

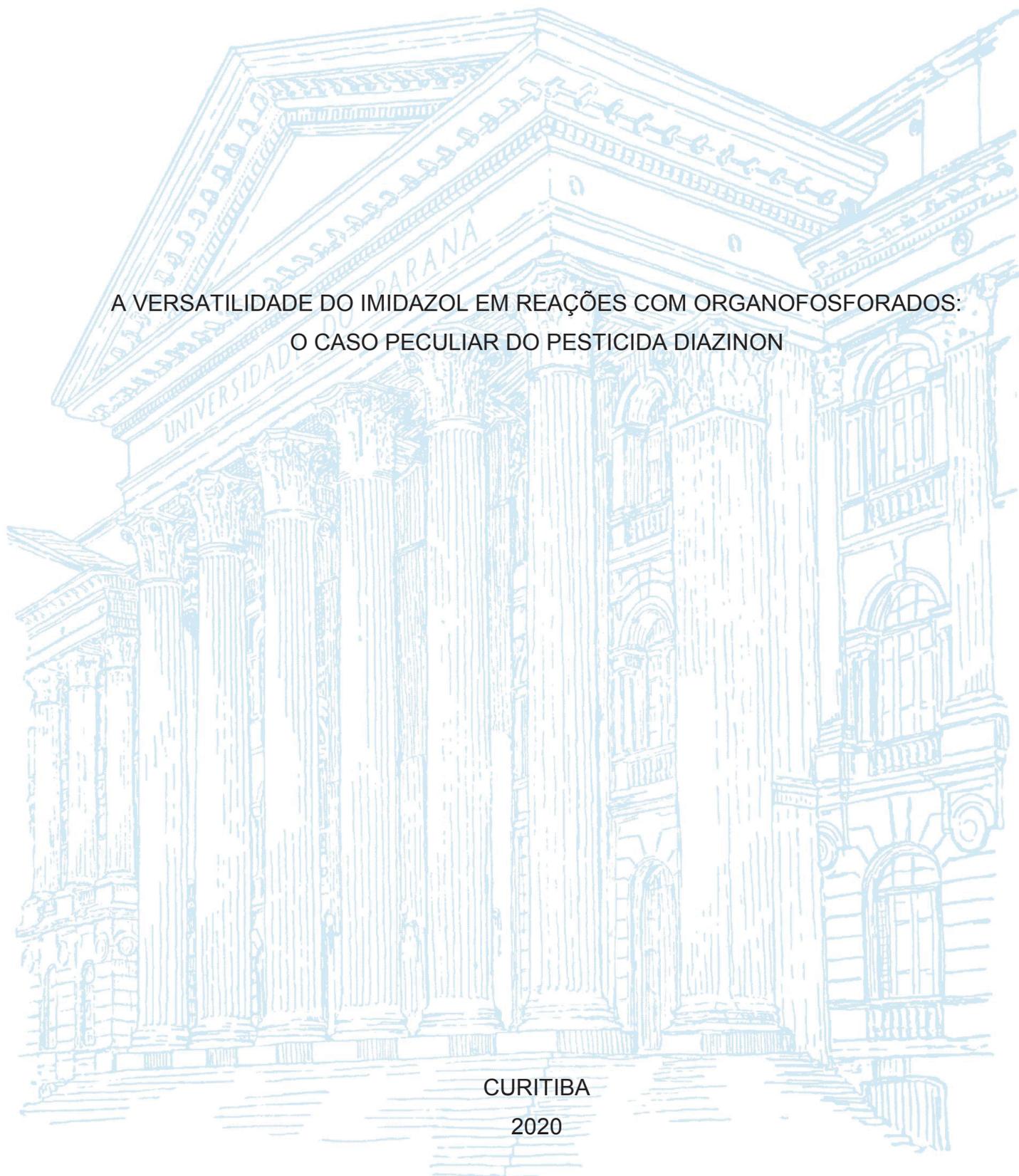
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALEX ROGER TEIXEIRA

A VERSATILIDADE DO IMIDAZOL EM REAÇÕES COM ORGANOFOSFORADOS:
O CASO PECULIAR DO PESTICIDA DIAZINON

CURITIBA

2020



ALEX ROGER TEIXEIRA

A VERSATILIDADE DO IMIDAZOL EM REAÇÕES COM ORGANOFOSFORADOS:
O CASO PECULIAR DO PESTICIDA DIAZINON

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elisa Souza Orth

CURITIBA

2020

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

T266v

Teixeira, Alex Roger

A versatilidade do imidazol em reações com organofosforados: o caso peculiar do pesticida Diazinon [recurso eletrônico] / Alex Roger Teixeira. – Curitiba, 2020.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2020.

Orientadora: Elisa Souza Orth.

1. Pesticida. 2. Compostos organofosforados. 3. Catálise. I. Universidade Federal do Paraná. II. Orth, Elisa Souza. III. Título.

CDD: 344.046334

Bibliotecária: Vanusa Maciel CRB- 9/1928

Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Exatas
Departamento de Química
Coordenação de Pós-Graduação

Declaração

Declaramos, para os devidos fins, que **Alex Roger Teixeira** fez Defesa Pública de sua Dissertação de Mestrado intitulada "**A versatilidade do imidazol em reações com organofosforados: o caso peculiar do pesticida Diazinon**", em 19 de fevereiro de 2020. O trabalho foi avaliado por uma banca examinadora composta pelos seguintes professores:

Prof.^a Dr.^a Elisa Souza Orth (DQ/UFPR)
Prof. Dr. Marcus Cesar Mandolesi Sá (DQ/UFSC)
Prof. Dr. Renan Borsoi Campos (DAQBi/UTFPR)

Após a avaliação, o aluno foi considerado **aprovado**.

Informamos ainda que o referido aluno obteve aprovação em todas as disciplinas cursadas no Mestrado e está, no momento, aguardando os trâmites legais para a obtenção de seu diploma de Mestre em Química.

Por ser verdade, firmamos a presente declaração.

Curitiba, 19 de fevereiro de 2020.



Izabel Vidotti
Izabel Cristina Riegel Vidotti
Coordenadora

À minha família de sangue (mãe e irmãos) e à família de coração (amigos),
dedico.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Elibia e meus irmãos, os quais sempre estiveram ao meu lado para me apoiar nas minhas decisões.

À minha orientadora prof^a. Dr^a. Elisa Souza Orth, pessoa pela qual possuo imenso respeito e admiração. Obrigado por todas as orientações, discussões, apoio, “puxões de orelha” e principalmente por sempre acreditar em mim. És incrivelmente inspiradora.

A todos os amigos do Grupo de Catálise e Cinética, em especial ao José por ter me ensinado as primeiras cinéticas quando comecei no lab, ao Valmir por estar sempre me ajudando e discutindo RMN's, a Patrícia por ser a melhor irmã mais velha de coração que a vida veio a me presentear e ao Willian por ter me mostrado que é sempre possível ver as coisas por outro ponto de vista.

A todos os amigos do GpMin, em especial Ana Carol, Ana Letícia, Morgana Sofia e a agregada Giuliana Pavaneli. Não dividimos apenas um espaço físico, dividimos risadas, alegrias, bons e maus momentos, mas sempre com muito respeito um pelo outro. Lembrarei de vocês com imenso carinho.

Ao professor Dr. Alfredo de Oliveira e ao técnico de laboratório Thiago Santos pelas análises de espectrometria de massas.

Às “mulheres orgânicas” professora Dr^a. Caroline D'Oca e Dr^a. Maria Costa pelas análises e discussões sobre RMN, em especial a prof. Carol por todas as contribuições na banca de qualificação.

Ao professor Dr. Renan Borsoi pelas enormes contribuições no exame de qualificação.

À todas as outras pessoas as quais não citei, mas que possam ter contribuído de alguma maneira para a realização desse trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida e a Universidade Federal do Paraná, instituição que me acolheu e me fez sentir muito orgulho de fazer ciência por aqui.

*“Ciência não é a coisa mais importante. Amor é”
(Richard Feynman, adaptado)*

RESUMO

Este trabalho, buscou avaliar o processo de detoxificação química do pesticida Diazinon (DZN), um composto tóxico da classe dos organofosforados (OF's) utilizado como acaricida e fungicida. Semelhante a maioria dos OF's, o DZN possui alta estabilidade, sendo seu tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) para a hidrólise espontânea superior a 17 meses (60 °C), envolvendo muitas vezes mecanismos complexos, ainda pouco elucidados. Assim, tem-se buscado catalisadores que possam acelerar essas reações, destacando-se o imidazol (IMZ). Sendo assim, o foco deste trabalho foi avaliar a reação do IMZ com DZN. Inicialmente, avaliou-se a hidrólise ácida, alcalina e na faixa de pH 2-10 do DZN a 60 °C, fundamentais para os comparativos das reações subsequentes. A hidrólise ácida se mostrou parecida com a alcalina ($k \sim 10^{-2} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$), mais eficientes, enquanto a hidrólise foi mais lenta em pH 7 ($k \sim 10^{-6} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Ao estudar a reação do DZN com IMZ, vale ressaltar as várias espécies possíveis que podem reagir, sendo que possuem pK_a 's ~ 5 e ~ 7 , respectivamente. Observou-se que as reações na presença de IMZ foram muito mais rápidas que a hidrólise em toda faixa de pH estudada (pH 3-10). Ainda, o IMZ mostrou um comportamento bastante peculiar pois sua forma protonada foi mais reativa frente ao DZN do que sua espécie neutra ($k \sim 10^{-4}$ e $10^{-5} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente), o que é bastante incomum e inédito na literatura. Isso trouxe um indício de mudança no mecanismo da reação, modulado pelo pH. As reações com IMZ foram mais rápidas, com incrementos catalíticos da ordem de 10^3 superiores à reação espontânea, com $t_{1/2}$ menor que 3 h. As análises de Ressonância Magnética Nuclear - RMN de ^{31}P 1D e 2D confirmaram a suspeita de mudança no mecanismo da reação. Para a reação em pH 5 com a espécie protonada do IMZ, a reação é seletiva e leva a formação de apenas um produto fosforilado. Nesse caso, sugere-se que o IMZ atua como catalisador ácido geral, assistindo o ataque de uma água ao átomo de fosforo. Os dados de RMN em pH 8 mostram que o IMZ se torna mais promíscuo na sua forma neutra, levando a formação de 3 produtos fosforilados. Nesse caso, propõe-se que o IMZ possa atuar como i) nucleófilo, atacando diretamente o carbono alifático, formando etilimidazol e um diester derivado do DZN chamado aqui de hidroxí-diazinon (HyDZN); e ii) catalisador básico geral, auxiliando o ataque de uma molécula de água ao átomo de fosforo tanto do DZN quanto do HyDZN. Análises de espectrometria de massas e efeito isotópico cinético de solvente corroboraram com os mecanismos propostos nas reações. Em suma, o IMZ atua de maneira incrivelmente versátil nas reações com o DZN, podendo exercer múltiplas catálises e modular o mecanismo de reação em função do pH: nucleofílico e catálise ácida/básica. Essa versatilidade, ainda que represente uma promiscuidade, muitas vezes indesejada, aqui vem a auxiliar na elucidação mecanística de um agrotóxico amplamente utilizado comercialmente, com potencial para complementar novas e eficientes possibilidades de detoxificação e monitoramento. Certamente, o viés mecanístico é a ferramenta mais poderosa na promoção de segurança química.

Palavras-chave: Catálise. Organofosfatos. Desfosforilação. Nucleófilo promíscuo. Detoxificação.

ABSTRACT

This work sought to evaluate the chemical detoxification process of the pesticide Diazinon (DZN), a toxic compound of the class of organophosphates (OF's) used as an acaricide and fungicide. Similar to most OF, DZN has high stability, its half-life time ($t_{1/2}$) for the spontaneous hydrolysis is over 17 months (60 °C), usually involving complex mechanisms, still poorly elucidated. Thus, catalysts that can accelerate these reactions have been pursued, especially imidazole (IMZ). Therefore, the focus of this work was to evaluate the reaction of IMZ with DZN. Initially, the hydrolyses of DZN at 60 °C were evaluated (acidic, alkaline hydrolysis and in the pH range 2-10), which are fundamental for comparing with subsequent reactions. Acid hydrolysis showed to be similar to alkaline ($k \sim 10^{-2} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), more efficient, while hydrolysis was slower at pH 7 ($k \sim 10^{-6} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$). When studying the reaction of DZN with IMZ, it is worth mentioning the various possible species that can react, since they have pK_a 's ~ 5 and ~ 7 , respectively. It was observed that the reactions in the presence of IMZ were much faster than the hydrolysis in the entire studied pH range (pH 3-10). Moreover, IMZ showed a very peculiar behavior towards DZN, because its protonated form was more reactive than its neutral species ($k \sim 10^{-4}$ and $10^{-5} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, respectively), quite unusual and unprecedented in the literature. This suggests a mechanistic shift in the reaction, modulated by pH. The reactions with IMZ were faster, with catalytic increments in the order of 10^3 -fold compared to the spontaneous reaction, with $t_{1/2}$ less than 3 h. The analysis of nuclear magnetic resonance - ^{31}P 1D and 2D NMR confirmed the alteration in the reaction mechanism. For the reaction at pH 5 with the protonated species of IMZ, the reaction is selective and leads to the formation of only one phosphorylated product. In this case, it is suggested that IMZ acts as a general acid catalyst, assisting the water attack towards the phosphorus atom. NMR data at pH 8 showed that IMZ becomes more promiscuous in its neutral form, leading to the formation of 3 phosphorylated products. In this case, it is proposed that IMZ can react as i) nucleophile, directly attacking aliphatic carbon, forming ethylimidazole and a diester derived from DZN, namely hydroxy-diazinon (HyDZN); and ii) general basic catalyst, assisting the water attack on the phosphorus atom of both DZN and HyDZN. Mass spectrometry analyzes and kinetic isotopic effect of solvent corroborated the mechanisms proposed in the reactions. Overall, IMZ acts in an incredibly versatile way in reactions with DZN, being able to promote multiple catalyses and to modulate the reaction mechanism in function of the pH: nucleophilic and acid/basic catalysis. This versatility, although representing a promiscuity, often unwanted, here comes to assist in the mechanistic elucidation of a pesticide widely used commercially, with the potential to complement new and efficient possibilities of detoxification and monitoring. Certainly, the mechanistic perspective is the most powerful tool in promoting chemical safety.

Keywords: Catalysis. Organophosphates. Dephosphorylation. Promiscuous nucleophile. Detoxification.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ALGUNS DOS COMPOSTOS UTILIZADOS COMO PESTICIDAS NO DECORRER DA HISTÓRIA.....	22
FIGURA 2 – ALGUNS PESTICIDAS OF'S ENCONTRADOS EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS NAS ANÁLISES REALIZADAS PELA ANVISA	23
FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS ÉSTERES DE FOSFATO P=O E P=S MONO, DI E TRISSUBSTITUÍDOS.	25
FIGURA 4 – TRANSMISSÃO NEURONAL DA AChE E SEU MECANISMO HIDRÓLISE POR AChE.....	26
FIGURA 5 – MECANISMO CLÁSSICO DE INIBIÇÃO DA AChE POR OF'S NEUROTÓXICOS (ONDE X É O GRUPO DE SAÍDA DO OF).....	27
FIGURA 6 – ATAQUE NUCLEOFÍLICO AO GRUPO ALQUIL DO ORGANOFOSFORADO.....	28
FIGURA 7 – DIAGRAMA DE MORE O'FERRALL-JENCKS PARA REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÃO NUCLEOFÍLICA NO ÁTOMO DE FÓSFORO EM ÉSTERES DE FOSFATO. CAMINHOS a) ($A_N + D_N$) ASSOCIATIVO ; B) ($D_N + A_N$) DISSOCIATIVO ; a) ($A_N D_N$) CONCERTADO ; Re. = REAGENTES ; Int. = INTERMEDIÁRIO ; Pro. = PRODUTOS.....	29
FIGURA 8 – REARRANJO TIONO-TIOL EM REAÇÕES DE TIOFOSFATOS.	30
FIGURA 9 – ESTRUTURAS MOLECULARES DO a) DIAZINON E b) DIAZOXON..	31
FIGURA 10 – SÍTIOS POSSÍVEIS DE PROTONAÇÃO DO DZN.	32
FIGURA 11 – ATAQUE NUCLEOFÍLICO AO CARBONO ALIFÁTICO a); FÓSFORO b); CARBONO AROMÁTICO c) DO DZN.....	33
FIGURA 12 – MECANISMOS DE HIDRÓLISE ÁCIDA DO DZN ATIVADA PELA PROTONAÇÃO DO ÁTOMO DE NITROGÊNIO AROMÁTICO PARA EM RELAÇÃO AO ÁTOMO DE OXIGÊNIO (A) MECANISMO DISSOCIATIVO; (B) MECANISMO CONCERTADO.	34
FIGURA 13 – MECANISMO CONCERTADO DE HIDRÓLISE ÁCIDA DO DZN COM PROTONAÇÃO DO ÁTOMO DE ENXOFRE E CLIVAGEM SIMULTÂNEA DA LIGAÇÃO P-O ³⁴	35
FIGURA 14 – MECANISMO DE HIDRÓLISE ALCALINA DO DZN.....	35
FIGURA 15 – DIFERENTES POSSIBILIDADES REACIONAIS PARA O IMZ.	37

FIGURA 16 – a) ATAQUE PREFERENCIAL DO IMZ AO MPT; b) ATAQUES PREFERENCIAIS DO IMZ DO EPT; c) ATAQUE PREFERENCIAL DO IMZ AO EPO.....	38
FIGURA 17 – REAÇÕES DO IMZ COM DZN AVALIADAS NESSE TRABALHO.	40
FIGURA 18 – METODOLOGIA UTILIZADA NOS ESTUDOS COM DZN.	43
FIGURA 19 – ESPECTROS DE RMN DO DZN. (A) RMN ¹ H CONTENDO TMSP E EM (B) ³¹ P RMN COM CAPILAR DE H ₃ PO ₄ EM D ₂ O. ([DZN] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; 25 °C).....	44
FIGURA 20 – ESPECTROS DE FT-IR (A) E UV-VIS (B) CARACTERÍSTICOS DO DZN.....	46
FIGURA 21 – EQUILÍBRIOS ENVOLVIDOS NAS ESPÉCIES DZN E IMPOH.	47
FIGURA 22 – (A) PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA E (B) PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO pH PARA O PRIMEIRO ESPECTRO DE CADA REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO DZN. (247 nm ; 60 °C ; [DZN] = 6,67x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; A LINHA SÓLIDA EM (B) CORRESPONDE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 3 ⁵⁶)	48
FIGURA 23 – ESPECTROS CONSECUTIVOS UV-VIS PARA (A) HIDRÓLISE ÁCIDA E (C) HIDRÓLISE ALCALINA E PERFIS CINÉTICOS PARA (B) HIDRÓLISE ÁCIDA E (D) HIDRÓLISE ALCALINA DO DZN TIPICAMENTE OBTIDOS NAS REAÇÕES. (60 °C ; [HCl] = 0,1 mol.L ⁻¹ ; [NaOH] = 0,1 mol.L ⁻¹ ; [DZN] = 6,67x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; AS LINHAS SÓLIDAS EM (B) E (D) CORRESPONDEM AOS AJUSTES DOS DADOS EXPERIMENTAIS UTILIZANDO AS EQUAÇÕES 1 (REAGENTE) E 2 (PRODUTO).	49
FIGURA 24 – (A) ESPECTROS CONSECUTIVOS UV-VIS E (B) PERFIL CINÉTICO TIPICAMENTE OBTIDO NA REAÇÃO DO DZN EM pH 5,0. (263 nm ; 60 °C ; [Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇] = 0,01 mol.L ⁻¹ ; [DZN] = 6,67x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; A LINHA SÓLIDA EM (B) CORRESPONDE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 2	51
FIGURA 25 – PERFIL DE pH OBTIDO DAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN EM DIFERENTES TAMPÕES. ([DZN] = 6,67x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; [TAMPÕES] = 0,01 mol.L ⁻¹ ; 60 °C ; A LINHA SÓLIDA	

<p>CORRESPONDE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 4)</p>	51
<p>FIGURA 26 – ESQUEMA REACIONAL PROPOSTO PARA AS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN.</p>	52
<p>FIGURA 27 – TEMPOS DE MEIA-VIDA DAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN.</p>	54
<p>FIGURA 28 – (A) ESPECTROS CONSECUTIVOS UV-VIS E (B) PERFIL CINÉTICO TÍPICAMENTE OBTIDO NA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 5,0. (272 nm ; 60 °C ; [Na₃C₆H₅O₇] = 0,01 mol.L⁻¹ ; [DZN] = 6,67x10⁻⁵ mol.L⁻¹ ; A LINHA SÓLIDA EM (B) CORRESPONDE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 2).....</p>	55
<p>FIGURA 29 – PERFIL DE pH OBTIDO DAS REAÇÕES DO DZN COM IMZ (PRETO) E COMPARATIVO DAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN (AZUL). ([DZN] = 6,67x10⁻⁵ mol.L⁻¹ ; [IMZ] = 1,00 mol.L⁻¹ ; 60 °C ; AS LINHAS SÓLIDAS CORRESPONDEM AOS AJUSTES DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 4 PARA AS REAÇÕES DE HIDRÓLISE E EQ. 5 PARA AS REAÇÕES COM IMZ).....</p>	56
<p>FIGURA 30 – ESQUEMA REACIONAL PROPOSTO PARA AS REAÇÕES DO DZN COM IMZ.....</p>	56
<p>FIGURA 31 – INCREMENTOS CATALÍTICOS EM RELAÇÃO À REAÇÃO ESPONTÂNEA DE HIDRÓLISE DO DZN CALCULADOS PARA AS CONSTANTES <i>k_n</i> OBTIDAS A PARTIR DO AJUSTE DA FIGURA 29.</p>	59
<p>FIGURA 32 – PERFIL DE CONCENTRAÇÃO VERSUS <i>k_{obs}</i> PARA AS REAÇÕES DO IMZ COM DZN EM pH 5,0.</p>	60
<p>FIGURA 33 – ESQUEMA REACIONAL PROPOSTO PARA AS REAÇÕES DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE IMZ COM DZNH E DZN E DIAGRAMA DE DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES PARA IMZ E DZN. CAMINHOS (a) CATÁLISE ÁCIDA GERAL, (b) CATÁLISE ÁCIDA GERAL E CATÁLISE NUCLEOFÍLICA, (c) CATÁLISE NUCLEOFÍLICA E CATÁLISE BÁSICA GERAL.....</p>	61
<p>FIGURA 34 – PERFIL DE pH E pD TÍPICAMENTE OBTIDOS NAS REAÇÕES DO IMZ COM DZN EM H₂O E D₂O A 60 °C. A LINHA SÓLIDA EM AZUL SE REFERE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS DO</p>	

PERFIL DE pH DAS REAÇÕES DO IMZ COM DZN EM H ₂ O UTILIZANDO A EQ. 5.	62
FIGURA 35 – ESQUEMA DOS POSSÍVEIS CAMINHOS REACIONAIS, INTERMEDIÁRIOS E PRODUTOS PARA DIFERENTES MECANISMOS PROPOSTOS NAS REAÇÕES DO IMZ COM DZN. 65	65
FIGURA 36 – ESPECTROS CONSECUTIVOS DE RMN DE ³¹ P DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pD 5,0. (CAPILAR H ₃ PO ₄ ; [IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] = 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 60 °C).....	66
FIGURA 37 – (A) MAPAS DE CORRELAÇÃO DE RMN A LONGA DISTÂNCIA (¹ H- ¹³ C) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN; (B) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ _H 3,00-0,80 DO DZN; (C) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ _H 9,00-7,00 DO IMZ. (CAPILAR H ₃ PO ₄ ; [IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] = 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 60 °C; pD 5,0).....	68
FIGURA 38 – (A) MAPAS DE CORRELAÇÃO DE RMN A LONGA DISTÂNCIA (¹ H- ³¹ P) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN; (B) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ _H 4,0-1,0 DO DZN E DTPHOS (CAPILAR H ₃ PO ₄ ; [IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] = 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 60 °C; pD 5,0)	69
FIGURA 39 – MECANISMO DE CATÁLISE ÁCIDA GERAL PROPOSTO PARA A REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 5,0.	70
FIGURA 40 – ESPECTROS CONSECUTIVOS DE RMN DE ³¹ P DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pD 8,0. (CAPILAR H ₃ PO ₄ ; [IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] = 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 60 °C).....	71
FIGURA 41 – (A) MAPAS DE CORRELAÇÃO DE RMN A LONGA DISTÂNCIA (¹ H- ¹³ C) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN; (B) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ _H 7,95-6,65 DO IMZ. (CAPILAR H ₃ PO ₄ ; [IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] = 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 60 °C; pD 8,0).....	72
FIGURA 42 – (A) MAPAS DE CORRELAÇÃO DE RMN A LONGA DISTÂNCIA (¹ H- ³¹ P) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN; (B) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ _H 4,40 - 3,50 DOS PRODUTOS FOSFORILADOS EM δ _P 55,38 , δ _P 51,08 E δ _P 47,16 (CAPILAR H ₃ PO ₄ ; [IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] = 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 60 °C; pD 8,0).....	73

FIGURA 43 – MECANISMOS PROPOSTOS PARA A REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 8,0. CAMINHOS a) CATÁLISE BÁSICA GERAL ; b) ATAQUE NUCLEOFÍLICO ; c) CATÁLISE BÁSICA GERAL.....	75
FIGURA 44 – ESPECTRO ESI-MS (+) DA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 5,0. ([IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 25 °C).....	76
FIGURA 45 – ESPECTRO ESI-MS (+) DA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 8,0. ([IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 25 °C).....	77
FIGURA 46 – ESPECTRO ESI-MS/MS (+) DA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 8,0. ÍON MOLECULAR 97,68 ([IMZ] = 0,2 mol.L ⁻¹ ; [DZN] 1x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ ; 25 °C ; 34 eV).....	77

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CONSTANTES DE VELOCIDADE OBTIDAS PARA AS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN DOS DADOS DA FIGURA 25 PELA EQ. 4 ; 60 °C.....	53
TABELA 2 – CONSTANTES DE VELOCIDADE OBTIDAS PELO AJUSTE DO PERFIL DE pH DAS REAÇÕES DO DZN COM IMZ DA FIGURA 29 UTILIZANDO A EQ. 5.	58
TABELA 3 – EFEITOS ISOTÓPICOS DO SOLVENTE CALCULADOS PARA A REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pH 5,0 E pH 8,0.	63

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ADP	- Adenosina Difosfato
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	- Adenosina Trifosfato
DDT	- Diclorodifeniltricloroetano
DHyDZN	- Di-Hidroxi-Diazinon
DNA	- Ácido Desoxirribonucleico
DZN	- Diazinon
DZO	- Diazoxon
DTPHOS	- Ácido Dietil-Tiofosfórico
EtIMZ	- Etilimidazol
EtNu	- Etil-Nucleófilo – Produto referente ao ataque de uma espécie nucleofílica ao carbono alifático do diazinon
EPO	- Etil-Paraoxon
EPT	- Etil-Paration
ESI-MS	- Espectrometria de Massas de Ionização por Electrospray (Electrospray Ionisation Mass Spectrometry)
ESI-MS/MS	- Espectrometria de Massa/Massa de Ionização por Electrospray (Electrospray Ionisation Mass/Mass Spectrometry)
EtPHOS	- Etil-Tiofosfato
FT-IR	- Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
Glu	- Ácido Glutâmico
His	- Histidina
HMBC	- Correlação Nuclear a Múltiplas Ligações (Heteronuclear Multiple Bond Coherence)
HyDZN	- Hidroxi-Diazinon – Produto referente a desalquilação do diazinon promovida pelo ataque do imidazol ao carbono alifático
IDETPHOS	- Imidazol-Dietil-Tiofosfato
IMPOH	- 2-isopropil-6-metilpirimidin-4-ol
IMPSH	- 2-isopropil-6-metilpirimidinti-4-ol
IMZ	- Imidazol

IUPAC	- União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry)
KIE _{solv}	- Efeito Isotópico Cinético do Solvente (Kinetic Isotopic Solvent Effect)
MPT	- Metil-paration
Nu-DTPHOS	- Intermediário referente ao ataque do Nucleófilo ao Ácido Dietil-Tiofosfórico
OF's	- Organofosforados
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PARA	- Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PyNu	- Nucleófilo-Pirimidina
PYRIMZ	- Pirimidina-Imidazol
RMN	- Ressonância Magnética Nuclear
RNA	- Ácido Ribonucleico
Ser	- Serina
TEPP	- Tetraetil pirofosfato
UE	- União Europeia
UV-Vis	- Ultravioleta-Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

- Abs - Absorbância
- ACh - Acetil colina
- AChE - Acetilcolinesterase
- A_{inf} - Absorbância no infinito
- A_N - Caminho Associativo no diagrama de More O'Ferrall Jencks
- $A_N D_N$ - Caminho Concertado no diagrama de More O'Ferrall Jencks
- A_0 - Absorbância inicial
- b - Caminho óptico
- $CaCO_3$ - Carbonato de cálcio
- Ch - Colina
- D_N - Caminho Dissociativo no diagrama de More O'Ferrall Jencks
- D_2O - Monóxido de dideutério
- δ^+ - Densidade de carga positiva
- δ^- - Densidade de carga negativa
- δ_C - Deslocamento químico de carbono
- δ_H - Deslocamento químico de hidrogênio
- δ_P - Deslocamento químico de fósforo
- ϵ_{DZN} - Absortividade molar da espécie DZN desprotonada
- ϵ_{DZNH} - Absortividade molar da espécie DZN protonada
- H_2O - Monóxido de dihidrogênio
- H_3O^+ - Íon hidrônio
- H_3PO_4 - Ácido fosfórico
- $IMPOH^+$ - 2-isopropil-6-metilpirimidin-4-ol protonado
- $IMPOH^-$ - 2-isopropil-6-metilpirimidin-4-ol desprotonado
- K_{aDZN} - Constante de acidez do DZN
- KBr - Brometo de potássio
- $k_{H_3O^+ DZNH}$ - Constante de velocidade de hidrólise ácida do DZN protonado
- $k_{H_3O^+ DZN}$ - Constante de velocidade de hidrólise ácida do DZN desprotonado
- k_{obs} - Constante de velocidade de pseudo-primeira ordem
- $k_{OH^- DZN}$ - Constante de velocidade de hidrólise alcalina do DZN desprotonado
- k_{01DZNH} - Constante de velocidade espontânea do DZN protonado

k_{02DZN} - Constante de velocidade espontânea do DZN desprotonado

K_3PO_4 - Fosfato de potássio

k_{n1} - Constante de velocidade da reação entre as espécies protonadas DZNH e IMZH

k_{n2} - Constante de velocidade da reação entre as espécies desprotonada DZN e protonada IMZH

k_{n3} - Constante de velocidade da reação entre as espécies desprotonadas de DZN e IMZ

$\lambda_{m\acute{a}x}$ - Comprimento de onda máximo

$Na_3C_6H_5O_7$ - Citrato trissódico

Nu - Nucleófilo

OH^- - Íon hidróxido

pD - Potencial deuteriônico

pH - Potencial hidrogeniônico

pK_a - Constante de acidez

pK_{a-H} - pK_a relacionado ao átomo de hidrogênio da espécie química

pK_{a-NH} - pK_a relacionado grupo do nitrogênio do 2-isopropil-6-metilpirimidinti-4-ol

pK_{a-OH} - pK_a relacionado grupo do oxigênio do 2-isopropil-6-metilpirimidinti-4-ol

pK_{a-S} - pK_a relacionado grupo do enxofre do diazinon

$t_{(1/2)}$ - Tempo de meia-vida

TMSP- d_4 - Ácido trimetilsililpropanóico

χ_{DZNH} - Fração molar da espécie DZN protonada

χ_{DZN} - Fração molar da espécie DZN desprotonada

χ_{IMZH} - Fração molar da espécie protonada do IMZ

χ_{IMZ} - Fração molar da espécie desprotonada do IMZ

1H - RMN de 1H hidrogênio

^{13}C - RMN de ^{13}C carbono

^{31}P - RMN de ^{31}P fósforo

1D - Uma dimensão

2D - Duas dimensões

$[H^+]$ - Concentração do íon hidrogênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 PESTICIDAS: UM BREVE HISTÓRICO.....	21
1.2 PESTICIDAS OF'S E O CENÁRIO BRASILEIRO	22
1.3 COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS: UM PANORAMA GERAL	24
1.4 COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS E SEUS MECANISMOS DE REAÇÃO	28
1.5 DIAZINON: UM CASO PECULIAR.....	30
1.6 DETOXIFICAÇÃO QUÍMICA DE OF'S: A VERSATILIDADE DO IMIDAZOL	36
2 JUSTIFICATIVA	39
3 OBJETIVOS	40
3.1 OBJETIVO GERAL.....	40
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
4 METODOLOGIA	41
4.1 MATERIAIS	41
4.2 EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PESTICIDA.....	41
4.3 ESTUDOS CINÉTICOS.....	41
4.4 ANÁLISES POR RMN – ^1H , ^{13}C E ^{31}P	42
4.5 ANÁLISES POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS – ESI-MS.....	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	44
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO DIAZINON	44
5.2 ESTUDOS CINÉTICOS: REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DIAZINON.....	46
5.3 ESTUDOS CINÉTICOS: REAÇÕES DO DIAZINON COM IMIDAZOL.....	54
5.4 EFEITO ISOTÓPICO CINÉTICO DE SOLVENTE	62
5.5 ELUCIDAÇÃO MECANÍSTICA: ANÁLISES POR RMN	63
5.6 ELUCIDAÇÃO MECANÍSTICA: ANÁLISES POR ESI-MS	75
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
REFERÊNCIAS	80
APÊNDICE – FIGURAS, IMAGENS E DADOS SUPLEMENTARES	86

1 INTRODUÇÃO

1.1 PESTICIDAS: UM BREVE HISTÓRICO

A palavra pesticida é derivada do latim *pestis* que significa praga e *caedo* que significa matar. São compostos utilizados com o objetivo de eliminar organismos indesejáveis em culturas, em produtos para desinfecção de instalações, na preservação da madeira, eliminação de parasitas de animais, entre outras aplicações¹.

Desde a antiguidade, os chineses já utilizavam como pesticidas alguns compostos inorgânicos de enxofre e arsênio com propriedades tóxicas conhecidas para o controle de insetos no jardim². Em 1629, John Parkinson recomendou que fosse utilizado vinagre nas árvores para preveni-las do que chamou de câncer. Anos depois (1653), Ralph Austen sugeriu utilizar urina de vaca como fonte útil de potássio para árvores frutíferas, recobrando o solo com cinzas da madeira³.

Compostos de cobre e o ácido cianídrico também já atuavam como fungicidas e fumigantes, no controle de fungos e pestes em museus. Até meados de 1930, a maioria dos pesticidas ainda era de origem natural ou à base de compostos inorgânicos². Foi Paul Müller, entomologista suíço, quem descobriu em 1939 as propriedades inseticidas do composto organoclorado diclorodifeniltricloroetano (DDT – Figura 1). Dessa maneira, recebeu o prêmio Nobel de medicina pelo uso do mesmo no combate à malária⁴.

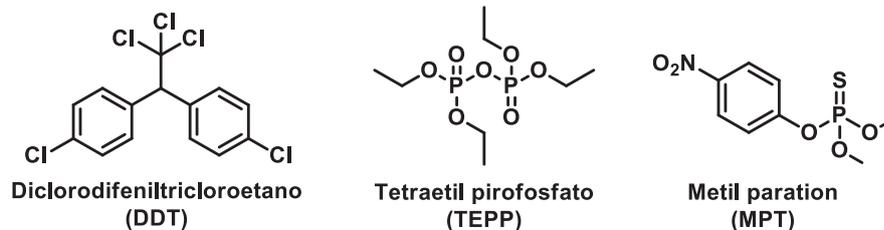
O DDT se tornou bastante popular durante a Segunda Guerra Mundial, quando foi utilizado pelos soldados das tropas norte-americanas no combate aos piolhos que transmitiam o tifo. Anos depois, o DDT também foi amplamente usado na agropecuária de todo o mundo, inclusive no Brasil, pelo seu baixo preço e elevada eficiência, sendo seu formulado comercial encontrado nas marcas Gesarol e Neocid dentre as principais^{2,4,5}.

A produção do DDT atingiu o ápice em 1960 e diminuiu gradativamente após as descobertas realizadas pela comunidade científica a respeito do composto (como o seu acúmulo no tecido adiposo e alta estabilidade molecular)⁵. Em 1962, Rachel Carson escreveu o livro *“Primavera Silenciosa”*, uma crítica em referência à bioacumulação de DDT e seus efeitos na reprodução das aves e no meio ambiente. A produção de Carson causou inúmeras discussões, levando até mesmo os

governos a tomarem medidas contra a poluição causada pelo DDT. A maior delas foi a proibição da fabricação e venda do composto na Suécia em 1970 e nos Estados Unidos em 1973. Entretanto, o mercado dos pesticidas clorados logo foi tomado pelos pesticidas organofosforados (OF's) que compõem grande parte do grupo de pesticidas de uso atual².

Os compostos OF's são conhecidos desde 1854, porém, sua toxicidade só foi admitida em meados de 1930 onde OF's como Tabun e Sarin estavam sendo desenvolvidos com o objetivo de servir como armas químicas para guerra, apesar de não terem sido utilizados para esse fim⁶. O primeiro inseticida OF sintetizado foi o tetraetil pirofosfato (TEPP – Figura 1), mas, devido a sua alta toxicidade e rápida inativação por hidrólise, novos OF's começaram a surgir. O químico alemão Gerhard Schader, considerado como o pai da química moderna dos inseticidas OF's, descobriu o pesticida metil paration (MPT – Figura 1). Devido sua alta estabilidade e atividade inseticida, o MPT passou a ser comercializado e utilizado em lavouras. Entretanto, por ser muito tóxico e perigoso à saúde humana e animal, outros pesticidas OF's começaram a disputar o lugar do MPT^{2,6,7}.

FIGURA 1 – ALGUNS DOS COMPOSTOS UTILIZADOS COMO PESTICIDAS NO DECORRER DA HISTÓRIA.



FONTE: O autor (2020).

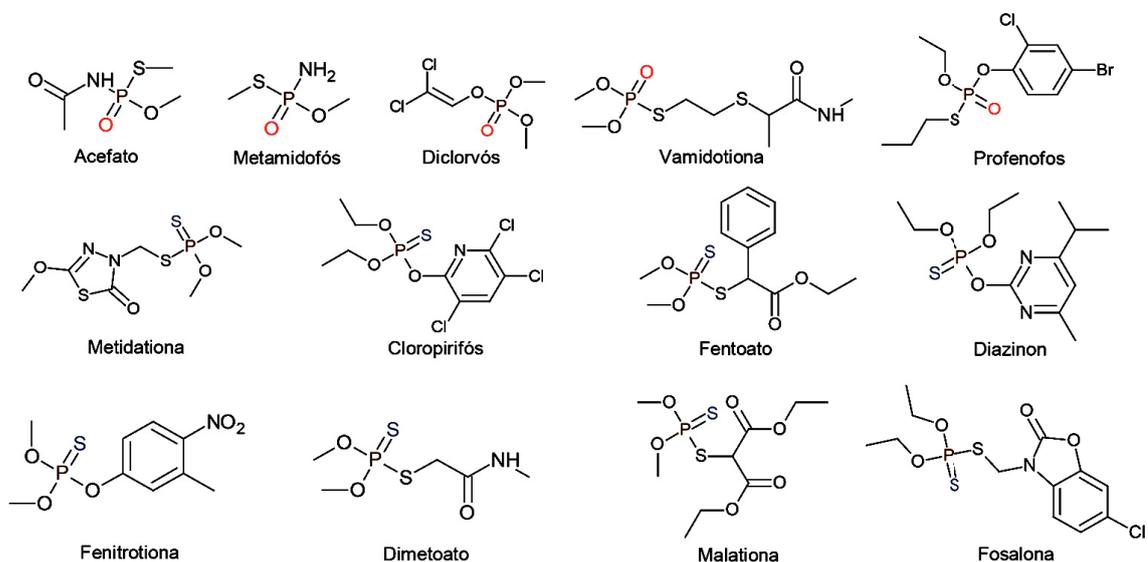
1.2 PESTICIDAS OF'S E O CENÁRIO BRASILEIRO

Até o ano de 2050, estima-se que a população mundial possa chegar à marca de nove bilhões de pessoas. Esse crescimento populacional gera um aumento significativo do cultivo de produtos agrícolas e alimentos, principalmente nos países asiáticos e no continente africano. Todavia, a ação de patógenos fúngicos, pragas, insetos e outros problemas relacionados à deterioração das culturas, potencializam a redução da qualidade e quantidade desses produtos, gerando perdas econômicas substanciais⁵.

Com o aumento da atividade agrícola e prática de monoculturas em extensas áreas territoriais, além do clima temperado, a proliferação de pragas e pestes tem crescido nos últimos anos no Brasil. Conseqüentemente, o uso de pesticidas OF's também tem aumentado significativamente, o que tornou o país o maior consumidor de pesticidas no mundo^{5,8}. Ainda, para garantir uma produção agrícola cada vez maior, o Brasil não tem adotado leis rígidas para o controle do uso de pesticidas, pelo contrário, vem propondo mudanças nas leis vigentes a fim de facilitar novos registros⁹. Cerca de 30% dos pesticidas mais usados no Brasil já foram banidos na União Europeia (UE)⁹.

Dados estatísticos mostram que no ano de 2015, o estado do Mato Grosso plantou 13,9 milhões de hectares, o Paraná plantou 10,2 milhões de hectares e o Rio Grande do Sul 8,5 milhões de hectares, sendo os estados em que mais cultivaram produtos. Também, houve o consumo de 207, 135 e 134 milhões de litros de agrotóxicos em cada estado respectivamente¹⁰. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) realizou um estudo entre 2013 e 2015 pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) com amostras de alimentos de 26 estados do Brasil, inclusive dos citados anteriormente. Os resultados das análises mostraram que haviam resíduos de pesticidas em concentrações consideradas preocupantes em 38,3% das amostras, até mesmo, de alguns pesticidas já proibidos no país¹¹ (Figura 2).

FIGURA 2 – ALGUNS PESTICIDAS OF'S ENCONTRADOS EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS NAS ANÁLISES REALIZADAS PELA ANVISA



FONTE: O autor (2020).

Os limites máximos permitidos para resíduos de pesticidas na água e em alimentos no Brasil são muito maiores dos que os permitidos na UE. O glifosato, por exemplo, possui um limite residual de 10 mg/kg no Brasil, quase 200 vezes maior do que o limite permitido pela UE que é de 0,05 mg/kg¹².

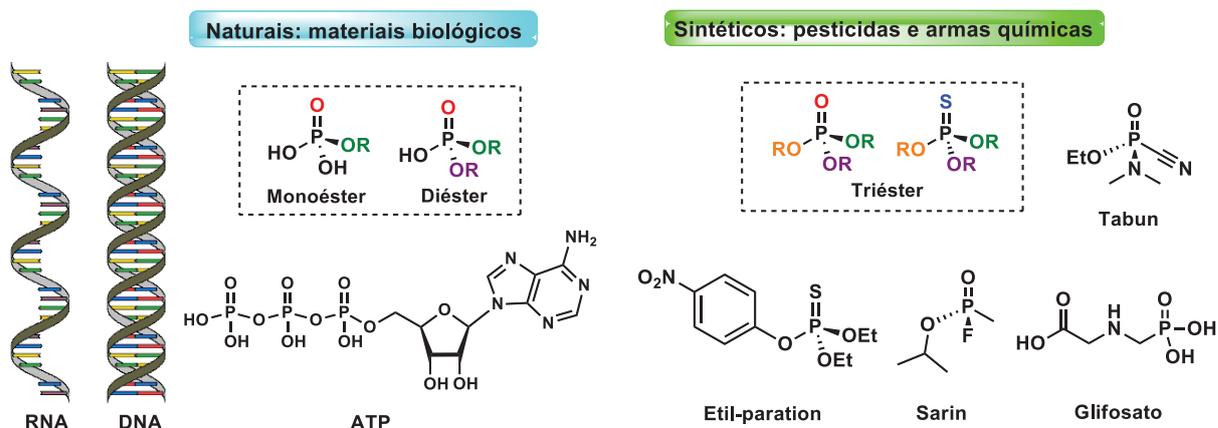
Outros dados referentes ao ano de 2015 mostraram que as lavouras brasileiras foram pulverizadas com um total de 899 milhões de litros de pesticidas, o que significa dizer que foram em média 12,8 kg de pesticida por habitante. Uma quantidade tão alta que já é considerada um problema de saúde pública devido à contaminação dos alimentos e do meio ambiente e posterior intoxicação humana e pela bioacumulação (na cadeia alimentar) e nos segmentos abióticos e bióticos animal^{13,14}. A contaminação das comunidades de seres vivos se dá principalmente do ecossistema (seres vivos: flora, fauna, seres humanos, microorganismos; e os não vivos: água, ar, solo, etc)¹⁵.

1.3 COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS: UM PANORAMA GERAL

De maneira geral, os compostos OF's são ésteres, amidas ou tióis derivados de ácido fosfórico, fosfônico, fosfortioico ou fosfonotióico que podem ser mono, di ou trissubstituídos. Essencialmente, todos possuem um átomo de fósforo e uma ligação fosforila característica $P=O$ ou $P=S$ ^{6,16}.

Os mono e diésteres são naturais, encontrados nos próprios materiais genéticos Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e o Ácido Ribonucleico (RNA) e os armazenadores de energia Adenosina Trifosfato (ATP) e Adenosina Difosfato (ADP), por exemplo¹⁷. Já os triésteres são sintéticos, compondo a classe dos pesticidas e dos agentes neurotóxicos de guerra (armas químicas), extremamente estáveis e tóxicos podendo causar danos irreversíveis a saúde e ao meio ambiente¹⁸. A representação genérica e exemplos de mono, di e triésteres podem ser verificados na Figura 3.

FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS ÉSTERES DE FOSFATO P=O E P=S MONO, DI E TRISSUBSTITUÍDOS.



FONTE: O autor (2020).

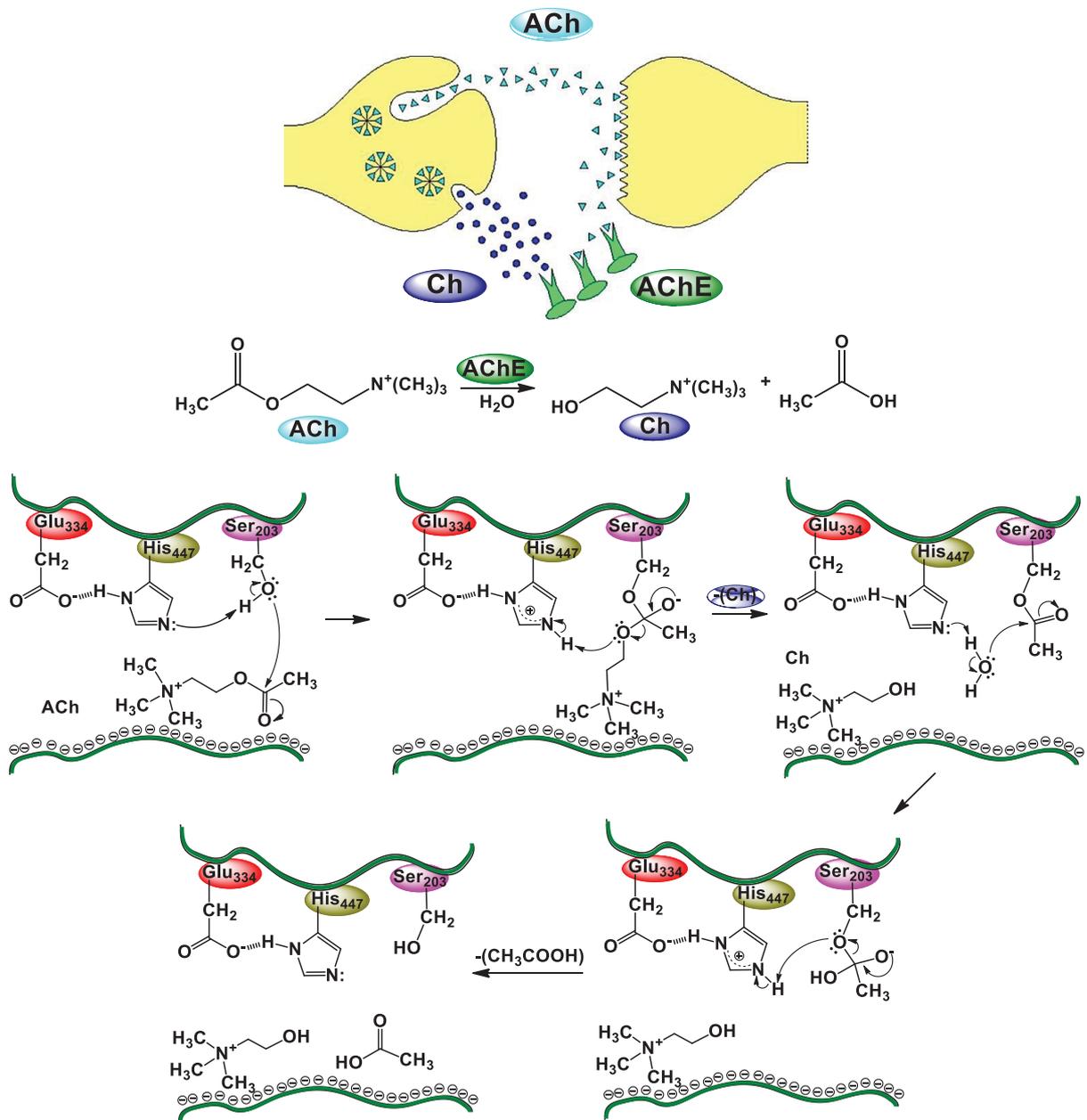
Devido à alta estabilidade, a clivagem da ligação P-O desses compostos pode levar muitos anos para ocorrer. Mesmo os triésteres sendo sintéticos, essa observação também é verificada¹⁸. Isso representa uma grande ameaça mundial, não somente pelo perigo de um ataque terrorista em massa, mas também pelo uso indevido e as grandes quantidades estocadas desses compostos^{8,19}. Nesse contexto, diferentes abordagens para o monitoramento e a detoxificação química de triésteres de fosfato tem atraído bastante interesse nos últimos anos. A ideia de tornar um composto tóxico em um composto menos tóxico ou atóxico, é o grande desafio para esse tipo de estudo.

Até o ano de 1982, os estoques norte-americanos de compostos OF's eram preferencialmente incinerados. Porém, devido a liberação de gases tóxicos e corrosivos, o custo para a filtragem e purificação desses produtos tornou o processo inviável, sendo parcialmente substituído por metodologias alternativas como a neutralização química por uma base forte, estável e barata como NaOH¹⁸. Entretanto, essa metodologia não é eficaz para a destruição de todos os OF's. Para o Sarin, o íon OH⁻ reage para formar o NaF e o isopropil-metilfosfonato, ao passo que para o gás de guerra VX que possui baixa solubilidade em meio básico, a hidrólise alcalina é bastante lenta e ainda produz como subproduto o ácido tióico, de elevada toxicidade¹⁸.

Os triésteres em sua maioria possuem atividade neurotóxica, sendo que a principal ação se dá no sistema nervoso, na junção neuromuscular, inibindo a atuação da enzima acetilcolinesterase (AChE) em invertebrados e vertebrados. Essa

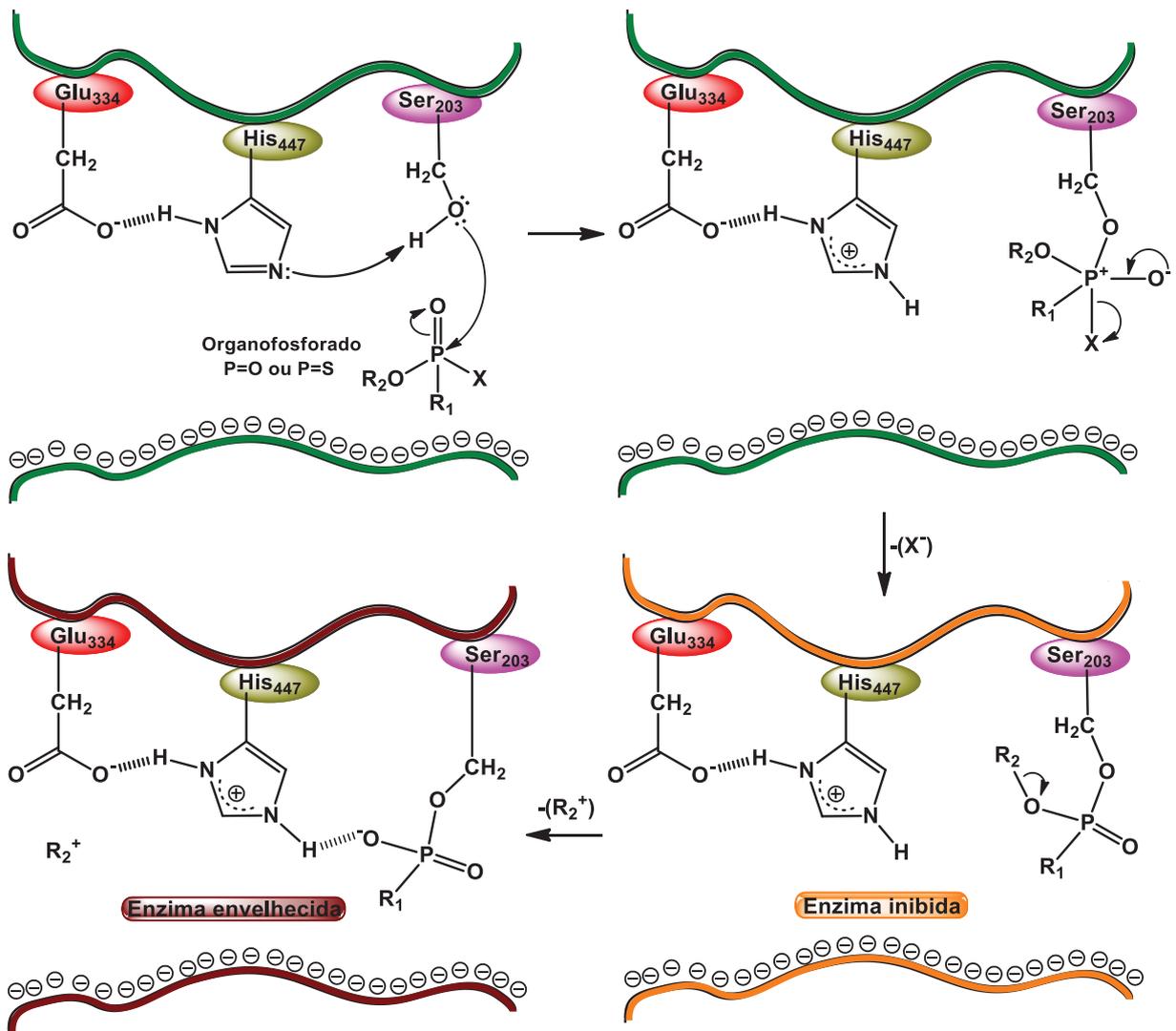
enzima possui a função de catalisar a hidrólise a acetilcolina (ACh) em ácido acético e colina (Ch). No sítio enzimático da AchE, em uma primeira etapa ocorre a acetilação da porção referente ao grupo da Serina (Ser) pelo seu ataque o carbono carbonílico da ACh, levando a formação da Ch. Na etapa seguinte, ocorre a hidrólise da Ser acetilada, levando a formação do ácido acético e restabelecendo o sítio enzimático. As demais porções referentes aos grupos ácido glutâmico (Glu) e histidina (His) também participam dessas reações assistindo os grupos de saída²⁰. O esquema e o mecanismo clássico de hidrólise são apresentados na Figura 4.

FIGURA 4 – TRANSMISSÃO NEURONAL DA ACh E SEU MECANISMO HIDRÓLISE POR AChE.



Todavia, quando um OF neurotóxico interage com a AChE (Figura 5) ocorre a interrupção da transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses dos neurônios, causando paralisia e morte²¹. Isso acontece devido a fosforilação da Ser e a alta estabilidade da ligação P-O formada que é muito difícil de ser clivada. Dessa maneira, o OF inibe o funcionamento da enzima (pois seu sítio ativo não está mais disponível para hidrólise da ACh), levando até mesmo ao envelhecimento da AChE²⁰. O processo de inibição da AChE também depende da estrutura do OF.

FIGURA 5 – MECANISMO CLÁSSICO DE INIBIÇÃO DA AChE POR S NEUROTÓXICOS (ONDE X É O GRUPO DE SAÍDA DO OF).



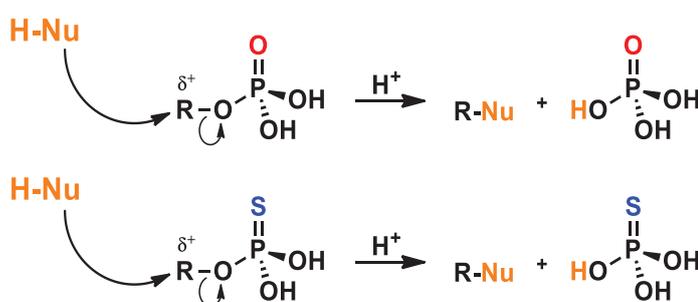
FONTE: Adaptado de SANTOS (2007)²¹.

Sendo assim, a compreensão dos processos de detoxificação de pesticidas OF's é particularmente desafiadora devido aos diferentes e intrigantes mecanismos envolvidos conforme as condições reacionais e estrutura do OF em relação à sua ligação P=O ou P=S¹⁹.

1.4 COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS E SEUS MECANISMOS DE REAÇÃO

Os ésteres fosfóricos do tipo P=O são mais reativos em relação aos do tipo P=S²², e a literatura apresenta fortes evidências de alguns mecanismos de substituição nucleofílica uni e bimolecular. Tipicamente, as reações com ésteres fosfóricos podem ocorrer por dois caminhos conhecidos principais. Um quando o centro eletrofílico é o grupo alquil e o alvo é a clivagem da ligação alquil-oxigênio em decorrência do ataque de um nucleófilo (Figura 6). Esse é o mecanismo preferencial em meios reacionais ácidos, sendo o grupo de saída o ácido fosfórico neutro^{18,23}, entretanto, o ataque nucleofílico aos grupos alquila também pode ocorrer em meios reacionais alcalinos²⁴. Esse mecanismo é análogo para OF's do tipo P=S, porém o grupo de saída nesse caso seria o ácido tiofosfórico.

FIGURA 6 – ATAQUE NUCLEOFÍLICO AO GRUPO ALQUIL DO ORGANOFOSFORADO.



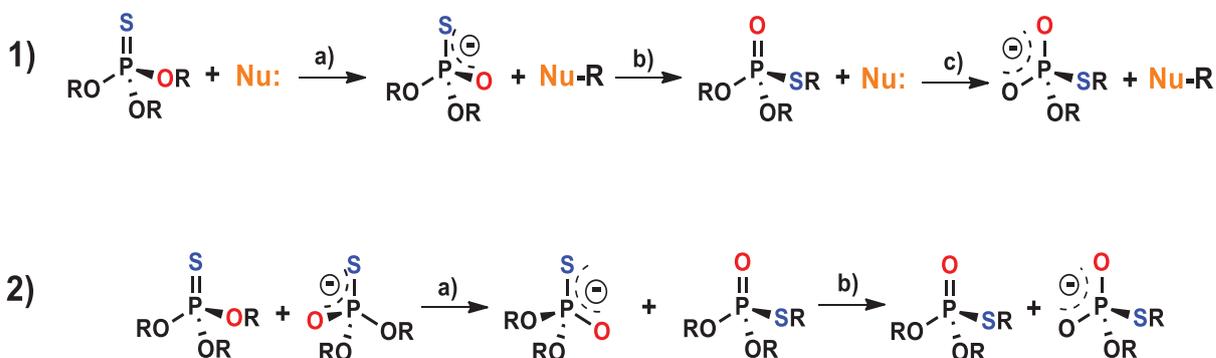
FONTE: O autor (2020).

Um segundo possível mecanismo em ésteres fosfóricos ocorre quando o átomo de fósforo é o centro eletrofílico da reação. Esse mecanismo de substituição nucleofílica pode ser classificado como associativo (A_N), dissociativo (D_N) ou concertado ($A_N D_N$) conforme nomenclatura da IUPAC. Todos podem ser representados pelo diagrama de More O'Ferrall-Jencks (Figura 7), onde a) corresponde ao mecanismo associativo ($A_N + D_N$). Aqui o ataque pelo nucleófilo ao átomo de fósforo leva à formação de um intermediário fosforano de geometria

- 1) ocorre quando o ânion fosfotionato formado pela desalquilação do éster (Figura 8 – 1 - a), pode reagir novamente com o produto alquilado (Figura 8 – 1 - b), formando um éster do tipo P=O. Esse, pode ser desalquilado novamente pelo nucleófilo (Figura 8 – 1 - c) para a formação de um novo ânion tiolato²⁷.

Em outra situação, quando os triésteres P=S reagem com aminas como a trietilamila (que se liga fortemente com os grupos alquil), não há realquilação e o rearranjo pode ocorrer por outro mecanismo. Moléculas do triéster que não reagiram, desalquilam o triéster de partida (Figura 8 – 2 - a), dando origem ao produto fosfotionato que reage para formar o produto fosfotiolato (Figura 7 – 2 - b)²⁷.

FIGURA 8 – REARRANJO TIONO-TIOL EM REAÇÕES DE TIOFOSFATOS.



FONTE: O autor (2020).

Esse tipo de rearranjo também pode ocorrer na ausência de espécies nucleofílicas seguindo um autorrearranjo, porém são necessárias temperaturas elevadas (120 a 180 °C), onde a reação segue de forma intramolecular dando origem ao fosfotiolato²⁹. Entretanto, mesmo em temperatura ambiente, também é possível ocorrer rearranjos dessa natureza como no caso do pesticida MPT, quando armazenado em períodos prolongados em solventes polares²⁷.

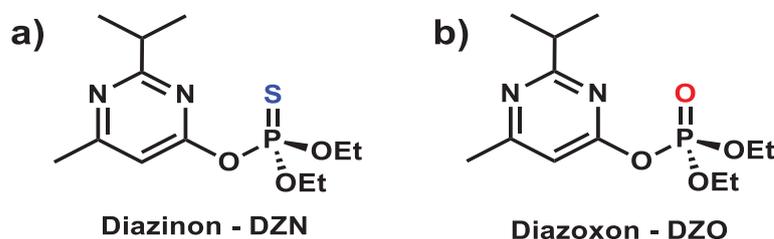
1.5 DIAZINON: UM CASO PECULIAR

O pesticida Diazinon (DZN – Figura 9 - a) é amplamente utilizado como inseticida e acaricida, em residências e lavouras^{30,31}. Classificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como classe II (periculosidade moderada) e de acordo como Programa Nacional de Avaliação da Qualidade da Água do United States Geological Survey (1992-1996), esse OF já foi detectado em águas superficiais e

sistemas aquáticos em concentrações variando de 0,002 a 3,80 mg.L⁻¹. Em águas subterrâneas, as concentrações do pesticida apresentaram 0,21 mg.L⁻¹ e até mesmo em amostras de chuva e neblina máximos de concentração de até 2 e 76,3 mg.L⁻¹³².

Com relação à sua estrutura, o pesticida possui uma ligação P=S, ou seja, trata-se de um fosfotioéster. Em comparação com o seu produto de oxidação P=O Diazoxon (DZO – Figura 9 - b), é menos tóxico aos organismos e ao ambiente. Não é volátil, tem pouca miscibilidade em água (60 mg.L⁻¹ – 20 °C), entretanto, é miscível em benzeno, acetona e etanol³³.

FIGURA 9 – ESTRUTURAS MOLECULARES DO a) DIAZINON E b) DIAZOXON



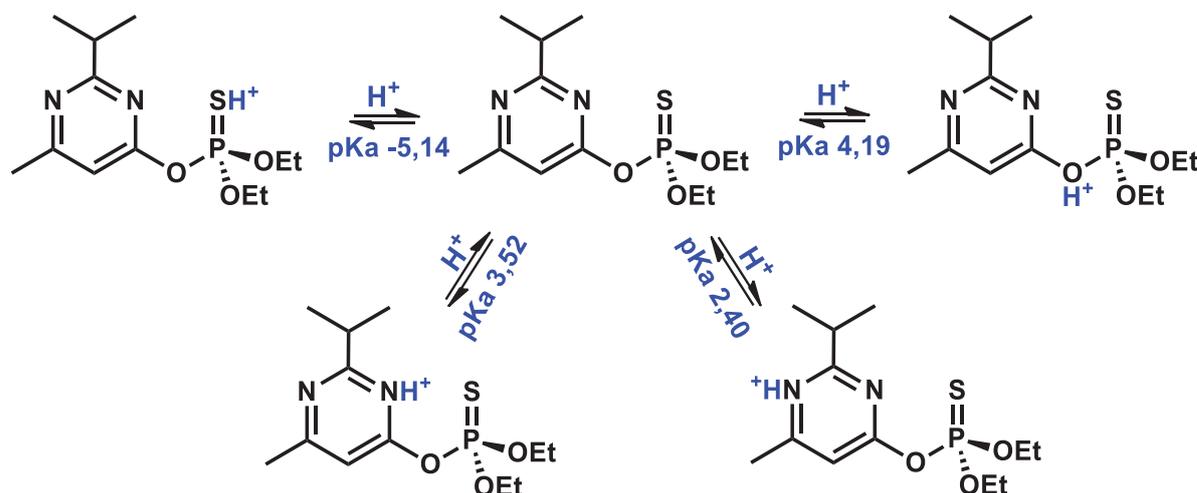
FONTE: O autor (2020).

A alta toxicidade dos pesticidas OF's e estabilidade da ligação P-O torna particularmente interessante a compreensão dos processos de degradação desses compostos. Os mecanismos envolvidos nessas reações podem acontecer por vias diferentes conforme as condições reacionais e estrutura do OF em relação à sua ligação P=O ou P=S¹⁹.

O DZN possui vários sítios de protonação, que afetam diretamente na sua reatividade e caminhos reacionais. Cada sítio pode levar a ativação do anel aromático do DZN possibilitando o ataque de um nucleófilo e a clivagem da ligação P-O. A Figura 10 apresenta os equilíbrios envolvidos do DZN e respectivos pK_a's, estimados através de software computacional^{34,35} (SPARC – pK_a prediction). Além dos sítios principais (os átomos de nitrogênio), também podem ser protonados os átomos de enxofre e o oxigênio. Embora a protonação do enxofre tenha a possibilidade de ocorrer em condições extremamente ácidas (pK_{a-S} = -5,14) e o oxigênio seja dificilmente protonado devido ao pK_a próximo do nitrogênio *orto* (pK_{a-O} = 4,19 e pK_{a-N} *orto* = 3,52), os sítios mais suscetíveis a protonação ainda são os nitrogênios aromáticos. A diferença entre os pK_a's do nitrogênio *orto* e nitrogênio *para*, em que o pK_{a-N} *orto* é maior, sugere que o átomo de enxofre possa interagir de

alguma maneira com o hidrogênio dificultando levemente sua saída, o que não ocorre no nitrogênio *para*³⁴. A peculiaridade do DZN também está relacionada aos caminhos reacionais alternativos podem ocorrer em relação ao seu sítio protonado.

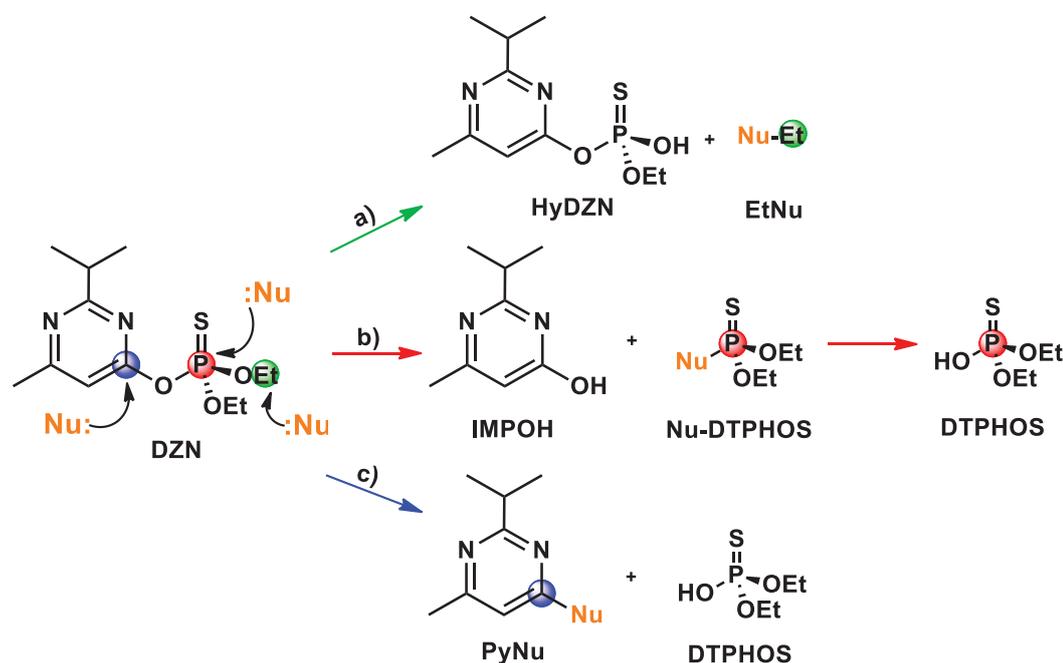
FIGURA 10 – SÍTIOS POSSÍVEIS DE PROTONAÇÃO DO DZN.



FONTE: Adaptado de CHURCHILL (2007)³⁴.

Em relação aos mecanismos de reação com espécies nucleofílicas, o DZN possui três centros eletrofílicos principais que podem ser atacados: o carbono aromático, o carbono alifático e o fósforo (Figura 11). Se o ataque nucleofílico ocorrer no carbono alifático (Figura 11 – a), os produtos da reação serão o Hidroxi-Diazinon (HyDZN) e o uma espécie do tipo Etil-Nucleófilo (EtNu). Quando o ataque ocorrer no átomo de fósforo (Figura 11 – b) ocorre a formação do 2-isopropil-6-metilpirimidin-4-ol (IMPOH) e uma espécie intermediária nucleófilo-ácido dietiltiofosfórico (Nu-DTPHOS), essa última, logo é hidrolisada ao ácido dietiltiofosfórico (DTPHOS). Em uma outra situação, quando o ataque ocorre no carbono aromático (Figura 11 – c), há a formação de uma espécie nucleófilo-pirimidina (PyNu) e DTPHOS^{34,36}. Todos esses caminhos são possíveis nas reações de hidrólise do DZN, embora não haja até o momento muitos estudos reportados de reações nucleofílicas com o DZN.

FIGURA 11 – ATAQUE NUCLEOFÍLICO AO CARBONO ALIFÁTICO a); FÓSFORO b); CARBONO AROMÁTICO c) DO DZN.

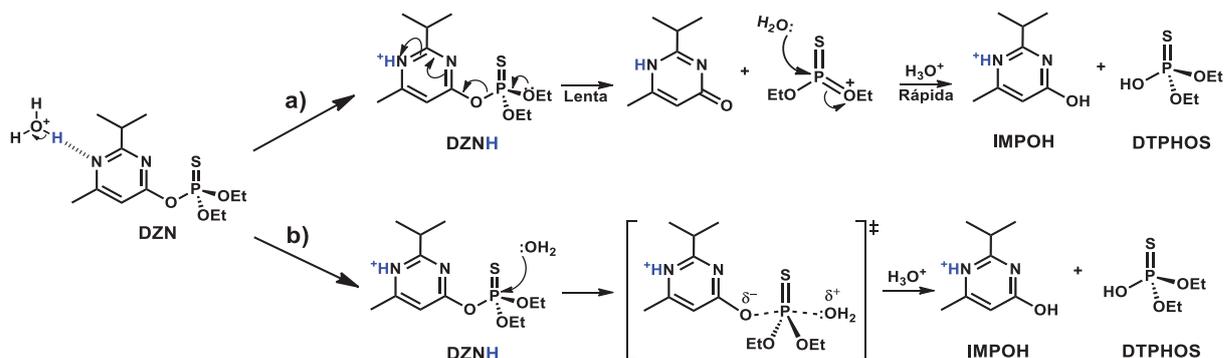


FONTE: O autor (2020).

Os mecanismos para hidrólise do DZN não estão consolidados e ainda há muita divergência na literatura quanto ao caminho preferencial, além de existirem poucos relatos na literatura referente a estudos mecanísticos com DZN. A Figura 12 mostra algumas possibilidades para a hidrólise ácida do DZN. No caso a), o nitrogênio aromático na posição *para* em relação ao átomo de oxigênio é protonado e leva a ativação do anel aromático. Essa ativação facilita a clivagem da ligação P-O, passando por um estágio intermediário com a formação de uma espécie trigonal de fósforo (metafosfato). Na sequência, o átomo de fósforo do intermediário trigonal é atacado por uma molécula de água sendo posteriormente convertido ao produto DTPHOS³⁴. Esse mecanismo é correspondente ao S_N1 do tipo dissociativo associativo ($D_N + A_N$) conforme apresentado no diagrama de More O’Ferrall-Jencks (Figura 7 – caminho b). Para o caminho b) da Figura 12, outro mecanismo possível para hidrólise ácida do DZN é apresentado, que envolve a protonação do nitrogênio *para* em relação ao oxigênio ativando o anel aromático. Sua ativação leva a clivagem da ligação P-O concomitante ao ataque de uma molécula de água ao átomo de fósforo. A reação segue um mecanismo concertado S_N2 equivalente ao mecanismo $A_N D_N$ no diagrama de More O’Ferrall-Jencks (Figura 7 – caminho c). Esse caminho também leva a formação dos produtos IMPOH e DTPHOS³⁴. Um fato

importante a ser mencionado é que os mecanismos propostos são análogos com a protonação do nitrogênio *orto* em relação ao átomo de oxigênio.

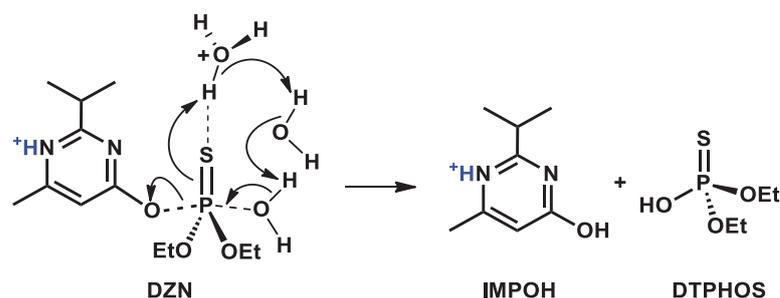
FIGURA 12 – MECANISMOS DE HIDRÓLISE ÁCIDA DO DZN ATIVADA PELA PROTONAÇÃO DO ÁTOMO DE NITRÓGENIO AROMÁTICO PARA EM RELAÇÃO AO ÁTOMO DE OXIGÊNIO (A) MECANISMO DISSOCIATIVO; (B) MECANISMO CONCERTADO.



FONTE: O autor (2020).

Ainda, para a hidrólise ácida do DZN existe um mecanismo concertado proposto cuja etapa determinante é a transferência simultânea do próton para o átomo de enxofre pelo íon hidrônio e clivagem da ligação P-O (Figura 13). Nessa situação, há uma sequência de reações com a participação de duas moléculas de água. Uma molécula de água atua como nucleófilo atacando o átomo de fósforo enquanto outra molécula de água abstrai um próton da primeira. Simultaneamente, há a regeneração do íon hidrônio pela abstração de um próton da segunda molécula de água. Esse seria o mecanismo mais plausível em condições extremamente ácidas, uma vez que o pK_{a-S} está estimado em -5,14. Porém, ainda existem poucas evidências (apenas teóricas) que corroborem esse mecanismo, uma vez que a participação de duas moléculas de água em um processo simultâneo de clivagem formação de ligações é vista como audaciosa. Outro fato que chama a atenção é que ainda não existe um consenso na literatura sobre o caminho preferencial quando o átomo de nitrogênio é protonado, sendo os dois caminhos aceitos. De maneira semelhante, os produtos formados são o IMPOH e DTPHOS³⁴.

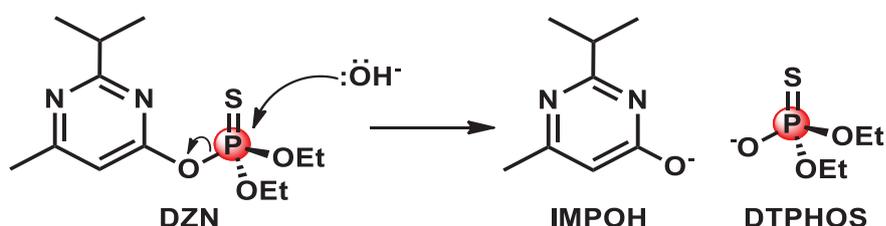
FIGURA 13 – MECANISMO CONCERTADO DE HIDRÓLISE ÁCIDA DO DZN COM PROTONAÇÃO DO ÁTOMO DE ENXOFRE E CLIVAGEM SIMULTÂNEA DA LIGAÇÃO P-O³⁴.



FONTE: O autor (2020).

Quando em pH alcalino, a hidrólise do DZN também ocorre por um mecanismo do tipo concertado $A_N D_N$, onde o ataque do íon hidróxido ocorre preferencialmente ao átomo de fósforo (Figura 14) concomitante com a clivagem da ligação P-O, levando a formação do IMPOH e o DTPHOS. Assim como na hidrólise ácida, essa reação também pode ser acompanhada pela formação do produto IMPOH através do monitoramento por espectroscopia Ultra Violeta-Visível (UV-Vis)³⁷.

FIGURA 14 – MECANISMO DE HIDRÓLISE ALCALINA DO DZN.



FONTE: O autor (2020).

As reações de hidrólise em meio ácido e alcalino do DZN são rápidas, porém, utilizam condições extremas. Em comparação, em pH 7,4 o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) para a hidrólise do DZN é estimado em 184,82 dias³⁸. Em condições ácidas (23 °C), os $t_{1/2}$ foram estimados em 30,86 e 29,42 dias em pH 5 e 3, respectivamente³⁸. Para o meio alcalino (24 °C), o $t_{1/2}$ são 135,95 e 6,03 dias para pH 9 e 10,4, respectivamente³⁸. Dessa maneira, diferentes abordagens são reportadas na literatura para catalisar a degradação do DZN. São descritos catalisadores de complexos de metais de transição^{39,40} que apresentaram incrementos catalíticos da ordem de 10^3 vezes em relação a reação espontânea.

Íons metálicos^{35,41} também apresentaram bons incrementos catalíticos e seletividade, atuando diretamente no átomo de fósforo para a clivagem da ligação P-O. Ácidos sulfônicos depositados em sílica para processos de sorção⁴², onde além dos incrementos catalíticos observados em relação a reação espontânea, também foram reportados a facilidade de separação do substrato por filtração e reuso do material em novos processos catalíticos. Solventes verdes e micro-ondas³⁶ também tem sido uma boa alternativa nesses processos. A mistura de solventes mais verdes pode influenciar diretamente no mecanismo da reação obtendo seletividade ao ataque do nucleófilo nos centros eletrofílicos do DZN, como ocorre com a piperidina, bastante eficiente nesse processo de degradação, atacando o átomo de fósforo e o carbono alifático do DZN³⁶.

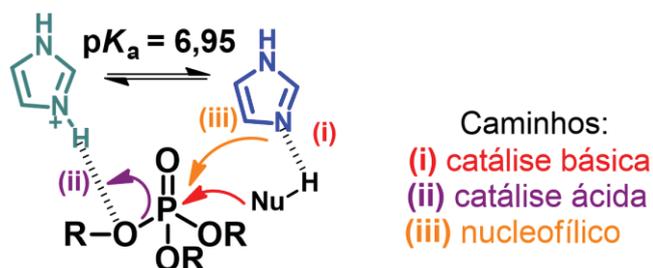
Em suma, ainda são poucos os estudos mecanísticos com o DZN devido a alta complexidade e os diversos caminhos reacionais que podem ocorrer. Busca-se cada vez mais alternativas verdes e eficientes para degradação de OF's, ao passo que como no caso do DZN, muitos ainda são comercializados com pouca ou nenhuma restrição. Isso contribui diretamente para o aumento dos problemas relacionados a saúde pública e ao meio ambiente.

1.6 DETOXIFICAÇÃO QUÍMICA DE OF'S: A VERSATILIDADE DO IMIDAZOL

O imidazol (IMZ) está presente nos sítios ativos de diversas enzimas e atua de forma muito eficiente em processos de clivagem de OF's. É um heterociclo aromático com alta solubilidade em solventes polares e apolares e pK_a próximo 7,0 a 25 °C (Figura 15). Dessa maneira, a versatilidade do IMZ pode ser justificada pelo seu caráter anfótero, podendo atuar como base quando desprotonado (Figura 15 – i) onde pode abstrair um próton de um nucleófilo (em geral H₂O) tornando a espécie mais reativa. Ainda, o IMZ pode atuar como ácido quando protonado (Figura 15 – ii), efetuando a transferência de um próton ao substrato permitindo a sequência na reação ou assistindo um grupo de saída. Ainda, em sua forma neutra pode atuar como nucleófilo (Figura 15 – iii)²⁴.

A versatilidade dessa molécula e de seus derivados também pode ser justificada em suas atividades farmacológicas (antibióticas, antissépticas, antifúngicas, etc)^{43,44}.

FIGURA 15 – DIFERENTES POSSIBILIDADES REACIONAIS PARA O IMZ.



FONTE: adaptado de ORTH (2015)⁴⁵.

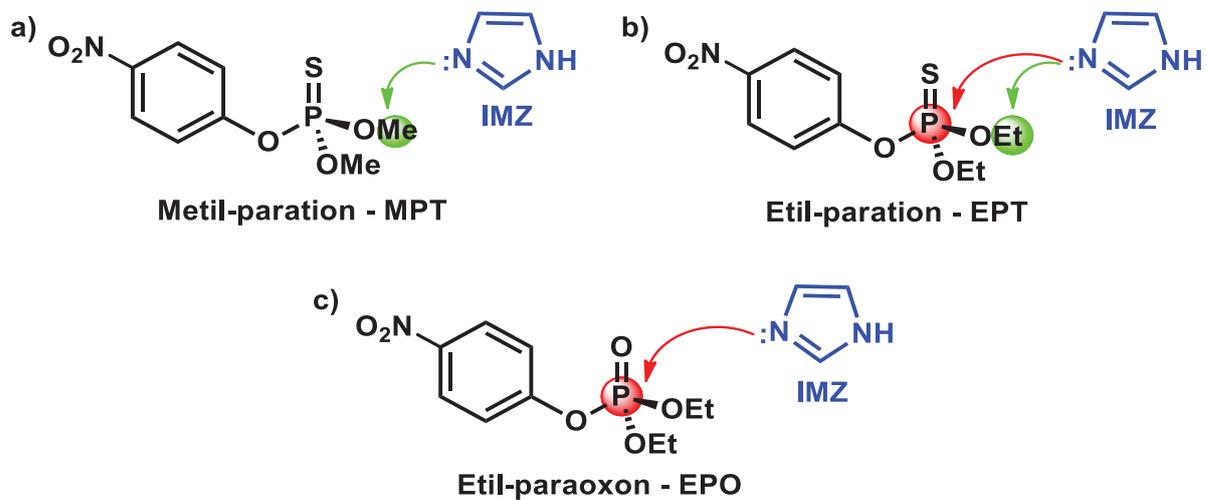
Devido a essa versatilidade, a literatura tem mostrado que o IMZ atua de forma eficaz no processo de degradação de OF's quando funcionalizado em nanocatalisadores de óxido de grafeno⁴⁶. Já em sistemas celulósicos complexos como resíduos de casca de arroz, a funcionalização com IMZ também apresentou grande atividade catalítica para degradação de triésteres de fosfato tóxicos e pesticidas reais como o Paraoxon⁴⁷. Recentemente, novos estudos sobre a desfosforilação do pesticida Paraoxon com catalisadores homogêneos e heterogêneos funcionalizados com IMZ também foram reportados e apontam boas perspectivas^{45,48,49}.

Um estudo realizado com o pesticida MPT (contém P=S, similar ao DZN), mostrou que o IMZ catalisa seu processo de degradação. Porém, o IMZ reage com o carbono alifático do MPT (Figura 16 – a) desalquilando a molécula e levando a formação do produto metilimidazol (MEI)¹⁹. Já para o pesticida etil-paration (EPT), o IMZ ataca tanto o carbono alifático quanto o átomo de fósforo (Figura 16 – b) numa espécie de reação competitiva²⁴. No caso do MPT, o ataque preferencial do IMZ na metila pode estar relacionado ao efeito doador do enxofre que poderia diminuir o caráter eletrofílico do átomo de fósforo inferindo diretamente na sua reatividade com relação ao centro fosfórico¹⁹. Para o EPT, o enxofre também contribui indutivamente para a diminuição da reatividade do centro fosfórico. Entretanto, com o aumento da cadeia, o caráter eletrofílico do carbono alifático também diminui devido ao efeito indutivo doador do grupo metil. Dessa maneira, a reação ocorre por ambas as vias, e ainda que competitiva, o caminho predominante nessa reação se dá pelo carbono alifático²⁴.

Quando a reação do EPT com IMZ é comparada a do pesticida etil-paraoxon (EPO) com IMZ, nota-se que para o EPO há uma maior reatividade e seletividade, pois o IMZ ataca preferencialmente o átomo de fósforo do EPO (Figura 16 – c),

passando por um estágio intermediário com o IMZ ligado ao grupo fosfato, sendo rapidamente convertido ao fosfato menos tóxico⁴⁵. Vale ressaltar que todos esses caminhos ocorrem com o IMZ neutro, que é nucleofílico. Essas observações corroboram o fato das mudanças no mecanismo de reação dos pesticidas do tipo P=O em relação aos P=S, e também, o fato dos pesticidas P=O serem mais reativos e suscetíveis a ataques nucleofílicos no átomo de fósforo.

FIGURA 16 – a) ATAQUE PREFERENCIAL DO IMZ AO MPT; b) ATAQUES PREFERENCIAIS DO IMZ DO EPT; c) ATAQUE PREFERENCIAL DO IMZ AO EPO.



FONTE: O autor (2020).

Dessa maneira, é de interesse estudar a reação do IMZ com DZN, buscando a formação de produtos menos tóxicos, uma vez que os resultados para a detoxificação química de pesticidas OF's com IMZ tem se mostrado promissores. Ainda, é foco a elucidação mecanística pois o IMZ possui várias possibilidades de catálise (ácida, básica e nucleofílica), assim como o DZN pode modular o mecanismo devido aos seus vários sítios de protonação (que os OFs na Figura 16 não possuem).

2 JUSTIFICATIVA

Os problemas de saúde e ambientais causados pelo uso constante de pesticidas OF's nas lavouras e culturas do Brasil e do mundo são recorrentes e trazem grande preocupação. Nosso país é o maior consumidor de agroquímicos do planeta e vários pesticidas são recorrentemente identificados em análises laboratoriais em níveis preocupantes¹¹.

A OMS estima que aproximadamente 220.000 mortes sejam causadas por casos de intoxicação por pesticidas ou ainda suicídio decorrentes do uso de OF's. A respeito da intoxicação dos trabalhadores agrícolas, são cerca de 25 milhões anualmente. Como consequências da exposição a agrotóxicos OF's e organoclorados, problemas respiratórios como bronquite asmática e outras anomalias pulmonares, efeitos gastrointestinais e para alguns compostos, distúrbios musculares, debilidade motora e fraqueza podem se tornar mais evidentes^{9,10,50}. Em 1998, o Sistema Nacional de Toxicologia registrou 5268 casos de intoxicação por agrotóxicos, sendo que 181 foram vítimas fatais⁵⁰.

Nesse contexto, a literatura mostra que o IMZ e alguns derivados são moléculas promissoras para o processo de catálise em reações de desfosforilação de triésteres de fosfato^{45,19,46,47,51} devido a sua alta versatilidade e reatividade, podendo exercer múltiplas catálises. Todavia, ainda não existe nenhum estudo sistemático reportado sobre a degradação do pesticida DZN que envolva IMZ ou derivados como possíveis catalisadores. Este fato pode estar relacionado a complexidade dos mecanismos envolvidos, uma vez que os diversos caminhos alternativos podem ocorrer nas reações com o DZN e também, a relação P=O versus P=S pode afetar diretamente o mecanismo da reação quanto ao seu processo de detecção.

Dessa maneira, este projeto busca compreender a reatividade do IMZ frente ao DZN, a fim de otimizar e catalisar a sua reação de degradação. Busca-se avaliar a versatilidade do IMZ através da sua reatividade quando protonado (IMZH) e quando desprotonado (IMZ). Além disso, busca-se também elucidar os mecanismos das reações e beneficiar-se desses para o monitoramento do OF. O entendimento da reatividade dos OF's frente a novas moléculas é fundamental para o desenvolvimento de métodos que auxiliem na detoxificação química dessa classe de compostos, tornando o ambiente mais salubre aos seres vivos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

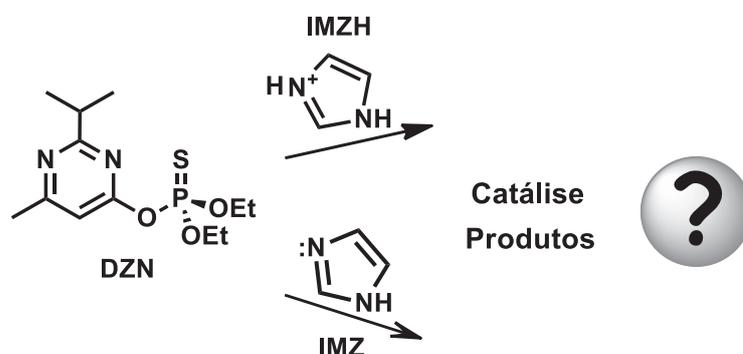
O objetivo geral desse projeto é estudar a reação do pesticida DZN com IMZ, promovendo sua detoxificação química.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A fim de se alcançar o objetivo geral, visam-se as seguintes estratégias:

- ✓ Extrair, purificar e caracterizar o OF DZN da amostra comercial Diazitop pelas técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^{31}P e ^1H), espectroscopia na região do Infravermelho (FT-IR), Espectroscopia UV-Vis;
- ✓ Avaliar o comportamento cinético das reações de hidrólise do DZN na ausência e presença de IMZ utilizando espectroscopia de UV-Vis com variações nas condições reacionais como pH, temperatura, entre outros;
- ✓ Analisar as reações utilizando ferramentas da físico-química orgânica como perfil de pH, efeito isotópico cinético do solvente, entre outros nas reações do DZN com IMZ;
- ✓ Elucidar os mecanismos das reações utilizando RMN ^{31}P , ^1H e ^{13}C (1D e 2D), e espectrometria de massas, para o auxílio na detecção de intermediários e produtos;

FIGURA 17 – REAÇÕES DO IMZ COM DZN AVALIADAS NESSE TRABALHO.



FONTE: O autor (2020).

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

Os reagentes utilizados foram IMZ (Sigma-Aldrich), deuteróxido de sódio (Aldrich), acetonitrila (Carlo-Erba), acetato de etila (Merck), metanol (Dinâmica) hidróxido de sódio (Vetec), hidróxido de potássio (Vetec), ácido clorídrico (dinâmica), ácido acético (dinâmica), fosfato de potássio (Vetec), citrato trissódico (Vetec), carbonato de sódio (Vetec), cloreto de deutério (Aldrich), deuteróxido de sódio (Aldrich), sulfato de sódio (Vetec). O DZN foi extraído da amostra comercial Diazitop seguindo o procedimento descrito na literatura³⁸.

4.2 EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PESTICIDA

A extração do pesticida DZN foi realizada a partir da sua amostra comercial Diazitop (sólido), com três porções de 50 mL acetato de etila, em funil de extração. Seguida de adição de porções de água destilada para separação das fases aquosa e orgânica. Posteriormente, o líquido foi secado com sulfato de sódio e o solvente foi rotaevaporado lentamente³⁸. O material oleoso obtido foi caracterizado pelas técnicas de FT-IR (espectrômetro Bromem Bruker Vertex 70/70v® com pastilha de KBr na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}), RMN de ^1H e ^{31}P (Bruker AVANCE 400® ; 500 μL de D_2O contendo TMSP; $\text{DZN} = 1 \times 10^{-5}\text{ mol.L}^{-1}$; para o RMN de ^{31}P foi utilizado um capilar contendo H_3PO_4) e UV-Vis (Agilent Cary 60 – com banho termostatizado acoplado). Uma solução estoque do pesticida foi preparada em acetonitrila em uma concentração de $0,01\text{ mol.L}^{-1}$ de DZN que foi mantida em freezer.

4.3 ESTUDOS CINÉTICOS

Todas as reações foram acompanhadas por UV-Vis entre 190 e 800 nm com temperatura controlada de $60\text{ }^\circ\text{C}$. O monitoramento da reação se deu pela formação do produto IMPOH que possui dois $\lambda_{\text{máx}}$ em 229 nm e 260 nm³⁷. Em todos os casos, uma alíquota de 20 μL de solução estoque de DZN ($0,01\text{ mol.L}^{-1}$ – em acetonitrila) foi adicionada na cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico contendo 3 mL das

soluções de interesse (o pH das soluções foi ajustado pela adição de [HCl] 0,1 mol.L⁻¹ ou [NaOH] = 0,1 mol.L⁻¹. Nas reações em D₂O o pD foi ajustado com adição de [DCI] 0,1 mol.L⁻¹ ou [NaOD] = 0,1 mol.L⁻¹, resultando em uma concentração final de DZN 6,67x10⁻⁵ mol.L⁻¹ (condições de pseudo-primeira ordem). As reações foram tamponadas quando necessário utilizando os tampões (0,01 mol.L⁻¹) CaCO₃ (pH 8,0 - 9,0), K₃PO₄ (pH 6,0 - 7,0) e Na₃C₆H₅O₇ (pH 5,0). Em meio deuterado, o valor de pD foi corrigido usando a relação: pD = pH + 0,4⁵². As cubetas foram seladas com parafilme e o monitoramento da reação se deu por cinco tempos de meia-vida. Os dados obtidos foram tratados com o software Origin 9, ajustados de acordo com as seguintes equações de pseudo-primeira ordem para consumo do reagente (eq. 1) e formação do produto (eq. 2):

$$A_t = A_{inf} + (A_0 - A_{inf}) * (e^{-k_{obs} * t}) \quad \text{eq. 1}$$

$$A_t = A_0 + (A_0 - A_{inf}) * (1 - e^{-k_{obs} * t}) \quad \text{eq. 2}$$

Onde:

A = Absorbância em determinado tempo

A₀ = Absorbância inicial

A_{inf} = Absorbância no infinito

k_{obs} = Constante de velocidade observada de pseudo-primeira ordem

t = tempo

Outras equações foram deduzidas e ajustadas, conforme os perfis cinéticos obtidos que se mostraram diferentes dos previstos pelas equações acima.

4.4 ANÁLISES POR RMN – ¹H, ¹³C E ³¹P

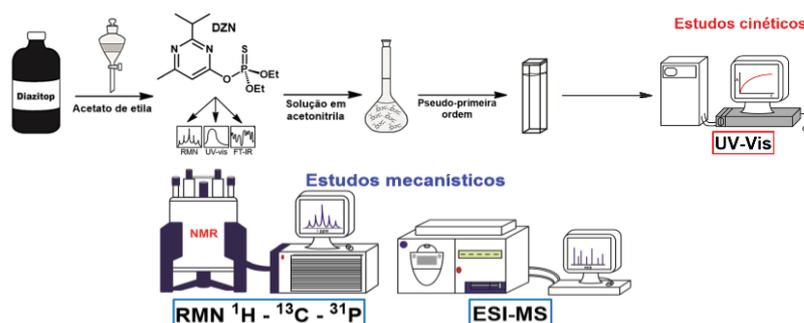
As análises de RMN de ¹H, ¹³C e ³¹P foram realizadas com uma alíquota de 20 µL da solução estoque de DZN 0,15 mol.L⁻¹ em D₂O (Tetrametilsilano - TMS) resultando em uma concentração final de 6x10⁻³ mol.L⁻¹ de DZN em tubo de RMN contendo 500 µL de solução 0,2 mol.L⁻¹ de IMZ em D₂O com pD ajustado pela adição de [NaOD] 0,1 mol.L⁻¹ e [DCI] 0,1 mol.L⁻¹. Essas condições foram empregadas para as reações em pD 5,0 e pD 8,0. Os espectros de RMN de ³¹P

foram referenciados com um capilar contendo H_3PO_4 em δ_{P} 0,00. Os tubos foram selados com parafilme e as reações foram mantidas em banho termostatizado a 60 °C e monitoradas até o completo desaparecimento do sinal do reagente e aparecimento dos sinais dos produtos. Os experimentos de RMN 2D de correlação a longa distância ^1H - ^{31}P (HMBC) foram adquiridos em um espectrômetro Bruker AVANCE 400, operando a 4,7 T, observando os núcleos de ^1H e ^{31}P a 400,13 e 161,97 MHz, respectivamente, equipado com uma sonda de detecção direta - BBO (^1H , ^2H e ^{13}C) de 5 mm, com gradiente de campo ao longo do eixo z. Todas as análises foram feitas em colaboração com a Prof. Dr^a. Caroline D'Oca e a Dr^a. Maria Costa do centro de RMN do departamento de química da Universidade Federal do Paraná.

4.5 ANÁLISES POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS – ESI-MS

As análises de ESI-MS (LTQ OrbiTrap XL – Thermo Scientific) foram realizadas com uma alíquota de 50 μL da solução pós-reação dissolvida em 2 mL de metanol, resultando em uma concentração final de $3,25 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ da solução pós-reação. Utilizando o modo positivo, foram analisadas as reações em pH 5,0 (IMZ ainda protonado) e pH 8,0 (IMZ já desprotonado) e para a identificação de possíveis intermediários e os produtos da reação, ainda, a verificação de uma possível mudança nos mecanismos envolvidos nas reações. Para as análises em pH 8,0 foram adicionados 10 μL de ácido acético concentrado como agente ionizante. Todas as análises foram feitas em colaboração com o Prof. Dr. Alfredo Oliveira e o técnico de laboratório Thiago Santos do departamento de química da Universidade Federal do Paraná. O resumo da metodologia utilizada no trabalho é apresentado na Figura 18.

FIGURA 18 – METODOLOGIA UTILIZADA NOS ESTUDOS COM DZN.



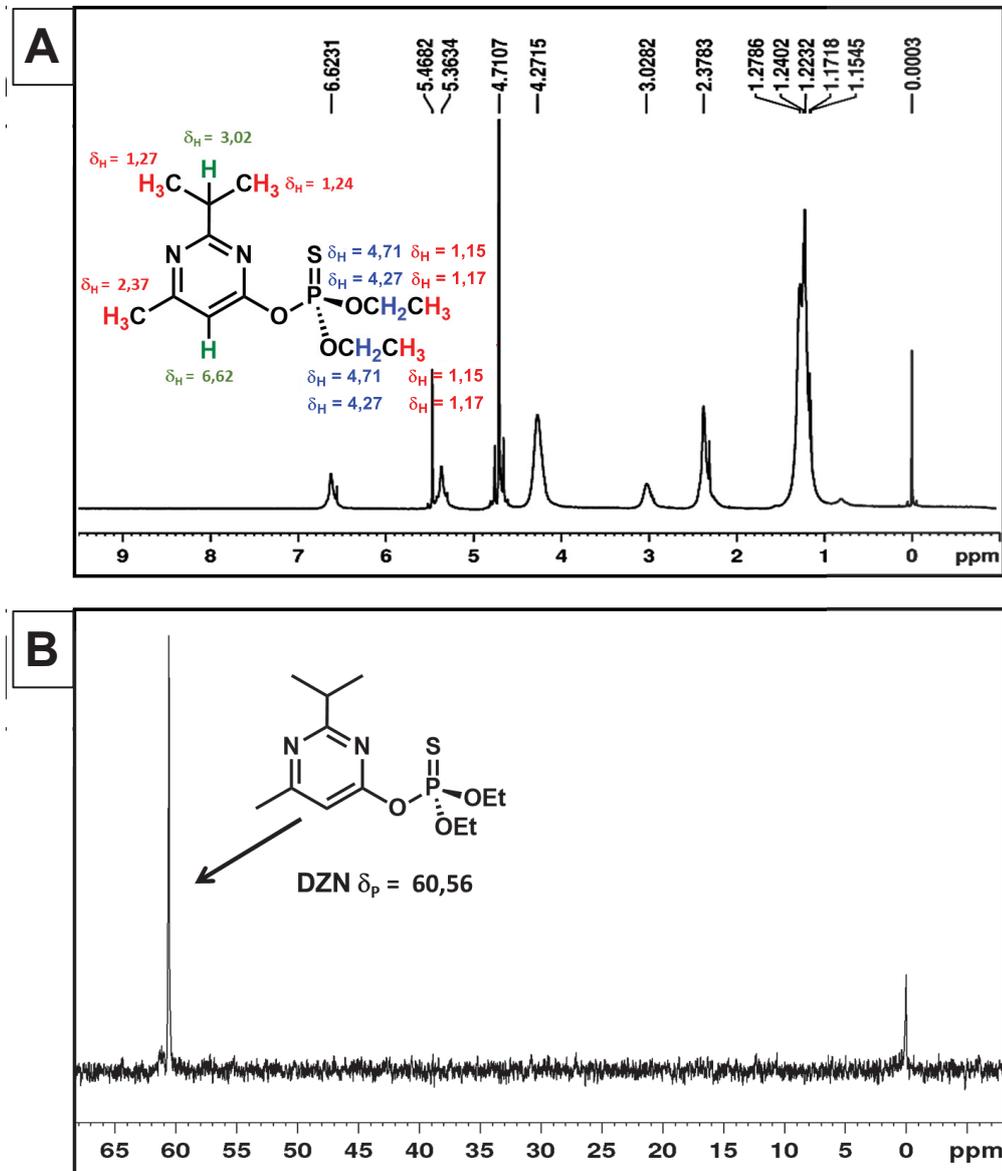
FONTE: O autor (2020)

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO DIAZINON

Após a extração do DZN, este foi caracterizado pelas técnicas de RMN, UV-Vis e FT-IR. A seguir são mostrados inicialmente os espectros de RMN de ^1H (Figura 19 – A) e ^{31}P (Figura 19 – B) para o DZN.

FIGURA 19 – ESPECTROS DE RMN DO DZN. (A) RMN ^1H CONTENDO TMS P E EM (B) ^{31}P RMN COM CAPILAR DE H_3PO_4 EM D_2O . ($[\text{DZN}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $25 \text{ }^\circ\text{C}$)



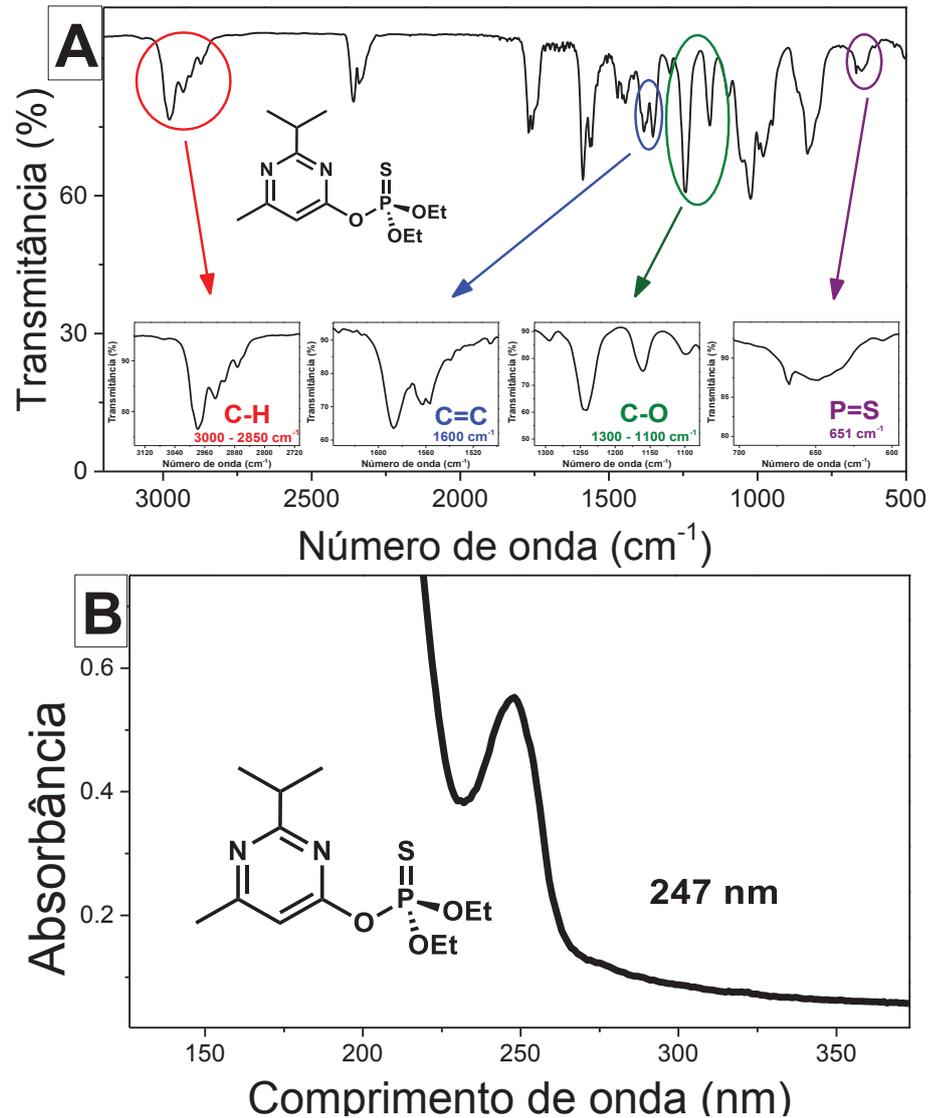
FONTE: O autor (2020).

Analisando-se o espectro de RMN de ^1H (Figura 19 - A) foi possível observar os sinais referentes às metilas do grupo etóxi em δ_{H} 1,17 e δ_{H} 1,15 (m, 6H) e outros dois sinais em δ_{H} 4,27 e δ_{H} 4,71 (m) referentes aos grupos metilênicos α oxigênio. Além disso, os sinais do grupo isopropila foram observados em δ_{H} 1,24 e δ_{H} 1,27 (m, 6H) relativos aos grupos metila da isopropila e um sinal em δ_{H} 3,02 (m, 1H) relativo ao hidrogênio metínico. Também foi observado um sinal em δ_{H} 6,62 (s, 1H) referente ao hidrogênio aromático e outro sinal em δ_{H} 2,37 (s, 3H) referente aos hidrogênios metílicos. Outros sinais também foram observados como em δ_{H} 5,46 e δ_{H} 5,36 que podem estar relacionados a impurezas presentes na amostra. A partir do espectro de RMN de ^{31}P (Figura 19 - B) foi observado um sinal em δ_{P} 60,56 referente ao grupo tiofosfato. Os deslocamentos observados estão de acordo com os dados reportados na literatura³⁷.

No espectro FT-IR (Figura 20 – A) do DZN, diversas bandas podem ser atribuídas sendo que algumas podem ser resultantes de vestígios de acetato de etila provenientes da extração da amostra. Para facilitar a análise, somente as principais bandas do composto foram atribuídas. A vibração assimétrica da ligação C-H de metila encontra-se entre 2850 e 3000 cm^{-1} . Em 1600 cm^{-1} , é possível verificar as bandas correspondentes ao estiramento C=C do anel aromático do DZN e bandas entre 1300 e 1000 cm^{-1} correspondentes ao estiramento das ligações C-O. A fraca banda em 651 cm^{-1} é atribuída aos estiramentos da ligação P=S⁵³.

Para o espectro de UV-Vis do DZN (Figura 20 – B) nota-se uma banda intensa na região de 247 nm, correspondente ao $\lambda_{\text{máx}}$ de absorção do pesticida devido às transições ocorridas no anel aromático dos pares de elétrons não ligantes do nitrogênio $\pi \rightarrow \pi^*$ ³⁷. Dessa forma, as técnicas utilizadas confirmaram que a extração do DZN foi bem sucedida e possui pureza suficiente para os estudos cinéticos e mecanísticos seguintes.

FIGURA 20 – ESPECTROS DE FT-IR (A) E UV-VIS (B) CARACTERÍSTICOS DO DZN.



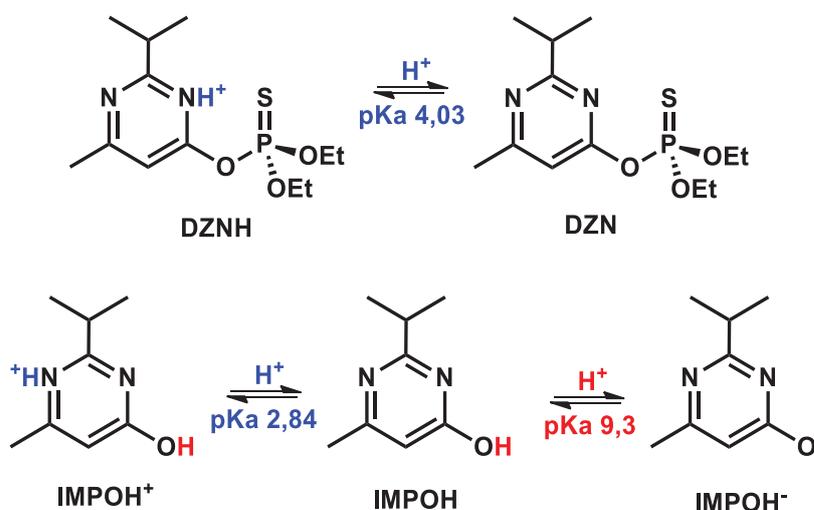
FONTE: O autor (2020).

5.2 ESTUDOS CINÉTICOS: REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DIAZINON

A literatura reporta que as reações de hidrólise do DZN são extremamente lentas a 25 °C ^{54,55}. Diante disso, as reações foram realizadas a 60 °C para que fosse possível se obter as constantes de velocidade em um tempo relativamente menor. Assim, foram estudadas as reações de hidrólise ácida e alcalina, além da hidrólise em meio tamponado na faixa de pH de 2-10. Conforme já citado, o DZN possui vários sítios que podem ser protonados, assim como o produto de sua hidrólise, IMPOH. A Figura 21 mostra os equilíbrios envolvidos tanto para o DZN quanto para o IMPOH, representando apenas as faixas de pH onde foram

estudados. Para o DZN, é apresentado o equilíbrio no nitrogênio *orto* ($pK_{a \text{ N-H } \textit{orto}} = 4,03$ a 60°C) em relação ao átomo de oxigênio do tiofosfato, a sigla DZNH se refere a espécie protonada do pesticida. Para o IMPOH, são representados os equilíbrios em relação ao átomo de nitrogênio *para* ($pK_{a \text{ N-H } \textit{para}} = 2,84$) e para o grupo OH do pirimidinol ($pK_{a \text{ O-H } \textit{para}} = 9,3$) reportados na literatura^{34,37}. As siglas IMPOH⁺, IMPOH e IMPOH⁻ se referem as espécies protonada (N-H) e desprotonada (O-H) do IMPOH.

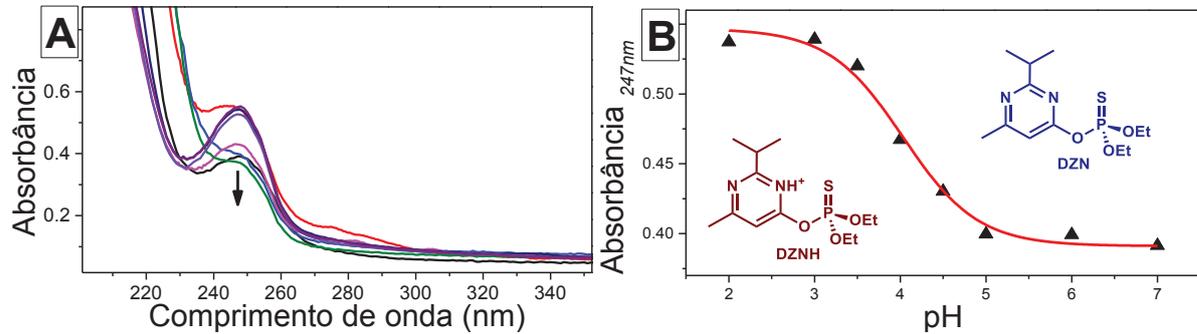
FIGURA 21 – EQUILÍBRIOS ENVOLVIDOS NAS ESPÉCIES DZN E IMPOH.



FONTE: Adaptado de CHURCHILL (2007)³⁴ e PIEDA (2001)³⁷.

Para os estudos da hidrólise do DZN, foi necessário estimar o seu pK_a a 60°C (a literatura reporta apenas em temperatura menor), uma vez que o DZN pode reagir por diferentes caminhos conforme suas formas iônica ou neutra³⁴. Assim, foram analisados os espectros iniciais das reações de hidrólise do DZN, ou seja em pH's diferentes, sendo possível verificar a variação na absorvância (um decréscimo em função do aumento do pH) do primeiro espectro de cada reação (Figura 22 – A) permitindo obter o pK_a . A estimativa se deu pelo plot da absorvância em 247 nm do primeiro espectro de cada reação em função do pH (Figura 22 - B), obtendo-se o pK_a do DZN de $4,03$ a 60°C utilizando a relação descrita pela eq. 3⁵⁶. O pK_a do DZN reportado a 25°C é de $2,6$ ³⁸, o que mostra a variação significativa na basicidade, e possivelmente da reatividade do pesticida em função da alta temperatura empregada aqui.

FIGURA 22 – (A) PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA E (B) PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO pH PARA O PRIMEIRO ESPECTRO DE CADA REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO DZN. (247 nm ; 60 °C ; [DZN] = 6,67x10⁻⁵ mol.L⁻¹ ; A LINHA SÓLIDA EM (B) CORRESPONDE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 3 ⁵⁶)



FONTE: O autor (2020).

$$\text{Abs} = [\text{DZN}] \chi_{\text{DZNH}} b \epsilon_{\text{DZNH}} + [\text{DZN}] \chi_{\text{DZN}} b \epsilon_{\text{DZN}} \quad \text{eq. 3}$$

Onde:

Abs = absorbância;

[DZN] = concentração de DZN;

χ_{DZNH} = fração molar da espécie DZN protonada*;

χ_{DZN} = fração molar da espécie DZN desprotonada*;

ϵ_{DZNH} = absortividade molar da espécie DZN protonada;

ϵ_{DZN} = absortividade molar da espécie DZN desprotonada;

b = caminho óptico.

*As frações molares das espécies protonada e desprotonada de DZN foram obtidas pela seguinte relação:

$$\chi_{\text{DZNH}} = \left(\frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_{\text{aDZN}}} \right) \quad \text{e} \quad \chi_{\text{DZN}} = \left(\frac{K_{\text{aDZN}}}{[\text{H}^+] + K_{\text{aDZN}}} \right)$$

Onde:

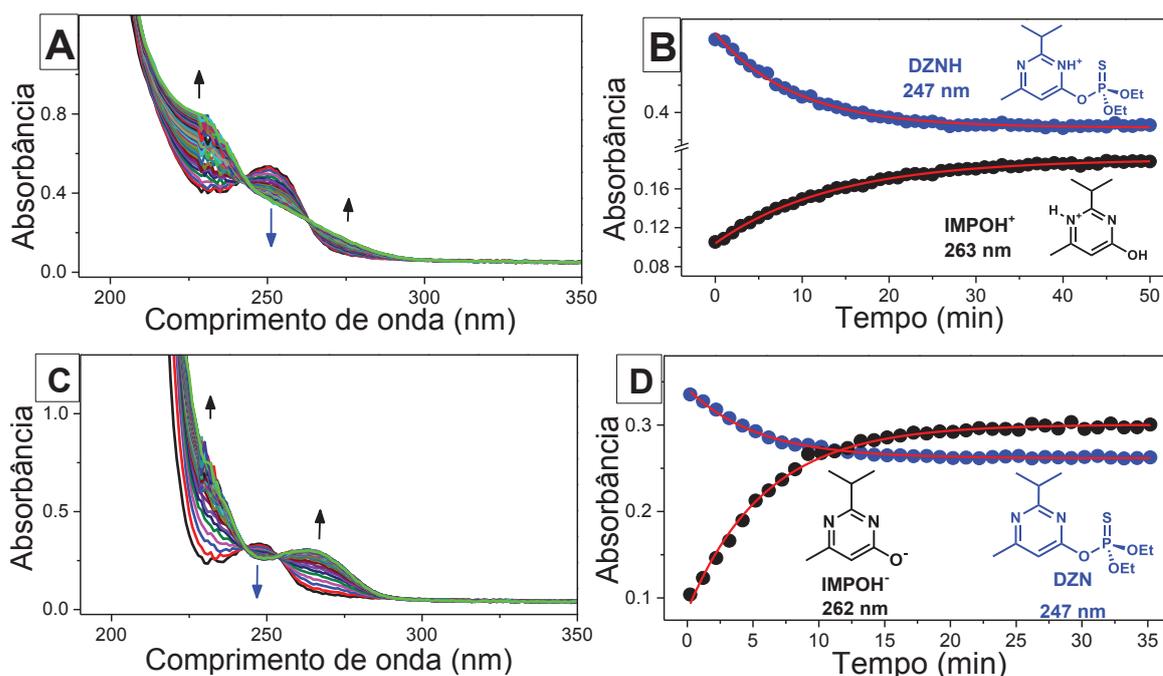
[H⁺] = concentração do íon hidrogênio;

K_{aDZN} = constante de acidez do DZN obtida pela relação $10^{-\text{p}K_{\text{aDZN}}}$.

Ainda, pelo ajuste dos dados experimentais obtiveram-se os valores de absortividade molar para as espécies sendo $\epsilon_{\text{DZNH}} = 4129,30 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ a absortividade molar da espécie protonada do DZN e $\epsilon_{\text{DZN}} = 2953,05 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ a absortividade molar para espécie desprotonada do DZN.

Inicialmente foram analisadas as reações de hidrólise ácida e alcalina do DZN. Esses estudos são de grande importância, uma vez que há necessidade de verificar os produtos e os comprimentos de onda máximos de absorção, bem como as constantes de velocidade. Essas constantes serão utilizadas nos experimentos seguintes para os ajustes dos perfis de pH das demais reações. O conjunto de dados das reações está apresentado na Figura 23 pelos espectros UV-Vis consecutivos da hidrólise ácida (Figura 23 – A) e alcalina (Figura 23 – C) do DZN e seus respectivos perfis cinéticos (Figura 23 – B e D).

FIGURA 23 – ESPECTROS CONSECUTIVOS UV-VIS PARA (A) HIDRÓLISE ÁCIDA E (C) HIDRÓLISE ALCALINA E PERFIS CINÉTICOS PARA (B) HIDRÓLISE ÁCIDA E (D) HIDRÓLISE ALCALINA DO DZN TÍPICAMENTE OBTIDOS NAS REAÇÕES. (60 °C ; [HCl] = 0,1 mol.L⁻¹; [NaOH] = 0,1 mol.L⁻¹; [DZN] = 6,67x10⁻⁵ mol.L⁻¹ ; AS LINHAS SÓLIDAS EM (B) E (D) CORRESPONDEM AOS AJUSTES DOS DADOS EXPERIMENTAIS UTILIZANDO AS EQUAÇÕES 1 (REAGENTE) E 2 (PRODUTO).



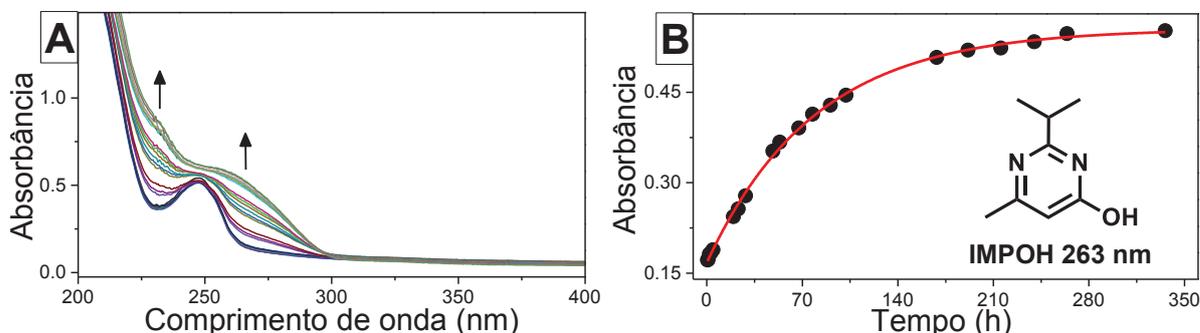
FONTE: O autor (2020).

Analisando a Figura 23 é possível verificar em ambos os casos o consumo do DZN na região de 247 nm (ajustado com a eq. 1) e a formação do produto IMPOH na região de 263 nm para hidrólise ácida e 262 nm para hidrólise alcalina (ambos ajustados com a eq. 2). O produto IMPOH possui uma segunda banda de absorção em 230 nm quando protonado e em 229 nm quando desprotonado, as quais também podem ser utilizadas para o seu monitoramento. Entretanto, devido aos melhores ajustes, as bandas em 263 nm e 262 nm foram escolhidas para o acompanhamento

cinético na hidrólise ácida e hidrólise alcalina, respectivamente. As reações se processam de forma rápida devido as condições extremas utilizadas. Ainda, é possível verificar que a hidrólise alcalina é mais rápida quando comparada à hidrólise ácida, visto que as constantes de velocidade obtidas para a hidrólise ácida e alcalina são: $k_{\text{H}_3\text{O}^+_{\text{DZNH}}} = (1,22 \pm 0,02) \times 10^{-2} \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$ e $k_{\text{OH}^-_{\text{DZN}}} = (2,83 \pm 0,08) \times 10^{-2} \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$. Nesses casos, a hidrólise ácida ocorre com a espécie protonada, DZNH (Figura 23 – B) e a hidrólise alcalina com a espécie neutra, DZN (Figura 23 – D). Vale ressaltar que foram obtidas constantes muito semelhantes pelo ajuste do perfil de reagente e produto, indicando que a reação acompanhada não deve passar por intermediários ou reações paralelas e deve seguir se forma concertada $\text{Re} \rightarrow \text{Pro}$.

Foram avaliadas as reações de hidrólise do DZN na faixa de pH 2-10, em diferentes tampões. Notou-se que mesmo a 60 °C, algumas reações se apresentaram bastante lentas. Para pH 6,0 e 7,0 as constantes de velocidade foram estimadas utilizando o método da velocidade inicial v_0 ¹⁹, com o ajuste em pH 5,0 como referência. Já para pH 8,0 e 10, a referência adotada foi o ajuste da reação em pH 9,0. Alguns perfis cinéticos observados na faixa de pH 2-10 se mostraram diferentes das reações de hidrólise ácida e alcalina como no caso da reação do DZN em pH 5,0 (tamponada com citrato trissódico), apresentada na Figura 24. De maneira similar ao anteriormente mostrado, ocorre o incremento nas bandas 229 nm e 263 nm (Figura 24 - A) que indica formação do produto pirimidínico IMPOH da reação. Entretanto, não é possível verificar o decaimento da banda do reagente em 247 nm que indicaria o consumo do DZN. Uma das possíveis explicações para essa observação seria o fato de que as bandas das espécies iônicas e neutras presentes no meio nessa faixa de pH podem se sobrepor, não permitindo assim discernir claramente o perfil de decaimento do reagente. Essa observação foi constatada na maioria dos tampões estudados (pH 3 – 10), com perfis bastante similares, diferenciando somente a constante de velocidade da reação. Dessa maneira, as reações foram monitoradas pela banda de formação do produto em 263 nm. Para pH 5,0 o perfil cinético ajustado utilizando a eq. 2 é evidenciado na Figura 24 - B. Assim, as constantes de velocidade obtidas para as reações se referem apenas a formação do produto IMPOH nas faixas de pH 2 a 10.

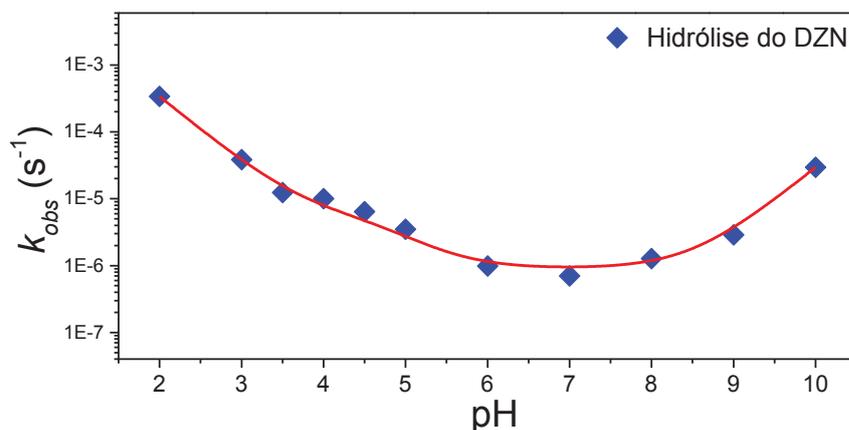
FIGURA 24 – (A) ESPECTROS CONSECUTIVOS UV-VIS E (B) PERFIL CINÉTICO TÍPICAMENTE OBTIDO NA REAÇÃO DO DZN EM pH 5,0. (263 nm ; 60 °C ; $[\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7] = 0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 6,67 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; A LINHA SÓLIDA EM (B) CORRESPONDE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 2



FONTE: O autor (2020).

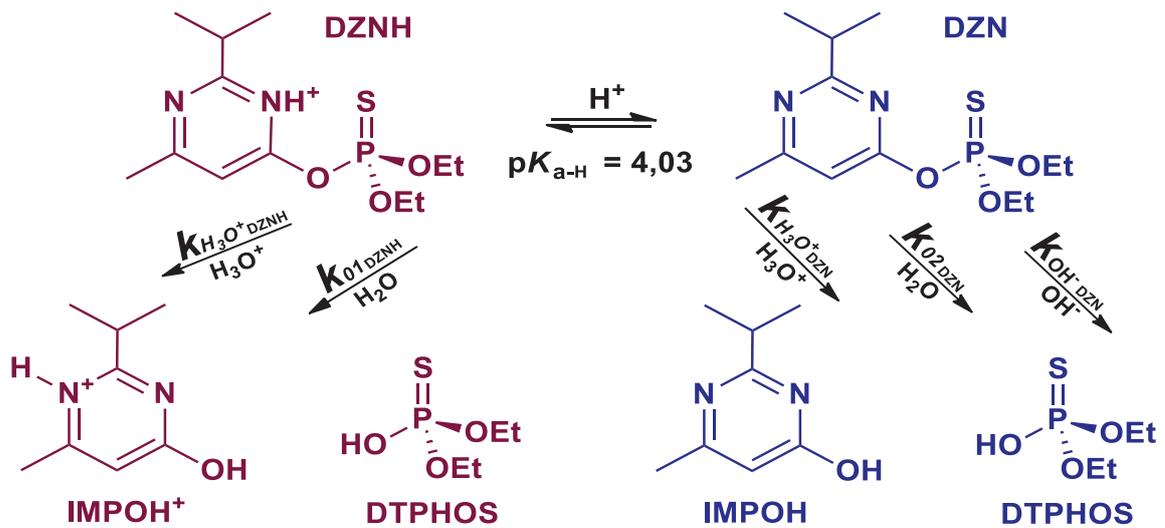
O perfil de pH obtido para hidrólise do DZN está apresentado na Figura 25, onde é possível verificar que quanto mais se aproxima de pH 7,0 a reação se torna mais lenta, pois há menor contribuição das espécies mais reativas H_3O^+ e OH^- ⁵⁵. O perfil da Figura 25 foi ajustado com a eq. 4, modelo que considera as reações envolvendo a frações molares das espécies protonada e desprotonada do DZN de acordo com o meio reacional. Ainda, a equação considera a hidrólise ácida e básica ($k_{\text{H}_3\text{O}^+\text{DZNH}}$ e $k_{\text{OH}^-\text{DZN}}$), apresentadas anteriormente (Figura 23). A equação se adequa muito bem aos dados experimentais obtidos, indicando que o modelo proposto é válido, podendo se obter dados confiáveis para as constantes de velocidade ácida e alcalina, bem como as reações espontâneas k_{01} e k_{02} . O modelo proposto está representado na Figura 26.

FIGURA 25 – PERFIL DE pH OBTIDO DAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN EM DIFERENTES TAMPÕES. ($[\text{DZN}] = 6,67 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{TAMPÕES}] = 0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; 60 °C ; A LINHA SÓLIDA CORRESPONDE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 4)



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 26 – ESQUEMA REACIONAL PROPOSTO PARA AS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN.



FONTE: O autor (2020).

$$k_{obs} = (k_{H_3O^+ DZNH} [H_3O^+] + k_{01 DZNH}) \chi_{DZNH} + (k_{H_3O^+ DZN} [H_3O^+] + k_{02 DZN} + k_{OH^- DZN} [OH^-]) \chi_{DZN} \quad \text{eq. 4}$$

Onde:

 k_{obs} = constante observada de pseudo-primeira ordem; $k_{H_3O^+ DZNH}$ = constante de velocidade de hidrólise ácida com DZN protonado; $k_{H_3O^+ DZN}$ = constante de velocidade de hidrólise ácida com DZN desprotonado; $k_{OH^- DZN}$ = constante de velocidade de hidrólise alcalina com DZN desprotonado; $k_{01 DZNH}$ = constante de velocidade espontânea do DZN protonado; $k_{02 DZN}$ = constante de velocidade espontânea do DZN desprotonado; χ_{DZNH} = fração molar da espécie protonada DZN; χ_{DZN} = fração molar da espécie desprotonada DZN; $[H_3O^+]$ = concentração de íon hidrônio; $[OH^-]$ = concentração de íon hidróxido.

A partir do ajuste do perfil de pH da Figura 25 com a eq. 4, foi possível obter todas as constantes de velocidade para hidrólise do DZN a 60 °C, que estão apresentados na Tabela 1. As constantes obtidas são fundamentais para se obter um comparativo com as reações realizadas na presença de IMZ, uma vez que não existem muitos estudos da hidrólise do pesticida realizada nessas condições, apenas poucos dados a 25 °C ^{54,55}. Como mencionado anteriormente, torna-se

evidente que as reações alcalina e ácida, utilizando condições extremas, são muito mais eficientes que a reação espontânea, cerca de 10^3 e 10^5 vezes mais rápidas que k_{01} e k_{02} respectivamente. A Figura 27 mostra esse comparativo de forma bastante clara com os tempos de meia-vida (gráfico apresentado em escala logarítmica) de cada reação. A reação de hidrólise alcalina possui o menor tempo de meia-vida o que pode dar um indício que ocorre por um mecanismo concertado^{18,34}. Para a hidrólise ácida, as duas espécies podem reagir, o DZNH e o DZN, sendo a espécie protonada a mais reativa, conseqüentemente com menor $t_{1/2}$. Isso pode ser explicado tendo em vista os sítios de protonação do DZN, podendo reagir por diferentes caminhos (como mostrado na figura 10), facilitando a clivagem da ligação P-O. Para as constantes de hidrólise espontânea k_{01} e k_{02} também percebe-se que a reação com DZNH é mais rápida que com DZN. Mais uma vez, a espécie DZNH ativada facilita o ataque nucleofílico da molécula de água (que é um nucleófilo fraco) no átomo de fósforo para a clivagem da ligação P-O do pesticida. Para espécie DZN, esse processo é dificultado pois não há espécies ácidas e alcalinas em concentrações consideráveis nessa faixa de pH que possam levar a ativação da molécula do DZN ou ataque no centro fosfórico, respectivamente.

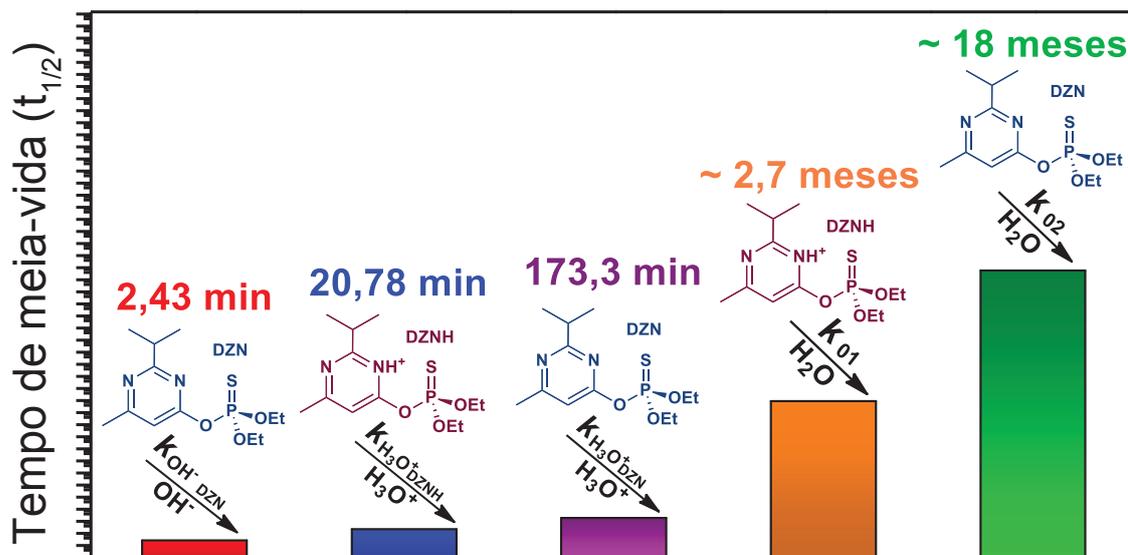
TABELA 1 – CONSTANTES DE VELOCIDADE OBTIDAS PARA AS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN DOS DADOS DA FIGURA 25 PELA EQ. 4 ; 60 °C.

$k_{H_3O^+ DZNH}$ ($M^{-1}.s^{-1}$)	$k_{H_3O^+ DZN}$ ($M^{-1}.s^{-1}$)	$k_{OH^- DZN}$ ($M^{-1}.s^{-1}$)	$k_{01 DZNH}$ ($M^{-1}.s^{-1}$)	$k_{02 DZN}$ ($M^{-1}.s^{-1}$)
$(3,33 \pm 0,02) \times 10^{-2}$	$(4,0 \pm 0,01) \times 10^{-3}$	$(2,86 \pm 0,15) \times 10^{-1}$	$(5,96 \pm 0,93) \times 10^{-6}$	$(9,02 \pm 0,72) \times 10^{-7}$

FONTE: O autor (2020).

Nota: o pK_a do DZN pode sofrer pequenas variações conforme o ajuste dos dados experimentais pelo software. No caso do ajuste dos dados das reações de hidrólise, o pK_a do DZN foi estimado em 4,23.

FIGURA 27 – TEMPOS DE MEIA-VIDA DAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN.



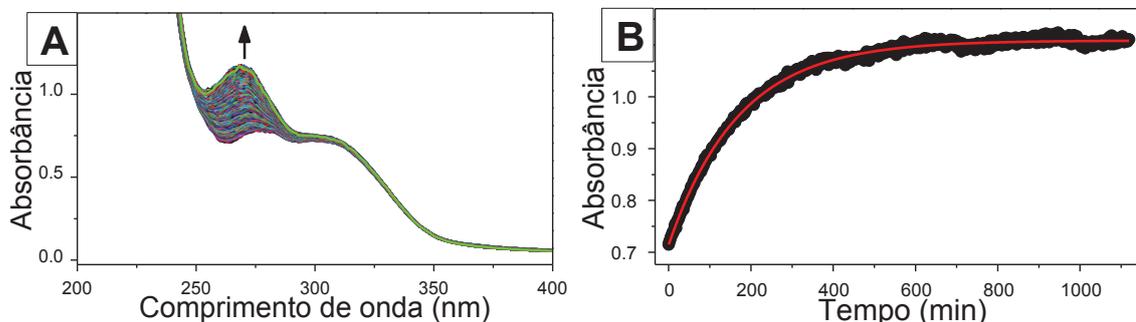
FONTE: O autor (2020).

Com os estudos de hidrólise realizados até então, iniciaram-se os estudos cinéticos na presença de IMZ e demais análises comparativas.

5.3 ESTUDOS CINÉTICOS: REAÇÕES DO DIAZINON COM IMIDAZOL

O perfil de pH das reações do IMZ com o DZN foi construído em uma faixa bastante ampla, variando de pH 3 a 10 na temperatura de 60 °C. A seguir, são apresentados os espectros e perfis cinéticos (Figura 28 – A e B) tipicamente obtidos para essa reação em pH 5,0. Em solução aquosa, o IMZ apresenta duas bandas características principais em 282 nm e 301 nm devido as transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ ⁵⁷. Observa-se que na reação com DZN, ocorre um incremento na região de 272 nm, o qual indica a formação de um produto pirimidínico, e que foi escolhida para o monitoramento da reação. No espectro, não é possível detectar a banda de decaimento do reagente, que pode ser explicado devido ao fato da mesma ocorrer em 247 nm, sendo encoberta pelo IMZ que se encontra em excesso⁵⁸.

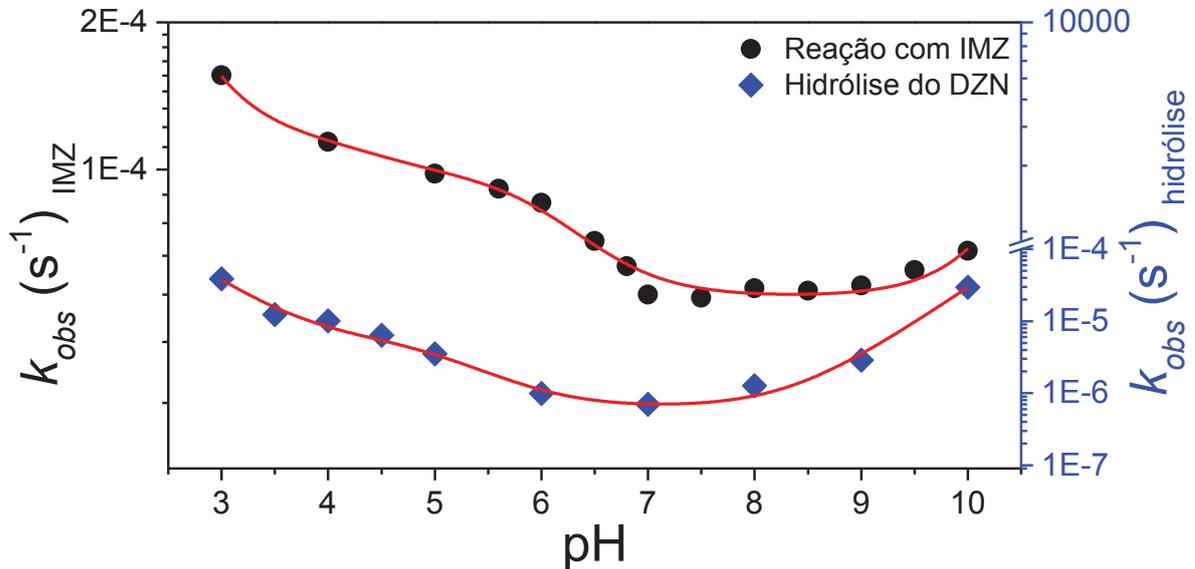
FIGURA 28 – (A) ESPECTROS CONSECUTIVOS UV-VIS E (B) PERFIL CINÉTICO TÍPICAMENTE OBTIDO NA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 5,0. (272 nm ; 60 °C ; $[\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7] = 0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 6,67 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; A LINHA SÓLIDA EM (B) CORRESPONDE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 2)



FONTE: O autor (2020).

O perfil de pH obtido nas reações do DZN com IMZ e o comparativo das reações na ausência de IMZ é apresentado na Figura 29. Um comportamento atípico foi observado em pH's mais alcalinos (> 8), onde o perfil cinético indica que a reação ocorre de maneira mais lenta, o que é incomum para o IMZ pois seu pK_a está estimado em 6,70 a 60 °C⁵⁹. De fato, seria esperado que a reação se processasse de forma mais rápida com o IMZ desprotonado que é mais nucleofílico¹⁹. Para os pesticidas similares ao DZN como MPT e EPT, essa observação é confirmada e tem-se um perfil de pH bastante distinto do observado na Figura 29 (k_{obs} aumenta com maiores pH até atingir um patamar em torno de pH 8,5)^{19,24}. Isso indica que a espécie ácida do IMZ também promove uma catálise na reação com DZN. Os dados da Figura 29 foram ajustados com a eq. 5, baseada no esquema da Figura 30 onde são consideradas as reações entre as espécies iônicas e neutras do DZN e IMZ conforme o meio onde se encontram. No mesmo esquema, também são consideradas as reações de hidrólise ácida, hidrólise alcalina e hidrólise espontânea do DZN. Observa-se a equação proposta se adequou bem aos dados experimentais.

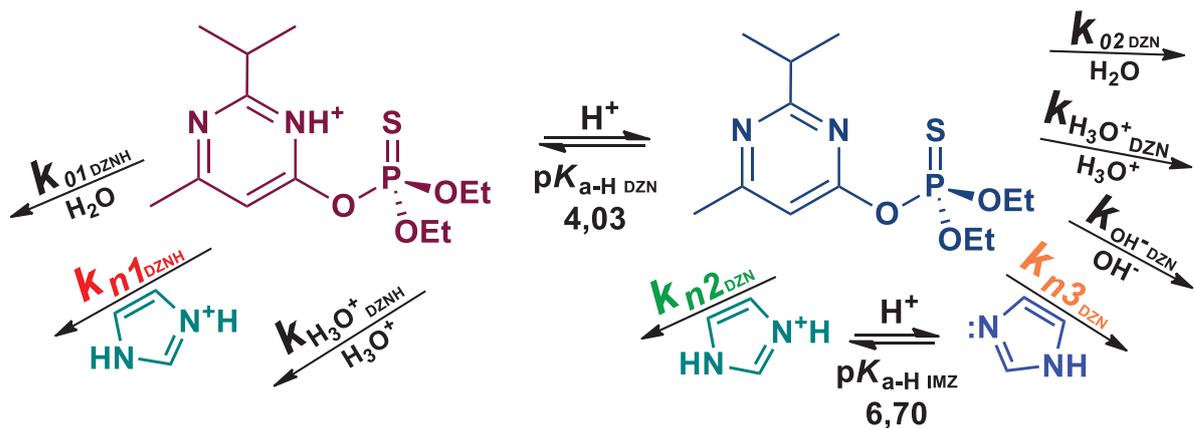
FIGURA 29 – PERFIL DE pH OBTIDO DAS REAÇÕES DO DZN COM IMZ (PRETO) E COMPARATIVO DAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE DO DZN (AZUL). ($[DZN] = 6,67 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $[IMZ] = 1,00 \text{ mol.L}^{-1}$; 60°C ; AS LINHAS SÓLIDAS CORRESPONDEM AOS AJUSTES DOS DADOS EXPERIMENTAIS COM A EQ. 4 PARA AS REAÇÕES DE HIDRÓLISE E EQ. 5 PARA AS REAÇÕES COM IMZ)



FONTE: O autor (2020).

NOTA: a reação de hidrólise do DZN em pH 2 foi omitida no gráfico para fins de uma melhor visualização. Entretanto, para o ajuste dos dados experimentais, esse resultado foi considerado.

FIGURA 30 – ESQUEMA REACIONAL PROPOSTO PARA AS REAÇÕES DO DZN COM IMZ.



FONTE: O autor (2020).

$$k_{obs} = (k_{01_{DZNH}} + k_{H_3O^+_{DZNH}}[H_3O^+] + k_{n1_{DZNH}}[IMZ])\chi_{DZNH} + (k_{02_{DZN}} + k_{H_3O^+_{DZN}}[H_3O^+] + k_{n2_{DZN}}[IMZ] + k_{n3_{DZN}}[IMZ] + k_{OH^-_{DZN}}[OH^-])\chi_{DZN} \quad \text{eq. 5}$$

Onde:

k_{obs} = constante observada de pseudo-primeira ordem;

$k_{H_3O^+DZNH}$ = constante de velocidade de hidrólise ácida da espécie DZN protonada;

$k_{H_3O^+DZN}$ = constante de velocidade de hidrólise ácida da espécie DZN desprotonada;

k_{OH^-DZN} = constante de velocidade de hidrólise alcalina da espécie DZN desprotonada;

k_{01} = constante de velocidade espontânea com espécie DZNH;

k_{02} = constante de velocidade espontânea com espécie DZN;

k_{n1} = constante de velocidade da reação entre as espécies DZNH e IMZH;

k_{n2} = constante de velocidade da reação entre as espécies DZN e IMZH;

k_{n3} = constante de velocidade da reação entre as espécies de DZN e IMZ;

χ_{IMZH} = fração molar da espécie protonada do IMZ;

χ_{IMZ} = fração molar da espécie desprotonada do IMZ;

$[IMZ]$ = concentração de IMZ.

É possível observar no perfil de pH (Figura 29) e no esquema reacional (Figura 30) proposto que a reatividade do IMZ frente ao DZN está intrinsecamente ligada a suas espécies iônica e neutra. Verifica-se que em condições ácidas, o IMZ é mais reativo do que em condições alcalinas, o que é incomum uma vez que quando desprotonado o IMZ se torna mais nucleofílico, e se esperaria que fosse mais reativo. Por outro lado, mesmo sendo mais lenta, a reação do DZN com IMZ desprotonado ainda é mais rápida se comparada a reação espontânea, o que evidencia o papel catalítico do IMZ em todas as faixas de pH estudadas.

Através do ajuste do perfil de pH (Figura 29) das reações do DZN com IMZ, foi possível se obter as constantes de velocidade de segunda ordem para a reação, apresentadas na Tabela 2. Inclusive, obtiveram-se resultados em concordância aos calculados para os estudos iniciais de hidrólise. É possível verificar que o IMZ catalisa a reação com o DZN pois as constantes são superiores a hidrólise espontânea para o pesticida, mas inferiores as realizadas em condições extremas (ácida e alcalina), o que é esperado. Ainda, analisando a Tabela 2, observa-se que o valor de k_{n1} é o mais alto dentre as constantes obtidas. Isso pode ser explicado devido ao fato das duas espécies se encontrarem protonadas e dessa maneira, um possível mecanismo de transferência de próton do IMZH para o DZNH possa ocorrer facilitando a clivagem do OF, pelo ataque de uma água no fósforo. Já para k_{n2} , que se refere à reação da espécie protonada de IMZH com a espécie desprotonada do

DZN, pode-se sugerir um mecanismo onde o IMZ novamente atua com a transferência do próton para facilitar a o ataque da água no DZN. Nota-se que a constante k_{n2} é menor que k_{n1} mas ainda assim maior que k_{n3} . Para k_{n3} , as duas espécies se encontram desprotonadas, dessa maneira, o IMZ pode atuar como nucleófilo atacando os diferentes centros eletrofílicos do DZN. O que é observado, entretanto, é que o IMZ não é mais reativo (comparada com as outras condições k_{n1} e k_{n2}) frente ao DZN nessas condições, muito pelo contrário. O IMZ se torna menos reativo frente ao DZN quando desprotonado, o que pode ser indicativo de uma mudança no mecanismo da reação, que de maneira preliminar, pode-se sugerir que é menos efetivo com o IMZ nucleofílico e possa atuar como catalisador básico-geral.

TABELA 2 – CONSTANTES DE VELOCIDADE OBTIDAS PELO AJUSTE DO PERFIL DE pH DAS REAÇÕES DO DZN COM IMZ DA FIGURA 29 UTILIZANDO A EQ. 5.

k_{01}^{DZNH} ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	k_{02}^{DZN} ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	k_{n1}^{DZNH} ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	k_{n2}^{DZN} ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	k_{n3}^{DZN} ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)
$(5,96 \pm 0,93) \times 10^{-6}$	$(9,72 \pm 0,72) \times 10^{-7}$	$(1,11 \pm 0,05) \times 10^{-4}$	$(9,96 \pm 0,12) \times 10^{-5}$	$(5,47 \pm 0,16) \times 10^{-5}$

FONTE: O autor (2020).

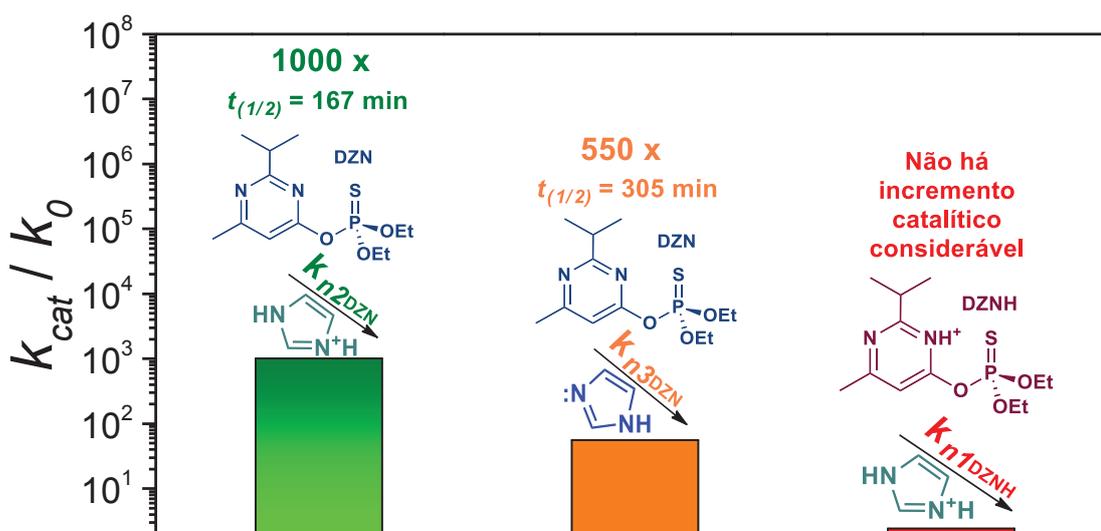
Nota: o pK_a do DZN pode sofrer pequenas variações conforme o ajuste dos dados experimentais pelo software. No caso do ajuste dos dados das reações com o IMZ, o pK_a cinético do DZN foi estimado em 4,43.

Com os dados experimentais obtidos é possível estimar o incremento catalítico da reação em relação à reação espontânea para cada constante (Figura 32). Para as constantes k_{n2} e k_{n3} , estimou-se o incremento com base no valor obtido para a reação espontânea k_{02} com a espécie DZN. Assim, as reações foram cerca de 1000 (k_{n2}) e 550 (k_{n3}) vezes mais rápidas comparadas a reação espontânea. Para estimar o incremento catalítico da constante k_{n1} , utilizou-se o valor obtido para k_{01} pela seguinte relação: $k_{01} = (k_{01} + k_{\text{H}_3\text{O}^+ \text{DZNH}}[\text{H}_3\text{O}^+])$. Uma vez que o pK_a do DZN foi estimado em 4,03 utilizou-se a $[\text{H}_3\text{O}^+]$ de pH 3,0 (10^{-3}) para o cálculo. As constantes ácidas obtidas na ausência de IMZ estão muito próximas de k_{n1} , corroborando a hipótese de ausência de catálise nessa região, não havendo incremento catalítico significativo, sendo que a ordem crescente de incremento catalítico $k_{n1} < k_{n3} < k_{n2}$. Além do mais, quando o incremento catalítico obtido pela reação do IMZ é

comparado ao incremento catalítico reportado na literatura (nas mesmas condições), nota-se que os resultados para IMZ são bastante promissores. Para as reações do DZN com catalisadores de sílica funcionalizados com ácidos sulfônicos em forma sólida, o incremento catalítico é da ordem de 223 vezes, e quando na forma coloidal, esses catalisadores apresentam incremento catalítico da ordem de 81 vezes⁴². Isso evidencia a potencialidade do IMZ nesses processos, independente de sua espécie iônica ou neutra, a reação com DZN se processa de maneira rápida e eficiente.

Os tempos de meia-vida para as constantes de segunda ordem k_n foram: 150 min para k_{n1} , 167 min para k_{n2} e 305 min para k_{n3} , mostrando que de maneira diferente do incremento catalítico, as constantes de velocidade das reações seguem a ordem $k_{n1} > k_{n2} > k_{n3}$.

FIGURA 31 – INCREMENTOS CATALÍTICOS EM RELAÇÃO À REAÇÃO ESPONTÂNEA DE HIDRÓLISE DO DZN CALCULADOS PARA AS CONSTANTES k_n OBTIDAS A PARTIR DO AJUSTE DA FIGURA 29.



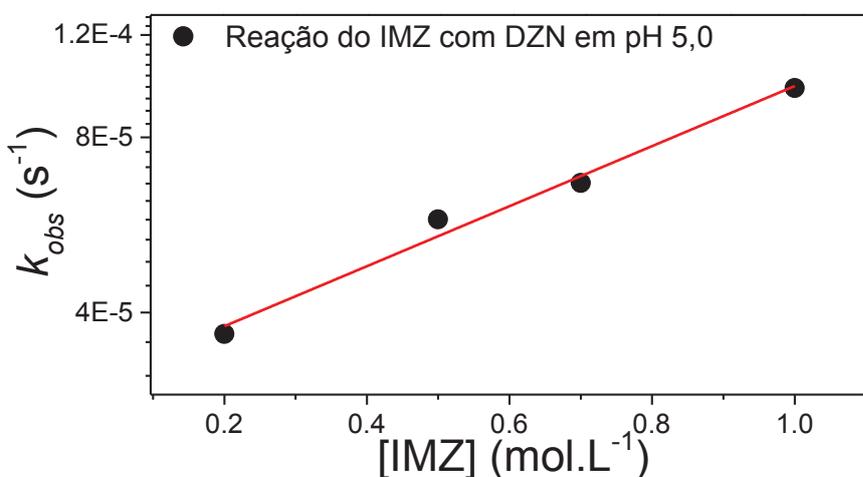
FONTE: O autor (2020).

De fato, o IMZ atua de maneira eficiente na reação com o DZN conforme os dados observados. Porém, é necessário saber qual o tipo de mecanismo envolvido na reação que explique esse comportamento intrigante do IMZ, que parece mudar de mecanismo com a variação do pH, o que ainda não é reportado na literatura.

A maior reatividade do IMZH frente ao DZN pode estar relacionada a dois mecanismos principais, o de catálise ácida geral ou catálise nucleofílica onde o IMZ poderia atuar nos dois casos. Uma evidência para essa hipótese preliminar é o perfil de concentração em função de k_{obs} (Figura 32) obtido para as reações do IMZ com

DZN em pH 5,0. O aumento linear de k_{obs} traz um indício dessas duas possibilidades levantadas, uma vez que esse perfil é tipicamente observado para esses mecanismos. Quando se trata de catálise ácida específica, onde apenas o íon H^+ participa do processo catalítico, o perfil esperado é diferente, com o valor constante de k_{obs} em função do aumento da concentração⁶⁰, diferente do observado na Figura 32.

FIGURA 32 – PERFIL DE CONCENTRAÇÃO VERSUS k_{obs} PARA AS REAÇÕES DO IMZ COM DZN EM pH 5,0.



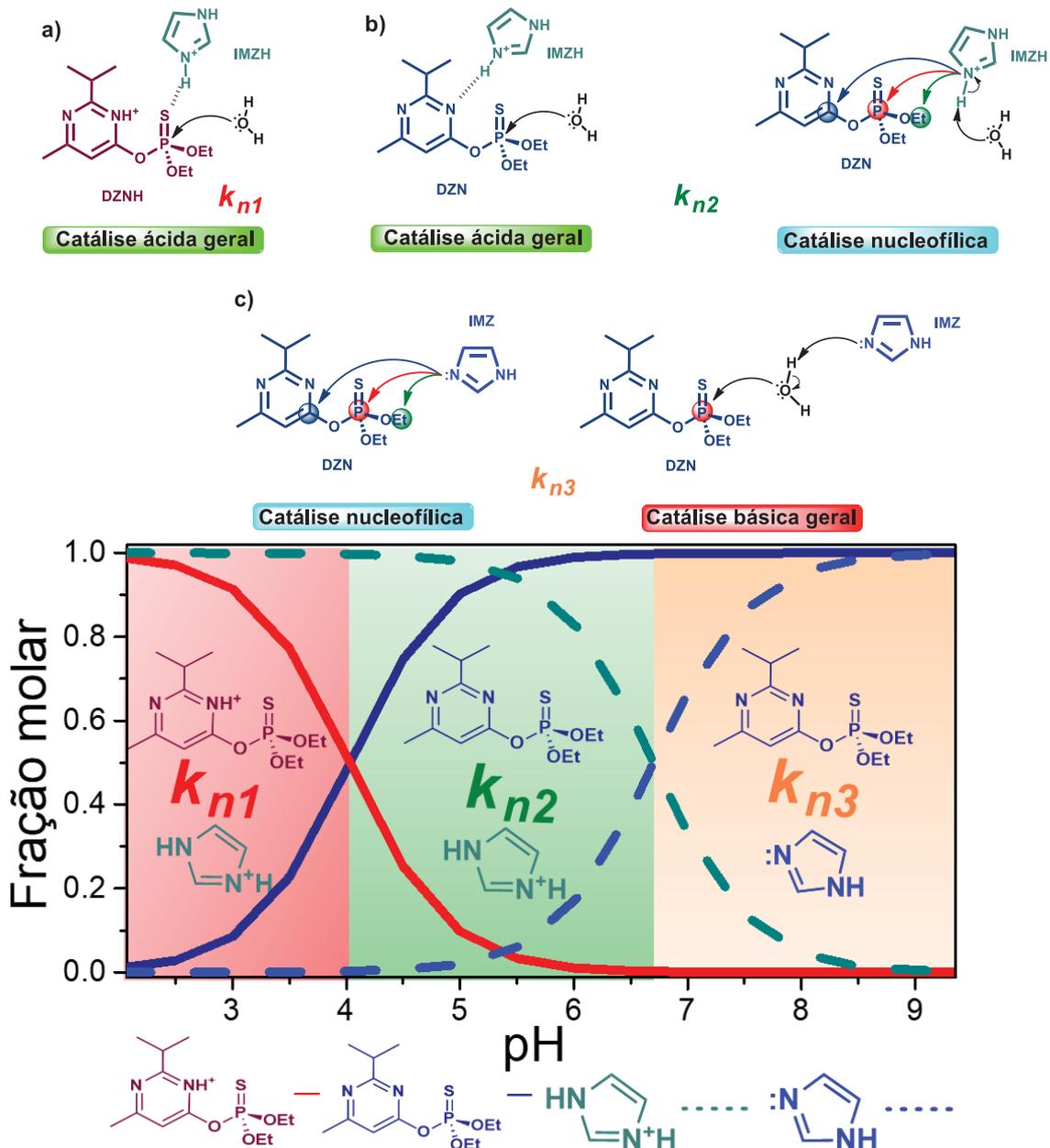
FONTE: O autor (2020).

Essas e outras hipóteses estão representadas na Figura 33 juntamente com o diagrama de distribuição de espécies do DZN com o IMZ. O caminho (a) representa k_{n1} que ocorre na região em vermelho do diagrama de distribuição, mostra a reação das espécies protonadas IMZH com DZNH. O IMZH pode atuar como catalisador ácido geral, transferindo um próton para o DZNH pelo átomo de enxofre, enquanto uma molécula de água ataca o átomo de fósforo. No caminho (b) que representa k_{n2} que ocorre na região representada em verde no diagrama de distribuição, as espécies protonada IMZH e desprotonada DZN podem reagir. O IMZH poderia transferir o próton para o DZN no átomo de nitrogênio, ativando o anel aromático e uma molécula de água atuaria hidrolisando o DZN. Existe ainda uma outra possibilidade para k_{n2} onde de uma molécula de água abstrair um próton do IMZH, e ele atuar como nucleófilo nos sítios eletrofílicos do DZN. Por último, no caminho (c) que representa k_{n3} e ocorre na região em laranjado do diagrama de distribuição, as espécies reativas são as desprotonadas IMZ e DZN. O IMZ pode

atuar como nucleófilo ou catalisador básico geral. Como nucleófilo, ele pode atacar os diferentes centros eletrofílicos do DZN e como catalisador básico, ele abstrai um próton da água, auxiliando no seu ataque ao DZN. Algumas dessas hipóteses são plausíveis conforme os dados da literatura³⁴.

A fim de verificar se de fato ocorre transferência de próton na reação, foram realizados estudos de efeito isotópico.

FIGURA 33 – ESQUEMA REACIONAL PROPOSTO PARA AS REAÇÕES DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE IMZ COM DZNH E DZN E DIAGRAMA DE DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES PARA IMZ E DZN. CAMINHOS (a) CATALÍSE ÁCIDA GERAL, (b) CATALÍSE ÁCIDA GERAL E CATALÍSE NUCLEOFÍLICA, (c) CATALÍSE NUCLEOFÍLICA E CATALÍSE BÁSICA GERAL.

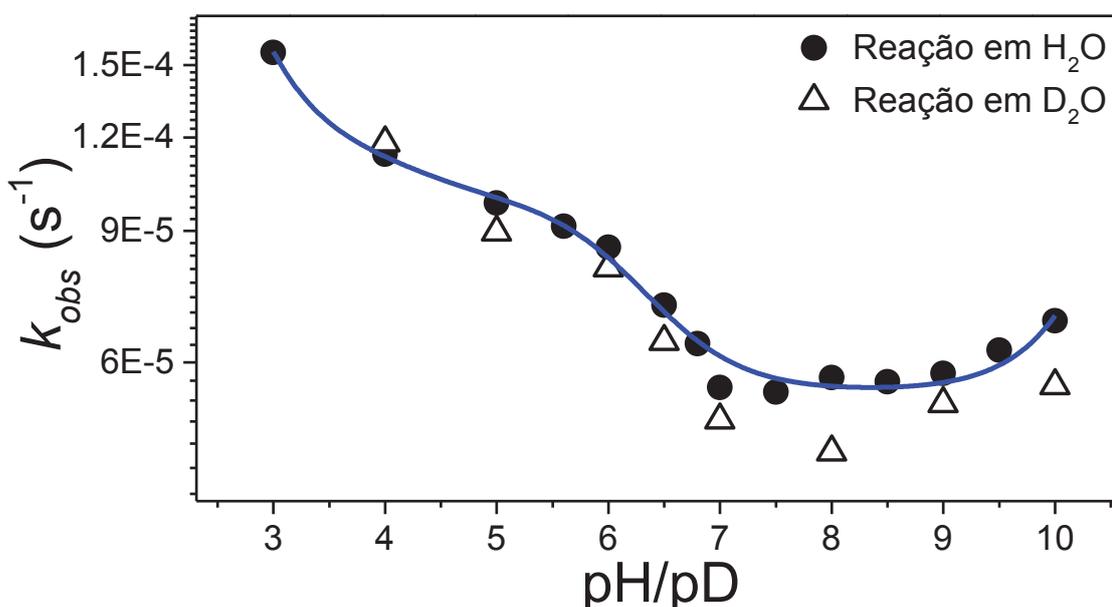


FONTE: O autor (2020).

5.4 EFEITO ISOTÓPICO CINÉTICO DE SOLVENTE

As reações do IMZ com DZN também foram realizadas na presença de solvente deuterado (D_2O) para a obtenção de indícios de transferência de próton na etapa determinante da reação. O perfil de pD obtido para a reação em D_2O (Figura 34) mostra que, em comparação a reação em H_2O , as reações em solvente deuterado se processam de forma mais lenta em praticamente todas as faixas avaliadas. Essas observações podem de fato ter alguma relação com os mecanismos de catálise ácida geral e catálise básica geral, tendo em vista que mesmo ocorrendo de forma mais lenta, as reações em D_2O ainda são mais rápidas do que as na ausência de IMZ.

FIGURA 34 – PERFIL DE pH E pD TÍPICAMENTE OBTIDOS NAS REAÇÕES DO IMZ COM DZN EM H_2O E D_2O A $60\text{ }^\circ\text{C}$. A LINHA SÓLIDA EM AZUL SE REFERE AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS DO PERFIL DE pH DAS REAÇÕES DO IMZ COM DZN EM H_2O UTILIZANDO A EQ. 5.



FONTE: O autor (2020).

Foram calculados os efeitos isotópicos do solvente (KIE_{solv}) para pH 5,0 (região em que a espécie IMZH predomina e que corresponde a k_{n2}) e para pH 8,0 (região em que a espécie IMZ predomina e que corresponde a k_{n3}) apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 – EFEITOS ISOTÓPICOS DO SOLVENTE CALCULADOS PARA A REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pH 5,0 E pH 8,0.

$k_{obs}^{H_2O} / k_{obs}^{D_2O}$ pH/pD 5,0	$k_{obs}^{H_2O} / k_{obs}^{D_2O}$ pH/pD 8,0
1,20	1,18

FONTE: O autor (2020).

Os valores calculados tanto para pH/pD 5,0 como pH/pD 8,0 foram um pouco maior do que 1 e podem dar indícios dos mecanismos propostos. Por exemplo, seria esperado um KIE_{solv} acima de 1 para a possível catálise ácida com imidazol protonado que ocorre na reação em pH 5, relacionado a k_{n2} . No caso de uma catálise básica geral pelo IMZ neutro, auxiliando o ataque da água ao átomo do fósforo ao DZN, que ocorreria na reação em pH 8 relacionada a k_{n3} , o valor KIE_{solv} obtido também está acima de 1⁶¹. Entretanto, existem relatos de que os KIE_{solv} são mais comumente próximos de 2 para os tipos de catálises mencionados. Outro fator que pode estar afetando a reação envolve uma possível deuteração do IMZ em diferentes posições. Acredita-se que essa deuteração possa causar algum efeito adicional na reação, porém são necessárias mais análises para inferir sobre essa hipótese. De fato, os resultados a seguir de RMN, mostram que o hidrogênio do carbono 2 também pode ter certa acidez e trocar com deutério⁵⁹. Assim, essa troca pode também afetar estericamente a reação e a constante de velocidade. De qualquer forma, o efeito isotópico traz alguns indícios que possa ocorrer a catálise ácida e básica proposta, visto que mecanismos puramente nucleofílicos levam a efeitos isotópicos igual 1⁶¹.

5.5 ELUCIDAÇÃO MECANÍSTICA: ANÁLISES POR RMN

A partir do estudo cinético realizado por UV-Vis, prosseguiu-se com os estudos por RMN na tentativa de identificar os produtos e intermediários da reação, bem como os mecanismos associados. Para a realização dos experimentos de RMN, os valores de pH 5,0 e 8,0 foram escolhidos pois, o IMZ se encontra protonado (pH 5,0) e desprotonado (pH 8,0), que pode também ser verificado no

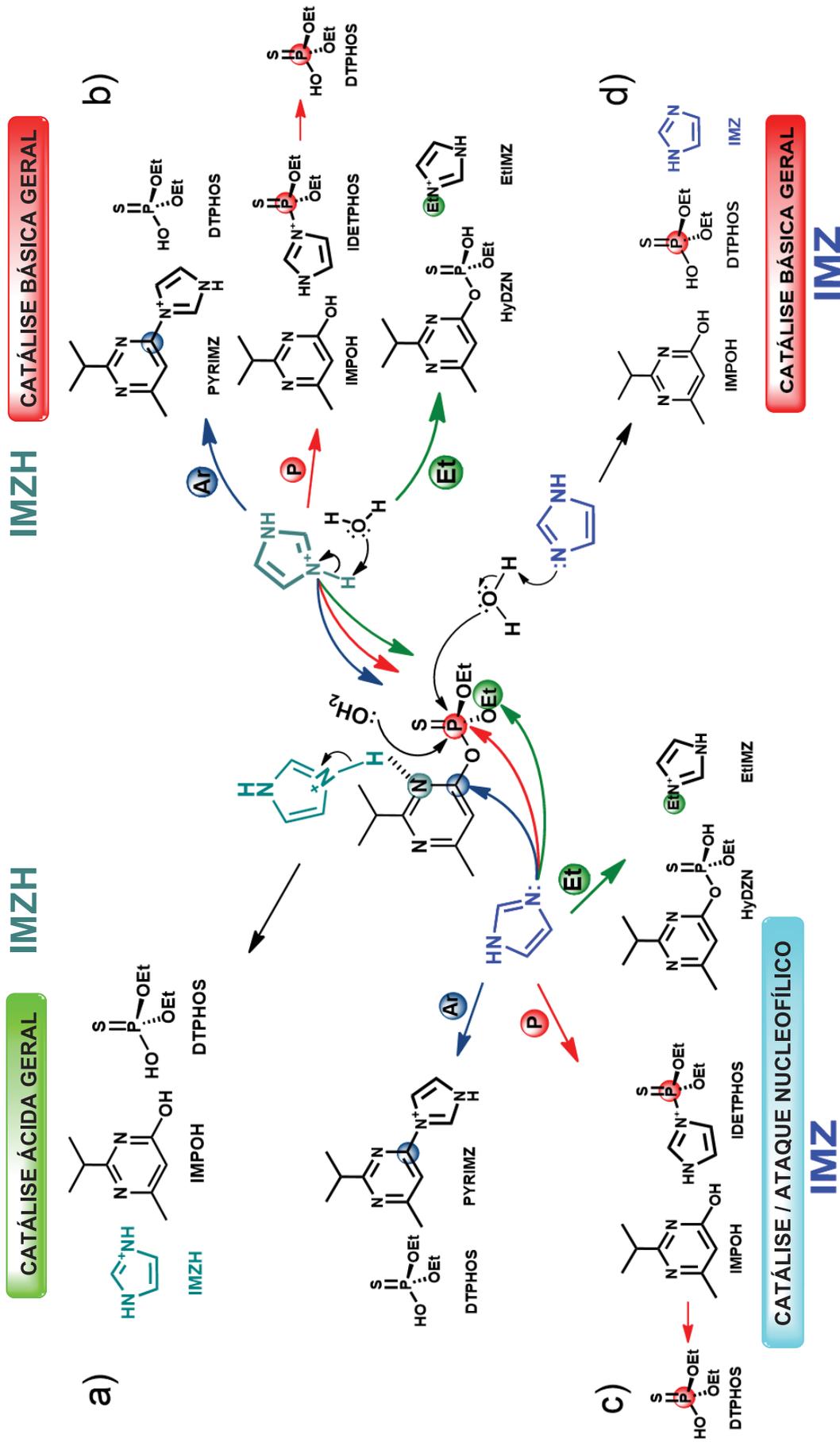
diagrama da Figura 33. Nesse caso, a reação em pH 5 e 8 correspondem às reações que ocorrem pelos caminhos k_{n2} e k_{n3} , respectivamente. O perfil incomum de pH sugere uma possível mudança no mecanismo da reação conforme a espécie iônica ou neutra.

Como já mencionado, o átomo de nitrogênio *orto* do DZN pode ser protonado, o que levaria a ativação do anel e posterior clivagem da ligação P-O do DZN. Em uma etapa subsequente, haveria a formação de espécies intermediárias do IMPOH e DTPHOS, mas que seriam rapidamente convertidas às suas formas neutras com a regeneração do IMZH (Figura 35 – a). Um mecanismo típico de catálise ácida geral⁶⁰, o que ainda não foi reportado para o IMZ nesse tipo de reação.

Outro caminho possível para a reação com a espécie iônica do DZN seria uma molécula de água abstraindo o próton do IMZH, e o IMZ formado poderia atacar os centros eletrofílicos do DZN: o carbono aromático, os carbonos alifáticos e o átomo de fósforo (Figura 35 – b). Esse mesmo mecanismo poderia ser observado em pH 8,0 com o IMZ já desprotonato (Figura 35 – c). Os produtos referentes ao ataque do IMZ ao carbono aromático são o pirimidina-imidazol (PYRIMZ) e o DTPHOS. Porém, esse talvez seja o caminho mais incomum de ataque pelo IMZ, pois em estudos anteriores realizados com pesticidas similares²⁴, esse caminho não ocorre, não é favorável. Quando o ataque ocorre no fósforo, numa primeira etapa seria esperado a formação de uma espécie intermediária de imidazol-dietilfosfato (IDETPHOS) e o IMPOH. Na segunda etapa, o IDETPHOS seria hidrolisado levando a formação das espécies IMZ e DTPHOS. Para esse caminho, já existem estudos que mostram a promiscuidade do IMZ pelo centro fosfórico^{24,45}. Ainda, outra possibilidade seria o ataque do IMZ a uma etila do DZN, gerando o HyDZN e etilimidazol (EtIMZ). Essa preferência de ataque do IMZ ao carbono alifático também já foi observada em estudos anteriores¹⁹ com pesticidas similares.

Uma última possibilidade seria o IMZ abstraindo um próton da molécula de água (Figura 35 – d), o íon hidróxido formado a partir disso poderia atacar o centro fosfórico do DZN (preferencial pelo íon hidróxido)³⁴, um típico mecanismo de catálise básica geral⁶⁰. A Figura 35 apresenta todas as possibilidades atribuídas para as reações do IMZ com DZN com suas espécies iônicas e neutras.

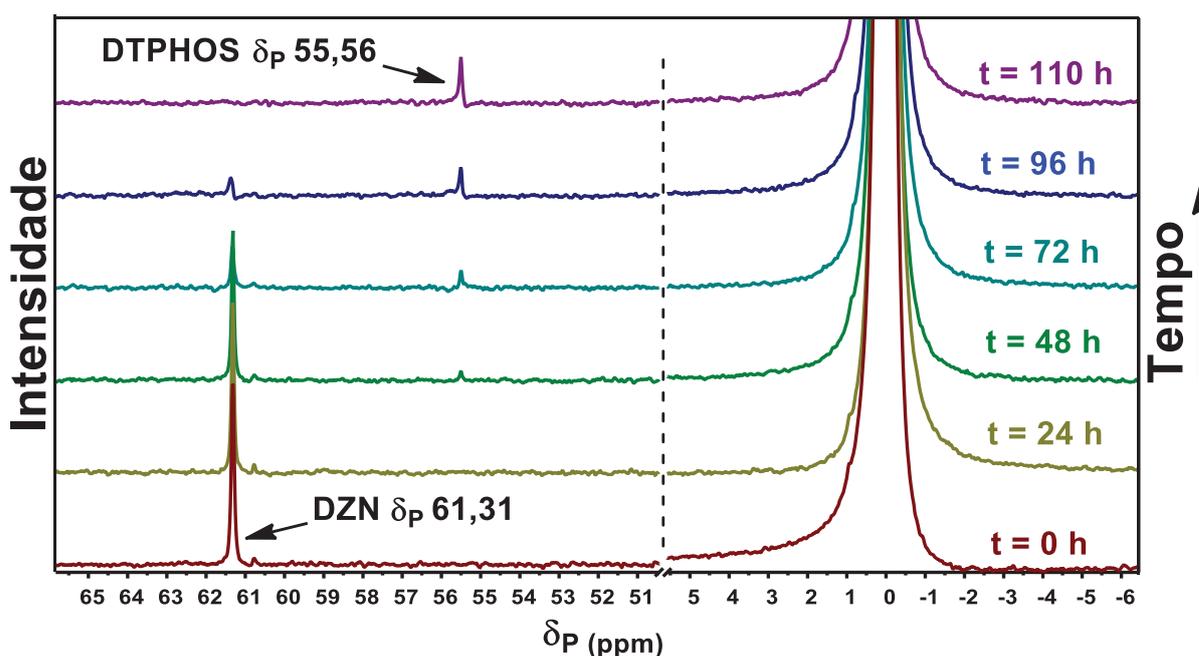
FIGURA 35 – ESQUEMA DOS POSSÍVEIS CAMINHOS REACIONAIS, INTERMEDIÁRIOS E PRODUTOS PARA DIFERENTES MECANISMOS PROPOSTOS NAS REAÇÕES DO IMZ COM DZN.



FONTE: O autor (2020)

A Figura 36 apresenta os espectros consecutivos de RMN de ^{31}P para a reação do DZN com IMZ em pH 5,0 onde pode ser observado a formação de um produto fosforilado em δ_{P} 55,56, que pode ser atribuído ao DTPHOS⁶². O sinal relativo ao DZN em δ_{P} 61,31 permitiu verificar o seu consumo em relação ao tempo. O sinal intenso em δ_{P} 0,00 se deve ao capilar de H_3PO_4 utilizado como padrão de referência. Um sinal com baixa intensidade em δ_{P} -12,17 (omitido) foi verificado ao final da reação, este, acredita-se que pode estar relacionado a uma espécie fosforilada do tipo $\text{P}=\text{O}$ proveniente de um rearranjo tiono-tiol ocorrido na reação levando a uma espécie fosforilada $\text{O}=\text{P}(\text{OR})_x$ ^{63,64}. Entretanto, como a intensidade desse sinal não é significativa, e trata-se de um processo bastante complexo, são necessárias mais análises para confirmação da estrutura dessa espécie.

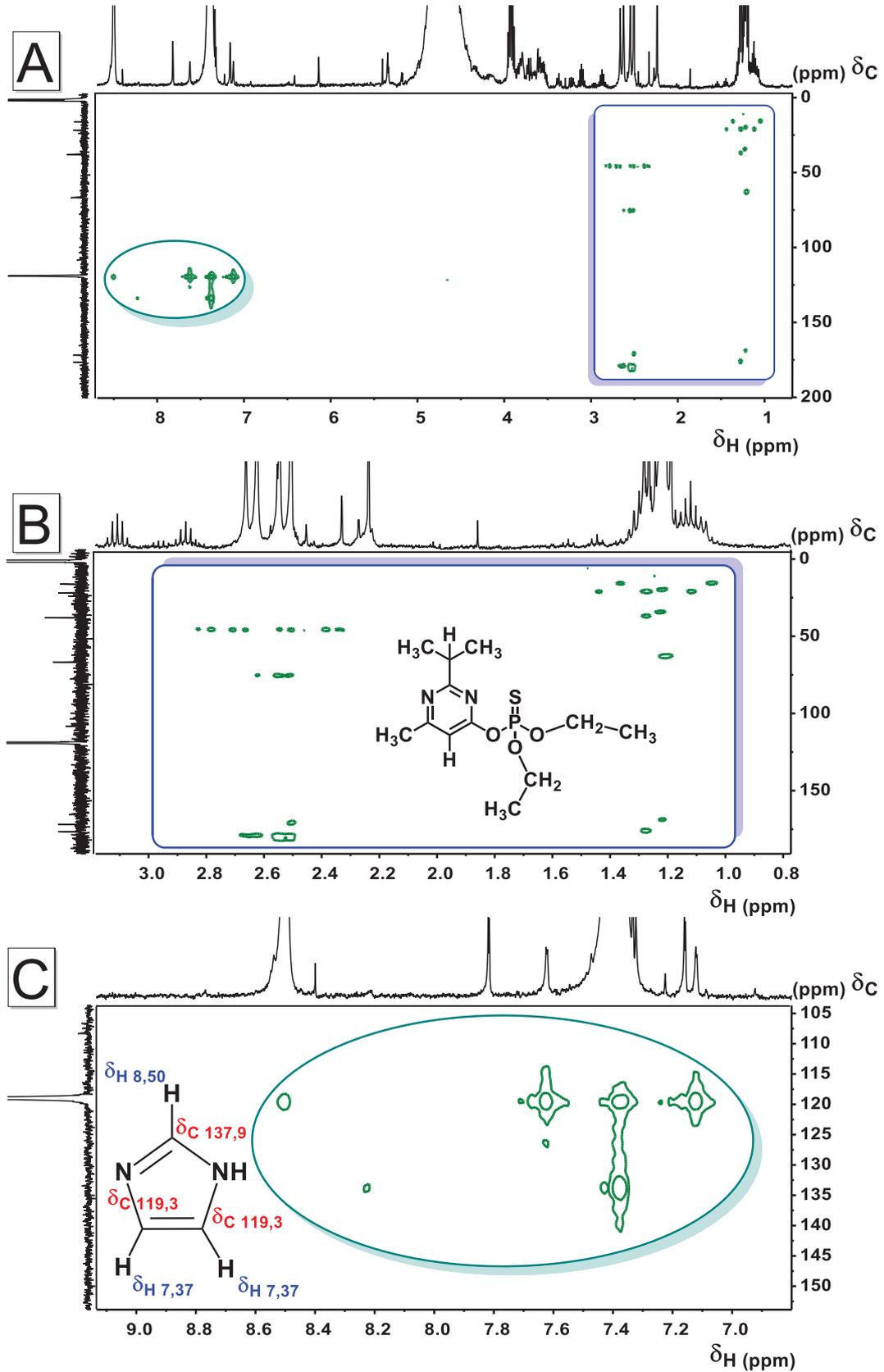
FIGURA 36 – ESPECTROS CONSECUTIVOS DE RMN DE ^{31}P DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pH 5,0. (CAPILAR H_3PO_4 ; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; 60°C)



Como indicado no esquema da Figura 35, a formação do produto DTPHOS pode ocorrer tanto pelo ataque do IMZ no carbono aromático quanto pelo ataque no fósforo. Nessas condições (pH 5,0) o IMZ está protonado, portanto, não atua como nucleófilo, mas pode transferir seu próton para outra espécie do meio ou ter seu próton abstraído por uma molécula de água, ainda que pouco provável. Não foram detectadas as espécies IDETPHOS e PYRIMZ, que seriam intermediários por esses

caminhos reacionais (com a molécula de água abstraindo o próton do IMZH). Foram realizados experimentos de RMN de ^1H (Apêndice 1) e RMN 2D de correlação a longa distância ^1H - ^{31}P e ^1H - ^{13}C (HMBC - *Heteronuclear Multiple Bond Coherence*) para a reação em pH 5,0 com intuito de verificar as possíveis correlações entre carbono e hidrogênio e fósforo e hidrogênio nas espécies do meio (Figura 37 – A – B – C). Analisando-se o mapa de correlação (^1H - ^{31}C) HMBC, pode-se verificar não há correlação entre os δ típicos de C do IMZ e os δ típicos de H do DZN, o que poderia trazer indícios de uma possível formação da molécula PYRIMZ, caso o ataque do IMZ ocorresse no carbono aromático. É possível verificar que nesse caso, há somente a correlação dos δ típicos de C do IMZ com seus próprios δ de H (^1H $\delta_{\text{IMZ}} = 7,37 \text{ ppm} \rightarrow ^{31}\text{C}$ $\delta_{\text{IMZ}} = 119,3 \text{ ppm}$; ^1H $\delta_{\text{IMZ}} = 8,5 \text{ ppm} \rightarrow ^{31}\text{C}$ $\delta_{\text{IMZ}} = 137,9 \text{ ppm}$). Para o DZN, somente correlações de seus próprios δ de C de H foram observados. Assim, a formação do produto DTPHOS pelo ataque do IMZ via carbono aromático foi descartada.

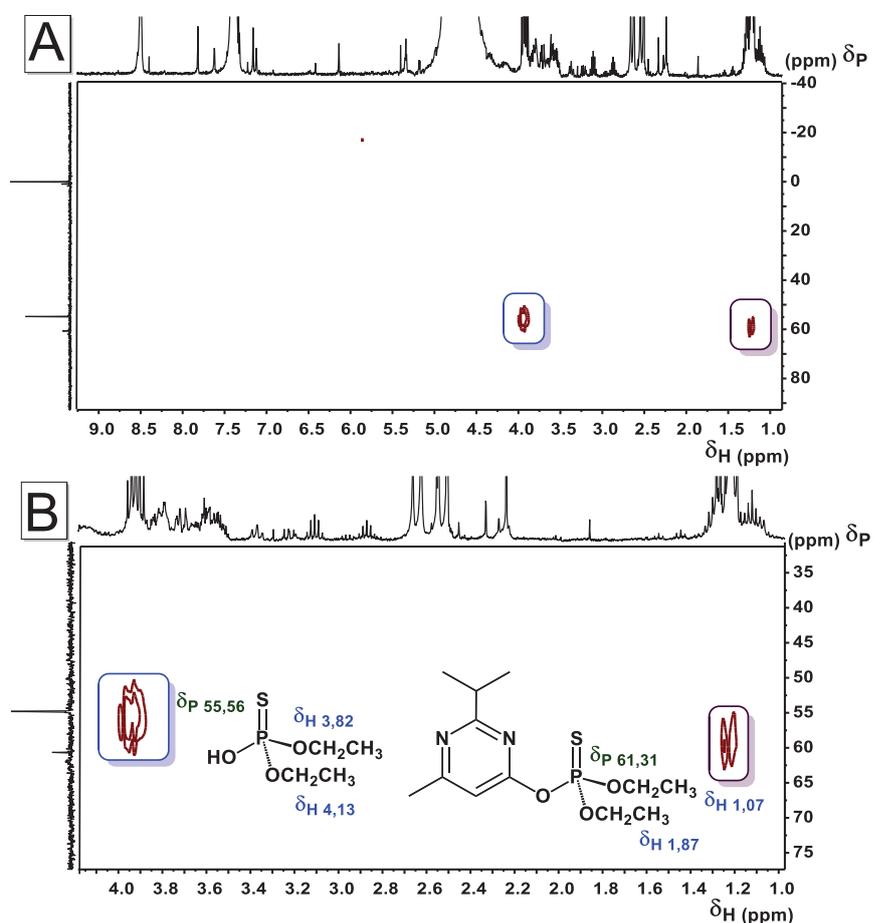
FIGURA 37 – (A) MAPAS DE CORRELAÇÃO DE RMN A LONGA DISTÂNCIA (^1H - ^{13}C) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN; (B) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ_{H} 3,00-0,80 DO DZN; (C) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ_{H} 9,00-7,00 do IMZ. (CAPILAR H_3PO_4 ; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; 60°C ; pD 5,0)



FONTE: O autor (2020).

A partir da análise dos experimentos de RMN 2D HMBC ($^1\text{H} - ^{31}\text{P}$) para reação do DZN e IMZ em pD 5,0 (Figura 38 – A – B) observou-se que os hidrogênios do DZN em δ_{H} 1,87 e 1,07 correlacionam a 3J com o em δ_{P} 61,31 do DZN. Para o DTPHOS foi verificado que o seu sinal em δ_{H} 3,82 correlaciona a 3J com o seu δ_{P} 55,56, bem como em δ_{H} 4,13 $\delta_{\text{P}} = 61,31$, corroborando com sua estrutura. O ataque do IMZ no átomo de fósforo também pode ser descartado, já que não se observou a formação do intermediário IDETPHOS. É possível que a técnica não tenha sensibilidade suficiente para detectar esse intermediário, no entanto, estudos anteriores⁴⁵ de outros OF's com IMZ mostram o acompanhamento da formação e decomposição de intermediários análogos. Ainda, nas condições reacionais de pD 5,0 onde o IMZ está protonado, não se espera que ele ataque nucleofilicamente o fósforo, de forma eficiente. Esse tipo de mecanismo prevalece quando este está desprotonado.

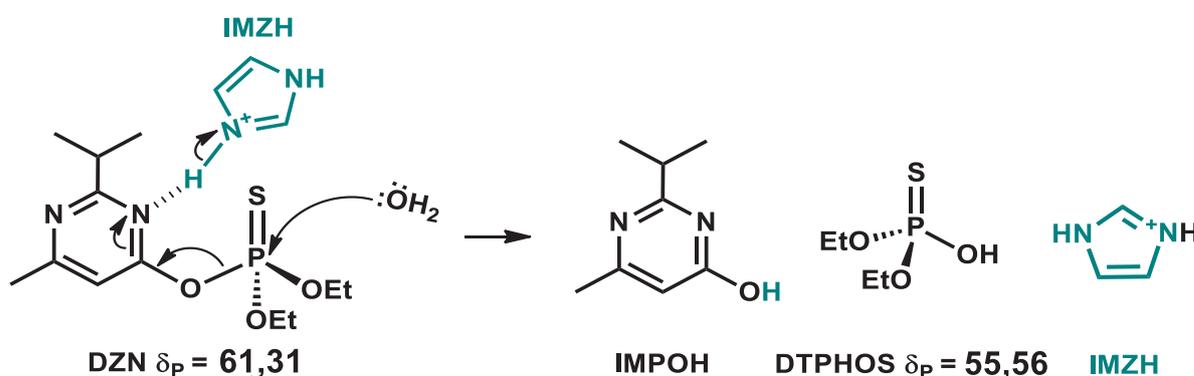
FIGURA 38 – (A) MAPAS DE CORRELAÇÃO DE RMN A LONGA DISTÂNCIA ($^1\text{H} - ^{31}\text{P}$) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN; (B) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ_{H} 4,0-1,0 DO DZN E DTPHOS (CAPILAR H_3PO_4 ; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; 60°C ; pD 5,0)



FONTE: O autor (2020).

Considerando-se que em pD 5,0 foi observado apenas o produto DTPHOS e que os dados sugerem que o IMZ não atue como nucleófilo nos centros eletrofílicos do DZN, propõe-se então o mecanismo de catálise ácida geral concertado com a transferência do próton do IMZ ao DZN (Figura 39). Isso também está de acordo com os dados cinéticos mostrados anteriormente. Nesse caso, O IMZ transferiria o próton ao átomo de nitrogênio *orto* ao mesmo tempo em que ocorre a clivagem da ligação P-O, através de um ataque no fósforo por uma molécula de água, um equilíbrio rápido. No final, o IMZ regenera o próton, atuando de fato como catalisador ácido da reação. Essa proposta mecanística é bastante audaciosa e curiosa pois o IMZ atua como catalisador ácido e é mais eficiente que sua forma de atuação em pH's maiores (como base/nucleofílica), como será mostrado a seguir. Até o momento existem não relatos na literatura de reações de OF's com IMZ que proceda por esse caminho.

FIGURA 39 – MECANISMO DE CATÁLISE ÁCIDA GERAL PROPOSTO PARA A REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 5,0.



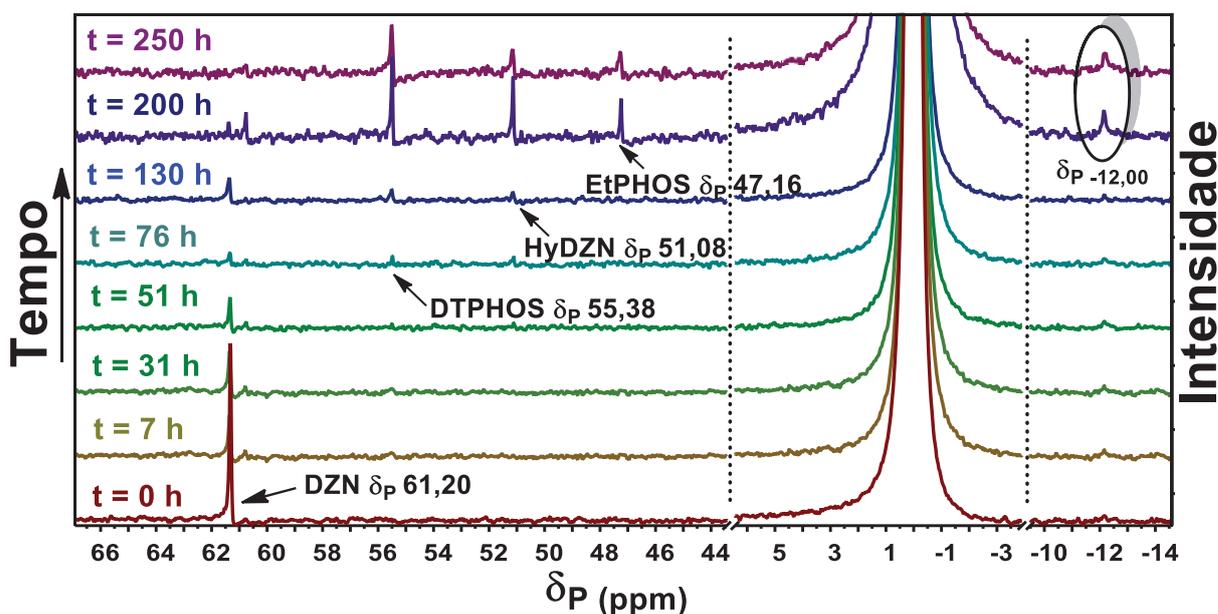
CATÁLISE ÁCIDA GERAL

FONTE: O autor (2020).

Como mencionado anteriormente, as observações apresentadas até então, apontam a possível mudança no mecanismo da reação quando o IMZ está em sua forma neutra/nucleofílica. A Figura 40 apresenta os espectros consecutivos de RMN de ^{31}P para a reação em pD 8,0 no qual pode ser observada a formação de três produtos fosforilados. O sinal em δ_P 55,38 pode ser atribuído ao DTPHOS, já o sinal em δ_P 51,08 é proposto como o HyDZN, e ainda, um sinal menos intenso em δ_P 47,16 é proposto como um fosfato monossubstituído, o etil-tiofosfato (EtPHOS).

Também é possível notar um sinal em δ_P -12,00 que aparece ao final da reação e que pode ser devido a um possível rearranjo tiono-tiol como comentado anteriormente⁶³. O sinal do DZN foi observado em δ_P 61,20 e um sinal em δ_P 59,30 aparece nas primeiras horas e também ao final da reação, podendo indicar formação de uma espécie muito parecida com o DZN, que pode ser IDETPHOS.

FIGURA 40 – ESPECTROS CONSECUTIVOS DE RMN DE ^{31}P DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pD 8,0. (CAPILAR H_3PO_4 ; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; 60°C)

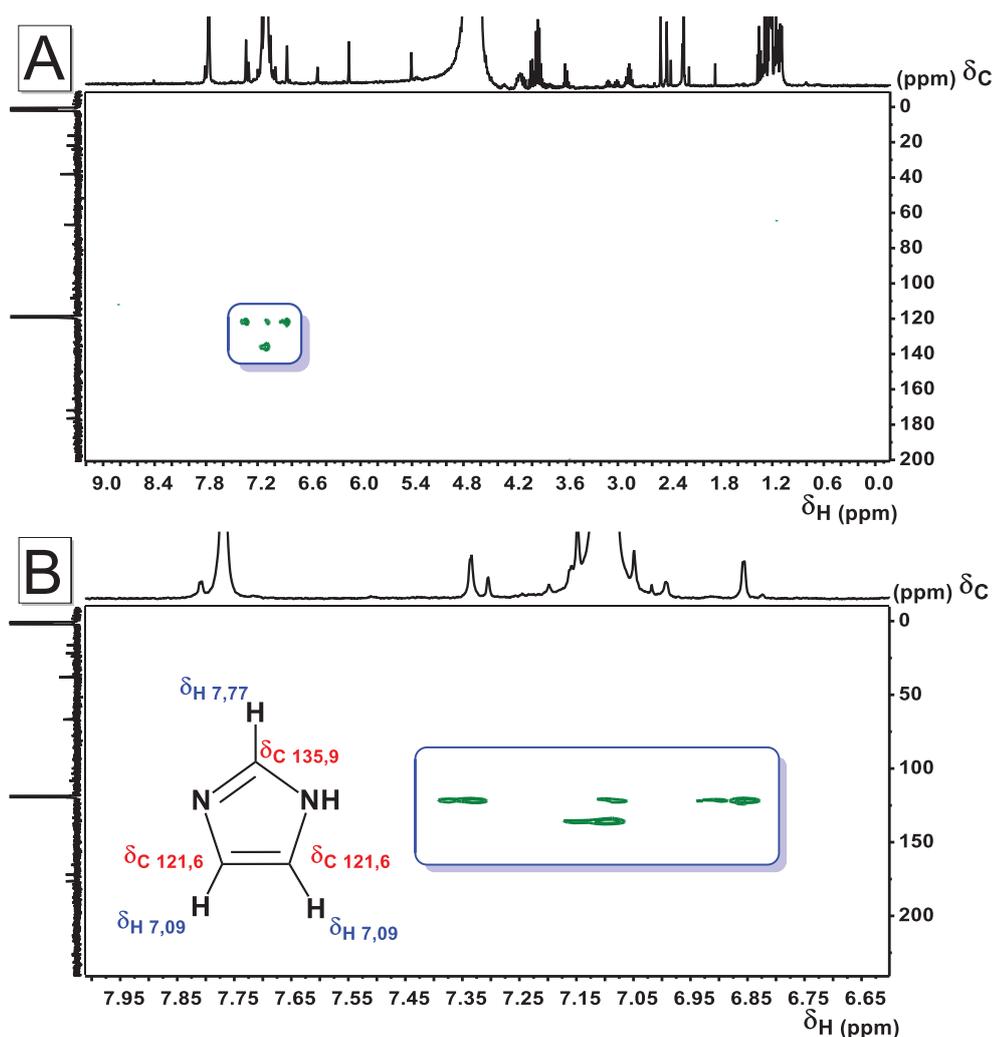


FONTE: O autor (2020).

A fim de validar a proposta das espécies fosforiladas formadas HyDZN (δ_P 51,08), EtPHOS (δ_P 47,16) e IDETPHOS (δ_P 59,30), foram obtidos espectros de RMN 2D de correlação a longa distância (^1H - ^{31}P) e (^1H - ^{13}C) HMBC (Figura 41 – A e B). Para a reação em pD 8,0 foi observado no mapa de correlação (^1H - ^{13}C) HMBC que o sinal em δ_H 7,09 do IMZ (s, 2H) apresentou correlação a 3J com o seu carbono em δ_C 135,9 típico de carbono aromático⁶⁵. Não foram identificadas correlações entre os hidrogênios da espécie IMPOH com o IMZ, que poderia levar a formação do produto PyRIMZ, ou seja, não há ataque no carbono aromático. No entanto, também observou-se que o sinal em δ_H 7,77 do IMZ não apresentou correlações de carbonos de metilas ou etilas com seus hidrogênios, não sendo possível atribuir com clareza a formação da espécie EtIMZ, que seria proveniente do ataque do IMZ ao carbono alifático, que por sua vez traria indícios da formação do HyDZN em δ_P 51,08. Também, por um motivo ainda desconhecido, não foi possível observar com clareza

correlações com dos hidrogênios aromáticos do HyDZN com seus carbonos, apenas um sinal muito fraco quase na região do ruído. Uma possível explicação para a observação da não existência de correlações entre os hidrogênios do IMZ e carbonos de metila e etila, no caso da formação do EtIMZ seria a deuteração do IMZ⁵⁹ ocorrida no carbono 2. Os hidrogênios do IMZ apresentam bastante labilidade na troca com deutério, assim o hidrogênio em δ_H 7,77 pode estar sendo trocado durante reação, ocasionando no desaparecimento desse sinal, não sendo possível verificar essas correlações entre ^{13}C e ^1H . Essa hipótese foi confirmada pelo mesmo experimento de RMN ^{31}P em pH 8,0 desta vez realizado na presença de solvente não deuterado (H_2O) e monitorado com um capilar de D_2O com TMS p (Apêndice 2).

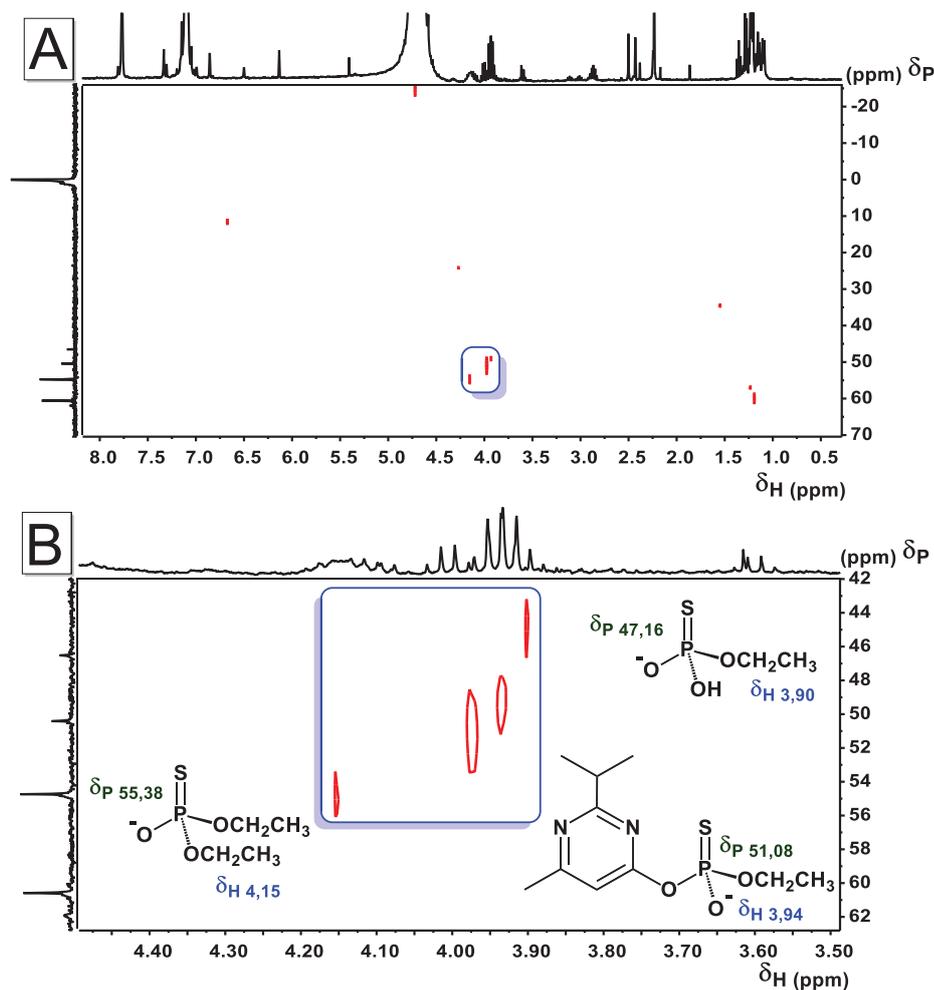
FIGURA 41 – (A) MAPAS DE CORRELAÇÃO DE RMN A LONGA DISTÂNCIA (^1H - ^{13}C) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN; (B) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ_H 7,95-6,65 DO IMZ. (CAPILAR H_3PO_4 ; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $60 \text{ }^\circ\text{C}$; pD 8,0)



FONTE: O autor (2020).

No intuito de investigar se o IMZ ataca o átomo de fósforo e gera a espécie EtPHOS (δ_P 47,16) realizou-se o experimento de RMN HMBC (^1H - ^{31}P) em pD 8,0 (Figura 42 – A - B). A partir desse experimento, foi possível verificar que o IMZ não ataca o átomo de fósforo onde o sinal em δ_H 3,90 é pertencente ao grupo etila do EtPHOS e apresenta correlação a 3J com o sinal de fósforo em δ_P 47,16. A formação da espécie EtPHOS é menos esperada e não prevista inicialmente na Figura 35. Mesmo com baixas intensidades, o experimento ainda mostra outras correlações como a correlação do fósforo do DTPHOS δ_P 55,38 com seus hidrogênios em δ_H 4,15 e os hidrogênios metilênicos α oxigênio da etila do HyDZN com o fósforo δ_P 51,08. Acredita-se que diluição da amostra pode ter inferido na intensidade dos sinais observados, dificultando novas atribuições de sinais.

FIGURA 42 – (A) MAPAS DE CORRELAÇÃO DE RMN A LONGA DISTÂNCIA (^1H - ^{31}P HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN; (B) AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ENTRE δ_H 4,40 - 3,50 DOS PRODUTOS FOSFORILADOS EM δ_P 55,38, δ_P 51,08 E δ_P 47,16 (CAPILAR H_3PO_4 ; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; 60°C ; pD 8,0)

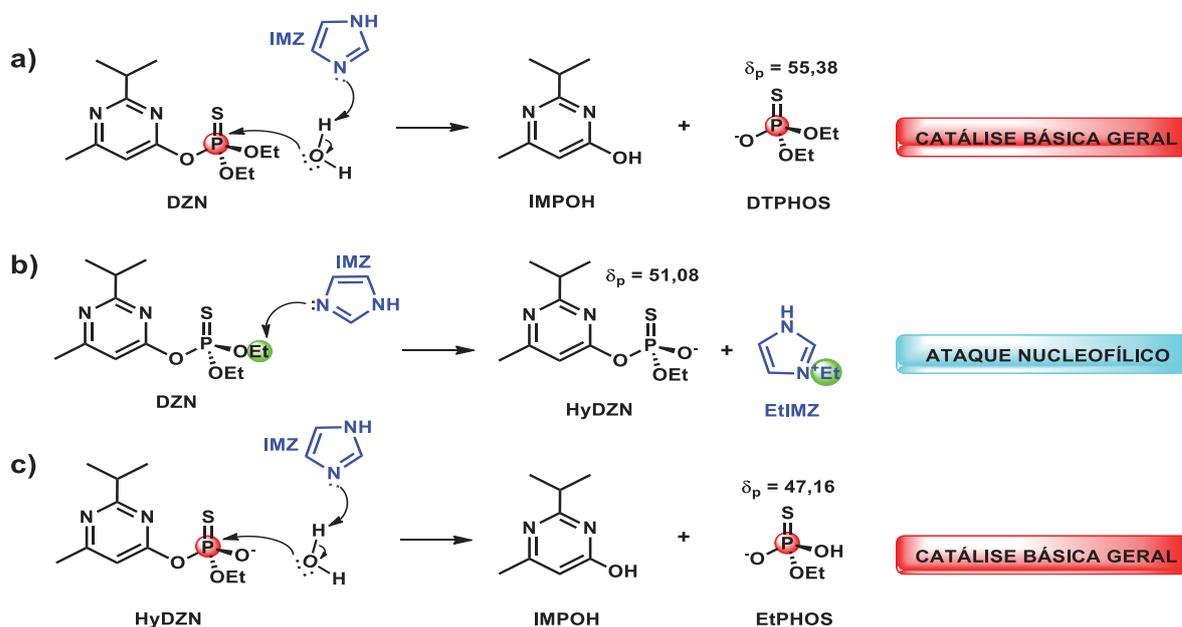


FONTE: O autor (2020).

Com base nas observações feitas, a reação em pD 8,0 pode ocorrer por alguns caminhos alternativos. A formação da espécie DTPHOS seria realizada a partir do mecanismo de catálise básica geral, com ataque de um íon hidróxido formado pela abstração de um próton de uma molécula de água pelo IMZ nucleofílico (Figura 43 – a). Essa hipótese estaria de acordo com os dados de RMN HMBC obtidos, visto que o IMZ não ataca o fósforo e nem o carbono aromático para formar o DTPHOS. Vale a pena mencionar o DTPHOS foi o segundo produto fosforilado formado, e considerando as reações anteriores de hidrólise do DZN, a formação da espécie DTPHOS ocorre de maneira mais rápida do que na ausência do IMZ, justificando a sua participação como catalisador básico na formação do DTPHOS.

Em relação a formação dos produtos HyDZN e EtPHOS, são propostos dois outros mecanismos baseados nas correlações atribuídas. A suposição é que o IMZ nucleofílico poderia atacar o carbono alifático para formar o HyDZN (Figura 43 - b) e EtIMZ. De fato, estudos anteriores mostram que IMZ pode preferir atacar carbonos alifáticos nas reações com OF's que contem P=S (Ex: MPT, EPT)²⁴. Em uma outra etapa, para justificar a formação do EtPHOS, o IMZ poderia atuar novamente como catalisador básico geral abstraindo um próton de uma outra molécula de água, o íon hidróxido formado atacaria o fósforo (Figura 43 – c). Esse proposta está de acordo com os espectros consecutivos na Figura 40, onde forma-se inicialmente HyDZN e, ao final da reação, tem-se a formação do EtPHOS. De qualquer forma, esses caminhos menos preferenciais que o caminho a) da Figura 43, já que o produto majoritário na reação em pD 8,0 é o DTPHOS, através de uma catálise básica do IMZ.

FIGURA 43 – MECANISMOS PROPOSTOS PARA A REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 8,0. CAMINHOS **a)** CATÁLISE BÁSICA GERAL ; **b)** ATAQUE NUCLEOFÍLICO ; **c)** CATÁLISE BÁSICA GERAL.



FONTE: O autor (2020).

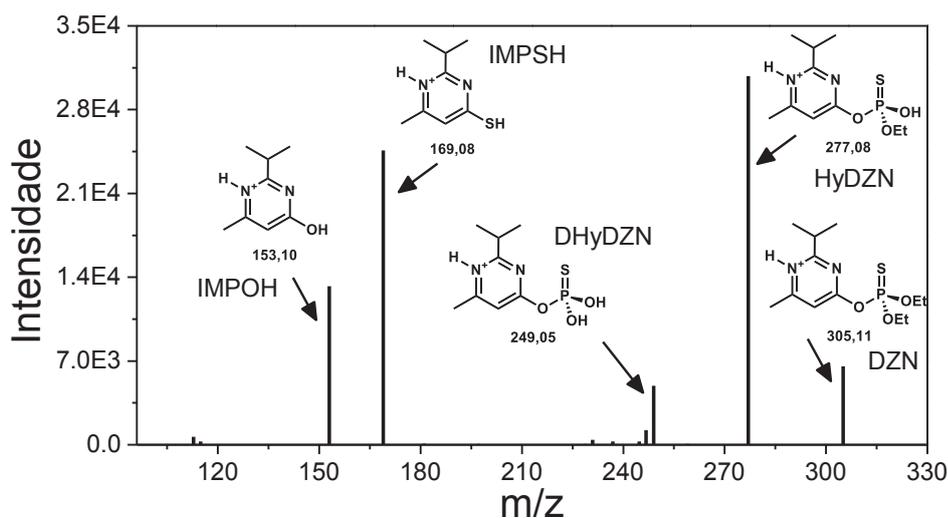
As análises de RMN só comprovam a versatilidade do IMZ quando protonado e desprotonado. Para o caso do DZN, o IMZ é mais reativo e seletivo quando protonado e leva preferencialmente a formação de um produto DTPHOS através de uma catálise ácida, concomitante ao ataque da água no átomo de fósforo. Quando desprotonado, o IMZ ele se torna promíscuo, podendo atacar o carbono alifático e atuar como catalisador básico concomitante ao ataque da água. Ou seja, numa mesma reação ele atua como catalisador ácido, básico e nucleofílico, sendo modulado pelo pH. Os espectros de RMN ^1H , deslocamento químicos das espécies estudadas nesse trabalho bem como os dos seus produtos encontram-se na Tabela A1- Apêndice. Buscando compreender os produtos formados na reação, foram realizadas análises complementares por ESI-MS.

5.6 ELUCIDAÇÃO MECANÍSTICA: ANÁLISES POR ESI-MS

As análises por espectrometria de massas foram realizadas com as reações em meio aquoso, com o intuito de corroborar os dados obtidos. Inicialmente, realizou-se a análise em pH 5,0 (Figura 44) onde é possível verificar os principais fragmentos íon moleculares obtidos na quebra do DZN no modo positivo. Foram

atribuídos os íons moleculares correspondentes às espécies IMPOH ($m/z = 153,10$), HyDZN ($m/z = 277,08$), DHyDZN ($m/z = 249,6$) além do próprio DZN ($m/z = 306,11$). De fato, estão de acordo com os dados reportados⁶⁴ e modelo proposto. Ainda, chama atenção um sinal intenso com $m/z 169,08$, referente ao íon molecular pirimidintiol (IMPSH) que pode ter sido formado devido a um rearranjo tiono-tiol ocorrido durante a reação com o IMZ, ou ainda devido as altas energias de ionização provenientes do equipamento⁶⁴. Não é possível verificar no espectro total nenhum íon molecular com intensidade significativa que corresponda às espécies imidazólicas possíveis de serem formadas devido ao ataque no fósforo, no carbono alifático e no carbono aromático. O que corrobora as análises de RMN em pH 5,0 e o fato do IMZ atuar como catalisador ácido.

FIGURA 44 – ESPECTRO ESI-MS (+) DA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 5,0. ($[IMZ] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[DZN] 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $25 \text{ }^\circ\text{C}$)

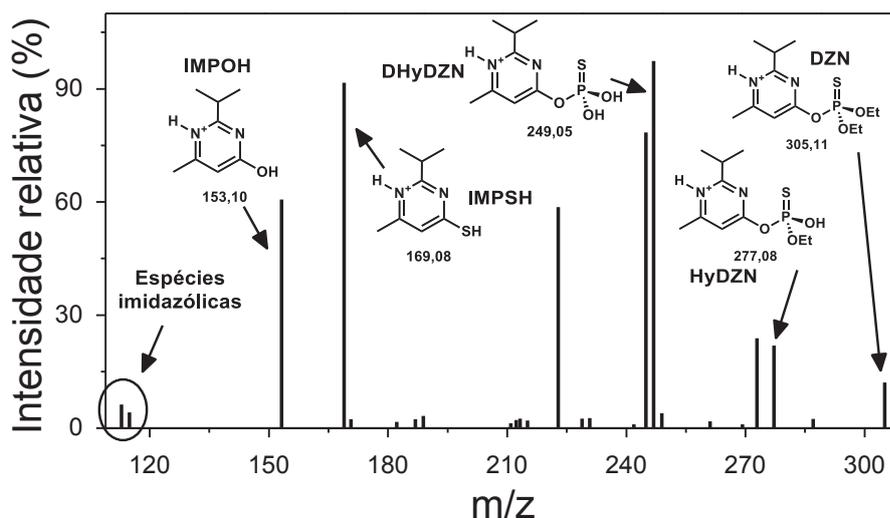


FONTE: O autor (2020).

A reação do DZN com IMZ em pH 8,0 (Figura 45) também foi investigada por ESI-MS. É possível verificar a formação de espécies semelhantes as que haviam sido formadas em pH 5,0. Com base no espectro total, buscou-se os sinais correspondentes as espécies imidazólicas que poderiam estar sendo formadas nas reações. Foram isolados os íons moleculares em $m/z 125,11$ atribuído inicialmente ao dietilimidazol (DEtIMZ – Figura A9 - Apêndice) e $m/z 97,68$ atribuído ao EtIMZ (Figura 46). Esses íons moleculares foram isolados e analisados por ESI-MS/MS(+) a 34 eV sendo possível verificar que os íons moleculares filhos obtidos para a

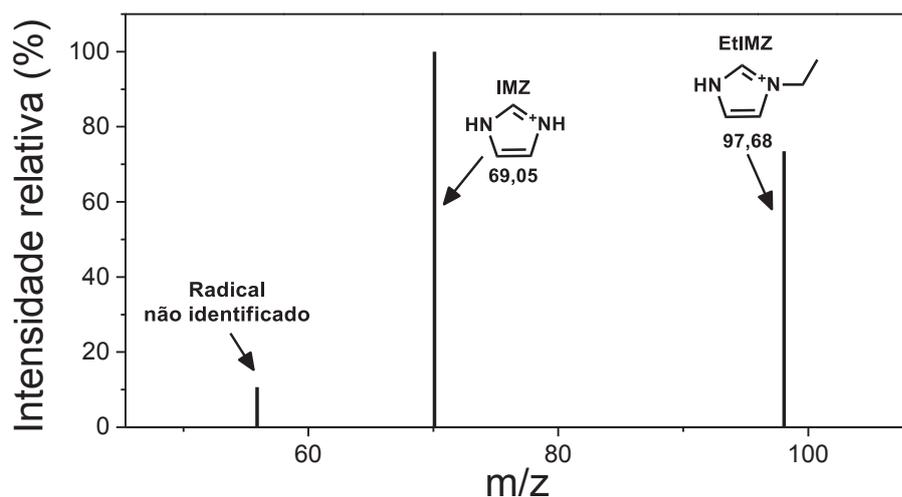
quebra do íon molecular com m/z 125,11 (atribuído ao DEtIMZ) correspondem a alguns íons moleculares que podem ser atribuídos as espécies imidazólicas propostas incluindo o EtIMZ. O EtIMZ (m/z 97,68) também foi isolado e analisado por ESI-MS/MS a 34 eV gerando espécies análogas ao DEtIMZ.

FIGURA 45 – ESPECTRO ESI-MS (+) DA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 8,0. ([IMZ] = 0,2 mol.L⁻¹; [DZN] 1x10⁻⁵ mol.L⁻¹; 25 °C)



FONTE: O autor (2020).

FIGURA 46 – ESPECTRO ESI-MS/MS (+) DA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 8,0. ÍON MOLECULAR 97,68 ([IMZ] = 0,2 mol.L⁻¹; [DZN] 1x10⁻⁵ mol.L⁻¹; 25 °C; 34 eV)



FONTE: O autor (2020).

Com base nos dados apresentados, foi possível verificar de fato a formação de espécies imidazólicas na reação do IMZ com DZN em pH 8,0. O que está de acordo com os dados cinéticos obtidos e mecanismos propostos por RMN.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de detoxificação química do pesticida DZN com IMZ foi realizado com sucesso. Uma abordagem que se mostrou bastante eficiente, uma vez que ainda não havia sido explorada na literatura. Os estudos cinéticos, RMN e ESI-MS buscaram elucidar os principais mecanismos envolvidos nas reações do DZN com IMZ, as quais, apresentaram incrementos catalíticos da ordem de 10^3 vezes superiores à reação espontânea e tempos de meia-vida inferiores a 3 h.

De maneira bastante peculiar, as reações foram mais rápidas com IMZ em sua forma iônica comparada a sua forma neutra, o que indicou uma possível mudança de mecanismo. De fato, as evidências apontaram para um mecanismo típico de catálise ácida geral (que foi mais eficiente nessa reação), onde o IMZH pode atuar transferindo o próton para o nitrogênio *orto* do DZN, promovendo a ativação de seu anel aromático, permitindo concomitantemente o ataque nucleofílico de uma molécula de água no átomo de fósforo eletrofílico. Ainda em sua forma iônica, o IMZ se torna seletivo, assistindo a formação de apenas um produto fosforilado identificado por RMN ^{31}P .

Quando neutro, observou-se que o IMZ se torna promíscuo e pode assistir a formação de três produtos fosforilados derivados do DZN (também identificados por RMN ^{31}P), atuando por diferentes vias: i) catálise básica geral, abstraindo um próton de uma molécula de água para a formação do íon hidróxido que ataca o átomo de fósforo; ii) ataque nucleofílico, onde ataca o carbono alifático do DZN gerando um diéster; iii) catálise básica geral, onde atua novamente abstraindo um próton de uma molécula de água para formar o íon hidróxido que ataca o diéster formado em ii).

As análises de efeito isotópico cinético do solvente não apresentaram com clareza indícios que pudessem corroborar os mecanismos propostos. Entretanto, uma possibilidade levantada foi o fato que a deuteração do IMZ (verificada por RMN HMBC ^1H - ^{31}P), em diferentes posições, possa acarretar algum efeito adicional que tenha alguma influência ainda desconhecida sobre a reação, tornando-a mais lenta. As demais análises realizadas de RMN e ESI-MS identificaram os produtos das reações, podendo concluir que não passam por intermediários e devem seguir de forma concertada R->P.

De maneira geral, esse estudo mostrou a relevância da projeção de métodos eficientes para a detoxificação química de pesticidas OF's, sendo o IMZ uma

abordagem inovadora e eficaz frente ao DZN. O fato de poder exercer múltiplas catálises, evidencia a versatilidade do IMZ, permitindo ser modulada em função do pH, delineando novas possibilidades como detecção e monitoramento. A perspectiva mecanística se mostra a uma ferramenta eficiente para a promoção da segurança química, até mesmo nos casos mais peculiares e incomuns como o do pesticida DZN.

REFERÊNCIAS

1. SKIBNIEWSKA, K. A. INFLUENCE OF THE ESTICIDE DUMP ON THE ENVIRONMENT. **CONTEMPORARY PROBLEMS OF MANAGEMENT AND ENVIRONMENTAL PROTECTION**. V. 131. 2010.
2. COSTA, L. G. TOXICOLOGY OF PESTICIDES: A BRIEF HISTORY. **SPRINGER BERLIN HEIDELBERG**. 1987.
3. MATTHEWS, G. A HISTORY OF PESTICIDES - **BOOK PUBLISHED BY CABI**. 2018.
4. D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (DICLORO DIFENIL TRICLOROETANO): TOXICIDADE E CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL - UMA REVISÃO. **QUÍMICA NOVA**. V.25, N.6/A, P.995. 2002.
5. BARBOZA, H. T. G.; NASCIMENTO, X. P. R.; FREITAS-SILVA, O.; SOARES, A. G.; DACOSTA, J. B. N. COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS E SEU PAPEL NA AGRICULTURA. **REVISTA VIRTUAL DE QUÍMICA**. V.10, N.1. 2018.
6. MINTON, N. A.; MURRAY, V. S. A REVIEW OF ORGANOPHOSPHATE POISONING. **MEDICAL TOXICOLOGY ADVERSE DRUG EXPERIENCE**. V.3, N.5, P.350. 1988.
7. COSTA, L. G. ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS AT 80: SOME OLD AND NEW ISSUES. **TOXICOLOGICAL SCIENCES**, V.162, N.1, P.24. 2017.
8. PETRONILHO, E. C.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. AGENTES PARA DEFESA CONTRA GUERRA QUÍMICA: REATIVADORES DA ACETILCOLINESTERASE INIBIDA COM ORGANOFOSFORADOS NEUROTÓXICOS. **REVISTA VIRTUAL DE QUÍMICA**. V.6, N.3, P.671. 2014.
9. BASSANI, D.; DA SILVA, L. R.; BIRK, L.; FRANCO DE OLIVEIRA, S. C. W. D. S. E.; DALLEGRAVE, E.; DE OLIVEIRA, T. F.; PESTICIDES IN BRAZIL: A VIEWPOINT ABOUT THE POISON LAW. **ACS PUBLICATIONS**: 2018.
10. PIGNATI, W. A.; LIMA, F. A. N. D. S. E.; LARA, S. S. D.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. H. D. C.; PIGNATTI, M. G. DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DO USO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL: UMA FERRAMENTA PARA A VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **CIÊNCIA & SAÚDE COLETIVA**. V.22, P.3281. 2017.
11. **ANVISA**; RELATÓRIO DO PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS - PARA. ED. 2014, P 33.
12. ABESSA, D.; FAMÁ, A.; BURUAEM, L. J. N. E.; EVOLUTION. THE SYSTEMATIC DISMANTLING OF BRAZILIAN ENVIRONMENTAL LAWS RISKS LOSSES ON ALL FRONTS. **NATURE ECOLOGY AND EVOLUTION**. V.3, N.4, P.510. 2019.
13. TOGNI, P. H. B.; VENZON, M.; LAGÔA, A. C. G.; SUJII, E. R. BRAZILIAN LEGISLATION LEANING TOWARDS FAST REGISTRATION OF BIOLOGICAL CONTROL AGENTS TO BENEFIT ORGANIC AGRICULTURE. **NEOTROPICAL ENTOMOLOGY**. V.48, N.2, P.175. 2019.

14. HENDGES, C.; SCHILLER, A. D. P.; MANFRIN, J.; MACEDO JR, E. K.; GONÇALVES JR, A. C.; STANGARLIN, J. R. HUMAN INTOXICATION BY AGROCHEMICALS IN THE REGION OF SOUTH BRAZIL BETWEEN 1999 AND 2014. **JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH: PART B**. V.54, N.4, P.219. 2019.
15. PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. AGROTÓXICOS, SAÚDE E AMBIENTE: UMA INTRODUÇÃO AO TEMA. **É VENENO OU É REMÉDIO**. P.21. 2003.
16. GUPTA, R. C. CLASSIFICATION AND USES OF ORGANOPHOSPHATES AND CARBAMATES. **TOXICOLOGY OF ORGANOPHOSPHATE & CARBAMATE COMPOUNDS**. 2006, P 5.
17. WESTHEIMER, F. H. WHY NATURE CHOSE PHOSPHATES. **SCIENCE**. V.235, N.4793, P.1173. 1987.
18. DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; MACHADO, V. G.; NOME, F. A QUÍMICA DOS ÉSTERES DE FOSFATO. **QUÍMICA NOVA**. V.26, N.5, P.745. 2003.
19. SILVA, V. B.; NASCIMENTO, L. L.; NUNES, M. C.; CAMPOS, R. B.; OLIVEIRA, A. R.; ORTH, E. S. PUZZLING REACTION OF IMIDAZOLE WITH METHYL PARATHION: P=S VERSUS P=O MECHANISTIC SHIFT DILEMMA IN ORGANOPHOSPHATES. **CHEMISTRY: A EUROPEAN JOURNAL**. V.25, N.3, P.817. 2019.
20. FIELD, M. J.; WYMORE, T. W. MULTISCALE MODELING OF NERVE AGENT HYDROLYSIS MECHANISMS: A TALE OF TWO NOBEL PRIZES. **PHYSICA SCRIPTA**. V.89, N.10, P.108004. 2014.
21. SANTOS, V. M. R. D.; DONNICI, C. L.; COSTA, J. B. N. D.; CAIXEIRO, J. M. R. COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS PENTAVALENTES: HISTÓRICO, MÉTODOS SINTÉTICOS DE PREPARAÇÃO E APLICAÇÕES COMO INSETICIDAS E AGENTES ANTITUMORAIS. **QUÍMICA NOVA**. V.30. N.1. PP.159-170. 2007.
22. LAI, K.; STOLOWICH, N. J.; WILD, J. R. CHARACTERIZATION OF PS BOND HYDROLYSIS IN ORGANOPHOSPHOROTHIOATE PESTICIDES BY ORGANOPHOSPHORUS HYDROLASE. **ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS**. V.318, N.1, P.59. 1995.
23. ORTH, E. S. REAÇÕES NUCLEOFÍLICAS DE DESFOSFORILAÇÃO COM IMIDAZOL E HIDROXAMATO: MODELAGEM EM SISTEMAS INTRA-E INTERMOLECULAR, POLIMÉRICO E MICELAR. **TESE DE DOUTORADO**. 2011.
24. SILVA, V. B.; ORTH, E. S. ARE IMIDAZOLES VERSATILE OR PROMISCUOUS IN REACTIONS WITH ORGANOPHOSPHATES? INSIGHTS FROM THE CASE OF PARATHION. **JOURNAL OF THE BRAZILIAN CHEMICAL SOCIETY**. V.30, N.10, P.2114. 2019.
25. WANDERLIND, E. H.; MEDEIROS, M.; SOUZA, B. S.; FIEDLER, H. D.; NOME, F. AVANÇOS RECENTES NA DECOMPOSIÇÃO DE TRIÉSTERES DE FOSFATO NEUROTÓXICOS. **REVISTA VIRTUAL DE QUÍMICA**. V.6, N.3, P.632. 2014.

26. KULSHRESHTHA, A.; SHINDE, C. P. A REVIEW: GENERAL BASE CATALYSIS HYDROLYSIS OF ORGANOPHOSPHORUS INSECTISIDES BY DIFFERENT AMINES. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENCE AND RESEARCH**. V.3, N.10, P.739. 2014.
27. ETO, M. ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES: ORGANIC AND BIOLOGICAL CHEMISTRY. **CRC PRESS**. P.254. 1974.
28. KABACHNIK, M.; MASTRUKOVA, T.; SHIPOV, A.; MELENTYEVA, T. THE APPLICATION OF THE HAMMETT EQUATION TO THE THEORY OF TAUTOMERIC EQUILIBRIUM: THIONE-THIOL EQUILIBRIUM, ACIDITY, AND STRUCTURE OF PHOSPHORUS THIO-ACIDS. **TETRAHEDRON**. V.9, N.1-2, P.10. 1960.
29. HILGETAG, G.; TEICHMANN, H. THE ALKYLATING PROPERTIES OF ALKYL THIOPHOSPHATES. **ANGEWANDTE CHEMIE INTERNATIONAL EDITION IN ENGLISH**. V.4, N.11, P.914. 1965.
30. WANG, D.; SINGHASEMANON, N.; GOH, K. S. A REVIEW OF DIAZINON USE, CONTAMINATION IN SURFACE WATERS, AND REGULATORY ACTIONS IN CALIFORNIA ACROSS WATER YEARS 1992–2014. **ENVIRONMENTAL MONITORING AND ASSESSMENT**. V.189, N.7, P.310. 2017.
31. CORBIN, M. PROBLEM FORMULATION FOR THE ENVIRONMENTAL FATE AND ECOLOGICAL RISK, ENDANGERED SPECIES AND DRINKING WATER ASSESSMENTS IN SUPPORT OF THE REGISTERED REVIEW OF CHLORPYRIFOS. **OFFICE OF PREVENTION, PESTICIDES, TOXIC SUBSTANCES, US EPA**. 2009.
32. TIEN, C. J.; CHUANG, T. L.; CHEN, C. S. THE ROLE OF NATURALLY OCCURRING RIVER BIOFILMS ON THE DEGRADATION KINETICS OF DIAZINON. **CLEAN-SOIL, AIR, WATER**, V.39, N.10, P.931. 2011.
33. HORNSBY, A.; WAUCHOPE, D.; HERNER, A. PESTICIDE PROPERTIES IN THE ENVIRONMENT. **SPRINGER VERLAG, NEW YORK**. 1995.
34. CHURCHILL, D.; DUST, J. M.; BUNCEL, E. CONCERTED RATE-LIMITING PROTON TRANSFER TO SULFUR WITH NUCLEOPHILIC ATTACK AT PHOSPHORUS: A NEW PROPOSED MECHANISM FOR HYDROLYTIC DECOMPOSITION OF THE P=S PESTICIDE DIAZINON, IN MODERATELY ACIDIC SULFURIC ACID MEDIA. **CANADIAN JOURNAL OF CHEMISTRY**. V.85, N.6, P.421. 2007.
35. SMOLEN, J. M.; STONE, A. T. DIVALENT METAL ION-CATALYZED HYDROLYSIS OF PHOSPHOROTHIONATE ESTER PESTICIDES AND THEIR CORRESPONDING OXONATES. **JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY**. V.31, N.6, P.1664. 1997.
36. MILLÁN, D.; TAPIA, R. A.; PAVEZ, P. EFFICIENT NUCLEOPHILIC DEGRADATION OF AN ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDE “DIAZINON” MEDIATED BY GREEN SOLVENTS AND MICROWAVE HEATING. **FRONTIERS IN CHEMISTRY**. V.6, N.669. 2019.
37. PIEDA, D. C. ACID AND BASE CATALYSED AQUEOUS HYDROLYSIS OF THE ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDE, DIAZINON. THESIS OF MASTER OF SCIENCE DEGREE. NATIONAL LIBRARY OF CANADA. **BIBLIOTHÈQUE NATIONALE DU CANADA**. 2001.

38. GOMAA, H.; SUFFET, I.; FAUST, S. IN DECONTAMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN THE ENVIRONMENTAL. **SPRINGER**. P.171. 1969.
39. LU, Z.-L.; NEVEROV, A. A.; BROWN, R. S. AN ORTHO-PALLADATED DIMETHYLBENZYLAMINE COMPLEX AS A HIGHLY EFFICIENT TURNOVER CATALYST FOR THE DECOMPOSITION OF P [DOUBLE BOND, LENGTH AS M-DASH] S INSECTICIDES. MECHANISTIC STUDIES OF THE METHANOLYSIS OF SOME P [DOUBLE BOND, LENGTH AS M-DASH] S-CONTAINING PHOSPHOROTHIOATE TRIESTERS. **ORGANIC & BIOMOLECULAR CHEMISTRY**, V.3, N.18, P.3379. 2005.
40. MITRA, A.; ATWOOD, D. A.; STRUSS, J.; WILLIAMS, D. J.; MCKINNEY, B. J.; CREASY, W. R.; MCGARVEY, D. J.; DURST, H. D.; FRY, R. GROUP 13 CHELATES IN NERVE GAS AGENT AND PESTICIDE DEALKYLATION. **NEW JOURNAL OF CHEMISTRY**, V.32, N.5, P.783. 2008.
41. MORTLAND, M. M.; RAMAN, K. CATALYTIC HYDROLYSIS OF SOME ORGANIC PHOSPHATE PESTICIDES BY COPPER (II). **JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY**. V.15, N.1, P.163. 1967.
42. BADLEY, R. D.; FORD, W. T. SILICA-BOUND SULFONIC ACID CATALYSTS. **JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY**. V.54, N.23, P.5437. 1989.
43. GREEN, H.; DAY, A. R. THE TAUTOMERIC CHARACTER OF THE IMIDAZOLE RING. **JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY**, V.64, N.5, P.1167. 1942.
44. LENARCIK, B.; OJCZENASZ, P. THE INFLUENCE OF THE SIZE AND POSITION OF THE ALKYL GROUPS IN ALKYLIMIDAZOLE MOLECULES ON THEIR ACID-BASE PROPERTIES. **JOURNAL OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY**, V.39, N.2, P.287. 2002.
45. ORTH, E. S.; ALMEIDA, T. G.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, A. R.; OCAMPOS, F. M. M.; BARISON, A. MECHANISTIC INSIGHT ON THE CATALYTIC DETOXIFICATION OF PARAOXON MEDIATED BY IMIDAZOLE: FURNISHING OPTIMUM SCAFFOLDS FOR SCAVENGING ORGANOPHOSPHORUS AGENTS. **JOURNAL OF MOLECULAR CATALYSIS A: CHEMICAL**. V.403, P.93. 2015.
46. HOSTERT, L.; BLASKIEVICZ, S. F.; FONSACA, J. E.; DOMINGUES, S. H.; ZARBIN, A. J.; ORTH, E. S. IMIDAZOLE-DERIVED GRAPHENE NANOCATALYSTS FOR ORGANOPHOSPHATE DESTRUCTION: POWDER AND THIN FILM HETEROGENEOUS REACTIONS. **JOURNAL OF CATALYSIS**, V.356, P.75. 2017.
47. FERREIRA, J. G.; ORTH, E. S. DEGRADING PESTICIDES WITH WASTE PRODUCT: IMIDAZOLE-FUNCTIONALIZED RICE HUSK CATALYST FOR ORGANOPHOSPHATE DETOXIFICATION. **JOURNAL OF THE BRAZILIAN CHEMICAL SOCIETY**, V.28, N.9, P.1760. 2017.
48. ORTH, E. S.; WANDERLIND, E. H.; MEDEIROS, M.; OLIVEIRA, P. S.; VAZ, B. G.; EBERLIN, M. N.; KIRBY, A. J.; NOME, F. PHOSPHORYLIMIDAZOLE DERIVATIVES: POTENTIALLY BIOSIGNALING MOLECULES. **THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY**, V.76, N.19, P.8003. 2011.

49. GIUSTI, L. A.; MEDEIROS, M.; FERREIRA, N. L.; MORA, J. R.; FIEDLER, H. D. POLYMERS CONTAINING IMIDAZOLE GROUPS AS NANOREACTORS FOR HYDROLYSIS OF ESTERS. **JOURNAL OF PHYSICAL ORGANIC CHEMISTRY**, v.27, n.4, p.297. 2014.
50. SOARES, W.; ALMEIDA, R. M. V.; MORO, S. TRABALHO RURAL E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO REGIME DE USO DE AGROTÓXICOS EM MINAS GERAIS, BRASIL. **CADERNOS DE SAÚDE PÚBLICA**, v.19, p.1117. 2003.
51. CAMPOS, R. B.; MENEZES, L. R.; BARISON, A.; TANTILLO, D. J.; ORTH, E. S. THE IMPORTANCE OF METHYL POSITIONING AND TAUTOMERIC EQUILIBRIA FOR IMIDAZOLE NUCLEOPHILICITY. **CHEMISTRY: A EUROPEAN JOURNAL**, v.22, n.43, p.15521. 2016.
52. FIFE, T. H.; BRUICE, T. C. THE TEMPERATURE DEPENDENCE OF THE ΔpD CORRECTION FOR THE USE OF THE GLASS ELECTRODE IN D_2O . **JOURNAL OF PHYSICAL ORGANIC CHEMISTRY**. v.65, n.6, p.1079. 1961.
53. POURBABAEI, A.; SOLEYMANI, S.; FARAHBAKHS, M.; TORABI, E. BIODEGRADATION OF DIAZINON BY THE STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA PS: PESTICIDE DISSIPATION KINETICS AND BREAKDOWN CHARACTERIZATION USING FTIR. **INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY**. p.1. 2018.
54. CHAPMAN, R.; COLE, C. OBSERVATIONS ON THE INFLUENCE OF WATER AND SOIL PH ON THE PERSISTENCE OF INSECTICIDES. **JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH: PART B**. v.17, n.5, p.487. 1982.
55. FAUST, S. D.; GOMAA, H. M. CHEMICAL HYDROLYSIS OF SOME ORGANIC PHOSPHORUS AND CARBAMATE PESTICIDES IN AQUATIC ENVIRONMENTS. **ENVIRONMENTAL LETTERS**. v.3, n.3, p.171. 1972.
56. 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. **JOURNAL OF PHYSICAL ORGANIC CHEMISTRY**. v.29, n.11, p.600. 2016.
57. SERRANO-ANDRÉS, L.; FÜLSCHER, M. P.; ROOS, B. O.; MERCHÁN, M. THEORETICAL STUDY OF THE ELECTRONIC SPECTRUM OF IMIDAZOLE. **JOURNAL OF PHYSICAL ORGANIC CHEMISTRY**. v.100, n.16, p.6484. 1996.
58. HOFMANN, K. IMIDAZOLE AND ITS DERIVATIVES. **INTERSCIENCE PUBLISHERS**. 1953.
59. VAUGHAN, J. D.; MUGHRABI, Z.; WU, E. C. KINETICS OF DEUTERATION OF IMIDAZOLE. **JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY**. v.35, n.4, p.1141. 1970.
60. LOUDON, G. M. MECHANISTIC INTERPRETATION OF PH-RATE PROFILES. **JOURNAL OF CHEMICAL EDUCATION**. v.68, n.12, p.973. 1991.
61. WESTHEIMER, F. THE MAGNITUDE OF THE PRIMARY KINETIC ISOTOPE EFFECT FOR COMPOUNDS OF HYDROGEN AND DEUTERIUM. **CHEMICAL REVIEWS**. v.61, n.3, p.265. 1961.

62. PAUL, S. PHOSPHORUS-³¹ NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE STUDY OF THE MECHANISM AND KINETICS OF THE HYDROLYSIS OF ZINC (II) O, O-DIETHYL DITHIOPHOSPHATE AND SOME RELATED COMPOUNDS. **JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 2**. N.5, P.753. 1990.
63. MATHEIS, G. N.; WHITAKER, J. R. ³¹P NMR CHEMICAL SHIFTS OF PHOSPHATE COVALENTLY BOUND TO PROTEINS. **THE INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOCHEMISTRY**. V.16, N.8, P.867. 1984.
64. BARR, J.; BELL, A.; BIRD, M.; MUNDY, J.; MURRELL, J.; TIMPERLEY, C.; WATTS, P.; FERRANTE, F. FRAGMENTATIONS AND REACTIONS OF THE ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDE DIAZINON AND ITS OXYGEN ANALOG DIAZOXON STUDIED BY ELECTROSPRAY IONIZATION ION TRAP MASS SPECTROMETRY. **JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY FOR MASS SPECTROMETRY**. V.16, N.4, P.515. 2005.
65. PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. INTRODUÇÃO À ESPECTROSCOPIA. **CENGAGE LEARNING**. 2010.

APÊNDICE – FIGURAS, IMAGENS E DADOS SUPLEMENTARES

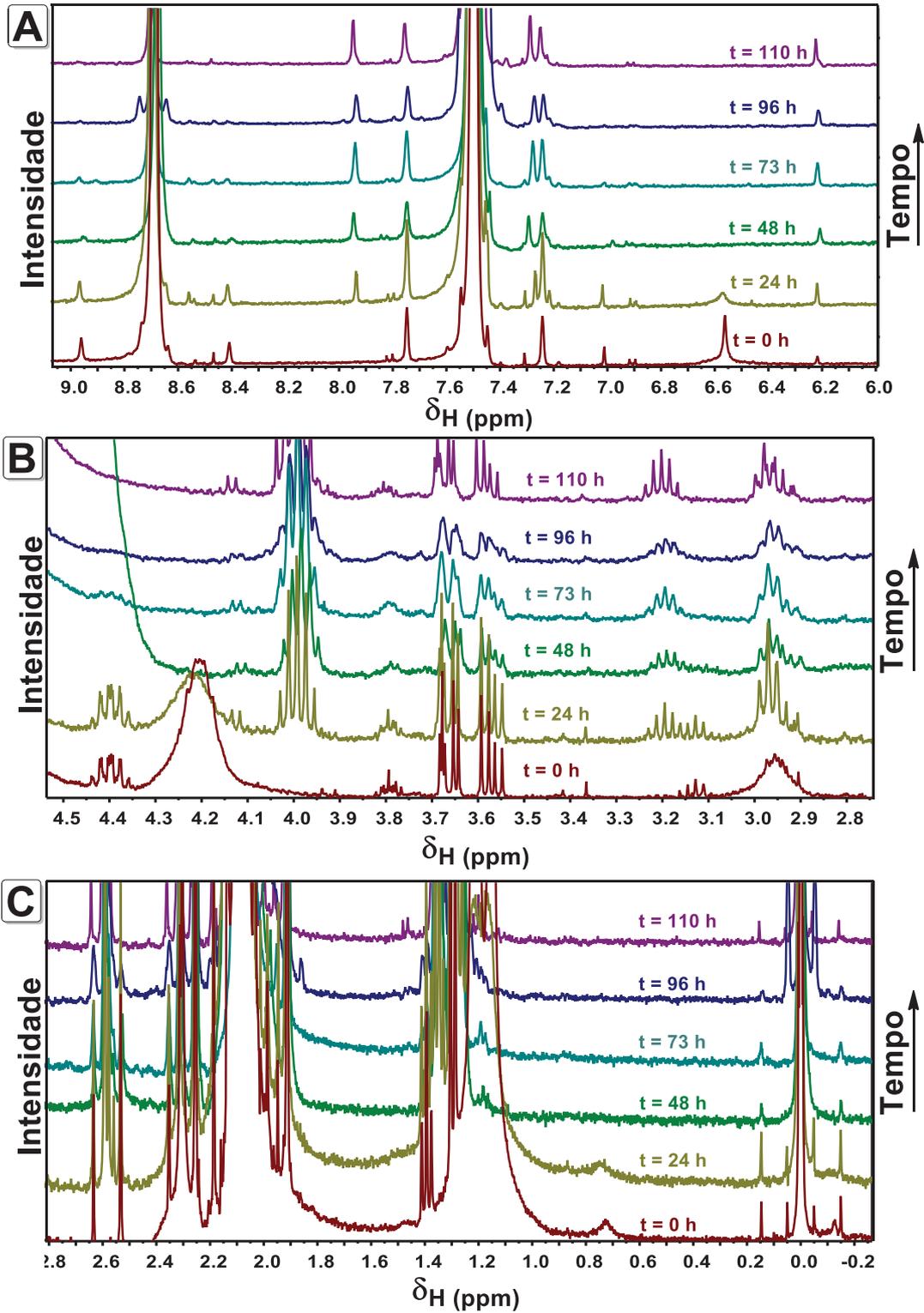
• FIGURAS

FIGURA A1 – ESPECTROS CONSECUTIVOS DE RMN ^1H DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pH 5,0	87
FIGURA A2 – ESPECTROS CONSECUTIVOS DE RMN ^1H DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pH 8,0	88
FIGURA A3 – ESPECTRO DE RMN ^{13}C DO DZN	89
FIGURA A4 – ESPECTRO DE RMN ^1H DO IMZ	89
FIGURA A5 – ESPECTROS RMN ^{31}P DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pH 8,0 EM H_2O	90
FIGURA A6 – ESPECTROS RMN ^{31}P DA HIDRÓLISE DO POSSÍVEL INTERMEDIÁRIO REACIONAL IDETPHOS EM pH 8,0 EM D_2O	90
FIGURA A7 – MAPAS DE CORRELAÇÃO RMN A LONGA DISTÂNCIA (^1H - ^{31}P) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM pH 8,0 E H_2O	91
FIGURA A8 – MAPAS DE CORRELAÇÃO RMN A LONGA DISTÂNCIA (^1H - ^{13}C) HMBC DA REAÇÃO DO IMZ COM DZN EM H_2O	91
FIGURA A9 – ESI-MS/MS (+) DA REAÇÃO DO DZN COM IMZ EM pH 8,0. ÍON MOLECULAR m/z 97,68	92

• TABELAS

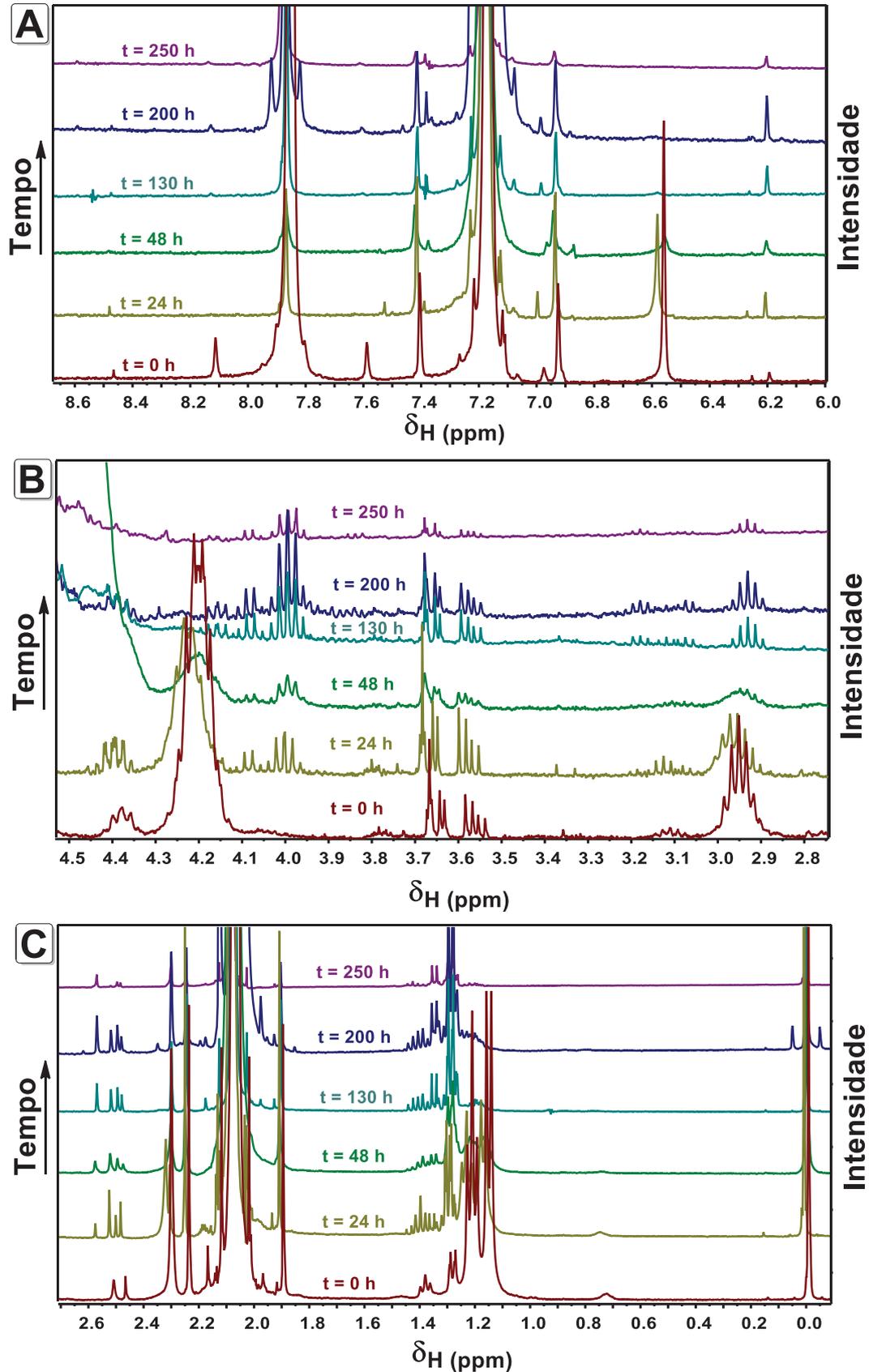
TABELA A1 – DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE RMN ^1H , ^{13}C , ^{31}P DAS ESPÉCIES QUÍMICAS DAS REAÇÕES ESTUDADAS NESSE TRABALHO	93
TABELA A2 – CONSTANTES DE VELOCIDADE k_{obs} DAS REAÇÕES ESTUDADAS NESSE TRABALHO	94

FIGURA A1 – Espectros consecutivos de RMN de ^1H da reação do IMZ com DZN pD 5,0 (A) ampliação entre δH 9,0-6,0; (B) ampliação entre a região δH 4,5-2,8; (C) ampliação entre a região δH 2,8-(-0,2). (TMSP- d_4 ; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $60 \text{ }^\circ\text{C}$).



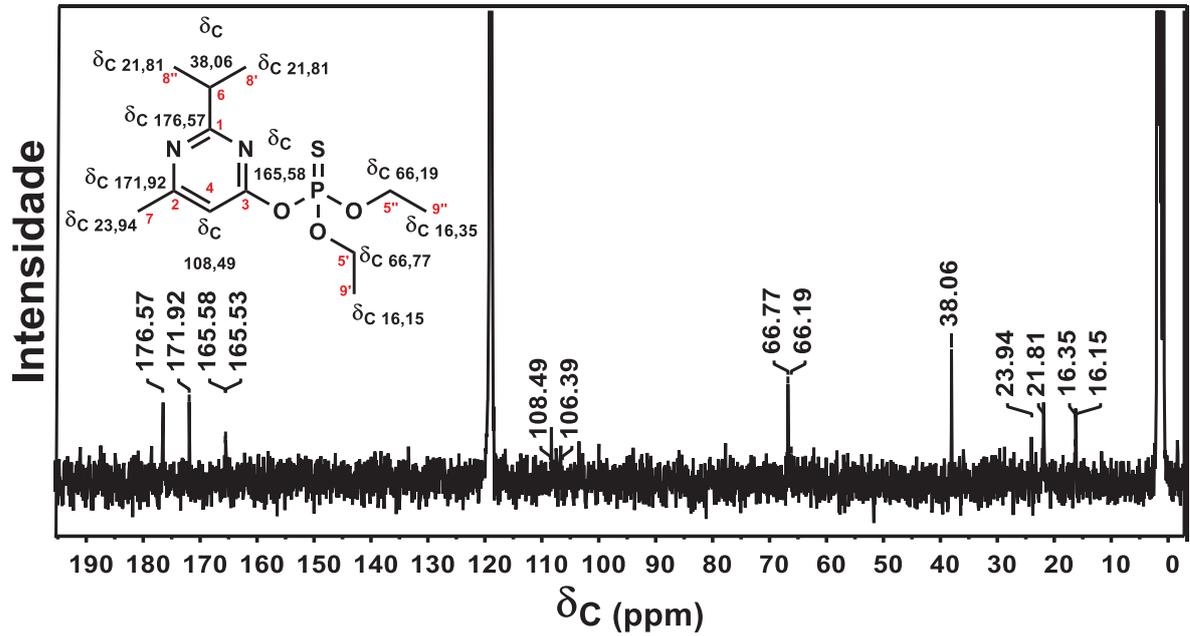
FONTE: O autor (2020).

FIGURA A2 – Espectros consecutivos de RMN de ^1H da reação do IMZ com DZN pD 8,0 **(A)** ampliação entre δ_{H} 8,6-6,0; **(B)** ampliação entre a região δ_{H} 4,5-2,8; **(C)** ampliação entre a região δ_{H} 2,6-0,0. (TMSP-d4; [IMZ] = 0,2 mol.L $^{-1}$; [DZN] = 1x10 $^{-5}$ mol.L $^{-1}$; 60 °C).



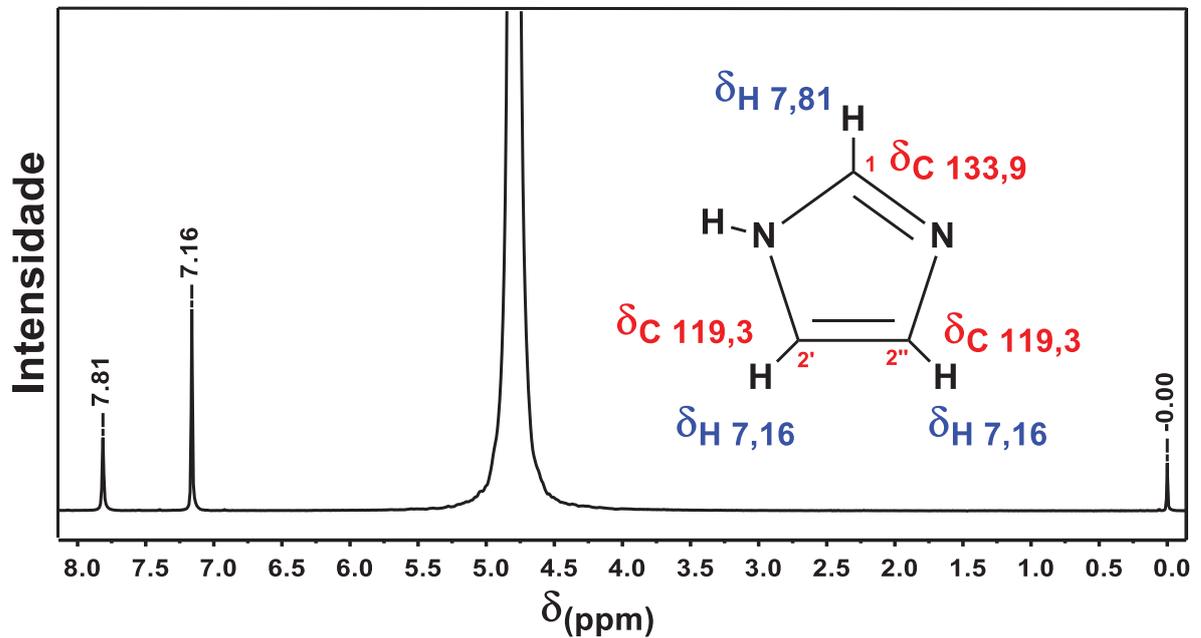
FONTE: O autor (2020).

FIGURA A3 – Espectro de RMN de ^{13}C do DZN (TMSP-d4 ; $\text{D}_2\text{O}/\text{Acetonitrila} - 95:5$; $[\text{DZN}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; 25°C)



FONTE: O autor (2020).

FIGURA A4 – Espectro de RMN de ^1H do IMZ (TMSP-d4 ; D_2O ; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; 25°C ; pD 8,0).



FONTE: O autor (2020).

FIGURA A5 – Espectro de RMN de ^{31}P da reação do IMZ com DZN pH 8,0 em H_2O (TMSP-d₄; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $60 \text{ }^\circ\text{C}$).

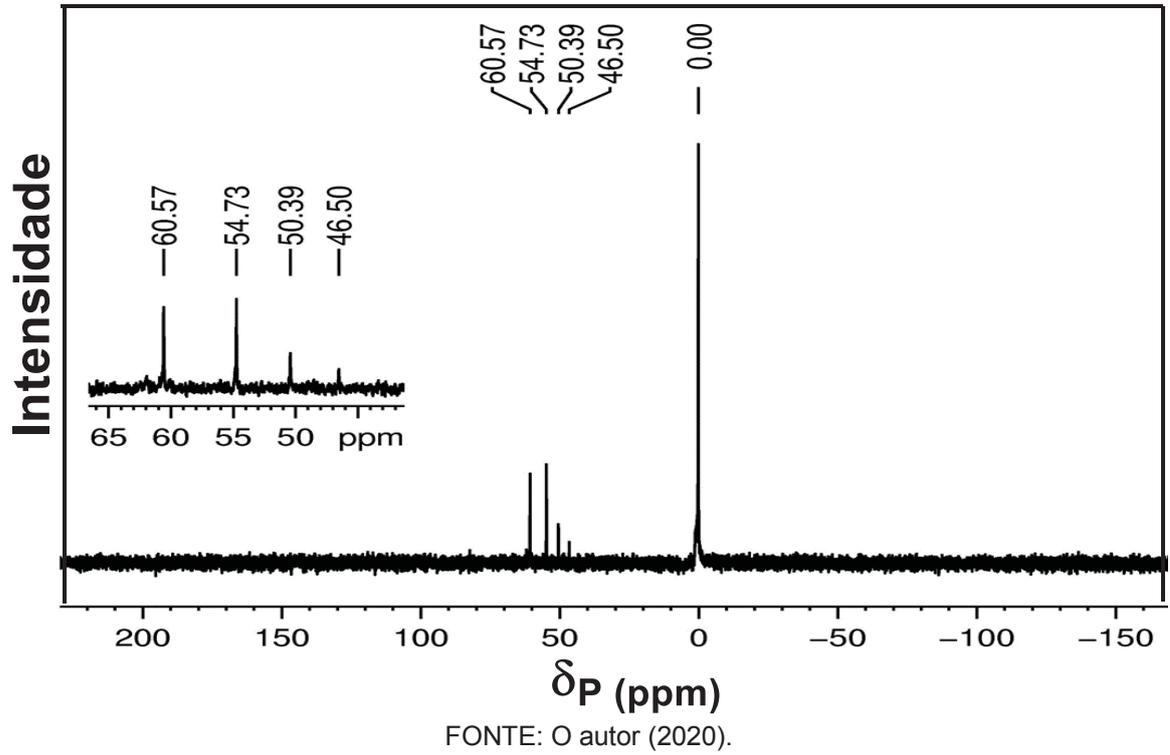


FIGURA A6 – Espectro de RMN de ^{31}P da hidrólise possível intermediário reacional IDETPHOS pD 8,0 em D_2O (Capilar de H_3PO_4 ; $60 \text{ }^\circ\text{C}$).

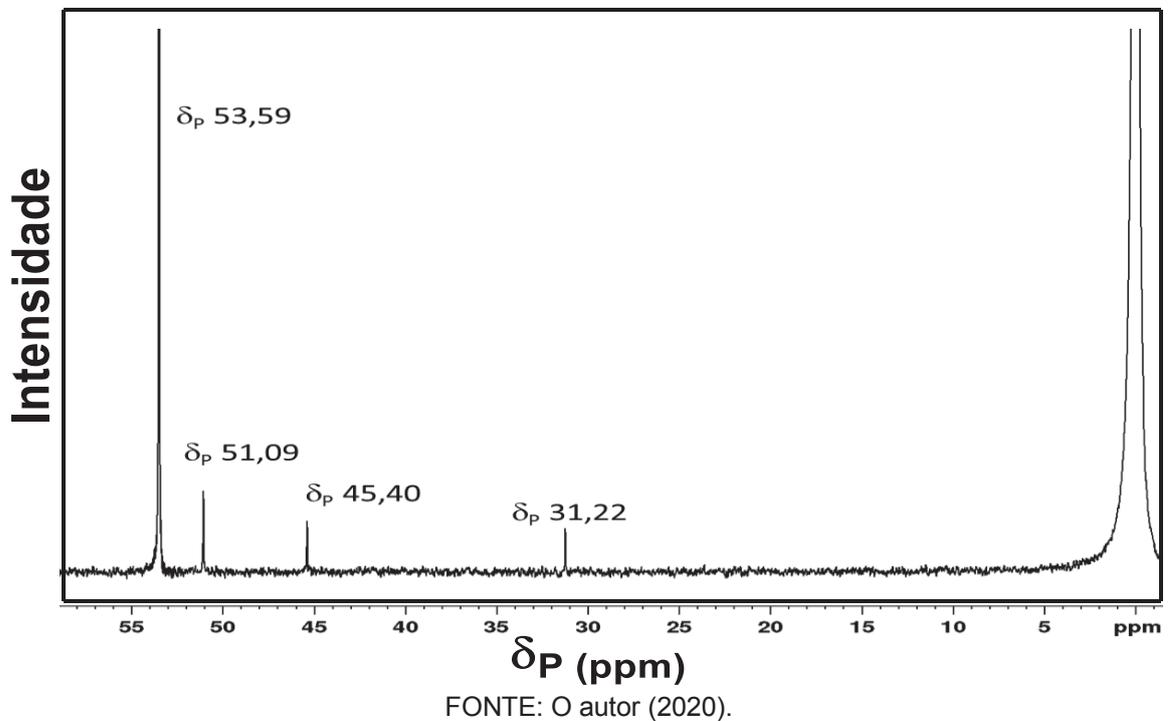
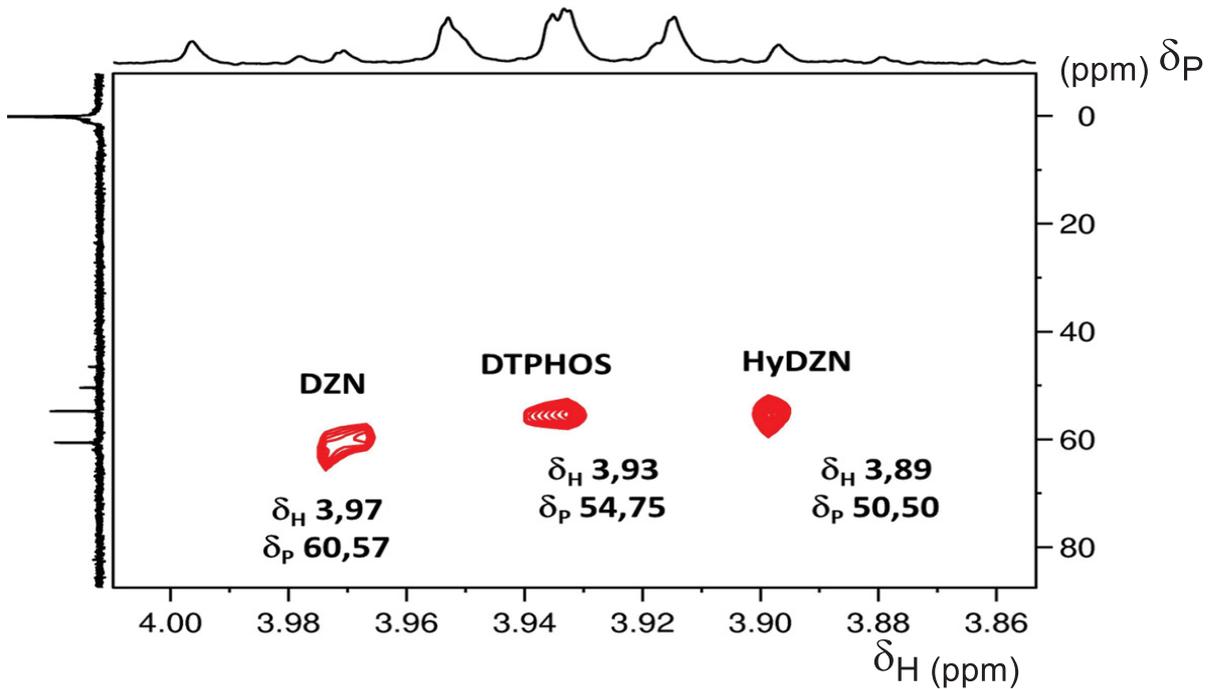
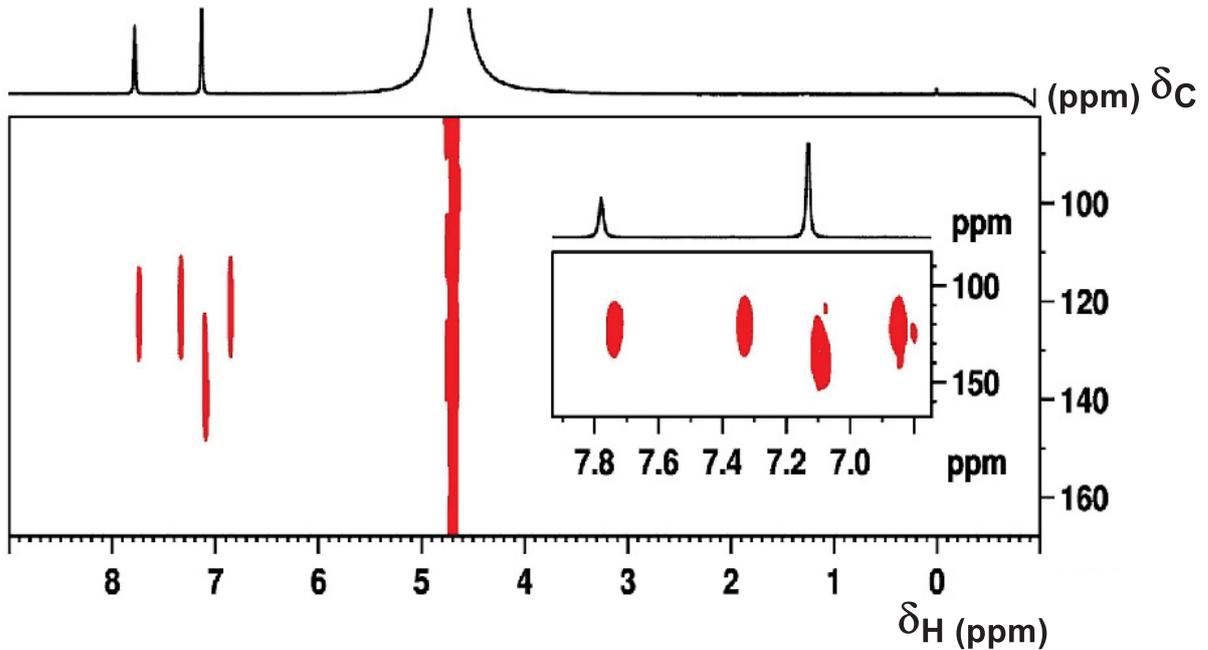


FIGURA A7 – Mapas de correlação RMN a longa distância (^1H - ^{13}P) HMBC da reação do IMZ com DZN em H_2O . Ampliação da região entre δ_{H} 4,0-3,6 do DZN (Monitorado com capilar de D_2O TMSP-d4; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $60 \text{ }^\circ\text{C}$).



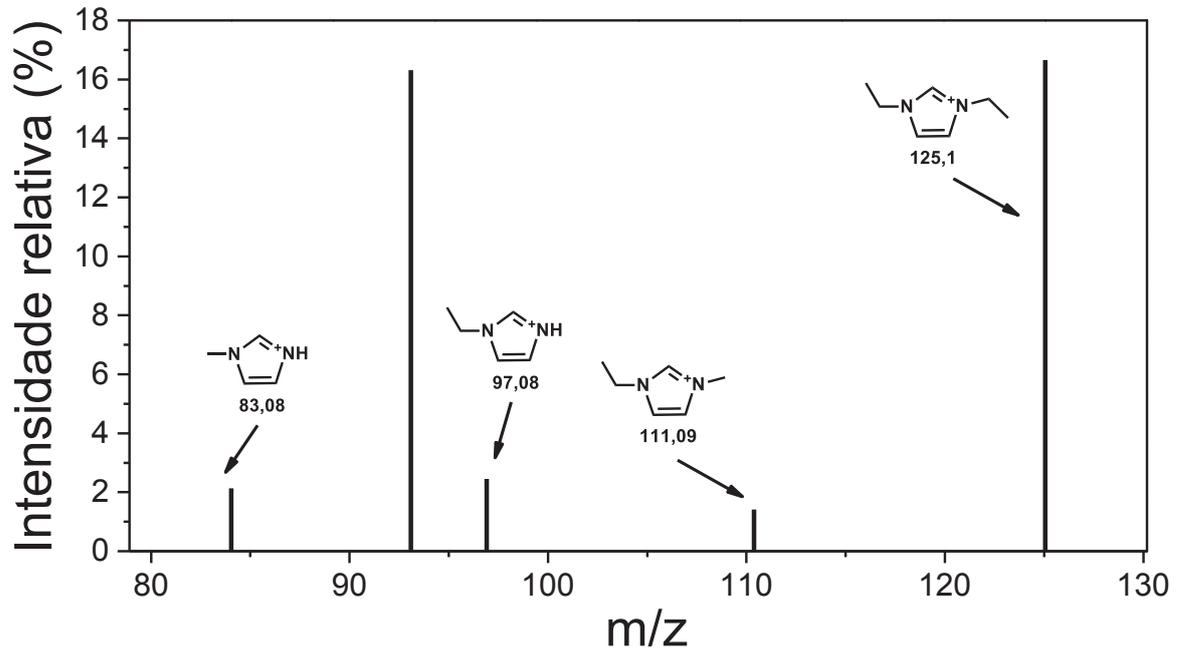
FONTE: O autor (2020).

FIGURA A8 – Mapas de correlação RMN a longa distância (^1H - ^{13}C) HMBC da reação do IMZ com DZN em H_2O . Ampliação da região entre δ_{H} 7,8-6,8 do IMZ (Monitorado com capilar de D_2O TMSP-d4; $[\text{IMZ}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{DZN}] = 1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; $60 \text{ }^\circ\text{C}$).



FONTE: O autor (2020).

FIGURA A9 – ESI-MS/MS (+) da reação do DZN com IMZ em pH 8,0. Íon molecular 97,68 ([IMZ] = 0,2 mol.L⁻¹; [DZN] 1x10⁻⁵ mol.L⁻¹; 25 °C; 34 eV)



FONTE: O autor (2020).

TABELA A1 – DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE RMN ^1H , ^{13}C , ^{31}P EM D_2O DAS ESPÉCIES QUÍMICAS DAS REAÇÕES ESTUDADAS NESSE TRABALHO.

ESPÉCIE	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{P} (ppm)
DZN	1,17 – 1,15 (m, 6H) ; 1,24 – 1,27 (m, 6H) ; 2,37 (s, 3H) ; 3,02 (m, 1H) ; 4,27 – 4,71 (m) ; 6,62 (s, 1H)	(1) 176,37 ; (2) 171,93 ; (3) 165,58 ; (4) 108,49 ; (5) 66,77 ; (5'') 66,19 ; (6) 38,06 ; (7) 23,94 ; (8) 21,81 ; (8'') 21,81 ; (9') 16,15 ; (9'') 16,35	60,56
HyDZN	3,94 (m)	-----	51,08
IDEPHOS	-----	-----	57,40
EtPHOS	3,90 (m)	-----	47,16
DTPHOS	3,82 – 4,13 (m)	-----	55,56
IMZ	8,50 (s, 1H) ; 7,37 (s, 2H) ;	(1) 133,9 (2') 119,3 ; (2'') 119,3	-----

FONTE: O autor (2020).

TABELA A2 – CONSTANTES DE VELOCIDADE k_{obs} DAS REAÇÕES ESTUDADAS NESSE TRABALHO (T = 60 °C).

pH	Hidrólise DZN (s⁻¹)	Reação DZN com IMZ em H₂O (s⁻¹)	Reação DZN com IMZ em D₂O (s⁻¹)
2,0	3,40x10 ⁻⁴	-----	-----
3,0	3,86x10 ⁻⁵	1,56x10 ⁻⁴	-----
3,5	1,24x10 ⁻⁵	-----	-----
4,0	1,00x10 ⁻⁵	1,14x10 ⁻⁴	1,18x10 ⁻⁴
4,5	6,42x10 ⁻⁶	-----	-----
5,0	3,51x10 ⁻⁶	9,85x10 ⁻⁵	8,97x10 ⁻⁵
5,5	-----	9,80x10 ⁻⁵	-----
5,7	-----	8,77x10 ⁻⁵	-----
6,0	9,91x10 ⁻⁷	8,55x10 ⁻⁵	8,03x10 ⁻⁵
6,5	-----	7,15x10 ⁻⁵	6,40x10 ⁻⁵
6,8	-----	6,35x10 ⁻⁵	-----
7,0	7,02x10 ⁻⁷	5,55x10 ⁻⁵	5,02x10 ⁻⁵
7,5	-----	5,33x10 ⁻⁵	-----
7,8	-----	5,67x10 ⁻⁵	-----
8,0	1,28x10 ⁻⁶	5,72x10 ⁻⁵	4,55x10 ⁻⁵
8,5	-----	5,65x10 ⁻⁵	-----
9,0	2,89x10 ⁻⁵	5,80x10 ⁻⁵	5,28x10 ⁻⁵
9,5	-----	6,23x10 ⁻⁵	-----
10,0	2,96x10 ⁻⁵	6,82x10 ⁻⁵	5,58x10 ⁻⁵

FONTE: O autor (2020).