

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICO-QUÍMICA

ESTABILIDADE CINÉTICA E TERMODINÂMICA DE BENZILCOBALAMINA, EM
PRESENÇA DE DETERGENTES.

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE "MESTRE
EM CIÊNCIAS".

VERA LÚCIA AZZOLIN FRESCURA

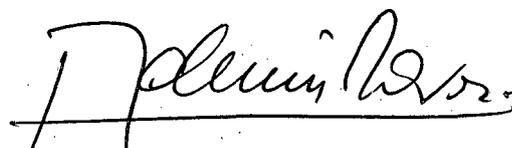
Florianópolis - Santa Catarina - Brasil

Julho/1989.

Estabilidade Cinética e Termodinâmica de Benzilcobalamina, em
Presença de Detergentes.

Vera Lúcia Azzolin Frescura

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do grau de
"Mestre em Ciências", especialidade Físico-Química, e aprovada
em sua forma final pelo orientador e demais membros da banca
examinadora.



Prof. Dr. Ademir Neves
Coordenador

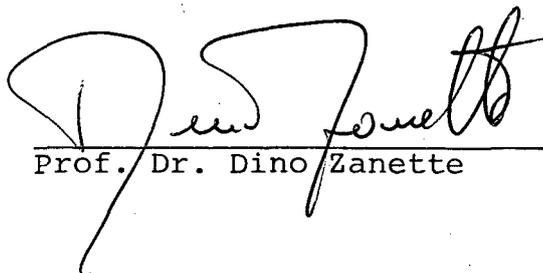


Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera
Orientador

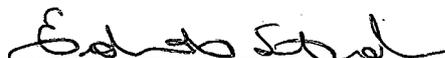
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera



Prof. Dr. Dino Zanette



Prof. Dr. Eduardo Stadler

À minha família e à
Antonieta ("in memorium")

AGRADECIMENTOS

- Ao professor Faruk Nome por sua orientação segura, compreensão e apoio.
- Aos professores Dino Zanette, Hugo Gallardo e Maria da Graça Nascimento pelas valiosas contribuições e estímulo.
- Aos colegas e aos funcionários do curso de Pós-Graduação em físico-química.
- À UFSC, UNISUL, CNPq, CAPES e FINEP.

RESUMO

Foram estudadas as velocidades de decomposição térmica da ligação cobalto-carbono na benzilcobalamina em solução aquosa de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTABr), dodecilsulfato de sódio (SDS), decilfosfato mono e dissódio (NaDP e Na₂DP) em função do pH e da concentração de detergente. O efeito de surfactantes no equilíbrio de protonação para o benzimidazol é aquele previsto baseado nos efeitos eletrostáticos ($pK_a^{app} = 7,0$ em SDS, $pK_a = 4,25$ em água, $pK_a^{app} = 4,0$ em CTABr; $pK_a^{app} = 6,5$ em NaDP e $pK_a^{app} = 9,0$ em Na₂DP).

Foram calculados os parâmetros termodinâmicos de ativação para a decomposição térmica da benzilcobalamina na presença dos diferentes surfactantes a partir dos valores encontrados para as constantes de velocidades específicas de primeira ordem, nas diferentes temperaturas. Enquanto que a entalpia de ativação varia de 4 Kcal/mol, a energia livre de ativação de 2 Kcal/mol e a entropia de ativação varia de 10 cal/mol.K, indicando efeitos compensatórios envolvendo entalpias e entropias de ativação.

O aumento na estabilidade cinética e termodinâmica observado para a benzilcobalamina em presença de micelas catiônicas e aniônicas foi explicado em termos da incorporação dos derivados da vitamina B₁₂ na pseudo fase micelar e reatividade diferencial pelo impedimento da coordenação da molécula de benzimidazol.

ABSTRACT

Rates of thermal decomposition of the cobalt-carbon bond in benzylcobalamin have been studied in aqueous solutions of hexadecyltrimethylammonium bromide (CTABr), sodium dodecyl sulfate (SDS), mono and disodium decyl phosphate (NaDP' and Na₂DP) as a function of pH and detergent concentrations. The effect of surfactants on the protonation equilibrium of the benzimidazole moiety is that expected on the basis of electrostatic effects ($pK_a^{app} = 7.0$ in SDS, $pK_a = 4.25$ in water, $pK_a^{app} = 4.0$ in CTABr, $pK_a^{app} = 6.5$ in NaDP and $pK_a^{app} = 9.0$ in Na₂DP).

The thermodynamic activation parameters for thermal decomposition of benzylcobalamin, in the presence of different surfactants, were determined from the specific first order rate constants at different temperatures. While the activation enthalpy changes 4 Kcal/mol, the free activation energy changes 2 Kcal/mol the entropy of activation changes 10 cal/mol K, indicating a compensation effects between activation enthalpies and activation entropies.

The observed increase in kinetic and thermodynamic stability of benzylcobalamin in anionic and cationic micelles has been explained in terms of incorporation of the vitamin B₁₂ derivative into the micellar pseudo phase and differential reactivity by precluding the coordination of the benzimidazole moiety.

ÍNDICE GERAL

	PAG.
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO I - VITAMINA B ₁₂	2
1. Estrutura.....	2
2. Reações.....	6
2.1 - Alquilação Via Cobalto (II).....	6
2.2 - Alquilação Via Cobalto (III).....	9
2.3 - Alquilação Via Cobalto (I).....	12
3. Mecanismos de Quebra da Ligação Co-C.....	13
3.1 - Fotólise.....	14
3.2 - Termólise.....	18
4. Surfactantes.....	25
4.1 - Concentração Micelar Crítica (CMC).....	26
4.2 - Grau de Ionização "α".....	29
5. Formação de Micelas.....	32
6. Modelos Físicos e Estrutura.....	35
7. Catálise Micelar.....	44
 CAPÍTULO II - PARTE EXPERIMENTAL.....	 49
2.1 - Materiais.....	49
2.2 - Métodos.....	49
2.2.1 - Soluções Tampão.....	49
2.2.2 - Detergentes.....	50
2.2.3 - Parâmetros de Ativação.....	51
2.3 - Métodos Preparativos.....	52
2.3.1 - Obtenção do Composto Benzilcobalamina.....	52
2.4 - Obtenção dos Dados Cinéticos.....	53

CAPÍTULO III - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.1 - Decomposição Térmica da Benzilcobalamina em meio Aquoso.....	56
3.2 - Decomposição Térmica da Benzilcobalamina em Presença de Detergentes.....	60
3.2.1 - Efeito do Dodecil Sulfato de Sódio.....	62
3.2.2 - Efeito do Brometo de Hexadeciltrimetil Amônio(CTABr)	72
3.2.3 - Efeito do Decilfosfato de Sódio(DNaP) na Reação.....	76
3.2.4 - Em Presença do ânion Cianeto.....	82
CONCLUSÃO.....	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	91

ÍNDICE DE TABELAS

PAG.

Tabela I	- Comparação da reatividade de vários complexos de cobalto(II) com haletos orgânicos a 25°C..	8
Tabela II	- Graus de ionização (α) e valores de CMC para diferentes soluções micelares de CTAX.....	31
Tabela III	- Constantes de velocidade observada (k_{obs}) para a reação de decomposição térmica da benzilcobalamina em diferentes pH a 35,0°C.....	97
Tabela IV	- Valores constante de velocidade observada (k_{obs}) em diferentes temperaturas e parâmetros de ativação para a decomposição térmica da benzilcobalamina em solução aquosa a pH = 7,0.....	98
Tabela V	-- Valores da constante de velocidade observada (k_{obs}) para a reação de decomposição da benzilcobalamina em presença de diferentes concentrações de SDS a 35°C.....	99
Tabela VI	- Valores da constante de velocidade da decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de SDS (10^{-2} M) em função do pH à 35°C.....	100
Tabela VII	- Constantes de velocidades a diferentes temperaturas e parâmetros de ativação para a decomposição da benzilcobalamina na presença de SDS (10^{-2} M) em pH = 7,50.....	101
Tabela VIII	- Valores de constante de velocidade da decomposição térmica da benzilcobalamina em função da concentrações de CTABr, a 35°C em pH 7,50.	102

- Tabela IX - Valores de constante de velocidade da decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de CTABr (5×10^{-2} M) em função do pH, à 35°C 103
- Tabela X - Valores de constante de velocidade observadas à diferentes temperaturas e parâmetros de ativação para a decomposição da benzilcobalamina na presença de CTABr (3×10^{-2} M) em pH 7,50..... 104
- Tabela XI - Valores de constante de velocidade observada (k_{obs}) para a decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de diferentes concentrações de DNaP para um pH de 5,50..... 105
- Tabela XII - Constantes de velocidades para a decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de DNaP (20×10^{-2} M) a diferentes pH..... 106
- Tabela XIII- Valores de constante de velocidade observada à diferentes temperaturas e parâmetros de ativação para a decomposição da benzilcobalamina na presença de DNaP (2×10^{-2} M)^a..... 107
- Tabela XIV - Valores de constante de velocidade observada à diferentes temperaturas e parâmetros termodinâmicos de ativação para a decomposição da benzilcobalamina na presença de Na_2DP (2×10^{-2} M).... 108
- Tabela XV - Valores de constante de velocidade observada (k_{obs}) para a decomposição térmica de benzilcobalamina em CTABr (3×10^{-2} M) a diferentes concentrações de cianeto.^a..... 109

Tabela XVI - Valores de constante de velocidade observada (k_{obs}) para a decomposição térmica de benzilco balamina em SDS (5×10^{-3} M) a diferentes con centrações de cianeto. ^b	110
---	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

	PAG.
Figura 1 - Estrutura da vitamina B ₁₂	3
Figura 2 - Algumas propriedades físicas de soluções aquosas de detergente.....	28
Figura 3 - Representação esquemática de um corte na micela de Stigter (a) e na micela de Menger (b).....	38
Figura 4 - Estrutura da micela proposta por Fromherz.....	40
Figura 5 - Estrutura da micela proposta por Flory.....	42
Figura 6 - Espectro UV da benzilcobalamina em tampão fosfato pH 7,5 a 35°C.....	55
Figura 7 - Espectro UV da benzilcobalamina em tampão fosfato pH 7,5 a 35°C, (a) para o t _∞ da reação de termólise; (b) para o t = 0 da reação.....	57
Figura 8 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada para a termólise da benzilcobalamina a 35°C em função do pH, em H ₂ O (x), 10 ⁻² M de SDS (o), 5,0 x 10 ⁻² M de CTABr (o) e 20x10 ⁻² M de NaDP (Δ).....	59
Figura 9 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada para a termólise da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura, num pH 7,0.....	61
Figura 10 - Espectro UV visível da benzilcobalamina (5,0x10 ⁻⁵ M) em pH 10,5, tampão carbonato e 10 ⁻² M de SDS para o tempo inicial da reação.....	63

- Figura 11 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada (k_{obs}) para a reação de termólise da benzilcobalamina em função da concentração de SDS a 35°C e pH 7,5..... 65
- Figura 12 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada (k_{obs}) para a reação de termólise da benzilcobalamina em função da concentração de SDS a 35°C e pH 11,6..... 66
- Figura 13 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco de temperatura na presença de SDS (1×10^{-3} M) pH 7,5..... 70
- Figura 14 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada da termólise da benzilcobalamina em função da concentração de CTABr à 35°C e pH 7,5..... 73
- Figura 15 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura na presença de CTABr (3×10^{-2} M) em pH 7,50..... 75
- Figura 16 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada para a reação de decomposição térmica da benzilcobalamina em função da concentração de NaDP a 35°C e pH 5,50..... 77
- Figura 17 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura na presença de NaDP em pH 6..... 79

- Figura 18 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura na presença de Na_2DP (20×10^{-2} M) pH 12..... 80
- Figura 19 - Espectro UV visível para o t_{∞} da reação de decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de SDS (10^{-1} M) e de íon (CN^-) (0,08 M NaCN).... 83
- Figura 20 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada para a decomposição térmica de benzilcobalamina em função da concentração de cianeto a 35°C na presença de 3×10^{-2} M de CTABr (o) e 5×10^{-3} M de SDS (o)..... 87

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- Bzm - $\alpha,5,6$ dimetilbenzimidazol
- B₁₂a - aquocobalamina
- Vit. B₁₂ - cianocobalamina
- Coezina B₁₂ - 5'-deoksiadenosilcobalamina
- K_{bzm} - Constante de dissociação do benzimidazol
- K_{Co} - Constante de dissociação da benzilcobalamina
- UV - Ultra-violeta
- $\alpha_{\text{máx.}}$ - Valor do comprimento de onda correspondente ao máximo de uma banda de absorção.
- ESR - Ressonância Eletrônica de Spin
- NMR - Ressonância magnética nuclear
- D_{Co-R} - Energia de dissociação da ligação Co-C
- CMC - Concentração micelar crítica
- α - Grau de ionização
- β - Fração de contraíons ligados à molécula
- C_D - Concentração de detergente micelizado
- S - Substrato
- K_S - Constante de associação de substrato à micela
- CTABr - Brometo de hexadeciltrimetilamônio
- SDS - Dodecil sulfato de sódio
- NaDP - Dodecilfosfato monossódico
- Na₂DP - Decil fosfato dissódio
- pK_a^{app} - pKa da benzilcobalamina em presença de detergente
- K_O - Constante de velocidade da reação em meio aquoso
- k_{on} - Constante de velocidade para a reação de decomposição térmica da benzilcobalamina na forma base axial coordenada
- k_{off} - Constante de velocidade para a reação de decomposição térmica da benzilcobalamina na forma base axial não coordenada.

INTRODUÇÃO

O objetivo deste trabalho é estudar a estabilidade cinética e termodinâmica da benzilcobalamina em presença dos surfactantes. Especificamente serão estudados dodecil sulfato de sódio (SDS), brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTABr) e decilfosfato mossódico (NaDP) a vários pH's; buscando avaliar o efeito destes detergentes no pKa para a coordenação do benzimidazol ao cobalto na benzilcobalamina e conseqüentemente na estabilidade térmica da ligação Co-C.

A seguir, far-se-á uma breve introdução sobre alguns tópicos de micelas e da química da vitamina B₁₂ sem nos entendermos muito uma vez tratar-se de assuntos exaustivamente revisados anteriormente:

- a) Vitamina B₁₂ (estrutura; formação e quebra da ligação Co-C).
- b) Surfactantes (Propriedades físicas, α ; CMC; modelos físicos de micelas; catálise micelar).

CAPÍTULO I

VITAMINA B₁₂

1 - ESTRUTURA

A vitamina B₁₂ é um complexo organometálico hexacoordenado, cuja estrutura tridimensional determinada através de difração de raio-x por Crowfoot-Hodgkin, é conhecida hoje com detalhes¹ (Figura 1). Consiste de um íon central metálico Co(III) ligado rigidamente a quatro grupos pirrólicos através dos nitrogênios destes anéis. Os quatro anéis pirrólicos formam um ligante tetradentado macrocíclico denominado de anel corrínico. Nos anéis corrínicos a conjugação não é inteiramente cíclica devido à ausência de uma das quatro pontes metínicas. Aparentemente não apresentam aromaticidade, embora apresentam 14 elétrons π , ($4n+2$ regra de Huckel)^{2,3}. Devido a isso, os anéis corrínicos são quase flexíveis; sendo que esta flexibilidade é limitada estericamente pelos volumes de grupos substituintes (acetamida e proprionamida) ligados em posição β e projetados axialmente ao anel, servindo também de proteção à sensível ligação Co-C de ataques externos. Variações conformacionais em anéis corrínicos devido a alterações na flexibilidade destes, são atribuídas à pressão estérica exercidas pelos substituintes axiais coordenados acima e abaixo do plano equatorial do anel^{4,5}.

Nas cobalaminas, a sexta posição de coordenação é ocupada pela ligação α 5,6 dimetilbenzimidazol (Bzm), um nucleotídeo terminal ligado a uma das cadeias laterais do anel. O ligante da quinta posição pode variar. Assim, para a vitamina B₁₂ é o CN⁻ (cianocobalamina); coenzima B₁₂ o 5'-deoxiadenosina (5'-deoxiade-

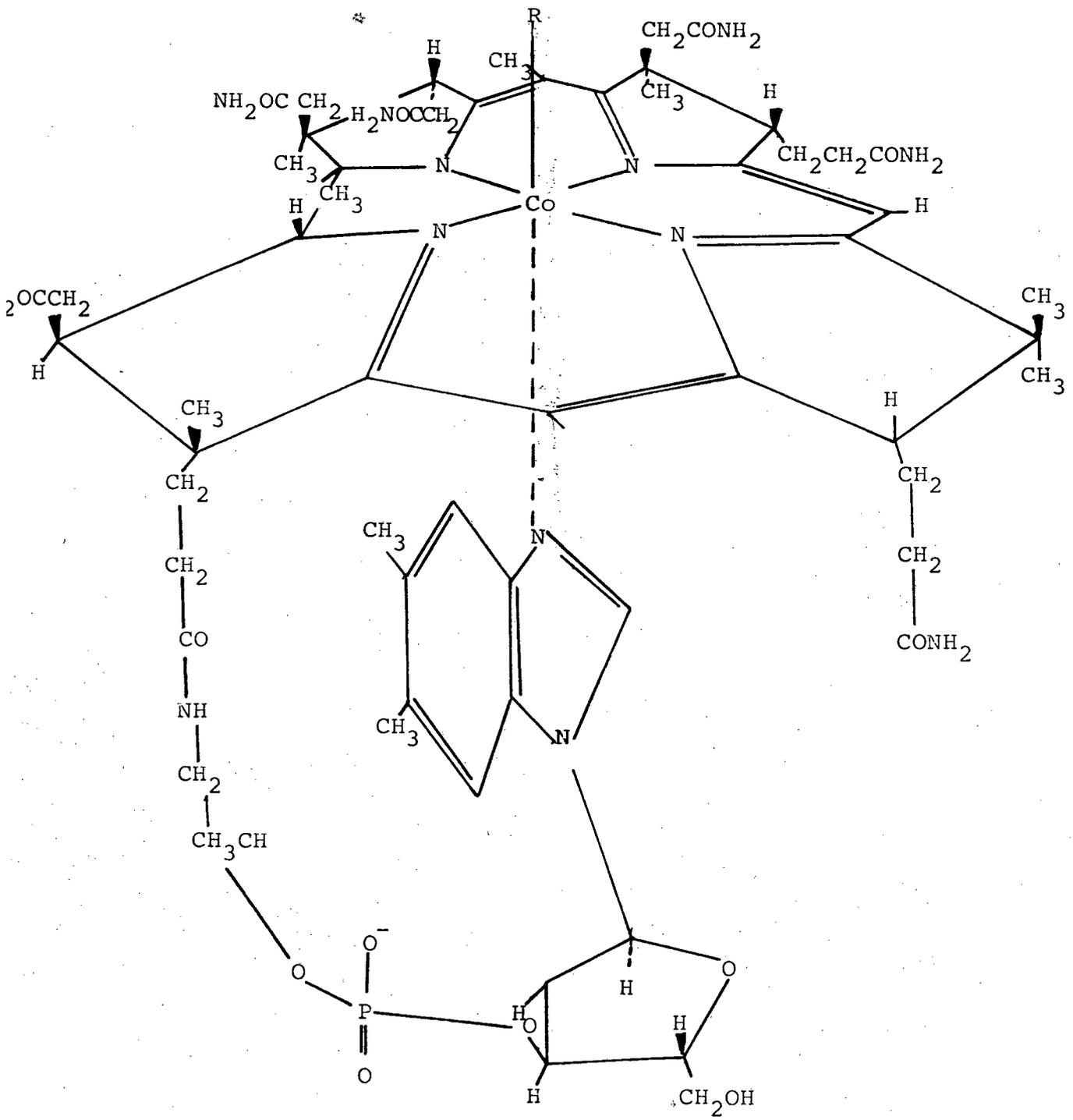


FIGURA 1 - Estrutura da vitamina B₁₂.

nosilcobalamina). Estes ligantes podem incluir um número de grupos alquila (alquilocobalamina); OH; H₂O; acetil...

Nas cobinamidas o nucleotídeo (Bzm) está ausente, e água ou outro grupo substitui a sexta posição de coordenação.

Os cobaltos corrínicos derivados da vitamina B₁₂ através da troca de ligantes axiais, mostram espectros de absorção similares, uma vez que as transições eletrônicas responsáveis pelo espectro provêm do sistema conjugado (anel corrínico) sendo apenas indiretamente afetadas pela variação dos ligantes axiais, e, características mesmo para sistemas corrínicos livres de metal¹². Assim, o espectro corrínico clássico apresenta, absorções típicas na região de UV e visível entre 350-620 nm atribuídas, essencialmente, às transições eletrônicas do tipo $\pi - \pi^*$ entre os orbitais moleculares associados ao anel. A absorvidade molar é alta demais para serem consideradas transições do tipo d-d e muito baixas para serem transições de transferência de carga do tipo metal-ligante ou ligante-metal. Em geral, o espectro apresenta três bandas relativamente fortes, usualmente chamadas de α ; β ; e γ . A banda γ , denominada também de Soret, origina-se de transições ψ_6^7 ou ψ_7^9 e aparece como um sinal intenso que para a vitamina B₁₂ é ao redor de 350 nm. As bandas α e β , que são menos intensas, provenientes de excitações ψ_7^8 aparecem entre 500-550 nm^{3,4}.

O íon cobalto (III) do anel corrínico pode ser reduzido a ambos Co(II) e Co(I)^{4,6,7}.

Através da observação do diagrama dos orbitais moleculares para os três estados de oxidação podemos entender melhor certas propriedades importantes da química da B₁₂, e os métodos para a formação da ligação Co-C destes complexos.

A espécie B₁₂ é diamagnética, apresenta configura

ção octaédrica possuindo o íon Co(III) na sua forma mais estável. Os orbitais 1δ e 2δ são responsáveis pela formação dos orbitais moleculares com os ligantes axiais.

Percebe-se pelo diagrama que a ligação com 2δ , (ligante da quinta posição de coordenação), produz um efeito muito grande nos níveis de orbitais π , e, conseqüentemente acontece uma variação no espectro de absorção. A ligação Co-C para estes complexos é bastante lábil possibilitando reações de trocas de ligantes axiais.

A B_{12}^r é um complexo de baixo spin Co(II) $3d^7$ no qual o íon cobalto apresenta coordenação cinco, numa configuração piramidal quadrática, com o grupo benzimidazol no orbital 1δ . Apresenta magnetismo porque possui um elétron desemparelhado no orbital $3dz^2$. (3,8) É uma espécie intermediária muito reativa, cuja estrutura molecular foi estabelecida, em solução através de técnicas de ESR (Ressonância Eletrônica de Spin). Pode ser identificada como um intermediário pela cor verde-cinza, característica de complexos de Co(II). Devido ao elétron desemparelhado, apresenta a propriedades importante de reagir via radical livre³.

A vitamina B_{12}^s , sob o estado de oxidação Co(I), é diamagnética, com uma configuração que se aproxima de quadrado planar. Possui o orbital dxy vazio e o orbital dz^2 acomodando dois elétrons, o que lhe atribui características de base de Lewis. É classificada segundo a escala de Pearson como um dos nucleófilos mais poderosos.

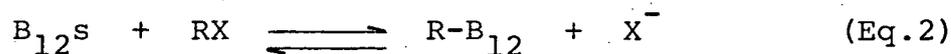
2 - REAÇÕES

A formação da ligação Co-C em organocorrinóides (designados por L_5CoR) pode ser representada através de três processos, partindo dos estados de oxidação possíveis para o átomo de cobalto; Co(III), Co(II) e Co(I) e os correspondentes reagentes orgânicos.

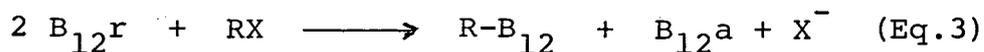
2.1 - ALQUILAÇÃO VIA COBALTO (II)

Devido a existência de um elétron desemparelhado, do ponto de vista puramente químico, a B_{12}^r é uma excelente candidata a reagir com haletos de alquila via radical livre segundo um mecanismo de abstração de halogênio. Apesar de não concordar com o comportamento de outros complexos de Co(II) de baixo spin, tipos como "modelos" de B_{12} , a princípio assumia-se que a vitamina B_{12}^r não reagia diretamente com haletos orgânicos⁹.

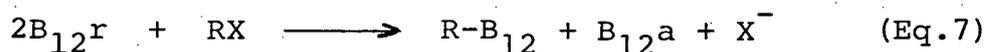
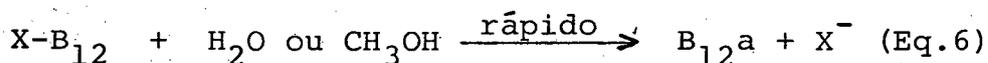
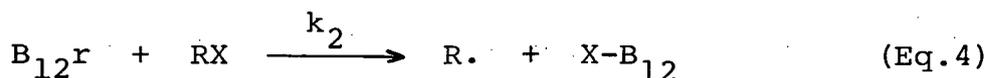
O mecanismo proposto por Yamada⁹ para estas reações consistia numa desproporcionamento de B_{12}^r pelo haleto:



Halpern e colaboradores porém demonstraram que Cob(II)alamina (B_{12}^r) reage diretamente com uma variedade de haletos orgânicos em metanol ou solução aquosa, seguindo uma estequiometria dada por¹⁰:



A reação segue uma lei cinética de segunda ordem e o mecanismo estabelecido é muito semelhante ao proposto para outros complexos de cobalto, onde a etapa determinante é a abstração do halogênio pela $B_{12}r$ para formar $X-B_{12}$ (halocobalamina), que sofre rápida solvólise formando $B_{12}a$ e X^{-} .



Dados cinéticos obtidos em condições comparáveis mostrados na tabela I sugerem que a reatividade da $B_{12}r$ é consideravelmente menor que o $|\text{Co}^{\text{II}}(\text{CN})_5|^{3-}$ e se encontra entre o $|\text{Co}^{\text{II}}(\text{DH})_2\text{B}|$ e $|\text{Co}^{\text{II}}(\text{SALOPH})\text{B}|$.

Para muitos haletos orgânicos em MeOH e brometos e cloretos em solução aquosa do tipo $\text{CH}_2\text{BrCOO}^{-}$, $\text{CH}_2\text{BrCOOCH}_3$, $\text{CHCl}_2\text{COO}^{-}$... as reações procedem através do mecanismo descrito.

Reações da vitamina $B_{12}r$ com iodetos orgânicos, tais como CH_3I , $\text{CH}_2\text{ICOO}^{-}$ e $\text{CH}_2\text{ICONH}_2$ em solução aquosa¹⁰, embora apresentando a mesma relação estequiométrica, exibem comportamento cinético diferentes correspondendo a uma lei de velocidade de terceira ordem. Este comportamento está, claramente incompatível com o mecanismo proposto, envolvendo uma etapa determinante de velocidade bimolecular¹⁰. Também é incompatível com o mecanismo de

TABELA I - Comparação da reatividade de vários complexos de cobalto(II) com haletos orgânicos a 25°C.

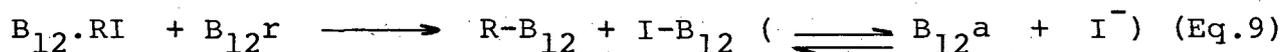
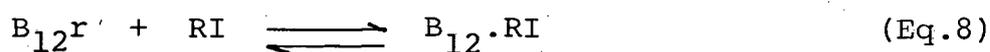
Complexos Co(II)	Solvente	Constante de velocidade de segunda ordem ($k, m^{-1} s^{-1}, a$)		
		p-BrC ₆ H ₄ CH ₂ Br	p-CNC ₆ H ₄ CH ₂ Br	p-NO ₂ C ₆ H ₄ CH ₂ Br
$[Co(CN)_5]^{3-}$	Metanol- água (70:30)	7,5		$1,0 \times 10^2$
$[Co(DH)_2PPh_3]$	Benzeno	$6,1 \times 10^{-2}$	$2,2 \times 10^{-1}$	$3,7 \times 10^{-1}$
Vitamina B ₁₂ r	Metanol	$7,5 \times 10^{-3}$	$1,4 \times 10^{-2}$	$3,4 \times 10^{-2}$
$[Co(SALOPH)PY]$	Cloreto de metileno		$2,9 \times 10^{-3}$	$5,5 \times 10^{-3}$

a - Constante de velocidade (k) definida pela lei de velocidade.

desproporcionamento proposto por Yamada⁹, dado o fato de que a reação não sofre inibição pela B₁₂a.

O mecanismo proposto por Halpern¹⁰ para estas reações, envolve a formação, num rápido equilíbrio, de um complexo B₁₂r.RI, o qual reage com uma segunda molécula de B₁₂r (presumivelmente devido a alta polarizabilidade do iodeto), gerando a alquilcobalamina correspondente e a halcobalamina que sofre solvólise para B₁₂a e I⁻.

Este mecanismo é suportado no fato de que o ácido heptametil Cob(II)irínico forma um complexo estável e estruturalmente caracterizado de fórmula Co^(II).I.Co^(II), o qual após adição de iodeto (e não de Br⁻) numa solução aquosa de B₁₂r sofre uma grande variação espectral (Equações 8 e 9).

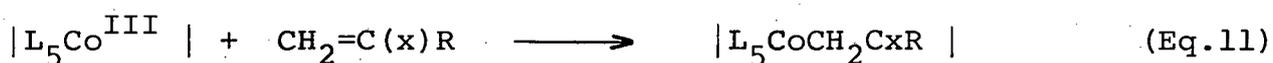


A reação com as formas reduzidas de B₁₂ também acontecem com hidrocarbonetos altamente clorados, incluindo pesticidas tais como DDT¹¹.

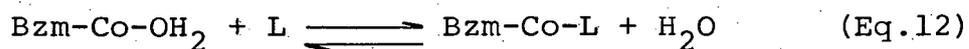
2.2 - ALQUILAÇÃO VIA COBALTO (III)

A alquilação de metais de transições por organolítios ou reagentes de Grignard, é uma reação geral de grande aplicabilidade que tem considerável utilidade como uma rota sintética na preparação de organocobalto¹². Em alguns casos especiais o co

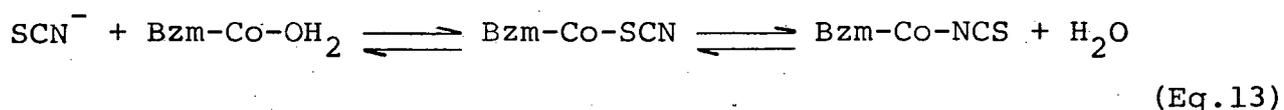
balto(III) pode ser suficientemente eletrofílico para sofrer reações que resultam na substituição direta de ligantes com formação da ligação Co-C; (Equações 10 e 11).



Constantes de velocidade e de equilíbrio para a interação da vitamina B₁₂a, e aquocobalamina (Bzm-Co-OH₂) tem sido determinadas para os ligantes (L) N₃⁻, OCN⁻, SCN⁻, SO₃²⁻, NCO⁻, I⁻, Br⁻, imidazol e glicina, através de uma substituição de ligantes: (Equação 12)



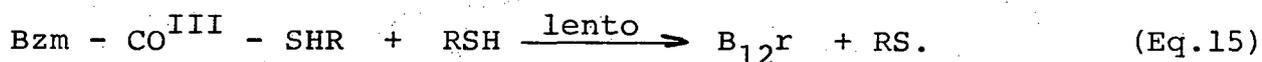
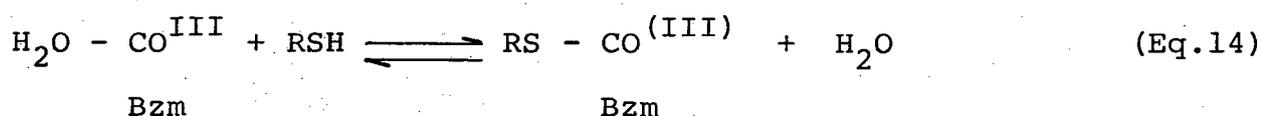
Sendo que para o tiocianato (SCN⁻), apesar de ser conhecido a ligação através do átomo de S em complexos cristalinos, os dados cinéticos implicam que 5-10% da cobalamina existe como Bzm-Co-NCS em solução, o esquema abaixo mostrando a mistura de dois confôrmeros num rápido equilíbrio. A isomerização do complexo é consistente com as investigações cinéticas¹³.



Grupos sulfidril são muito importantes nas enzimas dependentes da vitamina B₁₂. A grande maioria delas possuem um grupo sulfidril como grupo funcional, ou ainda, requerem tióis de

baixo peso molecular como coenzimas (ácido lipóico ou ditroeritritol).

A reação da hidroxocobalamina com glutathiona, na qual o grupo sulfidril é a ponte complexada, como mostra o esquema I, parece ser um protótipo da reação com os tióis em geral, porém, homocisteína, cisteína e mercaptoetanol, convertem hidroxocobalamina em B₁₂r^{15,14}.

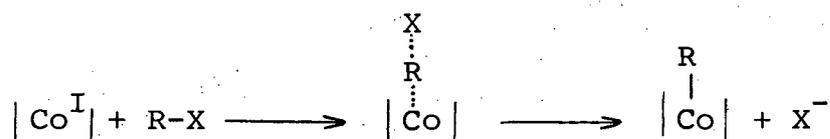


Esta inconsistência no comportamento de compostos de tióis pode ser explicada através de considerações sobre o comportamento dual dos mesmos. Isto é, funcionam simultaneamente como agentes complexantes e redutores.

A complexação é geralmente uma reação rápida. Concentrações relativamente baixas de tiol favorecem a complexação e aumentam potencialmente a estabilidade da mercapto-cobalamina¹⁴.

2.3 - ALQUILAÇÃO VIA COBALTO (I)

Estudos de reações de adição oxidativa ao Co(I) por agentes alquilantes mostrou que a reação resulta na formação de alquilcomplexos, acompanhada da variação do estado de oxidação do cobalto de (I) para (III). Este tipo de reação segue uma lei de velocidade de segunda ordem correspondente a um mecanismo do tipo SN_2 clássico (Esquema II):



Esquema II

A única diferença de uma reação nucleofílica típica é a reatividade excepcionalmente alta da espécie Co(I). Na escala logarítmica de nucleofilicidade de Pearson, um valor de 14 é encontrado para a $B_{12}S$, o que leva a considerar a espécie Co(I) como um supernucleófilo¹⁴.

As velocidades das reações de substituição são muito sensíveis à variações estruturais nos substratos, principalmente no haleto orgânico¹⁷.

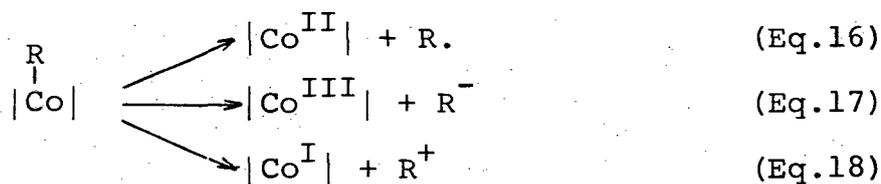
Assim como uma reação típica SN_2 , a velocidade de substituição em reações de vitamina $B_{12}S$, varia com o inverso da força da ligação C-X, seguindo a ordem efetiva do grupo de saída, $I > Br > Cl$.

A substituição do hidrogênio por um ou dois grupos metilas no carbono, ou a substituição de dois ou três grupos metilas no carbono α , produz um grande decréscimo na velocidade,

porém não são afetadas pelo comprimento da cadeia alquílica linear. Assim, os complexos de Co(I) reagem com agentes alquilantes primários formando complexos de n-alquilocobaltos, com haletos de alquilas secundários formam complexos sec-alquílicos e complexos t-alquílicos não são isolados¹⁶.

3 - MECANISMOS DE QUEBRA DA LIGAÇÃO Co-C

Os mecanismos através dos quais as ligações Co-C são quebradas, e os fatores que promovem ou inibem tais clivagens são de grande interesse químico e bioquímico. Três mecanismos limitantes para a clivagem podem ser formulados correspondendo à liberação de Co^{III} , Co^{II} e Co^{I} , (Equações 16, 17 e 18). Sendo que a fissão pode ocorrer através de processo homolítico (Eq.16) ou heterolítico (Eq.17 e 18).



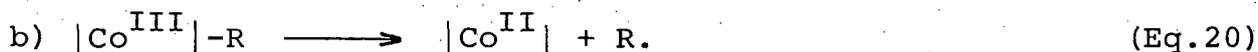
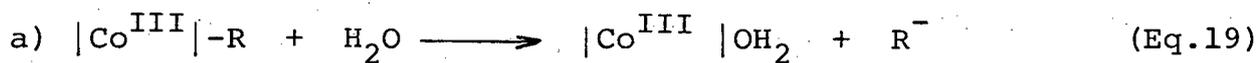
A clivagem homolítica da ligação Co-C é da maior importância em relação a esta dissertação, e pode ser induzida fotoquímica ou termicamente.

3.1 - FOTÓLISE

Muitos corrinóides são sensíveis a luz. Todas as reações fotoquímicas envolvem complexos de Co^{III} e procedem através de clivagem da ligação entre o átomo de cobalto e um dos ligantes axiais. Na realidade, dois tipos de reações fotoquímicas tem sido identificadas:

a) Fotoaquação, na qual o ligante é removido e trocado por água sem variação da valência do átomo de cobalto e,

b) Fotorredução, na qual a ligação entre cobalto e o ligante é clivada homoliticamente para dar um complexo de Co^{II} e um radical ligante.



A fotolabilidade de organocobalaminas é muito conhecida e tem sido estudada extensivamente¹⁸⁻²².

Evidências na formação de radicais livres em composições fotolíticas tem sido investigadas com o auxílio de técnicas de espectroscopia EPR, fotólise de flash e técnicas de captura de radicais livres usando O_2 , 4- HTMPO , homocisteína, cisteína e nitróxido^{18,23-25}.

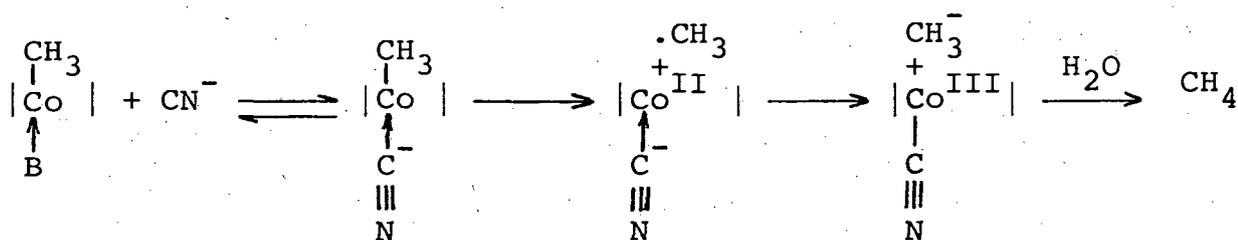
A natureza dos produtos de reações via homólise é determinada por reações secundárias dos radicais formados e suas velocidades são dependentes da eficácia da recombinação, relativamente a outra reação de terminação radicalar. Logo, sob condi

ções estritamente anaeróbicas todas as fotodealquilações se tornam mais lentas .

A fotólise da metilcobalamina em solução aquosa na presença de oxigênio é rápida, produzindo aquocobalamina e formaldeído principais produtos. Traços de metanol, metano e ácido fórmico são detectados^{19,22}.

Sob condições anaeróbicas a velocidade de fotólise para a metilcobalamina é cerca de 1200 vezes menor do que na presença de oxigênio, e metano e etano são formados. O etano surge na maior parte da dimerização do radical metil. Apenas uma pequena percentagem do total produzido provém da abstração de grupos metilas do ligante corrínico por estes radicais. O metano é formado pela abstração de hidrogênio ou redução do radical metil da metilcobalamina.

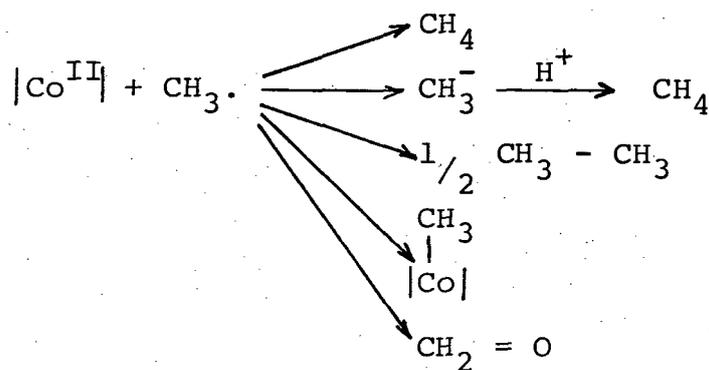
A razão entre metano-etano depende do pH, da natureza da base axial e do solvente. Grupos axiais que interagem fortemente, tais como cianeto, mesmo a baixas concentrações, supprime a formação de etano em favor de metano. Presumivelmente pelo fato da coordenação do cianeto ao átomo de cobalto aumentar a densidade eletrônica deste, favorecendo a redução de radicais metil a carbânios¹⁹ (Esquema III)



Esquema III

Somente o metano é obtido através da fotólise em solventes alcóolicos. A fotólise da metilcobalamina em isopropanol produz Co(I) e pinacol, sugerindo que o radical abstraiu o H^+ do álcool para produzir metano e radicais 2-propanol^{22,19}.

As principais reações de terminação do radical $CH_3\cdot$ são apresentadas no esquema abaixo (Esquema IV)¹⁸.



Esquema IV

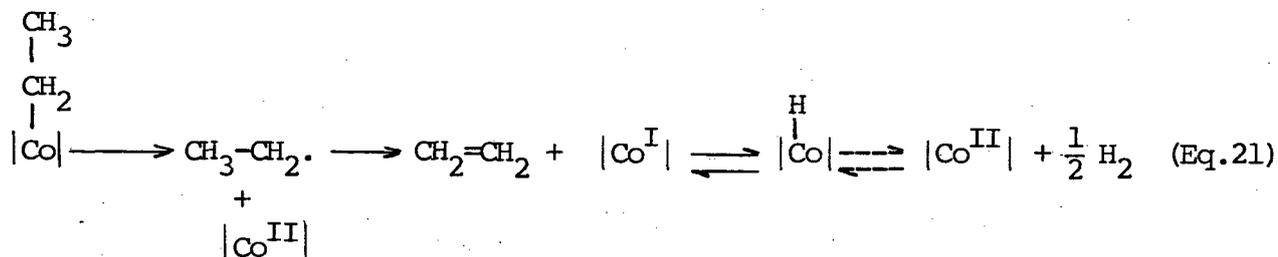
A fotólise de alquilcorrínóides com grupos alquilas mais complexos é semelhante à metilcobalamina.

Na presença de oxigênio, aquocobalamina aldeídos alifáticos são os maiores produtos. A fotólise anaeróbica é mais rápida do que para a metilcobalamina e produz principalmente olefinas.

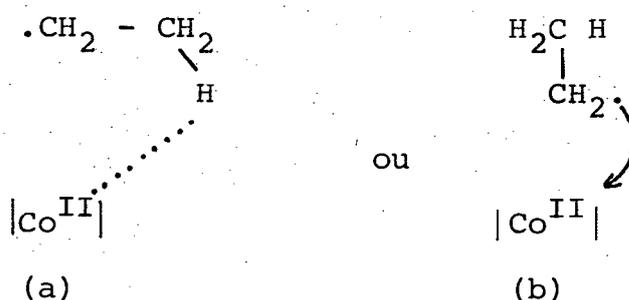
A fotólise anaeróbica da etilcobalamina produz etileno (99 %) mais traços de etano e butano.

Entretanto, em solução 0.1 M de KCN o etano (acima de 70% relativo a etileno) é produzido. Observa-se igualmente um aumento na produção de etano com mercaptoetanol. Em solventes como metanol ou 2-propanol o aumento de etano é relativamente pequeno.

A conversão do radical etil em etileno é acompanhada por uma redução da B₁₂r produzida inicialmente, para Co^I, a qual sob as condições da reação, rapidamente decompõe-se em vitamina B₁₂r e hidrogênio (Equação 21).



A reação de oxidação do radical etil a etileno tem a possibilidade de se efetuar por uma abstração de hidrogênio assistida pelo metal, ou uma desprotonação concertada com transferência de elétron (Esquema V) não é possível distinguir entre os dois mecanismos já que ambos podem ocorrer simultaneamente¹⁹.



Esquema V

Em solução aquosa aeróbica, a neopentilcobalamina sofre rápida fotólise produzindo B₁₂a, neopentano (< 0.1%), isobuteno e produtos contendo oxigênio incluindo o pivaldeído, formaldeído e acetona.

Em solução estritamente anaeróbica, entretanto a fotólise procede suavemente, com somente pequena decomposição ob

servada após uma hora de contínua irradiação. Tal comportamento é também observado com metilcobalamina e é indicativo da eficiente recombinação do radical neopentil com $B_{12}r$.

A benzilcobalamina numa fotólise anaeróbica também produz vitamina $B_{12}r$ com benzaldeído como produto principal, sob condições anaeróbicas, é fotolizada à $B_{12}r$ com uma velocidade menor do que aerobicamente, porém mais rápida do que neopentilcobalamina. Dibenzil e traços de tolueno são detectados como produtos da fotólise¹⁸.

3.2 - TERMÓLISE

A metilcobalamina sólida decompõe-se entre 215-225°C formando quantidades aproximadamente iguais de metano e etano.

A razão de metano/etano depende do tempo. No primeiro estágio da pirólise, mais metano é formado, sugerindo que hidrogênios são consumidos antes que a dimerização do radical torne-se significativa.

A termólise de alquilcobalaminas com grupos alquilas superiores formam principalmente olefinas e pequenas quantidades de alcanos.

Em solução aquosa, na ausência de luz, adenosilcobalamina e metilcobalamina são muito estáveis. O aquecimento de uma solução aquosa destas cobalaminas em pH neutro, sob argônio ou sob oxigênio, a 94°C por períodos acima de 5 horas não afetam seus espectros de ^{13}C , NMR.

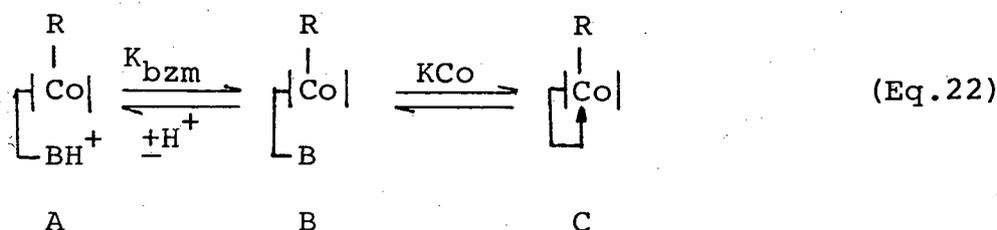
Em contraste, etilcobalamina decompõe-se nestas condições, aquecendo uma solução concentrada de etilcobalamina a 94°C , após 2 minutos, Co^{II} é detectado e uma grande variação é observada nos espectros de ressonância magnética nuclear²⁰.

Os resultados de Schrauzer demonstraram que a estabilidade da ligação Co-C de alquilcobalaminas é determinada primariamente por efeitos estéricos, e secundariamente por fatores eletrônicos indutivos e somente, fracamente por fatores eletrônicos envolvendo o sistema de elétrons π ²⁰.

A estabilidade de alquilcobalaminas secundárias ou com outros grupos volumosos depende fundamentalmente da capacidade da base axial de coordenar com o cobalto^{20,21}.

Alquilcobalaminas secundárias exibem absorção espectral semelhante as alquicobinamidas e existem predominantemente na forma base não coordenada em solução aquosa neutra.

As espécies possíveis em solução são descritas pelo equilíbrio na Equação 22.



As formas A e B podem ser assumidas como tendo água na sexta posição de coordenação e são iso-espectral no visível, diferindo caracteristicamente da forma C por um deslocamento hipsocrômico para a primeira transição inter π (banda α) do cromóforo corrínico²⁰.

A concentração relativa de base não coordenada protonada, base não coordenada desprotonada e formas nas quais a base está coordenada são determinadas pelo pH e a magnitude de K_{Co} (Equação 22). O pK_{bzm} é considerado como 4,9²¹.

Enquanto que geralmente alquilcobalaminas primárias existem na maior proporção na forma base coordenada (C) em solução neutra ($K_{Co} > 1$), todas alquilcobalaminas secundárias acíclicas estão predominantemente na forma base não coordenada (B) ($K_{Co} > 0,05$), como evidenciados por seus espectros idênticos em solução ácidas e neutras²⁰.

Os valores de pKa dependem da natureza do grupo R ligado ao átomo central. Assim as cobalaminas metil, etil, n-propil, n-butil, isobutil, neopentil e benzil possuem os valores de 2,72; 2,87; 3,81; 3,93; 4,20; 4,55 e 4,25 respectivamente^{20,21}.

Quando a base axial está ausente (protonação ou alquilação) a velocidade espontânea de desalquilação diminui várias ordens de magnitude. Este efeito não pode ser eletrônico, desde que a coordenação do N do Bzm aumenta a densidade eletrônica sobre o cobalto e então desfavorece a quebra homolítica da ligação Co-C.

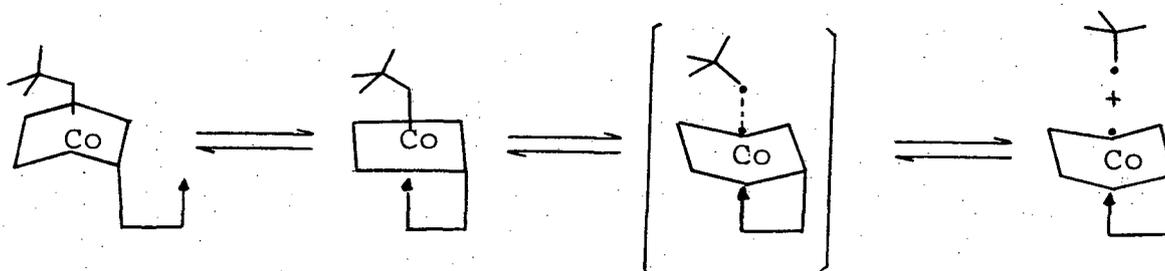
A origem da desalquilação pela coordenação da base axial é evidenciada por dados cristalográficos de corrinóides e compostos relacionados. Estes dados evidenciam distorções configuracionais devidas as pressões estéricas e variações dos comprimentos da ligação Co-N²⁰.

Se o sistema ligante é flexível em ambas as direções do eixo vertical, substituintes alquílicos grandes unidos ao cobalto inclinarão o anel corrinico para baixo. Estas distorções podem ser suficientes para promover a ruptura da ligação en

tre a base axial Bzm e o átomo de Co central fazendo com que as alquilcobalaminas secundárias existam predominantemente na forma de base não coordenada.

A recoordenação do Bzm ao Co causa uma inclinação para cima do anel corrínico, aumentando as interações estéricas repulsivas; isto pode ser imaginado como um efeito mecanoquímico de alavanca, o qual promove a clivagem de ligação Co-C^{20,21}.

A clivagem da ligação Co-C é induzida pelos movimentos do anel corrínico. Como mostra o esquema para a neopen - tilcobalamina (Esquema VI).



ESQUEMA VII

As benzilcobalaminas em solução aquosa neutra decompõe-se à vitamina B₁₂a e produtos de oxidação do radical benzil, principalmente benzaldeído com $t_{1/2}$ de somente cinco minutos à 24°C. Para neopentil o $t_{1/2}$ é um mês.

Sob condições estritamente anaeróbicas, entretanto, a velocidade de decomposição espontânea é muito lenta, após uma hora, a temperatura ambiente, somente 1% de decomposição foi detectável espectroscopicamente. O tempo de meia vida da benzilcobalamina na forma protonada, base não coordenada, é de 7 horas

à 30°C, comparável à benzilcobinamida.

A sensibilidade ao oxigênio de neopentil e benzilcorrinoïdes numa solução aquosa no escuro é tomada como evidência da ocorrência da homólise espontânea da ligação Co-C.

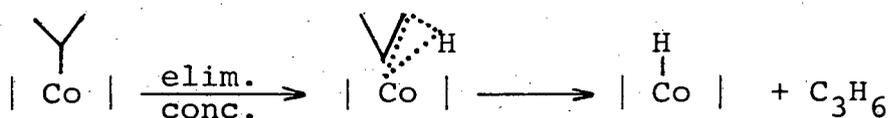
Embora as alquilcobalaminas primárias são normalmente consideradas como estáveis, encontrou-se que a maioria de fato são meta-estáveis, desalquilando-se em solução estoque a temperatura ambiente na ausência de luz. Somente a metilcobalamina não mostrou mudança espectral em solução estoque a pH 7,0, na ausência da luz, por um período de 6 meses e as de número maior de carbonos sofrem decomposição lenta sob as mesmas condições.

Os tempos de vida de algumas alquilcobalaminas são os seguintes: metil (∞); etil (6 meses); n-propil (4-5 meses); n-octil (11 meses); isopentil (anos); isobutil (14 dias); neopentil (75 minutos).

Comparando a série: etil; n-propil; isobutil e neopentil observa-se o efeito crítico do carbono β na labilização da ligação Co-C para uma reação de quebra espontânea.

"Alquilcobalamina secundária com H na posição β decompõe-se espontaneamente sob condições anaeróbicas produzindo B_{12}^s ou hidridocobalamina e olefinas sem rearranjo".. Isto é, 2-alquilcobalaminas produzem predominantemente 1-olefinas.

Este fato sugere um mecanismo intramolecular com certo de eliminação "Syn" (Esquema VII).



Por exemplo, as razões entre os hidrocarbonetos produzidos na decomposição da isopropil, 2-butil e 2-pentilcobalaminas mostram que a eliminação formando olefinas terminais é favorecida²⁰.

A eliminação de propileno da isopropilcobalamina ocorre essencialmente de uma maneira concertada sem a formação intermediária de radical isopropila. Uma vez que o rendimento de propileno é virtualmente independente da presença de oxigênio.

Já para a isobutilcobalamina em solução neutra, o efeito do oxigênio na velocidade de decomposição térmica e no rendimento de isobuteno; mostra que uma fração substancial do grupo alquila pode ser abstraída pelo oxigênio.

Assim, a eliminação β e homólise da ligação Co-C podem ser processos competitivos. Ambos são iniciados pelo estiramento da ligação Co-C. Neopentil e benzilcobalaminas, entretanto, sofrem clivagem homolítica espontânea da ligação Co-C preferencialmente à eliminação β ^{21,25}.

Os grupos neopentil e benzil não são considerados estericamente como típicos grupos alquilas secundários. E, assim como é observado com outras organocobalaminas primárias; neopentil e benzilcobalaminas podem existir parcialmente na forma base coordenada²¹.

Halpern²⁶ encontrou uma relação entre os valores das energias de dissociação, determinadas inteiramente sob considerações termodinâmicas, e das entalpias de ativação, deduzidas através de medidas cinéticas para as reações de dissociação de alquilcobaloximas.

Esta identificação assume uma pequena barreira de energia de ativação para o processo reverso. A recombinação do

Co^{II} com radicais alquilas, sabe-se terem velocidade controladas pela difusão e apresentar uma energia de ativação na ordem de 2 Kcal/mol, o que corresponde aproximadamente a diferença encontrada entre os valores estimados de $D_{\text{Co-R}}$ e ΔH^\ddagger .

Os valores de ΔH^\ddagger medidos para alquilcobaloximas estão numa faixa de 20-23 Kcal/mol. Comparações qualitativas sugerem que as energias de dissociação da ligação Co-C em cobalaminas é menor do que as energias nas cobaloximas correspondentes. Isto é atribuído em grande parte à labilização da ligação Co-C, como efeito da coordenação da base axial (Bzm).

A variação das $D_{\text{Co-C}}$ de alquilcobalaminas incluindo do coenzima B_{12} não excede 20-30 Kcal/mol. O valor estimado para a ΔH^\ddagger de decomposição de benzilcobalaminas é de 15-20 Kcal/mol. (Assumindo $\Delta S^\ddagger \approx 0$ 21).

4 - SURFACTANTES

Surfactantes, detergentes ou agentes tensoativos são moléculas anfifílicas que apresentam em sua estrutura duas partes com propriedades diferentes. Um grupo polar iônico (hidrofílico) e uma parte apolar, hidrocarbonada ou fluorcarbonada hidrofóbica, composta de uma ou mais cadeias lineares ou ramificadas, podendo conter insaturações ou grupos funcionais inseridos.

Dependendo da estrutura química da porção polar ou iônica, os surfactantes podem ser classificados em catiônicos, aniônicos, zwitteriônicos e não iônicos²⁷.

Como exemplo têm-se:

- Catiônicos: $C_{16}H_{33}NMe_3^+Br^-$ Brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTABr)
- Aniônico: $C_{12}H_{25}SO_4^-Na^+$ Dodecilsulfato de sódio (SDS)
- Zwitteriônico: $C_{12}H_{25}NMe_2^+(CH_2)_3SO_3^-$ 3(N,N-dimetil-N-dodecilamônio propano 1-sulfonato)
- Não Iônico: $C_{12}H_{25}(OCH_2CH_2)_6OH$ Monoéter de dodecilhexaoxi etilenoglicol.

Em 1913 Mac Bain explicou as propriedades de soluções de detergentes postulando que sais de ácidos graxos formam agregados dinâmicos e termodinamicamente estáveis em solução aquosas diluídas, que ele chamou de micela²⁷.

A micelização é um processo cooperativo; resultado de forças opostas, a força indutora sendo o efeito solvofóbico em solventes com fortes ligações intermoleculares de hidrogênio. (Ex.: água, 1,2 dióis e ácido sulfúrico). Acima de uma certa concentração chamada concentração micelar crítica (CMC), específica para cada detergente, as moléculas se autoagregam de tal

forma que as cadeias hidrocarbonadas são orientadas em direção ao centro do agregado e os grupos polares para fora.

A repulsão eletrostática e/ou estérica entre os grupos de cabeça é a força que controla o tamanho e a forma da micela²⁸.

As micelas podem ter variadas formas, desde pequenas esferas ou discos achatados até elipsóides alongadas, ou longos cilindros. O número de moléculas de surfactantes na micela, chamado número de agregação, é considerado como sendo fixo, está no intervalo de 50 a 100 monômeros. O tamanho varia geralmente entre 3 e 6 nm de diâmetros e suas propriedades macroscópicas em solução aproximam-se as de uma solução verdadeiramente homogênea. Estas propriedades que podem estar ausentes em dispersões formadas ao acaso ou anfifílicas individuais e estão ausentes em soluções de seus análogos de cadeias curtas²⁹.

4.1 - CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA (CMC)

O uso do termo "CMC" concentração micelar crítica, é inexato. A micelização não ocorre precisamente a uma dada concentração, mas é um processo que ocorre numa faixa estreita de concentração.

O conceito de CMC tem significado mais exato com o modelo de separação de fase para a formação de micela. Este modelo considera a formação de micelas como análogo a uma separação de fases e a CMC é então a concentração de saturação do anfifílico no estado monomérico onde a micela constitui a pseudo fa

se separada. (Prediz uma variação abrupta nas propriedades físico-químicas ao redor da CMC)²⁹.

A CMC é determinada através da variação de uma propriedade física em função da concentração do detergente, uma descontinuidade da curva indica o valor da CMC. Por esta razão diferentes métodos de determinação de CMC podem render valores significativamente diferentes. Mukerjee e Mysels reportaram os vários métodos de medidas da CMC e os resultados obtidos pelo seu uso²⁸.

Algumas das propriedades físicas que tem sido usadas para determinar a CMC são a viscosidade, tensão superficial, condutividade elétrica, força eletromotriz, pH, densidade, calor específico, coeficiente de solubilidade, propriedades óticas e espectroscópicas.

A Figura 2 mostra um diagrama generalizado para tais variações nas propriedades físicas como uma função da concentração de detergentes^{27,29}.

A CMC decresce fortemente com o aumento da parte hidrofóbica dos surfactantes. O decréscimo é logarítmico, sendo mais rápido para surfactantes não iônicos do que para surfactantes iônicos.

Com respeito a grupos de ~~cadeia~~ cadeia polar é um fator decisivo, detergentes não iônicos fornecendo CMC's muito menores que iônicos.

O número de átomos de carbono, n , está ligado diretamente com o logarítmo da CMC pela Equação 23³⁰.

$$\log CMC = A - Bn$$

(Eq. 23)

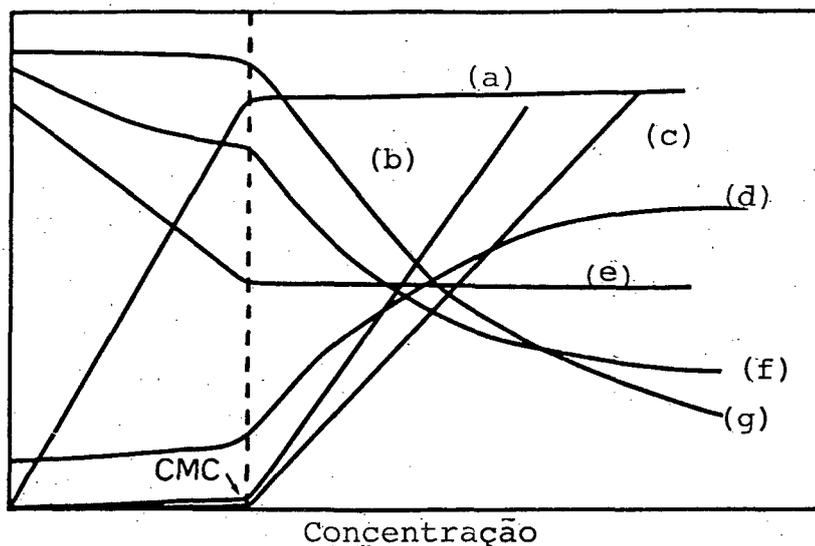


FIGURA 2 - Algumas propriedades físicas de soluções aquosas de detergentes.

- (a) pressão osmótica
- (b) turbidez
- (c) solubilização
- (d) ressonância magnética nuclear
- (e) tensão superficial
- (f) condutância equivalente
- (g) difusão

Onde A e B são constantes.

A presença de grupos polares adicionais, duplas ligações e cadeias laterais tendem a aumentar a CMC.

Surfactantes de cadeias fluocarbonadas tem CMC's mais baixas do que surfactantes hidrocarbonados.

A diferença entre detergentes iônicos, por exemplo catiônicos e iônicos é relativamente pequena.

Similarmente, a CMC varia pouco entre diferentes contra íons monovalentes inorgânicos. Contra íons divalentes apresentam valores menores de CMC.

A adição de eletrólitos reduz fortemente a CMC para surfactantes iônicos mas tem pouco efeito para não iônicos.

A CMC é ainda afetada pela temperatura, pressão e pelos substratos adicionados, sendo mais complexa a influência para micelas carregadas que para não iônicas^{27,30}.

4.2 - GRAU DE IONIZAÇÃO " α "

O grau de ionização micelar (α) de surfactantes iônicos é de grande importância no tratamento quantitativo de catálise e inibição micelar, bem como na forma e tamanho de micelas.

Existem vários métodos para se determinar o grau de ionização micelar (α), baseando-se em experiências de espalhamento de luz, medidas potenciométricas, eletroforeses e condutimetria, sendo definido por:

$$\alpha = 1 - \beta \quad (\text{Eq.24})$$

onde β é o grau de associação de contraíons ou fração de contraíons ligados à micela; e corresponde a razão entre o número de contraíons na micela (m) e o número de monômeros (N) na micela, usualmente varia de 0,6 a 0,9 dependendo do método experimental, tipo de contraíon, surfactante e temperatura.

A determinação do grau de ionização micelar através de medidas de condutividade é feito utilizando-se o método proposto por EVANS, cuja equação simplificada é (Equação 25).

$$\alpha = \frac{S_2}{S_1} \quad (\text{Eq.25})$$

Onde S_2 e S_1 correspondem aos coeficientes angulares das curvas no gráfico de condutância específica concentração molar do detergente, abaixo e acima da CMC.

O coeficiente angular na curva abaixo da CMC (S_1) é devido às contribuições exercidas pelas mobilidades iônicas dos contraíons e monômeros, e o coeficiente angular acima da CMC (S_2) é devido às mobilidades dos contraíons dissociados, monômeros e micelas.

Em geral os valores de α dependem do método utilizado para sua determinação.

O grau de ionização micelar depende da natureza do contraíon, das interações hidrofóbicas, da densidade de carga na superfície da micela, da temperatura, da forma e tamanho das micelas e da adição de eletrólitos.

A tabela II mostra valores de α para diferentes detergentes catiônicos.

Segundo Romsted "somente variáveis que direta ou indiretamente alteram o balanço repulsão eletrostática - atração hidrofóbica podem variar o grau de ionização da micela".

Se o contra íon é do tipo hidrofílico, α cresce com o aumento do tamanho deste, por dificultar o acondicionamento na camada de Stern, e aumentar a energia das interações hidrofóbicas para formar as micelas.

Os valores da tabela II mostram que a sequência em termos de α é: $\text{OH} > \text{Cl} > \text{NO}_3^- > \text{Br}$ para os dados obtidos através

TABELA II - Graus de ionização (α) e valores de CMC para diferentes soluções micelares de CTAX.

Surfactante	α			CMC x 10 ³ M	
	1	2	3	4	5
CTAOH	0,49	0,52	0,70	2,3-3,4	1,8 0,86
CTABr	0,24	0,22	0,25;0,22	0,8	0,9
CTANO ₃	0,36	0,30	0,35	0,9	0,81
CTACl	0,36	0,37	0,5	1,4	1,3
(CTA) ₂ SO ₄	0,35	0,26		0,6	
(CTA) ₂ CO ₃		0,29		0,8	

1 = método eletroforese livre

2 = método de Evans

3 = valores de literatura

4 = método de condutividade específica

5 = valores reportados na literatura

do método de Evans. Os diânions SO₄²⁻ e CO₃²⁻ apresentam valores de α semelhantes àqueles para o Br⁻ e NO₃⁻ indicando que a carga do contraíon não é fundamental na determinação de α .

Para os contraíons que apresentam grupos hidrofóbicos (grupos alquilas) α diminui com o aumento do raio do contraíon, devido à tendência de adicionar os efeitos hidrofóbicos às atrações eletrostáticas entre o contraíon e a superfície da micela³¹.

Em geral, o grau de ionização decresce com o aumento da densidade de carga superficial; ou com o decréscimo da

área superficial por grupo cabeça. O α também decresce com o aumento do comprimento da cadeia numa série de brometos e alquil-trimetilamônio $C_nH_{2n+1}\overset{\oplus}{N}(CH_3)_3Br^-$ com n de 8 à 16; aumenta com o aumento do tamanho do grupo cabeça iônico numa série de brometos de tetradecilalquilamônio $C_{14}H_{28}\overset{\oplus}{N}(C_{n''}H_{2n''+1})Br^-$ com n'' de 1 à 4; e com o comprimento da cadeia alquil variável numa série de brometos de dodecildimetilalquilamônio, $C_{12}H_{25}(C_{n'}H_{2n'+1})\overset{\oplus}{N}(CH_3)_2Br^-$ com n' = 1,2,3,4,8,10.

A variação de α tem sido correlacionada com a variação das áreas superficiais por grupos cabeça; supondo micelas esféricas³².

O grau de ionização é insensível à variação na concentração de surfactantes e sais, exceto para íons muito hidrofílicos como F^- e OH^- , onde α varia em função da concentração de eletrólito e/ou surfactante.

5 - FORMAÇÃO DE MICELAS

O processo de auto agregação serve para eliminar a água de solvatação da interface hidrocarbonada e é um processo que envolve um decréscimo na energia livre do sistema.

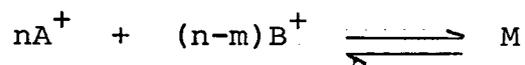
A termodinâmica de formação de micelas tem sido discutida e tratada de maneira extensiva na literatura.

O tratamento teórico do processo da micelização envolve:

a) A aplicação da lei da ação das massas no equilíbrio entre monômeros e agregados;

b) A consideração da micela como fase separada²⁷.

a) LEI DE AÇÃO DAS MASSAS:



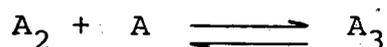
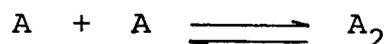
Onde m é igual a concentração do contra íon e A do monômero; B o contra íon e M a micela.

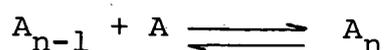
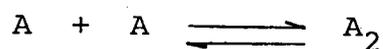
Desprezando os coeficientes de atividade e aplicando a lei da ação das massas, podemos escrever a Equação 25²⁷.

$$K_m = \frac{|M|}{|A^+|^m |B^+|^{n-m}} \quad (\text{Eq. 25})$$

Micelas não são espécies estáticas, mas ao contrário existem num equilíbrio dinâmico. As cinéticas de dissociação de micelas tem sido medidas para muitos surfactantes por técnicas de fluxo detido, saltos de temperatura e/ou pressão. Técnicas de relaxação ultrassônicas, mostram dois tempos de relaxação com escalas de tempos diferentes; um ocorrendo em microsegundos (τ_1) e outro em milisegundos (τ_2).

Os dados tem sido racionalizados assumindo um mecanismo para o equilíbrio monômero-micela envolvendo a formação de micelas em $n-1$ etapas bimoleculares reversíveis:





O processo rápido (τ_1) é a dissociação da micela; corresponde ao despreendimento de monômero e sua subsequente incorporação.

O processo lento, (τ_2) é a dissolução da micela à monômeros e sua subsequente reassociação.

Por este sistema o tempo de vida médio do monômero na micela é de 6×10^{-6} s e o tempo de vida da micela é ao redor de $40-70 \times 10^{-3}$ s.³³

b) MICELA COMO FASE SEPARADA

Este método pressupõe a formação de duas fases diferentes; uma fase micelar acima da CMC e uma fase aquosa a concentrações inferiores que a CMC; com uma concentração e atividade constante de monômeros em solução uma vez que são formadas as micelas.

Este tratamento dá uma boa aproximação da energia livre padrão de micelização (ΔG_{mic}°) de acordo com a Equação 26.

$$\Delta G_{mic}^{\circ} = RT \ln CMC \quad (\text{Eq.26})$$

Em concordância com a relação de Gibbs-Helmholtz, ΔG_{mic}° pode ser separada em seus componentes entálpicos e entrópicos.

$$\Delta G_{mic}^{\circ} = \Delta H_{mic}^{\circ} - T\Delta S_{mic}$$

Para casos onde o número de agregação (N) e α são independentes da temperatura em termodinâmica clássica, ΔH_{mic}° é também dada pela relação:

$$\Delta H_{mic}^{\circ} = -RT^2 \frac{d}{dt} \ln CMC$$

É claro que dada a fraca dependência à temperatura da CMC que a entalpia de formação de micela (ΔH_{mic}°) é próxima a zero. O baixo valor de ΔH implica num grande aumento de entropia a qual é a grande força indutora para a auto associação de surfactantes^{27,29}.

6 - MODELOS FÍSICOS E ESTRUTURA

Vários modelos foram propostos para a estrutura da micela, em solução aquosas diluídas^{35,36,37}.

A micela clássica de Hartley frequentemente mencionada como uma gota de óleo com uma película polar "ou um" sistema de duas fases". Distingue um centro hidrocarbonado, circundado por uma camada polar de grupos cabeça, contra íons e água.

A estrutura da micela proposta por Stigter está esquematizada na Figura 2, como um agregado esférico composto de 3 regiões características: a região hidrofóbica constituída pelas cadeias de hidrocarbonetos, cujo raio aproxima-se do comprimento da cadeia do HC estendidas; a camada de Stern que contém o grupo hidrofílico do detergente, os contraíons e a água de hidratação, com uma espessura aproximada ao diâmetro do grupo polar hidratado; a dupla camada elétrica ou camada de Gouy-Chapman que contém os contraíons dissociados neutralizando a carga residual das micelas.

Entre as características do modelo inclui-se:

- Organização radial das cadeias de surfactantes;
- Pequena penetração de água no núcleo hidrocarbonado;
- Um contato mínimo entre hidrocarboneto e água na superfície micelar.

A validade do modelo clássico de Hartley tem sido seriamente questionada por Menger, pois não satisfaz algumas evidências experimentais de penetração de água e sítios de solubilização para certos compostos²⁹.

Num modelo alternativo, Menger tem deduzido estruturas micelares através de modelos CPK^{35,29}.

Para a micela catiônica de haleto do dedociltrimetilamônio que apresenta um número de agregação de 58 manômeros, Menger mostrou que é impossível ocupar uma esfera com 58 moléculas de surfactantes completamente estendidas num arranjo mais ou menos radial sem produzir enormes cavidades. Se as cadeias são inclinadas para ocupar a cavidade com unidades de hidrocarboneto. Cria-se então, o "modelo cacho de uvas" de Menger, com o se

guinte perfil:

- a) Uma coleção desorganizada de molécula de surfactantes muitas das quais são inclinadas;
- b) Uma superfície porosa micelar com pequenas cavidades ocupadas por água;
- c) A presença de cadeias hidrocarbonadas "manchas graxas" na superfície da micela em contato direto com a água;
- d) Um núcleo central de hidrocarbonetos como na micela de Hartley mas compreendendo uma pequena porcentagem do volume micelar : (15-20%) Figura 3.

A diferença fundamental entre os dois modelos é o extensivo contato água-hidrocarboneto previsto pelo modelo de Menger.

A solubilização de um substrato hidrofóbico na micela de Hartley se processaria como um fenômeno de partição na fase hidrocarbonada. (como em água-heptano). Na micela de Menger a molécula pode ligar-se por três mecanismos: - Troca de água em uma cavidade da superfície da micela; - Ligação hidrofóbica com os hidrocarbonetos expostos; - Associação a uma ou mais cadeias estendidas.

O raio da micela parece ser um pouco maior do que o comprimento da molécula do surfactante estendido, o que condiz com a previsão da existência da cavidade no centro da micela e de alta porosidade.

No modelo de Hartley, o grupo cabeça aparece dentro de; ma blindagem aquosa de alta força iônica; e a camada de Stern pode parecer com uma solução concentrada. No modelo de Menger a cabeça é imersa dentro de uma mistura peculiar de água, hi

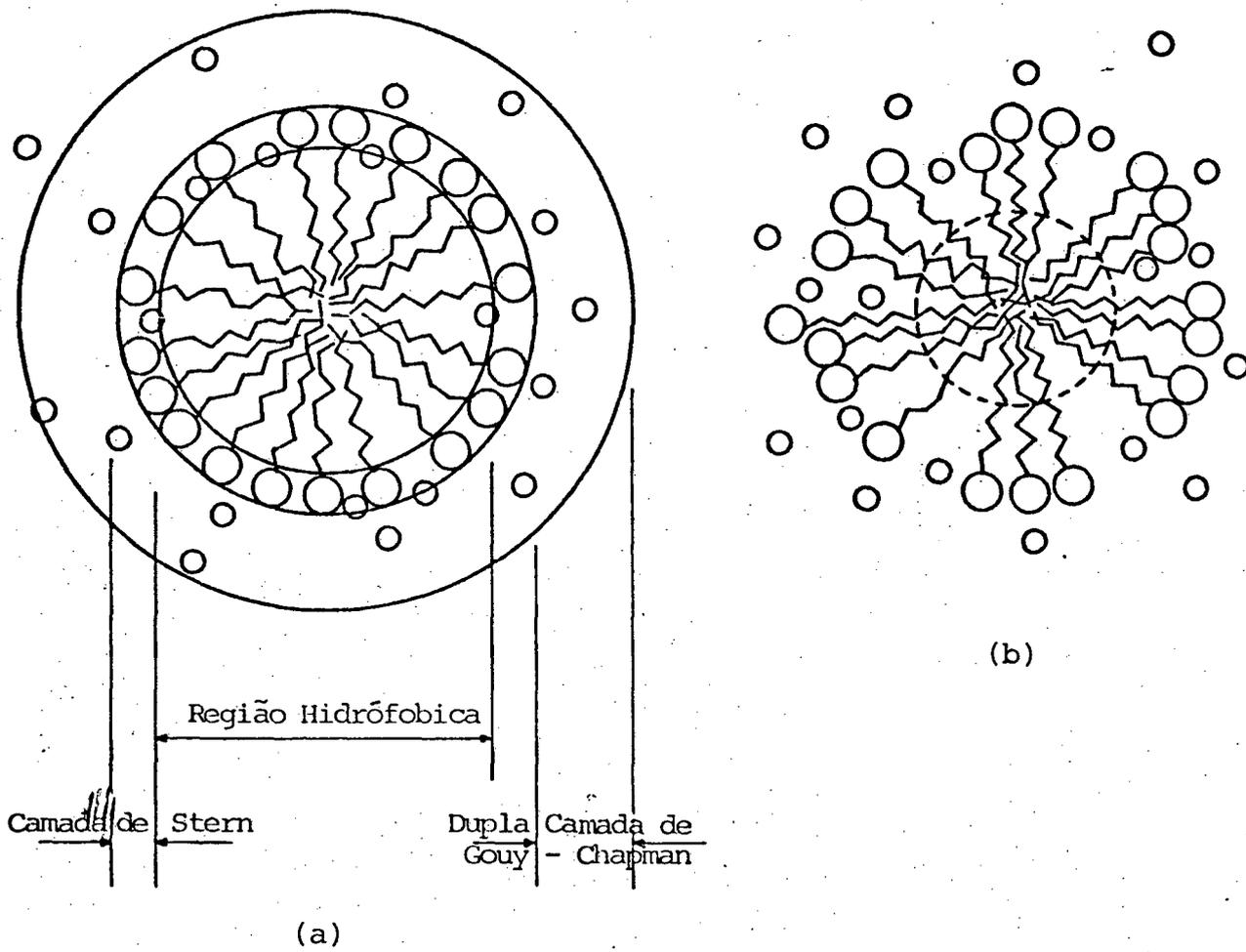


FIGURA 3 - Representação esquemática de um corte na ³⁵ micela de Stigter (a) e na micela de Menger (b).

drocarbonetos e íons. Segundo o modelo de Menger, a importante camada de Stern não deve ser chamada de "camada", mas de "região de Stern". A região de Stern penetra efetivamente dentro da micela e ocupa uma grande porção do volume micelar³⁵.

Um outro modelo micelar foi proposto por Fronherz³⁶ (Figura 4) que chegou a uma estrutura micelar esférica usando modelos moleculares como bastões de madeira representando as surfactantes. A orientação de moléculas de surfactantes na micela paralelamente correlacionadas em subunidades duplas ou triplas; reunidas com os grupos cabeças separados tanto quanto possível, preferencialmente em ângulos retos.

A deformação cubóide garante empacotamento apropriado, com um raio médio excedendo ao comprimento da cadeia hidrocarbonada.

A característica principal deste modelo é a existência de sítios não idênticos para a localização de moléculas, bem como um sítio central com hidrocarbonetos completamente ocultos no núcleo e sítios periféricos tangenciais com grande contato lateral com a água.

Assim como no modelo de Menger, dada a natureza dinâmica da micela, os centros ocupados e vazios estão em um estado de equilíbrio através de rearranjos internos e pela reação associação-dissociação. Fronheltz supõe que todos os carbonos das cadeias hidrocarbonadas apresentam uma exposição transitória à água. Caracterizando um alto grau de contato HC/água.

A micela de Fronheltz é mais organizada, (exagerando na rigidez das caudas hidrocarbonadas) e a de Menger menos organizada que o modelo de Hartley. Uma dificuldade do modelo de Fronheltz é imaginar como o modelo acomoda surfactantes altamen

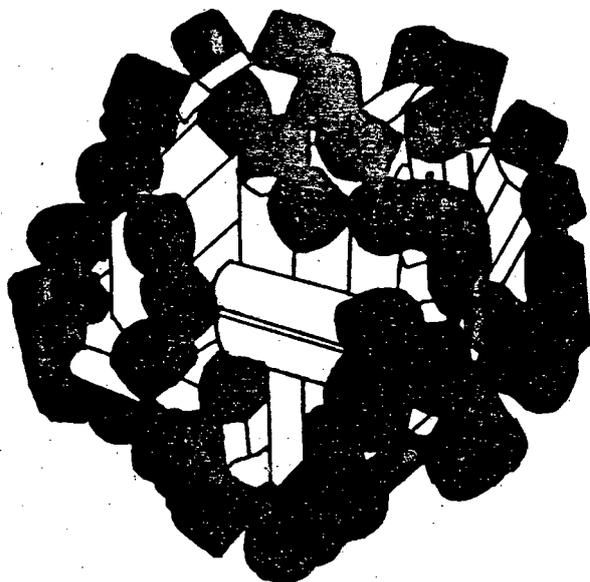


FIGURA 4 - Estrutura da micela proposta por Fromherz³⁶.

te ramificados, que sabe-se, formam micelas muito rapidamente^{36,38}.

Flory³⁸ descreveu a organização de surfactantes em micelas em termos de uma teoria estatística, usando um modelo de rede. A micela é considerada contendo J_1 cadeias, cada qual $n+1$ segmentos conectados por ligações flexíveis. Os segmentos são posicionados numa rede curva tridimensional de tal forma que cada sítio da rede acomoda um segmento de cadeia (Figura 5).

A rede foi construída com espaços radiais de intercamadas constantes e com igual volume para cada sítio da rede.

A representação de rede em termos de configuração é artificial. A função essencial da rede é dividir o volume igualmente em todos os raios. A liberdade configuracional para cadeias alquílicas é grande na superfície externa da micela, desprezando o comprimento da cadeia. Resultando num centro ordenado e uma superfície desordenada na micela. O modelo de rede suporta o postulado de Menger do alto grau de penetração de água no núcleo micelar³⁷.

O modelo clássico não estimava a extensa penetração de água o CPK, o de blocos e o modelo de rede, por outro lado exagera um tanto na extensão de penetração de água.

Uma série de estudos micropolaridade usando moléculas de prova moderadamente polares tem mostrado repetidamente que moléculas de prova e substratos situam-se num ambiente com uma polaridade semelhante a do etanol. Somente moléculas totalmente apolares penetram no centro.

Baseados numa comparação do deslocamento ¹³C RMN do carbono carbonila de aldeídos agregados em diferentes solventes com aqueles observados para hexanal micelar aquoso e brometo de 8-cetohexadeciltrimetilamônio $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CO}(\text{CH}_2)_7\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$ con

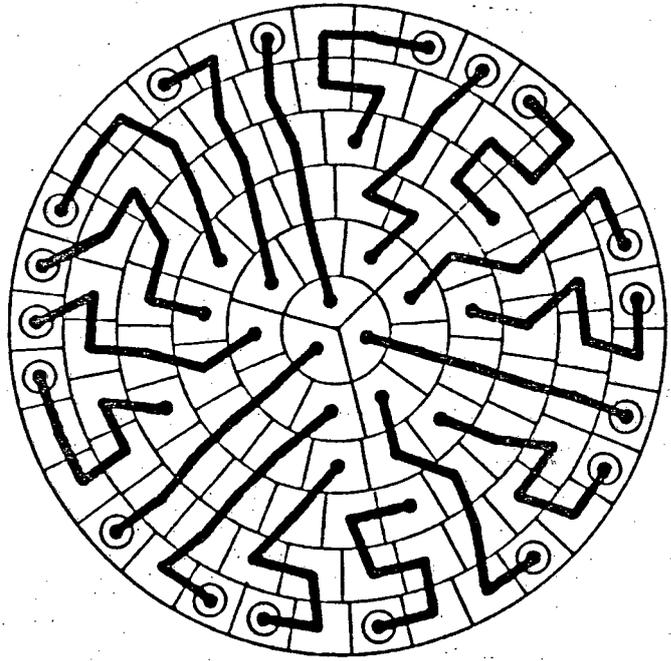


FIGURA 5 - Estrutura da micela proposta por Flory³⁸.

cluír-se que a água penetra cerca de 7 átomos de carbono além do átomo de carbono do grupo cabeça.

"As sondas" utilizadas, são de maneira geral, sistemas multifuncionais; os quais criam a dúvida sobre o quanto eles afetam o meio a respeito do qual eles informam. Na busca de uma "sonda inofensiva" com a qual não se dilacerasse estericamente a estrutura micelar normal, nem arrastasse água para uma região normalmente seca; Menger encontrou que o próton acetilênico em moléculas $RC\equiv CH$ tem um deslocamento químico que corresponde a polaridade do meio, além de ser uma unidade pequena e relativamente pouco polar.

Através da comparação dos deslocamentos químicos de ressonância magnética de prótons, para o H da ligação $C\equiv$ terminal de surfactantes como o $HC\equiv CD_2-(CH_2)_{10}NMe_3^+$; $HC\equiv CD_2-(CH_2)_{10}OSO_3^-$ com diferentes solventes, conclui-se claramente que os hidrogênios acetilênicos no estado micelar exibem deslocamentos químicos muito maior em solventes próticos do que em ciclo hexano e, que a cadeia terminal tem contato com a água por bastante tempo²⁹.

Existe ainda muito o que esclarecer com respeito ao número de agregação, conformação de cadeia, viscosidade interior, sítios de adsorção, penetração de água, e, consequentemente sobre tamanho e forma das micelas.

Os dados experimentais descritos na literatura estão de acordo com um modelo mais ou menos esféricos, onde o núcleo central tem características de um líquido pouco viscoso. O interior da micela é "seco", mas pode ocorrer penetração de água na micela somente até os primeiros 3 ou 4 carbonos.

Não existe consenso na estrutura detalhada da região interfacial de associação de colóides; mas todos contêm gru

pos cabeça anfifílicos alguma fração de contraíons (60-90%), água de hidratação e água livre; parte da cauda hidrocarbonada e alguns aditivos solubilizados³⁸.

Modelos micelares estimulam a experimentação e servem como suporte à racionalização dos fenômenos observadas. Dada as características alusivas; transitórias e flutuantes das micelas, o modelo de Hartley pode ser considerado como sendo uma representação média de várias estruturas dinâmicas. Este modelo persiste, em parte, devido às facilidades com as quais a figura esférica se adapta à cálculos teóricos²⁹.

4 - CATÁLISE MICELAR

Um grande número de reações orgânicas cujo mecanismo é conhecido em solução foram analisadas em presença de micelas. A maioria dos fatores que afetam as velocidades e equilíbrios são conhecidos, no mínimo, qualitativamente.

Estes estudos mostram que as micelas podem modificar de vários modos uma reação química, acelerando ou inibindo a velocidade, modificando a relação de produtos e alterando a estequiometria dos mesmos em comparação com a mesma reação em água ou solventes não aquosos.

A razão entre a constante de velocidade máxima observada em presença de micelas e a constante de velocidade para a mesma reação em água pode alcançar valores de até 10^5 . A reação de benzimidazol e heptanoato de p-nitrofenila é acelerada por um fator de 80000 em CTABr²⁷.

Os fatores responsáveis pelos efeitos de micelas sobre a velocidade de reações químicas podem ser divididos em dois tipos:

- a - A mudança na reatividade do substrato quando passa do meio aquoso para o meio micelar, das interações eletrostáticas entre a carga da superfície da micela e o estado de transição da reação;
- b - O aumento da concentração dos reagentes no meio micelar. A contribuição da concentração no efeito micelar é determinada pela eficiência das interações iônicas e hidrofóbicas entre as moléculas dos reagentes e as micelas. Exercem papel importante na diminuição ou aumento da velocidade da reação na presença de micelas.

Assim, micelas catiônicas catalisam reações de moléculas aniônicas com substâncias hidrofóbicas conduzindo ambos os reagentes ao mesmo tempo para a camada de Stern, e, inibem a reação de moléculas catiônicas com substratos hidrofóbicos devido à repulsão do reagente catiônico.

Da mesma forma, a velocidade de reação entre substratos neutros e espécies catiônicas é aumentada por micelas aniônicas.

Para qualquer reação modificada por micelas a distribuição do substrato entre a fase aquosa e a pseudo fase micelar é determinante do efeito observado.

A transferência dos solutos da água para as micelas é um processo de difusão, e é portanto muito mais rápido do que as reações químicas estudadas³⁸.

Vários modelos matemáticos surgiram com o objeti

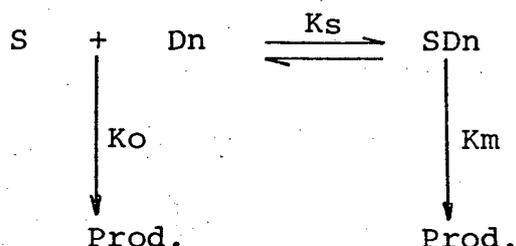
vo de avaliar quantitativamente a reatividade de micelas em reações químicas bimoleculares, e tem sido extensivamente estudados na literatura³⁹.

Uma vez que a reação estudada neste trabalho, é um processo basicamente unimolecular, não desenvolveremos em detalhes estes tratamentos.

O tratamento matemático para obtenção das constantes de velocidades de reações monomoleculares aceleradas por micelas é mais simples do que os processos bimoleculares, porque ocorre somente a incorporação de um reagente à micela. Isto mostra exclusivamente o efeito catalítico do meio micelar oferecendo um sistema mais eficiente para estudar forças hidrofóbicas e eletrostáticas⁴⁰.

Em geral as reações químicas que causam deslocamento de carga ao passar do estado inicial ao estado de transição podem ser substancialmente aceleradas.

O tratamento cinético para catálise ou inibição micelar de reações unimoleculares pode basear-se no esquema abaixo³⁹.



onde:

K_s = constante de ligação do substrato na micela;

Dn = surfactante miscelizado;

S = substrato;

k_o = constante de velocidade da reação na fase aquosa;

k_m = constante de velocidade na fase micelar.

A concentração de detergente micelizado D_n é dada pela equação:

$$D_n = D_T - CMC \quad (\text{Eq.26})$$

D_T = concentração total de detergentes

A constante de velocidade de primeira ordem observada ($k\psi_m$) é usualmente expressa pela Equação 27:

$$k\psi_m = \frac{k_m D_n K_s + k_o}{1 + K_s D_n} = \frac{k_m S_b + k_o S_f}{S_T} \quad (\text{Eq.27})$$

Onde S_f ; S_b e S_T correspondem a concentração analítica de substrato livre, ligado e total. Na equação acima K_s é dado por:

$$K_s = \frac{S_b}{S_f D_T} \quad (\text{Eq.28})$$

A equação 27 prediz um aumento para $k\psi_m$ para concentração de surfactantes maiores que a CMC até alcançar um valor constante quando $K_s D_n \gg 1$ e $k_m k_s D_n \gg k_o$, nestas condições a equação 27 é simplificada para $k\psi = k_m$.

Combinando a equação 27 com a equação 26 temos:

$$\frac{1}{k_0 - k} = \frac{1}{k_0 - k_m} + \frac{1}{k_0 - k_m} \left(\frac{1}{K_S (D_T - \text{CMC})} \right) \quad (\text{Eq. 29})$$

Que nos permite o cálculo de k_m e K_S (prevendo que N é conhecido), através do gráfico de $\left(\frac{1}{k_0 - k_m} \right)$ vs. $\left(\frac{1}{D_T - \text{CMC}} \right)$, e tem sido aplicada a um grande número de reações⁴⁰.

CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - MATERIAIS

Os produtos químicos utilizados neste trabalho foram: cianocobalamina, metanol, brometo de amônio, éter etílico, clorofórmio, ácido clorídrico, fenol, hidróxido de sódio, dodecil sulfato de sódio (SDS) e cianeto de sódio são de procedência Merck. A hidroxocobalamina foi doada pela Ind. Quim. SQUUIB, São Paulo. O ácido monodecilfosfórico foi cedido pelo professor Dr. Dino Zanette⁴², e os demais produtos químicos são de procedência: cianeto de potássio e zindo em pó (Carlo Erba); brometo de benzila (BAKER), brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTABr), carbonato e bicarbonato de sódio (Aldrich); fosfato de sódio monobásico (QUEEL); nitrogênio gasoso da White Martins.

2.2 - MÉTODOS

2.2.1 - SOLUÇÕES TAMPÃO

A água utilizada para preparar as soluções tampão era bidestilada, fervida e esfriada sob nitrogênio para eliminar o dióxido de carbono.

O tampão fosfato era preparado a partir de uma solução aquosa 0,01 M de NaH_2PO_4 e o pH era ajustado com solução de hidróxido de sódio. Foi utilizado no intervalo de pH 6-8.

O tampão carbonato era preparado com carbonato de sódio NaHCO_3 (6,5 g) e bicarbonato de sódio Na_2CO_3 (13,2 g) para cada litro de solução e utilizado no intervalo de pH 9-11. O tampão acetato era preparado a partir de solução 0,01 M de ácido acético e hidróxido de sódio e utilizado na faixa de pH 4-6.

As medidas de pH (pHmetro B 222 da Micronal) das soluções padrões de calibração e das soluções tampão foram realizadas à temperatura ambiente aproximadamente 25°C , salvo as que se referem aos experimentos com os surfactantes decilfosfato mono e dissódico que foram medidas à 35°C . O aparelho foi calibrado previamente para valores de pH 4; 7 e 9.

2.2.2 - DETERGENTES

O brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTABr) usado foi purificado mediante recristalizações sucessivas em acetona/etanol (80/20)⁴³.

O dodecilsulfato de sódio (SDS) foi purificado por extração com éter etílico em um aparelho tipo Soxhlet e recristalizado em acetona .

A pureza dos surfactantes foi controlada através de medida de CMC por tensão superficial, usando um tensiômetro Fisher-Dü Nüy modelo 20. O método consiste em determinar a tensão superficial de solução de CTABr e SDS em água numa faixa de concentração de 0,1 CMC até 2,0 CMC aproximadamente. Os valores de CMC encontrados de 9.2×10^{-4} M e 8×10^{-3} M para o CTABr e SDS, respectivamente^{43,44}.

O decilfosfato monossódico (NaDP) foi obtido atra

vês de neutralização do ácido decilfosfórico dissolvido em metanol, com quantidades apropriadas de uma solução padrão de NaOH 1 M. A temperatura da solução metanólica foi mantida entre 40-50°C durante a titulação. O decil fosfato monossódico (NaDP) foi purificado através de duas recristalizações sucessivas em hexano⁴⁵.

As soluções de decilfosfato dissódico (Na₂DP) foram preparadas por neutralização do NaDP com uma quantidade equimolar de uma solução padrão de NaOH 1 M. As medidas de CMC para os detergentes NaDP e Na₂DP através de condutividade num condutímetro modelo B-812 da Wiss-Techn. Werskstätten com eletrodo de platina, a 35°C. O condutivímetro era calibrado com solução padrão de cloreto de potássio 0,02 N. Todas as soluções em que foram medidas as condutividades foram preparadas com água deionizada e destilada. Os valores da CMC obtidos foram (3,85 x 10⁻² M) para NaDP e 0,107 M para Na₂DP). Estes valores são concordantes com a literatura⁴⁵.

2.2.3 - PARÂMETROS DE ATIVAÇÃO

As energias de ativação de Arrhenius foram calculadas a partir das constantes de velocidades observadas em diversas temperaturas utilizando a equação de Arrhenius⁴⁶.

$$\ln k_{\text{obs}} = \frac{-E_a}{RT} + \text{cte.} \quad (\text{Eq. 30})$$

Os parâmetros de ativação: ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger e ΔG^\ddagger foram calculadas a partir das equações 31, 32 e 33 respectivamente:

$$\Delta H^\ddagger = E_a - RT \quad (\text{Eq. 31})$$

$$\frac{\Delta S^\ddagger}{4,576} = \log K_I - 10,753 - \log T + \frac{E_a}{9,576 T} \quad (\text{Eq. 32})$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad (\text{Eq. 33})$$

2.3 - MÉTODOS PREPARATIVOS

2.3.1 - OBTENÇÃO DO COMPOSTO BENZILCOBALAMINA

Este composto foi preparado na ausência de luz para evitar a decomposição por fotólise. A câmara de reação consistia de um tubo de ensaio envolvido em papel escuro.

Utilizou-se 50 mg de vitamina B₁₂ em 7 ml de brometo de amônio a 5% em metanol absoluto. O tubo de ensaio é fechado com um septum de borracha com entrada e saída para gás e purgou-se a solução com nitrogênio por aproximadamente 20 minutos.

Em seguida acrescentou-se 500 mg de zinco em pó (a passagem de nitrogênio não deve ser interrompida durante todo o processo) e, em pouco tempo notou-se a formação de vitamina B₁₂ (s). (Solução verde escura característica de CoI).

Adicionou-se 0,1 ml de brometo de benzila, produzindo a imediata formação de benzilcobalamina (composto vermelho alaranjado característico de Co^{III}). A passagem de nitrogênio

nio contínuo por alguns minutos para assegurar a formação este quiométrica de benzilcobalamina.

O zinco em excesso foi removido por centrifugação e a solução sobrenadante contendo a benzilcobalamina foi transferida para um funil de separação contendo 20 ml de HCl 1 N.

Acrescentou-se um volume mínimo da mistura fenol/clorofórmio 1:1 (V/V) e agitou-se a solução, a benzilcobalamina nestas condições passa para a fase fenólica. Adicionando o éter etílico à benzilcobalamina precipita na forma protonada, sendo separada por centrifugação.

A benzilcobalamina assim obtida, foi lavada três vezes com éter gelado. Adicionou-se 1 ml de uma solução 0,1 N de HCl e armazenou-se no freezer; na ausência de luz e sob atmosfera de nitrogênio⁴⁷.

O espectro da benzilcobalamina preparada desta forma está na Figura 6, sendo idêntico com aquele reportado na literatura⁴⁸.

2.4 - OBTENÇÃO DOS DADOS CINÉTICOS

As corridas cinéticas e os espectros de absorção foram obtidos em cubetas de quartzo com caminho ótico de 1 cm, em compartimento termo statizado de um espectrofotômetro UV-Visível Shimadzu UV-210 - Acoplado a um registrador Shimadzu modelo U-135.

As constantes de velocidade observadas foram determinadas acompanhando-se o desaparecimento da benzilcobalamina

($5,0 \times 10^{-5}$ M) em 433 nm. Todas as corridas cinéticas foram realizadas em condições de primeira ordem.

Os dados de variação de absorbância em função do tempo eram coletados num microcomputador TK 3000 IIe micridigital usando um conversor analógico/digital modelo MQ-8/8-AP da Microquímica e processados através de um programa de tratamento de dados cinéticos que utiliza um método de regressão linear interativo. As constantes de velocidade observadas, assim obtidas apresentavam erro menor do que 2%.

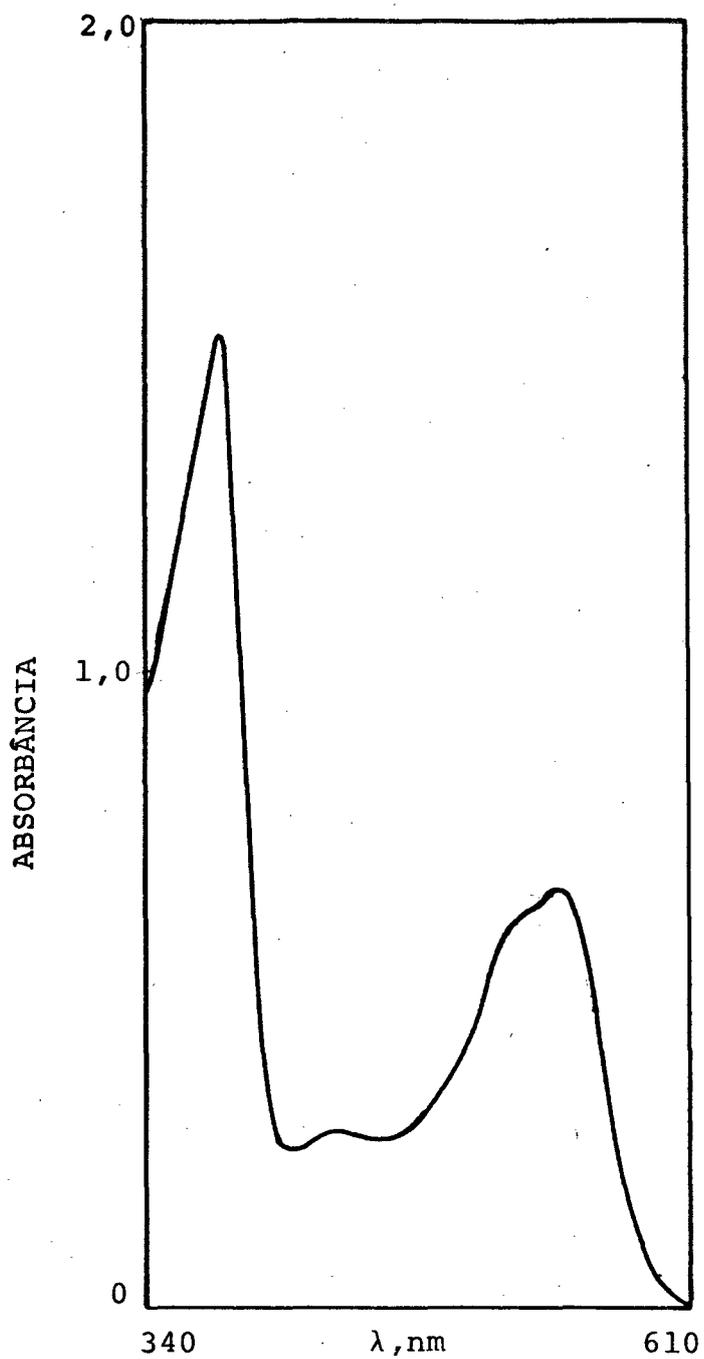


FIGURA 6 - Espectro UV-Visível da benzilcobalamina aproximadamente $5,0 \times 10^{-5}$ M em solução tampão de fosfato pH 7,5 à 35°C .

CAPÍTULO III

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA DA BENZILCOBALAMINA EM MEIO AQUOSO

A Figura 7 descreve a mudança espectral que ocorre na solução durante a reação de decomposição térmica da benzilcobalamina. O espectro no tempo infinito da reação sendo idêntico ao da vitamina B₁₂a. Estes resultados são coincidentes com os reportados por Sabóia⁴⁹ e Scharuzer^{20,21} e confirmam que os produtos da reação de termólise em presença de oxigênio são B₁₂a e benzaldeído.

A velocidade de decomposição térmica da benzilcobalamina (I) foi determinada em soluções aquosas de diferentes pH a 35°C. A reação segue uma cinética de primeira ordem. Os resultados obtidos estão contidos na Tabela III e apresentados num gráfico de k_{obs} versus pH (Figura 8).

Os resultados são consistentes com aqueles obtidos anteriormente por Sabóia⁴⁹ e Schrauzer^{16,21}, e concordam com o esquema de reação IX.

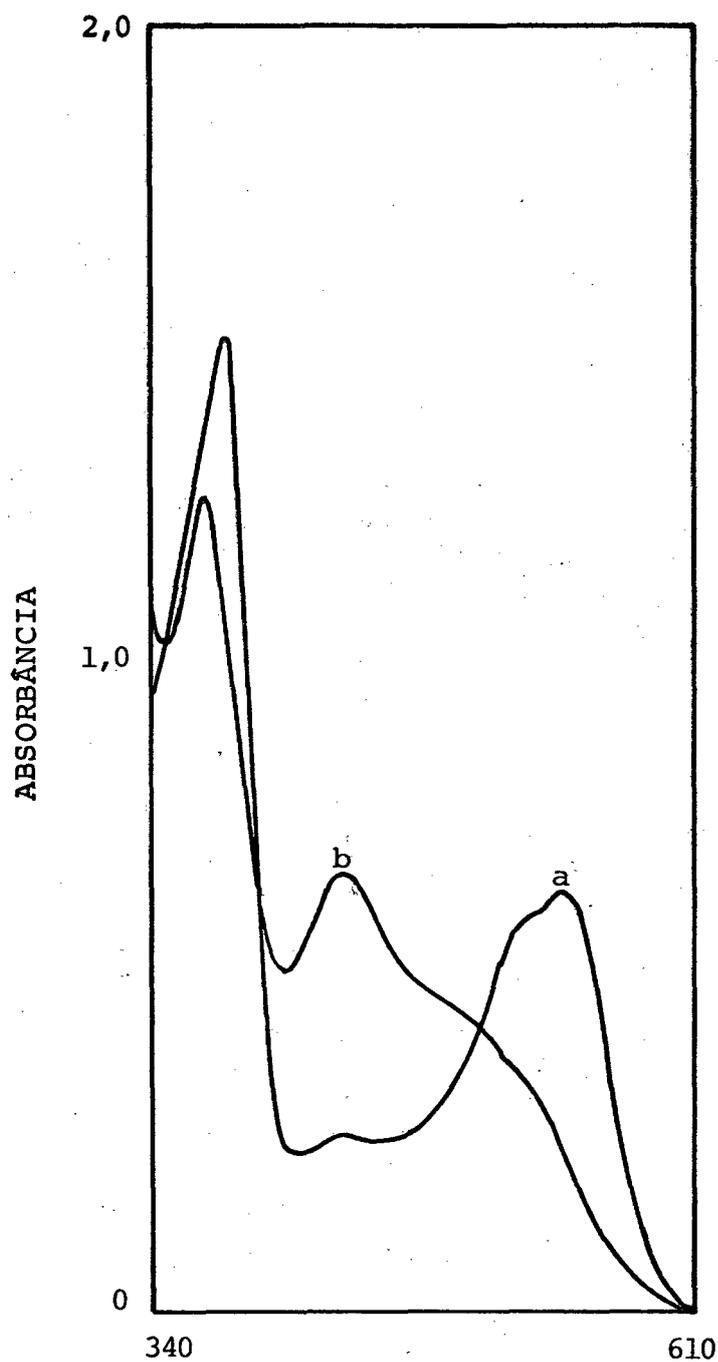
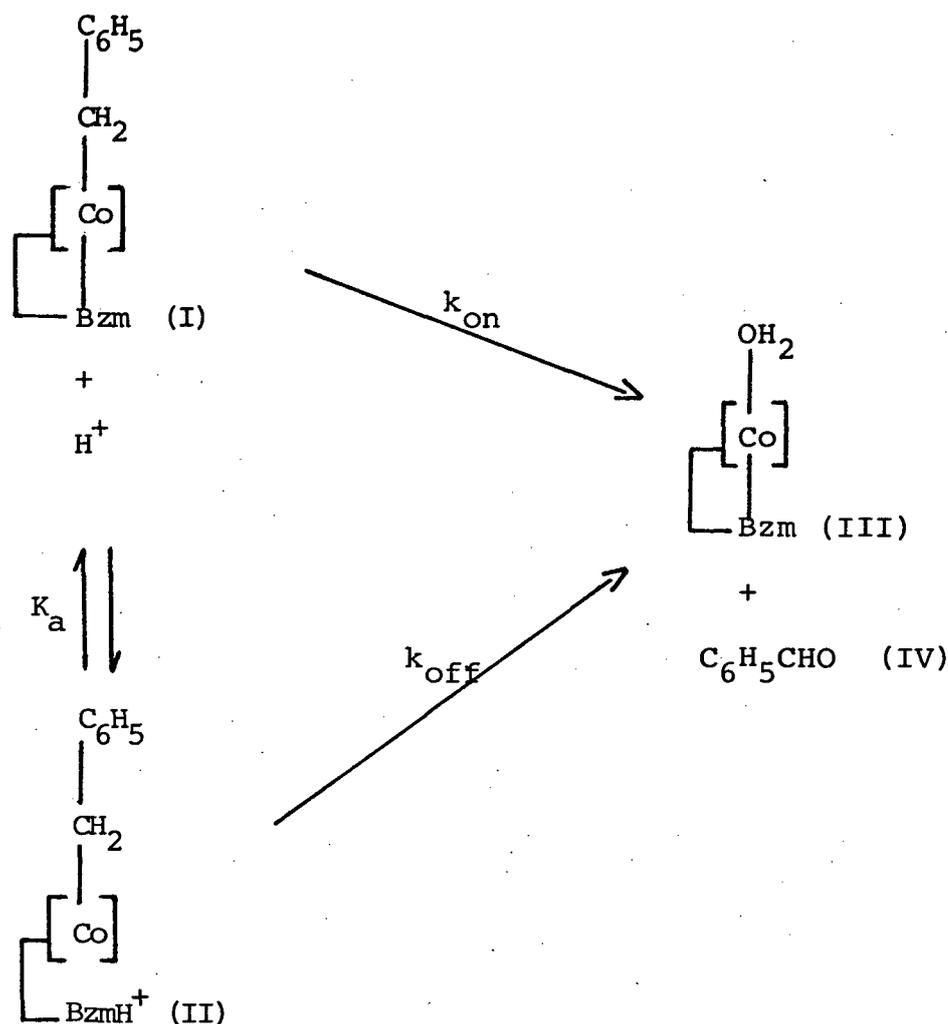


FIGURA 7 - Espectro UV-visível da benzilcobalamina em tampão fosfato pH 7,5 a 35°C; (a) para o t_{∞} da reação de termólise; (b) para o $t=0$ da reação.



ESQUEMA IX

Segundo o esquema IX a equação cinética que descreve nossos dados experimentais é dada pela equação 34.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_{\text{on}}}{1 + \frac{|\text{H}^+|}{K_a}} + \frac{k_{\text{off}}}{1 + \frac{K_a}{|\text{H}^+|}} \quad (\text{Eq. 34})$$

Observando o perfil da constante de velocidade em função do pH (Figura 8) determinado em água e em presença de diferentes detergentes observa-se que a reatividade da benzilcobalamina na forma base não coordenada (base off), é muito menor do

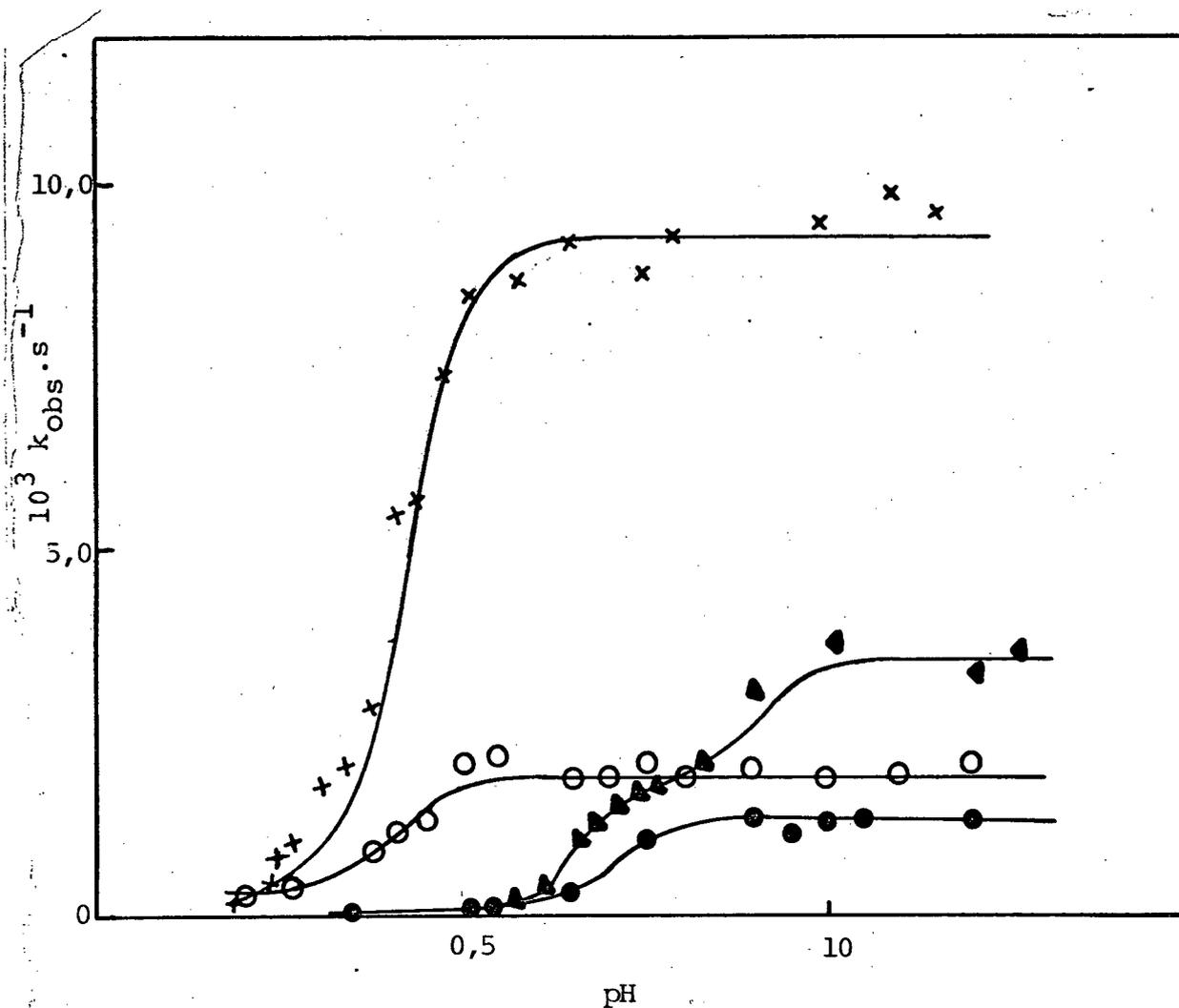


FIGURA 3 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada para a termólise da benzilcobalamina a 35°C em função do pH; em H_2O (x); 10^{-2} M de SDS (●) ; 5×10^{-2} M de CTABr (o) e 20×10^{-2} M de NaDP (◄).

que da benzilcobalamina base coordenada (base on). Isto é $k_{on} \gg k_{off}$. Assim, negligenciando o último termo da Equação 34, obtve-se a partir dos dados experimentais, um valor de $9,40 \times 10^{-3} s^{-1}$ para k_{on} . Este valor é utilizado para o ajuste do perfil das constantes de velocidade pH obtendo-se um valor de pKa de 4,3. Este valor de pKa cinético concorda razoavelmente com o pKa termodinâmico de 4,25 para a benzilcobalamina citado por Schrauzer¹⁹.

A Tabela IV contém os resultados experimentais de k_{obs} obtidos na decomposição térmica da benzilcobalamina em diferentes temperaturas. Os dados mostram um comportamento linear de $\ln k_{obs}$ com o recíproco da temperatura (Figura 9). Os parâmetros foram calculados do gráfico segundo Arrhenius conforme o procedimento descrito na parte experimental e estão inclusos na Tabela II.

O valor de ΔH^\ddagger (21,7 Kcal/mol) encontrado está na faixa de valores de entalpia de ativação medidos por Schrauzer.

3.2 - DECOMPOSIÇÃO DA BENZILCOBALAMINA EM PRESENÇA DE DETERGENTES

A reação de decomposição térmica da benzilcobalamina foi estudada em soluções aquosas de detergentes tais como : SDS, CTABr, NaDP e Na₂DP e em todos os passos a reação pbedece a uma cinética de primeira ordem resultando na formação de benzaldeído e aquocobalamina. (Esquema IX).

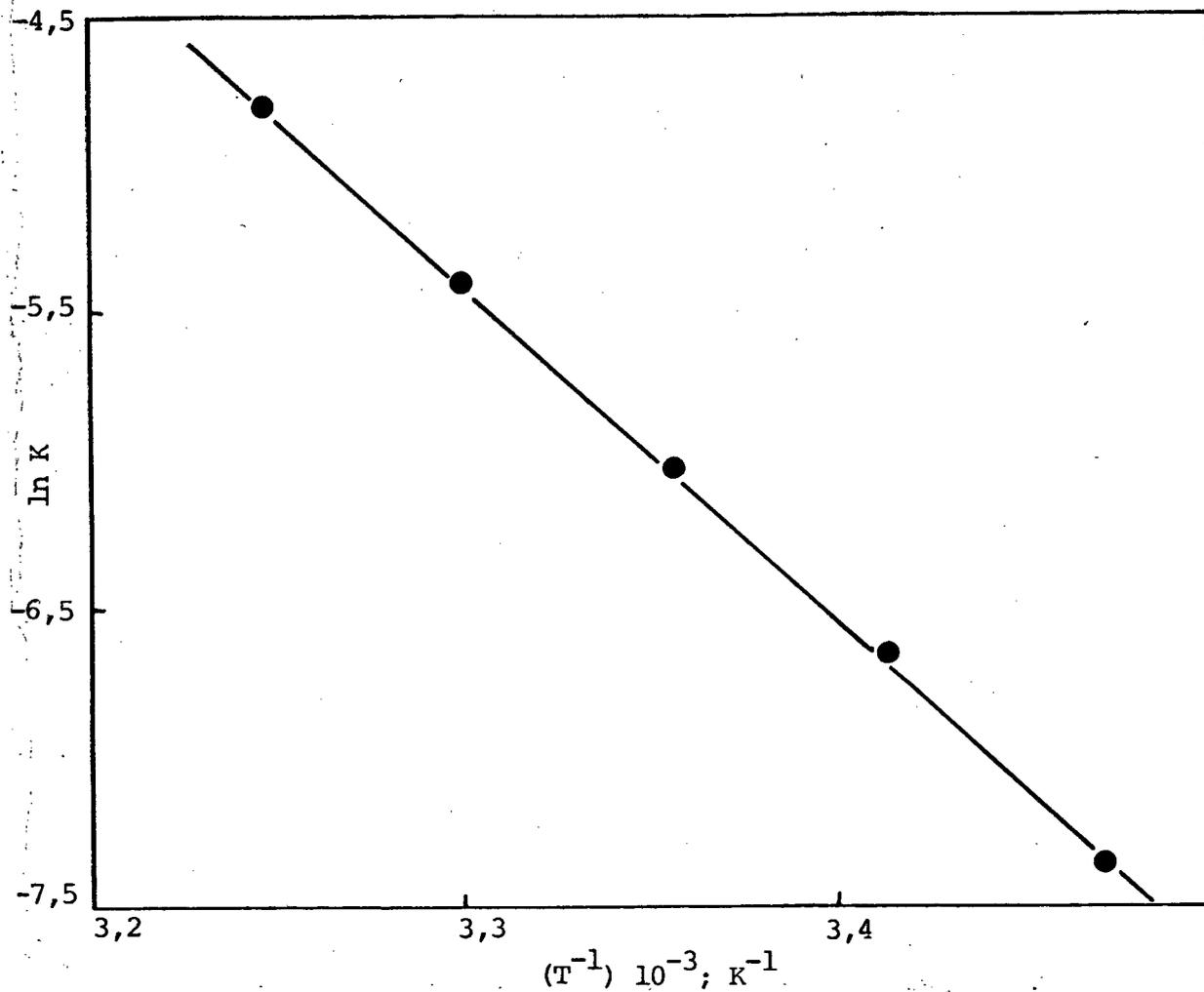


FIGURA 9 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura, num pH 7,00.

3.2.1 - EFEITO DO DODECIL SULFATO DE SÓDIO

A adição de benzilcobalamina à soluções aquosas de concentrações relativamente altas de SDS, desenvolve uma coloração amarela à solução, indicativa da forma B₁₂-base não coordenada ("base off")^{50,51}.

O espectro de absorção das espécies formadas em solução aquosa de SDS, inclusive em pH altos, corresponde aquele observado para a benzilcobalamina em solução ácida (0,1 N de HCl). A Figura 10 mostra o espectro de absorção no visível uma solução aproximadamente 5×10^{-5} M de benzilcobalamina em pH 10,50 e em 10^{-2} M de SDS para o tempo zero da reação.

Os valores da constante de primeira ordem observada para a velocidade de decomposição térmica da benzilcobalamina na presença de diferentes concentrações de SDS, a 35°C e diferentes pH se encontram na Tabela V. Os resultados obtidos a pH=7,50 e pH = 11,60 são apresentados em gráficos de k_{obs} versus concentração de SDS, nas Figuras 11 e 12 respectivamente. É importante observar que a constante de velocidade observada decresce com o aumento da concentração de SDS até alcançar um valor mínimo, após o qual permanece constante e ainda, em altas concentrações de SDS a constante de velocidade observadas para a reação é cerca de dez vezes menor do que o valor correspondente em água pura.

A variação da constante de velocidade em presença de surfactantes tem sido discutida em termos da distribuição dos reagentes entre as pseudo fase micelar e aquosa e em termos das velocidades diferenciais de reação nestas duas fases; designadas com o subscritos m e w respectivamente⁴¹ (Esquema X).

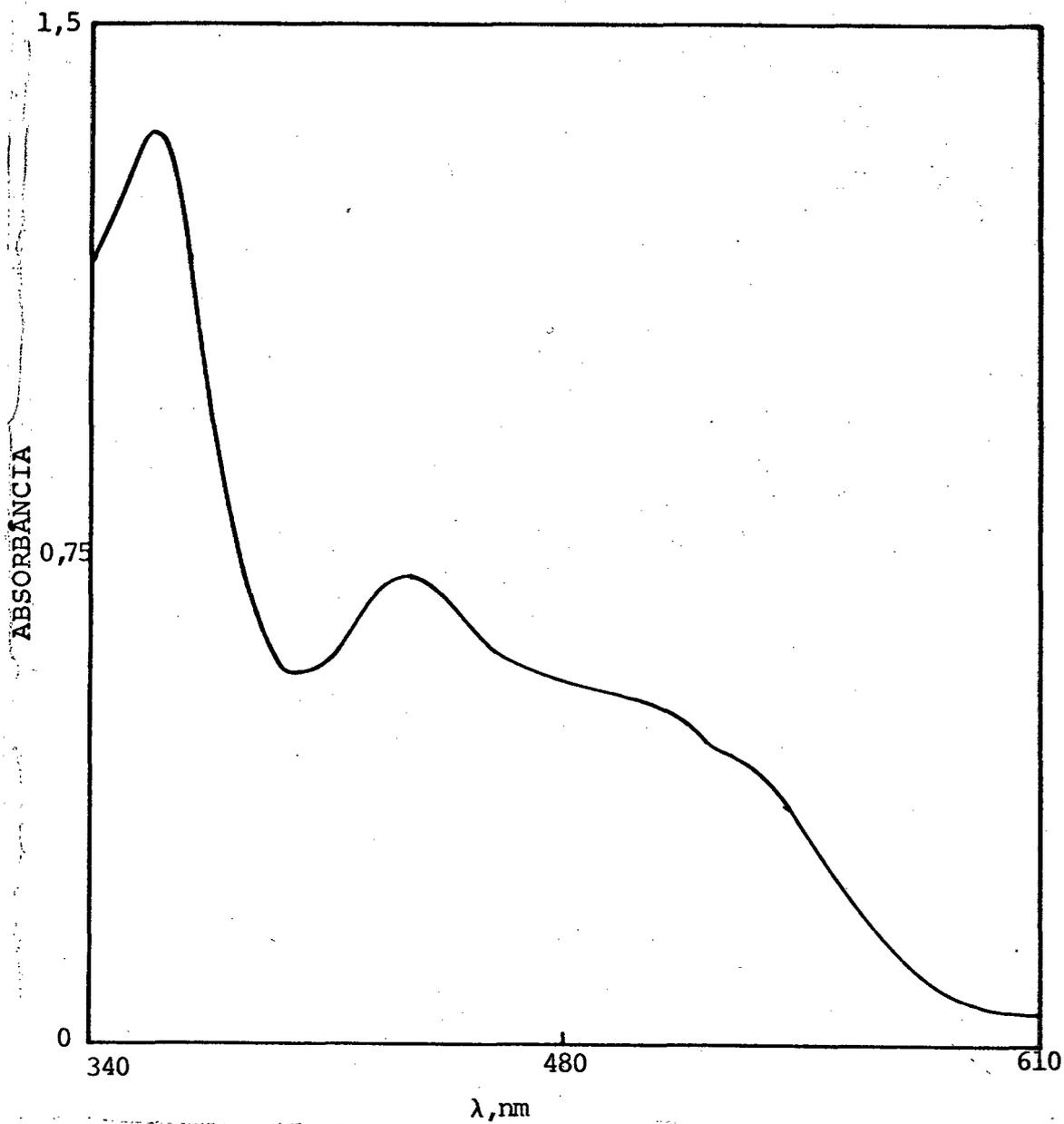
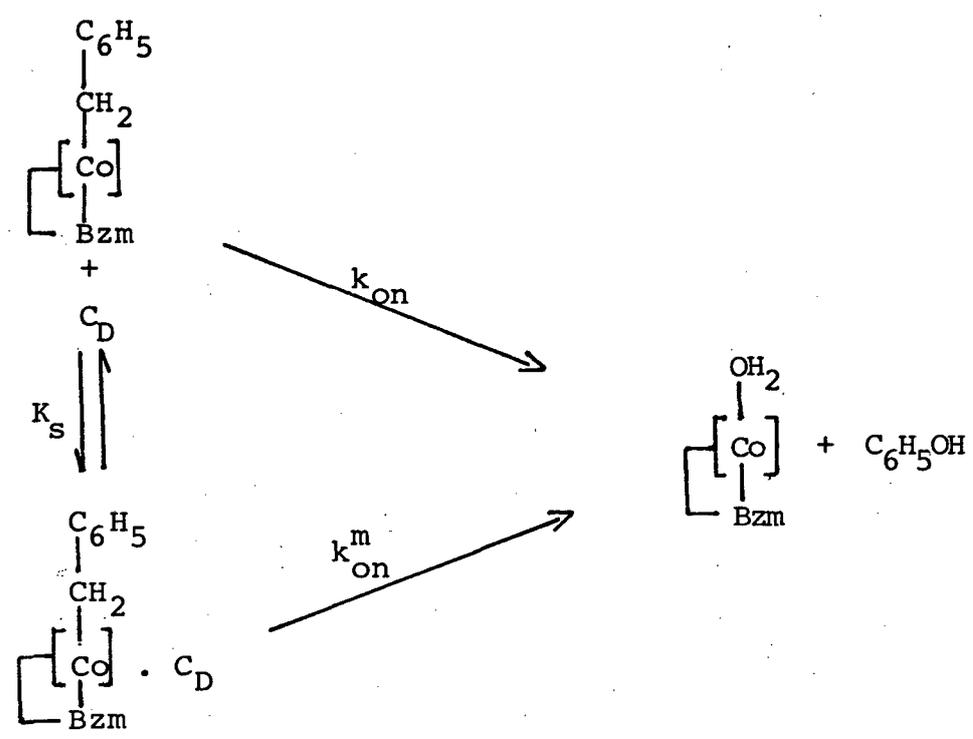


FIGURA 10 - Espectro UV-visível da benzilcobalamina (5×10^{-5} M) em pH 10,5, tampão carbonato e 10^{-2} M de SDS para o tempo inicial da reação.



ESQUEMA X

No Esquema X, k_w e k_m corresponden as constantes de velocidade de primeira ordem na fase aquosa e micelar, respectivamente. A concentração de detergente micelizado é designado por CD; que corresponde a diferença entre a concentração total de surfactantes e o surfactante monomérico; K_s é a constante de equilíbrio para a ligação do substrato, denominado também de constante de ligação.

Considerando o Esquema X, a constante de velocidade de primeira ordem para a reação de termólise de benzilcobalamina é expressa pela Equação 35.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_m \text{ CD } K_s + k_w}{K_s \text{ CD} + 1} \tag{Eq. 35}$$

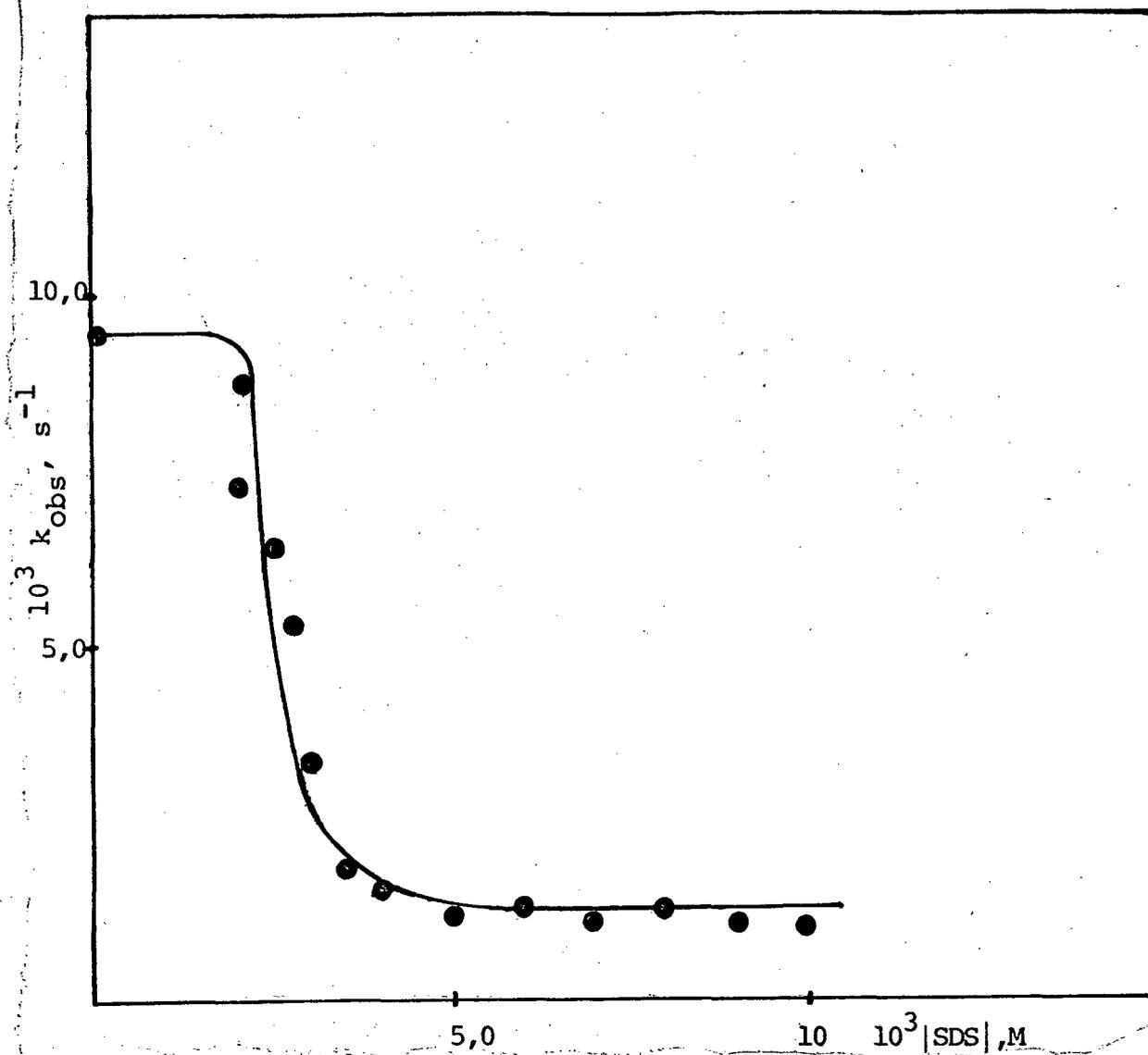


FIGURA 11 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada (k_{obs}) para a reação termólise da benzilco-balamina em função da concentração de SDS a $35^{\circ}C$ e pH 7,5.

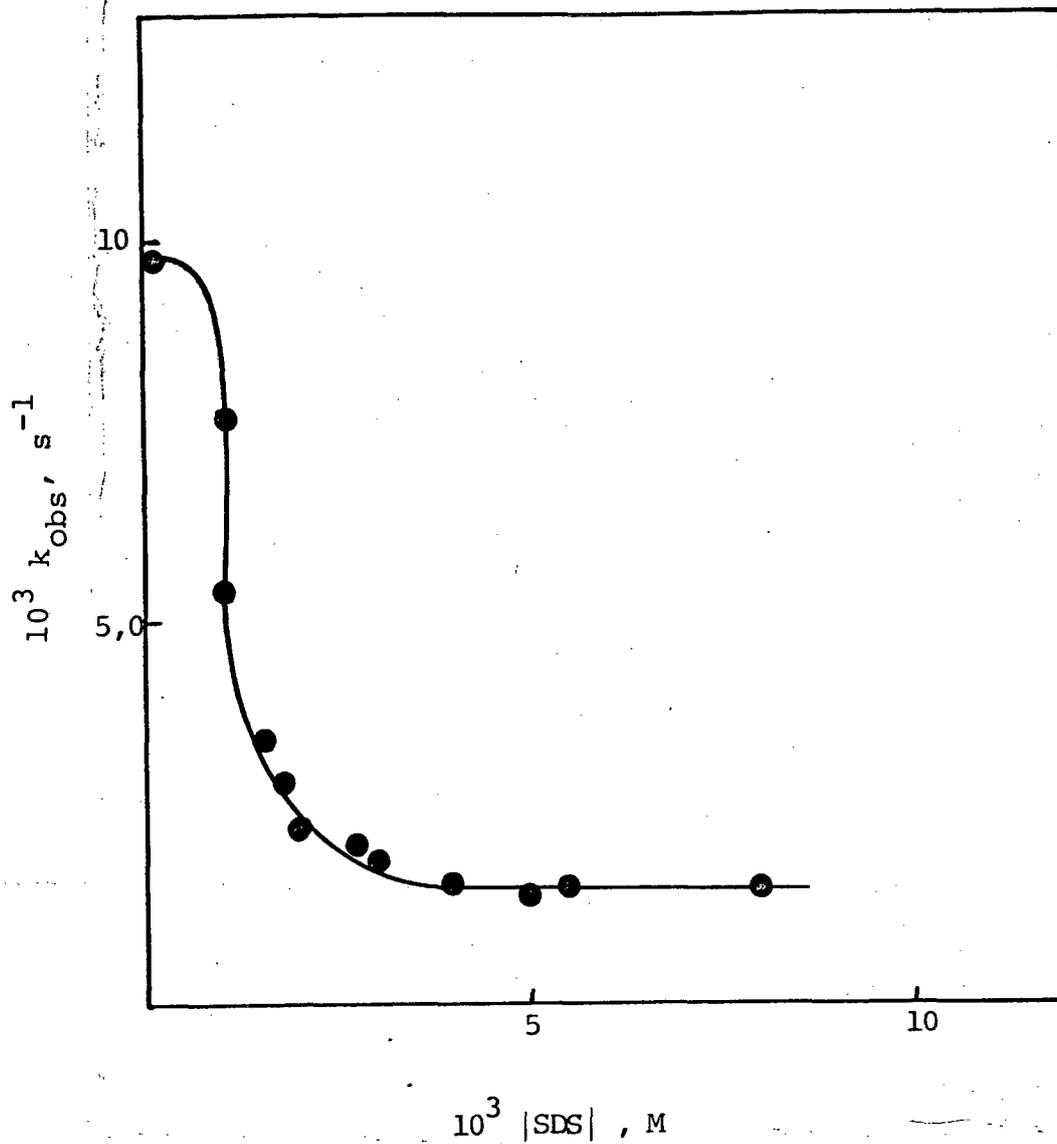


FIGURA 12 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada (k_{obs}) para a reação de termólise da benzil cobalamina em função da concentração de SDS a 35°C e pH 11,6.

A qual foi utilizada para uma análise quantitativa dos dados experimentais obtidos da termólise da benzilcobalamina em função da concentração de detergentes. Das variáveis relacionadas pela equação, k_w foi determinada na ausência de surfactante e k_m corresponde a constante de velocidade determinada na região do platô em altas concentrações de detergentes, já que nesta região toda a benzilcobalamina em solução está completamente incorporada na micela. A CMC para o detergente em presença do tampão e benzilcobalamina pode ser estimada através do gráfico de k_{obs} versus concentração de detergente, uma vez que a CMC é influenciada com a adição de eletrólitos à solução aquosa do detergente.

As linhas contínuas mostradas nas Figuras 11 e 12 foram geradas mediante simulações dos dados experimentais utilizando a equação 35, variando valores de K_s e CMC de tal maneira que os valores teóricos de k_{obs} aproximem-se dos dados experimentais em várias concentrações de detergentes.

As melhores simulações foram obtidas em pH = 7,50 utilizando os valores de CMC = $2,30 \times 10^{-3}$ M; $K_s = 7.000 \text{ s}^{-1}$; $k_w = 9,40 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $k_m = 1,0 \times 10^{-3}$ M e em pH 11,60; CMC = $8,0 \times 10^{-4}$ M, $K_s = 5.000$, $k_w = 9,40 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ e $k_m = 1,5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

Os valores encontrados para as CMC cinéticas nos dois pH são menores que aqueles determinados para o surfactante em solução aquosa. Este abaixamento da CMC é devido a influência uma vez que a presença de eletrólitos provenientes das soluções tampão. Já os altos valores de K_s encontrados mostram que o substrato se encontra preferencialmente incorporado na fase micelar.

A constante de ligação K_s define a distribuição dos reagentes entre as fases micelares e a pseudo fase aquosa.⁴⁰

Os valores de K_s aumentam com o aumento da hidrofobicidade do su
bstrato.

O valor da constante de velocidade de primeira or
dem na fase aquosa é maior do que os valores das constantes de
velocidade na fase micelar para a reação nos dois pH's.

Prevalecendo o efeito de diminuição da velocidade
de quebra da ligação Co-C da benzilcobalamina mesmo à pH's eleva
dos. Isto possivelmente é devido ao efeito de retirar o benzimi
dazol da sexta posição de coordenação, incoorporando-o na micela
e dificultando sua coordenação. Sendo a forma base coordenada
muito mais reativa que a forma base não coordenada. Na presença
de detergentes, ainda a valores de pH elevado a forma de base não
coordenada é predominante em solução.

Foram determinadas as velocidades da termólise da
benzilcobalamina numa concentração de SDS de 10^{-2} M em soluções
tampão de diferentes pH. Os dados obtidos estão contidos na Tabe
la VI e são mostrados no gráfico de k_{obs} versus pH (Figura 8).

A dependência de k_{obs} em função do pH foi tratada
de uma forma análoga àquela em água. A alteração no equilíbrio
de protonação governada por K_a , foi considerada substituindo-se
 K_{on} e K_{off} da Equação 34, pelas constantes de velocidades em
meio micelar (K_{on}^m e K_{off}^m) relacionadas na Equação 35. Assim te
mos que para a reação de termólise da benzilcobalamina em presen
ça de detergentes em diferentes pH, é dada pela Equação 36.

$$K_{obs} = \frac{k_{on}^m K_a Cd K_s + k_{off}^m | H | Cd K_s + K_o}{(1 + K_s CD) (K_a + | H |)} \quad (\text{Eq. 36})$$

Considerando que o produto $K_s \text{Cd} \gg 1$ e que a contribuição da reação na água é desprezível, a Equação 36 pode ser simplificada para a Equação 37.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_{\text{On}}^m + k_{\text{Off}}^m | \text{H}^+ |}{| \text{H}^+ | + K_a^{\text{app}}} \quad (\text{Eq. 37})$$

Os dados teóricos obtidos através da equação 6 se ajustaram perfeitamente aos dados experimentais para um valor de pK_a^{app} igual a 7, assumindo valores de $2,20 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ para k_{Off}^m e $1,30 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para k_{On}^m (região de platô na Figura 8).

Este deslocamento de três unidades encontrados para o pK_a em micelas comparado ao pK_a determinado em água, concorda com resultados publicados anteriormente para a metilcobalamina⁵⁰.

A diferente reatividade da benzilcobalamina em diferentes pH mostra que a pH maiores do que pK_a^{app} , ainda existe uma fraca coordenação do benzimidazol ao átomo de cobalto, já que o espectro da Figura 10 corresponde a uma forma atípica da espécie base não coordenada²⁰.

A Tabela VII contém os resultados experimentais obtidos a partir da decomposição térmica da benzilcobalamina em diferentes temperaturas, em presença de $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ de SDS em pH 7,5. Os dados mostram um comportamento linear de $\ln k_{\text{obs}}$ com o recíproco da temperatura (Figura 13). Os parâmetros de ativação calculados segundo Arrhenius estão inclusos na Tabela VII.

O valor de 24,2 Kcal/mol encontrado para a entalpia de ativação da reação de termólise na presença de SDS é cer

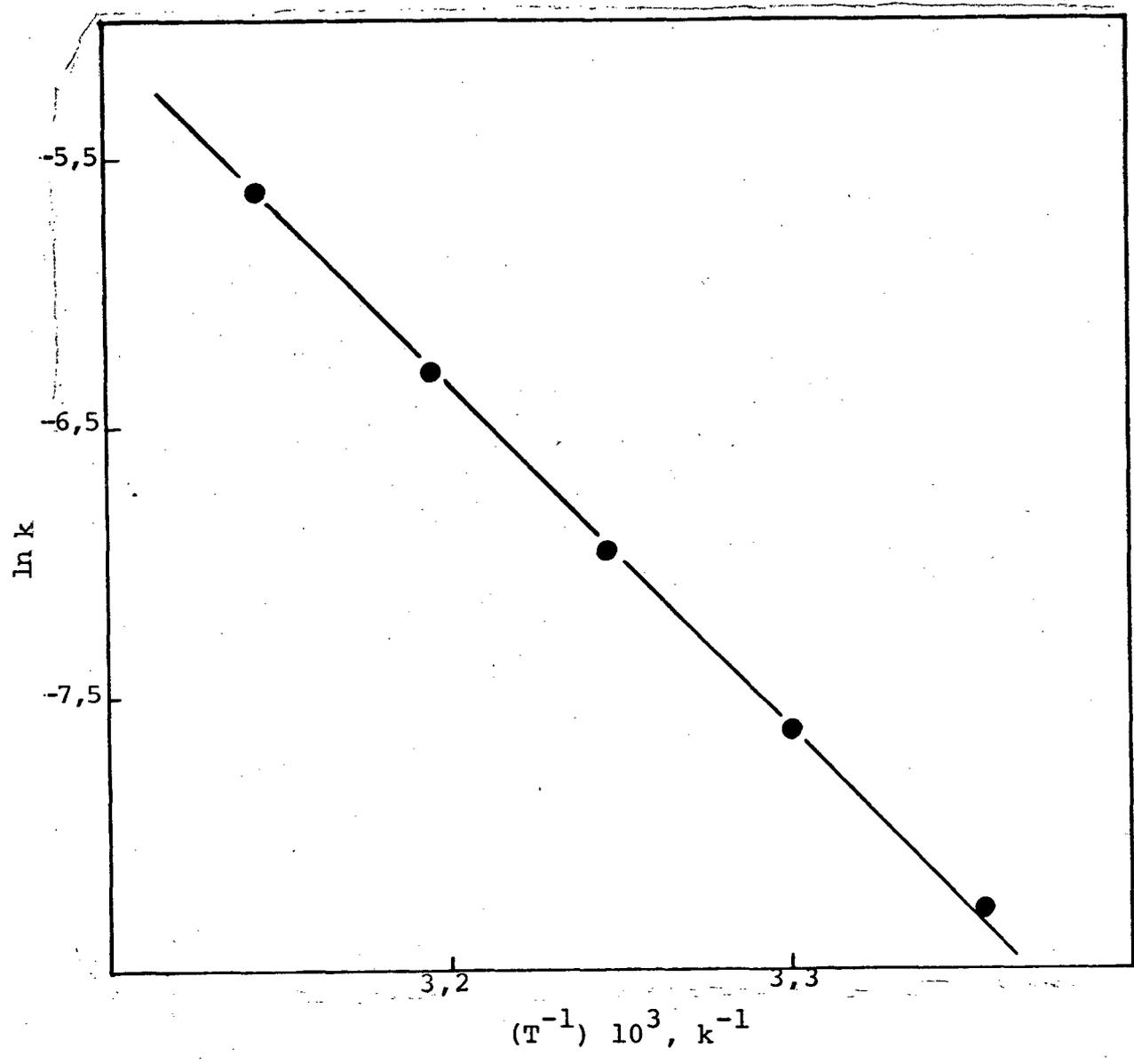


FIGURA 13 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura na presença de SDS (1×10^{-3} M) em pH 7,50.

ca de 3 Kcal/mol maiores que a entalpia de ativação obtida para a reação em meio aquoso. Indicando uma maior estabilidade da ligação Co-C em meio micelar. O que era esperado, devido a mudança do pK_a do benzimidazol da benzilcobalamina em presença de SDS, considerando que a estabilidade térmica da benzilcobalamina depende fortemente do equilíbrio entre as formas base coordenada e base não coordenada.

Se considerarmos que os valores de ΔH^\ddagger representam aproximadamente o valor das energias de dissociação da ligação Co-C. ($D_{Co-C} = \Delta H^\ddagger - 2$ Kcal/mol). Temos um valor de 22,2 Kcal/mol para a benzilcobalamina em micelas de SDS.

Esta mesma relação entre entalpia de ativação para a reação de termólise e energia de dissociação da ligação Co-C, foi sugerida por Halpern para a quebra da ligação Co-C em organocobaloximas e é extensiva à alquilcobalaminas²⁶.

O mecanismo via radical livre e portanto quebra homolítica⁴⁶, proposto para a reação, apresenta um estado de transição muito parecido com o estado de Co(II), ou seja, um elétron é transferido quase formalmente ao cobalto antes de atingir o estado de transição, e no estado de transição temos a participação de uma espécie radicalar. Assumindo uma pequena barreira de energia de ativação para o processo reverso, a recombinação entre (Co(II) e o radical alquil serem controladas por difusão; isto é, $\Delta H^\ddagger - 1$ é aproximadamente 2 Kcal/mol, e então $D_{Co-C} = \Delta H_1^\ddagger - 2$ Kcal/mol.

3.2.2 - EFEITO DO BROMETO DE HEXADECILTRIMETIL AMÔNIO (CTABr) NA REAÇÃO

Foram determinadas as constantes de velocidades da termólise da benzilcobalamina em soluções aquosas de diferentes concentrações de CTABr, num pH 7,50 e 35°C. Os resultados estão contidos na Tabela VIII. E, apresentados num gráfico de k_{obs} versus concentração de CTABr (Figura 14).

O comportamento cinético é semelhante aquele apresentado em SDS, onde k_{obs} decresce com o aumento da concentração de CTABr até alcançar uma região de platô aproximadamente $3,0 \times 10^{-2}$ M após a qual permanecem constantes (Figura 14). Observa-se ainda que em altas concentrações de CTABr a k_{obs} para a reação é cerca de cinco vezes menor do que em água.

Normalmente, em reações em presença de micela, encontra-se efeitos em sentidos opostos; para detergentes⁴⁰ aniônicos e catiônicos. Para a reação de termólise da benzilcobalamina verificou-se que o efeito de inibição da reação por micelas de SDS, persiste embora menos significativamente para micelas catiônicas de CTABr. Este efeito de inibição é atribuído à incorporação da porção benzimidazol da molécula pelas micelas, aumentando assim a estabilidade da ligação Co-C através da descordenação da base axial da benzilcobalamina. Sendo a incorporação mais efetiva para micelas de SDS do que micelas de CTABr.

Para micelas aniônicas temos ainda que a concentração efetiva de íons H^+ na superfície micelar é provavelmente maior do que na superfície de uma micela positivamente carregada. Este aumento na concentração efetiva de íons H^+ , resultaria num aumento na constante de dissociação para a formação da forma ba

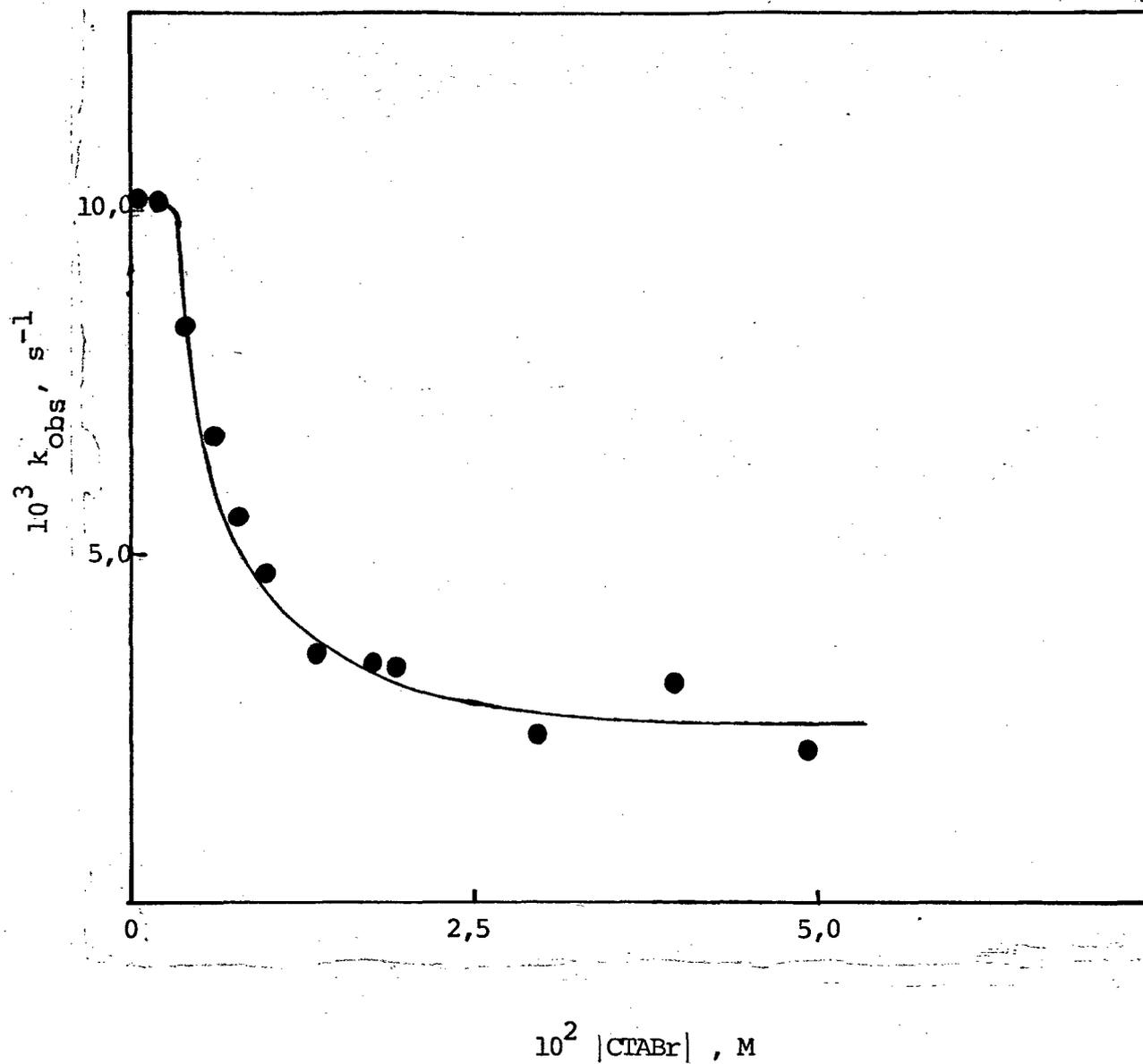


FIGURA 14 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada da termólise da benzilcobalamina em função da concentração de CTABr a 35°C e pH 7,5.

se protonada, não coordenada, menos reativa. E, portanto, uma maior retardação na reação.

O tratamento quantitativo dos dados experimentais foi feito através da Equação 35.

O melhor ajuste dos dados experimentais foi obtido com os seguintes parâmetros: $CMC = 4,0 \times 10^{-3} \text{ M}$; $K_s = 450 \text{ s}^{-1}$; $k_m = 2,19 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ e $k_w = 10,2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. A linha contínua na Figura 12 representa a simulação teórica e assemelha-se muito aos dados experimentais, fato que justifica a validade da Equação 4.

A Tabela IX contém os valores numéricos de k_{obs} para a termólise da benzilcobalamina numa concentração de CTABr de $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ em soluções tampão de diferentes pH, as quais são mostradas no gráfico de k_{obs} versus pH (Figura 8).

Efetuuou-se a simulação da curva teórica através da Equação 34, valores de $2,4 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ para K_{off}^m , $1,9 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para K_{on}^m (região de platô) e um valor de pK_a igual a 4,0 foram obtidos do ajuste dos dados experimentais aos teóricos. A linha contínua na Figura 8 foi traçada utilizando a Equação 34 e os valores acima descritos e concorda razoavelmente com os dados experimentais.

Os resultados experimentais obtidos da termólise da benzilcobalamina a diferentes temperaturas, em solução $3,00 \times 10^{-3} \text{ M}$ de CTABr encontram-se na Tabela X. Os dados mostram um comportamento linear de $\ln K_{obs}$ com o recíproco da temperatura (Figura 15). Os parâmetros de ativação, foram calculados do gráfico segundo Arrhenius, estão contidos na Tabela X.

O valor da entalpia de ativação encontrado é menor cerca de 2 Kcal/mol àquele encontrado para a reação em presença

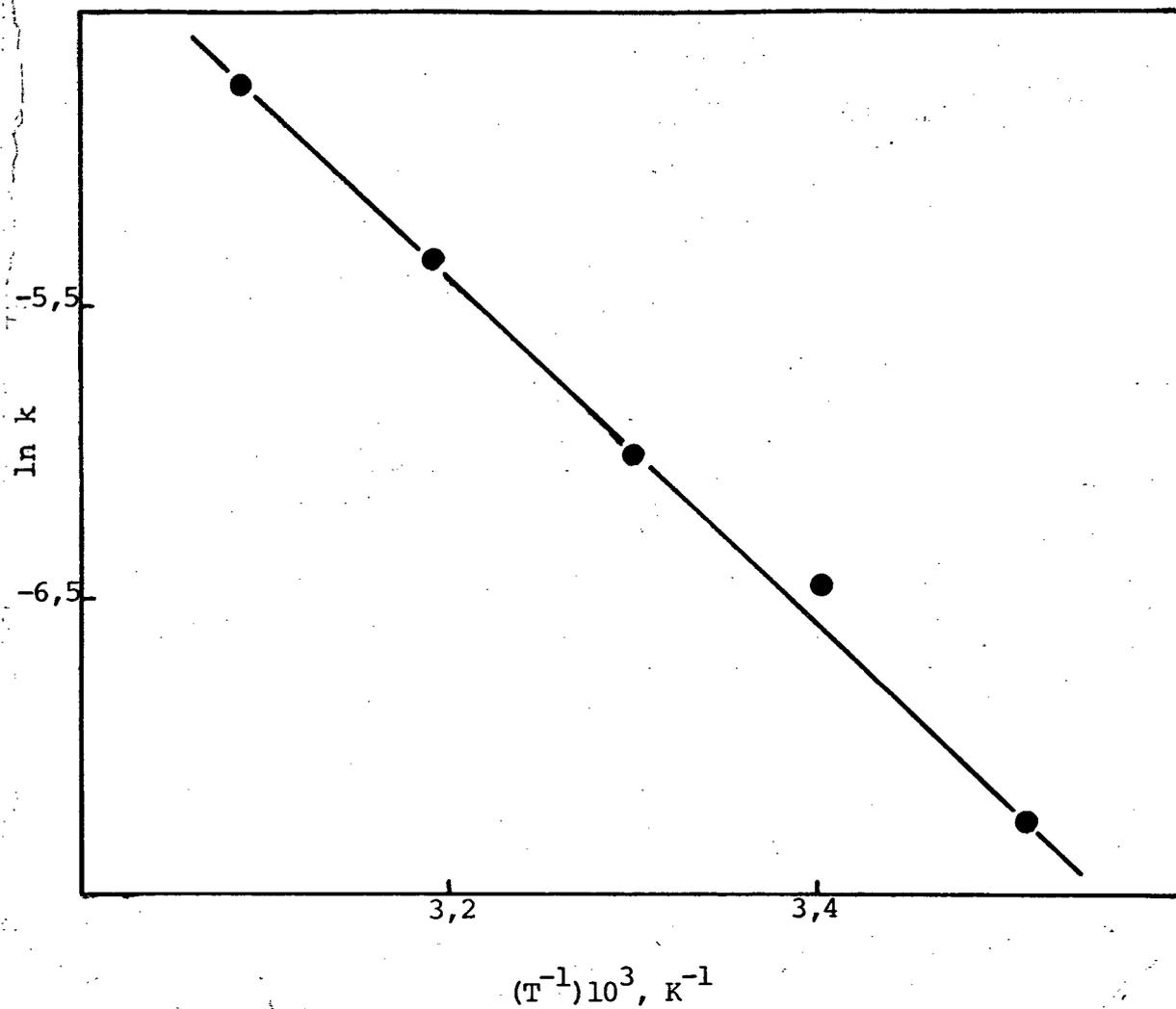


FIGURA 15 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura na presença de CTABr (3×10^{-2} M) em pH 7,50.

de SDS; sendo mais próximo ao valor de ΔH^\ddagger obtido para a reação em água.

Podendo-se estimar um valor para a energia de dissociação da ligação Co-C em presença de micelas de CTABr, muito semelhante ao valor de $D_{\text{Co-C}}$ encontrado para a reação em água. Este resultado está de acordo com o pKa encontrado na reação em CTABr e ao menor efeito de inibição observado quanto à reação em SDS.

3.2.3 - EFEITO DO DECILFOSFATO DE SÓDIO (DNaP) NA REAÇÃO

Os valores das constantes de velocidades observadas para a decomposição térmica da benzilcobalamina na presença de diferentes concentrações de DNaP para um pH de 5,50, se encontram na Tabela XI e são mostradas num gráfico de k_{obs} versus concentração de DNaP (Figura 16).

O comportamento cinético da reação em presença de micelas de DNaP é semelhante àquele encontrado para a reação em presença de SDS e CTABr com a diminuição das constantes de velocidade observada com o aumento da concentração de detergentes, até alcançar um patamar de velocidade para concentrações altas do detergente.

A altas concentrações de DNaP a constante de velocidade observada para a reação é cerca de 20 vezes menor do que a constante de velocidade observada para a reação em água.

Este resultado concorda com aqueles encontrados para a reação em SDS e CTABr, confirmando um maior efeito de ini

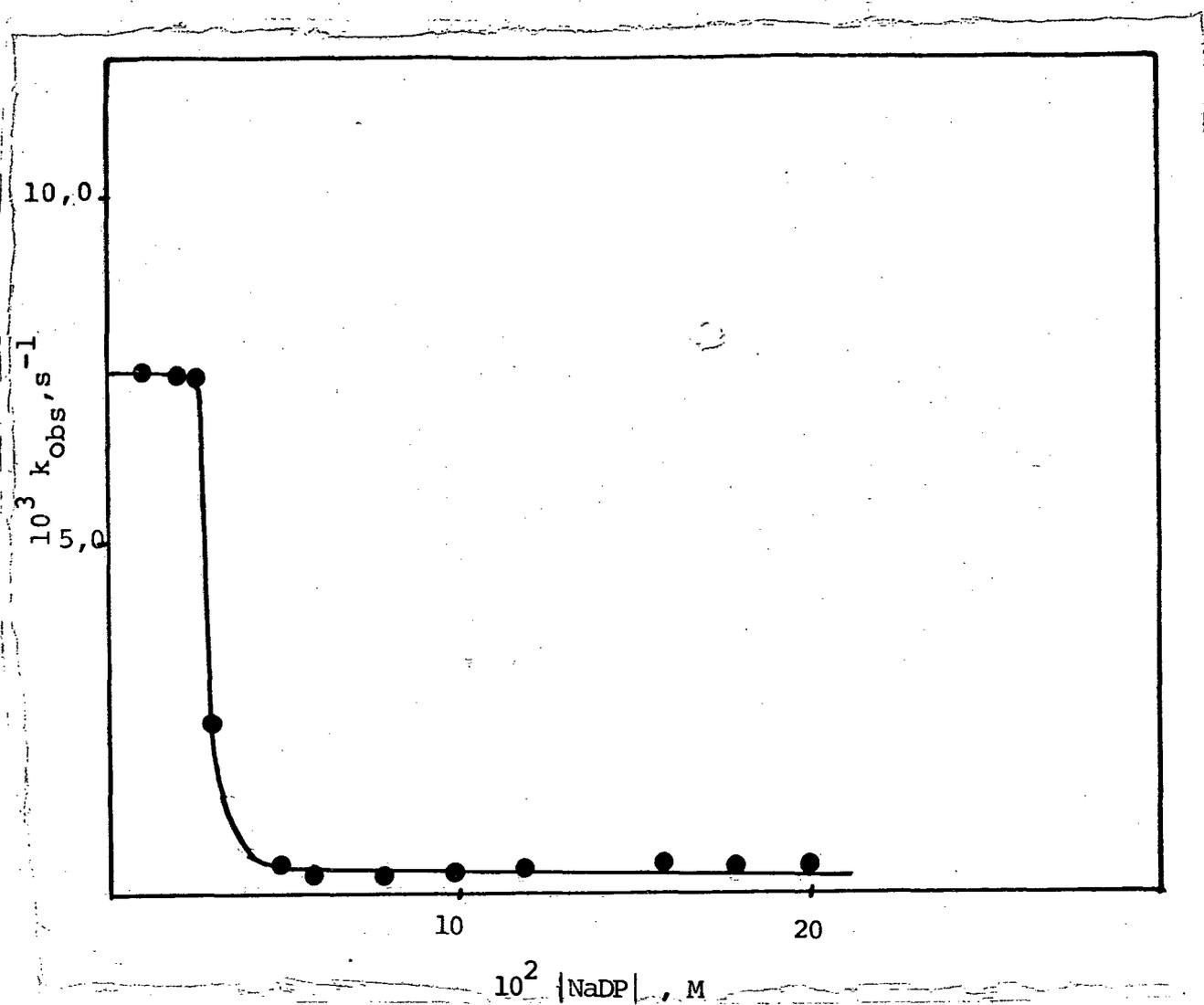


FIGURA 16 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada para a reação de decomposição térmica da benzilcobalamina em função da concentração de NaDP a 35°C e pH 5,50.

bição da reação para surfactantes aniônicos.

A simulação teórica dos dados experimentais foi efetuada utilizando-se a Equação 35 e os seguintes valores para os parâmetros: $CMC = 2,50 \times 10^{-2} \text{ M}$; $k_w = 7,44 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $k_m = 1,76 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ e $K_s = 2000 \text{ s}^{-1}$.

A linha contínua na Figura 16 foi traçada usando os valores acima descritos e se encontra em razoável concordância com os dados experimentais.

Foram determinadas as velocidades da termólise da benzilcobalamina em soluções de concentração de $20 \times 10^{-2} \text{ M}$ de DNaP em diferentes pH. Os valores obtidos estão contidos na Tabela XII e são mostrados num gráfico de k_{obs} versus pH (Figura 8).

O tratamento quantitativo dos dados experimentais foi feito através da Equação 37. Similarmente àquele efetuado para SDS e CTABr.

Observando o perfil de constante de velocidade em função do pH, verifica-se a existência de três patamares de velocidade na curva. Na simulação da curva teórica obteve-se dois pKa's para o melhor ajuste dos dados experimentais aos teóricos. Um pKa de 6,50, utilizando-se os valores de $k_{off}^m = 1,2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ e $k_{on}^m = 1,78 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ (regiões de platô) e um valor de pKa de 9,0 para um $k_{off}^m = 1,78 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ e $k_{on}^m = 3,5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ (regiões de platô).

Estes dois valores de pK_a^{app} encontrados para a reação em DNaP, podem ser atribuído aos pKa's relativos à interação da benzilcobalamina com as formas monoaniônicas e dianiônicas do detergente. Uma vez que para valores elevados de pH temos o surfactante na sua forma bidissociada (DNa_2P).

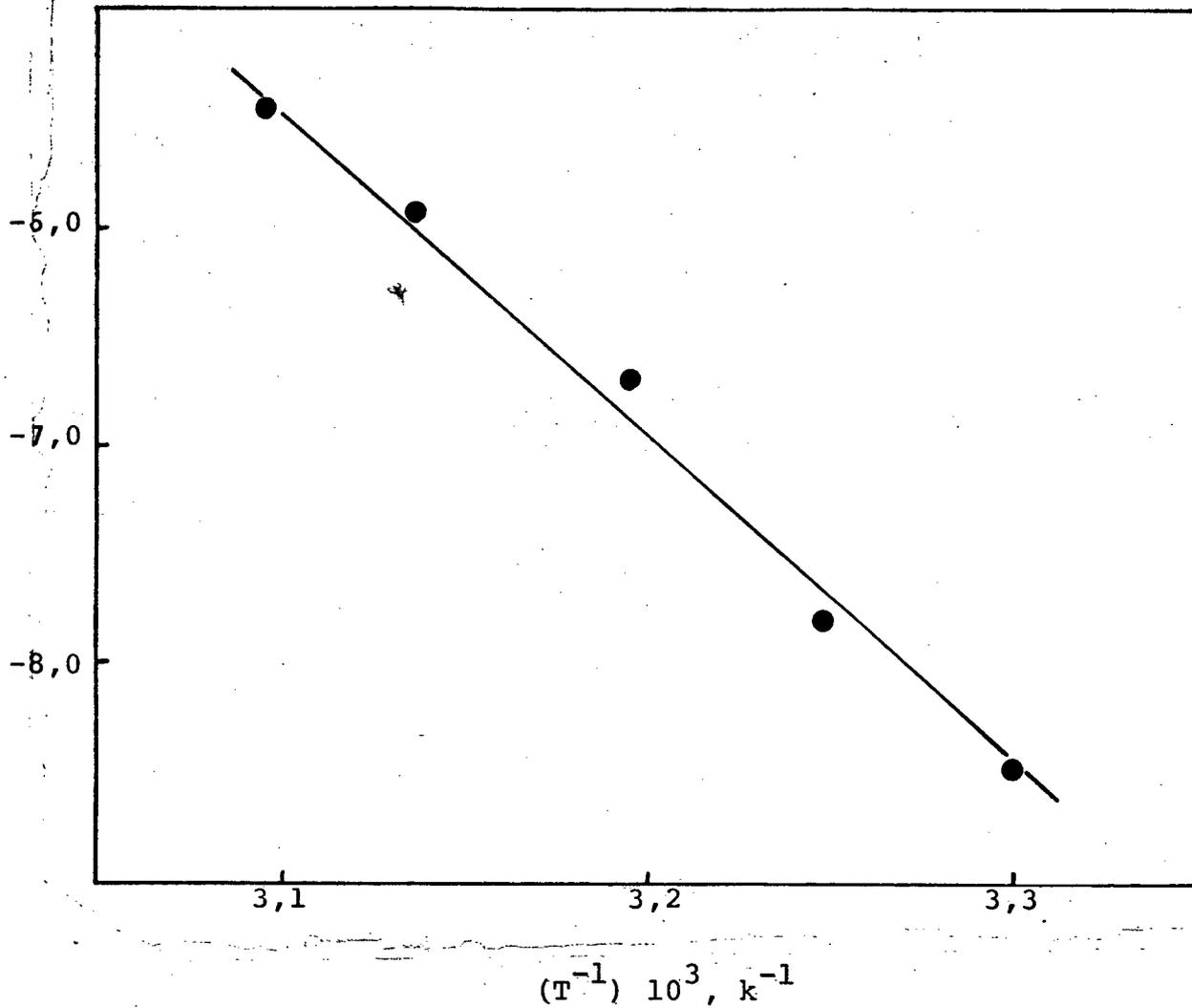


FIGURA 17 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura na presença de DNaP (20×10^{-2} M) em pH 6.

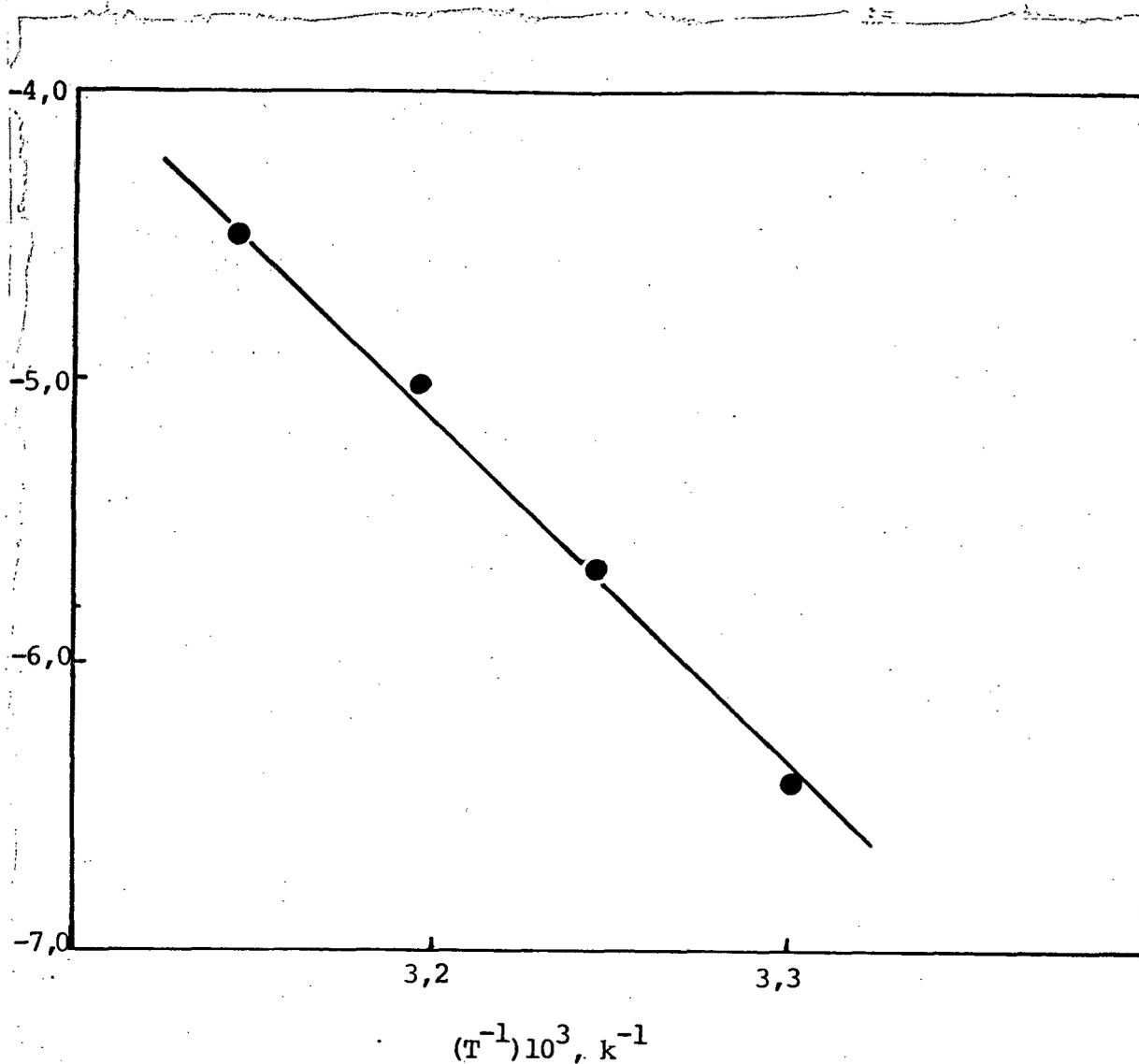


FIGURA 18 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem para a decomposição térmica da benzilcobalamina em função do recíproco da temperatura na presença de DNa_2P (20×10^{-2} M) em pH 12.

O deslocamento dos valores de pKa relativos ao pKa da benzilcobalamina em água; concorda com o resultado obtido com o SDS.

As Tabelas XIII e XIV contém os resultados experimentais obtidos na decomposição térmica de benzilcobalamina a diferentes temperaturas, em soluções 20×10^{-2} M de decilfosfato mono e dissódico respectivamente.

Os dados mostram um comportamento linear de $\ln k_{obs}$ com o recíproco da temperatura (Figura 17 e 18)).

Os parâmetros de ativação foram calculados do gráfico segundo Arrhenius conforme o procedimento descrito na parte experimental, estão inclusos nas Tabelas XII e XIV.

O valor de 30,32 Kcal/mol encontrado para a entalpia de ativação da reação de termólise na presença de DNaP é cerca de 6 Kcal/mol maiores que a entalpia de ativação obtida para a reação em SDS. Indicando uma maior estabilidade da ligação Co-C da benzilcobalamina em presença de micelas de DNaP.

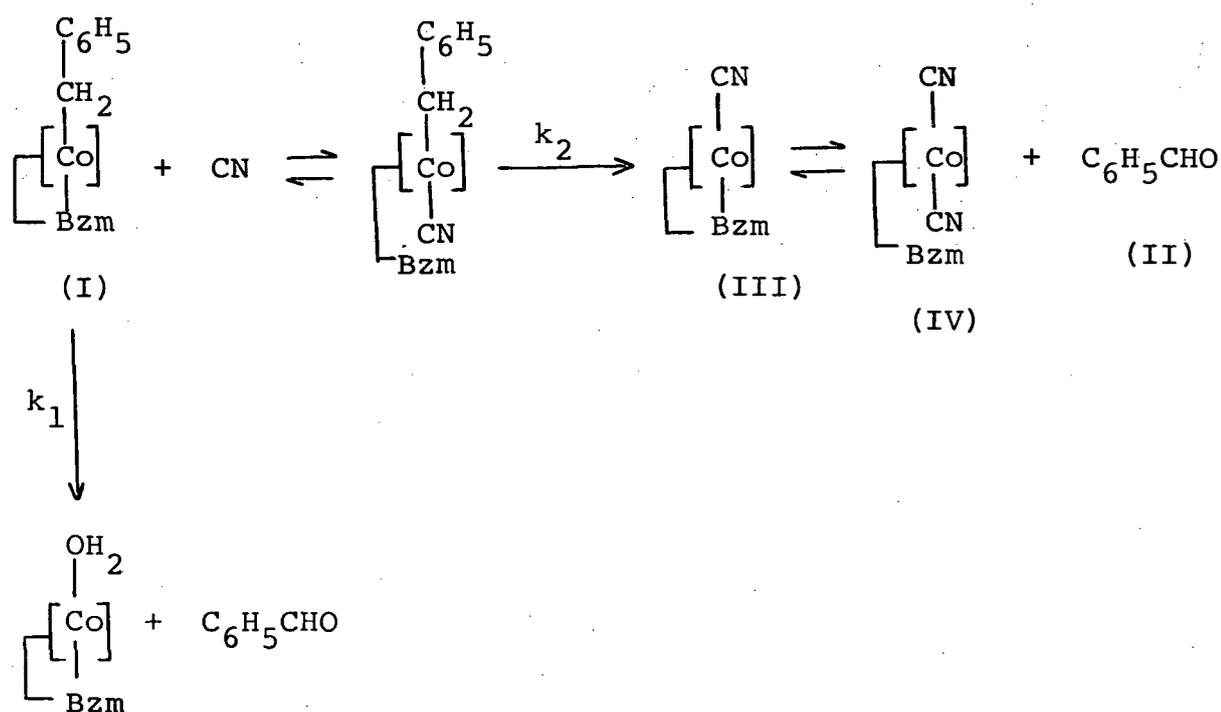
Este valor está dentro da faixa de valores de entalpia de ativação propostos por Schrauzer para as alquilcobalaminas (20-30 Kcal/mol)²¹. E concorda com o maior efeito de inibição observado para a reação em meio a DNaP relativa a mesma em SDS. Considerando ainda que os experimentos foram feitos em pH's diferentes e que a estabilidade térmica da benzilcobalamina depende fortemente do equilíbrio base coordenada-base não coordenada.

Utilizando a aproximação proposta por Halpern ($D_{Co-C} = \Delta H^\ddagger - 2$ Kcal/mol) temos um valor de $D_{Co-C} = 28,32$ Kcal/mol para a energia de dissociação da ligação Co-C da benzilcobalamina em micelas de DNaP.

O valor da entalpia de ativação encontrado para a reação em presença de DNA_2P foi de 25,75 Kcal/mol. Podendo-se estimar uma energia de dissociação para a ligação de 23,75 Kcal/mol. Mostrando um efeito de estabilização da ligação Co-C semelhante ao obtido com o SDS.

3.2.4 - EM PRESENÇA DO ANION CIANETO

Benzilcobalamina (I) se decompõe em presença de ânion cianeto aerobicamente, para formar benzaldeído (II) e uma mistura de ciano (III) e dicianocobalamina (IV) (Esquema XI).



ESQUEMA XI

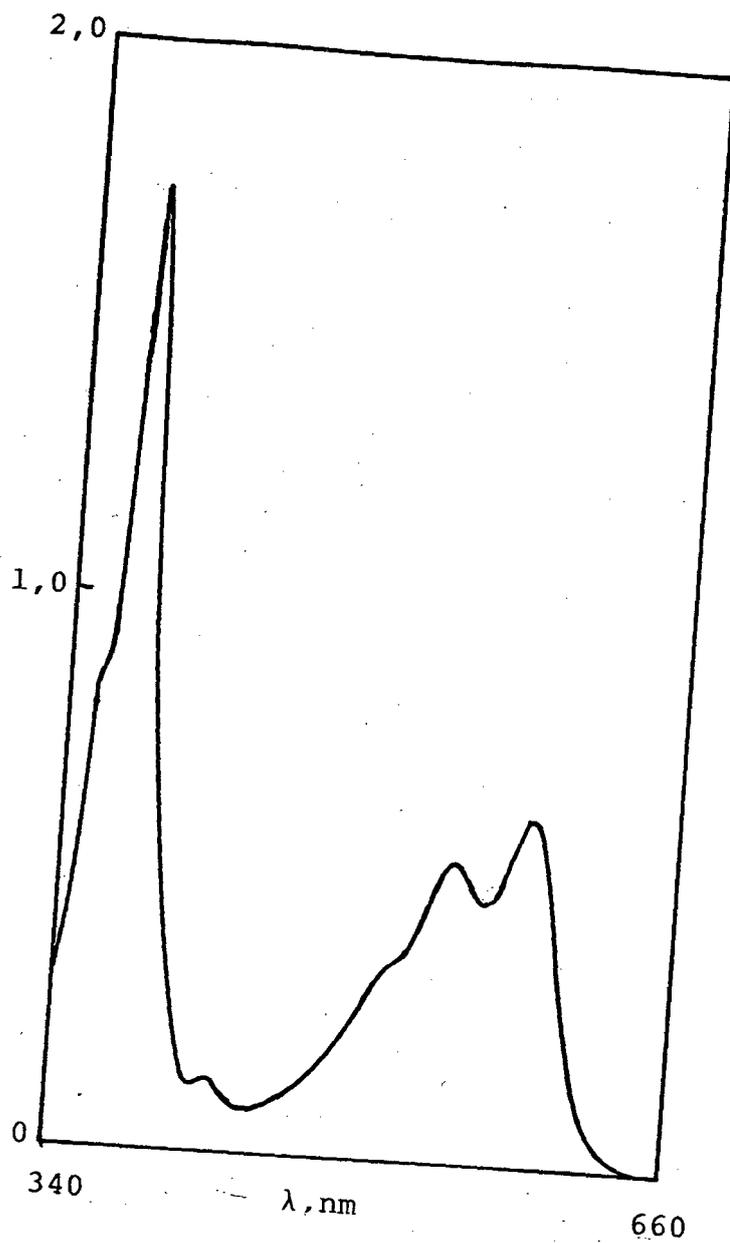


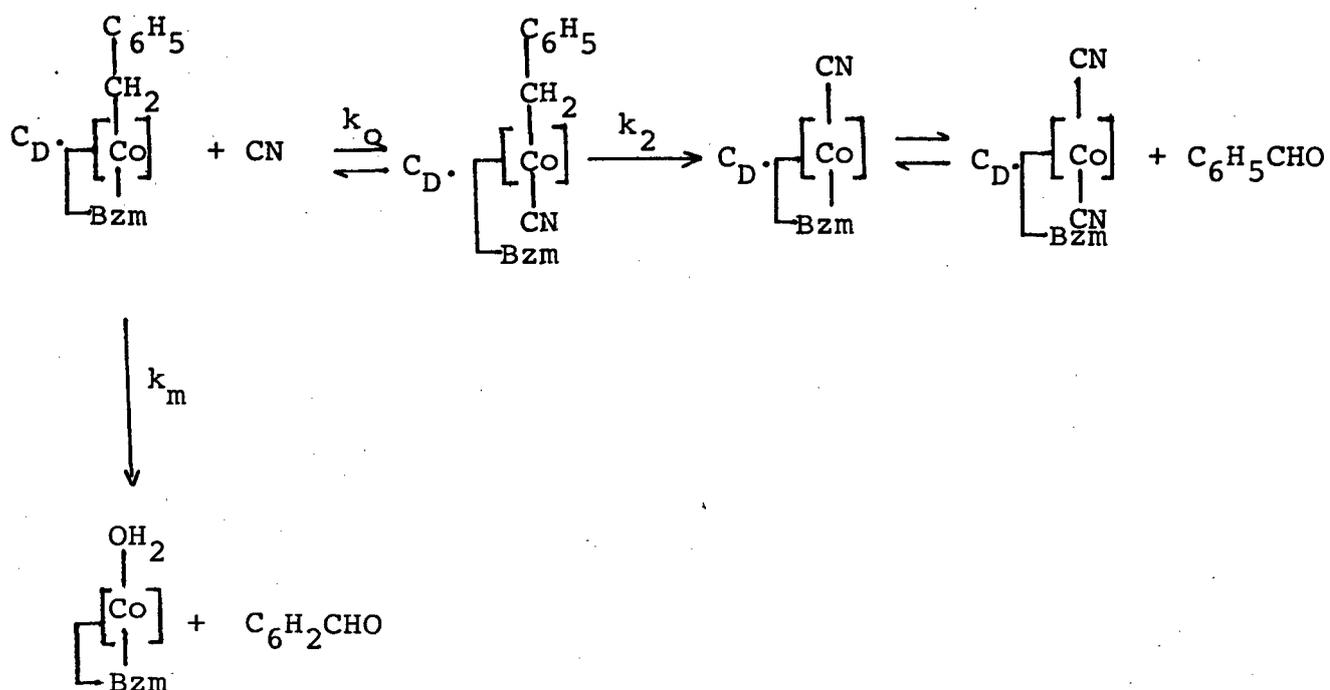
FIGURA 19 - Espectro UV visível para o tempo infinito da reação de decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de SDS (10^{-1} M) e de CN^- (0,08 M NaCN).

A Figura 19 contém o espectro para o tempo infinito da reação de decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de detergentes (0,1 M de SDS) e de CN^- , o espectro corresponde a uma mistura de ciano e dicianocobalamina ($\lambda_{\text{máx.}} = 575$, 540 e 370 nm).

Esta variação espectral encontrada é semelhante àquela descrita por Sabóia⁴⁹ para a reação em meio aquoso e confirmam que os produtos da reação de termólise em presença de CN^- e detergente é uma mistura de ciano e dicianocobalamina.

As velocidades observadas para a decomposição térmica da benzilcobalamina foi determinada em soluções $3,0 \times 10^{-2}$ M de CTABr e $5,0 \times 10^{-3}$ M de SDS para diferentes concentrações de ânion cianeto. Os resultados obtidos estão contidos nas Tabelas XV e XVI. E mostrados num gráfico de k_{obs} versus concentração de ânion cianeto (Figura 20).

O mecanismo previsto para a reação, envolve um pré equilíbrio entre a cobalamina e os dois ligantes axiais CN^- e Bzm, sendo que as duas espécies de benzilcobalaminas formadas sofrem termólise e diferentes velocidades (Esquema XII). A Equação 38 descreve as constantes de velocidades observadas segundo o Esquema XI, supondo que a vitamina B_{12} está totalmente incorporada na micela (ou seja $K_s \text{Cd} \gg 1$).



ESQUEMA XII

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_m + k_2 k_O \text{CN}^-}{1 + k_O \text{CN}} \quad (\text{Eq.38})$$

A Equação 38 prediz que $k_{\text{obs}} = k_m$ quando $\text{CN} = 0$, $k_{\text{obs}} = k_2$ para concentrações suficientemente altas de CN^- e $k_{\text{obs}} = k_m + k_2 k_O |\text{CN}^-|$ para concentrações relativamente baixas de CN^- .

A constante do pré equilíbrio k_O pode ser estimada como um parâmetro de ajuste da Equação 38 aos dados experimentais.

A Equação 38 prediz também que quando

$k_{obs} = \frac{k_m + k_2}{2}$; $k_o = \frac{1}{CN}$. Isto é; k_o pode ser estimada através da concentração de cianeto necessária para atingir a metade da constante de velocidade observada no patamar.

O íon cianeto aumenta a constante de velocidade da reação em uma ordem de magnitude, diminuindo a energia de dissociação (D_{Co-C}) através da desestabilização da ligação Co-C no estado inicial da reação⁴⁹ .

A presença de detergentes diminui a velocidade de quebra da ligação Co-C, provavelmente devido ao efeito de deslocar o Bzm da sexta posição de coordenação, incorporando-o na micela e dificultando sua coordenação, ainda a valores de pH elevados.

Para a reação em presença de detergentes e cianeto esperava-se uma compensação no efeito de inibição do detergente para altas concentrações de CN^- , onde $k_{obs} = k_2$ uma vez que a constante de velocidade k_2 é determinada pela batuzura da base axial.

A constante de velocidade da etapa rápida, prevista pelo mecanismo, onde o Bzm é deslocado pelo cianeto é determinada pela força da ligação do cobalto com o ligante Bzm, e, no caso da presença de detergente será influenciada pela atração e repulsão do ânion cianeto aos detergentes catiônicos e aniônicos respectivamente.

Assim, para o experimento com CTABr (3×10^{-2} M) encontramos que no tempo zero da reação a solução adquire uma coloração violeta característica de CN^- coordenado, mesmo a concentrações relativamente baixas do ânion. A constante de velocidade observada (k_{obs}) para a reação aumenta com o aumento da concen

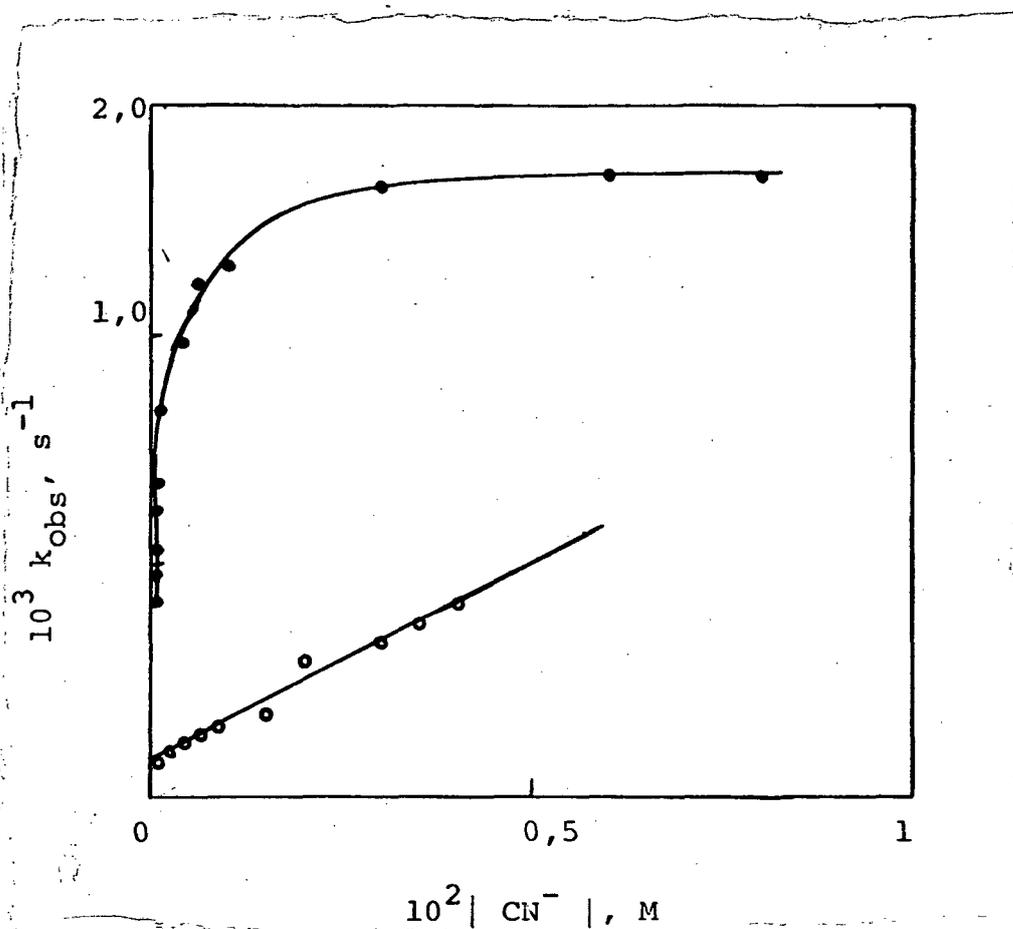


FIGURA 20 - Variação da constante de velocidade de primeira ordem observada para a decomposição térmica de benzilcobalamina em função da concentração de cianeto a 35°C , na presença de 3×10^{-2} M de CTABr (●) e 5×10^{-3} M de SDS (○).

tração do ânion CN^- , até alcançar um valor máximo ($2,7 \times 10^{-2} \text{M}^{-1}$) após o qual permanece constante. Este valor de $k_{\text{obs}} \text{máx.}$ concorda com aquele ($2,6 \times 10^{-2} \text{M}^{-1}$) observado anteriormente para a reação na ausência de detergente⁴⁷, num pH 11, temperatura de 34°C e $0,83 \text{M}$ CN^- .

Estimando-se um valor de $k_o = \frac{1}{0,006} 166,6$ através da concentração de cianeto necessária para atingir a metade da velocidade de $k_{\text{obs}} \text{máx.}$ observado em presença de CTABr.

A linha contínua na Figura 20 foi traçada, utilizando-se a equação 7 e os seguintes valores para os parâmetros: $k_2 = 2,7 \times 10^{-2} \text{M}^{-1}$, $k_o = 100 \text{M}^{-1}$ e $k_m = 9,47 \times 10^{-3} \text{M}^{-1}$; concorda razoavelmente com os dados experimentais, fato que justifica a validade da Equação 38.

Para o experimento com SDS encontramos que para o tempo zero na reação a solução apresentava a cor amarela característica de Bzm protonado mesmo para concentrações relativamente altas de CN^- ($0,08 \text{M}$).

A constante de velocidade aumenta com o aumento da concentração do ânion cianeto, porém mais lentamente que em CTABr.

Não foi possível concluir a curva devido a problemas de solubilidade. A solução apresentava-se levemente turva à $0,4 \text{M}$ de CN^- em tampão carbonato. Supondo que o valor máximo seja igual aquele obtido com CTABr, é possível estimar um valor de $k_o = 1-2 \text{M}^{-1}$ para a constante de ligação de CN^- à benzilcobalamina.

Os valores para a constante de ligação de CN^- a benzilcobalamina encontrados para a reação em presença de mice

las de CTABr ($k_o = 100 - 200 \text{ M}^{-1}$); para a reação em água ($k_o = 10-20 \text{ M}^{-1}$)⁴⁷ e em presença de micelas de SDS ($k_o = 1-2 \text{ M}^{-1}$).

Estão de acordo com as teoria existentes sobre catálise micelar, que atribuem como um dos fatores responsáveis pelo efeito micelar sobre a velocidade de reações químicas e aumento da concentração dos reagentes no meio micelar. A contribuição da concentração no efeito micelar é determinado pela eficiência das interações iônicas e hidrofóbicas entre as moléculas dos reagentes e a interações iônicas e hidrofóbicas entre as moléculas dos reagentes e as micelas.

Assim, micelas catiônicas catalisam reações de moléculas aniônicas e substratos neutros, conduzindo ambos os reagentes ao mesmo tempo para a camada de Stern e inibem reação de moléculas catiônicas com substratos hidrofóbicos devido a repulsão do reagente catiônico.⁴⁰

Da mesma forma, a velocidade de reação entre substratos neutros e espécies aniônicas seria diminuída por micelas aniônicas.

A constante de ligação do CN^- ao cobalto em presença de micelas de CTABr é muito maior que o valor em H_2O . Um resultado esperado já que um detergente catiônico concentra ânions na superfície.

Inversamente SDS dificulta a coordenação do CN^- e o valor da constante de ligação é menor que o valor em H_2O .

CONCLUSÃO

Os processos enzimáticos nos quais as duas formas da vitamina B₁₂ (adenosilcobalamina e metilcobalamina) servem como coezima envolvem a ligação Co-C. Em geral, as reações de ligantes alquilcoordenados ao átomo de cobalto envolvem primariamente a fissão da ligação carbono-cobalto.

No estudo da reação de termólise da benzilcobalamina em meio micelar; observou-se que os detergentes estabilizam a ligação Co-C consideravelmente. Sendo o efeito mais pronunciado para detergente aniônicos que para catiônicos.

A retardação na velocidade da reação de termólise pelas micelas é atribuída ao deslocamento do ligante axial da sexta posição de coordenação (Bzm) e incorporação deste pela micela, dificultando sua coordenação mesmo para valores de pH elevados.

Considerando que a estabilidade térmica da benzilcobalamina depende fortemente do equilíbrio entre as formas base coordenada e base não coordenada. A alteração no pK_a^{app} encontrado para a benzilcobalamina, com um deslocamento de até 3 unidades em meio de micelas aniônicas, indica que a benzilcobalamina em meio micelar existe predominantemente na forma base não coordenada menos reativa.

O valor de D_{Co-C} é maior na presença de detergentes que em água, um resultado que sugere que em sistemas biológicos é possível estabilizar ligações Co-C lábeis por simples interação da alquilcobalamina com superfícies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. SCOTT, A.I., GEORGOPAPADAKOU, N.H. On B₁₂ biosynthesis and evolution. J. Theor. Biol., v.69; p.381-84, 1977.
2. OFFENHATZ, P. et al. A theoretical analysis of corrin optical spectra. J. Am. Chem. Soc., v.92, n.10, p.2966-73, 1970.
3. ZANETTE, D. Estudo da reação da vitamina B₁₂s com DDT. Tese de Mestrado em Físico-Química - UFSC - 1978.
4. BROWN, D.G. The chemistry and related inorganic model systems. Prog. Inorg. Chem., v.18, p.177-95, 1973.
5. PETT, V. et al. Conformational variability of corrins: Some methods of analysis. J. Am. Chem. Soc., v.109, p.3207-15, 1987.
6. BEAVEN, G.H., JOHNSON, E.A. The reduction of vitamin B₁₂. Nature, v.176, p.1264-65, 1955.
7. PRATT, J. et al. The chemistry of vitamin B₁₂.I. The valency and spectrum of the coenzyme. J. Chem. Soc., p.5149-53, 1964.
8. SCHRAUZER, G.N., LEE, L. The molecular and electronic structure of vitamin B₁₂^r, cobaloximes(II), and related compounds. J. Amer. Chem. Soc., v.90, n.23, p.654-143, 1968.
9. YAMADA, R., SHIMIZU, S., FUKUI, S. Biochemistry, v.7, p.1713, 1968.
10. BLASER, H.U., HALPERN, J. Reactions of vitamin B₁₂^r with organic halides. J. Am. Chem. Soc., v.102, p.1684-89, 1980.
11. LARANJEIRA, M., ARMSTRONG, D., NOME, F. Reactions of vitamin B₁₂^r with pesticides. Bioorg. Chem.,

12. B₁₂ |Twelve|, v. 1, p. 501, 1982.
13. THUSIUS, D. The kinetics of the aquocobalamina-thiocyanate reaction. J.C.S. - Chem. Comm., p. 1183-84, 1968.
14. ADLER, N. et al. Reaction of hydroxocobalamin with thiols. J. Am. Chem. Soc., v. 88, n. 21, p. 5018-20, 1966.
15. FENDLER, J., NOME, F. Interaction of cysteine with vitamin B₁₂a: Kinetic and thermodynamic investigations. J.C.S. - Dalton Trans., p. 1212-19, 1976.
16. SCHRAUZER, G.N., DEUTSCH. Reactions of cobalt(I) surpernucleophiles. The alkylation of vitamin B₁₂s, cobaloximes(I), and related compounds. J. Am. Chem. Soc., v. 91, n. 12, p. 3341-50, 1960.
17. JENSEN, F.R. et al. Stereochemistry of the alkylation of cobalt(I). J. Am. Chem. Soc., v. 92, p. 1414-16, 1970.
18. SCHRAUZER, G.N. et al. Alkylcobalamins and alkylcobaloximes. Electronic structure, spectra, and mechanism of photodealkylation. J. Am. Chem. Soc., v. 92, n. 10, p. 2997-3005, 1970.
19. SCHRAUZER, G.N. et al. Photochemical and thermal cobal-carbon bond cleavage in alkylcobalamins and related organometallic compounds a comparative study. J. Am. Chem. Soc., v. 90, n. 24, p. 6681-88, 1968.
20. GRATE, J.H., SCHRAUZER, G.N. Sterically induced, spontaneous de alkylation of secondary alkylcobalamins. Due to axial base coordination and conformational changes of the corrin ligand. J. Am. Chem. Soc., v. 101, n. 16, p. 4601-611, 1979.

21. SCHRAUZER, G.N., GRATE, J.H. Sterically induced, spontaneous Co-C bond homolysis and β -elimination reactions of primary and secondary organocobalamins. J. Am. Chem. Soc., v. 103, p. 541-46, 1981.
22. HOGENKAMP, H.C. The photolysis of methylcobalamin. Biochemistry, v. 5, p. 417-22, 1966.
23. ENDICOTT, J.F., FERRAUDI, G. A flash photolytic investigation of low energy homolytic process in methylcobalamin. J. Am. Chem. Soc., v. 99, p. 243-5, 1977.
24. PRATT, J.M. The chemistry of the vitamin B₁₂. Part II. Photochemical reactions. J. Chem. Soc., p. 5154-60, 1964.
25. BLAU, R.J., ESPENSON, J.H. Homolysis and electron-transfer reactions of benzylcobalamins. J. Am. Chem. Soc., v. 107, p. 3530-33, 1985.
26. HALPERN, J. et al. Metal-alkyl bond dissociation energies in organocobalt compounds related to vitamin B₁₂ cozymes. J. Am. Chem. Soc., v. 101, p. 7124-26, 1979.
27. TADROS, T.F. Surfactants. London, Academic Press, 1974.
28. Adv. Chromat. v. 27, cap. 5, p. 165-67, 1987.
29. FENDLER, F.H. Membrane mimetic chemistry, New York, John Wiley, 1982.
30. KLEVENS, H.B. Structure and agregation in dilute solutions of surface active agents. J. Am. Oil Chem. Soc., p. 74-80, 1953.

31. ZANA, R. Ionization of cationic micelles: effect of the detergent structure. J. Coll. Interf. Sci., v. 78, n. 2 , p. 330-37, 1980.
32. SEPÚLVEDA, L. CORTES, J. Ionization degrees and critical micelle concentrations of hexadecyltrimethylammonium micelles with different counterions. J. Phys. Chem., v. 89, p. 5322-24, 1985.
33. EVANS, H.C. J. Chem. Soc., p. 579, 1956.
34. JANJIC, T., HOFFMANN, H. Mechanism of micelle formation. Zeitschrift für Physikalische Chemie Neue Folge, v. 86, p. 322-26, 1973.
35. STIGTER, D. Micelle formation by ionic surfactants I. Two phase model, Govy-Chapman model, hydrophobic interactions. J. Coll. Interf. Sci., v. 47, n. 2, p. 473-81, 1974.
36. MENGER, F.M. On the structure of micelles. Acc. Chem. Res., v. 12, p. 111, 1979.
37. FROMHERTZ, P. Micelle structure: A surfactant-block model. Chem. Phys. Lett., v. 77, p. 460, 1981.
38. FLORY, P.J., DILL, K.A. Molecular Organization in micelles and vesicles. Proc. Natl. Sci. USA, v. 78, p. 676-80, 1981.
39. K.L. MITTAL, LINDMAN, B. (ed.) New York, Plenum Press, 1984, v. 1.
40. FENDLER, J.H., FENDLER, E.J. Catalysis in micellar and macromolecular systems. New York, Academic Press, 1975.
41. CIPIANI, A., LINDA, P., SAVELLI, G., BUNTON, C.A. Micellar effects upon the hydrolysis of activated amides mechanistic aspects. J. Phys. Chem., v. 87, p. 5262-67, 1983.

42. HE, Zhen-Min, O'CONNOR, P.J., ROMSTED, L.S., ZANETTE, D.
Specific counterion effects on indications equilibria in micellar solutions of decyl phosphate and lauryl sulfate surfactants. J. Phys. Chem., v. 93, p. 4219-26, 1989.
43. STADLER, E. et al. Kinetic behaviour of cetyltrimethylammonium hydroxide. The dehydrochlorination of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane and some of its derivatives. J. Phys. Chem., v. 88, p. 1892-6, 1984.
44. NUNEZ-TOLIN, V. et al. Tension measurements by the dropweight method for continuously varying surfactant concentration. J. Coll. Interf. Sci., v. 85, n. 2, p. 597-600, 1982.
45. PETHICA, B., ARAKAWA, J. Micellization in aqueous solutions of monoalkyl phosphate salts. J. Coll. Interf. Sci., v. 75, n. 2, p. 441-50, 1980.
46. HINE, J. Physical Organic Chemistry. 2 ed., New York, Mc-Graw-Hill Book, 1962.
47. Silva, A. Estabilidade cinética e termodinâmica da benzilcobalaminas e derivados. Tese de Mestrado em Físico-Química, UFSC, 1983.
48. FIRTH, F.G. et al. The chemistry of vitamin B₁₂. VII. Stereoisomerism involving the axial ligands. J. Chem. Soc. A, p. 453, 1968.
49. NOME, F., REZENDE, M., SABÓIA, C. Kinetics of the thermolysis of p-substituted benzylcobalamins and derivatives. Can. J. Chem., v. 65, p. 2095, 1987.

50. ROBINSON, G., NOME, F., FENDLER, F.H. Effects surfactants on cobalamin dependent methyl transfer. Influence of aqueous and reversed micelles on the interation of mercuric ion with methylcobalamin. J. Am. Chem. Soc., v. 99, p. 4969, 1977.
51. NOME, F., A. NEVES, L.G. IONESCU In: E.J. FENDLER anda K. MITTAL. Solution behavior of surfactants. Theoretical and applied aspects. Ed., New York, Phenum Press, 1982.

TABELA III - Valores de constante de velocidade observada (k_{obs}) para a reação de decomposição térmica da benzilcobalamina em diferentes pH a 35°C .

pH	$10^3 k_{obs} \text{ s}^{-1}$
2,00	0,23
2,30	0,33
2,60	0,89
2,80	1,04
3,20	1,83
3,50	2,09
3,80	2,92
4,20	5,62
4,50	5,78
4,80	7,45
5,10	8,56
5,40	8,67
5,80	8,74
6,50	9,35
7,50	9,70
8,00	9,40
11,60	8,87

TABELA IV - Valores de constante de velocidade observada (k_{obs}) em diferentes temperaturas e parâmetros de ativação para a decomposição térmica da benzilcobalamina em solução aquosa a pH 7,0.

T C	$10^3 k_{obs} \cdot s^{-1}$
15	0,65
20	1,28
25	2,40
30	4,50
35	9,20

$$\Delta H^\ddagger = 21,70 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta S^\ddagger = 2,4 \text{ cal/mol K}$$

$$\Delta G^\ddagger = 21,02 \text{ Kcal/mol}$$

TABELA V - Valores da constante de velocidade observada (k_{obs}) para a reação de decomposição da benzilcobalamina em presença de diferentes concentrações de SDS a 35°C.

10^3 M SDS	10^3 M $k_{obs} \cdot s^{-1}$ (a)	10^3 M SDS	10^3 $k_{obs} \cdot s^{-1}$ (b)
0,00	9,40	0,00	9,70
1,00	8,60	1,00	7,73
2,00	7,25	1,25	5,40
2,50	6,45	1,50	3,49
2,75	5,27	1,75	2,93
3,00	3,30	2,00	2,30
3,50	1,78	2,75	2,10
4,00	1,44	3,00	1,66
5,00	1,12	4,00	1,56
6,00	1,24	5,00	1,48
7,00	1,03	5,50	1,55
8,00	1,23	8,00	1,50
9,00	1,02	-	-
10,00	0,00	-	-

(a) pH = 7,50

(b) pH = 11,6

TABELA VI - Valores da constante de velocidade da decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de SDS (10^{-2} M) em função do pH à 35°C .

pH	$10^3 k_{\text{obs}} \cdot \text{s}^{-1}$
3,50	0,022
5,40	0,127
6,50	0,276
7,50	1,04
9,00	-
9,50	1,036
10,00	1,27
10,50	1,32
12,00	1,33

TABELA VII - Valores da constante de velocidade a diferentes temperaturas e parâmetros de ativação para a decomposição da benzilcobalamina na presença de SDS ($10^{-2}M$) em pH 7,50.

Temperatura, °C	$10^4 k_{obs} \cdot s^{-1}$
25	2,59
30	4,87
35	9,49
40	18,40
45	36,10

$$\Delta H^\ddagger = 24,20 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta S^\ddagger = 6,40 \text{ cal/mol.K}$$

$$\Delta G^\ddagger = 22,30 \text{ Kcal/mol}$$

TABELA VIII - Valores de constante de velocidade da decomposição térmica da benzilcobalamina em função da concentração de CTABr, a 35°C em pH 7,50.

$10^2 M CTABr $	$10^3 k_{obs} - s^{-1}$
0,00	10,20
0,20	10,17
0,40	8,36
0,60	6,67
0,80	5,51
1,00	4,69
1,40	3,59
1,80	3,49
2,00	3,41
3,00	2,41
4,00	3,12
5,00	2,19

TABELA IX - Valores de constante de velocidade da decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de CTABr (5×10^{-2} M) em função do pH, à 35°C .

pH	$10^3 k_{\text{obs}} \cdot \text{s}^{-1}$
2,30	0,24
2,60	0,33
2,90	0,62
3,80	1,02
4,00	1,05
4,50	1,32
5,00	2,05
5,55	2,16
6,50	1,79
7,00	1,84
7,50	2,02
8,13	1,82
9,00	1,94
10,00	1,84
11,00	1,87
12,00	2,04

TABELA X - Valores de constante de velocidade observada a diferentes temperaturas e parâmetros de ativação para a decomposição da benzilcobalamina na presença de CTABr (3×10^{-2} M) em pH 7,50.

T C	$10^3 k_{\text{obs}} \cdot \text{s}^{-1}$
25	0,693
30	1,612
35	2,487
40	4,790
45	8,630

$$\Delta H = 22,45 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta S = 2,53 \text{ cal/mol.K}$$

$$\Delta G = 21,695 \text{ Kcal}$$

TABELA XI - Valores de constante de velocidade observada (k_{obs}) para a decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de diferentes concentrações de DNaP para um pH de 5,50.

10^2 DNaP M	$10^3 k_{obs} \cdot s^{-1}$
1,00	7,44
2,00	7,38
2,50	7,32
3,00	2,30
5,00	0,288
6,00	0,176
8,00	0,178
10,0	0,242
12,0	0,300
16,0	0,342
18,0	0,319
20,0	0,386

TABELA XII - Constantes de velocidades para a decomposição térmica da benzilcobalamina em presença de DNaP (20×10^{-2}) a diferentes pH.

pH	$10^3 k_{obs} \cdot s^{-1}$
5,10	0,12
5,42	0,17
6,00	1,25
7,00	1,51
7,21	1,69
7,28	1,74
7,53	1,82
7,60	1,79
7,90	1,96
8,32	2,19
9,07	2,96
10,20	3,69
12,10	3,44
12,15	3,22
12,46	3,67

TABELA XIII - Valores de constante de velocidade observada à diferentes temperaturas e parâmetros de ativação para a decomposição da benzilcobalamina na presença de DNaP (2×10^{-2} M)^a.

T C	$10^3 k_{\text{obs}} \cdot \text{s}^{-1}$
30	0,208
35	0,407
40	1,21
45	2,65
50	4,32

a = pH 6,00

$$\Delta H^\ddagger = 30,32 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta S^\ddagger = 24,675 \text{ cal/mol}$$

$$\Delta G^\ddagger = 22,97 \text{ cal/mol}$$

TABELA XIV - Valores de constante de velocidade observada à diferentes temperaturas e parâmetros termodinâmicos de ativação para a decomposição da benzilcobalamina na presença de DNa_2P (2×10^{-2} M).

T C	$10^3 k_{\text{obs}} \cdot \text{s}^{-1}$	pH
30	1,64	12,10
35	3,44	12,06
40	6,20	12,01
45	1,11	11,90

$$\Delta H^\ddagger = 25,75 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta S^\ddagger = 13,63 \text{ cal/mol.K}$$

$$\Delta G^\ddagger = 21,685 \text{ Kcal/mol}$$

TABELA XV - Valores de constante de velocidade observada (k_{obs}) para a decomposição térmica de benzilcobalamina em CTABr (3×10^{-2} M) a diferentes concentrações de cianeto. (a)

$10^2 M KCN $	$10^2 k_{obs} \cdot s^{-1}$
0,04	0,947
0,08	0,812
0,10	1,03
0,40	1,23
0,60	1,37
1,00	1,65
4,00	1,98
6,00	2,25
10,00	2,30
20,00	2,68
60,00	2,70
80,00	2,70

(a) pH = 11,00 T = 35,0 C

TABELA XVI - Valores de constante de velocidade observada (k_{obs}) para a decomposição térmica de benzilcobalamina em SDS (5×10^{-3} M) a diferentes concentrações de cia neto. (b)

$10^2 M NaCN $	$10^3 k_{obs}$
0,20	1,56
0,40	1,69
0,60	1,82
0,80	1,89
1,50	2,25
2,00	1,88
3,00	2,27
4,00	2,31
6,00	2,69
8,00	2,92
15,00	3,45
20,00	5,87

(b) pH = 11 T = 35°C