	-1,50971	3,770071
19	1	2,635935	-0,42702	3,88581
20	6	-1,28673	0,425449	0,051026
21	6	-2,55918	1,08618	-0,13014
22	6	-1,35291	-0,99495	0,231655
23	6	-3,76605	0,394705	-0,11665
24	6	-2,5423	-1,68172	0,228974
25	1	-0,42877	-1,53471	0,385401
26	6	-3,75595	-0,98364	0,050137
27	1	-4,69581	0,929355	-0,25606
28	1	-2,55185	-2,75576	0,368531
29	7	-2,64921	2,517867	-0,32346
30	8	-1,67977	3,136997	-0,78165
31	8	-3,71863	3,084052	-0,03314
32	7	-4,99886	-1,70046	0,039002
33	8	-4,97598	-2,9355	0,190436
34	8	-6,06156	-1,07256	-0,1196
35	7	3,605015	-0,16511	-0,00262
36	6	4,051282	-1,4579	0,084832
37	1	3,402262	-2,30678	0,233738
38	7	5,35722	-1,5444	-0,0298
39	6	4,701297	0,576314	-0,19067

40	1	4,746308	1,647494	-0,31015
41	7	5,741119	-0,2481	-0,2023
42	1	6,720118	-0,00458	-0,32039

Tabela B16. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET 4H-TAZ N1

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	1,552475	-1,26358	-0,035496
2	6	1,346333	0,147639	0,113669
3	6	2,542004	0,957985	0,062249
4	6	3,803973	0,406445	-0,137746
5	6	3,93145	-0,96944	-0,267107
6	6	2,798745	-1,81108	-0,213415
7	7	5,237344	-1,53652	-0,448823
8	7	2,489204	2,395947	0,197794
9	8	0,177801	0,667647	0,274945
10	15	-1,65148	-0,14779	-0,219225
11	8	-1,11788	-0,60251	-1,545262
12	8	-1,63712	-0,99879	1,128111
13	8	-2,19698	1,324247	0,088147
14	6	-2,06754	2,409346	-0,896092
15	6	-2,6847	3,648178	-0,287487
16	6	-1,09592	-0,58793	2,434021
17	6	-1,77018	-1,44092	3,485611
18	8	3,441997	3,065755	-0,24235
19	8	5,340259	-2,77116	-0,565953
20	8	6,226952	-0,78315	-0,48612
21	8	1,514653	2,924103	0,750823
22	1	0,686703	-1,91134	0,005585
23	1	4,673185	1,048855	-0,172681
24	1	2,91625	-2,88366	-0,308454
25	1	-2,58846	2,104947	-1,808027
26	1	-1,00588	2,548281	-1,11078
27	1	-3,74413	3,491498	-0,062344
28	1	-2,60222	4,472077	-1,004208
29	1	-2,16346	3,936446	0,630565
30	1	-1,30457	0,473653	2,576157
31	1	-0,01805	-0,75077	2,414964
32	1	-2,8507	-1,27101	3,504302
33	1	-1,36092	-1,17412	4,466002
34	1	-1,57875	-2,5046	3,312503
35	7	-3,41708	-0,80907	-0,556807
36	6	-3,83452	-1,40938	-1,658639
37	7	-4,45511	-0,67833	0,333577

38	7	-5,1413	-1,67864	-1,500911
39	1	-3,24191	-1,644	-2,528091
40	6	-5,48934	-1,21403	-0,264368
41	1	-6,4846	-1,28611	0,146638
42	1	-5,74573	-2,13571	-2,177506

Tabela B17. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET TAZ(-) N1

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	1,564544	-1,23297	-0,42127
2	6	1,355215	0,125316	-0,09016
3	6	2,514455	0,932876	0,099418
4	6	3,79937	0,425048	-0,05068
5	6	3,950457	-0,919137	-0,36464
6	6	2,838304	-1,75329	-0,54996
7	7	5,285672	-1,462151	-0,49979
8	7	2,413073	2,341407	0,458129
9	8	0,156986	0,682205	0,028982
10	15	-1,40906	-0,046419	-0,31963
11	8	-1,21253	-0,578985	-1,70213
12	8	-1,42157	-1,056654	0,912543
13	8	-2,17178	1,308476	0,033891
14	6	-1,94705	2,554965	-0,71971
15	6	-2,92254	3,581892	-0,19105
16	6	-1,43297	-0,606088	2,313351
17	6	-1,22928	-1,824643	3,184952
18	8	3,319203	3,098503	0,082883
19	8	5,408724	-2,662816	-0,78152
20	8	6,255842	-0,709232	-0,33118
21	8	1,452737	2,723525	1,13316
22	1	0,711764	-1,878747	-0,57822
23	1	4,658353	1,066233	0,094696
24	1	2,974864	-2,79934	-0,79452
25	1	-2,11414	2,344776	-1,77904
26	1	-0,91103	2,862577	-0,56654
27	1	-3,95718	3,259113	-0,34098
28	1	-2,77153	4,522037	-0,7322
29	1	-2,75733	3,768486	0,874695
30	1	-2,39889	-0,130202	2,499472
31	1	-0,63338	0,126187	2,447965
32	1	-2,0268	-2,558133	3,031846
33	1	-1,24534	-1,51272	4,234629
34	1	-0,26436	-2,298768	2,981042

35	7	-3,66802	-0,850535	-0,48122
36	6	-4,33044	-1,735091	0,266656
37	7	-4,54746	-0,413039	-1,43884
38	7	-5,60914	-1,923355	-0,13071
39	1	-3,87843	-2,247941	1,104792
40	6	-5,67695	-1,077286	-1,18743
41	1	-6,56899	-0,943299	-1,7861

Tabela B18. Coordenadas cartesianas (x,y,z) da conformação da EET TAZ(-) N4

Número Central	Número Atômico	Coordenada / Angstrom		
		X	Y	Z
1	6	1,643409	-1,21016	-0,23115
2	6	1,411063	0,166063	-0,00393
3	6	2,555334	1,014477	0,057061
4	6	3,845369	0,526923	-0,1158
5	6	4,019055	-0,83472	-0,32415
6	6	2,923236	-1,70836	-0,3813
7	7	5,360992	-1,35511	-0,47971
8	7	2,431824	2,445579	0,296415
9	8	0,203438	0,699825	0,131424
10	15	-1,349809	-0,06534	-0,23862
11	8	-1,113506	-0,56646	-1,62773
12	8	-1,353796	-1,08534	0,987362
13	8	-2,104304	1,286206	0,151913
14	6	-2,724248	2,146889	-0,86379
15	6	-3,571499	3,167203	-0,1375
16	6	-1,236832	-0,66259	2,392714
17	6	-1,240829	-1,91366	3,241818
18	8	3,300273	3,188159	-0,18339
19	8	5,503998	-2,57151	-0,67001
20	8	6,316901	-0,56828	-0,41866
21	8	1,49025	2,863475	0,97686
22	1	0,803727	-1,88926	-0,28426
23	1	4,691639	1,19914	-0,06896
24	1	3,078084	-2,76796	-0,54259
25	1	-3,326822	1,519632	-1,52417
26	1	-1,919919	2,61666	-1,43621
27	1	-4,369692	2,678277	0,429868
28	1	-4,029709	3,836058	-0,87366
29	1	-2,965319	3,770617	0,545361
30	1	-2,086919	-0,01508	2,620281
31	1	-0,308313	-0,09842	2,505764
32	1	-2,170638	-2,47583	3,112552
33	1	-1,155626	-1,62476	4,29476

34	1	-0,394527	-2,5613	2,993011
35	7	-3,559348	-0,85508	-0,51925
36	6	-4,155247	-1,3734	-1,61789
37	6	-4,588441	-0,78863	0,357825
38	7	-5,453065	-1,62253	-1,44457
39	1	-3,632798	-1,56966	-2,54471
40	7	-5,737878	-1,23786	-0,14448
41	1	-4,491966	-0,41197	1,367828

C. Artigos Publicados

Campos, R. B. Silva, V. B. Menezes, L. R. A. OCampos, F. M. M. Fernandes, J. M. Barisson, A. Oliveira, A. R. M. Tantillo, D. J. Orth, E.S. Competitive Reactive Of Tautomers in the Degradation of Organophosphates by Imidazole Derivatives. *Chem. - A Eur. J.* **26**, 5017–5026 (2020)

Fernandes, J. M. Soek, R. N., Nascimento, T. C., Menezes, L. R. A., Sasaki, G. L., Campos, R. B. Degradation of Organophosphates Promoted by 1,2,4-Triazole Anion: Exploring Scaffolds for Efficient Catalytic Systems. *J. Org. Chem.* **86**, 4027–4034 (2021).