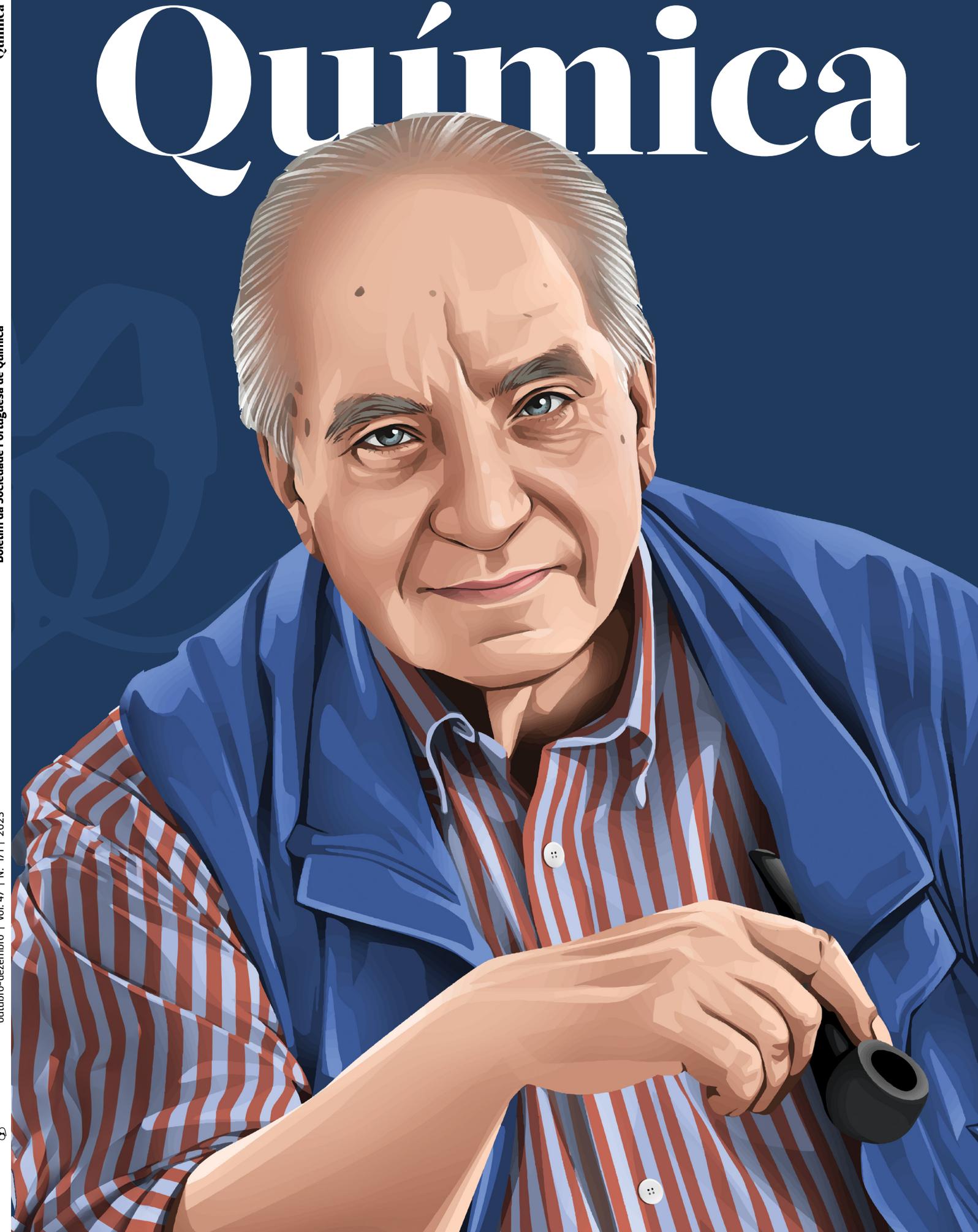


Boletim da Sociedade
Portuguesa de Química

5,00 € - Distribuição
gratuita aos sócios da SPQ

outubro-dezembro
Vol. 47 | N.º 171 | 2023
Publicação Trimestral

Química



Química

Boletim da Sociedade Portuguesa de Química

outubro-dezembro | Vol. 47 | N.º 171 | 2023

Q



Editorial | 190

Direção | 191

Prémio Nobel da Química | 193

Prémio Nobel da Física | 195

Notícias

197

Atualidades Científicas | 202

Ongoing

207

ELPIS: Atrativas Bibliotecas de Oxindoles como Inibidores Promissores de Tirosina-Cinase para Terapia-Alvo em Cancro | **207**

H2O-3DCapture: Produção de Água - Solução Sustentável Baseada num Processo de Adsorção Gasosa Usando Materiais Híbridos Inovadores Impressos em 3D | **208**

Artigos

209

Professor Fraústo da Silva: Talento e Talante de Bem Fazer e Acontecer. *Celebração dos 90 Anos do Seu Nascimento* | **209**

Fraústo da Silva e os Complexos de Werner | **219**

Ligações de Hidrogénio e Outras Interações Não Covalentes em Química de Coordenação | **225**

Marcação Isotópica e Substituições Metálicas em Agregados Ferro-Enxofre | **231**

Da Química Bioinorgânica para a Química Prebiótica: Levar Mais Longe o Legado do Prof. Fraústo da Silva | **235**

Ferro, o Maestro da Vida! | **241**

Complexos de Iões Metálicos em Meios Biológicos: Relevância da sua Especificação | **250**

Controlo de Biometais no Contexto de Fármacos Multifuncionais para a Doença de Alzheimer | **257**

Aplicações Biomédicas de Complexos Metálicos e Polioxometalatos | **266**

Elogio da Desnitrificação | **271**

O Triunfo do Azul na Natureza e no Antropoceno. Sobre a Evolução (Química) dos Sistemas de Cor nas Plantas. O Caso das Hortênsias | **279**

O Sudário de Turim: Fonte de Extraordinária Informação Científica | **284**

A Química na Era da Desmaterialização do Conhecimento | **285**

Nas Redes | **289**

Química Entre Nós | **290**

Espaço dos Mais Novos | **291**

Destaques | **293**

Agenda | **295**



Há cerca de um ano, a SPQ instituiu o *Prémio Fraústo da Silva*. O nome do prémio é uma homenagem a quem deixou uma marca intemporal de excelência na Ciência Central em Portugal. Neste número do *QUÍMICA* prestamos-lhe um breve tributo.

Um “homem que faz acontecer” e um “homem das duas culturas”, assim se refere Armando J. L. Pombeiro a João José Rodiles Fraústo da Silva na evocação histórica que proferiu na Sessão da Academia das Ciências de Lisboa de 17 de novembro de 2022. No artigo que lhe é dedicado neste número, Armando Pombeiro leva-nos numa viagem pelo percurso de vida de alguém que mostrou *Talento e Talante de Bem Fazer e Acontecer*. Aproveitando

a sua boleia, iniciamos a viagem em Tomar, cidade templária, onde Fraústo da Silva nasceu, passamos pelos tempos de jovem estudante, pela vida e genealogia académicas, pelo desempenho de cargos públicos de relevo e pelas atividades de várias índoles às quais se dedicou, nomeadamente a cultural. Não ficam esquecidas a evocação das características de personalidade, nomeadamente a afabilidade, a aptidão para ensinar e formar, a capacidade de liderança transformadora, de gestão de ciência e de educação, e o reconhecimento público das suas realizações através das muitas distinções que recebeu ao longo da carreira. A caricatura de Fraústo da Silva no Livro de Finalistas do Curso de Engenharia Químico-Industrial do IST, um retrato dos seus interesses à época, simboliza o caminho que viria a ser trilhado ao longo da sua vida pela “Química Pura”, pelo “Sonho”, pela “Amizade”, pela “Música”, pela “Literatura”, pela “Poesia das Coisas”, pelo “Bailado” e pela “Ópera”.

Não cabe neste espaço detalhar o percurso de vida e tudo aquilo que Fraústo da Silva fez acontecer. Centremo-nos apenas no episódio que teve um papel decisivo no seu percurso académico. No 2.º ano do curso que frequentou no IST, um pequeno incidente, a reprovação à cadeira de Cálculo Integral e Diferencial, levou-o a adquirir bases sólidas de Química (em particular Química Orgânica e Química Analítica), estimulando a sua propensão para a investigação científica. Terá sido o *melhor chumbo que lhe poderia ter acontecido*, pois contribuiu de forma decisiva para o desenvolvimento da investigação em Química no nosso país. Pode dizer-se que a importância da matemática para o estudo da química terá adquirido, nesta altura, um outro significado... Parafrazeando Bertolt Brecht, *perante um obstáculo, a linha mais curta entre dois pontos pode ser a curva*. Andou pelos caminhos da Química Analítica e da Química Inorgânica, mas uma estada em Oxford reorientou-o para o estudo do papel dos elementos químicos nos sistemas biológicos e para uma parceria frutífera com Robert J. P. Williams, traduzida, nomeadamente, pela publicação conjunta de livros considerados notáveis na área da Química Bioinorgânica.

As suas qualidades de professor e investigador (reconhecidas por aqueles que com ele privaram) inspiraram e continuam a inspirar várias gerações de estudantes, professores e investigadores. Disso é exemplo o conjunto de artigos publicado neste número do *QUÍMICA*, em homenagem à sua memória, escritos por quem com ele trabalhou ou cujos percursos académicos foram por ele influenciados. Agradeço aos autores terem aceitado o convite para participar nesta homenagem e expresso o meu grande reconhecimento a Armando Pombeiro e a José Moura pela colaboração inestimável que tiveram na preparação deste número especial.

Sendo o último número do ano, a equipa editorial deseja a todos os sócios da SPQ e leitores do *QUÍMICA* um excelente Natal e um Ano Novo de Sonho, de Amizade, com muita Música, boa Literatura e tempo, quem sabe, para o Bailado, a Ópera e a Poesia das Coisas, sem esquecer, obviamente, a Química Pura... e a aplicada.

>

Paulo Mendes

BOLETIM DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA

PROPRIEDADE DE SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA

NIPC: 501 139 265

ISSN 0870 – 1180

Registo na ERC n.º 125 525

Depósito Legal n.º 51 420/91

Publicação Trimestral

N.º 171, outubro - dezembro 2023

REDAÇÃO, EDIÇÃO E ADMINISTRAÇÃO

Av. da República, 45 – 3.º Esq. – 1050-187 Lisboa

Tel.: 217 934 637 • Fax: 217 952 349

bspq@uevora.pt • www.spq.pt

Diretor: Paulo Mendes**Diretores-adjuntos:** Ana Paula Esteves, Bruno Machado, Maria José Lourenço, Pedro S. F. Mendes, Vasco D. B. Bonifácio**Comissão de Aconselhamento Editorial:**

Augusto Tomé, Helder T. Gomes, João Paulo R. F. André, Joaquim L. Faria, Jorge Morgado, Mário N. Berberan-Santos

ESTATUTO EDITORIAL

Disponível em:

www.spq.pt/boletim/estatuto_editorial**PUBLICIDADE**Sociedade Portuguesa de Química
secretariado@spq.pt**DESIGN GRÁFICO E PAGINAÇÃO**

Rodrigo Nina

www.rodiginina.comrodrigo.pnina@gmail.com

Tel.: 964 819 822

ILUSTRAÇÃO CAPA

Ilmyart

www.instagram.com/ilmyartwww.fvverr.com/inbox/ilmyart**IMPRESSÃO E ACABAMENTO**

Sersilto, Empresa Gráfica, Lda.

Travessa Sá e Melo, 209, Apartado 1208

4470-116 Gueifães, Maia

+351 229 436 920

administracao@sersilto.pt

Tiragem: 1.400 exemplares

As colaborações assinadas são da exclusiva responsabilidade dos seus autores, não vinculando de forma alguma a SPQ, nem a Direção do *QUÍMICA*. São autorizadas e estimuladas todas as citações e transcrições, desde que seja indicada a fonte, sem prejuízo da necessária autorização por parte do(s) autor(es) quando se trate de colaborações assinadas. As normas de colaboração e as instruções para os autores podem ser encontradas no sítio web da SPQ.

PUBLICAÇÃO SUBSIDIADA PELA
FCT Fundação
para a Ciência
e a Tecnologia

 Apoio do Programa Operacional Ciência, Tecnologia,
Inovação do Quadro Comunitário de Apoio III

A Celebração da Química Bioinorgânica

Neste número especial do *QUÍMICA*, a SPQ homenageia o Professor J. J. R. Fraústo da Silva (1933-2022), um dos cientistas que mais influenciaram e dignificaram a Ciência em Portugal ao longo do século XX e início de XXI.

Esta homenagem perdurará no tempo com a recente criação do *Prémio Fraústo da Silva* da Sociedade Portuguesa de Química, atribuído bienalmente durante o Encontro Nacional da SPQ a um cientista português que, pela obra científica produzida em Portugal, tenha contribuído marcadamente para o progresso das Ciências Químicas. O prémio foi atribuído pela primeira vez este ano ao Professor Carlos F. G. C. Geraldes no Encontro Anual da SPQ decorrido em Aveiro.

A Química Bioinorgânica surge, assim, como o tema para este espaço do número especial do *QUÍMICA*, dado o papel determinante do Professor Fraústo da Silva no seu desenvolvimento a nível internacional. De notar a grande importância das suas publicações, como por exemplo o seu primeiro livro, publicado pela *Oxford University Press* [1], mais conhecido como a “bíblia da Química Bioinorgânica”, e que teve duas edições e variadíssimas reimpressões.

A Química Bioinorgânica, de carácter significativamente interdisciplinar, surgiu em décadas recentes como uma área fascinante e de rápido desenvolvimento, que desempenha um papel crucial na revelação das interações dos “elementos inorgânicos” (tais como os metais de transição), vitais para o crescimento e o metabolismo dos organismos vivos. Contribuí, assim, notavelmente para a compreensão da Química da Vida a nível molecular, com implicações diretas para a saúde humana e o mundo em que habitamos.

Um dos pilares desta ciência é o estudo de metaloproteínas, *i.e.*, moléculas biológicas que incorporam iões metálicos nas suas estruturas. A hemoglobina, a proteína contendo ferro responsável pelo transporte de oxigénio no sangue, e o citocromo c oxidase, que desempenha um papel fundamental na respiração celular, são exemplos icónicos. Algumas metaloproteínas comportam-se como catalisadores biológicos (metaloenzimas) que permitem/facilitam reações cruciais nos organismos vivos. Das proteínas de dedo de zinco (*zinc finger*) envolvidas na regulação genética, à nitrogenase essencial para a fixação do nitrogénio, o estudo das metaloenzimas permitiu compreender a ação catalítica dos iões metálicos em diversos processos biológicos. Estas descobertas não só permitiram expandir o conhecimento de percursos bioquímicos fundamentais, como inspiraram o desenvolvimento

de novos catalisadores para aplicações industriais.

O campo da medicina foi profundamente influenciado pela Química Bioinorgânica, em particular através do desenvolvimento de fármacos de matriz inorgânica. Por exemplo, a *cis*-platina (um composto que contém platina) revolucionou o tratamento do cancro e salvou um número incontável de vidas desde a sua descoberta. A investigação em curso nesta área continua a otimizar os fármacos existentes e a explorar novas vias para terapias específicas, minimizando efeitos secundários e melhorando a eficiência dos tratamentos.

A Química Bioinorgânica estende o seu impacto às ciências ambientais, abraçando desafios relacionados com a poluição metálica e a saúde dos ecossistemas, explorando métodos de remediação de ambientes contaminados com metais, contribuindo para soluções sustentáveis para um planeta mais saudável. O desenvolvimento de materiais biomiméticos inspirados pelos princípios da Química Bioinorgânica, ilustra a interdisciplinaridade desta área tão dinâmica.

A Química Bioinorgânica é, assim, incluída como disciplina constituinte dos *curricula* de universidades de topo, refletindo a sua relevância na compreensão dos processos moleculares que ocorrem nos seres vivos.

Não há dúvida de que a Química Bioinorgânica se desenvolverá ainda mais do que até agora. De facto, esta ciência prospera na colaboração entre peritos em química, biologia, bioquímica, medicina, genética, ambiente, etc., conduzindo ao alargamento das suas fronteiras. Espera-se que as tecnologias emergentes, técnicas espectroscópicas avançadas e abordagens inovadoras estejam prestes a revelar novos mistérios e aplicações, assegurando que a Química Bioinorgânica continua na vanguarda da descoberta científica.

E tudo isto cresceu em Portugal graças ao trabalho pioneiro do Professor Fraústo da Silva!

A finalizar gostaria de, em meu nome pessoal e de toda a Direção da SPQ, desejar umas Festas Felizes, e que 2024 seja um ano de sucessos profissionais e pessoais e de ampla divulgação e promoção da Química.

[1] J. J. R. Fraústo da Silva, R. J. P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements: The Inorganic Chemistry of Life*, Oxford University Press, 2001.

>

Luísa M. D. R. S. Martins

Vice-Presidente da SPQ

luisammartins@tecnico.ulisboa.pt

Chemistry Europe Fact Sheet

16 chemical societies, **15** European countries.

Family of high-quality scholarly chemistry journals, covering a very broad range of disciplines.

Journals:
www.chemistry-europe.org

Societies:
www.chemistryviews.org/chemistry-europe-member-societies/

Evaluate, publish, disseminate, and amplify the scientific excellence of chemistry researchers from around the globe in high-quality publications.

Supports its members at every stage of their careers as they strive to solve the challenges that impact humankind.

Values integrity, openness, diversity, cooperation, and freedom of thought.

Hub: www.chemistry-europe.org

Association

Mission

ChemistryViews

3 per year, free

Newsletter



**Chemistry
Europe**

Science
news
magazine

What is happening in the global chemistry community

Strong focus on the people behind the science.

www.chemistryviews.org/register/

www.chemistryviews.org

Fellows
Program

Award

Recognizes members for their outstanding achievements and contributions and their service to at least one member society.

www.chemistryviews.org/fellows/

Recognizes outstanding contributions to chemistry.

Includes prize money of EUR 10,000 and a certificate

Open to individuals worldwide, regardless of their affiliation with *Chemistry Europe* societies.

www.chemistryviews.org/chemistryeuropeaward/



@ChemEurope

Hub:

www.chemistry-europe.org



[linkedin.com/company/chemeuropa/](https://www.linkedin.com/company/chemeuropa/)

Química com Pinta!

O Prémio Nobel da Química 2023 foi atribuído a Moungi G. Bawendi (*Massachusetts Institute of Technology*, MIT, EUA), Louis E. Brus (*Columbia University*, EUA) e Alexei I. Ekimov (*Nanocrystals Technology Inc.*, EUA) (Figura 1). Estes cientistas realizaram investigação decisiva no estudo e compreensão de efeitos quânticos de dimensão em nanopartículas de semicondutores.



Figura 1 - Moungi G. Bawendi (à esquerda), Louis E. Brus (ao centro) e Alexey Yekimov (à direita). Niklas Elmehed® Nobel Prize Outreach.

As descobertas associadas a esta distinção têm possibilitado o desenvolvimento de tecnologias que recorrem a uma classe especial de materiais semicondutores, os designados pontos quânticos (do inglês *quantum dots*). Estes nanomateriais apresentam propriedades únicas e distintas dos semicondutores macrocristalinos. Os pontos quânticos são efetivamente nanocristais que mostram propriedades dependentes do tamanho de partícula, no sentido em que a estrutura eletrónica do semiconductor é alterada devido ao confinamento tridimensional dos transportadores de carga (elétron e lacuna), dadas as dimensões nanométricas da partícula. O parâmetro de escala abaixo do qual estas alterações são manifestadas é o raio do excitação de Bohr do semiconductor. Estas propriedades observam-se experimentalmente, por exemplo, no registo de espectros óticos de coloides contendo pontos quânticos, que mostram um desvio do valor do hiato energético para valores de maior energia, com a diminuição do tamanho médio de partícula. O cientista A. Ekimov e colaboradores identificaram primeiramente estes efeitos através do estudo do semiconductor CuCl, na forma de cristais microscópicos (nanocristais) dispersos numa matriz vítrea [1,2]. A interpretação dos espectros óticos que evidenciam estes efeitos de dimensão tem em conta a natureza quântica da matéria. O formalismo teórico para a interpretação de efeitos quânticos de dimensão foi apresentado por L. Brus no decurso da investigação realizada numa série de coloides de nanocristais de semicondutores II/VI,

como por exemplo pontos quânticos de CdS [3,4]. O trabalho seminal desenvolvido por estes cientistas, entre outros, teve uma forte expressão na bibliografia científica especializada na década de 80 do século XX.

O facto das descobertas acima descritas terem sido reconhecidas pelo Nobel da Química, e não na área da Física, tem suscitado alguma curiosidade, inclusive no meio académico. Contudo, esta distinção é também um louvor à síntese química, mormente na sua relevância em nanotecnologias emergentes. O estudo sistemático e a exploração tecnológica dos pontos quânticos ganharam renovado ímpeto após o desenvolvimento de processos de síntese que oferecem controlo e reprodutibilidade dessas propriedades, como sejam o tamanho médio de partícula e a natureza da sua superfície. O exemplo marcante desta abordagem inovadora na síntese de materiais surge uns anos depois, em 1993, com uma publicação de M. Bawendi e colaboradores no JACS [5]. Neste trabalho, descreve-se a síntese química de coloides de calcogenetos de cádmio(II), por injeção a quente de reagentes precursores em solventes surfactantes. Este método químico alterou o panorama relativamente à qualidade e potencial tecnológico de pontos quânticos obtidos por síntese coloidal. O artigo científico em questão é um expoente de labor químico, pela inovação através da síntese coloidal e caracterização sistemática dos pontos quânticos obtidos. Tal como geralmente acontece perante grandes descobertas, o método descrito acabou por abrir portas a outros desenvolvimentos científicos na química de pontos quânticos e domínios científicos relacionados. Alguns exemplos ilustrativos: pontos quânticos com maior eficiência de luminescência por passivação inorgânica epitaxial de defeitos superficiais [6]; investigação de compostos de coordenação como precursores unimoleculares, alargando este tipo de síntese inorgânica a outros sistemas semicondutores [7]; investigação de efeitos quânticos de dimensão em coloides contendo nanoestruturas anisotrópicas de semicondutores, como por exemplo nanobastonetes e nanotetrápodos [8].

A tecnologia baseada em pontos quânticos diversificou o campo de aplicações dos materiais semicondutores. As imagens amplamente difundidas por ocasião do anúncio do Prémio Nobel da Química 2023 sugerem um elevado potencial tecnológico para estes materiais. Efetivamente, mostra-se um arco-íris fotoluminescente emitido por coloides de pontos quânticos sob irradiação com luz UV, em que as diferentes cores correspondem a amostras coloidais (quase) monodispersas com tamanhos médios de partícula

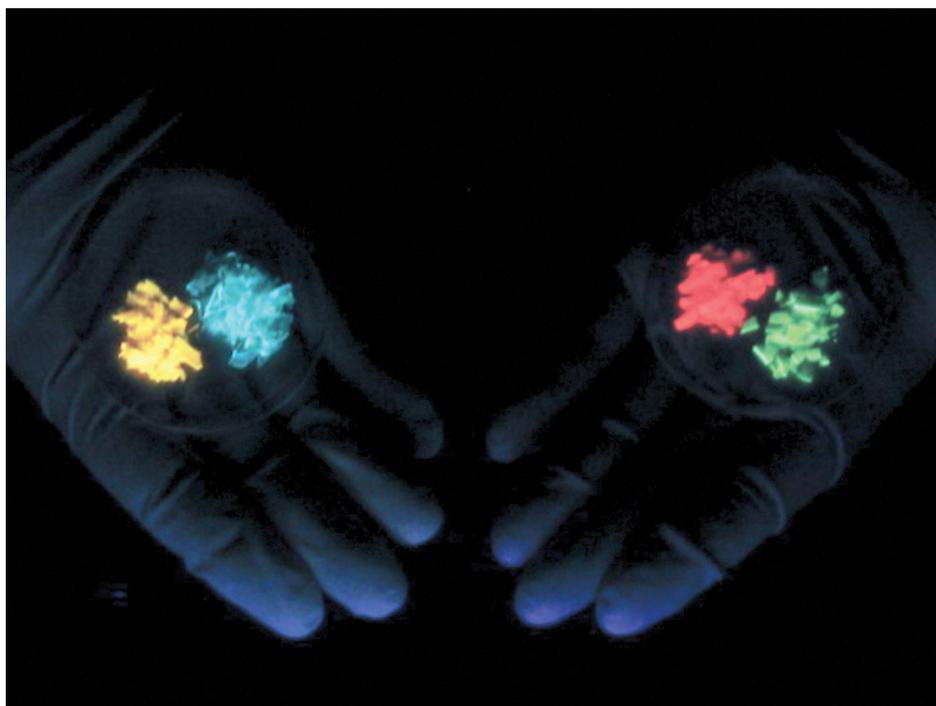


Figura 2 - Fotoluminescência de nanocompósitos de matriz polimérica contendo pontos quânticos coloidais de (CdSe)ZnS, sob irradiação com luz UV. A cor emitida pelos nanocompósitos depende do tamanho médio das partículas de CdSe nas amostras.

distintos e superfícies quimicamente passivadas. A emissão de luz resulta da recombinação excitônica do par elétron-lacuna, pelo que o fóton emitido tem uma frequência que depende do hiato energético do semiconductor que, recorde-se, depende, nestes casos, do tamanho de partícula. Por exemplo, os pontos quânticos coloidais de (CdSe)ZnS emitem no vermelho ou no azul quando os núcleos de CdSe têm raio 2,4 nm ou 1,4 nm, respetivamente. Neste caso, os nanocristais de CdSe estão modificados à superfície com ZnS, um semiconductor com hiato energético mais largo.

A natureza coloidal dos pontos quânticos permite o desenvolvimento de outros materiais luminescentes, como seja a sua dispersão em polímeros (Figura 2). As propriedades de luminescência de sistemas contendo pontos quânticos podem ser exploradas ao

nível de dispositivos de optoeletrónica; os monitores de TV (QLED) já integram esta tecnologia. Outros exemplos de campos de aplicação compreendem a área da energia, células solares mais eficientes e, no campo da medicina, em técnicas de bioimagem, por exemplo. As aplicações não estão limitadas à luminescência na região do visível, já que alterando o semiconductor podem ser exploradas outras regiões do espectro eletromagnético. A computação quântica é outra área emergente em que existe interesse em explorar os pontos quânticos coloidais [9]. O facto destes avanços científicos estarem associados a um Prémio Nobel de Química, reafirma a relevância desta área científica no aprofundamento do conhecimento da realidade e no desenvolvimento de tecnologias para os desafios deste século.

Referências

- [1] A. I. Ekimov, A. A. Onushchenko, *JETP Lett.* **1982**, 34, 345-349. jetpletters.ru/ps/1517/article_23187.shtml.
- [2] A. I. Ekimov, Al. L. Efros, A. A. Onushchenko, *Solid State Commun.* **1985**, 56, 921-924. DOI: 10.1016/S0038-1098(85)80025-9.
- [3] L. E. Brus, *J. Chem. Phys.* **1983**, 79, 5566-5571. DOI: 10.1063/1.445676.
- [4] L. E. Brus, *J. Chem. Phys.* **1984**, 80, 4403-4409. DOI: 10.1063/1.447218.
- [5] C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8706-8715. DOI: 10.1021/ja00072a025.
- [6] B. O. Dabbousi, J. Rodriguez-Viejo, F. V. Mikulec, J. R. Heine, H. Mattoussi, R. Ober, K. F. Jensen, M. G. Bawendi, *J. Phys. Chem B.* **1997**, 101, 9463-9475. DOI: 10.1021/jp971091y.
- [7] T. Trindade, P. O'Brien, *Adv. Mater.* **1996**, 8, 161-163. DOI: 10.1002/adma.19960080214.
- [8] L. Manna, E. C. Scher, A. P. Alivisatos, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 12700-12706. DOI: 10.1021/ja003055+.
- [9] C. R. Kagan, L. C. Basset, C. B. Murray, S. M. Thomson, *Chem. Rev.* **2021**, 121, 3186-3233. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c00831.

>

Tito Trindade

Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

CICECO-Instituto de Materiais de Aveiro.

tito@ua.pt

Pulsos de Luz Ultrarrápidos (Attossegundos): A Chave para a Investigação da Dinâmica dos Eletrões em Átomos, Moléculas e em Fase Condensada

O Prémio Nobel da Física de 2023 foi atribuído a Pierre Agostini (Universidade do Ohio, EUA), Ferenc Krausz (Instituto *Max Planck* de Ótica Quântica, Garching, e Universidade *Ludwig-Maximilians* de Munique, Alemanha) e Anne L'Huillier (Universidade de Lund, Suécia) (Figura 1), pelo desenvolvimento de métodos experimentais para geração de pulsos ultrarrápidos de luz (com duração de attossegundos; 10^{-18} s) que abrem caminhos para o estudo da dinâmica dos eletrões em átomos, moléculas e em fase condensada, ao permitirem a medição de processos nos quais os eletrões se movem ou alteram a sua energia. O Prémio foi anunciado pelo Secretário-Geral da Academia Real das Ciências da Suécia, Hans Ellegren, no passado dia 3 de outubro.



Figura 1 - Pierre Agostini (à esquerda), Ferenc Krausz (ao centro) e Anne L'Huillier (à direita). Niklas Elmehed® Nobel Prize Outreach.

Numa molécula (ou num átomo, ou em fase condensada) os eletrões movem-se muito rapidamente, sendo cerca de seis a nove ordens de grandeza decimais mais rápidos que os núcleos atômicos, cuja dinâmica se processa em escalas temporais da ordem de grandeza dos nano- ou picossegundos e tem vindo a ser estudada experimentalmente desde há várias décadas. O estudo da dinâmica dos núcleos atômicos numa molécula, e em particular a possibilidade de investigar experimentalmente estados de transição de reações químicas, esteve na base da atribuição do Prémio Nobel da Química a Ahmed Zewail, em 1999.

No mundo dos eletrões, as mudanças ocorrem em algumas décimas de attossegundo, um tempo tão curto que a sua relação com o segundo é a mesma existente entre o segundo e a idade estimada do Universo. A medição de eventos que ocorrem nesta

escala temporal requer instrumentação muito especial, que de facto se supunha ser impossível de realizar. Em 1925, Werner Heisenberg usou como argumento principal para a necessidade de reformular a mecânica quântica o facto de, àquela altura, a teoria exigir a consideração de quantidades que, na sua opinião, seriam em princípio impossíveis de observar, tais como “a posição e o período de revolução do eletrão em torno do núcleo no átomo de hidrogénio” [1]. O trabalho de Heisenberg foi, inegavelmente, dos mais importantes e influentes na área da Física em todo o século XX, mas aquilo que considerou “em princípio não passível de ser observado” está agora a tornar-se acessível à experimentação laboratorial. Não é ainda possível observar, em sentido estrito, a posição e a “revolução” de um eletrão em torno de um núcleo, mas é já possível estudar (“ver”) a dinâmica dos eletrões nos átomos, moléculas e matéria na fase condensada em experiências de laboratório. A chave para este admirável mundo novo reside na tecnologia de produção de pulsos ultrarrápidos de luz, com a duração de attossegundos. Estes pulsos permitem a observação direta de processos que envolvem eletrões e que decorrem no interior dos átomos e das moléculas e em fase condensada.

O contributo dos três cientistas agora galardoados com o Prémio Nobel da Física foi fundamental para o desenvolvimento da instrumentação capaz de produzir pulsos de luz com duração de attossegundos, bem como das teorias subjacentes. Aliados ao progresso também alcançado nos métodos de deteção, estes desenvolvimentos contribuíram decisivamente para a afirmação dos modernos domínios da attofísica e da attokuímica.

Os trabalhos que levaram ao desenvolvimento dos pulsos ultrarrápidos de luz tiveram um contributo fundamental nos estudos pioneiros de Anne L'Huillier, em 1988 [2], que verificou que, ao fazer passar radiação laser infravermelha de elevada intensidade através de um gás nobre, era possível gerar radiação de diferentes frequências (harmónicas de elevada ordem da frequência do laser utilizado) em resultado da interação do feixe laser com os átomos do gás (Figura 2). Anne L'Huillier explorou este efeito em estudos subsequentes, ao longo da década de 90, tendo também realizado estudos teóricos para interpretação do fenómeno de geração de harmónicas de ordem

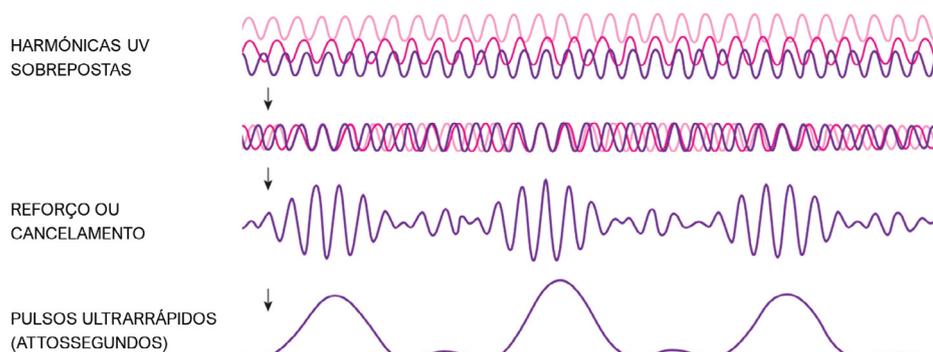


Figura 2 – O mundo dos elétrons é explorável usando pulsos de luz muito curtos. Quando a radiação laser atravessa um gás, interage com este e dessa interação resulta a formação de radiação UV com frequências que

são múltiplas da do feixe laser original (harmônicas), e que, em condições experimentais apropriadas, podem estar em fase. Quando os seus ciclos coincidem, formam-se cadeias de pulsos com duração de attossegundos.

elevada. Estes estudos pioneiros (que receberam também contributos importantes de outros cientistas, como Paul Corkum e Kenneth Kulander, por exemplo) serviram de base a posteriores desenvolvimentos neste domínio e permitiram, posteriormente, no virar do século, a Pierre Agostini e Ferenc Krausz produzir séries de pulsos de luz consecutivos com duração de apenas ca. 250 attossegundos e pulsos isolados com duração de ca. 650 attossegundos, respetivamente [3,4]. Atualmente, é já possível produzir-se pulsos com duração de apenas ca. 56 attossegundos [5].

As ferramentas espectroscópicas de attossegundos desenvolvidas nas últimas duas décadas, juntamente com o desenvolvimento de métodos teóricos sofisticados para a interpretação dos resultados experimentais, permitiram desvendar e investigar processos físico-químicos nunca antes observados, como o atraso na fotoemissão de átomos e sólidos (a explicação final do efeito fotoelétrico que garantiu a Albert Einstein o Prémio Nobel da Física de 1921), o movimento dos elétrons em moléculas após ionização imediata que precede qualquer movimento nuclear significativo, a evolução temporal

do processo de tunelamento em dielétricos, entre muitos outros, incluindo processos com relevância prática nos domínios da bioquímica e do diagnóstico médico. Estes últimos, podem ser exemplificados no recente trabalho de Ferenc Krausz (e colaboradores), um dos galardoados, onde se combina ótica de banda larga, fontes de laser ultrarrápidas e tecnologias de resolução de campo de femtossegundo-attossegundo de precisão, para criar uma impressão digital molecular de campo elétrico que pode detetar mudanças na composição molecular de biofluidos, uma nova técnica analítica potencial para diagnóstico *in vitro* de doenças em amostras de sangue [6] e que possui a vantagem de permitir a monitorização de muitas moléculas em simultâneo usando radiação não ionizante.

Nas palavras da Presidente da Comissão Nobel da Física, Eva Olsson, “Agora que a porta para o mundo dos elétrons se encontra aberta, a física do attossegundo dá-nos a oportunidade de compreender os mecanismos que são governados por elétrons. O próximo passo, será a sua utilização sistemática nas várias áreas para as quais isto é relevante”.

Referências

- [1] W. Heisenberg, *Z. Physik* **1925**, 33, 879–893. DOI: 10.1007/BF01328377.
- [2] M. Ferray, A. L’Huillier, X. F. Li, L. A. Lompre, G. Mainfray, C. Manus, *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* **1988**, 21, L31. DOI: 10.1088/0953-4075/21/3/001.
- [3] P. M. Paul, E. S. Toma, P. Breger, G. Mullot, F. Augé, Ph. Balcou, H. G. Muller, P. Agostini, *Science* **2001**, 292, 1689–1692. DOI: 10.1126/science.1059413.
- [4] M. Hentschel, R. Kienberger, Ch. Spielmann, G. A. Reider, N. Milosevic, T. Brabec, P. Corkum, U. Heinzmann, M. Drescher, F. Krausz, *Nature* **2001**, 414, 509–513. DOI: 10.1038/35107000.
- [5] H. Y. Kim, M. Garg, S. Mandal, L. Seiffert, T. Fennel, E. Goulielmakis, *Nature* **2023**, 613, 662–666. DOI: 10.1038/s41586-022-05577-1.
- [6] M. Zigmans, M. Huber, K. Kepesidis, L. Voronina, F. Fleischmann, E. Fill, J. Hermann, I. Koch, T. Kolben, G. B. Schulz, F. Jokisch, N. Reinmuth, W. Gesierich, J. Behr, N. Harbeck, M. Reiser, C.G. Stief, F. Krausz, *Ann. Oncol.* **2022**, 33, S580. DOI: 10.1016/j.annonc.2022.07.122.

>

Rui Fausto

CQC-IMS, Departamento de Química, Universidade de Coimbra.

Departamento de Física, Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Cultura de Istambul, Turquia.

rfausto@ci.uc.pt

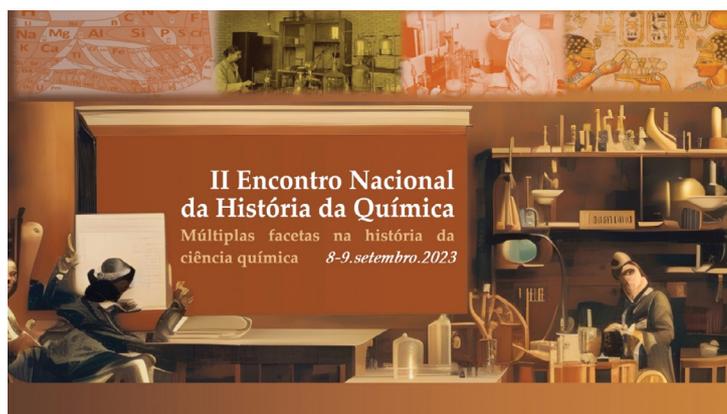
II Encontro Nacional de História da Química

O II Encontro Nacional de História da Química decorreu nos passados dias 8 e 9 de setembro, sob a égide da Sociedade Portuguesa de Química. Trilhando um caminho que se deseja possa ser fortalecido no futuro próximo, pretendeu-se uma vez mais potenciar a discussão e apresentação de trabalhos de investigação em desenvolvimento, criando as condições para um encontro formal dos membros integrantes do Grupo de História da Química da SPQ e também de todos os investigadores e profissionais que se debruçam e interessam sobre aspetos da história desta área científica.

O II Encontro decorreu completamente *online* devido a condicionalismos pós-pandémicos ainda presentes, mas apesar disso receberam-se comentários muito positivos sobre a sua realização e ambiente de partilha.

O tema agregador escolhido intitulou-se “Múltiplas facetas na história da ciência química”, tendo a primeira lição plenária sido proferida pelo Professor Hany Hamroush, da *American University in Cairo*, em torno do tema *Role of Chemistry and Geochemistry in Deciphering Some Aspects in the Evolution of Egyptian Civilization*. No desenvolvimento da sua lição, debruçou-se sobre exemplos de como a química e a geoquímica ajudaram a resolver diversas questões colocadas por arqueólogos e egiptólogos no contexto histórico da civilização egípcia. Num primeiro exemplo, abordou a natureza da evolução da tecnologia cerâmica no Egito durante o período pré-dinástico, seguindo-se a abordagem do uso de técnicas analíticas modernas na descoberta de segredos de algumas importantes múmias egípcias, tendo terminado com a ilustração de como a geoquímica ajudou a decifrar segredos sobre a Esfinge e o seu templo, situados na área das grandes pirâmides.

A segunda lição plenária foi apresentada pelo Professor José Antonio Chamizo, da *Facultad de Química – Instituto de Investigaciones Filosóficas Universidad Nacional Autónoma de México*, Cidade do México, e intitulou-se *Chemistry and its Transformations*. Na mesma, explorou-se a natureza da química e o seu desenvolvimento histórico, bem como a essencialidade do contexto social de transmissão e o papel da comunidade no desenvolvimento do conhecimento disciplinar da química. Discutiu-se a utilização de modelos, quer como representações quer como meio de intervenção, referindo-se as transformações químicas como processos cumulativos que acrescentam novas entidades ao terreno comum e contribuem para a construção de modelos mais detalhados de reações químicas. Da relação entre a química e as profissões associadas, adveio a sua fusão que conduziu à formação da química como disciplina, destacando-se também o papel dos



instrumentos nas práticas químicas. Apontou-se o levantamento de questões éticas em torno do grande número de novas substâncias que se produzem diariamente a nível mundial, tendo sido ainda contrastadas as práticas químicas com as de outras ciências.

No âmbito do II Encontro Nacional de História da Química, associámo-nos às comemorações do centenário da morte do grande químico português António Joaquim Ferreira da Silva. A terceira lição plenária foi apresentada pelo Professor Jorge Fernandes Alves e pela Doutora Rita C. Alves, intitulando-se *António Joaquim Ferreira da Silva (1853-1923), Químico: Coordenadas de um Percurso Referencial*, onde diferentes aspetos da vida deste ilustre químico foram revisitados, desde as suas manifestas realizações, de sentido inovador, em termos de produção científica, até a debates e processos de resistência que obrigaram Ferreira da Silva à defesa das suas posições, salientando-se que a análise do seu percurso desafia sucessivas e diferentes abordagens.

Seguiram-se cinco sessões de comunicações orais incidindo sobre perspetivas relativas à importância da Química na atualidade e suas interfaces, apresentando-se desenvolvimentos recentes da sua historiografia, suas instituições e diálogos concomitantes com outras áreas do saber, em desafios multidisciplinares que têm conduzido à melhor resolução de questões e desafios do quotidiano. A noção de que a existência de um conhecimento disciplinar incorpora um contexto social de transmissão e a existência de um grupo social que o reproduz, direcionou-nos à perceção de que a química apenas pode ser entendida através das suas modificações históricas, pelo que se lembraram atores, nacionais e internacionais, e o papel desempenhado no campo da experiência, do desenvolvimento de condições e criação de instituições dedicadas ao estudo e investigação da história da ciência, ao mesmo tempo que se refletiu sobre a importância de novos produtos, entre eles fármacos, com impacto social conhecido. Apresentaram-se ainda comunicações sobre o percurso evolutivo de alguns conceitos químicos, e de propriedades que só

podem ser obtidas indiretamente, bem como reflexões críticas em torno de episódios específicos/metodologias científicas do passado. Destacando a importância de preservar a memória histórica da dinâmica desse conhecimento, dos homens e das mulheres que o produziram, incidu-se ainda sobre a salvaguarda de vários artefactos, produtos, instrumentos e técnicas, que constituíram percursos de desenvolvimento da química, a que se acrescentaram casos de estudo de atividades multidisciplinares específicas de restauro, identificação e especificidade química de materiais, para além da sua utilização artística e/ou decorativa, e de substâncias, naturais ou sintetizadas, em prol de alternativas menos agressivas do ecossistema biológico.

Houve ainda oportunidade para uma visita virtual à “Exposição Bibliográfica Ferreira da Silva”, que está patente ao público na Biblioteca da Universidade de Aveiro, de 1 de setembro até meados de novembro (nova data), com a apresentação de várias obras originais, algumas das quais com assinatura do homenageado.

Ao longo dos dois dias do Encontro, decorreram 16 comunicações orais e registaram-se cerca de três dezenas de participantes com presença diversificada em termos geográficos: Portugal, Itália, Brasil e Estados Unidos da América.

O Grupo de História da Química reuniu num

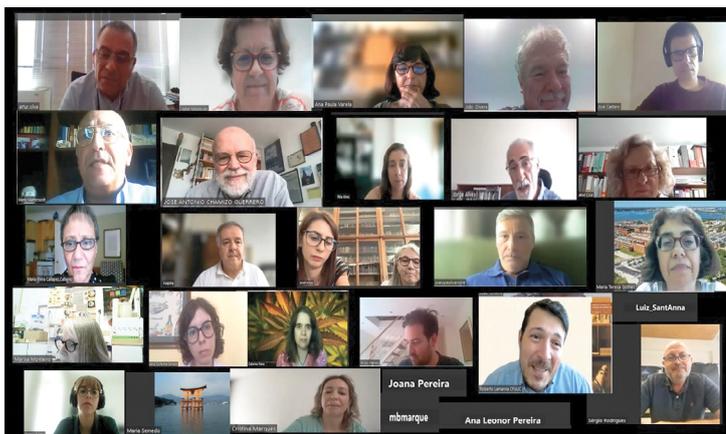


Foto de conjunto no 2ENHQ.

intervalo do Encontro, tendo sido escolhida a direção do próximo biénio, constituída por João Oliveira, João Paulo André e José Ferraz-Caetano, a quem se deseja um mandato profícuo em termos do desenvolvimento do Grupo e da área de História da Ciência, Tecnologia e Medicina e da Química, em particular.

>

Isabel Malaquias

imalaquias@ua.pt

ChemPor 2023

A 14.ª edição da Conferência Internacional em Engenharia Química e Biológica (ChemPor 2023) decorreu no Instituto Politécnico de Bragança (IPB) entre 12 e 15 de setembro de 2023 (chempor2023.events.chemistry.pt). Esta conferência trienal, organizada por uma Instituição de Ensino Superior Portuguesa e pela Ordem dos Engenheiros, reúne especialistas das áreas de Engenharia Química, Biológica e afins, tendo como principal objetivo a partilha dos últimos avanços científicos e tecnológicos entre as comunidades académica, científica, empresarial e tecnológica. Em particular, a ChemPor 2023 promoveu a discussão nas áreas da biorrefinaria, biotecnologia, energia e ambiente, novos materiais, criação e projeto de processos de reação e separação inovadores, entre outros, visando sempre as aplicações industriais e a sustentabilidade.

Desde a primeira edição, em 1975, a ChemPor é um espaço de celebração da ciência, criatividade, diversidade, mas também de amizade e convívio entre todos os participantes. Esta 14.ª edição sofreu um atraso de dois anos devido à crise sanitária global de COVID-19, pois apenas uma conferência totalmente presencial poderia manter os seus propósitos matriciais. Podemos agora afirmar, com toda a segurança, que este hiato de



Foto de grupo.

dois anos não limitou este espírito nem os resultados que a ChemPor 2023 garantiu. A participação ascendeu a mais de 300 delegados, de quatro continentes, e o contributo de todos é aqui reconhecido.

A sessão de abertura da ChemPor 2023, no dia 12 de setembro, foi uma celebração de reconhecimento e memória no Teatro Municipal de Bragança. A sessão iniciou-se com uma peça musical de Johann Pachelbel, pelo Ensemble de Violoncelos ESPROARTE, seguindo-se a palestra de abertura do Professor Jorge Calado na imensa área, mas menos explorada, da Arte e Ciência, e a fechar uma Sessão de Honra dedicada ao Professor Alírio Rodrigues pelos seus contributos académicos e científicos, nomeadamente no que diz respeito ao IPB. A importância de, pela primeira vez, a ChemPor ter sido organizada por uma instituição

do sistema de ensino superior politécnico, e num território do interior, foi transversalmente reconhecida, devendo destacar-se, nesse âmbito, a mensagem de apreço do Engenheiro António Silva da Ordem dos Engenheiros. Nos restantes dias, a conferência decorreu nas instalações do IPB, contemplando 11 palestras convidadas de cientistas e especialistas da indústria internacionalmente reconhecidos, 107 apresentações orais distribuídas em 27 sessões e 135 painéis em duas sessões independentes. Destacam-se ainda uma sessão exclusivamente dedicada a empresas, e outra para estudos de doutoramentos em ambiente industrial.

O prémio “Professor Almiro e Castro” foi entregue à Doutora Mara Freire (CICECO, Universidade de Aveiro). Este prémio, instituído em 2014 pela PARALAB SA, reconhece o mérito científico de um professor ou investigador português nas áreas de Engenharia Química, Biológica, ou afins, nos três anos que antecedem a ChemPor. Foram ainda entregues os prémios a jovens cientistas; o de melhor apresentação oral a Joana Martins (LEPABE, Universidade do Porto), e os de melhor apresentação em painel a Bojan Kopilovic (CICECO, Universidade de Aveiro) e João Leitão (CERENA, Universidade de Lisboa).

Este texto é também uma oportunidade para

agradecer a todos os participantes, em particular aos oradores convidados, mas também aos membros das Comissões de Honra, Científica e Organizadora Local, pelo seu inestimável contributo para a conferência. Destacamos e agradecemos ainda o forte apoio institucional do Instituto Politécnico de Bragança, da Ordem dos Engenheiros, do Centro de Investigação de Montanha, da Sociedade Portuguesa de Química e da Câmara Municipal de Bragança. Naturalmente, é também enorme a gratidão a todos os nossos patrocinadores das comunidades empresarial e industrial, e revistas científicas e editores associados. Obrigado, foi uma honra ter acolhido a ChemPor no IPB.

A próxima edição da Conferência Internacional em Engenharia Química e Biológica (ChemPor 2026) será organizada pela Universidade de Coimbra.

>

Simão Pinho

spinho@ipb.pt

>

Filomena Barreiro

barreiro@ipb.pt

I International Meeting Molecules4Life

O I International Meeting Molecules4Life (1M4Life) decorreu entre os dias 20 e 22 de setembro de 2023 na Escola de Ciências da Vida e Ambiente da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (molecules4life-2023.events.chemistry.pt). O 1.º Congresso com a chancela *Molecules4Life* foi uma organização conjunta do Centro de Química-Vila Real (CQVR) e da Sociedade Portuguesa de Química. Esta primeira edição foi dedicada à interação entre novas moléculas e as Ciências da Saúde e foram abordados importantes avanços conquistados com novas moléculas ou novas configurações moleculares em quatro grandes tópicos: *Healthy Food* (HF), *Drug Delivery* (DD), *Therapeutic Applications* (TA) e *Sensing and Diagnostic* (SD).

O congresso contou com dez conferências plenárias, sete comunicações convidadas, 28 apresentações orais, 50 comunicações em painel e cerca de 150 participantes de vários pontos do país (incluindo Açores e Madeira), e também dos Estados Unidos da América, França, Alemanha, Irlanda, Escócia, Espanha, Coreia do Sul, Malásia, Palestina, Israel, Turquia, Inglaterra, Polónia e Croácia. A maioria dos participantes eram professores universitários ou investigadores de pós-doutoramento. Participaram também vários alunos de doutoramento e mestrado, especialmente da UTAD.



As conferências plenárias abordaram os mais recentes avanços, desafios e tendências nas diferentes temáticas do congresso e foram proferidas pelo Prof. Richard Hartley (Univ. of Glasgow) - “Small molecules to interrogate and intervene in cellular redox”, Prof. Tiago Outeiro (Univ. of Gottingen) - “Unravelling the molecular mechanisms of Parkinson’s disease and related synucleinopathies”, Prof.ª Matilde Marques (IST) - “Tackling health challenges with chemical tools: incursions into drug design and drug toxicity”, Prof. Belen Vaz (Univ. of Vigo) - “Synthesis of indolobenzoazepinone scaffolds as active epigenetic modulators: challenges and opportunities”, Dr. Bruno Silva (Empa) - “Advancements and challenges in nonviral gene therapeutics: a physical chemist’s perspective”, Prof.ª Maria Blanco-Prieto (Univ. of Navarra) - “Nanomedicine for the treatment of pediatric cancer”, Dr. Rui Campos (INL) - “Genosensors: from small molecules to nucleic acids”, Prof.ª Maria Gamella-Carballo (Univ. Complutense of Madrid)



Sessão plenária.

- “*Disposable affinity electrochemical biosensing platforms: towards reliable tools for food safety and personalized nutrition*”, Prof. Pierre-Louis Teissedre (Univ. of Bordeaux) - “*Health potential of grape and wine phenolic compounds*” e Prof. Justin Siegel (Univ. of California, Davis) - “*Protein design and discovery to build the future of our food system*”.

No 1M4Life foram premiadas as melhores comunicações orais e em painel de cada uma das áreas, sendo o júri constituído por vários elementos da comissão científica. Os premiados na categoria de melhor Comunicação Oral foram João Siopa (UTAD) em HF, Daniela Malafaia (UA) em TA, Ivo Martins (UMa) em DD e Isilda Amorim (UM) em SD. Os prémios para

melhores comunicações em painel foram atribuídos a Mónica Silva (UTAD) em HF, Beatriz Morais (IST) em TA, Marina Amorim (UP) em DD e Joana Martins (UC) em SD.

O 1M4Life foi um êxito, com comunicações plenárias de excelência, que proporcionaram *insights* valiosos, estimularam o pensamento crítico e promoveram diálogos produtivos entre os participantes. Para além das sessões plenárias, o evento ofereceu oportunidades de *networking* que enriqueceram ainda mais a relação entre os investigadores.

O CQVR espera que o *Molecules4Life* que, se pretende bienal, se estabeleça como um fórum de discussão no panorama nacional e internacional.

A Comissão Organizadora do *Molecules4Life* agradece a todos os participantes pela elevada qualidade dos trabalhos apresentados e também a todos os patrocinadores pelo seu apoio a este evento.

>

Maria Manuel Oliveira

mmso@utad.pt

>

Maria Cristina Fialho Oliveira

mcris@utad.pt

IUPAC | CHAINS 2023

O 49.º Congresso Mundial de Química da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), juntamente com o 11.º Encontro CHAINS, o congresso anual de química do Conselho de Investigação dos Países Baixos (NWO), decorreu em Haia, Países Baixos, entre 20 e 25 de agosto de 2023 (chemistryviews.org/iupacchains-2023-insights-from-the-world-chemistry-congress). O evento serviu como plataforma para aproximadamente 2 000 participantes, de 77 países, promoverem a troca de ideias, cultivarem novas colaborações e participarem em valiosas discussões sobre Química.

O evento incluiu nove lições plenárias, várias ses-

Entrega do Prémio *Chemistry Europe* a Bert Weckhuysen. Gerrit Vermeulen®.

sões paralelas com apresentações orais e comunicações em painel que abordaram várias facetas da química, discussões interativas em painéis, um programa envolvente para Jovens Químicos, e a entrega de vários prémios, entre os quais o primeiro Prémio *Chemistry Europe* a Bert Weckhuysen, Professor na Universidade de Utrecht, Países Baixos, perito de renome mundial na investigação de catalisadores heterogéneos (uma entrevista com o premiado pode ser visualizada em chemistryviews.org/enjoy-being-like-a-detective). Com este prémio, a *Chemistry Europe* sublinha a sua missão de apoiar a excelência científica dos investigadores em química, assim como dos cientistas nos seus esforços para resolver os desafios que afetam a humanidade. O prémio, atribuído bianualmente, foca-se num tópico específico a cada edição, tendo o tema para 2023 sido “Química para a Sustentabilidade, Energia, Materiais e Meio Ambiente”.

>

Bruno Machado

brunofm@fe.up.pt

III Encontro Bio.Natural

Nos dias 12 e 13 de julho de 2023, o CBIOS (*Research Center for Biosciences & Health Technologies*) realizou a 3.ª edição do Congresso Internacional Bio.Natural em formato híbrido, reunindo 97 investigadores de 20 países. Mais uma vez, o Bio.Natural destacou a grande importância dos produtos naturais e contou como oradores principais internacionais o editor-chefe da prestigiada revista Elsevier - *Phytomedicine*, Thomas Efferth e a investigadora de produtos naturais marinhos, Deniz Tasdemir. O livro de resumos do evento pode ser encontrado na revista *Biomedical and Biopharmaceutical Research* - BBR e um tópico especial dedicado a este Encontro será publicado na revista *Frontiers in Pharmacology*. Os prémios foram patrocinados pela Elsevier - *Journal Food Bioscience* e outras entidades, como a Sociedade Portuguesa de Química. Mais informações sobre o evento podem ser encontradas em bionaturalconference.com. Em 2025 o IV Bio.Natural será realizado na modalidade presencial.



Organização do III Encontro Bio.Natural.

>

Patrícia Rijo

patricia.rijo@ulusofona.pt

Medalha de Ouro Europeia em Química 2024 Atribuída a Avelino Corma

A Medalha de Ouro Europeia em Química de 2024 foi concedida a Avelino Corma pelos seus feitos excecionais no campo da Química na Europa. Avelino Corma é o fundador do *Instituto de Tecnología Química* (CSIC-UPV) em Valência, Espanha. A sua área de investigação principal é a catálise heterogénea, na qual tem estado a trabalhar há quase quatro décadas. Ao longo da sua impressionante carreira, colaborou com várias empresas e tem o seu nome em 180 patentes e em mais de 1 400 artigos de investigação.

A sua investigação excepcional contribuiu para o desenvolvimento de catalisadores que estão a ser usados comercialmente em vários processos industriais. É internacionalmente reconhecido como perito na área dos catalisadores ácidos sólidos e bifuncionais, tendo recebido inúmeras distinções pelo trabalho desenvolvido.

O seu percurso profissional exemplifica os objetivos da Medalha de Ouro da EuChemS, que é atribuída a cada dois anos a cientistas que fizeram contribuições notáveis no campo da Química e avançaram significativamente a nossa compreensão de uma disciplina específica. Os premiados recebem esta honra nos Congressos de Química bienais da EuChemS,



nos quais proferem uma palestra plenária. Avelino Corma irá receber o seu prémio no 9.º Congresso de Química da EuChemS, que se realizará em Dublin em julho de 2024.

Mais informações acerca deste prémio disponíveis em euchems.eu/awards/european-chemistry-gold-medal.

>

Bruno Machado

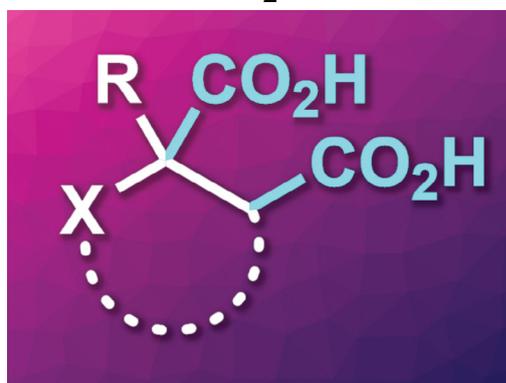
brunofm@fe.up.pt

Dicarboxilação de Alcenos com CO₂ e Formato

O ácido succínico é um ácido dicarboxílico do tipo HOOC-(CH₂)_n-COOH (n= 2). Um método de síntese adequado para derivados do ácido succínico consiste na dicarboxilação de alcenos (na imagem), que pode ser realizada, por exemplo, eletroquimicamente ou fotoquimicamente. Para as reações de carboxilação, o CO₂ pode ser um sintão adequado.

Dong Guo, Xu Zhu (Universidade Médica de Xuzhou, China) e colaboradores desenvolveram uma estratégia fotocatalítica para a síntese de derivados do ácido succínico por meio de uma reação de dicarboxilação de alceno usando CO₂ e um sal de formato como fontes de carbono. Esta equipa de investigação usou 4CzIPN como fotocatalisador à base de cianoareno, Cs₂CO₃ como base e sulfóxido de dimetilo como solvente. Uma quantidade catalítica de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) foi usada como reagente de transferência de átomo de hidrogénio para abstrair o átomo de hidrogénio do formato. As reações foram realizadas sob 1 atm de CO₂ e irradiação de LED azul (45 W, λ= 450 nm).

Os investigadores converteram diferentes alcenos mono-, di- e trissubstituídos, bem como derivados de acrilato, acrilamida e indol nos respetivos diácidos com rendimentos moderados a bons. De acordo com estes cientistas, a reação envolve o intermediário reativo CO₂^{-•}, que atua quer como fonte de carbono, quer como redutor. Os produtos obtidos podem ter



Crédito: ChemistryViews

aplicações, por exemplo, em química medicinal e em química de polímeros.

Fontes

Dicarboxylation of Alkenes with CO₂ and Formate, chemistryviews.org/dicarboxylation-of-alkenes-with-co2-and-formate (acedido em 05/02/2023). P. Xu, S. Wang, H. Xu, Y.-Q. Liu, R.-B. Li, W.-W. Liu, X.-Y. Wang, M.-L. Zou, Y. Zhou, D. Guo, X. Zhu, *ACS Catal.* **2023**, *13*, 2149–2155. DOI: 10.1021/acscatal.2c06377.

>

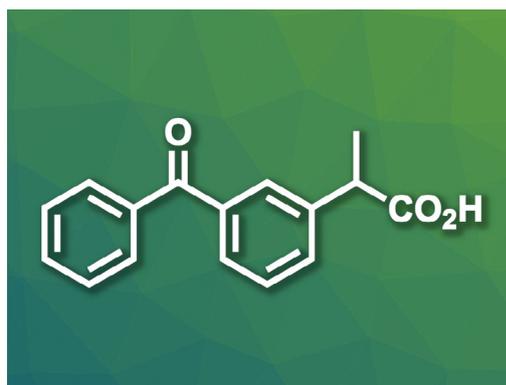
Ana Paula Esteves

aesteves@quimica.uminho.pt

Cetoprofeno: Nova Via de Síntese

O cetoprofeno, um anti-inflamatório não esteroide (AINE) derivado do ácido propanoico, com um substituinte do tipo arilo no carbono 2, apresenta várias atividades farmacológicas, nomeadamente analgésica, antipirética e anti-inflamatória, e tem sido utilizado para o tratamento da osteoartrite, da espondilite anquilosante e da artrite reumatoide, bem como para doenças não reumatóides ou dor pós-operatória. Este fármaco é eficiente em doses baixas e está aprovado quer para uso humano quer em medicina veterinária. A síntese do cetoprofeno pode ser realizada por diferentes processos industriais, os quais envolvem, geralmente, reagentes perigosos ou nocivos, como sodamida ou benzeno. Assim, vias mais ecológicas e eficientes para a preparação deste fármaco seriam de extrema importância.

Pei Tang (Sichuan University, Chengdu, China), Fener Chen (Fudan University, Xangai, China, Shanghai Engineering Research Center of Industrial Asymmetric Catalysis of Chiral Drugs e Sichuan University) e colegas desenvolveram uma via de síntese para o cetoprofeno em cinco etapas, com um rendimento global de



Crédito: ChemistryViews

44%. A síntese inicia-se com a ciclo-hexanona, que por reação com pirrolidina sofre uma alquilação da enamina de Stork. A enamina, por reação com cloreto de benzilo e hidrólise ácida (ácido clorídrico diluído) origina benzil ciclo-hexanona. A benzil ciclo-hexanona é então convertida num intermediário di-hidrobenezofuranona através de uma sequência de adição aldólica/enol-lactonização intramolecular, usando

tetracloro de titânio na presença de trietilamina, em diclorometano. O intermediário resultante sofre aromatização pirolítica a 230–250 °C na presença de cloridrato de piridínio, formando-se um derivado do ácido arilpropiónico, que por uma oxidação benzílica origina o cetoprofeno pretendido.

A equipa de investigação realizou a síntese na escala dos decagrama com bons rendimentos. Esta abordagem sintética não requer solventes tóxicos e pode ser uma alternativa útil para a síntese industrial do cetoprofeno.

Fontes

New Synthesis Route for Ketoprofen, chemistryviews.org/new-synthesis-route-for-ketoprofen (acedido em 08/05/2023).

L. Song, Z. Liu, M. Liu, P. Tang, F. Chen, *Org. Process Res. Dev.* **2023**, *27*, 922–927. DOI: 10.1021/acs.oprd.3c00049.

>

Ana Paula Esteves

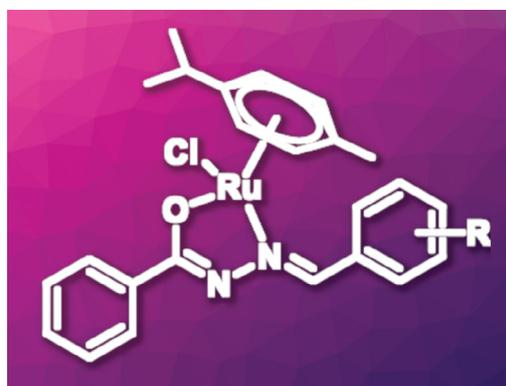
aesteves@quimica.uminho.pt

Catalisadores *Half-sandwich* de Ruténio para a Síntese de Cianossililéteres

A unidade cianossililo constitui um dos “blocos construtores” mais importantes e úteis utilizados em síntese orgânica porque pode ser convertida em diversos intermediários relevantes, nomeadamente, α -aminoácidos, α -hidroxiácidos, ciano-hidrinas, β -aminoálcoois, dióis vicinais e α -hidroxicetonas, entre outros. Estes intermediários são relevantes na síntese de fármacos, em química fina e nas áreas dos aromas, dos inseticidas e dos agroquímicos. Os cianossililéteres, em particular, são úteis em síntese orgânica, sendo usados diversos catalisadores para a sua síntese. Contudo, muitos destes catalisadores apresentam desvantagens significativas, tais como a necessidade de condições de reação difíceis, problemas de estabilidade ou atividade apenas para um número limitado de substratos. Complexos de ruténio podem catalisar diversas reações orgânicas de modo altamente eficiente e seletivo, sendo candidatos promissores para reações de cianossililação.

Zhen-Jiang Liu (Instituto de Tecnologia de Xangai, China), Zi-Jian Yao (Instituto de Tecnologia de Xangai e Universidade Normal de Anhui, Wuhu, China) e colaboradores desenvolveram uma série de complexos *half-sandwich* de ruténio com um ligando hidrazona e um ligando *p*-cimeno (na imagem). Os complexos foram preparados, em metanol, a partir de $[(p\text{-cimeno})\text{RuCl}_2]_2$ e do ligando hidrazona respetivo, sendo os complexos isolados estáveis ao ar e à humidade.

Os investigadores escolheram o benzaldeído como substrato para testar a reação de cianossililação, a qual foi realizada com cianeto de trimetilsililo, à temperatura ambiente, em diclorometano e na presença de 0,1 mol% do catalisador de ruténio. O produto esperado foi obtido, após 1 h de reação, com rendimentos de 94–95% para todos os catalisadores de ruténio testados. As reações de cianossililação de diversos aldeídos aromáticos com grupos eletrodadores ou eletroaceitadores, bem como



Crédito: *ChemistryViews*

com aldeídos heteroarílicos, originaram também rendimentos elevados. Com aldeídos alifáticos foram obtidos rendimentos inferiores, mas acima de 80%. A cianossililação de cetonas, nas mesmas condições, originou rendimentos entre 85 e 93%.

Os catalisadores de ruténio desenvolvidos por esta equipa de investigação são estáveis, ativos face a uma variedade grande de substratos, podendo ser usados em quantidades muito pequenas e em condições de reação suaves. Perante estas características, estes catalisadores poderão vir a ser úteis em reações de cianossililação.

Fontes

Half-Sandwich Ruthenium Catalysts for Cyanosilyl ether Synthesis, chemistryviews.org/half-sandwich-ruthenium-catalysts-for-cyanosilyl-ether-synthesis (acedido em 30/06/2023).

K. Wang, H. Li, L. Yang, Z.-J. Liu, Z.-J. Yao, *Inorg. Chem.* **2023**, *62*, 9872–9881. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.3c00819.

>

Ana Paula Esteves

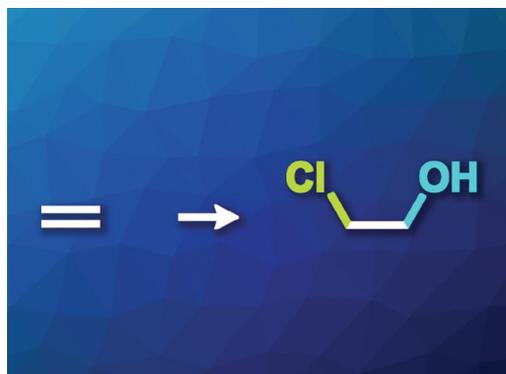
aesteves@quimica.uminho.pt

Obtenção de 2-Cloroetanol por Eletro-oxidação do Etileno Usando Água do Mar

A oxidação do etileno desempenha um papel indispensável para a produção de óxido de etileno, etilenoglicol e acetaldeído para a indústria química. Normalmente, este processo requer temperaturas e pressões elevadas, contribuindo para o aumento do consumo de combustíveis fósseis e do efeito estufa. A eletro-oxidação pode constituir uma alternativa mais ecológica. Contudo, até agora, esta abordagem tem sido limitada ao uso de eletrólitos alcalinos e neutros, originando acetaldeído e etilenoglicol.

Yao Zheng, Shi-Zhang Qiao (Universidade de Adelaide, Austrália) e colegas realizaram a eletro-oxidação de etileno a 2-cloroetanol usando um catalisador à base de Pd em presença de cloreto. Para esta reação, os investigadores usaram água do mar como eletrólito contendo cloreto e condições fortemente ácidas. A água do mar, recolhida na costa australiana, foi introduzida numa célula de fluxo típica de três elétrodos ou num eletrolisador de membrana de troca protónica (PEM, do inglês, *proton exchange membrane*) e ajustaram o valor de pH com HClO_4 . No eletrolisador PEM foram usados Pt/C e Pd/C como cátodo e ânodo, respetivamente.

A equipa de investigação descobriu que a eficiência Faradaica para a produção de 2-cloroetanol em água do mar acidificada atingiu ca. de 68% a 2,2 V. Face aos resultados obtidos, propuseram um mecanismo para a formação de 2-cloroetanol, a potenciais baixos, que envolve a interação direta de aniões cloreto adsorvidos com etileno, em vez



Crédito: ChemistryViews

de uma reação convencional mediada por Cl_2 a potenciais mais elevados.

Fontes

Using Seawater for the Electrooxidation of Ethylene Gives 2-Chloroethanol, chemistryviews.org/using-seawater-for-the-electrooxidation-of-ethylene-gives-2-chloroethanol (acedido em 07/07/2023).

L. Huang, P. Wang, Y. Jiang, K. Davey, Y. Zheng, S.-Z. Qiao, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, 145, 15565–15571. DOI: 10.1021/jacs.3c05114.

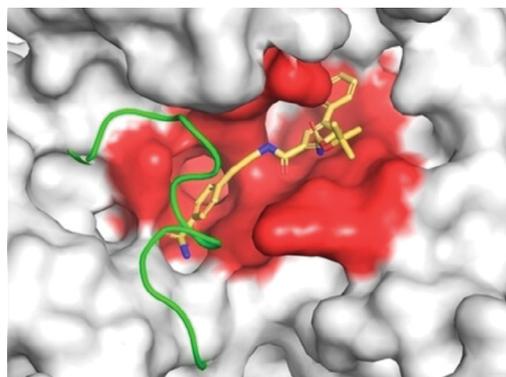
>

Ana Paula Esteves

aesteves@quimica.uminho.pt

Uma Oportunidade para a Descoberta de Medicamentos Antituberculose

A tuberculose é uma doença antiga causada por espécies do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, incluindo *M. tuberculosis* (Mtb), *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. bovis* e *M. pinnipedii*. Destas estirpes, a Mtb teve o maior impacto na Humanidade, tendo aparecido, pela primeira vez, como um agente patogénico humano há cerca de sete mil anos em África e evoluiu continuamente, espalhando-se por todo o mundo. Em 1993, a Organização Mundial da Saúde considerou a Mtb uma doença global e, hoje em dia, continua a ser uma das dez principais causas de morte em todo o mundo. O aparecimento de estirpes multirresistentes de tuberculose signifi-



Crédito: ChemistryViews

que é necessário encontrar, urgentemente, novos fármacos e alvos farmacológicos.

Alexander S. S. Dömling (Universidade de Groningen, Holanda, e Universidade Palacký, Olomouc, República Checa), Norbert Reiling (*Leibniz Lung Center*, Sülfeld, Alemanha e Centro Alemão para Pesquisa de Infecções (DZIF), Greifswald, Alemanha), Matthew R. Groves (Universidade de Groningen) e colegas puseram a hipótese de que a aspartato transcarbamoilase (ATCase) poderia representar uma oportunidade para a descoberta de fármacos. A ATCase é uma enzima chave na via de biossíntese da pirimidina (uma via essencial para a maioria dos organismos vivos, incluindo *tuberculosis*).

A equipa de investigação sugere que uma biblioteca de compostos desenvolvida inicialmente para inibir a ATCase na malária e, portanto, a biossíntese da pirimidina, também pode inibir a via tubercular equivalente. Assim, analisaram 70 compostos contra a ATCase da tuberculose, identificando inibidores potentes e seletivos. Os dez compostos mais promissores, que mostraram inibição micromolar de um dígito num ensaio de atividade *in vitro*, foram então testados

contra *Mycobacterium tuberculosis* em ensaios de cultura celular. Vários compostos mostraram uma ação inibidora forte face à proliferação da tuberculose. O candidato mais promissor apresentou um MIC₉₀ (concentração mínima que inibe o crescimento de 90% das bactérias visadas) de 4 µM. No geral, o trabalho realizado demonstra que a inibição de enzimas da via de biossíntese da pirimidina pode ser útil contra tuberculose, malária e, possivelmente, para outras doenças infecciosas.

Fontes

An Opportunity for Anti-Tuberculosis Drug Discovery, chemistryviews.org/an-opportunity-for-anti-tuberculosis-drug-discovery (acedido em 08/07/2023).

X. Du, V. Sonawane, B. Zhang, C. Wang, B. de Ruijter, A. S. S. Dömling, N. Reiling, M. R. Groves, *ChemMedChem* **2023**, e202300279. DOI: 10.1002/cmdc.202300279.

>

Ana Paula Esteves

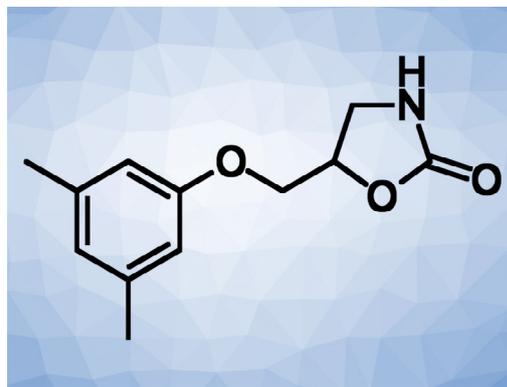
aesteves@quimica.uminho.pt

Síntese Biocatalítica da Metaxalona

As oxazolidinonas são heterociclos de cinco membros e apresentam vários efeitos biológicos e atividades farmacológicas, nomeadamente antimicrobiana, antivírica e antitumoral. Por exemplo, a linezolida, o primeiro antibiótico do tipo oxazolidinona aprovado para uso humano, é eficaz no tratamento de infeções provocadas por bactérias Gram-positivas multirresistentes. Para além destas atividades farmacológicas, as oxazolidinonas são também usadas como auxiliares quirais e intermediários em diversas reações orgânicas, pelo que o estudo dos seus métodos de síntese é particularmente importante.

A metaxalona (na imagem) é um relaxante muscular que contém uma unidade de oxazolidinona. As halo-hidrina des-halogenases (HHDHs, do inglês *halohydrin dehalogenases*) podem catalisar reações de abertura do anel de epóxido na presença de nucleófilos aniônicos. Esta reatividade pode ser útil para a síntese de oxazolidinonas quando o cianato é usado como nucleófilo e a abertura do epóxido é seguida por uma reação de ciclização espontânea.

Y.-Z. Chen, N.-W. Wan (*Zunyi Medical University*, China) e colaboradores desenvolveram uma abordagem biocatalítica para a síntese de um enantiómero da metaxalona ou a forma racémica, bem como



Crédito: ChemistryViews

diferentes análogos deste composto. A abordagem da equipa de investigação baseou-se na engenharia de proteínas de uma halo-hidrina des-halogenase de *Acidimicrobium bacterium* (HHDHamb), tendo selecionado cinco resíduos na enzima como locais que poderiam afetar a ligação dos substratos da reação e introduziram mutações nessas posições.

Os investigadores verificaram que algumas das enzimas mutantes geradas apresentaram maiores eficiência catalítica e enantioselectividade em comparação com a enzima não alterada. Assim,

usaram essas enzimas melhoradas para a síntese de oxazolidinonas a partir de cianato, de baixo custo, e de epóxidos disponíveis comercialmente. A equipa de investigação conseguiu sintetizar metaxalona na escala do grama com rendimento de 44% e com um excesso enantiomérico de 98% usando uma enzima mutante quádrupla. Por sua vez, uma enzima mutante tripla originou metaxalona na forma racémica com rendimento de 81%. Este método foi também usado para a síntese de análogos da metaxalona.

Fontes

Biocatalytic Synthesis of Metaxalone, chemistryviews.org/biocatalytic-synthesis-of-metaxalone (acedido em 10/07/2023).

Z.-X. Wang, H.-K. Fu, X.-Y. Da, H.-H. Wang, B.-D. Cui, W.-Y. Han, Y.-Z. Chen, N.-W. Wan, *Org. Lett.* **2023**, 25, 5049-5054. DOI: 10.1021/acs.orglett.3c01752.

>

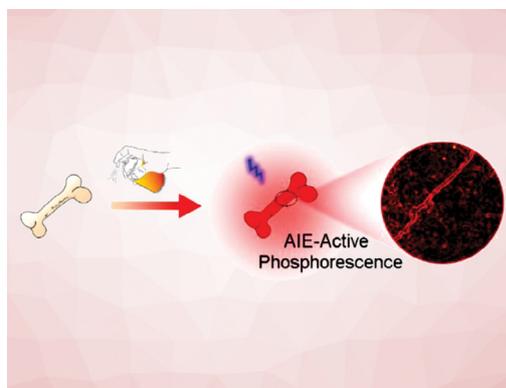
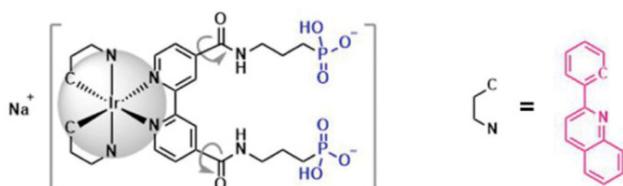
Ana Paula Esteves

aesteves@quimica.uminho.pt

Complexo de Irídio para Análise Fluorescente do Osso

A análise fluorescente do osso a nível microscópico pode fornecer informações importantes sobre a estrutura e o funcionamento do tecido ósseo, nomeadamente os mecanismos de crescimento, desenvolvimento e remodelação óssea, bem como sobre os processos envolvidos em doenças ósseas como a osteoporose ou a osteogénese imperfeita. Contudo, os corantes convencionais podem apresentar baixa especificidade para o tecido ósseo, pequenos desvios de Stokes, tempo de fluorescência curto e efeito de extinção causado por agregação (ACQ, do inglês *aggregation-cause quenching*), que resultam em baixa eficácia. Os complexos de irídio(III) com características de emissão induzida por agregação (AIE, do inglês, *aggregation-induced emission*) podem ser úteis para ultrapassar estas dificuldades.

S. Liu, G. Li (Universidade Xi'an Jiaotong, Shaanxi, China), L. Xu (*Guangdong Pharmaceutical University*, Zhongshan, China) e colaboradores desenvolveram um complexo de irídio(III) ativo por AIE (Ir-BP2, na figura, em baixo) como um agente de coloração de modo duplo altamente seletivo, conveniente e não destrutivo para análise óssea. O complexo Ir-BP2 contém grupos fosfonato que se ligam seletivamente à hidroxiapatite, o principal componente da matriz óssea, e apresentam um efeito *turn-on* de fosforescência AIE com tempo de vida prolongado.



Crédito: *ChemistryViews*

A equipa de investigação preparou um *spray* de coloração “pronto a usar” contendo Ir-BP2. Imagens fluorescentes e imagens duradouras (*lifetime imaging*) com coloração por Ir-BP2 podem fornecer informações importantes sobre a microestrutura óssea, microlesões e estado de crescimento. Para além disso, o Ir-BP2 foi aplicado com sucesso numa vértebra humana para diagnosticar a extensão da invasão óssea provocada pelo granuloma eosinofílico, um tipo de tumor ósseo. Este trabalho poderá ser útil para o desenvolvimento de novas abordagens para o diagnóstico e o tratamento de doenças relacionadas com os ossos.

Fontes

Iridium Complex for Fluorescent Bone Analysis, chemistryviews.org/iridium-complex-for-fluorescent-bone-analysis (acedido em 10/07/2023).

X. Zhang, X. Liu, H. Yu, S. Shen, J. Zhi, Z. Gao, J. Xin, J. Song, L. Shao, C. Meng, F. An, T. Huo, S. Liu, Y. Zhang, L. Xu, G. Li, *Aggregate* **2023**, e381. DOI: 10.1002/agt2.381.

>

Ana Paula Esteves

aesteves@quimica.uminho.pt

ELPIS: Atrativas Bibliotecas de Oxindoles como Inibidores Promissores de Tirosina-Cinase para Terapia-Alvo em Cancro

>

Vasco Bonifácio

vasco.bonifacio@tecnico.ulisboa.pt

• • • O cancro é uma das principais causas de morte a nível mundial, sendo ainda um problema inquietante para a sociedade e um desafio para a comunidade científica. Há cerca de 20 anos, com a descoberta do imatinib (Gleevec®), a chamada terapia-alvo apareceu para modificar as terapêuticas existentes para tratamento do cancro, e deu-se início a uma nova era na descoberta de fármacos. Uma nova geração de pequenas moléculas foi sintetizada com o intuito de inibir determinadas proteínas envolvidas na génese de células tumorais, despoletando tratamentos menos violentos.

Tendo em conta as particularidades exibidas pelo imatinib e o sunitinib (Sutent®), este projeto multidisciplinar pretende apresentar uma nova estratégia de síntese de novas bibliotecas de pequenas moléculas do tipo oxindole que possuam atividade inibitória para as proteínas tirosina-cinase. Atualmente, os desafios na química medicinal/sintética vão muito

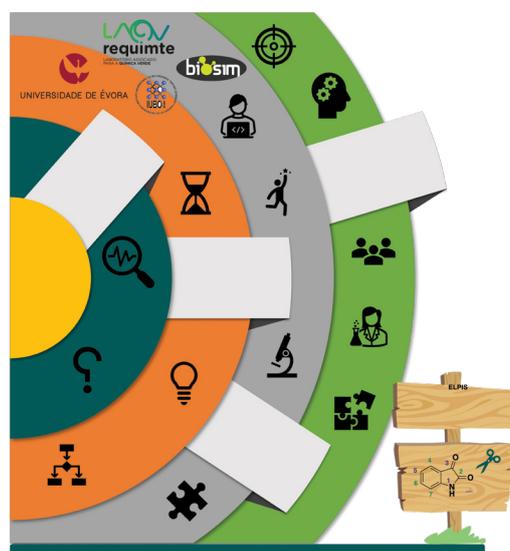
além da criação de novas moléculas. As preocupações ambientais geradas pela sociedade e pelas entidades reguladoras forçam a criação de métodos de síntese sustentáveis e amigos do ambiente, tanto no meio académico como na indústria. Assim, a estratégia planeada para o desenvolvimento deste projeto será a utilização de novas (e não só) reações multicomponente (RMC), de um modo *one-pot* ou sequencial, e procedimentos mais verdes, económicos e de baixo impacto ambiental para a obtenção dos compostos do tipo oxindole. O objetivo é beneficiar da enorme vantagem das RMC para desenvolver novas vias de síntese sustentáveis e económicas, diminuindo a produção de produtos secundários e a utilização de outros consumíveis dispendiosos e tóxicos, como solventes. Espera-se que os resultados desta investigação sejam um passo importante na descoberta de novos inibidores de tirosina-cinase.

• • •



>

Ficha Técnica do Projeto

Carolina Marques**Acrónimo:** ELPIS**Financiamento:** Fundação para a Ciência e a Tecnologia - 2022.02910.PTDC.**Equipa:** LAQV-REQUIMTE-Universidade de Évora - Carolina Marques (IR), António Teixeira (co-IR); BioLab-Universidade de La Laguna - José M. Padrón; UCIBIO-BioSIM-Universidade do Porto - Sérgio Sousa.

H₂O-3DCapture: Produção de Água - Solução Sustentável Baseada num Processo de Adsorção Gasosa Usando Materiais Híbridos Inovadores Impressos em 3D

> Vasco Bonifácio

vasco.bonifacio@tecnico.ulisboa.pt

••• O impacto do aquecimento global na disponibilidade de água potável e segura é uma das questões mais preocupantes que o mundo enfrenta atualmente. Assim, a procura por tecnologias menos dependentes da utilização de combustíveis fósseis, através do uso de fontes locais e de tecnologias com baixo impacto ambiental, que permitam a captura de água em regiões quentes e secas tem vindo a aumentar.

Neste sentido, o projeto H₂O-3DCapture visa o desenvolvimento de processos baseados em adsorção e utilização de novos materiais para captura de água a partir do ar. Para isso, será aplicado o processo cíclico de separação por adsorção *Electric Swing Adsorption* (ESA). Este processo requer a utilização de materiais adsorventes condutores de eletricidade de modo a serem aquecidos por efeito Joule, promovendo um aquecimento muito mais rápido, aumentando assim a produtividade do processo e reduzindo o tamanho da unidade. O maior obstáculo à sua utilização num processo de captura

de H₂O está relacionado com a escolha do adsorvente. Assim, o principal objetivo deste projeto é desenvolver um adsorvente estruturado que combine elevada capacidade de adsorção de água e condutividade elétrica, permitindo a sua utilização no processo de ESA, conduzindo a uma solução de captura de água viável de ser implementada.

Os materiais serão produzidos através de impressão 3D, caracterizados e testados, de modo a avaliar a viabilidade dos mesmos quando expostos ao método de regeneração proposto, em termos de desempenho do processo (taxa de produção de água e eficiência energética). Os resultados esperados neste projeto contribuirão diretamente para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável das Nações Unidas - Agenda 2030. O projeto tem uma duração prevista de 18 meses e conta com uma equipa multidisciplinar com reconhecimento internacional nas áreas de atuação do projeto, nomeadamente adsorção e processos de separação em fase gasosa.



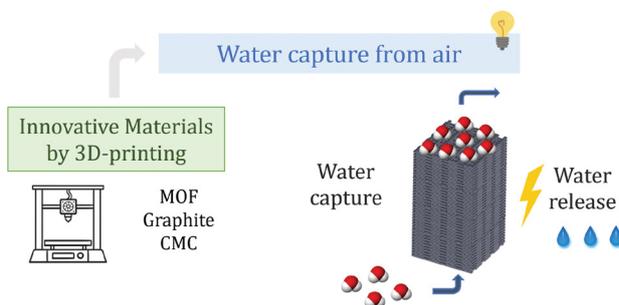
> **Ficha Técnica do Projeto**

Maria João Regufe

Acrónimo: H₂O-3DCapture.

Financiamento: Fundação para a Ciência e a Tecnologia - 2022.01973.PTDC.

Equipa: LSRE-LCM (ALiCE) - Maria João Regufe (IR), Paulo Carmo (co-IR), Ana Pereira, Ana Mafalda Ribeiro, Alexandre Ferreira e Alírio Rodrigues.



Professor Fraústo da Silva: Talento e Talante de Bem Fazer e Acontecer. Celebração dos 90 Anos do Seu Nascimento

Armando J. L. Pombeiro

Professor Fraústo da Silva: Talent and Talant de Bien Faire. Celebration of the 90th Anniversary of His Birth. Professor João José Rodiles Fraústo da Silva was one of the most influential personages in science and in culture in Portugal, a “man of the two cultures” who always preferred “to do” or “to make happen” instead of “to be”. This contribution addresses a brief account of his biography, witnessed by the author as one of his disciples, illustrating aspects of his personality and some activities he developed along his so rich life in emblematic institutions in science, culture and public administration in our country. It falls within the 90th birth anniversary celebratory initiatives of the Portuguese Chemical Society as a recognition of his outstanding role for the development of Chemical Sciences. Professor Fraústo da Silva will remain as an inspiration, an example to follow and a Friend to remember, as evidenced by this article.

O Professor João José Rodiles Fraústo da Silva, um dos vultos mais influentes na ciência e cultura em Portugal, foi um “homem das duas culturas” que sempre preferiu “fazer” ou “fazer acontecer” em vez de “estar”. Este artigo representa uma breve nota sobre a sua biografia, testemunhada pelo autor como um dos seus discípulos, ilustrando aspetos da sua personalidade e algumas atividades que desenvolveu ao longo da sua vida tão rica, em instituições emblemáticas na ciência, na cultura e na administração pública no nosso país. Surge no âmbito da celebração dos 90 anos do seu nascimento pela Sociedade Portuguesa de Química como reconhecimento da contribuição excepcional que prestou para o desenvolvimento das Ciências Químicas. O Professor Fraústo da Silva perdurará como uma inspiração, um exemplo a seguir e um Amigo a recordar, tal como evidenciado nesta contribuição.

1. Introdução

Neste ano de 2023 o Professor João José Rodiles Fraústo da Silva (Figura 1, esquerda) completaria os seus 90 anos. Deixou-nos fisicamente no ano passado, mas sempre permanecerá na memória de muitos, incluindo todos os que tiveram o privilégio de o conhecer e com ele privar. Figuro entre estes e, como seu discípulo e amigo, apresento este testemunho neste número especial do *QUÍMICA - Boletim da Sociedade Portuguesa de Química* incluído na homenagem que a *Sociedade Portuguesa de Química* (SPQ) lhe dedica, aceitando a proposta que apresentei juntamente com o colega e amigo José Galhardas de Moura da Universidade Nova de Lisboa que também com ele iniciou a sua carreira académica no Instituto Superior Técnico.

A homenagem desta Sociedade à sua memória inclui também a criação (decidida por unanimidade na Assembleia Geral de 7/12/2022) do *Prémio Fraústo*



Figura 1 - Professor João J. R. Fraústo da Silva pintado por Sá Nogueira (1988, quadro na Sala do Senado da Universidade Nova de Lisboa) (esquerda). Estudo preliminar para a Medalha do Prémio Fraústo da Silva (com a colaboração de José G. Moura e M. Fátima Guedes da Silva) (direita).

da Silva, com periodicidade bienal para galardoar um “cientista Português que, pela obra científica produzida em Portugal, tenha contribuído marcadamente para o progresso das Ciências Químicas”, atribuído pela primeira vez em 2023 a Carlos Geraldês. A cunhagem

da respetiva medalha está também a ser estudada, aquando da escrita deste manuscrito (Figura 1, direita). Foi-lhe ainda dedicada uma sessão especial do *Encontro da SPQ* neste mesmo ano, comemorativa dos 90 anos do seu nascimento, com a apresentação de comunicações por discípulos e colegas que com ele partilharam perspetivas científicas.

Constituem ainda tributos recentes ao Prof. Fraústo da Silva o texto *In Memoriam* (“Um Adeus a Fraústo da Silva (1933–2022)”) publicado no *QUÍMICA - Boletim da SPQ* em coautoria com José Moura [1] e o estatutário “Elogio Histórico do Académico Fraústo da Silva” que proferi na Academia das Ciências de Lisboa [2].

Anteriormente, em 2003, na celebração dos seus 70 anos, coordenei a edição do número especial da revista internacional *Inorganica Chimica Acta* que lhe foi dedicado (contou com 44 contribuições) e cujo Prefácio é uma biografia do homenageado [3].

A contribuição presente (a inspiração do seu título é indicada no Epílogo) constitui uma nota biográfica, com alguns aspetos pessoais que testemunhei diretamente, que ilustram facetas essenciais da personalidade do Professor Fraústo da Silva, como um homem com um talante (e um talento) de bem-fazer (*talant de bien-faire*), das *duas culturas* de Charles P. Snow (Ciências e Humanidades) e que sempre preferiu *fazer* (e *fazer acontecer* ou *levar a fazer*) do que *estar* ou *ser*.

Não é fácil sistematizar esta nota em face das múltiplas e diversificadas atividades e cargos (por vezes em simultâneo) que o Professor Fraústo da Silva desempenhou, mas a ordenação cronológica é seguida preferencialmente pois permite dar uma perspetiva das diversas fases da sua carreira, dando-se preferência às atividades científicas ou públicas com pendor científico, mais relevantes para esta revista.

Para um *curriculum vitae* detalhado, sobretudo no tocante a cargos públicos, poderá consultar-se o Repositório Digital da História da Educação, Secretaria-Geral do Ministério da Educação [4], que constitui uma fonte de informação rica a que recorri com frequência, assim como a [2], a [3] e a uma entrevista do Professor concedida à RTP em 2003 [5].

2. Estudante, Colega e Início de Carreira Profissional

Fraústo da Silva, nascido em 30 de agosto de 1933, em Tomar, cedo mostrou ser um estudante invulgar, tendo recebido numerosas distinções, tais como as do melhor aluno da 4.ª classe da Escola Primária, e os prémios académicos “Mário Bastos Wagner”, “Bandeira de Melo” e “Companhia União Fabril”, do melhor aluno do curso de Engenharia Químico-Industrial do Instituto Superior Técnico (IST), que concluiu em 1958.

Inesperadamente, teve de repetir o segundo ano da licenciatura apenas com a cadeira de Cálculo Integral e

Diferencial (nessa altura não se podia transitar de ano sem ter feitas todas as disciplinas desse ano), incidente que bem aproveitou de modo a torná-lo benéfico para a sua carreira, pois permitiu-lhe trabalhar com os Professores Pierre Laurent e Herculano de Carvalho [5], e assim ganhar com estes umas sólidas bases de Química Orgânica e Química Analítica, respetivamente, e fomentar a sua inclinação para a investigação científica.

No quinto ano da licenciatura ingressou como bolsheiro no Centro de Estudos de Química Nuclear do Instituto de Alta Cultura a convite do Professor Herculano de Carvalho e, no ano seguinte, foi contratado como Segundo Assistente além do quadro no IST, para as disciplinas da área de Química Analítica.

Realizou o estágio final de curso na empresa “Laboratórios ATRAL”, apresentando o anteprojeto de uma fábrica de antibióticos, mais tarde continuado através de um projeto que foi concretizado com a instalação de uma fábrica em Portugal (CIPAN) e no Brasil.

Após a licenciatura, cumpriu o serviço militar obrigatório (arma de artilharia) tendo sido classificado em primeiro lugar no respetivo curso de oficiais milicianos e recebendo um louvor (1960), assim como as medalhas de melhor classificação geral e em especialidade.

Em seguida partiu para a Universidade de Oxford onde realizou o seu doutoramento sob a orientação do Professor Harry Irving, durante o período mínimo possível permitido (dois anos), assegurando assim a sua conclusão (1962) antes de alguma eventual mobilização para novo serviço militar [5], o que não chegou a acontecer.

Regressado ao IST, continuou a exercer as anteriores funções docentes e de investigação, assim como a colaborar com os Laboratórios ATRAL, e efetuou um novo doutoramento dado que ainda não havia em Portugal o reconhecimento de doutoramentos obtidos no estrangeiro, o qual concluiu em 1965 com 19 valores.

No mesmo ano foi agraciado com o Prémio Artur Malheiros (Ciências Físico-Químicas) da Academia das Ciências de Lisboa (para a qual, mais tarde, em 1971 foi eleito Membro Correspondente), e passou a 1.º Assistente do Quadro do IST, com as regências das disciplinas de Química Inorgânica e de Química Analítica, tendo sucedido a Herculano de Carvalho.

Foi ainda Diretor do Laboratório de Análises do IST (sucendendo a Herculano de Carvalho), cargo que depois transferiu para a sua colaboradora Doutora Maria Cândida Vaz.

3. Atividades e Cargos Públicos até à Fundação da Universidade Nova de Lisboa

3.1. GEPAE, IST e CQE

Uma tarefa que iria influenciar marcadamente a carreira de Fraústo da Silva consistiu na preparação de um relatório sobre a “Investigação Científica em Portugal”, nos trabalhos preparatórios do III Plano de Fomento, para a

qual fora indicado por Herculano de Carvalho. Foi então convidado a colaborar com o Gabinete de Estudos e Planeamento da Ação Educativa (**GEPAE**) do qual mais tarde (1968) viria a ser Presidente a convite do Ministro da Educação, Professor José Hermano Saraiva.

Foi nomeado Delegado Nacional no “Comité da Política da Ciência” (1966) e no “Comité da Educação” (1970) da OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico).

Foi promovido a Professor Catedrático do **IST** (1967, apenas com a idade de 34 anos) em concurso de provas públicas, e nomeado representante do Ministro da Educação Nacional na Comissão Interministerial para a Integração e Planeamento Económico, e Presidente do grupo de trabalho sobre Ensino e Investigação no Secretariado Técnico da Presidência do Conselho de Ministros.

Foi nomeado *Director do IST* (1969) e, durante o seu mandato (até 1972), procedeu a uma vasta reforma dos cursos de Engenharia, reduziu a sua duração para cinco anos e aumentou o seu carácter científico-tecnológico.

Promoveu a associação da investigação à docência no IST com a criação e expansão de centros de investigação, a criação de um elevado número de vagas para novos docentes, a formação de um corpo docente diversificado (designadamente em Química) e interessado em aí desenvolver investigação.

Fomentou desde o início um bom relacionamento com a Associação de Estudantes do IST da qual José Mariano Gago era então o Presidente.

Sucedendo a Herculano de Carvalho, assumiu a coordenação da investigação no *Centro de Estudos de Química Nuclear*. Convidou e incentivou alguns dos seus colaboradores para realizarem doutoramento em prestigiadas universidades estrangeiras, sobretudo a de Oxford (Jorge Calado, Romão Dias e António Xavier) onde ele próprio se doutorara, e depois também a de Sussex com a minha ida (1973) para a Unidade de Fixação de Azoto, de modo a poderem vir a colmatar no IST áreas importantes da Química.

Em 1972 funda o **Centro de Química Estrutural (CQE)**, na sequência do Centro de Estudos de Química Nuclear e no âmbito do Complexo Interdisciplinar do Instituto de Alta Cultura, em instalação no IST, o qual veio a tornar-se um Centro de excelência em investigação em Química no nosso país.

O regresso daqueles doutorados permitiu, no CQE, a criação de Linhas novas de investigação em Termodinâmica (Jorge Calado), Química Organometálica (Romão Dias) e, um pouco mais tarde, Fotoquímica (Sílvia Costa), Biologia Molecular (António Xavier) e, depois, Química de Coordenação, Eletroquímica Molecular e Catálise (sob a minha coordenação); posteriormente, também Eletroquímica Analítica (Maria de Lurdes Gonçalves) (Figura 2).

Fraúst da Silva coordenava a Linha I no domínio da Química Bioinorgânica, na qual eu inicialmente me

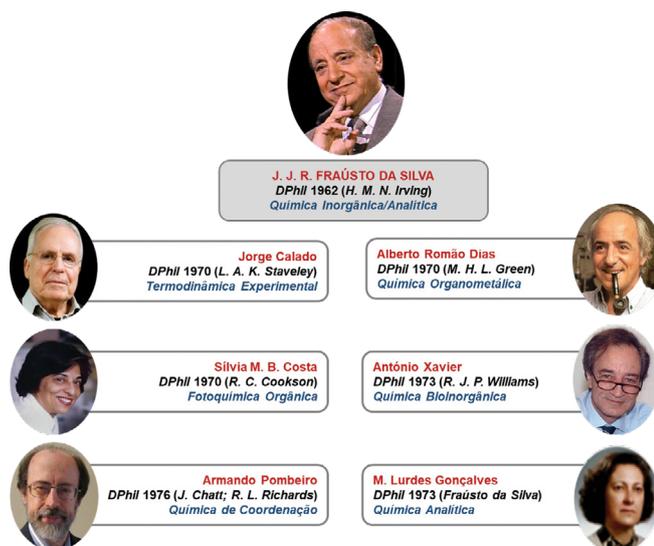


Figura 2 - Membros do Centro de Química Estrutural aquando da sua fundação e que aí estabeleceram grupos próprios.

integrava. No entanto, após o meu regresso (doutoramento) da Universidade de Sussex (1976), e após um período transitório de integração (involuntária e incorreta) noutra Linha do CQE, formei um grupo autónomo (Linha IB) por sua iniciativa que então dividiu o seu grupo em dois subgrupos: IA que permaneceu sob a sua coordenação (química bioinorgânica) e IB (ativação de moléculas pequenas por centros metálicos, a que se juntou depois a eletroquímica molecular) que ficou sob a minha responsabilidade. Mais tarde, com a saída de António Xavier para a Universidade Nova, o meu Grupo (IB) passou a ser o Grupo V e, posteriormente, foi criado o Grupo VI (domínio da eletroquímica analítica) sob a coordenação de Maria de Lurdes Gonçalves. Ao longo da sua evolução, o CQE sofreu algumas reestruturações, mas ainda mantém a designação inicial.

Muitos outros docentes iniciaram a sua carreira de investigação no grupo de Fraúst da Silva, como seus discípulos, tais como, Maria José Calhorda (que mais tarde transitou para a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa), José Galhardas de Moura e Luís Vilas Boas (que depois incorporaram a Universidade Nova de Lisboa), Maria Cândida Vaz, João da Costa Pessoa (doutorado em 1986 sob a orientação de Vilas Boas no IST) que sucedeu a Fraúst da Silva na coordenação do seu grupo de investigação quando este se afastou definitivamente, e José Armando da Silva (doutorado em 1992, sob a supervisão de Vilas Boas e Fraúst da Silva).

O CQE foi um Centro seminal, tendo estado na origem de outras excelentes unidades ou grupos de investigação, (i) na Universidade Nova de Lisboa [António Xavier, Carlos Romão e Maria Arménia Carrondo (Instituto de Tecnologia Química e Biológica, ITQB, em Oeiras); José Galhardas de Moura, Isabel Moura, Manuel Nunes da Ponte e Fernando Pina (Faculdade de Ciências e Tecnologia, FCT-UNL)],

(ii) na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa [Carlos Nieto de Castro (que depois voltou a integrar o CQE), Maria José Calhorda, Virgílio Meira Soares (que foi Reitor da Universidade de Lisboa), José Artur Simões e Helena Garcia (que integra agora o CQE)], (iii) no Centro de Química-Física Molecular do IST (António Prieto e Mário Nuno Berberan Santos), (iv) no Laboratório de Análises do IST [Maria Cândida Vaz (sucessora de Fraústo da Silva na direção deste laboratório e membro do CQE)], (v) na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias [Maria de Fátima Guedes da Silva (atualmente no IST e no CQE), e (vi) no Instituto Superior de Engenharia de Lisboa (ISEL) [Luísa Martins (atualmente no IST) e Elisabete Alegria, ambas no CQE].

No âmbito do **GEPAE**, Fraústo da Silva coordenou os estudos preparatórios do IV Plano de Fomento e colaborou diretamente com o Ministro Veiga Simão nos projetos mais relevantes na reforma do sistema educativo, nomeadamente o “Projeto do Sistema Escolar” e as “Linhas Gerais da Reforma do Ensino Superior”.

O ano de 1972 foi particularmente rico em acontecimentos na sua vida profissional, tendo a relevância da sua ação sido reconhecida com a atribuição, pelo Presidente da República, do Grau de *Grande Oficial da Ordem da Instrução Pública*.

Nesse ano e a seu pedido, deixa o cargo de Diretor do IST, após ter conseguido que a polícia, que havia entrado abusivamente nesta Escola (período de contestação política estudantil), a abandonasse pacificamente.

Pôde então concentrar-se no GEPAE, sobretudo no projeto de grande envergadura da criação de uma rede de novas Universidades e Institutos Politécnicos.

A este gabinete pertenceram ou com ele participaram figuras proeminentes (algumas até em início de carreira política que aí fizeram o seu aprendizado), tais como, Adelino Amaro da Costa, João Cravinho, Sousa Franco, Roberto Carneiro, Teresa Ambrósio, Rui Vilar, Helena Roseta, Almeida Costa, etc. [5].

Embora com pessoas pertencentes a vários quadrantes políticos, Fraústo da Silva (que sempre foi independente) conseguiu que este Gabinete trabalhasse sempre sem clivagens políticas, havendo uma conjugação de boas-vontades e “esforços para mudar o sistema dentro do regime da época” [5].

É interessante realçar que o GEPAE desempenhava dois tipos gerais de funções: (i) Estudos e análise curriculares na educação; e (ii) Preparação dos Planos de Fomento.

Assim, enquadrava-se bem na missão deste Gabinete o apoio, com bases científicas, à política educativa. A ligação entre a ciência e a política é muito pouco efetiva e o seu fomento constitui um objetivo importante de Academias de Ciências nacionais e europeias.

3.2. Universidade Nova de Lisboa

Tendo sido nomeado Reitor da Universidade Nova

de Lisboa (ainda inexistente) em 1973, a convite do Ministro Veiga Simão, Fraústo da Silva entendeu deixar a Direção do GEPAE.

Nota-se de novo a sua preocupação (nem sempre conseguida) em evitar acumular cargos de alta responsabilidade, para poder dedicar-se de cada vez a cada um deles com o empenho que sempre caracterizou a sua atividade.

Como Reitor fundador da Universidade Nova de Lisboa, planeou de raiz a sua criação, instalação, estatutos, cursos, etc. Havia um número reduzido de troncos básicos nos primeiros anos, ficando as especializações para a fase final de modo a permitir que os alunos facilmente mudassem de curso, se assim desejassem por vocação ou por ajuste a necessidades do mercado de emprego.

Também com caráter inovador, iniciaram-se, em instalações provisórias, os primeiros cursos de pós-graduação de Universidades Portuguesas, criou-se a primeira licenciatura em Informática, o primeiro departamento de Musicologia, o primeiro curso de pós-graduação em História de Arte, etc.

Nessa universidade, Fraústo da Silva foi o responsável pelo lançamento da área das Ciências da Vida que muito se desenvolveu, repartindo-se atualmente pelos Departamentos das Ciências da Vida e de Química, e pelo Instituto de Tecnologia Química e Biológica (ITQB), em Oeiras.

Além disso, segundo Fraústo da Silva, aquela Universidade deveria seguir um modelo de *campus* universitário americano [5] promotor da inter- e transdisciplinaridade, com as várias Escolas situadas no mesmo local. Verificou-se depois que a Universidade Nova de Lisboa, por razões várias, se desenvolveu de modo diferente, com Escolas distribuídas em locais diversos, na Caparica, Lisboa e Oeiras.

Como reconhecimento pela sua ação decisiva na fundação e estabelecimento da Universidade Nova de Lisboa e na projeção científica daquelas áreas, esta instituição conferiu-lhe o grau de *Doutor Honoris Causa* em Química (2001) (Figura 3), para além da medalha do Senado (1999) e de ter dado o seu nome (2001) a uma nova residência universitária no *campus* da Caparica.



Figura 3 - Diploma e insignias de doutoramento *Honoris Causa* pela Universidade Nova de Lisboa.

4. Período Pós-Universidade Nova de Lisboa

4.1. Atividade Científica

A Universidade Nova de Lisboa constitui um dos marcos mais relevantes na vida de Fraústo da Silva, que conseguiu criá-la superando inúmeras vicissitudes, nomeadamente decorrentes do antagonismo de um período revolucionário no nosso país que a considerava como uma Escola de “elite” e não do povo.

Incompatibilizado com o 5.º Governo Provisório (liderado por Vasco Gonçalves), resignou (1975), a seu pedido, da renovação do mandato de Reitor daquela Universidade.

Fraústo da Silva já mostrara a sua capacidade para transformar um desapontamento numa oportunidade científica segundo uma outra perspetiva (veja-se o ano do seu curso que teve de repetir, como acima referido) e aproveitou então a disponibilidade para fazer uma atualização na Universidade de Oxford, em visita sabática, como *Visiting Fellow* de St. Edmund-Hall, usufruindo de uma bolsa atribuída no âmbito de um protocolo de colaboração entre a Academia das Ciências de Lisboa e a *Royal Society*.

Esta necessidade de “refrescamento” levou-o a estabelecer uma colaboração excepcionalmente profícua com o colega e amigo Robert J. P. Williams (Bob Williams para os amigos) da Universidade de Oxford, que também havia estudado com Harry Irving, resultando na sua reorientação para um novo domínio científico que ambos muito ajudaram a criar e estabelecer, o da *Química Bioinorgânica*, envolvendo o estudo das propriedades biológicas dos elementos químicos e do papel dos metais em biologia.

Desta colaboração resultou a edição de um livro, no seguimento de um simpósio com o mesmo nome que decorreu (1979) na Academia das Ciências de Lisboa no âmbito da série “Fronteiras do Conhecimento” comemorativa do seu bicentenário; - “New Trends in Bio-Inorganic Chemistry”, Academic Press, Londres, 1978; edição nacional publicada no ano seguinte pela Academia das Ciências de Lisboa (Figura 4, esquerda).

Neste livro, Fraústo da Silva foi autor dos seguintes capítulos: (i) “High Redox Potential Chemicals in Biological Systems”, R. J. P. Williams, J. J. R. Fraústo da Silva, Cap. 5, pp. 93-132; (ii) “Interaction of the Chemical Elements with Biological Systems”, Cap. 13, pp.341-367.

No entanto, os efeitos de maior impacto da referida colaboração traduziram-se na publicação, durante um longo período de tempo e em coautoria, de vários livros seminais, altamente inspiradores e arrojados, com propostas imaginativas e até por vezes especulativas e controversas, que foram acolhidos internacionalmente com as críticas mais favoráveis, em diversas revistas ou jornais (*Nature*, *The Times Higher Education Supplement*, *Chemistry in Britain*, etc.), indicando-se em seguida alguns exemplos de extratos de recensões críticas:

- “The Biological Chemistry of the Elements / The Inorganic Chemistry of Life”, *Oxford University Press*, 1991, reeditado várias vezes e com a segunda edição revista e expandida (2001) (Figura 4, centro e direita): avaliado como “the bible of bioinorganic chemistry [6],... rich and refreshing... an excellent text for an advanced course ...in which disparate view-points are so admirably synthesised [7],... having also relevance to other sciences... [8]”.



Figura 4 - Capas dos livros “New Trends in Bio-Inorganic Chemistry” (edição da Academia das Ciências de Lisboa) e “The Biological Chemistry of the Elements / The Inorganic Chemistry of Life” (1.ª e 2.ª eds.)

- “The Natural Selection of the Chemical Elements / The Environment and Life’s Chemistry”, *Oxford University Press*, 1996; reimpressão em 1997) (Figura 5, esquerda): comparado [9] com “the seminal L. Pauling’s book on the Nature of the Chemical Bond”, embora de tema diferente, e previsto tornar-se a “every origin of life’s bible” [10], reconhecido como “an awe inspiring encyclopaedia of chemistry, biochemistry, geochemistry and environmental science” [10], e “an encyclopaedic volume...which leads us from early Chinese and Greek philosophy through refresher courses in... inorganic chemistry, biological chemistry, with excursions into geochemistry, cosmology and biology, to the final holistic view of the universe and life on earth...” [11].

- “Bringing Chemistry to Life / From Matter to Man”, *Oxford University Press*, 1999 (Figura 5, centro): avaliado como “a beautifully produced gem of a book that weaves together geology, biology, chemistry, physics and philosophy” [12], e “the theory of everything from a biochemical perspective” [13].

- “The Chemistry of Evolution / The Development

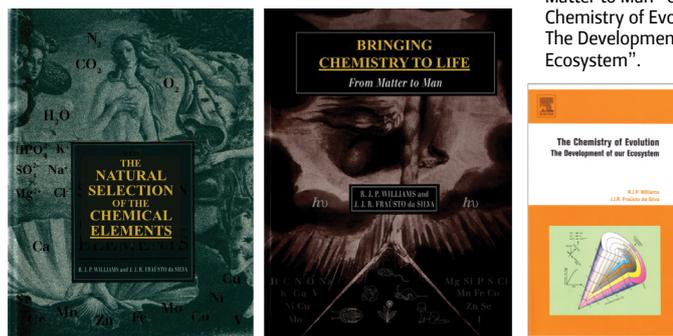


Figura 5 - Capas dos livros “The Natural Selection of the Chemical Elements / The Environment and Life’s Chemistry”, “Bringing Chemistry to Life / From Matter to Man” e “The Chemistry of Evolution / The Development of our Ecosystem”.

of our Ecosystem”, Elsevier, 2006 (Figura 5, direita).

Para além dos livros referidos, em língua inglesa, Fraústo da Silva publicou em português vários outros livros em domínios gerais da Química Bioinorgânica e das Ciências da Vida:

- “Introdução à Química da Vida” (Universidade Nova de Lisboa, 1985), uma reflexão preliminar e pioneira sobre ideias que depois desenvolveu com Robert Williams naqueles livros (Figura 6, esquerda);

- “A Química Inorgânica do Cérebro - Os Elementos Químicos e o Sistema Nervoso Central” (com José Armando da Silva), Gradiva, 2008 (Figura 6, central); tive gosto em participar no lançamento deste livro (sala de cultura do “El Corte Inglés”, Lisboa), no qual também apresentei os seus autores, tendo a perspetiva neurológica sido comentada pelo neurocirurgião João Lobo Antunes.

- “Os Elementos Químicos e a Vida” (com José Armando da Silva), IST Press, 2011, já com a idade de 78 anos (Figura 6, direita).

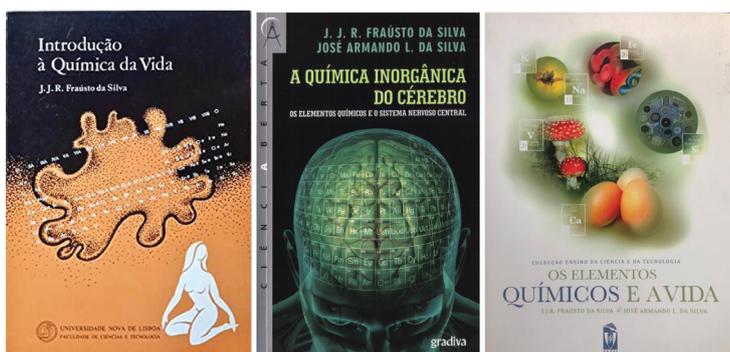


Figura 6 - Capas dos livros “Introdução à Química da Vida”, “A Química Inorgânica do Cérebro - Os Elementos Químicos e o Sistema Nervoso Central” e “Os Elementos Químicos e a Vida”.

Publicou também em coautoria com Robert Williams vários artigos com elevado impacto, tais como:

- “Evolution was Chemically Constrained”, *J. Theor. Biol.*, 2003 [14] que, estando ainda no prelo, havia já sido discutido largamente na Web e em várias revistas [e.g., *Times Higher Education Supplement* (3 de janeiro) e *New Scientist* (18 de janeiro)], e sobre o qual o Professor Harold Morowitz comentou como sendo “part of a quiet paradigm revolution going on in biology, in which the radical randomness of Darwinism is being replaced by a much more scientific law-regulated emergence of life”.

- “The Trinity of Life: The Genome, the Proteome, and the Mineral Chemical Elements”, 2004 [15], onde foi introduzido o conceito de “metaloma”.

Também foi bem significativo o convite que lhe foi dirigido (2004), assim como a Robert Williams, pela Fundação John Templeton (de caráter filantrópico e espiritual) para colaborar no projeto interdisciplinar

e exploratório de grande envergadura “Fitness of the Cosmos for Life: Biochemistry and Fine Tuning”.

Os trabalhos acima referidos ilustraram a relevância da Química (sobretudo na perspetiva inorgânica) na evolução da vida, a qual ainda não tinha sido tratada pelas teorias evolucionistas.

Para além da colaboração com Robert Williams, Fraústo da Silva dirigiu o grupo de investigação em Química Bioinorgânica no CQE, tendo José Armando da Silva e Maria Cândida Vaz como os seus colaboradores mais diretos.

Entre os estudos do meu grupo nos quais Fraústo da Silva colaborou (cerca de uma centena de artigos em que foi coautor, tendo até o seu último artigo científico, em 2013, sido em coautoria [16]), poderei referir a aplicação da Amavadina como catalisador em reações de conversão de alcanos em produtos orgânicos de valor acrescentado [17,18] e como eletrocatalisador (na oxidação de tióis biológicos) [19], domínios que eu introduzira no CQE.

A Amavadina é um complexo natural de vanádio existente nos cogumelos *Amanita Muscaria* (fungo de grande beleza, mas venenoso e alucinogénico) (Figura 7), cujo interesse no nosso país fora introduzido por Fraústo da Silva noutro contexto [20].

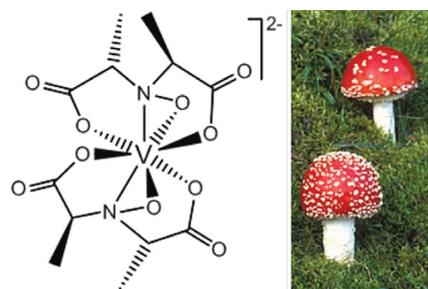


Figura 7 - Amavadina e fungo *Amanita Muscaria*.

Foi no seu grupo de investigação que se descobriu a estrutura molecular da Amavadina, através de um modelo sintético muito próximo do composto natural, o complexo $[V(HIDA)_2]^{2-}$ (em que HIDA = *N*-hidroxi-iminodiacetato) [21], revelando-se surpreendentemente como um novo tipo de complexo de vanádio, desprovido do grupo vanadilo (VO^{2+}) e com um elevado número de coordenação (oito) (Figura 7).

Em reconhecimento da sua importante contribuição para o fomento da Ciência Química, Fraústo da Silva foi eleito Membro Efetivo da Academia das Ciências de Lisboa (1981) e *Fellow* da *Royal Society of Chemistry* (Londres, 1988), ainda antes da publicação dos livros em coautoria com Robert Williams.

Recebeu (1991) o prémio de Ciência Boa Esperança (Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia) pelo seu livro acima referido “The Biological Chemistry of the Elements / The Inorganic Chemistry of Life”.

4.2. Atividades de Docência e Educação

Após o seu regresso de Oxford, em outubro de 1976, Fraústo da Silva voltou a exercer Atividade Docente na Universidade Nova de Lisboa, regendo a primeira disciplina de Química Bioinorgânica em Portugal, inspiradora do seu livro acima referido “Introdução à Química da Vida”, editado por esta Universidade.

Lecionou também a disciplina de Química-Física Hidrológica no Instituto de Hidrologia de Lisboa.

No mesmo ano (1976), colaborou com o Ministério da Educação elaborando a primeira versão completa do Estatuto da Carreira Docente do Ensino Superior, que foi depois aprovada.

Cooperou também com a Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica (JNICT) em vários projetos de desenvolvimento de investigação em Portugal e de intercâmbio com o Brasil.

Estabeleceu fortes laços com o Brasil, para onde se deslocou em 1977, a convite da empresa Laboratórios ATRAL-CIPAN, como Diretor Científico, para a instalação de uma fábrica de antibióticos em colaboração com o governo brasileiro, a qual iniciou a sua produção dois anos depois.

Aceitou também o convite da Universidade Federal do Rio de Janeiro para aí lecionar a disciplina de Biofísica a nível de pós-graduação, e em 1979 ingressou no Quadro da Pontifícia Universidade Católica (PUC) da mesma cidade, na qual foi eleito Diretor do Departamento de Química.

Mais tarde, foi-lhe atribuída a Medalha de Honra Pedro Ernesto da Câmara Municipal do Rio de Janeiro.

Do foro da *Política de Educação*, desempenhou muitas e diversificadas funções. Para além daquelas referidas no âmbito do INA e da OCDE, podem citar-se (i) a participação, a convite da Fundação Calouste Gulbenkian, no estudo da reorganização do sistema educativo da República Democrática de S. Tomé e Príncipe, e (ii) a coordenação, a convite da Comissão do Sistema Educativo, do grupo de trabalho para elaboração de uma proposta de reorganização curricular dos ensinos básico e secundário, a qual foi apresentada aos professores destes graus e cuja versão final (1988), conhecida por “documento Fraústo”, foi relevante na Reforma Educativa então em curso.

Também ilustrativos das suas atividades ligadas à Política da Educação, podem mencionar-se os cargos de (i) Vice-Presidente da Conferência de Peritos de Alto Nível em Educação que decorreu em Quioto (1987) por iniciativa do Primeiro-Ministro Nakasone, e (ii) Relator da área da Educação numa importante conferência internacional realizada em Paris (1987), a convite de Giscard d'Estaing.

Criou ainda o primeiro *Gabinete de Planeamento das Universidades*.

Representou o Governo e as universidades por-

tuguesas em programas da OCDE, foi consultor nesta instituição e membro do primeiro Conselho Redatorial do *International Journal of Institutional Management of Higher Education*, de que foi proponente, e cuja publicação se iniciou em 1977.

Em reconhecimento da sua ação relevante, designadamente no âmbito da política de educação, da gestão e administração pública (a referir adiante), foi agraciado pelo governo francês com o elevado Grau de Oficial da Ordem da Legião de Honra (1987).

Foi também membro do Conselho Nacional de Educação (1989-1992).

4.3. Atividades de Gestão e Administração Pública

Tendo vindo a Portugal no final de 1981 para regularizar a sua licença de permanência no Brasil, Fraústo da Silva foi convidado pelo Ministro da Justiça e da Reforma Administrativa, Dr. Menéres Pimentel, para assumir a direção de um projeto de grande dimensão, a Presidência da Comissão Instaladora do **Instituto Nacional de Administração (INA)**, convite que aceitou, tendo dirigido esta instituição (em Oeiras) durante 15 anos. Remodelou este Instituto, regularizou a situação do seu pessoal e iniciou diversas atividades regulares.

Em junho de 1982, aceitou o convite para o cargo de **Ministro da Educação** no VIII Governo Constitucional (liderado por Pinto Balsemão). Recusara já duas vezes um convite semelhante em governos anteriores. Apesar da duração deste cargo não ter sido extensa (um ano), desenvolveu uma vasta ação, e.g., na preparação e implementação de várias alterações legislativas com efeito na consolidação da carreira académica, na fixação de pessoal qualificado, no fomento da investigação científica (duplicação do orçamento), na reforma do Conservatório e do ensino artístico, no relacionamento com os sindicatos, etc. Por exemplo, foram tomadas medidas corretoras no reconhecimento de graus obtidos no estrangeiro, e na reinterpretação do conceito de dedicação exclusiva que fomentou os primeiros contratos de colaboração entre a Universidade e o setor industrial.

Foi ainda criado um projeto de Televisão Educativa que foi aprovado em Conselho de Ministros, mas não executado devido à queda do governo.

Além disso, coordenou a preparação do Exame à Política de Educação de Portugal pela OCDE, que apresentou na reunião desta instituição em Paris no último dia do seu mandato. Fê-lo com tal competência que foi ali mesmo convidado pelo Secretário-Geral da OCDE a assumir a liderança da avaliação seguinte das Políticas Educativas Nacionais, que incidiu sobre a Espanha.

Depois das atividades enquanto Ministro, voltou a concentrar-se no **INA** (1983), que consolidou e expandiu, e do qual assumiu a Presidência. Concebeu e dirigiu a Licenciatura em Administração Pública,

efetivada na Universidade da Ásia Oriental (Macau), seguindo-se o Mestrado em Administração Pública – Relações Internacionais, para além de outros cursos de formação de quadros administrativos de Macau. O INA viu a sua dimensão crescer avultadamente, com um elevado número de participantes (formadores e formandos), incluindo estudantes de Macau e de países de expressão oficial Portuguesa. Em reconhecimento pela sua ação em prol da formação superior em Macau, esta Universidade agraciou-o com o grau de *Doutor Honoris Causa* (1993), ano em que também integrou a Academia das Ciências de Nova Iorque.

Foi condecorado (1989) pelo Presidente da República com o grau de Grande Oficial da Ordem do Infante D. Henrique (Figura 8), reconhecendo o “mérito evidenciado no exercício de funções públicas”.



Figura 8 - Diploma e insígnias de Grande Oficial da Ordem do Infante D. Henrique.

A Câmara Municipal de Oeiras atribuiu-lhe (1989) a medalha de Mérito (Grau Ouro) por “serviços relevantes prestados à comunidade”.

5. Atividades Culturais e Outras

Cedo se manifestou o pendor de Fraústo da Silva pela Cultura e pelas Artes. Iniciou-se a tocar piano quando ainda era uma criança, com o mestre da Banda Filarmónica de Gualdim Pais, e o seu gosto pela música, ópera e bailado levou-o a adquirir uma assinatura no Teatro Nacional de São Carlos quando chegou a Lisboa para estudar [5]. A inclinação artística continuou ao longo da sua vida e, e.g., quando Reitor da Universidade Nova de Lisboa, criou o primeiro departamento universitário de musicologia e promoveu o primeiro curso de pós-graduação em História da Arte.

Durante o mandato de Ministro da Educação, procedeu à reforma do Conservatório e do ensino artístico.

Quando vivia no Brasil, elaborou o projeto de criação de um Instituto de Cultura Portuguesa no Rio de Janeiro (1980) a convite do Secretário de Estado do Ensino Superior do nosso país e do Presidente do INIC (Instituto Nacional de Investigação Científica), o

qual, no entanto, acabou por não ser aplicado.

Mas o seu mais conhecido envolvimento em atividades culturais ocorreu durante a década (iniciada em 1996) em que assumiu a Presidência da Fundação das Descobertas, depois designada por **Centro Cultural de Belém (CCB)** e que transformou numa instituição emblemática do Portugal moderno, dirigida ao público de todas as idades e de variados gostos, de forma não elitista.

Entre as iniciativas que aqui coordenou com maior impacto público [5], podem referir-se a Festa da Música (a preços acessíveis) e os Bailes mensais de entrada livre. Acabou com o hábito da oferta de bilhetes a quem os pode adquirir (e.g., individualidades ligadas à cultura que, com frequência, depois não assistem aos espetáculos).

Planeou a expansão do CCB a um espaço vizinho, através da elaboração de um projeto para (i) uma escola de formação de profissionais e técnicos de espetáculos, (ii) um centro de documentação e (iii) uma residência para a Companhia Nacional de Bailado e para a Orquestra Sinfónica Portuguesa [5]. Este projeto acabou por não ser realizado.

Foi forçado a abandonar a Presidência do CCB por não ter cedido à imposição política da tutela para aí acolher uma exposição privada de arte moderna (coleção Berardo) com um acervo de avaliação ainda inacabada e com uma dimensão para ocupação permanente de um espaço excessivo, nos termos das exigências do seu proprietário, em prejuízo de iniciativas culturais/artísticas mais diversificadas e ajustadas às preferências de diferentes públicos.

Fraústo da Silva sempre permaneceu leal ao seu lema de prestar serviço público e não serviço político.

Também como atividades do foro cultural, foi Presidente do Conselho de Curadores da *Fundação Oriente* durante 26 anos (1988-2014), Conselheiro da *Fundação Mário Soares* (desde 1996) e membro do Conselho Geral e do Conselho de Administração da *Fundação Mário Soares e Maria Barroso* (2006-2016).

Integrou o Conselho Diretivo da *Comissão Cultural Luso-Americana* (“Fullbright-Heyes Foundation”) e dirigiu a secção de Química Inorgânica da *Enciclopédia Verbo* para a qual contribuiu com numerosos artigos temáticos.

Foi também *Conselheiro de Estado* (1988-1996) e membro do *júri do Prémio Pessoa* (desde a sua criação em 1987 e durante ca. 23 anos), para além de *mandatário nacional* do Dr. Mário Soares nas suas campanhas presidenciais (1985 e 1995).

No âmbito da *Sociedade Portuguesa de Química*, foi desta Presidente Nacional e integrou a Comissão Redatorial da *Revista Portuguesa de Química*. Embora tardiamente (2000), foi agraciado com o *Prémio Ferreira da Silva* por esta Sociedade.

6. Epílogo

O que acima se refere demonstra bem que Fraústo da Silva foi uma personalidade ímpar na ciência e na cultura em Portugal, à qual deu contributos de alto valor, dos quais muitas instituições e um número incontável de pessoas beneficiaram.

Embora com um forte gosto “pelas coisas boas” que a vida nos pode dar, era dotado de um enorme sentido do dever e da justiça, e de uma inteligência superior. Com uma vontade incansável de fazer, era um *workaholic* assumido, mas sempre com padrões da mais elevada qualidade. Neste contexto, é curioso notar a divisa *Talant de bien-faire* [Talante (ou vontade) de bem-fazer] que consta das insígnias do grau de Grande Oficial da Ordem do Infante D. Henrique (Figura 8) que lhe foi atribuído e que inspirou o título desta evocação, ao qual associei a palavra *talento* pois nunca chegaria a *vontade* de fazer tanto, sendo também indispensável o talento para tal.

Foi um “Senhor” de trato fino, com uma impressionante facilidade de expressão verbal e escrita (que infelizmente a doença não permitiu que o acompanhasse até ao final da vida). Sabia dizer e ouvir e, quando falava com alguém, não atropelava a conversa e esperava que o interlocutor terminasse a exposição da sua ideia para só depois falar.

Com uma personalidade cordial e simpática, era muito estimado pelos colegas e o Livro de Curso (1958), com a sua caricatura (desenhada por José Vilhena) e um poema a si dedicado, espelhou esta amizade e os seus diversificados interesses, para além da “Química Pura”: “Sonho, Amizade, Música, Literatura, Poesia das Coisas”, assim como Bailado e Ópera representados por uma bailarina e uma cantora (Figura 9).

O Professor Herculano de Carvalho, seu mentor, também lhe dedicou poemas muito interessantes quando foi nomeado Presidente do GEPAE (“atropelado pela ambulância de urgência da Educação Nacional...”) e Diretor do IST (“mas que destino tão implacável... ser de novo atropelado pelo M. da E.N.”). Estes poemas estão transcritos na evocação que apresentei na Academia das Ciências de Lisboa [2].

Com uma educação esmerada e amigo da sua família, dizia de seu Pai (Antunes da Silva, advogado que desempenhou cargo administrativo na Câmara de Tomar) que “era uma pessoa tão boa que até dizia bem dos seus inimigos”.

Indiquei [2] já alguns episódios pessoais reveladores da sua personalidade (*e.g.*, capacidade de otimizar o tempo e de vencer rotinas; confiança, encorajamento e apoio aos seus discípulos), que agora sumário cronologicamente: marcação rápida de audiência com o Diretor do IST (Fraústo da Silva) em grupo (não individualizada) com vários colegas estudantes; atribuição da regência de uma disciplina



Figura 9 - Caricatura de Fraústo da Silva no Livro de Finalistas do seu curso de Eng.^a Químico-Industrial no IST.

relevante (Química Analítica) quando eu era um jovem assistente em início de carreira; sua assinatura prévia e por sinete no livro de lançamento de notas (“livro de termos”); apoio ao meu doutoramento fora do país; reorganização do seu grupo de investigação para a minha reintegração, como grupo autónomo (Grupo IB), a seu convite; reuniões no CQE durante os fins de semana; sua apresentação de lições convidadas no âmbito da Química Bioinorgânica em disciplinas de Química Inorgânica que regí; seu apoio para adjudicação e conversão em Laboratório de investigação do espaço do Complexo Interdisciplinar inicialmente destinado a cozinha/refeitório, mas que nunca fora utilizado como tal, e que eu me propusera reconverter.

O Professor Fraústo da Silva transmitia-me um sentimento de serenidade, sossego e otimismo sempre que falava com ele, habitualmente durante cada fim de semana no CQE e após cinco dias de trabalho com frequência tensos e agitados. As conversas que assim tivemos durante largos anos constituíram para mim um bálsamo e um incentivo para a continuação do trabalho na semana seguinte.

Foi um verdadeiro Amigo e conselheiro, que me levava a acreditar que os sentimentos nobres ainda conseguiam, por vezes, sobrepor-se aos que o não são e que afetam o meio em que vivemos!

Agradecimentos

Agradeço a quem me facultou ou ajudou a obter informação sobre o Professor Fraústo da Silva, em especial a:

- Senhora Dr.^a Marina Fraústo da Silva, sua Filha, que gentilmente me disponibilizou numerosas fotografias de seu Pai, diplomas de prémios, notícias da imprensa, outros diversos elementos e biografia; algum deste material havia sido coligido por sua Mãe, Senhora Dona Gina Fraústo da Silva, até ao seu falecimento (2010), a cuja memória também presto homenagem e a quem deixo o meu sincero agradecimento;

- Senhora Dona Antónia de Aragão, sua esposa (desde 2014), a amável disponibilização de insígnias

de distinções, objetos pessoais e fotografias, com a ajuda da filha *Senhora Dona Mafalda de Araújo*, a quem também agradeço.

Agradeço também ao Reitor Professor João Sàágua, a autorização para fotografar o quadro de Fraústo da Silva existente na Sala do Senado da Universidade Nova de Lisboa, e à *Maria de Fátima Guedes da Silva*, Presidente da Sociedade Portuguesa de Eletroquímica, a ajuda na recolha de imagens e na preparação de figuras.

Agradeço ainda ao *José Moura* o envolvimento e o entusiasmo na preparação desta celebração, ao *Artur Silva* e ao *Joaquim Faria*, Presidente passado e Presidente atual da Sociedade Portuguesa de Química, a aceitação das nossas propostas e o seu apoio na sua concretização, e ao *Paulo Mendes*, Diretor do *QUÍMICA – Boletim da SPQ*, a direção da edição deste número especial.

E, por fim (*the last but not the least*), agradeço aos oradores da sessão de homenagem a Fraústo da Silva no XXVIII Encontro Nacional da SPQ (Figura 10) a sua participação e as interessantes e variadas comunicações que aqui apresentaram.



Figura 10 - Oradores na sessão de homenagem a Fraústo da Silva (26 de julho de 2023, XXVIII Encontro Nacional da SPQ). Da esquerda para a direita: Victor Lobo, Maria José Calhorda, José Moura, Clementina Teixeira, Fernando Pina, Isabel Moura, João Pessoa, Fátima Guedes da Silva e Armando Pombeiro. (Foto da autoria de Artur Silva).

Referências

- [1] A. Pombeiro, J. Moura, *QUÍMICA*, **2022**, 46, 153-154. DOI: 10.52590/M3.P703.A30002559.
- [2] "Evocação Histórica do Académico J. J. R. Fraústo da Silva proferida pelo Académico A. J. L. Pombeiro", Academia das Ciências de Lisboa, Sessão de 17 de novembro, 2022. comun.rcaap.pt/bitstream/10400.26/45389/1/elogio_historico_do_academico_joao_jose_frausto_da_silva.pdf.
- [3] A. J. L. Pombeiro, *Inorg. Chim. Acta* **2003**, 356, 1-5. DOI: 10.1016/S0020-1693(03)00330-X.
- [4] Repositório Digital da História da Educação, João José Rodiles Fraústo da Silva. 193.137.22.223/pt/patrimonio-educativo/museu-virtual/exposicoes/quatro-decadas-de-educacao-1962-2009/ministros-da-educacao-de-1962-a-2009/joao-jose-rodiles-frausto-da-silva (acedido em 15/08/2023).
- [5] Entrevista de J. J. R. Fraústo da Silva na RTP conduzida por Ana Sousa Dias (06/09/2003), RTP Arquivos. arquivos.rtp.pt/conteudos/frausto-da-silva.
- [6] J. Emsley, in *The Times Higher Education Suppl.*, May 15th, 1992.
- [7] R. B. Martin, *Nature* **1991**, 354, 367. DOI: 10.1038/354367a0.
- [8] R. W. Sterner, J. J. Elser, "Ecological Stoichiometry", Princeton University Press, 2002.
- [9] A. G. Cairns-Smith, *Nature* **1996**, 383, 310-311. DOI: 10.1038/383310b0.
- [10] A. MacDermott, *Chem. Brit.* **1996**, 32, 55.
- [11] H. Beinert, *J. Biolog. Inorg. Chem.* **1996**, 1, 607.
- [12] P. Kelly, *Chem. Brit.* **2000**, 36, 65.
- [13] B. Weber, *The Biochemist* **2000**, 22, 56.
- [14] R. J. P. Williams, J. J. R. Fraústo da Silva, *J. Theor. Biol.* **2003**, 220, 323-343. DOI: 10.1006/JTBI.2003.3152.
- [15] R. J. P. Williams, J. J. R. Fraústo da Silva, *J. Chem. Educ.* **2004**, 81, 738-749. DOI: 10.1021/ED081P738.
- [16] J. A. L. da Silva, J. J. R. Fraústo da Silva, A. J. L. Pombeiro, *Coord. Chem. Rev.* **2013**, 257, 2388-2400. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.03.010.
- [17] P. M. Reis, J. A. L. Silva, J. J. R. Fraústo da Silva, A. J. L. Pombeiro, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2000**, 1845-1846. DOI: 10.1039/b005513l.
- [18] P. M. Reis, J. A. L. Silva, A. F. Palavra, J. J. R. Fraústo da Silva, T. Kitamura, Y. Fujiwara, A. J. L. Pombeiro, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 845-847 (*Intern. Ed.*: **2003**, 42, 821-823). DOI: 10.1002/anie.200390219.
- [19] M. F. C. Guedes da Silva, J. A. L. da Silva, J. J. R. Fraústo da Silva, A. J. L. Pombeiro, C. Amatore, J. -N Verpeux, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7568-7573. DOI: 10.1021/ja9607042.
- [20] J. J. R. Fraústo da Silva, "Vanádio em Biologia - O caso dos Cogumelos *Amanita Muscaria*", *Academia das Ciências de Lisboa*, comunicação apresentada em 2 de maio de 1985.
- [21] M. A. A. F. C. T. Carrondo, M. T. L. S. Duarte, J. C. Pessoa, J. A. L. Silva, J. J. R. Fraústo da Silva, M. C. T. A. Vaz, L. F. Vilas-Boas, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1158-1159. DOI: 10.1039/C39880001158.

> Armando J. L. Pombeiro

Centro de Química Estrutural, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa. Academia das Ciências de Lisboa. Armando J. L. Pombeiro é Prof. Jubilado do IST, Membro da Academia das Ciências de Lisboa (Presidente do Conselho Científico), da *European Academy of Sciences* (EurASC) e da *Academia Europaea*, coordenador do grupo de Química de Coordenação e Catálise do CQE, foi presidente deste Centro,

do Colégio de Química da ULisboa e da Soc. Port. Eletroquímica, e *Distant Director* da *RUDN University*. A sua investigação centra-se na catálise sustentável de moléculas pequenas de significado industrial ou biológico (e.g., alcanos e derivados, CO₂, H₂O) em síntese, complexos (multinucleares) e MOFs, interações não-covalentes, eletroquímica e estudos teóricos. pombeiro@tecnico.ulisboa.pt [ORCID.org/0000-0001-8323-888X](https://orcid.org/0000-0001-8323-888X)

Fraústo da Silva e os Complexos de Wernerⁱ

>
 Maria José Calhorda
 Nuno A. G. Bandeira

Fraústo da Silva and Werner's Complexes.

Qualitative crystal field theory is introduced through an analysis of Co(II) and Co(III) octahedral complexes (Werner complexes). The splitting of the d levels is explained, and the two alternative electron configurations analyzed (high and low spin complexes), as well as its consequences in terms of the number of unpaired electrons, magnetism, and Jahn-Teller distortions. A computational study provided spin transition energies for several ligands between the two types of complexes and an interpretation of the ligand strength. A Werner complex synthesized at the end of the XIX century was structurally characterized about one hundred years later and was the object of a DFT computational study to understand its electronic structure.

Descrevem-se qualitativamente os princípios da teoria do campo cristalino, analisando mais em pormenor complexos octaédricos de Co(II) e Co(III) (complexos de Werner). Obtém-se o desdobramento dos níveis d, e discute-se os dois modos alternativos de preenchimento electrónico (complexos de alto spin e baixo spin) e as consequências nas propriedades (número de electrões desemparelhados, magnetismo, distorções de Jahn-Teller). Um estudo computacional permitiu calcular para uma série de ligandos as energias de transição de spin entre as duas formas e interpretar “a força” dos ligandos. Aborda-se ainda um complexo binuclear de Werner sintetizado no fim do século XIX e caracterizado por difracção de raios-X cerca de cem anos depois, cuja estrutura electrónica foi estudada (DFT).

Prefácio (Maria José Calhorda)

Fraústo de Silva era um excelente professor, com uma capacidade de tornar simples assuntos que por vezes não eram assim tão simples e de estimular o interesse da audiência. A Química Inorgânica, uma disciplina anual do 1.º ano do curso de Engenharia Químico-Industrial, foi a mais estimulante desse primeiro ano no IST e a que apresentava conteúdos mais modernos, realçados por uma exposição concisa e clara. Pela primeira vez ouvi falar dos complexos de Werner, da riqueza da química dos elementos de transição e da ligação química. No 2.º ano, o mesmo papel foi desempenhado pela Química Analítica, focando a compreensão das reacções que aconteciam nos processos analíticos e os métodos quantitativos que permitiam obter os dados para escolher o melhor tipo de análise para um dado fim. Além das aulas, convidou outros cientistas que as complementaram e nos abriram horizontes na área da Química Inorgânica. Foi sob a sua orientação que iniciei as actividades de docência e de investigação como assistente estagiária e muitos dos seus ensinamentos foram postos em prática ao longo dos anos. Ao fim de mais de cinquenta anos, o fascínio pela Química Inorgânica mantém-se.

Introdução

Dois grandes grupos de compostos fazem parte da Química Inorgânica [1-3], os compostos tridimensio-

nais cuja estrutura infinita se obtém a partir de uma célula unitária e os compostos moleculares, em que existe um ião ou molécula contendo um metal (M) rodeado de espécies, designadas por ligandos (L), em número não muito elevado (seis e quatro são os mais vulgares) com distâncias M-L inferiores à soma dos raios de van der Waals, ou seja, há ligação química entre M e L. Os ligandos conhecidos no início do século XX eram geralmente aniónicos ou, quando neutros, moléculas polares.

Teorias simples de natureza electrostática, contudo, falharam redondamente na explicação das propriedades dos poucos compostos conhecidos e que foram designados por complexos. Embora expliquem as geometrias mais encontradas, octaédrica e tetraédrica, que minimizam as repulsões entre ligandos, não há justificação, por exemplo, para as geometrias quadrangulares planas, muito habituais para determinados centros metálicos. O papel das orbitais d dos elementos de transição na ligação a iões ou moléculas desafiou as teorias existentes. O recurso a orbitais híbridas capazes de fazer o paralelo com a química do carbono não resolveu o problema. Imagine-se o complexo $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$, cujo ião central Co(II) tem configuração electrónica $[\text{Ar}]3d^7$. A simetria octaédrica do fragmento CoN_6 exige seis orbitais híbr-

das equivalentes, proporcionada por uma hibridação d^2sp^3 . Podem ser construídas a partir de duas orbitais 3d, uma s e três p, mas têm que estar vazias para cada uma aceitar um par de electrões de cada ligando NH_3 . Os sete electrões 3d teriam que ocupar as restantes três orbitais d, todas com a mesma energia, mas há um electrão a mais. Este é um exemplo das dificuldades deste modelo que levaram ao seu abandono.

A primeira resposta foi dada por um modelo que conjuga a natureza electrostática com o efeito da posição dos ligandos nas várias geometrias, a teoria do campo cristalino [4]. Retomando o complexo $[Co(NH_3)_6]^{2+}$, a atracção electrostática entre o metal com carga $2+$ e seis ligandos com um momento dipolar permanente elevado é clara. O complexo deve ter uma energia mais baixa, contudo, tanto o metal como os ligandos têm electrões que se repelem entre si (Figura 1: **1**). De entre os electrões do metal, todas as camadas excepto a camada 3d estão completas e têm simetria esférica. A repulsão entre eles e os electrões dos ligandos faz aumentar a energia do complexo (Figura 1: **2,3**). E que acontece à repulsão entre os electrões 3d e os electrões dos ligandos? A camada d não está completa e as orbitais d têm contornos de probabilidade de formas variadas e não repelem os electrões dos ligandos do mesmo modo. Assim, as repulsões entre cada orbital e os ligandos, representadas pelo ondulado, não são sempre as mesmas e as energias das orbitais não são todas iguais (Figura 1: **4**). Imagine-se o complexo octaédrico como $[Co(NH_3)_6]^{2+}$, de simetria O_h ignorando a simetria do grupo NH_3 [1-3]. As orbitais d_{xy} , d_{xz} e d_{yz} transformam-se como t_{2g} e as restantes, d_{z^2} e $d_{x^2-y^2}$, como e_g e terão energias diferentes.

Na Figura 1 representa-se o complexo e a relação especial entre as orbitais d de M^{n+} e os ligandos, que mostra a maior proximidade, por exemplo, entre d_{z^2} e os ligandos L_1 e L_6 que entre d_{xz} e os mesmos ligandos. O mesmo sucede com as restantes orbitais de cada simetria. As orbitais e_g são mais repelidas do que a

média das cinco orbitais d, enquanto o oposto acontece com as t_{2g} . A diferença de energia designa-se por Δ_{oct} ou $10Dq$, sendo a energia das orbitais e_g $6Dq$ superior ao valor médio da distribuição e a das t_{2g} $4Dq$ inferior.

O centro metálico M^{n+} e os ligandos L na definição de complexos de alto spin e de baixo spin

O diagrama de energia da Figura 1, apesar da sua simplicidade, permite explicar geometrias e propriedades. Considere-se, de novo, o complexo $[Co(NH_3)_6]^{2+}$, em que o centro metálico Co(II) tem sete electrões d (d^7). Os sete electrões podem-se distribuir de duas maneiras pelos níveis t_{2g} e e_g . Aplicando a regra de Hund, três electrões com o mesmo spin ocupam as orbitais t_{2g} . Os seguintes podem emparelhar nos mesmo níveis, indo o sétimo para uma orbital e_g . Em alternativa, cinco electrões com o mesmo spin ocupam sucessivamente as cinco orbitais e os dois restantes emparelham nas t_{2g} (Figura 2). Se a diferença de energia entre grupos de orbitais (Δ_{oct}) for menor do que a energia necessária para emparelhar electrões no mesmo nível (energia de emparelhamento, P), a primeira opção é preferida. Neste caso, há três electrões desemparelhados e o spin total do complexo é $S = 3/2$.

Figura 2 - Preenchimentos possíveis dos níveis d num complexo octaédrico de Co(II), d^7 .

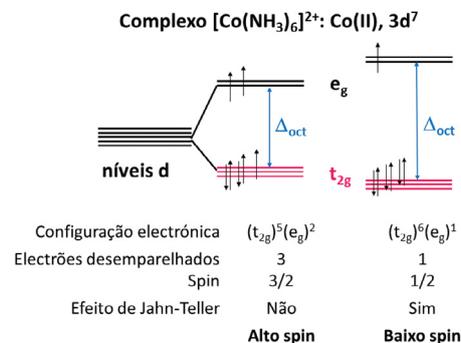
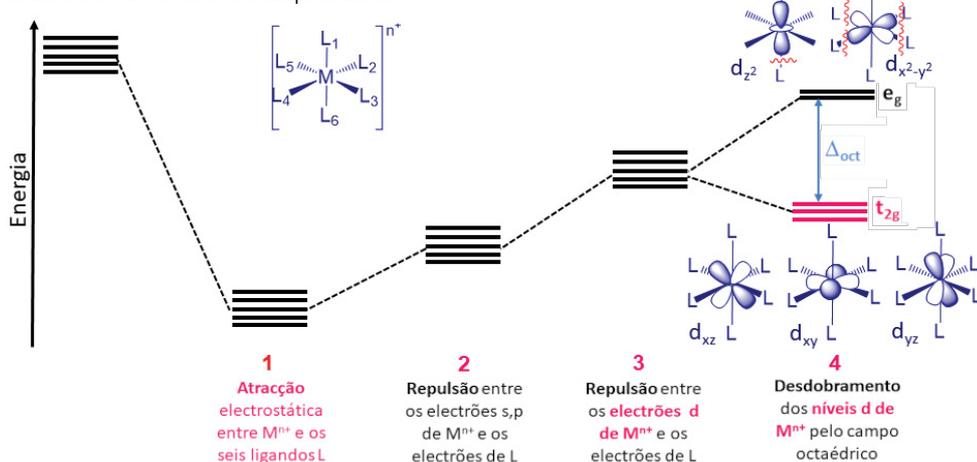


Figura 1 - Interação metal (M^{n+}) – ligando (L) e desdobramento dos níveis d num campo octaédrico.



No primeiro caso, o complexo tem mais electrões desemparelhados e tem um maior spin (3/2 em vez de 1/2), sendo por isso designado por complexo de alto spin. No segundo, o spin é menor (complexo de baixo spin) e, como o electrão desemparelhado ocupa um nível e_g , o complexo apresentará uma distorção de Jahn-Teller. De acordo com o efeito de Jahn-Teller, uma molécula não linear (aqui complexos octaédricos) num estado electronicamente degenerado (um ou três electrões nas orbitais e_g) sofre uma distorção, a simetria diminui e o estado degenerado é desdobrado (as orbitais d_{z^2} e $d_{x^2-y^2}$ deixam de ter a mesma energia). A distorção é, em geral um alongamento segundo o eixo dos z [1-3].

O momento magnético de spin, μ , será também superior para o complexo de alto spin ($\mu = \sqrt{n(n+2)}$ magnetões de Bohr (m.B.), onde n é o número de electrões desemparelhados). Algumas propriedades são diferentes e se for conhecido o momento magnético ou a geometria poder-se-á deduzir a configuração electrónica. O complexo $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ é de alto spin. Na ausência de mais informações como se poderá prever?

A melhor maneira exige conhecer os valores de Δ_{oct} e de P e pode exemplificar-se para os complexos de Co(III), d^6 , $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ e $[\text{CoF}_6]^{3-}$, como se vê na Figura 3. A energia de emparelhamento é ~ 60 kcal mol⁻¹ [1,2] para ambos, enquanto Δ_{oct} varia de 66 (aminocomplexo) para 33 kcal mol⁻¹ (fluorocomplexo). No primeiro, $\Delta_{\text{oct}} > P$ e o complexo de baixo spin é preferido. É diamagnético. No segundo, $\Delta_{\text{oct}} < P$ e há uma preferência pelo complexo de alto spin, paramagnético. Estes resultados são confirmados por dados experimentais.

Complexos $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ e $[\text{CoF}_6]^{3-}$: Co(III), $3d^6$ ($P = 60$)

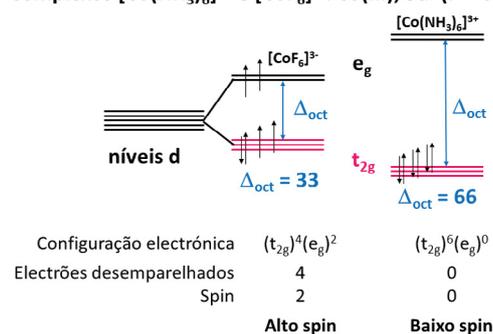


Figura 3 - Preenchimentos possíveis dos níveis d nos complexos octaédricos de Co(III), d^6 , $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ e $[\text{CoF}_6]^{3-}$ (energias em kcal mol⁻¹).

Os complexos de baixo spin são favorecidos por forte interacção metal-ligando, em geral combinando centros metálicos de carga elevada e ligandos fortes (na definição da série espectroquímica obtida experimentalmente [2]). Para analisar melhor este factor, calcularam-se as energias das duas formas para complexos de alto e baixo spin de Co(II) e Co(III)

com uma série de ligandos. As geometrias foram optimizadas (energia mínima) recorrendo a métodos computacionais usando o conjunto *funcional de densidade*/base PBE0/def2-TZVP e as energias finais calculadas com DLPNO-CCSD(T) (ver Metodologia Computacional). As diferenças de energia (energias livres de transição de spin) são apresentadas na Tabela 1. Um valor negativo indica que o complexo de baixo spin é preferido (assinalados a vermelho na tabela).

Para o Co(II), verifica-se que $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ é de alto spin (Figura 4) e que o complexo de baixo spin teria uma distorção de Jahn-Teller [1,3] (alongamento, Figura 4). O complexo hipotético $[\text{Co}(\text{FPH}_2)_6]^{2+}$ existiria na forma de baixo spin. Os ligandos doadores de P são mais fortes do que os doadores de N e os aminocomplexos são de alto spin, paramagnéticos e sem distorção de Jahn-Teller. O ligando de As apresenta quase a mesma energia para as duas formas, sugerindo que poderia apresentar fenómenos de cruzamento de spin. Para Co(III), apenas o complexo de F é de alto spin (Figura 3), indicando ser um ligando muito fraco. É o único complexo de alto spin conhecido de Co(III). A comparação entre os complexos de NH_3 e $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$ mostra que o centro metálico Co(III) é mais forte que Co(II) (efeito da carga).

Tabela 1 - Energias livres de transição de spin para vários complexos de Co(II) e Co(III) (kcal mol⁻¹; os átomos doadores de cada ligando estão representados em itálico).

Ligando	$\Delta G_{S=3/2 \rightarrow S=1/2}$	$\Delta G_{S=4 \rightarrow S=0}$
NH_3	20,3	-31,7
$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$	14,9	-38,7
$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2$	20,2	-
$\text{NH}_2[\text{C}(\text{CH}_3)_2]_2\text{NH}_2$	18,3	-
CH_3NH_2	17,0	-
NF_3	41,7	-
FNH_2	15,0	-35,6
PH_3	-3,6	-67,2
PF_3	9,4	-
CH_3PH_2	-7,4	-72,7
FPH_2	-14,6	-78,1
AsH_3	0,1	-
<i>F</i>	-	19,8

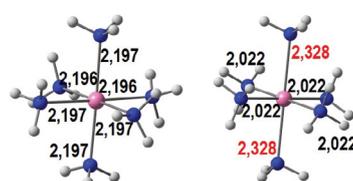


Figura 4 - Geometrias optimizadas dos complexos $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ de alto (esquerda) e baixo (direita) spin (distâncias em Å).

Estes exemplos mostram como a teoria do campo cristalino permite explicar em muitos casos a geometria preferida por um dado complexo, o seu magnetismo e eventuais distorções de Jahn-Teller. Falha na explicação da posição dos ligandos na série espectroquímica. O exemplo mais óbvio entre os apresentados na Tabela 1 é o ligando F (anião) ser mais fraco do que todos os outros ligandos neutros. Com um modelo electrostático não faz sentido [1-3].

Os complexos modelo acima descritos dão-nos informação preciosa que pode ser utilizada na concepção de complexos de spin alternante “na vida real”. Na base de dados cristalográficos de Cambridge encontram-se duas moléculas que são potenciais candidatas: YAKDET01 [5] e DUCPIA [6] (Figura 5). A primeira, reportada por Iwatsuki e colaboradores [7] em 2001, era caracterizada por uma fosfina tripodal coordenada a um centro de Co(II) de baixo spin. A mesma metodologia de cálculo indica um valor de $\Delta G_{S=3/2 \rightarrow S=1/2} = 1 \text{ kcal mol}^{-1}$, ou seja, a janela de alternância entre spins está nos limites de incerteza do método computacional. Infelizmente, os autores não fizeram um estudo magnético em função da temperatura limitando-se a um espectro de EPR à temperatura ambiente [7]. Mas a previsão é que este sistema é um ótimo candidato a interruptor magnético.

O composto DUCPIA, identificado em 1986 por Jewiss e outros [6], é um raro exemplo de complexo de Co(III) com ligações Co-As. A sua síntese envolve um sal de Co(II) que é posteriormente oxidado, sugerindo que o complexo de Co(II) é sinteticamente alcançável. O valor $\Delta G_{S=3/2 \rightarrow S=1/2} = +0,5 \text{ kcal mol}^{-1}$ para esta molécula com estado de oxidação Co(II) é também coerente com o valor correspondente do modelo simplificado $[\text{Co}(\text{AsH}_3)_3]^{2+}$ acima descrito.

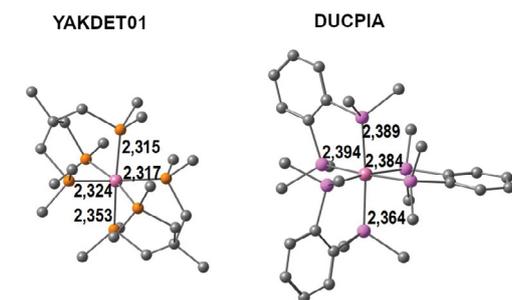


Figura 5 - Estruturas cristalográficas (REFCODE YAKDET01 e DUCPIA) dos dois complexos caracterizados, sem hidrogénios para maior clareza (distâncias em Å).

Um complexo sintetizado no grupo de Werner e que esteve um século na prateleira

Em Dezembro de 2000, Heinz Berke fez uma conferência em Portugal, em que contou como foram encontrados no seu laboratório da Universidade de Zurique cristais de um composto sintetizado por volta de 1909, pelo grupo de Werner. Resolveram analisá-lo

usando técnicas cristalográficas modernas [8].

A síntese foi publicada em 1877 [9] e alterações ao procedimento em 1898 [10]. A metodologia geral não difere muito da que se continua a usar nas aulas de laboratório de Química Inorgânica na FCUL para preparar aminocomplexos de Co(III) [2]. Parte-se de um sal de Co(II), em geral $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ que é aquecido ao ar (ou na presença de um oxidante como H_2O_2) com NH_3 , filtrado, tratado e purificado. As grandes diferenças são o uso de 1200 g de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (em vez de 5-10 g), a temperatura de 100 °C, o repouso de 24 a 36 horas, e as manipulações para obter um produto puro e caracterizável. Tendo-se verificado que o cloreto do complexo obtido era intratável, o anião foi substituído por nitrato e o produto descrito como um “ozoimidohexammindikobalt nitrato” (Figura 6, em cima) [11]. Após mais investigação sobre o composto, foi proposto em 1910 que fosse um sal de μ -amido-ol-peroxo-Co^{III}Co^{IV} (Figura 6, no centro) [12].

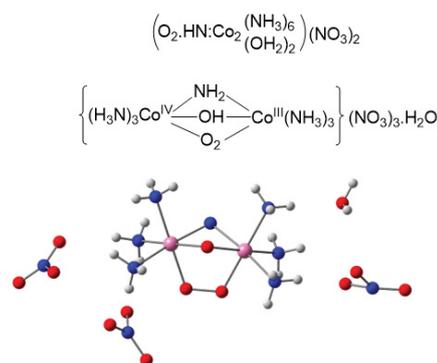
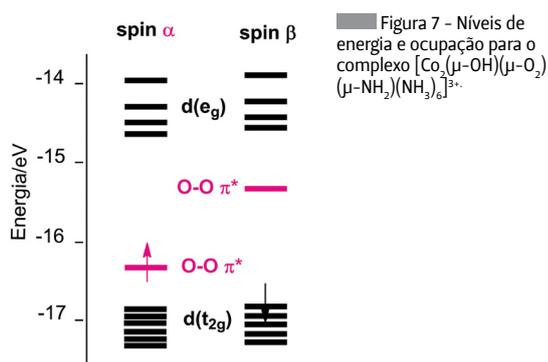


Figura 6 - De cima para baixo: fórmulas sucessivamente propostas para o complexo de Werner e estrutura determinada por difracção de raios-X de cristal único, $[\text{Co}_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-O}_2)(\mu\text{-NH}_2)(\text{NH}_3)_6](\text{NO}_3)_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$.

Na determinação da estrutura por difracção de raios-X de cristal único [8], verificou-se que havia três ligandos em ponte, embora houvesse desordem (O e N) e os átomos de hidrogénio não tivessem sido localizados. Foi possível contudo determinar a fórmula $[\text{Co}_2(\mu\text{-OH})(\mu\text{-O}_2)(\mu\text{-NH}_2)(\text{NH}_3)_6](\text{NO}_3)_3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$. Cada átomo de cobalto tem uma vizinhança octaédrica, e as posições dos ligandos em ponte são equivalentes. Na Figura 6 (em baixo) representa-se o tricatião, os três aniões nitrato e uma molécula de água. Uma das questões tem a ver com a identificação do grupo O_2 , que pode ser O_2 , O_2^- ou O_2^{2-} , respectivamente dioxigénio, superóxido ou peróxido, o que condiciona os estados de oxidação do metal. Para investigar esta questão, fizeram-se cálculos DFT [13] (ver também Metodologia Computacional) com base na estrutura e testaram-se vários estados de spin plausíveis, tendo-se verificado que a configuração electrónica mais estável correspondia a um electrão desemparelhado (estado duplete) que estava localizado essencialmente no grupo O_2 (Figura 7).



A molécula de O_2 é paramagnética devido à sua estrutura electrónica e número de electrões, e há uma relação muito directa entre o número de electrões do grupo O_2 e a distância entre os dois átomos [1-3]. Como se pode observar no diagrama de orbitais moleculares da Figura 8, os dois últimos electrões (únicos representados) ocupam as duas orbitais antiligantes $\pi^*(g)$ e estão desemparelhados. O spin é 1 (estado tripleto). A adição de um, O_2^- , e dois electrões, O_2^{2-} , que irão também ocupar $\pi^*(g)$, aumentará sucessivamente a distância internuclear O-O. Pelo contrário, a remoção de um electrão da orbital antiligante, O_2^+ , encurtará essa distância. Este efeito traduz-se em várias propriedades, como se pode ver na Tabela 2.

Figura 8 - Diagrama qualitativo de orbitais moleculares da molécula de dióxigénio.

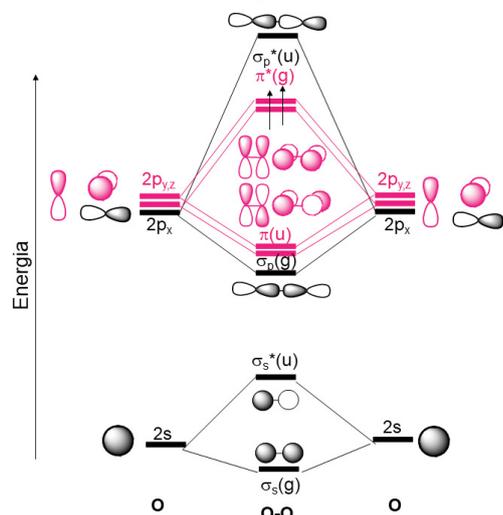


Tabela 2 - Ordens e energias de ligação, distâncias e paramagnetismo de O_2 e dos seus iões.

Espécie	Ordem de ligação	Energia de ligação ^a	Distância ^b	NED ^c	Magnetismo ^d
O_2	2	493	120,7	2	P
O_2^-	1,5	393	126	1	P
O_2^{2-}	1	-	149	0	D
O_2^+	2,5	-	112,3	1	P

^akcal mol⁻¹; ^bpm; ^cNúmero de electrões desemparelhados; ^dP (paramagnético), D (diamagnético).

A ordem de ligação corresponde a metade da diferença do número de electrões ligantes e antiligantes (Figura 8). Em princípio, quanto maior, maior será a energia de ligação e menor a distância.

O facto de haver apenas um electrão antiligante na estrutura electrónica do complexo (Figura 7) sugere a presença de superóxido, O_2^- . A distância O-O determinada experimentalmente (difracção de raios-X) [8] é de 1,341 Å, a calculada por DFT [13] (estado duplete) é de 1,344 Å. Para além disso, esta distância aproxima-se muito da observada para o O_2^- isolado.

Na figura 7 observa-se que os quatro níveis e_g (dois por cada Co) estão vazios e os seis níveis t_{2g} (três por cada Co) estão totalmente ocupados, tal como observado na Figura 3 (baixo spin) para o complexo $[Co(NH_3)_6]^{3+}$, ou seja, no complexo de Werner ambos os centros de Co contêm Co(III). Em 1898, a proposta era de Co(III)-Co(IV) e o grupo O-O seria um peróxido.

Metodologia computacional

As geometrias dos modelos de alto e baixo spin foram optimizadas a partir de estruturas experimentais [14], ou adaptadas destas, com o funcional de densidade PBE0 concebido por Adamo e Barone [15] e segundo a implementação no programa ORCA v. 5.0.4. Todos os mínimos foram confirmados por cálculo de frequências vibracionais (todas reais) segundo a aproximação do oscilador harmónico e com correcções térmicas para a energia livre a 298,15K. Os integrais a multicentros foram aproximados com resolução de identidade [16] RIJCOSX. Foram usadas as bases de orbitais Gaussianas def2-TZVP para todos os elementos. Efeitos de solvente aquoso foram incluídos de maneira implícita por via do modelo de contínuo polarizável CPCM [17].

Dada a dificuldade em calcular estados de spin com funcionais de densidade aproximados [18] e para evitar estar à mercê de resultados de variabilidade errática, foi adoptado o estratagema seguinte para o cálculo de energias livres: recalcularam-se as energias electrónicas com o método de função de onda [19] DLPNO-CCSD(T) e somaram-se a estes valores as correcções térmicas calculadas em DFT (eq. 1):

$$G_{DLPNO-CCSD(T)} = G_{DFT} - E_{DFT} + E_{DLPNO-CCSD(T)} \quad (1)$$

DLPNO-CCSD(T) é um acrónimo para *Domain based Local Pair Natural Orbitals-Coupled Cluster Singles Doubles and iterated Triples* e é um dos métodos de função de onda mais quantitativos e com extrema eficiência computacional (escalonamento quase linear) no qual a localidade da correlação electrónica é explorada até ao máximoⁱⁱ. As bases de funções Gaussianas para cálculos correlacionados aug-cc-pVTZ foram utilizadas com este método.

Adopta-se assim a nomenclatura DLPNO-CCSD(T)/aug-cc-pVTZ//PBE0/def2-TZVP para designar uma energia calculada ao nível DLPNO-CCSD(T) numa geometria otimizada ao nível PBE0 (DFT).

A segunda parte deste trabalho usa um protocolo já publicado [13]. Usou-se o programa ADF 2002, o funcional de densidade BP86 [20] com bases de Slater de zeta triplo com duas funções de polarização (TZ2P) e cernes congelados [Ne] para Co e [He] para C, N e O. Efeitos relativísticos foram tidos em conta com o Hamiltoniano ZORA [21].

Conclusões

Os complexos de elementos de transição, nomeadamente de Co(II) e Co(III), sintetizados no fim do século XIX/início do século XX por Werner e os seus colaboradores criaram um vazio na sua interpretação. Nesta comunicação descreveu-se sucintamente como a teoria do campo cristalino, introduzida por Fraústo da Silva nas aulas de Química Inorgânica no IST, nos anos sessenta do século

XX, apesar das suas limitações, foi muito útil para explicar alguns aspectos fundamentais da química dos elementos de transição. Estas explicações qualitativas foram aqui complementadas por cálculos computacionais efectuados com cerca de 20 anos de intervalo e que reflectem o poder crescente da Química Computacional. Estas ferramentas não só permitem poupar tempo e esforço laboratorial, como permitem efectuar triagens evolutivas na concepção e engenharia de complexos com certas propriedades desejáveis, neste caso magnéticas, bem como ter uma visão clara dos aspectos da estrutura electrónica que as determinam.

Notas

ⁱ Maria José Calhorda e Nuno A. G. Bandeira escrevem de acordo com a antiga ortografia.

ⁱⁱ O motivo do grande sucesso do método *Coupled Cluster* é apresentado em apêndice, como material suplementar, disponível em spq.pt/files/files/BSPQ/N171-artigo-95.pdf.

Referências

- [1] C. E. Housecroft, A. G. Sharpe, *Inorganic Chemistry*, Pearson Prentice Hall, Nova Iorque, **2008**.
- [2] K. E. Purcell, J. C. Kotz, *Inorganic Chemistry*, Holt Saunders Int. Ed., **1977**.
- [3] N. N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemistry of the Elements*, Pergamon Press, Oxford, **1984**.
- [4] H. Bethe, *Ann. Phys.* **1929**, 395, 133–208. DOI: 10.1002/andp.19293950202.
- [5] CCDC, YAKDET01. DOI: 10.5517/cc5x69k.
- [6] H. C. Jewiss, W. Levason, M. Webster, *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 1997–2001. DOI: 10.1021/ic00232a019.
- [7] S. Iwatsuki, K. Obeyama, N. Koshino, S. Funahashi, K. Kashiwabara, T. Suzuki, H. D. Takagi, *Can. J. Chem.* **2001**, 79, 1344–1351. DOI: 10.1139/v01-119.
- [8] B. Spingler, M. Scanavy-Grigorieff, A. Werner, H. Berke, Stephen J. Lippard, *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 1065–1066. DOI: 10.1021/ic001137t.
- [9] G. Vortmann, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1877**, 10, 1451–1459. DOI: 10.1002/cber.18770100243
- [10] A. Werner, F. Beddow, A. Baselli, F. Steinitzer, *Z. Anorg. Chem.* **1898**, 16, 109–166. DOI: 10.1002/zaac.18980160114.
- [11] K.-H. Ernst, F. R. W. P. Wild, O. Blacque, H. Berke, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, 50, 10780–10787. DOI: 10.1002/anie.201104477.
- [12] A. Werner, *Liebigs Ann.* **1910**, 375, 1–144. DOI: 10.1002/jlac.19103750102.
- [13] N. A. G. Bandeira, M. J. Calhorda, *Struct. Chem.* **2005**, 16, 265–271. DOI: 10.1007/s11224-005-4457-6.
- [14] F. H. Allen, *Acta Crystallogr.* **2002**, B58, 380–388. DOI: 10.1107/S0108768102003890.
- [15] C. Adamo, V. Barone, *J. Chem. Phys.* **1999**, 110, 6158–6170. DOI: 10.1063/1.478522.
- [16] S. Kossmann, F. Neese, *Chem. Phys. Lett.* **2009**, 481, 240–243. DOI: 10.1016/j.cplett.2009.09.073.
- [17] V. Barone, M. Cossi, *J. Phys. Chem. A* **1998**, 102, 1995–2001. DOI: 10.1021/jp9716997.
- [18] J. N. Harvey, *DFT Computation of Relative Spin-State Energetics of Transition Metal Compounds*, in "Principles and Applications of Density Functional Theory in Inorganic Chemistry I. Structure and Bonding", Springer, Berlin, Heidelberg, **2004**, 112, 151–184. DOI: 10.1007/b97939.
- [19] a) A. Hansen, D. G. Liakos, F. Neese, *J. Chem. Phys.* **2011**, 135, 214102. DOI: 10.1063/1.3663855; b) M. Sparta, F. Neese, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 5032–5041. DOI: 10.1039/C4CS00050A; c) C. Riplinger, F. Neese, *J. Chem. Phys.* **2013**, 138, 034106. DOI: 10.1063/1.4773581.
- [20] a) A. D. Becke, *Phys. Rev. A* **1988**, 38, 3098–3100. DOI: 10.1103/PhysRevA.38.3098; b) J. P. Perdew, *Phys. Rev. B* **1986**, 33, 8822–8824. DOI: 10.1103/PhysRevB.33.8822; c) J. P. Perdew, *Phys. Rev. B* **1986**, 34, 7406. DOI: 10.1103/PhysRevB.34.7406.
- [21] E. van Lenthe, E. J. Baerends, J. G. Snijders, *J. Chem. Phys.* **1993**, 99, 4597–4610. DOI: 10.1063/1.466059.

>

Nuno A. G. Bandeira

BioISI - Instituto de Biosistemas e Ciências Integrativas.

Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa.

Nuno A. G. Bandeira doutorou-se em Química pela Universidade Técnica de Lisboa (IST) sob a orientação de Maria José Calhorda e Luís Veiros. A sua área de especialização é em Química Inorgânica Computacional com ênfase

especial em complexos cuja estrutura electrónica é altamente correlacionada.

O seu trabalho publicado abrange temas como reactividade e propriedades electrónicas de compostos químicos de todos os blocos da tabela periódica. É actualmente investigador DL57 no DQB (FCUL) onde desenvolve o seu trabalho. nuno.bandeira@ciencias.ulisboa.pt
ORCID.org/0000-0002-5754-7328

>

Maria José Calhorda

BioISI - Instituto de Biosistemas e Ciências Integrativas.

Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa.

Maria José Calhorda é Professora Catedrática Jubilada da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, tendo-se licenciado, doutorado, agregado e sido Professora Auxiliar e Associada no Instituto Superior Técnico.

Os seus interesses científicos e pedagógicos têm-se centrado na Química Inorgânica dos elementos de transição, em particular nas Químicas Organometálica e Computacional: estrutura molecular e electrónica, reactividade e propriedades espectroscópicas.

mjc@ciencias.ulisboa.pt

ORCID.org/0000-0002-6872-3569

Ligações de Hidrogénio e Outras Interações Não Covalentes em Química de Coordenação

>
M. Fátima C. Guedes da Silva
Kamram T. Mahmudov

Hydrogen Bonding and Other Non-covalent Interactions in Coordination Chemistry.

Non-covalent interactions (NCIs) between molecules are of very low intensity, much lower than those of conventional covalent bonds, but affect the design, synthesis, structural stability, physicochemical properties and, therefore, potential applications of the materials.

Examples of resonance-assisted (RAHB) and charge-assisted (CAHB) hydrogen bonds are presented. Such contacts can be controlled by pH and temperature, influencing the formation of supramolecular aggregates, the resolution of isomers, the reactivity, etc. Examples are given of the much less known halogen (HaB) and chalcogen (ChB) bonds, which are based on the existence, in the respective atom, of regions with positive electrostatic potential - the sigma-holes - located opposite to the covalent bonds involving them. Such interactions allow the creation of new materials with various properties and applications.

As interações não-covalentes (NCIs) entre moléculas são de muito fraca intensidade, bem inferior à das ligações covalentes convencionais mas, mesmo assim, afetam o design, a síntese, a estabilidade estrutural, as propriedades físico-químicas e, portanto, as potenciais aplicações das espécies obtidas. São dados exemplos de ligações de hidrogénio assistidas por ressonância (RAHB) e por carga (CAHB). Tais contactos podem ser controlados pelo pH do meio e pela temperatura, influenciando a formação de agregados supramoleculares, a resolução de isómeros, a reatividade, etc. São também dados exemplos de ligações de halogénio (HaB) e de calcogénio (ChB), bem menos conhecidas, as quais se baseiam na existência, nesses átomos, de regiões com potencial eletrostático positivo - os vazios-sigma - na direção das ligações covalentes que os envolve. Tais interações permitem a criação de novos tipos de materiais com diversas propriedades estruturais.

Apesar da sua fraca intensidade (bem inferior à das ligações covalentes convencionais) as interações não-covalentes (NCIs, do inglês *Non-Covalent Interactions*) entre átomos/moléculas desempenham um papel relevante no desenho, na construção, na síntese e na estabilidade das estruturas, nas suas propriedades físico-químicas e aplicações, aspetos que foram já globalmente trabalhados por vários autores [1]. O papel fundamental destas interações não covalentes na catálise é também reconhecido [2].

Na sua tese de doutoramento, em 1873, van der Waals observou a não-idealidade dos gases reais e atribuiu-a à existência de interações intermoleculares, nelas não ocorrendo formação ou quebra de ligações químicas dado serem muito fracas. Assim sendo, a *química não covalente* sobre a qual incide esta comu-

nicação, desenrola-se entre duas dimensões: o raio de van der Waals (r_w = raio de uma esfera imaginária que representa a distância de aproximação mais curta para outro átomo, fora ou dentro de uma mesma molécula, sem envolver ligação) e o raio covalente (r_{cov} = metade da distância entre dois núcleos na molécula homonuclear).

A ligação de hidrogénio é uma interação não covalente. Geralmente, esta ligação ocorre quando um átomo de hidrogénio com carga parcial positiva está entre átomos com carga parcial negativa: um átomo doador (um átomo eletronegativo) e um átomo aceitador (um segundo átomo eletronegativo, um transportador de par eletrónico isolado, ou uma ligação de tipo π). Alternativamente, pode considerar-se um próton compartilhando dois pares de eletrões provenientes de dois átomos eletronegativos adjacentes.

Ligação de hidrogénio assistida por ressonância (RAHB) ou por carga (CAHB)

A ligação de hidrogénio assistida por ressonância (RAHB, do inglês *Resonance-Assisted Hydrogen Bond*), um conceito introduzido por Gilli em 1989 [5], é um tipo de ligação intramolecular de hidrogénio em que os átomos doador e aceitador de H estão ligados por um sistema conjugado de tipo π (Figura 3). Formalmente, relaciona-se com uma mudança de uma forma canónica para outra, correspondendo a uma transferência eletrónica associada a uma transferência de próton através do sistema eletrónico deslocalizado. A cooperação entre a deslocalização π e a ligação de hidrogénio tem como resultado o fortalecimento desta, incluindo-se os sistemas RAHB na categoria das interações de hidrogénio fortes (energias entre 15 e 49 kcal/mol, ou superiores).

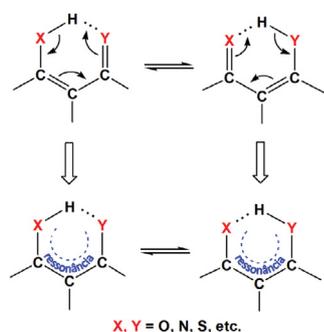


Figura 3 - Representação de uma ligação de hidrogénio assistida por ressonância (RAHB) sendo X e Y os átomos doador e/ou aceitador.

X, Y = O, N, S, etc.

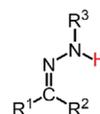
A presença de carga positiva ou negativa no grupo doador ou aceitador de próton aumenta notavelmente a força da ligação de hidrogénio dado aquela ser acompanhada por interações eletrostáticas. Nestas condições, tem-se uma ligação de hidrogénio assistida por carga (CAHB, do inglês *Charge-Assisted Hydrogen Bond*).

i) Os sistemas RAHB como potenciais invólucros quelantes

Os sistemas RAHB são comuns em compostos derivados de aril-hidrazona de diversos tipos (Figura 4) e envolvem o próton hidrazínico (NN-H). Tais sistemas podem

ser fragilizados por adição de uma base adequada ou mesmo destruídos e compensados por coordenação. De facto, na presença de um catião metálico pode ter lugar a formação de quelatos se a espécie final for estável, o que torna aqueles pró-ligandos orgânicos relevantes em química de coordenação.

Figura 4 - Representação genérica de hidrazonas, salientando-se o próton hidrazínico a vermelho.



No espetro de RMN do ácido 5-cloro-3-(2-(2,4-dioxopentan-3-ilideno)hidrazinil)-2-hidroxi-benzenossulfónico (Figura 5a) a ressonância do próton NN-H é observada a δ 14,33 mas sofre um deslocamento para δ 15,20 após tratamento com etilenodiamina, revelando assim um aumento da acidez do próton do sistema RAHB por adição daquela base. O sal obtido foi adequado como matéria-prima para a obtenção do complexo de cobalto(II) não sendo possível a formação deste produto por reação direta, e na ausência de base, entre a aril-hidrazona e uma fonte daquele catião [6].

De forma idêntica, a reação de 3-(2-(2-hidroxifenil)hidrazono)pentano-2,4-diona com um sal de zinco(II) ocorre apenas mediante a adição prévia de base a uma solução da aril-hidrazona, seguida do sal metálico para a obtenção do quelato dinuclear (Figura 5b). Por seu lado, a síntese do análogo de cobre(II) prossegue espontaneamente e sem necessidade de atuar no pH do meio [7].

Não só o pH, mas também a temperatura da reação, são cruciais na capacidade de coordenação a catiões metálicos de pró-ligandos de tipo aril-hidrazona contendo sistemas RAHB. Intuitivamente, reconhece-se que a acidez do meio e o decréscimo da temperatura estabilizam o próton hidrazínico (NN-H) do anel RAHB que pode assim ser preservado; em contrapartida, o aumento do pH e o aquecimento promovem a sua remoção. Tal estratégia foi utilizada na síntese de compostos mononucleares de cobre(II)

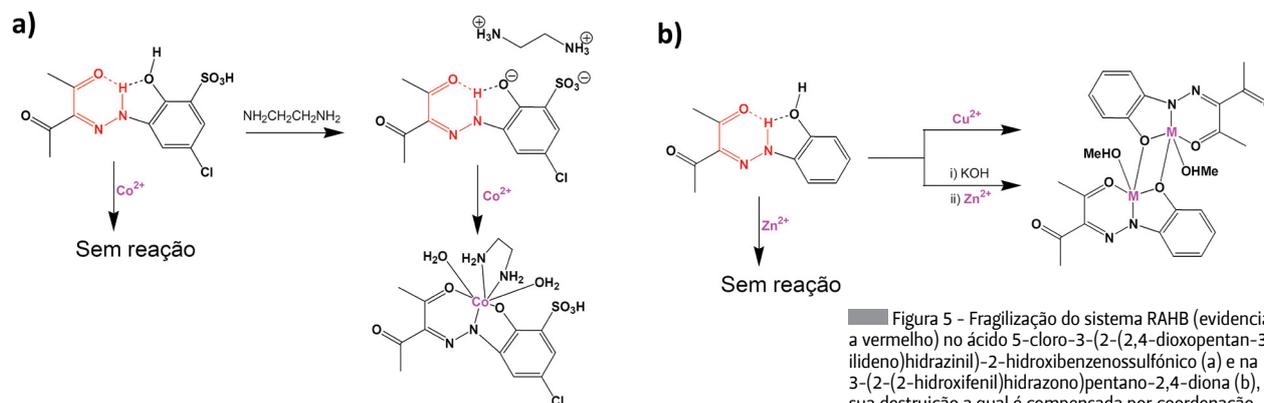
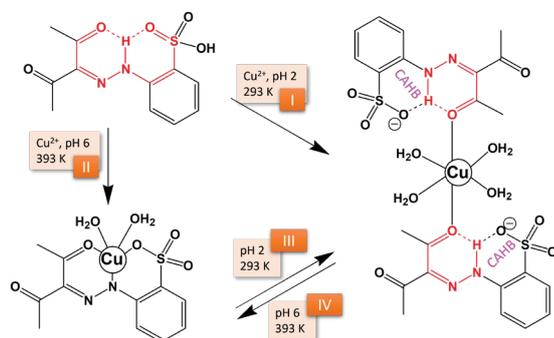


Figura 5 - Fragilização do sistema RAHB (evidenciado a vermelho) no ácido 5-cloro-3-(2-(2,4-dioxopentan-3-ilideno)hidrazinil)-2-hidroxi-benzenossulfónico (a) e na 3-(2-(2-hidroxifenil)hidrazono)pentano-2,4-diona (b), e sua destruição a qual é compensada por coordenação.

Figura 6 - Efeito do pH e da temperatura em RAHB (evidenciado a vermelho) como centro gerador de CAHB com a coordenação.



a) Ligação de halogéneo: $R-Ha \dots Y$



c) Ligação de calcogéneo:

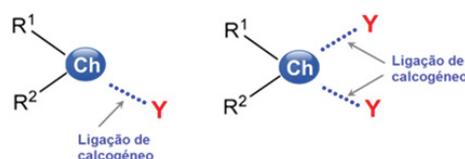


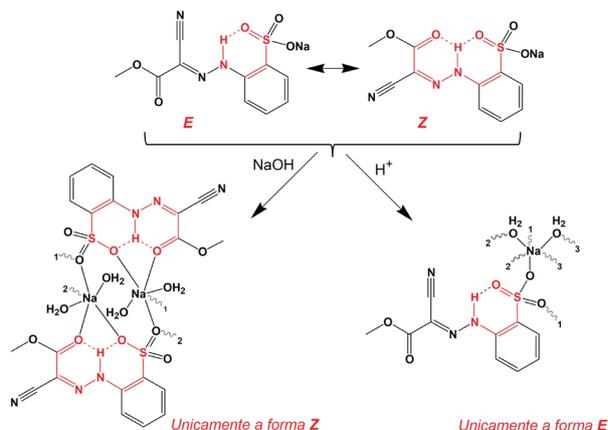
Figura 8 - Representações típicas, recomendadas pela IUPAC, de: (a) uma ligação de halogéneo; (b) com a respetiva localização dos sítios eletrofílico e nucleofílico dessa ligação; e (c) de ligações de calcogéneo.

com dois, ou apenas um, ligandos derivados do ácido 2-(2-(2,4-dioxopentan-3-ilideno)hidrazinil)benzenossulfónico (Figura 6), os quais possuem um sistema RAHB bicíclico de três centros [8]. O complexo com dois ligandos é obtido a pH 2 e a 293 K com conversão de um dos sistemas RAHB num CAHB (Figura 6, via I); a pH 6 e a 393 K o protão NN-H é substituído pelo catião metálico (Figura 6, via II), portanto com destruição do sistema RAHB permitindo a entrada dos iões Cu^{2+} na bolsa quelante do ligando. A conversão entre os dois complexos depende do pH e da temperatura (Figura 6, vias III e IV).

ii) Os sistemas RAHB na resolução isomérica

Os sistemas RAHB são também relevantes na resolução de misturas isoméricas, aspeto interessante do ponto de vista sintético, uma vez que os isómeros individuais isolados podem ser aplicados em sínteses regio- e estereoespecíficas. O (*E,Z*)-2-[2-(1-ciano-2-metoxi-2-oxoetilideno)hidrazinil]benzenossulfonato de sódio apresenta dois isómeros: o *E* com um RAHB de dois centros e o *Z* com um bicíclico de três centros (Figura 7) [9]. Em solução de $DMSO-d_6$ os dois isómeros estão presentes em quantidade comparáveis e são facilmente identificáveis: o protão NN-H do isómero *Z* entra em ressonância a δ 14,04 enquanto o do *E* surge a δ 12,72, o que permite concluir que o primeiro tem uma acidez superior ao segundo. A resolução isomérica consegue-se alterando o pH do meio: em

Figura 7 - Resolução isomérica (*E/Z*) assistida por RAHB (evidenciados a vermelho).



meio ácido obtém-se unicamente o isómero *E*, e em meio básico apenas o isómero *Z*. O sucesso nestas resoluções isoméricas foi evidenciado, em cada caso, pela (única) ressonância do protão NN-H observada no espetro de RMN: o isómero *E* surge a campo mais elevado (δ 12,49) o que sugere um fortalecimento do sistema RAHB; no isómero *Z* o aumento no desvio químico do protão NN-H (δ 14,54) está certamente relacionado com um RAHB mais fraco. Assim sendo, pretendendo um composto de partida adequado para a síntese de compostos de coordenação com a espécie sulfonada como ligando, será mais fácil destruir o sistema RAHB no isómero *Z* do que no *E*.

Interações de halogéneo (HaB) e de calcogéneo (ChB)

De acordo com a definição da IUPAC, uma ligação de halogéneo típica é representada por $R-Ha \dots Y$, em que $R-Ha$ é o grupo doador da ligação de halogéneo (**Ha**) estando este covalentemente ligado ao grupo **R**; **Y** é um átomo rico em eletrões que atua como um nucleófilo (será o aceitador da ligação de halogéneo; um par eletrónico isolado, ou um anião, ou um sistema π , Figura 8a). Os halogéneos ligados covalentemente têm geralmente caráter negativo, e há então que inquirir como podem interagir atrativamente com nucleófilos.

Diversas análises estruturais acompanhadas por estudos teóricos permitiram concluir que muitos

halogéneos ligados covalentemente possuem uma região com potencial eletrostático positivo ao longo da sua ligação covalente, região essa a que se deu o nome de “vazio-sigma” (do inglês *sigma-hole*, Figura 8b); o potencial eletrostático na direção ortogonal é geralmente negativo. De acordo com dados obtidos, a dimensão do vazio-sigma aumenta com a polarizabilidade de **Ha** (portanto, aumentará ao longo do grupo dos halogéneos), com o caráter aceitador eletrônico de **R** e com a nucleofilicidade de **Y**.

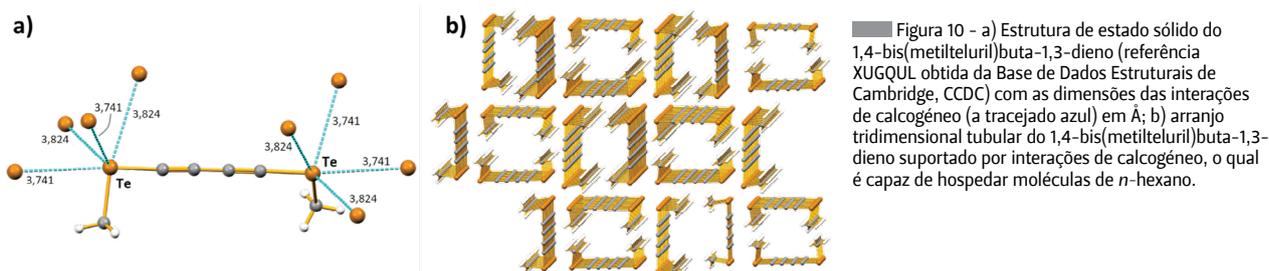
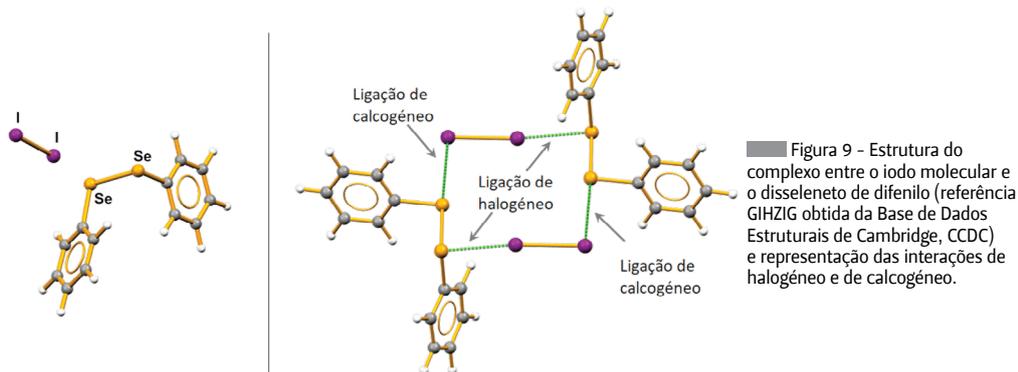
Características importantes da ligação de halogéneo, aliás de todas as NCl's, são a sua intensidade (força) e direcionalidade. Avalia-se a intensidade da NCI de halogéneo como a diferença entre i) a soma dos raios de van der Waals (Σr_w) dos átomos **Ha** e **Y** que interagem, e ii) o valor experimental da distância **Ha...Y**. Devido à localização específica do vazio-sigma, segundo a direção da ligação **R-Ha**, aquele atinge a sua energia potencial mínima quando o ângulo **R-Ha...Y** é de 180° , expressando-se deste modo a direcionalidade da NCI. Assim, a ligação de halogéneo será, em princípio, tanto mais forte quanto menor a distância **Ha...Y** e mais próximo da linearidade o ângulo **R-Ha...Y**.

A ligação de calcogéneo (**ChB**) partilha muitas semelhanças com a ligação de halogéneo (**HaB**) e foi muito recentemente reconhecida pela IUPAC [10]. Tal como com outras ligações envolvendo vazios-sigma, tanto a força quanto a direcionalidade da ligação de calcogéneo dependem dos fatores acima referidos, devendo acrescentar-se agora a *multiplicidade* uma vez que o átomo de calcogéneo apresenta valência variável. De facto, o número de possíveis potenciais

eletrostáticos positivos de superfície na extensão da(s) ligação(ões) covalente(s) com átomos de calcogéneo é geralmente maior do que com átomos de halogéneo (Figura 8c).

Um bom exemplo em que ocorrem simultaneamente ligações de halogéneo e ligações de calcogéneo, demonstrando-se também a natureza *anfifílica* (eletrofílica e nucleofílica) destes átomos, é o complexo entre o iodo molecular e o disseleneto de difenilo (Figura 9) [11]. O padrão de coordenação retangular observado é mantido unido por duas ligações de halogéneo [$d(I...Se) = 2,99 \text{ \AA}$] e duas ligações de calcogéneo [$d(I...Se) = 3,59 \text{ \AA}$], bem inferiores à soma dos raios de van der Waals dos respetivos átomos ($\Sigma r_w = 3,88 \text{ \AA}$), ambas com ângulos bem próximos da linearidade: na ordem indicada, $174,21^\circ$ e $176,50^\circ$.

A influência da multiplicidade dos átomos de calcogéneo está bem patente na estrutura de estado sólido do 1,4-bis(metil teluril)buta-1,3-dieno, na qual o átomo de telúrio divalente está envolvido em quatro ligações intermoleculares, comportando-se simultaneamente como doador e como aceitador de elétrons (Figura 10a) [11b,12]. No empacotamento estrutural (Figura 10b), cada catião telúrio está em contacto com quatro outros Te^{2+} de moléculas vizinhas distanciados de 3,741 e 3,824 Å, valores estes bem inferiores à soma dos raios de van der Waals envolvendo apenas este calcogéneo ($\Sigma r_w = 2 \times 2,06 = 4,12 \text{ \AA}$), favorecendo a formação de uma estrutura tubular capaz de hospedar moléculas de *n*-hexano. Estruturas idênticas foram obtidas com o enxofre e o selênio, com este último tolerando hospedar moléculas de ciclo-hexano, clorobenzeno,



p-xileno ou mesmo nitrobenzeno, uma espécie de considerável polaridade.

Comentários finais

Esta breve comunicação centrou-se nas interações não covalentes, reconhecidas como inerentemente fracas. Dada a diversidade deste tipo de interações e não sendo possível referir todas elas, apesar de várias estarem já reconhecidas pela IUPAC, o foco foi apenas nas ligações de hidrogénio, de halogéneo e de calcogéneo. De modo particular mostrou-se como são essenciais na síntese química e de que modo, atuando nelas, é possível controlar a seletividade e/ou potenciar a estrutura dos produtos obtidos. Entre estas interações, as de hidrogénio foram objeto de particular atenção do Professor Fraústo da Silva que introduziu o seu estudo sistemático no seu grupo de investigação em inícios

da década de 1970. Um dos autores (MFCGS) aproveita a oportunidade para registar o seu agradecimento póstumo pelo interesse que o Professor Fraústo da Silva sempre manifestou pela investigação que desenvolveu e pelo apoio ao longo da sua carreira.

Agradecimentos

Agradece-se o apoio financeiro prestado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) através dos projetos UIDB/00100/2020, UIDP/00100/2020 e LA/P/0056/2020. K. T. M. agradece à FCT e ao Instituto Superior Técnico o apoio prestado através dos DL 57/2016 e DL 57/2017 e dos Programas Institucionais CEEC 2018, Contrato n.º ID-IST/85/2018; também expressa gratidão à Universidade Estadual de Baku, no Azerbaijão.

Referências

- [1] "Non-covalent Interactions in the Synthesis and Design of New Compounds", A. M. Maharramov, K. T. Mahmudov, M. N. Kopylovich, A. J. L. Pombeiro (eds.), J. Wiley & Sons, **2016**.
- [2] "Non-covalent Interactions in Catalysis", K. T. Mahmudov, M. N. Kopylovich, M. F. C. Guedes da Silva, A. J. L. Pombeiro (eds.), Royal Society of Chemistry, Cambridge, Reino Unido, **2019**.
- [3] I. Alkorta, J. Elguero, A. Frontera, *Crystals* **2020**, *10*, 180. DOI: 10.3390/cryst10030180.
- [4] A. Karmakar, A. Paul, I. Santos, P. Santos, E. P. Sabatini, A. Gurbanov, M. F. C. Guedes da Silva, A. J. L. Pombeiro, *Cryst. Growth Des.* **2022**, *22*, 2248–2265. DOI: 10.1021/acs.cgd.1c01343.
- [5] G. Gilli, F. Bellucci, V. Ferretti, V. Bertolasi, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1023–1028. DOI: 10.1021/ja00185a035.
- [6] M. N. Kopylovich, K. T. Mahmudov, M. Haukka, P. J. Figiel, M. Archana, J. A. L. da Silva, A. J. L. Pombeiro, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, *27*, 4175–4181. DOI: 10.1002/ejic.201100348.
- [7] M. N. Kopylovich, T. C. O. MacLeod, K. T. Mahmudov, M. F. C. Guedes da Silva, A. J. L. Pombeiro, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 5352–5361. DOI: 10.1039/C0DT01457E.
- [8] M. N. Kopylovich, A. C. C. Nunes, K. T. Mahmudov, M. Haukka, T. C. O. MacLeod, L. M. D. R. S. Martins, M. L. Kuznetsov, A. J. L. Pombeiro, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 2822–2836. DOI: 10.1039/c0dt01527j.
- [9] K. T. Mahmudov, M. N. Kopylovich, M. F. C. Guedes da Silva, A. J. L. Pombeiro, *ChemPlusChem* **2014**, *79*, 1523–1531. DOI: 10.1002/cplu.201402088.
- [10] C. B. Aakeroy, D. L. Bryce, G. R. Desiraju, A. Frontera, A. C. Legon, F. Nicotra, K. Rissanen, S. Scheiner, G. Terraneo, P. Metrangolo G. Resnati, *Pure Appl. Chem.* **2019**, *91*, 1889–1892. DOI: 10.1515/iupac.91.0052.
- [11] a) S. Kubiniok, W. -W. du Mont, S. Pohl, W. Saak. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1988**, *27*, 431–433. DOI: 10.1002/anie.198804311; b) K. T. Mahmudov, M. N. Kopylovich, M. F. C. Guedes da Silva, A. J. L. Pombeiro, *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 10121–10138. DOI: 10.1039/C7DT01685A.
- [12] D. B. Werz, R. Gleiter, F. Rominger, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10638–10639. DOI: 10.1021/ja027146d.

>

M. Fátima C. Guedes da Silva

Centro de Química Estrutural – Instituto de Molecular Sciences.

Departamento de Engenharia Química. Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa.

Professora Associada com Agregação no Instituto Superior Técnico (IST), Universidade de Lisboa (ULisboa), Presidente da Sociedade Portuguesa de Eletroquímica, Membro Correspondente da Academia das Ciências de Lisboa (ACL) e Fellow da Academia Europeia das Ciências

(EURASC). Cofundadora do Colégio de Química da ULisboa, foi Membro da sua Comissão Executiva e Coordenadora da Divisão de Comunicação e Imagem. Cofundadora do Programa de Doutoramento MultiUniversitário Catálise e Sustentabilidade (CATSUS) e membro do seu Órgão Diretivo. A sua investigação orienta-se em domínios da Química de Coordenação e Estrutural, e da Eletroquímica. Foi galardoada com o Prémio Científico Universidade de Lisboa/Caixa Geral de Depósitos,

e o Prémio Científico da Sociedade Portuguesa de Eletroquímica.

fatima.guedes@tecnico.ulisboa.pt

ORCID.org/0000-0003-4836-2409

>

Kamran T. Mahmudov

Centro de Química Estrutural – Instituto de Molecular Sciences.

Excellence Center, Baku State University.

Investigador contratado no Centro de Química Estrutural, Instituto Superior Técnico, e Professor Associado na Uni-

versidade Estatal de Baku, Azerbaijão, em licença de ausência. Os principais

interesses científicos dizem respeito às interações não covalentes e à sua utilização na síntese, catálise e conceção de materiais, sendo co-editor de dois livros sobre estes temas. É cofundador da série *International Conferences on Noncovalent Interactions* (ICNI), membro do seu Conselho Consultivo Internacional e o seu Secretário Internacional.

kamran_chem@mail.ru

ORCID.org/0000-0003-0743-6520

Marcação Isotópica e Substituições Metálicas em Agregados Ferro-Enxofre

José J. G. Moura

Isotopic Labelling and Metal Substitutions in Iron-Sulfur Clusters. *Iron-sulfur clusters are prosthetic groups ancient on the scale of evolution and omnipresent in all forms of life. They were recognized (since 1966) to be involved in electron transfer reactions, but several other functions have been identified, which can be attributed to their flexible coordination and redox properties (e.g., metabolic regulation, sensors, and DNA processing in biosynthetic and repair pathways). In this article, studies on iron-sulfur [3Fe-4S] and [4Fe-4S] aggregates are described, with a focus on structural interconversion, used for isotopic labeling and metallic substitutions and on an interesting methodology for spectroscopic purposes and synthesis/design of biocatalysts.*

Os agregados de ferro-enxofre são grupos prostéticos ancestrais na escala de evolução e omnipresentes em todas as formas de vida. Foram reconhecidos, desde 1966, por estarem envolvidos em reações de transferência eletrônica, mas várias outras funções foram identificadas, que podem ser atribuídas à sua coordenação flexível e propriedades redox (ex., regulação metabólica, sensores, e processamento de DNA em vias biossintéticas e de reparação). Neste artigo são descritos estudos em agregados de ferro-enxofre [3Fe-4S] e [4Fe-4S], com foco na interconversão estrutural, aproveitada para marcação isotópica e substituições metálicas, sendo revista uma metodologia interessante para fins espectroscópicos e síntese/design de biocatalisadores.

Prefácio

Lembrando Fraústio da Silva... na altura em que começámos a explorar a possibilidade de conversão entre agregados ferro-enxofre, delineava-se a possibilidade de introduzir um metal (sem ser ferro) no agregado [3Fe-4S] originando agregados heterometálicos do tipo [M,3Fe-4S]. Durante a 2nd *International Conference on Biological Inorganic Chemistry* (ICBIC 2) que teve lugar no Algarve, em 1982, a areia da praia serviu para desenhar e imaginar possibilidades de síntese, em discussões conjuntas com os Professores J. J. R. Fraústio da Silva e R. J. P. Williams, tendo o Ga³⁺ sido uma das possibilidades avançadas por analogia com o Fe³⁺. Outros metais se seguiram como se descreve a seguir.

Introdução

Os agregados de ferro-enxofre foram detetados pelos sinais característicos obtidos por ressonância paramagnética eletrônica em proteínas de membrana mitocondrial e depois em pequenas proteínas, tais como ferredoxinas. Mais tarde, outras pequenas proteínas de ferro-enxofre foram descobertas e caracterizadas. Um artigo recentemente publicado pelo nosso grupo faz uma revisão bastante completa do estado da arte [1]. Muitos dados foram acumulados por diferentes espectroscopias e metodologias, reve-

lando as componentes estruturais e as propriedades químicas e magnéticas dos diferentes aglomerados de ferro-enxofre. Quatro estruturas básicas dos agregados de ferro-enxofre podem ser diferenciadas pelo número de átomos de ferro e enxofre inorgânico (designado por lábil) e descritas como: [Fe], [2Fe-2S], [3Fe-4S] e [4Fe-4S] (Figura 1), sendo a coordenação tetraédrica dos átomos de ferro completada por resíduos de cisteína da cadeia polipeptídica. Além disso, existem aglomerados maiores e complexos contendo até oito átomos de ferro ou contendo outros metais além do ferro (por exemplo, níquel e molibdénio) e outras coordenações foram sendo encontradas [1].

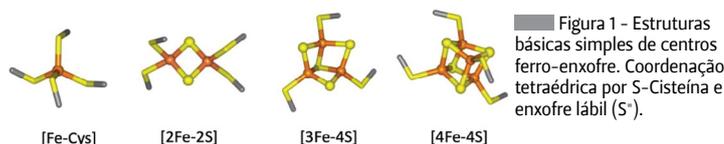


Figura 1 - Estruturas básicas simples de centros ferro-enxofre. Coordenação tetraédrica por S-Cisteína e enxofre lábil (S^{*}).

Neste artigo exploramos as relações estruturais entre os agregados [3Fe-4S] e [4Fe-4S] (a estrutura contendo 3Fe resulta da perda de um átomo de ferro da estrutura cuboidal 4Fe, e tem um lugar central nestes estudos). As ferredoxinas isoladas de uma bactéria redutora de sulfato, *Desulfovibrio gigas* (Dg), são usadas como protótipo neste artigo.

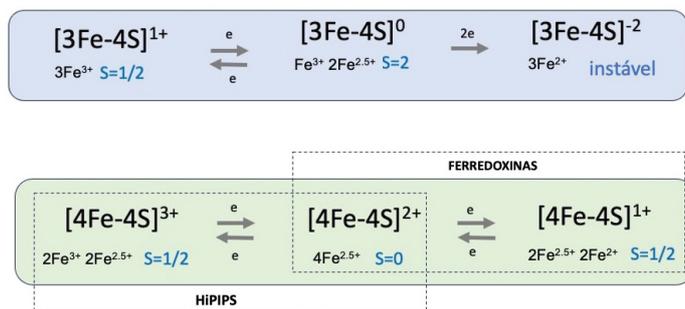
Agregados [3Fe-4S]

A descoberta do agregado [3Fe-4S] (Figura 1) em DgFdII (*Desulfovibrio gigas ferredoxin II*) desempenhou um papel importante na identificação e compreensão da natureza do agregado [1,2]. A estrutura cristalina da DgFdII foi obtida com resolução de 1,7 Å [3]. A estrutura da DgFdII foi também obtida por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) [4]. A presença deste agregado foi posteriormente identificada noutras ferredoxinas e em várias enzimas, como na aconitase, na succinato desidrogenase, na fumarato redutase, na nitrato redutase, na glutamato sintase e em [NiFe] hidrogenases [1].

Os estados redox que podem ser estabilizados pelos agregados ferro-enzofre são indicados na Figura 2. As propriedades magnéticas e eletrônicas do aglomerado [3Fe-4S], nos estados de oxidação +1 e 0, foram extensivamente exploradas por vários métodos espectroscópicos, nomeadamente Ressonância Paramagnética Eletrónica (RPE), Espectroscopia de Mössbauer [5,6], RMN [4,7], Dicroísmo Circular Magnético (MCD) [8], Absorção Estendida de Raios X - Estrutura Fina (EXAFS) [9] e técnicas eletroquímicas [10].

No estado oxidado, [3Fe-4S]⁺¹, o aglomerado apresenta três átomos férricos de spin alto ($S = 5/2$) acoplados para formar um estado $S = 1/2$ e exibindo um sinal em RPE quase isotrópico centrado em torno de $g = 2,02$. A redução do agregado por um eletrão produz um agregado [3Fe-4S]⁰ com um spin inteiro ($S = 2$), e o espectro de Mössbauer revelou que no estado reduzido contém uma unidade Fe²⁺-Fe³⁺ (valência deslocalizada em que os dois átomos de ferro estão formalmente com um estado de oxidação Fe^{2.5+}) acoplada a um Fe³⁺ com valência localizada [5,6].

Figura 2 - Estados redox observados em agregados [3Fe-4S] e [4Fe-4S]. São indicadas as valências formais dos átomos de Fe, estados de spin, e a distinção entre ferredoxinas e HiPIPs (proteínas de ferro de alto potencial, *High Potential Iron Proteins*).



O potencial de redução do par redox [3Fe-4S]⁺¹/[3Fe-4S]⁰ depende da proteína, variando entre -460 e -70 mV. Usando técnicas eletroquímicas, foi observado que o agregado [3Fe-4S]⁰ da *D. gigas* FdII pode aceitar dois elétrons adicionais formando [3Fe-4S]²⁻ (Figura 2), com potenciais de redução muito baixos (ca. -690 mV), na superfície de um eletródo, e proposto conter três átomos ferrosos [1].

Agregados [4Fe-4S]

Os agregados [4Fe-4S] são geralmente ligados à cadeia polipeptídica através de quatro resíduos de cisteína, localizados em motivos particulares, um contendo cisteínas quase adjacentes (Cys-X₂-Cys-X₂-Cys) que coordenam três átomos de ferro, sendo o quarto átomo de ferro ligado a uma cisteína numa posição mais distante da cadeia polipeptídica. A ligação de um determinado agregado por resíduos de cisteína de diferentes segmentos da cadeia polipeptídica estabiliza a estrutura terciária da proteína.

Dentro deste grupo tem sido feita distinção entre as ferredoxinas com potencial de redução negativo (-700 a -150 mV) e proteínas com potencial de redução positivo (+100 a +450 mV) (Figura 2), denominadas de proteínas de ferro de alto potencial (*High Potential Iron Proteins*, HiPIPs). As HiPIPs foram isoladas principalmente, mas não exclusivamente, de bactérias fotossintéticas, sendo que os aglomerados [4Fe-4S] são encontrados em numerosas enzimas redox microbianas, de vegetais e de mamíferos, incluindo, entre outras, as nitrato redutase e hidrogenases [1].

O agregado [4Fe-4S] pode existir em três estados de oxidação estáveis (Figura 2). Carter e colaboradores propuseram o “modelo dos três estados” [11], em contraste com os agregados [2Fe-2S], e conforme descrito para o agregado [3Fe-4S]⁰, os eletrões de valência estão deslocalizados nos agregados. Os três estados de oxidação que podem ser atingidos são [4Fe-4S]⁺³, [4Fe-4S]⁺² e [4Fe-4S]⁺¹, e correspondem, respetivamente, a combinações de estado de valência [2Fe³⁺-2Fe^{2.5+}], [4Fe^{2.5+}] e [2Fe^{2.5+}-2Fe²⁺].

A transição [4Fe-4S]⁺³/[4Fe-4S]⁺² é o par redox de alto potencial característico dos HiPIPs, enquanto o par [4Fe-4S]⁺²/[4Fe-4S]⁺¹ é responsável pelo processo de baixo potencial característico de ferredoxinas bacterianas. Os estados de oxidação [4Fe-4S]⁺³ e [4Fe-4S]⁺¹ do agregado são paramagnéticos e exibem espectros de RPE característicos, sendo que a forma oxidada (estado [4Fe-4S]⁺²) das ferredoxinas de baixo potencial é diamagnética [1].

Interconversões estruturais em agregados ferro-enzofre e marcação isotópica

Nas ferredoxinas isoladas de *D. gigas*, a mesma cadeia polipeptídica (58 aminoácidos, 6 cisteínas) é usada para formar duas ferredoxinas (Fds): FdII, que contém um único centro [3Fe-4S] e FdI, que inclui principalmente um centro [4Fe-4S]. A Figura 3 mostra um esquema das estruturas da DgFdII e da DgFdI, a existência de uma ponte dissulfureto, e o papel das restantes cisteínas na coordenação dos centros [3Fe-4S] e [4Fe-4S], com relevância para a flexibilidade de um resíduo cisteico (Cys11), permitindo acomodar ambos os centros [3]. DgFdII e DgFdI diferem nos potenciais redox e nas diferentes funções metabólicas em bactérias redutoras de sulfato [12].

No caso de [3Fe-4S] DgFdl e de [4Fe-4S] DgFdll, a ponte dissulfureto tem também um papel redox e, além de introduzir rigidez estrutural, pode também modular a conformação do centro Fe-S, conforme os estudos por espectroscopias de Mössbauer e de RPE [13,14].

As proteínas contendo agregados [3Fe-4S] provaram ser particularmente úteis em estudos de conversões de agregados em situações mais complexas em que o ligando X não está presente (Figura 3) e a entrada do quarto átomo de ferro define o local catalítico para coordenação do substrato, como no caso da aconitase, permitindo uma compreensão do passo de ativação [15]. A interconversão de agregados [3Fe-4S] em [4Fe-4S] foi demonstrada mesmo quando o ligando coordenante do quarto átomo de ferro não é um ligante cisteinil, como no caso de um resíduo aspártico na ferredoxina de *P. furiosus* [16], equivalente à Cys11 presente em DgFds (Figura 3).

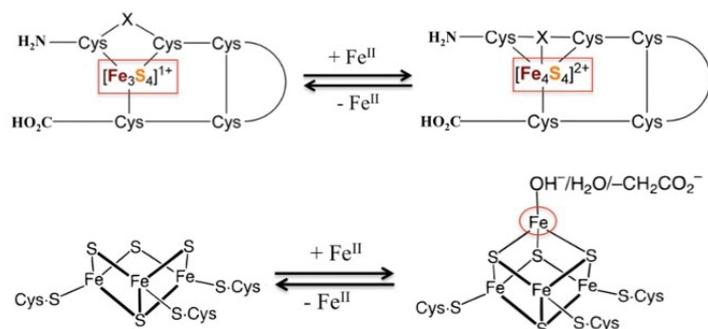


Figura 3 - O painel superior indica de forma esquemática o papel do resíduo X (Cys no caso das ferredoxinas de Dg, ou Asp no caso da ferredoxina de *P. furiosus*), acomodando ambas as estruturas [3Fe-4S] e [4Fe-4S] e ausência de um ligando X. O painel inferior ilustra o caso da aconitase e a labilidade do quarto átomo de ferro. A coordenação é completada com H₂O, OH⁻ e com o substrato.

Um aspeto importante é que as estruturas [4Fe-4S] podem ser fácil e quase espontaneamente reconstituídas a partir da apoproteína (preparada pela precipitação em condições ácidas e protegendo os resíduos cisteína em meio redutor) após adição de sulfureto de ferro (+2). O processo de reconstituição permite obter uma ferredoxina contendo um centro [4Fe-4S], o produto termodinamicamente mais estável, idêntico espectroscopicamente à DgFdl. Mais ainda, as estruturas [3Fe-4S] e [4Fe-4S] são interconversíveis: a oxidação em condições controladas leva à perda de um átomo de ferro convertendo Fdl em Fdll, e o tratamento da Fdll com sais de ferro em ambiente redutor conduz à inserção de um átomo de ferro completando o cubo, convertendo Fdll em Fdl I (Figura 4).

Os estudos de interconversões *in vitro* foram realizados em condições não fisiológicas e quase fisiológicas usando extratos de células de *D. gigas* [17,18].

Esta versatilidade e flexibilidade estrutural permitiu a marcação isotópica de agregados ferro-enxofre com enorme vantagem em simplificação e desconvolução espectral, em particular quando as amostras são analisadas por espectroscopia de Mössbauer [19-21]. Na

realidade, a conjugação da metodologia de reconstituição dos agregados e adição/remoção (oxidação seletiva) específica de um átomo de ferro na estrutura permitiu a análise *site specific* no agregado.

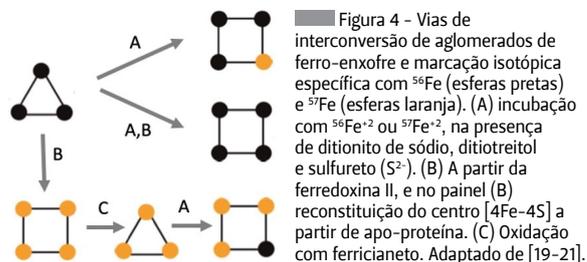
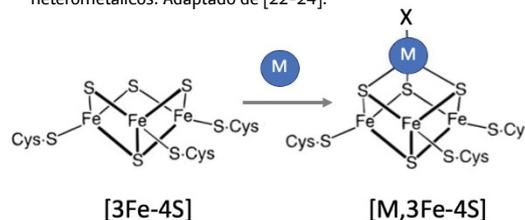


Figura 4 - Vias de interconversão de aglomerados de ferro-enxofre e marcação isotópica específica com ⁵⁶Fe (esferas pretas) e ⁵⁷Fe (esferas laranja). (A) Incubação com ⁵⁶Fe²⁺ ou ⁵⁷Fe²⁺, na presença de ditionito de sódio, ditiotretol e sulfureto (S²⁻). (B) A partir da ferredoxina II, e no painel (B) reconstituição do centro [4Fe-4S] a partir de apo-proteína. (C) Oxidação com ferricianeto. Adaptado de [19-21].

Síntese de agregados metálicos heteronucleares

Como foi referido, o agregado [3Fe-4S] pode facilmente ser interconvertido numa estrutura de cubano [4Fe-4S] [20]. Este processo de interconversão sugeriu que o centro [3Fe-4S] poderia ser usado como um precursor sintético para a formação de agregados de heterometais (Figura 5).

Figura 5 - Inserção de um metal no agregado [3Fe-4S] usando as técnicas de interconversão, permitindo a síntese de agregados heterometálicos. Adaptado de [22-24].



A síntese de agregados de cubano heterometálicos do tipo [M,3Fe-4S], obtidos por incorporação de um metal M no sítio de coordenação vago do agregado [3Fe-4S], permitiu obter informações complementares sobre as propriedades eletrónicas, magnéticas e redox dos centros de ferro-enxofre. Este trabalho pioneiro (Moura e colaboradores) levou à síntese de agregados heterometálicos [Co,3Fe-4S], [Zn,3Fe-4S], [Cd,3Fe-4S], [Ni,3Fe-4S], [Cu,3Fe-4S], usando [3Fe-4S] *D. gigas* Fdll como *template* [22-24]. Em paralelo, Co, Cu, Cd, Zn, Ni, Cr e Tl foram introduzidos no agregado [3Fe-4S] isolado na ferredoxina de *P. furiosus* [26-28]. Holm e colaboradores desenvolveram muito trabalho sintético em agregados miméticos heterometálicos [29], complementando a informação obtida em centros gerados em ambiente proteico. Particularmente relevante foi a deteção de estados de spin não usuais e a deteção de valências localizadas nos agregados sintetizados ([Co,3Fe-4S]^{+1/+2}, S = 1/2 | S > 0, [Cd,3Fe-4S]^{+2/+1}, S = 2 | S = 5/2, [Ni,3Fe-4S]⁺¹, S = 3/2, e [Zn,3Fe-4S]⁺¹, S = 5/2), permitindo repensar em vias (bio)catalíticas e compostos modelo miméticos de enzimas complexas.

Em paralelo, o comportamento eletroquímico de DgFdl e DgFdll foi investigado, bem como o processo

de interconversão. As propriedades redox de agregados contendo heterometais do tipo $[M,3Fe-4S]$ foram também avaliadas usando eletroquímica direta: $[Cd,3Fe-4S]$ (-495 mV), $[Fe,3Fe-4S]$ (-420 mV), $[Ni,3Fe-4S]$ (-360 mV) e $[Co,3Fe-4S]$ (-245 mV). Além das transições redox +1/0 (agregado 3Fe) e +2/+1 (agregado 4Fe), um passo redox muito negativo, a -690 mV, foi detectado para o núcleo 3Fe, remanescente de uma etapa de redução adicional de $2e^-$ ao estado $[3Fe-4S]^{2-}$ [10] (Figura 2).

Nota Final

A versatilidade estrutural destes agregados é notável. Os métodos de reconstituição e interconversão permitiram substituições metálicas em agregados Fe-S conducentes à formação de agregados heterometálicos e marcação isotópica seletiva.

Referências

- [1] S. R. Pauleta, R. Grazina, M. S. P. Carepo, J. J. G. Moura, I. Moura, I., in "Comprehensive Inorganic Chemistry III", J. Reedijk, K. R. Poepelmeier (Eds.), Oxford, Elsevier **2023**, 2,105-173.
- [2] H. Beinert, A. J. Thomson, *Arch. Biochem. Biophys.* **1983**, 222, 333-361. DOI: 10.1016/0003-9861(83)90531-3.
- [3] C. R. Kissinger, E. T. Adman, L. C. Sieker, L. H. Jensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 8721-8723. DOI: 10.1021/ja00234a038.
- [4] B. J. Goodfellow, A. L. Macedo, P. Rodrigues, I. Moura, V. Wray, J. J. G. Moura, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1999**, 4, 421-430. DOI: 10.1007/s007750050328.
- [5] B. H. Huynh, J. J. Moura, I. Moura, T. A. Kent, J. LeGall, A. V. Xavier, E. Münck, *J. Biol. Chem.* **1980**, 255, 3242-3244. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)85685-5.
- [6] T. A. Kent, J. -L. Dreyer, M. C. Kennedy, B. H. Huynh, M. H. Emptage, H. Beinert, E. Münck, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1982**, 79, 1096-1100. DOI: 10.1073/pnas.79.4.1096.
- [7] A. L. Macedo, I. Moura, J. J. G. Moura, J. Le Gall, H. B. Hanh, *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 1101-1105. DOI: 10.1021/ic00059a013.
- [8] A. J. Thomson, A. E. Robinson, M. K. Johnson, J. J. G. Moura, I. Moura, A. V. Xavier, J. Legall, *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct.* **1981**, 670, 93-100. DOI: 10.1016/0005-2795(81)90053-2.
- [9] M. R. Antonio, B. A. Averill, I. Moura, J. J. Moura, W. H. Orme-Johnson, B. K. Teo, A. V. Xavier, *J. Biol. Chem.* **1982**, 257, 6646-6649. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)34475-2.
- [10] C. Moreno, A. L. Macedo, I. Moura, J. J. G. Moura, I. Moura, J. LeGall, *J. Inorg. Biochem.* **1994**, 53, 219-234. DOI: 10.1016/0162-0134(94)80006-5.
- [11] C. W. Carter, J. Kraut, S. T. Freer, R. A. Alden, L. C. Sieker, E. Adman, L. H. Jensen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1972**, 69, 3526-3529. DOI: 10.1073/pnas.69.12.3526.
- [12] J. J. G. Moura, J. LeGall, A. V. Xavier, *Eur. J. Biochem.* **1984**, 141, 319-322. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1984.tb08194.x.
- [13] A. L. Macedo, I. Moura, K. K. Surerus, V. Papaefthymiou, M. Y. Liu, J. LeGall, E. Münck, J. J. Moura, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 8052-8058. DOI: 10.1016/S0021-9258(17)37158-2.
- [14] P. M. Rodrigues, A. L. Macedo, B. J. Goodfellow, I. Moura, J. J. G. Moura, *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, 11, 307-315. DOI: 10.1007/s00775-005-0077-2.
- [15] H. Beinert, J. Meyer, R. Lill, *Iron Sulfur Proteins*, Elsevier, Amsterdão, **2004**.
- [16] C. Kim, P. S. Brereton, M. F. J. Verhagen, M. W. Adams, in *Methods Enzymol.*, Elsevier, Amsterdão, **2001**, pp. 30-40.
- [17] H. Beinert, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 2-15. DOI: 10.1007/s007750050002.
- [18] J. J. G. Moura, I. Moura, T. A. Kent, J. D. Lipscomb, B. H. Huynh, J. LeGall, A. V. Xavier, E. Münck, *J. Biol. Chem.* **1982**, 257, 6259-6267. DOI: 10.1016/S0021-9258(20)65132-8.
- [19] J. J. G. Moura, in *Iron Sulfur Protein Res.*, H. Matsubara, Y. Katsube, K. Wada (Eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, **1986**, 149-164.
- [20] T. A. Kent, I. Moura, J. J. G. Moura, J. D. Lipscomb, B. H. Huynh, J. LeGall, A. V. Xavier, E. Münck, *FEBS Lett.* **1982**, 138, 55-58. DOI: 10.1016/0014-5793(82)80393-1.
- [21] I. Moura, J. J. G. Moura, A. V. Xavier, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, 79, 128-129. DOI: 10.1016/S0020-1693(00)95160-0.
- [22] I. Moura, J. J. G. Moura, E. Münck, V. Papaefthymiou, J. LeGall, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 349-351. DOI: 10.1021/ja00262a057.

Uma estrutura "linear" do centro $[3Fe-4S]$ foi identificada em estudos espectroscópicos da aconitase [30]. Embora a sua relevância fisiológica não seja clara, esta variante revelou importância na interconversão de agregados, interações proteína-agregados e síntese de agregados heterometálicos.

Adicionalmente, foram identificados agregados lineares com estrutura semelhante, mas sem ferro (proteína *D. gigas* Orange com Mo-Cu-Mo coordenada por sulfuretos [31,32]) ou contendo outros metais além do ferro (Mo ou Cu, na proteína Blue de *D. alaskensis* ou *D. aminophilus*, respetivamente [33,34]).

Agradecimentos

Apoio do Laboratório Associado para a Química Verde - LAQV (UIDB/50006/2020 e UIDP/50006/2020), e Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT/MCTES).

- [23] K. K. Surerus, E. Münck, I. Moura, J. J. G. Moura, J. LeGall, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 108, 3805-3808. DOI: 10.1021/ja00246a062.
- [24] J. J. G. Moura, I. Moura, V. Surerus, K. K. Papaefthymiou, E. Münck, J. LeGall, *Recl. des Trav. Chim. des Pays Bas* **1987**, 106, 225.
- [25] E. Münck, V. Papaefthymiou, K. K. Surerus, J. J. Girerd, in *Met. Clust. Proteins*, L. Que (Ed.), American Chemical Society, Washington, DC, **1988**, pp. 302-325.
- [26] R. C. Conover, J. B. Park, M. W. W. Adams, M. K. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 4562-4564. DOI: 10.1021/ja00167a074.
- [27] K. K. P. Srivastava, K. K. Surerus, R. C. Conover, M. K. Johnson, J. B. Park, M. W. W. Adams, E. Münck, *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 927-936. DOI: 10.1021/ic00058a029.
- [28] C. R. Staples, I. K. Dhawan, M. G. Finnegan, D. A. Dwinell, Z. H. Zhou, H. Huang, M. F. J. M. Verhagen, M. W. W. Adams, M. K. Johnson, *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 5740-5749. DOI: 10.1021/ic970200k.
- [29] H. Holm, in *Adv. Inorg. Chem.*, R. Cammack (Ed.), Academic Press, Amsterdão, **1992**, pp. 1-71.
- [30] H. Beinert, M. C. Kennedy, C. D. Stout, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2335-2374. DOI: 10.1021/cr950040z.
- [31] G. N. George, I. J. Pickering, E. Y. Yu, R. C. Prince, S. A. Bursakov, O. Y. Gavel, I. Moura, J. J. G. Moura, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 8321-8322. DOI: 10.1021/ja000955h.
- [32] B. K. Maiti, L. B. Maia, S. R. Pauleta, I. Moura, J. J. G. Moura, *Inorg. Chem.* **2017**, 56, 2210-2220. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.6b02906.
- [33] M. G. Rivas, M. S. P. Carepo, C. S. Mota, M. Korbas, M. -C. Durand, A. T. Lopes, C. D. Brondino, A. S. Pereira, G. N. George, A. Dolla, J. J. G. Moura, I. Moura, *Biochemistry* **2009**, 48, 873-882. DOI: 10.1021/bi801773t.
- [34] M. G. Rivas, C. S. Mota, S. R. Pauleta, M. S. P. Carepo, F. Folgosa, S. L. A. Andrade, G. Fauque, A. S. Pereira, P. Tavares, J. J. Calvete, I. Moura, J. J. G. Moura, *J. Inorg. Biochem.* **2009**, 103, 1314-1322. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2009.04.014.

>

José J. G. Moura

LAQV - REQUIMTE.

NOVA School of Science and Technology.

Professor Catedrático aposentado de

Química da FCT NOVA. No passado,

Investigador na U. Minnesota (EUA) e

Professor Adjunto na U. Geórgia, Athens

(EUA). Interesses científicos: Química

Bioinorgânica/Metais em Biologia.

Ex-Presidente do Departamento de

Química e ex-Presidente do Conselho

Científico da FCT, Delegado ao COST e

INTAS, membro de Painéis Científicos

(FCG, FCT-MCTES, NSF (EUA)) e de vários

conselhos editoriais. Presidente da Society

of Biological Inorganic Chemistry (2010).

Membro da Academia das Ciências e da

Academia Europeia de Ciências. Diretor

da Biblioteca FCT, promovendo interfaces

Cultura/Arte/Científica e coordenador do

FCT-FabLab. Prémio Ferreira da Silva da

Sociedade Portuguesa de Química (2022).

jose.moura@fct.unl.pt

ORCID.org/0000-0002-4726-2388

Da Química Bioinorgânica para a Química Prebiótica: Levar Mais Longe o Legado do Prof. Fraústo da Silva

>
Ana Franco
Gustavo P. Maia
J. A. L. da Silva*

From Bioinorganic Chemistry to Prebiotic Chemistry: Taking the Legacy of Prof. Fraústo da Silva. *Professor Fraústo da Silva played a decisive role in the introduction in Portugal, as well as in the development worldwide, of Bioinorganic Chemistry. This text identifies some of his contributions in this field, as well as developments by other authors on topics related to Bioinorganic Chemistry (with emphasis on the iron-sulphur and boron systems), which can support new approaches in Prebiotic Chemistry.*

O Professor Fraústo da Silva teve um papel determinante na introdução em Portugal, assim como no desenvolvimento a nível mundial, da Química Bioinorgânica. Neste texto identificam-se alguns dos seus contributos neste domínio, assim como desenvolvimentos por outros autores em temas relacionados com a Química Bioinorgânica (dar-se-á destaque aos sistemas de ferro-enzofre e boro), que podem dar suporte a novas abordagens em Química Prebiótica.

Introdução

A Química Bioinorgânica é um domínio da Química que aborda as interações dos elementos químicos no metabolismo dos organismos vivos. Com base nisso tem sido possível a sua aplicação noutras áreas científicas, por exemplo, ao nível da saúde (compostos químicos de matriz inorgânica são usados em diagnóstico e terapia), nas ciências agrárias (permitindo o aumento da produtividade das culturas), e dos materiais (no desenvolvimento de novos produtos com base em algumas especificidades conhecidas em biomineralização). Adicionalmente, é ainda de salientar a sua importância ao usar modelos químicos para validar características de algumas biomoléculas. Assim, pode concluir-se que a Química Bioinorgânica tem um significativo carácter interdisciplinar.

É bem conhecida a relevância do Professor Fraústo da Silva na introdução e na grande expansão da Química Bioinorgânica em Portugal, a qual é indiscutivelmente uma das áreas da Química em que o nosso país tem tido um dos maiores reconhecimentos em termos internacionais. É ainda de salientar a grande importância das suas publicações, por exemplo o seu primeiro livro publicado pela *Oxford University Press* [1] que tem sido utilizado como bibliografia de referência para cursos em diversas localizações geográficas e em formações académicas distintas. Este livro foi considerado como a bíblia da Química Bioinorgânica [2], sendo, portanto, fácil compreender-se a sua influência noutras áreas

científicas, incluindo a Química Prebiótica. Com base neste pressuposto, iremos verificar que, com conhecimentos em Química Bioinorgânica, é possível analisar a importância de alguns elementos químicos na evolução prebiológica.

O Professor Fraústo, em muitos dos seus trabalhos, discutiu vários tópicos relacionados com as razões da participação de alguns elementos químicos (e não de outros) no metabolismo, assim como a sua ocorrência em grupos taxonómicos específicos de organismos vivos. Estes fatores teriam sido condicionados pelo ambiente anterior ao surgimento dos primeiros seres vivos; consequentemente, as propriedades químicas e a abundância dos elementos químicos teriam sido determinantes para a incorporação de uns e não de outros no metabolismo dos sistemas vivos [1,3].

É aceite que a questão da origem da vida seja um assunto desde muito cedo abordado pela humanidade, embora as conclusões baseadas em critérios científicos apenas tenham começado a surgir no século XX. Desde aí, várias moléculas sugeridas como primordiais na evolução prebiológica têm sido obtidas em diversas experiências laboratoriais [4], embora algumas por vias pouco prováveis em ambientes admitidos como prebióticos, como seja pelo uso de elevadas concentrações de reagentes de modo a obter-se quantidades significativas dos produtos pretendidos, ou mesmo o uso de alguns reagentes e/ou solventes improváveis nos primórdios da Terra. Um outro

aspecto é que nesses processos não se tem dado grande importância ao papel dos íons inorgânicos. Este assunto só mais recentemente tem sido abordado e progressivamente tem vindo a ficar mais bem fundamentado. Tendo em conta estes pressupostos, neste artigo apresentar-se-ão exemplos de alguns elementos químicos participantes no metabolismo dos organismos vivos e que têm sido propostos na síntese, estabilização e evolução das estruturas prebiológicas. Nesta linha de pensamento, serão apresentados os casos dos agregados de ferro e enxofre, os quais, nos organismos vivos, podem estar associados a outros metais de transição e ésteres resultantes da reação de condensação entre borato inorgânico (ou ácido bórico) com dióis vicinais.

Exemplos de estruturas biológicas que podem ser associadas com a evolução prebiológica

Os minerais devem ter tido uma importância significativa na evolução, podendo ter promovido reações (por exemplo, nas suas superfícies) assim como terem sido a fonte dos elementos químicos incorporados nas estruturas primordiais. O contributo dos elementos químicos teria estado relacionado com a sua abundância, ou/e as suas especificidades químicas. A sua participação adviria da viabilidade da sua incorporação em estruturas (por exemplo, originando complexos). Estes processos teriam permitido posteriormente a formação de estruturas mais elaboradas [5].

A informação atual acerca dos minerais na Terra primitiva é limitada, contudo são presentemente conhecidos mais de 5000 minerais [6]. Embora muitos sejam improváveis em ambiente prebiótico, devido, por exemplo, ao estado de oxidação de alguns dos seus íons, outros, como é o caso dos sulfuretos, seriam expectáveis na Terra primitiva, devido ao carácter redutor do ambiente prebiótico.

De seguida, analisar-se-ão exemplos relacionados com os agregados de ferro-enxofre (Figura 1) os quais poderiam conter níquel ou cobalto, e ter participado na evolução prebiológica.



Figura 1 - Exemplos de agregados contendo ferro e enxofre.

Ferro (níquel e cobalto)

A importância das proteínas contendo agregados de ferro-enxofre nos sistemas vivos sugere a participação destes elementos químicos nas estruturas envolvidas na emergência da vida. O ferro teria sido relevante por ser um dos poucos metais de transição disponíveis nos primórdios da evolução prebiológica, uma vez que forma sulfuretos significativamente solúveis (o que não acontece

com a maioria dos outros metais [1], num ambiente redutor como na Terra primitiva. Além disso, o ferro é o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre, sendo o enxofre o décimo sétimo. Atualmente o número conhecido de minerais de ferro-enxofre é superior a três centenas [6], embora a maioria contenha outros elementos químicos, incluindo alguns em que não há evidência da sua participação no metabolismo de seres vivos. Todavia, um dos sulfuretos de ferro mais simples, troilite (FeS), nativo na Terra e comum nos meteoritos, serve de base ao modelo para origem da vida proposto por Wächtershäuser [7] designado por hipótese do mundo do ferro-enxofre (em inglês, *iron-sulphur world hypothesis*). Nesta hipótese, na presença de ácido sulfídrico, teriam sido gerados pirite (FeS₂) e hidrogénio molecular que, em ambientes com óxidos de carbono e outras moléculas pequenas, como amoníaco e metano, teriam levado à formação de moléculas orgânicas relevantes para a evolução prebiótica (Figura 2).

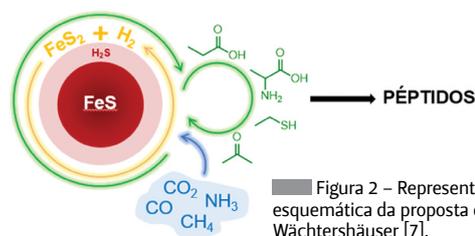
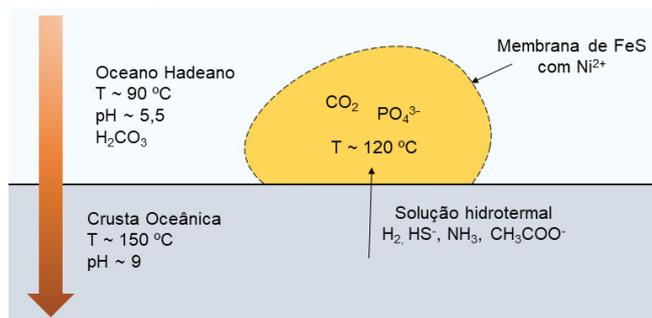


Figura 2 - Representação esquemática da proposta de Wächtershäuser [7].

Além deste autor, de forma independente, Russell e outros [8], e posteriormente elaborada por este autor e Hall [9] propuseram a chamada hipótese das membranas de ferro-enxofre (do inglês, *iron-sulfur membrane hypothesis*), na qual os modelos para a formação de estruturas prebiológicas seriam membranas de carácter inorgânico, baseadas em minerais de ferro e enxofre. Estas membranas permitiriam ambientes (exterior e interior) diferentes, nos quais teriam sido gerados gradientes que favoreceriam seletividade no tocante à composição no espaço interior das membranas e, por esta via, seriam viáveis reações específicas nessa localização, permitindo a formação de estruturas progressivamente mais complexas (Figura 3).

Figura 3 - Representação esquemática da hipótese proposta por Russell e Hall [9]. Membranas semipermeáveis de FeS ter-se-iam formado em fontes hidrotermais oceânicas devido a gradientes de pH e

temperatura. A presença de dióxido de carbono, fosfato e solução hidrotermal teria levado à ocorrência de reações (catalisadas por Ni²⁺), conduzindo à formação de moléculas orgânicas mais complexas no interior destas estruturas.



Os sistemas de ferro-enxofre poderiam ter ocorrido em ambientes prebiológicos, como em fumarolas [8] e a sua participação na formação de moléculas orgânicas teria mimetizado o designado ciclo redutivo do ácido cítrico [7] (o qual ocorre em algumas bactérias, o que sugere a sua origem num período mais antigo na escala da evolução), o que pode ser considerado como um contributo para o preprotometabolismo.

Suportando estas hipóteses, já foram publicadas várias dezenas de artigos que abriram novas possibilidades para aqueles modelos [10]. Entre estes, menciona-se um baseado em simulações que sugere a viabilidade da síntese de amoníaco a partir de nitrito e nitrato mediada pela superfície do mineral pirite [11] (Figura 4) uma condição importante para a síntese de aminoácidos e péptidos como é proposto na hipótese do mundo do ferro-enxofre. É ainda de referir que em ambiente redutor, como seria a Terra primitiva, o ferro ocorreria no estado de oxidação dois em agregados com enxofre, o que não corresponde aos estados de oxidação de todos os iões do metal nas proteínas de ferro-enxofre. Todavia, foi demonstrado que na presença de radiação ultravioleta, algo plausível nos primórdios da Terra, pode ocorrer a oxidação de alguns átomos de ferro, permitindo a formação de agregados com características relacionáveis com os centros ativos dessas proteínas [12]. Estes sistemas associados a pequenos péptidos poderiam aumentar a estabilidade destas estruturas e favorecer processos de transferência eletrónica [13]; estas reações redox são relevantes no metabolismo dos organismos vivos e a sua ocorrência em ambientes prebióticos poderia ter favorecido a evolução prebiológica.

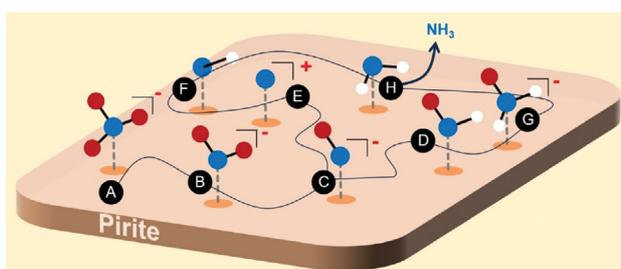


Figura 4 - Formação de NH_3 catalisada pela superfície da pirite; átomos de nitrogénio, oxigénio e hidrogénio representados pelas esferas azuis, vermelhas e brancas, respetivamente. A - NO_3^- ; B - NO_2^- ; C - Fe-NO^- ; D - $\text{Fe}\equiv\text{N}^-$; E - Fe-NH-O ; F - $\text{Fe}=\text{NH}_2$; G - Fe-NH_2^- ; H - Fe-NH_2 .

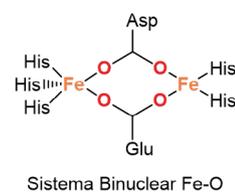
Saliente-se que os agregados de ferro-enxofre apresentam estruturas relacionáveis com os centros ativos das proteínas de ferro-enxofre, as quais, além de estarem associadas a processos de transferência eletrónica, ocorrem em enzimas e podem participar na regulação genética; estas proteínas apresentam estruturas variadas e atuam geralmente em meios com características redutoras [14]. Um dos exemplos desses agregados é o designado por $[\text{4Fe-4S}]$ (Figura 1), o qual possui semelhanças estruturais com o mineral

greigite (Fe_3S_4) [15]; refira-se que este mineral foi sugerido por Russell e Hall [9] como componente das membranas prebióticas.

O possível contributo dos agregados de ferro-enxofre na evolução prebiológica certamente necessitará de muito mais investigação. Colocamos esta possibilidade tendo em conta o percurso pouco linear do estudo das proteínas de ferro-enxofre. A história da descoberta destes agregados nos sistemas biológicos levou alguns cientistas a contestarem a presença de ferro nas proteínas investigadas; só após o estudo de modelos químicos contendo agregados equivalentes se provou terem essas proteínas o metal referido [1]. A propósito de interpretações pouco rigorosas baseadas neste tipo de agregados, pode ainda referir-se uma enzima, a nitrogenase com molibdénio; os estudos preliminares, antes de se conhecer a sua estrutura, suportados em modelos químicos, não foram capazes de prever a localização do átomo de molibdénio no centro ativo da enzima [14]. Isto significa que a variedade e a ambiguidade na interpretação de alguns dos resultados obtidos no passado acerca dos centros de ferro-enxofre sugerem que a sua possível participação na evolução prebiológica requererá estudos criteriosos.

Para um melhor enquadramento do ferro na evolução prebiótica e, posteriormente, na evolução biológica, é de referir que este metal ocorre atualmente nos organismos vivos em diversos ambientes estruturais, tais como em sistemas hémicos, coordenado a átomos de enxofre (inorgânico ou orgânico, neste caso a resíduos de aminoácidos), agregados envolvendo átomos de oxigénio, etc. (Figura 5). Isto poderá estar relacionado com a oxigenação da atmosfera terrestre da qual resultou que a disponibilidade do ferro diminuiu consideravelmente. Este elemento químico continuou a desempenhar vários papéis relevantes nos organismos vivos, dada a sua multiplicidade de possibilidades químicas, por exemplo os seus estados de oxidação e de poder formar compostos tanto de alto spin, como de baixo spin.

Figura 5 - Exemplos de estruturas biológicas contendo ferro.



Adicionalmente, Wächtershäuser sugeriu na sua hipótese a possibilidade do níquel e do cobalto [16] terem também participado em reações prebiológicas. Por outro lado, Russell e outros [17] propuseram a participação dos minerais (sulfuretos de ferro e níquel) mackinawite (de composição variável nos dois metais)

e violarite (FeNi_2S_4) na evolução prebiótica. Curiosamente, tanto o níquel como o cobalto têm sobretudo funções metabólicas em organismos vivos considerados mais primitivos na escala da evolução [18]. Além disso, algumas das suas metalobiomoléculas podem interagir com componentes da atmosfera primordial terrestre, como pode acontecer com a hidrogenase de níquel (faz parte de um agregado contendo também ferro e enxofre) em que o centro ativo pode ocorrer associado ao cianeto ou ao monóxido de carbono, (Figura 6); assim como alguns dos substratos de outras enzimas de níquel, e algumas de cobalto, foram constituintes (ou moléculas relacionáveis) da atmosfera primitiva da Terra, como foi o caso do metano, tal como o ácido cianídrico ou o monóxido de carbono associados à hidrogenase de níquel [1,3]. É, portanto, admissível a participação do níquel e do cobalto na evolução prebiótica.

De seguida, dar-se-á ênfase ao boro. Em todos os casos conhecidos em termos da Química Bioinorgânica, como na Química Prebiótica, o boro ocorre apenas em ésteres e num número limitado de organismos vivos, diferentemente do que acontece com o ferro.

Boro

Este elemento químico tem funções metabólicas em bactérias e plantas, tão distintas como a sinalização, a produção de antibióticos ou estruturais (necessários, por exemplo no crescimento das plantas) e em todos os casos forma ésteres com átomos de oxigénio ligados a carbono vicinais (Figura 7).

O mesmo tipo de ligação química foi detetado num fóssil de uma espécie de alga já extinta [20].

Figura 6 - Centro ativo da hidrogenase de níquel. X pode ser oxigénio, enxofre, hidroperóxido ou hidroxilo [19].

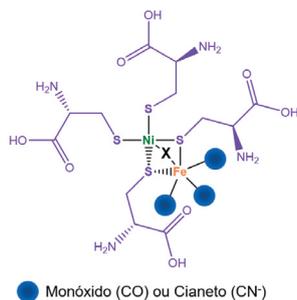


Figura 7 - Exemplos de ésteres formados de boro.

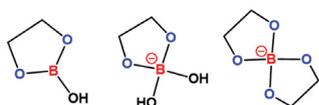
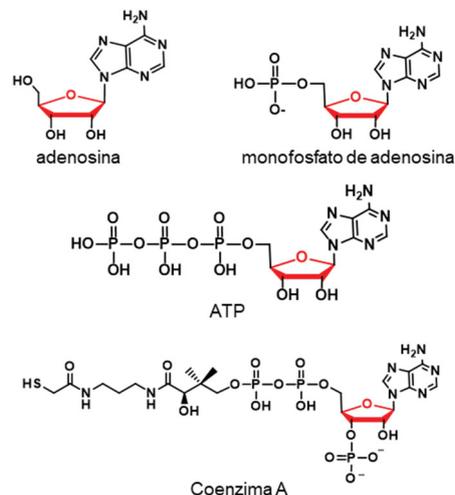
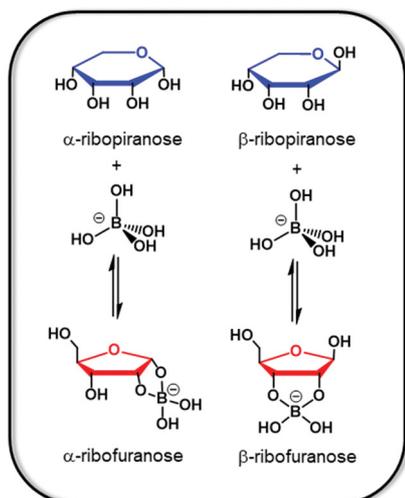


Figura 8 - A formação de ésteres entre ribose e borato levam à indução da forma furanose (à esquerda). Esta forma ocorre em nucleósidos, nucleótidos e certas coenzimas (à direita).



No âmbito da Química Prebiótica foi observado que a ribose forma este tipo de compostos com o borato, sendo curioso que aumenta a estabilidade desta pentose e induz nela a forma furanose, a mesma que ocorre nos organismos vivos nos derivados formais desta ose, como nucleósidos ou algumas coenzimas, como apresentado na Figura 8 (na presença de outros iões ou na ausência de borato em solução aquosa, a forma piranose é maioritária).

Adicionalmente, o borato favorece nos nucleósidos a fosforilação na posição 5', assim como a síntese da ribose e de moléculas que têm analogias com os nucleósidos [21] (Figura 9). Estes processos levam da síntese da ribose até à formação dos ribonucleótidos, o que está na base da hipótese do mundo do ácido ribonucleico (ARN) (em inglês, *RNA world hypothesis*) [22], que sustenta o carácter primordial deste ácido nucleico sobre as proteínas, pelo menos, no período inicial da evolução prebiológica. Esta hipótese surgiu após a descoberta das ribozimas (catalisadores biológicos presentes nos organismos vivos e que poderiam ter surgido antes das enzimas) e é, atualmente, a mais consensual entre a comunidade científica que estuda a origem da vida [23].

Outras hipóteses têm sido propostas acerca da função do boro na evolução prebiótica. Recentemente foi sugerida a sua participação numa das grandes questões ainda não resolvidas na Química Prebiótica, a origem do enriquecimento enantiomérico do qual teria resultado o fenómeno detetado nas oses e nos aminoácidos e seus derivados nos seres vivos [24]. Esta seleção poderia ter ocorrido em hidrogeles contendo ésteres de boratos (estas estruturas foram sugeridas como podendo ter estado na génese de protocélulas, por ter sido observada a formação de glóbulos após a fosforilação destes hidrogeles) [25]. A hipótese para que estas estruturas possam ter participado no enriquecimento enantiomérico primitivo resulta de neles ter sido verificada uma reatividade diferente dos

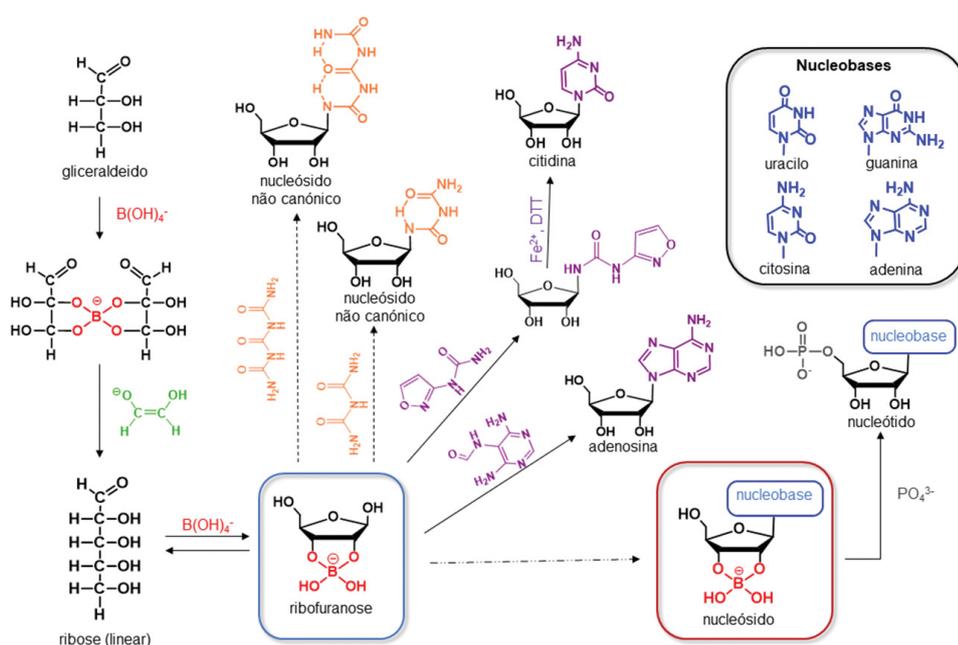


Figura 9 – Representação esquemática do papel do íon borato na síntese de ribose e derivados. O borato favorece a formação de ribose a partir de gliceraldeído, assim como a síntese de nucleósidos não canônicos e canônicos. Favorece ainda a fosforilação de nucleósidos na posição 5', levando à formação de nucleótidos.

hidrogeles com borato de L-guanosina e D-guanosina [26].

A hipótese do boro ter participado na evolução prebiológica foi sugerida há menos de 25 anos. A primeira referência do nosso conhecimento foi num congresso [27] e já no início do século XXI surge o primeiro artigo por outro autor [28]; a partir daí têm sido sugeridos diversos passos da evolução prebiótica em que o boro forma ésteres envolvendo átomos de carbono vicinais [21]. É ainda de referir que alguns minerais de boro têm sido usados nas reações acima mencionadas [21], embora não haja ainda evidência de terem ocorrido na Terra primitiva; porém, foi recentemente publicado um artigo referindo possíveis minerais de boro formados na Terra primitiva [24].

Considerações finais

É de referir que alguns dos trabalhos mencionados no domínio da Química Prebiótica citam livros do Professor Fraústo. O Professor Fraústo analisou nos seus livros as razões para a preferência de uns elementos químicos em detrimento de outros pelos seres vivos, relacionando isto com as características do meio ambiente, com a abundância e as características químicas dos vários elementos. A Terra primitiva, com o seu carácter redutor, condicionou essa escolha primordial (outros elementos químicos foram possíveis de utilizar posteriormente pela oxidação da atmosfera terrestre tornando a sua incorporação possível e, concomitantemente, pela sua adaptação a atividades metabólicas). Todavia, o trabalho do Professor Fraústo foi mais longe e em 2008 publicou um artigo no domínio da Química Prebiótica acerca da importância do borato para aumentar os intervalos de estabilidade em termos de temperatura e valores de pH da ribose [29], formando ésteres (Figura 7) em que a

pentose ocorre como furanose, a forma existente em várias moléculas fundamentais em todos os seres vivos contendo formalmente derivados da ribose (Figura 8). É de salientar que nessa data o presidente da Sociedade Internacional para a Origem da Vida, Antonio Lazcano, achou esse trabalho relevante e comentou-o com o seguinte texto: «*is positive about the group's findings. The results expand our understanding of the role of inorganic ions in stabilising compounds such as ribose under primitive environments where their accumulation and further processing could have taken place*» [30].

Nos exemplos referidos neste artigo procurou-se sugerir que contributos, a partir de informação analisada previamente pela Química Bioinorgânica, permitiram(ão) sustentar novas hipóteses em Química Prebiótica. Um exemplo possível pode ser usado para explicar a fosforilação primordial, que é também uma das mais relevantes reações no metabolismo dos seres vivos. A baixa disponibilidade do fosfato nos minerais abundantes na Terra (as apatites) poderia ter sido uma limitação na Terra primitiva, mas que poderia ser superada pela formação de complexos das moléculas prebiológicas com os cátions metálicos dos minerais de fosfato [31] e, assim, a disponibilidade deste anião poderia ter aumentado significativamente (as reações secundárias aumentam a solubilidade das espécies químicas). Isso pode ser lido nos livros do Professor Fraústo, por exemplo na referência [1], e certamente a sua leitura cuidada poderá inspirar muitas outras hipóteses ao nível da evolução prebiológica.

Perante estas considerações, pode sugerir-se que a Química Bioinorgânica tem pressupostos que podem ser aplicados em Química Prebiótica. É de referir que na literatura já é possível encontrar o termo *Prebio-*

tic *Inorganic Chemistry* [32] associado à evolução prebiológica. Uma boa alternativa a esta designação, tendo em conta o carácter interdisciplinar da Química Bioinorgânica, as reflexões e contributos do Professor Fraústo acerca da evolução dos sistemas biológicos, assim como a importância cada vez mais relevante dos iões inorgânicos para a evolução prebiológica, poderia

ser Química Prebioinorgânica para o estudo da participação dos iões inorgânicos em Química Prebiótica.

Agradecimentos

Este trabalho foi possível graças ao apoio financeiro da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Projeto UIDB/00100/2020). A. F. agradece ao Centro de Química Estrutural e à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Projeto UI/BD/152238/2021).

Referências

- [1] J. J. R. Fraústo da Silva, R. J. P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements: The Inorganic Chemistry of Life*, Oxford University Press, **2001**, pp 341-342.
- [2] J. J. R. Fraústo da Silva, R. J. P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements: The Inorganic Chemistry of Life*, Oxford University Press, **2001**, contracapa (crítica da *Times Higher Education Supplement* 3).
- [3] R. J. P. Williams, J. J. R. Fraústo da Silva, *The Natural Selection of the Chemical Elements: The Environment and Life's Chemistry*, Oxford University Press, **1996**; R. J. P. Williams, J. J. R. Fraústo da Silva, *Bringing Chemistry to Life: From Matter to Man*, Oxford University Press, **1999**; R. J. P. Williams, J. J. R. Fraústo da Silva, *The Chemistry of Evolution: The Development of our Ecosystem*, Elsevier, **2005**.
- [4] L. E. Orgel, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2004**, *39*, 99-123. DOI: 10.1080/10409230490460765.
- [5] M. Schoonen, A. Smirnov, C. Cohn, *Ambio*. **2004**, *33*, 539-551. DOI: 10.1579/0044-7447-33.8.539.
- [6] Athena, *Athena Mineral Databases*: athena.unige.ch/athena/mineral/mineral.html (acedido em 29/09/2023).
- [7] G. Wächtershäuser, *Microbiol. Rev.* **1988**, *52*, 452-484. DOI: 10.1128/MMBR.52.4.452-484.1988.
- [8] M. J. Russell, A. J. Hall, A. G. Cairns-Smith, P. S. Braterman, *Nature* **1998**, *336*, 117. DOI: 10.1038/336117a0.
- [9] M. J. Russell, A. J. Hall, *J. Geol. Soc.* **1997**, *154*, 377-402. DOI: 10.1144/gsjgs.154.3.0377.
- [10] Clarivate, *Web of Science*: webofscience.com/wos/woscc/basic-search (acedido em 29/09/2023, tópicos de procura "Iron-Sulfur" e "Prebiotic").
- [11] A. Stirling, T. Rozgonyi, M. Krack, M. Bernasconi, *Inorg. Chem.* **2016**, *55*, 1934-1939. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.5b02911.
- [12] C. Bonfio, L. Valer, S. Scintilla, S. Shah, D. J. Evans, L. Jin, J. W. Szostak, D. D. Sasselov, J. D. Sutherland, S. S. Mansy, *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 1229-1234. DOI: 10.1038/nchem.2817.
- [13] J. D. Kim, D. H. Pike, A. M. Tyryshkin, G. V. T. Swapna, H. Raanan, G. T. Montelione, V. Nanda, P. G. Falkowski, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 11210-11213. DOI: 10.1021/jacs.8b07553.
- [14] J. J. R. Fraústo da Silva, J. A. L. da Silva, *Os Elementos Químicos e a Vida*, IST Press, **2011**, pp 104-106.
- [15] C. Bonfio, S. S. Mansy, *Biochem.* **2017**, *56*, 5225-5226. DOI: 10.1021/acs.biochem.7b00842.
- [16] G. Wächtershäuser, *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* **2006**, *361*, 1787-1806. DOI: 10.1098/rstb.2006.1904.
- [17] W. Nitschke, S. E. McGlynn, E. J. Milner-White, M. J. Russell, *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **2013**, *1827*, 871-881. DOI: 10.1016/j.bbabi.2013.02.008.
- [18] K. Yoshiya, T. Sato, S. Omori, S. Maruyama, *Orig. Life Evol. Biosph.* **2018**, *48*, 373-393. DOI: 10.1007/s11084-019-09571-y.
- [19] Wikipedia, *NiFe hydrogenase*: en.wikipedia.org/wiki/NiFe_hydrogenase (acedido em 26/09/2023).
- [20] K. Wolkenstein, J. H. Gross, H. Falk, *PNAS* **2010**, *107*, 19374-19378. DOI: 10.1073/pnas.1007973107.
- [21] A. Franco, J. A. L. da Silva, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2021**, *60*, 10458-10468. DOI: 10.1002/anie.202010616.
- [22] W. Gilbert, *Nature* **1986**, *319*, 618. DOI: 10.1038/319618a0.
- [23] H. S. Bernhardt, *Biol. Direct.* **2012**, *7*, 23. DOI: 10.1186/1745-6150-7-23.
- [24] A. Franco, M. O. Neves, J. A. L. da Silva, *Astrobiology* **2023**, *23*, 605-615. DOI: 10.1089/ast.2022.0077. Este artigo foi dedicado à memória do Prof. Fraústo da Silva.
- [25] A. Franco, J. R. Ascenso, L. Ilharco, J. A. L. da Silva, *New J. Chem.* **2020**, *44*, 2206-2209. DOI: 10.1039/C9NJ05601G.
- [26] Y. Du, T. Liu, F. Tang, X. Jin, H. Zhao, J. Liu, X. Zeng, Q. Chena, *Chem. Commun.* **2021**, *57*, 12936-12939. DOI: 10.1039/C9CC09911E.
- [27] V. M. Cimpoiasu, G. Steinbrecher, R. Scorei, I. Petrisor, I. Brad, I. Olteanu, *Proceedings of ISSOLQ99: Book of Program & Abstracts*, San Diego California, **1999**, p 68; R. Scorei, G. Steinbrecher, V. M. Cimpoiasu, I. Petrisor, V. Scorei, M. Mirut, *Proceedings of ISSOLQ99: Book of Program & Abstracts*, San Diego California, **1999**, p 33.
- [28] B. E. Prieur, *C. R. Acad. Sci., Ser. II: Chim.* **2001**, *4*, 667-670. DOI: 10.1016/S1387-1609(01)01266-X.
- [29] A. F. Amaral, M. M. Marques, J. A. L. da Silva, J. J. R. Fraústo da Silva, *New J. Chem.* **2008**, *32*, 2043-2049. DOI: 10.1039/B809636H.
- [30] D. Barden, *Chemical Biology* **2008**, *33*, B68. pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2008/cc/b813107b (acedido em 19/10/2023)
- [31] A. Franco, J. R. Ascenso, J. A. L. da Silva (em preparação).
- [32] L. Zhang, *Issues in Toxicology No. 37, Formaldehyde: Exposure, Toxicity and Health Effects*, Royal Society of Chemistry, **2018**, p 1.

>

Ana Franco

Centro de Química Estrutural - Institute of Molecular Sciences.

Departamento de Engenharia Química. Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa.

Licenciada em Química pela FCUL. É estudante de doutoramento de Química no IST, sob a orientação dos Professores José Armando da Silva e José do Rosário Ascenso. O seu trabalho de investigação centra-se na síntese de polirribonucleótidos (e seus precursores) em estruturas supramoleculares auto-organizadas de borato-guanosina e no efeito catalítico de metais na síntese de ribonucleósidos, sob condições prebiológicas. Já publicou cinco artigos, os

quais têm mais de 200 citações.

anacfbanha@tecnico.ulisboa.pt

ORCID.org/0000-0003-3285-6551

>

Gustavo P. Maia

Centro de Química Estrutural - Institute of Molecular Sciences.

Departamento de Engenharia Química. Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa.

Licenciado em Química Industrial pela Universidade da Beira Interior, em 2020. É mestre em Química pelo IST desde 2022, onde estudou reações de degradação no âmbito da química prebiótica. É estudante de doutoramento

no IST, e está a desenvolver modelos utilizando a mecanoquímica para compreender a astrobiologia de amostras extraterrestres, em colaboração com o laboratório analítico de astrobiologia da NASA *Goddard Space Flight Center*, nos EUA, e com o *Institut de minéralogie, de physique des matériaux et de cosmochimie*, em França.

gustavo.pinho.maia@tecnico.ulisboa.pt

ORCID.org/0000-0001-5314-8816

>

*J. A. L. da Silva

Centro de Química Estrutural - Institute of Molecular Sciences. Departamento de Engenharia Química.

Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa.

Docente do IST. É licenciado em Engenharia Química (IST). Fez o doutoramento em Química sob a orientação dos Professores Fraústo da Silva e Luís Vilas Boas. Fez a agregação em Química no IST. Publicou com o Professor Fraústo da Silva cerca de 50 trabalhos (artigos, patentes e livros). Tem desenvolvido a sua investigação na área da Química Bioinorgânica, aplicando-a em domínios como a Catálise, Ciências do Ambiente, Química Alimentar e Química Prebiótica. pcd1950@tecnico.ulisboa.pt ORCID.org/0000-0001-9708-1043

Ferro, o Maestro da Vida!

>

Tânia Moniz
André M. N. Silva
Baltazar de Castro
Maria Rangel*

Iron is Master of Them All! Carbon is the essential macroelement, but life also depends on other elements, including transition metals. Iron plays a pivotal role in processes such as DNA synthesis, cellular respiration, and photosynthesis. Its importance arises from its natural abundance and ability to switch between oxidation and spin states, with finely tunable redox potentials achieved by the right choice of ligands. However, life's evolution faced significant challenges due to iron's low bioavailability. To solve this problem, diversified acquisition strategies emerged, such as siderophore production by bacteria, fungi, and plants. Our group explores the potential of chelating units, namely 3-hydroxy-4-pyridinones (3,4-HPOs), to fight infectious diseases and plant iron deficiency chlorosis. Results demonstrate the efficacy and versatility of 3,4-HPOs in effectively controlling iron homeostasis in various organisms.

O carbono é o macroelemento fundamental da vida, mas esta não é possível sem a presença de outros elementos essenciais onde se incluem os metais de transição. O ferro desempenha um papel crucial em processos como a síntese do DNA, a respiração celular e a fotossíntese. A sua importância resulta da abundância natural e da capacidade de alternar entre estados de oxidação e de spin total, com potenciais redox que podem ser finamente ajustados com a escolha correta de ligandos. Contudo, a evolução da vida trouxe desafios significativos relacionados com a biodisponibilidade deste elemento, levando a uma diversificação de estratégias para a sua aquisição, como a produção de sideróforos por bactérias, fungos e plantas. O nosso grupo investiga o potencial de unidades quelantes, do tipo 3-hidroxi-4-piridinona (3,4-HPO), no combate a doenças infecciosas, e na clorose férrica em plantas. Os resultados obtidos evidenciam o potencial e a versatilidade das 3,4-HPO no controlo eficaz da homeostasia do ferro nos diversos organismos.

1. Ferro, um elemento essencial para a vida

A vida pode ser descrita como um sistema químico complexo capaz de se autossustentar e evoluir, e quando pensamos na vida, pensamos na química do carbono. Contudo, e apesar de toda a sua versatilidade, o carbono não consegue proporcionar todas as reações químicas necessárias para a complexidade e diversidade que observamos. Para isso, os organismos recorrem aos metais de transição para controlar os processos reacionais do ciclo do carbono e outros macroelementos. De entre os metais de transição, "iron is master of them all" [1].

Este papel preponderante do ferro resulta da sua abundância natural e da versatilidade da sua química. Somos afortunados por viver num sistema solar tão rico em elementos pesados e metais de transição, especialmente o ferro, o elemento com maior número de massa criado durante a nucleossíntese estelar. O ferro é o elemento mais abundante na composição da Terra e o quinto mais abundante na crosta do nosso planeta [2].

Desta forma, a vida, tal como a conhecemos, evoluiu dependente do ferro. Este elemento tornou-se um micronutriente essencial, e quase todas as formas de vida no planeta dependem dele para sobreviver, crescer e reproduzirem-se. Na verdade, conhecemos apenas dois exemplos de organismos que não dependem do ferro: o patógeno da doença de Lyme, *Borrelia burgdorferi* [3] e algumas espécies de *Lactobacillus* [4,5]. Para todos os outros organismos vivos, o ferro é essencial para uma ampla gama de processos biológicos, incluindo a síntese e replicação do DNA, o transporte de oxigénio, a respiração celular e a fotossíntese. Esta diversidade decorre da química única do ferro, encontrado no meio da primeira série dos elementos de transição, e que tem a plasticidade necessária para corresponder à diversidade da vida.

2. A química biológica do ferro

O ferro tem a possibilidade de apresentar vários

estados de oxidação (de -2 a +6). Contudo, em condições biológicas, os estados de oxidação mais comuns são o Fe^{2+} e o Fe^{3+} . O Fe^{2+} predomina no meio intracelular, que preserva o ambiente redutor da atmosfera primordial, enquanto o Fe^{3+} predomina nos compartimentos extracelulares. Ambos os estados de oxidação são considerados como ácidos de Lewis, e esta característica faz com que, em solução aquosa, ambos os iões de ferro favoreçam a hidrólise da água e a formação de óxidos de ferro. Contudo, para o Fe^{2+} as reações de hidrólise apenas se tornam predominantes a valores de pH superiores a 8,5, enquanto o Fe^{3+} hidrolisa a valores de pH acima de 2,5, sendo praticamente insolúvel a pH neutro ($[\text{Fe}^{3+}] = 10^{-18} \text{ mol dm}^{-3}$). Assim, concentrações significativas de Fe^{3+} em água só podem ser obtidas através da formação de complexos de ferro estáveis e solúveis em ambiente aquoso [6].

Com um raio relativamente pequeno e uma elevada densidade de carga, o Fe^{3+} é considerado um ácido forte, com carácter duro (segundo o conceito HSAB – *Hard and Soft Acids and Bases* – de Pearson), e favorece a coordenação a átomos dadores de oxigénio (O), enquanto o Fe^{2+} apresenta um carácter intermédio entre o duro e o macio, favorecendo a coordenação a átomos de nitrogénio (N) ou de enxofre (S). A geometria mais comum para os complexos de ferro é a octaédrica (número de coordenação 6), embora também se encontrem complexos tetraédricos e piramidais (números de coordenação 4 e 5, respetivamente) [6]. Para complexos octaédricos, podem ser observados dois estados de spin diferentes, complexos de spin baixo, com ligandos de campo forte, e complexos de spin alto, com ligandos de campo fraco. Adicionalmente, alterações no estado de spin têm uma consequência dramática quer no tamanho do ião, quer no potencial de oxidação-redução do ferro, refletindo-se em profundos efeitos estruturais e de reatividade. Esta diversidade na química de coordenação do ferro cria uma vasta gama de potenciais de oxidação-redução, que abrange todo o intervalo biológico (de -0,5 V a +0,6 V), sendo controlada por uma escolha correta de ligandos e finamente ajustada com as pequenas distorções estruturais induzidas pelas enzimas às quais o ferro está associado [6].

3. Biodisponibilidade e competição

Inicialmente, a vida terá surgido e evoluído quando a atmosfera da Terra tinha um carácter redutor, o que terá tornado o ferro bastante biodisponível para todos os organismos. Contudo, há cerca de 2,4 milhões de anos, o advento da fotossíntese promoveu a rápida acumulação de oxigénio molecular na atmosfera e oceanos da Terra, provocando a oxidação, a hidrólise

e a mineralização do ferro, levando a uma diminuição dramática da sua biodisponibilidade [7]. Além disso, na presença de oxigénio, a atividade redox do ferro tornou-se um potencial perigo, capaz de promover a geração de espécies reativas de oxigénio (ROS) e de subseqüentes danos oxidativos nas biomoléculas.

O advento de um metabolito tóxico, como o oxigénio, combinado com a diminuição da biodisponibilidade de um nutriente essencial, como o ferro, provocou um dos primeiros eventos de extinção em massa no planeta. Estas condições ter-se-ão mantido durante mais de mil milhões de anos, mas eventualmente os sobreviventes adaptaram-se. O aumento da concentração de oxigénio forneceu uma oportunidade, e o aparecimento dos organismos eucariotas e da respiração aeróbica permitiu uma utilização mais eficiente da energia e uma nova expansão da biodiversidade. Há cerca de 500 milhões de anos, durante o evento de oxigenação do Neoproterozoico, as condições adversas foram exacerbadas [7]. No entanto, ao contrário de uma nova extinção em massa, este evento promoveu a diversificação das formas de vida eucariota e a expansão da vida multicelular.

Durante estas transições geológicas, o ferro permaneceu essencial para a vida e os organismos foram obrigados a comprometer uma grande quantidade de energia e uma porção significativa do seu genoma para desenvolver estratégias para obtenção deste micronutriente a partir do seu ecossistema. Na verdade, a baixa biodisponibilidade do ferro deu origem a uma “competição química” pela obtenção deste recurso escasso [8]. Quase todas as espécies de bactérias, as plantas gramíneas e os fungos sintetizam sideróforos, pequenas moléculas orgânicas capazes de ligarem o Fe^{3+} com grande afinidade e de o solubilizar, competindo no desenvolvimento de estruturas químicas que forneçam vantagens em determinados ambientes. Outras espécies desenvolveram estratégias predatórias, adquirindo ferro ao alimentarem-se de outras formas de vida, e dando origem aos primeiros organismos heterotróficos. Outras espécies, ainda, tornaram-se patogénicas, infetando organismos multicelulares que apresentam elevadas concentrações de ferro biodisponível. De facto, a competição pelo ferro está no centro da luta entre patógenos e hospedeiros e a restrição do ferro é uma das respostas imunitárias inatas mais precoces e importantes em termos evolutivos [9].

4. Sideróforos e fitossideróforos

A diversidade dos sideróforos é tão grande como a dos organismos que os produzem [10]. Contudo, estas moléculas apresentam várias similaridades. Os sideróforos são compostos de baixo peso molecular

(< 1500 g mol⁻¹) que possuem uma elevada afinidade e seletividade para Fe³⁺, e a sua biossíntese é regulada pelos níveis de ferro intracelular e no ambiente. Privilegiando a afinidade para o Fe³⁺, os sideróforos tendem a possuir átomos de oxigênio carregados negativamente como ligandos do ferro, embora também se encontrem átomos de nitrogênio nos locais de ligação. Na verdade, existe um número limitado de estruturas químicas onde unidades bidentadas servem de blocos de construção para a vasta maioria dos sideróforos conhecidos (Figura 1). Os três principais grupos bidentados incorporados nas estruturas dos sideróforos são o catecol, o hidroxamato e o ácido α -hidroxicarboxílico [10].

Embora se conheçam sideróforos bidentados e tetradentados, as estruturas que permitem a formação de quelantes hexadentados são as mais comuns (Figura 2). Estes maximizam o efeito quelante e favorecem a formação de complexos com geometria octaédrica e de natureza termodinâmica estável. A 2,3-di-hidroxi-benzoilserina e a enterobactina são exemplos de sideróforos que usam o catecol como unidade básica, respectivamente classificados como bidentado e hexadentado. A enterobactina é o composto conhecido com a maior constante de afinidade para Fe³⁺ (log K = 49). A desferroxamina e a micobactina são quelantes hexadentados que usam grupos hidroxamato para ligar o ferro, enquanto a rizoferrina e o ácido avênico são exemplos de sideróforos que usam ácido α -hidroxicarboxílico. Curiosamente, tanto no ácido avênico como na micobactina, a coordenação ao ferro acontece também por unidades de ácido α -aminocarboxílico e hidroxifeniloxazolona, respectivamente.

A descoberta dos sideróforos e o estudo das suas estruturas inspirou o desenvolvimento de soluções para problemas como a baixa biodisponibilidade do ferro (anemia nos humanos e clorose nas plantas), o combate à infecção ou o tratamento de doenças de sobrecarga de ferro como a β -talassemia major.

5. Quelantes sintéticos

Atualmente, três quelantes de ferro são utilizados no tratamento da β -talassemia major [11,12]. Destes, o primeiro quelante de ferro a ser aprovado pela FDA (do inglês *Food and Drug Administration*) foi a Desferrioxamina B (DFO, comercializada como Desferal[®]), um sideróforo natural produzido pela bactéria *Streptomyces pilosus* (Figura 3). Contudo, este quelante apresenta várias desvantagens relacionadas com a sua biodisponibilidade, dificuldade de administração (por via injetável) e tempo de semivida, o que levou à procura de alternativas sintéticas de administração oral.

Tendo em consideração as unidades quelantes

Figura 1 - Ligandos bidentados que constituem a base estrutural para os ligandos de ferro encontrados em sideróforos.

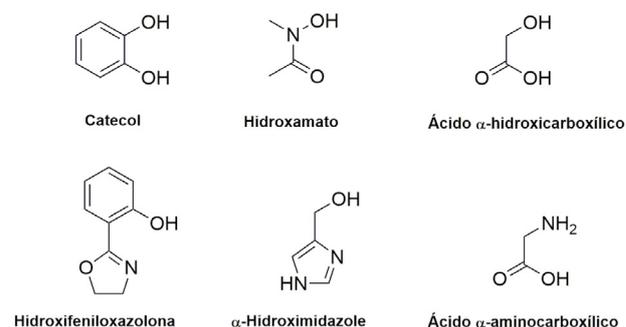
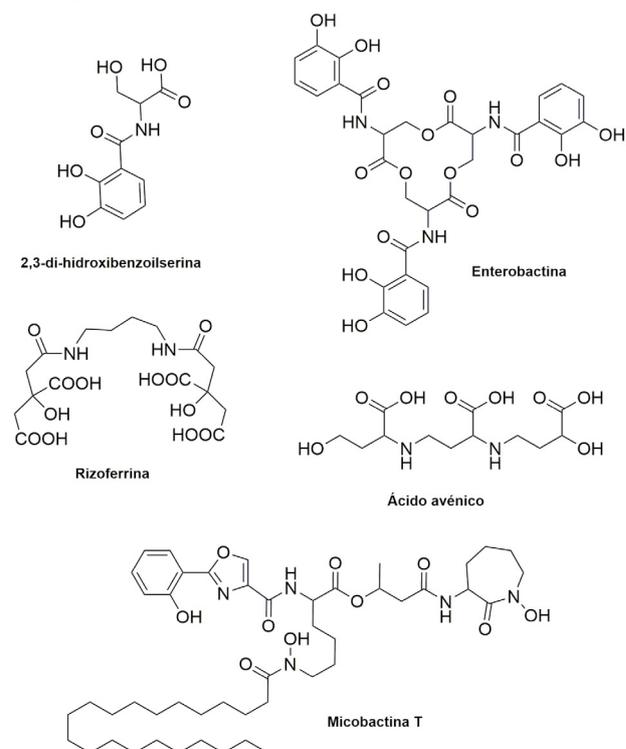
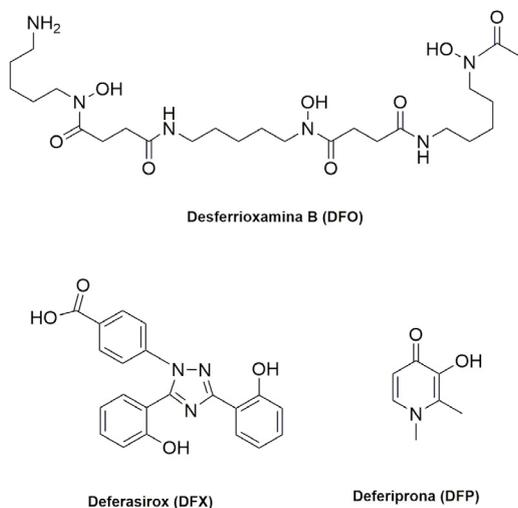


Figura 2 - Exemplos de sideróforos: 2,3-di-hidroxi-benzoilserina e enterobactina, produzidos por *Escherichia coli*; Rizoferrina produzida pelos fungos *Zigomicetos*; ácido avênico, produzido por plantas gramíneas; Micobactina T, produzida pelas micobactérias.



de sideróforos, as propostas de ligandos sintéticos incluem muitas vezes as características das suas unidades quelantes [12]. Assim, surge a Deferiprona (DFP, 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-piridinona, L1, Hdmp, CP20 ou Ferriprox[®]) (Figura 3), aprovada para o tratamento da β -talassemia em 1999 [13]. O DFP, uma 3-hidroxi-4-piridinona (3,4-HPO) bidentada é um ligando com características semelhantes ao catecol, mas que permite a formação de complexos de Fe³⁺ com carga neutra. Este aspeto é particularmente importante, porque facilita a remoção de ferro do organismo humano. Mais recentemente, surgiu o Deferasirox (DFX, comercializado como Exjade[®]

Figura 3 – Quelantes de ferro mais utilizados clinicamente: Desferrioxamina B (DFO), Deferasirox (DFX) e Deferiprona (DFP). Adaptado de [15].



pela Novartis) (Figura 3), aprovado em 2005, também para tratamento da β -talassemia por administração oral [14]. Este quelante demonstrou também efeitos positivos no tratamento da síndrome mielodisplásica. Apesar das inúmeras vantagens e da facilidade proporcionada pela administração oral, ambos os quelantes sintéticos apresentam alguns problemas de toxicidade.

De entre os muitos quelantes propostos, as 3,4-HPO destacaram-se pelas suas propriedades físico-químicas, biológicas e pela sua enorme versatilidade de síntese [15,16], tendo a nossa investigação sido muito focada nas aplicações destes ligandos. Genericamente, as hidroxipiridinonas são compostos *N*-heterocíclicos nos quais o íão de metal é coordenado por dois átomos de oxigênio dos grupos carbonilo e hidroxilo. De entre as várias classes, tais como a 1-hidroxi-2-piridinona e a 3-hidroxi-2-piridinona, a 3-hidroxi-4-piridinona é a mais estudada [17].

No que respeita ao controlo dos níveis de ferro, muitos outros ligandos têm sido estudados para o tratamento da sobrecarga de ferro, tais como os Pr(Me-3,2-HOPO) e TREN-(Me-3,2-HOPO), os quais incluem unidades derivadas de HPO, catecol e hidroxamato [18]. Outros tipos também são referidos, tais como hidroxiquinolinas, hidroxicarboxilatos e aminocarboxilatos, sendo o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) dos mais estudados [12]. De referir ainda outros exemplos de quelantes, como o HBED ou o DTPA, que tal como o EDTA, têm sido utilizados em doentes intolerantes à DFO [19]. A Desferritocina, um sideróforo bacteriano tridentado, também foi estudado, bem como um seu análogo, o Deferitritin, considerado como uma alternativa mais eficaz e não tóxica para o tratamento oral da β -talassemia

[20]. O Deferitazol (ou FBS0701) é um outro dos quelantes ativos oralmente que revelou potencial no tratamento da sobrecarga de ferro [21]. Mais ainda, muitos outros quelantes têm vindo a ser considerados promissores no tratamento de outras patologias, tais como doenças neurodegenerativas [12] e cancro [22].

Globalmente, todos estes estudos demonstram o enorme potencial das terapias de quelação de ferro e deixam em aberto a possibilidade do desenvolvimento de novos e mais eficazes quelantes de ferro (e outros íões de metais).

6. Quelantes para combater a infeção

Considerando que o ferro é um dos micronutrientes limitantes para o crescimento e propagação dos microrganismos, parece plausível considerar estratégias de privação de ferro para o controlo da infeção, um conceito habitualmente relacionado com o de “Imunidade Nutricional” [23]. De acordo com esta teoria, há evidências do aumento na suscetibilidade à infeção em pacientes que sofrem de doenças relacionadas com a sobrecarga de ferro [24].

Aproveitando esta evidência de uma imunidade nutricional, surgiram nos últimos anos inúmeros estudos considerando a aplicação de terapias de quelação para o controlo de infeções [15,25], e muito recentemente, das causadas pelo vírus SARS-CoV-2, causador da pandemia COVID-19 [26]. Particularmente no caso das infeções bacterianas, o efeito dos quelantes de ferro tem sido extensivamente investigado e uma das primeiras moléculas estudadas foi a 8-hidroxiquinolina e seus derivados. Quelantes, como EDHPA, EDTA e DTPA, demonstraram atividade contra diversas bactérias [27].

A DFO e o DFX também demonstraram ter efeito antibacteriano [28-32]. No entanto, estes ligandos apresentam algumas desvantagens como a capacidade de vários microrganismos os reconhecerem como sideróforos e assim os usarem para o seu próprio crescimento. De modo a ultrapassar estes desafios, outras famílias de quelantes têm vindo a ser consideradas, nomeadamente as 3,4-HPO, entre as quais a DFP. Este quelante demonstrou eficácia contra diversas bactérias, como *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* [33,34].

Outras 3,4-HPO demonstraram atividade inibitória *in vitro* contra várias espécies de bactérias extracelulares Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* [35-41]. Neste âmbito, o nosso grupo dedicou-se ao estudo da atividade de diversas 3,4-HPO contra diversos microrganismos: um conjunto de quelantes de 3,4-HPO bidentados e hexadentados marcados com rodamina foram desenhados e testados contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas [42]

e os resultados mostraram que os hexadentados MRH7, MRH8 e MRH10 (Figura 4) foram os mais eficazes a inibir o crescimento bacteriano de *S. aureus* e *S. epidermidis*, sendo MRH7 o único capaz de inibir o crescimento de *E. coli*. Uma 3,4-HPO bidentada marcada com uma rosamina, MRB20 (Figura 4), revelou uma atividade antibacteriana promissora contra diversas bactérias Gram-positivas, incluindo espécies clinicamente relevantes como *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* [43].

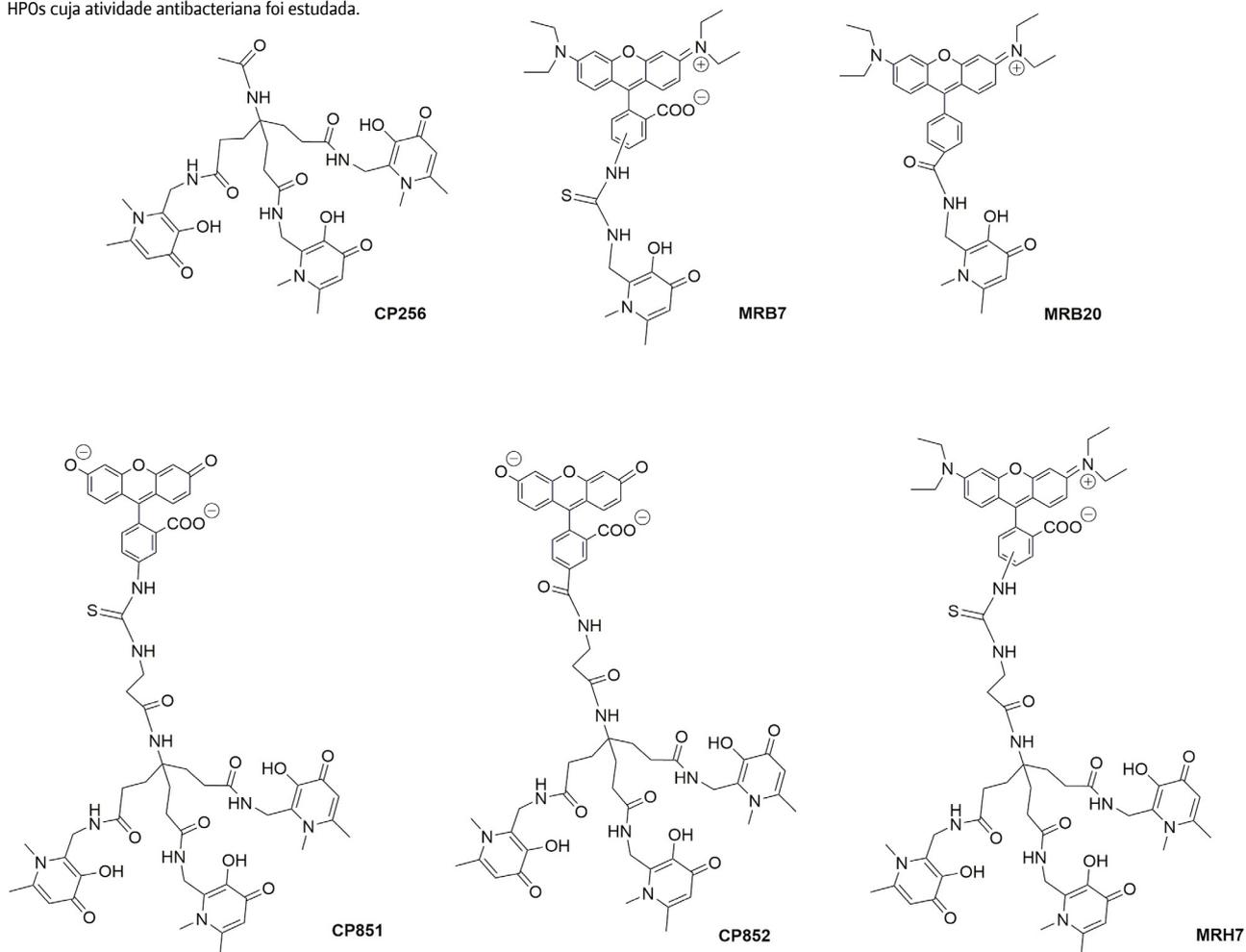
Também foram desenvolvidos estudos no que respeita ao uso de quelantes para o controlo de infeções contra bactérias intracelulares facultativas, nomeadamente contra *Mycobacterium avium*, o agente causador de tuberculose em indivíduos imunocomprometidos e um modelo comumente considerado do agente causador da tuberculose, bem como no controlo de infeções causadas pela bactéria *M. tuberculosis* [15].

Quelantes como a DFO demonstraram efeito

contra bactérias deste género [44] e na inibição da formação de biofilmes gerados por *M. smegmatis* e *M. bovis* BCG [45]. Muitos outros ligandos de ferro mostraram efeito contra *M. tuberculosis* [46,47] e *M. avium* [48,49].

No que respeita ao uso de quelantes de ferro para o controlo de infeções causadas por micobactérias, o nosso grupo desenvolveu diversas investigações considerando o desenho e avaliação do potencial de 3,4-HPO como agentes antimicobacterianos [15]. Inicialmente, vários quelantes hexadentados foram testados [50], nomeadamente CP256 e MRH7 (referido como CP777 em [50] e como ligando 4 em [51]) e derivados de fluoresceína (CP851 e CP852, Figura 4). Os resultados mostraram que o quelante CP256 não afetou o crescimento de *M. avium* dentro de macrófagos, porém os seus derivados marcados com fluoróforos tiveram um efeito inibitório, sendo este maior para o ligando marcado com rodamina B (MRH7) [50]. No geral, concluiu-se que a capacidade de quelar o ferro é indispensável, mas essa característica por si só não é

Figura 4 - Estrutura química de algumas 3,4-HPOs cuja atividade antibacteriana foi estudada.



suficiente para inibir o crescimento bacteriano e que as diferenças estruturais conferidas pelo fluoróforo também parecem ser relevantes. Posteriormente, outros ligandos estruturalmente relacionados foram desenhados e estudados [52,53] tendo-se verificado que outros derivados de rodamina também foram capazes de restringir o crescimento bacteriano e que quelantes fluorescentes bidentados foram tão eficazes quanto os seus equivalentes hexadentados, desde que a concentração seja ajustada de acordo com a estequiometria do quelato de Fe. Confirmou-se que o efeito inibitório é fortemente dependente do fluoróforo e que os compostos marcados com isotiocianato de rodamina B (MRH7 e MRB7) são os mais eficazes de entre os testados. Globalmente, os estudos apontam para a importância da ligação tioureia, dos substituintes etilo nos grupos amino do anel xanteno e sobretudo da vantagem da presença simultânea destes na estrutura dos quelantes [53].

De modo a tentar perceber o mecanismo de ação destes compostos, foram realizados diversos estudos biofísicos e de distribuição intracelular. Destes, concluiu-se que os quelantes derivados de rodamina parecem particionar mais na membrana de lipossomas, usados como modelos membranares, bem como mostraram ser capazes de progredir mais dentro dos macrófagos e atingir o fagossoma (onde residem as bactérias), em comparação com os derivados de fluoresceína [51,54-56]. Globalmente, estas investigações dão força à hipótese na qual a eficácia dos quelantes como antimicobacterianos está relacionada com uma maior capacidade de permear as bicamadas lipídicas. Assim, postulou-se que para uma ação eficaz será necessário que os quelantes sejam capazes de atingir o fagossoma e estes consigam permanecer neste compartimento de modo a permitir o deslocamento de ferro do interior para o exterior do fagossoma e, assim, privar a bactéria do ferro necessário ao seu crescimento [15].

Em suma, face à necessidade urgente de desenvolver novos antibióticos para combater a resistência das bactérias, acreditamos que o uso de quelantes, nomeadamente as 3,4-HPO, com capacidade de privar as bactérias de Fe, possa ser uma estratégia plausível, uma vez que os antibióticos atualmente em uso na clínica não têm como alvo o metabolismo do Fe.

7. Nutrição de plantas

Também as plantas desenvolveram mecanismos para absorver, metabolizar e armazenar ferro, e simultaneamente evitar a toxicidade inerente a este ião de metal. Esses mecanismos são genericamente conhecidos como Estratégia I e Estratégia II, sendo a primeira responsável pela captação de ferro no

estado reduzido (Fe^{2+}) e a segunda pela captação de ferro oxidado (Fe^{3+}) [57]. A estratégia I geralmente é observada em plantas superiores, como a *Arabidopsis thaliana*, e a soja, e consiste em três etapas que envolvem a participação de diferentes enzimas de modo a permitir a diminuição do pH e posteriormente a redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} para, por fim, este ser transportado com o auxílio de transportadores específicos. As plantas da Estratégia II, tais como o milho e o trigo, utilizam fitossideróforos (PS, do inglês *Phytosiderophores*) com função quelante de modo a formar um complexo com Fe^{3+} que é então absorvido pelas raízes por um sistema de transporte específico. Algumas gramíneas, como o arroz, apresentam uma estratégia mista, uma vez que incorporam alguns componentes de ambas as estratégias.

Nas plantas, o ferro desempenha um papel crucial em processos biológicos básicos como a fotossíntese, a síntese de clorofila, a respiração e síntese de DNA, além de ser um cofator de muitas enzimas responsáveis pela síntese de hormonas vegetais. Na fotossíntese, o ferro está envolvido nos fotossistemas I e II e citocromos, resultando numa diminuição acentuada da atividade fotossintética em situações de privação de ferro [58].

No que respeita a doenças causadas nas plantas por deficiência de ferro, a “clorose por deficiência de ferro” (IDC, do inglês *iron deficiency chlorosis*) é a condição mais frequente. Esta define-se como um distúrbio nutricional significativo que afeta plantas que crescem sobretudo em solos alcalinos, onde a capacidade de absorção de ferro se encontra mais desfavorecida [59]. Esta condição causa o amarelecimento das folhas (clorose) e traduz-se em decréscimos no rendimento de um grande número de culturas, causando grandes perdas económicas, especialmente tendo em conta que cerca de 30% do solo arável do mundo é composto por solos alcalinos [59,60].

No que respeita ao tratamento desta condição nas plantas, a fertilização é o processo mais usado para reduzir a prevalência de IDC. Genericamente existem três tipos de compostos de ferro utilizados como fertilizantes: a) compostos inorgânicos; b) complexos de ocorrência natural e c) quelatos de ferro sintéticos. Destes, os primeiros são relativamente ineficientes nos solos, pois transformam-se em compostos insolúveis, sendo geralmente aplicados como fertilizantes foliares. Os complexos naturais são também bastante instáveis no solo e aplicados, geralmente, da mesma forma, enquanto o terceiro tipo consiste em quelatos que incluem na sua estrutura ligandos funcionais que lhes conferem a afinidade adequada para o ferro, alta solubilidade em água e garantindo a biodisponibilidade ideal

tanto para aplicação foliar ou no solo.

Neste sentido, diversos quelatos de Fe^{3+} têm sido considerados, nomeadamente o EDTA e o ácido etilenodiamino-*N,N'*-bis-(*o*-hidroxifenilacético) (EDDHA). Contudo, estes compostos demonstraram ser extremamente resistentes à biodegradação, tendo enorme impacto ambiental, sobretudo pela sua persistência em águas naturais. Mais recentemente, outros quelatos foram propostos, como o IDHA (ácido *N*-(1,2-dicarboxietil)-*D,L*-aspártico) e o [*S,S*]-EDDS (ácido (*S,S*)-etilenodiaminodissuccínico). Porém, devido à sua baixa estabilidade no solo, estes compostos são apenas considerados para culturas sem solo (hidropónicas) e aplicações foliares [59].

Desde 2016, o nosso grupo tem vindo a demonstrar o potencial dos quelatos de Fe^{3+} da família das 3,4-HPO como novos fertilizantes, tendo vindo a provar-se a sua eficácia no aumento da biodisponibilidade de ferro em plantas de soja [60-62]. De entre várias culturas, a soja (*Glycine max L.*) é uma das espécies mais importantes na alimentação humana e animal. Dada a sua sensibilidade para a IDC, é também um modelo para o estudo do efeito de fertilizantes [60,63].

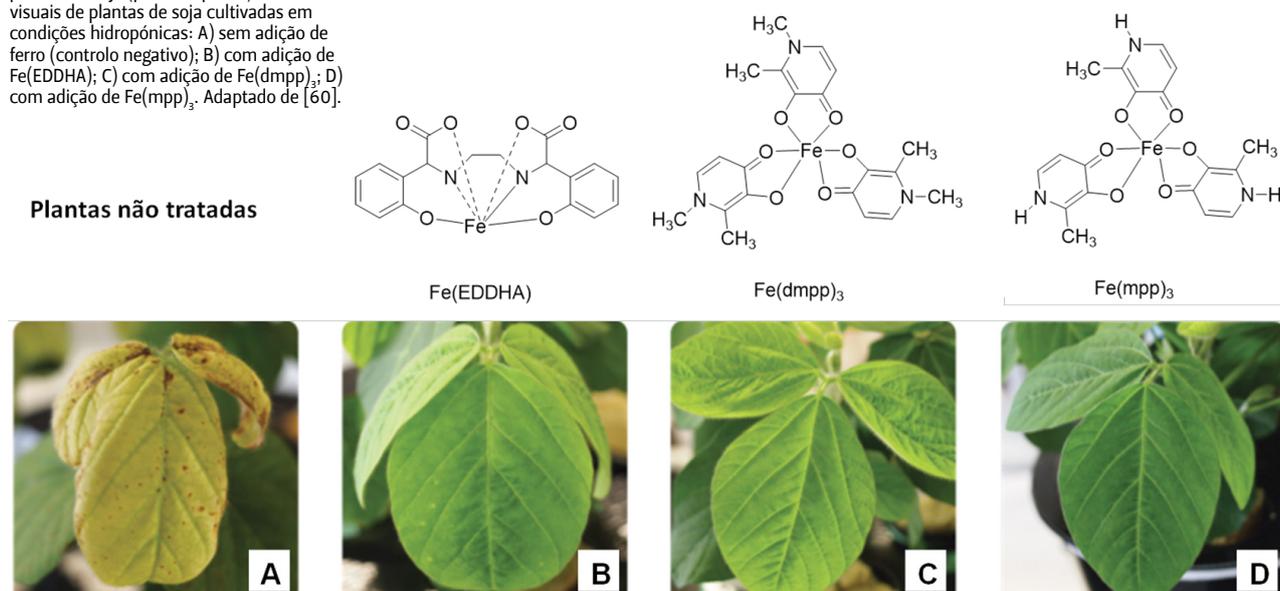
No primeiro estudo realizado, consideraram-se dois quelatos de Fe^{3+} derivados de 3,4-HPO, $\text{Fe}(\text{mpp})_3$ e $\text{Fe}(\text{dmpp})_3$ (Figura 5). Estes demonstraram ter efeito na correção de IDC em plantas de soja cultivadas em hidroponia, sendo que as plantas apresentaram 50% mais Fe do que as plantas tratadas com um fertilizante comercial mais comumente usado na agricultura (FeEDDHA). Mais ainda, os complexos

apresentaram boa biocompatibilidade e os resultados revelaram que as plantas tratadas com o complexo $\text{Fe}(\text{mpp})_3$ eram significativamente mais verdes e tinham maior biomassa do que as tratadas com o fertilizante comercial [60].

Nos estudos seguintes, considerando também plantas de soja cultivadas em hidroponia, foi comparada a eficiência dos três quelatos de Fe^{3+} estruturalmente relacionados da família 3,4-HPO. Concluiu-se que de entre os três quelatos testados, o $[\text{Fe}(\text{mpp})_3]$ é o mais eficiente na prevenção dos sintomas da IDC, seguido do $[\text{Fe}(\text{dmpp})_3]$ e do $[\text{Fe}(\text{etpp})_3]$ [62]. Mais ainda, estudos biofísicos, nos quais se considerou a utilização de lipossomas derivados do extrato lipídico de soja (*Glycine max L.*), revelaram que a eficácia dos diferentes quelatos depende do balanço hidrolipofílico, sendo mais eficaz o composto que apresenta uma localização preferencial próxima da superfície do lipossoma, enquanto os demais preferem a região hidrofóbica dentro da bicamada.

Mais recentemente, a eficácia do $[\text{Fe}(\text{mpp})_3]$ foi inspecionada sob condições de solo e os resultados demonstraram que a aplicação foliar de $[\text{Fe}(\text{mpp})_3]$ pareceu ser mais eficaz na prevenção ou redução dos sintomas de IDC do que o mesmo tipo de aplicação de $[\text{FeEDDHA}]$ [61]. Este estudo representa o primeiro trabalho que contempla o uso de quelatos desta família em condições alcalinas de solo para correção de IDC e mostraram ainda que a sua aplicação foliar tem um efeito mais duradouro que o $[\text{FeEDDHA}]$, induzindo respostas

Figura 5 - Estrutura química de alguns dos quelatos de ferro estudados em plantas de soja (painel superior). Sintomas visuais de plantas de soja cultivadas em condições hidropónicas: A) sem adição de ferro (controlo negativo); B) com adição de FeEDDHA ; C) com adição de $\text{Fe}(\text{dmpp})_3$; D) com adição de $\text{Fe}(\text{mpp})_3$. Adaptado de [60].



radiculares eficientes e promovendo também a absorção de outros nutrientes.

As 3,4-HPOs e os seus quelatos de ferro apresentam sem dúvida inúmeras vantagens quando comparados com a maioria dos fertilizantes atualmente no mercado. Os estudos até agora realizados confirmam o seu enorme potencial de aplicação na agricultura com vista à prevenção e/ou mitigação de alguns efeitos da IDC em plantas de soja, mas sem dúvida com enorme versatilidade para estender este tipo de utilização a outras culturas também afetadas por esta condição, e simultaneamente sem efeitos colaterais negativos observáveis para o meio ambiente [64-66].

8. Considerações finais

O ferro é um elemento essencial à vida tal como a conhecemos, e ao longo da história geológica da Terra, a diminuição da sua biodisponibilidade funcionou como um estímulo evolutivo. Atualmente, o ferro é um nutriente escasso pelo qual a maior parte dos

organismos têm de competir. O nosso trabalho, aqui revisto, mostra que o acesso ou privação ao ferro é um campo de intervenção em várias questões sociais, como as doenças infecciosas ou a produção agrícola. Demonstra-se a importância de diversas estruturas moleculares para esse fim, com foco nos ligandos do tipo 3,4-HPO. Estas moléculas apresentam um enorme potencial em diversos campos de aplicação, de entre os quais o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos ou fertilizantes de ferro para plantas. A versatilidade de síntese e funcionalização das 3,4-HPO constitui claramente uma enorme vantagem destes ligandos, uma vez que diversas modificações podem ser consideradas para ajustar as suas propriedades e dos seus complexos, de acordo com a aplicação desejada nas diferentes áreas de investigação.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio dos projetos (FCT/MCTES): UIDB/50006/2020, UIDP/50006/2020, EXPL/QUI-QIN/0411/2021 e 2022.06328.PTDC.

Referências

- [1] R. Kipling, "Rewards and Fairies", Paul Foster Books, Londres, **1910**.
- [2] W. F. McDonough, S. -s. Sun, *Chem. Geol.* **1995**, *120*, 223-253. DOI: 10.1016/0009-2541(94)00140-4.
- [3] J. E. Posey, F. C. Gherardini, *Science* **2000**, *288*, 1651-1653. DOI: 10.1126/science.288.5471.1651.
- [4] F. Archibald, *FEMS Microbiol. Lett.* **1983**, *19*, 29-32. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1983.tb00504.x.
- [5] M. Elli, R. Zink, A. Rytz, R. Reniero, L. Morelli, *J. Appl. Microbiol.* **2000**, *88*, 695-703. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.01013.x.
- [6] M. Sánchez, L. Sabio, N. Gálvez, M. Capdevila, J. M. Dominguez-Vera, *IUBMB Life* **2017**, *69*, 382-388. DOI: 10.1002/iub.1602.
- [7] J. Wade, D. J. Byrne, C. J. Ballentine, H. Drakesmith, *PNAS* **2021**, *118*, e2109865118. DOI: 10.1073/pnas.2109865118.
- [8] D. Lowe, "The War for Iron", in *The Pipeline*, Science, **2023**. [science.org/content/blog-post/war-iron](https://www.science.org/content/blog-post/war-iron) (acedido em 27/10/2023).
- [9] D. Haschka, A. Hoffmann, G. Weiss, *Semin. Cell Dev. Biol.* **2021**, *115*, 27-36. DOI: 10.1016/j.semcdb.2020.12.005.
- [10] R. C. Hider, X. Kong, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 637-657. DOI: 10.1039/B906679A.
- [11] A. Bruzzese, E. A. Martino, F. Mendicino, E. Lucia, V. Olivito, C. Bova, G. Filippelli, I. Capodanno, A. Neri, F. Morabito, M. Gentile, E. Vigna, *Eur. J. Haematol.* **2023**, *110*, 490-497. DOI: 10.1111/ejh.13935.
- [12] T. Zhou, Y. Ma, X. Kong, R. C. Hider, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 6371-6389. DOI: 10.1039/c2dt12159j.
- [13] R. Fischer, F. Longo, P. Nielsen, R. Engelhardt, R. C. Hider, A. Piga, *Br. J. Haematol.* **2003**, *121*, 938-948. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04297.x.
- [14] P. C. Sharpe, D. R. Richardson, D. S. Kalinowski, P. V. Bernhardt, *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, *11*, 591-607. DOI: 10.2174/156802611794785163.
- [15] M. Rangel, T. Moniz, A. M. N. Silva, A. Leite, *Pharmaceuticals* **2018**, *11*, 110. DOI: 10.3390/ph11040110.
- [16] J. Burgess, M. Rangel, "Hydroxypyranones, Hydroxypyridinones, and their Complexes", in *Advances in Inorganic Chemistry*, R. van Eldik (Ed.), Academic Press, Países Baixos, **2008**.
- [17] M. A. Santos, S. M. Marques, S. Chaves, *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 240-259. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.08.008.
- [18] R. A. Yokel, A. M. Fredenburg, P. W. Durbin, J. Xu, M. K. Rayens, K. N. Raymond, *J. Pharm. Sci.* **2000**, *89*, 545-555. DOI: 10.1002/(sici)1520-6017(200004)89:4%3C545::aid-jps12%3E3.0.co;2-j.
- [19] M. J. Pippard, M. J. Jackson, K. Hoffman, M. Petrou, C. B. Modell, *Scand. J. Haematol.* **1986**, *36*, 466-472. DOI: 10.1111/j.1600-0609.1986.tb02282.x.
- [20] J. C. Barton, *lDrugs* **2007**, *10*, 480-490. PMID: 17642018.
- [21] E. J. Neufeld, R. Galanello, V. Viprakasit, Y. Aydinok, A. Piga, P. Harmatz, G. L. Forni, F. T. Shah, R. F. Grace, J. B. Porter, J. C. Wood, J. Peppe, A. Jones, *Blood* **2012**, *119*, 3263-3268. DOI: 10.1182/blood-2011-10-386268.
- [22] S. V. Torti, F. M. Torti, *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 342-355. DOI: 10.1038/nrc3495.
- [23] M. I. Hood, E. P. Skaar, *Nat. Rev. Microbiol.* **2012**, *10*, 525-537. DOI: 10.1038/nrmicro2836.
- [24] F. A. Khan, M. A. Fisher, R. A. Khakoo, *J. Infect. Dis.* **2007**, *11*, 482-487. DOI: 10.1016/j.ijid.2007.04.007.
- [25] T. L. Foley, A. Simeonov, *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, *7*, 831-847. DOI: 10.1517/17460441.2012.708335.
- [26] H. M. Habib, S. Ibrahim, A. Zaim, W. H. Ibrahim, *Biomed. Pharmacother.* **2021**, *136*, 111228. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111228.
- [27] T. Bergan, J. Klaveness, A. J. Aasen, *Chemotherapy* **2001**, *47*, 10-14. DOI: 10.1159/000048495.
- [28] B. S. van Asbeck, J. H. Marcelis, J. H. van Kats, E. Y. Jaarsma, J. Verhoef, *Eur. J. Clin. Microbiol.* **1983**, *2*, 432-438. DOI: 10.1007/bf02013900.
- [29] G. P. Neupane, D. M. Kim, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2010**, *29*, 407-410. DOI: 10.1007/s10096-010-0875-5.
- [30] G. C.-F. Chan, S. Chan, P.-L. Ho, S.-Y. Ha, *Hemoglobin* **2009**, *33*, 352-360. DOI: 10.3109/03630260903211888.
- [31] G. P. Neupane, D. M. Kim, *Transfusion* **2009**, *49*, 1762-1769. DOI: 10.3109/03630260903211888.
- [32] M. Erinmez, Y. Zer, *Exp. Ther. Med.* **2023**, *26*, 459. DOI: 10.3892/etm.2023.12158.
- [33] M. G. Thompson, B. W. Corey, Y. Si, D. W. Craft, D. V. Zurawski, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 5419-5421. DOI: 10.1128/aac.01197-12.
- [34] P. Visca, C. Bonchi, F. Minandri, E. Frangipani, F. Imperi, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 2432-2433. DOI: 10.1128/aac.02529-12.
- [35] Y.-J. Zhou, M.-S. Liu, A. R. Osamah, X.-L. Kong, S. Alsam, S. Battah, Y.-Y. Xie, R. C. Hider, T. Zhou, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 8-21. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.02.050.
- [36] M.-X. Zhang, C.-F. Zhu, Y.-J. Zhou, X.-L. Kong, R. C. Hider, T. Zhou, *Chem. Biol. Drug Des.* **2014**, *84*, 659-668. DOI: 10.1111/cbdd.12358.
- [37] D.-H. Qiu, Z.-L. Huang, T. Zhou, C. Shen, R. C. Hider, *FEMS Microbiol. Lett.* **2011**, *314*, 107-111. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.02153.x.
- [38] Y.-Y. Xie, M.-S. Liu, P.-P. Hu, X.-L. Kong, D.-H. Qiu, J.-L. Xu, R. C. Hider, T. Zhou, *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 2351-2359. DOI: 10.1007/s00044-012-0229-1.

- [39] B. Xu, X.-L. Kong, T. Zhou, D.-H. Qiu, Y.-L. Chen, M.-S. Liu, R.-H. Yang, R. C. Hider, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 6376-6380. DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.08.097.
- [40] Y.-J. Zhou, M.-X. Zhang, R. C. Hider, T. Zhou, *FEMS Microbiol. Lett.* **2014**, 355, 124-130. DOI: 10.1111/1574-6968.12465.
- [41] C.-F. Zhu, D.-H. Qiu, X.-L. Kong, R. C. Hider, T. Zhou, *J. Pharm. Pharmacol.* **2013**, 65, 512-520. DOI: 10.1111/jphp.12013.
- [42] T. Moniz, M. Feio, D. Silva, B. de Castro, M. Rangel, *Med. Chem. Res.* **2018**, 27, 1472-1477. DOI: 10.1007/s00044-018-2165-1.
- [43] Á. Novais, T. Moniz, A. R. Rebelo, A. M. G. Silva, M. Rangel, L. Peixe, *Bioorg. Chem.* **2018**, 79, 341-349. DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.05.013.
- [44] S. B.-David, L. Bricard, F. Ramiandrasoa, A. DeRoussent, G. Kunesch, A. Andreumont, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, 41, 1837-1839. DOI: 10.1128/aac.41.8.1837.
- [45] S. Ishida, M. Arai, H. Niikawa, M. Kobayashi, *Biol. Pharm. Bull.* **2011**, 34, 917-920. DOI: 10.1248/bpb.34.917.
- [46] R. R. Kumar, S. Perumal, P. Senthilkumar, P. Yogeewari, D. Sriram, *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 5731-5735. DOI: 10.1021/jm800545k.
- [47] R. Bairwa, N. Tawari, A. Alate, S. Anam, M. Degani, M. Ray, R. M. G. Rajan, *Med. Chem.* **2013**, 9, 77-83. DOI: 10.2174/157340613804488332.
- [48] M. S. Gomes, G. Dom, J. Pedrosa, J. R. Boelaert, R. Appelberg, *Tuberc. Lung Dis.* **1999**, 79, 321-328. DOI: 10.1054/tuld.1999.0216.
- [49] G. S. Douvas, M. H. May, A. Kolnagou, G. J. Kontoghiorghe, *Arzneimittelforschung* **2002**, 52, 45-52. DOI: 10.1055/s-0031-1299855.
- [50] S. S. Fernandes, A. Nunes, A. R. Gomes, B. de Castro, R. C. Hider, M. Rangel, R. Appelberg, M. S. Gomes, *Microbes Infect.* **2010**, 12, 287-294. DOI: 10.1016/j.micinf.2010.01.003.
- [51] A. Nunes, M. Podinowska, A. Leite, P. Gameiro, T. Zhou, Y. Ma, X. Kong, U. E. Schaible, R. C. Hider, M. Rangel, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2010**, 15, 861-877. DOI: 10.1007/s00775-010-0650-1.
- [52] T. Moniz, A. Nunes, A. M. G. Silva, C. Queirós, G. Ivanova, M. S. Gomes, M. Rangel, *J. Inorg. Biochem.* **2013**, 121, 156-166. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2013.01.002.
- [53] T. Moniz, D. Silva, T. Silva, M. S. Gomes, M. Rangel, *MedChemComm* **2015**, 6, 2194-2203. DOI: 10.1039/C5MD00456J.
- [54] T. Moniz, A. Leite, T. Silva, P. Gameiro, M. S. Gomes, B. de Castro, M. Rangel, *J. Inorg. Biochem.* **2017**, 175, 138-147. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2017.07.017.
- [55] J. T. S. Coimbra, T. Moniz, N. F. Brás, G. Ivanova, P. A. Fernandes, M. J. Ramos, M. Rangel, *J. Phys. Chem. B* **2014**, 118, 14590-14601. DOI: 10.1021/jp509491p.
- [56] T. Moniz, B. de Castro, M. Rangel, G. Ivanova, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, 18, 5027-5033. DOI: 10.1039/C5CP05273D.
- [57] J. M. Connorton, J. Balk, J. Rodríguez-Celma, *Metallomics* **2017**, 9, 813-823. DOI: 10.1039/c7mt00136c.
- [58] C. Varotto, D. Maiwald, P. Pesaresi, P. Jahns, F. Salamini, D. Leister, *Plant J.* **2002**, 31, 589-599. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2002.01381.x.
- [59] J. J. Lucena, L. Hernandez-Apaolaza, *Plant Soil* **2017**, 418, 1-4. DOI: 10.1007/s11104-017-3316-8.
- [60] C. S. Santos, S. M. P. Carvalho, A. Leite, T. Moniz, M. Roriz, A. O. S. S. Rangel, M. Rangel, M. W. Vasconcelos, *Plant. Physiol. Biochem.* **2016**, 106, 91-100. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.04.050.
- [61] C. S. Santos, E. Rodrigues, S. Ferreira, T. Moniz, A. Leite, S. M. P. Carvalho, M. W. Vasconcelos, M. Rangel, *Physiol. Plant.* **2021**, 173, 235-245. DOI: 10.1111/ppl.13367.
- [62] C. S. Santos, A. Leite, S. Vinhas, S. Ferreira, T. Moniz, M. W. Vasconcelos, M. Rangel, *Plant Direct* **2020**, 4, e00256. DOI: 10.1002/pld3.256.
- [63] C. S. Santos, I. Serrão, M. W. Vasconcelos, *Revista de Ciências Agrárias* **2016**, 39, 538-549. DOI: 10.19084/RCA16090.
- [64] M. A. Santos, A. Irto, P. Buglyó, S. Chaves, *Molecules* **2022**, 27, 1966. DOI: 10.3390/molecules27061966.
- [65] R. B. R. Mesquita, T. Moniz, M. J. M. Nunes, L. S. Mesquita, M. Rangel, A. O. S. S. Rangel, *Anal. Methods* **2022**, 14, 180-187. DOI: 10.1039/D1AY01932E.
- [66] L. S. Mesquita, R. B. R. Mesquita, A. Leite, T. Moniz, M. Rangel, A. O. S. S. Rangel, *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* **2020**, 51, 1089-1100. DOI: 10.1080/00103624.2020.1751186.

>

André M. N. Silva

LAQV@REQUIMTE.

Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto.

Investigador no LAQV@REQUIMTE, com atividade letiva no ICBAS-UP e na FCUP.

É Licenciado em Bioquímica pela UP e Doutorador em Ciências Farmacêuticas pelo King's College London. A sua investigação centra-se no papel desempenhado pelo ferro em diversas condições clínicas, e na identificação de novos biomarcadores e alvos terapêuticos.
andre.silva@fc.up.pt
ORCID.org/0000-0001-5554-7714

>

Baltazar de Castro

LAQV@REQUIMTE.

Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto.

Professor Emérito da Universidade do Porto e diretor do LAQV@REQUIMTE. É um Químico Inorgânico, com es-

pecialização nas áreas de Materiais e Química Bioinorgânica. A sua investigação centra-se na utilização de iões de metal numa enorme variedade de campos de aplicações.

bcastro@fc.up.pt

ORCID.org/0000-0001-9097-0171

>

***Maria da Conceição Rangel**

LAQV@REQUIMTE.

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.

Professora Catedrática no ICBAS-UP e investigadora no LAQV@REQUIMTE. É Licenciada em Química – Ramo Científico (FCUP), com Doutoramento e Agregação em Ciências Biomédicas (ICBAS-UP). A sua investigação tem sido focada no papel dos iões de metal nos organismos vivos, em particular na homeostasia do ferro.
mrangel@icbas.up.pt
ORCID.org/0000-0002-0998-1437

>

Tânia Moniz

LAQV@REQUIMTE.

Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto.

Investigadora no LAQV@REQUIMTE e Professora Auxiliar Convidada no ICBAS-UP. É Licenciada e Mestre em Bioquímica e Doutorada em Química Sustentável pela Universidade do Porto. A sua investigação centra-se no desenho e utilização de moléculas quelantes e seus complexos de iões de metal para diversas aplicações em química medicinal, agricultura e ambiente, com um foco nanotecnológico.
tmoniz@icbas.up.pt
ORCID.org/0000-0002-3175-3844

Complexos de Iões Metálicos em Meios Biológicos: Relevância da sua Especificação

>
João Costa Pessoa
Isabel Correia

Metal Complexes in Biological Media:

Relevance of Assessing their Speciation. *When discussing interactions and biological effects of complexes of labile metal ions added to biological media, researchers often assume that the complexes maintain their integrity. Mainly using examples of complexes of copper(II) and vanadium(IV and V), we demonstrate that this is often incorrect. In fact, when these complexes of labile metal ions are added to biological media, they will undergo hydrolysis, exchange of ligands and/or redox reactions, and these reactions depend on the pH and concentration of the species present. As the concentration of complex decreases and/or the number and concentration of potential ligands increases, more extensive hydrolysis and/or exchange of ligands will occur. In this work, we highlight that when observing a biological effect upon the addition of a metal complex, any proposal for mechanisms of action or the identification of biologically active species must take into account the speciation of these metal ions in the systems under study.*

Quando se estudam interações e efeitos biológicos de complexos de iões metálicos lábeis, os investigadores admitem frequentemente que os compostos mantêm a forma em que foram preparados. Usando exemplos de compostos de cobre(II) e de vanádio(IV e V), chama-se a atenção e demonstra-se que isso normalmente não acontece. Quando estes complexos, cujos iões são cineticamente lábeis, são adicionados a meios biológicos, irão ocorrer reações de hidrólise, troca de ligandos e/ou de oxidação-redução, que dependem do pH e da concentração das espécies presentes nesses meios. Quanto menor a concentração do complexo no meio em que é dissolvido, ou maior o número e/ou a concentração de potenciais ligandos, mais extensamente os processos de hidrólise e/ou troca de ligandos se dão. Conclui-se que propostas de mecanismos de ação ou de identificação de espécies biologicamente ativas têm de considerar a especificação desses metais nos sistemas em estudo.

Introdução

A natureza, nos processos de evolução, incorporou diversos iões de metais de transição nos organismos vivos para executar eficazmente um grande número de tarefas. Muitos possuem características adequadas para interatuar com moléculas presentes nos seres vivos, modulando ou modificando as suas propriedades e/ou função [1,2]. Exemplos relevantes neste contexto são os iões de Mo, Fe, Zn, Cu, Mn e V. A escolha do ião metálico na evolução dos seres vivos dependeu não só das suas propriedades intrínsecas, mas também da sua abundância na crosta terrestre e/ou ambiente marinho/aquático.

Os iões metálicos possuem nos organismos vivos um papel funcional e/ou estrutural, quer por si só, quer por interação com biomoléculas. Além do estudo do seu papel nos meios biológicos, os investigadores e a indústria farmacêutica têm recorrido a complexos de iões metálicos de transição como produtos úteis quer no diagnóstico, quer no tratamento de doenças. Alguns

exemplos relevantes são a cisplatina, $\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$, no tratamento de diversos tipos de cancro [3], complexos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e Gd como agentes de imagem, compostos de Ag para tratamento de diversos problemas de pele e complexos de Au para tratamento de artrites [4]. Complexos de radionuclídeos β -emissores de ^{153}Sm , ^{90}Y e $^{186/188}\text{Re}$ têm também sido usados em terapias radionucleares [5]. Estes são apenas alguns exemplos, pois muitos outros complexos são ou foram usados em clínica, e várias centenas foram ou estão em ensaios clínicos [6]. Milhares de outros têm sido sintetizados como potenciais produtos terapêuticos e testados em sistemas biológicos.

Sucedo que num grande número de estudos em que se avaliam as interações dos complexos com moléculas biológicas, ou em que se procede a ensaios *in vitro* e em alguns casos também *in vivo*, os investigadores partem do princípio de que os complexos mantêm a forma

original em que foram obtidos, o que normalmente não acontece. Os complexos metálicos quando dissolvidos em meio aquoso normalmente sofrem hidrólise ou troca de ligandos parcial ou total, sendo esses processos instantâneos quando os íons são cineticamente lábeis. Exemplos deste tipo de sistemas lábeis são os complexos de Cu^{II} , V^{IV} , V^{V} , Mn^{II} e de Zn^{II} . Ao não se ter em conta esses processos, quaisquer propostas de mecanismos de ação ou de identificação de espécies biologicamente ativas não estarão corretas. Neste texto ir-se-á chamar a atenção para estas questões dando exemplos de complexos de Cu^{II} e de V^{IV} ou V^{V} .

O vanádio é um metal de transição que está presente em quantidades importantes nos solos, petróleos, água do mar e também em suspensão no ar, pelo que não é de surpreender que seja um elemento essencial para muitos seres vivos, embora nunca tenha sido confirmado como tal nos humanos. Os estados de oxidação mais relevantes nos sistemas biológicos são os V^{III} , V^{IV} e V^{V} . O V^{IV} está normalmente na forma de $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}^{2+}$ e o V^{V} na de $\text{V}^{\text{V}}\text{O}^{3+}$ ou $\text{V}^{\text{V}}\text{O}_2^+$. Quando introduzido num meio biológico, cada um destes íons estará envolvido em reações de hidrólise e redox que dependem do pH, concentração e força iónica [7-9]. Por outro lado, os íons de vanádio podem ligar-se a uma grande variedade de compostos como proteínas, metabolitos, açúcares, etc. [10-12], e essas interações dependem do pH e da natureza e concentração de todas as espécies que se possam ligar ao V, como por exemplo: H_2O , OH^- , $\text{H}_n\text{PO}_4^{-(3-n)}$.

O cobre é um elemento essencial nos organismos vivos e tem um papel importante nos processos redox, de crescimento e desenvolvimento. É fundamental no funcionamento de muitas enzimas e proteínas envolvidas nos metabolismos de energia, respiração e síntese de DNA [13]. A presença de Cu, exercendo funções nas células, exige mecanismos de homeostase estritamente regulados para que estejam presentes apenas as quantidades necessárias de Cu sem que se produzam efeitos tóxicos. Por essa razão, os complexos de cobre têm sido escolhas preferenciais no desenvolvimento de compostos com

objetivos terapêuticos. A existência de mecanismos de regulação e de eliminação permite antecipar que em qualquer ensaio testando complexos de cobre, se este entra nas células, a forma em que irá estar no seu interior não será a mesma da que existia no complexo adicionado.

No domínio da Química Bioinorgânica ou Medicinal, normalmente a concentração dos íons metálicos é muito baixa, da ordem do micromolar (μM), e deve ter-se especial atenção a pelo menos dois aspetos: (1) os estudos de caracterização dos complexos são feitos com soluções com concentrações da ordem do milimolar e com a diluição dão-se alterações significativas na composição da solução, e (2) quanto mais baixa a concentração do complexo, em maior grau se dão os processos de hidrólise e de troca de ligandos.

Efeito da diluição na natureza das espécies presentes em solução

A simples diluição de uma solução de um complexo em água origina frequentemente alterações significativas na natureza das espécies presentes. Este efeito é especialmente pronunciado para os complexos de íons metálicos lábeis suscetíveis à hidrólise e/ou polinucleares. Um exemplo significativo é o dos decavanadatos (V_{10} , $\text{H}_n\text{V}_{10}\text{O}_{28}^{-6+n}$), que são estáveis em solução aquosa no intervalo de pH 3,5-5,5 se a concentração total de V ($[\text{V}]_T$) for superior a ~ 10 mM. Para concentrações mais baixas formam-se outras espécies (Figura 1): pentavanadatos (V_5), tetravanadatos (V_4), divanadatos (V_2) e monovanadatos (V_1). Mesmo em concentrações elevadas, se o pH de uma solução de V_{10} subir de 4 para 7 ou 8, as espécies V_{10} deixam de ser termodinamicamente estáveis. Embora a cinética da sua decomposição seja lenta, esta inicia-se assim que o pH da solução aumenta. Se uma solução de decavanadatos for adicionada a um sistema biológico a pH = 7, ficando com $[\text{V}]_T$ da ordem dos μM , na avaliação de qualquer efeito biológico deve ser cuidadosamente analisado se este se deve a um decavanadato, a uma espécie resultante da sua decomposição e/ou à formação de um complexo de uma dessas espécies com algum ligando presente [14]. No entanto,

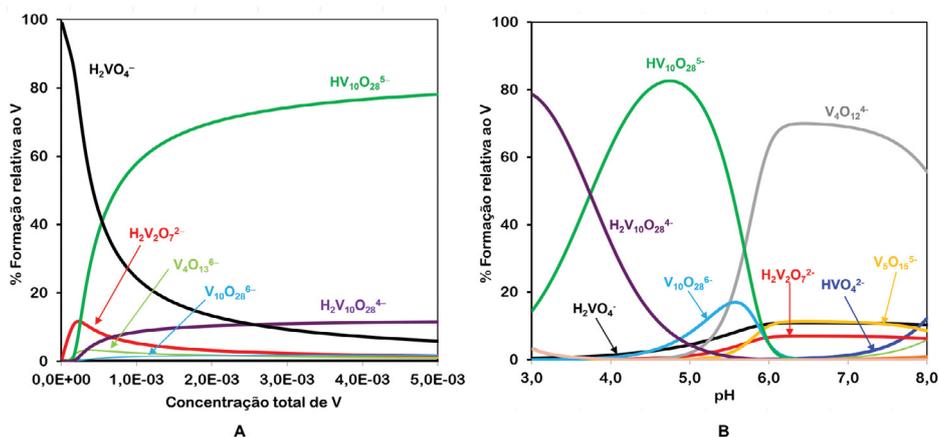


Figura 1 - Diagrama de distribuição em solução aquosa de espécies de V^{V} . (A) a pH = 5 variando a $[\text{V}]_T$; (B) para $[\text{V}]_T = 0,05$ M variando o pH. Usaram-se as constantes de formação de [7,8,15] e o programa HySS [16].

esta avaliação frequentemente não é feita (e deveria ser).

Outro exemplo são os complexos de Cu^{II} com 1,10-fenantrolina (phen) ou seus derivados (dphen). A fenantrolina forma complexos com o Cu^{II} com constantes de formação elevadas, tendo sido preparadas dezenas de compostos do tipo $(\text{An})_n\text{Cu}(\text{dphen})_2$ sendo An um anião. Este tipo de complexos foi proposto para o tratamento de diversos tipos de cancro e alguns têm estado em ensaios clínicos [17].

No entanto, a simples dissolução e subsequente diluição de um composto deste tipo em água provoca hidrólise parcial do complexo adicionado. Por exemplo, admitindo que a concentração total de complexo de Cu^{II} que se dissolveu é de $10 \mu\text{M}$, a percentagem de Cu^{II} na forma de $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$, $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$ e de $\text{Cu}(\text{phen})_3^{2+}$ a pH 7 é de 78, 20 e 2%, respetivamente. Em ensaios *in vitro* com células cancerígenas, os valores de IC_{50} com complexos $(\text{NO}_3)_2\text{Cu}(\text{dphen})_2$ são da ordem de $1\text{--}20 \mu\text{M}$ [18]. Não considerando a presença de outros ligandos, para o caso de $(\text{NO}_3)_2\text{Cu}(\text{phen})_2$ (Figura 2) com concentração $2 \mu\text{M}$ ter-se-ia ~39 e ~60% de Cu^{II} nas formas $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$ e $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$, respetivamente.

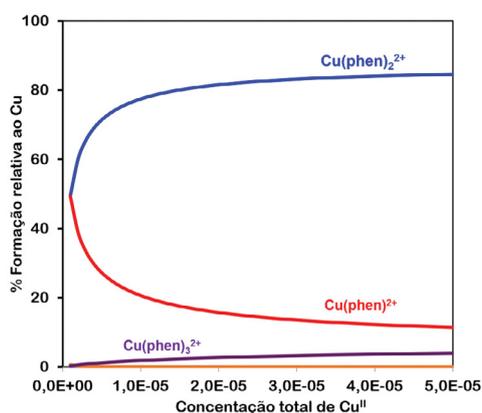
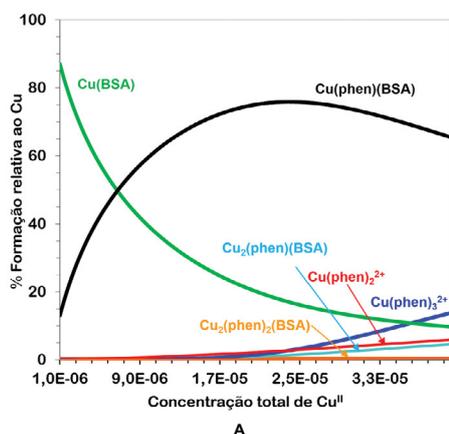
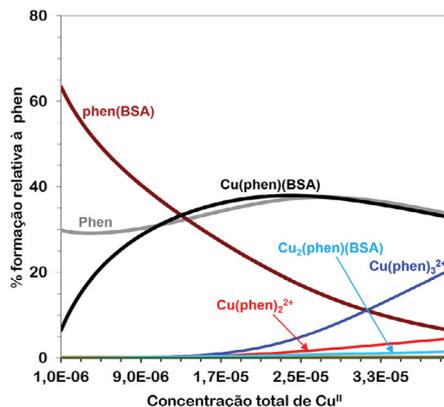


Figura 2 - Diagrama de distribuição em solução aquosa de espécies de Cu^{II} após dissolução de $(\text{An})_n\text{Cu}(\text{phen})_n$ em água a pH = 7. Representa-se a percentagem de Cu^{II} na forma de $\text{Cu}(\text{phen})_n^{2+}$ ($n=1\text{--}3$; as espécies $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_m$ têm concentração muito baixa) na gama de concentração total de Cu^{II} entre $1\text{--}50 \mu\text{M}$. Para o cálculo usaram-se as constantes de formação de [19] e o programa HySS [16].



A



B

Figura 3 - Diagramas de distribuição de espécies para o sistema $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-BSA-phen}$ a pH = 7,4, considerando a formação de $\text{Cu}(\text{phen})_n$ ($n = 1\text{--}3$) e de espécies Cu-BSA-phen , em função da concentração total de $[\text{Cu}(\text{phen})_n]^{2+}$ adicionada, na gama $1\text{--}40 \mu\text{M}$ [18], e tomando $[\text{BSA}]_T = 40 \mu\text{M}$. A: representação das espécies que contêm Cu^{II} ; B: representação das espécies que contêm phen. Para os cálculos usou-se o programa HySS [16] e as constantes de formação de [18].

Efeito da presença de agentes complexantes na natureza das espécies presentes em solução

Na grande maioria dos artigos com dados de citotoxicidade de complexos de iões metálicos lábeis, normalmente os compostos são preparados e caracterizados no estado sólido e também em solução por técnicas variadas em que os complexos estão dissolvidos em concentrações da ordem do mM em solventes contendo uma proporção apreciável de componentes orgânicos (por exemplo, metanol e DMSO). Por outro lado, os complexos são adicionados aos meios de incubação das células em concentrações na gama $0,1\text{--}100 \mu\text{M}$ e usados tempos de incubação entre 3 e 72 h. Na grande maioria dos estudos não se têm em conta as mudanças que podem ocorrer na esfera de coordenação do complexo, quer pela elevada diluição após adição ao meio de incubação, quer pela presença de inúmeros agentes complexantes existentes nesse meio. Normalmente, também não se têm em conta mudanças no estado de oxidação do ião metálico nos casos em que isso pode ser relevante. No entanto, para ser possível determinar qual a 'espécie ativa' e/ou estabelecer um mecanismo de ação biológica, no mínimo têm de ser identificadas as espécies relevantes presentes no meio de incubação.

Foram publicados estudos chamando a atenção para essas questões [20], nomeadamente para complexos de Cu^{II} e de V^{IV} com fenantrolina e derivados [18,21,22]. No caso dos complexos de Cu^{II} e de V^{IV} , e para os meios tipicamente usados em testes de citotoxicidade com células de mamíferos (por ex., RPMI e DMEM), verificou-se que o agente complexante mais relevante é a albumina bovina (BSA), que é adicionada através do soro fetal bovino (FBS). Nos cálculos de especiação verificou-se que os ligandos presentes em maior concentração (aminoácidos, iões inorgânicos, etc.), não deslocam significativamente a phen da sua ligação ao Cu^{II} ou V^{IV} . No caso dos ligandos com constantes de ligação elevadas ao Cu^{II} e/ou envolvidos em reações redox, como é o caso da

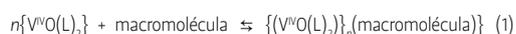
cisteína e da glutatona, estes estão em concentrações muito baixas nos meios de incubação.

Na Figura 3 representam-se diagramas de distribuição para o sistema Cu^{II}-BSA-phen a pH 7,4, em que se modela o resultado da adição de complexos (NO₃)₂[Cu(phen)₂] a um meio de incubação de células típico, em que a concentração de BSA total presente ([BSA]_T) é de 40 μM [18], que corresponde a ter-se adicionado 10% de FBS ao meio de incubação. Nos diagramas verifica-se que a maior parte do Cu^{II} não está na forma de complexos [Cu(phen)_n]²⁺, mas sim ligado à BSA, e uma parte significativa do ligando, que é bioativo, não está ligado ao Cu^{II}. Estes factos são certamente relevantes nos mecanismos de captação celular das várias espécies presentes em solução, colocando-se também a questão de qual a espécie a que se poderá atribuir o efeito biológico.

Estudos de interação de complexos com proteínas

Em estudos de interação de complexos com proteínas, ou em que o efeito do complexo na reação de uma enzima é testado, normalmente não é tido em conta que haverá uma troca parcial ou total de ligandos, quer quando o complexo preparado é adicionado ao meio a testar, quer quando a solução onde está dissolvido é diluída.

Um caso típico frequente é quando se avalia a interação de complexos com a BSA ou HSA (albumina do soro humano) por medidas de supressão de fluorescência. Estas são feitas com concentrações das proteínas de ~1 μM adicionando o complexo previamente dissolvido de forma a ter concentrações deste na gama 0,2-15 μM. Observando-se uma supressão de fluorescência, os tratamentos de dados efetuados podem ser mais ou menos complexos, mas normalmente assumem que a integridade do composto adicionado se manteve. Por exemplo, considerando a adição de um complexo de V^{IV} do tipo [V^{IV}O(L)₂], a sua reação com uma biomolécula é normalmente escrita como:



A constante de associação pode ser traduzida como:

$$K^{BC} = \frac{[(V^{IV}O(L)_2)_n(\text{macromolécula})]}{[V^{IV}O(L)_2]^n [\text{macromolécula}]} \quad (2)$$

Quando moléculas se ligam de forma independente a um conjunto de locais equivalentes de uma macromolécula, o valor de K^{BC} pode ser obtido pela eq. 3 [23]:

$$\log\left[\frac{(I_0 - I)}{I}\right] = \log K^{BC} + n \log[Q] \quad (3)$$

I₀ e I são as intensidades de fluorescência na ausência e na presença do agente supressor, [Q] é a concentração do agente de supressão livre e n o n.º de locais de ligação na macromolécula. Com esta metodologia, se se obtiver uma relação linear de

log[(I₀ - I)/I] vs. log[Q], podem ser determinados os valores de K^{BC} e n. Além de outras aproximações, este tratamento pressupõe que a natureza do agente de supressão, neste caso V^{IV}O(L)₂, se mantém, o que não é verdade na maioria dos casos.

Ir-se-á exemplificar com o caso da ligação de V^{IV}O(acac)₂ (Hacac = acetilacetona) à apotransferrina (apoHTF), que foi descrito em [24,25]. Foram medidos os espectros de fluorescência com [apoHTF] = 1,02 μM adicionando progressivamente uma solução de V^{IV}O(acac)₂ de forma a obter soluções com [V]_T:[apoHTF] entre 1 e 18 a pH = 7,4. Admitindo que a supressão de fluorescência observada é devida à ligação de V^{IV}O(acac)₂ (molécula não emissiva) à apoHTF, portanto que se está numa situação de supressão estática, usando a eq. 3 obteve-se K^{BC} = 1,0 × 10⁴ e n = 1,15.

Estes procedimentos são muito simples, pelo que têm sido muito usados. No entanto, mesmo não considerando as aproximações feitas, na sua maioria estão errados. Na verdade, em soluções aquosas contendo acetilacetona e V^{IV}O²⁺, à medida que o pH aumenta de 2 até ~8, as espécies que predominam são: V^{IV}O(H₂O)₅²⁺ → V^{IV}O(acac)⁺ → V^{IV}O(acac)₂. Tomando as constantes de formação de [26] e as de hidrólise do V de [27], obtém-se o diagrama de especiação da Figura 4. Pode verificar-se que a espécie inicialmente adicionada às soluções em que se medem os espectros de fluorescência, V^{IV}O(acac)₂, se decompõe quase totalmente, pelo que a utilização de eqs. do tipo de (3) dará resultados errados. No entanto, apesar de errado, este tipo de procedimentos continua a ser usado frequentemente na literatura.

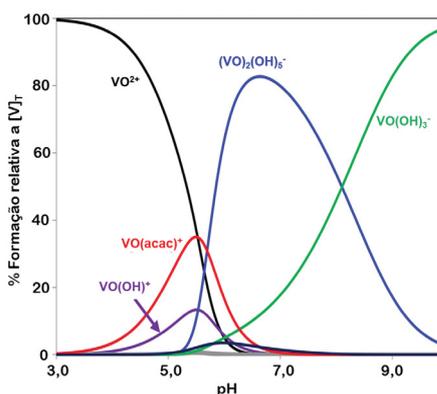
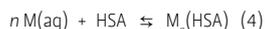


Figura 4 - Diagrama de distribuição de espécies, calculado com o programa HySS [16] para [V]_T = 2 μM e [acac] = 4 μM, considerando as constantes de formação de VO(acac)₂ de [26] e as constantes de hidrólise do VO²⁺ de [27].

Transporte no sangue

Se um composto terapêutico for administrado por via oral ou intravenosa, será transportado para os tecidos pela corrente sanguínea. O sangue é um sistema

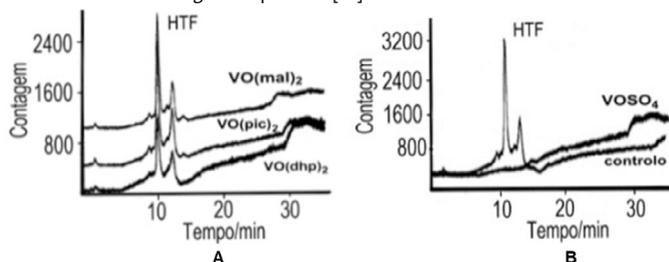
biológico muito complexo e mesmo considerando apenas o plasma, este contém um grande número de agentes complexantes de íons metálicos. No caso do Cu^{II} , os mais relevantes nos humanos são a ceruloplasmina e a albumina. Considerando a HSA, esta está presente com concentração de $\sim 630 \mu\text{M}$, formando-se complexos $\text{Cu}_n(\text{HSA})$ [28]:



As constantes de formação dos complexos 1:1 e 2:1 são $\log\{\beta_{\text{Cu}(\text{HSA})}\} \approx 12,5$ e $\log\{\beta_{\text{Cu}_2(\text{HSA})}\} \approx 21,5$ a $\text{pH} = 7,4$ [18,28]. Sendo estes valores elevados, se um complexo $\text{Cu}(\text{L})_m$ for adicionado, o ligando L tem de competir com a HSA na ligação ao íon Cu^{II} . A especiação do Cu^{II} no plasma irá depender não só das constantes de formação de todos os complexos de Cu^{II} que se podem formar, mas também das concentrações das espécies participantes (Cu^{II} , L, ceruloplasmina, HSA, etc.). Portanto, ao interpretar a ação terapêutica resultante da administração de $\text{Cu}(\text{L})_m$, não se pode partir simplesmente da ideia de que esta se deve ao composto $\text{Cu}(\text{L})_m$ adicionado.

No caso de compostos de vanádio introduzidos na corrente sanguínea, a situação tem uma complicação adicional que é o vanádio poder ter vários estados de oxidação relevantes: V^{III} , V^{IV} e V^{V} [10,29]. Complicando ainda mais a avaliação do sistema do mecanismo de ação, sabe-se que, além de serem transportados no plasma, os compostos de vanádio podem entrar nos glóbulos vermelhos [30-32]. No plasma sanguíneo, o vanádio pode ligar-se a várias proteínas (albumina, transferrina, imunoglobulinas), bem como ao citrato, lactato e outros componentes [31,33]. Verificou-se que para este íon o agente complexante mais relevante é a transferrina [27,34-36]. Na verdade, num trabalho em que foram adicionados vários complexos distintos a plasma sanguíneo, determinou-se por HPLC-ICP-MS (cromatografia líquida – espectrometria de massa de plasma acoplado indutivamente) que quase todo o vanádio ficou ligado à fração contendo transferrina (Figura 5) [37].

Figura 5 - Cromatogramas HPLC-ICP-MS obtidos após incubação; A: de plasma sanguíneo com soluções de $\text{V}^{\text{VO}}(\text{mal})_2$, $\text{V}^{\text{VO}}(\text{pic})_2$, $\text{V}^{\text{VO}}(\text{dhp})_2$, (Hmal = maltol, Hpic = ácido picolínico, Hdhp = 1,2-dimetil-3-hidroxi-4(1H)-piridinona); B: de uma solução de apoHTF com $\text{V}^{\text{VO}}\text{OSO}_4$. As bandas observadas a cerca de 10 e 12 min. correspondem a bandas da HTF. Figura adaptada de [37].



Captação celular e interação com biomoléculas

Mesmo admitindo que no meio em contacto com células, seja um meio de incubação ou um vaso sanguíneo em contacto com os tecidos celulares, os complexos mantêm a sua integridade, põe-se a questão de como se dá a sua captação pelas células, e no seu interior com que biomoléculas se darão as interações mais favoráveis.

No caso da incubação de células cancerígenas do ovário (A2780) com os complexos $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$, $\text{VO}(\text{phen})_2^{2+}$ ou $\text{VO}(\text{acac})_2$, apesar de, como se referiu atrás, quase não existirem nos meios de incubação as espécies $\text{Cu}(\text{phen})_n^{2+}$ [18], $\text{VO}(\text{phen})_n^{2+}$ [22], ou $\text{VO}(\text{acac})_n$ [24], o total de Cu e de V determinado por ICP-MS no interior das células é significativamente maior do que quando a incubação é feita com $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ [18] ou VOSO_4 [22]. Um outro aspeto é que, quer o vanádio, quer o cobre, não se distribuem uniformemente nas várias frações celulares analisadas: membranas, citoesqueleto, núcleo e citosol. Por exemplo, na incubação de células A2780 com $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$, cerca de 50% do Cu concentrou-se no citoesqueleto [18], enquanto que com $\text{VO}(\text{phen})_2^{2+}$ mais de 60% ficou associado ao sistema membranar (este inclui a mitocôndria) [24]. Além disso, foi também observado que o tipo de ligando presente no complexo original tem influência na distribuição do metal pelas várias frações celulares [24,38]. Ou seja, a presença do ligando no meio de incubação teve influência na captação do Cu e do V. As razões pelas quais isto acontece não são conhecidas. Nos casos de incubação com $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$ ou $\text{VO}(\text{phen})_2^{2+}$, nas condições que correspondem aos IC_{50} , as diferenças mais significativas nas especiações são a presença de $\text{Cu}(\text{phen})(\text{BSA})$ e $\text{VO}(\text{phen})(\text{BSA})$, respetivamente. Pode suceder que estas espécies sejam mais eficazmente absorvidas pelas células do que $[\text{Cu}_n(\text{BSA})]$ ou $[(\text{VO})_n(\text{BSA})]$ (as predominantes na ausência de phen no meio), mas isso nunca foi demonstrado.

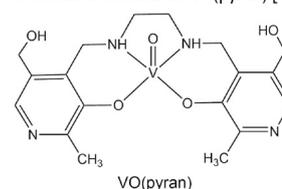
Considerando o cobre, há vários aspetos que devem ser comentados. Por exemplo, foram propostos mecanismos de ação na morte celular por compostos $\text{Cu}(\text{dphen})_2^{2+}$ em que o DNA é quebrado por esses complexos. No entanto, a maior parte dos estudos foram feitos em soluções com os complexos em contacto direto com DNA e nos ensaios com células é pouco provável que os complexos $\text{Cu}(\text{dphen})_2^{2+}$ atinjam os núcleos [39]. Na verdade, boa parte dos complexos de Cu de relevância terapêutica, incluindo os anticancerígenos, são desenhados para dar origem a ROS (espécies reativas de oxigénio) dentro das células que irão quebrar ligações nas moléculas biológicas. Para isso, além de terem potencial redox adequado, terão de resistir à sua decomposição. Ora o Cu estará presente

principalmente como Cu^I , sendo que no citosol abundam metalotioninas (MTs) e glutationa (GSH), as quais têm uma grande afinidade pelo Cu^I . Foi demonstrado que de uma forma geral os complexos não são estáveis na presença MTs e GSH [40], o que não só coloca problemas na identificação da espécie ativa na ação biológica, bem como constitui um desafio adicional no *design* de moléculas adequadas à sua utilização em terapêutica.

Considerando o vanádio, embora não sejam conhecidos no interior das células de mamíferos ligandos que o possam sequestrar, os seus complexos têm grande tendência para se hidrolisarem quando presentes em concentrações baixas, da ordem do μM , como sucede no interior das células. Isso foi demonstrado, por exemplo, com o complexo $\text{V}^{\text{VO}}(\text{pyran})$ (Figura 6) o qual tem uma constante de formação muito elevada ($\log \beta \approx 33$) [41]. Além disso, foi demonstrado com diversas proteínas, que mesmo quando os complexos estão presentes em concentração muito elevada ($\sim 10 \text{ mM}$), na ligação à proteína estes sofrem hidrólise parcial ou total. Por exemplo, na incubação de proteínas com $\text{VO}(\text{pic})_2$ obteve-se a ligação do complexo intacto à lisozima [42] e à tripsina [12], enquanto que com o $\text{VO}(\text{bipy})_2^{2+}$ obtiveram-se apenas adutos com a tripsina e a

lisozima contendo $\text{V}^{\text{VO}}(\text{bipy})_2^{2+}$ e com $\text{V}^{\text{VO}}(\text{phen})_2^{2+}$ obteve-se um aduto contendo $\text{V}^{\text{VO}}_2(\text{phen})(\text{Im})$ (Figura 7) (o imidazole veio do meio de incubação) [12]. Na incubação de lisozima com $\text{V}^{\text{VO}}\text{OSO}_4$ obteve-se uma estrutura com três locais de ligação do $\text{V}^{\text{VO}}_2^{2+}$ à proteína (Figura 7).

Figura 6 - Representação da estrutura molecular do $\text{VO}(\text{pyran})$ [41].



Conclusões

Em muitos trabalhos publicados em que se estudam as interações e efeitos biológicos ou catalíticos de complexos de iões metálicos lábeis, os investigadores admitem que os compostos mantêm a forma em que foram adicionados aos meios em estudo. Neste texto, dando exemplos de compostos de vanádio e de cobre, chama-se a atenção e demonstra-se que isso normalmente não acontece e que quanto menor for a concentração do complexo no meio em que é dissolvido ou maior o número e/ou a concentração

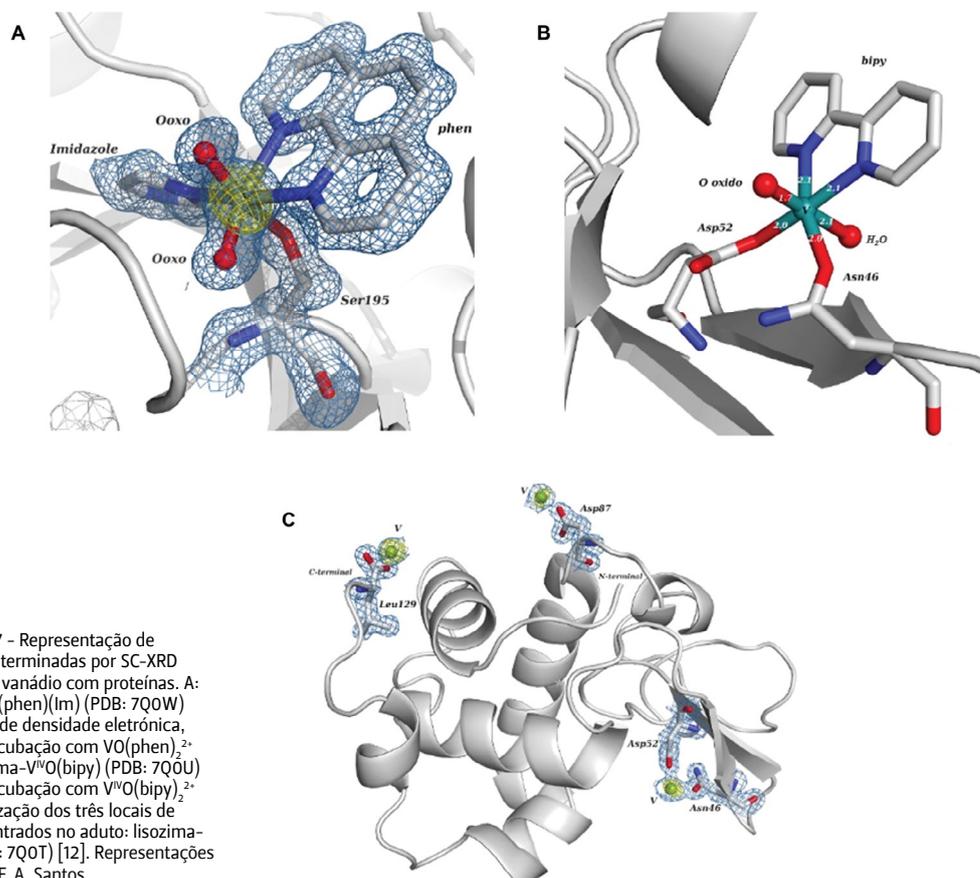


Figura 7 - Representação de estruturas determinadas por SC-XRD de adutos de vanádio com proteínas. A: tripsina- $\text{V}^{\text{VO}}_2(\text{phen})(\text{Im})$ (PDB: 7Q0W) e dos mapas de densidade eletrónica, obtido por incubação com $\text{VO}(\text{phen})_2^{2+}$ [12]; B: lisozima- $\text{V}^{\text{VO}}(\text{bipy})$ (PDB: 7Q0U) obtido por incubação com $\text{V}^{\text{VO}}(\text{bipy})_2^{2+}$ [12]; C: localização dos três locais de ligação encontrados no aduto: lisozima- $\text{V}^{\text{VO}}\text{OSO}_4$ (PDB: 7Q0T) [12]. Representações feitas por M. F. A. Santos.

de potenciais ligandos, mais extensamente correm os processos de hidrólise e/ou troca de ligandos. Por essa razão, propostas de mecanismos de ação ou de identificação das espécies catalítica ou biologicamente ativas têm de incluir, ou de alguma forma adequada ter em conta, a especiação desses metais nos sistemas em estudo.

Referências

- [1] R. J. P. Williams, J. J. R. Fraústo da Silva, "The Natural Selection of the Chemical Elements - The Environment and Life's Chemistry", Oxford University Press, Oxford, **1996**.
- [2] R. J. P. Williams, J. J. R. Fraústo da Silva, "The Chemistry of Evolution - The Development of our Ecosystem", Elsevier, Amsterdam, **2006**.
- [3] L. Rosenberg, L. VanCamp, J. E. Trosko, V. H. Mansour, *Nature* **1969**, 222, 385-386. DOI: 10.1038/222385a0.
- [4] K. D. Mjos, C. Orvig, *Chem. Rev.* **2014**, 114, 4540-4563. DOI: 10.1021/cr400460s.
- [5] C. F. Ramogida, C. Orvig, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 4720-4739. DOI: 10.1039/C3CC41554F.
- [6] D. C. Crans, K. Kostenkova, *Commun. Chem.* **2020**, 3, 104. DOI: 10.1038/s42004-020-00341-w.
- [7] L. Pettersson, I. Andersson, A. Gorzsas, *Coord. Chem. Rev.* **2003**, 237, 77-87. DOI: 10.1016/S0010-8545(02)00223-0.
- [8] K. Elvingsson, A. Gonzalez Baro, L. Pettersson, *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 3388-3393. DOI: 10.1021/ic951195s.
- [9] L. F. Vilas Boas, J. C. Pessoa, "Vanadium", in G. Wilkinson, R. D. Gillard, J. A. McCleverty (Eds.), "Comprehensive Coordination Chemistry", Vol. 3, Pergamon, Oxford, **1987**, 453-583.
- [10] D. C. Crans, J. J. Smee, E. Gaidamauskas, L. Yang, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 849-902. DOI: 10.1021/cr020607t.
- [11] J. C. Pessoa, E. Garribba, M. F. A. Santos, T. Santos-Silva, *Coord. Chem. Rev.* **2015**, 301, 49-86. DOI: 10.1016/j.ccr.2015.03.016.
- [12] M. F. A. Santos, G. Sciortino, I. Correia, A. C. P. Fernandes, T. Santos-Silva, F. Pisanu, E. Garribba, J. C. Pessoa, *Chem. Eur. J.* **2022**, 28, e202200105. DOI: 10.1002/chem.202200105.
- [13] F. Tisato, C. Marzano, M. Porchia, M. Pellei, C. Santini, *Med. Res. Rev.* **2010**, 30, 708-749. DOI: 10.1002/med.20174.
- [14] M. Aureliano, N. I. Gumerova, G. Sciortino, E. Garribba, C. C. McLauchlan, A. Rempel, D. C. Crans, *Coord. Chem. Rev.* **2022**, 454, 214344. DOI: 10.1016/j.ccr.2021.214344.
- [15] A. Selling, I. Andersson, L. Pettersson, C. M. Schramm, S. L. Downey, J. H. Grate, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 3141-3150. DOI: 10.1021/ic00092a021.
- [16] L. Alderighi, P. Gans, A. Lenco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, 184, 311-318. DOI: 10.1016/S0010-8545(98)00260-4.
- [17] R. Galindo-Murillo, J. C. Garcia-Ramos, L. Ruiz-Azuara, T. E. Cheatham, F. Cortes-Guzman, *Nucleic Acids Res.* **2015**, 43, 5364-5376. DOI: 10.1093/nar/gkv467.
- [18] P. Nunes, I. Correia, F. Marques, A. P. Matos, M. M. C. Santos, C. G. Azevedo, J. L. Capelo, H. M. Santos, S. Gama, T. Pinheiro, I. Cavaco, J. C. Pessoa, *Inorg. Chem.* **2020**, 59, 9116-9134. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.0c00925.
- [19] C. V. Banks, R. I. Bystroff, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 6153-6158. DOI: 10.1021/ja01532a013.
- [20] A. Levina, D. C. Crans, P. A. Lay, *Coord. Chem. Rev.* **2017**, 352, 473-498. DOI: 10.1016/j.ccr.2017.01.002.
- [21] M. Le, O. Rathje, A. Levina, P. A. Lay, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2017**, 22, 663-672. DOI: 10.1007/s00775-017-1453-4.
- [22] P. Nunes, I. Correia, I. Cavaco, F. Marques, T. Pinheiro, F. Avecilla, J. C. Pessoa, *J. Inorg. Biochem.* **2021**, 217, 111350. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2020.111350.
- [23] P. Thordarson, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 1305-1323. DOI: 10.1039/C0CS00062K.

>

Isabel Correia

Centro de Química Estrutural, Institute of Molecular Sciences.

Departamento de Engenharia Química, Instituto Superior Técnico.

É professora auxiliar do Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa.

Desenvolve o trabalho de investigação no Centro de Química Estrutural (CQE) em Química Bioinorgânica.

icorreia@tecnico.ulisboa.pt

ORCID.org/0000-0001-7096-4284

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Prof. Fraústo da Silva pelo envolvimento na criação do Centro de Química Estrutural e da sua componente forte em Química Bioinorgânica. Agradecem o suporte financeiro à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (projetos: UIDB/00100/2020, UIDP/00100/2020, LA/P/0056/2020).

- [24] I. Correia, I. Chorna, I. Cavaco, S. Roy, M. L. Kuznetsov, N. Ribeiro, G. Justino, F. Marques, T. Santos-Silva, M. F. A. Santos, M. S. E. Hugo, J. L. Capelo, J. Douth, J. C. Pessoa, *Chem. Asian J.* **2017**, 12, 2062-2084. DOI: 10.1002/asia.201700469.
- [25] J. C. Pessoa, I. Correia, *Inorganics* **2021**, 9, 17. DOI: 10.3390/inorganics9020017.
- [26] D. C. Crans, A. R. Khan, M. Mahroof-Tahir, S. Mondal, S. M. Miller, A. la Cour, O. P. Anderson, T. Jakusch, T. Kiss, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2001**, 3337-3345. DOI: 10.1039/B101718G.
- [27] J. C. Pessoa, *J. Inorg. Biochem.* **2015**, 147, 4-24. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2015.03.004.
- [28] W. Bal, J. Christodoulou, P. J. Sadler, A. Tucker, *J. Inorg. Biochem.* **1998**, 70, 33-39. DOI: 10.1016/S0162-0134(98)00010-5.
- [29] N. D. Chasteen, J. K. Grady, C. E. Holloway, *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 2754-2760. DOI: 10.1021/ic00236a021.
- [30] T. C. Delgado, A. I. Tomaz, I. Correia, J. C. Pessoa, J. G. Jones, C. F. G. C. Geraldes, M. M. C. A. Castro, *J. Inorg. Biochem.* **2005**, 99, 2328-2339. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2005.08.014.
- [31] D. Sanna, M. Serra, G. Micera, E. Garribba, *Inorg. Chem.* **2014**, 53, 1449-1464. DOI: 10.1021/ic402366x.
- [32] D. Sanna, J. Palomba, G. Lubinu, P. Buglyó, S. Nagy, F. Perdihi, E. Garribba, *J. Med. Chem.* **2019**, 62, 654-664. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01330.
- [33] J. C. Pessoa, I. Tomaz, *Curr. Med. Chem.* **2010**, 17, 3701-3738. DOI: 10.2174/092986710793213742.
- [34] J. C. Pessoa, S. Etchevery, D. Gambino, *Coord. Chem. Rev.* **2015**, 301, 24-48. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.12.002.
- [35] J. C. Pessoa, G. Goncalves, S. Roy, I. Correia, S. Mehtab, M. F. A. Santos, T. Santos-Silva, *Inorg. Chim. Acta* **2014**, 420, 60-68. DOI: 10.1016/j.ica.2013.11.025.
- [36] S. Mehtab, G. Goncalves, S. Roy, I. Tomaz, T. Santos-Silva, M. F. A. Santos, M. J. Romão, T. Jakusch, T. Kiss, J. C. Pessoa, *J. Inorg. Biochem.* **2013**, 121, 187-195. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2012.12.020.
- [37] T. Jakusch, D. Hollender, É. A. Enyed, C. S. Gonzalez, M. Montes-Bayon, A. Sanz-Medel, J. C. Pessoa, I. Tomaz, T. Kiss, *Dalton Trans.* **2009**, 2428-2437. DOI: 10.1039/B817748A.
- [38] G. Scalse, I. Correia, J. Benitez, S. Rostan, F. Marques, F. Mendes, A. P. Matos, J. C. Pessoa, D. Gambino, *J. Inorg. Biochem.* **2017**, 166, 162-172. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2008.11.004.
- [39] N. Z. Fantoni, Z. Molyph, C. Slator, G. Menounou, G. Toniolo, G. Mitrikas, V. McKee, C. Chatgililoglu, A. Kellett, *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 221-237. DOI: 10.1002/chem.201804084.
- [40] A. Santoro, J. S. Calvo, M. D. Peris-Díaz, A. Krezel, G. Meloni, P. Faller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 7830-7835. DOI: 10.1002/anie.201916316.
- [41] I. Correia, J. C. Pessoa, M. T. Duarte, R. T. Henriques, M. F. M. Piedade, L. F. Veiros, T. Jakusch, T. Kiss, A. Dörnyei, M. M. C. A. Castro, C. F. G. C. Geraldes, F. Avecilla, *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 2301-2317. DOI: 10.1002/chem.200305317.
- [42] M. F. A. Santos, I. Correia, A. R. Oliveira, E. Garribba, J. C. Pessoa, T. Santos-Silva, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, 3293-3297. DOI: 10.1002/ejic.201402408.

>

João Costa Pessoa

Centro de Química Estrutural, Institute of Molecular Sciences.

Departamento de Engenharia Química, Instituto Superior Técnico.

É professor catedrático aposentado do Instituto Superior Técnico, Uni-

versidade de Lisboa. Desenvolveu o trabalho de investigação no Centro de Química Estrutural (CQE) em Catálise e Química Bioinorgânica. Foi Coordenador do CQE de 2009 a 2014.

joao.pessoa@ist.utl.pt

ORCID.org/0000-0002-3978-9964

Controlo de Biometais no Contexto de Fármacos Multifuncionais para a Doença de Alzheimer

>
M. Amélia Santos
Sílvia Chaves

Biometal Targeting in the Context of Multifunctional Anti-Alzheimer's Disease Drugs. *Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent and severe dementia worldwide, with no cure so far, and it is expected to rise continuously due to its age-dependency and increased life expectancy. The AD patient's brain is mainly characterized by misaccumulation of proteins, namely extracellular β -amyloid protein ($A\beta$) aggregates and intracellular neurofibrillary tangles (NFT), as well as a great deficit in cholinergic neurotransmitters. Other etiological hypotheses for AD are the dysregulation of biometal ions and oxidative stress. This review makes a critical description of the commercially available drugs and the role of some bio-metal ions (iron, copper, zinc) and oxidative stress in $A\beta$ aggregation and AD trigger and progression. Finally, attention is drawn to the most relevant strategies that have been recently reported for the development of new multifunctional metal chelators aimed to target multiple disease processes, therefore emerging as promising AD therapeutic options.*

A doença de Alzheimer (AD) é a forma de demência mais comum e mais grave em todo o mundo, e ainda incurável, contando-se que o número de pacientes continue a crescer, uma vez que a idade é um fator determinante e a esperança de vida tem vindo a aumentar. O cérebro dos doentes com AD caracteriza-se pela acumulação de agregados de proteínas, nomeadamente de β -amiloide ($A\beta$) extracelular e de novos neurofibrilares (NFT) intracelulares, assim como uma acentuada quebra de neurotransmissores colinérgicos. Outras hipóteses etiológicas para a AD são a dishomeostase de biometais e o stress oxidativo. Este artigo de revisão faz uma apresentação crítica dos fármacos disponíveis no mercado, assim como do papel de alguns biometais (ferro, cobre e zinco) e do stress oxidativo no despoletar e progresso da AD. Finalmente, são indicadas as mais relevantes estratégias recentemente publicadas sobre o desenvolvimento de novos agentes quelantes de metais multifuncionalizados, com o objetivo de interferirem nos múltiplos processos da AD, os quais têm emergido como opções promissoras para potenciais terapias.

1. Introdução

A doença de Alzheimer (AD) é a forma mais frequente e grave de demência. Ela afeta cerca de 47 milhões de pessoas em todo o mundo, prevendo-se que em 2050 o número de pacientes triplique, o que torna cada vez mais urgente a procura de formas de terapia [1].

As características neuropatológicas da AD são diversas, incluindo a atrofia tanto do córtex cerebral como do hipocampo, a acumulação no cérebro de agregados proteicos, tais como placas senis extracelulares, devidas a agregados de β -amiloide ($A\beta$), e emaranhados neurofibrilares (NFTs), que correspondem a entrançados de fibras nos neurónios devidos à acumulação da proteína tau hiperfosforilada [2].

Embora tenha sido feito um enorme esforço de investigação no sentido de identificar a etiologia da AD, de modo a desenvolver novos fármacos eficazes, os mecanismos precisos que desencadeiam a doença, bem como a química biológica associada, ainda são desconhecidos e, na prática, a AD continua a ser uma doença incurável. Os factos do desenvolvimento da AD serem de natureza multifatorial e de ser muito difícil o conhecimento do cérebro, contribuem, sem dúvida, para a dificuldade de obter terapias eficazes que travem a progressão da doença.

Uma vez que esta doença se manifesta normalmente em idades mais maduras, isto parece indicar que a idade

será o maior fator de risco, apesar de poder haver também influência de outros fatores, tais como a genética, a hipertensão, a diabetes ou mesmo o tipo de dieta [3,4].

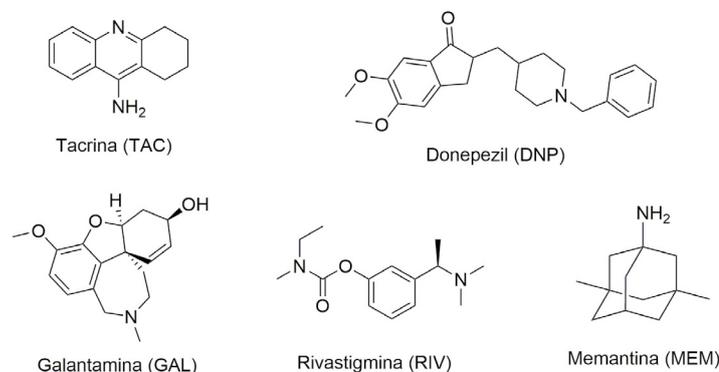
Foram propostas várias hipóteses para explicar o mecanismo e a neuropatologia da AD, tais como a acumulação no sistema nervoso central (CNS, do inglês *Central Nervous System*) de placas amiloide tóxicas, a dishomeostase de íons metálicos, o *stress oxidativo*, patologias associadas à proteína microtubular tau e o desequilíbrio do sistema colinérgico.

Vários estudos recentes investigaram tratamentos direcionados à A β , quer no sentido de evitar a sua agregação quer de detetar os agregados com o objetivo de os desintegrar [5]. Se bem que o processo de agregação global não seja reversível, surgiu uma nova geração de anticorpos monoclonais, direcionados para diminuir a progressão da doença, nomeadamente da velocidade de formação dos agregados A β : o Aducanumab (Adulhelm[®]) [6], da Biogen, aprovado em 2021 para a terapia da AD pela FDA (*Food and Drug Administration*, EUA); o Lecanemab (Leqembi[®]) [7], da Eisai Inc., aprovado em janeiro de 2023; e, finalmente, o Donanemab [8], da Eli Lilly, submetido para aprovação pela FDA em julho de 2023. Os três fármacos são administrados por via endovenosa, de duas em duas semanas. Se bem que o Aducanumab tenha sido o primeiro a conseguir uma diminuição de depósitos amiloide, o doente não apresenta melhoria clínica. Em contrapartida, o Lecanemab reivindica uma diminuição de 27% no declínio cognitivo dos pacientes, após tratamento por um período de 18 meses, enquanto o Donanemab anuncia uma diminuição de 35% no declínio cognitivo e um aumento de 40% na capacidade de realizar atividades quotidianas. No entanto, durante os ensaios clínicos realizados, foram detetados vários efeitos adversos resultantes da administração destes fármacos, maioritariamente resultantes de uma reação inflamatória na presença dos anticorpos, incluindo uma compressão da caixa craniana. Deste modo, a utilização destes anticorpos monoclonais é ainda questionável [9] e a Agência Europeia de Medicamentos (EMA, do inglês *European Medicines Agency*) não autorizou a sua utilização até à data [10], apesar do Lecanemab ter sido proposto recentemente para aprovação na Europa [11].

Posto isto, as terapias aprovadas pela FDA mais utilizadas envolvem compostos que compensam a perda colinérgica dos neurónios, nomeadamente inibidores da acetilcolinesterase (AChE) e da butirilcolinesterase (BChE): a Tacrina (Cognex[®]), o Donepezil (Aricept[®]), a Rivastigmina (Exelon[®]) e a Galantamina (Razadyne[®]). A Memantina (Namenda[®]), por sua vez, é um fármaco glutamatérgico, um antagonista do recetor N-metil-D-aspartato (NMDA) e em 2014 surgiu ainda um composto combinado, o Donepezil-Memantina (Namzaric[®]) [12,13].

Contudo, estes compostos aprovados pela FDA (ver Figura 1) oferecem apenas alguma melhoria cognitiva

Figura 1 - Fórmula estrutural dos fármacos anti-AD aprovados pela FDA: Memantina e inibidores das ChEs (Tacrina, Donepezil, Galantamina e Rivastigmina). Datas de aprovação pela FDA: TAC (1993), DNP (1996), GAL (2001), RIV (2000), MEM (2003).



e comportamental a curto prazo, nos casos de formas mais suaves da AD, melhorando a ação dos neurotransmissores durante um dado período, mas são, na realidade, incapazes de ter um efeito curativo ou de suspender a progressão da doença.

Desta forma, a pesquisa e o desenvolvimento de compostos para terapia e prevenção da AD continua a ser uma área de investigação de importância primordial, apesar dos diversos esforços já efetuados na procura de fármacos eficazes e de alguns avanços feitos relativamente à patogénese da AD.

Alternativamente, têm sido exploradas hipóteses de mecanismos de desenvolvimento desta doença, nomeadamente a hipótese da dishomeostase de íons metálicos, associada à descoberta da presença desregulada de biometais (Cu, Fe e Zn) e de níveis elevados de *stress oxidativo* em zonas suscetíveis dos cérebros de doentes com AD [14-16]. Desta forma, é reconhecida a ação dos agentes quelantes de íons metálicos no tratamento da AD, sendo responsáveis por moderar a neurodegenerescência mediada por metais, bem como por evitar a ferroptose ou a cuproptose [16,17].

Por outro lado, em doentes com AD são encontradas formas oxidadas de proteínas e lípidos em células neuronais e gliais, o que indica uma ligação entre o *stress oxidativo* e a progressão da doença. Desta forma, uma terapia antioxidante para prevenção e tratamento da AD, nomeadamente usando compostos multifuncionais, pode também tornar-se uma nova opção terapêutica para a AD [18].

Aqui ir-se-á abordar o efeito dos íons metálicos na degenerescência neuronal, nomeadamente na agregação de peptídeos A β e no desenvolvimento de fatores patológicos associados, tais como o *stress oxidativo*. Para além de uma revisão dos agentes quelantes mais recentes que demonstraram moderar a concentração dos metais, a agregação da A β e a atividade antioxidante, serão ainda apresentados outros compostos multifuncionais com capacidade quelante que, ao serem capazes de atingir

diferentes alvos da doença, potenciam a capacidade terapêutica por efeito aditivo ou sinérgico [19].

2. Neurodegenerescência induzida por metais na AD

Relativamente à maior parte das doenças neurodegenerativas, os metais são classificados em duas categorias: metais tóxicos com origem ambiental, tais como o Al e metais pesados (As, Pb, Cd) [20,21] e os chamados biometais, nomeadamente Cu, Fe e Zn [22]. Os estudos já efetuados têm incidido mais sobre este último grupo, devido à sua presença no CNS e ao seu papel fulcral em vários processos celulares, tais como a atividade/estrutura de várias metaloproteínas, a regulação da expressão dos genes e a transmissão de sinapses no cérebro [4]. Porém, para esse papel poder ser desempenhado, tem de haver um controlo rigoroso da sua presença em áreas específicas do cérebro, uma vez que em caso contrário ocorre degenerescência neuronal e o aparecimento de uma variedade de doenças neurodegenerativas, nomeadamente a AD. De facto, foram encontrados níveis elevados de iões de Cu, Fe e Zn em cérebros *post-mortem* de doentes com AD [14], podendo a acumulação destes iões nas placas amiloide dos pacientes atingir teores até cerca de 5,7, 2,9 e 2,8 vezes maiores, respetivamente, quando comparados com a situação em cérebros normais [23]. Apesar do papel desempenhado pelos iões metálicos no desenvolvimento e progressão da AD ter vindo a ser largamente debatido, permanece ainda desconhecida a causa da sua dishomeostase. A neurotoxicidade dos iões metálicos no cérebro pode estar ligada à alteração da atividade normal das enzimas (β - e γ -secretase) que quebram a proteína precursora amiloide (APP, do inglês *Amyloid Precursor Protein*), produzindo formas alteradas do peptídeo A β , com maior tendência para se dar a agregação, conduzindo desta forma à formação de placas A β , o que constitui uma característica chave da AD [24].

Relativamente ao ião cobre, parece ser consensual a sua ligação à AD devido à interação do Cu com a APP que afeta a atividade de quebra pela β -secretase para formação da A β . Mais ainda, o Cu interage com a A β , promovendo a sua agregação e neurotoxicidade. Para além disso, como o Cu é um ião metálico com atividade redox e elevada afinidade pelo peptídeo A β , a formação do complexo tóxico Cu²⁺-A β pode originar um ciclo redox e, através da reação de Fenton, levar à formação de espécies reativas de oxigénio (ROS, do inglês *Reactive Oxidative Species*), o que pode inclusive baixar a defesa antioxidante endógena e conduzir a dano oxidativo dos neurónios [15].

O zinco é um metal divalente que desempenha um papel importante na neuroquímica, estando envolvido na regulação da transmissão sináptica [25]. A dishomeostase do Zn, em cérebros de doentes com AD, é indicativa da sua

contribuição para a agregação da A β e da tau, embora a identificação dos mecanismos envolvidos ainda não esteja clarificada e seja algo controversa [26]. Na realidade, tal como no caso do ião metálico de Cu, o de Zn pode ser libertado da fenda sináptica e ligar-se aos peptídeos A β , formando complexos Zn²⁺-A β que também interferem na agregação e produzem agregados peptídicos tóxicos. Como o ião metálico de Zn não possui atividade redox, os complexos Zn²⁺-A β não podem catalisar diretamente a formação de ROS nem induzir *stress* oxidativo, mas foi reportada a sua capacidade para modular a atividade das secretases, que clivam a APP para originar A β , e também a sua participação em vários mecanismos de sinalização redox que controlam a homeostase redox. Em particular, o excesso de Zn nas mitocôndrias está associado a um aumento de ROS (um conteúdo elevado de Zn extracelular pode aumentar a ativação microglial e a formação de ROS), enquanto a deficiência em Zn induz *stress* oxidativo devido à redução da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e à intervenção na síntese de glutatona [27]. Em suma, apesar da controvérsia existente em torno do Zn na AD, este ião metálico biologicamente disponível parece cumprir um papel de intercomunicação com peptídeos e proteínas amiloidogénicas em doenças neurodegenerativas que envolvem o desdobramento de proteínas [28]. Na verdade, o aumento do conteúdo em Zn nas placas de A β indica que a dishomeostase do Zn no cérebro contribui para a progressão da AD.

O ferro é o metal de transição com atividade redox mais abundante no corpo e no cérebro humanos [29]. A existência deste elemento em quantidades maiores no cérebro deve-se ao facto de a este órgão estar associada a maior incidência de mecanismos oxidativos do corpo e dos tecidos do cérebro utilizarem o ferro em enzimas para transporte de oxigénio, na síntese de neurotransmissores, tais como a L-DOPA a partir da tirosina, ou na mielinização de neurónios [30]. O aumento da concentração de ferro em zonas do cérebro de doentes com AD tem sido associado a um aumento de *stress* oxidativo [4,14], embora o mecanismo envolvido na patogénese da AD ainda não seja claro. A acumulação de ferro também conduz à ativação da microglia, com consequente neuroinflamação e neurodegenerescência, via produção de ROS, podendo resultar em degradação de proteínas, lípidos e DNA [31].

Em conclusão, a hipótese da influência dos metais na AD postula que as alterações na homeostase e distribuição dos iões metálicos contribui para o desenvolvimento desta doença, uma vez que a deposição da A β , a hiperfosforilação da proteína tau [26], a perda de neurónios e a neuroinflamação são fenómenos que já foram associados a estes iões metálicos. Desta forma, o controlo do teor em iões metálicos, através da utilização de mecanismos de complexação, poderá reduzir a produção de radicais livres, inibir a agregação da A β e regular o transporte

de iões metálicos, devendo ser considerado como um contributo importante em casos patológicos.

3. Terapia de quelação: sequestração de metais e regulação da sua homeostase

Com base na hipótese de que a dishomeostase dos metais no cérebro está associada a múltiplas desordens neurodegenerativas relacionadas com a idade, como é o caso da AD, o desenvolvimento de quelantes de biometais, capazes de repor a homeostase dos metais no cérebro dos pacientes [4,32,33], tornou-se uma das estratégias mais exploradas na terapêutica da AD [33], contrariamente à adoção de suplementos de metais ou de complexos metálicos, em casos de défice, pois ainda não foi comprovado um benefício cognitivo [34,35].

Entre os biometais de transição, o Cu é o elemento que exhibe uma mais elevada dishomeostase no cérebro, uma maior afinidade para a A β e efeitos mais pronunciados nos depósitos de β -amiloide e atividade inflamatória, e daí que a procura de agentes quelantes específicos para o Cu tenha atraído mais cedo e mais insistentemente a atenção dos cientistas na busca de terapias mais eficazes para a AD. Embora tanto o Cu como o Fe estejam localizados nas placas de A β no cérebro de pacientes com AD, e a formação de complexos Fe-A β tóxicos tenha sido associada a esta doença [36], há sem dúvida uma menor pesquisa de quelantes de Fe como anti-neurodegenerativos [37]. Relativamente ao Zn, e apesar da sua dishomeostase nos cérebros de pacientes e da sua ação concertada com o Cu na regulação da A β na AD [28], ainda menos atenção tem sido dada ao desenvolvimento de terapêuticas anti-AD que envolvam a quelação do Zn.

Um número elevado de agentes quelantes foi já desenvolvido e estudado, como potenciais medicamentos anti-neurodegenerativos para a AD, entre os quais pequenos ligandos sintéticos, moléculas não-peptídicas e do tipo peptídeo [12,17,33].

A escolha dos agentes quelantes deve levar em conta as especificidades da química de coordenação do ião metálico em questão, sendo importante que tanto a força do quelante como a sua seletividade sejam analisadas, de modo a evitar a eliminação do corpo de outros metais essenciais. Todos estes compostos devem possuir dois ou mais átomos doadores de eletrões, de modo a poderem formar duas ou mais ligações de coordenação ao ião metálico, de forma bidentada ou polidentada, respetivamente. A estabilidade dos respetivos complexos metálicos depende de vários fatores, entre os quais o tipo de átomos doadores envolvidos na coordenação, o tipo de ião metálico e o número de anéis de quelação. Uma vez que a afinidade metal-ligando segue a regra de Pearson de “ácidos e bases macios e duros” (HSAB, do inglês *Hard and Soft Acids and Bases*) [38], os quelantes mais adequados para os iões intermédios (macio-duro)

Cu²⁺ e Zn²⁺ devem incluir preferencialmente átomos doadores N,N- ou N,O-, enquanto que para o ião duro Fe³⁺ os ligandos também podem incluir átomos doadores N,O- mas preferencialmente O,O-. Mais ainda, todos os agentes quelantes e respetivos complexos metálicos devem ser estáveis sob condições fisiológicas e possuir parâmetros farmacocinéticos adequados [39].

Na secção seguinte vão ser apresentados alguns exemplos representativos descritos na bibliografia mais recente nesta área de investigação [12,17,33], principalmente envolvendo os últimos quatro a cinco anos. Numa primeira abordagem, serão referidos compostos quelantes monofuncionais, pensados para modular e controlar os efeitos tóxicos mais graves associados à presença de determinados níveis de metais endógenos no cérebro. No entanto, devido à reconhecida natureza multifatorial da AD, serão também apresentados exemplos de quelantes metálicos polifuncionais, desenvolvidos para lidar com diferentes alvos já identificados e associados a esta doença.

4. Derivados de agentes quelantes de metais endógenos para o tratamento da AD: multifuncionalidade e multivetorização

A abundante existência de ensaios pré-clínicos, *in vitro* e *in vivo*, que evidenciam o papel dos biometais de transição (Cu, Zn e Fe) no despoletar e na progressão de doenças neurodegenerativas como a AD, justifica o número elevado de agentes complexantes de metais, mono- e poli-funcionalizados, que têm sido recentemente desenvolvidos e testados. Contudo, infelizmente, só em poucos casos esses ensaios pré-clínicos evoluem para ensaios clínicos [40].

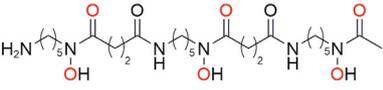
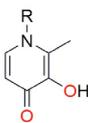
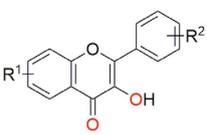
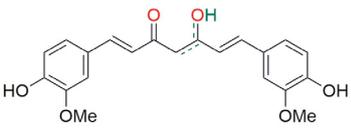
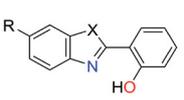
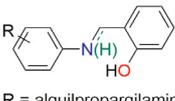
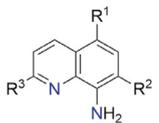
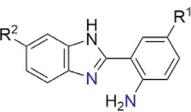
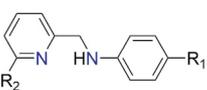
Para ajudar a compreender melhor o papel e as características dos agentes quelantes de metais de transição endógenos que têm sido mais desenvolvidos e estudados em ensaios clínicos ou apenas pré-clínicos em doenças neurodegenerativas como a AD, irá ser feita uma análise breve e sistemática das suas estruturas mais comuns e da relação estrutura-atividade, tendo em conta o alvo metálico específico. Com efeito, a especificidade e a seletividade de um agente quelante para um determinado ião metálico dependem, em larga medida, do tipo de átomos eletrodadores [(O,O), (N,O), (N,N)] que estão envolvidos na coordenação ao metal.

A Tabela 1 inclui as estruturas de um conjunto representativo de agentes quelantes, mono- ou poli-funcionais, que têm sido desenvolvidos e ensaiados como potenciais fármacos anti-neurodegenerativos. É importante realçar que estes agentes quelantes estão muitas vezes encaixados em unidades aromáticas convenientemente substituídas e, em muitos casos, ainda são extrafuncionalizados para poderem simultaneamente atingir outros alvos patológicos mais relevantes. Desta forma, estes quelantes multifuncionais podem também reduzir ou inibir outros efeitos devastadores na

neurodegeneração, tais como a agregação errada de peptídeos ou proteínas, a formação de ROS e a atividade de enzimas envolvidas na degradação de neurotransmis-

sores, como os colinérgicos (AChE e BChE) e a dopamina (monoamino oxidases, MAOs), podendo ser considerados potenciais fármacos pleiotrópicos.

Tabela 1 - Seleção de derivados de agentes quelantes desenvolvidos e estudados em ensaios clínicos ou pré-clínicos como potenciais agentes anti-AD e seus principais alvos patológicos.

Composto/Classe	Coordenação	Estrutura química	Alvos	Ref. ^a
Desferrioxamina	3x(0,0)	 <p style="text-align: center;">DFO</p>	Fe ³⁺ ROS	[41]
Hidroxipiridonas	(0,0)	 <p>R = Me (DFP) R = alquilamida-TAC</p>	Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ ROS Aβ, AChE	[42-44]
Flavonoides	(0,0)	 <p>R¹ = 3-OH, R² = 3',4'-OH (Fisetina)</p>	Fe ³⁺ ROS Aβ	[45,46]
Curcumina	(0,0)		Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ Aβ, ROS,	[47-50]
Hidroxiquinolina	(N,0)	 <p> $\left\{ \begin{array}{l} \text{CQ} \quad \text{R}^1 \quad \text{R}^2 \quad \text{R}^3 \\ \text{PBT}_2 \quad \text{Cl} \quad \text{I} \quad \text{H} \\ \quad \quad \text{Cl} \quad \text{Cl} \quad \text{CH}_2\text{NMe}_2 \end{array} \right.$ R² = alquilamina-TAC/DNP </p>	Cu ²⁺ , Zn ²⁺ Aβ, ROS AChE	[51-57]
Fenol-benzimidazol/ benzotiazol	(N,0)	 <p>BIM (X = N) R = alquilamida-TAC/DNP/RIV BT (X = S)</p>	Cu ²⁺ , Zn ²⁺ Aβ, ROS AChE, BChE MAO	[58-62]
Piperidino- fenol	(N,0)	 <p>R = alquilpropargilamina</p>	Cu ²⁺ , Zn ²⁺ Aβ, ROS MAO	[63,64]
Aminoquinolina	(N,N)		Cu ²⁺ (Zn ²⁺) Aβ, ROS	[65,66]
Piperidino- benzimidazol	(N,N)		Cu ²⁺ (Zn ²⁺) Aβ, ROS	[58]
Piperidino-piridina (análogo do estilbeno)	(N,N)		Cu ²⁺ (Zn ²⁺) Aβ, ROS	[67]

Agentes quelantes com coordenação (O,O)

Tendo em conta a acumulação/distribuição anormal do ferro nos cérebros de pacientes com doenças neurodegenerativas, como a AD e a doença de Parkinson (PD), e os seus reconhecidos efeitos danosos associados a reações redox e geração de radicais livres [35], os primeiros ensaios clínicos com agentes quelantes de metais para tratamento da AD começaram com quelantes do ferro. Assim, começou por ser usada a desferrioxamina (DFO) (ver Tabela 1) [41], um agente tris-quelante forte (com três grupos quelantes hidroxamato disponíveis para a tris-coordenação (O,O) ao Fe^{3+}), o qual ainda é correntemente usado no tratamento de pacientes com *overdose* de ferro. Contudo, além da sua baixa biodisponibilidade, a DFO revelou problemas de baixa acessibilidade ao cérebro e de intolerâncias na administração.

Subsequentemente, surgiu a Deferriprona (DFP) (ver Tabela 1) [68], um outro agente quelante bastante usado para tratamento de doenças com distúrbios de *overdose* de ferro, e que também tem sido objeto de ensaios clínicos para moderação do ferro em doenças neurodegenerativas incluindo a AD e a PD [69]. Apesar da DFP ter apenas um grupo quelante (O,O), e por isso uma capacidade quelante mais moderada do que a DFO, tem a vantagem de possuir maior biodisponibilidade e capacidade para atravessar a barreira hematoencefálica (BBB, do inglês *Blood-Brain Barrier*), penetrando em membranas celulares e saindo a seguir como complexo de ferro, redistribuindo assim este ião pelas feroproteínas. Nos ensaios clínicos com DFP, tem sido dado maior destaque aos efetuados com doentes com PD, com resultados recentes (dezembro de 2022) bastante encorajadores [70]. Porém, os estudos clínicos realizados com doentes com AD (que era suposto terem terminado em dezembro de 2021) ainda continuam a decorrer [71]. Têm também vindo a ser desenvolvidos e investigados muitos derivados da DFP, na tentativa de obter moléculas multifuncionais para a terapia da AD [42-44].

Foram, ainda, recentemente efetuados ensaios pré-clínicos e clínicos em doenças neurodegenerativas, envolvendo outros agentes quelantes com coordenação (O,O), destacando-se os polifenóis de origem natural, como flavonoides (ex.: fisetina, quercetina) [45,46], que se encontram em diversos frutos e legumes, e a curcumina que é um componente ativo da curcuma (açafraão-da-índia) (Tabela 1). Todos estes fitoquímicos polifenólicos têm sido reconhecidos pelas suas múltiplas atividades farmacológicas, nomeadamente na moderação e controlo de importantes alvos patológicos da AD, como a inibição de inflamação, a forte atividade antioxidante, a capacidade quelante de metais e a inibição da agregação de peptídeos $\text{A}\beta$ [47-50].

Agentes quelantes com coordenação (N,O)

Entre os vários agentes quelantes com coordenação (N,O) que foram ensaiados clinicamente para reduzir o efeito de metais em acumulações patológicas de proteínas amiloide e tau na AD, especial destaque é dado aos derivados da 8-hidroxiquinolina (8-HQ), nomeadamente o clioquinol (CQ) e o PBT2, com seletividade para a quelação de Zn^{2+} e Cu^{2+} (ver Tabela 1). O CQ foi o primeiro derivado da 8-HQ a ser explorado e ensaiado *in vivo* que conduziu a resultados positivos com benefício na capacidade cognitiva e na memória dos pacientes com AD [72]. Contudo, posteriormente, foram obtidos melhores resultados e com menor toxicidade para o derivado PBT2 [73]. Mais recentemente, apareceu um derivado promissor tetradentado, a bis-(8-hidroxiquinolina), $(\text{HQ})_2$, cujos estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram ter capacidade para extrair iões de cobre da $\text{A}\beta$ bem como para inibir a formação de ROS [55]. Apesar de positivos, os resultados dos ensaios clínicos e pré-clínicos indicaram que deveria ser feita mais investigação, nomeadamente orientada para o *design* de derivados multifuncionais. Exemplos desta estratégia são a intensa investigação em derivados de HQ [51-54], em particular os derivados da ligação/fusão desta unidade molecular com fármacos anti-AD ou com os seus princípios farmacológicos, como a TAC ou o DNP, resultando em compostos híbridos com capacidade de inibição da enzima AChE, uma importante propriedade desses fármacos [56,57].

Outros compostos com grupos quelantes contendo eletrodoadores (N,O), nomeadamente do tipo aminofenolato, têm sido desenvolvidos por analogia à tioflavina-T (Th-T), um corante amplamente utilizado na deteção de proteínas agregadas. Muito embora vários agentes quelantes derivados da Th-T, como fenolatos de benzotiazole (BT), já tenham sido estudados há cerca de uma década, evidenciando múltiplas propriedades anti-neurodegenerativas [58], foi ultimamente reportado um composto multifuncional conjugado benzotiazole-rodamina (BT-RD) com capacidade para inibir a toxicidade da proteína amiloide [74].

A reconhecida importância do grupo benzimidazol em química medicinal, nomeadamente pela sua inclusão num elevado número de moléculas farmacêuticas com vasta gama de atividades biológicas [75], incluindo compostos vetorizados para AD [76], levou ao recente desenvolvimento de compostos multifuncionais derivados de fenolato de benzimidazol (BIM) como potenciais fármacos anti-AD. Estas unidades moleculares associam a capacidade de interação com a $\text{A}\beta$ (inibição da sua agregação e formação de placas amiloides) com a de quelação de iões metálicos (Cu^{2+} , Zn^{2+} , envolvidos na agregação de $\text{A}\beta$) e a atividade antioxidante. É ainda de salientar que a extrafuncionalização destas unidades BIM com diferentes grupos de fármacos aprovados para

o tratamento da AD (tacrina, donepezil e rivastigmina), permitiu ainda a inibição das enzimas AChE e BChE responsáveis pela destruição de neurotransmissores colinérgicos das sinapses neuronais (acetilcolina, ACh e butilcolina, BCh). Digno de referência é ainda o facto de que alguns destes compostos híbridos multifuncionais terem também demonstrado capacidade para inibir a atividade de MAOs, enzimas responsáveis pela destruição da dopamina, outro neurotransmissor associado à neurodegeneração [59–62].

Ainda com alguma analogia com a CQ, foram desenvolvidos compostos multifuncionais anti-AD obtidos através da conjugação de unidades de piperidina com fenol, resultando num derivado imino do resveratrol (um fitonutriente polifenólico e estilbenoide, 3,5,4'-tri-hidroxi-*trans*-estilbeno, que se encontra na casca das uvas pretas e no vinho tinto) [63]. Além das propriedades quelantes de iões metálicos (Cu^{2+} , Fe^{3+} e Zn^{2+}), estes piperidinofenóis têm capacidade para inibir a agregação de peptídeos amiloides e a atividade antioxidante. A sua extrafuncionalização com o grupo propargilamina permitiu ainda atingir outros alvos patológicos da AD, como a MAO [64].

Agentes quelantes com coordenação (N,N)

Com o objetivo de aumentar a especificidade da quelação ao Cu^{2+} , relativamente ao Zn^{2+} , desenvolveram-se vários ligandos, envolvendo unidades de quelação com átomos doadores de eletrões (N,N), usualmente inseridos em esqueletos aromáticos de modo a facilitar a interação com as espécies Cu- $\text{A}\beta$ e controlar a agregação da $\text{A}\beta$ induzida pelo cobre e reduzir a sua neurotoxicidade. De entre os ligandos com coordenação (N,N) destacam-se os análogos das hidroxiquinolininas (CQ e PBT2), acima referidos, nomeadamente as aminoquinolininas, os derivados piperidino-benzimidazol e piperidino-piridina (ver Tabela 1).

Quanto às 8-aminoquinolininas, sobressaem estudos mais recentes com derivados tetradentados (N_4) como bis-aminoquinolininas, aminoquinolininas ligadas com grupos etanodiamina (*tetradentate monoquinoline*, TDMQ), que, relativamente às monoaminoquinolininas, apresentam um aumento da seletividade para o cobre (num meio rico em zinco) e da estabilidade do complexo de Cu^{2+} relativamente ao de Cu^+ , o que se reflete na redução do *stress* oxidativo induzido pelo complexo Cu- $\text{A}\beta$ [65]. Foram também recentemente reportados estudos farmacológicos com alguns destes compostos (ex.: TDMQ20) [66].

Tendo em conta a já aqui citada importância do grupo benzimidazol em diferentes fármacos [75,76], desenvolveram-se também ligandos com doadores (N,N) resultantes da conjugação piperidino-benzimidazol [58], com analogia à Th-T e à 8-aminoquinolina. Os resultados preliminares evidenciaram que os derivados

2-(2-aminofenil)-1H-benzimidazol acumulavam a capacidade de intercalação com a $\text{A}\beta$ com propriedades quelantes do cobre, podendo ser considerados potenciais candidatos a fármacos capazes de interferir na amiloidogénese da AD.

Ainda com coordenação (N,N) e com analogia a estilbenoides naturais, como o resveratrol, foram também desenvolvidos e estudados derivados bifuncionais do estilbeno (hidrocarboneto com uma ligação dupla *trans* eteno substituída por grupos fenilo) para interatuar e modular as espécies metal- $\text{A}\beta$. Em concreto, os conjugados piridino-piperidina ((piridin-2-il-metil) piperidina), com a introdução de grupos substituintes adequados nos anéis aromáticos, provaram ser capazes de diminuir os efeitos das espécies metal- $\text{A}\beta$ na neuropatologia da AD. De facto, estes compostos, pela sua capacidade de interagir com a $\text{A}\beta$ e de competir com o peptídeo amiloide pelo Cu^{2+} , demonstraram ser capazes de inibir a agregação da $\text{A}\beta$ induzida pelo cobre, assim como a produção de ROS a esta associada [67].

5. Conclusões e perspetivas futuras

Apesar dos enormes esforços e dos progressos científicos que têm sido realizados para uma cabal compreensão e tratamento efetivo da devastadora doença de Alzheimer, não existe ainda uma cura eficaz, mas apenas fármacos que apresentam alguma melhoria dos sintomas. As dificuldades encontradas na descoberta de uma cura para a AD têm sido maioritariamente atribuídas à natureza multifatorial e complexa dos vários mecanismos bioquímicos nela envolvidos, muitos dos quais ainda não compreendidos. Contudo, são reconhecidas algumas características patológicas de certas zonas do cérebro de pacientes com AD, em particular os depósitos anormais de proteínas, como as placas amiloide e os novos neurofibrilares, o declínio dos neurotransmissores colinérgicos, a desregulação de iões metálicos endógenos e o *stress* oxidativo. Apesar da reconhecida complexidade desta doença neurodegenerativa, os fármacos até agora comercializados e autorizados são essencialmente mono-vetorizados, *i.e.* só conseguem atingir e atrasar um desses processos biológicos, nomeadamente os fármacos para evitar a deterioração dos neurotransmissores colinérgicos através de inibição enzimática (anti-ChE, como o Donepezil e a Rivastigmina) ou para diminuir a placa amiloide (anticorpos monoclonais, como o Lecanemab e o Donanemab).

Assim, reconhecendo a relevância dos múltiplos mecanismos envolvidos na iniciação e progressão da AD, a opinião de muitos investigadores desta área médico-científica é de que a resposta futura para uma terapia eficaz da AD deverá passar pelo desenvolvimento e estudo de novos compostos multifuncionais e multi-vetorizados (*multitargetted directed ligands*,

MTDLs), capazes de intervir na múltipla cascata patológica da AD. Em particular, tendo em conta a importância do controlo da dishomeostase dos metais endógenos (*i.e.* Cu, Fe e Zn) e do *stress* oxidativo (*i.e.* ROS), bem como de outros processos patológicos importantes, tais como a inibição da aglomeração errada de proteínas (*i.e.* A β e tau) e da atividade de colinesterases, muitos agentes quelantes de metais têm sido recentemente desenvolvidos, visando a multifuncionalização e a vetorização para vários alvos patológicos da AD. Entre os exemplos mais significativos aqui apresentados, são de realçar os quelantes extrafuncionalizados que incluem nas suas estruturas unidades moleculares ou grupos bioativos de fármacos anti-AD já aprovados (*i.e.* inibidores ChEs) ou de outras doenças, reforçando desta forma a atividade destes fármacos pleiotrópicos e facilitando futuros processos translacionais. Embora

ainda haja muito por fazer sob o ponto de vista terapêutico, as estratégias aqui apresentadas poderão inspirar futuras opções no tratamento da AD.

Agradecimentos

As autoras agradecem ao Prof. Fraústo da Silva pelo envolvimento na criação do Centro de Química Estrutural (CQE) e na coordenação do Grupo de Química Bioinorgânica do CQE, assim como na transmissão de inúmeros conhecimentos importantes e inspiradores nesta área, dos quais destacamos o livro “Biochemistry of the Elements – The Inorganic Chemistry of Life (Oxford Univ. Press, 1991). As autoras agradecem ainda à Fundação para a Ciência e a Tecnologia o suporte financeiro através dos projetos: UIDB/00100/2020, UIDP/00100/2020, UIDB/04539/2020, UIDP/04539/2020 e LA/P/0058/2020.

Referências

- [1] a) H. Hampel, R. Au, S. Mattke, W. M. van der Flier, P. Aisen, L. Apostolova, C. Chen, M. Cho, S. De Santi, P. Gao, A. Iwata, R. Kurzman, A. J. Saykin, S. Teipel, B. Vellas, A. Vergallo, H. Wang, J. Cummings, *Nat. Aging*. **2022**, 2, 692-703. DOI: 10.1038/s43587-022-00269-x; b) A. Abbott, *Nature* **2022**, 603, 216-219. DOI: 10.1038/d41586-022-00651-0.
- [2] Y. Yi, M. H. Lim, *RSC Chem. Biol.* **2023**, 4, 121-131. DOI: 10.1039/D2CB00208F.
- [3] M. A. Beydoun, H. A. Beydoun, A. A. Gamaldo, A. Teel, A. B. Zonderman, Y. Wang, *BMC Public Health* **2014**, 14, 643. DOI: 10.1186/1471-2458-14-643.
- [4] K. D. Fasae, A. O. Abolaji, T. R. Faloye, A. Y. Odunsi, B. O. Oyeyayo, J. I. Enya, J. A. Rotimi, R. O. Akinyemi, A. J. Whitworth, M. Aschner, *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2021**, 67, 126779. DOI: 10.1016/j.jtemb.2021.126779.
- [5] J. Sevigny, P. Chiao, T. Bussièrè, P. H. Weinreb, L. Williams, M. Maier, R. Dunstan, S. Salloway, T. Chen, Y. Ling, J. O’Gorman, F. Qian, M. Arastu, M. Li, S. Chollate, M. S. Brennan, O. Quintero-Monzon, R. H. Scannevin, H. M. Arnold, T. Engber, K. Rhodes, J. Ferrero, Y. Hang, A. Mikulskis, J. Grimm, C. Hock, R. M. Nitsch, A. Sandrock, *Nature* **2016**, 537, 50-56. DOI: 10.1038/nature19323.
- [6] M. Tolar, S. Abushakra, J. A. Hey, A. Porsteinsson, M. Sabbagh, *Alzheimer’s Res. Ther.* **2021**, 12, 95. DOI: 10.1186/s13195-020-00663-w.
- [7] C. H. van Dyck, C. J. Swanson, P. Aisen, R. J. Bateman, C. Chen, M. Gee, M. Kanekiyo, D. Li, L. Reyderman, S. Cohen, L. Froelich, S. Katayama, M. Sabbagh, B. Vellas, D. Watson, S. Dhadda, M. Irizarry, L. D. Kramer, T. Iwatsubo, *N. Engl. J. Med.* **2023**, 388, 9-21. DOI: 10.1056/NEJMoa2212948.
- [8] J. R. Sims, J. A. Zimmer, C. D. Evans, M. Lu, P. Ardayio, J. D. Sparks, A. M. Wessels, S. Shcherbinin, H. Wang, E. S. M. Nery, E. C. Collins, P. Solomon, S. Salloway, L. G. Apostolova, O. Hansson, C. Ritchie, D. A. Brooks, M. Mintun, D. M. Skovronsky, *JAMA* **2023**, 330, 512-527. DOI: 10.1001/jama.2023.13239.
- [9] M. Shi, F. Chu, F. Zhu, J. Zhu, *Front. Aging Neurosci.* **2022**, 14, 870517. DOI: 10.3389/fnagi.2022.870517.
- [10] European Medicines Agency (EMA): [ema.europa.eu/en/documents/medicine-qa/questions-answers-refusal-marketing-authorisation-aduhelm-aducanumab_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/medicine-qa/questions-answers-refusal-marketing-authorisation-aduhelm-aducanumab_en.pdf) (accedido em 23/08/2023).
- [11] BIOARTIC: bioartic.se/en/european-medicines-agency-accepts-marketing-authorisation-application-for-lecanemab-as-treatment-for-early-alzheimers-disease/ (publicado em 27/01/2023).
- [12] S. Chaves, K. Várnagy, M. A. Santos, *Curr. Med. Chem.* **2021**, 28, 7247-7277. DOI: 10.2174/0929867328666210218183032.
- [13] U.S. Food & Drug Administration (FDA): [accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/206439lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/206439lbl.pdf) (accedido em 04/09/2023).
- [14] A. I. Bush, *J. Alzheimer’s Dis.* **2013**, 33 (Suppl. S1), S277-S281. DOI: 10.3233/JAD-2012-129011.
- [15] Y. Liu, M. Nguyen, A. Robert, B. Meunier, *Acc. Chem. Res.* **2019**, 52, 2026-2035. DOI: 10.1021/acs.accounts.9b00248.
- [16] L.-L. Chen, Y.-G. Fan, L.-X. Zhao, Q. Zhang, Z.-Y. Wang, *Bioorg. Chem.* **2023**, 131, 106301. DOI: 10.1016/j.bioorg.2022.106301.
- [17] M. A. Santos, K. Chand, S. Chaves, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, 327-328, 287-303. DOI: 10.1016/j.ccr.2016.04.013.
- [18] R. K. Sindhu, P. Kaur, P. Kaur, H. Singh, G.E.-S. Batiha, I. Verma, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2022**, 29, 24458-24477. DOI: 10.1007/s11356-021-17667-0.
- [19] C. Albertini, A. Salerno, P. de Sena Murteira Pinheiro, M. L. Bolognesi, *Med. Res. Rev.* **2021**, 41, 2606-2633. DOI: 10.1002/med.21699.
- [20] M. Nabi, N. Tabassum, *Front. Toxicol.* **2022**, 4, 837579. DOI: 10.3389/ftox.2022.837579.
- [21] M. B. Leko, L. L. Horvat, E. S. Popovacki, K. Zubcic, P. R. Hof, G. Simic, *Biomedicines* **2023**, 11, 1161. DOI: 10.3390/biomedicines11041161.
- [22] J. A. Duce, A. I. Bush, *Prog. Neurobiol.* **2010**, 92, 1-18. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2010.04.003.
- [23] J. Dong, C. S. Atwood, V. E. Anderson, S. L. Siedlak, M. A. Smith, G. Perry, P. R. Carey, *Biochem.* **2003**, 42, 2768-2773. DOI: 10.1021/bi0272151.
- [24] K. P. Kepp, *Coord. Chem. Rev.* **2017**, 351, 127-159. DOI: 10.1016/j.ccr.2017.05.007.
- [25] L. Wang, Y.-L. Yin, X.-Z. Liu, P. Shen, Y.-G. Zheng, X.-R. Lan, C.-B. Lu, J.-Z. Wang, *Transl. Neurodegener.* **2020**, 9, 10. DOI: 10.1186/s40035-020-00189-z.
- [26] A. C. Kim, S. Lim, Y. K. Kim, *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, 19, 128. DOI: 10.3390/ijms191010128.
- [27] C. Garza-Lombó, Y. Posadas, L. Quintanar, M. E. Gonsebatt, R. Franco, *Antioxid. Redox Signal* **2018**, 28, 1669-1703. DOI: 10.1089/ars.2017.7272.
- [28] J.-M. Suh, M. Kim, J. Yoo, J. Han, C. Paulina, M. H. Lim, *Coord. Chem. Rev.* **2023**, 478, 214978. DOI: 10.1016/j.ccr.2022.214978.
- [29] E. L. Que, D. W. Dommelle, C. J. Chang, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 1517-1549. DOI: 10.1021/cr800447y.
- [30] A. Pal, G. Cerchiaro, I. Rani, M. Ventriglia, M. Rongioletti, A. Longobardi, R. Squitti, *Biomolecules* **2022**, 12, 1248. DOI: 10.3390/biom12091248.
- [31] Y. Christen, *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, 71, 621S-629S. DOI: 10.1093/ajcn/71.2.621S.
- [32] L. E. Scott, C. Orvig, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 4885-4910. DOI: 10.1021/cr9000176.
- [33] M. Savellieff, G. Nam, J. Kang, H. J. Lee, M. Lee, M. H. Lim, *Chem. Rev.* **2019**, 119, 1221-1322. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00138.
- [34] L. M. F. Gomes, J. C. Bataglioli, T. Storr, *Coord. Chem. Rev.* **2020**, 412, 213255. DOI: 10.1016/j.ccr.2020.213255.
- [35] P. A. Adlard, A. I. Bush, *J. Alzheimer’s Dis.* **2018**, 62, 1369. DOI: 10.3233/JAD-170662.
- [36] R. J. Ward, F. A. Zucca, J. H. Duyn, R. R. Crichton, L. Zecca, *Lancet Neurol.* **2014**, 13, 1045-1060. DOI: 10.1016/S1474-4422(14)70117-6.
- [37] R. J. Ward, D. T. Dexter, R. R. Crichton, *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2015**, 31, 267-273. DOI: 10.1016/j.jtemb.2014.12.012.
- [38] R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 3533-3539. DOI: 10.1021/ja00905a001.
- [39] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, 46, 3-26. DOI: 10.1016/s0169-409x(00)00129-0.
- [40] N. Puentes-Díaz, D. Chaparro, D. Morales-Morales, A. Flores-Gaspar, J. Ali-Torres, *ACS Omega* **2023**, 8, 4508-4526. DOI: 10.1021/acsomega.2c06939.
- [41] D. R. C. McLachlan, A. J. Dalton, T. P. Kruck, M. Y. Bell, W. L. Smith, W. Kalow, D. F. Andrews, *Lancet* **1991**, 337, 1304-1308. DOI: 10.1016/0140-6736(91)92978-b.
- [42] S. Aytton, M. Woodward, K. A. Ellis, Y. Y. Lim, P. T. Maruff, P. M. Desmond, O. Salvado, A. Fazlollahi, C. C. Rowe, L. Churilov, A. I. Bush, *Alzheimer’s Dement.* **2020**, 16, 44107. DOI: 10.1002/alz.044107.

- [43] M. Bortolami, F. Pandolfi, D. De Vita, C. Carafa, A. Messori, R. Di Santo, M. Feroci, R. Costi, I. Chiarotto, D. Bagetta, S. Alcaro, M. Colone, A. Stringaro, L. Scipione, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *198*, 112350. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112350.
- [44] K. Chand, Rajeshwari, S. Chaves, M. A. Santos, *Metallomics* **2018**, *10*, 1460-1475. DOI: 10.1039/C8mt00143j.
- [45] P. Maher, *Brain Plast.* **2021**, *9*, 155-166. DOI: 10.3233/BPL-200104.
- [46] G. Nam, M. Hong, J. Lee, H. J. Lee, Y. Ji, J. Kang, M.-H. Baik, M. H. Lim, *Chem. Sci.* **2020**, *11*, 10243. DOI: 10.1039/d0sc02046j.
- [47] S. D. Voulgaropoulou, T. A. M. J. van Amelsvoort, J. Prickaerts, C. Vingerhoets, *Brain Res.* **2019**, *1725*, 146476. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.146476.
- [48] J. Lakey-Beitia, Y. Gonzalez, D. Doens, D. E. Stephens, R. Santamaria, E. Murillo, M. Gutierrez, P. L. Fernandez, K. S. Rao, O. V. Larionov, A. A. Durant-Archibold, *J. Alzheimer's Dis.* **2017**, *60* (s1), S59-S68. DOI: 10.3233/JAD-170071.
- [49] A. Orjuela, J. Lakey-Beitia, R. Mojica-Flores, M. L. Hegde, I. Lans, J. Ali-Torres, K. S. S. Rao, *J. Alzheimer's Dis.* **2021**, *82* (s1), S321-S333. DOI: 10.3233/JAD-200941.
- [50] S. Prasad, D. DuBourdieu, A. Srivastava, P. Kumar, R. Lall, *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 7094. DOI: 10.3390/ijms22137094.
- [51] R. A. Cherny, C. S. Atwood, M. E. Xilinas, D. N. Gray, W. D. Jones, C. A. McLean, A. I. Bush, *Neuron* **2001**, *30*, 665-676. DOI: 10.1016/S0896-6273(01)00317-8.
- [52] T. U. Silva, S. de P. Machado, *Quím. Nova* **2019**, *42*, 885-890. DOI: 10.21577/0100-4042.20170411.
- [53] K. L. Summers, G. P. Roseman, G. J. Sopsis, G. L. Millhauser, H. H. Harris, I. J. Pickering, G. N. George, *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 17519-17534. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.0c02754.
- [54] X. Yang, P. Cai, Q. Liu, J. Wu, Y. Yin, X. Wang, L. Kong, *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 3191-3201. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.04.043.
- [55] V. Oliveri, G. Vecchio, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2021**, 1993-1999. DOI: 10.1002/ejic.202100079.
- [56] F. Prati, C. Bergamini, R. Fato, O. Soukup, J. Korabecny, V. Andrisano, M. Bartolini, M. L. Bolognesi, *ChemMedChem* **2016**, *11*, 1284-1295. DOI: 10.1002/cmcd.201600014.
- [57] a) M. I. Fernández-Bachiller, C. Pérez, G. C. González-Muñoz, S. Conde, M. G. López, M. Villarroya, A. G. García, M. I. Rodríguez-Franco, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4927-4937. DOI: 10.1021/jm100329q; b) N. Wang, P. Qiu, W. Cui, X. Yan, B. Zhang, S. He, *Curr. Med. Chem.* **2019**, *26*, 5684-5710. DOI: 10.2174/092986732666181203124102.
- [58] C. Rodríguez-Rodríguez, N. S. de Groot, A. Rimola, A. Álvarez-Larena, V. Lloveras, J. Vidal-Gancedo, S. Ventura, J. Vendrell, M. Sodupe, P. González-Duarte, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1436-1451. DOI: 10.1021/ja806062g.
- [59] A. Hiremathad, R. S. Ker, A. R. Esteves, S. M. Cardoso, S. Chaves, M. A. Santos, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *148*, 255-267. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.02.023.
- [60] S. Chaves, S. Resta, F. Rinaldo, M. Costa, R. Josselin, K. Gwizdala, L. Piemontese, V. Capriati, A. R. Pereira-Santos, S. M. Cardoso, M. A. Santos, *Molecules* **2020**, *25*, 985. DOI: 10.3390/molecules25040985.
- [61] D. Vicente-Zurdo, N. Rosales-Conrado, M. E. León-González, L. Brunetti, L. Piemontese, A. R. Pereira-Santos, S. M. Cardoso, Y. Madrid, S. Chaves, M. A. Santos, *Biomedicines* **2022**, *10*, 1510. DOI: 10.3390/biomedicines10071510.
- [62] D. Vicente-Zurdo, L. Brunetti, L. Piemontese, B. Guedes, S. M. Cardoso, D. Chavarria, F. Borges, Y. Madrid, S. Chaves, M. A. Santos, *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 8312. DOI: 10.1038/s41598-023-39027-3.
- [63] S.-Y. Li, X. -B. Wang, L.-Y. Kong, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *71*, 36-45. DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.10.068.
- [64] S. Xie, J. Chen, X. Li, T. Su, Y. Wang, Z. Wang, L. Huang, X. Li, *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 3722-3729. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.04.009.
- [65] W. Zhang, Y. Liu, C. Hureau, A. Robert, B. Meunier, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 7825-7829. DOI: 10.1002/chem.201801387.
- [66] F. Sun, J. Zhiao, H. Zhang, Q. Shi, Y. Liu, A. Robert, Q. Liu, B. Meunier, *ACS Chem. Neurosci.* **2022**, *13*, 3093-3107. DOI: 10.1021/acscchemneuro.2c00455.
- [67] S. Lee, X. Zheng, J. Krishnamoorthy, M. G. Savelieff, H. M. Park, J. R. Brender, J. H. Kim, J. S. Derrick, A. Kochi, H. J. Lee, C. Kim, A. Ramamoorthy, M. T. Bowers, M. H. Lim, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 299-310. DOI: 10.1021/ja409801p.
- [68] Z. D. Liu, R. C. Hider, *Med. Res. Rev.* **2002**, *22*, 26-64. DOI: 10.1002/med.1027.
- [69] D. Devos, Z. I. Cabantchik, C. Moreau, V. Danel, L. M.-Sanchez, H. Bouchaoui, F. Gouel, A.-S. Rolland, J. A. Duce, J.-C. Devedjian., *J. Neural Transm.* **2020**, *127*, 189-203. DOI: 10.1007/s00702-019-02138-1.
- [70] D. Devos, J. Labreuche, O. Rascol, J.-C. Corvol, A. Duhamel, P. G. Delannoy, W. Poewe, Y. Compta, N. Pavese, E. Růžicka, P. Dušek, B. Post, B. R. Bloem, D. Berg, W. Maetzler, M. Otto, M.-O. Habert, S. Lehericy, J. Ferreira, R. Dodel, C. Tranchant, A. Eusebio, S. Thobois, A.-R. Marques, W. G. Meissner, F. O. Magne, U. Walter, R. M. A. de Bie, M. Gago, D. Vilas, J. Kulisevsky, C. Januario, M. V. S. Coelho, S. Behnke, P. Worth, K. Seppi, T. Ouk, C. Potey, C. Leclercq, R. Viard, G. Kuchcinski, R. Lopes, J.-P. Pruvo, P. Pigny, G. Garçon, O. Simonin, J. Carpentier, A.-S. Rolland, D. Nyholm, C. Scherffer, J.-F. Mangin, M. Chupin, R. Bordet, D. T. Dexter, C. Fradette, M. Spino, F. Tricta, S. Ayton, A. I. Bush, J.-C. Devedjian, J. A. Duce, I. Cabantchik, L. Defebvre, D. Deplanque, C. Moreau, *N. Engl. J. Med.* **2022**, *387*, 2045-2055. DOI: 10.1056/NEJMoa2209254.
- [71] The Royal Melbourne Hospital: thermh.org.au/research/clinical-trials-research-studies/deferiprone-as-a-treatment-for-alzheimers-disease (accedido em 05/09/2023).
- [72] C. W. Ritchie, A. I. Bush, A. Mackinnon, S. Macfarlane, M. Mastwyk, L. MacGregor, L. Kiers, R. Cherny, Q. X. Li, A. Tammer, D. Carrington, C. Mavros, I. Volitakis, M. Xilinas, D. Ames, S. Davis, K. Beyreuther, R. E. Tanzi, C. L. Masters, *Arch. Neurol.* **2003**, *60*, 1685-1691. DOI: 10.1001/archneur.60.12.1685.
- [73] N. G. Faux, C. W. Ritchie, A. Gunn, A. Rembach, A. Tsatsanis, J. Bedo, J. Harrison, L. Lannfelt, K. Blennow, H. Zetterberg, M. Ingelsson, C. L. Masters, R. E. Tanzi, J. L. Cummings, C. M. Herd, A. I. Bush, *J. Alzheimers Dis.* **2010**, *20*, 509-516. DOI: 10.3233/JAD-2010-1390.
- [74] K. Pradhan, G. Das, C. Kar, N. Mukherjee, J. Khan, T. Mahata, S. Barman, S. Ghosh, *ACS Omega* **2020**, *5*, 18958-18967. DOI: 10.1021/acsomega.0c02235.
- [75] G. Kaur, M. Kaur, O. Silakari, *Mini Rev. Med. Chem.* **2014**, *14*, 747-67. DOI: 10.2174/1389557514666140820120518.
- [76] H. O. Gulcan, A. Mavideniz, M. F. Sahin, I. E. Orhan, *Curr. Med. Chem.* **2019**, *26*, 3261. DOI: 10.2174/0929867326666190124123208.

>

M. Amélia Santos

Centro de Química Estrutural - Instituto de Molecular Sciences.

Departamento de Engenharia Química. Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa.

Professora Jubilada do Departamento de Engenharia Química (IST), tem desenvolvido investigação científica na área de Química Bioinorgânica e Química Medicinal. Em particular, esta tem sido mais focada no desenvolvimento e na avaliação de novos potenciais fármacos, incluindo agentes quelantes para sequestração

de certos metais do corpo humano e, mais recentemente, compostos polifuncionais multivetorizados com vista à terapia da doença de Alzheimer. masantos@tecnico.ulisboa.pt
ORCID.org/0000-0002-4069-9368

>

Silvia Chaves

Centro de Química Estrutural - Instituto de Molecular Sciences.

Departamento de Engenharia Química. Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa.

Professora Auxiliar do Departamento de

Engenharia Química (IST), tem desenvolvido investigação científica na área da Química de Coordenação e Química Medicinal. Para além do desenvolvimento e avaliação de agentes quelantes em solução, ou suportados em matrizes sólidas, para aplicações ambientais ou medicinais, está ainda dedicada à avaliação físico-química e biológica de potenciais fármacos multifuncionais para terapia de doenças neurodegenerativas. silvia.chaves@tecnico.ulisboa.pt
ORCID.org/0000-0002-8554-4992

Aplicações Biomédicas de Complexos Metálicos e Polioxometalatos

> Manuel Aureliano*
Ana Luísa de Sousa-Coelho
Custódia Fonseca
Gil Fraqueza
Leonor Faleiro

Biomedical Applications of Metallic Complexes and Polyoxometalates. *In the last decades, there has been a growing interest in the applications of metals in biology, pharmacology, and medicine such as vanadium, tungsten, gold, and zinc. In addition to metal complexes, polyoxometalates (POMs), a diverse family of transition metal oxoanions (Mo, W, V), have also received attention due to their potential antibacterial, anticancer, and antiviral effects, among others. In this article, we briefly describe some cellular effects and possible mechanisms of action of vanadium and tungsten POMs and gold complexes that have anticancer, antiparasitic and/or antidiabetic activity.*

Nas últimas décadas, tem ocorrido um interesse crescente nas aplicações de metais em biologia, farmacologia e medicina, sendo exemplos o vanádio, o tungstênio, o ouro e o zinco. Para além dos complexos metálicos, os polioxometalatos (POMs), uma família diversificada de oxoaniões de metais de transição (Mo, W, V), têm sido igualmente alvo de atenção devido aos seus potenciais efeitos antibacterianos, anticancerígenos e antivirais, entre outros. Neste artigo, descreve-se de uma forma sucinta alguns efeitos celulares e possíveis mecanismos de ação de POMs de vanádio e tungstênio e de complexos de ouro que apresentam atividade anticancerígena, antiparasitária e/ou antidiabética.

1. Introdução

Cerca de 25 a 30 elementos da Tabela Periódica são considerados essenciais para o funcionamento normal dos sistemas biológicos desde a origem da vida e, entre eles, 12 são metais ou semimetais, os chamados “elementos inorgânicos” [1-3]. Os metais Na, K, Mg, Ca, Fe, Mn, Co, Cu, Zn e Mo são elementos essenciais para a vida que os organismos devem ter em quantidades adequadas. Por outro lado, semimetais como o B e o Si, contribuíram para a origem e evolução da vida na Terra [3]. Existem outros que são considerados possivelmente essenciais, como V e Cr, mesmo quando presentes em quantidades vestigiais. Por outro lado, existem metais e/ou semimetais considerados contaminantes tais como o Pb, Hg, Cd, As e Al que são conhecidos por serem prejudiciais para os sistemas vivos. Outros metais não essenciais como Au, Ag, Pt e Ru, são reconhecidos por terem diversas aplicações no tratamento de doenças humanas e são considerados potenciais novos fármacos do futuro [4].

2. Metais na biologia e na medicina

As últimas décadas levaram a avanços importantes no nosso conhecimento no âmbito da bioquímica inorgânica e testemunharam uma mudança constante

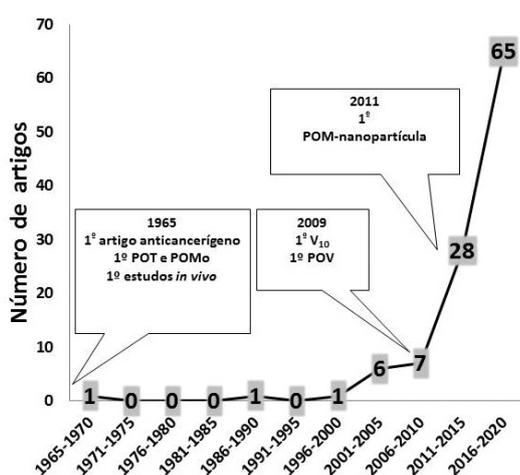
na visão tradicional das diversas funções que os metais, as suas espécies químicas e os seus complexos desempenham nos sistemas biológicos [3,4]. De facto, os compostos inorgânicos apresentam uma diversidade de propriedades que lhes têm permitido apresentar variadas e distintas aplicações biológicas e biomédicas [3,4]. Recentemente tem sido explorada a associação de iões metálicos e seus complexos, por exemplo tendo em mente a pandemia COVID-19, entre outras patologias, tais como a diabetes e a doença de Alzheimer (AD) [5-9].

Para além dos complexos metálicos, os polioxometalatos (POMs), uma família diversificada de oxoaniões de metais de transição (Mo, W, V), têm sido igualmente alvo de atenção [8]. O número de estudos sobre o uso de POMs tem aumentado na última década, constituindo em algumas áreas cerca de 70% do total, por exemplo no caso dos POMs como agentes antibacterianos, anticancerígenos (Figura 1) ou antivirais [9].

Na verdade, os profissionais das áreas de investigação em saúde reconhecem cada vez mais que certos oligoelementos (como por exemplo Cu, Co, Ni e Zn) são considerados possíveis candidatos para aplicações terapêuticas. O vanádio, por outro lado, devido às suas características únicas na atividade biológica, também

tem atraído interesse em muitos grupos de investigação em todo o mundo como potencial candidato no tratamento de certas doenças humanas, como cancro e diabetes, bem como infeções bacterianas e virais [4-9]. As propriedades biológicas multidirecionais do vanádio, ou seja, atividades antiviral, antibacteriana, antiproliferativa, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, antialérgica, antioxidante, anticancerígena, antidiabética, anti-úlceras e anti-obesidade, bem como a sua atividade neuroprotetora, nefroprotetora e efeitos cardioprotetores, constituem uma base para estudos da classe única de agentes farmacológicos contendo este metal [4-9].

Figura 1 - Número de artigos sobre POMs e cancro desde 1965. Os primeiros estudos sobre polioxotungstatos (POTs), polioxomolibdatos (POMOs), polioxovanadatos (POVs) e decavanadato (V_{10}) são salientados [9].



Os alvos moleculares de ação dos metais são normalmente biomoléculas com funções celulares essenciais à vida como, por exemplo proteínas e ADN [3-9]. Globalmente, poderemos ainda afirmar que os estudos recentes sobre os metais em biologia envolvem muitos investigadores jovens, apontando assim para uma nova geração de cientistas na área. De facto, o futuro é brilhante para a investigação do papel dos metais na biologia e na medicina [6-8]. Por outro lado, esta relativamente recente área interdisciplinar de investigação, metalómica, preenche uma lacuna no ensino universitário contemporâneo e tem o potencial de ser uma plataforma de ensino e de investigação para diversas áreas do conhecimento [10].

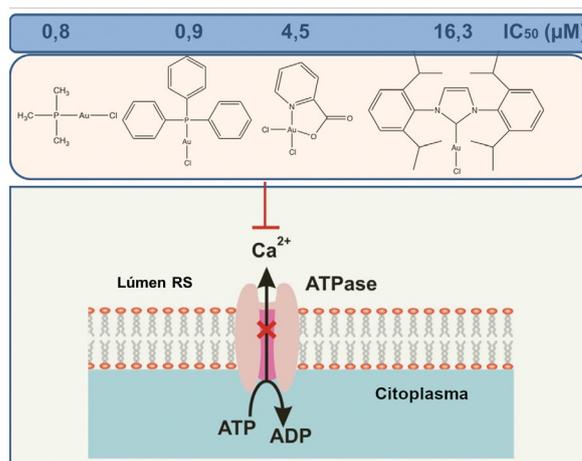
3. Metais nas áreas da microbiologia e da farmacologia

Apesar do progresso feito nos últimos anos sobre as aplicações farmacológicas de vários complexos contendo metais, existem certos aspetos que é necessário analisar antes que possam ser usados como metalofármacos no futuro. Estes incluem naturalmente um exame da suscetibilidade de diferentes células/tecidos aos efeitos destes compostos; reconhecimento de

fatores-chave que podem afetar o seu modo de ação; identificação de espécies químicas que em condições fisiológicas são responsáveis pelos efeitos observados; avaliação da sua toxicidade e dos mecanismos de ação; especificidade, transporte, distribuição, interferência nas vias de transdução de sinal e os mecanismos de absorção e excreção dos mesmos; correlações diretas ou indiretas entre a capacidade de determinados compostos e complexos contendo metais (incluindo POMs) inibirem determinados processos biológicos associados ao cancro, diabetes e doenças neurológicas, tais como a doença de Alzheimer, entre outras patologias [5-9].

As aplicações terapêuticas do ouro são bem conhecidas há vários séculos. Os compostos de ouro mais usados contêm Au(I). No nosso grupo de investigação verificou-se que determinados complexos de ouro (I e III) inibem fortemente a atividade da Ca^{2+} -ATPase de retículo sarcoplasmático (RS), SERCA (*sarco(endo)reticulum calcium ATPase*), com valores de IC_{50} de 0,8 e 0,9 μM , enquanto para outros complexos os valores de IC_{50} foram superiores (4,5 μM e 16,3 μM) (Figura 2). Estes resultados mostram que para além de Au(I), os compostos de Au(III) podem atuar como inibidores de ATPases do tipo P, como eventual mecanismo de ação desses complexos que se verificaram ocorrer em dois tipos de Ca^{2+} -ATPases, obtidas a partir da PMCA (*plasmatic membrane calcium ATPase*) e da SERCA (*sarco(endo)reticulum calcium ATPase*) [11,12].

Figura 2 - Valores de IC_{50} de inibição da Ca^{2+} -ATPase para quatro complexos de ouro. A inibição da ATPase afeta a homeostasia de Ca^{2+} e, conseqüentemente, vários processos celulares. RS: retículo sarcoplasmático. Adaptado de [11].



Num estudo conduzido por Faleiro e colaboradores [13], determinados POTs (polioxotungstatos) do tipo Preysler (P_5W_{30}) mostraram que, além de induzir a inibição do crescimento bacteriano, são capazes de interferir com o sistema de percepção de *quorum* (*quorum sensing*) e com a formação de biofilmes por bactérias resistentes a antibióticos, impedindo assim o processo de colonização bacteriana, o desenvolvimento de resistência a antibióticos

e a sua persistência, quer no ambiente quer no hospedeiro. Além disso, verificou-se que o composto P_5W_{30} reduziu a capacidade de replicação de vírus entéricos [13].

Eu suma, determinados alvos moleculares tais como as ATPases são reconhecidos como potenciais alvos moleculares de POMs e de certos complexos metálicos, embora se considere que ainda muito se encontra por descobrir sobre os mecanismos de ação destes potenciais agentes com aplicações antibacterianas e anticancerígenas [5,6,8,9].

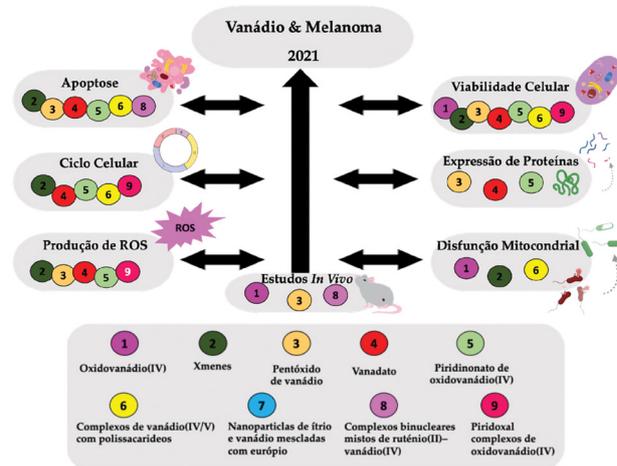
Na verdade, muitos dos mecanismos de ação dos metais e seus compostos e/ou complexos ainda não são suficientemente conhecidos. Além disso, os efeitos adversos do uso de compostos inorgânicos no tratamento de algumas doenças (principalmente o cancro) e a resistência ao seu tratamento são um problema sério na medicina moderna. Portanto, há uma procura constante de novas abordagens terapêuticas baseadas em complexos metálicos que garantam melhores resultados no tratamento e que contribuam para uma significativa desaceleração da progressão da doença. Como referido acima, os alvos terapêuticos, biodisponibilidade e farmacocinética de compostos contendo metais devem ser esclarecidos para que se possa garantir o sucesso clínico.

4. O potencial do vanádio para o tratamento do cancro – com enfoque no melanoma

O melanoma é o tipo mais agressivo de cancro da pele e a sua incidência tem vindo a aumentar anualmente em todo o mundo a um ritmo alarmante [14,15]. Apesar dos avanços no diagnóstico molecular, permitindo terapias personalizadas e mais direcionadas, e um maior número de opções de tratamento do cancro, existem ainda muitos desafios a ultrapassar (como a resistência aos medicamentos e o insucesso do tratamento), sendo necessário o desenvolvimento de novos tratamentos [16,17]. São vários os sais e complexos de vanádio que têm vindo a ganhar interesse devido às suas propriedades como potenciais agentes anticancerígenos [18,19].

Ao compilar informação científica sobre “Melanoma e Vanádio”, com o intuito de responder à questão do potencial dos compostos e/ou materiais de vanádio como futuros medicamentos anticancerígenos no tratamento do melanoma, encontramos vários compostos, nomeadamente: (1) oxidovanádio(IV); (2) XMenes; (3) pentóxido de vanádio; (4) vanadato; (5) complexos de piridinonato de oxidovanádio(IV); (6) complexos de polissacarídeos de vanádio(IV/V); (7) nanopartículas de vanadato de ítrio dopado com európio; (8) complexos binucleares de metal misto de ruténio(II)-vanádio(IV); e (9) complexos de oxidovanádio(IV) baseados em piridoxal [20]. Nesta seleção de nove artigos, os muitos efeitos descritos incluíram a diminuição da viabilidade celular, alterações da morfologia celular e apoptose, paragem do ciclo celular, produção de espécies reativas de oxigénio

Figura 3 - Os efeitos descritos para os diferentes compostos de vanádio incluem: viabilidade celular; alterações morfológicas e apoptose, ciclo celular, produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), disfunção mitocondrial, alteração na expressão de proteínas. Os compostos de vanádio são representados por bolas com diferentes números e cores [20].



(ROS, do inglês *Radical Oxygen Species*), inibição da respiração mitocondrial, expressão diferencial de proteínas e respetiva sinalização, regressão tumoral e aumento das taxas de sobrevivência em modelos animais [20], entre outros (Figura 3).

A diminuição da proliferação celular é um dos efeitos dos tratamentos para o cancro, o qual pode acontecer através de diversos mecanismos celulares. Entre muitos outros efeitos relacionados com o metabolismo celular [8,21], um dos *hallmarks* do cancro [22], foi demonstrado que os polioxovanadatos (POVs) inibiam o consumo de oxigénio ao nível da mitocôndria [23], bem como a atividade das ATPases do tipo P [24-26]. Por outro lado, alterações ao nível da peroxidação lipídica, pode ser um dos mecanismos envolvidos na ação anticancerígena do vanádio [27].

São vários os estudos que incluem POMs, e especificamente os POVs, dos quais se pode destacar o decavanadato ($[V_{10}O_{28}]^{6-}$) (Figura 4), tanto na forma de sal de sódio, como complexado com outras espécies químicas [8]. De facto, alguns exemplos são os complexos com bifosfonatos ou a metformina [28-30], os quais por si só já têm indicações terapêuticas aprovadas (osteoporose e diabetes, respetivamente), mas que também demonstraram efeitos antitumorais independentes do vanádio [31,32]. Vários destes POVs foram avaliados com base no seu efeito na redução da proliferação celular, através de ensaios colorimétricos que avaliam a viabilidade celular [30]. As linhas celulares utilizadas, representativas de vários tipos de cancro, foram maioritariamente as de cancro da mama, do pulmão e hepático [33], os quais correspondem aos tipos mais comumente diagnosticados e principal causa de morte por cancro a nível mundial [34].

Existe um grande interesse na reorientação de

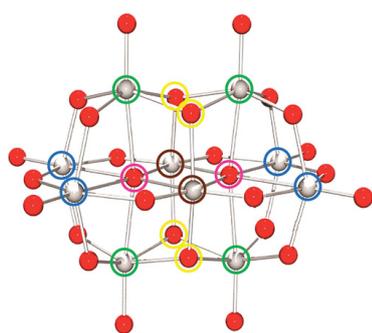


Figura 4 - Estrutura da espécie decamérica de vanadato, decavanadato, $V_{10}O_{28}^{6-}$. Código de cores: V, cinzento; O, vermelho. Os círculos a verde (em número de quatro), azul (quatro) e castanho (dois) referem-se aos átomos de vanádio com o mesmo ambiente químico [35].

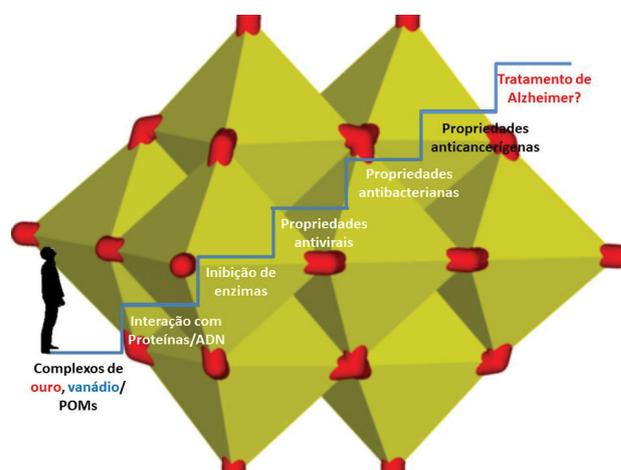
medicamentos, permitindo que medicamentos com aprovação de comercialização mais “antigos”, como a metformina, sejam disponibilizados aos doentes em tempo útil como “novos” tratamentos. Recentemente avaliámos o potencial do vanadato, do decavanadato e ainda do complexo metformina-decavanadato, como agentes anticancerígenos, tendo verificado uma diminuição da proliferação das células de melanoma após o tratamento com estes compostos [30]. Também verificámos que determinadas vias de sinalização celular importantes no desenvolvimento do cancro são alteradas pelo tratamento com o decavanadato, e como este altera o ciclo celular das células de melanoma. Este estudo, realizado por De Sousa-Coelho e colaboradores [30], contribui para o aumento da evidência científica que se tem vindo a acumular sobre o potencial de complexos contendo metais para o tratamento de cancro.

Em conjunto, estes estudos demonstram que estas aplicações do vanádio no tratamento do cancro, e especificamente no melanoma são possíveis, sugerindo uma oportunidade terapêutica, e fortalecendo o potencial uso destes metalofármacos num futuro próximo como agentes anticancerígenos.

5. Considerações finais e perspectivas futuras

O número de artigos sobre as aplicações biomédicas de complexos metálicos e de polioxometalatos (POMs) explodiu na última década. Para além de interagirem com as biomoléculas essenciais para os seres vivos, afetam a atividade de muitas enzimas bem como os principais processos bioquímicos, e possuem propriedades antibacterianas, antivirais, anticancerígenas e antidiabéticas, entre outras (Figura 5). Apresentam-se ainda como agentes promissores no tratamento de determinadas disfunções neurológicas, tais como a doença de Alzheimer, embora todos tenhamos a perceção que o caminho ainda está no início. Na verdade, os polioxometalatos têm sido referidos na AD como agentes promissores. O decavanadato, talvez o POM mais estudado na biologia, ou outros POMs, tais como o decaniobato, apresentam-se na linha da frente pois mostraram propriedades anti-AD. No entanto, a aplicação de metais na biomedicina tem evoluído rapidamente. Os complexos metálicos e os polioxometalatos estão a ser substituídos em muitas

Figura 5 - Para além de interagirem com as biomoléculas essenciais para os seres vivos, os complexos metálicos, os POMs, entre outros agentes metálicos, afetam a atividade de muitas enzimas, bem como os principais processos bioquímicos, e possuem propriedades antibacterianas, antivirais, anticancerígenas e antidiabéticas, entre outras. O futuro é brilhante para a aplicação dos metais na biomedicina.



situações por nanopartículas ou nanocompósitos contendo metais, uma vez que estes parecem diminuir os efeitos tóxicos e potenciar os resultados observados. Estudos mostraram ainda que a resistência bacteriana ao tratamento de antibióticos tem sido ultrapassada recorrendo a nanopartículas contendo metais. Seja como for, esta área interdisciplinar entre a química inorgânica e a biologia, isto é, a bioinorgânica do século XX ou a metalómica do século XXI, cada uma com linguagens próprias e muitas vezes difíceis de combinar, apresenta-se com o potencial para ser atualmente uma plataforma de investigação (para além do ensino) entre diversas áreas do conhecimento. Algumas delas, apenas imagináveis para alguns. Em qualquer dos casos, o futuro é brilhante para a aplicação dos metais nas ciências biomédicas!

Agradecimentos

Estes estudos receberam fundos nacionais portugueses da FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, através dos projetos UIDB/04326/2020, UIDP/04326/2020 e LA/P/0101/2020 (MA, CF, GF). Aos nossos Mestres e Professores, verdadeiros faróis que souberam esperar e motivar-nos para as viagens ao desconhecido e para novas descobertas sobre os metais e seus complexos na química, bioquímica e medicina. Agradecemos ainda à equipa editorial do *QUÍMICA* pela valiosa contribuição na edição deste trabalho.

Referências

- [1] R. Williams, J. Fraústo da Silva, “The Chemistry of Evolution: the development of our ecosystem”, Elsevier, **2006**. DOI: 10.1016/B978-0-444-52115-6.X5042-8.
- [2] R. J. P. Williams, *J. R. Soc. Interface* **2007**, *4*, 1049-1070. DOI: 10.1098/rsif.2007.0225.

- [3] M. Aureliano, P. A. Nolasco, J. J. R. F. da Silva, J. A. L. da Silva, *Quim. Nova* **2012**, *35*, 1062-1068. DOI: 10.1590/S0100-40422012000500036.
- [4] Q. Peña, A. Wang, O. Zaremba, Y. Shi, H. W. Scheeren, J. M. Metselaer, F. Kiessling, R. M. Pallares, S. Wuttke, T. Lammers, *Chem. Soc. Rev.* **2022**, *51*, 2544-2582. DOI: 10.1039/D1CS00468A.
- [5] A. Scibior, L. Pietrzyk, Z. Plewa, A. Skiba, *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2020**, *61*, 126508. DOI: 10.1016/j.jtemb.2020.126508.
- [6] M. Aureliano, N. I. Gumerova, A. Rompel, *Metals* **2023**, *13*, 1041. DOI: 10.3390/met13061041.
- [7] A. Scibior, M. Aureliano, A. A. Holder, J. Llopis, *Biology* **2023**, *12*, 868. DOI: 10.3390/biology12060868.
- [8] M. Aureliano, N. I. Gumerova, G. Sciortino, E. Garribba, A. Rompel, D. C. Crans, *Coord. Chem. Rev.* **2021**, *447*, 214143. DOI: 10.1016/j.ccr.2021.214143.
- [9] M. Aureliano, D. Marques-da-Silva, A. Serrano, J. Martins, L. Faleiro, C. Fonseca, G. Fraqueza, R. Lagoa, *Polyoxometalates with anticancer, antibacterial and antiviral activities*, in L. Ruiz Rubio, J. L. Vilas Vilela, B. Artetxe, J. M. Gutiérrez-Zorrilla (Eds.), "Polyoxometalates Adv. Prop. Appl.", Jenny Stanford Publishing, Nova Iorque, **2023**, pp. 309-358. DOI: 10.1201/9781003277446.
- [10] W. Maret, P. Blower, *Biochem. Mol. Biol. Educ.* **2022**, *26*, 283-299. DOI: 10.1002/bmb.21614.
- [11] C. Fonseca, G. Fraqueza, S. A. C. Carabineiro, M. Aureliano, *Inorganics* **2020**, *8*, 49. DOI: 10.3390/inorganics8090049.
- [12] M. Berrocal, J. J. Cordoba-Granados, S. A. C. Carabineiro, C. Gutierrez-Merino, M. Aureliano, A. M. Mata, *Metals* **2021**, *11*, 1934. DOI: 10.3390/met11121934.
- [13] L. Faleiro, A. Marques, J. Martins, L. Jordão, I. Nogueira, N. I. Gumerova, A. Rompel, M. Aureliano, *Biology* **2022**, *11*, 994. DOI: 10.3390/biology11070994.
- [14] G. Leonardi, L. Falzone, R. Salemi, A. Zanghi, D. A. Spandidos, J. A. McCubrey, S. Candido, M. Libra, *Int. J. Oncol.* **2018**, *52*, 1071-1080. DOI: 10.3892/ijo.2018.4287.
- [15] M. Rastrelli, S. Tropea, C. R. Rossi, M. Alaibac, *In Vivo* **2014**, *28*, 1005-1011. iv.iiarjournals.org/content/28/6/1005.
- [16] J. J. Luke, K. T. Flaherty, A. Ribas, G. V. Long, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2017**, *14*, 463-482. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.43.
- [17] J. Paluncic, Z. Kovacevic, P. J. Jansson, D. Kalinowski, A. M. Merlot, M. L. -H. Huang, H. C. Lok, S. Sahni, D. J. R. Lane, D. R. Richardson, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **2016**, *1863*, 770-784. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.01.025.
- [18] S. Treviño, A. Díaz, E. Sánchez-Lara, B. L. Sanchez-Gaytan, J. M. Perez-Aguilar, E. González-Vergara, *Biol. Trace Elem. Res.* **2019**, *188*, 68-98. DOI: 10.1007/s12011-018-1540-6.
- [19] E. Sánchez-Lara, S. Treviño, B. L. Sánchez-Gaytán, E. Sánchez-Mora, M. E. Castro, F. J. Meléndez-Bustamante, M. A. Méndez-Rojas, E. González-Vergara, *Front. Chem.* **2018**, *6*, 402. DOI: 10.3389/fchem.2018.00402.
- [20] C. Amante, A. L. De Sousa-Coelho, M. Aureliano, *Metals* **2021**, *11*, 828. DOI: 10.3390/met11050828.
- [21] A. Bijelic, M. Aureliano, A. Rompel, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2019**, *58*, 2980-2999. DOI: 10.1002/anie.201803868.
- [22] D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2011**, *144*, 646-674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [23] S. S. Soares, C. Gutiérrez-Merino, M. Aureliano, *J. Inorg. Biochem.* **2007**, *101*, 789-796. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2007.01.012.
- [24] M. Aureliano, V. M. C. Madeira, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **1994**, *1221*, 259-271. DOI: 10.1016/0167-4889(94)90249-6.
- [25] G. Fraqueza, C. A. Ohlin, W. H. Casey, M. Aureliano, *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *107*, 82-89. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2011.10.010.
- [26] G. Fraqueza, J. Fuentes, L. Krivosudský, S. Dutta, S. S. Mal, A. Roller, G. Giester, A. Rompel, M. Aureliano, *J. Inorg. Biochem.* **2019**, *197*, 110700. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2019.110700.
- [27] M. Aureliano, A. L. de Sousa-Coelho, C. C. Dolan, D. A. Roess, D. C. Crans, *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 5382. DOI: 10.3390/ijms24065382.
- [28] H. El Moll, W. Zhu, E. Oldfield, L. M. Rodriguez-Albelo, P. Mialane, J. Marrot, N. Vila, I. M. Mbomekallé, E. Rivière, C. Duboc, A. Dolbecq, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 7921-7931. DOI: 10.1021/ic3010079.
- [29] A. M. Silva-Nolasco, L. Camacho, R. O. Saavedra-Díaz, O. Hernández-Abreu, I. E. León, I. Sánchez-Lombardo, *Inorganics* **2020**, *8*, 67. DOI: 10.3390/inorganics8120067.
- [30] A. L. de Sousa-Coelho, M. Aureliano, G. Fraqueza, G. Serrão, J. Gonçalves, I. Sánchez-Lombardo, W. Link, B. I. Ferreira, *J. Inorg. Biochem.* **2022**, *235*, 111915. DOI: 10.1016/J.JINORGBIO.2022.111915.
- [31] Y. Zhang, R. Cao, F. Yin, M. P. Hudock, R. -T. Guo, K. Krysiak, S. Mukherjee, Y. -G. Gao, H. Robinson, Y. Song, J. H. No, K. Bergan, A. Leon, L. Cass, A. Goddard, T. -K. Chang, F. -Y. Lin, E. Van Beek, S. Papapoulos, A. H. -J. Wang, T. Kubo, M. Ochi, D. Mukkamala, E. Oldfield, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5153-5162. DOI: 10.1021/ja808285e.
- [32] M. S. M. Marjanovic, L. M. Vucicevic, A. R. Despotovic, M. M. Stamenkovic, K. D. Janjetovic, *Am. J. Cancer Res.* **2021**, *11*, 5625-5643. PMID: PMC8640802.
- [33] M. Aureliano, S. S. Mal, G. Fraqueza, A. L. de Sousa-Coelho, M. L. Faleiro, N. I. Gumerova, A. Rompel, *Polyoxovanadates: Catalysis, Pharmacology, Antibacterial and Anticancer Activities*, in A. J. L. Pombeiro, K. T. Mahmudov, M. de F. C. Guedes da Silva (Eds.), "Synth. Appl. Chem. Mater., WORLD SCIENTIFIC" **2024**, in press. DOI: 10.1142/13309.
- [34] H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray, *Cancer J. Clin.* **2021**, *71*, 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [35] M. P. M. Marques, D. Gianolio, S. Ramo, L. A. E. B. de Carvalho, M. Aureliano, *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 10893-10903. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.7b01018.

>

Ana Luísa de Sousa-Coelho

Algarve Biomedical Center Research Institute (ABC-RI); Escola Superior de Saúde, Universidade do Algarve.

Professora Adjunta Convidada na Universidade do Algarve desde 2016, onde leciona Biotecnologia do Fármaco, Toxicologia Farmacêutica, Biologia Molecular, Bioquímica e Investigação Aplicada em Farmácia. Desenvolve o seu trabalho de investigação na área do metabolismo, cancro, diabetes, obesidade e envelhecimento. alcoelho@ualg.pt
CIÊNCIA ID 691B-A574-28ED

>

Custódia Fonseca

Centro de Ciências do Mar; Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve.

Professora Auxiliar, leciona disciplinas de Química Orgânica e Química Far-

macêutica. Desenvolve atualmente o seu trabalho de investigação na área da Química Medicinal, com o estudo da atividade biológica de compostos orgânicos e inorgânicos na Ca^{2+} -ATPase e suas possíveis aplicações na Medicina/Farmácia. cfonseca@ualg.pt
ORCID.org/0000-0002-2480-3364

>

Gil Fraqueza

Centro de Ciências do Mar; Instituto Superior de Engenharia, Universidade do Algarve.

Professor Adjunto, leciona disciplinas na área da Química, Bioquímica e Toxicologia. A sua área de investigação está relacionada a Enzimologia da coagulação do leite, caracterização físico-química de produtos da agricultura biológica e sobre os efeitos dos oxometalatos nas bombas iónicas que inclui os seguintes tópicos: o papel dos polioxometalatos na

biologia; antioxidantes: efeitos tóxicos e/ou benéficos e bombas iónicas como alvos de toxinas/drogas. gfrage@ualg.pt
ORCID.org/0000-0003-2969-9292

>

Leonor Faleiro

Algarve Biomedical Center Research Institute (ABC-RI); Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve. Fundação Champalimaud.

Professora Auxiliar, leciona disciplinas na área da Microbiologia. A sua investigação está focada na identificação de desequilíbrios da microbiota intestinal associados a diferentes doenças e no combate das resistências aos antibióticos, procurando identificar a disseminação de estirpes bacterianas resistentes, assim como abordagens que permitam, com segurança, tratar as infeções

causadas por estas bactérias. mfaleiro@ualg.pt
ORCID.org/0000-0002-3878-6948

>

***Manuel Aureliano**

Centro de Ciências do Mar; Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve.

Professor Associado com Agregação em Bioquímica Inorgânica. Desenvolve o seu trabalho de investigação na área da Bioquímica Inorgânica, no estudo dos efeitos e/ou aplicações de polioxometalatos (POMs), em particular decavanadato, na bioquímica, biologia e medicina. Recentemente, fez parte da Direção da Sociedade Portuguesa de Bioquímica (SPB) (2015-2022) e é membro de outras sociedades, tais como a SPQ e a SBIC.

maalves@ualg.pt
ORCID.org/0000-0003-4858-3201

Elogio da Desnitrificação

>

Isabel Moura*
Sofia R. Pauleta
Marta S. P. Carepo

Cristina M. Cordas
Luísa B. Maia
José J. G. Moura

Praise of Denitrification. Denitrification is one of the main pathways in the nitrogen biogeochemical cycle, allowing nitrates and nitrites to be used as final acceptors for anaerobic respiration. This pathway comprises four consecutive oxygen abstraction reactions that are catalyzed by four different metalloenzymes, which have catalytic centers containing Mo, Cu and Fe. This metabolic pathway has been extensively studied by biochemists from a structural and functional point of view, with emphasis on the metal active centers of these enzymes, as well as by bioinorganic chemists who have synthesized model compounds of these active centers. The structures of these enzymes have been solved, and unique metal centers have been revealed, such as the “CuZ” center. The application of spectroscopic, bioelectrochemical and biophysical techniques, and kinetic studies have enabled the identification of some of the catalytic intermediates, and to obtain structural information on the electron transfer complexes and the stability of these enzymes. Despite these advances, some questions remain unanswered, and the study of this pathway continues to be fundamental for controlling both greenhouse gas emissions and excess nitrates in the soil, water, and air.

A desnitrificação é uma das principais vias do ciclo biogeoquímico do nitrogénio, permitindo a utilização de nitratos e nitritos como aceptadores finais da respiração anaeróbia. Esta via é composta por quatro reações consecutivas, de abstração de átomos de oxigénio, que são catalisadas por quatro metaloenzimas diferentes, que apresentam centros catalíticos contendo Mo, Cu e Fe. Esta via metabólica tem sido amplamente estudada por bioquímicos do ponto de vista estrutural e funcional, com destaque para os centros ativos metálicos das enzimas, bem como por químicos bioinorgânicos que sintetizaram diversos compostos modelo destes centros ativos. As estruturas destas enzimas foram sendo resolvidas, e centros metálicos únicos foram sendo revelados, como o centro “CuZ”. A aplicação de técnicas espectroscópicas, bioeletroquímicas, biofísicas e estudos cinéticos permitiram identificar alguns dos intermediários catalíticos, e obter informação estrutural sobre os complexos de transferência eletrónica e a estabilidade destas enzimas. Apesar dos avanços, algumas questões mantêm-se sem resposta, e o estudo desta via continua a ser fundamental quer para o controlo da emissão de gases com efeito de estufa quer para controlar o excesso de nitratos no solo, na água e no ar.

1. Introdução

Este artigo está inserido num número especial do *QUÍMICA* - Boletim da SPQ, que recolhe artigos dedicados à memória do Professor J. J. R. Fraústo da Silva, em complemento à sessão que ocorreu no Encontro Anual da SPQ, Aveiro 2023, à criação do Prémio Fraústo da Silva (SPQ) atribuído pela primeira vez este ano ao Professor Carlos F. G. C. Geraldes. No “Elogio à Desnitrificação” procurámos enaltecer os aspetos do papel dos metais em reações que conduzem às quatro etapas de transformação sucessiva de nitrato a nitrogénio molecular e à fundação da Química Bioinorgânica que muito deve ao espírito científico inovador do Professor Fraústo da Silva.

A desnitrificação é uma das vias metabólicas do ciclo do nitrogénio em que os nitratos no solo ou na água são convertidos por microrganismos em nitrogénio molecular

(N₂) (Figura 1A). Este processo é relevante para o ciclo do nitrogénio, pois remove o excesso de nitrogénio do meio ambiente que é devolvido à atmosfera.

A desnitrificação é um processo biológico sequencial no qual os óxidos de nitrogénio (NO_x) são reduzidos a N₂ na ausência de oxigénio, num processo energético em que se gera um gradiente eletroquímico de prótons através da membrana interna, que está associado à síntese de ATP (Figura 1B). As enzimas envolvidas neste processo são a redutase do nitrato, a redutase do nitrito, a redutase do óxido nítrico e, finalmente, a redutase do óxido nítrico. Essas enzimas trabalham em conjunto e sequencialmente reduzindo o nitrato (NO₃⁻) a nitrito (NO₂⁻), depois a óxido nítrico (NO), a N₂O e, finalmente, a N₂ (Figura 1B) [1].

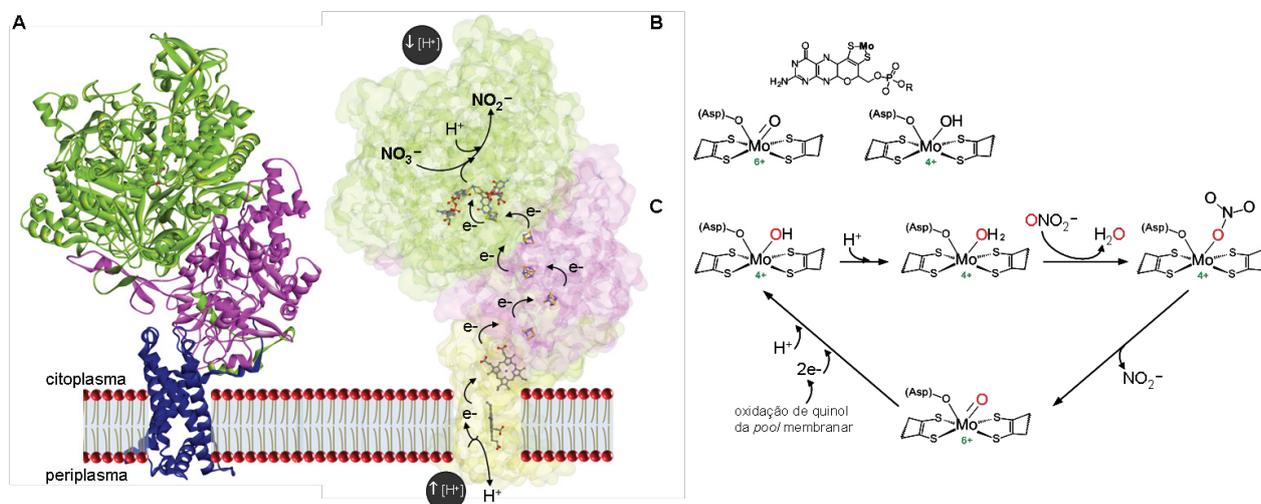
lateral de um resíduo de aspartato (Figura 2B). Os elétrons necessários à redução do nitrato (Eq. 1) são transferidos, intramolecularmente, do quinol localizado na membrana citoplasmática, através dos três centros [4Fe-4S] e um [3Fe-4S] presentes na subunidade citoplasmática NaRH e de dois hemos do tipo-*b* presentes na subunidade transmembranar NaRI (Figura 2A).

De um modo muito simplificado, a catálise da redução de nitrato a nitrito inicia-se com o centro ativo de molibdênio reduzido (Figura 2C) [6]. Neste estado, de Mo^{4+} , o grupo oxido coordenado ao metal encontra-se protonado ($\text{Mo}^{4+}\text{-OH}$) e pode ser facilmente convertido num bom grupo de saída (uma molécula de água) após uma segunda protonação. A ligação do nitrato ao molibdênio desloca a molécula de água, formando-se o intermediário covalente $\text{Mo}^{4+}\text{-O-NO}_2$. A subsequente lise da ligação O-N liberta o produto, nitrito, e resulta na oxidação do metal ($\text{Mo}^{6+}=\text{O}$). O centro ativo é posteriormente regenerado através da redução do molibdênio por dois elétrons provenientes da oxidação do parceiro fisiológico da enzima; neste caso, a fonte de elétrons é o quinol membranar.

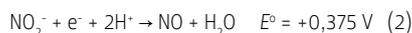
3. Redutase do nitrito

As redutases do nitrito (NiRs) são enzimas contendo centros de cobre ou centros hémicos que catalisam o segundo passo da desnitrificação, a redução de nitrito

Figura 2 - Redutase do nitrato. A) Redutase do nitrato NaRGHI. Apenas um heterotrímero da unidade ($\alpha\beta\gamma$), está representado; na representação da esquerda, mostra-se a organização estrutural das subunidades NaRG, NaRH e NaRI, representadas a verde, violeta e azul, respetivamente; na representação da direita destacam-se o arranjo dos cofatores e o fluxo de elétrons e prótons, estando o carbono, o nitrogénio, o oxigénio, o fosfato, o enxofre, o ferro e o molibdénio representados a cinzento, azul, vermelho, laranja, dourado, azul escuro e azul esverdeado, respetivamente (coordenadas usadas PDB 1R27 da NaRGHI de *Escherichia coli*). B) Estrutura do cofator de piranopterina (em cima) e do centro da NaRGHI nas formas oxidada (Mo^{6+}) e reduzida (Mo^{4+}). Nestes dois últimos, está representado apenas o pseudo-anel ditioleto que coordena o molibdénio; R representa monofosfato de guanosina. C) Mecanismo reacional de redução de nitrato a nitrito. O átomo de oxigénio abstraído da molécula de nitrato está destacado a vermelho.



(NO_2^-) a óxido nítrico (NO) [8], de acordo com a Eq. (2):



As enzimas contendo centros hémicos, designadas de cd_1NiRs e codificadas pelo gene *nirS*, são homodímeros periplasmáticos, em que cada monómero liga um hemo do tipo- d_1 e um hemo do tipo- c em dois domínios estruturalmente diferentes (Figura 3A) [9,10], sendo o primeiro o local catalítico e o segundo responsável pela aceitação de elétrons de pequenas proteínas redox, tais como citocromos *c* ou cupredoxinas, e pela sua transferência para o centro ativo [11,12].

As cd_1NiRs são isoladas na sua forma inativa, uma vez que a esfera de coordenação do ferro do hemo d_1 está completamente ocupada, tendo como ligandos axiais as cadeias laterais de uma histidina e de uma tirosina [13,14]. No entanto, após a ativação, que consiste na redução do hemo do tipo- c , ocorrem modificações conformacionais que alteram a sua esfera de coordenação, passando de uma coordenação bis-His hexacoordenada para Met/His, e concomitantemente o íon ferro do hemo do tipo- d_1 perde a coordenação axial da tirosina, ficando com um local de coordenação vago para o substrato se ligar (Figura 3B) [9,13,14]. Estudos mecanísticos mostraram que a atividade ótima desta enzima ocorre a pH 6,5, e que a libertação de NO do hemo d_1 reduzido é muito rápida, não permitindo a formação do aduto $\text{Fe}^{2+}\text{-NO}$ [9,15,16].

As redutases do nitrito dependentes de cobre, designadas de CuNiRs e codificadas pelo gene *nirK*, têm dois centros de cobre com funções semelhantes ao hemo *c* e d_1 [17]. Assim, os elétrons doados por pequenas proteínas redox são transferidos para o centro de cobre do tipo 1 (CuT1) e depois para o centro de cobre do tipo 2 (CuT2), que é o centro ativo da enzima [18], onde o nitrito é reduzido a NO [19–22]. Nos últimos anos, com os avanços na sequenciação de genomas, foi demonstrado que o domínio conservado das CuNiRs está associado a domínios adicionais no N- ou C-terminal.

Estes domínios adicionais ligam hemo do tipo-c ou centros CuT1 e medeiam a transferência de elétrons para o domínio conservado [23].

O domínio conservado nas várias famílias de CuNiR tem uma estrutura homotrimérica (Figura 3C), com cada subunidade contendo os dois centros mononucleares de cobre [17,24]. O centro CuT1 é coordenado por dois resíduos de histidina, uma metionina e uma cisteína, da mesma subunidade. Por sua vez, o centro CuT2 está localizado na interface entre dois monômeros e é coordenado por três cadeias laterais de histidina, uma das quais é do monômero adjacente (Figura 3D) [25]. Estes dois centros estão ligados entre si por uma ponte de cisteína-histidina conservada que consiste na cisteína que coordena o centro CuT1 e na histidina que coordena o centro CuT2 [17,23,24].

O Asp97 e a His240, dois resíduos conservados presentes no centro catalítico (numeração de acordo com a estrutura da CuNiR de *Alcaligenes faecalis*, Figura 3D), foram identificados como sendo importantes para a catálise [26–28]. Estes resíduos, ligados por pontes de hidrogênio a uma molécula de água, estão envolvidos na formação da espécie intermediária $T2Cu^+-NO_2^-$, desencadeando a transferência de elétrons através da ponte cisteína-histidina, e atuando assim como uma “via de detecção do substrato” [29–31].

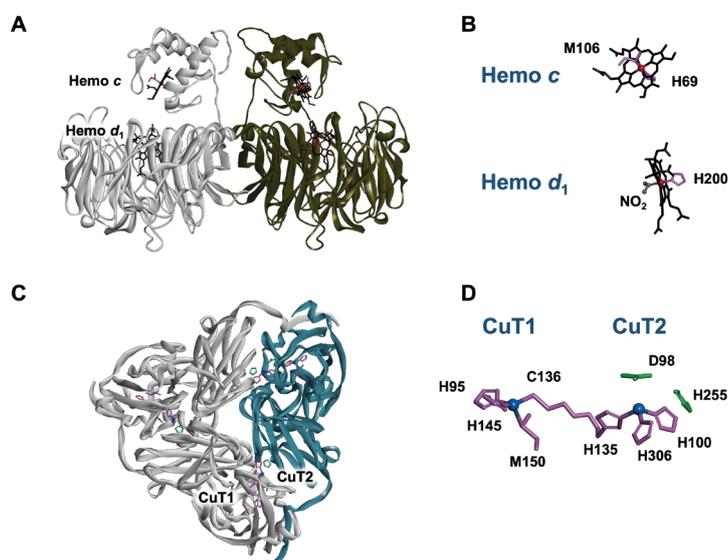


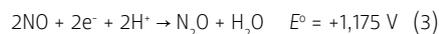
Figura 3 - Redutase do nitrito. Estrutura da *cdNiR* de *Paracoccus denitrificans* no estado ativo (A), em que se observa que o hemo *c* está Met/His-coordenado, enquanto o hemo *d*₁ é coordenado por uma histidina, e pelo nitrito. Estrutura da CuNiR de *Alcaligenes faecalis* mostrando a sua estrutura homotrimérica, e a coordenação dos seus centros de cobre (D). As figuras foram preparadas com o

Biovia Discovery Studio com as coordenadas 1AOF e 1AOM (painel A e B, respetivamente) e 1AS7 (painel C e D), usando o seguinte esquema de cores: Cu (azul), Fe (vermelho), hemo (preto), resíduos que coordenam os centros CuT1, CuT2 e o ferro hémico (rosa), resíduos Asp e His do centro ativo (verde).

4. Redutase do óxido nítrico

A redutase do óxido nítrico (NOR) é a enzima que, no processo da desnitrificação, catalisa a redução de óxido nítrico a óxido nitroso. A reação (Eq. 3) envolve dois elétrons e dois prótons, e promove a formação

da ligação N–N, fundamental para chegar à última espécie do ciclo, o gás N_2 .



De entre as redutases do óxido nítrico que se podem encontrar em bactérias e arqueias, existem três tipos de enzimas que diferem no tipo de centros e subunidades, nomeadamente a cNOR, a qNOR e a qCuNOR [32,33].

A cNOR é uma proteína membrana composta por duas subunidades, designadas por NorC (17 kDa) e NorB (54 kDa), contendo, respetivamente, um hemo do tipo-*c*, e dois outros centros metálicos, nomeadamente um hemo do tipo-*b* e um centro bimetalico, em que um outro hemo do tipo-*b* (hemo b_3) está acoplado, através de uma ligação do tipo ponte oxo, a um ferro não-hémico (Fe_B), $Fe-O-Fe_B$. Este centro bimetalico composto pelo hemo b_3-Fe_B é o centro ativo desta enzima [34], possuindo grande homologia com o centro da superfamília das oxidases de cobre-hémicas (HCuO), à qual a NOR pertence. Contudo, na cNOR, o centro catalítico bimetalico é composto por dois iões ferro em vez do centro misto de Fe/Cu das HCuO.

Uma propriedade particular da cNOR, demonstrada *in vitro*, é a sua capacidade de catalisar, para além da redução do NO, também a redução do oxigénio, tal como as suas homólogas da superfamília HCuO [35]. Os dados de elétrons são pequenas proteínas redox, citocromos do tipo-*c* ou cupredoxinas. No caso de *M. nauticus* foi possível identificar o provável doador de elétrons fisiológico como sendo o citocromo c_{552} [36]. Os elétrons são transferidos para a enzima através da subunidade NorC (subunidade responsável pela aceitação de elétrons), sendo depois transferidos para a subunidade NorB onde ocorrem as reações de redução dos substratos (subunidade catalítica). Através da comparação entre a interação entre o citocromo c_{552} e a cNOR versus citocromo c_{552} e a subunidade NorC (expressa individualmente) foi possível verificar que apenas quando a subunidade NorB está presente, ou seja, com a enzima cNOR completa, a transferência de elétrons ocorre (do citocromo c_{552} para a enzima cNOR), provando a elevada especificidade desta interação e o papel modelador da subunidade NorB [37].

De entre as enzimas da via da desnitrificação, a NOR foi a última para a qual a estrutura cristalográfica foi resolvida. Em 2010, a estrutura de uma cNOR foi resolvida por Hino *et al.* [38], e dois anos mais tarde foi obtida a estrutura da qNOR por Y. Shiro [39].

A qNOR possui uma sequência primária semelhante à cNOR, mas não tem subunidades. Contém dois centros metálicos semelhantes à subunidade NorB da cNOR, incluindo o centro catalítico bimetalico, mas não possui a subunidade NorC, recebendo elétrons através de hidroquinonas no meio. Esta enzima encontra-se muitas vezes expressa em organismos patogénicos, e por vezes sem estar acompanhada pelas restantes enzimas

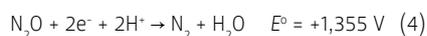
da via da desnitrificação.

A qCuNOR assemelha-se à cNOR por possuir também duas subunidades, sendo uma delas semelhante à NorB da cNOR. Na subunidade menor, em vez de um hemo do tipo-c, encontra-se um centro de cobre do tipo CuA (semelhante ao presente na oxidase do citocromo c e na redutase do óxido nítrico), constituído por uma ligação bimetalica entre dois iões cobre, que tipicamente é descrito como sendo um centro de transferência eletrónica (ver Figura 5C) [32,40]. Os dados de elétrons desta enzima são citocromos do tipo-c e menaquinona.

O mecanismo catalítico da redução do NO tem sido continuamente debatido, com o foco na ligação do NO ao centro bimetalico Fe hémico-Fe_b. Dois mecanismos principais têm sido discutidos, o denominado “cis” em que duas moléculas de NO se ligam ao Fe_b ou ao ferro do hemo b₃, e o mecanismo “trans”, em que uma molécula de NO se liga ao Fe_b e outra ao Fe hémico [32,36,37]. Todos os mecanismos concordam, contudo, com a formação do ião hiponitrito como um intermediário da reação. A caracterização eletroquímica dos centros e da atividade catalítica foi importante, não só para abrir perspectivas da utilização destas enzimas em aplicações reais (como por exemplo sensores [41]) mas também para clarificar alguns aspetos do seu mecanismo catalítico. Os dados eletroquímicos obtidos sob várias condições apontam o mecanismo cis-Fe_b como sendo o mais provável [35,36,42]. Contudo, a discussão mecanística permanece, pois estudos computacionais mais recentes favorecem, pelo menos teoricamente, uma via semelhante à cis-hemo b₃ em que o NO se liga ao Fe hémico seguido de uma série de passos em que a segunda molécula de NO se liga no mesmo centro a um intermediário Fe-NO-O, estabilizado pela ligação dos dois oxigénios ao Fe_b [43]. Os estudos eletroquímicos efetuados revelaram também ser possível controlar a atividade catalítica através da imposição de potencial [35,36,42].

5. Redutase do óxido nítrico

A redutase do óxido nítrico (N₂OR) catalisa a redução do N₂O a nitrogénio molecular de acordo com a Eq. 4.



Esta reação é a última etapa da desnitrificação [10]. A energia livre global para esta reação é favorável ($\Delta G^\circ = -339,5 \text{ kJ/mol}$) [2,10], mas tem uma energia de ativação elevada (~ 250 kJ/mol) [44]. A elevada energia de ativação é ultrapassada pelo facto da catálise ocorrer num centro metálico especial, o centro “CuZ”, um centro tetranuclear de cobre e enxofre único na natureza.

A N₂OR é codificada no genoma pelo gene *nosZ*. A análise comparativa das sequências genómicas que codificam a N₂OR levou à divisão destes organismos em duas classes de acordo com a composição genética do operão *nosZ*. As N₂ORs pertencentes à classe I têm

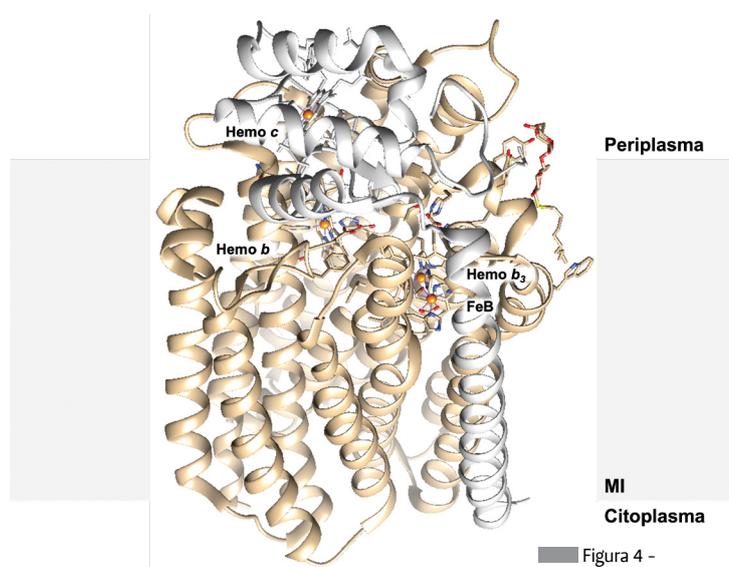


Figura 4 - Redutase do óxido nítrico. Representação da estrutura da cNOR de *Pseudomonas aeruginosa* (PDB 3WFC). A cinzento e amarelo estão representadas as subunidades NorC e NorB, respetivamente. MI - membrana interna.

seido isoladas de diferentes proteobactérias [45], que também apresentam genes que codificam para outras enzimas da via da desnitrificação. Estas enzimas têm sido extensivamente estudadas por uma série de técnicas espectroscópicas, cinéticas, estruturais e mecanísticas [46-49]. A N₂OR da classe II foi isolada de *Wolinella succinogenes* [50,51] e foi demonstrado que esta enzima liga um hemo do tipo-c num domínio adicional no C-terminal. Esta característica é única para a enzima isolada desta bactéria, não tendo sido observado nas outras enzimas desta classe. Contrariamente à classe I, ainda não se conhece a estrutura de nenhuma das enzimas da classe II.

As N₂ORs mais estudadas são as isoladas de *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas stutzeri* e *M. nauticus*. Estas enzimas são homodiméricas (com monómeros com disposição antiparalela, Figura 5A), periplasmáticas (Figura 1B) e ligam seis átomos de cobre por monómero, dispostos em dois centros: um centro binuclear, CuA, que é o centro de transferência eletrónica e um centro tetranuclear de cobre, e “CuZ”, o centro ativo, onde a molécula de N₂O se liga e onde ocorre a sua redução.

A análise da estrutura primária em conjunto com a estrutura resolvida por difração de raios-X de *P. denitrificans* mostra que os dois centros se encontram em dois domínios diferentes da enzima: (i) o domínio N-terminal com uma estrutura em ‘β-propeller’ formada por sete lâminas de folhas-β dispostas simetricamente, no centro da qual o centro “CuZ” está inserido (Figura 5A e 5B); e (ii) o domínio C-terminal com uma estrutura em barril-β, que liga o centro CuA na região entre as folhas β8 e β9 do barril (Figura 5A e 5B) [47]. Os dois centros num monómero estão a uma distância de 40 Å, mas a 10 Å se considerarmos os dois monómeros na sua disposição antiparalela. Este arranjo estrutural da N₂OR faz com que o dímero seja um dímero funcional, uma vez que a transferência eletrónica tem de ocorrer entre os dois centros de diferentes monómeros (Figura 5A).

O centro CuA, como referido anteriormente, é muito semelhante ao centro de cobre presente na oxidase do citocromo c [52] e na qCuNOR [53]. O CuA é um centro binuclear de cobre com duas cisteínas em ponte que ligam os dois átomos de cobre através do S_r, sendo os outros ligandos, dois átomos de N^{e2} do anel imidazol de duas histidinas, o átomo S^o de uma metionina e o carbonilo de um grupo triptofano (Figura 5C).

O centro catalítico “CuZ” foi identificado pela primeira vez como sendo um centro tetranuclear de cobre na enzima de *M. nauticus* e de *P. denitrificans* [46-48]. A sua nuclearidade levaria a prever cinco possíveis estados de oxidação para este centro, mas só foram observados três deles: [2Cu²⁺:2Cu¹⁺], [1Cu²⁺:3Cu¹⁺] e [4Cu¹⁺]. Os dois primeiros estados de oxidação foram identificados em N₂OR purificadas, enquanto o último só pode ser atingido *in vitro* através de uma incubação prolongada com viologéneos reduzidos. Para além disso, o centro “CuZ” foi observado em duas formas diferentes, CuZ*(4Cu1S) e CuZ(4Cu2S) (Figura 5D e 5E), que têm diferentes esferas de coordenação, assim como diferentes propriedades espectroscópicas, redox e cinéticas [2]. É importante mencionar que não foi ainda possível isolar a N₂OR a 100% com o centro CuZ(4Cu2S), sendo a conversão entre as duas formas objeto de discussão e de estudo no nosso grupo.

O CuZ*(4Cu1S) é um centro tetranuclear com o enxofre em ponte entre os quatro átomos de cobre (ligação μ₄ com os átomos de cobre), adotando uma geometria tetraédrica distorcida. O Cu₁, Cu₂ e Cu₃ são coordenados por duas histidinas, enquanto o Cu₄ é coordenado por uma só histidina. Estes átomos de cobre são coordenados quer pelo N^{e2} ou N^o do anel de imidazol e há também um átomo de oxigénio que faz uma ligação em ponte entre o Cu₁ e o Cu₄ [46-49] (Figura 5D). A estrutura do CuZ(4Cu2S) no estado de oxidação [2Cu²⁺:2Cu¹⁺] foi obtida para a N₂OR de *P. stutzeri* [49], e mostrou que existe um outro átomo de enxofre fazendo a ponte entre o Cu₁ e o Cu₄ na posição ocupada pelo átomo de oxigénio no CuZ*(4Cu1S) [49] (Figura 5E). Pensa-se que o local de ligação do substrato será entre o Cu₁ e o Cu₂, necessitando a enzima de estar na sua forma completamente reduzida [54].

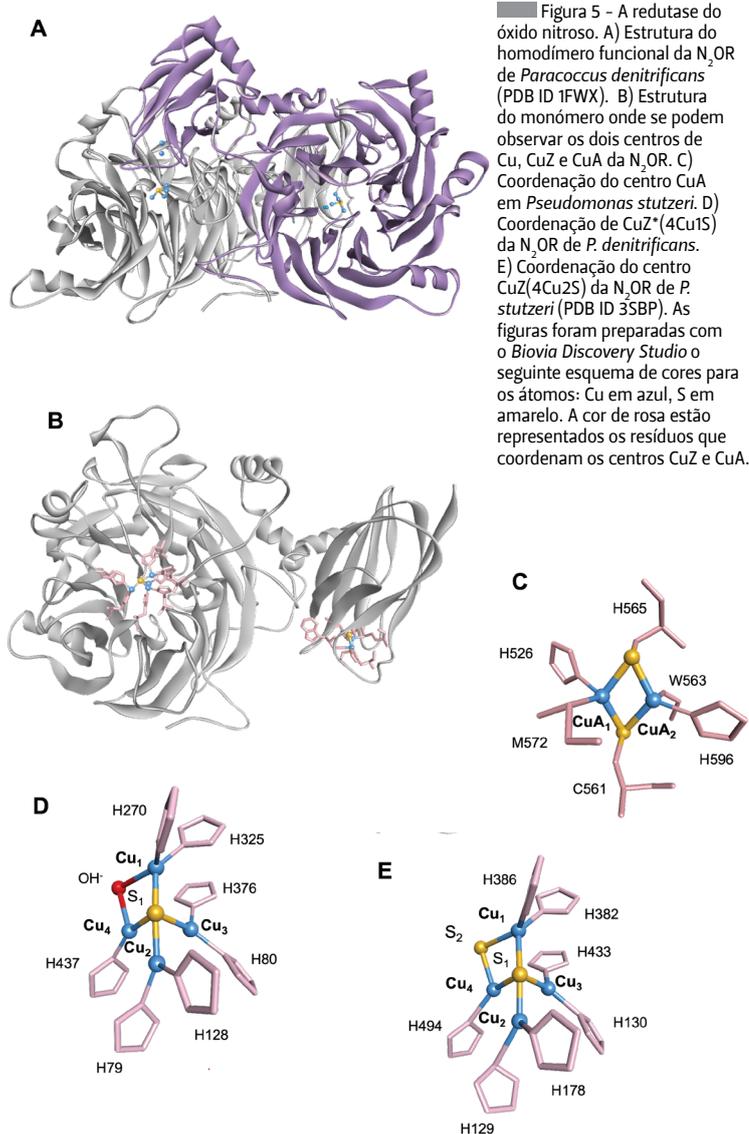
Estudos realizados por eletroquímica demonstraram que há um mecanismo concertado próton-eletrão que controla o potencial de redução do CuA [55]. O potencial de redução do CuA em amostras de enzima com CuZ*(4Cu1S) é controlado pela protonação da histidina coordenante num processo que envolve dois prótons acoplados à transferência eletrónica.

O grupo de investigação liderado por O. Einsle desenvolveu um sistema de produção heterólogo em *Escherichia coli*, que inclui os genes acessórios *nosRDFYL*, permitindo a produção de N₂OR funcional [56]. Este sistema permitiu gerar várias variantes desta enzima, alterando os ligandos do centro “CuZ” [57] e também variantes alterando a His583 que coordena o centro CuA [58]. Nas variantes

da N₂OR em que o resíduo His583 foi alterado para Ala, Asp, Asn, Glu, Gln, Lys, Phe, Tyr e Trp observou-se que somente aqueles com cadeias laterais protonáveis, como por exemplo His, Asp e Glu, mantinham a capacidade de realizar transferência eletrónica a pH fisiológico.

Relativamente ao ciclo catalítico desta enzima, um dos intermediários foi identificado e caracterizado espectroscopicamente, o CuZ^o, propondo-se que apresente um grupo hidroxilo ligado ao Cu₄. Este intermediário tem atividade catalítica idêntica à enzima com o “CuZ” completamente reduzido [59,60], e somente este valor de atividade catalítica explica a capacidade das células conseguirem reduzir o N₂O *in situ* [61].

Microrganismos que se desenvolvam num meio ácido mostram uma clara diminuição da sua capacidade na redução do N₂O [62], explicando o impacto do decréscimo do pH dos solos e águas, no aumento da concentração atmosférica de N₂O e nas alterações climáticas.



6. Conclusões

O elogio da desnitrificação é uma revisão concisa dos aspetos bioinorgânicos da desnitrificação, com ênfase nas estruturas e mecanismos de metaloenzimas envolvidas nesta via complexa. A desnitrificação é um processo anaeróbico usado por alguns microrganismos para gerar energia através da redução sucessiva de nitrato a nitrogénio molecular (um tipo de “respiração” anaeróbia). Para isso, diferentes metaloenzimas, dependentes de molibdénio, ferro e cobre, catalisam, em sequência, quatro etapas simples: o nitrato é reduzido a nitrito, depois a óxido nítrico, seguido pela redução a óxido nitroso, e por uma redução final a nitrogénio molecular. Um dos aspetos mais interessantes é que, no estado atual de conhecimento, as estruturas destas enzimas são conhecidas com elevada resolução, permitindo considerações mecânicas detalhadas, e por consequência, um possível controle das etapas envolvidas.

O processo global tem implicações ambientais de particular relevância. A acumulação de nitratos e a libertação de óxido nitroso na atmosfera devido ao uso excessivo de fertilizantes na agricultura são dois exemplos de problemas ambientais onde a desnitrificação desempenha um papel central.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado por fundos nacionais da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P., no âmbito dos projetos: UIDB/50006/2020 e UIDP/50006/2020 do Laboratório Associado de Química Verde – LAQV, UIDP/04378/2020 e UIDB/04378/2020 da Unidade de Investigação em Biociências Moleculares Aplicadas – UCIBIO, LA/P/0140/2020 do Laboratório Associado Instituto de Saúde e Bioeconomia – i4HB, JM by PTDC/BTA-BTA/0935/2020 (JJGM), 2022.01152.PTDC (IM), e através do programa de Estímulo ao Emprego Científico Individual CEEC-IND/03810/2017 (LBM).

Referências

- [1] I. Moura, L. B. Maia, S. R. Pauleta, J. J. G. Moura. *A Bird's Eye View of Denitrification in Relation to the Nitrogen Cycle*, in I. Moura, J. J. G. Moura, S. R. Pauleta, L. B. Maia (Eds.), “Metalloenzymes in Denitrification: Applications and Environmental Impacts”, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2016**, pp. 1-10. DOI: 10.1039/9781782623762-00001.
- [2] S. R. Pauleta, M. S. P. Carepo, I. Moura, *Coord. Chem. Rev.* **2019**, *387*, 436-449. DOI: 10.1016/j.ccr.2019.02.005.
- [3] P. J. Gonzalez, M. G. Rivas, J. J. G. Moura, *Structure, Function and Mechanisms of Respiratory Nitrate Reductases*, in I. Moura, J. J. G. Moura, S. R. Pauleta, L. B. Maia (eds.), “Metalloenzymes in Denitrification”, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2016**, pp. 39-58. DOI: 10.1039/9781782623762-00039.
- [4] F. Blasco, B. Migliarelli, A. Magalon, M. Asso, G. Giordano, R. A. Rothery, *Cell Mol. Life Sci.* **2001**, *58*, 179-193. DOI: 10.1007/PL00000846.
- [5] R. Hille, J. Hall, P. Basu, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 3963-4038. DOI: 10.1021/cr400443z.
- [6] L. B. Maia, I. Moura, J. J. G. Moura. *Molybdenum and Tungsten-Containing Enzymes: An Overview*, in R. Hille, C. Schulzke, M. Kirk (ed.), “Molybdenum and tungsten enzymes: Biochemistry”, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2016**, pp. 1-80. DOI: 10.1039/9781782623915-00001.
- [7] A. Magalon, R. R. Mendel, *EcoSal Plus* **2015**, *6*. DOI: 10.1128/ecosalplus.ESP-0006-2013.
- [8] W. G. Zumft, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1997**, *61*, 533-616. DOI: 10.1128/61.4.533-616.1997.
- [9] S. Rinaldo, G. Giardina, F. Cutruzzolà. *Nitrite Reductase - Cytochrome cd1*, in I. Moura, J. J. G. Moura, S. R. Pauleta, L. B. Maia (eds.), “Metalloenzymes in Denitrification”, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2016**, pp. 59-90. DOI: 10.1039/9781782623762-00059.
- [10] W. G. Zumft, P. M. Kroneck, *Adv. Microb. Physiol.* **2007**, *52*, 107-227. DOI: 10.1016/S0065-2911(06)52003-X.
- [11] F. Cutruzzolà, M. Aresé, G. Ranghino, G. van Pouderooyen, G. Canters, M. Brunori, *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *88*, 353-361. DOI: 10.1016/S0162-0134(01)00390-7.
- [12] I. V. Pearson, M. D. Page, R. J. van Spanning, S. J. Ferguson, *J. Bacteriol.* **2003**, *185*, 6308-6315. DOI: 10.1128/JB.185.21.6308-6315.2003.
- [13] P. A. Williams, V. Fulop, E. F. Garman, N. F. Saunders, S. J. Ferguson, J. Hajdu, *Nature* **1997**, *389*, 406-412. DOI: 10.1038/38775.
- [14] V. Fulop, J. W. Moir, S. J. Ferguson, J. Hajdu, *Cell* **1995**, *81*, 369-377. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90390-9.
- [15] H. Lopes, S. Besson, I. Moura, J. J. Moura, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2001**, *6*, 55-62. DOI: 10.1007/s007750000159.
- [16] O. Farver, P. M. Kroneck, W. G. Zumft, I. Pecht, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 7622-7625. DOI: 10.1073/pnas.0932693100.
- [17] M. Nojiri, *Structure and Function of Copper Nitrite Reductase*, in I. Moura, J. J. G. Moura, S. R. Pauleta, L. B. Maia (eds.), “Metalloenzymes in Denitrification”, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2016**, pp. 91-113. DOI: 10.1039/9781782623762-00091.
- [18] E. Libby, B. A. Averill, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1992**, *187*, 1529-1535. DOI: 10.1016/0006-291x(92)90476-2.
- [19] S. Suzuki, T. Kohzuma, Deligeer, K. Yamaguchi, N. Nakamura, S. Shidara, K. Kobayashi, S. Tagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11145-11146. DOI: 10.1021/ja00103a035.
- [20] N. G. Leferink, C. Han, S. V. Antonyuk, D. J. Heyes, S. E. Rigby, M. A. Hough, R. R. Eady, N. S. Scrutton, S. S. Hasnain, *Biochemistry* **2011**, *50*, 4121-4131. DOI: 10.1021/bi200246f.
- [21] Y. Fukuda, K. M. Tse, T. Nakane, T. Nakatsu, M. Suzuki, M. Sugahara, S. Inoue, T. Masuda, F. Yumoto, N. Matsugaki, E. Nango, K. Tono, Y. Joti, T. Kameshima, C. Song, T. Hatsu, M. Yabashi, O. Nureki, M. E. P. Murphy, T. Inoue, S. Iwata, E. Mizohata, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**, *113*, 2928-2933. DOI: 10.1073/pnas.1517770113.
- [22] L. M. Murphy, F. E. Dodd, F. K. Yousafzai, R. R. Eady, S. S. Hasnain, *J. Mol. Biol.* **2002**, *315*, 859-871. DOI: 10.1006/jmbi.2001.5253.
- [23] R. R. Eady, S. Samar Hasnain, *Coord. Chem. Rev.* **2022**, *460*, 214463. DOI: 10.1016/j.ccr.2022.214463.
- [24] D. S. Barreiro, R. N. S. Oliveira, S. R. Pauleta, *Biomolecules* **2023**, *13*, 1215. DOI: 10.3390/biom13081215.
- [25] S. Horrell, D. Kekilli, R. W. Strange, M. A. Hough, *Metallomics* **2017**, *9*, 1470-1482. DOI: 10.1039/c7mt00146k.
- [26] M. J. Boulanger, M. E. Murphy, *J. Mol. Biol.* **2002**, *315*, 1111-1127. DOI: 10.1006/jmbi.2001.5251.
- [27] M. J. Boulanger, M. Kukimoto, M. Nishiyama, S. Horinouchi, M. E. Murphy, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 23957-23964. DOI: 10.1074/jbc.M001859200.
- [28] K. Kataoka, H. Furusawa, K. Takagi, K. Yamaguchi, S. Suzuki, *J. Biochem.* **2000**, *127*, 345-350. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a022613.
- [29] F. E. Dodd, J. Van Beeumen, R. R. Eady, S. S. Hasnain, *J. Mol. Biol.* **1998**, *282*, 369-382. DOI: 10.1006/jmbi.1998.2007.
- [30] S. L. Rose, S. V. Antonyuk, D. Sasaki, K. Yamashita, K. Hirata, G. Ueno, H. Ago, R. R. Eady, T. Toshi, M. Yamamoto, S. S. Hasnain, *Sci. Adv.* **2021**, *7*. DOI: 10.1126/sciadv.abd8523.
- [31] R. W. Strange, L. M. Murphy, F. E. Dodd, Z. H. Abraham, R. R. Eady, B. E. Smith, S. S. Hasnain, *J. Mol. Biol.* **1999**, *287*, 1001-1009. DOI: 10.1006/jmbi.1999.2648.
- [32] P. Tavares, A. S. Pereira, J. J. Moura, I. Moura, *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 2087-2100. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2006.09.003.
- [33] M. J. Torres, J. Simon, G. Rowley, E. J. Bedmar, D. J. Richardson, A. J. Gates, M. J. Delgado, *Nitrous Oxide Metabolism in Nitrate-Reducing Bacteria*, in “Adv. Microb. Physiol.”, in R. K. Poole (ed.), “Advances in Bacterial Electron Transport Systems and Their Regulation”, Academic Press, **2016**, *68*, pp. 353-432. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2016.02.007.
- [34] C. G. Timoteo, A. S. Pereira, C. E. Martins, S. G. Naik, A. G. Duarte, J. J. Moura, P. Tavares, B. H. Huynh, I. Moura, *Biochemistry* **2011**, *50*, 4251-4262. DOI: 10.1021/bi101605p.
- [35] C. M. Cordas, A. S. Pereira, C. E. Martins, C. G. Timoteo, I. Moura, J. J. Moura, P. Tavares, *Chembiochem* **2006**, *7*, 1878-1881. DOI: 10.1002/cbic.200600253.
- [36] A. G. Duarte, C. M. Cordas, J. J. Moura, I. Moura, *Biochim. Biophys. Acta* **2014**, *1837*, 375-384. DOI: 10.1016/j.bbabi.2014.01.001.
- [37] S. Ramos, R. M. Almeida, C. M. Cordas, J. J. G. Moura, S. R. Pauleta, I. Moura, *J. Inorg. Biochem.* **2017**, *177*, 402-411. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2017.09.001.

- [38] T. Hino, Y. Matsumoto, S. Nagano, H. Sugimoto, Y. Fukumori, T. Murata, S. Iwata, Y. Shiro, *Science* **2010**, 330, 1666-1670. DOI: 10.1126/science.1195591.
- [39] Y. Matsumoto, T. Toshi, A. V. Pisljakov, T. Hino, H. Sugimoto, S. Nagano, Y. Sugita, Y. Shiro, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2012**, 19, 238-245. DOI: 10.1038/nsmb.2213.
- [40] P. M. H. Kroneck, M. E. S. Torres, *Cytochrome c Oxidase, CuA Center*, in R. H. Kretsinger, V. N. Uversky, E. A. Permyakov (Eds.), "Encyclopedia of Metalloproteins", Springer, New York, **2013**, pp. 748-753. DOI: 10.1007/978-1-4614-1533-6_93.
- [41] F. O. Gomes, L. B. Maia, C. Cordas, I. Moura, C. Delerue-Matos, J. J. G. Moura, S. Morais, *Bioelectrochemistry* **2019**, 125, 8-14. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2018.08.005.
- [42] C. M. Cordas, A. G. Duarte, J. J. Moura, I. Moura, *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, 1827, 233-238. DOI: 10.1016/j.bbabi.2012.10.018.
- [43] M. R. A. Blomberg, P. Adelroth, *Biochim. Biophys. Acta* **2017**, 1858, 884-894. DOI: 10.1016/j.bbabi.2017.08.005.
- [44] K. Jones, *Nitrogen*, in J. C. Bailar, H. J. Emeléus, R. Nyholm, A. F. Trotman-Dickenson (Eds.), "Comprehensive Inorganic Chemistry", Pergamon Press, Oxford, **1973**, 2, pp. 147-388.
- [45] C. Carreira, S. R. Pauleta, I. Moura, *J. Inorg. Biochem.* **2017**, 177, 423-434. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2017.09.007.
- [46] K. Brown, K. Djinovic-Carugo, T. Haltia, I. Cabrito, M. Saraste, J. J. Moura, I. Moura, M. Tegoni, C. Cambillau, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 41133-41136. DOI: 10.1074/jbc.M008617200.
- [47] K. Brown, M. Tegoni, M. Prudencio, A. S. Pereira, S. Besson, J. J. Moura, I. Moura, C. Cambillau, *Nat. Struct. Biol.* **2000**, 7, 191-195. DOI: 10.1038/73288.
- [48] K. Paraskevopoulos, S. V. Antonyuk, R. G. Sawers, R. R. Eady, S. S. Hasnain, *J. Mol. Biol.* **2006**, 362, 55-65. DOI: 10.1016/j.jmb.2006.06.064.
- [49] A. Pomowski, W. G. Zumft, P. M. Kroneck, O. Einsle, *Nature* **2011**, 477, 234-237. DOI: 10.1038/nature10332.
- [50] S. Teraguchi, T. C. Hollocher, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 1972-1979. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)94130-X.
- [51] J. Simon, O. Einsle, P. M. Kroneck, W. G. Zumft, *FEBS Lett.* **2004**, 569, 7-12. DOI: 10.1016/j.febslet.2004.05.060.
- [52] H. Beinert, *Eur. J. Biochem.* **1997**, 245, 521-532. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1997.t01-1-00521.x.
- [53] Suharti, H. A. Heering, S. de Vries, *Biochemistry* **2004**, 43, 13487-13495. DOI: 10.1021/bi0488101.
- [54] S. Ghosh, S. I. Gorelsky, P. Chen, I. Cabrito, J. J. Moura, I. Moura, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 15708-15709. DOI: 10.1021/ja038344n.
- [55] C. Carreira, M. M. C. dos Santos, S. R. Pauleta, I. Moura, *Bioelectrochemistry* **2020**, 133, 107483. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2020.107483.
- [56] L. Zhang, A. Wust, B. Prasser, C. Muller, O. Einsle, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2019**, 116, 12822-12827. DOI: 10.1073/pnas.1903819116.
- [57] L. Zhang, E. Bill, P. M. H. Kroneck, O. Einsle, *Chem. Sci.* **2021**, 12, 3239-3244. DOI: 10.1039/d0sc05204c.
- [58] L. Zhang, E. Bill, P. M. H. Kroneck, O. Einsle, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, 143, 830-838. DOI: 10.1021/jacs.0c10057.
- [59] E. M. Johnston, C. Carreira, S. Dell'Acqua, S. G. Dey, S. R. Pauleta, I. Moura, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 4462-4476. DOI: 10.1021/jacs.6b13225.
- [60] S. Dell'Acqua, S. R. Pauleta, P. M. Paes de Sousa, E. Monzani, L. Casella, J. J. Moura, I. Moura, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2010**, 15, 967-976. DOI: 10.1007/s00775-010-0658-6.
- [61] C. Carreira, O. Mestre, R. F. Nunes, I. Moura, S. R. Pauleta, *PeerJ* **2018**, 6, e5603. DOI: 10.7717/peerj.5603.
- [62] C. Carreira, R. F. Nunes, O. Mestre, I. Moura, S. R. Pauleta, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2020**, 25, 927-940. DOI: 10.1007/s00775-020-01812-0.

>

Cristina Cordas

LAQV - REQUIMTE.

NOVA School of Science and Technology.

Cristina M. Cordas é investigadora sénior do LAQV-NOVA. Licenciada em Química, mestre em Eletroquímica Aplicada (FCUL), e doutorada em Bioquímica (especialização em Bioquímica Física) em 2007 na Universidade NOVA de Lisboa. A área de investigação principal é o estudo de sistemas biológicos através de técnicas de (bio)eletroquímica, para a caracterização de mecanismos redox de proteínas/enzimas e controlo da atividade catalítica. Exemplos representativos são a enzima NOR (desnitrificação) e a LPMO (atividade lítica para polissacarídeos).

c.cordas@fct.unl.pt
ORCID.org/0000-0002-7892-8955

>

***Isabel Moura**

LAQV - REQUIMTE.

NOVA School of Science and Technology.

Doutorada pela UNL em 1981. Professora catedrática aposentada. O principal interesse é a Química Bioinorgânica/Papel dos iões metálicos em Biologia. Durante a sua carreira foi professora visitante da *University of Georgia*, Athens (EUA), Presidente do Departamento de Química e Diretora do Laboratório Asso-

ciado REQUIMTE. Foi nomeada entre as cem portuguesas cientistas pela Ciência Viva. Fez parte do painel de avaliação das *ERC Advanced Grants*. É membro da Academia das Ciências Portuguesa e da Academia das Ciências.

isabelmoura@fct.unl.pt
ORCID.org/0000-0003-0971-4977

>

José J. G. Moura

LAQV - REQUIMTE.

NOVA School of Science and Technology.

Professor Catedrático aposentado de Química da FCT NOVA. No passado, investigador na U. Minnesota e professor adjunto na U. Georgia, Athens (EUA). Interesses científicos: Química Bioinorgânica/Metais em Biologia. Ex-Presidente do Dep. de Química e ex-Presidente do Conselho Científico da FCT, Delegado ao COST e INTAS, membro de Painéis Científicos (FCG, FCT-MCTES, NSF (EUA)) e de vários conselhos editoriais. Presidente da *Society of Biological Inorganic Chemistry* (2010). Membro da Academia das Ciências e da Academia Europeia de Ciências. Diretor da Biblioteca FCT, promovendo interfaces Cultura/Arte/Científica e coordenador do FCT-FabLab. Prémio Ferreira da Silva da SPQ (2022).

jose.moura@fct.unl.pt
ORCID.org/0000-0002-4726-2388

>

Luísa B. Maia

LAQV - REQUIMTE.

NOVA School of Science and Technology.

Doutorada em Bioquímica Clínica e Farmacêutica (FCUL). É investigadora auxiliar no LAQV, onde desenvolve trabalho com vista à caracterização espectroscópica e cinética de metaloenzimas. Presentemente, está particularmente interessada no estudo de novas vias sinalizadoras dependentes de nitrato e nitrito em humanos e de enzimas bacterianas capazes de converterem o CO₂ em produtos de valor acrescentado.

luisa.maia@fct.unl.pt
ORCID.org/0000-0002-6901-6591

>

Marta S. P. Carepo

LAQV - REQUIMTE.

Universidade Lusófona.

Professora associada na Universidade Lusófona, tendo obtido o doutoramento em Bioquímica-Biotecnologia na *NOVA School of Science and Technology* em 2002. Realizou um pós-doutoramento em genómica, transcriptómica e proteómica no Departamento de Genética da Universidade Federal do Pará (Brasil) supervisionado pela Prof.ª Maria Paula Schneider e colaborou com o Consórcio do Projeto Genoma Nacional Brasileiro. Desenvolve a sua investigação no LAQV-

NOVA, focando-se na caracterização espectroscópica (UV-visível, CD, EPR) e funcional de metaloproteínas envolvidas em processos com impacto ambiental ou na área da saúde, tais como proteínas envolvidas na ativação da N₂O_r em *M. nauticus* ou proteínas hémicas sensoras de oxigénio em *M. tuberculosis*.

marta.carepo@ulusofona.pt
ORCID.org/0000-0003-3222-8141

>

Sofia R. Pauleta

UCIBIO.

NOVA School of Science and Technology.

Professora auxiliar no Departamento de Química da *NOVA School of Science and Technology*, sendo doutorada em Bioquímica - Bioquímica-Física (2003). No pós-doutoramento, sob a supervisão do Prof. Ivano Bertini e da Prof.ª Paola Turano, na Univ. de Florença, aplicou metodologias de RMN biomolecular ao estudo de metaloproteínas. Desde 2010 é PI do *Microbial Stress Lab* na UCIBIO-NOVA, que se foca no estudo de sistemas envolvidos na tolerância a metais, redução do peróxido de hidrogénio e desnitrificação em bactérias patogénicas, usando técnicas espectroscópicas, microcalorimetria, cinética enzimática e transcriptómica.

sofia.pauleta@fct.unl.pt
ORCID.org/0000-0002-2149-9416

O Triunfo do Azul na Natureza e no Antropoceno. Sobre a Evolução (Química) dos Sistemas de Cor nas Plantas. O Caso das Hortênsias

>
Fernando Pina

The Triumph of Blue in Nature and the Anthropocene. On the Evolution (Chemistry) of Color Systems in Plants. The Case of the Hydrangeas. *The blue colour was spread in land plants only after the appearance of anthocyanins in angiosperms by the Middle Cretaceous about 100 million years ago. However, simple anthocyanins are unable to confer blue colour, and sophisticated strategies such as co-pigmentation, acylation of the anthocyanin's sugars and metal complexation have been developed by Nature. Previous similar colour systems based on furanoflavylum (in liverworts - 420 million years ago) and 3-deoxyanthocyanins (mosses - 360 million years ago and ferns - 330 million years ago) only give yellow (flavylum cation) and red colours (quinoidal bases) but no blue. The blue colour is absent in the first Paleolithic cave paintings. When dyeing techniques appeared in the Neolithic, red and yellow were used long before blue. Blue was not an appreciated color during the Roman Antiquity, but nowadays is one of the most preferred colours. In the frame of alchemy from minerals, Humans had a limited access to blue. Blue LASERS appear after red and green, and blue flowers adapted to the markets have been developed using genetic engineering only by the end of the XX century.*

A cor azul difundiu-se nas plantas terrestres após o aparecimento das antocianinas nas angiospermas durante o Cretáceo Médio, há cerca de 100 milhões de anos. No entanto, as antocianinas na sua forma mais simples são incapazes de conferir a cor azul e a Natureza desenvolveu estratégias sofisticadas para fixar o azul, como a copigmentação, a acilação dos açúcares e a complexação com metais. Sistemas semelhantes de cores baseados em furanoflavílio (em hepáticas - há cerca de 420 milhões de anos) e 3-desoxiantocianinas (musgos - há cerca de 360 milhões de anos e fetos - há cerca de 330 milhões de anos) apenas dão amarelo (catião flavílio) e vermelho (bases quinoidais), mas não azul. A cor azul está ausente nas primeiras pinturas rupestres paleolíticas. Quando as técnicas de tingimento apareceram no Neolítico, o vermelho e o amarelo foram usados muito antes do azul. O azul não era uma cor apreciada durante a Antiguidade Romana, mas nos nossos dias é uma das cores mais prezadas. No que respeita a minerais e alquímia, os humanos tinham um acesso limitado ao azul. Os LASERS azuis surgem depois dos vermelhos e verdes e a produção de flores azuis adaptadas aos mercados foram desenvolvidas por meio de engenharia genética, somente no final do século XX.

1. O triunfo do azul na Natureza

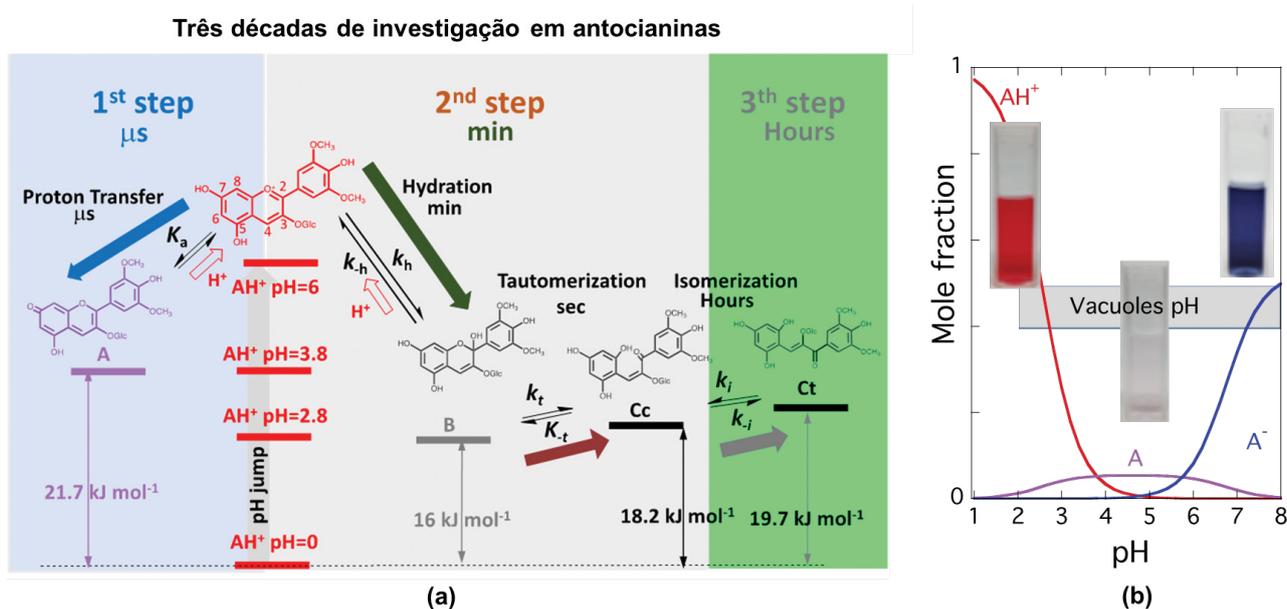
Embora a cor azul esteja em toda a parte, desde o céu e mar, em bactérias, fungos e animais, assim como em minerais, como o lápis lazúli e a azurite, a grande difusão da cor azul na superfície terrestre ocorreu após o aparecimento das flores azuis das angiospérmicas, há cerca de 100 milhões de anos.

A cor verde, devida à clorofila, foi a primeira a dominar a superfície terrestre aquando da migração das bactérias e musgos do mar para a terra [1]. O vermelho apareceu mais tarde nas bases quinoidais dos furanoflavílios das hepáticas e nas 3-desoxiantocianinas dos musgos e fetos e só muito mais tarde nas flores e frutos das antocianinas das angiospérmicas, que são também

responsáveis pela cor azul. No entanto as antocianinas simples não conseguem conferir a cor azul.

A nossa caminhada começa no estudo das antocianinas. O seu comportamento em meio ácido pode ser resumido no diagrama de energias das diversas espécies que introduzimos em 1979 [2], Esquema 1a. Neste esquema está descrita a termodinâmica do sistema de cor das antocianinas, assim como a respetiva cinética. As antocianinas não se resumem ao catião flavílio que lhes dá o nome, até porque este é a espécie dominante somente para valores de pH muito ácidos. Ao aumentar o pH (salto de pH) as outras espécies tornam-se mais estáveis. A cinética para o equilíbrio ocorre em três etapas muito diferenciadas no tempo. De salientar que a forma mais estável em meio moderadamente ácido é a forma hemicetal (incolor). Uma melhor percepção desta questão está ilustrada no Esquema 1b. As antocianinas estão em geral acumuladas nos vacúolos cujo pH pode variar de 2 nos citrinos a 7,7 em algumas flores, sendo o pH mais comum cerca de 5 [3-5]. Nas antocianinas, *in vitro*, a cor vermelha é dominante somente a pHs muito ácidos. A cor azul só é observada a pHs moderadamente básicos através da formação da base quinoidal aniônica (que não é estável) e na maioria dos pHs as antocianinas são quase incolores. A Natureza teve de desenvolver estratégias para fixar o vermelho e o azul, que passam por formar complexos com outros polifenóis (co-pigmentação), acilar os açúcares e complexar com metais (metaloantocianinas). Mais detalhes sobre estes fenómenos podem ser encontrados nas referências bibliográficas indicadas [6,7].

Esquema 1 - Diagrama de energias relativas das espécies do sistema cromático de 3-O-glucósido de malvidina em meio ácido. Este esquema geral é seguido por todas as antocianinas [7]. Adaptado da referência [7], Figura 2.

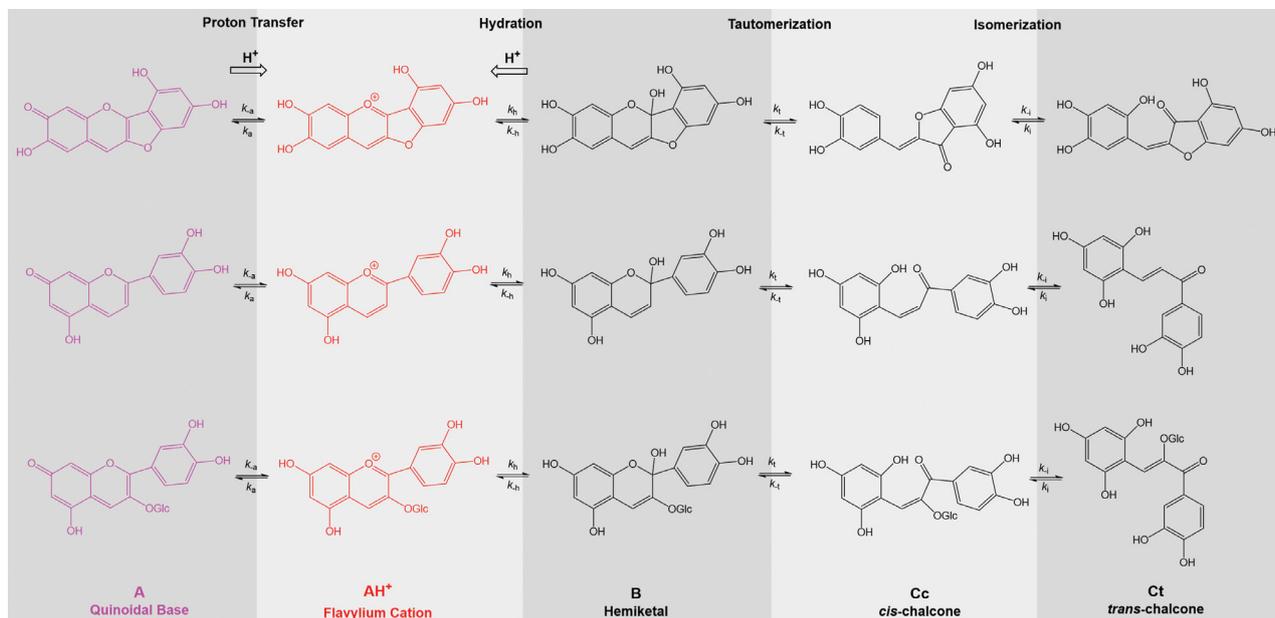


As 3-desoxiantocianinas são compostos muito semelhantes às antocianinas que conferem cor vermelha (através da respetiva base quinoidal) a alguns musgos e fetos. Ao longo da nossa investigação, verificámos que este sistema de cor seguia o mesmo das antocianinas apresentado no Esquema 1 [8].

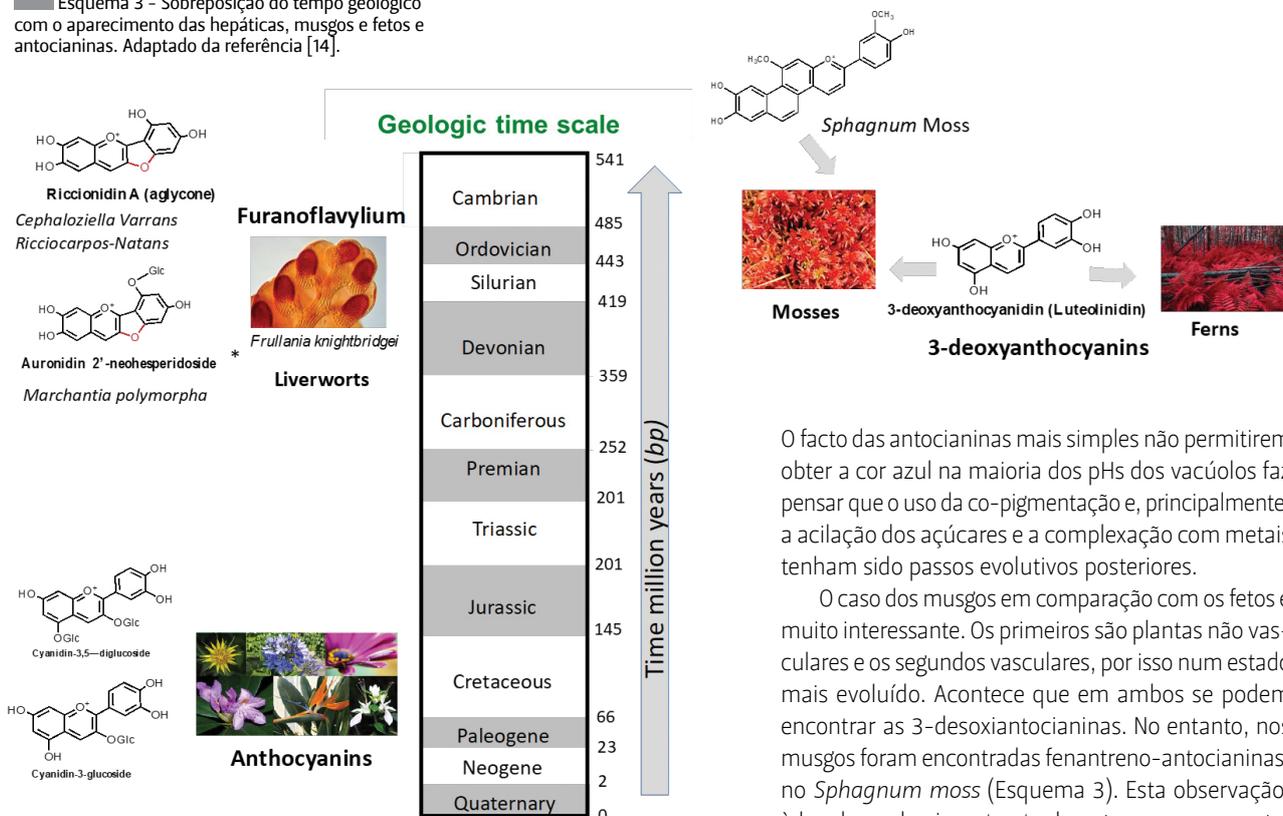
Todavia, o resultado mais interessante foi a constatação que os furanoflavílios, cujo estudo se iniciou no nosso grupo por volta de 2017, seguiam igualmente o Esquema 1 [9]. Uma das moléculas estudada foi a riccionidina A, presente em algumas hepáticas e que é a aglicona de um outro furanoflavílio entretanto isolado e caracterizado por Davies e Andersen [10] na hepática *Marchantia polymorpha*. No Esquema 2 estão descritos os três sistemas de cores. Em todos eles se verifica a estabilidade do catião flavílio a pHs muito ácidos, a formação de bases quinoidais (incluindo as aniônicas) após o salto de pH para soluções menos ácidas durante o tempo de mistura da base, o ataque da água na posição 2 do catião flavílio para dar o hemicetal, a abertura do anel C que origina a *cis*-chalcona e a isomerização que forma a *trans*-chalcona.

Esta constatação é de certo modo surpreendente porque o sistema de cor das antocianinas (Esquema 1), que apareceu há cerca de 100 milhões de anos, já tinha sido desenvolvido pelas hepáticas há cerca de 420 milhões de anos através dos furanoflavílios, melhorada a estabilidade do sistema de cor nos musgos e fetos pelo uso das 3-desoxiantocianinas (musgos - há cerca de 360 milhões de anos e fetos - há cerca de 330 milhões de anos) e, finalmente, uma maior versatilidade com a produção de antocianinas que são as únicas a permitir o aparecimento da cor azul.

Esquema 2 - Furanoflavílios, 3-desoxiantocianinas e antocianinas possuem a mesma natureza das espécies e reações químicas que as relacionam. A pHs mais básicos estas espécies dão lugar a aniões.



Esquema 3 - Sobreposição do tempo geológico com o aparecimento das hepáticas, musgos e fetos e antocianinas. Adaptado da referência [14].



O facto das antocianinas mais simples não permitirem obter a cor azul na maioria dos pHs dos vacúolos faz pensar que o uso da co-pigmentação e, principalmente, a acilação dos açúcares e a complexação com metais tenham sido passos evolutivos posteriores.

O caso dos musgos em comparação com os fetos é muito interessante. Os primeiros são plantas não vasculares e os segundos vasculares, por isso num estado mais evoluído. Acontece que em ambos se podem encontrar as 3-desoxiantocianinas. No entanto, nos musgos foram encontradas fenantreno-antocianinas, no *Sphagnum moss* (Esquema 3). Esta observação, à luz do conhecimento atual, sugere que os musgos tentaram obter sistemas de cor alternativos, além das 3-desoxiantocianinas.

No esquema 3 está representado o aparecimento das hepáticas, musgos e fetos assim como as angiospérmicas na escala dos tempos geológicos.

Em conclusão: muitos milhões de anos antes do sistema de cor aparecer nas antocianinas, já tinha sido ensaiado com outras moléculas nas hepáticas (furanoflavílio), nos musgos e fetos (3-desoxiantocianinas) e nas angiospérmicas (antocianinas).

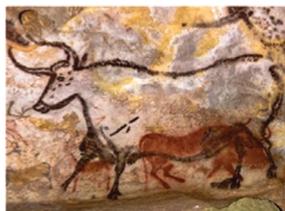
A colonização da superfície terrestre foi feita inicialmente pelos musgos cuja cor dominante seria o verde devido à clorofila. A seguir foram aparecendo cores vermelhas em hepáticas, musgos e fetos e só muitos milhões de anos mais tarde (após o aparecimento das angiospérmicas) o azul teve o seu aparecimento através de flores e frutos. Este padrão verde-vermelho-azul tem sido também recorrente no antropoceno.

2. O triunfo do azul no Antropoceno

De acordo com Pastoureau, “*While ubiquitous, the blue was a color that the human beings reproduced, made and mastered difficultly and tardily*” [11].

Nas pinturas rupestres do paleolítico (Figura 1a) podem encontrar-se todos os tons de amarelo e vermelho, assim como preto, mas não o azul. Quando se começaram a tingir têxteis no Neolítico, o tingimento em azul com o índigo (Figura 1b) apareceu muito depois do amarelo e do vermelho. Durante a Antiguidade Romana, as cores com significado eram o vermelho, o branco e o preto. O azul era uma cor dos “bárbaros”, com que os guerreiros gauleses pintavam o corpo quando combatiam os romanos. A partir do século XII o manto de Nossa Senhora passou a ser pintado com o dispendioso lápis lazúli, e a partir do século XVII o azul tornou-se uma cor da moda e até a mais apreciada das cores.

Figura 1 - a) Pintura rupestre do Paleolítico; (b) Tingimento (atual) com índigo. Copyright Wikipedia.



(a)



(b)

O acesso ao azul pelos humanos através dos minerais e da alquimia não era ilimitado (Figura 2). Podia ser obtido do custoso lápis lazúli ou da azurite, sendo esta menos estável porque se pode converter no verde de malaquite.

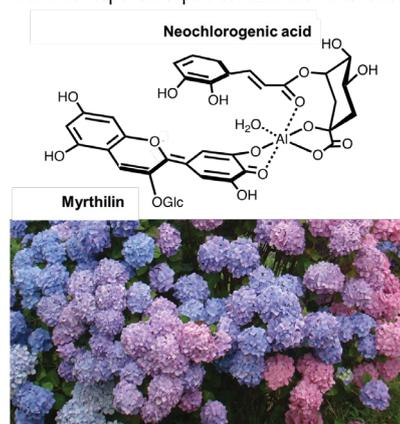


Figura 2 - Azuis obtidos por minerais ou através da alquimia. Adaptado da referência [14].

3. O caso das hortênsias

O alumínio é um elemento químico para o qual não é conhecida qualquer participação em sistemas biológicos. No entanto, este elemento é responsável pela cor azul das hortênsias (*Hydrangea macrophylla*) [12], Figura 3.

Figura 3 - Estrutura química do complexo de alumínio responsável pela cor azul das hortênsias.



Duas das condições necessárias para obter hortênsias azuis são as seguintes: i) solos suficientemente ácidos para permitir que a planta absorva os sais do ião Al^{3+} e ii) pH das sépalas cerca de 4. O complexo é formado pela mesma antocianina do mirtilo e um copigmento, o ácido neochlorogénico (tem de ser este isómero e não outro). Mais recentemente foi reportado outro complexo de alumínio na couve roxa [13], Figura 4.

4. Considerações finais

A cor azul foi a última a ser difundida nas plantas através do aparecimento das angiospérmicas. No antropoceno a cor azul foi decididamente a última a ser dominada.

Agradecimentos

Nuno Basílio, Alfonso Alejo-Armijo, A. Jorge Parola, João Carlos Lima, Maria João Melo, André Seco, Joana Oliveira, António Maçanita e Victor de Freitas, companheiros em publicações neste tema e interlocutores que nos deram o privilégio de poder discutir ciência e aprender sempre.

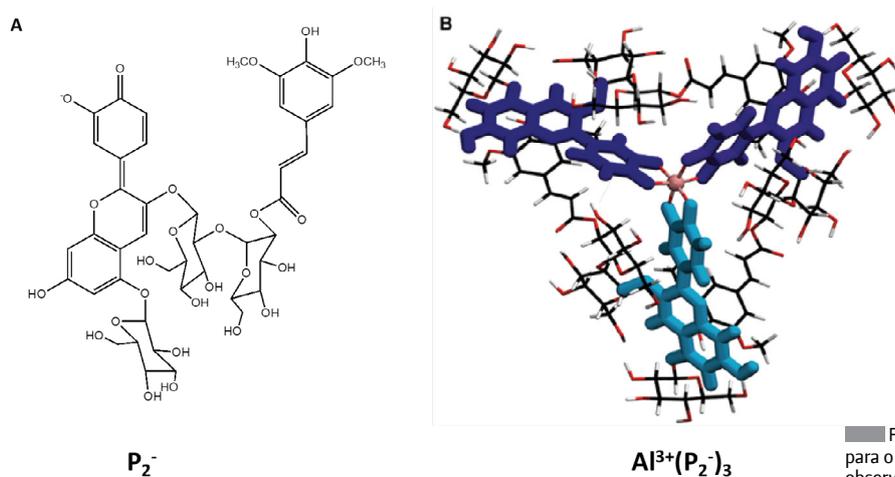


Figura 4 - Estrutura proposta para o complexo azul de Al^{3+} observado na couve roxa [13].

Referências

- [1] M. Schreiber, S. A. Rensing, S. B. Gould, *Trends Plant Sci.* **2022**, 27, 847-857. DOI: 10.1016/j.tplants.2022.05.005.
- [2] F. Pina, M. J. Melo, M. Maestri, R. Ballardini, V. Balzani, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 5556-5561. DOI: 10.1021/ja9704646.
- [3] E. Echeverria, J. Burns, H. Felle, *Phytochemistry* **1992**, 31, 4091-4095. DOI: 10.1016/0031-9422(92)80420-J.
- [4] H. H. Felle, *Ann. Bot.* **2005**, 96, 519-532. DOI: 10.1093/aob/mci207.
- [5] K. Yoshida, T. Kondo, Y. Okazaki, K. Katou, *Nature* **1995**, 373, 291-291. DOI: 10.1038/373291a0.
- [6] N. Basilio, J. Mendoza, A. Seco, J. Oliveira, V. de Freitas, F. Pina, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2021**, 23, 24080-24101. DOI: 10.1039/D1CP03034E.
- [7] L. Cruz, N. Basilio, N. Mateus, V. de Freitas, F. Pina, *Chem. Rev.* **2022**, 122, 1416-1481. DOI: 10.1021/acs.chemrev.1c00399.
- [8] M. J. Melo, S. Moura, A. Roque, M. Maestri, F. Pina, *J. Photochem. Photobiol. A - Chem.* **2000**, 135, 33-39. DOI: 10.1016/S1010-6030(00)00272-0.
- [9] A. Alejo-Armijo, A. J. Parola, F. Pina, *ACS Omega* **2019**, 4, 4091-4100. DOI: 10.1021/acsomega.8b03696.
- [10] H. Berland, N. W. Albert, A. Stavland, M. Jordheim, T. K. McGhie, Y. Zhou, H. Zhang, S. C. Deroles, K. E. Schwinn, B. R. Jordan, K. M. Davis, Ø. M. Andersen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2019**, 116, 20232-20239. DOI: 10.1073/pnas.1912741116.
- [11] M. Pastoureaux, "Blue: The History of a Color", Princeton University Press, **2001**.
- [12] K. Yoshida, D. Ito, N. Miki, T. Kondo, *New Phytol.* **2020**, 229, 3549-3557. DOI: 10.1111/nph.17099.
- [13] P. R. Denish, J. A. Fenger, R. Powers, G. T. Sigurdson, L. Grisanti, K. G. Guggenheim, S. Laporte, J. Li, T. Kondo, A. Magistrato, M. P. Moloney, M. Riley, M. Rusishvili, N. Ahmadiani, S. Baroni, O. Dangles, M. Giusti, T. M. Collins, J. Didzbalis, K. Yoshida, J. B. Siegel, R. J. Robbins *Sci. Adv.* **2021**, 7, eabe7871. DOI: 10.1126/sciadv.abe7871.
- [14] F. Pina, N. Basílio, A. J. Parola, M. J. Melo, J. Oliveira, V. de Freitas, *Dyes Pigment.* **2023**, 210, 110925. DOI: 10.1016/j.dyepig.2022.110925.

>

Fernando Pina

LAQV - REQUIMTE.

Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

Fernando Pina é Prof. Catedrático Jubilado da FCT-UNL. Licenciado e doutorado em Engenharia Química, processos químicos, pelo Instituto Superior Técnico, fez um pós-doutoramento em fotoquímica na Universidade de Bolonha, Itália (Prof. Vincenzo Balzani). É membro fundador do LAQV-REQUIMTE. Recebeu o Prémio Gulbenkian de Ciência "Ciências Aplicadas e Tecnologias" (1998), Prémio

Estímulo à Excelência, Fundação para a Ciência e a Tecnologia (2004) e o Prémio Ferreira da Silva, Sociedade Portuguesa de Química (2010). Os seus interesses científicos evoluíram desde a fotoquímica de compostos organometálicos e compostos de coordenação, química supramolecular, antocianinas e compostos afins, dispositivos moleculares e sensores, incluindo memórias ópticas. A partir da jubilação focou a sua investigação na evolução da cor, em particular vermelha e azul, nas plantas e no Antropoceno. fp@fct.unl.pt

ORCID.org/0000-0001-8529-6848

O Sudário de Turim: Fonte de Extraordinária Informação Científicaⁱ

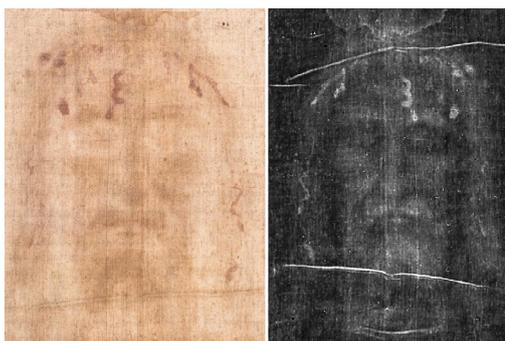
>
Victor M. M. Lobo

The Shroud of Turin: Source of Extraordinary Scientific Information. *A cloth deposited in the Turin Cathedral is said to have evolved, according to the Christian tradition, the body of Jesus of Nazareth after his crucifixion. The scientific principles and the technical capacities of some of the methods of chemical analysis used to study this cloth have been indicated, and they prove that it is not a fraud. For example, they reveal the face of a condemned person; clearly show that he died as a result of crucifixion, at Easter time and in Jerusalem, and explain the medical causes; he was 175 ± 2 cm tall, suffered 120 lashes with an instrument used by the Romans; he fell on a street of Jerusalem; they show where nails have been inserted, and an arrow has perforated his body. It has been shown why the sampling for the carbon-14 dating in 1988 does not represent the linen of cloth under analysis, i.e., why the results have no meaning; however, other dating techniques show that the cloth is from the 1st century A.D.*

Na Catedral de Turim está um pano que a tradição diz ter envolvido o corpo de Jesus de Nazaré após a sua crucificação. Referimos os fundamentos e capacidades científicas de alguns dos métodos de análise química que nos garantem que o Sudário não pode ser uma fraude. Por exemplo, obtemos uma imagem do rosto do homem do Sudário; vê-se que teve morte por crucificação; pode explicar-se as causas dessa morte; prova-se que tal aconteceu pela Páscoa e em Jerusalém; vê-se que tinha 175 ± 2 cm de altura, levou 120 chicotadas, com um chicote usado pelos romanos; caiu no solo numa rua de Jerusalém; determina-se o local onde os pregos foram espetados, bem como onde uma lança o atravessou. Mostrou-se bem que a amostragem usada para a datação pelo carbono-14 em 1988 não representa o linho do pano em causa, i.e., que os resultados dessa análise não têm significado; contudo outros métodos de datação mostram ser o pano do Séc. I A.D.

Nota

ⁱResumo do artigo publicado nas MEMÓRIAS DA ACADEMIA DAS CIÊNCIAS DE LISBOA, CLASSE DE CIÊNCIAS, TOMO XLVII, Volume 2, disponível em comum.rcaap.pt/handle/10400.26/45799 (DOI: 10.58164/xhef-4y49) e que serviu de base à comunicação de Victor M. M. Lobo no XVIII Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Química (sessão especial dedicada a Fraústo da Silva), ocorrido de 24 a 26 de julho de 2023, em Aveiro.



À esquerda: foto da face humana patente no Sudário tal como se apresenta à visualização direta, obtida em 2000 pelo fotógrafo profissional Gianni Durante. À direita: negativo fotográfico obtido pelo fotógrafo profissional Giuseppe Enrie em 1931. O facto de serem perceptíveis muitos mais pormenores fisionómicos resulta da riqueza de informação patente nas fibras de linho, o que por si só é extraordinário.

>

Victor M. M. Lobo

Departamento de Química, Universidade de Coimbra.

Professor Catedrático da Universidade de Coimbra, Membro Efetivo da Academia das Ciências de Lisboa, Presidente da Academia Tubuciana de Abrantes, Presidente da Comissão Nacional CT-43 de Corrosão Metálica

e *Head of the Portuguese Delegation* em reuniões internacionais da ISO e CEN, Editor da revista científica da *Portugaliae Electrochimica Acta*, Doutorada pela Universidade de Cambridge, Inglaterra. Foi Presidente da Sociedade Portuguesa de Eletroquímica (SPE), Presidente da Assembleia Geral da Sociedade

Portuguesa de Química, Presidente da Assembleia Geral da SPE, Diretor do Departamento de Química da Universidade de Coimbra, Membro Titular da IUPAC, entre outras funções. As suas publicações e comunicações científicas podem ser encontradas em apps.uc.pt/mypage/staff/uc40512/en.vlobo@ci.uc.pt

A Química na Era da Desmaterialização do Conhecimento

> Clementina Teixeira

Living with Chemistry in a Virtual World.

The STEAMD project on crystal growth by heterogeneous nucleation was published on the web in 2008 (till 2015) and in social media from 2012: rocks, minerals, shells, and metallic wires with rough surfaces were used as substrates in aqueous solutions of metal complexes and other compounds known to produce large crystals. The growth is faster and easier to perform when compared to the thread seeding technique. However, clusters of impure crystals are obtained, often with habit modifications, caused by chemical reactions between the solute solutions and the substrates. These chemical “sculptures” were linked to Art, Design and Symmetry (painting, scientific photography, decorative patterns). Further crystallizations and reactions were performed under a stereomicroscope, reducing the exposure to toxic metallic compounds (Cr^{VI} , Ni, Co) and enabling the interpretation of many side reactions. The large collection of scientific photos and photomicrographs was used to generate decorative patterns printed on textiles and paper for origami collections. A collection of rigorous models of the crystal lattices provided a better understanding of chemical bonds in some of the coordination compounds studied, their structures and reactivity. The discussions of the results were based on Fraústo da Silva’s books and notes on Inorganic and Analytic Chemistry.

O projeto STEAMD “On The Rocks” de crescimento de cristais sobre suportes rugosos foi publicado na internet em 2008 (até 2015) e nas redes sociais a partir de 2012. Rochas, minerais, conchas e metais são utilizados como substratos para acelerar o crescimento de cristais de compostos inorgânicos em solução aquosa, numa técnica mais simples e rápida do que o método da semente suspensa por um fio. Apesar de impuros, e muitas vezes com hábito modificado, os cristais formam agregados lindíssimos, autênticas esculturas químicas que facilitaram a ligação à Arte de pintores, fotógrafos e designers, com padrões decorativos obtidos por regras de simetria simples. A cristalização, feita à lupa estereoscópica, permitiu compreender reações paralelas (soluto-substrato), reduzir os efeitos tóxicos de compostos metálicos de Cr^{VI} , Ni, Co, e reunir uma vasta coleção de fotomicrografias para gerar padrões decorativos virtuais, alguns impressos em tecido e papel para construção de origamis. Os modelos das redes cristalinas rigorosas dos compostos mais populares permitiram compreender a ligação química, estrutura e reatividade, servindo de complemento ilustrativo aos textos didáticos de Química Inorgânica e Analítica do Professor Fraústo da Silva.

Nunca fui aluna nem tenho publicações com o Professor Fraústo da Silva. Mas tive o privilégio de o conhecer quando vim da FEUP para o IST, dedicando-me à Química Inorgânica (1978). No início, as suas folhas de Bioquímica (1976) conduziram-me, mais tarde, ao livro “Introdução à Química da Vida” [1]: do prefácio dedicado ao Nobel da vitamina C, Szent-Cyörgyi, passando aos elementos, moléculas e mecanismos que regem a vida, tudo influenciou a escrita da minha Tese de Doutoramento [2]. Daí resultou um capítulo sobre a importância da energética da ligação Metal-Enxofre que incluiu exemplos de aminoácidos, proteínas, enzimas com os seus centros ativos de Fe-S, e ainda complexos de Fe e de Mg na hemoglobina e na

clorofila, etc. A qualidade da escrita, e a capacidade de introduzir os conceitos por via dedutiva, levaram-me a investir na Química Inorgânica de Coordenação, seguindo os seus apontamentos feitos em coautoria com o Prof. Romão Dias [3]. Estas notas foram utilizadas nas aulas que passei a lecionar no IST em 1980, refletindo-se também nas minhas escolhas de divulgação em 1993.

Surgiu então o crescimento “On the rocks” (Figuras 1-4) associado à Química dos Elementos e ao estudo da cristalização e reações à lupa estereoscópica (ácido-base, precipitação, redox, complexação, projeto de Microscopia Química) [4-7]. A coleção reúne compostos de cristalização fácil, álumenes $M^{III}(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, sais

de Tutton (schönites) $M_2M'(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ e respetivas soluções sólidas, glicina, di-hidrogenofosfato de amónio, com e sem inclusão de corantes [6], etc. Esta técnica de nucleação heterogénea tem sido disponibilizada na *web*, redes sociais e *ResearchGate* [6,8]. É incluída em cursos de formação de professores, clubes de Ciência, projetos Ciência Viva e Exposições. Foi comercializada pela SITAF, uma *spin-off* do IST (1995-2003). As fotomicrografias das reações da Química da Água representam o meu esforço na redução dos riscos inerentes ao uso de reagentes tóxicos. A exposição virtual, “Química, Arte e Inteligência Artificial” [9] reúne alguns resultados ligados à Arte e ao Design: os padrões decorativos são construídos com o PowerPoint®, Photoshop®, GeGla® (2016) [10] e com aplicações de telemóvel (colagens, espelhos virtuais, animações e efeitos) (2019) (Figura 1) [8,9].

O espólio do projeto está integrado na coleção museológica do DEQ-IST [12], de que fazem parte: os Livros dos Laboratórios Abertos com experiências, catálogos de exposições (virtuais e não só) [14,15], vídeos no *Youtube* [16], as pinturas da “Art On the Rocks” de Cristina Fontoura Carvalhão (Figura 4), os “Modelos das Redes Cristalinas” Beever’s® (Figuras 2 e 3) com história publicada em *Podcast* [11], uma coleção de monocristais

vindos da Alemanha (Figura 2), “Cristais das Ânforas de Vidro”, apresentada também em *Podcast* [12]. Nenhum Professor do IST se recorda da aquisição destas ânforas, pelo que poderão ser anteriores à década de 1950-1960, dos tempos áureos da Química Inorgânica. Contém os compostos já citados e outros, entre os mais carismáticos da área (cromatos, dicromatos, sais de chumbo, enxofre ortorrômbico, etc.). Alguns detalhes da preservação de cristais eflorescentes apontavam para o crescimento pela técnica do fio que aprendi em 1970 na FCUP (nunca a usei no projeto). Porém, esse método [13] costuma deixar defeitos cristalinos e até o próprio fio, observáveis nessas amostras. Assim, deduzo que tenham sido preparados por sementeira em cristizador rotativo, técnica usada para cristais de grandes dimensões [12].

A primeira Tese de Doutoramento do IST em Eletrotecnia (Figura 3) mais parece de Química, com as estruturas dos iões complexos de $Al^{3+}(aq)$ e $Mg^{2+}(aq)$, o que demonstra a importância dos compostos de coordenação nessa época [17]. Esta gravura surge no âmbito da colaboração de Ciência e Arte com o Museu Faraday do IST [18], com a construção de uma árvore de Natal enfeitada com fotomicrografias, padrões de reações redox e cristais octaédricos [19].



Figura 1 - $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ em granito, casca de ostra e cristais soltos das preparações (1); cristalizações em placa de Petri e fotomicrografias (2); padrões decorativos (3).

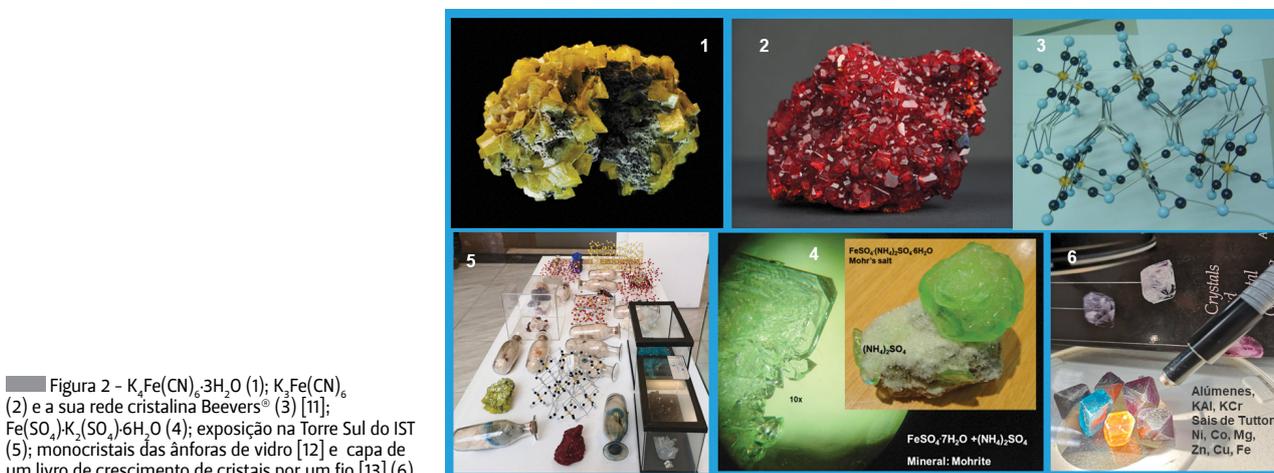


Figura 2 - $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ (1); $K_4Fe(CN)_6$ (2) e a sua rede cristalina Beever's® (3) [11]; $Fe(SO_4) \cdot K_2(SO_4) \cdot 6H_2O$ (4); exposição na Torre Sul do IST (5); monocristais das ânforas de vidro [12] e capa de um livro de crescimento de cristais por um fio [13] (6).

Na mesma figura, apresentam-se três sais de Tutton: $\text{Co}(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (vermelho sangue), solução sólida deste sal de Co com o homólogo de Ni (verde azeitona) e $\text{Ni}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{K}_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (azul-turquesa, em ânfora de vidro). Esta família de cristais, muito puros, estão a ter aplicações muito recentes em optoeletrónica, como filtros UV, sendo também usados na deteção de mísseis (*solar blind technology*) [20].

Como docente no IST mantive com o Professor Fraústio da Silva conversas informais, muito orientadas para as reações redox (diagramas de Latimer, Frost, Pourbaix, corrosão) que me auxiliaram muito no ensino de várias cadeiras: Química das Soluções Aquosas (com Rita Delgado e Luís Vilas-Boas); Química Inorgânica e cadeiras de laboratório de Eng.ª Química, de Materiais e de Química Geral. Na Eng.ª Física Tecnológica, como regente, consegui reforçar os conteúdos da Química da Água, introduzir o crescimento de cristais de NaCl, de $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ (ADP) e as redes cristalinas que vieram reforçar a compreensão da ligação química em compostos de coordenação no estado sólido (Figuras 2 e 3).

Nos anos 1990 fiz a montagem de um microcalorímetro de titulação com Maria Cândida Vaz. Nesse contexto, foi feita a calibração de um fotocalorímetro [21] com a reação

do actinómetro de Parker, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (irradiação a 436 nm, com redução do Fe^{III} a Fe^{I} e libertação de CO_2) (Figura 4). O verde dos cristais e soluções, lindíssimo, pode, em termos de cor, substituir os compostos de níquel por serem menos tóxicos. Essa mesma cor conduziu-me à pintura de Michel Cheval, *The Alchemist* [22], inspirada na obra de Vermeer, para fazer a ligação da Ciência à Arte. Muitos exemplos STEAMD (*Science, Technology, Engineering, Art, Mathematics, Design*) foram apresentados nas redes sociais, com os pintores holandeses Poen de Wijs e Jantina Peperkamp [6,18] e ainda com Duma Arantes [23]. No entanto, a escolha da Arte em contexto de Ciência é difícil de conciliar em termos de direitos de autor e de apreciação estética.

Os oxalatos metálicos também estão na moda, graças aos entusiastas que se inspiram nas aulas e, como *hobby*, se dedicam à síntese associada ao crescimento de cristais, publicando na *web*. Saliento as soluções sólidas de Al e Cr, de cor violeta lindíssimo provenientes da Rússia, Vietname e Alemanha [24]. A síntese de $\text{K}_3[\text{Al}(\text{C}_2\text{O}_4)_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ fazia-se em cadeiras de Laboratório já extintas. Também o alúmen de potássio (Figura 3) foi preparado por reciclagem de papel de alumínio, trabalho que também incluiu a Química Descritiva deste

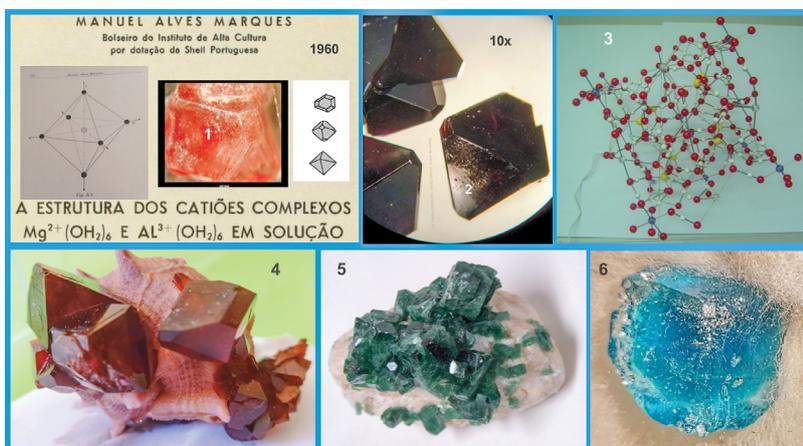


Figura 3 - Alúmen de potássio corado com Ponceau 4R (1), de hábito octaedro+cubo, hábitos mais frequentes do alúmen de potássio e estrutura do complexo $\text{Al}^3+(\text{aq})$ retirada da tese de Alves Marques, cuja capa também se apresenta na primeira gravura desta figura; e a sua rede cristalina (3); fotomicrografia de alúmen de cromo (2) com o mesmo hábito; sal de Tutton de cobalto e amónio (4); solução sólida de sais de Co e de Ni, ambos de amónio; sal de Tutton de Ni, K (ânfora de vidro).

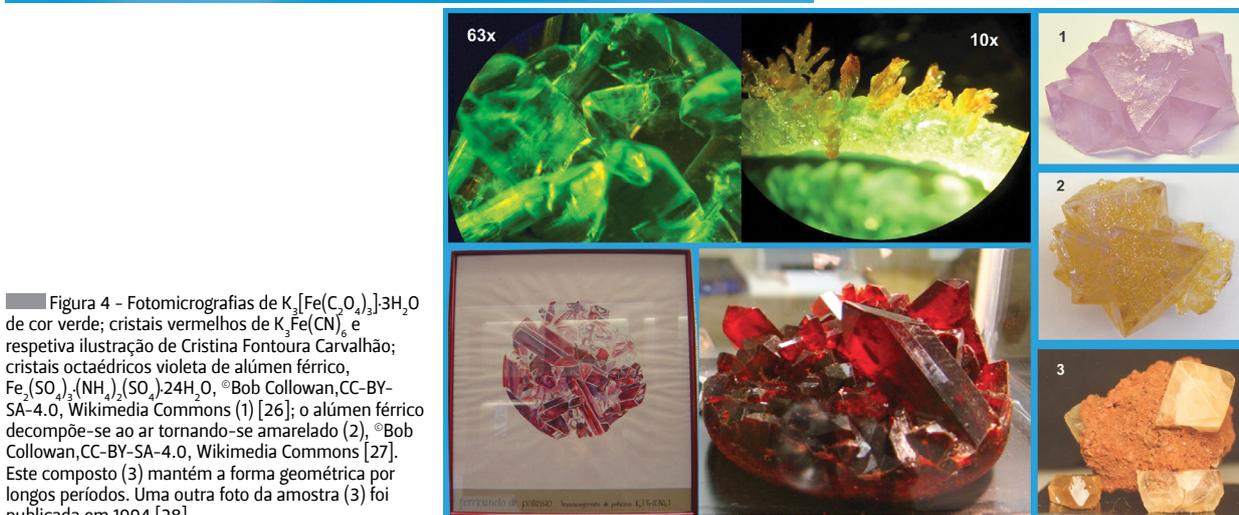


Figura 4 - Fotomicrografias de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ de cor verde; cristais vermelhos de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ e respetiva ilustração de Cristina Fontoura Carvalhão; cristais octaédricos violeta de alúmen férrico, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$, ©Bob Collowan, CC-BY-SA-4.0, Wikimedia Commons (1) [26]; o alúmen férrico decompõe-se ao ar tornando-se amarelado (2), ©Bob Collowan, CC-BY-SA-4.0, Wikimedia Commons [27]. Este composto (3) mantém a forma geométrica por longos períodos. Uma outra foto da amostra (3) foi publicada em 1994 [28].

Elemento nos meus cursos de cristais para professores (1996-2000) [25]. Seria interessante retomar estes trabalhos, associados ao crescimento de cristais, numa altura em que se esgotam as reservas de metais e tanto ferro velho está a ser produzido com a guerra, que será necessário reciclar.

Deste breve testemunho de interação com o Professor Fraústo da Silva fica a minha vontade de o prolongar, pois de forma alguma esgotei o tema. Durante anos conversávamos sobre Química Inorgânica e daí, bem como das palestras que dava, dos textos que escrevia, eu saía de baterias carregadas porque ele tinha a medida certa para um cientista e divulgador: sem recorrer ao histrionismo, sem grande aparato, mas com voz calma e pousada de quem saboreou o conhecimento de Química a

um nível interdisciplinar que já não é atingível nos tempos que correm no nosso País. Mas a Ciência continua, e a facilidade de a desmaterializar, para em seguida seguir o percurso inverso, é com certeza uma via para conservar por mais tempo a memória do legado de Fraústo da Silva.

Agradecimentos

Fundação para a Ciência e a Tecnologia, CQE - UIDB/00100/2020, UIDP/00100/2020; *Institute of Molecular Sciences* IMS - LA/P/0056/2020. Ao Prof. Pombeiro agradeço o convite para participar nesta homenagem a Fraústo da Silva e aos meus colaboradores, Vânia André, Gonçalo Santos, Manuel F. C. Pereira e Teresa Tasso de Figueiredo, algumas preparações laboratoriais e fotografias científicas.

Referências

- [1] J. J. R. Fraústo da Silva, "Introdução à Química da Vida", Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2.ª edição, Lisboa, **1985**.
- [2] Clementina Maria Cardoso Teixeira da Cunha Pereira, *Terموquímica de Complexos $MCp_2(SR)_2$, de Molibdénio, Tungsténio e Titânio*. Tese de Doutoramento em Engenharia Química, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, **1986**.
- [3] J. J. R. Fraústo da Silva, A. R. Dias, "Química Inorgânica, Introdução à Química dos Compostos de Coordenação", Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, **1979**.
- [4] C. Teixeira, *Colóquio Ciências, Fundação Calouste Gulbenkian* **2000**, 25, 20-36.
- [5] C. Teixeira, V. André, N. Lourenço, M. J. Rodrigues, *Ciência e Tecnologia dos Materiais* **2007**, 19, n.º 1-2, 66-77.
- [6] C. Teixeira, "Artesões do Século XXI: Poderá a Química ligar-se à Arte? Experiências com cristais inspiradas pelo mar", Museu Faraday, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, **2020**, 1-49.
- [7] C. Teixeira, *Química* **2007**, 107, 41-45. DOI: 10.52590/M3.P632.A30001405.
- [8] C. Teixeira, D. Simão, C. Almeida Rocha, *Cristais Químicos, do Real ao Virtual*, in D. Simão, V. Bonifácio (eds.), "Livro dos Laboratórios Abertos 2022", Departamento de Engenharia Química, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, **2023**, 1-104, aceite para publicação, DOI: 10.13140/RG.2.2.16274.32966 (acedido em 20/09/2023). Referências aí citadas.
- [9] C. Teixeira, *Química, Arte e Inteligência Artificial*, in V. Bonifácio (ed.), "Laboratórios Abertos 2021, Exposição Virtual", Departamento de Engenharia Química, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, **2021**: deq-la.tecnico.ulisboa.pt/2021/exposicao/exposicao.php (acedido em 22/09/2023).
- [10] Associação Atractor: atractor.pt/mat/GeCla (acedido em 22/09/2023).
- [11] ACIM, *Os Modelos das Redes Cristalinas*, Episódio 17, in "110 Histórias, 110 Objetos", Instituto Superior Técnico, **2021**: 110.tecnico.ulisboa.pt/arquivos/episodio-17-os-modelos-de-redes-cristalinas (acedido em 22/09/2023). Consultar a entrevista completa, além do Podcast.
- [12] ACIM, *Cristais das Ânforas de Vidro*, Episódio 60, in "110 Histórias, 110 Objetos", Instituto Superior Técnico, **2022**: tecnico.ulisboa.pt/pt/eventos/110-historias-110-objetos-cristais-das-anforas-de-vidro (acedido em 22/09/2023). Consultar a entrevista completa.
- [13] A. Holden, P. Morrison, "Crystals and Crystal Growing", MIT, Cambridge, Massachusetts, **1989**.
- [14] C. Teixeira, E. C. P. Benedicto, G. Santos, *Cristais Químicos em 3D e Exposição*, in M. A. Lemos, C. Gomes de Azevedo, D. Simão (eds.), "Livro dos Laboratórios Abertos 2020", Departamento de Engenharia Química, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa. ISBN: 978-989-99508-7-0, 2020, 127-180.
- [15] C. Teixeira, *Química e Arte: Sugestões para o Ano Internacional da Tabela Periódica 2019*, in M. A. Lemos, C. Gomes de Azevedo, D. Simão (eds.), "Livro dos Laboratórios Abertos 2019", Departamento de Engenharia Química, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa. ISBN: 978-989-99508-6-3, 2019, 120-166.
- [16] C. Teixeira, "On The Rocks, Crystallization on Rough Surfaces" - vídeo n.º 2, Departamento de Engenharia Química e Centro de Química Estrutural, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, 1997 (1.ª Edição), 2000 (2.ª Edição), ISBN 972-98598-0-9, 1-69. Vídeos: youtube.com/watch?v=75HYbF4xi5K (acedido em 25/09/2023).
- [17] M. A. Marques, *A Estrutura dos Cátions Complexos $Al^{3+}(OH)_6$ e $Mg^{2+}(OH)_6$ em solução*, Sebenta, Instituto Superior Técnico, **1960**.
- [18] C. Teixeira, *Faraday News*, Museu Faraday, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, **2021**, 4, 46-51.
- [19] Museu Faraday, *Ciência sem Fronteiras, Árvore de Natal*, 2021: facebook.com/servicoeducativomuseustecnico/videos/600833627701635 (acedido em 25/09/2023).
- [20] T. S. Pacheco, S. Ghosh, M. Oliveira, A. A. Barbosa, G. J. Perpétuo, C. J. Franco, *J. Sci.: Adv. Mater. Dev.* **2017**, 2, 354-359. DOI: 10.1016/j.jsamd.2017.08.002.
- [21] C. Teixeira, I. Wadsö, *J. Chem. Thermodyn.* **1990**, 22, 703-713. DOI: 10.1016/0021-9614(90)90023-J.
- [22] C. Teixeira, *Ciência, Tecnologia, Arte, Design no Facebook*: facebook.com/photo.php?fbid=69916385541727&set=pb.100063443575239.-2207520000&type=3 (acedido em 25/09/2023); facebook.com/141834475839786/photos/a.142258445797389.19110.141834475839786/479711005385463/?type=1&theater (acedido em 25/09/2023).
- [23] C. Teixeira, *Ciência, Tecnologia, Arte, Design no Facebook*: facebook.com/photo/?fbid=857579427616271&set=a.568659676508249 (acedido em 25/09/2023); facebook.com/photo/?fbid=855058747868339&set=a.1009268459114033 (acedido em 25/09/2023).
- [24] D. Shintyakov, Rússia: facebook.com/CENews/photos/green-giantchemist-dmitry-shintyakov-is-a-crystal-hobbyist-he-makes-big-beautiful/10158223426090265/?paipv=0&eav=AfbuN5hj_dSTY76rv8aVf56LR86hkGH4TW000qFIMsfj6YdAoJlGNyBc6og8GUKY8&rd; dmishin.github.io/crystals/potassium-trioxalato-aluminate.html; Vietnam, YTT #4: [Playlist] List Nhạc chill và ảnh tinh thể nổi bật | HCRIT - Tinh thể học - YouTube (acedido em 28/09/2023).
- [25] C. Teixeira, *On the Rocks...Crystallization on Rough Surfaces. New Applications*: scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0108767300028804 (acedido em 28/09/2023).
- [26] B. Collowan, CC-BY-SA-4.0, Wikimedia Commons (acedido em 28/09/2023): upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/84/Ammoniummeisenalaun.jpg
- [27] B. Collowan, CC-BY-SA-4.0, Wikimedia Commons (acedido em 28/09/2023): commons.wikimedia.org/wiki/File:Ammonium_iron(III)_sulfate_dodecahydrate_in_moist_air,_2015-10-22_(1).jpg
- [28] C. Teixeira, A. Santana, C. Mesquita, *Química* **1994**, 53, 50-54. DOI: 10.52590/M3.P577.A3000636.

>

Clementina Teixeira

Instituto Superior Técnico, Departamento de Engenharia Química, Universidade de Lisboa.

Professora Auxiliar aposentada desde 2012, coordena no Centro de Química Estrutural um projeto de Crescimento de Cristais ligado a outras áreas científicas,

à Arte e ao Design. Dedicou-se à divulgação científica na web e redes sociais. Colabora na organização de uma coleção museológica para divulgação da Química numa perspetiva interdisciplinar. clementina@tecnico.ulisboa.pt

ORCID.org/0000-0002-7822-7382

Tudo Explicado... em Vídeo



Exemplo de uma reação química demonstrada em vídeo. Preparação de complexos de cobalto(II) que servem como modelos para o centro ativo do zinco na enzima álcool desidrogenase do fígado (LADH). @JoVE.

>

Vasco Bonifácio

vasco.bonifacio@tecnico.ulisboa.pt



A plataforma JoVE é a maior produtora e fornecedora mundial de vídeos científicos. A sua missão é não só educar, mas também ajudar quem realiza investigação científica, nas mais diversas áreas. Milhões de cientistas, educadores e estudantes em milhares de universidades, faculdades, hospitais e até empresas já usam o JoVE como ferramenta complementar das suas atividades. Este projeto nasceu da dificuldade de um investigador em reproduzir um protocolo que encontrou na literatura, e que envolvia diversos passos, difíceis de executar. Se houvesse um vídeo que mostrasse como tudo foi feito seria muito mais fácil reproduzir a experiência! Passada uma década, o JoVE continua a ser a primeira e única publicação científica em vídeo com revisão por pares, publicando mais de 100 novos vídeos por mês. O JoVE não é de acesso gratuito, mas já existem muitas instituições que disponibilizam o acesso aos seus docentes e investigadores. Verifiquem se têm acesso, caso contrário está na altura de atualizar a vossa lista de desejos para o novo ano...

Veja mais em dx.doi.org/10.3791/60668-v

ThoughtCo. Não há Perguntas Difíceis

O ThoughtCo é um *site* de referência com mais de 20 anos de foco em conteúdo educacional criado por especialistas. Em 2018, o ThoughtCo recebeu o prémio *Communicator* na categoria Educação Geral e o prémio *Davey* na categoria Educação. Uma grande inspiração começa com uma pergunta, e aqui milhões de pessoas encontram a resposta àquela dúvida que as atormentava... ou quase. Os tópicos abordados são diversos, disponibilizados de forma clara e fácil de navegar, e as ciências bem representadas.

O *rigor mortis* é uma condição temporária que ocorre após a morte. Após cerca de oito horas, os músculos relaxam novamente. A principal causa do *rigor mortis* é o esgotamento da molécula de energia da célula, o ATP. Os íões de cálcio que fluem para as células musculares promovem a ligação de pontes cruzadas entre a actina e a miosina, dois tipos de fibras que trabalham juntas na contração muscular. As fibras musculares ficam cada vez mais curtas até estarem totalmente contraídas ou enquanto o neurotransmissor acetilcolina e o ATP estiverem presentes. No entanto, os músculos precisam de ATP para se libertarem de um estado contraído (ele é usado para bombear o cálcio para fora das células para que as fibras se possam desprender umas das outras).



A bioquímica do *rigor mortis*. @ThoughtCo.

Se precisamos de preparar uma aula, ou apenas querer saber o porquê, o ThoughtCo pode ajudar!

Veja mais em thoughtco.com/what-causes-rigor-mortis-601995

>

Vasco Bonifácio

vasco.bonifacio@tecnico.ulisboa.pt

Os Metais da Vida

A investigação da biologia e da origem da vida centra-se habitualmente nos elementos que compõem os ácidos nucleicos e os peptídeos. Menor atenção é dada aos componentes inorgânicos que são necessários para o funcionamento de sistemas biológicos. A presença de metais, a solubilidade dos seus iões e a sua reatividade intrínseca tiveram e continuam a ter impacto na composição e no funcionamento das células. Embora ainda se discuta a sequência de ocorrências que levaram à biologia existente, o que é claro é que a vida, tal como a conhecemos, requer metais e que os eventos deles dependentes permanecem, pelo menos parcialmente, impressos na química da célula.

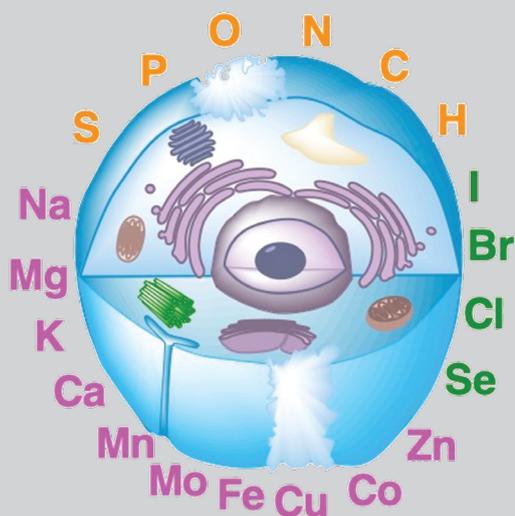
As moléculas orgânicas e as macromoléculas biológicas são constituídas maioritariamente por carbono (C), hidrogénio (H), nitrogénio (N), oxigénio (O), fósforo (P) e enxofre (S), designados coletivamente pela sigla SPONCH (do inglês, *Sulfur, Phosphorus, Oxygen, Nitrogen, Carbon, Hydrogen*). Os seis elementos referidos são não metais. Pelo menos dez elementos químicos essenciais à vida humana são metais: sódio, potássio, magnésio, cálcio, manganês, ferro, molibdénio, cobalto, zinco e cobre. Se incluirmos na contagem quatro elementos não metálicos adicionais, os halogéneos cloro, bromo, iodo e o selénio, obtém-se um total de 20 elementos químicos essenciais aos seres humanos. Para outras formas de vida, são ainda essenciais outros elementos metálicos, como por exemplo o vanádio, o tungsténio, o níquel, e mesmo o cádmio e alguns dos lantanídeos. Muitos outros elementos metálicos estão presentes no nosso corpo, e alguns, como o estrôncio e o rubídio, existem em concentrações mais elevadas do que alguns dos designados elementos essenciais.

Para se compreender o papel dos metais nos seres vivos devem conhecer-se as propriedades de cada elemento químico. Estas incluem a razão pela qual um dado elemento foi selecionado ou rejeitado no processo evolutivo, pelas suas funções biológicas, e quais são as gamas de concentrações dos elementos presentes e quais as concentrações consideradas adequadas, seguras e toleráveis antes de ocorrerem efeitos adversos. Os elementos essenciais podem ter efeitos adversos em concentrações excessivamente elevadas, enquanto concentrações baixas podem levar a deficiências. No entanto, a sua presença é crucial para a sobrevivência. Por exemplo, a carência de Fe e Co provoca anemia, a de Cu origina doenças cerebrais, cardíacas e anemia, a de Zn pode conduzir a atrasos no crescimento e alterações cutâneas, a de Ca provoca

deterioração óssea e a de Cr reduz a tolerância à glicose. Também deve ser realçado que os elementos não essenciais não têm esse comportamento, só têm efeitos nefastos a partir de um determinado limiar.

Sem os iões metálicos, a vida não seria possível ou nem sequer teria evoluído. Na fisiologia humana, a química do oxigénio está ligada ao ferro e ao cobre, a do óxido nítrico ao ferro e a do dióxido de carbono ao zinco. Nas plantas, um cofator de agregado de manganês catalisa a oxidação da água. Em alguns microrganismos, a fixação de nitrogénio ocorre através de um agregado de ferro/molibdénio ou, em alguns casos, de um agregado de ferro/vanádio. Alguns microrganismos utilizam ou produzem metano, utilizando no processo cofatores de cobre e níquel.

É evidente que não somos capazes de sintetizar nenhum elemento e que todos os elementos essenciais devem ser fornecidos a um determinado organismo através da alimentação para que este possa crescer e sobreviver. Uma alimentação saudável e equilibrada permite que os elementos químicos necessários à vida permaneçam na quantidade adequada para o bom funcionamento do organismo.



Saiba mais em:

W. Maret, P. Blower, *Biochem. Mol. Biol. Educ.* **2022**, *50*, 283–289. DOI:10.1002/bmb.21614.

D. Rossetto, S. S. Mansy, *Front. Cell Dev. Biol.* **2022**, *10*, 864830, DOI: 10.3389/fcell.2022.864830.

>

Marta Pineiro

mpineiro@qui.uc.pt

A Transformação do Leite por Enzimas

> Marta C. Corvo

Introdução

Nesta atividade, inspirados pela contribuição que o Professor Fraústo da Silva teve na Química Bioinorgânica, iremos influenciar o comportamento de proteínas do leite - as caseínas. O que acontece quando se formam grumos no leite? O processo de coagulação no leite é o mecanismo que ocorre quando as proteínas do leite se aglomeram. Normalmente, não queremos que isso aconteça, mas sem a coagulação (ou coalhada), não haveria queijo ou iogurte, razão pela qual é um processo muito importante na indústria alimentar. Como é que o leite pode coalhar? Nesta atividade vamos descobrir através da observação de enzimas em ação.



Material

- Leite (50 mL);
- Ananás ou abacaxi partido em pedaços;
- 5 copos transparentes;
- Colheres de medida;
- Espregador (de alhos);
- Coador;
- Micro-ondas;
- Marcador.

Procedimento

1. Utilizando o marcador, identificar dois copos que possam ir ao micro-ondas com “SUMO” e “SUMO AQUECIDO”. Espremer os pedaços de ananás passando de imediato por um coador para dentro dos copos anteriores. Colocar a mesma quantidade em ambos. Será necessário pelo menos uma colher de chá de sumo em cada.

2.

Colocar o copo com o “SUMO AQUECIDO” no micro-ondas e aquecer apenas o tempo suficiente para ferver (cerca de 10-20 segundos). Quando começar a ferver, retirar do micro-ondas e deixar arrefecer.

3.

Identificar os restantes copos com: “LEITE”, “LEITE + SUMO”, e “LEITE + SUMO AQUECIDO”. Colocar uma colher de sopa de leite em cada um dos copos. Observar o copo que contém o “LEITE”, agitando suavemente.



4. Adicionar uma colher de chá de sumo de ananás ao copo identificado com “LEITE + SUMO” e observar o que está a acontecer durante cerca de cinco minutos. Agitar suavemente.

5. No copo identificado com “LEITE + SUMO AQUECIDO”, adicionar uma colher de chá de sumo de ananás aquecido e agitar ligeiramente. Mais uma vez, observar o copo durante cerca de cinco minutos.

Explicação



O leite é uma mistura homogénea cujo constituinte mais abundante é a água. Além desta, contém lactose, glicérides, proteínas, sais e vitaminas, entre outros. As caseínas são as proteínas mais abundantes do leite, mas não são muito solúveis em água, por isso formam uma espécie de aglomerados (micelas) que contêm fosfato de cálcio e ficam em suspensão. Assim, o leite que consumimos tem normalmente um aspeto homogéneo e branco. No entanto, quando se adicionou o sumo de ananás observámos uma alteração, a formação de grumos. A consistência tornou-se lentamente mais espessa, e formaram-se grumos brancos que se colaram à parede do copo. O ananás contém compostos que têm a capacidade de acelerar reações químicas. Estes compostos chamam-se enzimas. Neste caso particular, existe no ananás uma enzima chamada bromelaína, que tem a capacidade de cortar proteínas, nomeadamente a caseína, alterando a sua estrutura micelar. Estas estruturas são muito frágeis e podem facilmente, por ação da bromelaína, quebrar-se e formar precipitados de proteínas de caseína – os grumos, ou coalhada.

Este processo de coagulação não aconteceu imediatamente após a adição do sumo de ananás. As enzimas precisam de algum tempo para se tornarem ativas, mas quando decorreram cinco minutos, o leite terá ficado com um aspeto muito grumoso. Muitas enzimas são desativadas quando aquecidas. Quando se ferveu o sumo de ananás no micro-ondas, as enzimas deixaram de funcionar. É por isso que o leite não coagula, ou quase não coagula, quando se adiciona o sumo de ananás aquecido. Podemos levar esta atividade mais longe se procedermos à filtração da

coalhada através de um pano de algodão. Deste modo, iremos obter uma solução amarelo-esbranquiçada chamada soro de leite, que consiste em cerca de 94% de água e quatro a cinco por cento de lactose e proteínas do soro de leite. A parte sólida, a coalhada, parece queijo fresco - e de facto é!



Bibliografia

[1] Adaptado de Science Buddies, “Milk Curdling with Enzymes!”. [sciencebuddies.org/stem-activities/milk-curdling-enzyme](https://www.sciencebuddies.org/stem-activities/milk-curdling-enzyme) (acedido em 15/10/2023).

> Marta C. Corvo

Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. [i3N/CENIMAT](https://orcid.org/0000-0003-0890-6133).

Marta Corvo é investigadora no i3N-CENIMAT, Dep. Ciência dos Materiais da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade NOVA de Lisboa, dedicada à

ressonância magnética nuclear. Além da divulgação de ciência, interessa-se pelo desenvolvimento de novos materiais para captura de CO₂, armazenamento de energia e preservação de obras de arte. marta.corvo@fct.unl.pt [ORCID.org/0000-0003-0890-6133](https://orcid.org/0000-0003-0890-6133)

GWB2024 – Catalisar a Diversidade na Ciência

Acompanhe-nos no dia 27 de fevereiro de 2024 para o *Global Women's Breakfast* (#GWB2024). Realizado em conjunto com o Dia das Mulheres e Raparigas na Ciência da ONU, o objetivo da série GWB é estabelecer uma rede ativa de pessoas de todos os géneros para superar as barreiras à igualdade de género na ciência. Nos últimos cinco anos foram realizados mais de 1500 eventos GWB em 100 países. O tema do #GWB2024 é “Catalisar a Diversidade na Ciência”. Grupos de todas as organizações científicas, desde escolas secundárias, sociedades científicas, universidades, empresas, governos e organizações não governamentais são convidados a organizar eventos. Os líderes dos eventos são encorajados a colaborar com organizações de diferentes setores e a incluir cientistas de múltiplas áreas.



Mais informações disponíveis em: iupac.org/gwb

ANALÍTICA 2024

O 11.º Encontro da Divisão de Química Analítica da SPQ, Analítica 2024, ir-se-á realizar nas instalações da Universidade Católica Portuguesa, no Porto, nos dias 25 e 26 de março de 2024. O programa consistirá em palestras plenárias e convidadas (*keynotes*), apresentações orais e em painel, incluindo *poster-pitches*, nos diferentes tópicos da Química Analítica moderna, em áreas como a Saúde, a Alimentar, a Ambiental,

a Forense e a Farmacêutica, bem como a Indústria Química e a Petroquímica. Os investigadores são convidados a participar submetendo resumos, e os patrocinadores/empresas são convidados a reservar um espaço para promoção dos seus produtos e serviços. Teremos todo o gosto em receber-vos no Porto.

Mais informações disponíveis em: analitica2024.events.chemistry.pt





III REUNIÃO DO GRUPO DO CARBONO

26-27 MARÇO 2024

PORTO, PORTUGAL



III Reunião do Grupo do Carbono (III RGC)

A III Reunião do Grupo do Carbono (III RGC) decorrerá de 26 a 27 de março de 2024 na Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, no Porto. O evento é organizado pela Universidade do Porto, com o apoio do LSRE-LCM/ALiCE, REQUIMTE e SPQ. A III RGC conta com a presença de investigadores nacionais e internacionais influentes em diversas áreas, e pretende ser um ponto de encontro com o objetivo de privilegiar a divulgação de trabalhos que envolvam fundamentos, desenvolvimentos e aplicações dos materiais de carbono nas mais

variadas áreas do conhecimento científico, estimulando a criação de novas colaborações entre grupos multidisciplinares. O programa do Encontro integrará duas sessões plenárias, cinco comunicações convidadas sobre temas atuais, proferidas por investigadores de renome internacional, incluindo ainda diversos tipos de comunicações orais e em painel no sentido de proporcionar um evento de elevada qualidade científica.

Mais informações disponíveis em: iiirgc.events.chemistry.pt

10th Iberian Meeting on Colloids and Interfaces

A 10.^a edição do Encontro Ibérico de Coloides e Interfaces (RICI X) terá lugar de 23 a 26 de junho de 2024, em Coimbra. Com base no sucesso das edições anteriores, o RICI X tem como objetivo continuar a promover a colaboração e o intercâmbio científico no vibrante campo dos coloides e interfaces. Este evento serve de plataforma para os investigadores de Espanha, Portugal e de todo o mundo se reunirem, partilharem ideias e

explorarem os últimos avanços na ciência coloidal. O RICI X apresentará um programa aliciante com tópicos relevantes no domínio multidisciplinar dos coloides e interfaces com palestras plenárias e convidadas, bem como oportunidades para comunicações científicas através de palestras e apresentações em painel.

Mais informações disponíveis em: rici10.events.chemistry.pt



Agenda

(por razões alheias ao *Química*, alguns dos eventos poderão sofrer ajustes de calendarização)

> fevereiro de 2024

18 - 22 de fevereiro de 2024, Bad Hofgastein, Áustria
Central European Conference on Photochemistry
cecp.at

20 - 21 de fevereiro de 2024, Telavive, Israel
87th Annual Meeting of the Israel Chemical Society (ICS)
chemistry.org.il/annual-meeting-page

27 de fevereiro de 2024, *online*
GWB2024 - Catalyzing Diversity in Science
iupac.org/gwb

27 - 29 de fevereiro de 2024, Kuala Lumpur, Malásia
International Conference on Advanced Materials for
Renewable Energy and Sensors Technology 2024
(ICAMREST24)
conference.postresearch.org/about-icamrest23

março de 2024

06 - 08 de março de 2024, Sevilha, Espanha
3Bs Materials International Conference 2024
setcor.org/conferences/3bs-materials-2024

10 - 15 de março de 2024, Aveiro, Portugal
Segunda Escola do Projeto SupraLife em Sistemas
Supramoleculares Bioinspirados
supralife.eu/secondschool

17 - 21 de março de 2024, Nova Orleães, EUA
ACS Spring 2024 National Meeting & Exposition
acs.org/content/acs/en/meetings/acs-meetings/
about/future-meetings.html

25 - 26 de março de 2024, Porto, Portugal
11.º Encontro da Divisão de Química Analítica da SPQ
(Analítica 2024)
analitica2024.events.chemistry.pt

25 - 27 de março de 2024, Aachen, Alemanha
Bunsentagung 2024
veranstaltungen.gdch.de/tms/frontend/index.
cfm?l=11577&sp_id=2

26 - 27 de março de 2024, Porto, Portugal
III Reunião do Grupo do Carbono (III RGC)
iiirgc.events.chemistry.pt

abril de 2024

08 - 11 de abril de 2024, Utrecht, Países Baixos
EFMC-ACSMEDI Medicinal Chemistry Frontiers 2024
medchemfrontiers.org

10 - 11 de abril de 2024, Helsínquia, Finlândia
Helsinki Chemicals Forum (HCF)
helsinkichemicalsforum.messukeskus.com

maio de 2024

15 - 17 de maio de 2024, Paris, França
3rd French Supramolecular
Chemistry Congress (SUPR@PARIS)
supraparis2024.sciencesconf.org/

27 - 31 de maio de 2024, Madrid, Espanha
POLY-CHAR 2024 - Polymers for our future
poly-char2024.org

28 - 31 de maio de 2024, Atenas, Grécia
Polymers 2024 - Polymers for a
Safe and Sustainable Future
sciforum.net/event/polymers2024

junho de 2024

02 - 07 de junho de 2024, Pádua, Itália
1st International School in Photocatalysis and
Biocatalysis (PHOTOCAT24)
photocat24.com

03 - 07 de junho de 2024, Cassis, França
8th EuChemS Conference on Nitrogen Ligands
cinam.univ-mrs.fr/site/NLigands2024

10 - 14 de junho de 2024, Frankfurt, Alemanha
ACHEMA 2024
achema.de/en

23 - 26 de junho de 2024, Coimbra, Portugal
10th Iberian Meeting on Colloids and Interfaces
rici10.events.chemistry.pt

24 - 28 de junho de 2024, Praga, República Checa
Polymers for Sustainable Future 2024
imc.cas.cz/sympo/85pmm

30 de junho - 03 de julho de 2024, Maastricht,
Países Baixos
19th International Biotechnology Symposium
ecb2024.com

julho de 2024

01 - 05 de julho de 2024, Coventry, Reino Unido
50th World Polymer Congress - MACRO2024
macro2024.org

03 - 05 de julho de 2024, Bordéus, França
58th International Conference on Medicinal Chemistry (RICT 2024)
rict2024.org

07 - 11 de julho de 2024, Dublin, Irlanda
9th EuChemS Chemistry Congress (ECC9)
https://euchems2024.org

15 - 19 de julho de 2024, Pattaya, Tailândia
27th IUPAC International Conference on Chemistry Education (ICCE2024)
icce2024thailand.com

21 - 26 de julho de 2024, Aveiro, Portugal
29th Congress of the International Society of Heterocyclic Chemistry (ISHC 2024)
ishc-2024.events.chemistry.pt

22 - 25 de julho de 2024, Évora, Portugal
European Conference on Organised Films (ECOF 18)
ecof.events.chemistry.pt

agosto de 2024

11 - 15 de agosto de 2024, Toronto, Canadá
IWA World Water Congress & Exhibition 2024
worldwatercongress.org

11 - 16 de agosto de 2024, Toronto, Canadá
20th International Symposium on Novel Aromatic Compounds (ISNA-2024)
isna2024.com

18 - 22 de agosto de 2024, Pequim, China
26th IUPAC International Conference on Physical Organic Chemistry
icpoc26.tsinghua.edu.cn

18 - 22 de agosto de 2024, Denver, EUA
ACS Fall 2024 National Meeting & Exposition
acs.org/content/acs/en/meetings/acs-meetings/about/future-meetings.html

26 - 30 de agosto de 2024, Milão, Itália
SCI 2024 - XXVIII National Congress
sci2024.org

setembro de 2024

01 - 05 de setembro de 2024, Roma, Itália
28th EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMC 2024)
efmc-ismc.org

05 - 07 de setembro de 2024,
Costa de Caparica, Portugal
16 European Conference on Research in Chemical Education (ECRICE 2024)
ecrice2024.events.chemistry.pt

09 - 11 de setembro de 2024, Regensburg, Alemanha
ORCHEM 2024
gdch.app/event/orchem-2024

09 - 12 de setembro de 2024, Évora, Portugal
XIII Iberoamerican Conference on Phase Equilibria and Fluid Properties for Process Design (EQUIFASE 2024)
equifase.events.chemistry.pt

10 - 13 de setembro de 2024, Lisboa, Portugal
VIII Jornadas Ibéricas de Fotoquímica (VIII JIF) e 1.^a Conferência Franco-Ibérica de Fotoquímica (1^ª FICP)
viiiijif.events.chemistry.pt

16 - 18 de setembro de 2024, Dresden, Alemanha
Biennial Meeting of the Macromolecular Division of the GDCh
veranstaltungen.gdch.de/tms/frontend/index.cfm?l=11645&modus=

23 - 25 de setembro de 2024, Graz, Áustria
Österreichische Chemietage 2024
chemietage.at

outubro de 2024

07 - 12 de outubro de 2024, Sochi, Rússia
XXII Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry
mendeleevcongress.ru/en

24 - 29 de outubro de 2024, Pequim, China
10th IUPAC International Conference on Green Chemistry
greeniupac2024.org

novembro de 2024

03 - 06 de novembro de 2024, Bad Soden am Taunus, Alemanha
18th German Conference on Cheminformatics (GCC 2024)
veranstaltungen.gdch.de/tms/frontend/index.cfm?l=11576&modus=

janeiro de 2025

01 de janeiro de 2025, Pequim, China
12th World Congress of Chemical Engineering (WCCE12)
ciesc.cn

Boletim da Sociedade
Portuguesa de Química

Química

www.spq.pt

outubro-dezembro
Vol. 47 | N.º 171 | 2023



SOCIEDADE
PORTUGUESA
DE QUÍMICA