

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

**REAÇÃO DE HIDRÓLISE INTRAMOLECULAR DE
ÁCIDOS N,N-DIALQUILNAFTALÂMICOS: UM MODELO
NÃO MIMÉTICO DE CATÁLISE ENZIMÁTICA**

**JOSÉ CARLOS GESSER
ORIENTADOR: FARUK NOME**

FLORIANÓPOLIS - S.C. - BRASIL

1997

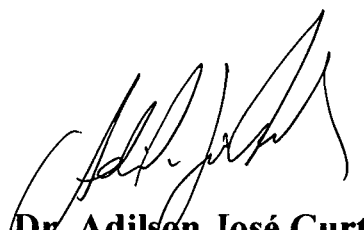
REAÇÃO DE HIDRÓLISE INTRAMOLECULAR DE ÁCIDOS N,N-DIALQUILNAFTALÂMICOS: UM MODELO NÃO MIMÉTICO DE CATÁLISE ENZIMÁTICA

JOSÉ CARLOS GESSER

ESTA TESE FOI JULGADA E APROVADA NA SUA FORMA FINAL PELO ORIENTADOR E PELOS MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA

Faruk Nome

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera
Orientador

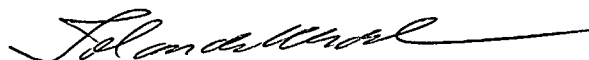


Prof. Dr. Adilson José Curtius
Coordenador

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Hernan Chaimovich
Universidade de São Paulo - USP



Prof. Dr.^a Iolanda Cuccovia
Universidade de São Paulo - USP

Faruk Nome

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Prof. Dr. Antônio Carlos Youssef
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

REAÇÃO DE HIDRÓLISE INTRAMOLECULAR DE ÁCIDOS N,N-
DIALQUILNAFTALÂMICOS: UM MODELO NÃO MIMÉTICO DE
CATÁLISE ENZIMÁTICA

por José Carlos Gesser

Tese de Doutorado apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química,
área de concentração em Química Orgânica , da Universidade Federal de
Santa Catarina , (S.C.), como requerimento para obtenção do grau de
DOUTOR EM QUÍMICA.

Orientador: Faruk Nome

FLORIANÓPOLIS - S.C. - BRASIL

1997

À

minha esposa Nilce,

meus pais José e Lirna,

minhas irmãs Daisy e Denise,

*em quem encontrei amor, sabedoria e compreensão
durante toda a jornada de luta pela realização deste objetivo.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Faruk Nome por todo seu inestimado apoio, indispensável companheirismo e brilhante orientação, atributos fundamentais à formação de qualquer profissional.

Ao meu amigo Santiago pela companhia durante toda esta caminhada.

Aos professores Dino Zanette e César Zucco por sua cooperação no desenvolvimento deste trabalho.

• Aos demais professores do departamento de química que contribuíram para minha formação.

Aos colegas do laboratório QMC 303 e 305: Cláudio, Ângelo, Sandro, Gean, Edson, Sônia, Salim, Danil, Jaime, Vera, Dilma, Fabiana, Rose, Ricardo, Fátima, Márcio, Francine, Alex e Arilson que me propiciaram, durante estes anos, momentos que sem dúvida permanecerão para sempre.

Aos funcionários e funcionárias do departamento de química cujo desempenho e prestatividade contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora pelas sugestões e discussão do tema desenvolvido nesta tese.

ÍNDICE ANALÍTICO

CAPÍTULO I

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| 1.1 - Enzimas Proteolíticas | 01 |
| 1.2 - Reações Modelos | 04 |
| 1.2.1 - Direcionamento de Orbitais | 06 |
| 1.2.2 - Controle Estéreo-Populacional | 12 |
| 1.2.3 - Teoria Espaço-Temporal | 15 |
| 1.3 - Modelagem Molecular | 20 |
| 1.3.1 - Métodos Mecânicos Moleculares | 24 |
| 1.3.2 - Métodos Mecânicos Quânticos | 28 |
| 1.3.2.1 - Métodos <i>ab-initio</i> | 29 |
| 1.3.2.2 - Métodos Semi-empíricos | 33 |
| 1.4 - Justificativas | 38 |
| 1.5 - Objetivos | 40 |

CAPÍTULO II

| | |
|--|-----------|
| 2 - Parte Experimental | 43 |
| 2.1 - Reagentes | 43 |
| 2.2 - Instrumentação | 44 |
| 2.3 - Síntese dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos | 45 |
| 2.4 - Estudos Cinéticos | 46 |
| 2.5 - Cálculos Computacionais | 46 |

CAPÍTULO III

| | |
|--|-----------|
| 3 - Resultados e Discussão _____ | 48 |
| 3.1 - Caracterização dos sais de N,N-dialquilamônio dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos I_{a-c} _____ | 48 |
| 3.2 - As reações de hidrólise intramolecular dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos _____ | 58 |
| 3.3 - Modelagem molecular e correlação estrutura- reatividade dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos _____ | 69 |

CAPÍTULO IV

| | |
|-----------------------------|-----------|
| 4 - Conclusões _____ | 91 |
|-----------------------------|-----------|

CAPÍTULO V

| | |
|---|-----------|
| 5 - Referências Bibliográficas _____ | 92 |
|---|-----------|

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 01: Estrutura tridimensional da quimotripsina. _____ | 02 |
| Figura 02: Diagrama de representação da especificidade de enzimas. _____ | 03 |
| Figura 03: Orientação dos orbitais dos átomos de oxigênio e enxofre nas reações de ciclização. _____ | 08 |
| Figura 04: Representação de um grupo de simetria esférica. _____ | 10 |
| Figura 05: Representação esquemática do ângulo diedro definido por quatro átomos ligados consecutivamente. _____ | 26 |
| Figura 06: Representação dos orbitais <i>p</i> para a molécula de água e para o íon hidrônio conforme o método <i>ab-initio</i> . _____ | 31 |
| Figura 07: Espectro de UV-Visível para o ácido <i>N,N</i> -dimetil, (A); <i>N,N</i> -dietil, (B) e <i>N,N</i> -di- <i>n</i> -dipropilnaftalâmico. _____ | 48 |
| Figura 08: Espectro de infravermelho para o sal de <i>N,N</i> -di- <i>n</i> -dipropilamônio do ácido <i>N,N</i> -di- <i>n</i> -dipropilnaftalâmico em pastilha de KBr. _____ | 50 |
| Figura 09: Espectro de infravermelho para o sal de <i>N,N</i> -dietilamônio do ácido <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico em pastilha de KBr. _____ | 50 |
| Figura 10: Espectro de RMN - ¹ H do sal de <i>N,N</i> -di- <i>n</i> -dipropilamônio do ácido <i>N,N</i> -di- <i>n</i> -dipropilnaftalâmico em CDCl ₃ . _____ | 52 |

- Figura 11:** Espectro de RMN - ^1H do sal de *N,N*-dietilamônio do ácido *N,N*-dietilnaftalâmico em CDCl_3 . _____ 53
- Figura 12:** Espectro de RMN - ^{13}C do sal de *N,N*-di-*n*-dipropilamônio do ácido *N,N*-di-*n*-dipropilnaftalâmico em CDCl_3 . _____ 55
- Figura 12a:** Espectro de RMN - ^{13}C em DPET de 35, 90 e 135° do sal de *N,N*-di-*n*-dipropilamônio do ácido *N,N*-di-*n*-dipropilnaftalâmico em CDCl_3 . _____ 56
- Figura 13:** Espectro de RMN - ^{13}C do sal de *N,N*-dietilamônio do ácido *N,N*-dietilnaftalâmico em CDCl_3 . _____ 57
- Figura 14:** Gráfico da constante de velocidade observada versus pH para o ácido *N,N*-dimetil, (\square); *N,N*-dietil, (o) e *N,N*-di-*n*-dipropilnaftalâmico (\blacktriangle). _____ 60
- Figura 15:** Gráfico de $\ln k_{\text{obs}}$ versus $1/T$ para o ácido *N,N*-dimetil, (\blacksquare); *N,N*-dietil, (\bullet) e *N,N*-di-*n*-dipropilnaftalâmico, (\blacktriangle). _____ 63
- Figura 16:** Estruturas tridimensionais dos ácidos *N,N*-dimetil, (I_a); *N,N*-dietil, (I_b) e *N,N*-di-*n*-dipropilnaftalâmico, (I_c) e suas respectivas projeções laterais. _____ 70
- Figura 17:** Diagrama de superfície de energia potencial para o ácido *N,N*-dimetilnaftalâmico. _____ 71
- Figura 18:** Geometria otimizada pelo método AM1 para o intermediário da reação de hidrólise do ácido *N,N*-dimetilnaftalâmico. _____ 74

- Figura 19:** *Variação do calor de formação em função da distância da ligação $O_{13}^-H_{17}$, (■) e $N_{15}-H_{17}$, (□).* _____ 75
- Figura 20:** *Geometrias otimizadas para o ET_1 , (A), para o ET_2 , (B) e para o produto da reação, (C), de hidrólise de I_a .* _____ 76
- Figura 21:** *Representação esquemática para o perfil de energia para a reação de hidrólise intramolecular do ácido *N,N*-dimetilnaftalâmico.* _____ 78
- Figura 22:** *Geometrias otimizadas para o reagente, (A); para o intermediário, (B) e para o produto da reação de hidrólise de I_a na presença de uma molécula de água.* _____ 80
- Figura 23:** *Diagrama de superfície de energia potencial para a obtenção da estrutura do ET_1 .* _____ 83
- Figura 24:** *Diagrama de superfície de energia potencial para a obtenção da estrutura do ET_2 .* _____ 84
- Figura 25:** *Estruturas do ET_1 , (A) e do ET_2 (B) para a reação de hidrólise de I_a na presença de uma molécula de água.* _____ 85
- Figura 26:** *Representação esquemática do diagrama de energia par a hidrólise do ácido *N,N*-dimetilnaftalâmico na presença de uma molécula de água.* _____ 86

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 01:** *Comparação entre a velocidade de reações enzimáticas e a velocidades de reações intermoleculares similares.* _____ **04**
- Tabela 02:** *Efeito da componente orientacional sobre a velocidade de lactonização de ácidos γ -hidroxicarboxílicos.* _____ **07**
- Tabela 03:** *Efeito da componente orientacional sobre a velocidade de tiolactonização de ácidos γ -sulfidrilcarboxílicos.* _____ **08**
- Tabela 04:** *Cálculo das funções de partição e do fator estérico para a reação de formação do formiato de etila.* _____ **09**
- Tabela 05:** *Efeito da estrutura sobre a velocidade de lactonização de hidroxiácidos catalisada por ácido a 25 °C.* _____ **11**
- Tabela 06:** *Efeito da substituição de hidrogênio por metila sobre a velocidade relativa de ciclização de XII, XIII e XIV.* _____ **13**
- Tabela 07:** *Efeito da temperatura sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos a pH= 3,50.* _____ **62**
- Tabela 08:** *Parâmetros de ativação para os diferentes ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos.* _____ **64**
- Tabela 09:** *Efeito isotópico do solvente sobre a velocidade de hidrólise intramolecular do ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos a 35 °C e pD= 3,00.* _____ **65**

- Tabela 10:** *Efeito isotópico do solvente sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos a 35 °C e pD= 2,8.* _____ **66**
- Tabela 11:** *Efeito isotópico do solvente sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos a 35 °C e pD= 2,40.* _____ **66**
- Tabela 12:** *Relações estruturais para os diferentes ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos.* _____ **72**
- Tabela 13:** *Parâmetros geométricos das espécies da coordenada de reação para a hidrólise de I_{α}* _____ **77**
- Tabela 14:** *Parâmetros geométricos das espécies da coordenada de reação para a hidrólise de I_{α} hidratado.* _____ **81**

RESUMO

A hidrólise dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos, I_{a-c} , é estudada como modelo não mimético de catálise enzimática determinado-se a constante de velocidade em função do pH a temperatura de 35 °C. Na região entre pH= 2,00 e pH= 3,50 a decomposição de I_{a-c} ocorre intramolecularmente, por meio do ataque do grupamento carboxílico não dissociado sobre o carbono carbonílico da amida, com subsequente formação do anidrido 1,8-naftálico. Estudos cinéticos do efeito isotópico sugerem a participação da água durante a reação de hidrólise e os parâmetros de ativação, determinados a pH= 3,50, excluem a entropia de reação como fator determinante da alta reatividade do sistema.

Cálculos mecânicos quânticos para a minimização de todas as estruturas das espécies envolvidas na coordenada de reação foram realizados com o método AM1, implementado no programa Mopac 6.0. Os resultados, analisados em termos da reação de hidrólise com transferência de próton para a quebra da ligação C-N, indicam que a reação de hidrólise, na qual a transferência de próton ocorre intramolecularmente, é desfavorecida por 22,00 Kcal.mol⁻¹, quando comparada ao mesmo processo onde a transferência é auxiliada por uma molécula de água. As relações geométricas obtidas mostram que a tensão estérica e os fatores orientacionais não são responsáveis pela alta velocidade das reações de ciclização. Uma relação espaço-tempo apropriada justificam a reatividade do modelo estudado; porém, a pré-associação com a molécula de água, e sua participação na transferência de próton, parece ser fundamental para que reações intramoleculares ocorram a velocidades comparáveis as reações enzimáticas.

ABSTRACT

The N,N-dialkylnaphthalamic acids hydrolyses are studied such as nonmimetic model of enzymatic catalysis. The rate constants, determined at different pH and at 35⁰ C, have been showed that in the range of 2.00 - 3.50, the mechanism of decomposition is performed through intramolecular nucleophilic attack of the protonated carboxylic group on the amide carbonyl carbon, with subsequent formation of 1,8-naphthalic anhydride. Kinetic isotope solvent effect was used to identify the participation a of water molecule in the hydrolysis reaction. The activation parameters, determined at pH 3.50, exclude the possibility to be the entropy the determinant factor to explain the high reactivity of substrates.

Quantun mechanic calculations to minimize the structures in the reaction coordinate were performed by using the AM1 method in Mopac 6.0 implemented program. The results specifically analyzed under proton transfer process, necessary to breaking C-N bond, show that intramolecular proton transfer is less favorable than the proton transfer mediated through a water molecule by 22.00 Kcal.mol⁻¹. The geometric relationship indicates that steric hindrance and orbital steering can not respond to the speeding of observed rate. An appropriate temporal-space relationship explain the reactivity, but the pre-association with a water molecule and its participation in all proton transfer process, may be the fundamental point to occur the intramolecular reaction in rates which are comparable to enzymatic reactions.

CAPÍTULO I

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

Enzimas são catalisadores biológicos que participam de reações químicas necessárias à vida. Ao longo de todo o estudo sistematizado sobre estas macromoléculas tem sido demonstrado que as enzimas são proteínas e algumas atuam concomitantemente com compostos orgânicos ou inorgânicos mais simples chamados coenzimas. Recentemente, porém, nos estudos da “replicação” dos genes em protozoários ciliados, mais especificamente da *Tetrahymena thermophila*, foi demonstrado que algumas espécies de RNA, chamados de ribozimas, podem atuar como enzimas catalisando reações de transesterificação⁰¹.

As moléculas de proteínas são estruturas complexas, compostas por milhares de subunidades conhecidas como aminoácidos. Estas subunidades (de vinte espécies diferentes) ligam-se umas às outras em diferentes proporções - distintas em cada proteína - para formar cadeias polipeptídicas. O termo “ ligação peptídica ” refere-se à ligação que é formada quando dois aminoácidos ligam-se um ao outro num processo que produz a liberação de uma molécula de água.

Uma classe importante de enzimas tem a função de degradar, ou digerir, outras proteínas. Estas enzimas são chamadas enzimas proteolíticas e têm a função de degradar proteínas celulares como parte do ciclo metabólico das células. Elas também fragmentam moléculas de proteínas que o organismo

ingere na forma de alimentos; neste processo, novas subunidades proteicas são geradas e fragmentadas até que os aminoácidos necessários a subsistência do organismo sejam produzidos.

Enzimas proteolíticas têm a capacidade de, por um processo de hidrólise, restaurar os elementos da água perdidos durante a formação da cadeia polipeptídica. Na ausência de um catalisador, as variações eletrônicas envolvidas no processo de hidrólise da proteína podem ser demasiadamente lentas para serem detectadas. A adição de ácidos ou bases pode acelerar a reação de hidrólise, porém denatura a proteína e pôde, até mesmo, destruir a célula viva. Enzimas proteolíticas produzem o mesmo resultado mais rapidamente e sem danos ao organismo.

Entre as enzimas proteolíticas mais conhecidas encontram-se a tripsina, a quimotripsina e a carboxipeptidase A. Entre elas a quimotripsina talvez seja a mais estudada; sua estrutura tridimensional foi deduzida por difração de raio-X por D. W. Blow², (Figura 01) e seu mecanismo de ação postulado em colaboração com B. S. Hartley e J. J. Birktof³

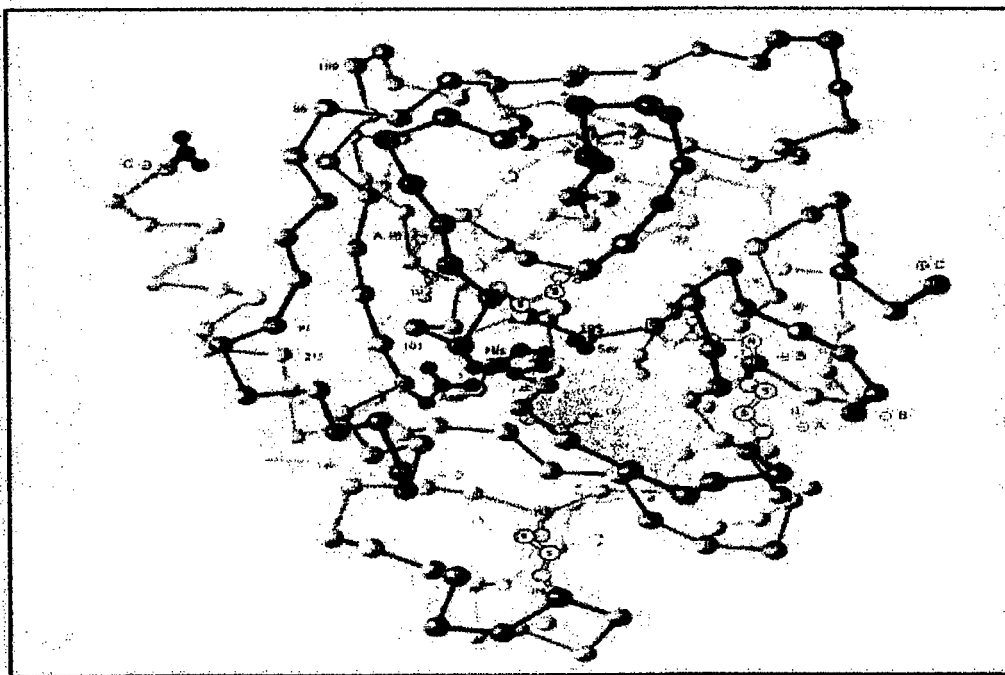


Figura 01: Estrutura tridimensional da quimotripsina.

Cada enzima é destinada a catalisar um tipo específico de reação química. A especificidade destas enzimas é traduzida pelo fato de que cada uma delas hidrolisa o grupamento carboxílico de ligações peptídicas que são precedidas por um grupamento arginina, no caso da tripsina; ou por um resíduo de tirosina, no caso da quimotripsina; ou ainda antecedidas por um grupo fenil alanina, no caso da carboxipeptidase A, Figura 02.

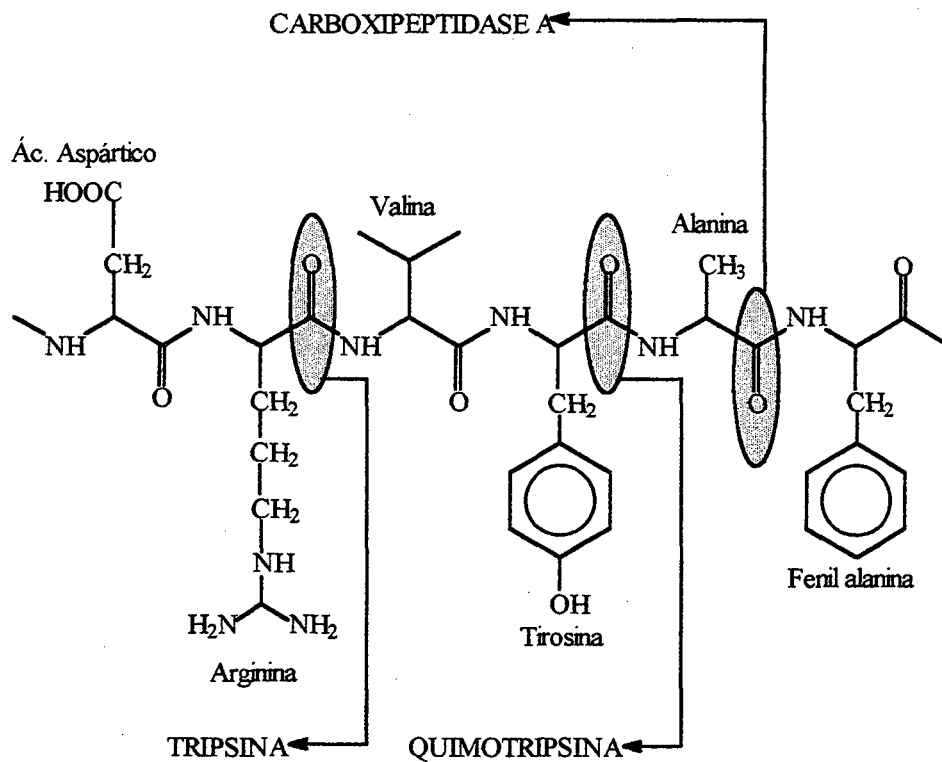


Figura 02: Representação da especificidade de enzimas proteolíticas.

Como enzimas proteolíticas são proteínas, sua ação é dirigida ao mesmo tipo de compostos a partir dos quais elas são formadas, por isso são armazenadas nas glândulas zimogênicas onde sua ação destrutiva é prevenida.

A partir de meados do século IXX algumas destas enzimas proteolíticas tornaram-se disponíveis comercialmente; porém, inicialmente caras, constituíam um sistema complexo para estudo, o que limitava seu uso direto em pesquisas laboratoriais. Então, sistemas alternativos, tais como

reações modelos, começaram a ser pesquisados paralelamente com o objetivo de identificar os fatores responsáveis pela velocidade, especificidade e reatividade dos sistemas enzimáticos.

1.2 - REAÇÕES MODELOS

Reações químicas intermediadas por enzimas são extremamente rápidas, estereoespecíficas e ocorrem sob condições relativamente brandas de pH, temperatura e pressão. Por outro lado, reações intermoleculares, nas quais estão envolvidos os mesmos grupos funcionais, podem demorar horas mesmo sob condições extremas, Tabela 1.

Tabela 1: Comparação entre velocidades de reações enzimáticas e velocidades de reações intermoleculares similares⁴.

| Enzima | Análogo não enzimático | Velocidade enzimática ($V_e \cdot s^{-1}$) ^a | Velocidade não enzimática ($V_o \cdot s^{-1}$) ^b | Ve/Vo |
|---------------|--|--|--|--------------------|
| Lisozima | Hidrólise de acetais catalisada por base geral | 5×10^{-1} | 3×10^{-9} | 2×10^8 |
| Quimotripsina | Hidrólise de amidas catalisadas por base geral | 4×10^{-2} | 1×10^{-5} | 4×10^3 |
| Fumarase | Hidratação de alcenos catalisada por ácido geral | 5×10^2 | 3×10^{-9} | 2×10^{11} |

^a Velocidades obtidas a partir do número de "turnover" para a saturação da enzima.

^b Velocidades obtidas a partir do melhor análogo, baseado nos resíduos de aminoácidos do sítio ativo da enzima, e conhecidos como modelos para a velocidade de reação. As velocidades de reação são corrigidas em função do fator de proximidade relativo a cada substrato e grupo catalítico tornando V_e e V_o comparáveis em termos de unidades e efeito de proximidade.

Esta disparidade tem estimulado um número incontável de químicos (sejam eles sintéticos, físico-químicos ou bioquímicos) a buscar uma explicação mecanística para a ação enzimática e, conseqüentemente, desvendar os fatores responsáveis pelo poder catalítico destas biomoléculas.

A partir da década de 60, com o advento de técnicas de difração de raio-x que possibilitaram a determinação da estrutura tridimensional de algumas enzimas, um crescente volume de informações vem se acumulando e algumas relações de estrutura-atividade passaram a ser elaboradas. Estas culminam com um modelo no qual acredita-se que as enzimas realizam suas funções catalíticas fixando o substrato, num processo de complementariedade geométrica e eletrônica, de modo a aproximar os grupos reacionais. Contudo, a grande complexidade destas biomoléculas dilui os esforços até agora destinados a determinação do modo pelo qual atuam estes poderosos catalisadores naturais. Surge então a necessidade de se criar sistemas mais simples que imitem a reação enzimática como um todo (modelos miméticos); ou modelos nos quais uma característica específica da ação enzimática é imitada (modelos não miméticos)⁵.

Os modelos não miméticos podem ser subdivididos em duas categorias:

i) aqueles que analisam a interação entre o substrato e a enzima no complexo enzima-substrato, dando origem aos estudos dos compostos de inclusão formados essencialmente por ciclodextrinas, micelas e éteres coroa.

ii) os direcionados para os princípios físico-químicos que governam as modificações nos sítios ativos das enzimas e modelam, por tanto, a catálise por grupos funcionais no complexo enzima-substrato. Estes são abordados mais freqüentemente por reações intramoleculares.

Reações intramoleculares têm sido apresentadas como modelos muito mais simples, a partir dos quais se tem buscado explicações para o grande poder catalítico das enzimas em sistemas biológicos. Os princípios sob os quais fundamentam-se tais modelos, estabelecem que os mesmos parâmetros físico-químicos que governam a reatividade entre dois grupamentos funcionais em uma reação intramolecular, também estão presentes para os mesmos grupamentos que constituem o sítio ativo da enzima.

Com o estudo principalmente de reações intramoleculares de lactonização, hidrólise de ésteres e hidrólise de amidas, como modelos para catálise enzimática, surgiram teorias como: Direcionamento de Orbitais, Controle Estéreo-populacional e a Teoria Espaço-Temporal. Estas teorias, abordadas nas próximas seções, reivindicam para si a primazia dos efeitos de aumento de velocidade observados em sistemas intramoleculares quando comparados às reações intermoleculares similares, e estabelecem uma analogia com os fatores que determinam os enormes efeitos catalíticos exercidos pelas enzimas.

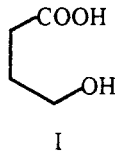
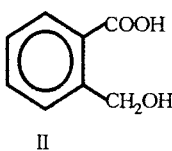
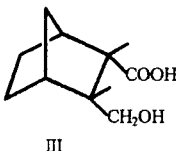
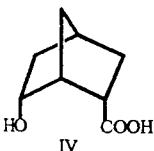
1.2.1 - DIRECIONAMENTO DE ORBITAIS

Testando a sensibilidade de reações químicas à orientação dos átomos que participam do sítio reacional, Koshland estudou a velocidade de esterificação e lactonização de γ -hidróxiácidos⁶.

Quando comparadas à velocidade de esterificação entre o ácido acético e etanol, as reações de ciclização intramolecular ocorrem 10^6 vezes mais rapidamente que a reação intermolecular. Mesmo depois que correções

para o efeito de proximidade, tensão e efeitos conformacionais são feitas um fator de aumento de velocidade de 10^4 ainda é observado, Tabela 2.

Tabela 2: Efeito do componente orientacional sobre a velocidade de lactonização de ácidos γ -hidroxicarboxílicos.

| Composto | CH ₃ CH ₂ OH + CH ₃ COOH |  I |  II |  III |  IV |
|--|---|--|---|--|---|
| V _{relativas} | 1 | 79 | 305 | 6630 | 1.027.000 |
| V _{rel. corrig.} ^a | 1 | 413 | 17 | 1660 | 18.700 |

^a velocidades relativas corrigidas, conforme referência 06

Conforme a abordagem de Koshland, durante a formação dessas estruturas cíclicas, o ataque do oxigênio hidroxílico sobre o carbono carbonílico tem uma orientação limitada se comparada às orientações das colisões que ocorrem ao acaso em processos bimoleculares. Este fator orientacional, representado por $1/\theta$, **fornece uma estimativa do aumento de velocidade observa**

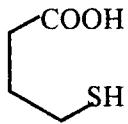
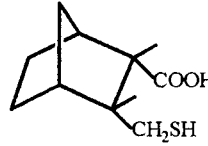
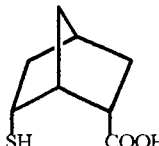
da em reações enzimáticas devido à otimização da orientação dos orbitais dos átomos reacionais em questão. θ é o ângulo definido pela fração da superfície sólida, de um átomo de simetria esférica, sujeita à reação ao longo de um caminho selecionado na coordenada de reação.

Um fator de aceleração da ordem de 10^4 está longe de conferir às reações intramoleculares análogas a mesma velocidade das reações enzimáticas. Porém, a combinação de vários grupos catalíticos ancorados numa única estrutura carbônica, a exemplo do que ocorre num complexo

enzima-substrato, pode revelar fatores tão grandes quanto 10^{12} , justificando a origem do alto poder catalítico das enzimas.

Em um experimento adicional de comprovação de sua teoria, Koshland testa o efeito da substituição de um átomo de oxigênio por um átomo de enxofre sobre a componente angular das reações de lactonização anteriormente apresentadas, Tabela 3.

Tabela 3: Efeito da componente orientacional sobre a velocidade de tiolactonização de ácidos γ -sulfidrilcarboxílicos.

| Composto |  |  |  |
|----------------------|---|--|---|
| | V | VI | VII |
| $V_{relativas}$ | 384 | 90 | 821.000 |
| $V_{rel. corrig.}^a$ | 2020 | 5 | 15.000 |

^a velocidades relativas corrigidas, conforme referência 07.

Como resultado, a variação de velocidade para os compostos tioanálogos, especialmente a grande diferença de velocidade entre III e VI, é interpretada como um desvio desfavorável nos ângulos de aproximação entre os orbitais atômicos dos grupos reacionais, tornando a estrutura do tiol, (B), menos produtiva orientacionalmente, Figura 03.

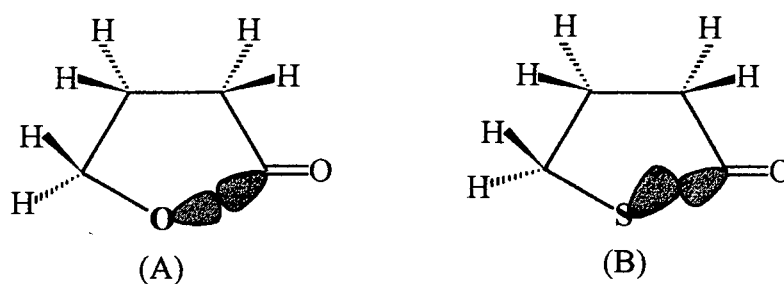


Figura 03: Orientação dos átomos de oxigênio e enxofre nas reações de ciclização

Nesta etapa, a teoria de Direcionamento de Orbitais está delineada, porém não totalmente aceita; então Koshland, fazendo uso da teoria do estado de transição, procura consolidar suas hipóteses através de cálculos das funções de partições vibracionais ($q_{AB(Vib)}$ e $q_{AB(Vib)}^\ddagger$), rotacionais ($q_{AB(Rot)}$ e $q_{AB(Rot)}^\ddagger$) e rotacionais internas ($q_{AB(Rot.int)}$ e $q_{AB(Rot.int)}^\ddagger$) que são necessárias à avaliação do fator estérico p , presente na lei de velocidade derivada da teoria das velocidades absolutas: $k = p.z.e^{-E_0/RT}$ ⁽⁸⁾. O fator p é associado ao fator θ e é avaliado, para a reação entre A e B formando AB^\ddagger , de acordo com a metodologia de análise de Benson⁹.

$$p = \frac{q_{AB(Rot)}^\ddagger}{q_{AB(Rot)} \cdot q_{A(Rot)} \cdot q_{B(Rot)}} \cdot \frac{q_{AB(Vib)}^\ddagger}{q_{A(Vib)} \cdot q_{B(Vib)}} \cdot \frac{q_{AB(RotInt)}^\ddagger}{q_{A(RotInt)} \cdot q_{B(RotInt)}} \quad (1)$$

A partir da equação (1) obtém-se valores de 10^{-3} - 10^{-5} para a reação de formação do formato de metila, Tabela 4.

Tabela 4: Cálculo das funções de partição e do fator estérico para reação de formação do formiato de etila⁸.

| q | MeOH ^a | HCOOH ^a | ET _{frouxo} | ET _{médio} | ET _{rígido} |
|------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| $q_{(rot.)}$ | $3,175 \times 10^3$ | $8,908 \times 10^3$ | 98×10^3 | 98×10^3 | 82×10^3 |
| $q_{(rot.int.)}$ | 1,431 | 1 | ~60 | ~60 | ~10 |
| $q_{(vib.)}$ | 1,091 | 1,117 | 57 | 4,1 | 2,4 |
| $q_{AB(rot.)}$ | --- | --- | $1,6 \times 10^3$ | $1,6 \times 10^3$ | $1,2 \times 10^3$ |
| p | --- | --- | $4,4 \times 10^{-3}$ | $3,2 \times 10^{-4}$ | $3,6 \times 10^{-5}$ |

^a Estruturas e frequências vibracionais estimadas conforme S. W. Benson, "Thermochemical Kinetics", Jhon Willey & Sons, Inc, New York, N. Y., 1968. Vibrações foram usadas como aquelas de MeOH e HCOOH, exceto para o estiramento C=O e para a vibração angular da unidade O=C-O de HCOOH. Diferenças na estabilidade de rotâmeros são ignoradas.

Como, pelas argumentações de Koshland, θ (o fator de orientação) é o recíproco de p ; a magnitude da aceleração derivada pela teoria do estado de transição é a mesma daquela obtida a partir das hipóteses iniciais do Direcionamento de Orbitais baseadas na teoria das colisões. Assim, efeitos orientacionais dos átomos reagentes podem contribuir significativamente para reações enzimáticas.

Uma das primeiras refutações às idéias de Koshland surgiu em 1971, com Thomas C. Bruice¹⁰, num trabalho de cunho teórico onde é demonstrado que, para átomos ou grupo de átomos de simetria esférica, uma razão de velocidade $k_{\text{intra}}/k_{\text{inter}} = 10^6$ requer uma orientação crítica de $0,1^\circ$ entre os grupos participantes da reação, Figura 04; de onde conclui-se que qualquer desvio na orientação dos orbitais desta ordem de magnitude deverá reduzir drasticamente a velocidade da reação. Além disso a amplitude das vibrações angulares numa molécula a temperatura ambiente oscila entre 5° e 10° e, obviamente, tende a aumentar com o aumento da temperatura. Este fato, aplicado a teoria de Koshland, requer que a velocidade de uma reação química diminua com o aumento da temperatura.

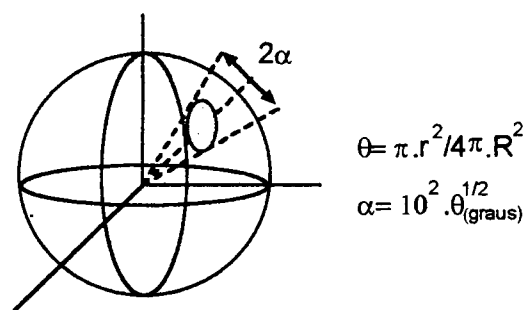
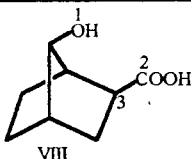
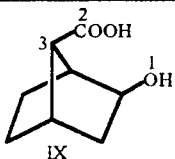
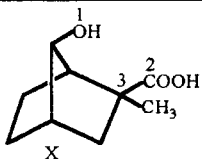
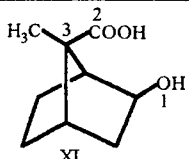


Figura 04: Representação de um grupo de simetria esférica, somente uma pequena porção reativa de sua superfície (área sombreada). A magnitude de 2α é um indicador de quão crítica é a orientação do grupo.

Críticas de cunho experimental à “natureza orientacional” das reações enzimáticas e intramoleculares, são feitas examinando-se a reatividade entre grupos funcionais ancorados numa estrutura carbônica rígida com ângulos e distâncias bem definidos¹¹, Tabela 5.

Tabela 5: Efeito da estrutura sobre a velocidade de lactonização de hidroxiácidos catalisada por ácido a 25 °C.

| Composto |  |  |  |  |
|--------------------|---|---|--|---|
| V_{rel} | 1 | 1,2 | 36 | 22 |
| ângulo $O_1C_2C_3$ | 70 | 80 | 76 | 85 |
| v_H^+ | 0,0083 | 0,01 | 0,30 | 0,18 |

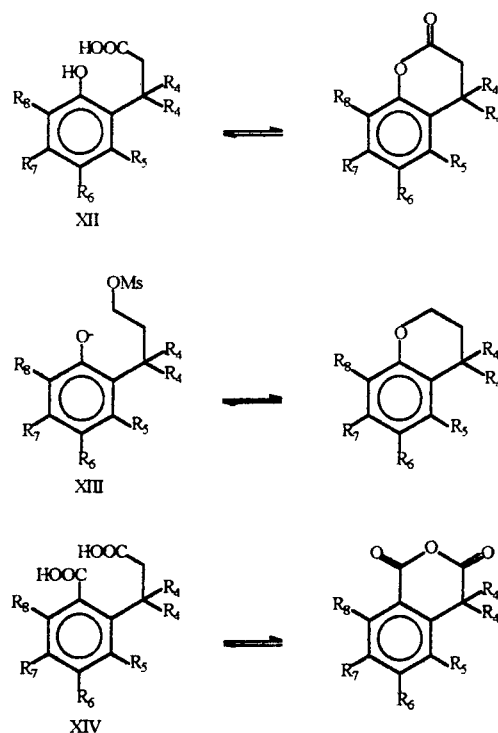
Cálculos computacionais, realizados sobre a série de compostos VIII, IX, X e XI, revelam que os pares VIII - IX e X - XI têm calores de formação similares e distância entre o oxigênio hidroxílico e o carbono carbonílico também similares (2,83 Å para VIII e IX e 2,81 Å para X e XI); a diferença entre os ângulos $O_1C_2C_3$ é de 10° para cada par.

Conforme os dados, as velocidades de lactonização de VIII e IX são semelhantes, o mesmo acontecendo para X e XI. Se a adição a compostos carbonílicos fosse extremamente dependente de fatores angulares uma variação de 10° no ângulo entre os orbitais dos átomos reacionais deveria produzir um variação de 10^4 na velocidade da reação o que não é observado neste estudo colocando em dúvida o rigor do direcionamento de orbitais como fator determinante alta reatividade de processos biológicos controlados por enzimas.

1.2.2 - CONTROLE ESTEREOPOPULACIONAL

É razoável supor que, durante a formação do complexo enzima-substrato, a enzima limita o substrato a uma única conformação, possivelmente aquela mais favorável ao desempenho de sua função catalítica. Esta restrição conformacional pode ser imposta por meio de ligações de hidrogênio, atração ou repulsão eletrostática, repulsão de van der Waals, repulsão do tipo par não compartilhado e outras. Tal diversidade de fatores, capazes de produzir um único efeito, foi englobada numa teoria denominada Controle Estereopopulacional.

A quantificação do fator de aumento de velocidade devido à restrição conformacional foi feita por Milstien e Cohen, estudando como reação modelo a lactonização de derivados do ácido o-hidroxihidrocinâmico, XII¹²; a ciclização de mesilatos de 3-(o-hidróxifenil)-1-propila, XIII¹³ e a formação de anidridos derivados do ácido homoftálico, XIV¹⁴, Esquema 01.



Esquema 01

Em tais casos, quando R₄ é um grupamento CH₃, observa-se uma velocidade relativa de reação 10⁴ vezes maior que a velocidade da reação para o composto não substituído, Tabela 6.

Tabela 6: Efeito da substituição de hidrogênio por metila sobre a velocidade relativa de ciclização de XII, XIII e XIV.

| R ₄ | R ₅ | R ₆ | R ₇ | R ₈ | XII | XII ^a | XIII | XIII ^a | XIV | XIV ^a |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| H | H | H | H | H | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| H | H | H | H | CH ₃ | --- | --- | --- | --- | 10 | --- |
| H | H | H | CH ₃ | CH ₃ | --- | --- | 3,5 | --- | --- | --- |
| H | CH ₃ | H | CH ₃ | CH ₃ | 6,8 | --- | 7 | --- | --- | --- |
| H | CH ₃ | H | H | H | --- | 1 ^b | --- | 1,6 ^b | 52 | 1 |
| H | CH ₃ | H | H | CH ₃ | --- | --- | --- | --- | 50 | --- |
| CH ₃ | H | H | H | H | 4.440 | 4.440 | 3.100 | 3.100 | 82.000 | 82.000 |
| CH ₃ | H | H | H | H | 16.700 | --- | --- | --- | --- | --- |
| CH ₃ | H | H | CH ₃ | CH ₃ | --- | --- | 10.464 | --- | --- | --- |
| CH ₃ | CH ₃ | H | CH ₃ | H | 8x10 ¹⁰ | --- | --- | --- | --- | --- |
| CH ₃ | CH ₃ | H | H | CH ₃ | 3x10 ¹¹ | --- | --- | --- | --- | --- |
| CH ₃ | CH ₃ | H | CH ₃ | CH ₃ | 3x10 ¹¹ | --- | 9x10 ⁴ | --- | --- | --- |
| CH ₃ | CH ₃ | CH ₃ | CH ₃ | CH ₃ | --- | --- | --- | 2x10 ⁵ | 8x10 ⁵ | --- |
| CH ₃ | CH ₃ | H | H | H | --- | 5x10 ^{10(b)} | --- | --- | --- | 16.000 ^b |

^a corrigidas para efeitos estéricos e eletrônicos, conforme referência 09.

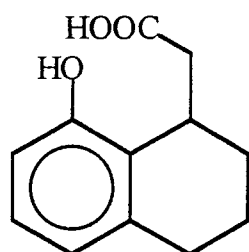
^b Valores obtidos por extrapolação.

Milstien e Cohen atribuíram este fator de aumento de velocidade a um “bloqueio” pelos grupamentos metílicos que produziu um congelamento conformacional da cadeia lateral no rotâmero mais produtivo para a reação, aumentando a população deste confôrmero.

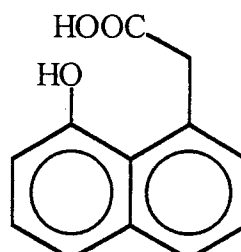
A velocidade relativa de 10^{11} tem merecido maior atenção por parte dos autores; pois, se para XIII e XIV as velocidades encontradas são fatores típicos para o efeito de controle estéreo-populacional, então a reação de XII estaria recebendo contribuições de variáveis não identificadas até aquele momento.

Karle e Karle mostraram, a partir de dados de cristalografia de raio-X, que para o composto XII, quando $R_4 = R_5 = R_7 = R_8 = \text{CH}_3$, os ângulos de ligação entre os átomos do anel benzênico sofrem desvios do valor padrão de 120° . Assim, o alívio da tensão angular do estado fundamental, à medida que este conduz ao estado de transição, é a principal força diretora da reação¹⁵.

Danforth e Nicholson¹⁶ estudaram as velocidades de lactonização dos compostos XV e XVI, para os quais a tensão angular (a primeira vista) não é o fator determinante da velocidade. As velocidades relativas de ciclização são 150 e 21.000 respectivamente e atribuem o valor de 10^4 para a magnitude do aumento de velocidade oriundo de limitações conformacionais no curso de reações químicas.



XV



XVI

Por outro lado, a análise dos dados da tabela 6, no que concerne a formação do anidrido XIV, revela um aumento de velocidade de apenas 10

vezes quando o derivado do ácido homoftálico com $R_4-R_8 = \text{CH}_3$ é comparado com XIV, o derivado no qual $R_4 = \text{CH}_3$, $R_5 - R_8 = \text{H}$. O mesmo tipo de substituição nos compostos XII e XIII produz um aumento de velocidade de 10^7 e 10^2 , respectivamente. Hillery e Cohen¹⁴ concluem, portanto, que a tensão angular não é o fator determinante da velocidade e o controle estereo-populacional é responsável por um aumento de velocidade maior que 10^4 .

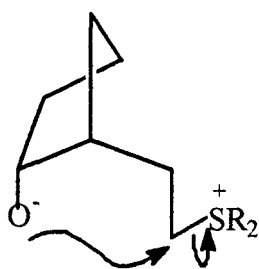
1.2.3 - TEORIA ESPAÇO-TEMPORAL

Em 1985, avaliando o efeito da proximidade em reações bimoleculares do tipo S_N2 entre o iodeto de metila e piridina¹⁷, Menger observou um aumento de aproximadamente doze vezes na velocidade quando a concentração do nucleófilo é aumentada de 1% para 100% (12,4M de piridina). Comparando seus resultados com a observação de outros autores sobre a velocidade de reações intramoleculares, conclui: “o efeito de proximidade é manifestado em reações intramoleculares porém não em reações intermoleculares”; logo, proximidade é um componente necessário, todavia não suficiente para explicar a alta reatividade de sistemas intramoleculares e conseqüentemente enzimáticos.

A questão fundamental levantada na época é traduzida da seguinte forma: Por que efeitos de proximidade são observados em reações que ocorrem intra e não intermolecularmente?; ou ainda, por que certas reações intramoleculares são caracterizadas por valores tão grandes de molaridade efetiva?

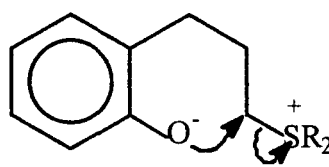
Koshland tem argumentado que orientação e proximidade são os principais fatores responsáveis por essa discrepância; porém, a severa dependência angular imposta por sua teoria encontra barreiras à sua aceitação. Além disso, tem sido demonstrado que são poucos os sistemas que possuem uma “janela de reação” estreita¹⁸.

Page e Jencks sustentam que uma reação intramolecular é mais rápida que uma reação intermolecular, porque a primeira é favorecida entropicamente. Cálculos teóricos sobre a dimerização Diels-Alder do ciclopentadieno em fase gasosa¹⁹ demonstram que uma reação intramolecular pode ser 10^8 vezes mais rápida que uma reação intermolecular e que o congelamento de um grau de liberdade rotacional de uma ligação química gera um aumento de 5 vezes na velocidade da reação. Não havendo nada de extraordinário na extrema reatividade destes processos de ciclização, valores elevados de molaridade efetiva ($ME = k_{\text{intramol.}}/k_{\text{intermol.}}$) seriam esperados e sua relevância para a catálise enzimática deveria ser mínima. Contudo, valores de ME menores que a unidade são descritos na literatura²⁰ e os teoremas entrópicos falham ao explicá-los. Por exemplo, os compostos XVII e XVIII, modelos de metilases (o-metil transferases)²¹, não mostram relação entrópica com a velocidade de ciclização.



XVII

$$\Delta S_{H_2O}^* = -37 e. u.$$



XVIII

$$\Delta S_{H_2O}^* = +14 e. u.$$

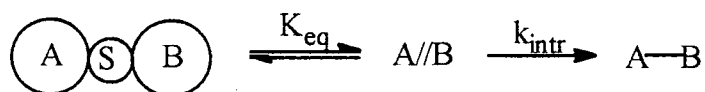
Adicionalmente a avaliação dos parâmetros de ativação em reações de ciclização do tipo $S_N2^{22,23}$ não estabelecem qualquer relação entre a entropia de ativação e a reatividade do sistema.

A maior crítica aos fatores entrópicos definidos por Page e Jencks é apresentada por Daform e Koshland²⁴ durante cálculos realizados para a combinação de $Br\cdot$ (bromo radicalar) para formar Br_2 . O mesmo método computacional usado por Page e Jencks na dimerização do ciclopentadieno, neste caso fornece uma constante de velocidade 10^6 vezes menor que a obtida inicialmente. Desta forma, a dependência entre a sistemática de cálculo e a reação modelo usada mostra a vulnerabilidade da teoria.

Segundo o ponto de vista de Menger, conceitos como entropia, orientação e proximidade não reúnem em torno de si evidências suficientes para explicar os fatores responsáveis pelo grande aumento de velocidade observado em reações intramoleculares e pela eficiência da catálise enzimática. Torna-se necessário, por isso, o desenvolvimento de um novo conceito (Teoria) que possa abordar o problema da intramolecularidade. Esse novo conceito foi denominado Teoria Espaço-Temporal e é enunciado da seguinte forma: “ *A velocidade de reação entre dois grupamentos funcionais A e B é proporcional ao tempo que A e B permanecem a uma distância crítica menor ou igual a soma dos raios de van der Waals dos grupos que participam da reação* ”. A ênfase à distância em detrimento aos fatores orientacionais é uma decorrência natural da teoria, pois a amplitude da energia de estiramento de uma ligação é maior que a amplitude da energia de vibração angular.

Em termos das leis formais de equilíbrio, a teoria é descrita considerando-se que duas moléculas separadas pelo solvente geram um complexo no qual os componentes do sítio reacional estão dentro de uma

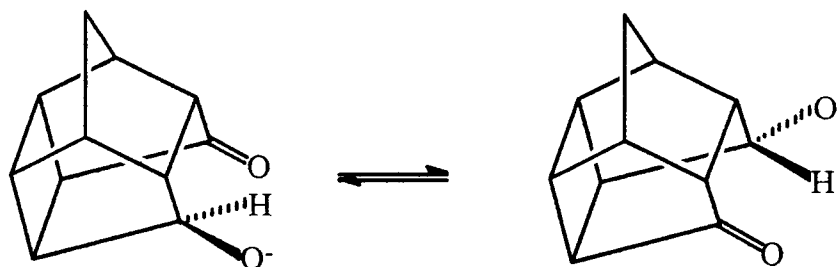
distância limite que impede sua solvatação. O produto fornecido numa segunda etapa é caracterizado por uma constante de velocidade intrínseca, Esquema 02.



Esquema 02

A hipótese da pré-associação é suportada por vários exemplos de adição a compostos carbonílicos²⁵, substituição aromática nucleofílica²⁶, substituição aromática eletrofílica²⁷, reações Diels-Alder²⁸ e reações de cloração via radical livre²⁹; além disso, relações entre distância e velocidade foram anteriormente descritas por Benesi³⁰.

Menger, em seus experimentos posteriores, propõe a consolidação de sua hipótese Espaço-Temporal. Assim, cálculos computacionais usando o método AMPAC para a transferência intramolecular de hidreto em cetoalcoxicetonas, Esquema 03, fornecem uma energia para o processo global



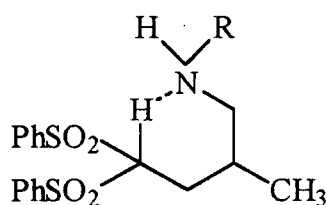
Esquema 03

igual a 18 Kcal.mol⁻¹, dos quais 5 Kcal.mol⁻¹ são usados para a transferência do hidreto. Os 13kcal/mol restantes são usados para posicionar os centros

reacionais a uma distância crítica para a reação³¹ e de acordo com os resultados “ *a física precede a química!* ”.

Enfatizando o poder preditivo da teoria, cálculos computacionais demonstram que amidas derivadas do triácido de Kemp possuem a hidroxila do grupamento amida a uma distância igual à soma do raio de van der Waals dos grupos em questão (2,80 Å). Dados experimentais confirmam a altíssima velocidade de hidrólise esperada para a reação com base na relação tempo-distância ($t_{1/2} = 8$ min; $EM \approx 10^{12}$ M)³².

A auto-troca de próton NH/CH na amino disulfona XIX foi estudada em tolueno-*d*₈. A reação ocorre via transferência de próton para formar um par iônico R_3C^-/H_3NR^+ , depois do qual um próton diferente, oriundo do grupamento amínico, retorna ao carbono³³. O composto XIX possui uma distância de contato de 2,34 Å (menor que a soma do raio de van der Waals, $\approx 2,75$ Å), dentro de uma geometria tal que a transferência de próton é rápida na escala de tempo de RMN, mesmo em solventes não polares, à baixa temperatura e com uma barreira de pK_a bastante grande.



XIX

A competitividade entre a velocidade da catálise básica geral intramolecular e a velocidade da catálise básica geral enzimática, neste caso, é atribuída à distância de contato a qual não permite a intervenção de moléculas

do solvente (*“esta é a chave para a origem da alta reatividade deste sistema, e reflete o papel importante da pré-associação”*).

Os argumentos da teoria induzem, conseqüentemente, à conclusão de que *“nenhum mecanismo esotérico”* é necessário para explicar os efeitos catalíticos das enzimas e que a relação espaço-temporal entre os grupos funcionais participantes da reação é mais do que suficiente para este propósito.

1.3 - MODELAGEM MOLECULAR

No início do século as noções que o químico orgânico tinha sobre estrutura molecular restringia-se a representação das fórmulas estruturais planas dos compostos com os quais ele trabalhava. Considerava-se, nesta época, que se uma determinada molécula pudesse ser representada através de sua(s) formula(s) de Kekulé³⁴ a estrutura desta era considerada conhecida. O mundo da representação química era então restrito ao plano do papel sobre o qual idéias e problemas eram discutidos e tinha realidade meramente bidimensional. Com os trabalhos de van'Hoff³⁵ introduzindo o conceito da tetra valência do carbono e com o artigo publicado por Barton³⁶ ressaltando a importância da análise conformacional para o entendimento estrutural, a representação da estrutura molecular começa a ter um nível de detalhamento um pouco maior, assumindo caráter tridimensional ao preocupar-se com a natureza estereoquímica da representação dos compostos objetos de estudo. Mas, ainda assim, a compreensão sobre aquilo que era designado “estrutura” não mudou muito.

Trinta anos mais tarde físicos e físico-químicos, interpretando dados obtidos a partir da espectroscopia vibracional, espectroscopia de micro-

ondas, difração eletrônica ou da cristalografia de raio-x, forneceram à palavra “estrutura” um entendimento muito mais detalhado o qual compreendia conceitos como comprimento de ligação, ângulos de ligação e ângulos torcionais, inserindo no que se entende hoje por estrutura molecular, um grau de detalhamento muito maior que aquele do início do século ou mesmo de 20 anos atrás. Por outro lado, a obtenção de dados espectroscópicos nem sempre é um método rápido e/ou barato para a determinação de parâmetros estruturais.

Dentre os métodos citados anteriormente, talvez a cristalografia de raio-x seja o mais amplamente usado para esse propósito. Sabe-se que o modelo de difração de uma molécula usual fornece centenas ou, mais freqüentemente, milhares de conjuntos de dados que devem ser interpretados exatamente para que a estrutura molecular seja descoberta. Em geral, nenhum outro método apresenta um volume tão grande de informações numéricas precisamente interpretáveis e, conseqüentemente, nenhum outro método fornece informações estruturais tão boas. Porém, a cristalografia de raio-x apresenta alguns problemas que nem sempre são contornáveis: primeiro, o composto deve ser obtido em sua forma cristalina o que requer bom domínio da técnica (ou “arte” como clamam os cristalógrafos) de cristalização e crescimento de cristais; segundo, obtido o cristal com suas características particulares, sua análise (exceto em casos ordinários) pode requerer dias ou mesmo meses para que a estrutura proposta justifique os dados obtidos; terceiro, as informações são obtidas para moléculas em seu estado sólido, não em fase gasosa ou em solução onde a maioria das reações ocorrem; o que para moléculas flexíveis gera dificuldades extras, pois sua estrutura pode ser diferente para diferentes fases.

Considerando as dificuldades inerentes às diferentes técnicas para determinação experimental da estrutura molecular, nos resta perguntar se

métodos teóricos, baseados em modelos matemáticos, recentes não são bons o suficiente para determinação da estrutura através de cálculos e assim, suplantar experimentos e dificuldades experimentais. A resposta a esta questão retorna ao início do século, mais precisamente durante existência de personalidades como de Broglie³⁷ e Schrödinger³⁸. Estes cientistas desbravaram um novo ramo da física oferecendo uma nova perspectiva para estudar o átomo; totalmente inovadora e avassaladora dos conceitos dominantes, encontraram, por isso, grande resistência por parte dos físicos da época, mas seus conceitos acabaram sendo incorporados também pelo mundo da mecânica clássica.

Na área da química, as conseqüências do fenômeno quântico não foram muito diferentes das provocadas em outras áreas de conhecimento. O conceito operacional de estudar um subsistema atômico dentro de um sistema molecular e a possível descrição de suas propriedades e características particulares *“faz da química, a física do átomo em uma molécula que generaliza conceitos mecânicos moleculares e mecânicos quânticos destes subsistemas atômicos ao sistema molecular”*. Porém, inseparável da definição matemática do átomo dentro de uma molécula, está a definição das ligações que unem os átomos para produzir a estrutura molecular e essa definição matemática torna-se mais e mais complexa quando o número de átomos que compõem a molécula aumenta, tornando a resolução das equações usadas para definir o sistema inatingível, tanto por sua dimensionalidade quanto pela velocidade de operacionalização dos cálculos necessários a sua solução. Assim, para aplicar o método, seja ele quântico ou clássico, três condições tornam-se básicas:

I^o) Aproximações específicas devem ser feitas particularizando e criando diferentes abordagens para o sistema em questão.

II^o) A acessibilidade do método empregado deve ser tal que este possa competir com os métodos experimentais disponíveis.

III^o) A implementação da velocidade de processamento dos cálculos deve ser proporcional à complexidade do sistema estudado.

As duas primeiras restrições têm sido atacadas veementemente por grupos de trabalhos de pesquisadores como Allinger, Pople, Dewar e Stewart que têm formulado “pacotes” de cálculos computacionais acessíveis a químicos interessados no estudo de problemas estruturais e mecânicos sem, contudo, precisarem decodificar a intrincada caixa preta das funções que descrevem os métodos de cálculos amparados pela mecânica clássica e pela mecânica quântica. A terceira das restrições tem sido racionalizada na mesma proporção que a revolução da informática tem maximizado a performance e minimizado o custo de microprocessadores capazes de operar dados à velocidades espantosas.

Além de fornecer parâmetros estruturais, cálculos computacionais permitem também a determinação de constantes e propriedades termodinâmicas, efeitos de substituição isotópica, constantes de velocidades e outros de extrema importância para estudos do mecanismo de uma reação e análise de processos de equilíbrio, principalmente aqueles considerados pela equação *Eyring*³⁹.

Cálculos teóricos vislumbram ainda a possibilidade da determinação destes parâmetros para compostos que ainda não foram sintetizados, que não podem existir sob condições reais e, até mesmo intermediários de reação, com tempo de meia vida de nanosegundos, podem ser estudados tão facilmente quanto os produtos estáveis de uma mesma reação. De qualquer modo, uma rápida revisão bibliográfica mostra que em algumas circunstâncias estes métodos teóricos de cálculos são exatos e

precisos o bastante para atribuição estrutural de compostos de interesse; porém, em outras, os métodos experimentais ainda não correm o risco de se tornarem obsoletos, apesar da rápida multiplicação de modelos computacionais *mecânico-moleculares* e *mecânico-quânticos*, sejam eles *semi-empíricos* ou *ab-initio*.

1.3.1 - MÉTODOS MECÂNICOS MOLECULARES

A sistemática mecânico-molecular para a determinação da estrutura, energia e parâmetros termodinâmicos para uma molécula, é constituída de uma série de equações matemáticas que a consideram como uma coleção de átomos unidos entre si por forças elásticas ou harmônicas; por ser descrita pelas equações clássicas do movimento, a mecânica molecular é conhecida também como método clássico. O somatório destas forças constituirá o *campo de força*⁴⁰ sob o qual a molécula será analisada impondo restrições ao sistema objeto de estudo, de forma que a energia de sua conformação mais estável possa ser encontrada.

Essa energia, denominada *energia de repulsão estérica* ou *energia de tensão estérica* (E_{rep}), representa a contribuição dos comprimentos de ligações ($E_{ligação}$), vibrações angulares ($E_{angular}$), vibrações torcionais ($E_{torcional}$), interações não ligantes ($E_{não\ ligante}$) e outras interações como repulsões Coulombica e/ou ligações de hidrogênio que podem ser adicionadas para compor o campo de força, equação 02.

$$E_{rep} = E_{ligação} + E_{angular} + E_{torcional} + E_{não\ ligante} \quad (02)$$

Cada termo da expressão acima tem um valor mínimo e é encontrado por métodos numéricos tal como a determinação do gradiente no qual as coordenadas atômicas são alteradas e a energia calculada repetidamente até que a menor energia de repulsão estérica dispersa pela estrutura seja encontrada.

No primeiro termo, a lei de Hooke é usada para representar a energia necessária para estirar, ou comprimir, uma ligação a partir de seu valor padrão e é representada pelo somatório da deformação de todas as ligações na molécula, equação 03.

$$E_{lig.} = \sum_{i=1}^{N_{lig.}} k_i (l_i - l_i^0)^2 \quad (03)$$

onde $N_{lig.}$ é o número de ligações na molécula, k_i é a constante de proporcionalidade e depende do tipo de ligação e da identidade do átomo, l_i é o comprimento da ligação i e l_i^0 seu comprimento padrão (também dependente do tipo de ligação e da natureza do átomo).

A contribuição da tensão angular para a energia de repulsão estérica dentro da molécula, é obtida pelo somatório de todas as deformações angulares as quais o sistema esta sujeito e é expressa também pela lei de Hooke, equação 04.

$$E_{angular} = \sum_{i < j}^{N_{angular}} k_{ij} (\theta_{ij} - \theta_{ij}^0)^2 \quad (04)$$

$N_{angular}$ são todos os ângulos entre as ligações ij presentes na molécula, k_{ij} é a constante de proporcionalidade para átomos de diferentes

identidades e as diferentes ligações consideradas, θ_{ij} é o ângulo entre as ligações i e j e θ_{ij}^0 é o ângulo padrão de ligação entre as ligações i e j .

A quantidade de energia necessária para deformar um ângulo de ligação é menor que a energia necessária para estirar uma ligação, assim a constante de força para a equação 2 é menor que aquela da equação 3 por, pelo menos, uma ordem de magnitude e, então, a estrutura de uma molécula em seu estado de menor energia terá maior tensão angular que ligações tencionadas.

O tratamento independente para os termos, como comprimento de ligação e ângulo de ligação, despreza a correlação intrínseca entre estes parâmetros da conformação molecular. Quando o ângulo de ligação sofre alguma variação, o comprimento das duas ligações a ele associadas também mudam. Esta fonte de tensão é observada nos cálculos de energia, principalmente nos átomos que mantêm uma relação 1,3 (um átomo comum ligado a dois outros átomos) devido às suas interações espaciais.

O termo da energia torcional representa a energia necessária para a rotação ao redor de simples ligações. Este tipo de interação envolve três ligações e quatro átomos, Figura 05.

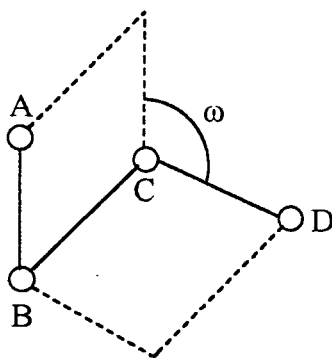


Figura 05: Representação esquemática do ângulo diedro definido por quatro átomos ligados consecutivamente.

A forma mais amplamente usada para representar a energia torcional tem sido a série de Fourier, Equação 05:

$$E_{\text{torcional}} = \sum V_1(1 + \cos \omega) + V_2(1 - \cos 2\omega) + V_3(1 + \cos 3\omega) \quad (05)$$

Esta função tem um máximo local em 0° e em 120° , e um mínimo local em 60° e 180° , o qual modela os valores de barreira rotacional para os alcenos. As constantes V_1 , V_2 e V_3 são escolhidas de maneira que o campo de força reproduza conformações conhecidas para moléculas simples. Geralmente, é necessário menos energia para distorcer um ângulo diedro de seu valor padrão do que estirar ou deformar um ângulo de ligação; assim, no estudo de moléculas muito grandes (como polipeptídeos) é comum manter os comprimentos e ângulos de ligação constantes e variar apenas os ângulos diedros que definem a espinha dorsal da cadeia lateral.

Quando a distância entre dois átomos varia, uma determinada energia potencial é gerada. Se os átomos aproximam-se uns dos outros, uma força de atração devido às forças de dispersão de London atua sobre eles. Se eles aproximam-se mais ainda, forças de repulsão de van der Waals aparecem. Duas funções que descrevem este fenômeno são a função potencial 12-6 de Lennard-Jones e a exponencial-6 de Buckingham, equação 06.

$$V_{LJ} = \varepsilon \cdot \left[\left(\frac{R_0}{R} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_0}{R} \right)^6 \right] \quad \text{e} \quad V_B = \frac{\varepsilon}{1 - 6/\alpha} \left[\frac{6}{\alpha} \exp \left[\alpha \left(1 - \frac{R}{R_0} \right) \right] - \left(\frac{R_0}{R} \right)^6 \right] \quad (06)$$

ε representa a profundidade do poço de energia potencial, R a distância na qual a função potencial é minimizada e α a profundidade da parte repulsiva da interação.

Uma função potencial é calculada para pares de átomos na molécula, exceto para aqueles ligados entre si ou aqueles ligados a um terceiro átomo em comum. Os valores dos parâmetros incorporados nas interações não ligantes são derivados de observações experimentais em cristais mostrando que a parametrização do método mecânico molecular é extremamente dependente dos dados estruturais experimentais coletados durante anos e a escolha destes deve ser feita criteriosamente, pois a confiabilidade do método não pode ser melhor que os dados usados na sua parametrização.

A principal vantagem do método é a velocidade de cálculo; moléculas grandes podem ser totalmente otimizadas. Além disso a mecânica molecular é conceitualmente mais fácil de ser entendida quando comparada aos conceitos envolvidos nos modelos mecânicos quânticos. A energia do sistema é decomposta em termos como estiramento de ligações, deformações angulares e interações não ligantes os quais são mais compreensíveis que os elementos da matriz Fock, eigenvalues e eigenvectors. Conseqüentemente o químico de bancada está mais propenso a usar o método devido sua simplicidade.

1.3.2 - MÉTODOS MECÂNICO-QUÂNTICOS

A química quântica, empenhada em descrever os sistemas moleculares até agora analisados apenas experimentalmente e predizer relações de estrutura-atividade-reatividade, está fundamentada na avaliação da equação de Schrödinger, equação 07:

$$H\Psi = E\Psi \quad (07)$$

o termo H descreve as partículas que compõe o sistema, o termo E a energia total do mesmo e a função de onda Ψ representa tudo o que se deseja saber sobre o sistema representado por H .

Ao longo de sua evolução, a química quântica desenvolveu duas sistemáticas para abordar o problema da descrição matemática de modelos moleculares. A primeira, representada pelos métodos *ab-initio* de cálculos, está empenhada na resolução da equação de Schrödinger minimizando, tanto quanto possível, o uso de aproximações indispensáveis a sua solução - por isso, é limitada à moléculas relativamente pequenas; e a segunda substituindo determinadas integrais (impostas pela equação de Schrödinger) por parâmetros experimentais que reduzem os erros decorrentes das aproximações feitas na primeira, bem como o tempo necessário para a obtenção de resultados, é portanto aplicável, de forma mais ampla, a moléculas maiores.

1.3.2.1 - MÉTODOS *ab-initio*

O modo mais direto, em princípio, para a determinação da estrutura molecular a partir do modelo mecânico quântico seria a resolução da equação de Schrödinger. Sabe-se porém, que isso é possível apenas para a molécula de hidrogênio e que em sistemas mais complexos uma série de aproximações são necessárias. Considerando o elétron explicitamente, ao contrário da mecânica molecular, o ponto central da questão está em determinar um conjunto de orbitais moleculares que possam ser ocupados pelos elétrons atribuídos à molécula fornecendo-lhe a menor energia possível. Estes orbitais moleculares são construídos a partir da combinação linear de

orbitais atômicos, equação 08, que são função das coordenadas x , y e z dos elétrons.

$$\Psi = \sum_{\mu} C_{\mu} \phi_{\mu} \quad (08)$$

Na construção dos orbitais moleculares o uso da aproximação de Born-Oppenheimer é indispensável para que o sistema possa ser matematicamente tratável. Nesta os núcleos permanecem fixos durante o movimento eletrônico, ou seja, a função de onda não é afetada pelo movimento nuclear. Além disso, as interações intereletrônicas são desprezadas permitindo expressar H como a soma de Hamiltonianos monoelétrônicos que substitui a função de onda polieletrônica da molécula para que o determinante secular, equação 09, possa ser avaliado.

$$|H - ES| = 0 \quad (09)$$

A maioria dos cálculos *ab-initio* atuais empregam *Orbitais do Tipo Gaussiano (GTO - Gaussian Type Orbital)* como base. Nesta base cada orbital atômico é construído sobre um conjunto de funções Gaussianas de Probabilidade e as bases mais simples disponíveis para os cálculos são as do tipo STO- n G, das quais a mais popular é a STO-3G. A abreviação STO- n G significa que uma base de *Orbitais do Tipo Slater* com n funções Gaussianas cada (*STO - Slater Type Orbital*) foi usada para os cálculos.

Um dos problemas iniciais do uso de um conjunto de base mínima para este tipo de cálculo é sua incapacidade de contrair ou expandir orbitais de modo a ajustar o ambiente molecular, Figura 06.

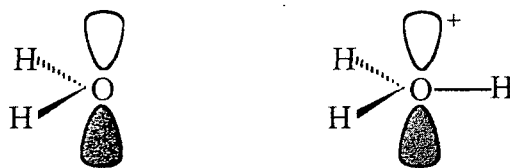


Figura 06: Representação dos orbitais p para a molécula de água e para o íon hidrônio de acordo com o método *ab-initio*.

Exemplificando, no caso da molécula de água o orbital p do átomo de oxigênio é descrito perpendicularmente ao plano da molécula sendo duplamente ocupado, seus elétrons são atraídos por um total de dez cargas nucleares, oito do oxigênio e uma de cada hidrogênio, e repelidos por outros oitos elétrons. Já para o hidrônio, H_3O^+ , o conjunto de base mínimo empregado pelo método produz exatamente os mesmos resultados, apesar dos dois elétrons do orbital p serem agora atraídos por onze cargas nucleares e repelidos por apenas oito elétrons. É claro que esta restrição levanta suspeitas na comparação entre espécies neutras e carregadas.

Entre outras sérias limitações do método podemos enumerar as seguintes:

I) Os átomos são descritos por uma função de onda representando uma série infinita de termos cuja solução é restrita a um número manipulável de variáveis (chamada *base do sistema* e está associada a cada átomo individualmente) para que os cálculos possam ser executados, essa limitação insere naturalmente erros de natureza consideráveis no sistema.

II) O método *ab-initio* otimiza estrutura e minimiza energia por um processo de *campo auto consistente*, ou seja, embora o elétron tenha movimento fortemente correlacionado dentro da molécula este é deixado mover-se apenas no campo médio dos elétrons remanescentes. Se o movimento correlacionado fosse considerado, dois elétrons em um orbital p passariam 50% de seu tempo em determinado lobo e os outros 50% no lobo oposto do orbital diminuindo a energia de repulsão entre os elétrons. Pelo método do campo auto consistente os dois elétrons passariam 25% num dos lobos, 25% no lobo oposto e 50% de seu tempo em lobos diferentes.

III) Os parâmetros determinados pelo método *ab-initio* pertencem a um sistema estático, enquanto numa molécula todos os seus átomos têm movimento vibracional que, por sua vez, tem efeito sobre a energia da molécula mesmo à 0K (*energia do ponto zero*). A temperaturas mais altas, níveis de energia mais altos tornam-se mais populados e a energia total do sistema tende a aumentar. Como as vibrações moleculares são em geral anarmônicas, comprimentos de ligação e outros parâmetros não correspondem exatamente aos valores obtidos pelo método *ab-initio*.

IV) Talvez o maior problema prático do método diga respeito ao tempo computacional necessário à minimização de energia e parâmetros geométricos o qual aumenta na ordem de n^4 , onde n representa o número de orbitais da molécula, tornando evidente a

necessidade de novas formas de abordagem do problema para a determinação teórica da estrutura molecular de forma mais direta.

1.3.2.2 - MÉTODOS SEMI-EMPÍRICOS

O tratamento semi-empírico é, sem dúvida, o método de investigação estrutural mais popular existente dentro dos limites da química quântica, o que ocorre devido à implementação da velocidade de cálculo obtida durante seu desenvolvimento (o tempo necessário à obtenção de resultados é proporcional a N , onde N representa o número de átomos da molécula). Este tipo de cálculo usa as mesmas aproximações descritas para os métodos *ab-initio* considerando as repulsões eletrostáticas e a “estabilização por auto-troca” pelo método de campo autoconsistente. O que o diferencia dos modelos de solução mais “rigorosa” da função de onda para os orbitais moleculares é o fato deste usar um conjunto de base restrita de um orbital s e três orbitais p (p_x , p_y e p_z) por átomo e ignorar as integrais de sobreposição, resolvendo a equação 10 no lugar da equação 09.

$$|H - E| = 0 \quad (10)$$

A implementação do método teve como objetivo desenvolver um modelo de tratamento das propriedades moleculares que seja preciso, disponível e barato o suficiente para ter valor prático na química. Tal objetivo tem sido buscado pelos grupos de pesquisa de J. A. Pople e Michael J. S. Dewar através da abordagem paramétrica das versões semi-empíricas do método de Roothaan-Hall^{41, 42}.

As primeiras simplificações do método de Roothaan-Hall surgiram com Pople que desenvolveu uma sistemática de tratamento baseada na negligência completa das diferenciais de sobreposição **CNDO**⁴³ (*Complete Neglect of Differential Overlap*); neste os orbitais atômicos são considerados simetricamente esféricos e as integrais de repulsão entre qualquer orbital atômico ϕ_μ de um átomo A e qualquer orbital atômico ϕ_ν do átomo B são consideradas iguais, independentemente da natureza dos orbitais ϕ_μ e ϕ_ν . A direcionalidade dos orbitais *p* foi considerada através das integrais de ressonância monoelétrônicas.

Num estágio imediatamente posterior, os cálculos passaram a incluir as integrais de repulsão monocêntricas entre os orbitais atômicos de um mesmo átomo e também as integrais de ressonância monoelétrônicas num modelo chamado de negligência intermediária das diferenciais de sobreposição, **INDO**⁴⁴ (*Intermediate Neglect of Differential Overlap*); corrigindo então alguns dos problemas do **CNDO** sem muito custo computacional. Já no método de negligência das diferenciais de sobreposição diatômicas **NDDO**⁴⁵ (*Neglect of Diatomic Differential Overlap*) um certo número de integrais bicêntricas são consideradas as quais envolvem as diferenciais monocêntricas de sobreposição que são desprezadas nos métodos **CNDO** e **INDO**. Para um par de átomos diferentes existem vinte e duas integrais bicêntricas a serem avaliadas no lugar daquela única abordada pelos modelos mais simples.

O modelo adotado para o desenvolvimento da sistemática **CNDO** para cálculos de propriedades estruturais deu origem ao método da negligência modificada da sobreposição diatômica **MNDO**⁴⁶ onde as 22 integrais de repulsão são avaliadas em termos de funções de repulsão totalmente empíricas que comparam propriedades calculadas com aquelas observadas para um

conjunto base de moléculas. A parametrização é normalmente derivada pelo método de Oleari⁴⁷. No modelo MNDO o erro absoluto médio encontrado para a maioria das propriedades moleculares do estado fundamental⁴⁸ mostrou-se inferior aos apresentados pelos métodos anteriormente desenvolvidos por Pople e o tempo de cálculo é em média mil vezes inferior aquele necessário para os mesmos resultados obtidos a partir de métodos *ab-initio*. Tais características difundiram o modelo de modo que, apenas no Chemical Abstract foram feitas, desde a década de oitenta, 623 citações ressaltando o uso de cálculos MNDO. Mas, embora o método corrija uma das maiores falhas de seus antecessores (moléculas contendo heteroátomos), desvios na determinação da energia para moléculas estericamente impedidas, desvios para moléculas contendo anéis de quatro membro e a reprodução de ligações de hidrogênio são suas principais deficiências. Estes erros no MNDO surgem em função da tendência que ele tem para superestimar a repulsão entre os átomos quando a distância entre eles aumenta a partir de seus raios de van de Waals.

Um novo tratamento molecular mecânico quântico baseado em aproximações paramétricas denominado Modelo de Austin 1, ou AM1⁴⁹ (*Austin Model 1*) como é mais conhecido, surgiu para solucionar estes problemas. Neste caso, modificações nas funções de repulsão do “caroço” minimizam os problemas do método anterior pelo uso de integrais Gaussianas de atração que são adicionadas e parametrizadas num processo de tentativa e erro até que haja concordância entre o valor encontrado pelo método e o valor experimental. Um conjunto de bases muito maior pode ser usado, permitindo que parâmetros para átomos de hidrogênio, carbono, oxigênio e nitrogênio fossem otimizados de uma única vez.

Ao mesmo tempo que apresenta o método, Dewar determina os calores de formação para moléculas neutras, cátions, radicais, ânions além de

momentos de dipolos, barreiras rotacionais, geometrias moleculares e ligações de hidrogênio comparando-os com os valores encontrados pelo método MNDO e determinando, assim, a superioridade do novo modelo. Desde então, o método AM1 tem sido amplamente usado para cálculos sobre um grande número de compostos de natureza distinta, com finalidade que variam desde a determinação da geometria molecular com menor energia até a determinação do mecanismo reação envolvendo estes compostos.

Exemplificando seu emprego em compostos naftalênicos, objeto de estudos neste trabalho, Foces⁵⁰ estuda a relação entre a estrutura-basicidade de compostos denominados “esponjas de próton”, por apresentarem baixo caráter nucleofílico e basicidade não usual, numa revisão onde dezesseis citações adicionais são feitas a diaminos naftalenos. A determinação estrutural teórica, a exemplo da experimental, revela que o anel naftalênico é desviado da planaridade na molécula neutra e é planar na molécula monoprotonada refletindo a importância da repulsão entre pares não compartilhados e/ou estérica entre grupamentos volumosos. Posteriormente Foces⁵¹ descreve o uso de cálculos AM1, PM3 e SAM1 aplicado a oito 1,8-diaminonaftalenos, também esponjas de prótons, para obter uma correlação entre o pK_a e as entalpias de protonação dos mesmos e concluindo que o método poderia ser aplicado para prever as propriedades de qualquer superbases antes de sua síntese.

George P. Ford⁵² analisa a estabilidade relativa de diversos o-bisdihidro derivados de treze hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e conclui que esta depende da ordem de ligação $C\equiv C$ original e do efeito do alívio da tensão estérica do respectivo areno.

Christer B. Aakeröy⁵³ compara a entalpia de formação de vinte e sete ácidos carboxílicos calculadas pelos métodos MNDO, AM1 e PM3 com

as respectivas entalpias de formação determinada experimentalmente. Num gráfico descrito pela equação $(\Delta H_f)_{\text{calc}} = A.(\Delta H_f)_{\text{exp}} + B$, o autor observa os seguintes coeficientes de correlação 0,952; 0,971 e 0,987 com os respectivos desvios padrões de 33; 26 e 17; e erros absoluto de 6 %; 3.97 % e 2.96 %, respectivamente. Conclui, então, que os ΔH_f calculados pelo método PM3 para ácidos carboxílicos são mais exatos e mostra a eficácia do modelo PM3 para carboxilatos.

O Modelo Paramétrico 3, PM3⁵⁴ (*Parametric Model 3*), foi desenvolvido em 1989 através de uma reparametrização mais completa do modelo AM1 também, como visto acima, tem sido amplamente utilizado na abordagem do estudo estrutura-atividade-reatividade e verifica-se na literatura alguma polêmica sobre o mérito relativo a ele e ao AM1⁵⁵. Porém, por razões a serem descritas no Capítulo III, o presente trabalho opta pelo método AM1 implementado no programa MOPAC 6.0⁵⁶.

1.4 - JUSTIFICATIVAS

A grande diferença de velocidade entre reações enzimáticas e não enzimáticas ($10^{10} - 10^{14}$)⁵⁷ é, na maioria dos casos, um fator de dimensionamento para a relevância da compreensão do mecanismo pelo qual atua uma enzima. Esta importância é na verdade muito maior, pois além de ser de interesse biológico, o estudo mecanísticos de modelos enzimáticos permite um melhor entendimento da própria catálise em solução aquosa.

Por outro lado, a definição da estrutura do complexo enzima-substrato, a especificidade das reações intermediadas por enzimas, a natureza da constante de velocidade para as diversas etapas da reação efetuada por essas biomoléculas e a explicação para a magnitude da constante de velocidade estão condicionadas a explicação do modo pelo qual as enzimas catalisam as reações das quais participam. Mesmo com os esforços até agora realizados e a identificação dos inúmeros fatores responsáveis pela estupenda catálise enzimática, a maioria destes, não é completamente entendido.

O grande número de variáveis impostas pela complexidade das enzimas deram, a partir de meados deste século, um impulso muito grande às pesquisas mecanísticas de reações modelos que tentam simular a ligação no complexo enzima-substrato e as transformações químicas ocorridas no sítio ativo das enzimas. Tais modelos só puderam ser propostos e estudados a partir de informações sobre natureza da composição do sítio ativo da enzima obtidas com o advento de técnicas de cristalografia de raio-X.

Não sendo muito sofisticadas, reações modelos tornam possível o entendimento do processo químico desencadeado durante a ação enzimática. Pesquisas sobre a hidrólise intramolecular de acetais, por exemplo, hoje podem ser associadas ao mecanismo de ação da lisozima⁵⁸. Usando palavras

de Thomas H. Fife : “um modelo é talvez o método com maior chance de sucesso, na tentativa empreendida pelo cientista, para compreender as reações complexas que envolvem enzimas - tais como lisozima e carboxipeptidase - para as quais o substrato natural não é disponível para um estudo cinético detalhado.”

Além de fornecer uma explicação mecanística razoável, uma reação modelo cuidadosamente elaborada deve ser capaz de explicar quantitativamente a magnitude da velocidade de reação observada para uma reação enzimática. Então, um modelo oferece a oportunidade para a observação pormenorizada de uma série de fatores individuais e relevantes ao processo catalítico desencadeado por essas macromoléculas biológicas. Observando-se esses mesmos modelos, informações sobre a catálise em solução aquosa também são obtidas, o que evidencia a importância primária do trabalho independente de qualquer relação entre o modelo e a reação enzimática, ou seja, a importância científica deste trabalho é oriunda da possível melhora de nossos conhecimentos sobre as leis que governam a catálise - esteja ele associado ou não diretamente a um sistema enzimático.

1.5 - OBJETIVOS

O estudo de reações de hidrólise de amidas esteve, na maioria dos casos, associado a uma possível compreensão do mesmo processo associado às ligações peptídicas existentes em moléculas essenciais a vida. Tal argumentação é freqüentemente usada para ressaltar a importância deste estudo e fez multiplicar consideravelmente o número de publicações a respeito do assunto; que ganhou novo impulso com a perspectiva de se quantificar, a partir do fenômeno da intramolecularidade, cada um dos elementos que determinantes da velocidade das reações enzimáticas.

M. Bender, um dos pioneiros nesta área, descreve a reação de hidrólise do ácido ftalâmico em solução aquosa por um mecanismo no qual a velocidade da reação, entre pH 1,5 e 5,0, é dependente da forma não dissociada do ácido e independente da concentração de íons hidrônios presentes no meio⁵⁹. A decomposição da amida derivada do ácido ftálico ocorre através de uma transferência interna de próton do grupo carboxílico não dissociado, em um lado da molécula, para o grupo amida, no outro. O anidrido ftálico formado é detectado como intermediário e a alta velocidade para a reação de hidrólise, comparada à hidrólise da benzamida, é associada a proximidade dos grupos reacionais⁶⁰.

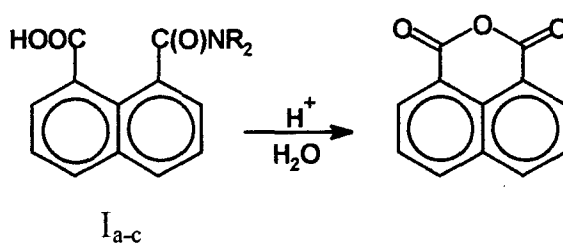
Kirby, estudando a hidrólise intramolecular de uma série de ácidos N-metilmaleâmicos substituídos, conclui que a reação de hidrólise da amida ocorre com a participação do grupo carboxi e é extremamente sensível ao modelo de substituição sobre a dupla ligação carbono-carbono. De modo geral, o aumento do volume do grupo substituinte sobre o carbono insaturado produz um aumento na velocidade de até dez potência de dez e a molaridade efetiva correspondente ao grupo carboxi é da ordem de 10^{10} . O mecanismo

proposto para a reação descreve o ataque do oxigênio carbonílico ao grupamento amídico com concomitante transferência interna de próton como sendo a etapa determinante da velocidade. Estruturalmente os resultados são analisados sob a ótica da teoria da proximidade e do direcionamento de orbitais⁶¹. Quando o substituinte sobre os carbonos da dupla ligação carbono-carbono é isopropil ou t-butil, catálise ácida geral é observada a uma velocidade correspondente aquela dos processos controlados por difusão. A mudança da etapa determinante da velocidade em altas concentrações de ácido sugere a existência de um intermediário de adição tetraédrico no caminho de reação que, baseado em evidências cinéticas, é reconhecido como sendo aquele formado a partir da O-protonação da amida, numa transferência de próton controlada por difusão e limitante da velocidade da reação de hidrólise⁶².

Recentemente, T. C. Barros⁶³, estudando as reações de hidrólise em meio ácido da N-butilamida derivada do anidrido 1,8-naftálico, observa que a reação ocorre com a formação do respectivo anidrido. A análise do perfil de pH para a reação demonstra que, em pH próximo a 3,50, a velocidade de decomposição da amida depende da concentração da forma não dissociada do ácido carboxílico presente. Em valores de H_0 próximos a -2,0 a reação torna-se mais rápida em função do aumento da concentração da amida em sua forma N-protonada. O mecanismo proposto aponta para um ataque nucleofílico intramolecular do grupamento "OH" do ácido carboxílico não dissociado ao mesmo tempo em que moléculas de água assistem o processo de remoção do próton hidroxílico, o que favoreceria ataque sobre o carbono carbonílico, e a protonação do nitrogênio da amida, tornando-o mais positivo e favorecendo a saída da amina livre. A ausência efeitos sobre a velocidade com

a variação da força iônica do meio, respalda um mecanismo concertado para a reação de hidrólise intramolecular.

Neste trabalho a hidrólise intramolecular de derivados do ácido *N,N*-dialquilnaftalâmico, (I_{a-c}), é estudada como modelo não mimético de peptidases, Esquema 04.



R= Metil (I_a), Etil (I_b) e n-Propil (I_c)

Esquema 04

A exemplo de trabalhos descritos na literatura, métodos espectroscópicos permitem, paralelamente a determinação da constante de velocidade para a hidrólise intramolecular em função do pH, determinar a espécie nucleofílica que participa do processo de hidrólise e comparar a reatividade do sistema objeto de estudo com a de outros já descritos.

Cálculos computacionais para a determinação da estrutura tridimensional de menor energia de I_{a-c} ajudarão a estabelecer uma analogia entre estrutura e reatividade como função da distância e/ou direcionalidade dos grupos reacionais, tensão angular e/ou tensão torcional do sistema, abordando-o à luz de uma das teorias acima citadas e oferecendo a perspectiva para extrapolar os resultados sob o prisma das reações enzimáticas.

CAPÍTULO II

2 - PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - REAGENTES

O anidrido 1,8-naftálico (Merck), foi purificado por técnica de sublimação para uso nas reações de síntese e na preparação das soluções estoques para estudos cinéticos.

Antes de serem usadas a N,N-dietilamina (Sigma; p.e.= 56,5 °C; lit⁶⁴= 56,3 °C) e a N,N-dipropilamina (Sigma; p.e.= 110,0 °C; lit⁶⁴= 109,4 °C), foram destiladas em uma coluna capilar Ace Glass com 62 pratos teóricos. Já a N,N-dimetilamina (Aldrich; 45% em solução aquosa), foi empregada sem tratamento prévio.

Como solvente, foi usado Acetonitrila (Merck, p.a.) sem que nenhum procedimento de purificação fosse adotado para as reações de síntese e para o preparo das soluções estoques dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos.

As soluções cuja função de acidez (H_0) tinham valores entre -2,00 e -0,40 foram preparadas usando-se HCl 1,5M a 5,00.

No preparo das soluções tampões entre pH 0 e 1, usou-se ácido clorídrico (Merck, p.a.); entre pH 1,25 e 3,50, ácido cloroacético; entre 3,75 e 4,75 ácido acético (Merck, p.a.); e entre 5,00 e 6,00, ácido succínico (Sigma, p.a.). Estes tampões foram preparados a partir dos respectivos reagentes sem purificação adicional, tinham concentração de 0,1M e seus pH_s foram ajustados usando-se NaOH ou HCl conforme necessário.

2.2 - INSTRUMENTAÇÃO

Os espectros de UV-Visível foram obtidos em um espectrofotômetro Hewlett-Packard com arranjo de diodo modelo HP 8452A, utilizando-se celas de quartzo de 3 ml de capacidade e 1 cm de caminho ótico.

Em um espectrofotômetro Hewlett-Packard, com arranjo de diodo, modelo HP 8452A, determinou-se as constantes de velocidade para as reações de hidrólise dos respectivos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos.

Um equipamento FTIR BOMEM foi usado para obtenção de espectros de IV em pastilhas de KBr.

As absorções de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados em um aparelho Bruker AW-200, tendo como referência interna o tetrametilsilano e clorofórmio deuterado como solvente.

Uma coluna capilar de destilação Ace Glass com 62 pratos teóricos foi usada para a purificação da N,N-dietilamina e N,N-dipropilamina.

A temperatura das soluções tampões foram mantidas no valor desejado por um banho termostaticado Microquímica modelo MQBTZ 99-20.

Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho de chapa quente tipo Fisher-Johns modelo APF 301 da Microquímica.

Na determinação do pH das soluções tampões foi usado um pHmetro Beckman $\Phi 71$ equipado com um eletrodo combinado marca Corning.

Os Cálculos mecânicos moleculares e mecânicos quânticos foram desenvolvidos em um microcomputador PC pentium de 90 Mhz. O primeiro usou o programa Pmodel para Windows- versão 5.1, licença nº 42921445A, compilado para ambiente DOS e o segundo o programa MOPAC versão 6.0, compilado para ambiente LINUX.

2.3 - SÍNTESE DOS ÁCIDOS N,N-DIALQUILNAFTALÂMICOS, I_(a-c)

Os ácidos N,N-dietil e N,N-dipropilnaftalâmicos foram preparados na forma de seus respectivos sais de N,N-dialquilamônio deixando-se reagir uma suspensão de 1,0g do anidrido 1,8-naftálico (Merck) com 50ml da correspondente amina (Sigma). A suspensão foi mantida a - 5 °C por dez horas e depois deixada pernoitar à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o filtrado lavado várias vezes a frio com tetracloreto de carbono, seco a vácuo por dezesseis horas para produzir 60% do sal de amônio do respectivo ácido N,N-dialquilnaftalâmico que sofre decomposição a temperaturas superiores a 180 °C.

I_b e I_c foram caracterizados por seus espectros de UV-Visível, IV, RMN.

No caso do sal de dimetilamônio do ácido N,N-dimetilnaftalâmico (I_a) 1,0g do anidrido 1,8-naftálico e 50ml de uma solução aquosa (45%) da N,N-dimetilamina foram mantidos nas mesmas condições descritas para a síntese dos sais de amônio dos ácidos acima citados. Em seguida, a mistura reacional foi destilada sob pressão reduzida e a temperatura ambiente com o intuito de remover a água do meio. Removida a água o composto sólido foi dissolvido em acetonitrila e tratado com carvão ativo, filtrado, o solvente removido á vácuo e o composto seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas.

O sal de dimetilamônio do ácido N,N-dimetilnaftalâmico é extremamente higroscópico e pouco estável o que inviabilizou sua análise e caracterização.

2.4 - ESTUDOS CINÉTICOS

As cinéticas das reações de hidrólise dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos foram efetuadas sob condições de primeira ordem, adicionando-se 10µl de uma solução estoque 10^{-2} M do respectivo ácido, I_{b,c}, a 3ml de uma solução tampão (0,1M) de pH desejado, em uma cubeta termostatzada ($35,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$) e seguindo-se o aparecimento do anidrido 1,8-naftálico a 340nm.

No caso do ácido N,N-dimetilnaftalâmico, I_a, as cinéticas da reação de hidrólise intramolecular foram estudadas a partir do composto preparado *in situ* pela reação de um equivalente molar do anidrido e dois equivalentes molares da N,N-dimetilamina (solução aquosa 45%) em acetonitrila; obtendo-se assim, uma solução estoque na qual a concentração final do produto era de 10^{-2} M.

Todas as cinéticas foram acompanhadas por , no mínimo, 4 a 5 tempos de meia vida. Em cada corrida cinética, 250 leituras de absorvância, em média, foram adquiridas e processadas por um programa HP 8452A, que forneceu constantes de velocidade com desvios padrões 10^{-3} vezes menores que as constantes de velocidade calculadas; sendo que cada constante de velocidade representa a média de três experimentos.

2.5 - CÁLCULOS COMPUTACIONAIS

A análise inicial do problema estrutura-reatividade envolveu cálculos mecânico-moleculares e mecânico-quânticos usando os programa PcModel para windows, versão 5.1 e MOPAC versão 6.0 ao nível AM1. O

primeiro foi usado como recurso inicial de minimização das estruturas estudadas e como gerador das matrizes de entrada para os cálculos semi-empíricos.

De posse das matrizes de coordenadas internas, a otimização da geometria para os compostos I_{a-c} seguiu uma rotina padrão na qual o método de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (*BFGS*)⁶⁶ foi usado. O critério de precisão para o término dos cálculos foi incrementado pela palavra *PRECISE* e as minimizações obtidas sem imposição de restrições de simetria ao sistema.

Calculou-se o perfil de energia para a reação mapeando-se a superfície de energia potencial para a formação e decomposição do intermediário neutro formado durante o processo reacional. A partir das duas superfícies de energia potencial produzidas por este método, foram encontrados os estados de transição, usando-se a rotina *TS* e *NLLSQ*⁶⁷, quando necessário, para as duas etapas da reação: o ataque para a formação e a saída do grupo amina para a decomposição do intermediário neutro formado no decorrer da reação; em seguida usou-se as geometrias otimizadas dos estados de transição para os cálculos de *IRC*.

Nos casos em que os cálculos envolveram a determinação da geometria do estado de transição e determinação da coordenada intrínseca da reação (*IRC*), estas foram feitas apenas para o composto I_a por questões de operacionalização no processamento dos dados e redução do número de variáveis impostas ao sistema. Considerando-se apenas a diferença entre o número de átomos o composto I_c teria doze a mais.

CAPÍTULO III

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - CARACTERIZAÇÃO DOS SAIS DE N,N-DIALQUILAMÔNIO DOS ÁCIDOS N,N-DIALQUILNAFTALÂMICOS I_(a-c):

Os compostos I_{a-c} foram caracterizados por espectroscopia de UV-Visível, Figura 07, e apresentaram absorção máxima em 298 nm.

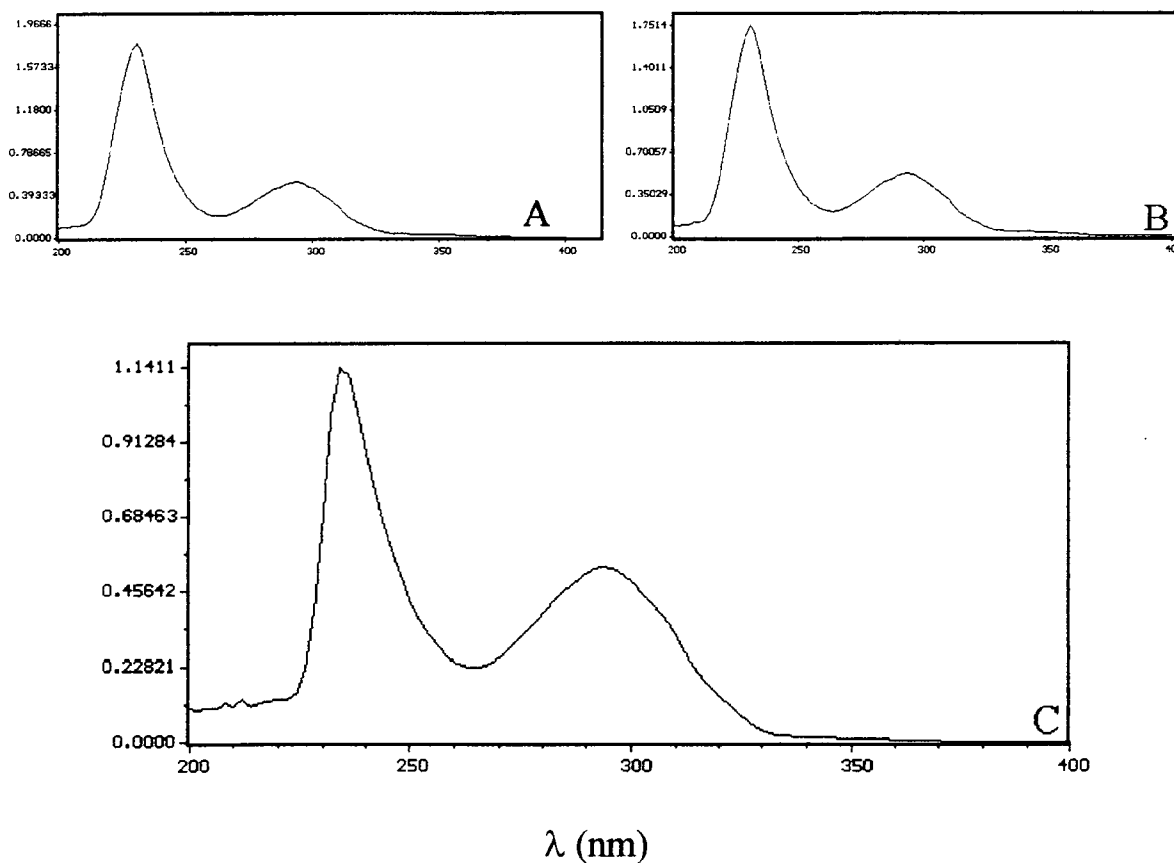


Figura 07: Espectro de Uv-Visível para o ácido N,N-dimetil (A), N,N-diethyl (B) e N,N-di-n-propilnaftalâmico (C).

Para I_b e I_c , os espectros de excitação eletrônica foram obtidos a partir da diluição de 20 μ l de uma solução estoque 10^{-2} M em 3 ml de acetonitrila, produzindo uma absorção média de 0.80 unidades de absorbância a 298 nm, correspondente a uma absorvitividade molar (ϵ) de 13.000. A higroscopicidade, a instabilidade e as dificuldades inerentes ao isolamento do composto I_a fizeram com que seus espectros de **UV-Visível, Infravermelho e RMN** pudessem ser obtidos somente a partir de sua preparação *in-situ*.

No estudo do espectro de **IV** do composto I_c , Figura 08, notam-se absorções que identificam os principais grupos funcionais presentes na molécula objeto de estudo e que foram interpretadas da seguinte forma: $\nu_{as(+NH_2)} = 3228-3132$; $\nu_{(C-H, Ar)} = 3052$; $\nu_{as(CH_3)} = 2962$; $\nu_{as(CH_2)} = 2937$; $\nu_s(CH_3) = 2875$; $\nu_{(N(C=O))} = 1641$; $\nu_{as(C(=O^-)_2)} = 1581$; $\delta_s(C=C) = 1554$; $\delta_s(CH_2) = 1464$; $\delta_{as(CH_3)} = 1440$; $\delta_s(CH_3) = 1390$; $\nu_{(C-N)} = 1050$ e $\delta_{(C-H, Ar)} = 775$ cm^{-1} . Com exceção das frequências vibracionais menos intensas na região de 2.970 a 2.830 cm^{-1} , característica dos grupos metílicos e metilênicos em compostos de cadeia alquílica menor, e de pequenos deslocamentos nas demais bandas de absorção, o espectro de **IV** para o composto I_b , Figura 09, tem a mesma forma daquele apresentado na Figura 08. Os estiramentos e deformações, axiais e angulares, receberam as seguintes atribuições: $\nu_{as(+NH_2)} = 3.222 - 3.147$ cm^{-1} ; $\nu_{(C-H, Ar)} = 3.052$; $\nu_{as(CH_3)} = 2.973$; $\nu_{as(CH_2)} = 2.937$; $\nu_s(CH_3) = 2.869$; $\nu_{as(CH_2)} = 2.838$; $\nu_{(N(C=O))} = 1.639$; $\nu_{as(C(=O^-)_2)} = 1.579$; $\delta_s(C=C) = 1.550$; $\delta_s(CH_2) = 1.460$; $\delta_{as(CH_3)} = 1.440$; $\delta_s(CH_3) = 1.392$; $\nu_{(C-N)} = 1.072$ e $\delta_{(C-H, Ar)} = 777$ cm^{-1} . Em ambos os casos a interpretação não pode ser feita inambigüamente, principalmente para as vibrações de deformação axial correspondentes à

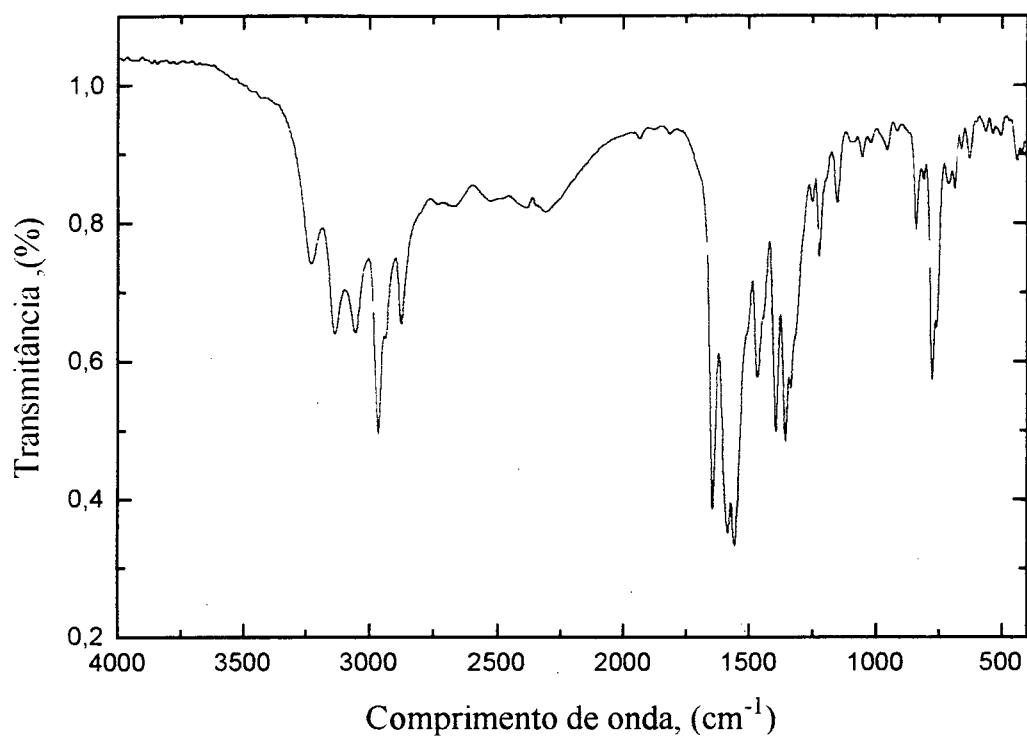


Figura 08: Espectro de infravermelho do sal de N,N-dipropilamônio do ácido N,N-di-n-propilnaftalâmico em pastilha se KBr.

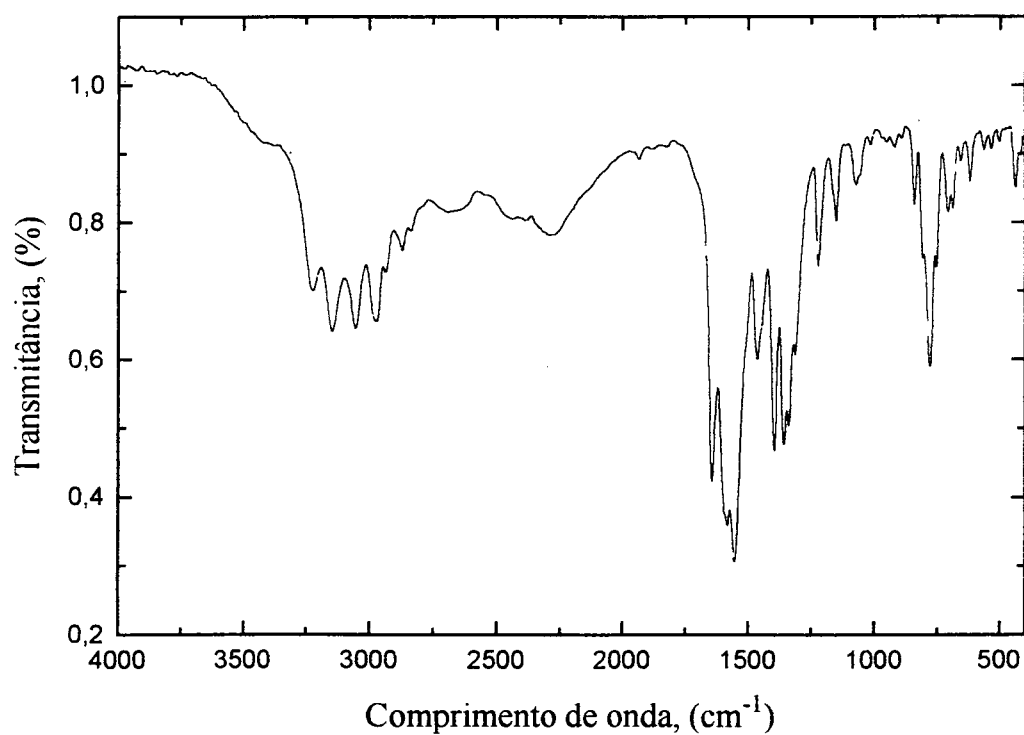


Figura 09: Espectro de infravermelho do sal N,N-dietilamônio do ácido N,Ndiethylnaftalâmico em pastilha de KBr.

carbonila do grupo amida, do grupo carboxilato e a vibração de deformação angular da ligação C=C do anel aromático que aparecem muito próximas e dentro de uma mesma região, gerando dificuldades na identificação de cada uma delas; contudo a presença destes grupamentos funcionais na molécula nos parece inquestionável.

A análise da multiplicidade dos sinais e da integração de área do RMN - ^1H para I_c , Figura 10, permite, numa primeira inspeção, a atribuição dos sinais assim discriminados: $\delta = 0,632$ (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{amida})$); $\delta = 0,754$ (t, 6H, $\text{CH}_3(\text{amônio})$); $\delta = 0,951$ (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{amida})$); $\delta = 1,552$ (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3(\text{amônio/amida})$); $\delta = 1,830$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3(\text{amida})$); $\delta = 2,600$ (m, 4H, CH_2^+NH_2); $\delta = 3,250$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-(NC=O)}$); $\delta = 3,610$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-(NC=O)}$); $\delta = 6,520$ (br s, 2H, NH_2^+); $\delta = 7,390$ (m, 3H, Ar) e $\delta = 7,830$ ppm (m, 3H, Ar).

Um experimento de COSY homo e outro heteronuclear, obtido a temperatura de 25°C , não apresentados, confirmam o modelo de acoplamento proposto. Por analogia, a observação do espectro de RMN - ^1H para o composto I_b , Figura 11, estabeleceu a identidade de seus picos de absorção: $\delta = 1,02$ (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{amida})$); $\delta = 1,07$ (t, 6H, $\text{CH}_3(\text{amônio})$); $\delta = 1,29$ (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{amida})$); $\delta = 2,68$ (q, 4H, $\text{CH}_2\text{-NH}_2^+$); $\delta = 3,21$ (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-(NC=O)}$); $\delta = 3,39$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-(NC=O)}$); $\delta = 3,65$ (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-(NC=O)}$); $\delta = 8,25$ (br s, 2H, NH_2^+); $\delta = 7,40$ (m, 3H, Ar) e $\delta = 7,80$ ppm (m, 3H, Ar).

Dentre os fenômenos característicos destes espectros observa-se o desdobramento dos sinais correspondentes aos grupos metílicos da cadeia alquílica da amida, oriundos da barreira rotacional da ligação C-N(C=O) ⁶⁸ e a diastereotopia dos seus prótons metilênicos que surge em função de uma barreira rotacional da ligação $\text{CH}_2\text{-N(C=O)}$ cuja restrição conformacional

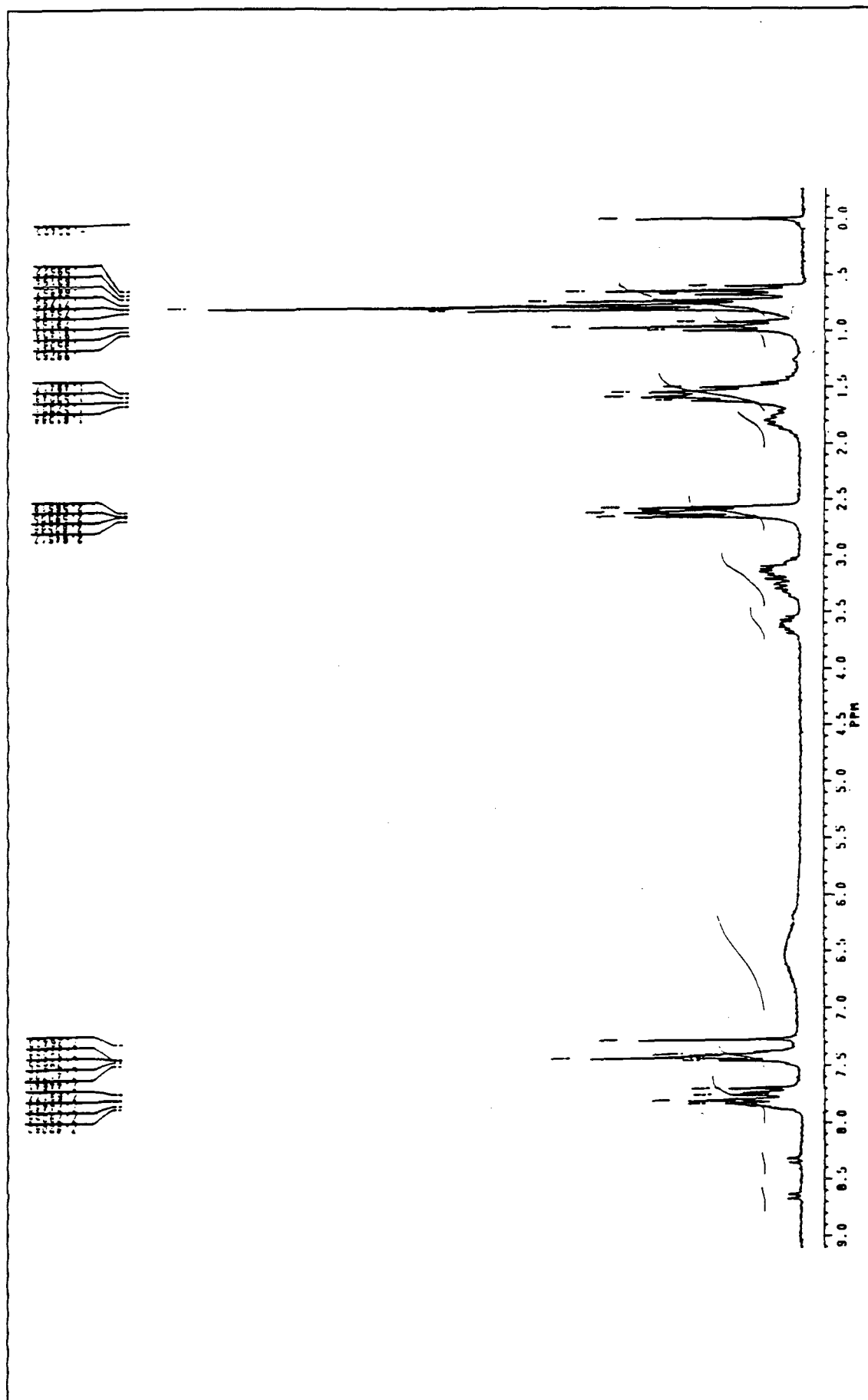


Figura 10: Espectro de RMN - ^1H do Sal de N,N -di- n -propilamônio do Ácido N,N -di- n -propilnaftalâmico em CDCl_3 .

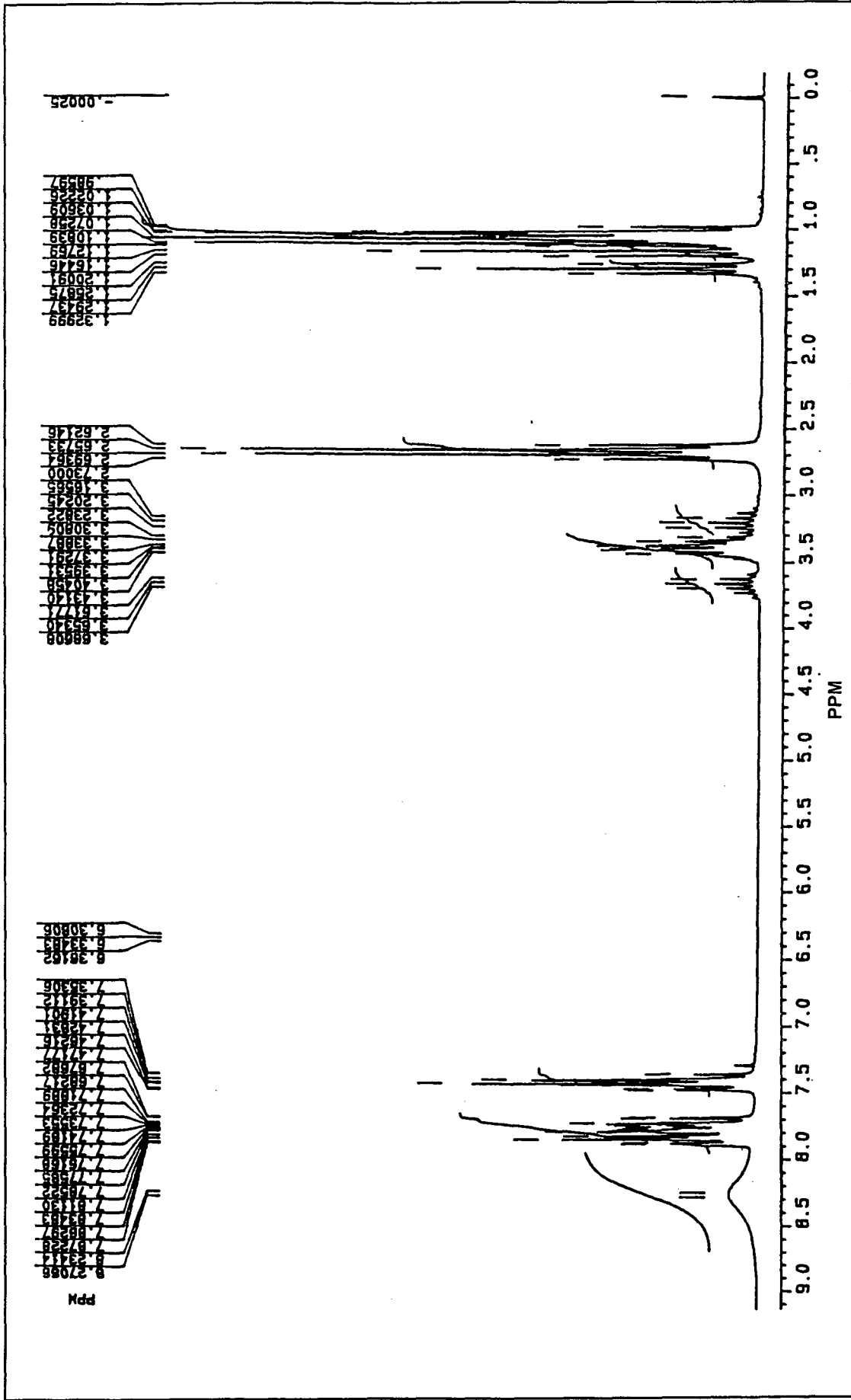


Figura 11: Espectro de RMN - ¹H do Sal de N,N-diethylmaleamic acid in CDCl₃.

é imposta pela presença do anel naftalênico. Uma comparação entre as Figuras 10 e 11 revela ainda que a variação de deslocamento químico ($\Delta\delta$) para os grupamentos CH_2 é maior quando a cadeia alquílica do ácido N,N-dialquilnaftalâmico diminui. Vê-se também que um dos prótons diastereotópicos da parte alifática da função amídica, possui maior desblindagem que o outro refletindo sua maior restrição conformacional, novamente imposta pela presença do anel naftalênico.

Nas Figuras 12 e 12a são apresentados os RMN - ^{13}C e os experimentos de DEPT de 90 e 135° de I_c , para os quais a interpretação coadjuvada permite a identificação dos picos em cada uma das seguintes regiões: $\delta = 10,99$ (2C, $\text{CH}_3\text{-CH}_2(\text{amônio})$); $\delta = 11,06$ (1C, $\text{CH}_3\text{-CH}_2(\text{amida})$); $\delta = 11,66$ (1C, $\text{CH}_3\text{-CH}_2(\text{amida})$); $\delta = 18,98$ (2C, $\text{CH}_2\text{-CH}_3(\text{amônio})$); $\delta = 20,88$ (1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_3(\text{amida})$); $\delta = 21,74$ (1C, $\text{CH}_2\text{-CH}_3(\text{amida})$); $\delta = 47,81$ (1C, $\text{CH}_2\text{-N(C=O)}$); $\delta = 48,53$ (2C, $\overset{+}{\text{N}}\text{H}_2\text{-CH}_2$); $\delta = 52,18$ (1C, $\text{CH}_2\text{-N(C=O)}$); $\delta = 124,25$ (C_3 , C_{10}H_6); $\delta = 125,19$ (C_2 , C_{10}H_6); $\delta = 126,17$ (C_6 , C_{10}H_6); $\delta = 126,82$ (C_7 , C_{10}H_6); $\delta = 128,60$ (C_4 , C_{10}H_6); $\delta = 129,48$ (C_5 , C_{10}H_6); $\delta = 134,05$ (C_1 , C_{10}H_6); $\delta = 135,46$ (C_{10} , C_{10}H_6); $\delta \approx 137$ (C_9 , C_{10}H_6)⁶⁹; $\delta = 139,46$ (C_8 , C_{10}H_6); $\delta = 172,15$ (C=O) e $\delta = 174,17$ ppm (COO⁻).

Analogamente, o estudo do RMN - ^{13}C de I_b , Figura 13, mostra picos de absorção nas regiões de: $\delta = 10,95$ (2C, $\text{CH}_3\text{-CH}_2(\text{amônio})$); $\delta = 12,99$ (1C, $\text{CH}_3\text{-CH}_2(\text{amida})$); $\delta = 13,72$ (1C, $\text{CH}_3\text{-CH}_2(\text{amida})$); $\delta = 39,25$ (1C, $\text{CH}_2\text{-N(C=O)}$); $\delta = 41,35$ (2C, $\overset{+}{\text{N}}\text{H}_2\text{-CH}_2$); $\delta = 44,18$ (1C, $\text{CH}_2\text{-N(C=O)}$); $\delta = 124,38$ (C_3 , C_{10}H_6); $\delta = 125,31$ (C_2 , C_{10}H_6); $\delta = 126,03$ (C_6 , C_{10}H_6); $\delta = 126,85$ (C_7 , C_{10}H_6); $\delta = 128,72$ (C_4 , C_{10}H_6); $\delta = 129,63$ (C_5 , C_{10}H_6); $\delta = 134,21$ (C_1 , C_{10}H_6); $\delta = 135,51$ (C_{10} , C_{10}H_6); $\delta \approx 137,60$ (C_9 , C_{10}H_6); $\delta = 139,60$ (C_8 , C_{10}H_6); $\delta = 171,87$ (C=O) e $\delta = 174,40$ ppm (COO⁻).

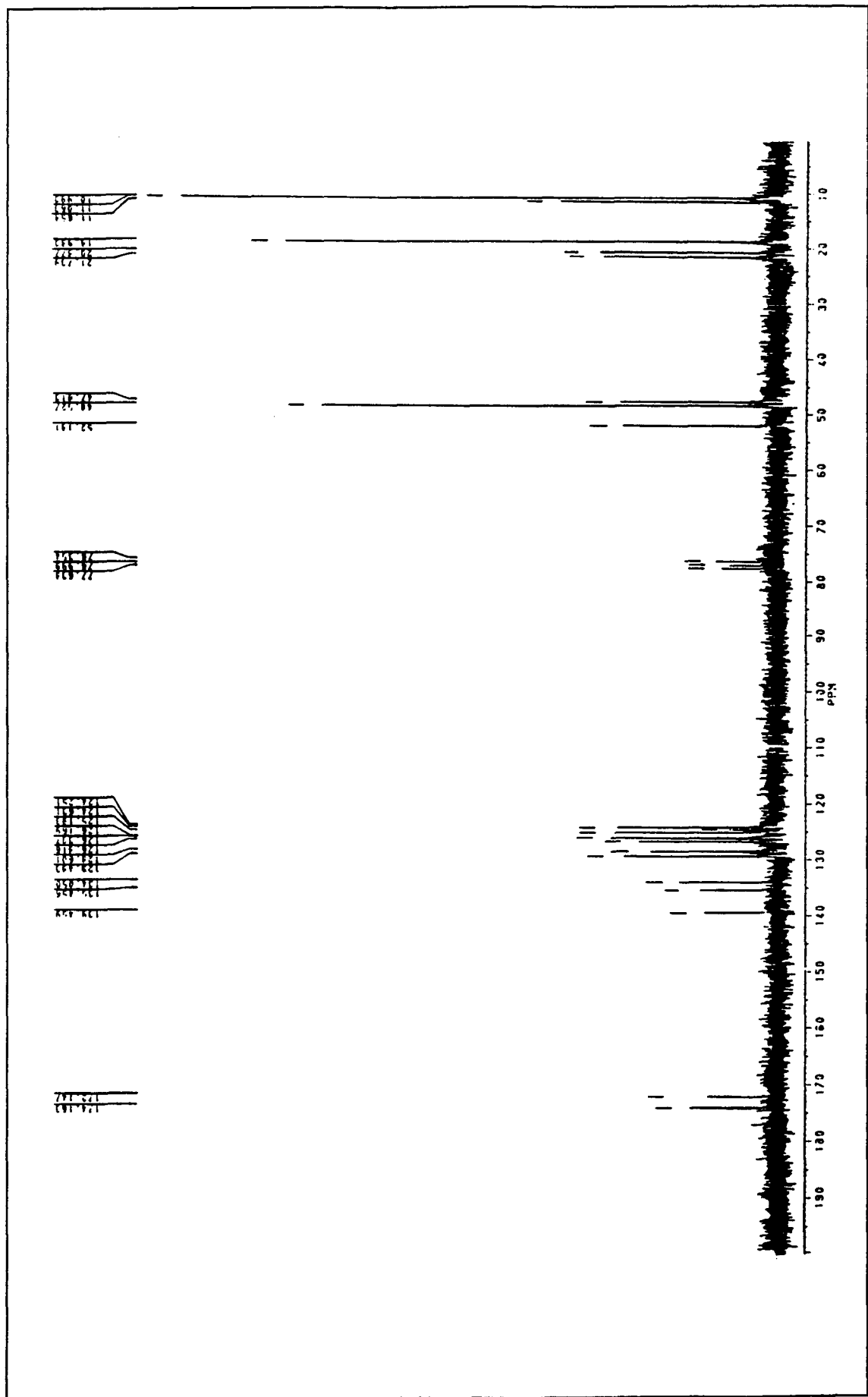


Figura 12: Espectro de RMN - ^{13}C do Sal de N,N-di-n-propilamônio do Ácido N,N-di-n-propilnaftalâmico.

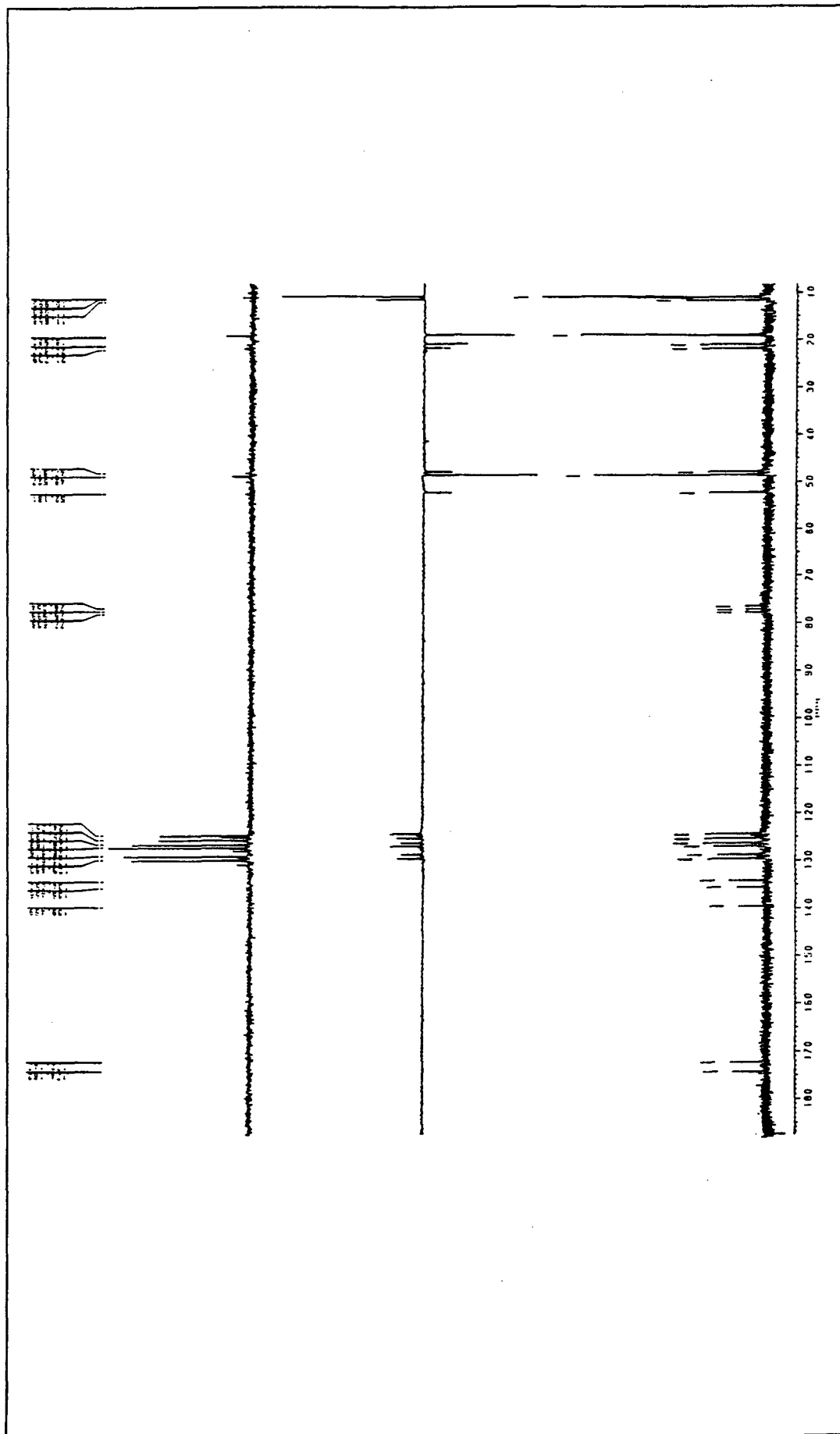


Figura 12a: Espectro de RMN - ^{13}C em DPET de 35, 90, e 135° para o sal de N,N-di-n-propilamônio do Ácido N,N-di-n-propilnaftalâmico em CDCl_3 .

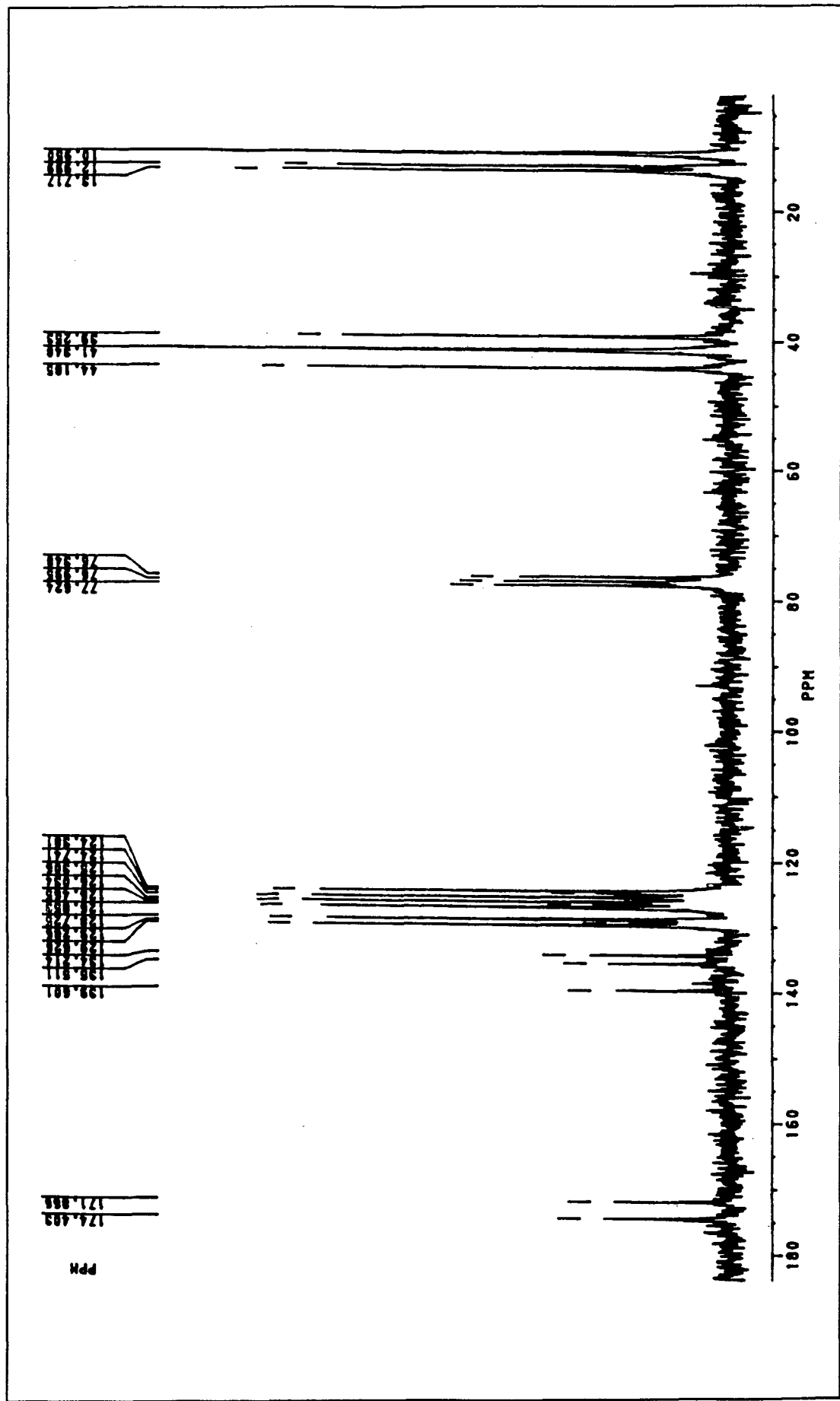
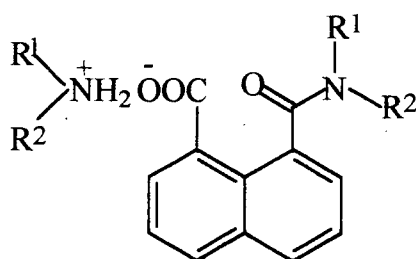


Figura 13: Espectro de RMN - ¹³C do Sal de N,N-diethylamônio do Ácido N,N-diethylmaleamic em CDCl₃.

As bandas de absorção no UV-Visível e no IV, os deslocamentos químicos nos espectros de RMN - ^1H e ^{13}C com seus respectivos acoplamentos e integrais de área nos levam a concluir que a reação do anidrido 1,8-naftálico com diferentes N,N-dialquilaminas produz, nas condições aqui descritas para a sua síntese, os respectivos sais de amônio dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos cujas estruturas, apresentadas no esquema abaixo, são condizentes com os resultados das análises obtidas para I_{a-c} .



I_a - $R^1 = R^2 = \text{Metil}$; I_b - $R^1 = R^2 = \text{Etil}$;

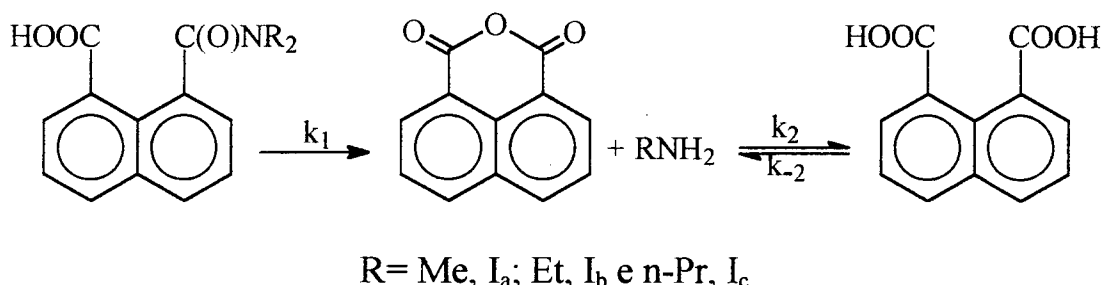
I_c - $R^1 = R^2 = \text{Propil}$

3.2 - AS REAÇÕES DE HIDRÓLISE INTRAMOLECULAR DOS ÁCIDOS N,N-DIALQUILNAFTALÂMICOS

A cinética das reações de hidrólise dos diferentes ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos, $I_{(a-c)}$, foi estudada por espectroscopia de UV-Visível, em um aparelho HP 8452A, a 35 °C. Seguiu-se o aparecimento do anidrido 1,8-naftálico a 340 nm e em diferentes valores de pH e temperatura.

A partir de curvas de absorbância vs. tempo, verificou-se que em determinadas regiões de pH o anidrido, depois de formado, também sofre

hidrólise. Este experimento caracteriza um esquema de reações consecutivas para as reações alvo de análise, Esquema 06; porém, em nenhum valor de pH sob o qual a reação foi investigada, a velocidade de hidrólise do anidrido é maior que a velocidade hidrólise da amida.



Esquema 06

Uma inspeção dos perfis de velocidade vs. pH mostra a seguinte ordem de reatividade $I_a > I_b > I_c$, Figura 14. Para todos os substratos, observa-se que a velocidade aumenta com o aumento da acidez da solução e que em diferentes regiões da curva dois efeitos distintos sobre a reação de hidrólise são aparentes: numa determinada região o processo ocorre independentemente do pH e na outra catálise ácida específica é detectada.

Para valores de pH 2 a 3, a reação de hidrólise intramolecular, com a participação do grupo carboxílico do ácido N,N-dialquilnaftalâmico em sua forma não dissociada, parece ser predominante. À medida que o pH diminui (região entre $H_0 = -2$ e $pH = 0$), o mecanismo passa a envolver o ataque nucleofílico sobre a amida protonada e um substancial equilíbrio para a oxo-protonação da amida começa a ser importante^{70, 71}. Nesta região de pH quase nenhuma N-protonação ocorre⁷²⁻⁷⁴, como demonstrado pelo uso de íons N-aciltrialquilamônios na modelagem da amida N-protonada⁷⁵; portanto, em meio altamente ácido o oxigênio carbonílico do grupamento amida é protonado

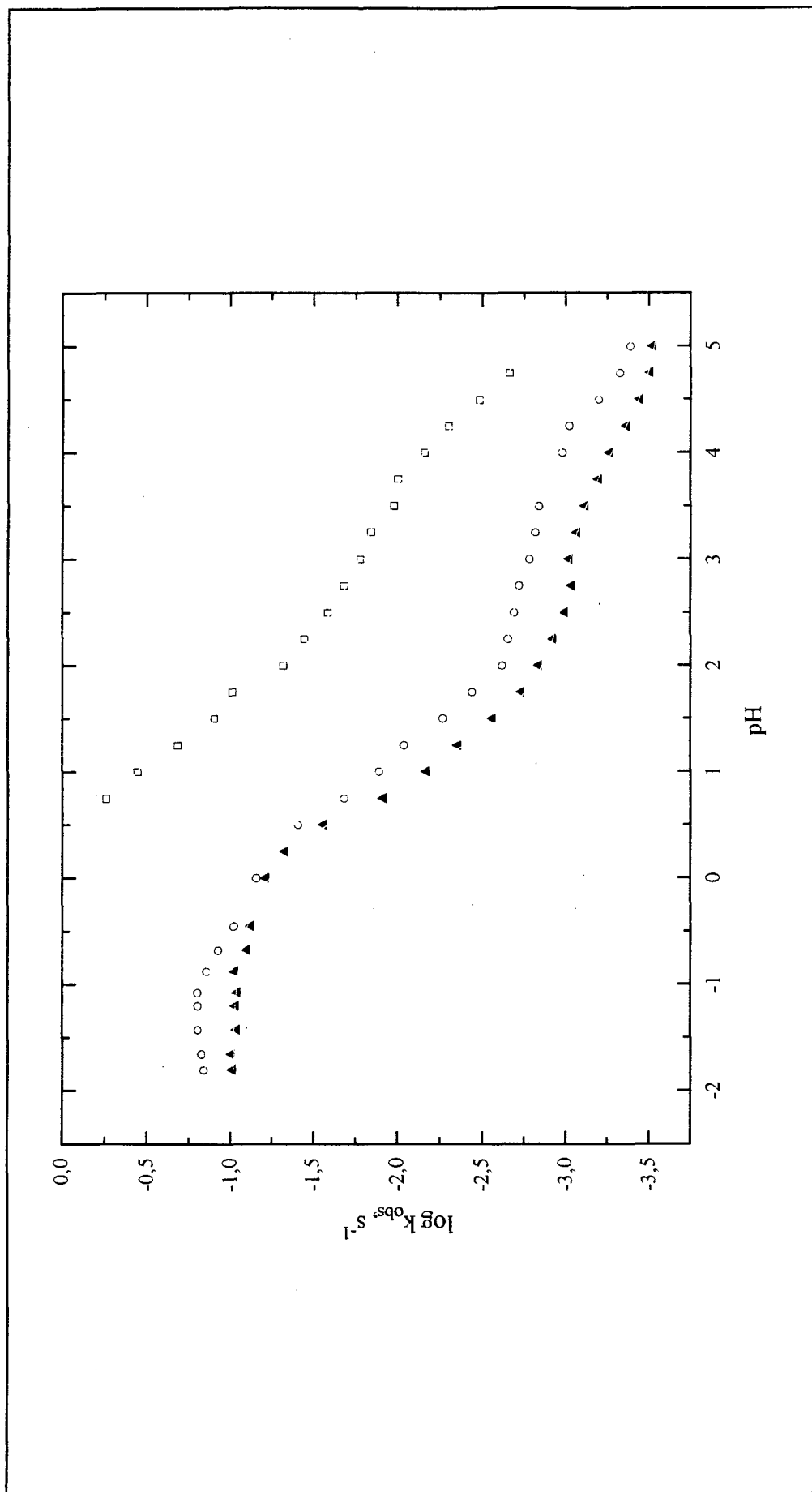


Figura 14: Gráfico da constante de velocidade observada versus pH para o ácido N,N-dimetil (□), N,N-dietyl (○) e N,N-di-n-propilnaftalâmico (▲), a 35 °C.

mais extensivamente e a reação torna-se mais rápida devido ao aumento da eletrofilicidade deste grupo. Para a maioria das reações de hidrólise de amidas em meio ácido, a ausência da auto-troca de oxigênio⁷⁶ tem sido interpretada em termos da dissociação quase que exclusiva do intermediário tetraédrico por meio da quebra da ligação C-N. Como no IT o átomo de nitrogênio é o sítio mais básico, sua protonação ocorre preferencialmente e o grupo amino é eliminado na sua forma neutra. Percebe-se ainda, a partir do perfil de pH vs. velocidade que, em nenhum caso, a hidrólise dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos pelo íon carboxilato ocorre à velocidade detectável.

Os pontos experimentais da Figura 14, para cada um dos ácidos analisados, são representados pela equação 11, obtida descrevendo-se k_{obs} como função da fração molar das espécies iônicas presentes em cada região de pH.

$$k_{obs} = \frac{k_{sh_2^+}}{\left[1 + \frac{k_{a2}}{[H^+]}\right]} + \frac{k_{sh}}{\left[1 + \frac{k_{a1}}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{k_{a2}}\right]} + \frac{k_s}{\left[1 + \frac{[H^+]}{k_{a1}}\right]} \quad (11)$$

onde: k_{obs} é a constante de velocidade observada experimentalmente para a reação de hidrólise.

$k_{sh_2^+}$ é a constante de velocidade para a hidrólise intramolecular da amida oxo-protonada,

k_{sh} é a constante de velocidade para a hidrólise intramolecular da monoamida,

K_{a1} é a constante de dissociação da grupo carboxílico na monoamida

e

K_{a2} é a constante de dissociação para a monoamida oxo-protonada.

A partir da equação 11 são encontrados valores de 4,30; 4,39 e 4,05 para pK_{a1} e -1,60; -0,91 e -0,89 para pK_{a2} dos ácidos N,N-dimetil, N,N-dietil e N,N-di-n-propilnaftalâmico, respectivamente. Estes valores de pK_a são consistentes com os valores de pK_{aap} , obtidos a partir do perfil de pH, e conduzem a um k_{sh} da ordem de $7,41 \times 10^{-1}$, $1,42 \times 10^{-1}$ e $9,70 \times 10^{-2} \cdot s^{-1}$ e a um k_{sh} da ordem de $1,70 \times 10^{-2}$, $1,89 \times 10^{-3}$ e $1,02 \times 10^{-3} \cdot s^{-1}$ para os ácidos N,N-dimetil, N,N-dietil e N,N-di-n-propilnaftalâmico, respectivamente, que comparadas as constantes de hidrólise obtidas experimentalmente reafirmam que dados experimentais e teóricos ajustam-se satisfatoriamente.

Na tabela 07 encontram-se os valores das constantes de velocidade determinadas a diferentes temperaturas e pH= 3,50 que foram usadas para construir um gráfico de $\ln k_{obs}$ vs. $1/T$, Figura 15, e obter os parâmetros de ativação para os diferentes ácidos na região de pH onde a reação de hidrólise ocorre intramolecularmente.

Tabela 07: Efeito da temperatura sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos á pH= 3,50

| T, °C | $10^4 \cdot k_{obs}, s^{-1}$ | | |
|-------|------------------------------|--------|---------|
| | dipropil | dietil | dimetil |
| 20 | ----- | 2,884 | 33,50 |
| 25 | ----- | 4,912 | 54,00 |
| 30 | 4,676 | 8,241 | 84,91 |
| 35 | 7,635 | 13,18 | 131,4 |
| 40 | 11,89 | 21,38 | 192,2 |
| 45 | 18,66 | 33,12 | 282,3 |
| 50 | 28,20 | 51,52 | 427,9 |
| 55 | 43,94 | ----- | ----- |

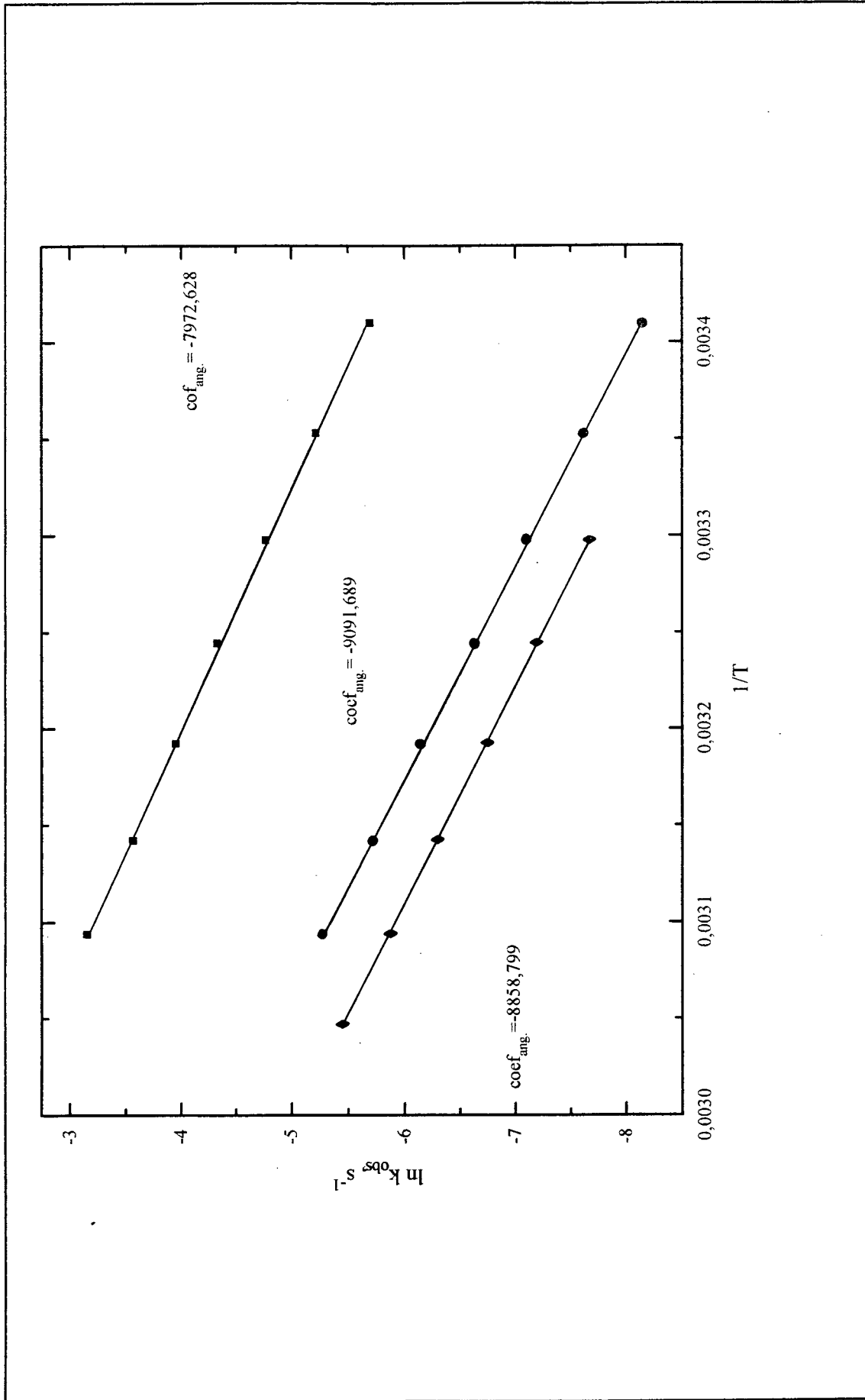


Figura 15: Gráfico de $\ln k_{obs}$ versus $1/T$ para o ácido N,N-dimetil (■), N,N-dietil (●) e N,N-di-n-propilnaftalâmico (◆).

A diferença de reatividade anteriormente observada, $I_a > I_b > I_c$, está associada à variação de entalpia inerente à pequena modificação eletrônica, originária do referido aumento da cadeia alquílica na série homóloga investigada, Tabela 08. Naturalmente, o ácido mais reativo requer menor energia para que o(s) estado(s) de transição seja(m) alcançado(s). Já os valores de entropia de ativação indicam que, em todos os casos, o estado de transição está mais organizado que o reagente e não justificam, portanto, a alta reatividade do sistema quando comparada a análogos intermoleculares descritos na literatura²⁰.

Tabela 08: Parâmetros de ativação para os diferentes Ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos.

| Composto | $10^4 \cdot k_{\text{obs}}, \text{s}^{-1} (35^\circ\text{C})$ | $\Delta H^\#, \text{Kcal.mol}^{-1}$ | $\Delta S^\#, \text{u.e.} (35^\circ\text{C})$ |
|----------|---|-------------------------------------|---|
| dipropil | 7,635 | 20,94 | -5,117 |
| dietil | 14,42 | 20,40 | -5,604 |
| dimetil | 104,7 | 18,36 | -8,282 |

Vários outros autores têm criticado o uso de conceitos entrópicos para justificar a elevada reatividade de sistemas intramoleculares com seus altos valores de molaridade efetiva⁷⁷⁻⁷⁹ e neste caso, como em outros descritos anteriormente, o sistema mais reativo possui entropia de ativação mais negativa, contrariando as expectativas de Jencks relativas ao controle entrópico do aumento de velocidade em sistemas intramoleculares e avolumando a relação de reações que não comungam do “efeito Circe” proposto por Page e Jencks^{80,81}. Definitivamente não parece haver uma relação direta entre a rapidez com que as reações de ciclização ocorrem e sua natureza entrópica.

Com o intuito de compreender a participação do próton do grupamento carboxílico não dissociado durante a reação, foram determinados os efeitos isotópicos cinéticos do solvente nos valores de pD próximos ao pK_{aap} dos diferentes ácidos estudados; em cada caso, o valor de k_D considerado é a média de seis experimentos, Tabela 09, 10 e 11. Um efeito isotópico cinético do solvente, k_H/k_D , igual a 1,380 é observado para I_c e 1,376 para I_b ; o efeito para I_a não pode ser determinado, pois a amina empregada neste caso só é disponível em solução aquosa.

Considerando um efeito isotópico do solvente, estes dados não estão associados, nesta região de pH, a extensão de protonação do oxigênio carbonílico da amida, pois se assim fosse, um valor de $k_H/k_D < 1$ seria esperado, uma vez que D_3O^+ é um ácido mais forte que H_3O^+ , e a hidrólise deveria ocorrer mais rapidamente no meio deuterado.

Tabela 09: Efeito isotópico solvente sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos Ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos à 35 °C e pD= 3,00.

| Experimento | $10^4 \cdot k_{obs}$ | |
|-------------|----------------------|--------|
| | dipropil | dietil |
| 01 | 5,664 | 10,30 |
| 02 | 5,718 | 10,43 |
| 03 | 5,761 | 10,48 |
| 04 | 5,753 | 10,50 |
| 05 | 5,809 | 10,47 |
| 06 | 5,781 | 10,52 |
| Média | 5,748 | 10,45 |
| k_H/k_D | 1,380 | 1,376 |

Tabela 10: Efeito isotópico solvente sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos Ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos à pD= 2,80 e 35 °C.

| Experimento | $10^4 \cdot k_{obs}$ | |
|-------------|----------------------|--------|
| | dipropil | dietil |
| 01 | 5,631 | 10,23 |
| 02 | 5,598 | 10,33 |
| 03 | 5,563 | 10,22 |
| 04 | 5,567 | 10,27 |
| 05 | 5,564 | 10,29 |
| 06 | 5,503 | 10,32 |
| Média | 5,571 | 10,28 |
| k_H/k_D | 1,531 | 1,522 |

Tabela 11: Efeito isotópico solvente sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos Ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos à pD= 2,40 e 35 °C.

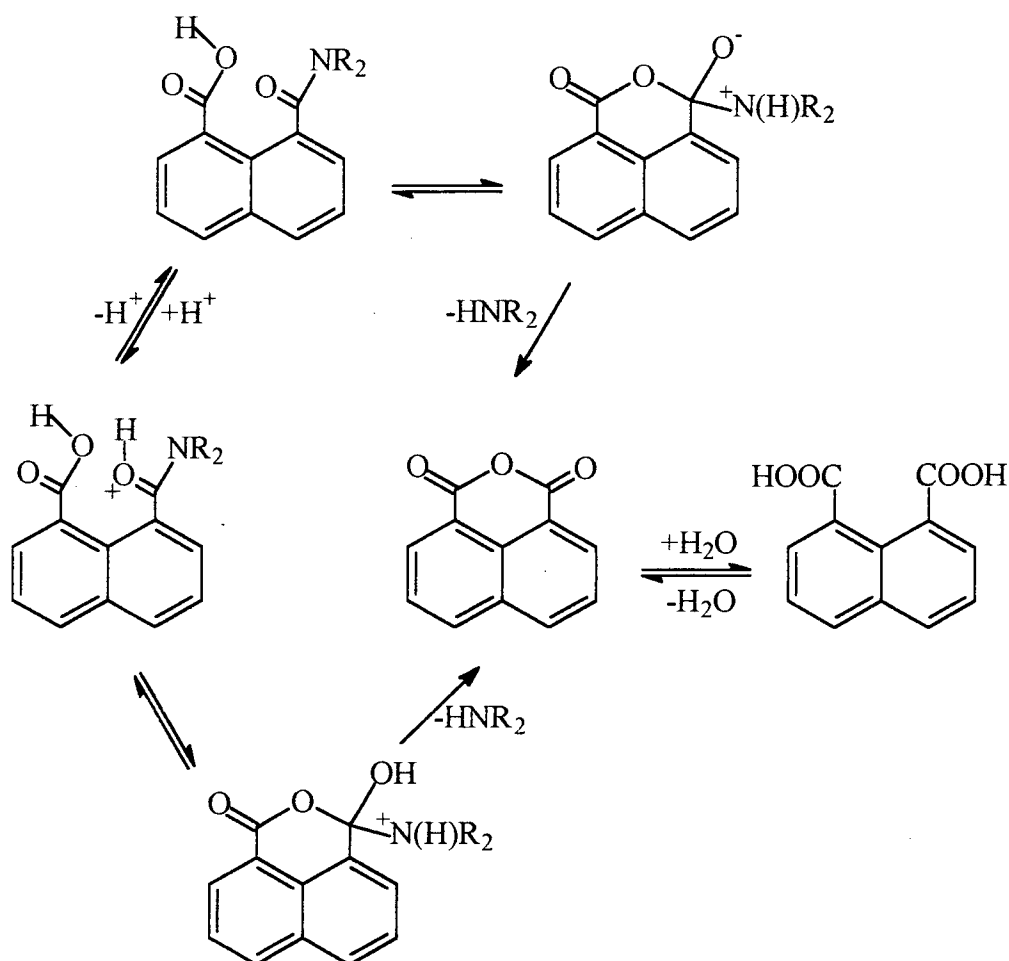
| Experimento | $10^4 \cdot k_{obs}$ | |
|-------------|----------------------|--------|
| | dipropil | dietil |
| 01 | 5,983 | 10,53 |
| 02 | 5,952 | 10,59 |
| 03 | 6,088 | 10,74 |
| 04 | 6,164 | 10,44 |
| 05 | 6,215 | 10,47 |
| 06 | 6,114 | 10,50 |
| Média | 6,086 | 10,48 |
| k_H/k_D | 1,506 | 1,613 |

Por outro lado, R. S. Brow⁸² usando razões de k_H/k_D próximas da unidade, mais especificamente $k_H/k_D = 0,98$, tem postulado que a hidrólise bimolecular da N,2,4-trimetilacetanilida, ocorre através de um estado de transição envolvendo uma molécula de água que atua como uma base geral na transferência de próton para a decomposição do intermediário tetraédrico formado. Thomas Fife⁸³ tem encontrado um efeito isotópico maior para a hidrólise de N-acilimidazóis, $k_H/k_D = 2,7 - 3,5$, e explicado esta magnitude em termos da participação de duas moléculas de água durante o processo de transferência de próton; uma atacando nucleofilicamente e outra atuando como base geral. Então, o efeito isotópico cinético aqui apresentado é indicativo do grau de transferência de próton no processo de ataque para a formação do intermediário tetraédrico; ou na saída do grupo amino para sua decomposição, conforme qual seja a etapa limitante da velocidade.

Nossos dados cinéticos não nos permitem dizer qual a etapa determinante da velocidade e tão pouco se a transferência do próton, para a formação ou decomposição do intermediário tetraédrico, está adiantada ou atrasada no curso da reação; em outras palavras, as informações que surgem dos estudos cinéticos não respondem pela posição do estado de transição na coordenada de reação. Porém, a apreciação dos resultados de modelagem molecular, discutidos na próxima sessão, podem corroborar para a compreensão do processo de transferência de próton durante o processo de hidrólise estudado.

De qualquer modo, nossas investigações cinéticas, sobre a natureza da reação para a decomposição dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos, são consistentes com o Esquema 07. Um esquema mecanístico no qual a forma não ionizada do ácido N,N-dialquilnaftalâmico ataca o carbono

carbonílico do grupamento amídico na sua forma neutra ou protonada, dependendo do pH no qual a reação de hidrólise é efetuada.



Esquema 07

Na região do patamar, este ataque daria origem a um intermediário dipolar iônico, que está em equilíbrio com um intermediário neutro, e este sofre decomposição para formar o anidrido 1,8-naftálico. A reação de hidrólise seria intramolecular, na região de pH 2 - 3,5 e o anidrido formado pela decomposição do intermediário por sua vez é hidrolisado ao respectivo ácido, diácido ou dicarboxilato dependendo do pH do meio.

3.3 - MODELAGEM MOLECULAR

A modelagem molecular dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos foi desenvolvida usando-se o programa Mopac, versão 6.01, tendo por base de cálculo o método AM1. A escolha deste método foi determinada por sua eficiência ao abordar sistemas contendo átomos de C, O e H, por sua vantagem em relação a métodos como MNDO e até mesmo sobre o modelo mais recente, PM3.

O modelo AM1 para cálculos semi-empíricos surgiu com a necessidade de se minimizar os erros de seus antecessores ao reproduzir as interações estéricas e a energia do estado de transição em fase gasosa. Correções nos termos que descrevem a natureza das repulsões de hidrogênio permitem que este reproduza melhor a energia para as ligações de hidrogênio intramolecular. Embora menos preciso que seu predecessor PM3⁵³, por um fator de aproximadamente 2,0%, ao reproduzir pontes de hidrogênio intermolecular e ao estimar o calor de formação de alguns compostos, é capaz de reproduzir as energias das ligações de hidrogênio intramolecular⁸⁴⁻⁸⁶ e a energia das ligações O-H⁸⁷ de forma mais precisa que os demais métodos. Outro fator determinante na escolha deste método advém da importância das ligações intramolecular de hidrogênio e da transferência intramolecular de próton, aludida por Menger durante o estudo da hidrólise de amidas derivadas do triácido de Kemp³³ para as quais um estado fundamental minimizado com ponte de hidrogênio intramolecular é usado para sugerir um mecanismo de hidrólise sincrônico e negligenciar o mecanismo por etapas.

As estruturas I_a, I_b e I_c, Figura 16, representam resultados dos cálculos realizados para a obtenção do mínimo de energia para estes compostos e nenhuma geometria com ligação de hidrogênio intramolecular,

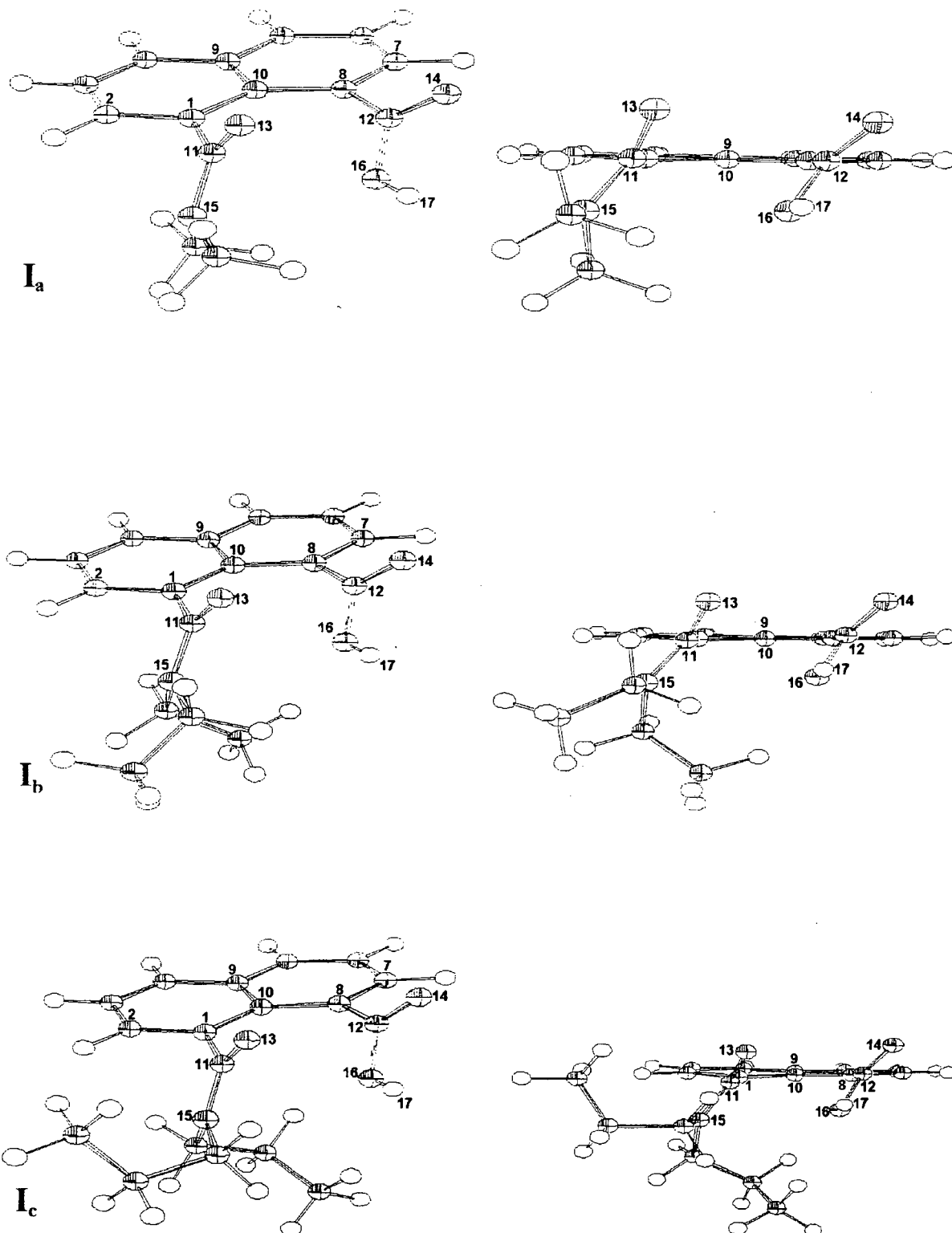


Figura 16: Estruturas tridimensionais dos ácidos N,N-dimetil, (I_a), N,N-dietil, (I_b) e N,N-di-n-propilnaftalâmico, (I_c). Ao lado estão representadas as respectivas projeções frontais para os respectivos ácidos.

que viabilizasse o estudo de um mecanismo concertado, foi encontrada.

Estas estruturas representam um mínimo global e não local, fato este que foi confirmado após a construção de um “diagrama de superfície de energia potencial”, imprimindo-se rotações de 10° num ciclo de 360° aos grupos amídico e ácido e calculando-se a energia da estrutura tridimensional resultante em cada etapa da rotação, Figura 17. A estrutura de menor energia obtida é correspondente àquela apresentada para I_a e por analogia as estruturas I_b e I_c são aceitas como mínimos globais.

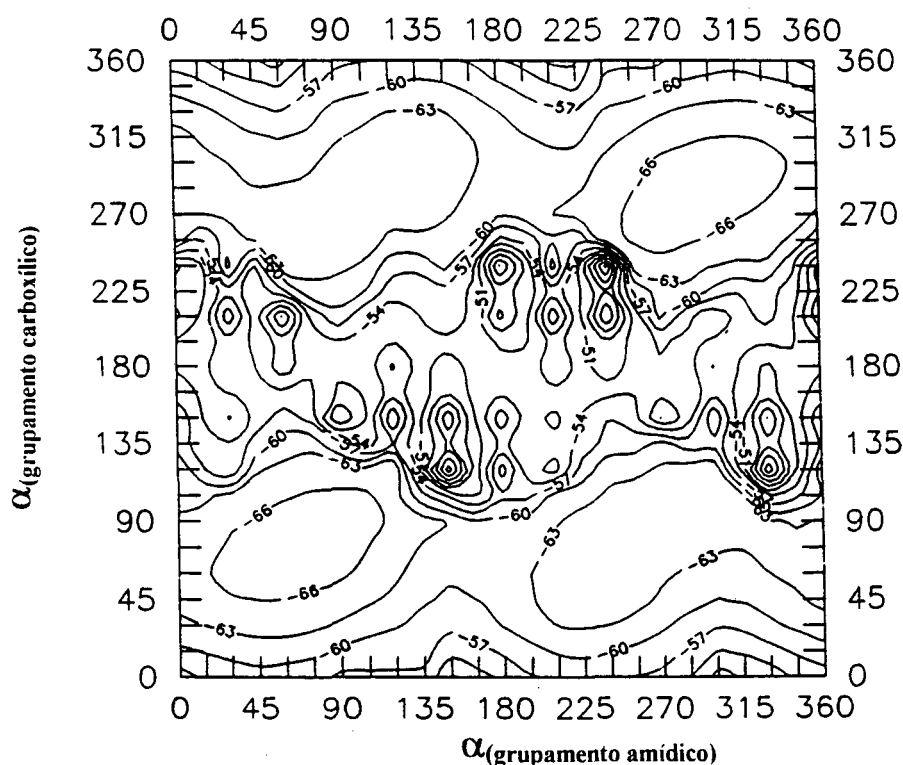


Figura 17: Diagrama de superfície de energia potencial para o ácido N,N-dimetilnaftalâmico.

Na tabela 12 estão contidos os aspectos estruturais mais relevantes a cada geometria. Verifica-se, a exemplo de modelos similares de compostos naftalênicos 1,8-substituídos descritos na literatura⁵¹, que o anel naftalênico perde sua planaridade. A distorção do núcleo aromático é de $1,80^\circ$

Tabela 12: Relações estruturais para os diferentes Ácido N,N-dialquil-naftalâmicos

| Parâmetros | Dimetil | Dietil | Dipropil |
|--|---------|--------|----------|
| C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ -C ₀₉ , (°) | -178,2 | 179,8 | 178,2 |
| C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ -C ₀₉ , (°) | 178,1 | 175,5 | 173,7 |
| O ₁₃ -C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ , (°) | 67,7 | 64,7 | 66,5 |
| O ₁₄ -C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ , (°) | 125,9 | -124,1 | 121,3 |
| C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ , (°) | 122,5 | 122,4 | 122,7 |
| C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ , (°) | 124,0 | 123,8 | 123,6 |
| N ₁₅ -C ₁₁ -C ₀₁ , (°) | 117,9 | 118,5 | 118,4 |
| O ₁₆ -C ₁₂ -C ₀₈ , (°) | 115,2 | 115,7 | 115,6 |
| O ₁₃ -C ₁₁ -C ₀₁ , (°) | 121,2 | 120,7 | 120,7 |
| O ₁₄ -C ₁₂ -C ₀₈ , (°) | 127,9 | 127,7 | 127,6 |
| C ₁₁ -N ₁₅ , (Å) | 1,401 | 1,398 | 1,391 |
| C ₁₁ -O ₁₃ , (Å) | 1,247 | 1,249 | 1,249 |
| C ₁₁ -O ₁₆ , (Å) | 2,595 | 2,566 | 2,579 |
| C ₁₂ -O ₁₆ , (Å) | 1,367 | 1,366 | 1,365 |
| C ₁₂ -O ₁₄ , (Å) | 1,233 | 1,233 | 1,233 |
| O ₁₆ -H ₁₇ , (Å) | 0,972 | 0,972 | 0,972 |
| O ₁₃ -H ₁₇ , (Å) | 2,965 | 2,749 | 2,709 |

para o composto I_a e a medida que a cadeia alquílica do grupamento amídico aumenta a distorção do anel aromático, representada principalmente pelo ângulo C₁₂-C₀₈-C₁₀-C₀₉, aumenta para 6,3°. Este aumento na distorção é inversamente proporcional a ordem de reatividade observada experimentalmente mostrando que a planaridade inicial do anel aromático, cujo reflexo imediato pode estar na pré-disposição orientacional dos orbitais atômicos que constituem os grupos reacionais, parece estar associada a

diferença de velocidade entre I_a , I_b e I_c . Porém, ao contrário do que postula a teoria, seu efeito não é tão dramático e o aumento de velocidade, observado em função da correta orientação entre os orbitais atômicos das espécies que participam da reação, é apenas de duas ordens de magnitude para os ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos; grandeza esta bem inferior ao aumento de velocidade de 10^8 a 10^{11} vezes atribuído ao direcionamento de orbitais nos estudos das reações ciclização feitos por Koshland⁴. A conclusão de que um desvio de 1° na correta orientação dos sítios de reação deve provocar uma redução de dez mil vezes na velocidade das reações intramoleculares, também não é aplicável ao presente caso.

O desvio médio na distância entre eletrófilo ($\underline{C}(\text{NR}_2)=\text{O}$) e nucleófilo ($-\underline{\text{O}}\text{H}$), representados por $\text{C}_{11}-\text{O}_{16}$, é de $0,010 \text{ \AA}$ e as variações observadas, em decorrência do aumento na cadeia alquílica da série homóloga estudada, são aleatórias não estabelecendo qualquer correlação entre distância e reatividade.

Os grupos substituintes das posições 1 e 8, além de não estarem situados no plano do anel aromático, ângulos diedros $\text{O}_{13}-\text{C}_{11}-\text{C}_{01}-\text{C}_{10}$ e $\text{O}_{14}-\text{C}_{12}-\text{C}_{08}-\text{C}_{10}$, estão sujeitos a uma tensão angular que tem origem nas repulsões intereletrônicas dos dois grupos e os coloca a 4 graus além do ângulo de ligação padrão para um carbono com hibridização sp^2 (ângulos $\text{C}_{11}-\text{C}_{01}-\text{C}_{10}$ e $\text{C}_{12}-\text{C}_{08}-\text{C}_{10}$).

Surgem então, as primeiras questões referente a alta reatividade do sistema em estudo: Estaria a velocidade de hidrólise dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos associada ao alívio da tensão estérica quando a reação se processa indo de reagente á produto? Quão significativa é a contribuição da tensão angular para o processo global ?

As respostas a estas questões podem ser deduzidas a partir do mapeamento da coordenada de reação e da análise da correlação estrutural de seus constituintes; ou seja, da identificação da estrutura do reagente, do intermediário, dos estados de transição e do produto de reação com conseqüente identificação da etapa determinante da velocidade. Desta forma, se a primeira etapa é a limitante da velocidade a importância do empacotamento estérico para a reatividade nas reações de ciclização pode, até agora, ter sido subestimada; se a segunda etapa é a limitante da velocidade sua contribuição passa a ter menor valor, embora não possa ser desprezada desde que também participa da reação como um todo.

Para avaliar estas possibilidades, minimizou-se a estrutura do intermediário neutro (IT^0) de I_a , formado pelo ataque intramolecular do grupamento ácido não dissociado sobre o grupo amida. A geometria obtida para o intermediário é mostrada a seguir, Figura 18, e seus parâmetros estruturais encontram-se na Tabela 13.

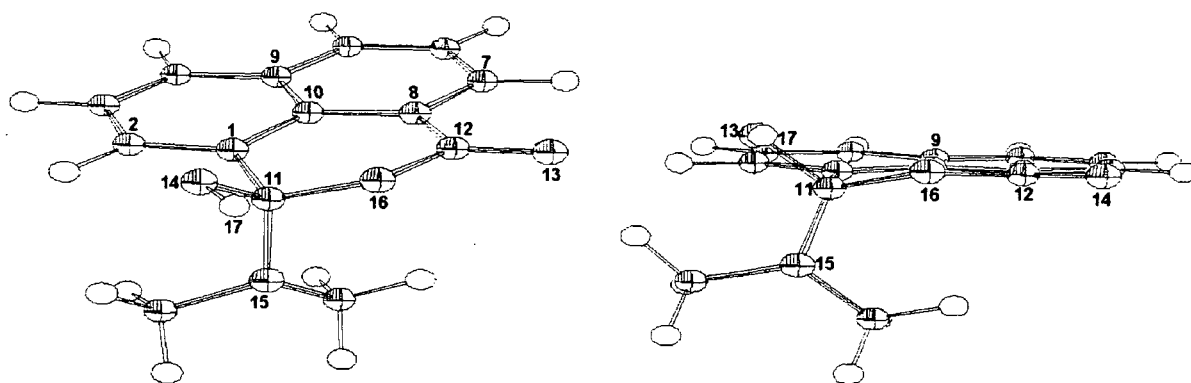


Figura 18: Geometria otimizada pelo método AM1 para o intermediário da reação de hidrólise do Ácido N,N-dimetilnaftalâmico.

De posse da geometria do intermediário, os estados de transição para a formação e decomposição do IT^0 foram obtidos, a partir do próprio,

pelo estiramento da ligação $O_{16}-H_{17}$ para o primeiro estado de transição (ET_1) e, após redefinição da matriz de entrada, pelo estiramento da ligação $N_{15}-H_{17}$ para o segundo estado de transição (ET_2).

Este experimento permitiu a confecção de um gráfico representando a variação do calor de formação como uma função dos referidos comprimentos de ligação, Figura 19, e viabilizou a identificação dos os máximos de energia, cujas matrizes correspondem à estrutura aproximada dos respectivos estados de transição (E.T.).

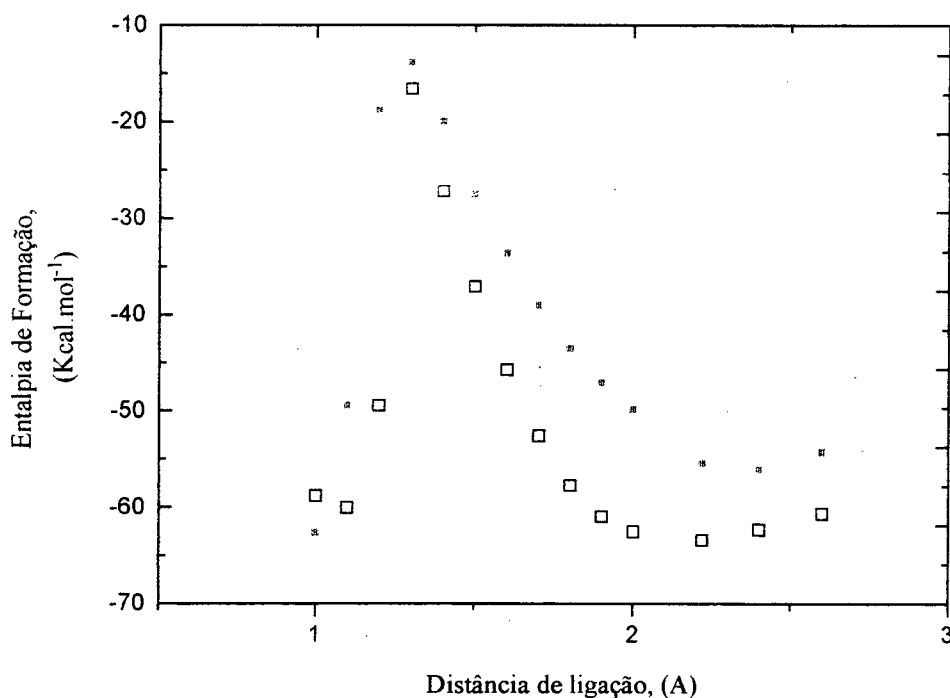


FIGURA 19: Variação do calor de formação em função da distância de ligação $O_{13}-H_{17}$, (■) e $N_{15}-H_{17}$, (□).

Minimizando estas estruturas iniciais, foram obtidas geometrias dos respectivos E.T., confirmadas pela existência de uma única frequência imaginária, e representadas na Figura 20 junto com a estrutura tridimensional do produto.

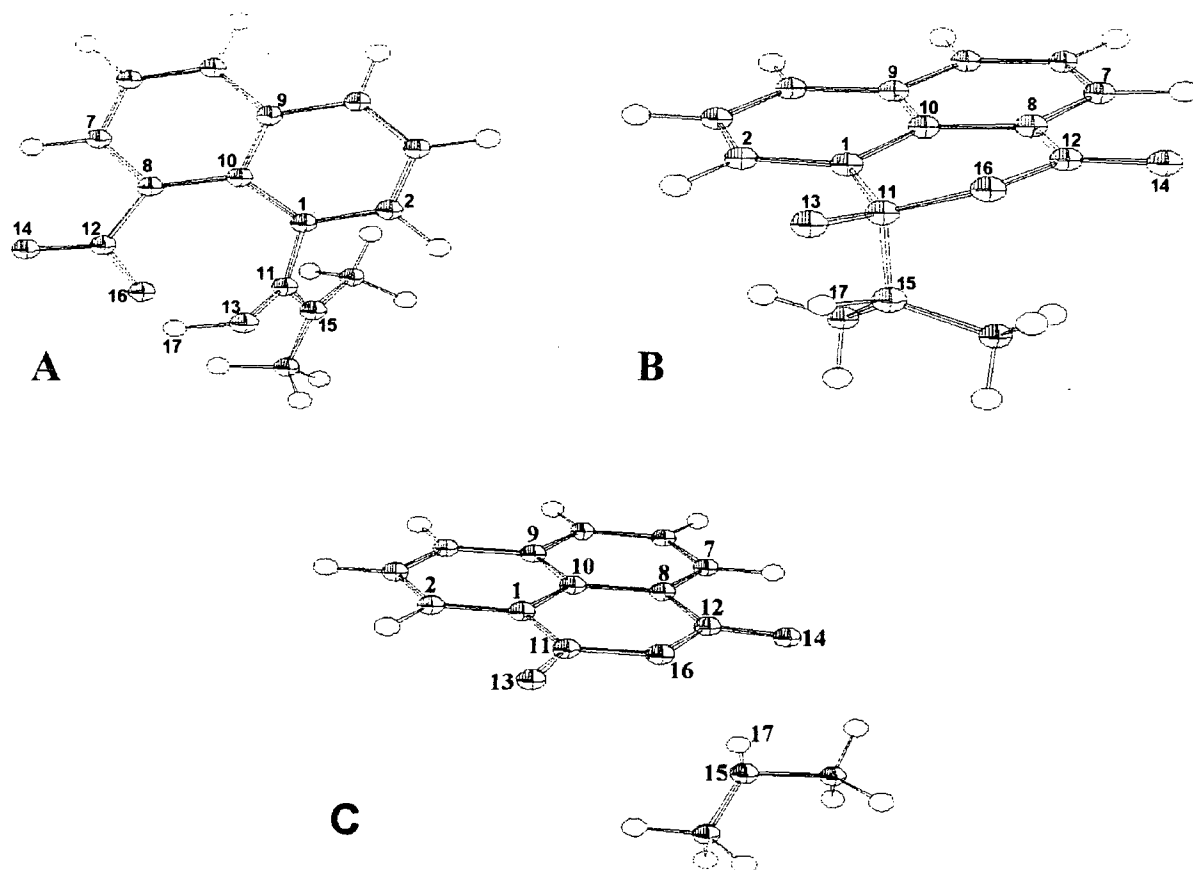


Figura 20: Geometria otimizadas para o ET_1 , (A), o ET_2 , (B) e para o produto da reação, (C), de hidrólise de I_a .

Na Tabela 13 estão resumidas as características estruturais mais relevantes à nossa análise. Associadas às relações estruturais do reagente e intermediário, estas informações nos permitem fazer uma representação esquemática do perfil de energia para o mecanismo de hidrólise intramolecular do ácido *N,N*-dimetilnaftalâmico em fase gasosa, Figura 21. Através do diagrama percebe-se que a etapa limitante da velocidade é a decomposição do IT^0 , num mecanismo envolvendo transferência intramolecular de próton no sentido $O_{13}--H_{17}--N_{15}$ e posterior quebra da ligação $C_{11}-N_{15}$. Esta etapa requer o posicionamento prévio do próton sobre o átomo de nitrogênio para que a decomposição do intermediário possa dar origem a amina livre. Em outras

palavras, a quebra da ligação C-N é assistida pela transferência de próton que neste caso, conforme cálculos, está aproximadamente 52,40% completa.

Tabela 13: Parâmetros geométricos das espécies na coordenada de reação para a hidrólise de I_a

| Parâmetros | Reagente | ET ₁ | IT ^o | ET ₂ | Produto |
|--|----------|-----------------|-----------------|-----------------|---------|
| C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ -C ₀₉ , (°) | -178,2 | -172,1 | 175,0 | 175,7 | -179,1 |
| C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ -C ₀₉ , (°) | 178,1 | -168,9 | 174,3 | 172,4 | 179,8 |
| O ₁₃ -C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ , (°) | 67,7 | -80,7 | 132,1 | 150,5 | -179,1 |
| O ₁₄ -C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ , (°) | 125,9 | -39,8 | 177,4 | 179,1 | -179,4 |
| C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ , (°) | 122,5 | 121,9 | 119,8 | 119,0 | 118,7 |
| C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ , (°) | 124,0 | 125,7 | 118,6 | 118,1 | 118,7 |
| N ₁₅ -C ₁₁ -C ₀₁ , (°) | 117,9 | 121,8 | 115,0 | 114,5 | 119,8 |
| O ₁₆ -C ₁₂ -C ₀₈ , (°) | 115,16 | 119,9 | 120,4 | 120,3 | 120,3 |
| O ₁₃ -C ₁₁ -C ₀₁ , (°) | 121,2 | 119,0 | 107,4 | 118,7 | 128,1 |
| O ₁₄ -C ₁₂ -C ₀₈ , (°) | 127,9 | 120,3 | 127,2 | 126,8 | 128,2 |
| C ₁₁ -N ₁₅ , (Å) | 1,401 | 1,354 | 1,480 | 1,573 | 3,999 |
| C ₁₁ -O ₁₃ , (Å) | 1,247 | 1,325 | 1,416 | 1,337 | 1,229 |
| C ₁₁ -O ₁₆ , (Å) | 2,595 | 2,307 | 1,442 | 1,438 | 1,386 |
| C ₁₂ -O ₁₆ , (Å) | 1,367 | 1,308 | 1,374 | 1,372 | 1,386 |
| C ₁₂ -O ₁₄ , (Å) | 1,233 | 1,245 | | 1,234 | 1,230 |
| O ₁₆ -H ₁₇ , (Å) | 0,972 | 1,416 | 2,216 | 2,768 | 2,295 |
| O ₁₃ -H ₁₇ , (Å) | 2,965 | 1,132 | 0,970 | 1,418 | 2,486 |

A energia de ativação calculada teoricamente é de 56,61 Kcal.mol⁻¹ e, apesar de diferir da energia de ativação experimental por 38,25 Kcal.mol⁻¹ ($\Delta H_{\text{exp}}^{\#} = 18,36 \text{ kcal.mol}^{-1}$), seria ainda razoável, consideradas as diferenças do meio sob o qual a comparação é feita e a tensão angular a que estão submetidos os estados de transição para a transferência de próton.

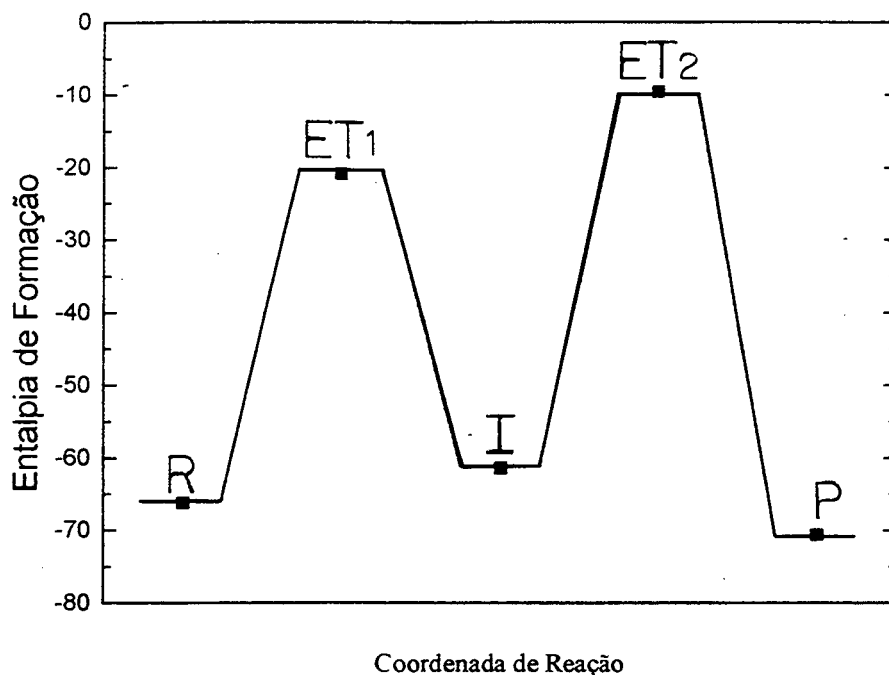


Figura 21: Representação esquemática do perfil de energia para a reação de hidrólise intramolecular do ácido N,N-dimetilnaftalâmico.

Durante todo o processo, a planaridade do anel aromático está mais comprometida no caminho que leva a formação do IT^o (ângulo diedro C₁₁-C₀₁-C₁₀-C₀₉= 175,0° e C₁₂-C₀₈-C₁₀-C₀₉= 174,3°) que no reagente (diedros de 178,2 e 178,1 respectivamente) e os desvios dos ângulos padrões ao redor do carbono tetraédrico (C₁₁) para o intermediário são menores que os devidos dos ângulos padrões ao redor dos carbonos sp² (C₁₁ e C₁₂) dos substituintes nas posições 1 e 8 do anel no material de partida. Estes ângulos atingem valores críticos a medida que os estados de transição são alcançados, sendo máximos no ET₁, e recuperam seus valores normais quando produto da reação é formado. Assim sendo, a tensão angular imposta pelo empacotamento estérico da molécula faz com que este fator contribua para a constante de velocidade observada da reação. Embora sua magnitude não possa aqui ser calculada, a contribuição deste efeito tem sido estimada por Timothy P.

Curram⁸⁸, comparando a velocidade hidrólise intramolecular de N-alkil e N,N-dialquilamidas derivadas do triácido de Kemp, para ser da ordem de 10^3 . Considerando a reatividade do nosso sistema, $EM \approx 10^{12}$, um fator de aproximadamente 10^9 permaneceria para ser justificado.

O esquema mecanístico inferido pelos cálculos, requer que a formação e a decomposição do intermediário neutro tenha como força diretora a transferência intramolecular de prótons. Neste processo, a orientação adequada dos orbitais sobre os átomos a partir dos quais, e para os quais, esta transferência ocorre é atingida a medida que a reação prossegue. A não existência de um estado fundamental com ponte de hidrogênio intramolecular entre $O_{16}-H_{17}-N_{15}$ exige que todo o fenômeno aconteça em etapas. Vê-se mais ainda, a transferência de prótons acontece por intermédio de estruturas cíclicas do estado de transição que estão bastante tensionadas e elevam a energia da etapa limitante da velocidade aumentando a discrepância entre resultados experimentais e teoria. Contudo, o menos encorajador é que tal mecanismo exigiria um efeito isotópico cinético bem maior que o observado experimentalmente ($k_H/k_D = 1,34$); e embora um mecanismo similar para a reação entre amônia e formaldeído tenha sido descrito recentemente na literatura⁸⁹, este mecanismo tem, em virtude dos fatores acima mencionados, sua importância reduzida para justificar a alta velocidade das nossas reações de hidrólise intramolecular dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos.

Assim, um novo esquema o qual envolve a participação de uma molécula de água no processo de transferência de próton começou a ser investigado. Usando a mesma sistemática descrita anteriormente, foram obtidas as estruturas minimizadas para o sistema composto pelo ácido N,N-dimetilnaftalâmico e água, para seu respectivo intermediário e para o produto da reação de hidrólise, Figura 22.

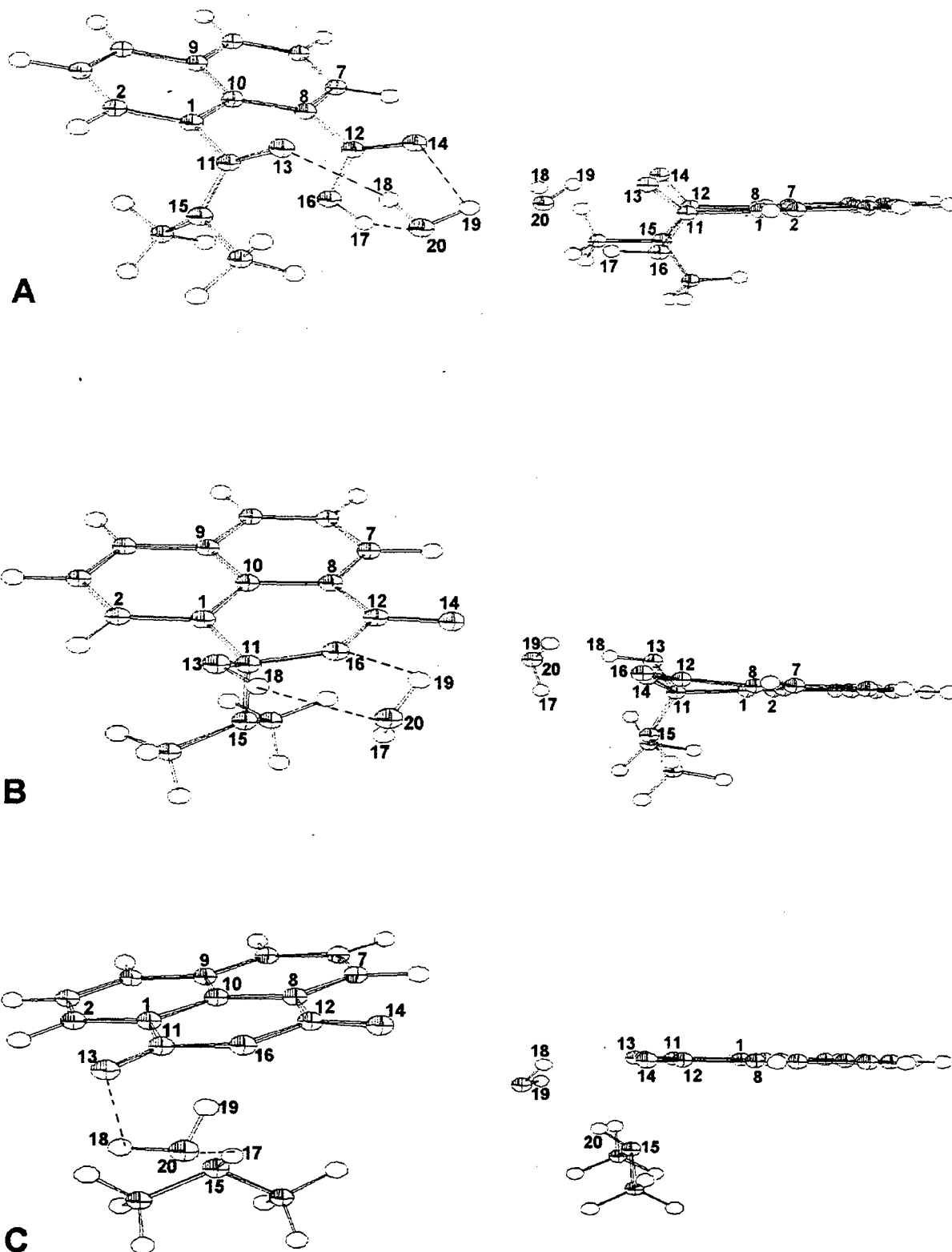


Figura 22: Geometrias otimizadas para o reagente, (A), intermediário, (B) e produto, (C) para a reação de hidrólise de I_a na presença de uma molécula de água. Ao lado encontra-se a respectiva projeção lateral

Pela análise dos parâmetros estruturais da Tabela 14, percebe-se que a presença da molécula de água impõe uma maior distorção à planaridade do anel naftalênico do reagente e os grupos substituintes nas posições 1 e 8

Tabela 14: Parâmetros geométricos das espécies na coordenada da reação de hidrólise de I_a hidratado.

| Parâmetros | Reagente | ET ₁ | IT ^o | ET ₂ | Produto |
|--|----------|-----------------|-----------------|-----------------|---------|
| C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ -C ₀₉ , (°) | -176,2 | 172,4 | 175,1 | 179,2 | 179,8 |
| C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ -C ₀₉ , (°) | -179,9 | 169,4 | 174,2 | 175,2 | 179,8 |
| O ₁₃ -C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ , (°) | 69,9 | 92,0 | 131,0 | 139,4 | 179,7 |
| O ₁₄ -C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ , (°) | -116,8 | -126,0 | -176,2 | 179,6 | 179,7 |
| C ₁₁ -C ₀₁ -C ₁₀ , (°) | 121,9 | 124,3 | 119,3 | 120,3 | 118,6 |
| C ₁₂ -C ₀₈ -C ₁₀ , (°) | 123,0 | 121,0 | 118,5 | 118,6 | 118,8 |
| N ₁₅ -C ₁₁ -C ₀₁ , (°) | 118,6 | 116,7 | 114,6 | 107,3 | 107,1 |
| O ₁₆ -C ₁₂ -C ₀₈ , (°) | 115,1 | 122,7 | 120,6 | 120,8 | 120,1 |
| O ₁₃ -C ₁₁ -C ₀₁ , (°) | 120,6 | 121,4 | 107,8 | 121,1 | 128,4 |
| O ₁₄ -C ₁₂ -C ₀₈ , (°) | 128,0 | 121,5 | 127,8 | 126,5 | 128,3 |
| C ₁₁ -N ₁₅ , (Å) | 1,394 | 1,405 | 1,480 | 1,741 | 2,999 |
| C ₁₁ -O ₁₃ , (Å) | 1,250 | 1,255 | 1,410 | 1,268 | 1,233 |
| C ₁₁ -O ₁₆ , (Å) | 2,751 | 2,333 | 1,466 | 1,449 | 1,388 |
| C ₁₂ -O ₁₆ , (Å) | 1,361 | 1,278 | 1,372 | 1,363 | 1,388 |
| C ₁₂ -O ₁₄ , (Å) | 1,236 | 1,281 | 1,234 | 1,236 | 1,229 |
| O ₁₆ -H ₁₇ , (Å) | 0,979 | 1,864 | 2,251 | 2,459 | 2,505 |
| O ₁₃ -H ₁₇ , (Å) | 3,259 | 2,602 | 3,024 | 2,460 | 2,736 |
| H ₁₇ -O ₂₀ , (Å) | 2,031 | 1,008 | 0,963 | 2,010 | 2,205 |
| H ₁₈ -O ₁₃ , (Å) | 2,156 | 1,990 | 0,976 | 2,084 | 2,195 |
| H ₁₉ -O ₁₄ , (Å) | 2,210 | 1,661 | 2,862 | 2,984 | 3,667 |
| H ₁₈ -O ₂₀ , (Å) | 0,966 | 1,001 | 2,072 | 0,969 | 0,962 |
| H ₁₉ -O ₂₀ , (Å) | 0,963 | 1,048 | 0,962 | 0,964 | 0,964 |
| N ₁₅ -H ₁₇ , (Å) | 3,198 | 3,521 | 2,847 | 1,031 | 1,008 |

têm sua coplanaridade reduzida em relação ao sistema constituído pelo ácido N,N-dimetilnaftalâmico simplesmente (diedros $O_{13}-C_{11}-C_{01}-C_{10}$ e $O_{14}-C_{12}-C_{08}-C_{10}$); porém, as demais características estruturais como comprimentos de ligação e ângulos de ligação quase não sofrem alteração, em relação as mesmas espécies para as quais a molécula de água está ausente.

A planaridade do anel aromático, representada pelos ângulos diedros $C_{11}-C_{01}-C_{10}-C_{09}$ e $C_{12}-C_{08}-C_{10}-C_{09}$, e a tensão angular oriunda da proximidade dos grupos nas posições 1 e 8, representada pelos ângulos $C_{11}-C_{01}-C_{10}$ e $C_{12}-C_{08}-C_{10}$, estão mais comprometidas quando o reagente é convertido ao intermediário neutro da reação. Os desvios na planaridade são de $4,90^\circ$ e $5,80^\circ$ para os respectivos ângulos diedros. Já os ângulos $C_{11}-C_{01}-C_{10}$ e $C_{12}-C_{08}-C_{10}$, iguais a $122,5^\circ$ e $124,0^\circ$ para os carbonos dos grupos amida e carboxílico, assumem valores de $119,8^\circ$ e $118,6^\circ$, respectivamente, quando o grupamento amídico assume hibridização sp^3 ao ser transformado na correspondente carbinolamina, um desvio de dez graus em relação ao valor seu padrão, tornando aparente a maior tensão angular a que está sujeito IT° . Se assumirmos que os ângulo $O_{13}-C_{11}-C_{01}$ e $O_{14}-C_{12}-C_{08}$ determinam a extensão da rehibridização nos carbonos carbonílicos do grupo amida (C_{11}) e do grupo carboxílico (C_{12}) torna-se aparente a modificação estrutural destes a media que o grupamento O-H ataca o carbono carbonílico do grupamento amida para atingir o IT° . Quando o intermediário sofre decomposição formando o anidrido 1,8-naftálico, obviamente, a planaridade do sistema é restituída (diedros $C_{11}-C_{01}-C_{10}-C_{09}$ e $C_{12}-C_{08}-C_{10}-C_{09}$ iguais a $179,8^\circ$) e tensão angular aliviada.

Para avaliar a importância do empacotamento estérico da molécula e reavaliar o processo de transferência de próton na presença da

molécula da água durante a reação de hidrólise, os estados de transição formam encontrados mapeando-se a superfície de energia potencial, a partir do intermediário neutro, quando as ligações $C_{11}-O_{16}$ e $O_{15}-H_{18}$ eram simultaneamente estiradas e as variações de energia em função do comprimento destas ligações anotadas para o ET_1 , Figura 23.

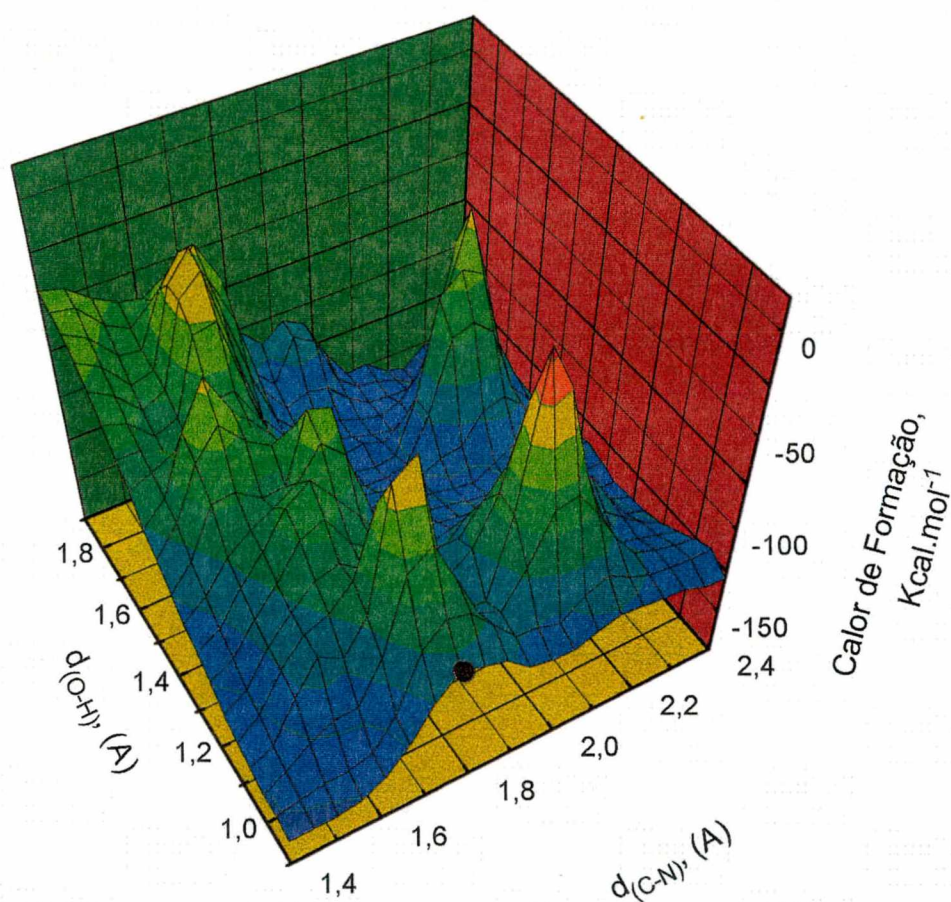


Figura 23: Diagrama de superfície de energia potencial para a obtenção da estrutura do ET_1 .

No caso do ET_2 , após redefinição da matriz que representa a estrutura do intermediário, as variações de energia formam acompanhadas

como função da distância quando as ligações $C_{11}-N_{15}$, no intermediário, e $O_{20}-H_{17}$, na molécula de água, eram estiradas simultaneamente, Figura 24.

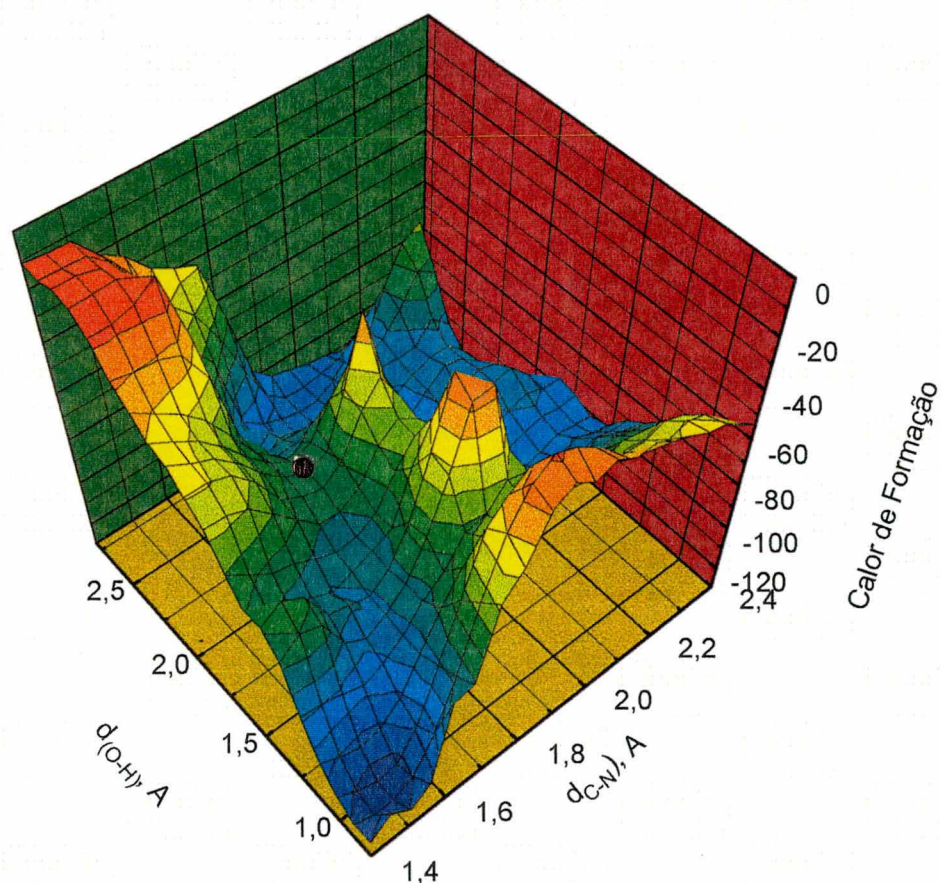


Figura 24: Diagrama de superfície de energia potencial para a obtenção da estrutura do ET₂.

Os pontos assinalados nas Figuras 23 e 24 representam as estruturas aproximadas dos ET₁ e ET₂ que foram refinadas pelo rotina NLLSQ⁶⁷ e confirmadas pela existência de uma única frequência imaginária. A otimização da estrutura dos estados de transição forneceu as geometrias representadas na Figura 25; seus parâmetros geométricos são apresentados na tabela 14.

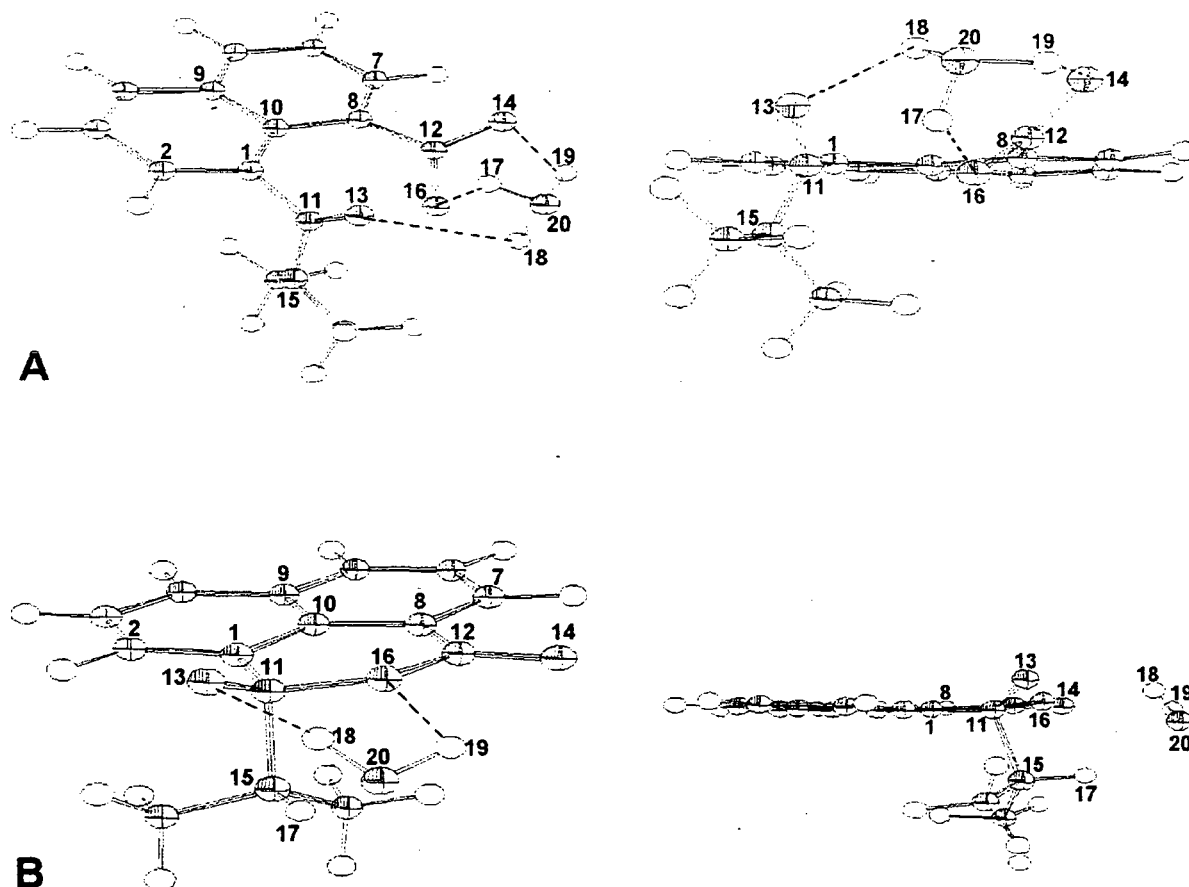


Figura 25: Estrutura do ET_1 , (A), e do ET_2 , (B), para a reação de hidrólise de I_a na presença de uma molécula de água

Os seguintes calores de formação foram encontrados: $-101,422$ Kcal. mol^{-1} para ET_1 e $-107,305$ Kcal. mol^{-1} para ET_2 . Estes dados, juntamente com os calores de formação do reagente, $-135,71$ Kcal. mol^{-1} , e do produto, $-136,46$ Kcal. mol^{-1} , nos conduzem à representação esquemática do perfil de energia para a reação, Figura 26. A partir do diagrama torna-se aparente que a etapa determinante da velocidade para a reação de hidrólise intramolecular na presença de uma molécula de água é o ataque do nucleófilo sobre o carbono carbonílico grupo amida. Portanto, para este esquema mecanístico, podemos concluir que o efeito de tensão angular, se importante, contribuiria

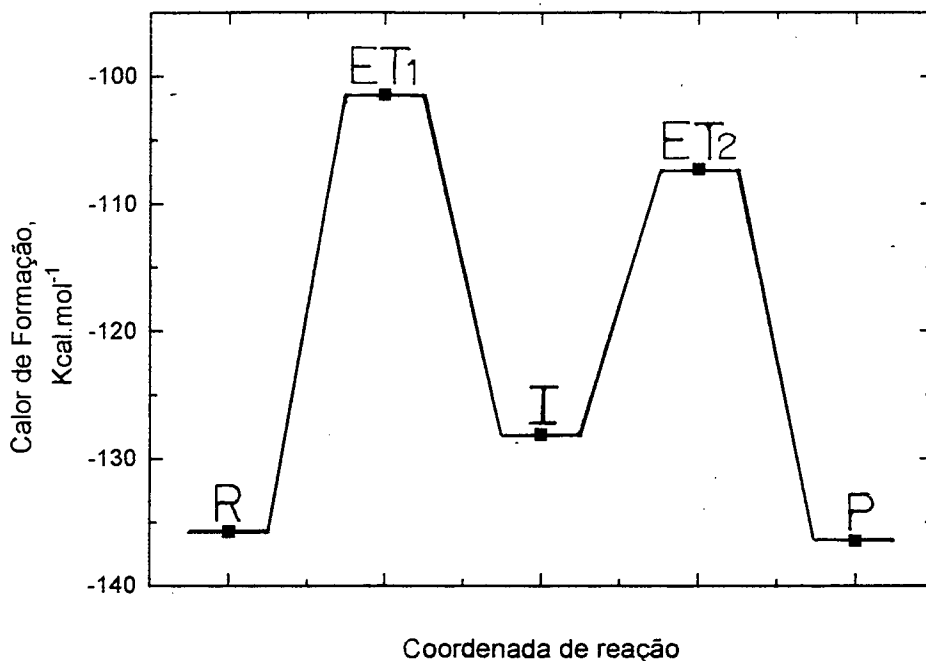


Figura 26: Representação esquemática do diagrama de energia para a hidrólise do ácido *N,N*-dimetilnaftalâmico na presença de uma molécula de água.

de modo a reduzir a velocidade da reação e se o fenômeno está envolvido na reação de hidrólise é, no presente caso, irrelevante. Esta conclusão é respaldada quando comparamos a reação de hidrólise intramolecular do ácido *N*-alquilnaftalâmico com a reação de hidrólise intramolecular dos ácidos *N,N*-dialquilnaftalâmicos. Seguindo a mesma linha de raciocínio desenvolvida durante os estudos de Curram⁸⁸ que, estudando as respectivas amidas secundárias, atribui o aumento de velocidade das reações de hidrólise intramolecular em amidas terciárias derivadas do triácido de Kemp a um efeito de empacotamento estérico da molécula; *a hidrólise do ácido N-butilnaftalâmico é aproximadamente $6,0 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, na região onde a reação ocorre independentemente do pH⁶³; comparando com a velocidade de hidrólise do ácido *N,N*-di-*n*-propilnaftalâmico na mesma região, aquela é 6,6*

vezes mais rápida do que esta; um indicativo de que o alívio de tensão não é dramático no presente caso.

A energia de ativação calculada teoricamente para o diagrama da figura 27 é de $34,29 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ sendo 22 Kcal.mol^{-1} menor que a energia de ativação obtida para o esquema mecanístico no qual a molécula de água não está envolvida e $15,93 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ maior que a energia obtida experimentalmente; valores estes que reafirmam a maior importância do presente mecanismo para a reação estudada. A inspeção das relações geométricas em cada caso, torna aparente a diferença entre os resultados teóricos obtidos; quando a água intercede na transferência de próton o processo ocorre através de um estado de transição menos tensionado, e conseqüentemente mais relaxado, diminuindo a energia total para que a reação ocorra.

Então, o mecanismo de reação que emerge dos nossos cálculos requer, para que a reação se processe, uma transferência de próton intermediada por uma molécula de água. Esta proposição é respaldada por um mecanismo similar, descrito por Xiao Hemming e Li Yumin⁹⁰ durante o estudo da hidratação no mecanismo de hidrólise da nitroureia, com uma energia de ativação bastante similar a encontrada em nossos cálculos teóricos. Além disso, participação da molécula de água assistindo processos de transferência de prótons tem sido alvo de revisão na literatura⁹¹.

Uma vez que não foi observada catálise ácida geral nas determinações experimentais, a transferência do próton para a formação do ET_1 deve ser rápida (não determinante da velocidade) e o baixo efeito isotópico observado ($k_{\text{H}}/k_{\text{D}} = 1,38$) sugere um alto grau de transferência do próton no estado de transição. Os cálculos apresentados, para o mecanismo no qual a migração do próton é assistida pela água, mostram que a transferência

está 70% concluída, o que é condizente com o baixo efeito isotópico cinético observado experimentalmente. A velocidade passaria a ser limitada pela rotação do grupamento carboxílico e posterior ataque deste ao centro eletrofílico. Assumindo-se que a transferência de próton requer, no máximo, 5 Kcal.mol⁻¹ (31) as demais 29 kcal.mol⁻¹ necessárias a hidrólise estão distribuídas entre a rotação e a aproximação dos grupos reacionais para a formação do intermediário.

Notório ainda, é o efeito da presença de uma molécula de água sobre a distância nucleófilo - eletrófilo aumentando-a de 2,595 Å para 2,751 Å permitindo sua maior aproximação (raio de van der Waals \approx 3,0 Å) mas, em ambos casos, esta separação não permite que os grupos reacionais estejam solvatados. Esta desolvatação, junto com uma relação espaço - tempo adequada tem sido usada como fator primário para justificar a grande velocidade das reações em sistema intramoleculares e enzimáticos⁹², podendo ser, em princípio, também responsável pelo grande aumento de velocidade observado em nosso sistema (EM \approx 10¹² M), ou seja, a teoria espaço-temporal parece justificar razoavelmente nossos resultados. Contudo, um fator não apresentado pelo postulado de Menger é a importância do processo de transferência de próton para as reações de hidrólise intramolecular de amidas. Importância esta que é ressaltada quando comparamos as energias de ativação calculadas teoricamente para o mecanismo de transferência intramolecular e para aquele onde a transferência ocorre através da molécula de água. Na verdade Menger, num trabalho onde estuda a auto-troca intramolecular de prótons em aminodissulfonas, sugere que uma relação espaço-tempo adequada é a condição primária para que o fenômeno ocorra a numa velocidade comparável a velocidade das reações enzimáticas, e usa o mesmo critério para diferenciá-lo da catálise básica geral em processos bimoleculares³³, neste caso

porém, o próton em questão já é parte inerente a estrutura molecular. Por outro lado, a reação de hidrólise da amida I_a apresenta um $t_{1/2} = 1,2$ seg., num valor de pH igual a seu $pK_{a_{ap}}$. Já na reação de hidrólise da monoamida derivada da reação entre o triácido de Kemp e a pirrolidina³² o $t_{1/2}$ é de 11,5 seg. também num valor de pH igual ao seu respectivo pK_a e nosso modelo, no qual apenas uma molécula de água intervém na reação de hidrólise é 10 vezes mais reativo que a reação estudada por Menger. Então, nossos resultados reafirmam a importância da transferência de prótons também para as reações de hidrólise de peptídeos, porém para que a transferência ocorra a níveis comparáveis com as reações enzimáticas não é necessário que, especificamente, na estrutura da molécula estejam inseridas todas as relações de “espaço e tempo” julgadas imprescindíveis por Menger. Deste modo, o foco das atenções sobre reações - intramoleculares, modelos para a ação enzimática, deveria estar voltado para a seguinte questão: Como substratos que não reúnem em si condições estruturais suficientes para que determinada reação ocorra sem intervenção de fatores externos, podem tornar-se competitivos com os modelos enzimáticos até então conhecidos?

A resposta, até o presente momento, aponta para a participação de um número reduzido de moléculas do próprio solvente, no presente caso somente uma, selecionadas a partir da natureza geométrica e eletrônica intrínsecas do substrato que, quando necessárias são requisitadas intervindo de forma a propiciar a magnitude de reatividade observada. Este modelo, ainda não batizado por nenhum dos pesquisadores interessados em estudar os fenômenos catalíticos exercidos pelas enzimas, foi proposto como explicação para a ação de Serino-proteases. Para estas enzimas, a exemplo do que ocorre com ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos, não tem sido observada a existência de ligação de hidrogênio intramolecular entre os grupamentos catalíticos do sítio

ativo da enzima livre, ou seja, o nitrogênio do resíduo histidina e o oxigênio do resíduo serina não possuem relações orientacionais, bem como distância, adequadas para a formação de ponte de hidrogênio⁹³⁻⁹⁶. Porém, a complexação com o substrato permite pequenas reorientações por meio da qual a histidina pode ativar o grupo hidroxil da serina e revelar o fenômeno catalítico da enzima. Já no caso das proteinases aspárticas, o ancoramento dos grupos catalíticos no sítio ativo da enzima por ligações de hidrogênio e o impedimento estérico são argumentações contra o ataque nucleofílico direto⁹⁷ e o nucleófilo foi identificado, por medida de deslocamentos químicos no espectro de RMN de ^{13}C ⁽⁹⁸⁾, como sendo uma molécula de água. Contudo, os estudos da auto-troca de O^{18} não decidem entre mecanismo de ataque pela água⁹⁹⁻¹⁰¹ e o mecanismo de ataque direto¹⁰².

À luz do modelo estudado por este projeto, os argumentos acima mencionados deixam claro a importância da pré-associação como força motriz para a orientação dos orbitais dos átomos que constituem os grupos reacionais e a importância da molécula de água durante a formação ou decomposição da acilenzima intermediando todo o processo para a transferência de próton, e não atuando nucleofilicamente.

CAPÍTULO IV

4 - CONCLUSÕES

A reação do anidrido 1,8-naftóico com excesso de diferentes N,N-dialquilaminas produz o respectivo sal de N,N-dialquilamônio do ácido N,N-dialquilnaftalâmico.

As reações de hidrólise dos ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos ocorrem intramolecularmente com participação do grupamento carboxílico em sua forma não dissociada.

O sistema tem sua reatividade associada mais fatores entápicos que a fatores entrópicos.

Um efeito isotópico cinético, k_H/k_D , igual a 1,38 é, de acordo com a literatura, consistente com a participação da molécula de água durante a transferência de próton. Cálculos teóricos reafirmam que os ácidos N,N-dialquilnaftalâmicos são hidrolisados intramolecularmente com assistência de uma molécula de água que promove a transferência de próton necessária ao processo.

A determinação do perfil de reação para a hidrólise intramolecular da super estrutura formada pelo ácido N,N-dialquilnaftalâmico e água mostra que a etapa determinante da velocidade é a saída da amina em sua forma neutra.

As correlações estruturais, quando associadas a reatividade do sistema, indicam que a velocidade com que a reação ocorre não depende de fatores orientacionais e que o alívio da tensão estérica tem pouca relevância para o fenômeno.

CAPÍTULO V

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 - Voet, Donald and Voet Judith, *Biochemistry*. 2nd, John Wiley & Sons, Inc., New York, N. Y. 1995, p. 950.
- 02 - Blow, D. W., *Acc. Chem. Res.*, 1976, **9**, 145.
- 03 - Blow, D. M.; Birktoft, J. J.; Hartley, B. S., *Nature*, 1966, **221**, 337.
- 04 - Storm, D. R.; Koshland, D. E., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1970, **66**, 445.
- 05 - Gandour, R. D. "*Transition States of Biochemical Process*", Plenum Press, New York, N. Y., 1978, p. 529.
- 06 - Storm, D. R. and Koshland, D. E., *J. Am. Chem. Soc.* (1972), **94**, 5805.
- 07 - Storm, D. R. and Koshland, D. E., *J. Am. Chem. Soc.* (1972), **94**, 5815.
- 08 - Dafforn, A.; Koshland, D.E., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1971, **68**, 2463.
- 09 - Benson, S. W.; "*The foundations of kinetics*". Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York, 1960.
- 10 - Bruice, T. C.; Brown, A.; Harris, D. O., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1971, **68**, 658.
- 11 - Menger, F. M.; Glass, L. E., *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 5404.
- 12 - Milstien, S. and Cohen, L. A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 9158.
- 13 - Borchardt, R. T. and Cohen, L. A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 9166.
- 14 - Hillery, P. S.; Cohen, L. A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 2760.
- 12 - Karle, J. M.; Karle, L. L., *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 9182.
- 16 - Danforth, A. W.; Nicholson, J. C., *J. Am. Chem. Soc.*, 1976, **98**, 4275.
- 17 - Menger, F. M.; Venkataram, U. V., *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 4706.

- 18 - Menger, F. M., *Tetrahedron*, 1983, **39**, 1013.
- 19 - Page, M. J.; Jencks, W. P., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1978, **68**, 1678.
- 20 - Kirby, A. J., *Adv. Phys. Org. Chem.*, 1980, **17**, 183.
- 21 - Knipe, J. O., Coward, J. K., *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 4339.
- 22 - Detar, D.F.; Luthra, N. P., *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 4505.
- 23 - Bird, R.; Stirling, C. J. M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1973, 1221.
- 24 - Daform, A.; Koshland, D. E., *Biophys. Res. Commun.*, 1972, **49**, 940.
- 25 - Jencks, W. P., *Acc. Chem. Res.*, 1976, **9**, 425.
- 26 - Aisncough, J. B.; Caldin, E. F., *J. Chem. Soc.*, 1956, 2528.
- 27 - Gold, V.; Satchell, D. P. N., *J. Chem. Soc.*, 1955, 3609.
- 28 - Berson, J. A.; Reynolds, R. D.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1955, **77**, 4434.
- 29 - Russel, G. A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 2977.
- 30 - a) Benesi, A. J., *J. Phys. Chem.*, 1982, **86**, 4926. b) *ibid.*, 1984, **88**, 4729.
- 31 - Sherrod, M. J. and Menger, F. M., *Tetrahedron Letters*, 1990, **31**, 459.
- 32 - Menger, F. M.; Ladika, M., *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 6794.
- 33 - Menger, F. M. and Gabrielson, K., *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 3574.
- 34 - Kekulé, A., *Ann.*, 1872, **162**, 77.
- 35 - van't Hoff, J. H., *Bull. Soc. Chim. France*, 1875, **24**, 295.
- 36 - Barton, D. H. R., *Experientia*, 1950, **6**, 316.
- 37 - de Broglie, *Ann. phys.*, 1925, **3**, 22.
- 38 - Schrödinger, E., *Phys. Rev.*, 1926, **28**, 1049.
- 39 - Glasstone, S., Laidler, K. J. and Eyring, H., "The theory of the rate process", Mc Graw-Hill, New York, 1941.
- 40 - Allinger, N. L., *Adv. Phys. Org. Chem.*, 1976, **13**, 1.
- 41 - Roothaan, C. C. J., *Rev. Mod. Phys.*, 1951, **23**, 69.
- 42 - Hall, G.G.; *Proc. R. Soc. London, Ser. A.*, 1951, **205**, 541.

- 43 - a) Pople, J. A. and Segal, G. A.; *J. Chem. Phys.*, 1965, **43**, S 136. b) *ibid.*, 1966, **44**, S 329.
- 44 - Pople, J. A., Beveridge, D. L. and Dobosh, P. A.; *J. Chem. Phys.*, 1967, **47**, 2026
- 45 - Pople, J. A., Beveridge, D. L., "Approximate Molecular Orbital Theory". McGraw-Hill, New York, N. Y., 1970.
- 46 - Dewar, M. J. S. and Thiel, W., *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**, 4899.
- 47 - Oleari, L.; DiSipio, L. and DeMichaelis, G., *Mol Phys.*, 1966, **10**, 97.
- 48 - Dewar, M. J. S. and Thiel, W., *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**, 4907.
- 49 - Dewar, M. J. S.; Zoebish, E. G.; Healy E. F. and Stewart, J. J. P., *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 3902.
- 50 - Llamas-Saiz, A. L.; Foces-Foces C. and Elguero J., *J. Mol. Struct.*, 1994, **328**, 297.
- 51 - Llamas-Saiz, A. L.; Foces-Foces, C.; Martínez, A. and Elguero, J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1995, **5**, 923.
- 52 - Ford G. P. and Edward R., *Tetrahedron Letters*, 1995, **36**, 3663.
- 53 - Aakeröy, B. Christer, *J. Mol. Struct.*, 1993, **281**, 259.
- 54 - Stewart, J.J.P., *J. Comput. Chem.*, 1989, **10**, 209.
- 55 - a) Dewar, M. J. S.; Healy, E. F. and Y-Yuan, C., *J. Comput. Chem.*, 1990, **11**, 541. b) Stewart, J.J.P., *J. Comput. Chem.*, 1990, **11**, 543.
- 56 - Stewart, J. J. P., Mopac 6.0, Frank J. Seiler Research Laboratory, United States Air Force Academy, CO 80840, USA, 1990.
- 57 - Bruice, T. C.; Benkovic, S. J., "Bio-organic mechanism", New York, N. Y., 1966
- 58 - Fife, T. H., *Acc. Chem. Res.*, 1972, **5**, 264.
- 59 - Bender, M. L., *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 158.

- 60 - Bender, M. L., Chow, Y. L. and Chloupek, F., *J. Am. Chem. Soc.*, 1958, **80**, 5380.
- 61 - Kirby, A. J. and Lancaster, P. W., *J. Chem. Soc. Perkin II*. 1972, **2**, 1206.
- 62 - Aldersley, M. F.; Kirby, A. J.; Lancaster, P. W.; McDonald, R. S. and Smith, C. R., *J. Chem. Soc., Perkin II*. 1974, **2**, 1487.
- 63 - Barros, T. C., Tese de mestrado: "*Formação e decomposição de naftalimidas em solução aquosa: Dependência estrutural e efeito de micelas*". Instituto de química de Universidade de São Paulo, 1991.
- 64 - Handbook of chemistry and physics, 60th edition, CRC PRESS, 1979.
- 65 - Boyd, R. H., in *Solute Solvent Interactions*. ed. by J. F. Cetzee and C. D. Ritchie, 1969.
- 66 - Broyden, C. G., *J. Inst. Math. Its Appl.* 1970, **6**, 222.
- 67 - Weiner, P. K. Ph. D. Dissertation, The University of Texas at Austin, Austin, Texas, 1975.
- 68 - Phillips, W. D., *J. Chem. Phys.*, 1955, **23**, 1363.
- 69 - Breitmaries, E. and Voeltir W., "*Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications*". 3rd ed., VCH, Weinheim, pp. 263 e 320, 1984.
- 70 - Guthrie, J. P., *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, **96**, 3608.
- 71 - Arnett, E. M., *Prog. Phys. Org. Chem.*, 1963, **83**, 4183.
- 72 - Gillespie, R. J. and Birchall, *Can. J. Chem.*, 1963, **41**, 148, 2642.
- 73 - Martin, R. B., *Chem Commun.*, 1972, 793.
- 74 - Kresge, A. J.; Fitzgerald, P. H. and Chiang, Y., *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, **96**, 4698.
- 75 - Williams, A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1976, **98**, 5645.
- 76 - McClelland, R. A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, **97**, 5281.
- 77 - Illuminati, G., Mandolini, L., *Acc. Chem. Res.*, 1981, **14**, 95.

- 78 - Kirby, A. J. and Lancaster, P. W., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1972, 1206.
- 79 - Knipe, J. O. and Coward, J. K., *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 4339.
- 80 - Page, M. I., Jencks, W., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1971, **68**, 1678.
- 81 - Jencks, W. P., "*Catalysis in Chemistry and Enzymology*". Dover Publications, Inc., New York, p. 615, 1987.
- 82 - Brown, R. S.; Bennet A. J. and Slebocka-Tilk, H., *Acc. Chem. Res.*, 1992, **25**, 481.
- 83 - Fife, H. Thomas, *Acc. Chem. Res.*, 1933, **25**, 325.
- 84 - Marcos, E. S.; Maraver, J.J.; Chiara, L. J. and Gomez-Sanchez, A., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1988, 2059.
- 85 - dannenberg, J.J., *J. Phys. Chem.*, 1988, **92**, 6869.
- 86 - Galera, S.; Lluch, J. M.; Oliva, A.; Bertran, A., *J. Mol. Struct.*, 1988, **40**, 101.
- 87 - Tupper, K.; Gajewisk, J.J; Counts, R. W., *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 1991, **236**, 211.
- 88 - Curran, Timothy P.; Borysenko, W. Christopher; Abeleira, M. Susan and Messier, J. Renee, *J. Org. Chem.*, 1994, **59**, 3522.
- 89 - Edgar Ospina, José Luiz Villaveces, *J. Mol. Struct. (Teochem)*, 1993, **287**, 201.
- 90 - Hemming, X. and Yumin, L., *J. Mol. Struct (Theochem.)*, 1995, **333**, 171.
- 91 - Brown, R. S., Bennet A. J. and Slebocka-Tilk, H., *Acc. Chem. Res.*, 1992, **25**, 481.
- 92 - Menger, F. M., *Acc. Chem. Res.*, 1993, **26**, 206.
- 93- Steitz, T. A. and Shulman, R. G.; *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 1982, **11**, 419.

- 94 - James, M. N. G.; *Can. J. Biochem.*, 1980, **58**, 251.
- 95 - Kraut, J.; *Ann. Rev. Biochem.*, 1977, **46**, 331.
- 96 - Marquart, M.; Walter, J.; Deisenhofer, J.; Bode, W. and Huber, R., *Acta Cryst.*, Sect. B, 1983, **39**, 480.
- 97 - James, M. N. G. and Sielecki, A., *J. Mol. Biol.*, 1983, **27**, 299.
- 98 - Rich, D. H.; Salituro, F. G.; Holladay M. W. and Schmidt, in "Conformational Directed Drug Design", ed. J. A. Vida and M. Gordon, Am. Chem. Soc., Washington DC, ACS Symp. Ser. No 251, pp. 211-237.
- 99 - James, M. N. G., Sielecki, A.; Salituro, F.; Rich, D. H. and Hofmann, T., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1982, **79**, 6137.
- 100 - Antonov, V. K.; Ginodman, L. M.; Kapitannikov, Y. V. Barshevskaya, T. N.; Gurova, A. G. and Rumsh, L. D., *FEBS Lett.*, 1978, **88**, 87
- 101 - Antonov, V. K., in *Khimija Proteliswa*, Moscow, 1983, p. 245.
- 102 - Hofmann, T.; Dunn, B. M. and Fink, A. L., *Biochemistry*, 1984, **23**, 5247.