



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO QUÍMICA

Steffany Luczynski Makara

**Ativação *in situ* de pró-fluoróforos mediada por nanopartículas de paládio  
suportadas em grafeno sob condições biológicas**

Florianópolis

2022

Steffany Luczynski Makara

**Ativação *in situ* de pró-fluoróforos mediada por nanopartículas de paládio suportadas em grafeno sob condições biológicas**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de química do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Josiel Barbosa Domingos  
Coorientadora: Dra. Eloah Latocheski

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Makara, Steffany Luczynski

Ativação in situ de pró-fluoróforos mediada por nanopartículas de paládio suportadas em grafeno sob condições biológicas / Steffany Luczynski Makara ; orientador, Josiel Barbosa Domingos, coorientadora, Eloah Latocheski, 2022.

65 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Graduação em Química, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Química. 2. Nanopartículas. 3. Catálise. 4. Bio ortogonal. 5. Paládio. I. Domingos, Josiel Barbosa . II. Latocheski, Eloah . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Química. IV. Título.

Steffany Luczynski Makara

**Ativação *in situ* de pró-fluoróforos mediada por nanopartículas de paládio suportadas em grafeno sob condições biológicas**

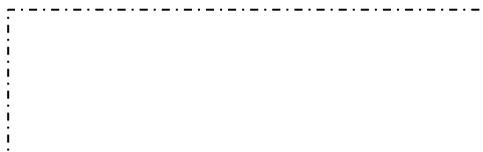
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharelado e aprovado em sua forma final pelo Curso de Química.

Florianópolis 14 de dezembro de 2022



Prof.ª. Dra. Danielle Marranquel Henriques  
Coordenadora do Curso

**Banca examinadora:**



Prof. Dr. Josiel Barbosa Domingos  
Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina



Dra. Juliana Dreyer  
Avaliadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. Eduard Westphal  
Avaliador

Universidade Federal de Santa Catarina

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus familiares e principalmente a minha mãe, por sempre estar ao meu lado me apoiando e motivando a continuar realizando meus sonhos.

Ao meu amigo e namorado Victor por ter me acompanhado nessa jornada, me ensinando e me apoiando.

Aos meus amigos, por todos os bons momentos na BS e aos almoços no RU.

À minha amiga e colega de laboratório M.a Thuany Mayara Ferreira, por todos os ensinamentos, todas as discussões de experimentos e todas as conversas sobre a vida, o universo e tudo mais.

À minha coorientadora Dr<sup>a</sup>. Eloah Latocheski, pela paciência e por todo o conhecimento compartilhado comigo.

Ao professor Dr. Josiel Barbosa Domingos, por todo o aprendizado e apoio, mesmo durante surtos.

E a todos os colegas do LaCBio por sempre estarem me auxiliando nos experimentos e na minha vida pessoal.

Ao departamento de química e seu corpo docente, por terem contribuído para minha formação.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

À UFSC, por ser uma universidade pública, gratuita e de qualidade.

E a D2M pela doação do grafeno que foi utilizado em todo o meu TCC.

## RESUMO

O paládio é um dos metais de transição mais utilizados em reações bio-ortogonais dissociativas, na ativação de pró-fármacos e pró-fluoróforos, principalmente devido a sua alta atividade catalítica e quimiosseletividade. No entanto, em grandes concentrações pode apresentar citotoxicidade, sendo uma das alternativas para contornar este problema o seu uso na forma de nanopartículas. O Laboratório de Catálise Biomimética (LaCBio) já demonstrou que nanopartículas de Pd(II), estabilizadas com o polímero PVP, geram rendimentos satisfatórios na desproteção *in vivo* de pró-fármacos propargílicos. No entanto, o tratamento de tumores poderia ser facilitado se as mesmas estivessem suportadas num material sólido, como o grafeno, através da implantação cirúrgica. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do suporte de nanopartículas de paládio (estado de oxidação 0 e +2) em grafeno, na reação de despropargilação de pró-fluoróforos baseados na *O*-cumarina, em condições biológicas. A utilização do grafeno como um suporte gerou conversões similares para as nanopartículas de Pd(II) estabilizadas com PVP, obtendo-se 25% de conversão de *O*-cumarina com 1 equiv de catalisador. No entanto, as nanopartículas de Pd(II) estabilizadas com o polímero P-2VP atingiram conversões 1,4 vezes maiores do que as nanopartículas sem suporte, demonstrando um efeito sinérgico do grafeno em conjunto com a desproteção de pró-fluoróforos aromáticos. O catalisador Pd(II)-P-2VP@grafeno apresentou um TOF50 1,5 vezes maior do que as nanopartículas não suportadas no grafeno.

**Palavras-chave:** Nanopartículas. Catálise. Bio-ortogonal. Paládio.

## ABSTRACT

Palladium is one of the most used transition metals in dissociative bio-orthogonal reactions, in the activation of pro-drugs and pro-fluorophores, mainly due to its high catalytic activity and chemoselectivity. However, in high concentrations it can present an important cytotoxicity, which can be minimized with the use of nanoparticles. The Laboratory of Biomimetic Catalysis (LaCBio) has already demonstrated that Pd(II) nanoparticles, stabilized with the PVP polymer, generate satisfactory yields in the *in vivo* deprotection of propargylic prodrugs, with low cytotoxicity. However, the treatment of tumors could be facilitated if the nanoparticles were supported on solid materials, such as graphene, through surgical implantation. This work aimed to evaluate the effect of supporting palladium nanoparticles (oxidation state 0 and +2) on graphene, on the depropargylation reaction of pro-fluorophores based on *O*-coumarin, under biological conditions. The use of graphene as a support generated similar conversions for Pd(II) nanoparticles stabilized with PVP, obtaining 25% conversion of *O*-coumarin with 1 equiv of catalyst. However, Pd(II) nanoparticles stabilized with P-2VP polymer achieved conversions 1.4 times higher than unsupported nanoparticles, demonstrating a synergistic effect of graphene in the deprotection reaction of aromatic profluorophores. The Pd(II)-P-2VP@graphene catalyst presented a TOF50 1.5 times higher than the nanoparticles not supported on graphene.

**Keywords:** Nanoparticles. Catalysis. Bioorthogonal Chemistry. Palladium.

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b> Desproteção de moléculas com grupo de proteção alil e propargil com diferentes metais de transição.....	18
<b>Esquema 2:</b> Reação de desalilação com paládio.....	19
<b>Esquema 3:</b> Mecanismo de desproteção bio-ortogonal de grupos alílicos e propargílicos mediadas por paládio.....	21
<b>Esquema 4:</b> Diagrama de energia de banda a) Pd e grafeno e b) PdHx e grafeno.....	24
<b>Esquema 5:</b> Reação da proteção da O-cumarina protegida com o grupo protetor propargil.....	30

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura da doxorubicina, $\beta$ -lapachona e cumarina. ....	23
<b>Figura 2:</b> Estrutura dos polímeros PVP e P-2VP. ....	28
<b>Figura 3:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para a O-propargilcumarina em $\text{CDCl}_3$ (100 MHz).....	35
<b>Figura 4:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ para a O-propargilcumarina em $\text{CDCl}_3$ (100 MHz).....	36
<b>Figura 5:</b> Micrografia do grafeno a) e micrografia das nanopartículas de Pd(0) suportadas em grafeno (0,2 $\mu\text{m}$ e 50 nm) b-c).....	37
<b>Figura 6:</b> Micrografia e historiograma das nanopartículas de Pd(II) suportadas em grafeno.....	37
<b>Figura 7:</b> Síntese das nanopartículas de paládio com o polímero P-2VP.....	38
<b>Figura 8:</b> Micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(0)-PVP suportadas em grafeno <b>a)</b> e micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(II)-PVP suportadas em grafeno <b>b)</b> .....	39
<b>Figura 9:</b> Voltametria cíclica Pd(0) sobre carbono (comercial) e Pd(0)-PVP suportado em grafeno a) e voltametria cíclica acetato de paládio (comercial) e Pd(II)-PVP suportado em grafeno b).....	40
<b>Figura 10:</b> Micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(0)-P-2VP suportadas em grafeno a) e micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(II)-P-2VP suportadas em grafeno b). ....	41
<b>Figura 11:</b> Voltametria cíclica Pd(0) sobre carbono (comercial) e Pd(0)-P-2VP suportadas em grafeno a) e voltametria cíclica acetato de paládio (comercial) e Pd(II)-P-2VP suportadas em grafeno b).....	42
<b>Figura 12:</b> Espectro de fluorescência da O-propargilcumarina e O-cumarina. (Condições Gerais: 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	43
<b>Figura 13:</b> Curva de calibração da O-cumarina. (Condições Gerais: 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	44
<b>Figura 14:</b> Perfis cinéticos para conversão de O-propargilcumarina das nanopartículas de Pd(0)-PVP a) e perfis cinéticos para conversão de O-propargilcumarina das nanopartículas de Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais: 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	45
<b>Figura 15:</b> Gráfico de $\log(V_0)$ versus $\log([\text{cat}])$ para a reação de despropargilação da O-cumarina com o catalisador Pd(0)-PVP a) e com o catalisador Pd(II)-PVP b).	

(Condições Gerais: 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	46
<b>Figura 16:</b> Dependência da velocidade inicial pela concentração da O-propargilcumarina para o catalisador Pd(0)-PVP a) e para o catalisador Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais: 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	48
<b>Figura 17:</b> Adição de EDTA e Hg(0) na reação de despropargilação da O-cumarina com os catalisadores Pd(0)-PVP a) e Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais: 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	49
<b>Figura 18:</b> Reação de despropargilação da O-propargilcumarina com catalisadores lavados catalisador Pd(0)-PVP com e sem grafeno a) catalisador Pd(II)-PVP com e sem grafeno b). (Condições Gerais: 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	50
<b>Figura 19:</b> Perfis cinéticos para conversão de O-propargilcumarina com nanopartículas de Pd(0)-P-2VP a) e perfis cinéticos para conversão com O-propargilcumarina das nanopartículas de Pd(II)-P-2VP b). (Condições Gerais: 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	51
<b>Figura 20:</b> Gráfico de $\log(V_0)$ versus $\log([\text{cat}])$ para a reação de despropargilação da O-propargilcumarina com o catalisador Pd(0)-P-2VP a) e com o catalisador Pd(II)-P-2VP b). (Condições Gerais: 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	52
<b>Figura 21:</b> Dependência da velocidade inicial pela concentração da O-propargilcumarina para o catalisador Pd(0)-P-2VP a) e para o catalisador Pd(II)-P-2VP b). (Condições Gerais: 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	54
<b>Figura 22:</b> Adição de EDTA e Hg(0) na reação de despropargilação da O-cumarina com os catalisadores Pd(0)-PVP a) e Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais: 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm) .....	55
<b>Figura 23:</b> Reação de despropargilação da O-cumarina com catalisadores lavados catalisador Pd(0)-P-2VP com grafeno a) catalisador Pd(II)-P-2VP com e sem grafeno b). (Condições Gerais: 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C, $\lambda_{\text{exc}}=380$ nm e $\lambda_{\text{em}}=512$ nm).....	55

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Concentração de paládio nas nanopartículas estabilizadas pelo polímero PVP suportadas em grafeno.....	39
<b>Tabela 2:</b> Concentração de paládio nas nanopartículas estabilizadas pelo polímero P-2VP suportadas em grafeno.....	41
<b>Tabela 3:</b> Constantes obtidas para os catalisadores Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP.....	47
<b>Tabela 4:</b> Dados obtidos pela cinética de despropargilação da O-propargilcumarina para os catalisadores Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP.....	47
<b>Tabela 5:</b> Constantes obtidas para os catalisadores Pd(0)-P-2VP e Pd(II)-P-2VP....	52
<b>Tabela 6:</b> Dados obtidos pela cinética de despropargilação da O-cumarina para os catalisadores Pd(0)-P-2VP e Pd(II)-P-2VP.....	53

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CCD - Cromatografia de camada delgada

DMSO - Dimetilsulfóxido

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético (do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid*)

GCE - Eletrodo de carbono vítreo (do inglês *Glassy carbon electrode*)

$k_2$  - Constante de velocidade de segunda ordem

$k_{obs}$  - Constante de velocidade observada

$k_{cat}$  - Constante de velocidade catalítica

$K_M$  - Constante de Michaelis-Menten

LCME - Laboratório Central de Microscopia Eletrônica

O-cumarina - 7-hidroxi-4-metilcumarina

O-propargilcumarina - 7-propargiloxi-4-metilcumarina

O-alilcumarina - 7-aliloxi-4-metilcumarina

PBS -Tampão fosfato (do inglês *Phosphate buffered saline*)

PVP - Polivinilpirrolidona

P-2VP - Poli-2(vinilpiridina)

RPM - Rotações por minuto

RMN - Ressonância magnética nuclear

TEM - Microscopia eletrônica de transmissão (do inglês *Transmission Electron Microscopy*)

TON - Número de conversão (do inglês *Turnover number*)

TOF50 – Frequência de ciclos catalíticos em 50% do tempo (do inglês: *Turnover Frequency*)

SAXS - Espalhamento de Raios X a baixos ângulos (do inglês: *Small angle X-ray scattering*)

URF - Unidade relativa de fluorescência

$v_0$  - Velocidade inicial

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
-------------------	----

<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
2.1. REAÇÕES BIO-ORTOGONAIS.....	18
<b>2.1.1. Reações de clivagem.....</b>	<b>19</b>
2.2. NANOPARTÍCULAS.....	21
<b>2.2.1. Nanopartículas de paládio.....</b>	<b>22</b>
2.3. GRAFENO.....	22
<b>2.3.1. Nanopartículas suportadas em grafeno.....</b>	<b>23</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
4.1. MATERIAIS.....	26
4.2. MÉTODOS.....	26
<b>4.2.1 Ressonância magnética nuclear.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2.2. Absorção atômica.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2.3. Microscopias.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2.4. Voltametria cíclica.....</b>	<b>27</b>
<b>4.2.5. Espectrometria de fluorescência.....</b>	<b>27</b>
4.3. PREPARAÇÃO DO TAMPÃO.....	27
4.4. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO SUPORTADAS EM GRAFENO.....	27
<b>4.4.1. Método de adsorção.....</b>	<b>28</b>
<b>4.4.2. Método reacional.....</b>	<b>29</b>
<b>4.4.3 Lavagens das nanopartículas.....</b>	<b>29</b>
4.5. SÍNTESE DA PROTEÇÃO DA O-CUMARINA.....	29
<b>4.5.1. O-Propargilcumarina.....</b>	<b>30</b>
4.6. VOLTAMETRIA CÍCLICA.....	30
4.7. ESTUDOS DAS CINÉTICAS DE REAÇÃO.....	31
<b>4.7.1. Curva de calibração da O-cumarina.....</b>	<b>31</b>
<b>4.7.2. Cinética de desproteção com variação da concentração de catalisadores.....</b>	<b>31</b>
<b>4.7.3. Cinética de despropargilação com variação da concentração de catalisador para determinar ordem de reação.....</b>	<b>31</b>
<b>4.7.4. Cinética de despropargilação com variação da concentração de substrato.....</b>	<b>31</b>

4.7.5. Cinéticas de despropargilação com aditivos.....	32
4.7.6. Cinéticas de despropargilação com nanopartículas sem grafeno e nanopartículas lavadas.....	32
4.8. SEGURANÇA NO LABORATÓRIO E TRATAMENTO DE RESÍDUOS.....	32
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>34</b>
5.1. SÍNTESE DA O-PROPARGILCUMARINA.....	34
5.2. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS PELO MÉTODO DE ADSORÇÃO.....	36
<b>5.2.1. Nanopartículas estabilizadas pelo polímero PVP.....</b>	<b>36</b>
<b>5.2.2. Nanopartículas estabilizadas pelo polímero P-2VP. ....</b>	<b>38</b>
5.3. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS PELO MÉTODO REACIONAL.....	38
<b>5.3.1. PVP.....</b>	<b>38</b>
<b>5.3.2. P-2VP.....</b>	<b>40</b>
5.4. ANÁLISE FLUORIMÉTRICA DO SUBSTRATO E PRODUTO.....	42
5.5. ESTUDOS CINÉTICOS DA REAÇÃO DE DESPROPARGILAÇÃO DA O-PROPARGILCUMARINA MEDIADA PELAS NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO ESTABILIZADAS COM PVP.....	45
<b>5.5.1. Cinética com variação de concentração de catalisador.....</b>	<b>45</b>
<b>5.5.2. Cinéticas com variação da concentração de substrato.....</b>	<b>47</b>
<b>5.5.3. Cinética com aditivos.....</b>	<b>48</b>
<b>5.5.4. Cinéticas com nanopartículas lavadas e nanopartículas sem grafeno.....</b>	<b>49</b>
5.6. ESTUDOS CINÉTICOS DA REAÇÃO DE DESPROPARGILAÇÃO DA O-PROPARGILCUMARINA MEDIADA PELAS NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO ESTABILIZADAS COM P-2VP.....	51
<b>5.6.1. Cinética com variação de concentração de catalisador.....</b>	<b>51</b>
<b>5.6.2. Cinéticas com variação da concentração de substrato.....</b>	<b>53</b>
<b>5.6.3. Cinética com aditivos.....</b>	<b>54</b>
<b>5.6.4. Cinéticas com nanopartículas lavadas e nanopartículas sem grafeno.....</b>	<b>55</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>57</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é a doença que tem a maior mortalidade da população mundial. Tendo como tratamento a quimioterapia clássica, a qual funciona com o efeito citotóxico do fármaco, eliminando as células cancerígenas e interrompendo assim o crescimento do tumor. No entanto, por não serem seletivos, tais medicamentos agem também sobre as células saudáveis, o que gera grandes efeitos colaterais nos pacientes. Outra problemática é o imageamento destas células, visto que a grande maioria dos marcadores atuais são pouco seletivos, tóxicos ou de custo muito alto.

Neste cenário, a química possibilita a racionalização de sistemas quimioterápicos e de imageamento mais precisos, como aqueles baseados nas reações bio-ortogonais. Tais reações são embasadas na química orgânica clássica, mas adaptadas para funcionar em condições biológicas e não afetar os processos bioquímicos. A estratégia mais comum é adicionar um grupo protetor ao fármaco quimioterápico, gerando um pró-fármaco, que irá diminuir ou até mesmo eliminar sua citotoxicidade. O mesmo então pode ser ativado utilizando um gatilho, por exemplo, metais de transição como o paládio, hoje o mais utilizado devido sua diversidade e alta atividade catalítica. Após a desproteção do pró-fármaco, as suas propriedades antineoplásicas são restauradas. A mesma estratégia pode ser utilizada para ativação de pró-fluoróforos, cuja ativação serve para imageamento das células cancerígenas. Nesta estratégia, tanto o pró-fármaco quanto o pró-fluoróforo, ou o catalisador metálico, podem ser projetados para serem seletivamente entregues no sítio tumoral.

O paládio em grandes concentrações apresenta toxicidade, uma das alternativas de diminuir a sua toxicidade é o uso de nanopartículas (NPs), as quais podem ser moduladas e ainda desempenhar alta performance na catálise. Ainda, as NPs podem ser implantadas em tumores quando suportadas em dispositivos sólidos, como resinas e matrizes compostas de carbono, como o grafeno.

Sendo o grafeno constituído de átomos de carbono com hibridização  $sp^2$ , os quais possuem empacotamento do tipo  $\pi$ - $\pi$  ( $\pi$ - $\pi$  *stacking*), ele pode ter uma interação forte com moléculas aromáticas. Tal interação pode levar a uma maior seletividade e atividade catalítica, pela elevação da concentração local de substrato próximo aos sítios catalíticos presentes nas nanopartículas. Neste contexto, neste TCC

desenvolveu-se catalisadores de Pd-NPs suportadas em grafeno, para ativação bio-ortogonal de pró-fluoróforos através de reações de desproteção.

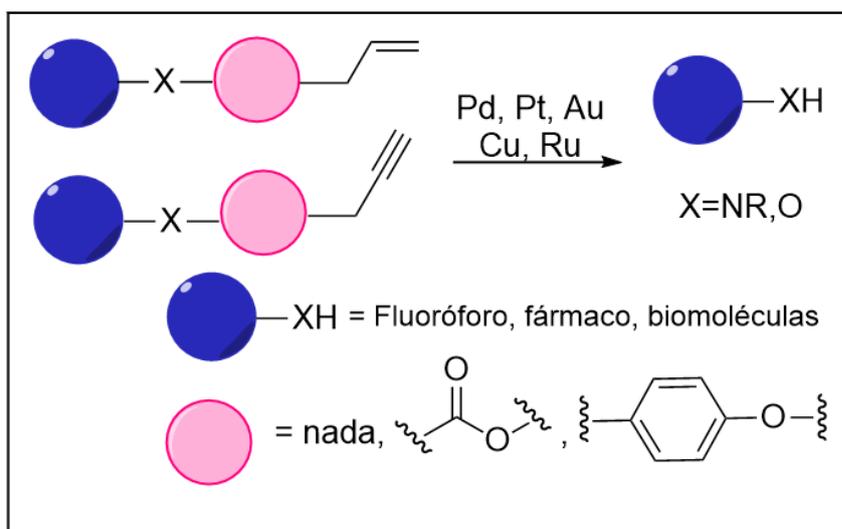
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. REAÇÕES BIO-ORTOGONAIS

O termo “reações bio-ortogonais” foi utilizado pela primeira vez em 2003 pela pesquisadora Carolyn Bertozzi, a qual foi laureada com o prêmio Nobel de química de 2022<sup>1</sup>. Bertozzi definiu que reações bio-ortogonais são reações rápidas, específicas, as quais ocorrem em ambientes biológicos e que não há interferência nas funções bioquímicas<sup>2</sup>. As reações bio-ortogonais podem ser utilizadas na construção (reações de acoplamento) ou na ativação (reações de clivagem) molecular, sendo os maiores desafios das reações bio-ortogonais, o rendimento no meio celular e a liberação controlada destas moléculas no local desejado<sup>3</sup>.

Dentre as diferentes classes de reações bio-ortogonais, as reações de clivagem (desproteção) são as mais comuns, na ativação de pró-fármacos, pró-fluoróforos ou biomoléculas, sendo geralmente mediadas por metais de transição como paládio, rutênio, platina, cobre e ouro, e sendo os grupos protetores mais utilizados os grupos propargílicos e alílicos, com ou sem espaçador<sup>3,4</sup>, como mostrado no **Esquema 1**.

**Esquema 1:** Desproteção de moléculas com grupo de proteção alil e propargil com diferentes metais de transição



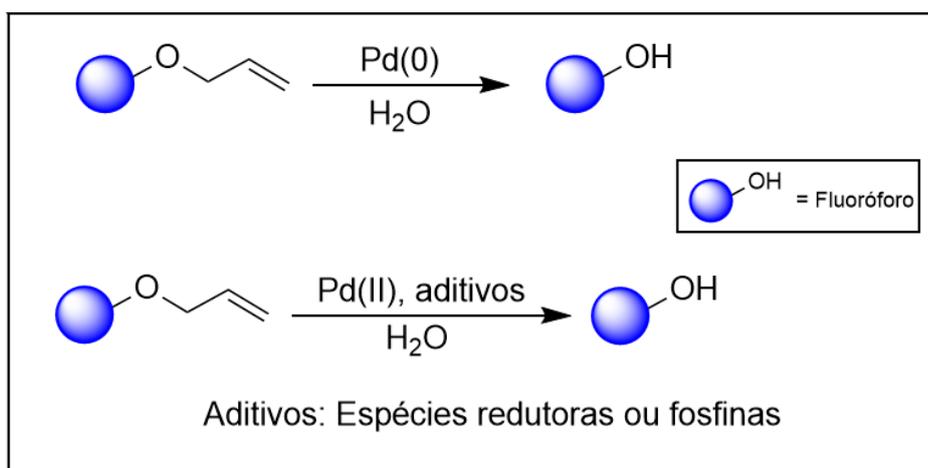
**Fonte:** Adaptado de Latocheski et al.(2020)<sup>4</sup>.

### 2.1.1. Reações de clivagem

O primeiro uso da clivagem de grupos alil em meio aquoso foi feita por Song et. al. (2007)<sup>5</sup> ao qual se desejava checar a presença de espécies de paládio em produtos farmacêuticos, através do uso de reações de acoplamento cruzado com fluoróforos protegidos. A espécie de Pd(0) demonstrou que é capaz de se inserir oxidativamente em ligações alílicas de éteres levando assim a clivagem de ligações C-O. No entanto, observou-se as mesmas conversões de fluorescência com o uso de Pd(II) em ambiente redutor ou com ligantes doadores de elétrons, como a fosfina<sup>5,6</sup>,

#### Esquema 2.

Esquema 2: Reação de desalilação com paládio



Fonte: Adaptado de Pohorilets et al.(2019)<sup>6</sup>.

A reação de clivagem de grupos alílicos e propagílicos já vem sendo utilizadas em tratamentos anticânceres e imageamento, por temporariamente minimizarem o efeito citotóxico de fármacos e a fluorescência de moléculas marcadores<sup>4</sup>. Estes grupos são muito utilizados por apresentarem baixa massa molar, alta densidade eletrônica, facilitando a interação com metais de transição, e serem estáveis em soluções aquosas<sup>7</sup>.

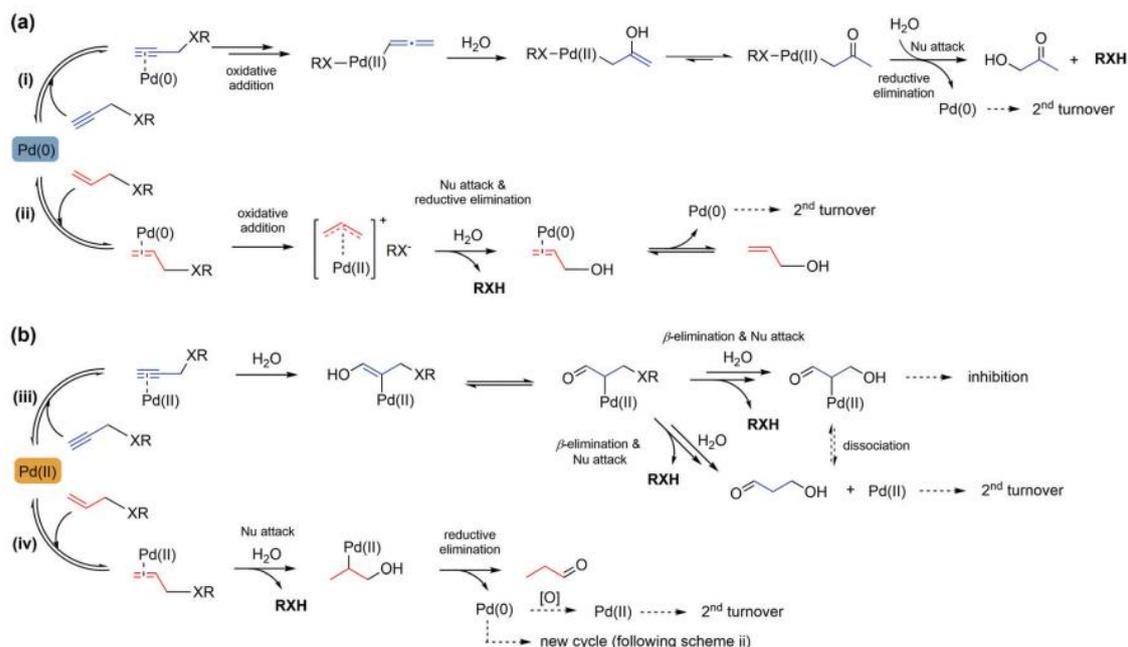
Os grupos aminas e hidroxilas são os grupos funcionais preferenciais a serem protegidos, por serem abundantes em fármacos e biomoléculas e geralmente estão relacionados com suas propriedades biológicas, ou seja, com a proteção destes grupos pode-se ter uma perda temporária de suas funções<sup>4</sup>. A desproteção de grupos alílicos e propagílicos em aminas e éteres pode ser mediada por metais de transição, que possuem alta afinidade por grupos ricos em elétrons<sup>8,9</sup>.

O paládio é um dos metais de transição mais utilizado em reações bio-ortogonais de clivagem de grupos propargílicos e alílicos, por ter alta afinidade com estes grupos e alto poder catalítico. Existem dois mecanismos possíveis para as reações de desalilação e despropargilação mediadas por paládio: o primeiro caminho utiliza espécies de Pd(0), estas espécies se inserem oxidativamente na ligação C-X (onde X pode ser N ou O), o segundo caminho faz o uso de espécies de Pd(II), ao qual complexa com o grupo protetor rico em elétrons seguido de uma reação de hidratação, nos dois casos há a ativação da molécula protegida<sup>4</sup>.

O estado de oxidação do metal desempenha um papel muito importante na primeira etapa de coordenação do substrato ao catalisador, o qual o grau de associação/dissociação do substrato/produto interfere e influencia diretamente na velocidade e rendimento da reação<sup>4,10</sup>.

As reações de desalilação e despropargilação com Pd(0) são diretas, para ambos os grupos ocorre a adição oxidativa seguida por uma etapa de reação com água, seguido de uma eliminação redutiva para regenerar o catalisador e continuar com o ciclos catalíticos. Reações com Pd(II) apresentam particularidades, em reações de despropargilação a regeneração do catalisador pode ser inibida, pela forte afinidade do metal com o substrato ou os produtos da reação. Em contraste, as reações de desalilação com Pd(II) são reações de oxi/redução, formando espécies de Pd(0) no primeiro ciclo catalítico, podendo esta espécie se oxidar e formar Pd(II) e começar um novo ciclo catalítico ou ainda iniciar um ciclo catalítico na sua forma reduzida<sup>4</sup>, como mostrado no **Esquema 3**.

**Esquema 3:** Mecanismo de desproteção bio-ortogonal de grupos alílicos e propargílicos mediadas por paládio.



Fonte: Latocheski et al.(2020)<sup>4</sup>.

## 2.2. NANOPARTÍCULAS

Nanopartículas metálicas têm ganhado grande interesse na academia e na indústria, devido às suas propriedades físicas e químicas distintas, em comparação com complexos metálicos ou folhas de metálicas. Estas propriedades são devido ao alto número de espécies metálicas em sua superfície, tendo cerca de 90% de átomos no exterior da nanopartícula quando estão em um tamanho próximo de 1 nm, o que proporciona muitos sítios ativos. Portanto, pode-se utilizar nanopartículas em diversos domínios como em sensores, conversão de energia, catálise e biomedicina <sup>11</sup>.

As nanopartículas são aglomerados de átomos metálicos estabilizados por ligantes, surfactantes, polímeros ou dendrímeros, podendo variar o tamanho de 1 nm a várias dezenas ou centenas de nanômetros, sendo dispersas na grande maioria dos solventes, ao contrário de folhas de metais<sup>12</sup>. Os sítios ativos de nanopartículas podem ter diferenças de reatividade, tendo menores números de coordenação de átomos nas arestas e bordas com a diminuição do tamanho da nanopartícula <sup>11</sup>.

As nanopartículas são aplicadas na catálise como suspensões coloidais ou em condições heterogêneas quando suportadas em superfícies sólidas como sílica, alumina ou grafeno. O emprego de um suporte pode tanto impedir a agregação das

nanopartículas, como também favorecer a ativação do substrato, de maneira sinérgica<sup>11</sup>. O mecanismo da catálise por nanopartículas pode seguir como uma catálise homogênea, onde ocorre a lixiviação do metal para o seio da reação ou de maneira heterogênea tendo uma reação na superfície da nanopartícula, podendo ser aferido cinéticas de envenenamento para o entendimento de qual sistema está ocorrendo<sup>13</sup>.

### **2.2.1. Nanopartículas de paládio**

A química do paládio encontra-se em uma posição de destaque por sua diversidade de transformações químicas, sendo as reações de Heck, Sonogashira e as clivagens de grupos propargílicos e alílicos as mais estudadas em ambientes biológicos<sup>14,15</sup>.

As nanopartículas podem ser inseridas em tumor por implantação, como mostrado por Bray et al<sup>16</sup>. Estas nanopartículas de paládio demonstraram estabilidade em sistema biológico, foram monitoradas por 3 dias após a sua aplicação confirmando que o material estava acumulado no local de interesse<sup>16</sup>, sendo este uma opção para a ativação de pró-fármacos ou pró-fluoróforos de maneira seletiva.

### **2.3. GRAFENO**

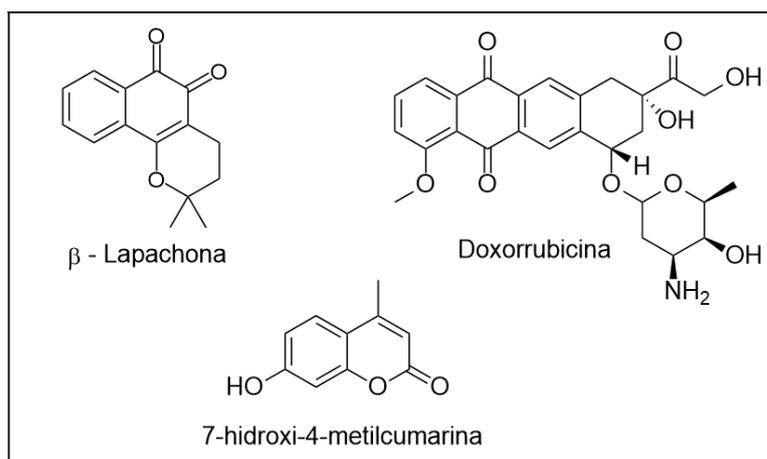
O grafeno é composto por átomos de carbono  $sp^2$  aos quais possuem um arranjo perfeito de uma camada, com apenas 1 átomo de carbono de forma bidimensional (2D). Por possuir este arranjo estrutural, o grafeno possui propriedades espectrais, eletrônicas e térmicas não presentes em outros materiais de carbono<sup>17</sup>. Pelas suas propriedades, e sendo este material seguro em sistemas biológicos em uma concentração baixa, há o interesse na implementação de grafeno em nanomateriais para aplicações biomédicas<sup>18</sup>.

Shen et al utilizou misturas de oxido de grafeno com polímeros com o intuito de realizar entrega seletiva de fármacos, o que permitiu a liberação controlada de fármacos em tratamento de cânceres<sup>19</sup>. A combinação de materiais nanoparticulados com o grafeno vem se mostrando mais vantajosa do que o uso do material sozinho, exibindo propriedades adicionais e sinérgicas que podem aumentar potencialmente a aplicação biológica<sup>17</sup>.

### 2.3.1. Nanopartículas suportadas em grafeno

A utilização do grafeno como suporte tem como objetivo a melhora do desempenho da catálise na desproteção de substratos, que tendem a se acumular no catalisador pela interação do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacking* com estruturas aromáticas<sup>17</sup>, normalmente presente na maioria dos fármacos e fluoróforos, como a doxorubicina, lapachona e a cumarina<sup>4,20</sup> (**Figura 1**).

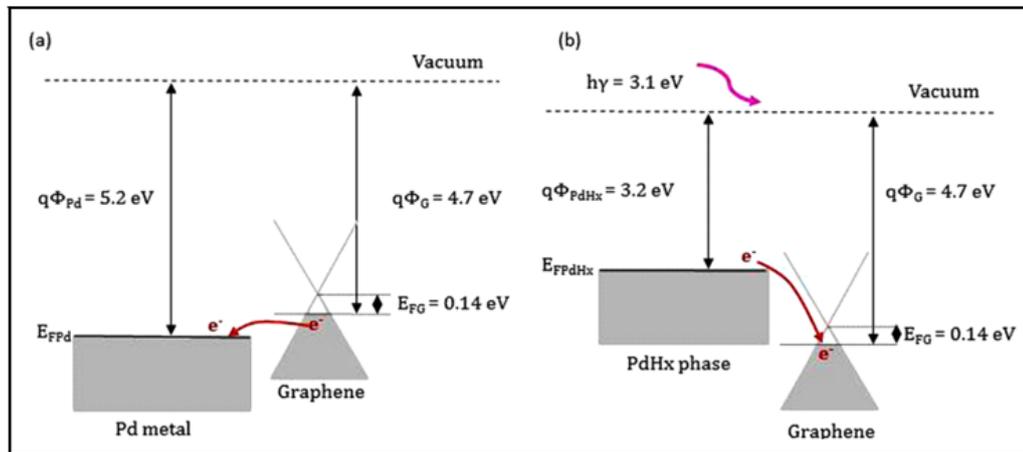
**Figura 1:** Estrutura da doxorubicina,  $\beta$ -lapachona e cumarina.



**Fonte:** A autora.

Um exemplo do efeito sinérgico de nanopartículas de paládio com o grafeno é no desenvolvimento de sensores de hidrogênios. Estudos mostraram que o grafeno sofre uma mudança na sua resistência induzida pela mudança da função de trabalho do paládio. O grafeno em sua forma pura se comporta como um semimetal, deste modo sua resistência diminui com o aumento da função de trabalho do paládio, como mostrado no **Esquema 4a**, tendo uma transferência de elétrons do grafeno para o paládio. Quando a reação prossegue, a função de trabalho do Pd-Hx diminui em comparação ao do grafeno, levando a um aumento da resistência do grafeno devido a transferência de elétrons do Pd-Hx, como mostrado no **Esquema 4b**. Deste modo, gerando um sistema onde o Paládio atua como catalisador e o grafeno é um reservatório de elétrons<sup>21</sup>.

**Esquema 4:** Diagrama de energia de banda a) Pd e grafeno e b) PdHx e grafeno.



**Fonte:** Tang et al.(2019)<sup>21</sup>.

### 3 OBJETIVOS

#### Objetivo Geral

Síntese de nanopartículas de Pd(0) e Pd(II) suportadas em grafeno, para a avaliação do efeito do suporte, na catálise por nanopartículas em reações de despropargilação de pró-fluoróforos de *O*-cumarina, em condições biológicas.

#### Objetivos específicos

- Desenvolver nanopartículas de Pd(0) e Pd(II) suportadas em grafeno;
- Sintetizar o substrato baseado na *O*-cumarina protegida com o grupo propargil;
- Realizar estudos cinéticos das reações de clivagem mediadas por paládio em condições similares às condições biológicas.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. MATERIAIS

Todos os reagentes e materiais utilizados durante as etapas de síntese foram obtidos por fontes comerciais (SIGMA ALDRICH, Brasil). Os solventes foram purificados por destilação e armazenados em peneira molecular de 4 Å e a água ultrapura obtida a partir do sistema de purificação TKA Smart2Pure.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos na central de análises da UFSC no equipamento BRUKER 400 MHz, que possui frequência de 400 MHz para espectros de  $^1\text{H}$  e 100 MHz para espectros de  $^{13}\text{C}$ . Os dados foram obtidos em clorofórmio deuterado e são descritos conforme seu deslocamento químico ( $\delta$ ) e sua multiplicidade.

#### 4.2.2. Absorção atômica

Todas as nanopartículas foram analisadas pela técnica de espectrometria de absorção atômica, disponível na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC, determinando a concentração de paládio das mesmas, após digestão com 2% de água régia ( $\text{HCl}:\text{HNO}_3 - 3:1$ ) em água deionizada.

#### 4.2.3. Microscopias

Realizou-se as análises de microscopia eletrônica de transmissão (TEM), disponíveis no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), para determinação de tamanho das nanopartículas. As amostras foram depositadas, a partir de uma suspensão em álcool, sobre grades de cobre com o polímero *formvar*® e analisadas no microscópio JEM-1011, operando em modo de transmissão. Fez-se a contagem do diâmetro das nanopartículas pelo programa ImageJ 1.53k (software gratuito).

#### 4.2.4. Voltametria cíclica

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101, disponível no laboratório de pesquisa LaBios, conectado ao software de processamento de dados NOV 1.11. Para execução das análises foi utilizado uma cela de vidro (capacidade máxima aproximada de 15 mL) sem compartimento divisório e com tampa provida de orifícios circulares para encaixe dos eletrodos e adição das soluções. Foi utilizado um sistema de três eletrodos: o eletrodo de carbono vítreo (GCE - *glassy carbon electrode*), como eletrodo de trabalho, um eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>), como eletrodo de referência e uma placa de platina (0,5 cm<sup>2</sup>) como contra-eletrodo.

#### 4.2.5. Espectrometria de fluorescência

Os espectros de emissão e cinética de despropargilação foram realizados empregando-se o fluorímetro Tecan infinite M200, disponível no LaCBio, em microplacas contendo noventa e seis poços. A coleta de dados foi realizada em tampão PBS (*Phosphate buffered saline*), com pH ajustado para 7,4 e na temperatura de 37 °C e 5% de DMSO.

### 4.3 PREPARAÇÃO DO TAMPÃO

O tampão PBS foi adquirido comercialmente na forma de pastilhas. Para o preparo da solução, uma pastilha foi dissolvida em 200 mL de água ultrapura fornecendo uma concentração de 10 mmol L<sup>-1</sup> de hidrogenofosfato dissódico, 2,7 mmol L<sup>-1</sup> de cloreto de potássio e 137 mmol L<sup>-1</sup> de cloreto de sódio. A solução permaneceu por dez minutos em banho de ultrassom para a remoção de todo dióxido de carbono possivelmente dissolvido, o pH foi ajustado para 7,4 e a solução foi mantida sobre refrigeração.

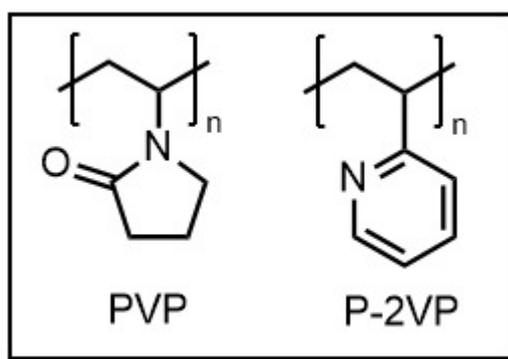
### 4.4. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO SUPORTADAS EM GRAFENO

A síntese das nanopartículas de Pd(II) e Pd(0) foi baseada em um método desenvolvido e reportado previamente pelo nosso grupo de pesquisa<sup>22</sup>. Fez-se adaptações na síntese para suportar as nanopartículas no grafeno. Para o suporte das nanopartículas no grafeno, utilizou-se dois métodos, o método reacional, onde

fez-se a síntese da nanopartícula na presença do grafeno; e o método de adsorção, ao qual as nanopartículas, feitas em uma etapa anterior, são suportadas no grafeno.

Utilizou-se dois polímeros diferentes para a estabilização das nanopartículas, o polivinilpirrolidona (PVP), polímero utilizado na síntese desenvolvida pelo nosso grupo de pesquisa<sup>22</sup>, e utilizou-se o poli-2(vinilpiridina) (P-2VP) (**Figura 2**). Visto que o P-2VP apresenta em sua estrutura anéis aromáticos, espera-se uma maior interação com o grafeno pela interação  $\pi$ - $\pi$  *stacking*, que poderá resultar numa eficiência maior de adsorção do metal no material<sup>17</sup>.

**Figura 2:** Estrutura dos polímeros PVP e P-2VP.



Fonte: A autora.

#### 4.4.1. Método de adsorção

Adicionou-se 6 mL água deionizada juntamente com 1,8 mL de solução aquosa de polímero, com concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup> baseada no monômero, e 0,9 mL da solução de acetato de paládio (Pd(OAc)<sub>2</sub>), concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup> em acetonitrila. Após 10 minutos adicionou-se 0,27 mL da solução aquosa de KI, concentração de 0,5 mol L<sup>-1</sup>, para a formação de nanopartículas de Pd(II). Adicionalmente, o agente redutor NaBH<sub>4</sub> é utilizado para a síntese das nanopartículas de Pd(0), nas mesmas proporções. Depois de 2 horas o meio reacional foi lavado com cerca de 30 mL de acetona pura. Centrifugaram-se as nanopartículas em uma centrífuga 16000 RPM da Ortoalresa por 20 minutos a 6000 rotações por minuto (RPM). Após a centrifugação retirou-se o sobrenadante e secou-se as nanopartículas por 1 hora a 60 °C.

Dispersaram-se as nanopartículas formadas em etanol, cada 10 mg de nanopartículas foram dispersas em 4 mL de etanol. Em um balão de fundo redondo adicionou-se o grafeno. Para cada mL de solvente adicionou-se 10 mg de grafeno, e

adicionou-se a dispersão das nanopartículas. Ultrassonicou-se a mistura reacional por 5 minutos e deixou-se sob agitação por 24 horas, para a adsorção das nanopartículas no grafeno. Após este período transferiu-se a solução reacional para um tubo de centrífuga e adicionou-se cerca de 5 mL de acetona pura. Centrifugaram-se as nanopartículas por 10 minutos a 6000 RPM. Após a centrifugação retirou-se o sobrenadante e secou-se as nanopartículas por 1 hora a 60 °C.

#### 4.4.2. Método reacional

Adicionou-se 89,7 mg de grafeno em um balão de fundo redondo, dispersou o grafeno em 6 mL de água deionizada no ultrassom. Sob agitação adicionou-se 1,8 mL de solução aquosa de polímero, com concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup> baseada no monômero, e 0,9 mL da solução de Pd(OAc)<sub>2</sub>, concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup> em acetonitrila. Após 10 minutos adicionou-se 0,27 mL da solução aquosa de KI, concentração de 0,5 mol L<sup>-1</sup>, para a formação de nanopartículas de Pd(II). Adicionalmente, o agente redutor NaBH<sub>4</sub> foi utilizado para a síntese das nanopartículas de Pd(0), nas mesmas proporções. Depois de 24 horas transferiu-se a solução reacional para um tubo de centrífuga e adicionou-se cerca de 5 mL de acetona pura. Centrifugou-se as nanopartículas por 10 minutos a 6000 RPM. Após a centrifugação retirou-se o sobrenadante e secou-se as nanopartículas por 1 hora a 60 °C.

#### 4.4.3 Lavagens das nanopartículas

A fim de remover excessos de polímeros nas nanopartículas e entender o suporte das nanopartículas no grafeno, foram feitas 3 lavagens logo após a formação das mesmas suportadas em grafenos. Utilizou-se 5 mL de acetona para cada lavagem, centrifugou-se em um tubo de centrífuga por 10 minutos a 6000 RPM e retirou-se o sobrenadante. A cada lavagem separou-se uma alíquota do material, sendo estas secas por 1 hora a 60 °C e devidamente caracterizadas.

#### 4.5. SÍNTESE DA PROTEÇÃO DA O-CUMARINA

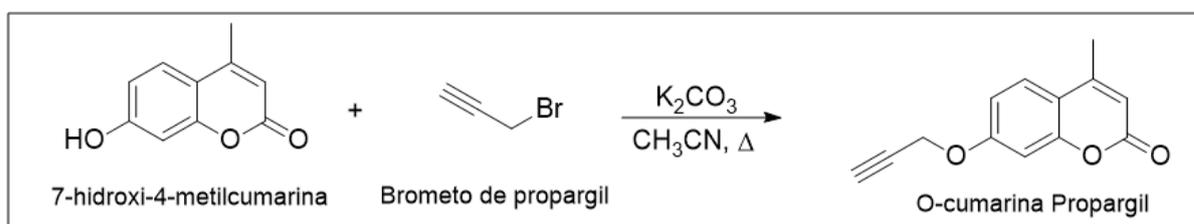
Como substratos foi empregado a O-cumarina (7-hidroxi-4-metilcumarina) protegida com o grupo propargílico (**Esquema 5**).

#### 4.5.1. O-Propargilcumarina

A síntese da O-propargilcumarina (7-propargiloxi-4-metilcumarina) foi realizada conforme descrito na literatura<sup>23</sup>, onde uma mistura de 7-hidroxi-4-metilcumarina (1 mmol) e  $K_2CO_3$  (15,8 mmol), é agitada em 12 mL de acetonitrila e atmosfera inerte para evitar a formação de subprodutos, com adição posterior de 1,1 mmol de brometo de propargila. Após a completa homogeneização, a reação permaneceu sob agitação por 12 horas à 60 °C.

A reação foi acompanhada por cromatografia de camada delgada (CCD) e ao término da reação rotaevaporou-se o solvente e o sólido remanescente foi dissolvido em 50 mL de  $CH_2Cl_2$  e lavado com 15 mL de solução aquosa saturada de  $NH_4Cl$ . Sequencialmente, foi extraída com 10 mL de  $CH_2Cl_2$  (3x), coletada a solução orgânica, secada com  $Na_2SO_4$  anidro, filtrada e rotaevaporada para obtenção do produto.

**Esquema 5:** Reação da proteção da O-cumarina protegida com o grupo protetor propargil.



**Fonte:** Adaptado de Andres et al. (2015)<sup>23</sup>.

#### 4.6. VOLTAMETRIA CÍCLICA

Para a utilização do GCE como eletrodo de trabalho, foi realizada uma etapa de limpeza da superfície, na qual foi polido mecanicamente, em uma suspensão aquosa de alumina (granulometria de 0,05  $\mu m$ ) sobre feltro, fazendo movimentos em forma de oito, durante um minuto. Para remover os resíduos de alumina, o eletrodo foi lavado com água ultrapura, e deixado em ultrassom por 180 segundos para a remoção dos eventuais resíduos de alumina na superfície.

Às dispersões das nanopartículas de paládio foram adicionados 10  $\mu L$  de Nafion® e agitadas em ultrassom durante 60 segundos. A modificação do eletrodo foi feita pelo método “*drop coating*” através do gotejamento de uma alíquota de 2  $\mu L$  da dispersão das nanopartículas, que foram inicialmente adicionadas com o auxílio de uma micropipeta, sobre a superfície do GCE limpo. A superfície do eletrodo foi seca em estufa durante 10 min ( $T = 40$  °C), e utilizado como eletrodo de trabalho.

As medidas de voltametria cíclica foram realizadas à temperatura ambiente (25°C) em uma célula eletroquímica contendo 15,0 mL do eletrólito de suporte (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>) com velocidade de varredura de 10 mV s<sup>-1</sup>.

#### 4.7. ESTUDOS DAS CINÉTICAS DE REAÇÃO

##### 4.7.1. Curva de calibração da O-cumarina

Para a curva de fluorescência, preparou-se um total de oito soluções da O-cumarina desprotegida com concentrações de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 µmol L<sup>-1</sup>, o volume final foi mantido em 300 µL com 5% de DMSO, pH 7,4 e temperatura de 37 °C. Realizou-se a varredura espectral de 380 nm a 600 nm de emissão e fixou o comprimento de onda de excitação em 380 nm e todos os pontos foram feitos em triplicata.

##### 4.7.2. Cinética de desproteção com variação da concentração de catalisadores

As cinéticas foram realizadas para três concentrações de catalisador na desproteção da O-propargilcumarina. A concentração de substrato foi mantida fixa em 20 µmol L<sup>-1</sup> enquanto o catalisador variou entre 5,10 e 20 µmol L<sup>-1</sup>. O volume final foi mantido em 300 µL com 5% de DMSO, pH 7,4 e temperatura de 37 °C e todos os pontos foram feitos em triplicata. Acompanhou-se as cinéticas por fluorescência em 380 nm de excitação e 512 nm de emissão.

##### 4.7.3. Cinética de despropargilação com variação da concentração de catalisador para determinar ordem de reação

As cinéticas foram realizadas para seis concentrações de catalisador na despropargilação da O-cumarina. A concentração de substrato foi mantida fixa em 20 µmol L<sup>-1</sup> enquanto o catalisador variou entre 0,2; 0,5; 1; 1,5; 2 e 5 µmol L<sup>-1</sup>. O volume final foi mantido em 300 µL com 5% de DMSO, pH 7,4 e temperatura de 37 °C e todos os pontos foram feitos em triplicata. Acompanhou-se as cinéticas por fluorescência em 380 nm de excitação e 512 nm de emissão.

##### 4.7.4. Cinética de despropargilação com variação da concentração de substrato

As cinéticas foram realizadas para doze concentrações de substrato. A concentração de catalisador foi fixada em 5 µmol L<sup>-1</sup> enquanto o substrato variou entre

5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 e 120  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O volume final foi mantido em 300  $\mu\text{L}$  com 5% de DMSO, pH 7,4 e temperatura de 37 °C e todos os pontos foram feitos em triplicata. Acompanhou-se as cinéticas por fluorescência em 380 nm de excitação e 512 nm de emissão.

#### **4.7.5. Cinéticas de despropargilação com aditivos**

As cinéticas foram realizadas para 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$  da *O*-propargilcumarina e 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$  das nanopartículas de paládio. Utilizou-se ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 10 equivalentes (200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e mercúrio (Hg) 33.847 equivalentes (677  $\text{mmol L}^{-1}$ ). O volume final foi mantido em 300  $\mu\text{L}$  com 5% de DMSO, pH 7,4 e temperatura de 37 °C e todos os pontos foram feitos em triplicata. Acompanhou-se as cinéticas por fluorescência em 380 nm de excitação e 512 nm de emissão.

#### **4.7.6. Cinéticas de despropargilação com nanopartículas sem grafeno e nanopartículas lavadas**

As cinéticas foram realizadas para uma concentração de catalisador para a desproteção da *O*-propargilcumarina. A concentração de substrato e catalisador foi mantida fixa em 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para todas as nanopartículas. O volume final foi mantido em 300  $\mu\text{L}$  com 5% de DMSO, pH 7,4 e temperatura de 37 °C e todos os pontos foram feitos em triplicata. Acompanhou-se as cinéticas por fluorescência em 380 nm de excitação e 512 nm de emissão.

### **4.8. SEGURANÇA NO LABORATÓRIO E TRATAMENTO DE RESÍDUOS.**

Em todo processo de síntese e de cinética fizeram emprego de equipamentos de proteção individual tais como o jaleco e luvas, para a segurança e para evitar possíveis contaminações. Para a utilização do grafeno utilizou-se máscara N95 e óculos de proteção, evitando deste modo a aspiração contínua do material e possíveis prejuízos nas vias oculares. A todo o momento que se utilizou a água régia foram utilizados óculos de proteção, para evitar lesões no glóbulo ocular, e manuseou-se na capela.

Quanto aos reagentes utilizados, foram separados em resíduos orgânicos clorados, orgânicos não-clorados e aquosos, sendo corrigido o pH para o devido descarte dos resíduos aquosos, e os materiais sólidos foram separados conforme sua

composição, o mercúrio foi tratado com enxofre, sendo destinados a empresa contratada pela UFSC (PROACTIVA MEIO AMBIENTE BRASIL LTDA) para o tratamento correto<sup>24</sup>.

Em toda a permanência no laboratório, seguiu-se o guia de biossegurança estabelecido pela portaria normativa N°339/2021/GR, de 17 de junho de 2021<sup>25</sup>.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

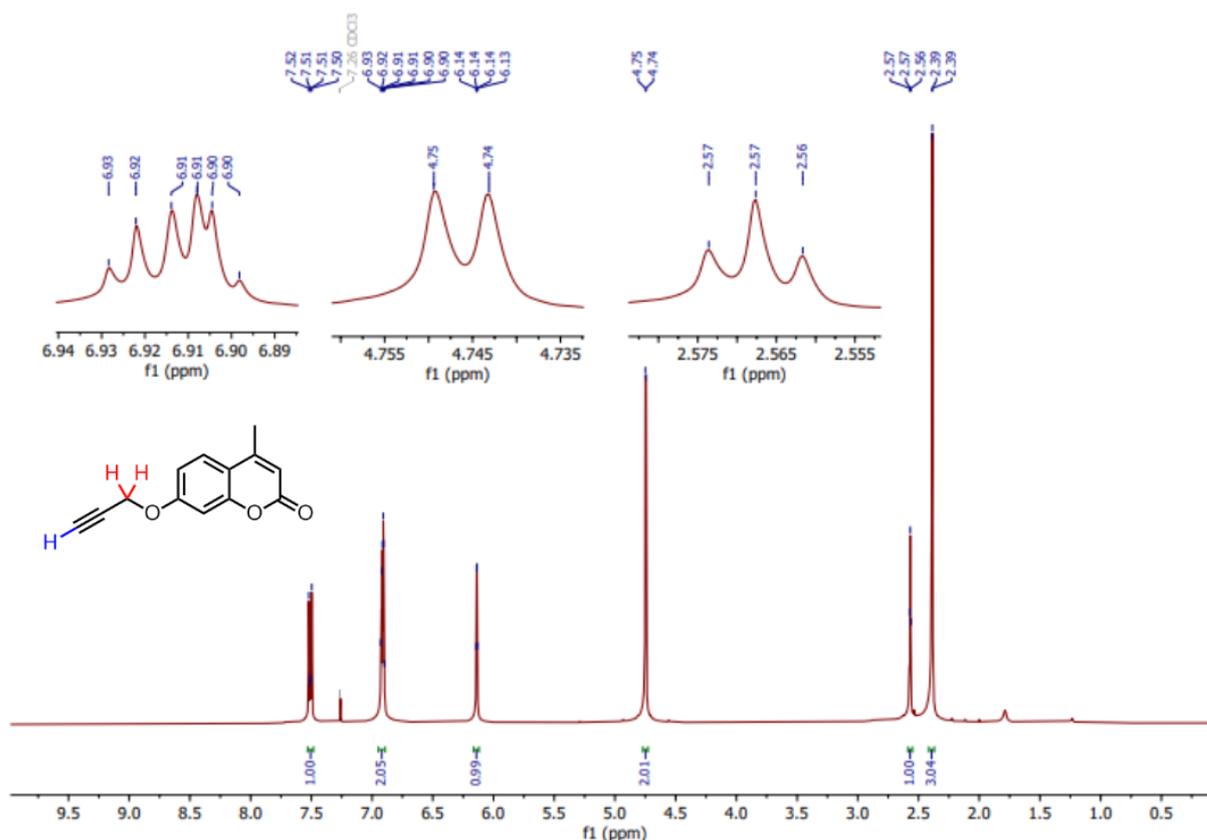
### 5.1. SÍNTESE DA O-PROPARGILCUMARINA

A propargilação da *O*-cumarina segue um mecanismo clássico do tipo  $S_N2$ , garantiu-se que todos os materiais e reagentes estivessem o mais secos possível para evitar reações secundárias com a água, levando à formação do álcool propargílico. Utilizou-se um excesso de base para a completa desprotonação do grupo -OH da *O*-cumarina.

Ao fim da reação obteve-se um rendimento de 91%, de um composto sólido de cor amarelada pálida com ponto de fusão de 135-141°C, não retratado na literatura. A caracterização foi feita por RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$ .

A **Figura 3** apresenta o espectro de RMN de  $^1H$  da molécula *O*-propargilcumarina, observa-se que existem apenas sinais do produto desejado. Os sinais que indicam a inserção do grupo propargil são os sinais em 2,57 ppm e 4,74 ppm, o tripleto em 2,57 ppm indica a presença do hidrogênio terminal da tripla (em azul), este sinal aparece como um tripleto devido a um acoplamento de longa distância ( $J = 2,4$  Hz) com os hidrogênios do  $CH_2$  (em vermelho). Já o sinal em 4,74 ppm, demonstra-se como um duplete, visto que, esse sinal representa os hidrogênios do  $CH_2$ , o grande deslocamento deste  $CH_2$  pode ser explicado devido a sua ligação com o átomo de oxigênio, que retira densidade eletrônica do carbono e por consequência a densidade do hidrogênio.

**Figura 3:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para a *O*-propargilcumarina em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz).

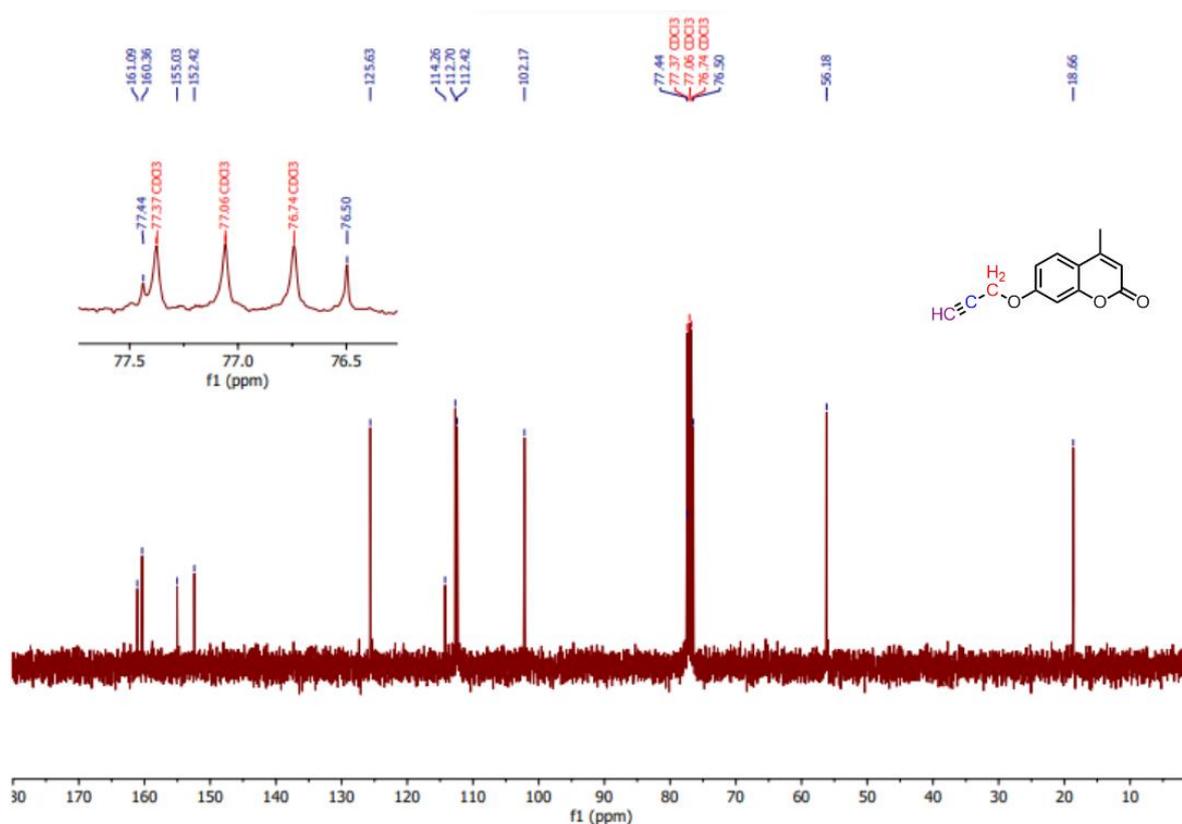


Fonte: A autora.

Os outros sinais apresentados no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  são característicos da molécula *O*-cumarina, como indicado no espectro reportado pelo fabricante<sup>26</sup>.

A **Figura 4** mostra o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , pode-se confirmar o número de carbonos presentes no produto sintetizado, onde no espectro são apresentados 13 sinais, e o produto final desejado também apresenta este número de carbonos. Outro indício da formação dos produtos desejados, é o aparecimento dos sinais em 77,44, 76,50 e 56,18 ppm, onde esses sinais representam os carbonos do grupo propargil. Os sinais dos carbonos da tripla ligação ficam próximos aos sinais do solvente ( $\text{CDCl}_3$ ), no entanto, observa-se que o sinal em 77,44 ppm representa o carbono terminal (em roxo), já o sinal em 76,50 ppm representa o carbono interno da tripla (em azul) e, por fim, o sinal em 56,18 ppm representa o carbono do  $\text{CH}_2$  (em vermelho).

**Figura 4:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para a O-propargilcumarina em  $\text{CDCl}_3$  (100 MHz).



Fonte: A autora.

Os outros sinais apresentados no espectro, são característicos da O-cumarina, como indicado no espectro reportado pelo fabricante<sup>26</sup>, portanto pode-se confirmar a inserção do grupamento propargil.

## 5.2. SÍNTESE DAS NANOPARTICULAS PELO MÉTODO DE ADSORÇÃO

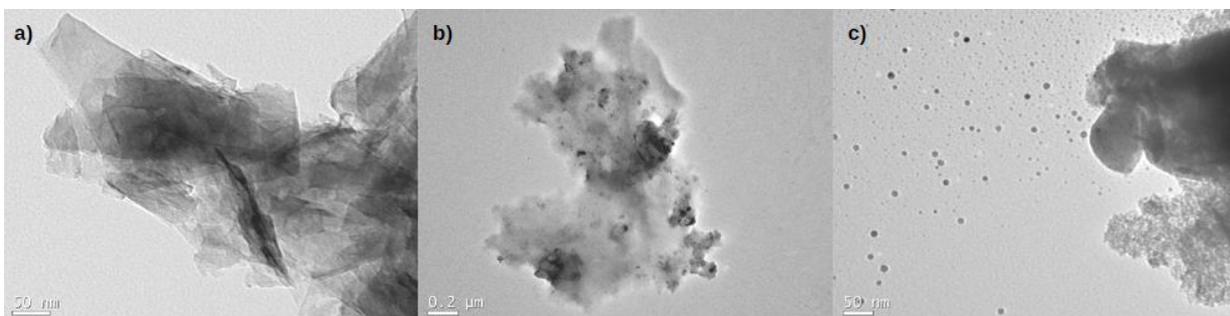
### 5.2.1. Nanopartículas estabilizadas pelo polímero PVP

A síntese das nanopartículas de Pd(0) e Pd(II) com o polímero PVP foram feitas com êxito. Após o isolamento das nanopartículas, fez-se a dispersão das mesmas em etanol e adicionou-se esta solução juntamente com o grafeno. E após a reação de adsorção das nanopartículas no grafeno, se isolou o material e comprovou-se a formação e adsorção das nanopartículas no grafeno por TEM.

A **Figura 5a** mostra a micrografia do grafeno e a **Figura 5b-c** expõe a micrografia das nanopartículas de Pd(0) adsorvidas no grafeno. Todas as amostras foram suspensas em etanol para a deposição sobre a grade de cobre. As partículas demonstraram morfologia esféricas, com baixa dispersidade e aglomeradas sobre o

suporte. A **Figura 5c** demonstra que para esta síntese, não foi efetiva a adsorção das nanopartículas no grafeno. Além disso, este material não teve dispersidade em DMSO, não sendo possível acompanhar a cinética de desproteção da O-cumarina.

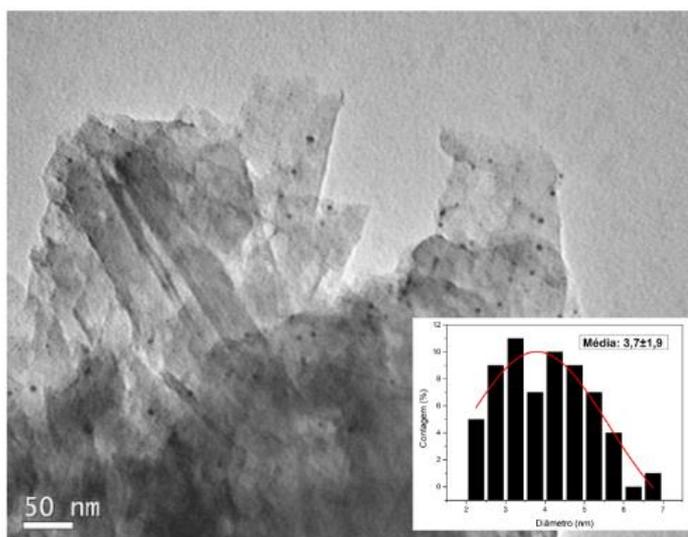
**Figura 5:** Micrografia do grafeno a) e micrografia das nanopartículas de Pd(0) suportadas em grafeno (0,2  $\mu\text{m}$  e 50 nm) b-c).



**Fonte:** A autora.

A **Figura 6** mostra a micrografia e o histograma das nanopartículas de Pd(II) adsorvidas no grafeno, as partículas demonstraram morfologia esférica, com alta dispersidade sobre o suporte e, de modo geral, pouco aglomeradas. A contagem das partículas indica um diâmetro médio de  $3,7 \pm 1,9$  nm. Este material também não teve dispersidade em DMSO, não sendo possível realizar a cinética de desproteção.

**Figura 6:** Micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(II) suportadas em grafeno.

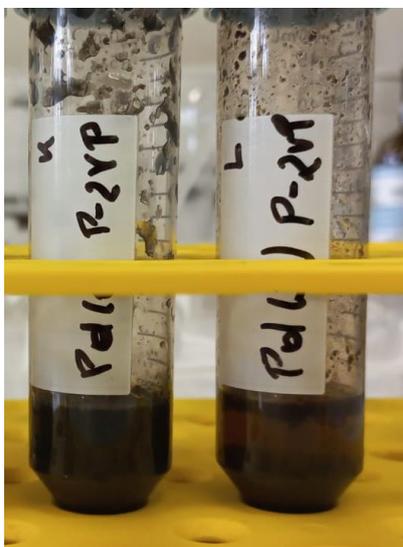


**Fonte:** A autora.

### 5.2.2. Nanopartículas estabilizadas pelo polímero P-2VP.

As sínteses de nanopartículas de paládio com o polímero P-2VP não foram bem sucedidas, obteve-se uma decantação das nanopartícula de Pd(II), como mostrado na **Figura 7**.

**Figura 7:** Síntese das nanopartículas de paládio com o polímero P-2VP.



**Fonte:** A autora.

Prosseguiu-se o suporte das nanopartículas no grafeno, no entanto todas as nanopartículas não se demonstraram dispersas em etanol. Pela falta de dispersidade não foi adotado esta metodologia para a síntese de nanopartículas.

## 5.3. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS PELO MÉTODO REACIONAL

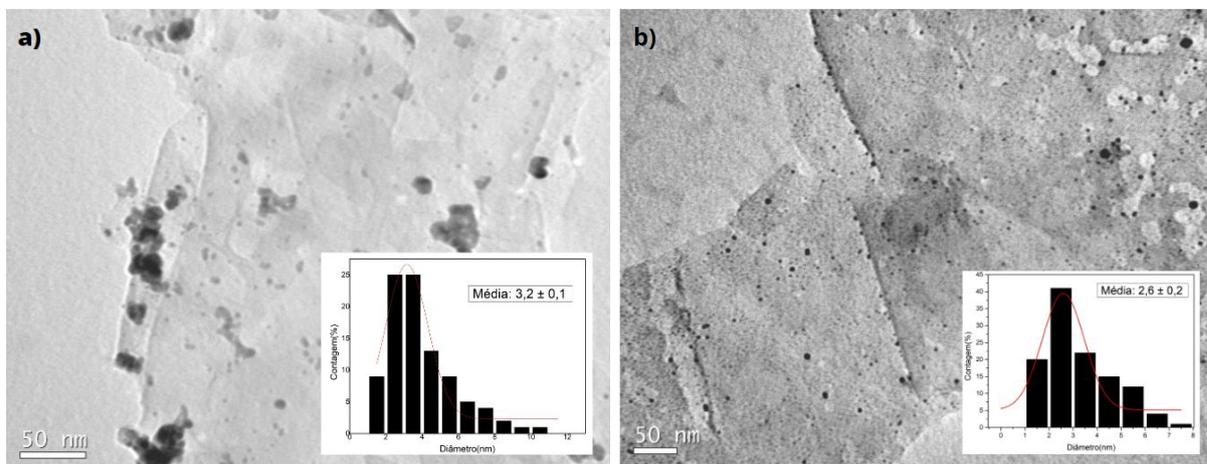
### 5.3.1. PVP

A síntese das nanopartículas de Pd(0) e Pd(II) com o polímero PVP suportadas em grafeno, pelo método reacional, foram feitas com êxito, sendo comprovada a formação das mesmas através das análises de TEM para as nanopartículas com 0 lavagens.

A **Figura 8a** mostra a micrografia e o histograma das nanopartículas de Pd(0)-PVP suportadas em grafeno e a **Figura 8b** mostra a micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(II)-PVP suportadas no grafeno. As partículas demonstraram morfologia esférica, com grande dispersidade sobre o suporte e de modo geral, sem aglomeração, para as nanopartículas de Pd(II)-PVP, e com aglomeração para as

nanopartículas de Pd(0)-PVP. A contagem das partículas indicou um diâmetro médio de  $3,2 \text{ nm} \pm 0,1 \text{ nm}$  e  $2,6 \text{ nm} \pm 0,2$  para Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP, respectivamente.

**Figura 8:** Micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(0)-PVP suportadas em grafeno **a)** e micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(II)-PVP suportadas em grafeno **b)**.



**Fonte:** A autora.

Para determinar a quantidade de paládio no material depois de isolado, realizou-se análise de espectrometria de absorção atômica. Fez-se a análise para todas as lavagens do material buscando compreender a adsorção das nanopartículas no grafeno. Os resultados obtidos estão dispostos na **Tabela 1**.

**Tabela 1:** Concentração de paládio nas nanopartículas estabilizadas pelo polímero PVP suportadas em grafeno.

Número de lavagens	Pd(0)-PVP concentração de Pd(%)	Pd(II)-PVP concentração de Pd (%)
0 lavagens	$7,34 \pm 0,15$	$7,31 \pm 0,07$
1 lavagem	$6,72 \pm 0,05$	$3,69 \pm 0,02$
2 lavagens	$6,41 \pm 0,02$	$2,71 \pm 0,02$
3 lavagens	$6,35 \pm 0,03$	$2,37 \pm 0,03$

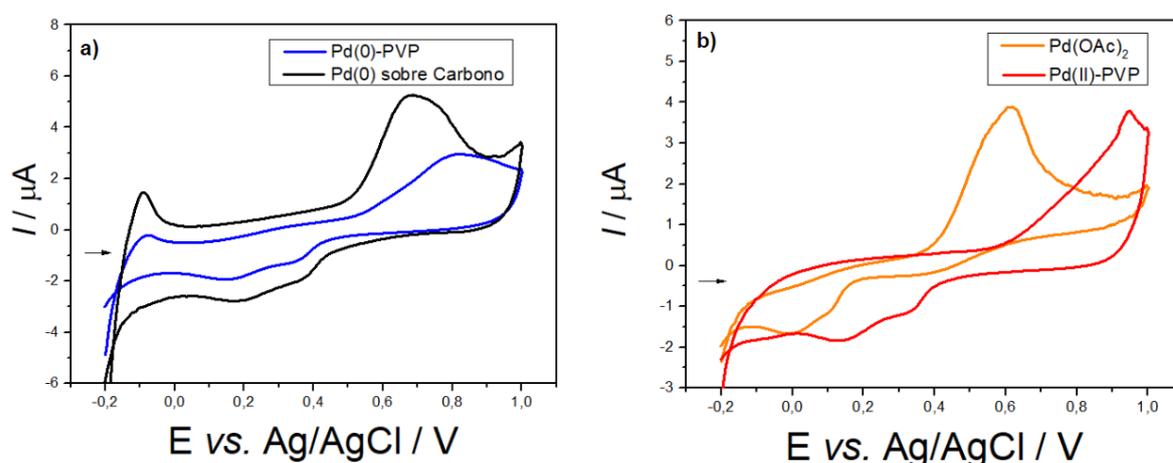
**Fonte:** A autora.

Os dados de absorção atômica demonstram que as nanopartículas de Pd(0) não sofrem uma diminuição significativa de paládio, no entanto, para as nanopartículas de Pd(II) há uma diminuição significativa da concentração de paládio para a primeira lavagem. No entanto, a concentração de Paládio após a segunda

lavagem não sofre uma mudança considerável, demonstrando que as nanopartículas de paládio estão bem absorvidas no grafeno.

As voltametrias cíclicas para as nanopartículas de Pd(0)-PVP demonstram sinais característicos de Pd(0) e Pd(II), como demonstrado na **Figura 9a**, ao qual a linha preta é Pd(0) sobre carbono comercial e a linha em azul é as nanopartículas de Pd(0)-PVP. O primeiro sinal é a oxidação do Pd(0) para Pd(II), em -0,075 V, e o segundo sinal é a oxidação do Pd(II) para Pd(IV), em 0,82 V. Para as nanopartículas de Pd(II)-PVP é observado apenas um sinal característico de Pd(II), em 0,95 V, demonstrando que a síntese de nanopartículas de Pd(II) foi obtida com êxito, como mostrado na **Figura 9b**. É possível observar o sinal característico de oxidação do Pd(II) para Pd(IV) do acetato de paládio comercial, evidenciando o efeito do suporte, pelo deslocamento do sinal da nanopartícula Pd(II)-PVP em relação ao padrão.

**Figura 9:** Voltametria cíclica Pd(0) sobre carbono (comercial) e Pd(0)-PVP suportado sobre grafeno a) e voltametria cíclica acetato de paládio (comercial) e Pd(II)-PVP suportado em grafeno b).



Fonte: A autora.

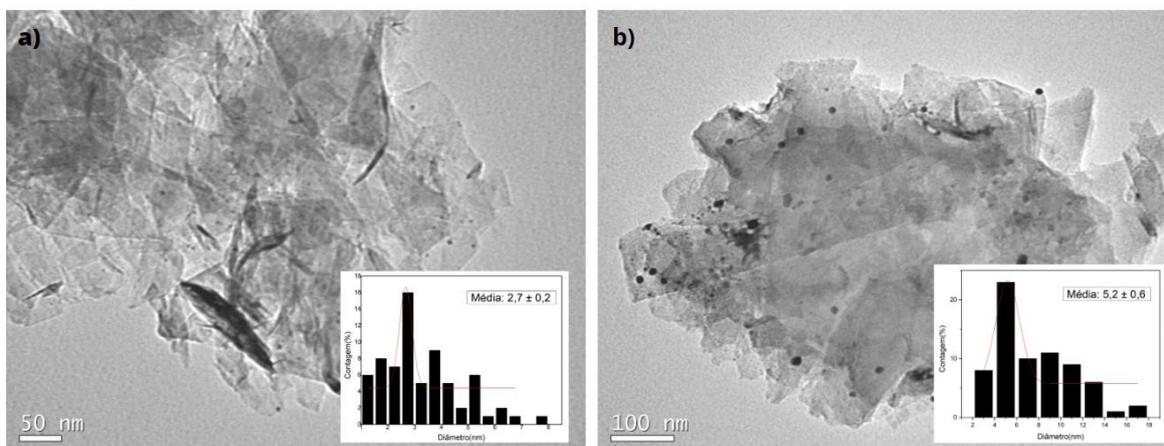
### 5.3.2. P-2VP

A síntese das nanopartículas de Pd(0) e Pd(II) com o polímero P-2VP suportadas em grafeno, pelo método reacional, foram feitas com êxito, sendo comprovada a formação das mesmas através das análises de TEM para as nanopartículas com 0 lavagens.

A **Figura 10a** mostra a micrografia e o histograma das nanopartículas de Pd(0)-P-2VP suportadas em grafeno e a **Figura 10b** mostra a micrografia e histograma das

nanopartículas de Pd(II)-P-2VP suportadas no grafeno. As partículas demonstram morfologia esférica, com grande dispersidade sobre o suporte e de modo geral, sem aglomeração. A contagem das partículas indicou um diâmetro médio de  $2,7 \text{ nm} \pm 0,2 \text{ nm}$  e  $5,2 \text{ nm} \pm 0,6 \text{ nm}$  para Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP, respectivamente.

**Figura 10:** Micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(0)-P-2VP suportadas em grafeno a) e micrografia e histograma das nanopartículas de Pd(II)-P-2VP suportadas em grafeno b).



Fonte: A autora.

Para determinar a quantidade de paládio no material depois de isolado, realizou-se análise de espectrometria de absorção atômica. Fez-se a análise para todas as lavagens do material buscando compreender a adsorção das nanopartículas no grafeno. Os resultados obtidos estão dispostos na **Tabela 2**.

**Tabela 2:** Concentração de paládio nas nanopartículas estabilizadas pelo polímero P-2VP suportadas em grafeno.

Número de lavagens	Pd(0)-P-2VP concentração de Pd(%)	Pd(II)-P-2VP concentração de Pd (%)
0 lavagens	$10,57 \pm 0,34$	$8,39 \pm 0,07$
1 lavagem	$4,34 \pm 0,05$	$1,97 \pm 0,01$
2 lavagens	$3,85 \pm 0,03$	$1,09 \pm 0,01$
3 lavagens	$4,19 \pm 0,03$	$0,84 \pm 0,01$

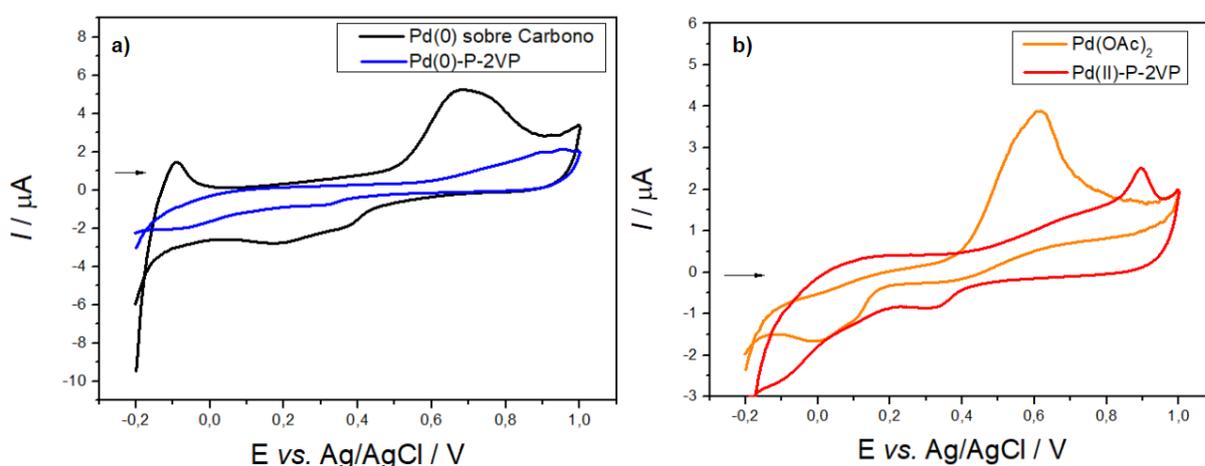
Fonte: A autora.

Os dados de absorção atômica demonstram que para as nanopartículas de Pd(0)-P-2VP ocorreu uma grande perda de paládio para a primeira lavagem. No

entanto, a concentração de paládio após a segunda lavagem não sofre uma mudança significativa, demonstrando que as nanopartículas de paládio estão bem absorvidas no grafeno. É observado um acréscimo de paládio entre a lavagem 2 e 3, este dado pode ser explicado por este material ser heterogêneo podendo ter maior concentração de paládio em algumas partes pontuais do material. Para as nanopartículas de Pd(II)-P-2VP é observado uma grande perda de paládio para as lavagens 1 e 2, demonstrando que estas nanopartículas não estão bem adsorvidas no grafeno.

Os dados de voltametria cíclicas não chegaram a uma conclusão sobre o estado de oxidação de cada espécie, como demonstrado na **Figura 11**. É possível observar o sinal característico de oxidação do Pd(II) para Pd(IV), em 0,90 V, para as nanopartículas Pd(II)-P-2VP em um sinal próximo do obtido para o Pd(OAc)<sub>2</sub>, este sinal está deslocada pelo efeito do suporte. Para as nanopartículas Pd(0)-P-2VP não é observado nenhum sinal característico de oxidação do metal. Pela falta do sinal característico da oxidação de Pd(0) para Pd(II) no início da corrida não se pode afirmar o estado de oxidação das nanopartículas, necessitando de outras técnicas, como SAXS (Espalhamento de Raios X a baixos ângulos), para a determinação das espécies de paládio presentes em cada material.

**Figura 11:** Voltametria cíclica Pd(0) em carbono (comercial) e Pd(0)-P-2VP suportadas sobre grafeno a) e voltametria cíclica acetato de paládio (comercial) e Pd(II)-P-2VP suportadas em grafeno b).



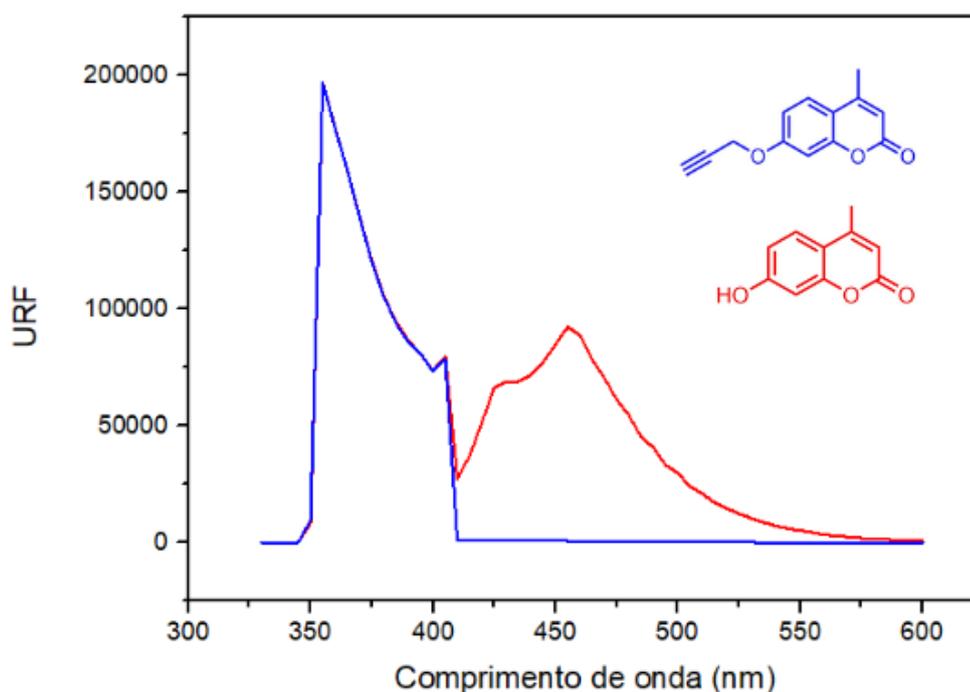
Fonte: A autora.

#### 5.4. ANÁLISE FLUORIMÉTRICA DO SUBSTRATO E PRODUTO

Primeiramente fez-se a varredura espectral de fluorescência da *O*-cumarina protegida com o grupo propargil em conjunto com a *O*-cumarina desprotegida, a fim

de saber se a fluorescência era suprimida com o grupo protetor. Fez-se uma varredura de emissão de 380 nm a 600 nm com o comprimento de excitação de 380 nm. Obteve-se a **Figura 12**, ao qual pode-se notar uma banda de excitação em 380 nm para todas as cumarinas e duas bandas de emissão apenas para a *O*-cumarina desprotegida, demonstrando que para esses comprimentos de onda de excitação pode-se acompanhar a cinética de desproteção.

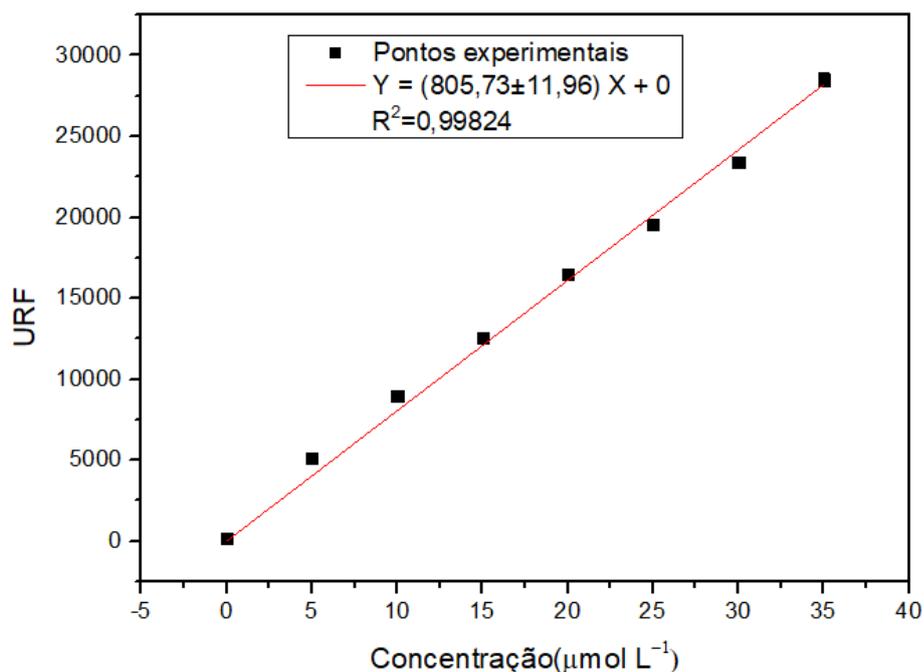
**Figura 12:** Espectro de fluorescência da *O*-propargilcumarina e *O*-cumarina. (Condições Gerais: 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C,  $\lambda_{exc}=380$  nm e  $\lambda_{em}=512$  nm)



Fonte: A autora.

Fez-se uma curva de calibração para o produto (*O*-cumarina), para determinar se há linearidade entre a concentração e a intensidade de fluorescência na faixa de concentração que se pretende avaliar as reações de desproteção, obteve-se a linearização no comprimento de onda de emissão em 512 nm. Fez-se a curva de calibração em triplicata, como mostrado na **Figura 13**.

**Figura 13:** Curva de calibração da O-cumarina. (Condições Gerais: 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C  $\lambda_{exc}$ =380 nm e  $\lambda_{em}$ =512 nm)



**Fonte:** A autora.

Nota-se que o coeficiente de determinação obtido foi bem próximo de 1 ( $R^2=0,998$ ), demonstrando a adequação da reta. Observando uma relação linear entre a unidade relativa de fluorescência (URF) e a concentração de substrato, assim é possível relacionar o URF com a concentração de produto no decorrer de toda a reação.

Como utilizou-se microplacas de 96 poços nas medidas, o caminho ótico não é definido e por este motivo o coeficiente angular representa um valor proporcional à emissão molar e não o valor dela em si. É conveniente introduzir uma nova variável denominada  $\mathcal{E}'$ , que é o produto da emissão molar e o caminho ótico, reescrevendo a relação conforme a **Equação (5.1)**. Neste sentido é importante fixar-se o volume em todos os experimentos, deste modo, fixaram-se o volume para todas as medidas em 300  $\mu\text{L}$ .

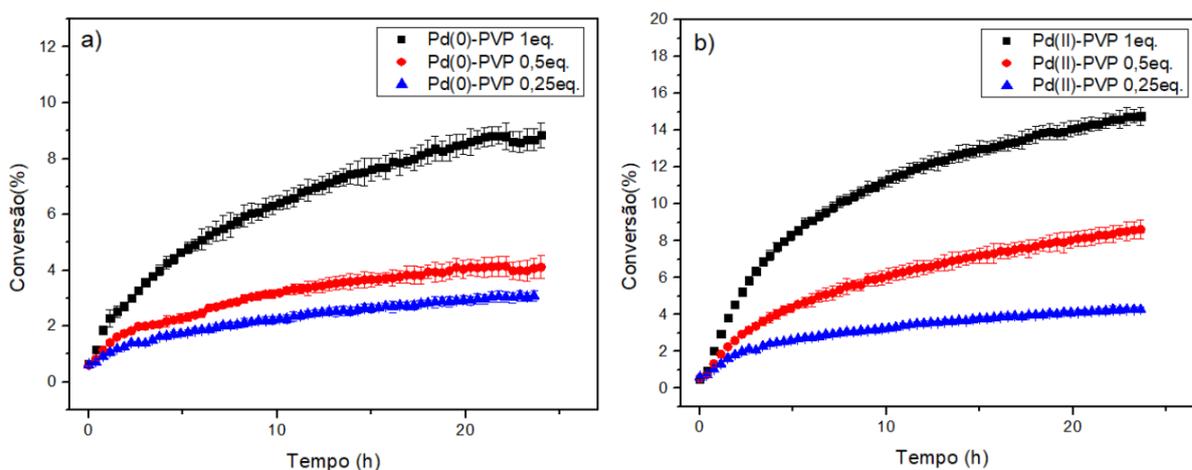
$$URF = \mathcal{E} l C = \mathcal{E}' C \quad (5.1)$$

## 5.5. ESTUDOS CINÉTICOS DA REAÇÃO DE DESPROPARGILAÇÃO DA O-PROPARGILCUMARINA MEDIADA PELAS NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO ESTABILIZADAS COM PVP

### 5.5.1. Cinética com variação de concentração de catalisador

Para as nanopartículas estabilizadas com o polímero PVP observou-se cinéticas lentas as quais não obtiveram saturação após intervalos de 24 horas de reação, obtendo-se com 1 equivalente de catalisador conversões de 9% e 14,8% para as nanopartículas de Pd(0) e Pd(II), respectivamente, como mostrado na **Figura 14**.

**Figura 14:** Perfis cinéticos para conversão de O-propargilcumarina das nanopartículas de Pd(0)-PVP a) e perfis cinéticos para conversão de O-propargilcumarina das nanopartículas de Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais: 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C,  $\lambda_{\text{exc}}$ =380 nm e  $\lambda_{\text{em}}$ =512 nm)



Fonte: A autora.

O número de *turnovers* (TON) para o catalisador Pd(0)-PVP foi de 0,09 para 1 e 0,5 equivalentes. Para o catalisador Pd(II)-PVP o TON obtido foi de 0,15 e 0,17 para 1 e 0,5 equivalentes, respectivamente. Estes dados mostram que ambos os catalisadores estão sofrendo inibição.

A lei de velocidade geral para reação com duas componentes é dada pela **Equação 5.2**.

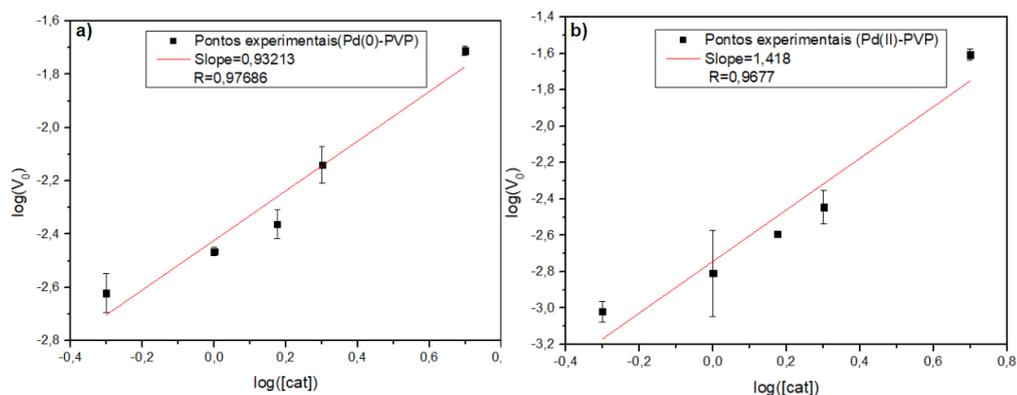
$$V = k[A]^m[B]^n \quad (5.2)$$

Onde  $k$  é a constante de velocidade e  $m$  e  $n$  são as ordens de reação de A e B, respectivamente. A ordem da reação de uma componente pode ser obtida por um gráfico de log vs. log, como demonstrado na **Equação 5.3**.

$$\log(V) = (\log k + m \log[A]) + n \log[B] \quad (5.3)$$

O valor do coeficiente angular no gráfico da **Figura 15** corresponde a ordem da reação em relação ao catalisador, sendo aproximadamente 1 para a nanopartícula de Pd(0) e 1,5 para a nanopartícula de Pd(II).

**Figura 15:** Gráfico de  $\log(V_0)$  versus  $\log([\text{cat}])$  para a reação de despropargilação da *O*-cumarina com o catalisador Pd(0)-PVP a) e com o catalisador Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais:  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\lambda_{\text{exc}}=380 \text{ nm}$  e  $\lambda_{\text{em}}=512 \text{ nm}$ )



Fonte: A autora.

Por se tratar de uma reação heterogênea, a ordem geral da reação pode sugerir um número fracionário, como é mostrado para a ordem do catalisador Pd(II)-PVP. A reação em 1 equivalente de catalisador se encontra em uma condição de segunda ordem, considerando que a concentração de substrato é a mesma que o catalisador se obtém a **Equação 5.4**.

$$v = k_2[A]^2 \quad (5.4)$$

Integrando-se a **Equação 5.4** obtém-se a **Equação 5.5**

$$[A] = \frac{[A]_0}{1 + [A]_0 k_2 t} \quad (5.5)$$

É possível obter a constante de velocidade via regressão não linear pela **Equação 5.5**, como mostrado no **Apêndice A**. Realizou-se a regressão não linear obtendo os valores de  $k_2$  para 1 equivalente de  $11,0 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para Pd(0)-PVP e para Pd(II)-PVP obteve-se o valor de  $12,0 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para 1 equivalente, como mostrado na **Tabela 3**. Estes valores de constante de velocidades são considerados altos para reações bio-ortogonais, normalmente considera-se valores adequados de  $k_2 \geq 1 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .

$1 \text{ s}^{-1}$  <sup>27</sup>, deste modo, tais catalisadores podem ser utilizados em reações de desproteção em reações bio-ortogonais.

**Tabela 3:** Constantes obtidas para os catalisadores Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP.

Catalisador	$k_2$ (L mol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$K_M$ (μmol L <sup>-1</sup> )	$k_{cat}$ (s <sup>-1</sup> )	$k_{cat}/K_M$ (L mol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Pd(0)-PVP	11,0	11,04	$8,52 \cdot 10^{-6}$	0,77
Pd(II)-PVP	12,0	25,75	$1,77 \cdot 10^{-5}$	0,69

Fonte: A autora.

Obtém-se o TOF50 partindo do TON de cada catalisador, como demonstrado na **Tabela 4**, este número reflete o número de conversões que ocorreram por segundo até a metade da reação (50%). Obteve o TOF50 de  $1,22 \cdot 10^{-6}$  e  $3,00 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  para os catalisadores Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP, respectivamente, em 1 equivalente.

**Tabela 4:** Dados obtidos pela cinética de despropargilação da *O*-propargilcumarina para os catalisadores Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP.

Catalisador	Equivalente	TON	TOF50 (s <sup>-1</sup> )	R (%)
Pd(0)-PVP	0,25	0,120	$1,80 \cdot 10^{-6}$	3,0
Pd(0)-PVP	0,5	0,084	$1,36 \cdot 10^{-6}$	4,2
Pd(0)-PVP	1	0,09	$1,22 \cdot 10^{-6}$	9
Pd(II)-PVP	0,25	0,172	$3,99 \cdot 10^{-6}$	4,3
Pd(II)-PVP	0,5	0,172	$2,34 \cdot 10^{-6}$	8,6
Pd(II)-PVP	1	0,147	$3,00 \cdot 10^{-6}$	14,7

Fonte: A autora.

### 5.5.2. Cinéticas com variação da concentração de substrato

Visto que a reação não segue um mecanismo convencional, acompanhou-se a cinética de despropargilação da *O*-cumarina variando-se a concentração de substrato e fixando a concentração de catalisador em  $5 \text{ μmol L}^{-1}$ . Obteve-se um perfil cinético de saturação, ao qual é explicado por uma reação de pré-equilíbrio de associação do catalisador com o substrato antes da ocorrência da reação, como demonstrado na

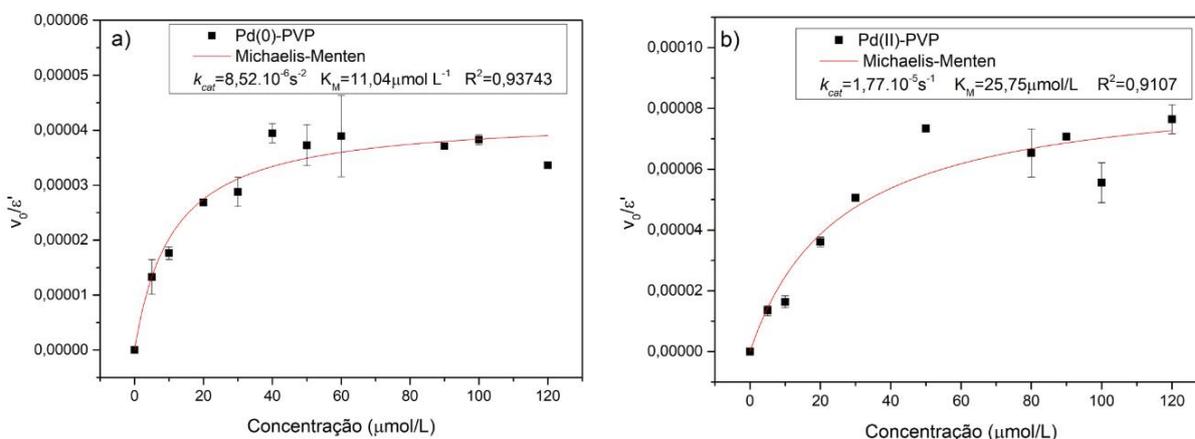
**Equação 5.6**, assim como o mecanismo de Michaelis-Menten para enzimas<sup>27</sup>. Sendo tratado os dados com a **Equação 5.7** onde  $v_0$  é a velocidade inicial e  $[S]$  é a concentração do substrato, a qual pode-se obter a constante de primeira ordem,  $k_{cat}$  (constante de velocidade catalítica) e  $K_M$  (constante de Michaelis-Menten), que é a constante de associação e dissociação do catalisador com o substrato.



$$v_0 = \frac{k_{cat}[E]_0[S]}{(K_M + [S])} \quad (5.7)$$

É apresentado no gráfico da **Figura 16** e na **Tabela 3** que o catalisador Pd(0)-PVP possui  $k_{cat}$  na ordem de 2 vezes menor do que para o catalisador Pd(II)-PVP. Os valores de  $K_M$  para o catalisador Pd(0)-PVP é de  $11 \mu\text{mol L}^{-1}$  e para o catalisador Pd(II)-PVP é de  $26,76 \mu\text{mol L}^{-1}$ , demonstrando que o catalisador Pd(II)-PVP possui menor afinidade com o substrato. Pelo cálculo do  $k_{cat}/K_M$  pode-se encontrar a eficiência catalítica de cada catalisador, como mostrado pela **Tabela 3** é observado que não há diferença significativa entre os catalisadores sendo  $0,77$  e  $0,69 \text{ L mol}^{-1}\text{s}^{-1}$  para os catalisadores Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP, respectivamente.

**Figura 16:** Dependência da velocidade inicial pela concentração da O-propargilcumarina para o catalisador Pd(0)-PVP a) e para o catalisador Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais: 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C,  $\lambda_{exc}=380 \text{ nm}$  e  $\lambda_{em}=512 \text{ nm}$ )



Fonte: A autora.

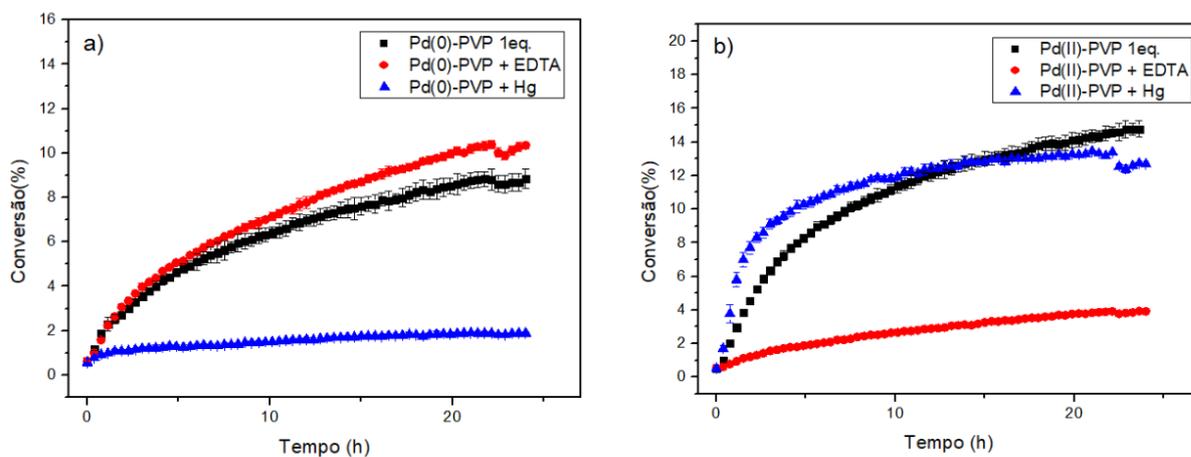
### 5.5.3. Cinética com aditivos

Para entender como o estado de oxidação do paládio afeta a reação de despropargilação da O-cumarina utilizou EDTA, o qual pode-se complexar com

espécies de Pd(II) e Hg(0), que envenena espécies heterogêneas sendo adsorvido na superfície do metal<sup>28</sup>.

O gráfico da **Figura 17a** mostra que para o catalisador Pd(0)-PVP com Hg(0) ocorreu a inibição da reação, a adição de EDTA não ocorreu mudança no perfil cinético, deste modo, o Pd(0) é a espécie ativa para esta reação. O gráfico da **Figura 17b** mostra que para o catalisador Pd(II)-PVP ocorre inativação com EDTA, demonstrando que existe espécies de Pd(II) ativas para esta reação, o uso de Hg(0) demonstrou uma leve inibição da reação, no entanto, pode-se notar que ha uma modificação no perfil cinético podendo existir espécies de Pd(0) para este catalisador ocorrendo uma reação secundária mais lenta. Contudo, é demonstrado na literatura que uma interação com Pd(II) é possível, em sistemas heterogêneos<sup>29</sup>.

**Figura 17:** Adição de EDTA e Hg(0) na reação de despropargilação da *O*-cumarina com os catalisadores Pd(0)-PVP a) e Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais: 20  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>, 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C,  $\lambda_{exc}$ =380 nm e  $\lambda_{em}$ =512 nm)

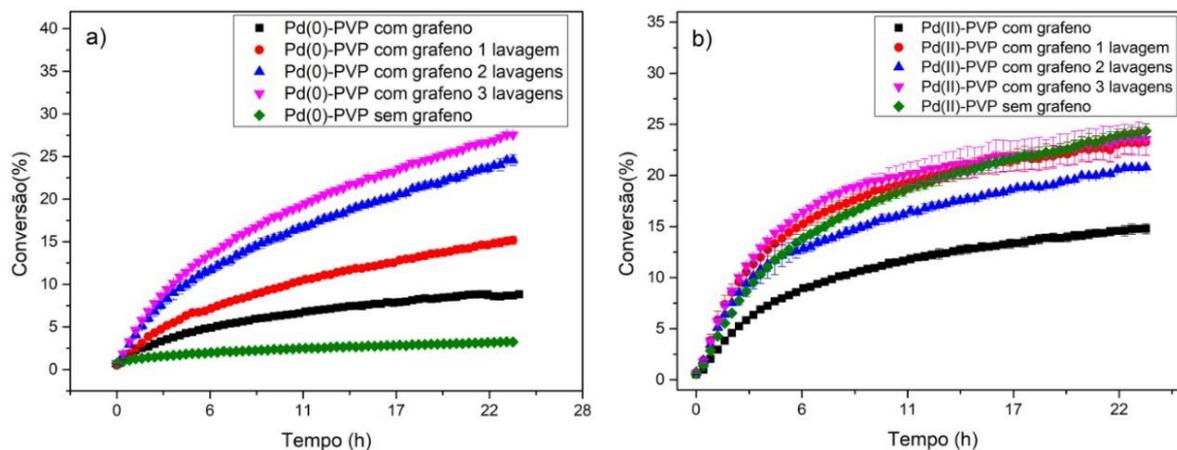


Fonte: A autora.

#### 5.5.4. Cinéticas com nanopartículas lavadas e nanopartículas sem grafeno

Para testar a sinergia do grafeno para a reação de despropargilação da *O*-cumarina se utilizou os catalisadores com as lavagens, como exposto na **Figura 18**.

**Figura 18:** Reação de despropargilação da O-propargilcumarina com catalisadores lavados catalisador Pd(0)-PVP com e sem grafeno a) catalisador Pd(II)-PVP com e sem grafeno b). (Condições Gerais: 20  $\mu\text{mol}$  L-1, 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37  $^{\circ}\text{C}$ ,  $\lambda_{\text{exc}}$ =380 nm e  $\lambda_{\text{em}}$ =512 nm)



Fonte: A autora.

O gráfico da **Figura 18a** mostra que para todas as lavagens, mas principalmente para a terceira lavagem, há um aumento de conversão. A **Tabela 1** mostra que teve uma diminuição de paládio entre as lavagens, ou seja, ocorreu lixiviação das nanopartículas que não estavam bem adsorvidas no grafeno, ocorrendo também a lavagem do polímero remanescente tornando o metal mais disponível para a catálise<sup>30</sup>. Estes resultados demonstram que as nanopartículas que sobraram destas lavagens estão adsorvidas no grafeno e está ocorrendo efeito sinérgico entre as nanopartículas e o grafeno. É importante notar que a nanopartícula sem grafeno possui conversão muito baixa em comparação com todas as nanopartículas que estão suportadas no grafeno, ou seja, para as nanopartículas de Pd(0)-PVP com grafeno ocorre uma melhora significativa na reação de despropargilação da O-cumarina.

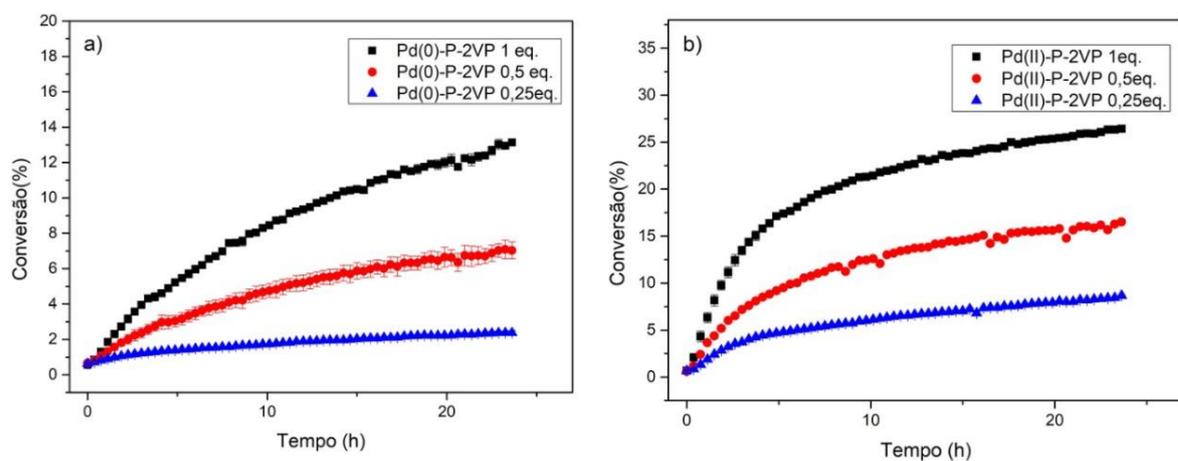
Para o gráfico da **Figura 18b** é demonstrado que com as lavagens das nanopartículas houve uma melhora de atividade do material, no entanto, a nanopartícula sem grafeno apresenta rendimentos similares das nanopartículas com grafeno. Deste modo para este sistema o efeito sinérgico das nanopartículas com grafeno não é tão significativo e se entende que com a adição do grafeno não há uma alteração da conversão da reação.

## 5.6. ESTUDOS CINÉTICOS DA REAÇÃO DE DESPROPARGILAÇÃO DA O-PROPARGILCUMARINA MEDIADA PELAS NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO ESTABILIZADAS COM P-2VP

### 5.6.1. Cinética com variação de concentração de catalisador

Para as nanopartículas estabilizadas com o polímero P-2VP observou-se cinéticas lentas as quais não obtiveram saturação após intervalos de 24 horas de reação, obtendo conversões em 1 equivalente de 13,3% e 26,6% para as nanopartículas de Pd(0) e Pd(II), respectivamente, como mostrado na **Figura 19**.

**Figura 19** : Perfis cinéticos para conversão de O-propargilcumarina com nanopartículas de Pd(0)-P-2VP a) e perfis cinéticos para conversão com O-propargilcumarina das nanopartículas de Pd(II)-P-2VP b). (Condições Gerais: 20  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>, 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C,  $\lambda_{exc}$ =380 nm e  $\lambda_{em}$ =512 nm)

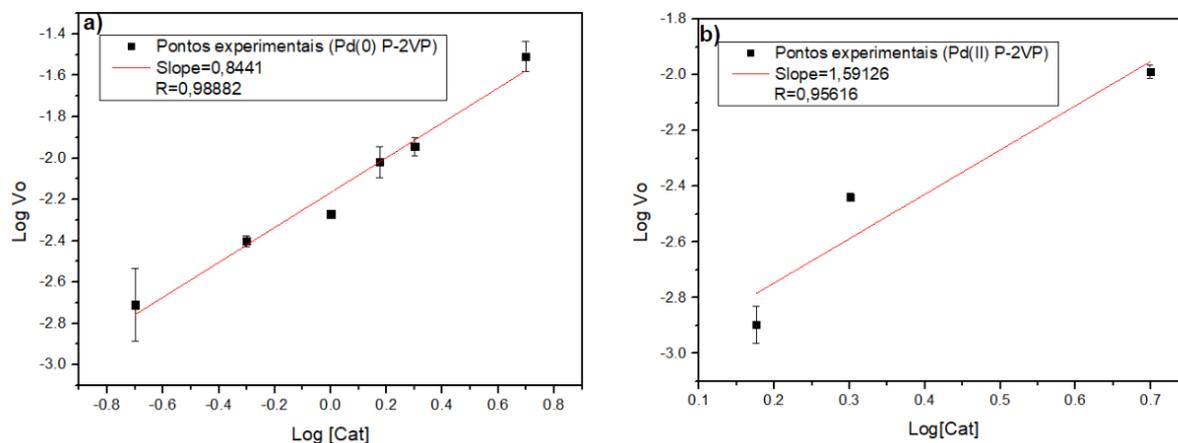


Fonte: A autora.

O número de TON para o catalisador Pd(0)-P-2VP foi de 0,13 para 1 equivalente. Para o catalisador Pd(II)-P-2VP o TON obtido foi de 0,27 para 1 equivalente. Demonstrando que ambos os catalisadores estão sofrendo inibição.

O valor do coeficiente angular no gráfico da **Figura 20** corresponde a ordem da reação em relação ao catalisador, sendo aproximadamente 1 para a nanopartícula de Pd(0) e 1,6 para a nanopartícula de Pd(II).

**Figura 20:** Gráfico de  $\log(V_0)$  versus  $\log([\text{cat}])$  para a reação de despropargilação da *O*-propargilcumarina com o catalisador Pd(0)-P-2VP a) e com o catalisador Pd(II)-P-2VP b). (Condições Gerais:  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO,  $\text{pH} = 7,4$ ,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\lambda_{\text{exc}}=380 \text{ nm}$  e  $\lambda_{\text{em}}=512 \text{ nm}$ )



Fonte: A autora.

Por se tratar de uma reação heterogênea, a ordem geral da reação pode sugerir um número fracionário, como é mostrado para a ordem do catalisador Pd(II)-P-2VP. A reação em 1 equivalente de catalisador se encontra em uma condição de segunda ordem, deste modo, para obter-se a constante de velocidade utilizou-se a **Equação 5.5**.

Realizou-se a regressão não linear, como mostrado no **Apêndice C**, obtendo os valores de  $k_2$  de 3,72 e 11,5  $\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1}$  para 1 equivalente de Pd(0)-P-2VP e Pd(II)-P-2VP, respectivamente como mostrado na **Tabela 5**. Estes valores de constante de velocidades são considerados altos para reações bio-ortogonais, normalmente considera-se valores adequados de  $k_2 \geq 1 \text{ L mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ , deste modo, tais catalisadores podem ser utilizados em reações de desproteção em reações bio-ortogonais.

**Tabela 5:** Constantes obtidas para os catalisadores Pd(0)-P-2VP e Pd(II)-P-2VP

Catalisador	$k_2 (\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1})$	$K_M (\mu\text{mol L}^{-1})$	$k_{\text{cat}} (\text{s}^{-1})$	$k_{\text{cat}}/K_M (\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1})$
Pd(0)-P-2VP	3,72	12,60	$4,32 \cdot 10^{-6}$	0,34
Pd(II)-P-2VP	11,6	22,10	$3,06 \cdot 10^{-5}$	1,38

Fonte: A autora

Obtém-se o TOF50 partindo do TON de cada catalisador, como demonstrado na **Tabela 6**. Obteve o TOF50 em 1 equivalente de  $3,08 \cdot 10^{-6}$  e  $6,16 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$  para os catalisadores Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP, respectivamente.

**Tabela 6:** Dados obtidos pela cinética de despropargilação da O-cumarina para os catalisadores Pd(0)-P-2VP e Pd(II)-P-2VP.

Catalisador	Equivalente	TON	TOF50 ( $\text{s}^{-1}$ )	R (%)
Pd(0)-P-2VP	0,25	0,096	$1,74 \cdot 10^{-6}$	2,4
Pd(0)-P-2VP	0,5	0,142	$3,29 \cdot 10^{-6}$	7,1
Pd(0)-P-2VP	1	0,133	$3,08 \cdot 10^{-6}$	13,3
Pd(II)-P-2VP	0,25	0,340	$7,88 \cdot 10^{-6}$	8,5
Pd(II)-P-2VP	0,5	0,328	$7,60 \cdot 10^{-6}$	16,4
Pd(II)-P-2VP	1	0,266	$6,16 \cdot 10^{-6}$	26,6

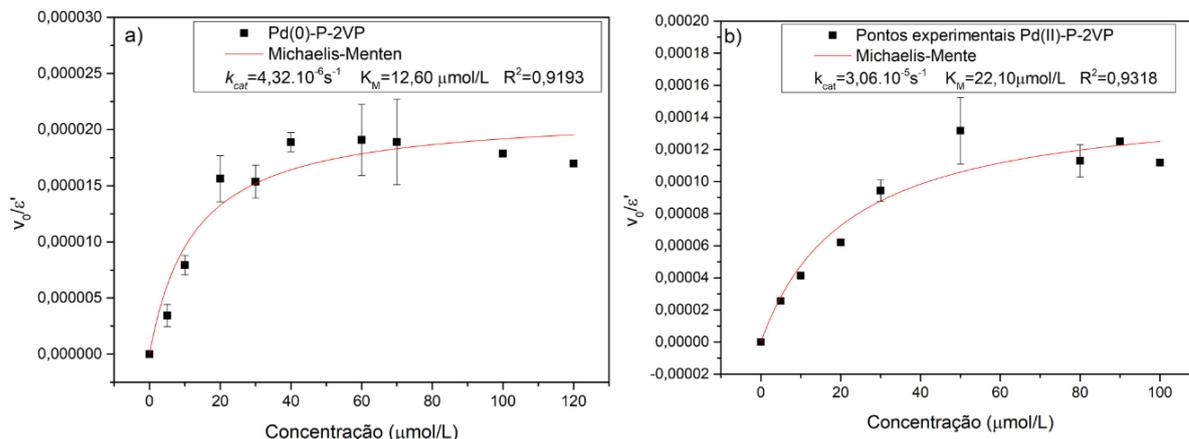
Fonte: A autora.

### 5.6.2. Cinéticas com variação da concentração de substrato

Visto que a reação segue um mecanismo heterogêneo, acompanhou-se a cinética de despropargilação da O-propargilcumarina variando-se a concentração de substrato e fixando a concentração de catalisador em  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Obteve-se um perfil cinético de saturação, sendo tratado os dados com a Equação 5.7 onde  $v_0$  é a velocidade inicial e  $[S]$  é a concentração do substrato, a qual pode-se obter  $k_{cat}$  e  $K_M$ .

É apresentado no gráfico da **Figura 21** que o catalisador Pd(0)-P-2VP possui  $k_{cat}$  na ordem de 7,1 vezes menor do que para o catalisador Pd(II)-PVP. Os valores de  $K_M$  para o catalisador Pd(0)-P-2VP é de  $12,6 \mu\text{mol L}^{-1}$  e para o catalisador Pd(II)-P-2VP é de  $22,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ , demonstrando que para o catalisador Pd(II)-P-2VP a menor afinidade com o substrato. Pelo cálculo do  $k_{cat}/K_M$  pode-se encontrar a eficiência catalítica de cada catalisador, como mostrado pela **Tabela 5** é observado que o catalisador Pd(II)-P-2VP possui um  $k_{cat}/K_M = 1,38$  e o catalisador Pd(0)-P-2VP um  $k_{cat}/K_M = 0,34$ , demonstrando o motivo do catalisador Pd(II)-P-2VP ser muito mais eficiente do que o catalisador Pd(0)-P-2VP.

**Figura 21:** Dependência da velocidade inicial pela concentração da *O*-propargilcumarina para o catalisador Pd(0)-P-2VP a) e para o catalisador Pd(II)-P-2VP b). (Condições Gerais: 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C,  $\lambda_{exc}$ =380 nm e  $\lambda_{em}$ =512 nm)



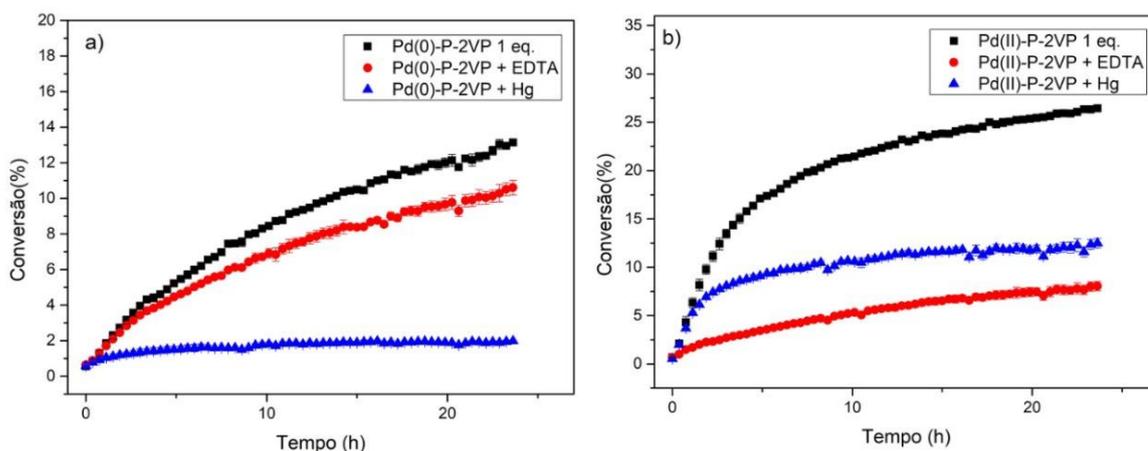
Fonte: A autora.

### 5.6.3. Cinética com aditivos

Para entender como o estado de oxidação do paládio afeta a reação de despropargilação da *O*-propargilcumarina utilizou EDTA, o qual pode-se complexar com espécies de Pd(II) e Hg(0), que envenena espécies heterogêneas sendo adsorvido na superfície do metal, como discutido anteriormente.

O gráfico da **Figura 22a** mostra que para o catalisador Pd(0)-P-2VP com Hg(0) ocorreu a inibição da reação, a adição de EDTA não ocorreu mudança no perfil cinético, deste modo, o Pd(0) é a espécie ativa para esta reação. O gráfico da **Figura 22b** mostra que para o catalisador Pd(II)-PVP ocorre uma grande inativação com EDTA, demonstrando que existe espécies de Pd(II) ativas para esta reação, o uso de Hg(0) inibiu a reação, mostrando que espécies heterogêneas de metal são ativas para a catálise desta reação.

**Figura 22:** Adição de EDTA e Hg(0) na reação de despropargilação da *O*-cumarina com os catalisadores Pd(0)-PVP a) e Pd(II)-PVP b). (Condições Gerais: 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C,  $\lambda_{\text{exc}}=380 \text{ nm}$  e  $\lambda_{\text{em}}=512 \text{ nm}$ )

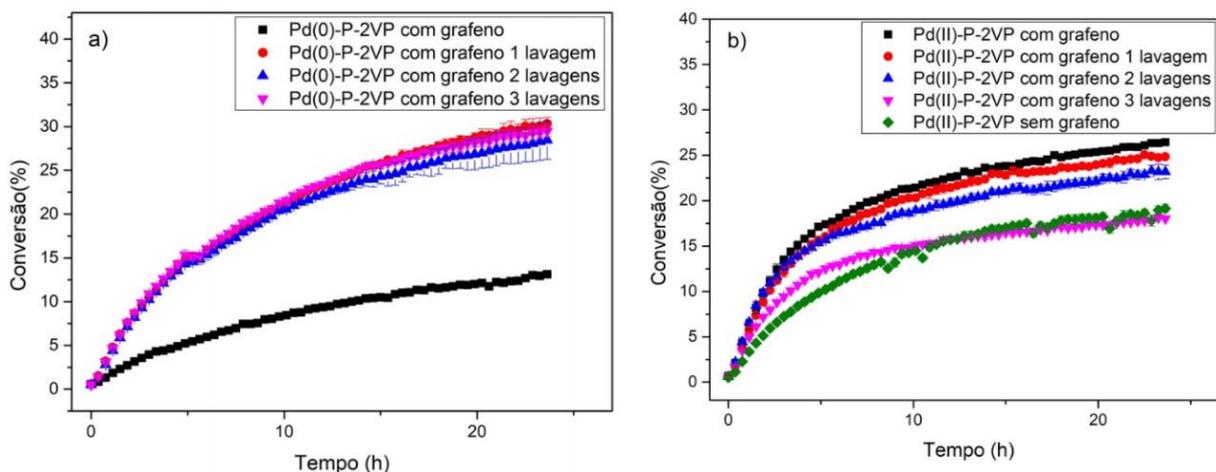


Fonte: A autora.

#### 5.6.4. Cinéticas com nanopartículas lavadas e nanopartículas sem grafeno

Para testar a sinergia do grafeno para a reação de despropargilação da *O*-cumarina foram utilizados os catalisadores com as lavagens, como exposto na **Figura 23**.

**Figura 23:** Reação de despropargilação da *O*-cumarina com catalisadores lavados catalisador Pd(0)-P-2VP com grafeno a) catalisador Pd(II)-P-2VP com e sem grafeno b). (Condições Gerais: 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 95% PBS/5% DMSO, pH = 7,4, 37 °C,  $\lambda_{\text{exc}}=380 \text{ nm}$  e  $\lambda_{\text{em}}=512 \text{ nm}$ )



Fonte: A autora.

O gráfico da **Figura 23a** mostra que para todas as lavagens, à um aumento de duas vezes a mais de conversão de *O*-cumarina, a **Tabela 2** mostra que teve uma

diminuição de paládio entre as lavagens, ou seja, ocorreu lixiviação das nanopartículas que não estavam bem adsorvidas no grafeno com as lavagens, ocorrendo também a lavagem do polímero remanescente tornando o metal mais disponível para a catálise. Estes resultados demonstram que as nanopartículas que sobraram destas lavagens estão adsorvidas no grafeno e está ocorrendo efeito sinérgico entre as nanopartículas e o grafeno. Para este catalisador, não foi possível dispersar as nanopartículas sem grafeno, não podendo ser feita a comparação se a superfície do grafeno está tendo efeito sinérgico com as nanopartículas.

Para o gráfico da **Figura 23b** é demonstrado que com as lavagens das nanopartículas ocorreu uma piora na atividade do material, no entanto, a reação com a nanopartícula sem grafeno demonstra rendimento muito baixo em comparação às nanopartículas com grafeno. Deste modo, para este sistema o efeito sinérgico das nanopartículas com grafeno é significativo.

## 6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi realizada com sucesso a síntese e caracterização do pró-fluoróforo O-propargilcumarina. Realizou-se a síntese e as caracterizações por TEM, voltametria cíclica e absorção atômica das nanopartículas de Pd(0) e Pd(II) estabilizadas pelos polímeros PVP e P-2VP suportadas em grafeno, pelo método reacional.

Foi possível acompanhar as cinéticas de desproteção com todos os catalisadores sintetizados. O catalisador de Pd(0)-PVP suportado em grafeno obteve conversões maiores do que para os catalisadores de Pd(0)-PVP sem o suporte de grafeno, demonstrando a sinergia das nanopartículas suportadas em grafeno na desproteção de fluoróforos aromáticos. Para o catalisador Pd(II)-PVP ocorreram rendimentos similares com do catalisador sem suporte em grafeno, demonstrando que para este sistema não ocorreu o efeito sinérgico significativamente, no entanto, o grafeno não afetou a reação de desproteção da O-cumarina.

Os catalisadores de Pd(0)-P-2VP e Pd(II)-P-2VP suportados em grafeno tiveram rendimentos de 13,3 e 26,6%, respectivamente, com 1 equiv de Pd.

Os catalisadores estabilizados com o polímero P-2VP se demonstraram mais promissores do que os estabilizados com PVP, como demonstrado pelo TOF50, onde o catalisador Pd(0)-P-2VP teve o valor de  $3,08 \cdot 10^{-6}$  e o catalisador Pd(0)-PVP teve o valor  $1,22 \cdot 10^{-6}$ , um aumento de 2,5 vezes. Os valores de TOF50 para o catalisador Pd(II)-P-2VP foi de  $6,16 \cdot 10^{-6}$  e para o catalisador Pd(II)-PVP foi de  $3,00 \cdot 10^{-6}$ , um aumento de 2,1 vezes. Demonstrando que para essas reações de desproteção a mudança do estabilizante da nanopartícula tem influência na eficiência do catalisador.

## 7 REFERÊNCIAS

<sup>1</sup>THE NOBEL FOUNDATION. The nobel prize in chemistry. **Disponível em:** <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/>.

<sup>2</sup>Prescher, Jennifer A., Danielle H. Dube, e Carolyn R. Bertozzi. “Chemical Remodelling of Cell Surfaces in Living Animals”. **Nature** 430, nº 7002 (agosto de 2004): 873–77. <https://doi.org/10.1038/nature02791>.

<sup>3</sup>Sun, Tao, Tian Lv, Jianbing Wu, Mingchao Zhu, Yue Fei, Jie Zhu, Yihua Zhang, e Zhangjian Huang. “General Strategy for Integrated Bioorthogonal Prodrugs: Pt(II)-Triggered Depropargylation Enables Controllable Drug Activation *In Vivo*”. **Journal of Medicinal Chemistry** 63, nº 22 (25 de novembro de 2020): 13899–912. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01435>.

<sup>4</sup>Latocheski, Eloah, Gean M. Dal Forno, Thuany M. Ferreira, Bruno L. Oliveira, Gonçalo J. L. Bernardes, e Josiel B. Domingos. “Mechanistic Insights into Transition Metal-Mediated Bioorthogonal Uncaging Reactions”. **Chemical Society Reviews** 49, nº 21 (2020): 7710–29. <https://doi.org/10.1039/DOCS00630K>.

<sup>5</sup>Song, Fengling, Amanda L. Garner, e Kazunori Koide. “A Highly Sensitive Fluorescent Sensor for Palladium Based on the Allylic Oxidative Insertion Mechanism”. **Journal of the American Chemical Society** 129, nº 41 (1º de outubro de 2007): 12354–55. <https://doi.org/10.1021/ja073910q>.

<sup>6</sup>Pohorilets, Ivanna, Matthew P. Tracey, Michael J. LeClaire, Emily M. Moore, Gang Lu, Peng Liu, e Kazunori Koide. “Kinetics and Inverse Temperature Dependence of a Tsuji–Trost Reaction in Aqueous Buffer”. **ACS Catalysis** 9, nº 12 (6 de dezembro de 2019): 11720–33. <https://doi.org/10.1021/acscatal.9b03011>.

<sup>7</sup>Soldevila-Barreda, Joan Josep, e Nils Metzler-Nolte. “Intracellular Catalysis with Selected Metal Complexes and Metallic Nanoparticles: Advances toward the Development of Catalytic Metallodrugs”. **Chemical Reviews** 119, nº 2 (23 de janeiro de 2019): 829–69. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00493>.

<sup>8</sup>Coelho, Sara E., Felipe S. S. Schneider, Daniela C. de Oliveira, Guilherme L. Tripodi, Marcos N. Eberlin, Giovanni F. Caramori, Bernardo de Souza, e Josiel B. Domingos. “Mechanism of Palladium(II)-Mediated Uncaging Reactions of Propargylic Substrates”.

**ACS Catalysis** 9, nº 5 (3 de maio de 2019): 3792–99.  
<https://doi.org/10.1021/acscatal.9b00210>.

<sup>9</sup>Oliveira, Bruno L., Benjamin J. Stenton, V. B. Unnikrishnan, Cátia Rebelo de Almeida, João Conde, Magda Negrão, Felipe S. S. Schneider, et al. “Platinum-Triggered Bond-Cleavage of Pentynoyl Amide and *N*-Propargyl Handles for Drug-Activation”. **Journal of the American Chemical Society** 142, nº 24 (17 de junho de 2020): 10869–80.  
<https://doi.org/10.1021/jacs.0c01622>.

<sup>10</sup>Konč, Juraj, Valerio Sabatino, Ester Jiménez-Moreno, Eloah Latocheski, Laura Rodríguez Pérez, Jason Day, Josiel B. Domingos, e Gonçalo J. L. Bernardes. “Controlled In-Cell Generation of Active Palladium(0) Species for Bioorthogonal Decaging”. **Angewandte Chemie International Edition** 61, nº 8 (2022): e202113519.  
<https://doi.org/10.1002/anie.202113519>.

<sup>11</sup>PHILIPPOT, Karine. New Trends in the Design of Metal Nanoparticles and Derived Nanomaterials for Catalysis: 1.1 nanocatalysis: position, interests, and perspectives. In: PHILIPPOT, Karine. **Nanoparticles in Catalysis: advances in synthesis and applications**. Weinheim: Wiley-Vch, 2021. p. 1-4.

<sup>12</sup>ASTRUC, Didier. Transition - metal Nanoparticles in Catalysis: From Historical Background to the State - of - the Art: introduction. In: ASTRUC, Didier. **Nanoparticles and Catalysis**. Weinheim: Wiley-Vch, 2008. p. 1-2.

<sup>13</sup>Olekszyszen, Drielly N., Brunno L. Albuquerque, Dagoberto de O. Silva, Guilherme L. Tripodi, Daniela C. de Oliveira, e Josiel B. Domingos. “Core–Shell PdCu Bimetallic Colloidal Nanoparticles in Sonogashira Cross-Coupling Reaction: Mechanistic Insights into the Catalyst Mode of Action”. **Nanoscale** 12, nº 2 (2020): 1171–79.  
<https://doi.org/10.1039/C9NR09075D>.

<sup>14</sup>Carvalho, Thiago O., Pedro H. P. R. Carvalho, Jose R. Correa, Bruna C. Guido, Gisele A. Medeiros, Marcos N. Eberlin, Sara E. Coelho, Josiel B. Domingos, e Brenno A. D. Neto. “Palladium Catalyst with Task-Specific Ionic Liquid Ligands: Intracellular Reactions and Mitochondrial Imaging with Benzothiadiazole Derivatives”. **The Journal of Organic Chemistry** 84, nº 9 (3 de maio de 2019): 5118–28.  
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b00130>.

<sup>15</sup>Martínez-Calvo, Miguel, José R. Couceiro, Paolo Destito, Jéssica Rodríguez, Jesús Mosquera, e José L. Mascareñas. “Intracellular Deprotection Reactions Mediated by Palladium Complexes Equipped with Designed Phosphine Ligands”. **ACS Catalysis** 8, nº 7 (6 de julho de 2018): 6055–61. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b01606>.

<sup>16</sup>Bray, Thomas L., Mark Salji, Alessandro Brombin, Ana M. Pérez-López, Belén Rubio-Ruiz, Laura C. A. Galbraith, E. Elizabeth Patton, Hing Y. Leung, e Asier Unciti-Broceta. “Bright Insights into Palladium-Triggered Local Chemotherapy”. **Chemical Science** 9, nº 37 (2018): 7354–61. <https://doi.org/10.1039/C8SC02291G>.

<sup>17</sup>In, Perry T., Shreyas Shah, Manish Chhowalla, e Ki-Bum Lee. “Design, Synthesis, and Characterization of Graphene–Nanoparticle Hybrid Materials for Bioapplications”. **Chemical Reviews** 115, nº 7 (8 de abril de 2015): 2483–2531. <https://doi.org/10.1021/cr500537t>.

<sup>18</sup>Chung, Chul, Young-Kwan Kim, Dolly Shin, Soo-Ryoon Ryoo, Byung Hee Hong, e Dal-Hee Min. “Biomedical Applications of Graphene and Graphene Oxide”. **Accounts of Chemical Research** 46, nº 10 (15 de outubro de 2013): 2211–24. <https://doi.org/10.1021/ar300159f>.

<sup>19</sup>Shen, Shou-Cang, Wai Kiong Ng, Kumaran Letchmanan, Ron Tau Yee Lim, e Reginald Beng Hee Tan. “Graphene Nanosheets Encapsulated Poorly Soluble Drugs with an Enhanced Dissolution Rate”. **Carbon Letters** 27 (31 de julho de 2018): 18–25. <https://doi.org/10.5714/CL.2018.27.018>.

<sup>20</sup>Ye, Mingzhou, Yuxin Han, Jianbin Tang, Ying Piao, Xiangrui Liu, Zhuxian Zhou, Jianqing Gao, Jianghong Rao, e Youqing Shen. “A Tumor-Specific Cascade Amplification Drug Release Nanoparticle for Overcoming Multidrug Resistance in Cancers”. **Advanced Materials** 29, nº 38 (outubro de 2017): 1702342. <https://doi.org/10.1002/adma.201702342>.

<sup>21</sup>Tang, Xiaohui, Pierre-Antoine Haddad, Nathalie Mager, Xin Geng, Nicolas Reckinger, Sophie Hermans, Marc Debliquy, e Jean-Pierre Raskin. “Chemically Deposited Palladium Nanoparticles on Graphene for Hydrogen Sensor Applications”. **Scientific Reports** 9, nº 1 (dezembro de 2019): 3653. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40257-7>.

<sup>22</sup>Latocheski, Eloah, Marcelo V. Marques, Brunno L. Albuquerque, Thalia J. Schuh, Aline M. Signori, Daniela C. Oliveira, Taransankar Pal, e Josiel B. Domingos. "On the Formation of Palladium (II) Iodide Nanoparticles: An In Situ SAXS/XAS Study and Catalytic Evaluation on an Aryl Alkenylation Reaction in Water Medium". **ChemCatChem**, 13 de dezembro de 2018, cctc.201801817. <https://doi.org/10.1002/cctc.201801817>.

<sup>23</sup>Andres, Julien, e K. Eszter Borbas. "Expanding the Versatility of Dipicolinate-Based Luminescent Lanthanide Complexes: A Fast Method for Antenna Testing". **Inorganic Chemistry** 54, nº 17 (8 de setembro de 2015): 8174–76. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5b01579>.

<sup>24</sup>CGA/UFSC. Contrato de Manejo dos Resíduos Químicos da UFSC. **Disponível em:** Citado na página 14.

<sup>25</sup>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. Guia de Biossegurança. **Disponível em:** Citado na página 14.

<sup>26</sup>MERCK. **7-Hydroxy-4-methylcoumarin**. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/aldrich/128724>. Acesso em: 28 nov. 2022.

<sup>27</sup>COELHO, Sara Eulália. **Investigação Mecânica da Reação de O-Despropargilação Catalisada por Sais de Paládio (II)**. 2019. 157 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, UFSC, Florianópolis, 2019.

<sup>28</sup>LATOCHESKI, Eloah. **Influence of the oxidation state of palladium nanoparticles on carbon coupling and bioorthogonal uncaging reactions**. 2021. 114 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, UFSC, Florianópolis, 2021.

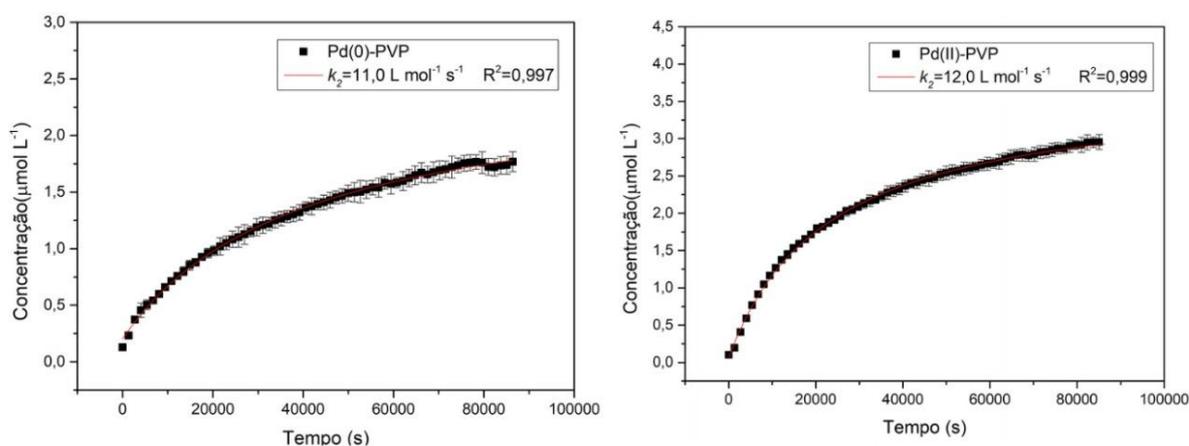
<sup>29</sup>CHERNYSHEV, Victor M.; ASTAKHOV, Alexander V.; CHIKUNOV, Ilya E.; TYURIN, Roman V.; EREMIN, Dmitry B.; RANNY, Gleb S.; KHRUSTALEV, Victor N.; ANANIKOV, Valentine P.. Pd and Pt Catalyst Poisoning in the Study of Reaction Mechanisms: what does the mercury test mean for catalysis?. **Acs Catalysis**, v. 9, n. 4, p. 2984-2995, 8 mar. 2019. <http://dx.doi.org/10.1021/acscatal.8b03683>.

<sup>30</sup>Buratto, Suelen, Eloah Latocheski, Daniela de Oliveira, e Josiel Domingos. **Influence of the Capping Agent PVP of the Outer Layer of Pd Nanocubes Surface on the**

**Catalytic Hydrogenation of Unsaturated C–C Bonds.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2020. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190250>.

## Apêndice

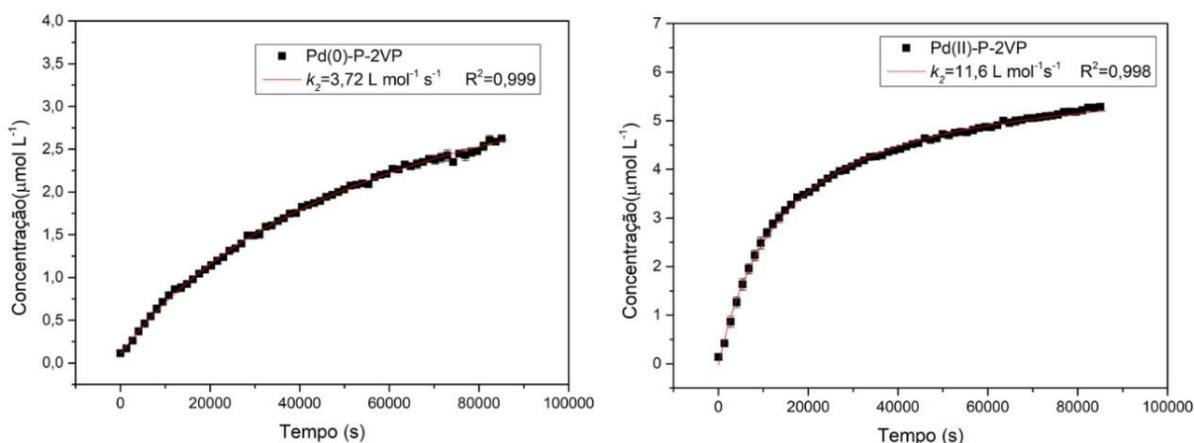
### Apêndice A. Regressão não linear para as nanopartículas Pd(0)-PVP E Pd(II)-PVP.



### Apêndice B. Dados obtidos pela cinética de despropargilação da O-cumarina para os catalisadores Pd(0)-PVP e Pd(II)-PVP.

Catalisador	TON	TOF50 (s <sup>-1</sup> )	R (%)	k <sub>2</sub> (Lmol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Pd(0)-PVP com grafeno	0,09	1,22.10 <sup>-6</sup>	9	11,0
Pd(0)-PVP com grafeno 1 Lavagem	0,151	1,90.10 <sup>-6</sup>	15,1	3,74
Pd(0)-PVP com grafeno 2 Lavagens	0,245	3,64.10 <sup>-6</sup>	24,5	2,35
Pd(0)-PVP com grafeno 3 Lavagens	0,276	5,61.10 <sup>-6</sup>	27,6	2,53
Pd(0)-PVP sem grafeno	0,031	4,19.10 <sup>-7</sup>	3,1	27,8
Pd(II)-PVP com grafeno	0,147	3,00.10 <sup>-6</sup>	14,7	12,0
Pd(II)-PVP com grafeno 1 Lavagem	0,232	5,38.10 <sup>-6</sup>	23,2	11,4
Pd(II)-PVP com grafeno 2 Lavagens	0,207	4,41.10 <sup>-6</sup>	20,7	10,2
Pd(II)-PVP com grafeno 3 Lavagens	0,235	5,45.10 <sup>-6</sup>	23,5	14,4
Pd(II)-PVP sem grafeno	0,242	5,35.10 <sup>-6</sup>	24,2	6,02

**Apêndice C.** Regressão não linear para as nanopartículas Pd(0)-P-2VP E Pd(II)-P-2VP.



**Apêndice D.** Dados obtidos pela cinética de despropargilação da O-cumarina para os catalisadores Pd(0)-P-2VP e Pd(II)-P-2VP.

Catalisador	TON	TOF50 (s <sup>-1</sup> )	R (%)	k <sub>2</sub> (Lmol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Pd(0)-P-2VP com grafeno	0,133	3,08.10 <sup>-6</sup>	13,3	3,72
Pd(0)-P-2VP com grafeno 1 Lavagem	0,297	5,39.10 <sup>-6</sup>	29,7	3,26
Pd(0)-P-2VP com grafeno 2 Lavagens	0,297	4,96.10 <sup>-6</sup>	29,7	3,87
Pd(0)-P-2VP com grafeno 3 Lavagens	0,297	5,74.10 <sup>-6</sup>	29,7	3,86
Pd(II)-P-2VP com grafeno	0,266	6,16.10 <sup>-6</sup>	26,6	11,6
Pd(II)-P-2VP com grafeno 1 Lavagem	0,249	5,77.10 <sup>-6</sup>	24,9	11,5
Pd(II)-P-2VP com grafeno 2 Lavagens	0,232	5,38.10 <sup>-6</sup>	23,2	15,1
Pd(II)-P-2VP com grafeno 3 Lavagens	0,182	4,22.10 <sup>-6</sup>	18,2	20,4
Pd(II)-P-2VP sem grafeno	0,19	4,40.10 <sup>-6</sup>	19,0	7,69