



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

**ESTUDO CINÉTICO DAS REAÇÕES DO TRIÉSTER DIETIL
2,4-DINITROFENIL FOSFATO COM OXIMAS**

WILLIAN DEMOS

Florianópolis
Junho/2015

Willian Demos

ESTUDO CINÉTICO DAS REAÇÕES DO TRIÉSTER DIETIL 2,4-DINITROFENIL FOSFATO COM OXIMAS

Relatório apresentado ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial da disciplina de Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Orientador: Prof. FARUK NOME

Florianópolis
06/2015

Willian Demos

ESTUDO CINÉTICO DAS REAÇÕES DO TRIÉSTER DIETIL 2,4-DINITROFENIL FOSFATO COM OXIMAS

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Faruk Nome
Orientador

Prof.

Prof.

Florianópolis
Junho/2015

A minha grande e eterna amiga Cacah (in memoriam).

“A razão por que a despedida nos dói tanto é que nossas almas estão ligadas. Talvez sempre tenham sido e sempre serão. Talvez nós tenhamos vivido mil vidas antes desta e em cada uma delas nós nos encontramos. E talvez a cada vez tenhamos sido forçados a nos separar pelos mesmos motivos. Isso significa que este adeus é ao mesmo tempo um adeus pelos últimos dez mil anos e um prelúdio do que virá”

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a minha família que me deu coragem e confiança para seguir em frente nesta graduação, frente aos obstáculos encontrados.

Gostaria de agradecer ao Professor Faruk Nome e a Professora Haidi Fiedler pela orientação, incentivo a pesquisa e sabedoria transmitida durante esses dois anos de convivência.

Gostaria de agradecer também aos meus colegas do laboratório 312 que estavam sempre presentes para me auxiliar e descontraír nas horas vagas. Agradecendo em especial a Alex Molina Manfredi, Eduardo H. Wanderlind e Michelle Medeiros que me auxiliaram ativamente na realização deste trabalho.

Agradeço ao meu namorado Nycollas Padilha pelo seu apoio e companheirismo nessa etapa importante de minha vida.

Também agradeço aos meus amigos de graduação e aqueles já formados que nunca me deixaram desistir quando desafios surgiram e que de alguma forma se tornaram a família que escolhi: Ana Cristine da Silva, Bruna Auras, Catiunaiara Bittencourt, Crislaine Simão, Daiana Colombo Figueredo, Edson R. Santana, Elis Coelho, Fábria Martins, Juana Goulart Stollmaier, Marília Reginato, Carina de Quadros (in memoriam), Paola Zimmermann Crocomo e Thuany Ferreira. E claro, não poderia deixar de agradecer aos professores que ao longo desses quatro anos me capacitaram a exercer a profissão de químico e também à minha professora de ensino médio, Magali Mari Loppnow, que me incentivou desde sempre a cursar química.

E por fim, porém não menos importante, gostaria de agradecer ao apoio financeiro concedido pela Capes, CNPq, FAPESC e Universidade Federal de Santa Catarina.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	8
2 – REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 – Ésteres de fosfato	9
2.2 – Nucleófilos alfa	10
2.3 – Reações de substituição nucleofílica em ésteres de fosfato.....	11
2.3.1 - Reações de Oximas com Ésteres de Fosfato	13
2.4 – Catálise micelar.....	14
3 – OBJETIVOS	17
3.1 – Objetivo geral	17
3.2 – Objetivos específicos	17
4 – METODOLOGIA	18
4.1 Equipamentos.....	18
4.2 – Reagentes.....	18
4.3 – Medidas Cinéticas	19
5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
5.1 – Titulação da Oxima-1 na ausência e presença de micela	20
5.2 – Reação entre a Oxima-1 e o DEDNPP: Estudos de ¹ H RMN	22
5.3 – Efeito Isotópico e parâmetros de ativação.....	23
5.4 – Estudos cinéticos na ausência de micela	25
5.5 – Comparação da reatividade dos nucleófilos: gráfico de Bronsted.....	28
5.6 – Estudos cinéticos na presença de micela.....	30
5.6.1 – Efeito do pH e concentração micelar	30
6 – CONCLUSÃO	34
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
8 – APÊNDICE	40

RESUMO

Os ésteres de fosfato possuem uma grande importância biológica por estarem presentes nas estruturas do **DNA** e **RNA**, porém acabam sendo utilizados em agrotóxicos, pesticidas e até mesmo em armas químicas. Devido à sua estrutura estável, a decomposição de alguns derivados pode levar anos, sendo assim, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias que acelerem a degradação desses compostos.

Um caminho seria a utilização de nucleófilos detentores do efeito alfa, que possuem um par de elétrons não compartilhados no átomo adjacente ao centro nucleofílico, e por sua vez apresentam reatividade maior quando comparados aos nucleófilos de mesma basicidade.

Neste trabalho, foram estudadas as reações que envolvem o ataque nucleofílico de oximas no triéster dietil 2,4-dinitrofenil fosfato (**DEDNPP**), com destaque particular para a oxima fenil-2-(hidroximino)acetamida (**Oxima-1**) e a Pralidoxima, que podem ser consideradas como potentes agentes de detoxificação química para intoxicação provocada por compostos organofosforados. Além disso, a **Oxima-1** apresenta um aumento significativo na velocidade da reação na presença de **CTAB**, devido às fortes interações presentes entre o substrato **DEDNPP** e a oxima na interface micelar.

Os parâmetros cinéticos obtidos sugerem que a hidrólise do triéster **DEDNPP** ocorre via mecanismo tipo concertado com caráter associativo e o estudo de RMN efetuado comprova a obtenção dos produtos 2,4-dinitrofenolato e dietilfosfato, com possível degradação rápida dos intermediários.

Palavras chave: oximas, éster de fosfato, alfa nucleófilos, desfosforilação.

1 – INTRODUÇÃO

Os ésteres de fosfato estão presentes em diversos processos industriais, dentre eles na fabricação de agrotóxicos e compostos utilizados como armas químicas. Além disso, apresentam grande importância em sistemas biológicos e participam das ligações que mantêm a estrutura do DNA extremamente estável.

Dessa maneira, surge o interesse nos estudos que envolvem a clivagem dos ésteres de fosfato de maneira efetiva, uma vez que a degradação desses compostos representa uma solução para eliminar armas químicas armazenadas em diferentes locais, além de compostos que possam ser utilizados como agrotóxicos. Estes compostos, em geral, atacam o sistema nervoso central inibindo a enzima acetilcolinesterase. No entanto, as reações de transferência do grupo fosforila são extremamente desfavoráveis em condições normais no meio ambiente, principalmente devido à estabilidade das ligações **C-O-P**.

Sendo assim, uma estratégia que pode ser considerada vantajosa, consiste na utilização de nucleófilos detentores do efeito alfa, os quais possuem uma reatividade maior daquela observada com nucleófilos normais de mesma basicidade, promovendo incrementos nas constantes de velocidade de reações de desfosforilação, principalmente quando incorporados em sistemas micelares.

2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – Ésteres de fosfato

Os ésteres de fosfato abrangem uma categoria de compostos bastante ampla, podendo ser classificados como mono-, di- e triésteres de acordo com o número de substituintes (**Figura 1**). Os monoésteres de fosfato apresentam reatividade diferenciada em função do pH do meio, uma vez que, além da forma neutra, podem formar espécies carregadas negativamente, formando monoânions ou diânions. Uma situação semelhante acontece com os diésteres de fosfato, os quais podem apresentar-se em forma neutra ou como monoânions.¹

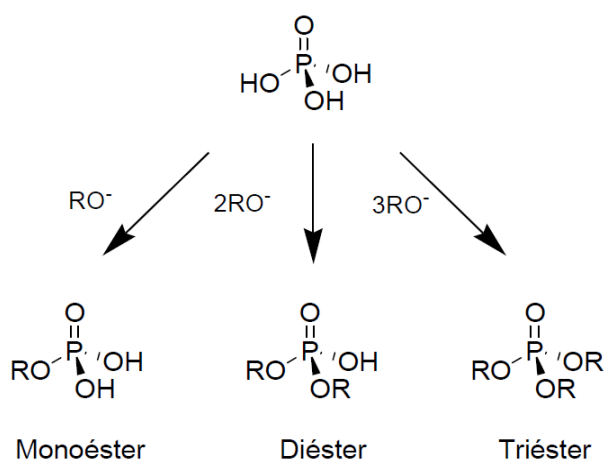


Figura 1. Representação estrutural para os três diferentes tipos de ésteres de fosfato derivados do ácido fosfórico.

Os mono- e diésteres de fosfato apresentam uma alta estabilidade, visto que as cargas negativas presentes nas espécies desprotonadas dificultam o ataque nucleofílico sobre o átomo de fósforo.² Estes compostos estão largamente presentes na natureza e tornam-se essenciais em processos biológicos. Os diésteres, por exemplo, estão presentes nas estruturas do **DNA** e **RNA**, os quais são responsáveis pelo transporte e armazenamento de material genético, enquanto que os monoésteres estão presentes em reações de sinalização celular.^{3,4} Além disso, os triésteres de fosfato apresentam

grande aplicação no âmbito industrial, como retardadores de chamas, pesticidas, armas químicas utilizadas na guerra, entres outras.⁴

A alta estabilidade atribuída aos ésteres de fosfato deve-se a alta estabilidade das ligações **C-O-P**, que permite que estes compostos apresentem certa resistência à degradação pela ação do ar, água e outros agentes.⁵ Sendo assim, uma alternativa utilizada com a finalidade de degradar tais compostos, faz uso de nucleófilos detentores do efeito alfa, os quais possuem reatividade superior aos nucleófilos normais da mesma basicidade, e promovem um aumento significativo da velocidade de reação.⁶

2.2– Nucleófilos alfa

O efeito alfa pode ser descrito como um aumento da reatividade apresentada por um centro nucleofílico que tem como vizinho um átomo com pares de elétrons livres, quando comparado com um nucleófilo normal e com mesmo valor de pK_a .⁷ A hidroxilamina, o íon hidroperóxido, os ácidos hidroxâmicos e a hidrazina são alguns exemplos de nucleófilos que apresentam o efeito alfa, **Figura 2**.

Nucleófilos com efeito α	$\ddot{X}-Y:$
Hidroxilamina	H_2N-OH
Hidroperóxido	$HO-O^{\ominus}$
Ácidos Hidroxâmicos	$\begin{array}{c} O \\ \\ RC-NHOH \end{array}$
Hidrazina	H_2N-NH_2

Figura 2. Fórmula estrutural condensada para alguns nucleófilos detentores de efeito alfa.

A origem do efeito alfa pode ser atribuída a três fatores:

- (i) ao aumento da nucleofilicidade pelo aumento da densidade eletrônica no centro da reação, devido aos pares de elétrons presentes no átomo na posição alfa (α);
- (ii) à compensação eletrônica por ressonância pelos pares de elétrons no átomo adjacente,⁸ conforme ilustrado na **Figura 3**.

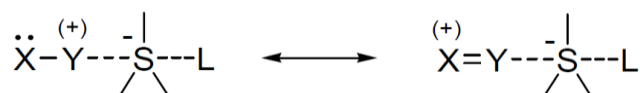


Figura 3. Modelo representativo da doação de elétrons do átomo adjacente.

- (iii) à desestabilização do estado fundamental, devido à repulsão proveniente da ocupação dos orbitais $p\pi$ dos átomos adjacentes, acarretando em um aumento de energia do orbital HOMO que participa da reação. Devido a este aumento do nível de energia, o orbital HOMO reage eficientemente com o centro eletrofílico, causando assim uma diminuição na repulsão existente nos orbitais $p\pi$, aumentando a reatividade.⁹

2.3 – Reações de substituição nucleofílica em ésteres de fosfato

A reação de substituição nucleofílica em ésteres de fosfato pode acontecer por ataque no átomo de fósforo (P) ou, alternativamente, por ataque no átomo de carbono (C) alifático ou aromático, como ilustrado na **Figura 4**.

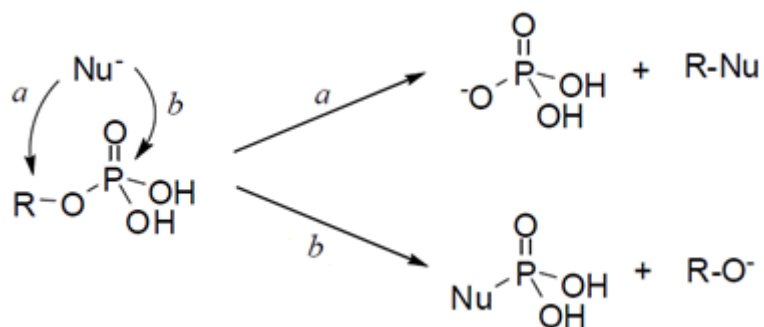


Figura 4. Mecanismos para substituição nucleofílica de ésteres de fosfato.

Na reação ‘a’ ocorre quebra da ligação C-O, uma vez que nas ligações P-O-C, o carbono está reagindo como eletrófilo, fazendo com que o grupo fosfato seja substituído pelo nucleófilo, formando as espécies R-Nu e o ácido fosfórico. Em ‘b’ ocorre a quebra da ligação P-O, por meio do ataque nucleofílico no átomo de fósforo, com a substituição do grupo R-O⁻ pelo Nu. É importante comentar que a reação ‘a’ ocorre preferencialmente em pH’s baixos, enquanto a reação ‘b’ ocorre preferencialmente em pH’s mais elevados, em decorrência das espécies formadas no equilíbrio de protonação do substrato.¹⁰

Para o mecanismo que envolve a ruptura da ligação P-O, é necessário distinguir três caminhos reacionais diferenciados, que podem ser convenientemente representados no diagrama de More O’Ferral - Jencks (**Figura 5**).

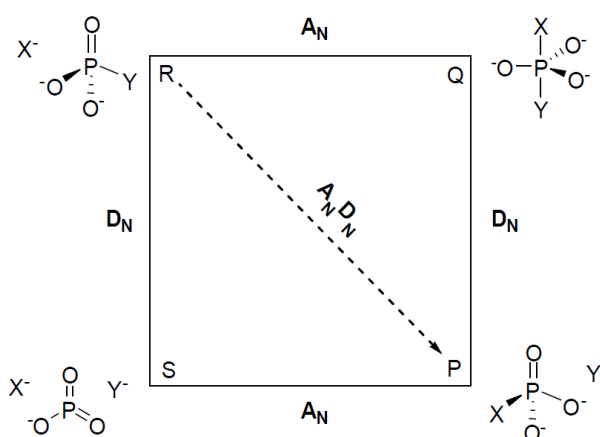


Figura 5. Representação do diagrama de More O’Ferral - Jencks.

Conforme discutido detalhadamente na literatura, a partir do diagrama acima, três mecanismos podem ser identificados.¹¹

- a. Coordenadas R-S-P: mecanismo dissociativo do tipo S_N1 ($D_N + A_N$) que ocorre em duas etapas, sendo a primeira etapa a determinante da velocidade da reação. Esse mecanismo passa pela formação de um intermediário, o íon metafosfato (PO_3^-), seguido pelo ataque nucleofílico para a formação dos produtos.
- b. Coordenadas R-Q-P: mecanismo associativo ($A_N + D_N$) que ocorre em duas etapas, adição do nucleófilo seguida de eliminação do grupo de saída, além da formação de um intermediário pentacoordenado.
- c. Coordenadas R-P: mecanismo concertado ($A_N D_N$) que ocorre em apenas uma única etapa, com adição do nucleófilo acoplada com a eliminação do grupo de saída de maneira sincrônica, sem passar por intermediários.

Os mecanismos pelos quais as reações de transferência do grupo fosforila acontecem dependem de fatores tais como pK_a do grupo de saída, nucleofilicidade do reagente e pH do meio. De maneira geral, di- e triésteres de fosfato seguem um mecanismo do tipo associativo, que pode ser do tipo sincrônico $A_N D_N$ ou acontecer através da aresta Q, ou seja, passando por um intermediário pentacoordenado. Os monoésteres de fosfato, especialmente como diânions, tendem a reagir por um mecanismo dissociativo, passando por um intermediário metafosfato, que corresponde ao lado oposto do diagrama.^{12,13}

2.3.1 - Reações de Oximas com Ésteres de Fosfato

Oximas são compostos orgânicos que possuem fórmula geral $RR'C=NOH$ e apresentam duas classificações: **(i)** quando R ou R' são átomos de hidrogênio, são chamadas de aldoximas; **(ii)** quando R e R' são cadeias e/ou substituintes orgânicos, são chamadas de cetoximas (**Figura 6**).¹⁴

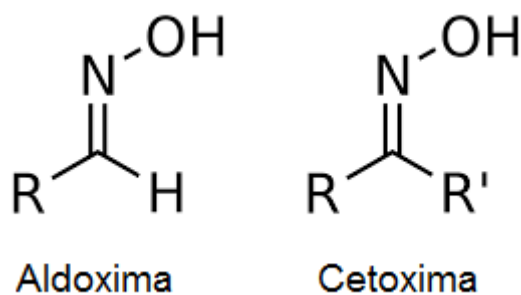


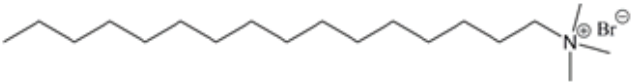
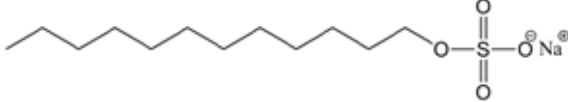
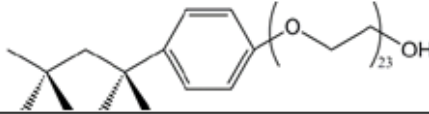
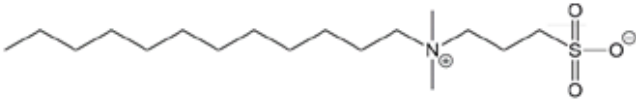
Figura 6. Representação geral de aldoximas e cetoximas.

Por serem bons nucleófilos e possuírem o efeito alfa, as oximas são bastante utilizadas em reações detoxificantes como antídotos contra o envenenamento por agentes neurotóxicos, como os triésteres de fosfato.¹⁵ Porém, em muitos casos, as oximas não possuem efeito significativo na degradação de ésteres de fosfato em meio aquoso, necessitando então a utilização de surfactantes catiônicos que aumentam significativamente a velocidade de degradação dos ésteres.¹⁶ Este fenômeno será discutido a continuação apresentando o modelo de pseudofases, que descreve as diversas interações existentes na interface micelar.^{17,18}

2.4 – Catálise micelar

Alguns compostos são chamados de detergentes, surfactantes ou agentes tensoativos, por possuírem grupos iônicos ou polares (região hidrofílica) ligados a cadeias de hidrocarbonetos (região hidrofóbica). Dependendo da natureza da carga apresentada na estrutura dos grupos polares, esses surfactantes podem ser classificados como aniônicos, catiônicos, neutros ou zwitteriônicos (**Tabela 1**).

Tabela 1. Exemplos de surfactantes.

Tipo	Nome	Estrutura
Catiônico	CTABr	
Aniônico	SDS	
Neutro	Triton X-100	
Zwiteriônico	SB3-12	

Dependendo da polaridade do meio reacional em que se encontram, os surfactantes podem formar agregados que são denominados micelas (**Figura 7**). Em soluções aquosas os sistemas micelares formados possuem a propriedade de solubilizar substâncias que geralmente não são solúveis em água. Da mesma forma, em solventes orgânicos, são formadas micelas reversas que permitem dissolver substâncias polares em solventes orgânicos.¹⁹

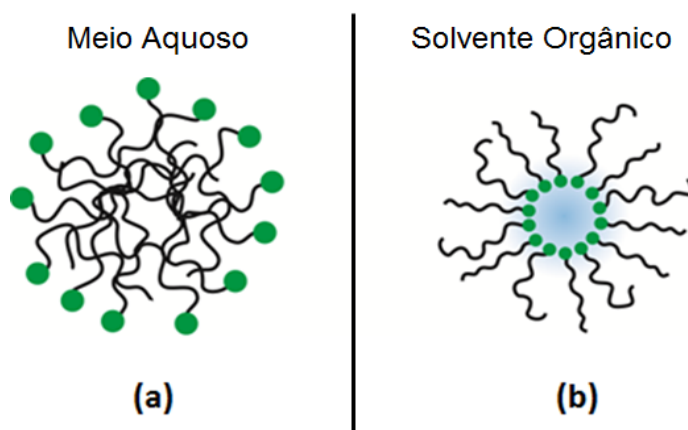


Figura 7. Representação geral de micela: **(a)** normal (formada em soluções aquosas) e **(b)** reversa (formada em solventes orgânicos).

Devido à organização do sistema micelar, pode-se dizer que as micelas atuam como um micro-reator e promovem um aumento da velocidade de algumas reações químicas,²⁰ na medida em que os compostos orgânicos são

atraídos para a cavidade micelar por interações hidrofóbicas e eletrostáticas.²¹ Dentre os modelos propostos, o modelo de pseudofase e troca iônica descreve de forma simples as reações de hidrólise alcalina de ésteres de fosfato na presença de micelas catiônicas.²²

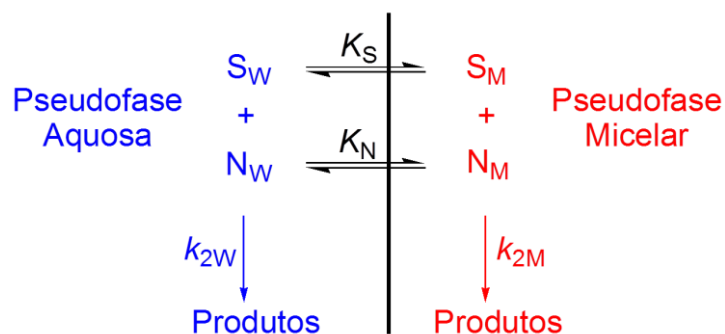


Figura 8. Representação do modelo cinético de pseudofases.

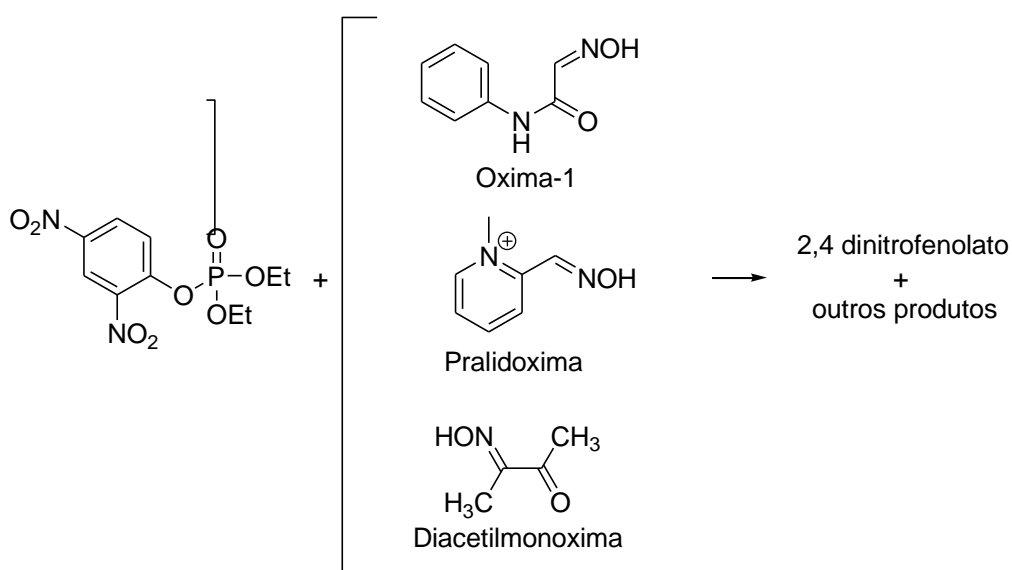
O modelo considera uma distinção entre a fase aquosa e micelar, conforme ilustrado na **Figura 8**, onde duas reações distintas são consideradas: **(i)** reação na fase aquosa (k_{2w}); e **(ii)** reação na fase micelar (k_{2m}). Além disso, os termos K_S e K_N representam as constantes de associação na micela do substrato e do nucleófilo, respectivamente.²³

Dessa maneira, surge o interesse de se estudar a degradação de compostos organofosforados na presença de micelas combinadas com nucleófilos potentes detentores do efeito alfa.

3 – Objetivos

3.1 – Objetivo geral

O presente trabalho apresenta como objetivo principal estudar a reação de transferência do grupo fosforila do triéster dietil 2,4-dinitrofenil fosfato (**DEDNPP**), através das reações envolvendo diferentes oximas.



3.2 – Objetivos específicos

- Acompanhar as reações entre as oximas e o **DEDNPP** por espectroscopia UV-Vis, através da formação do produto 2,4-dinitrofenolato;
- Avaliar os efeitos da temperatura, do pH e da concentração de surfactante na reação e verificar o efeito isotópico do solvente nestas reações;
- Identificar os produtos e possíveis intermediários da reação utilizando técnicas de espectroscopia de UV-Vis e RMN ^1H .

4 – METODOLOGIA

4.1 Equipamentos

As medidas cinéticas foram realizadas com o auxílio de um espectrofotômetro Cary 50, acoplado a um banho termostático Microquímica, modelo MQBTC99-20, e a um microcomputador, contendo sistema de aquisição e tratamento de dados CaryWinUV 3.00. Para todas as medidas foram utilizadas cubetas de quartzo com capacidade de 3,5 mL e 1,0 cm de caminho ótico.

Os cálculos realizados para os ajustes de dados cinéticos foram feitos no programa de computação ORIGIN versão 8.0. As medidas de pH foram realizadas com um pHmetro digital Hanna, calibrado a 25°C com soluções padrões pHs 4,00, 7,00 e 10,00 (Carlo Erba). Para as medidas em D₂O a 25°C, os valores de pD foram corrigidos utilizando a **Equação 1**.

$$pD = pH + 0,4 \quad (1)$$

As medidas de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H foram realizadas em um espectrômetro Varian Mercury Plus 200-MHz. Como referência interna para o RMN ¹H foi utilizado o 3-(trimetilsil) propionato de sódio (TMSP).

4.2 – Reagentes

O substrato dietil 2,4-dinitrofenil fosfato (**DEDNPP**) foi preparado de acordo com a metodologia descrita por Moss e Ihara.²⁴

A **Oxima-1** foi sintetizada na UFRJ no grupo de pesquisa do Professor Ângelo da Cunha Pinto, de acordo com o método descrito na literatura.²⁵

A água deuterada (D₂O) foi adquirida da empresa TediaBrasil, com grau de pureza rotulado em 99,9%. O NaOD (40%) e o DCI(37%) foram adquiridos da Aldrich e utilizados como recebidos. Os demais reagentes foram adquiridos

da Aldrich, Carlo Erba, Merck, Acros e Vetec, e tratados com técnicas adequadas quando necessário.

4.3 – Medidas Cinéticas

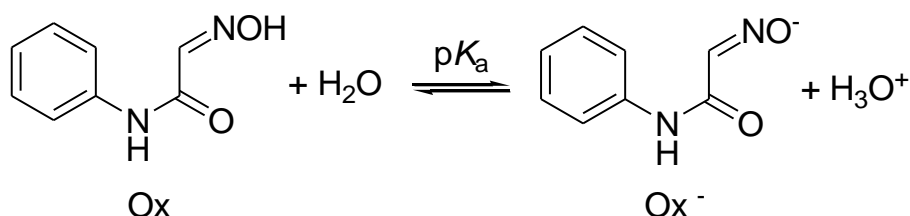
As reações foram iniciadas com a adição de uma alíquota de 30 μL da solução estoque $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de **DEDNPP** em acetonitrila (estocada em freezer) a 3 mL da solução tamponada contendo excesso do nucleófilo em cubetas de quartzo termostatizadas na temperatura desejada. Dessa forma, a concentração do substrato nas reações será $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, assegurando condições de pseudo-primeira ordem. Os pHs das medidas cinéticas foram mantidos com os seguintes tampões: Bis-Tris (pK_a 6,5), Tris (pK_a 8,25) e bicarbonato de potássio (pK_a 9,5).

As reações entre **DEDNPP** e as diferentes oximas foram acompanhadas pelo aparecimento do produto 2,4-dinitrofenolato (**DNP**) em 400 nm. A partir dos gráficos de absorvância em função do tempo, foram determinadas as constantes de velocidade observadas.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 – Titulação da Oxima-1 na ausência e presença de micela

Como etapa prévia para um estudo cinético foi necessário conhecer o comportamento das concentrações da espécie aniônica e neutra conforme a variação do pH do meio. Sendo assim, determinou-se o pK_a da **Oxima-1** representada no **Esquema 1**, por meio de titulação espectrofotométrica, na ausência e presença de meio micelar catiônico de **CTABr**.



Esquema 1

A titulação foi realizada acompanhando a mudança de absorvância da espécie protonada na região do espectro com $\lambda_{\text{máx}}$ próximo a 280 nm. Os dados de absorvância obtidos foram tratados com o auxílio do programa ORIGIN 8.0, obtendo-se então o gráfico apresentado na **Figura 9**, que foi ajustado através das equações 2, 3 e 4, onde A é a concentração da oxima protonada, B é a concentração da oxima desprotonada, χ_{Ox} é a fração molar das espécies protonadas e χ_{Ox^-} é a fração molar das espécies desprotonadas.

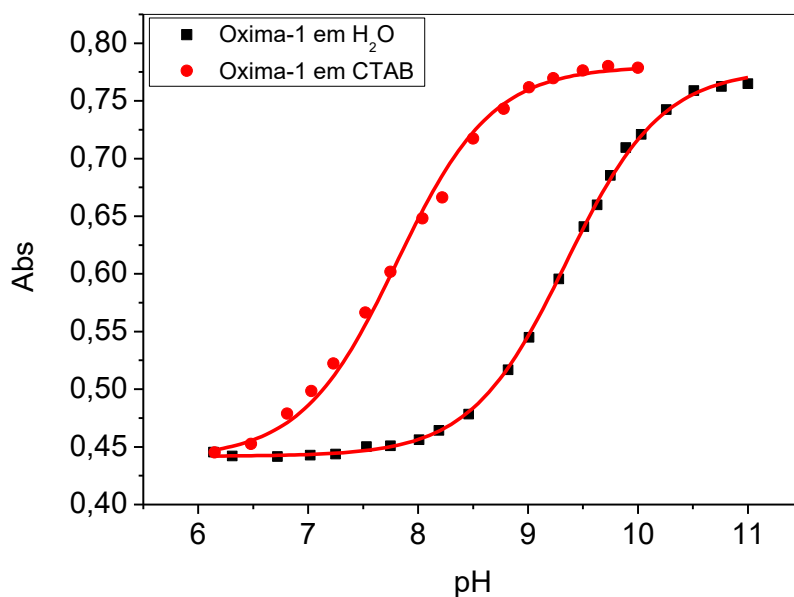


Figura 9. Gráfico de absorvância em função do pH, obtido por meio da titulação espectrofotométrica da **Oxima-1** (5×10^{-4} mol L⁻¹) na ausência (■) e presença de micela (♦) (**CTABr** 0,01 mol L⁻¹). A linha sólida representa o ajuste realizado pelo programa ORIGIN 8.0.

$$\text{Abs} = A\chi_{\text{Ox}} + B\chi_{\text{Ox}^-} \quad (2)$$

$$\chi_{\text{Ox}} = \frac{1}{1 + 10^{(\text{pH} - \text{p}K_a)}} \quad (3)$$

$$\chi_{\text{Ox}^-} = \frac{1}{1 + 10^{(\text{p}K_a - \text{pH})}} \quad (4)$$

Obteve-se um valor para o $\text{p}K_a$ de **(i) $9,34 \pm 0,009$** na ausência de micelas e **(ii) $7,80 \pm 0,018$** na presença de micelas. Percebe-se que na presença de micelas o valor de $\text{p}K_a$ obtido foi menor, o que provavelmente é explicado pela incorporação da oxima na micela, onde o pH é muito maior que em solução, o que desloca o equilíbrio do **(Esquema 1)** para o lado que favorece a formação da espécie desprotonada (**Ox⁻**), observando-se assim um aumento na acidez.

Além disso, o valor de $\text{p}K_a$ obtido para a oxima em estudo foi menor do que o valor presente na literatura para oximas similares ($\text{p}K_a \cong 15$),

provavelmente devido a presença do anel aromático e do grupo carbonila que gera uma maior estabilização da carga negativa na espécie aniônica.²⁶

5.2 – Reação entre a Oxima-1 e o DEDNPP: Estudos de ¹H RMN

Para caracterizar os produtos da reação entre o triéster **DEDNPP** e **Oxima-1** esta foi monitorada por espectroscopia de ¹H RMN, apresentado na **Figura 10** e os deslocamentos para as espécies detectadas estão apresentados na **Tabela 2**.

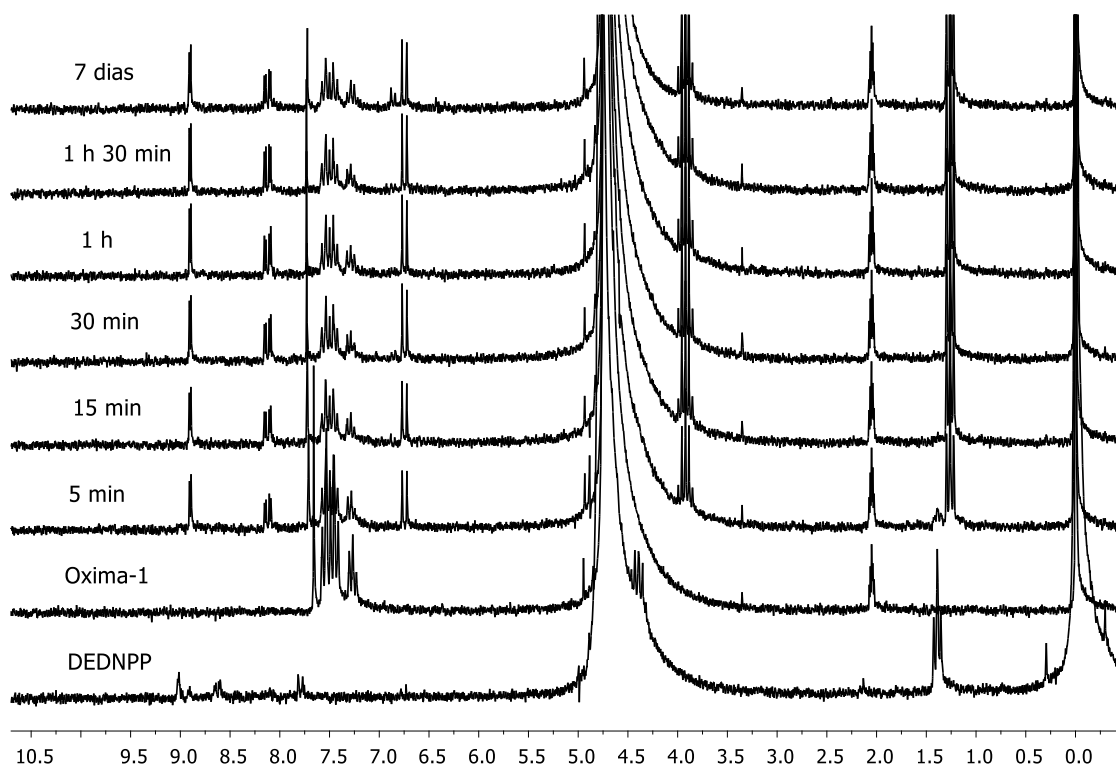
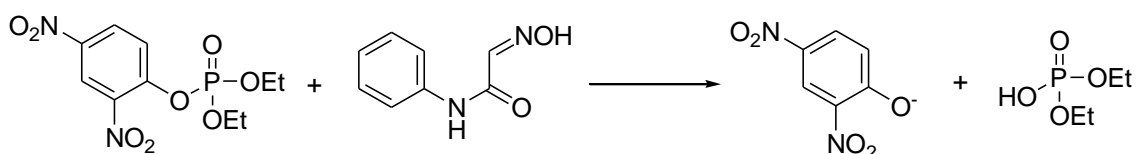


Figura 10. Espectros sucessivos de ¹H RMN obtidos para reação da **Oxima-1** (0,01M) com **DEDNPP** (5×10^{-3} M), pH 10 em D₂O/CD₃CN (90:10) a 25°C.



Esquema 2

Tabela 2. Dados de ^1H RMN para os produtos da reação entre **DEDNPP** e **Oxima-1**.

Composto	δ (ppm)
Oxima	7,65 (s, 1H, CH); 7,50 (dd, 2H, Ar); 7,43 (t, 2H, Ar); 7,24 (t, 1H, Ar)
DEDNPP	1,38 (t, 6H, CH ₃), 4,39 (q, 4H, CH ₂), 7,80 (dd, 1H, Ar), 8,64 (dd, 1H, Ar), 9,03 (dd, 1H, Ar)
DNP	6,75 (d, 1H, Ar)*, 8,09 (dd, 1H, Ar), 8,83 (d, 1H, Ar)
DEtP	1,26 (t, 6H, CH ₃), 3,93 (q, 4H, CH ₂)

Os espectros obtidos evidenciam a obtenção dos produtos mostrado no **Esquema 5**. A **Figura 16** mostra: **(i)** houve um consumo do **DEDNPP** logo nos primeiros 5 min de reação, evidenciado pelo desaparecimento de picos característicos; **(ii)** aparecimento dos sinais do **DNP** e **Dietil-fosfato (DEtP)**, comprovando a reação de hidrólise do triéster. Vale ressaltar que não foi possível a detecção de intermediários da reação, provavelmente por se degradarem rapidamente e devido a baixa solubilidade do substrato em água.

Sabendo então que o produto da reação é 2,4-dinitrofenolato, o restante dos estudos cinéticos foram realizados acompanhando o aparecimento deste produto.

5.3 – Efeito Isotópico e parâmetros de ativação

Com a finalidade de se detalhar o estudo das reações com o triéster **DEDNPP**, avaliou-se o efeito da temperatura e efeito isotópico cinético, no patamar de perfil de pH (**Figura 12**). Sendo assim, é possível obter informações a respeito da natureza do estado de transição.

As reações entre a **Oxima-1** e o **DEDNPP** foram acompanhadas em diferentes temperaturas (25 a 55°C). Dessa maneira, obteve-se um gráfico que relaciona a constante de velocidade observada (k_{obs}) em função do inverso da temperatura (**Figura 11**), o qual foi ajustado de acordo com a Equação de Eyring. (**Equação 5**)

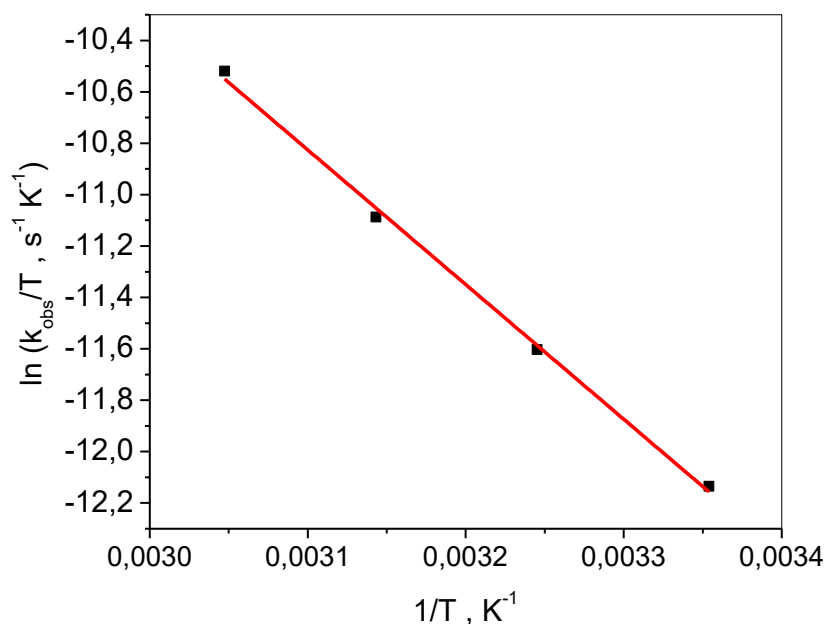


Figura 11. Gráfico da equação de Eyring da hidrólise do triéster **DEDNPP** (5×10^{-5} mol L⁻¹), na faixa de temperatura de 25 a 55°C e **[Oxima-1]** = 0,001 mol L⁻¹, em pH 10,5. A linha sólida representa o ajuste realizado pelo programa ORIGIN 8.0.

$$\ln\left(\frac{k_{obs}}{T}\right) = \ln\left(\frac{k_B}{h}\right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{R} \left(\frac{1}{T}\right) \quad (5)$$

Nesta equação o termo k_B representa a constante de Boltzman ($1,38 \times 10^{-23}$ J K⁻¹), o termo h representa a constante de Planck ($6,63 \times 10^{-34}$ J s) e o termo R a constante dos gases ($1,98$ cal mol⁻¹ K⁻¹).

Observa-se no gráfico da **Figura 11** uma relação linear entre $\ln(k_{obs}/T)$ e $1/T$, o que indica um mecanismo constante na faixa de temperatura analisada. Por meio do coeficiente angular, ajuste linear e da **Equação 5**, foi possível determinar a entalpia de ativação, $\Delta H^\ddagger = 10,37$ kcal.mol⁻¹.

A partir da **Equação 6**, e conhecendo-se o valor de k_0 (constante de segunda ordem para a reação em H₂O), a 25°C, foi possível calcular a energia livre de Gibbs de ativação, $\Delta G^\ddagger = 17,14$ kcal mol⁻¹.

$$\Delta G^\ddagger = RT \ln\left(\frac{k_{obs}h}{k_B T}\right) \quad (6)$$

E, uma vez conhecendo os valores da entalpia e energia livre de Gibbs de ativação, foi possível determinar a entropia de ativação obtendo um valor de $\Delta S^\ddagger = -22,70 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ por meio da **Equação 7**.

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad (7)$$

Sabe-se que a entropia de ativação está diretamente ligada ao grau de desordem molecular do sistema, ou seja, a capacidade de se formar um estado de transição com maior ou menor grau de liberdade, a partir de um estado aleatório (reagentes em seus respectivos estados fundamentais). Sendo assim, o valor obtido de $-22,70 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, para a entropia de ativação, mostra a formação de um estado de transição com menor grau de liberdade que os reagentes,²⁷ o que é característico de reações bimoleculares e que seguem o mecanismo de caráter associativo. Fato que é confirmado, também, pelo valor de entalpia de ativação obtido, $\Delta H^\ddagger = 10,37 \text{ kcal.mol}^{-1}$, que possui uma magnitude próxima aos valores propostos para mecanismos do tipo concertados com caráter associativo.

Para o efeito isotópico obteve-se um valor próximo a unidade, indicando que não há transferência de próton na etapa determinante da reação, sugerindo o ataque da oxima diretamente no átomo de fósforo.

5.4 – Estudos cinéticos na ausência de micela

O perfil de pH obtido para a reação do **DEDNPP** com a pralidoxima (**PAM**), a **Oxima-1** e a diacetilmonoxima (**DAM**), apresentado na **Figura 12**, mostra que os nucleófilos conseguem acelerar a desfosforilação do **DEDNPP**, quando comparado com a sua hidrólise espontânea e com reações utilizando os alfa nucleófilos **NH₂OH**, **NH₂OMe**, **MeNHOH** e **IMZ**. Por exemplo, na região de pH próximo aos valores de pK_a s da oximas (~ 9), os nucleófilos promovem um incremento significativo na velocidade da reação quando comparado com a reação somente em água.

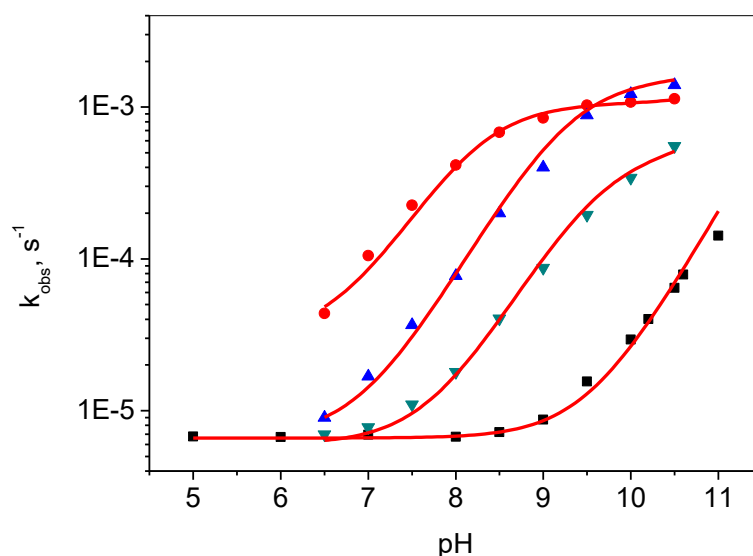
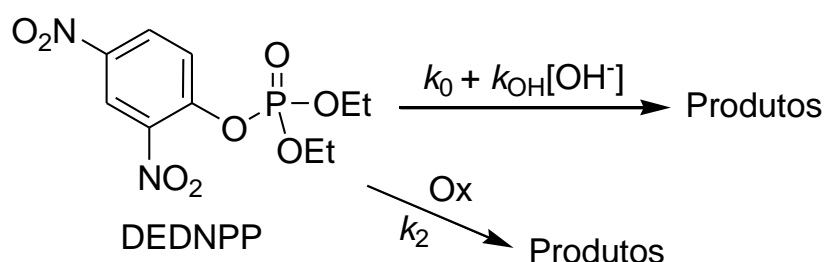


Figura 12. Perfil de pH para a reação de desfosforilação do **DEDNPP** (5×10^{-5} mol L $^{-1}$) com: pralidoxima (**PAM**) (●), **Oxima-1** (▲), diacetilmonoxima (**DMA**) (▼) e para a hidrólise espontânea do triéster em água (■). [Oximas] = 0,001 mol L $^{-1}$. Todas as reações realizadas a 25°C. A linha sólida representa o ajuste realizado pelo programa ORIGIN 8.0.

Os dados da **Figura 12** foram tratados de acordo com a **Equação 8**, baseada no **Esquema 3**, e que considera a reação do substrato em água (k_0), com o íon hidróxido (k_{OH}) e com os nucleófilos em estudo (k_2).

Os parâmetros obtidos por meio do ajuste estão presentes na **Tabela 3**, bem como a constante de segunda ordem k_2^L obtido por meio do ajuste linear da relação entre k_{obs} e [oxima] (**Figura 13**).



Esquema 3

$$k_{obs} = k_0 + k_{OH}[\text{OH}^-] + k_2[\text{Ox}]\chi_{\text{Ox}^-} \quad (8)$$

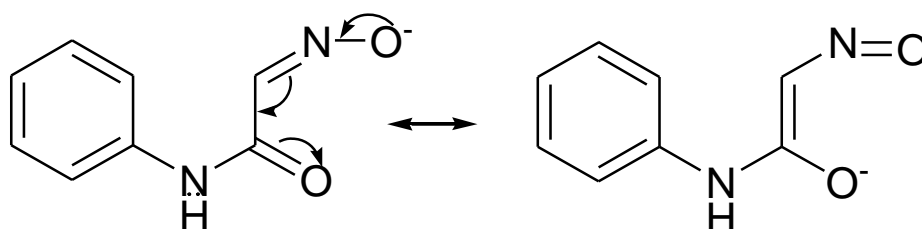
Tabela 3 – Parâmetros cinéticos para reação entre **DEDNPP** e nucleófilos^a.

Parâmetro	Pralidoxima	Oxima-1	Diacetilmonoxima
$k_0, \text{s}^{-1} \text{ }^c$		8×10^{-6}	
$k_{\text{OH}}, \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} \text{ }^c$		$0,42 \pm 0,02$	
$k_2, \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} \text{ }^a$	$1,03 \pm 0,02$	$1,53 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,01$
$k_2^L, \text{M}^{-1} \text{s}^{-1} \text{ }^b$	$1,11 \pm 0,01$	$1,42 \pm 0,01$	$0,51 \pm 0,01$

^a Parâmetros cinéticos obtidos pelo ajuste do perfil de pH na **Figura 12** através da **Equação 8**.

^b Valores obtidos pelo ajuste linear do gráfico de k_{obs} vs [oximas]. ^c Valores obtidos por Wanderling, E. em sua dissertação de mestrado. ²⁸

Através da comparação das constantes de velocidade de segunda ordem de cada nucleófilo com k_0 , observa-se um incremento de cerca de **(i)** $6,3 \times 10^4$ vezes para a diacetilmonoxima; **(ii)** $1,29 \times 10^5$ vezes para a pralidoxima e **(iii)** $1,92 \times 10^5$ vezes para a **Oxima-1**. Essa maior reatividade para a **Oxima-1** pode ser explicada devido a uma conjugação existente na estrutura que acaba estabilizando a carga positiva no oxigênio, quando é desprotonado, conforme mostrado no **Esquema 4**.



Esquema 4

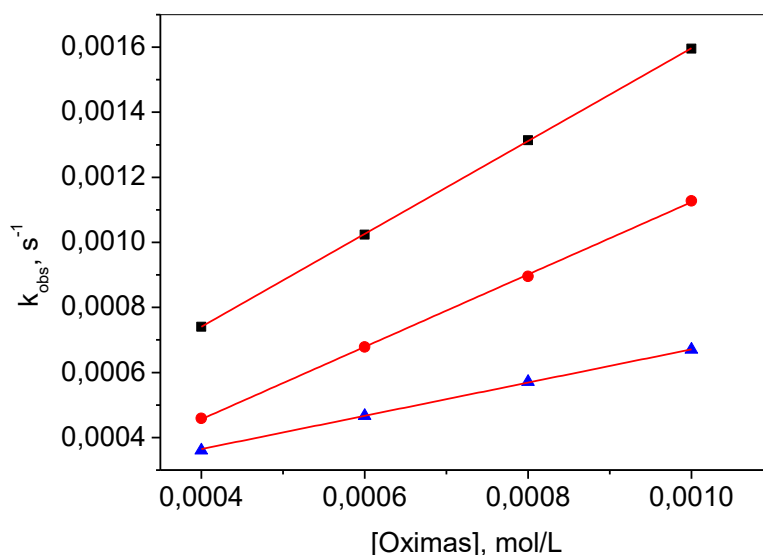


Figura 13. Constante de velocidade observada (k_{obs}) em função da concentração de nucleófilos, para a reação do **DEDNPP** com: **Oxima-1** (■), pralidoxima (**PAM**) (●) e diacetilmonoxima (**DAM**) (▲). Todas as reações realizadas em pH 10,5 a 25°C. A linha sólida representa o ajuste linear realizado pelo programa ORIGIN 8.0.

É possível observar que a constante de velocidade possui um aumento linear com o aumento da concentração de nucleófilos, sendo a reatividade seguida na seguinte ordem: **Oxima-1** > pralidoxima (**PAM**) > diacetilmonoxima (**DAM**), e os coeficientes angulares fornecem as constantes de segunda ordem (k_2^{L}), apresentados na **Tabela 3**.

5.5 – Comparação da reatividade dos nucleófilos: gráfico de Bronsted

Uma comparação bem interessante e que permite a avaliação da reatividade dos nucleófilos utilizados no presente trabalho (**Oxima-1**, **pralidoxima** e **DAM**) com outros nucleófilos é o gráfico de Bronsted, que relaciona o logaritmo da constante de segunda ordem nucleofílica ($\log k_2$) com o $\text{p}K_{\text{a}}$ do nucleófilo. Geralmente espera-se que reações com um mecanismo do tipo concertado obtenha um perfil linear para o gráfico de Bronsted, e assim o coeficiente angular pode fornecer informações importantes quanto a natureza associativa ou dissociativa do estado de transição.²⁹

Na **Tabela 4** são apresentados valores de k_2 , k_{OH} , k_0 , pK_a e a relação k_2/k_0 para diferentes nucleófilos, e na **Figura 14** o gráfico de Bronsted para diferentes nucleófilos com **DEDNPP**. O termo k_2 pode ser identificado também como k_N , sendo N = nucleófilo

Tabela 4. Constantes de velocidade de segunda ordem e os valores de pK_a para as reações de diferentes nucleófilos com o triéster de fosfato **DEDNPP** a 25 ° C.

Nucleófilo	$k_2, k_{OH}, M^{-1}s^{-1}$ k_0, s^{-1}	pK_a	k_2/k_0	Ref.
H₂O, k_0	$8,0 \times 10^{-6}$	-1,54	-	(30,31)
HO⁻, k_{OH}	0,42	15,54	$5,0 \times 10^4$	(30,31)
NH₂OMe	$2,108 \times 10^{-4}$	4,60	$2,6 \times 10^1$	(29)
NMe₂OH	$5,997 \times 10^{-2}$	5,20	$7,5 \times 10^3$	(29)
NH₂OH	0,29	5,96	$3,7 \times 10^4$	(29)
MeNHOH	0,44	6,18	$5,5 \times 10^4$	(29)
IMZ	$1,77 \times 10^{-2}$	7,10	$2,2 \times 10^3$	(30,31)
BHO⁻	$2,74 \pm 0,03$	9,16	$3,4 \times 10^5$	(30,31)
Pralidoxima	$1,11^a$	8,20	$1,4 \times 10^5$	
Ox⁻_1	$1,42^a$	$9,33^b$	$1,7 \times 10^5$	
DAM	$0,50^a$	9,42	$4,0 \times 10^4$	

^a Valores obtidos por ajuste linear do gráfico [Ox] vs k_{obs} , at 25°C. ^b Titulação espectrofotométrica.

É de grande importância ressaltar que no gráfico de Bronsted apresentado, as constantes de velocidade se referem ao ataque nucleófilo ao átomo de fósforo, isso por que é muito comum que, em reações de desfosforilação em ésteres derivados do 2,4-dinitrofenol, o ataque ocorra no átomo de carbono aromático, ainda que em proporções menores.^{32,33}

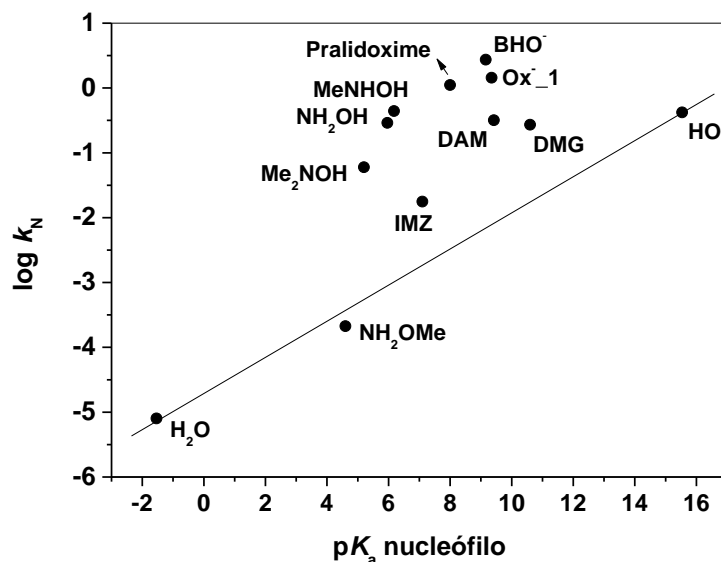


Figura 14. Relações de Bronsted para as reações de diferentes nucleófilos com o triéster de fosfato **DEDNPP**, a 25 ° C.

Analisando a reatividade dos diferentes nucleófilos, percebe-se uma alta reatividade para os três nucleófilos utilizados neste trabalho, com destaque para a **Oxima-1** e **Pralidoxima**, frente aos outros nucleófilos presentes no gráfico.

5.6 – Estudos cinéticos na presença de micela

Devido à alta hidrofobicidade e a possibilidade de se formar uma espécie aniônica reativa da **Oxima-1**, surge o interesse de estudar as reações de substituição nucleofílica em meio micelar catiônico de **CTABr**. Conforme discutido adiante.

5.6.1 – Efeito do pH e concentração micelar

Conforme discutido anteriormente no **item 5.4**, as constantes de velocidades observadas (k_{obs}) para a reação de desfosforilação do triéster **DEDNPP** sofrem um aumento significativo quando realizadas na presença da **Oxima-1**. No entanto, quando essa mesma reação é realizada na presença do surfactante **CTABr**, os valores de k_{obs} sofrem um aumento surpreendente e a reação se completa em apenas alguns segundos, **Figura 15**. Este

comportamento é característico de reações catalisadas por micelas, levando-se em consideração as interações hidrofóbicas e eletrostáticas entre os reagentes e a interface.^{34,35}

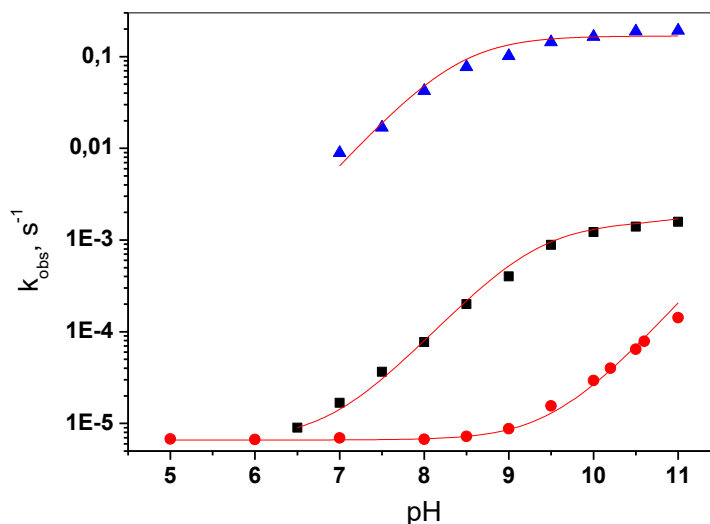
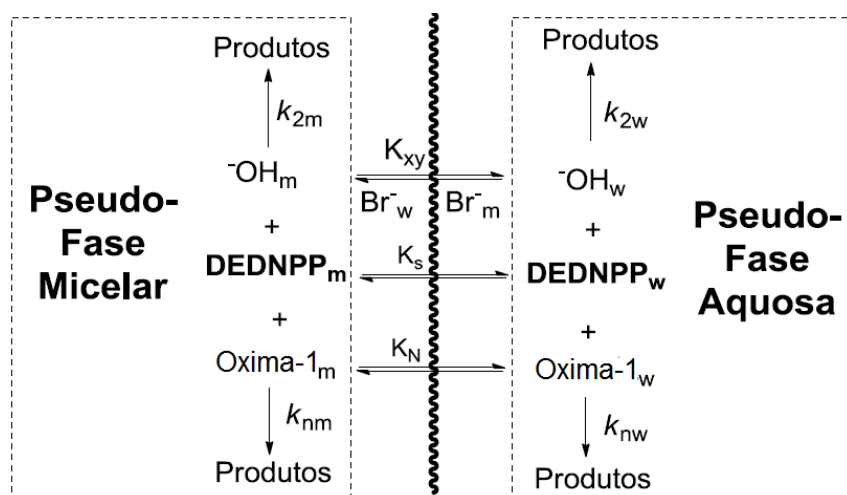


Figura 15. Perfil de pH para a reação do **DEDNPP** (5×10^{-5} mol L⁻¹) com: **Oxima-1** (0,001 mol L⁻¹) sem CTABr (■), **Oxima-1** (0,001 mol L⁻¹) com CTABr (0,01 mol L⁻¹) (▲) e hidrólise espontânea do **DEDNPP** (●). Todas as reações realizadas a 25°C. A linha sólida representa o ajuste realizado pelo programa ORIGIN 8.0.

Para o tratamento quantitativo dos valores obtidos, aplica-se o modelo de pseudofases (**Esquema 5**), o qual propõe que os reagentes **DEDNPP** e a **Oxima-1** estão presentes tanto na fase aquosa, representada por **DEDNPP_w** e **Oxima-1_w** (w = water, água) ou na fase micelar (**DEDNPP_m**, **Oxima-1_m**), sendo que ambas estão em equilíbrio regidos pelas constante K_S (S = Substrato, **DEDNPP**) e K_N (N = Nucleófilo, **Oxima-1**). Sendo assim a reação pode ocorrer na fase aquosa (k_{2w}) ou micelar (k_{2m}) para o ataque nucleofílico dos íons hidróxido, e (k_{Nw} e k_{Nm}) para o ataque nucleofílico da **Oxima-1**. Além disso, os íons hidróxido, do meio aquoso, trocam com os íons brometo, dado pelo equilíbrio K_{xy} .



Esquema 5

Com o auxílio do **Esquema 4**, é possível deduzir a **Equação 9**, que é a soma das contribuições das reações em cada pseudofase, considerando a fração molar de cada espécie nas reações em meio aquoso (χ_{OHw} e χ_{Sw}) e micelar (χ_{OHm} e χ_{Sm}). Ainda, considerou-se o volume molar da micela (V_M) e a concentração micelar crítica (**CMC**) onde ocorre a micelização (C_d).

$$k_{obs} = \left(k_{2w} \chi_{Sw} \chi_{OHw} + \frac{k_{2m}}{V_M + C_d} \chi_{Sm} \chi_{OHm} \right) x[OH]_T + \left(k_{nw} \chi_{Sw} \chi_{nw} + \frac{k_{nm}}{V_M + C_d} \chi_{Sm} \chi_{nm} \right) x[Ox]_T \quad (9)$$

S=DEDNPP, Ox=Oxima-1

Tabela 5 – Parâmetros cinéticos obtidos para reação entre **DEDNPP** e **Oxima-1** na presença de **CTABr**^a.

Parâmetro	Valor	Parâmetro	Valor
a^b	0,25	pK_a^d	7,80
K_{xy}^b	0,09	$k_{2m}, M^{-1} s^{-1} e$	0,23
K_s^c	102	$k_{2w}, M^{-1} s^{-1} e$	0,42
K_N^a	500	$k_{nm}, M^{-1} s^{-1} f$	1,02
$V, M^{-1} b$	0,39	$k_{nw}, M^{-1} s^{-1} f$	1,43
CMC, M^b	$9,0 \times 10^{-4}$		

^a Ajuste pela **Equação 9**, considerando o **Esquema 4**. ^b Constantes intrínsecas para o **CTABr**, obtidos na literatura. ^c Valores obtidos por Elisa Souza Orth em sua tese de doutorado, por eletroforese capilar. ^d Determinado por titulação espectrofotométrica. ^e Obtidos através do perfil de pH da reação de **DEDNPP** e **Oxima-1** na presença de **CTABr** ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

Avaliou-se também, o perfil de concentração de **CTABr** para a hidrólise do **DEDNPP** em pH 10 (**Figura 16**). O perfil obtido é característico de reações catalisadas por micelas e é possível perceber que houve um incremento catalítico acima da **CMC** ($CMC_{CTABr} = 9 \times 10^{-4}$).

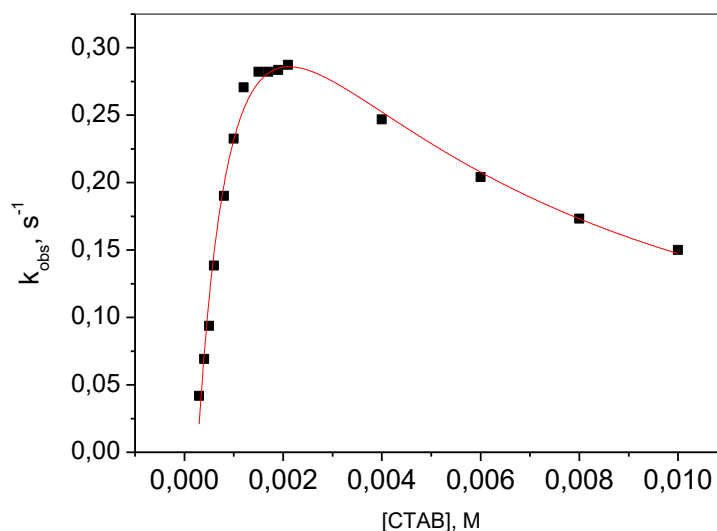


Figura 16. Dependência de k_{obs} com a concentração de **CTABr**, para a reação de hidrólise do triéster **DEDNPP** na presença de $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ da **Oxima-1**, em pH 10, a 25°C . A linha sólida em vermelho representa o ajuste realizado pelo programa ORIGIN 8.0.

Realizando uma análise dos parâmetros apresentados na **Tabela 2**, têm-se que: **(i)** as constantes K_S , K_N e pK_a obtidas corroboram com o modelo proposto, visto que suas grandezas estão de acordo com valores determinados por técnicas específicas na literatura,²⁰ e **(ii)** a relação $k_{2w} > k_{2m}$ e $k_{nw} > k_{nm}$, é comum em reações catalisadas por micelas.

6 – CONCLUSÃO

A constante de velocidade obtida para a **Oxima-1** foi cerca de 192×10^3 vezes maior do que para a reação em água. Outro fato importante é que a reação de desfosforilação do **DEDNPP** em meio micelar sofre um incremento significativo quando comparada com a mesma reação em meio aquoso. Além disso, o modelo de pseudofases empregado é capaz de descrever com êxito a reação de desfosforilação do substrato.

Os parâmetros de ativação obtidos $\Delta H^\ddagger = 10,37 \text{ kcal.mol}^{-1}$, $\Delta G^\ddagger = 17,14 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $\Delta S^\ddagger = -22,70 \text{ cal mol}^{-1}\text{K}^{-1}$, sugerem que a reação ocorra em um mecanismo do tipo concertado com caráter associativo, e a análise via espectroscopia de RMN permitiu comprovar a degradação do **DEDNPP** aos produtos principais da reação.

Por fim este trabalho apresentou uma breve descrição de uma reação de hidrólise de um triéster de fosfato, mostrando a influência exercida por fatores como meio reacional e reatividade de nucleófilos sobre a constante de velocidade, pare se ter conhecimento do mecanismo reacional envolvido.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; MACHADO, V. G.; NOME, F. A. Química dos Ésteres de Fosfato. *Química Nova*, v.26, p.745, **2003**.
- 2 – WESTHEIMER, F. H. Why Nature Chose Phosphates. *Science*, v.235, p. 173, **1987**.
- 3 – SAENGER, W., *Principles of Nucleic Acid Structure*. Springer: New York, **1984**.
- 4 – DUGAS, H., *Bioorganic Chemistry: A chemical Approach to Enzyme Action*. VCH: New York, **1996**.
- 5 – LIU, C.; WANG, M.; ZHANG, T.; SUN, H. DNA hydrolysis promoted by diand multi-nuclear metal complexes. *Coordinated Chemistry Reviews*, v.248, p.147, **2004**.
- 6 – WILLIAMS, N. H.; Takasaki, B.; Wall, M.; Chin, J. Structure and nuclease activity of simple dinuclear metal complexes: Quantitative dissection of the role of metal ions. *Accounts of Chemical Research*, v.32, p.485, **1999**.
- 7 – EDWARDS, J. O; PEARSON, R. G., The factors Determining Nucleophilic Reactivities. *J. Am. Chem. Soc.*, v.84, p.16, **1962**.
- 8 – GERSTEIN, J.; JENCKS, W. P., Equilibria and Rates for Acetyl Transfer among Substituted Phenyl Acetates, Acetylimidazole, O-Acylhydroxamic Acids, and Thiol Esters. *J. Am. Chem. Soc.*, v.86, p.4655, **1964**.
- 9 – DOMINGOS, J. B. *Estudo mecançístico das reações do fosfato de bis(2,4-dinitrofenolina) com alfa-nucleófilos*. Tese Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, **2003**.

10 – COX, J. R.; RAMSAY, O. B., Mechanisms of nucleophilic substitution in phosphate esters. *Chem. Rev.*, v.64, p.317, **1964**.

11 – CLELAND, W. W.; HENGGE, A. C. Enzymatic Mechanisms of Phosphate and Sulfate Transfer. *Chemical Review*, v.106, p.325, **2006**.

12 – BUCHWALD, S. L.; PLIURA, D. H.; KNOWLES, J. R., Stereochemical Evidence for Pseudorotation in the Reaction of a Phosphoric Monoester. *J. Am. Chem. Soc.*, v.106, p.4916, **1984**.

13 – WESTHEIMER, F. H., Pseudo-rotation in the hydrolysis of phosphate esters. *Acc. Chem. Res.* **1968**, 1, 70.

14 - CAHN, R. S.; INGOLD, C. K.; PRELOG, V. The Specification Of Asymmetric Configuration in Organic Chemistry, *Experientia*, **1956**, 12, 81-94.

15 - JOKANOVIĆ, M. Pyridinium Oximes As Cholinesterase Reactivators. Structure-Activity Relationship And Efficacy in the Treatment of Poisoning With Organophosphorus Compounds, *Curr. Med. Chem.*, **2009**, 16, 2177.

16 – COUDERC, S.; TOULLEC, J. Catalysis of Phosphate Triester Hydrolysis by Micelles of hexadecyltrimethylammonium anti-pyruvaldehyde 1-oximate, *Langmuir*, **2001**, 17, 3819-3828.

17 - CHAIMOVICH, H.; BONILHA, J. B. S.; POLITI, M. J.; QUINA, F. H. Ion-Exchange in Micellar Solutions .2. Binding of Hydroxide Ion to Positive Micelles, *J. Phys. Chem-U.S.*, **1979**, 83, 1851-1854.

18 – MENGER, F. M.; PORTNOY, C. E. On Chemistry of Reactions Proceeding Inside Molecular Aggregates, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 4698. 56.

19 – DWARS, T.; PAETZOLD, E.; OEHME, G. Reactions in micellar systems. *AngewChemIntEdit*, v.44, p.7174, **2005**

20 – FARIA, A. C.; MELLO, R. S.; ORTH, E. S.; NOME, F. Hydrolysis of benzoic anhydride mediated by ionenes and micelles. *J. Mol. Cat. A*, v.289, p.106, **2008**.

21 – EL SEOUD, O. A.; RUASSE, M. F.; POSSIDONIO, S. Ph-independent hydrolysis of 4-nitrophenyl 2,2-dichloropropionate in aqueous micellar solutions: Relative contribution of hydrophobic and electrostatic interactions. *J. Phys. Org. Chem.*, v.14, p.526, **2001**.

22 – QUINA, F. H. and CHAIMOVICH, H. 1979 . Specific ion binding at charged surfaces. I. Unified conceptual framework for micellar solutions. *Journal of Physical Chemistry*. vol. 83 , p. 1844 ;

23 – BUNTON, C. A.; NOME, F.; QUINA, F. H.; ROMSTED, L. S. Ion binding and reactivity at charged aqueous interfaces. *Acc. Chem. Res.*, v.24, p.357, **1991**.

24 – MOSS, R. A.; IHARA, Y., Cleavage of Phosphate Esters by Hydroxyl Functionalized Micellar and Vesicular Reagents. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 588.

25 – SILVA, Bianca N. M. da; BASTOS, Renato S.; SILVA, Bárbara V. and PINTO, Angelo C.. **Preparation of 5-nitroisatin and 5-chloroisatin from isonitrosoacetanilide**. *Quím. Nova*. 2010, vol.33, n.10, pp. 2279-2282

26 – PREVIDELLO, Bruno A. F., CARVALHO, Fernando Rodrigues de, et al. O pK_a de indicadores ácido-base e os efeitos coloidais. *Quím. Nova*. Vol.29, no.3 São Paulo May/June 2006

27– MANFRED, Alex M.. Reações de transferência do grupo fosforila catalisadas por oximas e íons Cu^{2+} em meio micelar (Dissertação). Programa de Pós-graduação em Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, **2012**.

28 – WANDERLING, Eduardo H., Cinética e mecanismo de hidrólise do triéster dietil 2,4-dinitrofenil fosfato. Programa de Pós-graduação em Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, **2012**.

29 – MEDEIROS, M. **Estudo mecanístico da reação entre hidroxilamina e um triéster de fosfato: Caracterização de produtos e intermediários.** Programa de Pós-Graduação em Química, Mestrado em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009. 76 p.

30 – Orth, Elisa Souza. **Reações nucleofílicas de desfosforilação com imidazol e hidroxamato:** modelagem em sistemas intra- e intermolecular, polimérico e micelar. Florianópolis, 2011. 215 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, **2011**.

31 – Medeiros, Michelle ; Orth, Elisa S. ; Manfredi, Alex M. ; Pavez, Paulina ; Micke, Gustavo A. ; Kirby, Anthony J. ; NOME, Faruk .**Dephosphorylation Reactions of Mono-, Di-, and Triesters of 2,4-Dinitrophenyl Phosphate with Deferoxamine and Benzohydroxamic Acid.** *Journal of Organic Chemistry* **JCR**, v. 77, p. 10907-10913, 2012.

32 – KIRBY, A. J.; MANFREDI, A. M.; SOUZA, B. S.; MEDEIROS, M.; PRIEBE, J. P.; BRANDAO, T. A. S.; NOME, F. Reactions of alpha-nucleophiles with a model phosphatediester. **Arkivoc**, p.28. 2009.

33 – ORTH, E. S.; DA SILVA, P. L. F.; MELLO, R. S.; BUNTON, C. A.; MILAGRE, H. M. S.; EBERLIN, M. N.; FIEDLER, H. D.; NOME, F. Suicide nucleophilic attack: Reaction of benzohydroxamate anion with bis(2,4-dinitrophenyl) phosphate. **J. Org. Chem.**, v.74, p.5011. 2009.

34 – TADA, E. B.; OUARTI, N.; SILVA, P. L.; BLAGOEVA, I. B.; EL SEOUD, O. A.; RUASSE, M. F. Nucleophilic reactivity of the tacti-micelle-bound fluoride ion: The influence of water concentration and ionic strength at the micellar interface. **Langmuir**, v.19, p.10666. 2003.

35 – GHOSH, K. K.; SINHA, D.; SATNAMI, M. L.; DUBEY, D. K.; RODRIGUEZ-DAFONTE, P.; MUNDHARA, G. L. Nucleophilic dephosphorylation of p-nitrophenyl diphenyl phosphate in cationic micellar media. **Langmuir** v.21, p.8664. 2005.

8 – APÊNDICE

Tabela 1. Dados referente ao gráfico da titulação espectrofotométrica (**Figura 9**) da **Oxima-1** ($5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na ausência (■) e presença de micela (◆) (**CTABr** $0,01 \text{ mol L}^{-1}$)..... 41

Tabela 2. Dados referente ao gráfico da equação de Eyring (**Figura 11**) da hidrólise do triéster **DEDNPP** ($5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), na faixa de temperatura de 25 a 55°C e $[\text{Oxima-1}] = 0,001 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 10,5. 41

Tabela 3. Dados referente ao perfil de pH (**Figura 12**) para a reação de desfosforilação do **DEDNPP** ($5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com: pralidoxima (**PAM**) (●), **Oxima-1** (▲), diacetilmonoxima (**DMA**) (▼) e para a hidrólise espontânea do triéster em água (■). $[\text{Oximas}] = 0,001 \text{ mol L}^{-1}$. Todas as reações realizadas a 25°C 42

Tabela 4. Dados referente a variação da constante de velocidade observada (k_{obs}) em função da concentração de nucleófilos (**Figura 13**), para a reação com o **DEDNPP** e: **Oxima-1** (■), pralidoxima (**PAM**) (●) e diacetilmonoxima (**DAM**) (▲). Todas as reações realizadas em pH 10,5 a 25°C 42

Tabela 5. Dados referente ao perfil de pH (**Figura 15**) para a reação do **DEDNPP** ($5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$): **Oxima-1** ($0,001 \text{ mol L}^{-1}$) sem **CTABr** (■), **Oxima-1** ($0,001 \text{ mol L}^{-1}$) com **CTABr** ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) (▲) e hidrólise espontânea do **DEDNPP** (◆). Todas as reações realizadas a 25°C 43

Tabela 6. Dados referente a dependência de k_{obs} com a concentração de **CTABr** (**Figura 16**), para a reação de hidrólise do triéster **DEDNPP** na presença de $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ da **Oxima-1**, em pH 10, a 25°C 43

Tabela 1. Dados referente ao gráfico da titulação espectrofotométrica (**Figura 9**) da **Oxima-1** ($5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na ausência (■) e presença de micela (♦) (**CTABr** $0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

Ox-1 em H ₂ O		Ox-1 em CTABr	
pH	Abs 280nm	pH	Abs 280nm
6,14	0,44548	6,15	0,44506
6,31	0,44204	6,48	0,45252
6,72	0,44152	6,81	0,47882
7,02	0,44264	7,03	0,49845
7,25	0,44373	7,23	0,52235
7,53	0,45024	7,52	0,56646
7,75	0,45085	7,75	0,60172
8,01	0,45611	8,04	0,64816
8,19	0,46422	8,22	0,66615
8,46	0,47827	8,5	0,71739
8,82	0,51684	8,78	0,74301
9,01	0,54491	9,01	0,76177
9,28	0,59562	9,23	0,76958
9,51	0,64083	9,5	0,77632
9,63	0,65973	9,73	0,78015
9,75	0,68538	10	0,77864
9,89	0,70937		
10,03	0,72088		
10,26	0,74243		
10,51	0,75884		
10,76	0,76233		
11	0,76475		

Tabela 2. Dados referente ao gráfico da equação de Eyring(**Figura 11**) da hidrólise do triéster **DEDNPP** ($5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), na faixa de temperatura de 25 a 55°C e [**Oxima-1**] = $0,001 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 10,5.

T (K)	k _{obs} , s ⁻¹	1/T	k/T	ln(k/T)
298,15	0,0016	0,00335	$5,37 \times 10^{-6}$	-12,13535
308,15	0,00282	0,00325	$9,14 \times 10^{-6}$	-11,60285
318,15	0,00487	0,00314	$1,53 \times 10^{-5}$	-11,08768
328,15	0,00886	0,00305	$2,70 \times 10^{-5}$	-10,51998

Tabela 3. Dados referente ao perfil de pH (**Figura 12**) para a reação de desfosforilação do **DEDNPP** (5×10^{-5} mol L⁻¹) com: pralidoxima (**PAM**) (●), **Oxima-1** (▲), diacetilmonoxima (**DMA**) (▼) e para a hidrólise espontânea do triéster em água (■). [Oximas] = 0,001 mol L⁻¹. Todas as reações realizadas a 25°C.

pH	H ₂ O	Pralidoxima	Oxima-1	Diacetilmonoxima
5	$6,75 \times 10^{-6}$	-	-	-
5,5	-	-	-	-
6	$6,69 \times 10^{-6}$	-	-	-
6,5	-	$4,37 \times 10^{-5}$	$9,00 \times 10^{-6}$	$6,96 \times 10^{-6}$
7	$6,93 \times 10^{-6}$	$1,05 \times 10^{-4}$	$1,68 \times 10^{-5}$	$7,78 \times 10^{-6}$
7,5	-	$2,26 \times 10^{-4}$	$3,66 \times 10^{-5}$	$1,10 \times 10^{-5}$
8	$6,74 \times 10^{-6}$	$4,15 \times 10^{-4}$	$7,72 \times 10^{-5}$	$1,79 \times 10^{-5}$
8,5	$7,21 \times 10^{-6}$	$6,82 \times 10^{-4}$	$2,00 \times 10^{-4}$	$4,05 \times 10^{-5}$
9	$8,74 \times 10^{-6}$	$8,48 \times 10^{-4}$	$4,01 \times 10^{-4}$	$8,72 \times 10^{-5}$
9,5	$1,56 \times 10^{-5}$	0,00103	$8,85 \times 10^{-4}$	$1,94 \times 10^{-4}$
10	$2,95 \times 10^{-5}$	0,00108	-	$3,42 \times 10^{-4}$
10,2	$4,01 \times 10^{-5}$	-	-	-
10,5	$6,44 \times 10^{-5}$	0,00113	-	$5,52 \times 10^{-4}$
10,6	$7,89 \times 10^{-5}$	-	-	-
11	$1,42 \times 10^{-4}$	-	-	-

Tabela 4. Dados referente a variação da constante de velocidade observada (k_{obs}) em função da concentração de nucleófilos (**Figura 13**), para a reação com o **DEDNPP** e: **Oxima-1** (■), pralidoxima (**PAM**) (●) e diacetilmonoxima (**DAM**) (▲). Todas as reações realizadas em pH 10,5 a 25°C.

[Nucleófilo], mol L ⁻¹	k_{obs} , s ⁻¹		
	Oxima-2	Pralidoxima	Diacetilmonoxima
4,00E-04	7,41E-04	4,59E-04	3,60E-04
6,00E-04	1,02E-03	6,78E-04	4,67E-04
8,00E-04	0,00131	8,96E-04	5,72E-04
1,00E-03	1,60E-03	0,00113	6,71E-04

Tabela 5. Dados referente ao perfil de pH (**Figura 15**) para a reação do **DEDNPP** ($5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$): **Oxima-1** ($0,001 \text{ mol L}^{-1}$) semCTABr (■), **Oxima-1** ($0,001 \text{ mol L}^{-1}$) comCTABr ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) (▲) e hidrólise espontânea do **DEDNPP** (◆). Todas as reações realizadas a 25°C .

pH	$k_{\text{obs}}, \text{s}^{-1}$		
	H ₂ O		CTABr
	DEDNPP	Oxima-1	Oxima-1
5	6,75E-06	-	-
5,5	-	-	-
6	6,69E-06	-	-
6,5	-	9,00E-06	-
7	6,93E-06	1,68E-05	0,00892
7,5	-	3,66E-05	0,01692
8	6,74E-06	7,72E-05	0,04237
8,5	7,21E-06	2,00E-04	0,07691
9	8,74E-06	4,01E-04	0,1016
9,5	1,56E-05	8,85E-04	0,1438
10	2,95E-05	0,00122	0,1652
10,2	4,01E-05	-	-
10,5	6,44E-05	0,0014	0,1887
10,6	7,89E-05	-	-
11	1,42E-04	0,00158	0,1928

Tabela 6. Dados referente a dependência de k_{obs} com a concentração de **CTABr**(**Figura 16**), para a reação de hidrólise do triéster **DEDNPP** na presença de $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ da **Oxima-1**, em pH 10, a 25°C .

[CTAB], mol L ⁻¹	k _{obs} , s ⁻¹	[CTAB], mol L ⁻¹	k _{obs} , s ⁻¹
0,01	0,1501	0,0012	0,2706
0,008	0,1732	1,00E-03	0,2326
0,006	0,204	8,00E-04	0,1902
0,004	0,2468	6,00E-04	0,1384
0,0021	0,2873	5,00E-04	0,09369
0,0019	0,2836	4,00E-04	0,06922
0,0017	0,2823	3,00E-04	0,04191
0,0015	0,2822		