

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

***ESTUDO DE HIDRÓLISE DE AMIDAS DERIVADAS DO ANIDRIDO  
2-CARBÓXI-1,8-NAFTÁLICO. EFEITO DO GRUPO VICINAL NA  
VELOCIDADE E MECANISMO DE REAÇÃO.***

***ROSILENE MARIA CLEMENTIN  
ORIENTADOR: FARUK J. N. AGUILERA***

**FLORIANÓPOLIS – S.C. – BRASIL**

**2000**

ESTUDO DE HIDRÓLISE DE AMIDAS DERIVADAS DO ANIDRIDO 2-CARBÓXI-1,8-NAFTÁLICO. EFEITO DO GRUPO VICINAL NA VELOCIDADE E MECANISMO DE REAÇÃO.

Rosilene Maria Clementin

Tese de Doutorado apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa CATARINA, (S.C.), como requisito para obtenção do grau de Doutora em Química.

Orientador: Faruk J. N. Aguilera

FLORIANÓPOLIS – S.C. – BRASIL

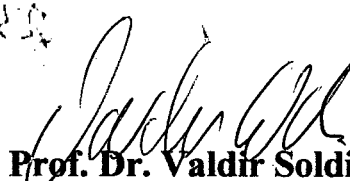
2000

**ESTUDO DE HIDRÓLISE DE AMIDAS DERIVADAS DO ANIDRIDO  
2-CARBÓXI-1,8-NAFTÁLICO. EFEITO DO GRUPO VICINAL NA  
VELOCIDADE E MECANISMO DE REAÇÃO.**


**ROSILENE MARIA CLEMENTIN**

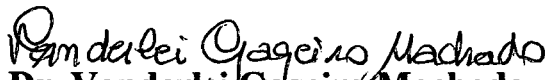
**ESTA TESE FOI JULGADA E APROVADA NA SUA FORMA FINAL  
PELO ORIENTADOR E PELOS MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA**

  
**Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera**  
**Orientador**

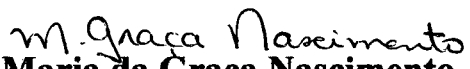
  
**Prof. Dr. Valdir Soldi**  
**Coordenador**

**Banca Examinadora**

  
**Prof. Dr. Paulo Roberto Ribeiro Costa**  
**Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ**

  
**Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado**  
**Universidade Federal do Paraná – UFPr**

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

  
**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria da Graça Nascimento**  
**Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC**

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

ESTUDO DE HIDRÓLISE DE AMIDAS DERIVADAS DO ANIDRIDO  
2-CARBÓXI-1-8-NAFTÁLICO. EFEITO DO GRUPO 6-8 NA  
VELOCIDADE E MECANISMO DE

SC-00052726-3

ROSILENE MARIA CLEMEN

174636

CETD

ESTA TESE FOI JULGADA ~~APROVADA~~ APROVADA POR COMISSÃO DE JÚRI FINAL  
PELO ORIENTADOR E PELOS MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA  
DOADO POR

2

φ 159

REGISTRO 0.332.021-1  
DATA DO REGISTRO 23-4-001

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera  
Orientador  
CFM

Prof. Dr. Valdir Solbi  
Coordenador

Banca Examinadora

Prof. Dr. Paulo Roberto Ribeiro Costa  
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Prof. Dr. Vanderlei Gazeiro Machado  
Universidade Federal do Paraná - UFPR

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

Prof. Dr. Maria da Graça Nascimento  
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

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

A  
minha família,  
pelo apoio irrestrito em  
todas as fases de realização deste  
trabalho, bem como em todas as dificuldades  
pessoais enfrentadas durante sua elaboração.

## **AGRADECIMENTOS**

*Ao prof. Faruk Nome por todo seu apoio, pessoal e profissional bem como por sua precisa orientação durante a execução deste trabalho.*

*Ao meu amigo José, pela companhia, apoio e colaboração nas discussões.*

*Aos professores do departamento de química que contribuíram para a minha formação acadêmica.*

*Aos colegas do laboratório QMC 303 e 305: Santiago, Ângelo, Sônia, Gean, Sandro, Edson, Cláudio, Jaime, Vera, Dilma, Fabiana, Fátima, Alex, Francine e Márcio que sempre me acompanharam e proporcionaram muitos momentos de alegria durante toda esta caminhada.*

*Aos funcionários e funcionárias do departamento de química, em especial à Graça e Jadir pela presteza no atendimento, que contribuíram para a realização deste trabalho.*

*Ao Prof. Marcos da UFSM, pela realização dos espectros de ressonância magnética nuclear.*

*Às funcionárias da biblioteca setorial, em especial à Selma, pela amizade e auxílio indispensável à uma boa pesquisa bibliográfica.*

*Aos meus novos amigos da UNOPAR, que me incentivaram na conclusão deste trabalho.*

# ÍNDICE

## CAPÍTULO I

<b>1- Introdução</b>	<b>01</b>
<b>1.1 -Reações enzimáticas</b>	<b>01</b>
<b>1.2 -Reações modelos</b>	<b>03</b>
1.2.2- Teoria da proximidade	04
1.2.2- Direcionamento de orbital	07
1.2.3- Controle estéreo-populacional	10
1.2.4- Teoria espaço-temporal	13
<b>1.3-Justificativas</b>	<b>18</b>
<b>1.4-Objetivos</b>	<b>19</b>

## CAPÍTULO II

<b>2 - Parte Experimental</b>	<b>20</b>
<b>2.1 - Reagentes</b>	<b>20</b>
<b>2.2 -Instrumentação</b>	<b>21</b>
<b>2.3 - Síntese dos anidridos naftaleno-tricarboxílicos</b>	<b>22</b>
<b>2.4 - Síntese dos ácidos <i>N,N</i>-dialquilnaftalâmicos</b>	<b>24</b>
<b>2.5 - Estudos cinéticos</b>	<b>25</b>

### CAPÍTULO III

<b>3 - Resultados e Discussão</b> _____	<b>26</b>
<b>3.1 - Caracterização dos anidridos derivados de ácidos</b> <b>naftaleno-tricarboxílicos</b> _____	<b>26</b>
<b>3.2 - Reação de hidrólise dos anidridos naftaleno-tricarboxílicos</b> _____	<b>33</b>
<b>3.3 - Caracterização dos ácidos <i>N,N</i>-dialquilnaftalâmicos</b> _____	<b>43</b>
<b>3.3 - Reação de hidrólise dos ácidos <i>N,N</i>-dialquilnaftalâmicos</b> _____	<b>50</b>

### CAPÍTULO IV

<b>4 - Conclusões</b> _____	<b>63</b>
<b>5 - Apêndices</b> _____	<b>66</b>

### CAPÍTULO V

<b>6 - Referências Bibliográficas</b> _____	<b>82</b>
---	-----------



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 01</b> - Mecanismo nucleofílico proposto através de experimentos de transpeptidação para a hidrólise das proteinases aspárticas _____	02
<b>Figura 02</b> - Mecanismo via catálise ácida geral-básica geral onde a água atua como nucleófilo, proposto através de experimentos de marcação isotópica _____	02
<b>Figura 03</b> - Aproximação esférica para um grupo reativo tendo uma pequena porção reativa. A magnitude do ângulo $2\alpha$ é uma indicação da relação crítica da orientação relativa do grupo para que a reação seja possível _____	09
<b>Figura 04</b> - Espectro de UV-VIS para o anidrido A2CN em acetonitrila a $25^{\circ}\text{C}$ $[\text{A2CN}] = 1,67 \times 10^{-5}\text{M}$ . _____	27
<b>Figura 05</b> - Espectro de IV para o anidrido A2CN em pastilha de KBr _____	28
<b>Figura 06</b> - Espectro de IV para o anidrido A4CN em pastilha de KBr _____	29
<b>Figura 07</b> - Espectro de RMN- $^1\text{H}$ do anidrido A2CN em acetona- $\text{d}_6$ _____	31
<b>Figura 08</b> - Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$ para o anidrido A2CN em acetona- $\text{d}_6$ _____	32
<b>Figura 09</b> - Variação da absorbância em função do tempo para o anidrido A2CN em $\text{pH}=8,50$ - espectros obtidos em intervalos de 2 min., $T 35^{\circ}\text{C}$ _____	34
<b>Figura 10</b> - Variação do $\log k_{\text{obs}}$ para os anidridos A2CN e A4CN, em função do $\text{pH}$ , a $35^{\circ}\text{C}$ _____	39
<b>Figura 11</b> - Gráfico de $\log k_{\text{obs}}$ versus $1/T$ para o anidrido 4-carbóxi-1,8-naftálico, $\text{pH}=1,00$ ; anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico, $\text{pH}=1,00$ e $\text{pH}=6,00$ _____	40

<b>Figura 12</b> - Espectro de UV-Visível da DPA em água; [DPA]= $6,67 \times 10^{-5}$ M _____	<b>44</b>
<b>Figura 13</b> - Espectro de UV-Visível da DEA em água; [DEA]= $6,67 \times 10^{-5}$ M _____	<b>45</b>
<b>Figura 14</b> - Espectro de RMN- $^1\text{H}$ do ácido <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico em $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ _____	<b>46</b>
<b>Figura 15</b> - Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$ do ácido <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico em $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ _____	<b>47</b>
<b>Figura 16</b> -Espectro de HMBC-acoplado do ácido <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico em $\text{CD}_3\text{CN}$ _____	<b>48</b>
<b>Figura 17</b> -Espectro de COSY do ácido <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico em $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ _____	<b>49</b>
<b>Figura 18</b> -Variação da absorbância em função do tempo para DEA , $6,66 \times 10^{-5}\text{M}$ , tampão ácido acético 0,1M; pH=4,50; espectros obtidos em intervalos de 30 segundos, a 35°C _____	<b>51</b>
<b>Figura 19</b> - Gráfico de $k_{\text{obs}}$ em função do pH para a hidrólise de (A) DEA, (B) DPA, (C) MBA e (D) MFA, a 35°C _____	<b>56</b>
<b>Figura 20</b> - Gráfico de $\ln k_{\text{obs}}$ vs $1/T$ para os ácidos: DEA pH=3,75; DPA pH=4,25; MBA pH=3,50 e MFA pH=4,00 _____	<b>60</b>
<b>Figura 21</b> - Gráfico de $\ln k_{\text{obs}}$ versus $1/T$ para os ácidos: DEA, DPA e MBA, pH=1,00; MFA pH=1,75. _____	<b>60</b>
<b>Figura 22</b> - Gráfico da constante de velocidade de hidrólise do ácido <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico em função do pH em água e em óxido de deutério, a 35°C _____	<b>62</b>

**ÍNDICE DE TABELAS**

<b>Tabela 01</b> - Faixa de variação da razão entre as constantes de velocidade na reação de A e B _____	<b>07</b>
<b>Tabela 02</b> - Velocidades relativas para a esterificação de $\gamma$ -hidróxi-ácidos _____	<b>08</b>
<b>Tabela 03</b> - Efeito da estrutura na velocidade de saponificação de lactonas e na lactonização de hidróxi-ácidos a 25°C _____	<b>10</b>
<b>Tabela 04</b> - Efeito da substituição de hidrogênio por metilas, na velocidade relativa para as reações de V, VI e VII _____	<b>12</b>
<b>Tabela 05</b> - Propriedades físicas e dados analíticos para A2CN e A4CN _____	<b>26</b>
<b>Tabela 06</b> - Efeito da temperatura sobre a velocidade de hidrólise dos anidridos 2-carbóxi- e 4-carbóxi-1,8-naftálico _____	<b>41</b>
<b>Tabela 07</b> - Parâmetros de ativação dos compostos A4CN e A2CN a 35°C _____	<b>43</b>
<b>Tabela 08</b> - Valores para as constantes de velocidades e de dissociação calculadas a partir da equação de velocidade para os ácidos <i>N,N</i> -dialquilnaftalâmicos _____	<b>57</b>
<b>Tabela 09</b> - Efeito da temperatura sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos ácidos <i>N,N</i> -dialquilnaftalâmicos _____	<b>58</b>
<b>Tabela 10</b> - Efeito da temperatura sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos ácidos <i>N,N</i> -dialquilnaftalâmicos na forma monoaniônica _____	<b>59</b>
<b>Tabela 11</b> - Parâmetros de ativação dos compostos DEA, DPA e MBA a 35°C _____	<b>59</b>
<b>Tabela 12</b> - Efeito isotópico de solvente sobre a velocidade de hidrólise intramolecular de DEA a 35°C _____	<b>62</b>

## APÊNDICE

<b>Apêndice 1 -</b>	Valores das constantes de velocidade de abertura do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico (A2CN) a 35,0 °C em tampão 0,1 M _____	<b>66</b>
<b>Apêndice 2 -</b>	Valores das constantes de velocidade de abertura do anidrido 4-carbóxi-1,8-naftálico (A4CN) a 35,0 °C em tampão 0,1 M _____	<b>67</b>
<b>Apêndice 3 -</b>	Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi- <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico (DEA) a 35,0 °C em tampão 0,1 M _____	<b>68</b>
<b>Apêndice 4 -</b>	Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2,8-carbóxi- <i>N,N</i> -dipropilnaftalâmico (DPA) a 35,0 °C em tampão 0,1 M _____	<b>69</b>
<b>Apêndice 5 -</b>	Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi-morfolinonaftalâmico (MFA) a 35,0 °C em tampão 0,1 M _____	<b>70</b>
<b>Apêndice 6 -</b>	Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi- <i>N</i> -metil- <i>N</i> -butilnaftalâmico (MBA) a 35,0 °C em tampão 0,1 M _____	<b>71</b>
<b>Apêndice 7 -</b>	Valores das constantes de velocidade de hidrólise do anidrido A2CN à 35,0 °C, pH=1,00, em tampão de ácido oxálico _____	<b>72</b>
<b>Apêndice 8 -</b>	Valores das constantes de velocidade de hidrólise do anidrido A2CN a 35,0 °C, pH=3.25, em tampão de ácido cloro acético _____	<b>72</b>
<b>Apêndice 9 -</b>	Valores das constantes de velocidade de hidrólise do anidrido a 35,0 °C, pH=5.50, em tampão de ácido acético _____	<b>73</b>

<b>Apêndice 10</b> - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do anidrido A2CN a 35,0 °C, pH=8.5, tampão ácido bórico _____	<b>73</b>
<b>Apêndice 11</b> - Valores das constantes de velocidade de hidrólise dos anidridos A2CN e A4CN em diferentes temperaturas e valores de pH _____	<b>74</b>
<b>Apêndice 12</b> - Parâmetros de ativação para os anidridos A2CN e A4CN a 35°C. _____	<b>75</b>
<b>Apêndice 13</b> - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi- <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico (DEA) em diferentes temperaturas e valores de pH _____	<b>76</b>
<b>Apêndice 14</b> - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi- <i>N,N</i> -dipropilnaftalâmico (DPA) em diferentes temperaturas e valores de pH _____	<b>77</b>
<b>Apêndice 15</b> - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi-morfolinonaftalâmico (MFA) a diferentes temperaturas e valores de pH. _____	<b>78</b>
<b>Apêndice 16</b> - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi- <i>N</i> -metil- <i>N</i> -butilnaftalâmico(MBA) a diferentes temperaturas e valores de pH _____	<b>79</b>
<b>Apêndice 17</b> - Parâmetros de ativação para DEA, DPA, MFA e MBA, a 35°C _____	<b>80</b>
<b>Apêndice 18</b> - Valores das constantes de velocidade para hidrólise do ácido 2-carbóxi- <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico (DEA), em meio deuterado a 35°C _____	<b>81</b>

**ABREVIATURAS**

<b>A2CN</b>	Anidrido 2-carboxi-1,8-naftálico
<b>A4CN</b>	Anidrido 4-carbóxi-1,8-naftálico
<b>DEA</b>	Ácido 2,8-carbóxi- <i>N,N</i> -dietilnaftalâmico
<b>DPA</b>	Ácido 2,8-carbóxi- <i>N,N</i> -dipropilnaftalâmico
<b>MFA</b>	Ácido 2,8-carbóxi-morfolinonaftalâmico
<b>MBA</b>	Ácido 2,8-carbóxi- <i>N</i> -metil- <i>N</i> -butilnaftalâmico
<b>DMSO-d<sub>6</sub></b>	Dimetilsulfóxido-deuterado
<b>CD<sub>3</sub>CN</b>	Acetonitrila-deuterada
<b>UV-VIS</b>	Região espectral do ultravioleta e visível
<b>FTIR</b>	Infravermelho com transformada de Fourier
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>RMN-<sup>1</sup>H</b>	Ressonância magnética nuclear de próton
<b>RMN-<sup>13</sup>C</b>	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
<b>HMBC</b>	Heteronuclear multiple bond coherence - espectro acoplado C-H
<b>COSYGP</b>	Correlated spectroscopy - espectro acoplado H-H
<b>EM</b>	Molaridade efetiva

## RESUMO

A hidrólise dos ácidos 2,8-carbóxi-*N,N*-dialquilnaftalâmicos, proposta como modelo não mimético de catálise enzimática para proteinases aspárticas, foi estudada determinando-se a constante de velocidade em função do pH, à temperatura de 35 °C. A análise do perfil de pH mostrou que a reação é predominantemente intramolecular na região entre pH = 2,00 e pH = 5,00, onde a decomposição dos ácidos 2,8-carbóxi-*N,N*-dialquilnaftalâmicos ocorre com a participação dos dois grupamentos carboxílicos, um na sua forma ácida não dissociada e outro na forma dissociada (carboxilato), levando a formação do anidrido correspondente. O máximo de velocidade de reação é atingido quando estas duas espécies estão presentes. O efeito isotópico de solvente apresentou para o máximo de velocidade uma relação  $k_H/k_D = 1,04$  o que, associado ao fato de não ocorrer variação na forma da curva, indica que nenhum próton está sendo transferido na etapa determinante da velocidade para esta reação. Parâmetros de ativação foram calculados e mostraram que a reação apresenta uma dependência de fatores entrópicos e entálpicos.

## ABSTRACT

The hydrolyses of 2,8-dicarboxy-*N,N*-dialkylnaphtalamic acids were studied as a non-mimetic model for mechanistic aspects of enzymatic catalysis of a group of enzymes known as aspartyl proteinases.

The rate constants determined at different pH values at 35 °C, show a bell-shaped curve, in the pH range of 2.0 to 5.0, and the reaction proceeds predominantly with the intramolecular participation of the two carboxylic groups. The pK<sub>a</sub> values of the two carboxylic groups, associated with the bell-shaped kinetic profile which shows a rate maximum around pH 4.00, indicated that the monoanion is considerably more reactive in the intramolecular hydrolysis of the amide, than either the neutral molecule or the dianion. The activation parameters, showed that the reaction depend on a delicate balance of entropic and enthalpic factors and that the entropy of activation disfavors the reaction.

The effect of deuterium oxide in the hydrolysis was determined and a kinetic isotope solvent effect ( $k_H/k_D$ ) of 1.04 was found at the rate maximum, a fact that strongly indicates that proton transfer is not involved in the rate-determining step of the reaction.



## CAPÍTULO I

### 1- INTRODUÇÃO

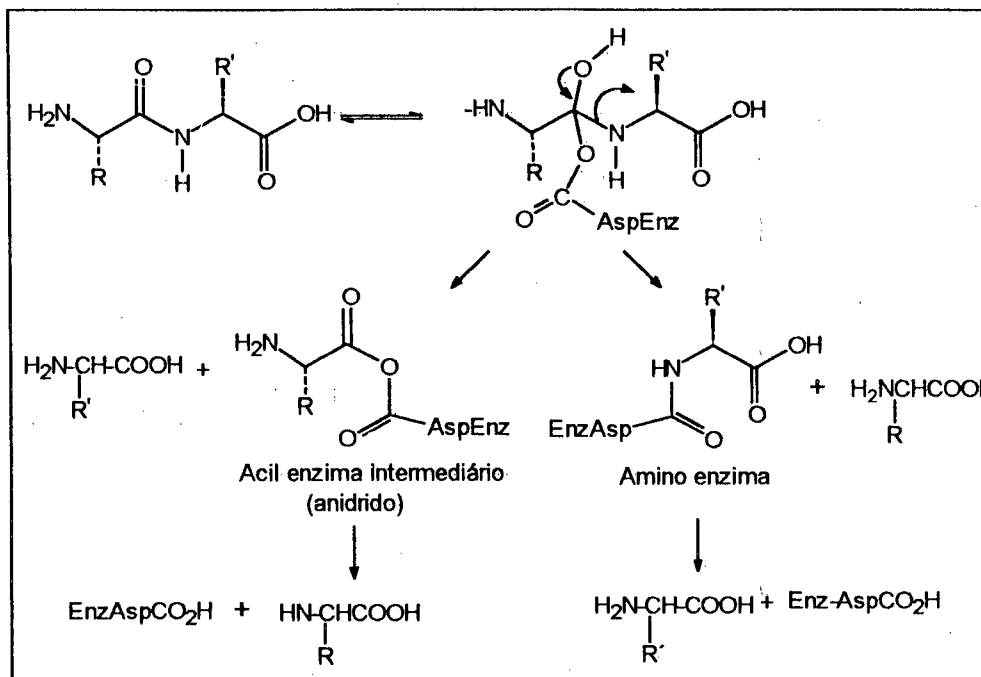
#### *1.1- Reações enzimáticas*

Os seres vivos são constituídos de moléculas desprovidas de vida. Essas moléculas, quando isoladas e examinadas individualmente, comportam-se de acordo com todas as leis físicas e químicas que descrevem o comportamento das matérias inanimadas. Apesar disto, os organismos vivos apresentam atributos peculiares, que não são encontrados nos aglomerados de matéria inanimada<sup>1</sup>. Dentre um dos mais intrigantes componentes dos seres vivos, estão as enzimas.

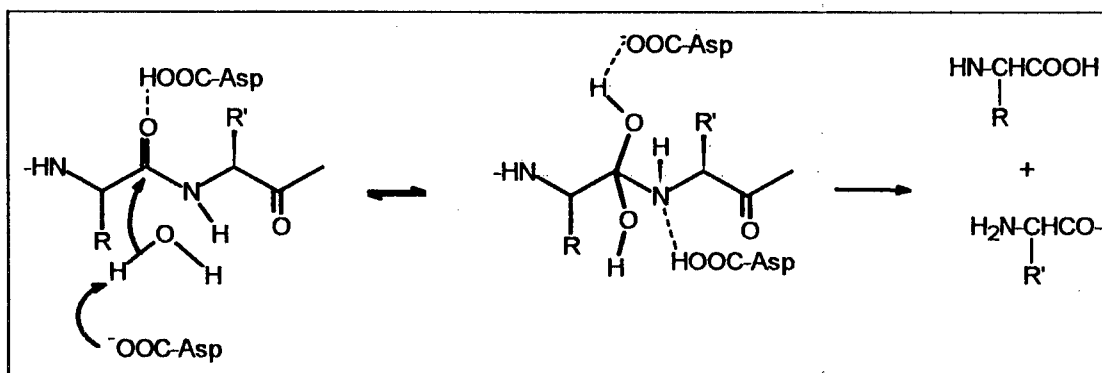
Em sistemas biológicos, as reações químicas ocorrem em geral nos sítios ativos das enzimas, com especificidade e eficiência muito superior àquelas encontradas para as mesmas reações em solução<sup>2</sup>. Esta extraordinária eficiência tem provocado o interesse de diversos pesquisadores em várias áreas para tentar desvendar os segredos mecanísticos envolvidos na catálise enzimática<sup>3</sup>. Como um exemplo, podemos apresentar dois mecanismos propostos para a hidrólise das proteinases aspárticas. Experimentos de transpeptidação sugerem um mecanismo nucleofílico, onde há uma interação covalente entre o substrato e a enzima, levando à formação de um anidrido misto como intermediário, (Figura 01)<sup>4</sup>, embora todas as tentativas de sua detecção e interceptação tenham sido frustradas.

Por outro lado, outros autores, através de estudos de marcação isotópica, propõem um mecanismo semelhante àquele proposto para a lisozima na hidrólise

da ligação glicosídica, via catálise ácida geral-básica geral, (Figura 02)<sup>5</sup>, onde a água atua como nucleófilo.



**Figura 01** - Mecanismo nucleofílico proposto através de experimentos de transpeptidação para a hidrólise de ligações peptídicas por proteinases aspárticas.



**Figura 02** - Mecanismo de hidrólise de ligações peptídicas via catálise ácida geral-básica geral onde a água atua como nucleófilo, proposto através de experimentos de marcação isotópica.

Embora exista divergência no mecanismo pelo qual essas enzimas atuam na hidrólise da ligação peptídica, existe um consenso de que a participação dos grupos carboxílicos é essencial no centro catalítico da enzima. Isto despertou um grande interesse no seu possível papel na catálise de reações hidrolíticas<sup>6,7</sup>. No entanto, como as enzimas são sistemas complexos, tem-se buscado sistemas alternativos, tais como reações modelos, para que se possa obter uma maior compreensão do mecanismo de ação enzimática.

## ***1.2- Reações Modelos***

Observa-se uma grande diferença entre as velocidades de reações enzimáticas e a sua análoga intermolecular, mesmo em condições drásticas de temperatura e pH. Uma das proposições aceitas é que a enzima fixa o substrato de modo a aproximar os grupos reacionais. No entanto, a complexidade estrutural dessas moléculas faz com que se procure desenvolver sistemas mais simples que imitem a ação enzimática como um todo, ou modelos nos quais apenas uma característica específica da enzima é imitada<sup>8</sup>.

Estes modelos deram origem às mais recentes teorias (proximidade, direcionamento de orbitais, controle estereo populacional e espaço temporal entre outras)<sup>9</sup>, as quais tentam definir quantitativamente a influência de cada fator na velocidade total das reações enzimáticas. Na tentativa de quantificar a contribuição de cada fator na velocidade das reações enzimáticas, dirigiu-se os estudos para modelos intramoleculares, as quais apresentam uma grande variação na velocidade da reação, comparativamente ao seu análogo intermolecular.

Sistemas envolvendo participação intramolecular de grupos básicos ou ácidos na hidrólise de ésteres e amidas, tem sido utilizados como modelos de

enzimas hidrolíticas<sup>10</sup>. A imposição de proximidade de grupos reativos em reações intramoleculares, pode eventualmente possibilitar uma modificação do mecanismo de reação ou ainda, variação da etapa determinante da reação<sup>11</sup>. Esta restrição de mobilidade do substrato, com a conseqüente aproximação dos grupos reativos, leva a uma diminuição da energia de ativação da reação. No entanto, o quanto estes fatores são responsáveis pela catálise em si, ainda é discutível<sup>12,13</sup>.

### ***1.2.1- Teoria da Proximidade***

Uma das primeiras idéias que surgiram para explicar a eficiência das enzimas, foi a de que um complexo ternário entre uma enzima e dois substratos melhora a probabilidade de colisão entre os reagentes. Usualmente os substratos estão presentes em baixas concentrações e a probabilidade de colisões é baixa. Entretanto, trazer e manter juntos estes substratos na superfície da enzima aumenta a probabilidade de colisão acelerando a reação<sup>14</sup>.

O efeito de proximidade é então referido como a aceleração de velocidade conseguida quando se coloca juntos em uma mesma molécula, os grupos reagentes<sup>15</sup>. Koshland<sup>16</sup> elaborou um modelo matemático simples para medir o efeito da proximidade nas reações, se baseando nas seguintes suposições:

- i. As espécies reagentes são mais ou menos do tamanho de uma molécula de água.
- ii. O empacotamento das moléculas de água e reagentes é do tipo doze vizinhos mais próximos.
- iii. As soluções dos reagentes são suficientemente diluídas para que a probabilidade de duas moléculas de um mesmo reagente estar justaposta a outra é muito pequena.

iv- As reações ocorrem somente através dos pares de vizinhos mais próximos.

A máxima velocidade conseguida devido à proximidade será de 55,5 vezes .

Se a reação da eq. 1 ocorre através da formação de pares vizinhos, e



desde que A tem 12 vizinhos mais próximos, existem 12 “constelações” de B em contato com A. Se A não tem nenhuma orientação preferida, pode reagir com qualquer das 12 “constelações”. Entretanto, se A tem uma orientação tal que pode reagir com B de somente uma das 12 “constelações”, a velocidade da reação bimolecular (eq. 1) será somente 1/12 daquela onde A não tem orientação preferida. Temos então que:

$$[AB]_{\text{par}} = [A] [B] 12 / 55,5 \quad (2)$$

e

$$v = k_2 [A] [B] = k_2 [AB]_{\text{par}} (55,5/12) \quad (3)$$

$$v = k_2 4,6 [AB]_{\text{par}}$$



Então, se A e B são colocados juntos em um mesmo composto, a constante de velocidade  $k_1$  da eq. 4 poderá ser somente cerca de 4,6 vezes maior que se A e B estiverem separados em solução. Assumindo que a reação entre A e B ocorre independentemente da porção de suas superfícies que estão em contato (nenhum

fator orientacional) e ignorando a possibilidade de que **A** e **B** podem ser dessolvatados antes de serem trazidos em contato, obtém-se uma razão entre a constante de velocidade da reação bimolecular e a sua análoga intramolecular de 4,6.

Embora Koshland não considere efeitos de solvatação, uma determinada orientação própria é necessária para que a reação de formação do par **AB** aconteça. Se **A** e **B** podem formar somente o par **AB** quando alinhados corretamente, pode-se então considerar que alguma fração da superfície de **A** e **B** devem estar em contato para que ocorra a reação (eq. 5)



A fração do ângulo sólido total de **B** com o qual a reação pode ocorrer é designada por  $1/\theta_B$ . Um fator  $f_{AB}$  é introduzido para explicar o número de vizinhos mais próximos, com determinada orientação que podem reagir. Empregando estes fatores de orientação na eq. 3, tem-se:

$$v = k_2 (55,5/12) [AB]_{\text{par}} (\theta_B/f_{AB}) \quad (6)$$

Empregando este modelo, o fator  $f_{AB}$  pode aumentar a eficiência de uma reação intramolecular (eq. 4) sobre sua análoga bimolecular somente por doze vezes.

Baseado na considerações acima para o sistema A-B, a razão da constante de velocidade entre os dois processos deve variar de acordo com o indicado na Tabela 1.

**Tabela 1-** Faixa de variação da razão entre as constantes de velocidade na reação de A e B<sup>16</sup>.

$k_1/k_2$ (M)	Conclusões
5 - 10	Pequena ou nenhuma orientação na reação intramolecular. Solvatação de A e B é a mesma para ambos os processos. Nenhuma compressão estérica na reação intramolecular.
10 - 10 <sup>3</sup>	Orientação de A e B na reação intramolecular e/ou, menor solvatação na reação intramolecular com ou sem compressão estérica.
> 10 <sup>3</sup>	Orientação de A e B na reação intramolecular, menor solvatação do par A-B na reação intramolecular com ou sem compressão estérica.


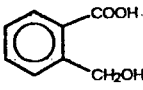
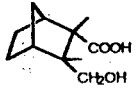
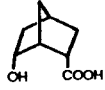
A dificuldade de definir o exato significado do efeito de proximidade é óbvio. Este termo pode envolver solvatação, tensões, orientações, etc<sup>16</sup>. Nos modelos orgânicos (e nos processos enzimáticos) efeitos de tensão conformacional nem sempre podem ser separados do efeito de proximidade, bem como interações não ligantes e solvatações em modelos intramoleculares, que favorecem certas configurações que por sua vez, determinarão a distância entre as espécies A e B.

### ***1.2.2- Direcionamento de orbital***

A teoria de direcionamento de orbital supõe que para que se tenha uma aceleração na velocidade de uma reação, além da justaposição dos átomos reagentes, deve-se ter um direcionamento adequado de seus orbitais. É esta forte preferência direcional que fornece o aumento na velocidade<sup>17</sup>. Esta teoria foi

testada em reações de esterificação de  $\gamma$ -hidróxi-ácidos, nas quais observa-se um fator de velocidade de  $10^6$  entre a reação intramolecular e a sua análoga intermolecular, as quais mesmo após correções de proximidade, efeitos conformacionais e de tensão, prevalece um fator de aumento de velocidade de  $10^4$ , (Tabela 2).

**Tabela 2-** Velocidades relativas para esterificação de  $\gamma$ -hidróxi-ácidos<sup>17</sup>.

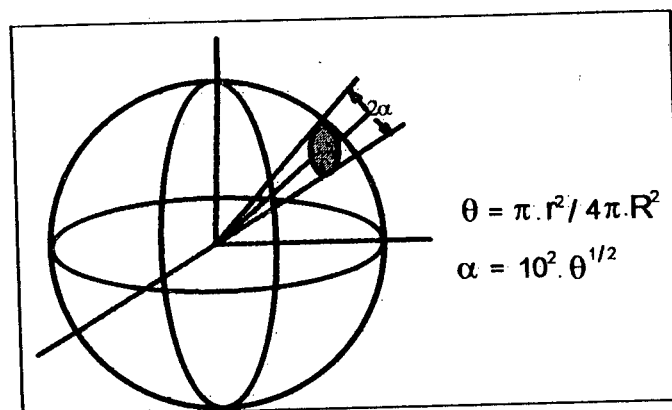
	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ + $\text{CH}_3\text{COOH}$	 I	 II	 III	 IV
$V_{\text{rel}}$	1	79	305	6630	1.027.000
$V_{\text{rel corrig.}}$	1	413	17	1660	18.700

Para comprovar estes dados, Koshland substituiu os grupamento OH por SH, e observou que a velocidade para os tiocompostos I, II, III e IV, são de 70, 115,  $2,5 \times 10^4$  e 426, respectivamente, confirmando que, a mudança no tamanho do grupo reagente provoca o desalinhamento dos orbitais, alterando a velocidade e a ordem de reatividade.

A partir destes resultados preliminares, Koshland fez cálculos baseados na teoria do estado de transição e concluiu que uma aceleração de velocidade de  $10^3$  a  $10^5$  pode ser conseguida quando se tem uma reação otimamente orientada relativa a sua reação bimolecular, orientada aleatoriamente. Portanto, o direcionamento de orbital pode ser definido como a situação em que os átomos reativos são obrigados a reagirem ao longo de um caminho selecionado. Tais restrições podem ser impostas na ligação do substrato ao sítio ativo de uma enzima ou pela superestrutura de uma molécula em uma reação intramolecular<sup>18</sup>.

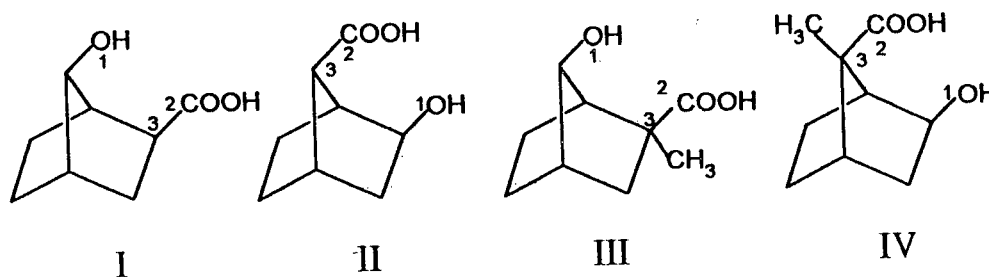


Uma das primeiras refutações à teoria de direcionamento surgiu com Bruice<sup>19</sup>, que demonstrou que a obtenção de fatores de velocidade da ordem de  $10^6$  requer uma orientação crítica de  $0,1^\circ$  em átomos de simetria esférica, (Figura 03).



**Figura 03** - Aproximação esférica para um grupo reativo com uma pequena porção reativa. A magnitude do ângulo  $2\alpha$  é uma indicação da relação crítica da orientação do grupo para que ocorra a reação.

Para comprovar experimentalmente a dependência angular na reatividade, Menger<sup>20</sup> examinou a reatividade intramolecular entre dois grupos funcionais colocados em uma estrutura rígida, com ângulos e distâncias bem definidos.



Menger<sup>20</sup> encontrou que os compostos I e II apresentavam distâncias entre  $O_1C_2$  similares,  $2,83$  e  $2,81\text{Å}$  respectivamente, e ângulos entre  $O_1C_2C_3$  desiguais. Os

compostos III e IV, de modo análogo apresentavam distância  $O_1C_2$ , iguais,  $2,69\text{\AA}$  e diferentes ângulos, como pode ser visto na Tabela 3.

**Tabela 3-** Efeito da estrutura na velocidade de lactonização de hidróxi-ácidos catalisada por ácido<sup>20</sup> a  $25^\circ\text{C}$ .

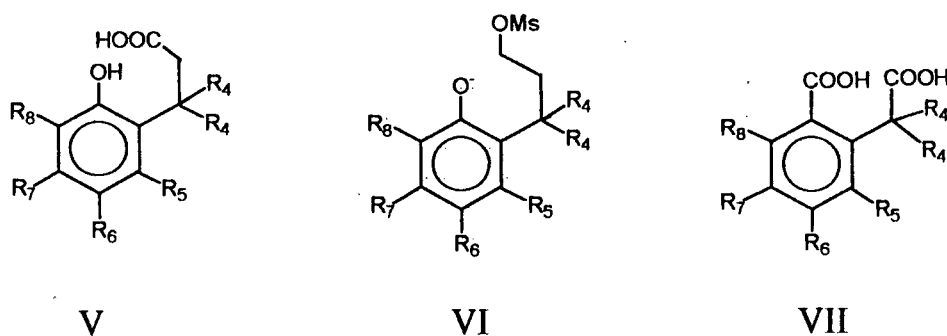
COMPOSTO	ANG. DEG.	$kH^+$ (rel.)
I	70	1
II	80	1,2
III	76	36
IV	85	22

De acordo com a teoria de direcionamento de orbitais, uma variação de  $10^\circ$  deveria produzir uma diferença de velocidade de  $10^4$ . No entanto, pode-se observar que as velocidades são praticamente iguais, portanto um deslocamento angular de  $10^\circ$  entre os grupos reagentes não é cineticamente significante.

### ***1.2.3- Controle estéreo-populacional***

A combinação de vários pontos de ligação do substrato na superfície da enzima serve para produzir uma única orientação do substrato, com relação a catálise no sítio ativo, “congelando” o substrato em uma única conformação com respeito às interações não ligantes. Tais restrições na liberdade rotacional do substrato pela enzima são comparáveis à uma alteração química de um composto orgânico, que serve para restringir a distribuição da população conformacional reativa, eliminando os confôrmeros não reativos. O fenômeno de aumentar a

população de um conformero ideal para a reação tem sido denominado de controle estéreo-populacional<sup>21</sup>. Milstien e Cohen<sup>21</sup> relatam reações de lactonização do ácido o-hidróxi-hidrocinâmico (V), eterificação do mesilato de 3-(o-hidróxifenil)-1-propil (VI) e a formação de anidrido do ácido homoftálico (VII), nos quais foi estudado o efeito da substituição dos hidrogênios por grupos metila.



**Esquema 01**

Como pode ser visto na Tabela 4, quando  $R_4$  e  $R_5$  são grupos metila, a velocidade aumenta consideravelmente, resultando em uma aceleração de  $10^{11}$  para a lactonização de V, o que é notável desde que, aumentos de velocidade desta magnitude aproximam-se ao poder catalítico das enzimas. Os autores atribuem esta aceleração na velocidade a um “bloqueio” pelos grupos metílicos R, que resultam em um congelamento conformacional da cadeia lateral na conformação mais produtiva para a reação. Eles não sugerem que todo este aumento seja devido à restrição conformacional, mas sim que esta restrição seja o fator primário. No entanto, a reação de substituição nucleofílica intramolecular (VI) e a formação do anidrido (VII), mostraram um aumento de velocidade na ordem de  $10^3$  a  $10^4$ , respectivamente, quando são restringidos conformacionalmente pelos

grupos metila. Estes valores talvez representem o aumento típico de velocidade com fatores de restrição conformacional.

**Tabela 4** - Efeito da substituição de hidrogênio por metilas sobre a velocidade relativa de ciclização de V, VI e VII<sup>8</sup>.

R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>	v <sub>rel.</sub> V	v <sub>rel.</sub> VI	v <sub>rel.</sub> VII
H	H	H	H	H	1	1	1
CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	4.440	3.100	82.000
CH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>	16.700	--	--
CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	--	10.464	--
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	8 x 10 <sup>10</sup>	--	--
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	3 x 10 <sup>11</sup>	--	--
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	3 x 10 <sup>11</sup>	9 x 10 <sup>5</sup>	--
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	--	--	8 x 10 <sup>5</sup>

Milstein e Cohen<sup>21</sup> propõem que a perfeita restrição conformacional obtida pela introdução dos três grupos metila seja responsável pelo grande aumento de velocidade na lactonização de V. No entanto, estudos de cristalografia<sup>22</sup> revelaram que o composto V, apresenta desvios significativos nos ângulos de ligação do anel benzênico do seu valor ideal de 120°, para poder acomodar os grupos metilas em R<sub>4</sub> e R<sub>5</sub>. Estes desvios são suficientemente grandes para permitir a rotação da cadeia lateral, desorientando os grupos gem-dimetil, questionando assim a existência do congelamento pelos grupos metila<sup>8</sup>. Deduziu-se então, que o alívio da tensão do estado fundamental seja parcialmente responsável pelo aumento na velocidade de lactonização.

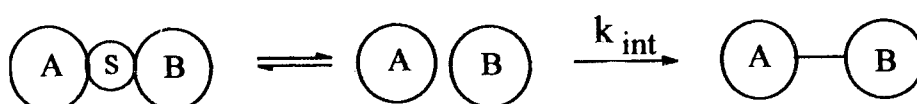
Reações intramoleculares onde os grupos reagentes estão conformacionalmente restringidos podem mostrar um aumento de velocidade na faixa de 10<sup>3</sup> a 10<sup>5</sup>. A lactonização de V, que apresenta um aumento de 10<sup>11</sup>,

provavelmente se deve ao alívio de tensão estérica do estado fundamental<sup>8</sup>, aliado ao efeito de controle estereopopulacional.

### 1.2.4- Teoria Espaço Temporal

Menger<sup>23</sup>, estudando reações intramoleculares onde o solvente é um dos reagentes, concluiu que a proximidade por si só não pode explicar o aumento de velocidade de muitas reações intramoleculares e sugeriu que dois novos parâmetros, tempo e distância, deveriam ser incorporados ao conceito de proximidade para torná-lo viável. Os efeitos de proximidade se manifestam mais acentuadamente em reações intramoleculares do que em reações intermoleculares, pois proximidade total foi conseguida em reações intermoleculares de SN<sub>2</sub>, e nenhum efeito de aumento de velocidade pronunciado foi observado.

A teoria espaço temporal de Menger<sup>24</sup> postula que a velocidade da reação entre os grupos A e B, é proporcional ao tempo no qual A e B permanecem a uma distância crítica. Portanto tempo e distância são os componentes principais da reatividade. Este postulado pode ser visto em termos de um equilíbrio entre as espécies A e B separadas pelo solvente que geram um complexo no qual estas espécies residirão a uma distância crítica.



Esquema 02.

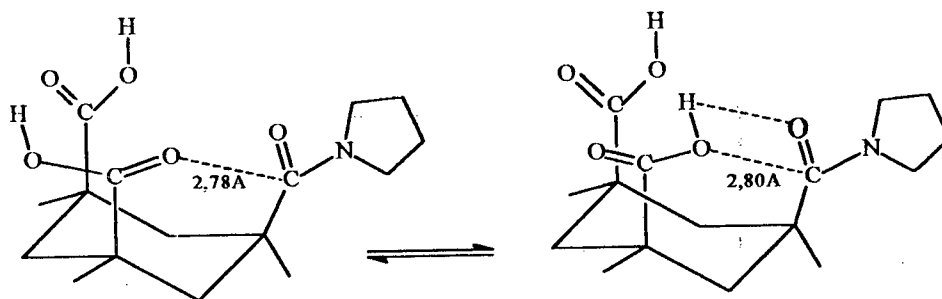
O produto é formado em um segundo passo, através da constante de velocidade  $k_{int}$ . Neste caso, tem-se inicialmente uma pré-associação com dessolvatação.

Segundo Benesi<sup>25</sup>, um par de moléculas sofre uma primeira colisão e permanece uma na vizinhança da outra durante um determinado tempo. Neste tempo, elas sofrerão diversas recolisões, uma delas podendo ter orientação favorável e levar a formação de produtos. A colisão é definida quando a distância entre os centros de A e B é menor ou igual a soma de seus raios ( $r_a + r_b$ ). Se as espécies A e B saírem desta esfera de colisão, elas se separam e não formarão os produtos. Como os pares moleculares geralmente recolidem de 5-500 vezes antes de se separarem, tem-se que isto gera muitas oportunidades de orientação correta para o prosseguimento da reação. A primeira colisão molecular no meio líquido é orientacionalmente aleatória, ou seja, não existe orientação preferida dos centros reativos das moléculas, uma com respeito à outra, adquirindo provavelmente uma melhor orientação durante as recolisões.

Em termos energéticos, foi proposto que as reações ocorrem via ativação vibracional e não translacional. Isto significa que a reação entre A e B num complexo ocorre no momento em que este complexo adquire energia vibracional suficiente para vencer a barreira de ativação<sup>26</sup>. A formação de uma ligação deve ser acoplada vibracionalmente à quebra da antiga ligação, que está vibracionalmente excitada. Este acoplamento requer um tempo suficiente para várias vibrações e não apenas uma. Portanto, a energia vibracional pode promover ou inibir a reação química quando em excesso. Isto se deve ao fato que moléculas em colisões duras (elástica), ricocheteiam em menos tempo que aquelas que ocorrem por acoplamento vibracional. Então, colisões suaves (inelásticas) são mais efetivas que colisões mais duras. Tem-se então, que qualquer operação, tal como a intramolecularidade ou a associação com uma enzima que imobiliza os reagentes, aumentará a velocidade da reação por permitir

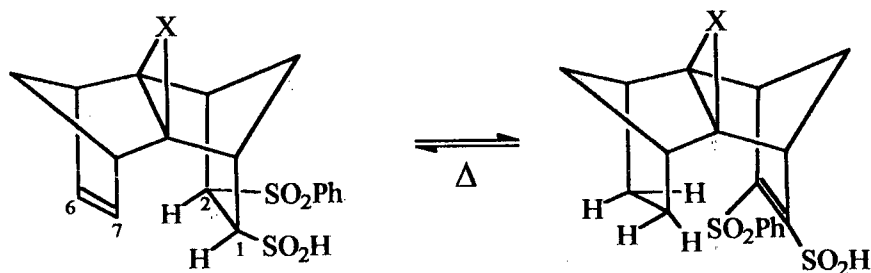
apenas colisões suaves (inelásticas). O papel da enzima é assegurar que o substrato só reaja no momento em que adquirir energia vibracional suficiente para vencer a barreira de ativação. Em contraste, numa reação bimolecular, as moléculas podem adquirir a energia vibracional necessária para a reação e perdê-la antes de reagirem, devido ao fato de estarem movendo-se rapidamente<sup>26</sup>.

Comprovando o poder da teoria, Menger<sup>27</sup> através de dados experimentais demonstrou que amidas derivadas do triácido de Kemp, (Esquema 03), possuem alta velocidade de hidrólise ( $t_{1/2} = 8$  min.;  $EM \sim 10^{12}$  M). Cálculos computacionais revelam que a hidroxila do grupamento amida, está a  $2,80\text{Å}$ , uma distância igual a soma do raio de Van Der Waals dos grupos em questão. Portanto, estes dados estão de acordo com os esperados para a reação com base na relação tempo-distância.



**Esquema 03**

Em concordância com os trabalhos de Menger, Paquette<sup>28</sup> conseguiu boa correlação entre velocidade de reação e a distância média da intracavidade, envolvendo a migração de hidrogênio diotrópico com dissulfonas de sin-sesquinorbornenos. Nestes sistemas, uma mudança de  $0,1\text{Å}$  no tamanho da intracavidade, ou seja na distância entre  $C_{sp}^2 \dots H \dots C_{sp}^3$  ( $C_{2,6} - C_{1,7}$ ), resulta num aumento de velocidade maior que  $10^4$ .



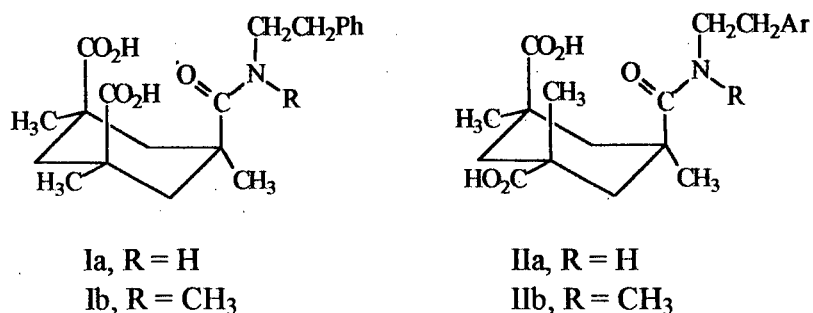
Esquema 04

No entanto, em um trabalho subsequente Paquette<sup>29</sup> observou que a introdução de novos substituintes nas pontes de dissulfonas sin-sesquinordienos, faz com que o controle exclusivo pela distância deixe de existir na transferência de hidrogênio.

Uma nova interpretação dos dados apresentados por Menger para o comportamento da amida derivada do triácido de Kemp foi apresentada por Curran et al<sup>30</sup> mostrando a relação entre a estrutura da amida e a velocidade da reação de hidrólise. Para isso, trabalharam com amidas secundárias e terciárias derivadas do triácido de Kemp nas conformações *cis* e *cis-trans*.

Curran, observou que existe uma diferença de velocidade de aproximadamente 1.000 vezes entre a amida secundária e a amida terciária sendo que a secundária é menos reativa que a terciária. Se realmente a aceleração observada fosse devida apenas a efeitos de tempo e distância como propõe Menger, então somente pequenas diferenças de velocidade entre amidas secundárias e terciárias deveriam ser observadas. Entretanto, as diferenças de velocidade podem ser explicadas considerando outro fator relacionado a estrutura da amida, que é a tensão pseudo-alílica, que surge de interações não ligantes desfavoráveis entre o *N*-substituinte da amida e os  $\alpha$ -substituintes alquílicos presentes na cadeia do cicloexano.





### Esquema 05

No caso de amidas secundárias, o substituinte no N é um átomo de H e nas amidas terciárias é um grupo CH<sub>3</sub>. Portanto, as interações não ligantes associadas com a amida terciária são suficientemente grandes para causar distorções na estrutura da amida, fator que acelera a sua velocidade de hidrólise<sup>31</sup>.

Como pode-se notar, existe um grande número de teorias que tentam explicar e quantificar o poder catalítico das enzimas, bem como seu mecanismo de ação, sem obter o consenso da maioria dos pesquisadores. Com isso técnicas modernas, como cálculos computacionais, podem oferecer novas perspectivas para o melhor entendimento, não só de reações enzimáticas, mas também de problemas fisico-químicos que envolvem as reações químicas em geral.

### ***1.3- Justificativas***

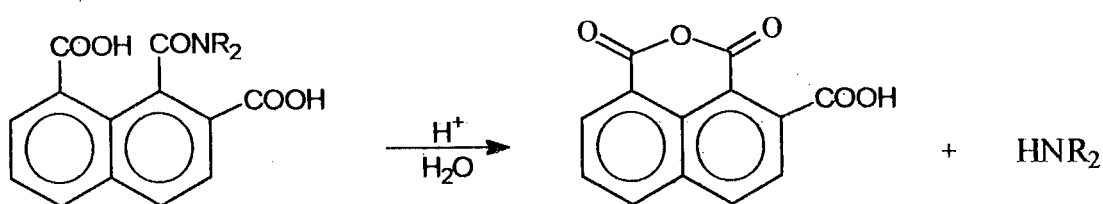
A grande disparidade observada entre a velocidade de reações químicas comuns em laboratório e reações enzimáticas ( $10^{10}$ - $10^{14}$ )<sup>32</sup>, faz com que se torne relevante a compreensão do mecanismo pelo qual as enzimas atuam. No entanto, devido a grande dificuldade do trabalho mecanístico com enzimas, o uso de reações modelos tornou-se de grande importância, especialmente à partir da disponibilidade de informações estruturais do sítio ativo das enzimas, obtidas através do desenvolvimento da técnica de RX.

Modelos químicos devem ter uma elaboração cuidadosa, pois devido a sua maior simplicidade estrutural, devem a princípio, auxiliar na elucidação dos diferentes processos físicos e químicos envolvidos nas reações enzimáticas, bem como fornecer informações quantitativas quando comparadas a velocidade da reação estudada e a velocidade da reação enzimática.

O estudo de modelos para catálise enzimática tem resultado na proposição de várias teorias para explicar a alta reatividade observada nestas reações<sup>3,9</sup>. No entanto a maioria dos modelos baseados em reações intramoleculares trata de sistemas onde apenas um resíduo funcional está presente. Alguns trabalhos abordam a catálise bifuncional,<sup>33-37</sup> o qual também é o nosso objetivo, pois no sítio ativo das enzimas a reação estudada geralmente envolve mais de um resíduo de aminoácido, o que torna o estudo com substratos bifuncionais de grande interesse e relevância.

## 1.4- Objetivos

O objetivo primordial deste trabalho é promover um melhor entendimento dos diversos fatores que governam a catálise enzimática. Para isto estudou-se a reação de hidrólise intramolecular de *N,N*-dialquilamidas derivadas do ácido 1,2,8-naftálico, as quais servirão de modelo não mimético para catálise enzimática. A reação alvo é então:



**Esquema 06**

Para isso, deve-se sintetizar e caracterizar as amidas correspondentes, e estudar a sua reatividade através de experimentos cinéticos, os quais envolvem o estudo da influência do pH, da temperatura e do efeito isotópico do solvente, para se determinar um mecanismo provável para esta reação.

## CAPÍTULO II

### 2- PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1- Reagentes

Na síntese dos anidridos A4CN e A2CN, foram utilizados acenafteno(Aldrich), cloreto de alumínio (Riedel Haën), nitrobenzeno (Aldrich), HCl (Merck), NaCl (G.Química), cloreto de cálcio (G.Química), ferricianeto de potássio (Riedel Haën), KOH (G.Química) e éter etílico (Vetec). Todos os reagentes foram empregados sem purificação prévia.

Para as sínteses *in situ* dos ácidos *N,N*-dialquilnaftalâmicos foram utilizadas *N,N*-dietilamina (Sigma; p.e. 56,5°C; lit<sup>38</sup> = 56,3°C), *N,N*-dipropilamina (Sigma; p.e. 110,0°C; lit<sup>38</sup> 109-110°C), Morfolina (Aldrich; p.e.128,1°C; lit<sup>38</sup> 128,3°C) e *N*-metil-*N*-butilamina (Aldrich; p.e. 90,5°C; lit<sup>39</sup> 91°C). Todas as aminas foram purificadas por destilação usando uma coluna capilar Ace Glass com 60 pratos teóricos. Acetonitrila UV (Aldrich) foi utilizada como solvente nas sínteses dos respectivos ácidos.

Nas reações de hidrólise dos anidridos 2-carbóxi e 4-carboxi-1,8-naftálico foram utilizados os seguintes sistemas tamponantes: as soluções cuja função de acidez ( $H_0$ )<sup>40</sup> possuíam valores entre -0.47 e -3.59 foram preparadas usando HCl (Merck p.a.), entre pH 0,5 e 1,5 ácido oxálico (Merck, p.a.); entre pH 2,0 e 3,5 ácido cloro acético (Sigma, p.a.); entre pH 4,0 e 5,5 ácido acético (Merck, p.a.); entre pH 6,0 e 8,0 hidrogenofosfato de sódio (Merck, p.a.) e entre pH 8,5 e 10,0 ácido bórico (Vetec, p.a.). Para a hidrólise dos ácidos 2-carboxi-*N,N*-

dialquilnaftalâmicos foram utilizados os seguintes sistemas tamponantes: entre pH 0,25 e 2,0 ácido oxálico (Merck, p.a.); entre pH 2,25 e 3,5 ácido malônico (Riedel, p.a.); entre pH 3,75 e 4,75 ácido acético (Merck, p.a.), e entre pH 5,0 e 6,0 ácido succínico (Riedel, p.a.). Todas as soluções tampão foram preparadas em água destilada. As concentrações foram de 0,1M, e os valores de pH foram ajustados usando-se soluções de NaOH (G.Química, p.a.) ou HCl (Merck, p.a.).

Para o efeito de variação na concentração do tampão sobre a constante de velocidade de hidrólise do anidrido A2CN foram utilizados: ácido oxálico (Merck, p.a) pH 1,00 no intervalo de 0,01-0,5M, ácido cloroacético(Sigma, p.a.) pH 3,25 no intervalo de 0,01-0,2M, ácido acético (Merck, p.a.) pH 5,50 no intervalo de 0,01-0,5M e ácido bórico (Vetec, p.a.) pH 8,5 no intervalo de 0,01-0,5M.

## **2.2- Instrumentação**

Os espectros UV-visível e as constantes de velocidade de hidrólise para as reações estudadas foram obtidos em espectrofotômetro Hewlett Packard com arranjo de diodo modelo HP 8452A, utilizando-se celas de quartzo de 3 mL e 1 cm de caminho ótico. Um equipamento FTIR BOMEM foi usado para obtenção de espectros de IV, usando-se pastilhas de KBr. As absorções de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e COSY foram registradas em um aparelho Bruker DPX-400, tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS), e utilizando-se acetona- $\text{d}_6$  como solvente para o A2CN e diclorometano com capilar de  $\text{DMSO-}\text{d}_6$  para DEA. O espectro de HMBC-C/H foi registrado utilizando-se acetonitrila- $\text{d}_3$  como solvente. Os dados de CHN foram obtidos em um aparelho da Perkin-Elmer. Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho de chapa quente tipo Fisher-

Johns, modelo APF 301 da Microquímica. Uma coluna capilar de destilação Ace Glass com 60 pratos teóricos foi usada para a purificação da *N,N*-dietilamina, *N,N*-dipropilamina, *N*-metil-*N*-butilamina e morfolina.

O pH das soluções tampão foi determinado por um pH-metro Beckman  $\Phi$ 71, utilizando um eletrodo combinado da Corning. As temperaturas das soluções tampão foram mantidas no valor desejado com um banho termostatizado Microquímica modelo MQBT2 99-20.

### ***2.3- Síntese dos anidridos 2-carbóxi- e 4-carbóxi-1,8-naftálico***

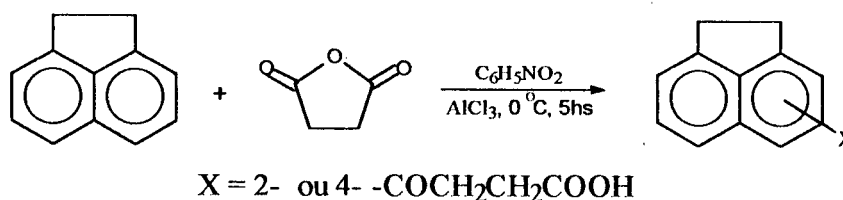
Os anidridos A2CN e A4CN foram preparados segundo métodos já descritos na literatura<sup>41,42</sup>. O método de síntese consiste em duas etapas, uma de acilação do acenafteno e uma posterior oxidação dos ácidos  $\beta$ -acenaftoil-propionico, os quais fornecem os ácidos tricarbóxicos correspondentes.

Para a etapa de acilação misturou-se 33,33g de acenafteno e 24g de anidrido succínico em 200mL de nitrobenzeno. Esta mistura foi mantida em banho de gelo ( $\pm 0^\circ\text{C}$ ) com agitação mecânica durante 5 horas, sendo adicionado no decorrer da primeira hora 65g de cloreto de alumínio. Após este período, deixou-se a mistura reacional em repouso por 12 horas a temperatura ambiente (Esquema 07).

A seguir adicionou-se uma solução de 33,33 mL de ácido clorídrico concentrado em 33,33 mL de água sendo o solvente removido através de arraste a vapor. Formou-se um pó branco acinzentado, que foi coletado e dissolvido em uma solução de 38,33g de carbonato de sódio e 333 mL de água e os últimos traços de nitrobenzeno removidos por arraste a vapor. A esta mistura adicionou-se 33,3g de cloreto de sódio dissolvido a quente, sendo a mistura resultante

filtrada e deixada para resfriar sem perturbação. O sal de sódio do ácido  $\beta$ -(3-acenaftoil)-propiónico foi separado como agulhas pouco coloridas enquanto o ácido  $\beta$ -(1-acenaftoil)-propiónico permanece na solução.

A mistura foi novamente filtrada e o precipitado lavado com solução saturada de cloreto de sódio. O sobrenadante(água-mãe A) e a água de lavagem(água-mãe B), foram salvas e reservadas. O precipitado foi dissolvido a quente com solução contendo 50 g de cloreto de sódio, filtrado e acidificado com ácido clorídrico, sendo o ácido  $\beta$ -(3-acenaftoil)-propiónico obtido como um pó branco, apresentando um ponto de fusão de 206-208°C e um rendimento de 8,24g(15%).



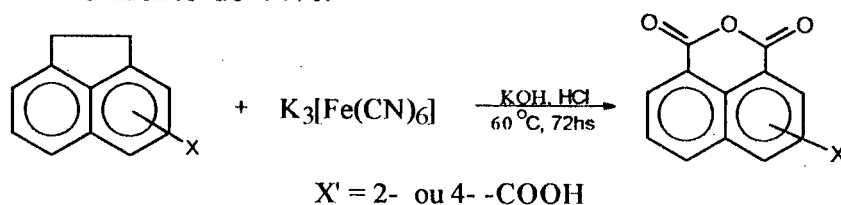
### Esquema 07

Acidificando-se a água mãe, foi obtida uma solução escura que precipita rapidamente quando agitada. O material foi aquecido a ebulição com uma solução de hidróxido de sódio e carvão ativo, filtrado a quente e reprecipitado da solução a frio sendo obtido um produto marrom claro. Este produto foi esterificado com metanol e ácido sulfúrico, sendo o éster do ácido  $\beta$ -(1-acenaftoil)-propiónico obtido como cristais escuros. Como o éster do ácido  $\beta$ -(1-acenaftoil)-propiónico é menos solúvel que o 3-éster, ele foi obtido em boas condições de pureza pela cristalização da solução alcoólica. O éster foi posteriormente hidrolisado com hidróxido de sódio e precipitado através da acidificação com ácido clorídrico.

Para a obtenção dos ácidos naftaleno tricarbóxicos foi realizada a oxidação dos respectivos ácidos  $\beta$ -acenaftoil-propiónico com solução aquosa de

ferricianeto de potássio (Esquema 08). 5,4g do ácido  $\beta$ -(1-acenaftoil)-propiónico foi adicionado a uma mistura contendo 82g de hidróxido de potássio , 470g de ferricianeto de potássio e 1.200 mL de água. Esta mistura foi mantida em banho de óleo a 60°C com agitação mecânica por 74 horas. A intervalos de 24 horas foi adicionado uma solução preparada com 24g de hidróxido de potássio , 90g de ferricianeto de potássio e 200 mL de água (Esquema 08).

Após esse período a solução foi resfriada, acidificada com ácido clorídrico e filtrada. O filtrado foi extraído 15 vezes com porções de 300 mL de éter etílico, sendo o éter então evaporado em rotaevaporador. O anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico foi obtido como cristais levemente amarelado, com ponto de fusão de 288-290°C e um rendimento de 44%.



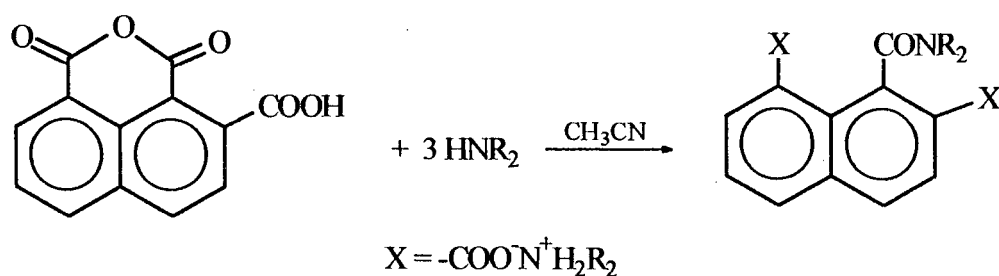
**Esquema 08**

Os anidridos A2CN e A4CN foram caracterizados através de ponto de fusão, análise elementar e por seus espectros de UV-Visível, IV e RMN.

#### **2.4- Síntese dos ácidos 2,8-carbóxi-N,N-dialquil naftalâmicos**

As amidas derivadas do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico foram preparadas *in situ*, dissolvendo-se 0,05 mmoles do anidrido em acetonitrila , aos quais foram agregados 0,15 mmoles das aminas alvo deste estudo, em um balão volumétrico de 5mL, obtendo-se uma concentração final de  $1 \times 10^{-2}$  M da amida correspondente, como mostrado no Esquema 09.





**Esquema 09**

### 2.5- Estudos cinéticos

As cinéticas da reação de hidrólise do anidrido foram realizadas em condições de primeira ordem, adicionando-se 10 $\mu$ L da solução estoque 10<sup>-2</sup> M do anidrido em acetonitrila a 3 mL do tampão (0,1M) de pH desejado, seguindo-se o desaparecimento do anidrido 2-carbóxi- e 4-carbóxi-1,8-naftálico por espectroscopia UV-Visível a 340nm.

As cinéticas das reações de hidrólise dos ácidos 2-carbóxi-*N,N*-dialquilnaftalâmicos foram realizadas a partir das soluções dos compostos preparados *in situ*, adicionando-se uma alíquota de 25 $\mu$ L de substrato a 3 mL de solução tampão no pH desejado. O aparecimento do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico foi acompanhado espectrofotometricamente a 340nm.

Todas as cinéticas foram realizadas utilizando-se banho termostatizado (35,0  $\pm$  0,1°C) e acompanhadas por no mínimo 4 a 5 tempos de meia vida. As leituras de absorvância foram medidas em um espectrofotômetro HP 8452A e foram utilizadas para o cálculo das constantes de velocidade, usando o método de Guggenheim, o qual forneceu constantes de velocidades calculadas 10<sup>3</sup> vezes maiores que seus respectivos desvios-padrões.

## CAPÍTULO III

### 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1- Caracterização dos anidridos derivados de ácidos naftaleno-tricarboxílicos

Os dados de caracterização dos compostos A2CN e A4CN (CHN e ponto de fusão) estão contidos na Tabela 5. O espectro de UV-Visível para A2CN é mostrado na Figura 04, apresentando para os dois compostos absorção máxima em 340nm. O espectro de UV-Visível, obtido a partir da diluição de 10 $\mu$ L de uma solução estoque 10<sup>-2</sup>M em 3 mL de acetonitrila, forneceu uma absortividade molar ( $\epsilon$ ) igual a 11.754 em 340 nm para o A2CN.

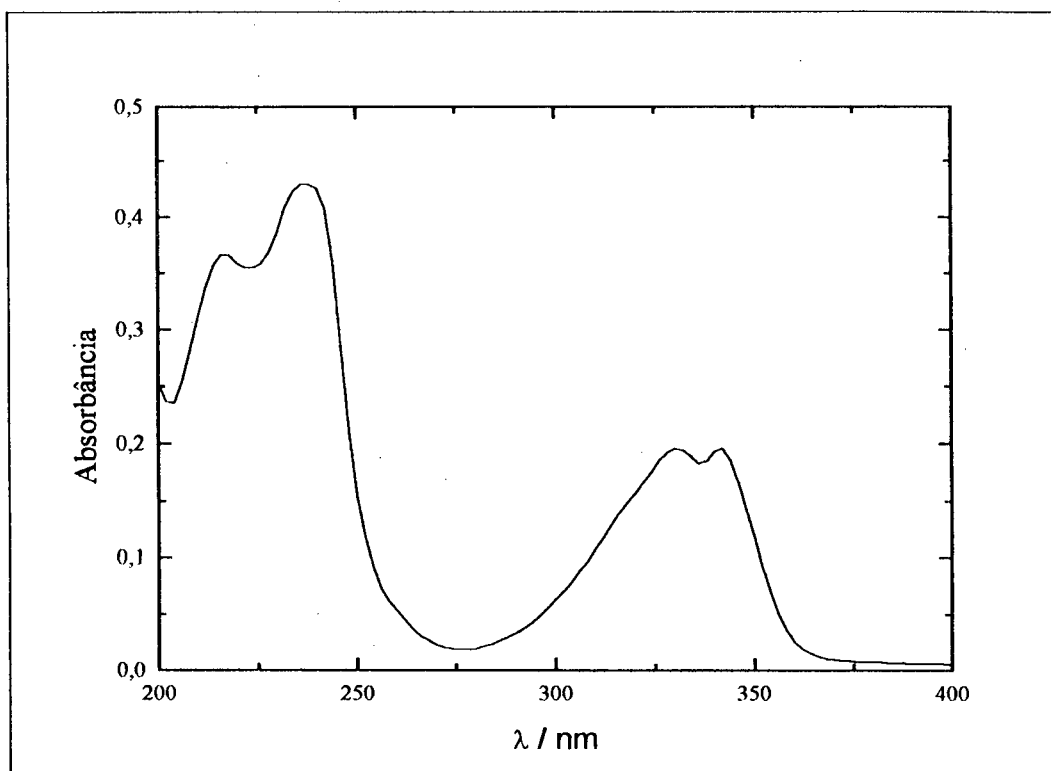
**Tabela 5** - Propriedades físicas e dados analíticos para A2CN e A4CN.

Composto	pf(°C)		Anal. Elem.			
	exp.	Lit <sup>42</sup> .	teórico		experimental	
			%C	%H	%C	%H
A4CN	272-274	273-274	64,46	2,48	63,80	2,39
A2CN	288-290	288-290	64,46	2,48	64,39	2,40

No estudo do espectro de IV do A2CN (Figura 05), observam-se as seguintes absorções que identificam as principais características funcionais presentes nas moléculas e que foram interpretadas da seguinte forma:

$\nu_{(\text{OH})}=3500$ ;  $\nu_{(\text{C-H, Ar})}= 3050$ ;  $\nu_{(\text{C=O})\text{O}}= 1780-1741$ ;  $\nu_{(\text{C=O}^-)_2}= 1697$ ;  $\delta_{(\text{C=C})} = 1578$ ;  
 $\nu_{(\text{C=O})\text{O}(\text{C=O})}= 1027$ ;  $\delta_{(\text{C-H, Ar})} = 747 \text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de IV (Figura 06), para A4CN mostra as seguintes absorções:  
 $\nu_{(\text{OH})}=3500$ ;  $\nu_{(\text{C-H, Ar})}= 3070$ ;  $\nu_{(\text{C=O})\text{O}}= 1778-1742$ ;  $\nu_{(\text{C=O}^-)_2}= 1701$ ;  $\delta_{(\text{C=C})} = 1587$ ;  
 $\nu_{(\text{C=O})\text{O}(\text{C=O})}= 1025$ ;  $\delta_{(\text{C-H, Ar})} = 772 \text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 04** - Espectro de UV-VIS para o anidrido A2CN em acetonitrila a 25°C  
 ( $[\text{A2CN}] = 1,67 \times 10^{-5} \text{M}$ ).

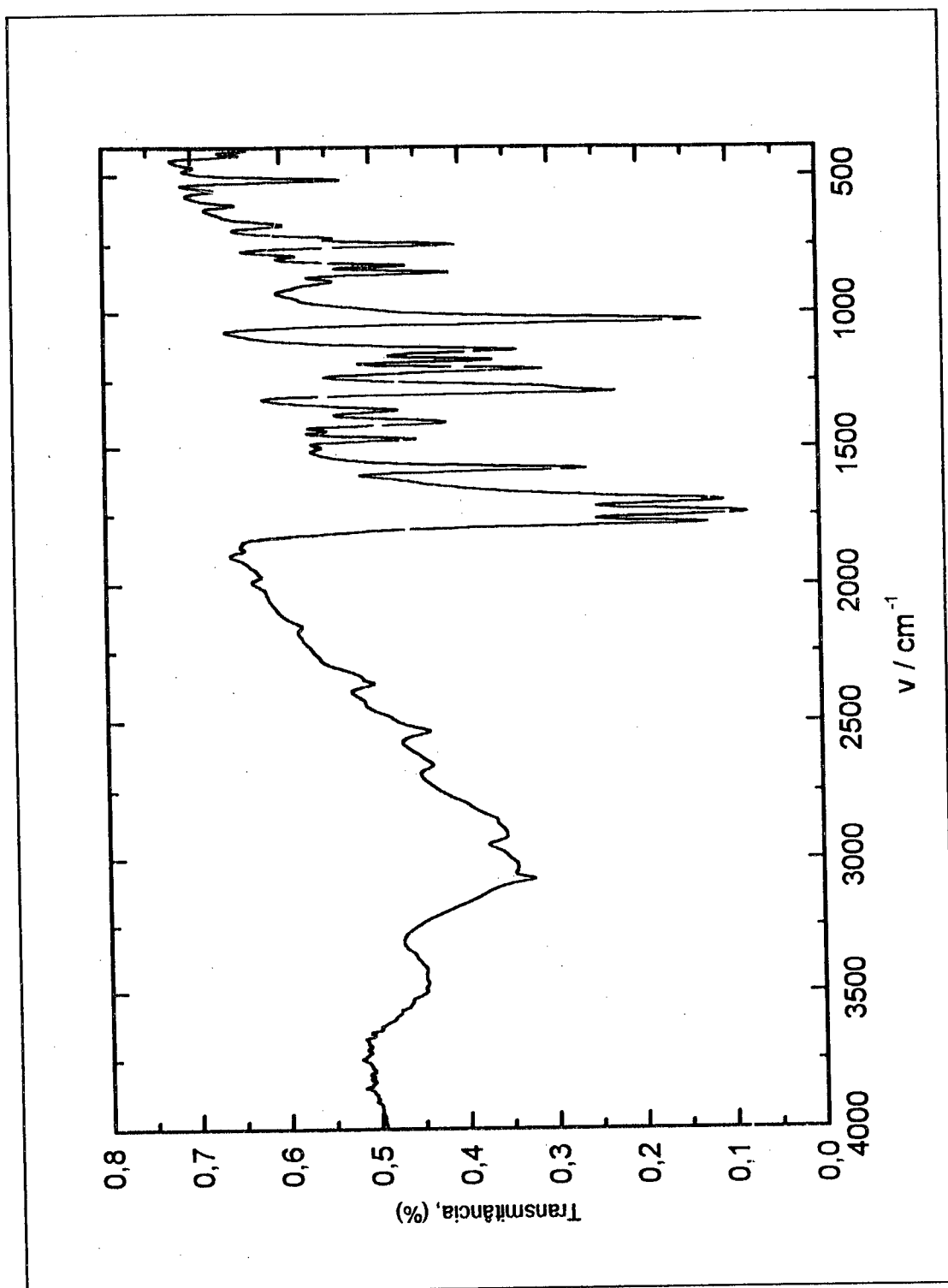
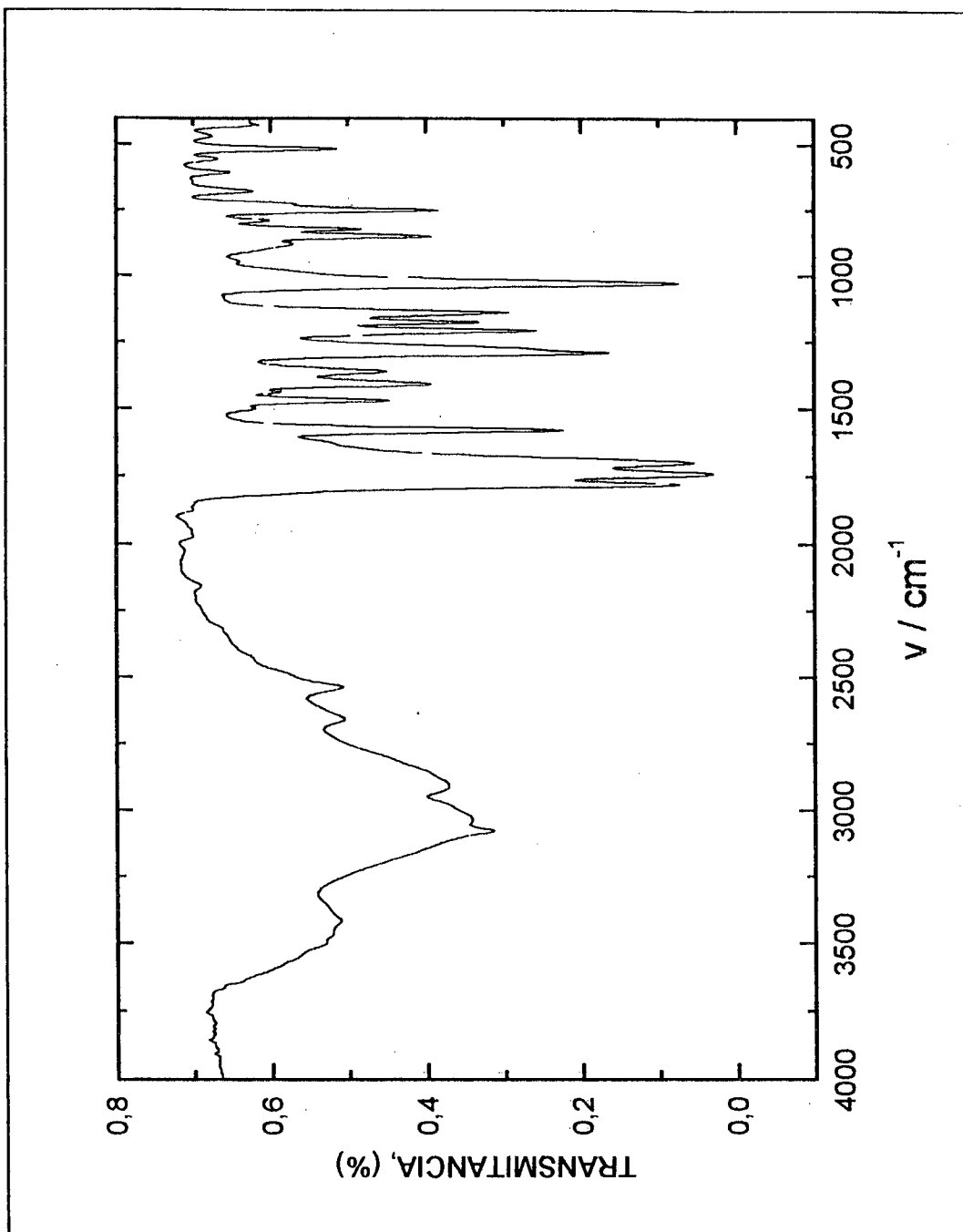
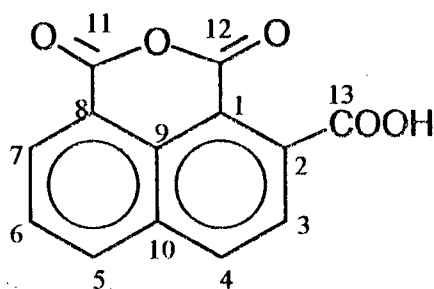


Figura 05 - Espectro de infravermelho para o anidrido A2CN, em pastilha de KBr.



**Figura 06-** Espectro de infravermelho para o anidrido A4CN, em pastilha de KBr.

Na Figura 07 é apresentado o RMN-<sup>1</sup>H 400 MHz ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, ppm) para A2CN, sendo que as designações foram realizadas segundo Hallwass<sup>43</sup> e pela análise da integração de área e da multiplicidade dos sinais, os quais permitiu a atribuição dos sinais da seguinte forma: 7,88 (H<sub>3</sub>, d, J=8,4Hz); 8,10 (H<sub>6</sub>, dd, J=7,2 e 8,4Hz), 8,59 (H<sub>5</sub>, dd, J=1,2 e 8,4Hz), 8,63 (H<sub>4</sub>, dd, J=1,2 e 8,4Hz) e 8,67 (H<sub>7</sub>, dd, J=8,4Hz). O espectro de RMN-<sup>13</sup>C, Figura 08, e mostra os seguintes deslocamentos: 115,905 (C<sub>1</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 120,554 (C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 126,639 (C<sub>6</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 128,957 (C<sub>3</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 130,605 (C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 132,690 (C<sub>2</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 134,432 (C<sub>5</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 136,222 (C<sub>4</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 136,451 (C<sub>7</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 140,546 (C<sub>10</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 159,848 (C<sub>12</sub>, COOC); 160,97 (C<sub>11</sub>, COOC); e 169,376 (C<sub>13</sub>, COOH), os quais estão de acordo com a estrutura abaixo:



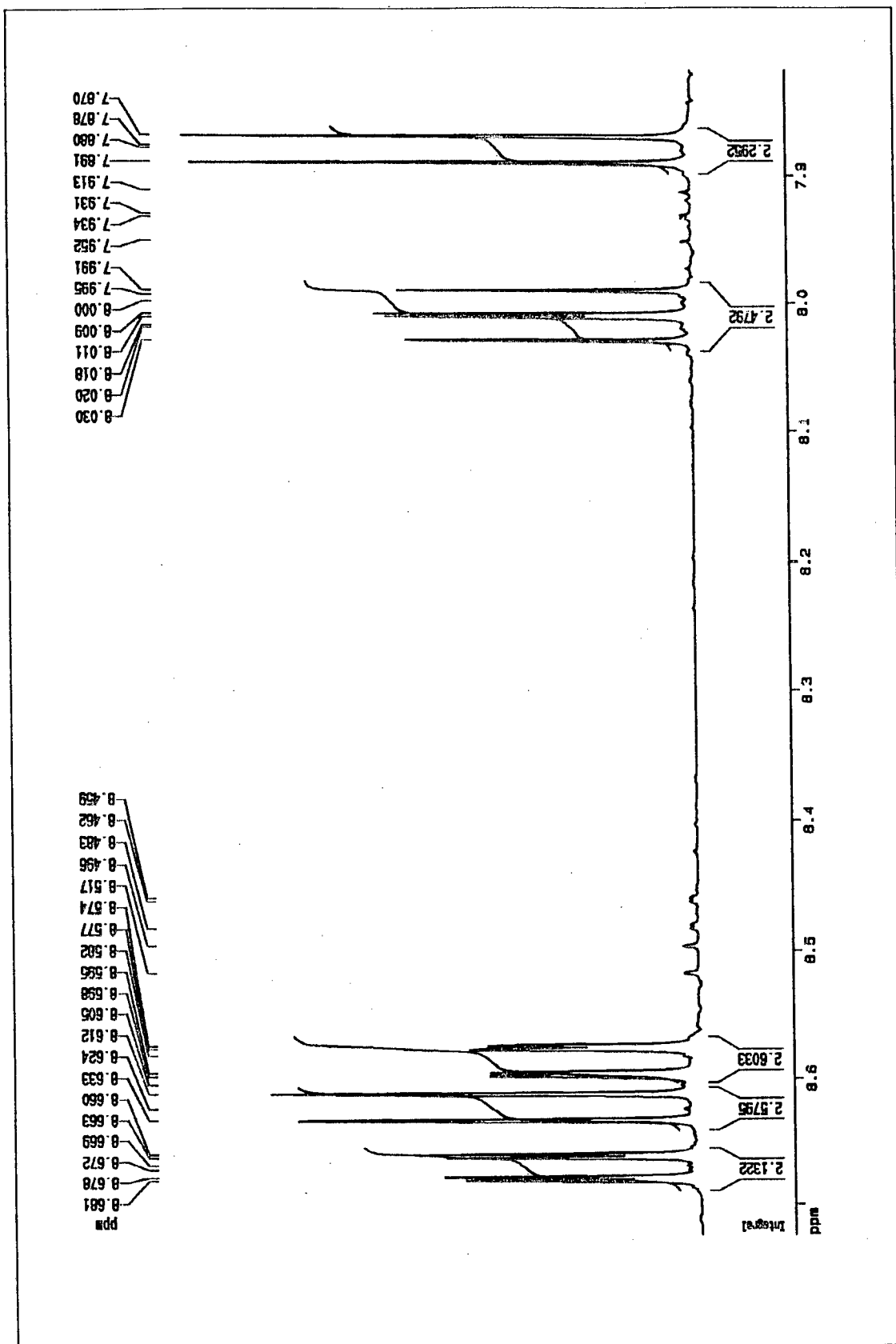


Figura 07- Espectro de RMN-<sup>1</sup>H, 400MHz, para o anidrido A2CN em acetona d-6.

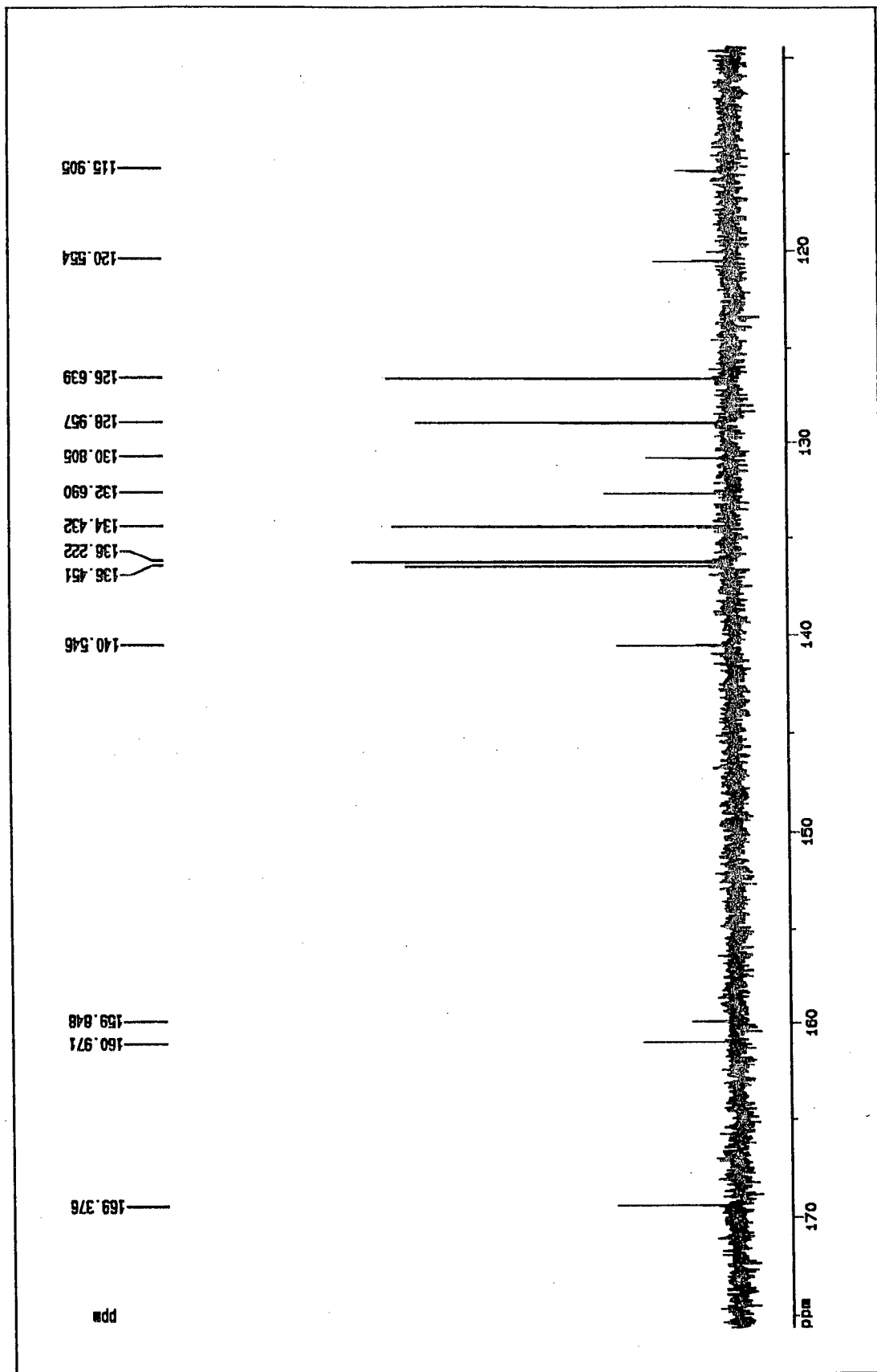
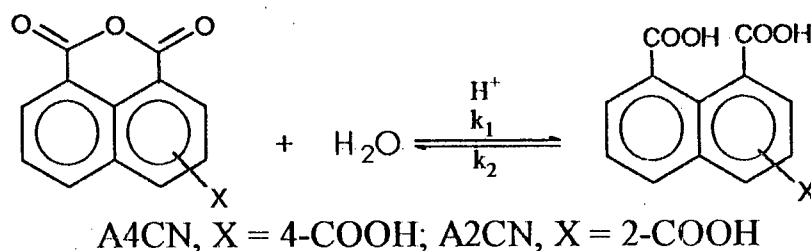


Figura 08- Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$ , 400 MHz, para o anidrido A2CN em acetona  $d_6$ .



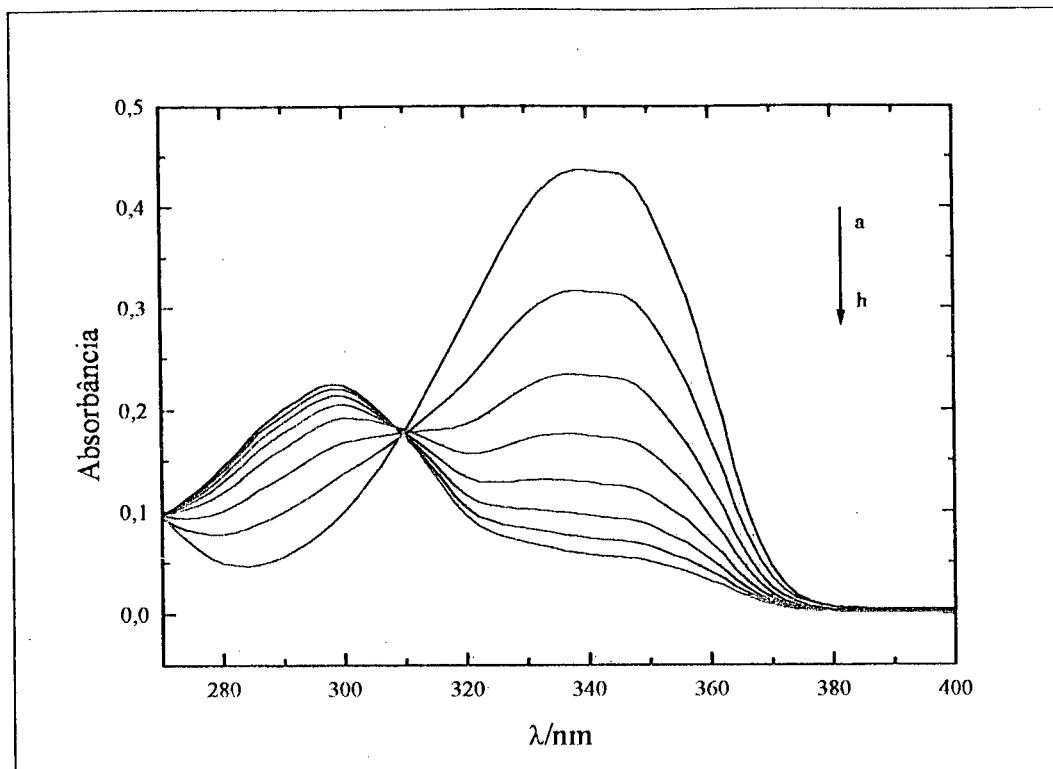
### 3.2- Reação de hidrólise dos anidridos naftaleno-tricarboxílicos

Na reação de hidrólise dos anidridos A4CN e A2CN ocorre um decréscimo da absorvância em 340 nm (banda típica de anidrido), e um aumento de absorvância em 292 nm (banda típica do triácido), e resulta na formação da mistura de equilíbrio anidrido/triácido correspondente. A Figura 09 mostra a mudança espectral em função do tempo para A2CN, a qual é típica dos resultados obtidos com os dois anidridos. O Esquema 10 mostra a reação de equilíbrio observada em solução, consistente com as mudanças espectrais acima descritas.



Esquema 10

Usando-se as mudanças de absorvância em função do tempo, foram calculadas as constantes de velocidade para as reações de hidrólise dos anidridos A4CN e A2CN, em diferentes valores de pH, à 35°C. Conforme foi relatado em trabalhos anteriores<sup>44,45</sup>, a reação de hidrólise dos anidridos depende do pH. O gráfico de  $\log k_{\text{obs}}$  em função do pH para a reação de hidrólise do anidrido A4CN (Figura 10), apresenta três regiões distintas. Acima de pH 7,00, observa-se um aumento de  $k_{\text{obs}}$  com o aumento do pH. Entre os valores de pH 5,25 e 2,5 há um aumento do  $k_{\text{obs}}$  com a diminuição do pH, atingindo-se um patamar entre pH 2,5 e pH 1,0. Para valores de pH menores que 1,00, observa-se um aumento de  $k_{\text{obs}}$  com a diminuição do pH.



**Figura 09-** Variação da absorvância em função do tempo, para o anidrido A2CN ( $3,33 \times 10^{-5} \text{M}$ ) em tampão borato 0,1M pH 8,50; espectros obtidos em intervalos de 2 minutos a  $35^{\circ}\text{C}$ .

No estudo da hidrólise do anidrido 2,3-naftálico em regiões básicas, Barros<sup>45</sup> observou um aumento de  $k_{\text{obs}}$  a partir de pH 7,00, o qual foi atribuído a catálise básica específica. Foi também relatado que a reação de ciclização ocorre quando o diácido se encontra na sua forma protonada.

A partir destes dados, pode-se concluir que em soluções de A4CN acima de pH 7,00, observa-se predominantemente a reação de hidrólise do anidrido e para valores de pH mais baixos observa-se a sua formação. Assim, a reação observada em valores de pH maiores que 7,00 correspondem à hidrólise do anidrido A4CN catalisada pelo íon hidróxido. Pode-se expressar a velocidade da reação para esta região como:

$$v = k_2 [\text{OH}^-] [\text{A4CN}] \quad (7)$$

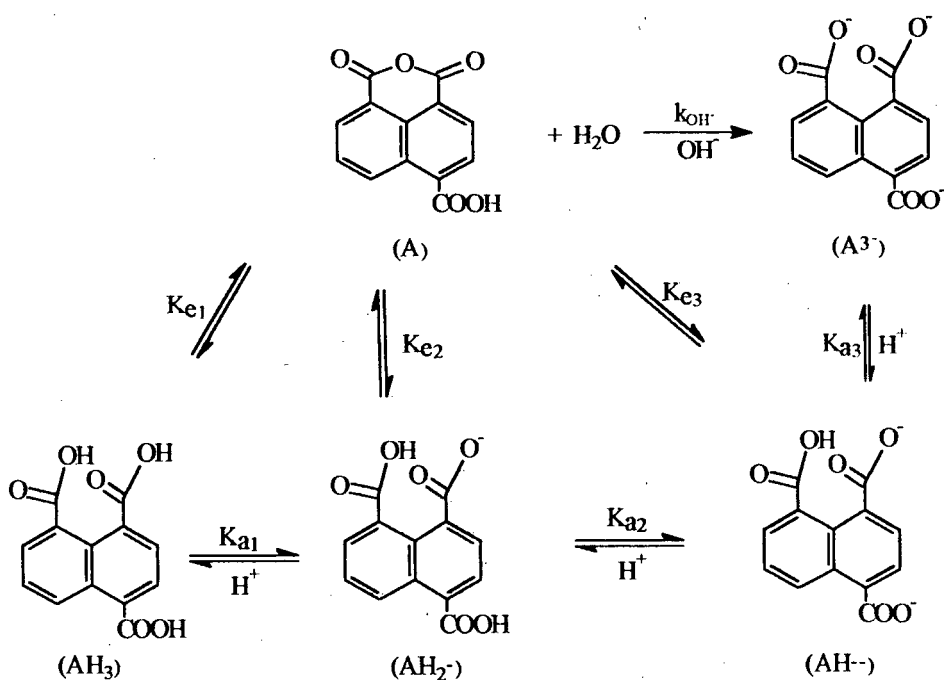
sendo o valor da constante de velocidade observada, ( $k_{\text{obs}}$ ), dado por:

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

Ao montar-se um gráfico de  $k_{\text{obs}}$  em função da  $[\text{OH}^-]$  para esta região uma reta foi obtida, cuja inclinação corresponde à constante de velocidade de segunda ordem, ( $k_2$ ), igual a  $1,72 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .

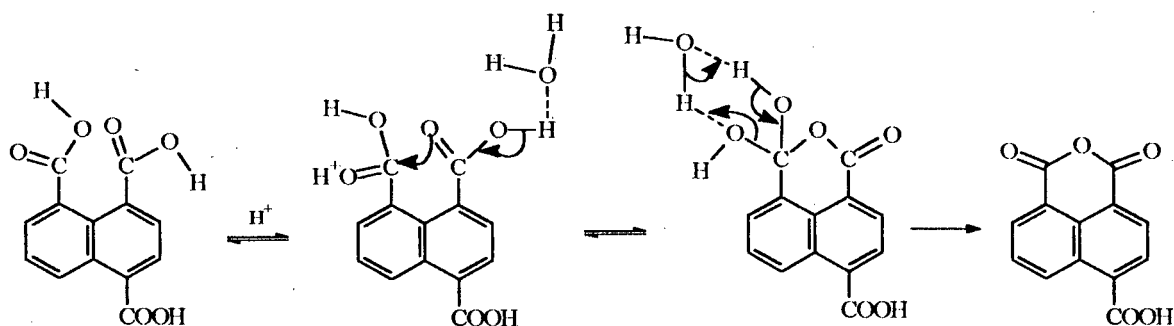
Na região de pH 1,00 até 5,50, tem-se a evidência da participação de um grupo protonável catalisando a reação de ciclização. À medida que o grupo carboxilato vai sendo protonado, melhora a nucleofugacidade do grupo de saída. Tem-se portanto um ataque nucleofílico intramolecular pelo oxigênio do grupo carboxilato ao carbono do grupamento carboxílico. Quando todo o grupo carboxilato se encontra protonado observa-se o patamar devido à esta catálise intramolecular. Pelo perfil pode-se observar um  $\text{pK}_{\text{a3app}}$  de 3,50. Entre os valores de pH 5,25 e 7,00, tem-se provavelmente uma soma das contribuições da catálise básica específica e de um ataque nucleofílico intramolecular.

Conforme foi verificado previamente em estudos de ciclização de diácidos<sup>46,47</sup>, o diácido não ionizado é a espécie cineticamente ativa na formação do anidrido. No entanto foi demonstrado por Yunes<sup>44</sup> para o anidrido 1,8-naftálico, que a espécie monoprotionada já é cineticamente ativa. Seguindo esta linha de raciocínio, pode-se sugerir os seguintes equilíbrios para as reações de hidrólise e ciclização do anidrido A4CN (Esquema 11), para toda a faixa de pH estudada:



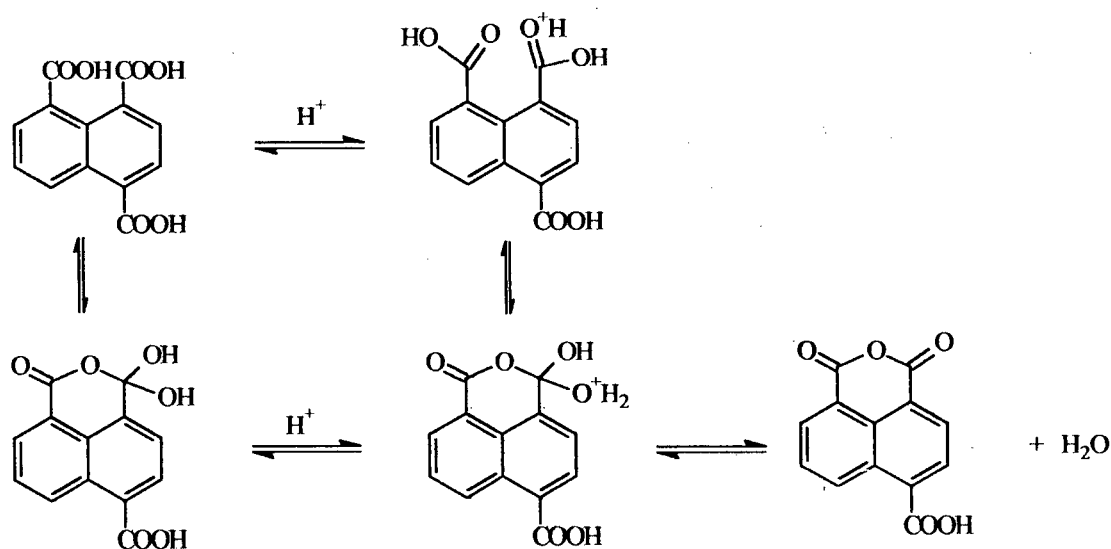
Esquema 11

Na região de pH menor que 1,00, a constante de velocidade observada corresponde mormente à constante de velocidade de ciclização do triácido a anidrido, a qual pode ocorrer através de um mecanismo concertado com a participação da água na decomposição do intermediário tetraédrico (Esquema 12).



Esquema 12

Pode-se observar também que com a diminuição de  $H_0$  nesta região, tem-se uma catálise ácida geral, com o íon hidrônio atuando tanto na formação do intermediário tetraédrico, como na saída da molécula de água para a formação do anidrido. Pode-se então propor estas etapas como mostrado no Esquema 13:



**Esquema 13**

Assim, ao montar-se um gráfico de  $k_{obs}$  em função da  $[H_3O^+]$  para a região de pH menor que 1,00, onde o equilíbrio se encontra deslocado para a forma do anidrido tem-se um valor da constante de velocidade de segunda ordem devido à catálise pelo íon hidrônio igual a  $1,31 \times 10^{-3} M^{-1} s^{-1}$ .

Para o anidrido A2CN, observa-se um perfil de constante de velocidade em função do pH, (Figura 10), com leve forma de sino. Pela análise do perfil, pode-se dividi-lo em três regiões distintas. Acima de pH 7,00, observa-se um aumento de  $k_{obs}$  com o aumento do pH, seguido de uma região em forma de sino entre os valores de pH 5,25 e 0,25. Na região de pH menor que 0,00, observa-se um aumento de  $k_{obs}$  com a diminuição do pH. Pode-se utilizar algumas das

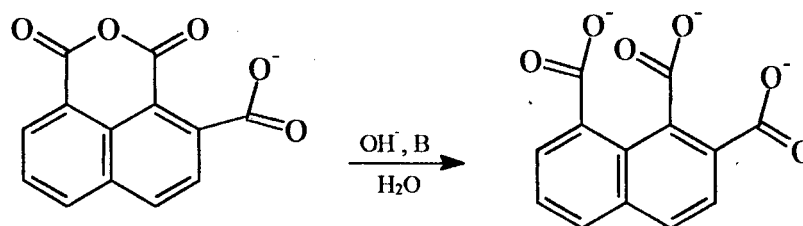
considerações feitas para o A4CN para definir o comportamento do A2CN na faixa de pH estudada.

Na região acima de pH 7,00 tem-se como fator predominante a abertura do anidrido à sua forma tricarboxilato. Para esta região foi também estudado o efeito da variação da concentração do tampão em pH 8,50 sobre a velocidade da reação. Com base nos resultados obtidos, observa-se que para esta região, tem-se a hidrólise do anidrido através de catálise básica específica e geral. Podemos então expressar a velocidade da reação para esta região como:

$$v = k_{\text{obs}} [\text{A2CN}] \quad (9)$$

onde  $k_{\text{obs}} = k_{\text{OH}}[\text{OH}^-] + k_{\text{B}}[\text{B}] \quad (10)$

Deste modo, graficando-se  $k_{\text{obs}}$  em função da concentração de íons hidróxido,  $[\text{OH}^-]$ , obteve-se uma reta cuja inclinação corresponde à constante de velocidade de segunda ordem devido a catálise pelo íon hidróxido, ( $k_{\text{OH}}$ ), a qual apresenta um valor de  $1,49 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Do mesmo modo, ao montar-se um gráfico de  $k_{\text{obs}}$  em função da concentração do tampão ( $[\text{B}]$ ), obteve-se uma reta cuja inclinação corresponde à constante de velocidade de segunda ordem devido à catálise pelo tampão, ( $k_{\text{B}}$ ), que é igual a  $9,48 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Portanto, pode-se representar esquematicamente esta região como a abertura do anidrido presente em solução como mono carboxilato, para o tricarboxilato correspondente (Esquema 14).



**Esquema 14**

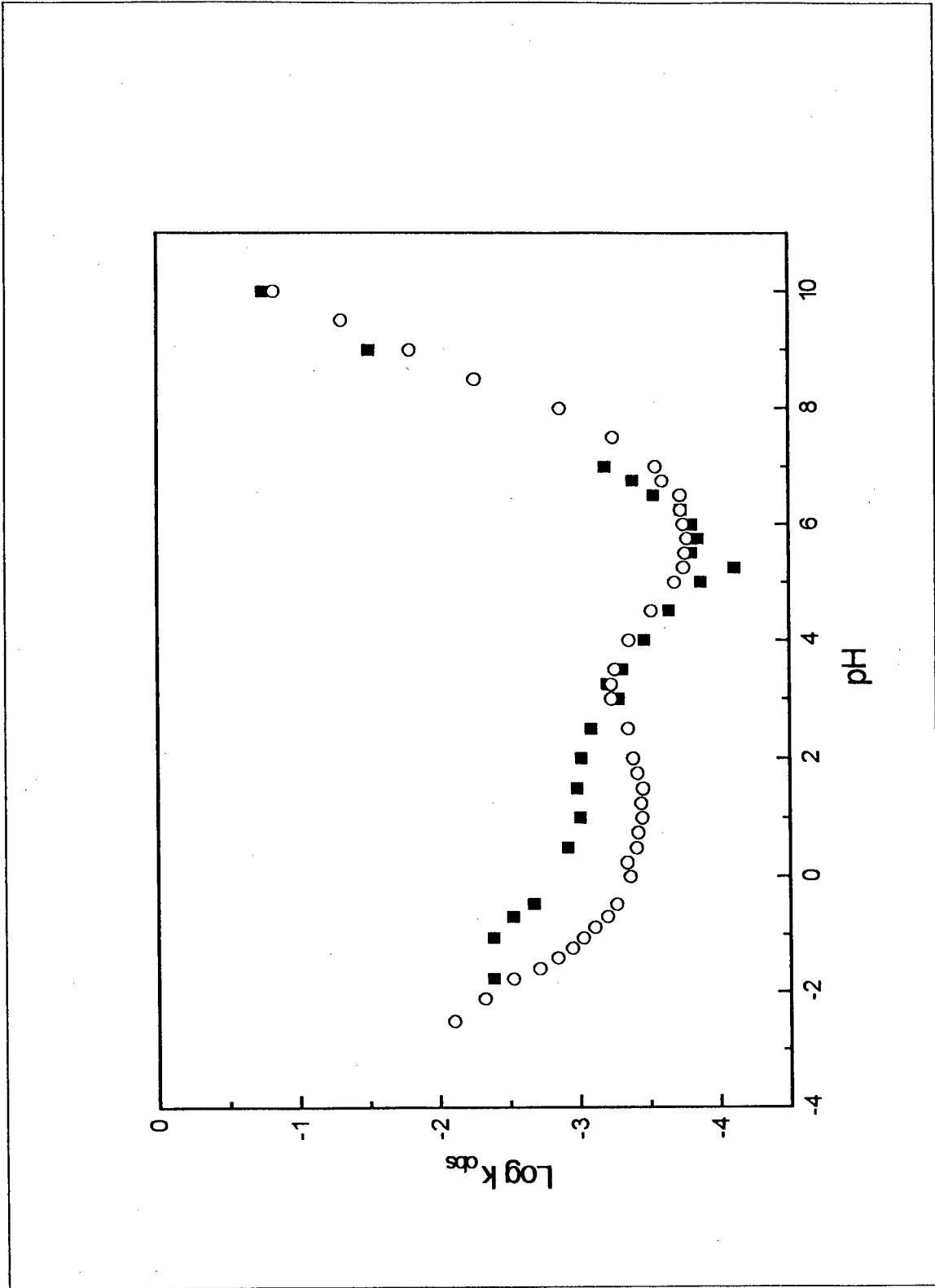
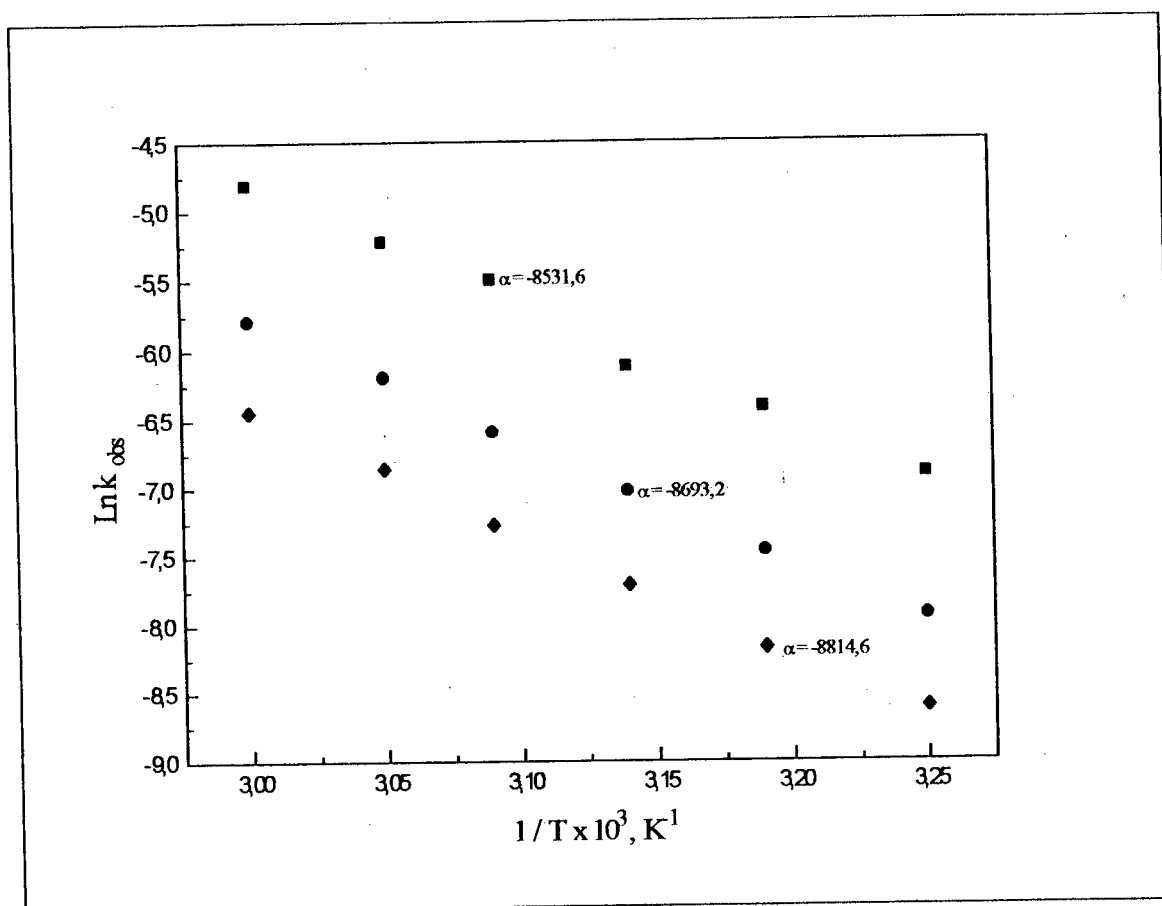


Figura 10- Variação de  $\log k_{obs}$  para a hidrólise dos anidridos A2CN (O) e A4CN (■) em função do pH a 35°C.

Na Tabela 06, encontram-se os valores das constantes de velocidade determinadas em diferentes temperaturas e pH, que foram utilizados para construir um gráfico de  $\ln k_{\text{obs}}$  vs.  $1/T$ , (Figura 11), dos quais foram obtidos os parâmetros de ativação para os substratos A4CN e A2CN, no intervalo de 35 a 60°C. Estes dados são apresentados na Tabela 07.



**Figura 11-** Gráfico de  $\ln k_{\text{obs}}$  versus  $1/T$  para o anidrido 4-carbóxi-1,8-naftálico pH 1,00(■); anidrido 2-carbóxi-1,8- naftálico, pH 1,00(●) e pH 6,00 (◆).

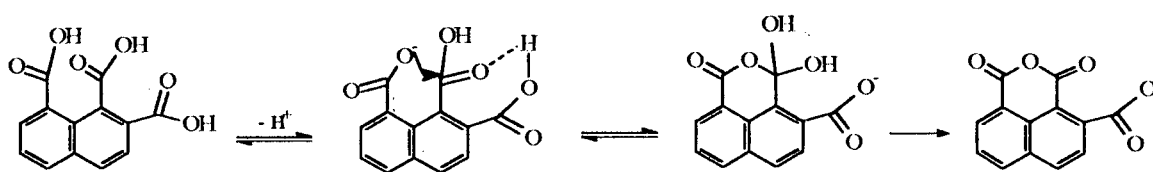


Outro efeito que se observa é que a presença do grupamento carbóxi nas posições 2 e 4, desfavorece tanto a reação de hidrólise quanto a reação de ciclização do anidrido. Quando se comparam os perfis de pH para os três anidridos naftálicos estudados, observa-se que o mais reativo em toda a faixa de pH é o anidrido 1,8-naftálico<sup>44</sup>. Entre os anidridos com grupamentos carbóxi, o mais reativo é o A4CN. Portanto o efeito do grupamento carbóxi em *para* sobre a reatividade do anidrido é menor do que o efeito do carbóxi em *orto*. O grupamento carboxílico desfavorece ambas as reações, de hidrólise e ciclização do anidrido, para os dois substratos estudados em toda a faixa de pH.

**Tabela 06-** Efeito da temperatura sobre a velocidade de hidrólise dos anidridos 2-carbóxi- e 4-carbóxi-1,8-naftálico.

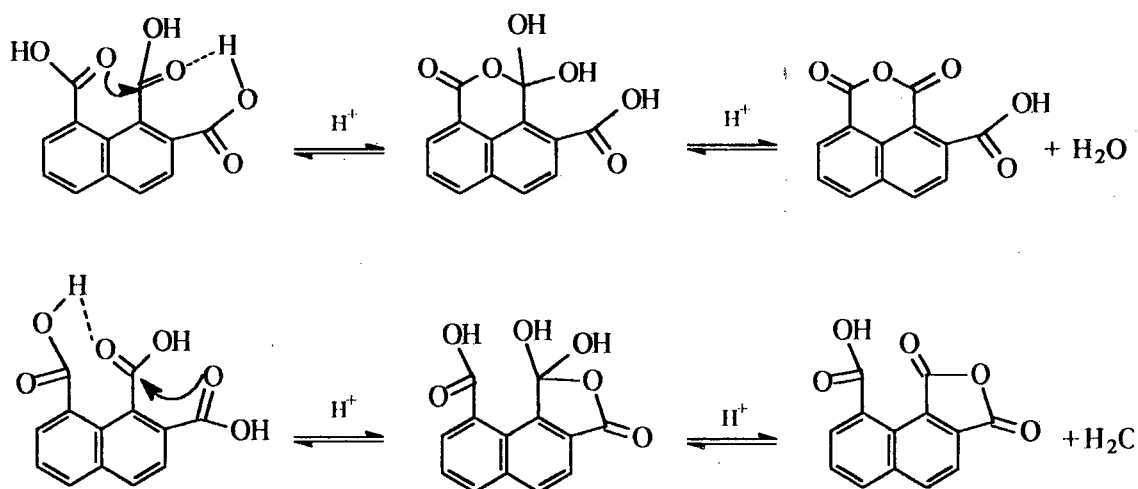
t, °C	pH	$10^4 k_{\text{obs}} \text{ s}^{-1}$	
		A4CN	A2CN
35	1,00	9,74	3,57
40	1,00	16,2	5,79
45	1,00	21,9	8,85
50	1,00	40,7	13,7
55	1,00	53,7	20,3
60	1,00	81,3	30,5
35	6,00	--	1,79
40	6,00	--	2,82
45	6,00	--	4,47
50	6,00	--	6,92
55	6,00	--	10,5
60	6,00	--	15,8

Na região do sino, observa-se a participação de dois grupamentos carboxílicos, um protonado e outro deprotonado, contribuindo significativamente para a constante de velocidade de ciclização. Como pode ser visto no Esquema 15, o grupamento carboxilato ataca nucleofilicamente uma carbonila cuja eletrofilicidade está aumentada pela assistência do grupo carboxílico vizinho via ligações de H. À medida que o pH aumenta, começa a ocorrer a deprotonação do grupamento carboxílico e a velocidade de ciclização diminui.



Esquema 15

Na região abaixo de pH 1,00, ocorre preferencialmente a reação de ciclização do triácido a anidrido, sendo que a formação do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico é favorecida em relação ao anidrido 8-carbóxi-1,2-naftálico (Esquema 16).



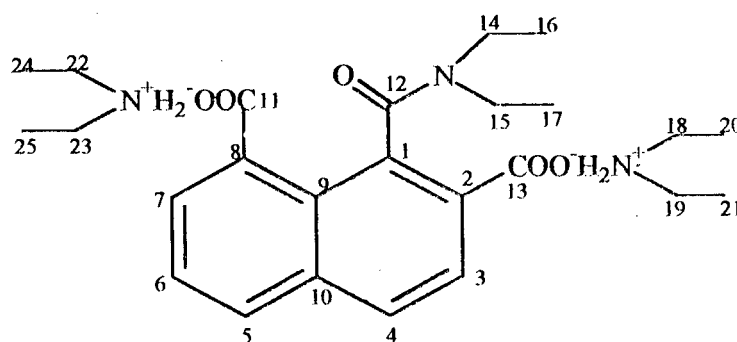
Esquema 16

**Tabela 07-** Parâmetros de ativação dos compostos A4CN e A2CN a 35 °C.

COMPOSTO	pH	$10^4 k_{\text{obs}}, \text{s}^{-1}$	$\Delta H^\ddagger \text{kcal/mol}$	$\Delta S^\ddagger \text{ u.e.}$
A4CN	1,00	9,74	15,13	-23,3
A2CN	1,00	3,57	16,45	-21,0
A2CN	6,00	1,79	16,59	-21,9

### 3.3- Caracterização dos ácidos N-N-dialquilnaftalâmicos

Os compostos DEA, DPA, MBA e MFA foram caracterizados por espectroscopia de UV-visível, (Figuras 12 e 13), e apresentaram absorção máxima em 298 nm. Os espectros foram obtidos a partir da diluição de 25  $\mu\text{L}$  de uma solução estoque  $10^{-2} \text{M}$  em 3 mL de água. Como os compostos são de difícil isolamento, todos os espectros foram obtidos a partir de sua preparação *in situ*. Para o composto DEA, foram feitos também estudos com técnicas espectroscópicas de RMN.



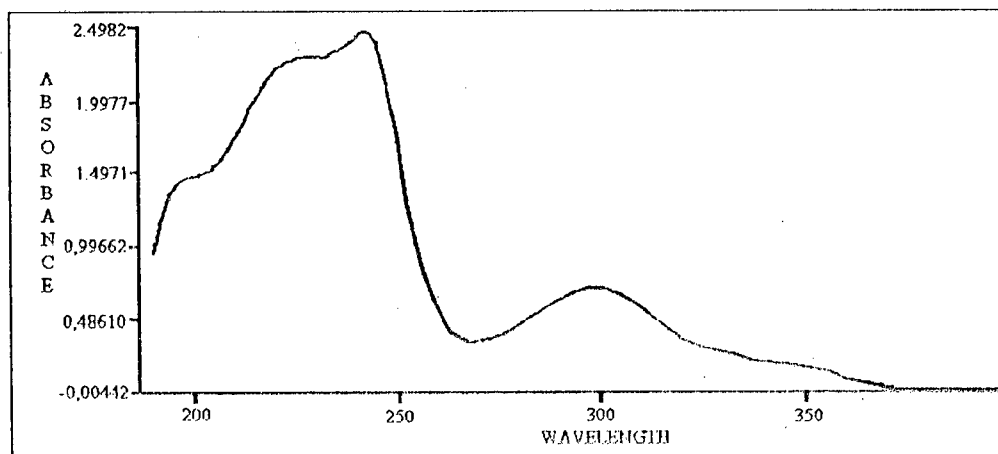
Na Figura 14 é apresentado o espectro de RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ , ppm) para DEA, para o qual a análise da multiplicidade dos sinais e da integração de área nos permite atribuir os sinais assim discriminados: 0,55 (m, 12H,  $\text{CH}_3(\text{amônio})$ );

0,72 (m, 6H, CH<sub>3</sub>(amida)); 2,15 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-N<sup>+</sup>H<sub>2</sub>); 2,66 (m, 4H, CH<sub>2</sub>(amida)); 6,84 (H<sub>6</sub>, dd, J=7,2Hz); 6,98 (H<sub>5</sub>, dd, J=1,2 e 7,2Hz); 7,23 (H<sub>3</sub>, d, J=8,4Hz); 7,18-7,20 (H<sub>7</sub>-H<sub>4</sub>, m).

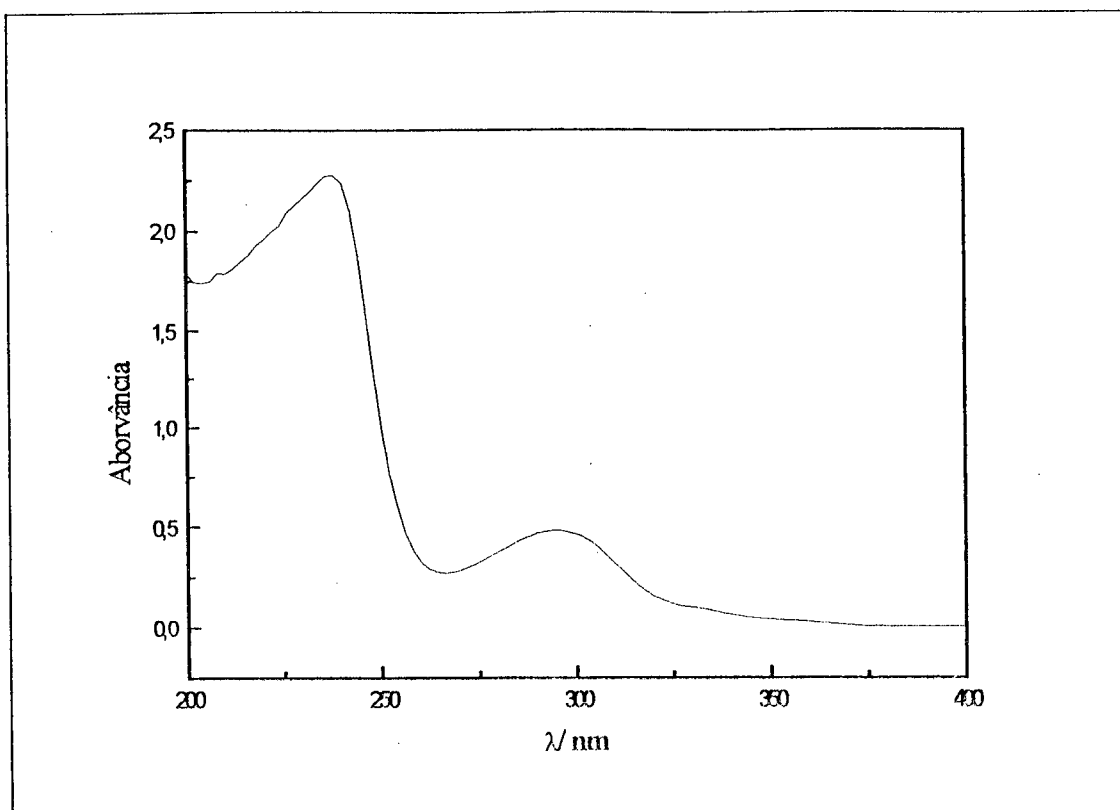
O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ppm) para DEA é apresentado na Figura 15, para o qual a análise nos permite identificar os sinais em cada uma das seguintes regiões como: 10,72 (1C, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>(amida)); 11,21 (1C, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>(amida)); 13,22 (4C, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>(amônio)); 37,59 (1C, CH<sub>2</sub>-N(C=O)); 42,20 (4C, CH<sub>2</sub>-N<sup>+</sup>H<sub>2</sub>); 43,06 (1C, CH<sub>2</sub>-N(C=O)); 124,25 (C<sub>6</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 124,59 (C<sub>2</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 124,86 (C<sub>3</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 125,23 (C<sub>7</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 126,60 (C<sub>4</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 127,43 (C<sub>5</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 131,29 (C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 133,03 (C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 136,77 (C<sub>1</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 141,15 (C<sub>10</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>); 169,51 (C<sub>12</sub>, N-C=O); 172,72 (C<sub>13</sub>, COO<sup>-</sup>) e 173,64 (C<sub>11</sub>, COO<sup>-</sup>).

O espectro HMBC C-H apresentado na Figura 16 forneceu as seguintes correlações: C-1/H-3; C-7/H-5; C-8/H-6; C-9/H-4; C-10/H-6.

O espectro COSY H-H apresentado na Figura 17 forneceu as seguintes correlações: H-5/H-7; H-5/H-6; H-6/H-7; H-3/H-4.



**Figura 12** - Espectro de UV-vis para o ácido *N,N*-dipropilnaftalâmico em água a 25°C, ([DPA] = 6,67 x 10<sup>-5</sup>M).



**Figura 13** - Espectro de UV-vis para o ácido *N,N*-dietilnaftalâmico em água a 25°C, ([DEA] =  $6,67 \times 10^{-5}$ M).

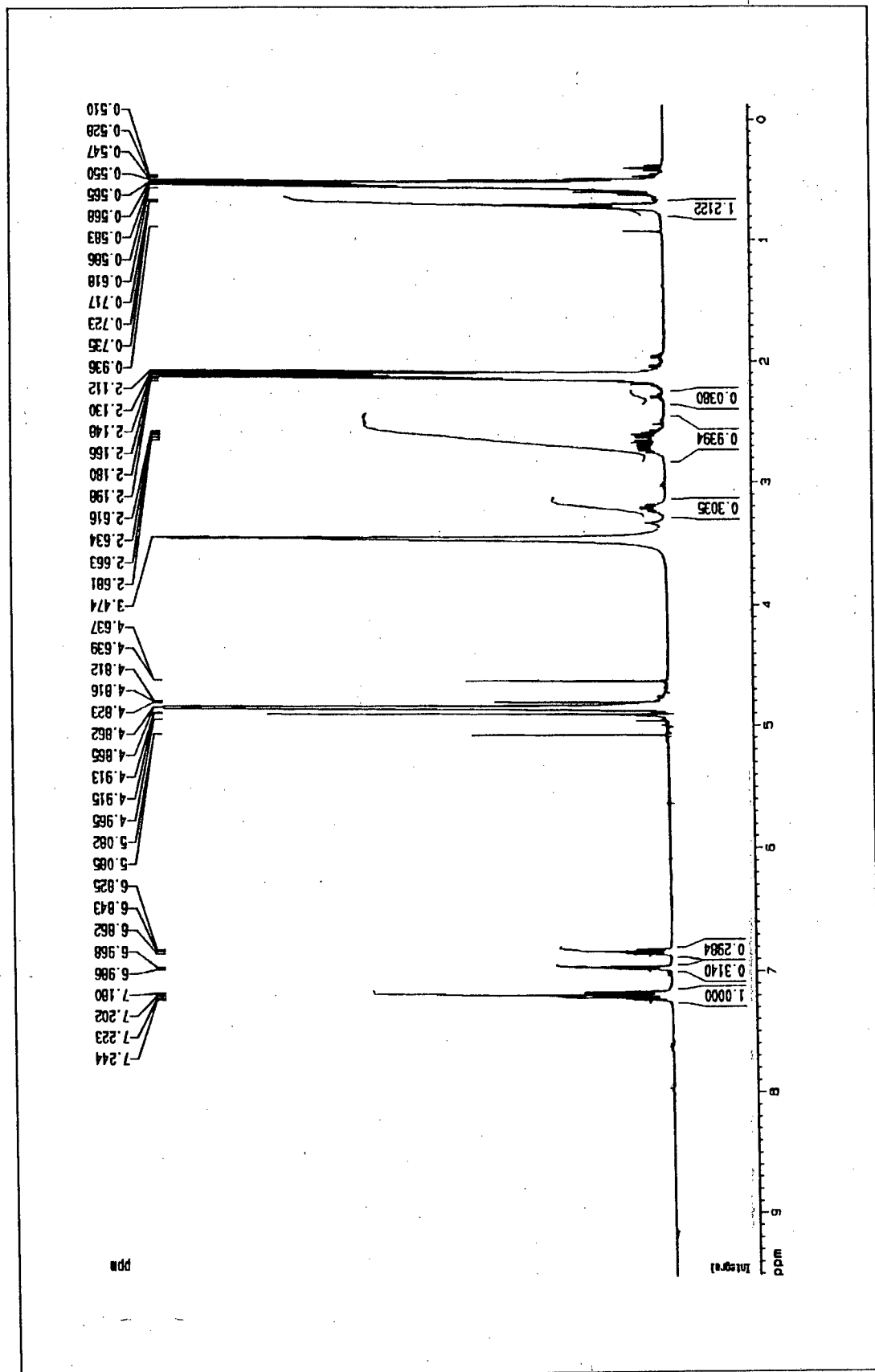


Figura 14- Espectro de RMN- $^1\text{H}$ , 400 MHz, para o ácido  $N,N$ -dietilnaftalâmico em diclorometano- $\text{d}_2$ .

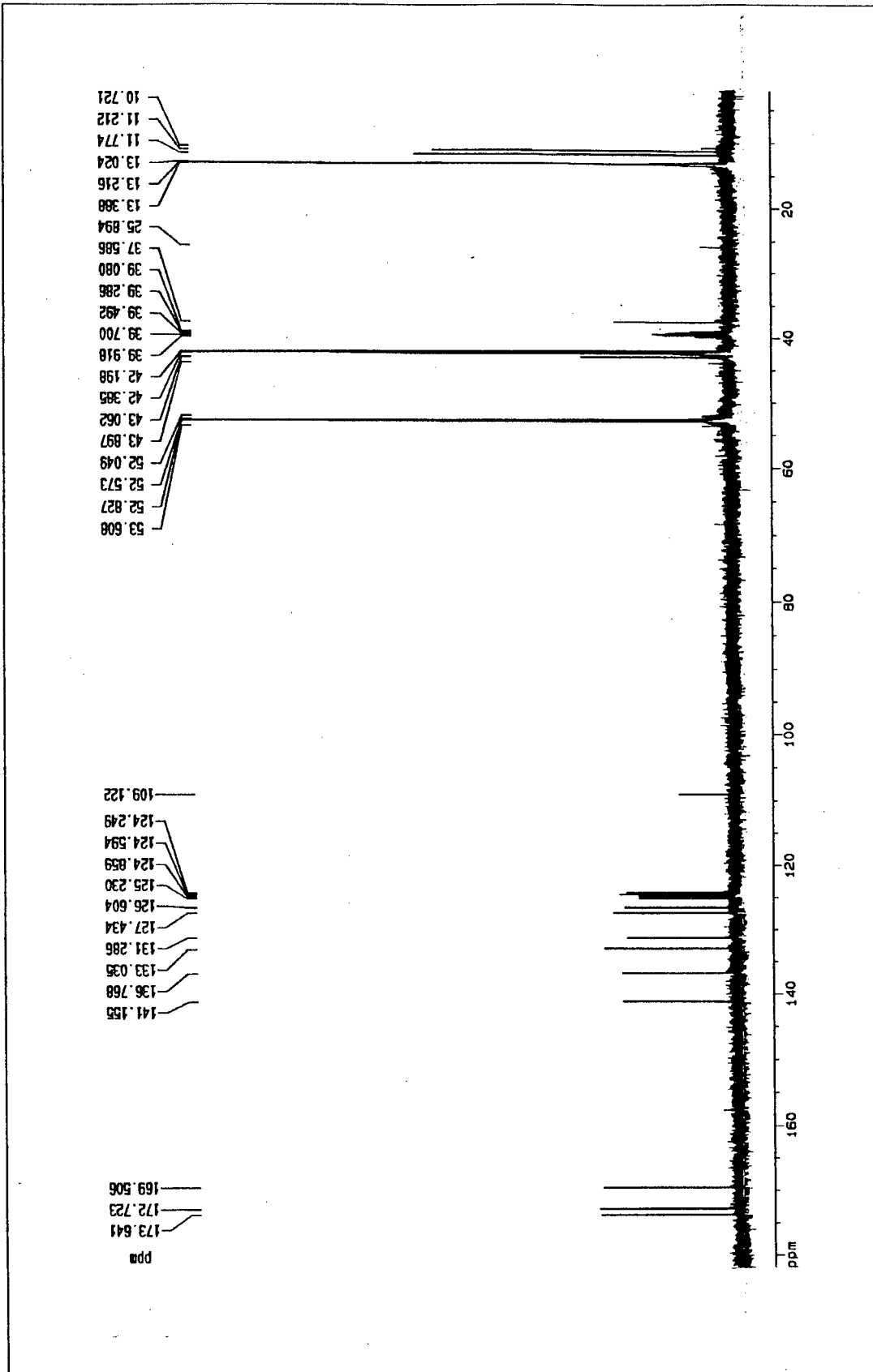
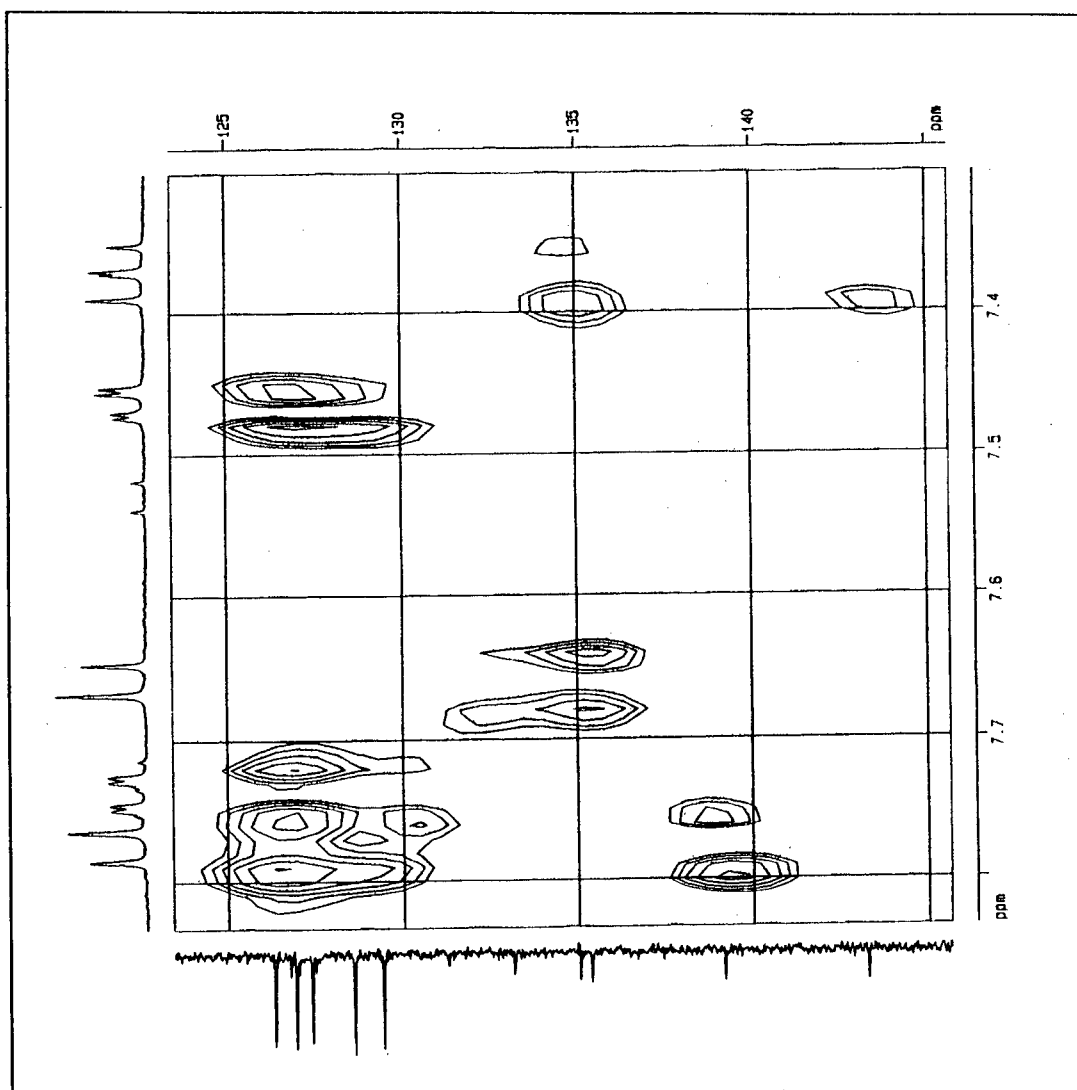


Figura 15- Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$ , 400 MHz, para o ácido *N,N*-diethilnaftalâmico em diclorometano- $\text{d}_2$ .



**Figura 16-** Espectro HMBC-acoplado, 400 MHz, do ácido *N,N*-dietilnalfâmico em acetnitrila- $d_3$ .



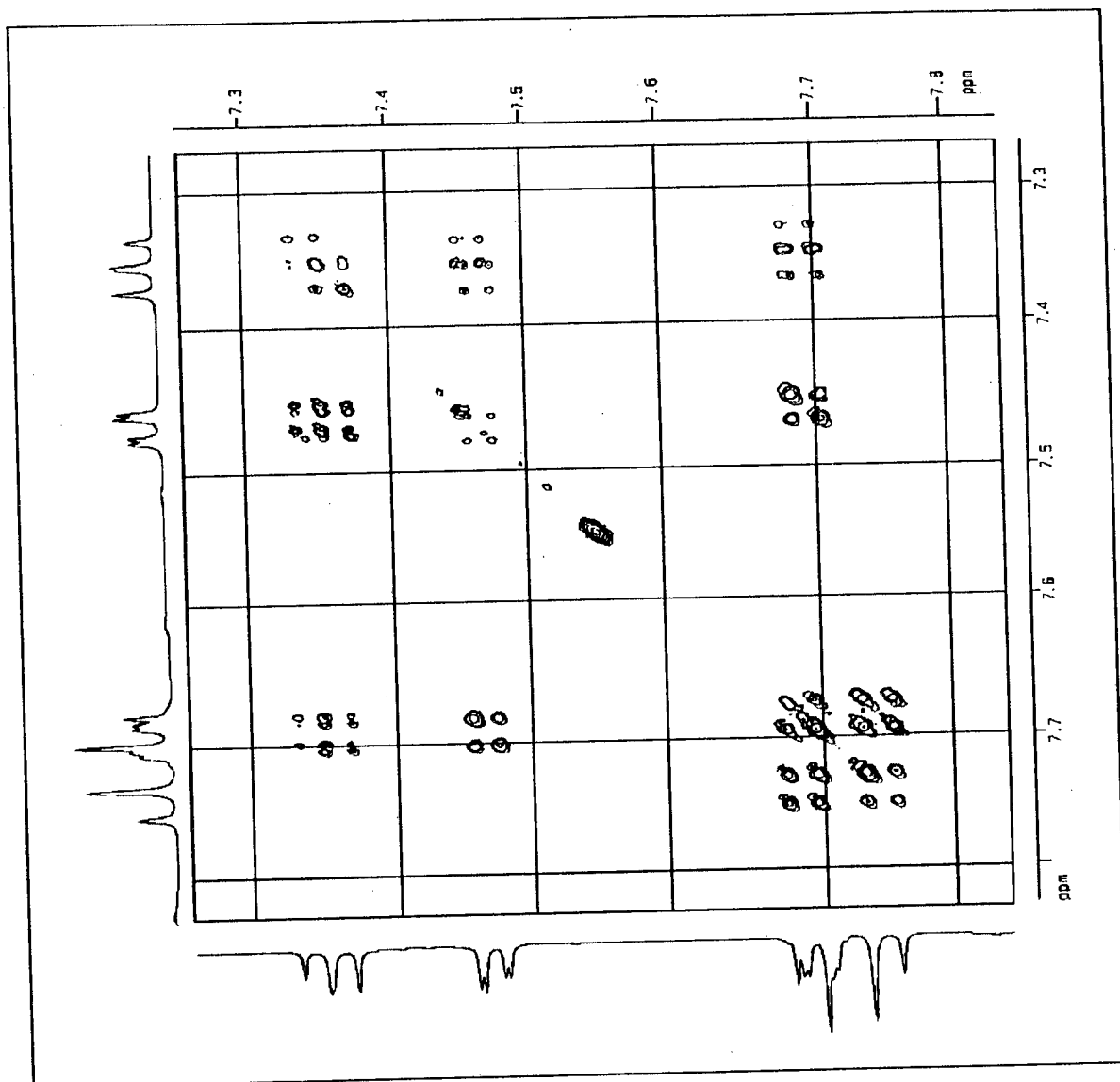
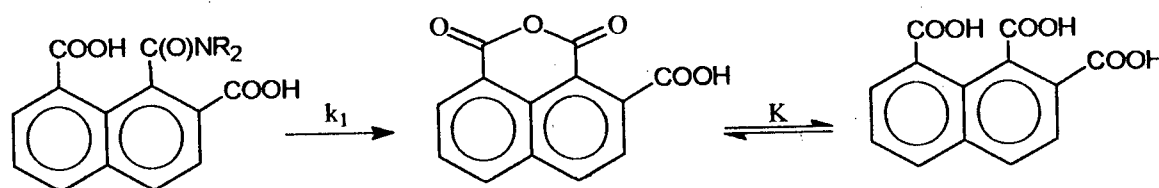


Figura 17 - Espectro de COSY, 400 MHz, do ácido *N,N*-dietilnaftalâmico em diclorometano- $d_2$ .

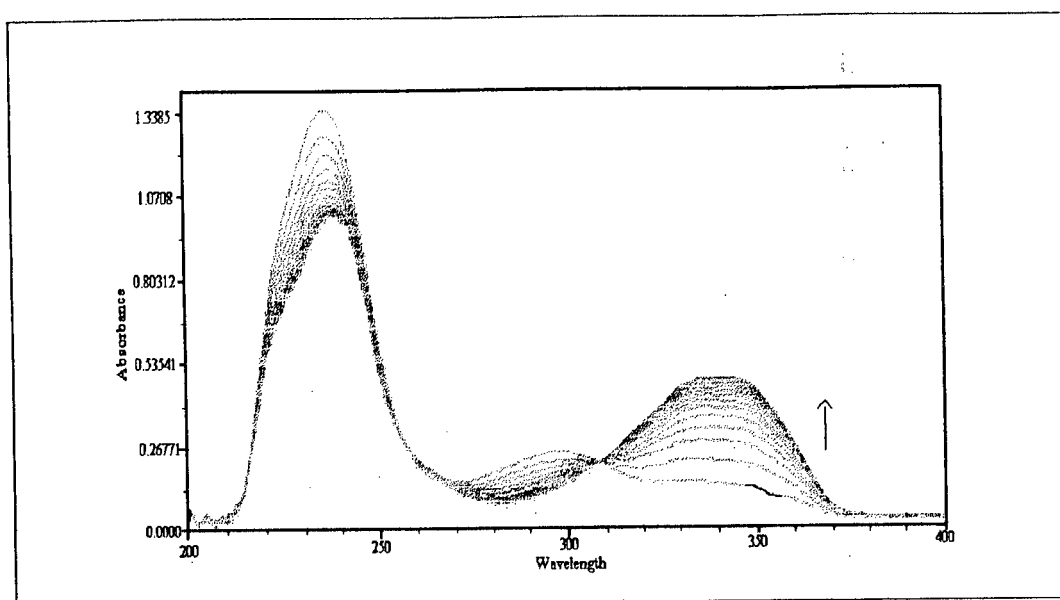
### 3.4- Reação de hidrólise dos ácidos *N,N*-dialquilnaftalâmicos

As reações de hidrólise dos ácidos 2-carbóxi-*N,N*-dialquilnaftalâmicos, foram estudadas por espectroscopia de UV-visível seguindo-se a formação do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico em 340 nm, (Figura 18). O anidrido formado também sofre hidrólise em determinadas faixas de pH, no entanto, para a faixa de pH estudada na hidrólise das amidas, a hidrólise do anidrido ocorre de 77 a ~ 200 vezes mais lenta que a hidrólise das amidas. Em regiões de  $H_0$  menores, a diferença entre as constantes de velocidade é menor, no entanto em meio altamente ácido a reação observada para o A2CN é a ciclização para formação do anidrido e não a hidrólise, como discutido nas seções anteriores. Em vista disso, em toda a faixa de pH estudada para a hidrólise dos ácidos *N,N*-dialquilnaftalâmicos, não houve preocupação com a possível interferência na constante de velocidade resultante da competição da reação de hidrólise do anidrido. Um esquema simplificado para a reação estudada é mostrado abaixo (Esquema 17):



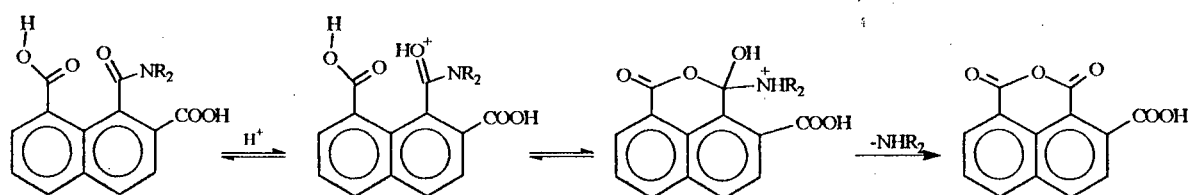
R= Et, DEA; n-Pr, DPA; Morfolina, MFA e MeBu, MBA

**Esquema 17**



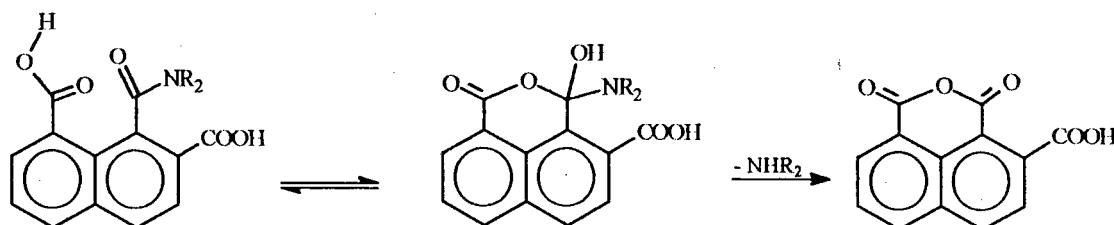
**Figura 18** – Variação da absorvância em função do tempo, para DEA ,  $6,66 \times 10^{-5}M$ , tampão ácido acético 0,1M; pH 4,50; espectros obtidos em intervalos de 30 segundos, a  $35^{\circ}C$ .

A análise dos perfis das constantes de velocidade vs. pH, (Figura 19), mostra a seguinte ordem de reatividade para os referidos ácidos na região do sino: MFA>MBA>DPA>DEA. Para todos os substratos estudados, observa-se um perfil em forma de sino entre os valores de pH 2,00-6,50 e abaixo de pH 0,00 há um aumento da constante de velocidade com o aumento da acidez. Isto sugere que em pH menor que 0,00 a hidrólise da amida ocorre por catálise ácida específica através da protonação do oxigênio da carbonila amídica, com posterior ataque nucleofílico a este centro que possui a sua eletrofilicidade aumentada devido a oxo-protonação, conforme mostrado abaixo, (Esquema 18):



Esquema 18

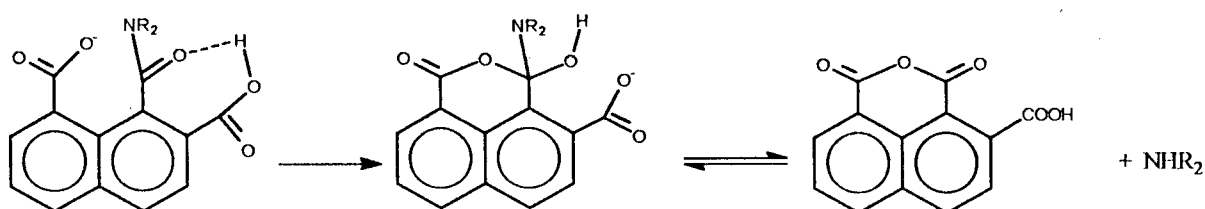
No patamar entre pH 2,00-0,00, a principal reação em solução é a hidrólise intramolecular com participação do grupo carboxílico do ácido 2-carbóxi-*N,N*-dialquilnaftalâmico, em sua forma não ionizada, conforme mostrado no Esquema 19.



Esquema 19

À medida que o pH aumenta, observa-se na região do sino um aumento da velocidade até um máximo em pH ~ 4,00 para todos os substratos, e para valores maiores que pH 4,00 uma diminuição da velocidade com o aumento do pH. Nesta região tem-se também uma reação de hidrólise intramolecular, onde a espécie predominante em solução é formada pela deprotonação de um dos grupamentos carboxílicos, provavelmente o 8-carbóxi devido à sua maior acidez. Assim o grupo carboxilato na posição 8 realiza um ataque nucleofílico ao carbono carbonílico da amida, o qual tem a sua eletrofilicidade aumentada pela assistência, através da formação de ligação de hidrogênio, do grupamento

carboxílico não ionizado na posição 2, (Esquema 20). Com o aumento do pH tem-se a deprotonação do segundo grupo carboxílico, levando a espécie dicarboxilato que é cineticamente menos ativa. A espécie cineticamente mais ativa é portanto o ácido monoprotonado, ou seja, um dos grupos carboxílicos na sua forma não ionizada e o outro na forma de carboxilato. Quando a dissociação atinge os dois grupamentos a velocidade cai drasticamente, indicando que a participação dos dois grupos nas formas acima descritas é determinante para a hidrólise.



**Esquema 20**

Num estudo anterior<sup>48</sup> com os ácidos *N,N*-dialquilnaftalâmicos, não se observou a forma de sino para o perfil de pH, o que indica que para os ácidos 2-carbóxi-*N,N*-dialquilnaftalâmicos aqui apresentados realmente se observa a participação do grupo carbonílico vicinal no processo de hidrólise. A velocidade de hidrólise para a dietil amida do anidrido 1,8-naftálico é no patamar (2,00-2,75) 20 vezes mais lenta que para a dietilamida do anidrido 2-carboxi-1,8-naftálico em pH 4,00.

Na reação de hidrólise das amidas derivadas do anidrido 1,8-naftálico<sup>48</sup>, observou-se que o aumento da cadeia alquílica provoca uma diminuição na reatividade. O efeito observado, no entanto, não provoca a diminuição de

velocidade na magnitude proposta por Koshland em sua teoria do direcionamento de orbitais<sup>17,18</sup>.

Nos substratos estudados neste trabalho esse efeito não é observado. Quando se aumenta a cadeia alquílica na série dietil, dipropil e metilbutilamina, esperar-se-ia uma ordem inversa de velocidade à observada. A explicação provavelmente deve estar relacionada com a presença do segundo grupamento carboxílico na posição 2, o que provoca um congestionamento estérico que faz com que o alívio da tensão conformacional alcançado quando da saída do grupamento amina seja predominante em termos de reatividade. Como resultado, o substrato com cadeia alquílica maior é o mais reativo. Pode-se considerar também que a maior velocidade observada para o substrato morfolinico, quando comparada à série de amidas dialquílicas, se deva à sua maior acidez quando comparada aos demais substratos, portanto apresentando uma menor basicidade como grupo de saída.

Os dados experimentais mostrados na Figura 19 para cada um dos substratos estudados são consistentes com a equação 11, a qual foi obtida descrevendo-se  $k_{obs}$  como uma função da reatividade das diferentes espécies presentes em solução e da fração molar de cada uma das espécies iônicas presentes nas diferentes regiões de pH.

$$k_{obs} = \frac{k_{SH_3^+}}{1 + \frac{K_{a1}}{[H^+]}} + \frac{k_{SH_2}}{1 + \frac{K_{a2}}{[H^+]} + \frac{K_{a2}K_{a3}}{[H^+]^2}} + \frac{k_{SH^-}}{1 + \frac{H^+}{K_{a2}} + \frac{K_{a3}}{[H^+]}} \quad (11)$$

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

$k_{SH_3^+}$  é a constante de velocidade para a hidrólise da amida oxo-protonada;

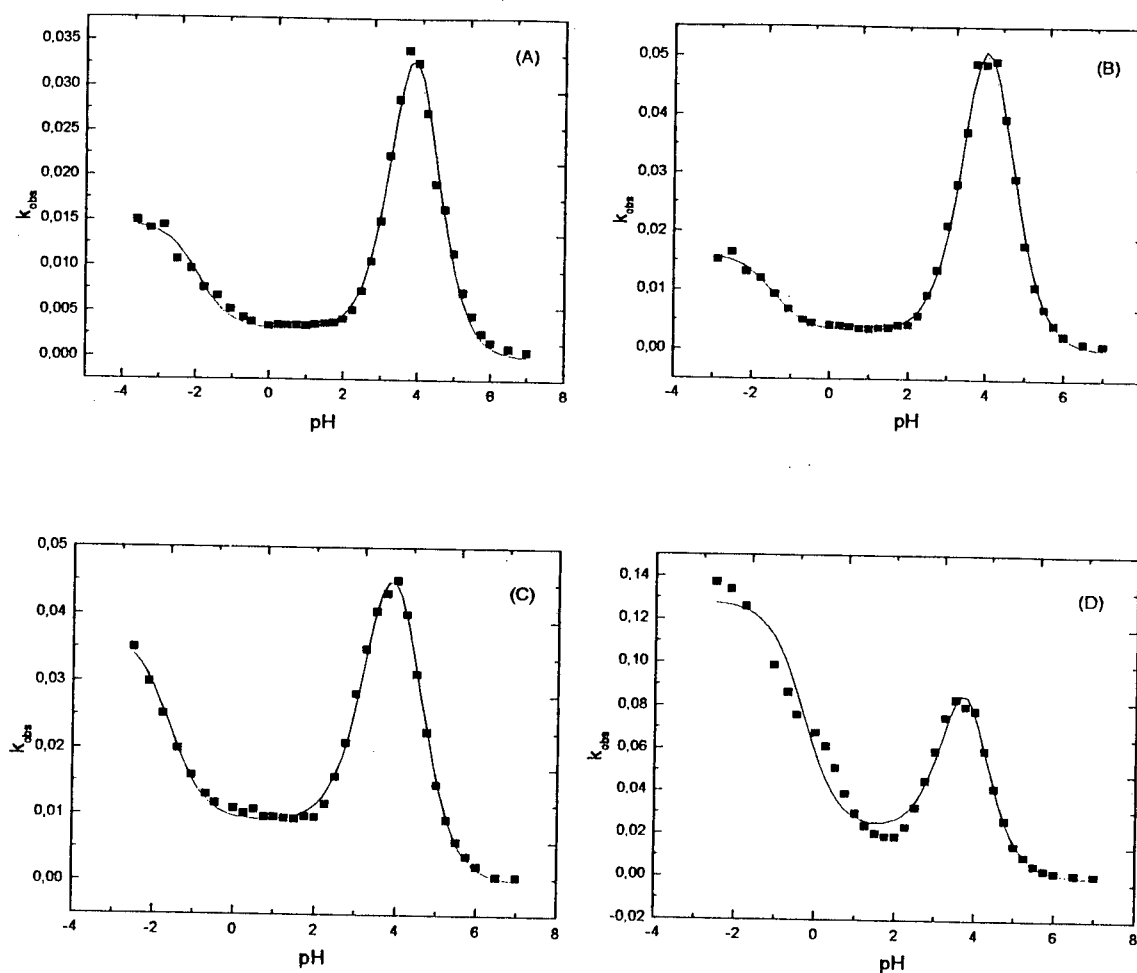
$k_{SH_2}$  é a constante de velocidade para a hidrólise da amida;

$k_{SH^-}$  é a constante de velocidade para a hidrólise intramolecular da amida com um grupamento carboxilato;

$K_{a1}$  é a constante de ionização do grupo carboxílico da monoamida oxo-protonada;

$K_{a2}$  e  $K_{a3}$  correspondem as constantes de ionização dos grupos carboxílicos da amida.

No ajuste dos dados experimentais com esta equação, utiliza-se um procedimento iterativo de ajuste dos valores das constantes de velocidades de hidrólise bem como das constantes de ionização dos grupamentos carboxílicos até gerar um conjunto de constantes de velocidade calculadas, que permitem reproduzir de forma adequada os dados experimentais encontrados. De fato, as linhas na Figura 19 correspondem as constantes de velocidade calculadas usando a equação acima e os valores de constantes de velocidade e constantes de ionização são apresentados na Tabela 08. A concordância satisfatória entre os dados calculados e os valores das constantes de hidrólise obtidas experimentalmente mostra que o esquema mecanístico e a equação apresentados, representam adequadamente os processos que acontecem em solução.



**Figura 19-** Gráfico do  $k_{\text{obs}}$  em função do pH para a hidrólise de (A) DEA, (B) DPA, (C) MBA e (D) MFA a 35°C. A linha cheia representa a curva teórica obtida pelo ajuste dos dados experimentais com a eq.11.

Nas Tabelas 09 e 10 encontram-se os valores das constantes de velocidade determinadas em diferentes temperaturas para as regiões de hidrólise intramolecular, pH 1,00 para DEA, DPA e MBA e pH 1,75 para MFA; na região do sino pH 3,50, DEA; pH 4,25, DPA; pH 3,5, MFA e pH 4,00, MBA. Estes valores foram utilizados para construir gráficos de  $\log k_{\text{obs}}$  vs.  $1/T$ , (Figuras 20 e 21), que fornecem os valores para as energias de ativação das reações envolvidas,



e através das quais foram calculados os demais parâmetros de ativação, apresentados na Tabela 11.

**Tabela 08** – Valores para as constantes de velocidades e de ionização calculadas a partir da equação de velocidade (11), para os ácidos *N,N*-dialquilnaftalâmicos.

Substrato	pK <sub>a1</sub>	pK <sub>a2</sub>	pK <sub>a3</sub>	10 <sup>2</sup> k <sub>SH3<sup>+</sup></sub> , s <sup>-1</sup>	10 <sup>3</sup> k <sub>SH</sub> , s <sup>-1</sup>	10 <sup>2</sup> k <sub>SH<sup>-</sup></sub> , s <sup>-1</sup>
DEA	-1,95	3,52	4,29	1,17	3,12	5,90
DPA	-1,46	3,63	4,42	1,13	3,16	9,04
MBA	-1,59	3,35	4,46	2,80	9,04	6,78
MFA	-0,30	3,48	4,02	10,6	22,3	16,5

A diferença observada na região de pH 1,00-2,00, onde predomina a forma diácida, mostra que a reatividade dos ácidos, MFA>MBA>DPA>DEA, está associada a variação de entalpia que é parcialmente compensada por efeitos entrópicos. De fato, apesar de ter-se diferenças em entalpias de ativação da ordem de aproximadamente 2,6 kcal/mol (comparando DEA e MFA) a diferença em energias livres de ativação é de pouco mais que 1 kcal/mol devido à compensação entrópica. Ocorre ainda uma maior variação nos parâmetros quando a série *N,N*-dialquil é comparada ao substrato morfolínico. Praticamente o mesmo efeito é observado na região do monoânion, onde inclusive observa-se uma mudança de ordem de reatividade, quando se comparam as energias livres de ativação e as entalpias de ativação para os compostos MFA, MBA, DPA e DEA. Neste caso, o efeito de compensação entálpico/entrópico é mais evidente. Consequentemente, observa-se que o ácido mais reativo requer uma energia menor para alcançar o(s) estado(s) de transição e os valores de entropias de

ativação indicam, em todos os casos um estado de transição mais organizado que os respectivos reagentes. Isso contraria os postulados entrópicos de Page e Jencks<sup>49,50</sup>, pois o sistema mais reativo é aquele de menor entropia de ativação, não parecendo portanto, neste caso, que a velocidade das reações intramoleculares seja controlada entropicamente, mas sim, que existe uma dependência de fatores entrópicos e entálpicos, onde uma pequena variação entálpica é compensada por uma variação entrópica maior.

**Tabela 09** - Efeito da temperatura sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos ácidos *N,N*-dialquilnaftalâmicos.

t, °C	$10^3 k_{\text{obs}}, \text{ s}^{-1}$			
	DEA*	DPA*	MFA**	MBA*
20	0,733	0,741	5,22	2,28
25	1,32	1,40	8,38	3,76
30	2,28	2,22	12,5	5,86
35	3,60	3,44	18,5	9,55
40	5,59	6,19	30,3	14,5
45	9,03	9,43	42,8	23,0
50	14,1	12,6	59,2	34,2

\*DEA, DPA, MBA pH = 1,00; MFA, pH = 1,75

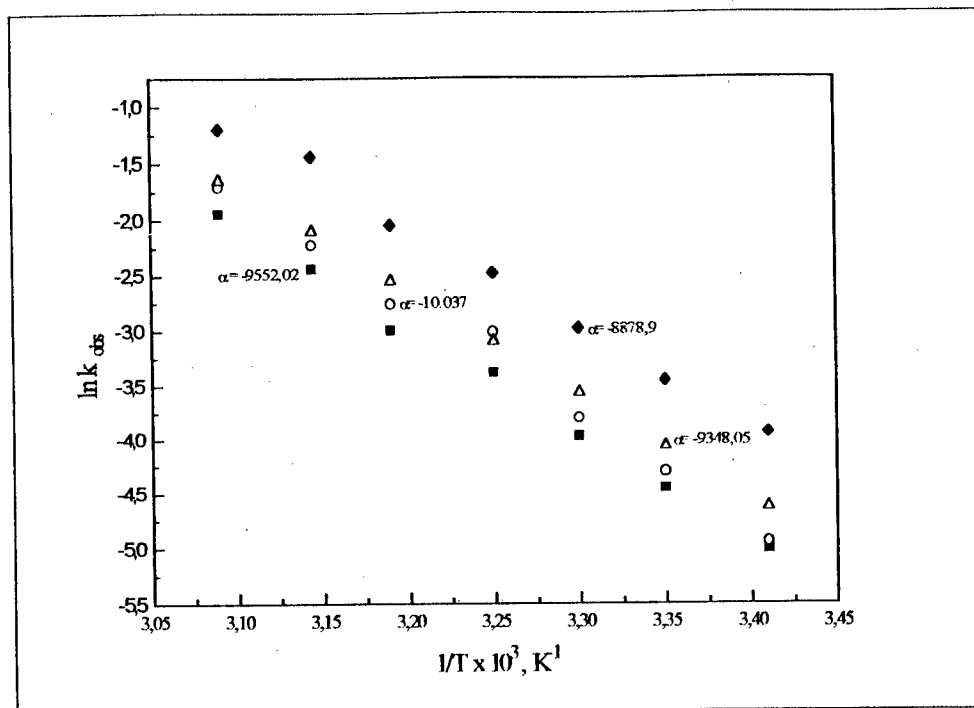
**Tabela 10** - Efeito da temperatura sobre a velocidade de hidrólise intramolecular dos ácidos *N,N*-dialquilnaftalâmicos na forma de monoânion.

t, °C	$10^3 k_{\text{obs}}, \text{ s}^{-1*}$			
	DEA	DPA	MFA	MBA
20	6,65	7,13	19,5	9,75
25	11,6	13,5	31,5	17,1
30	18,8	22,3	50,5	28,0
35	33,8	49,1	83,1	45,1
40	49,6	63,2	128	77,2
45	86,5	107	236	121
50	142	181	301	191

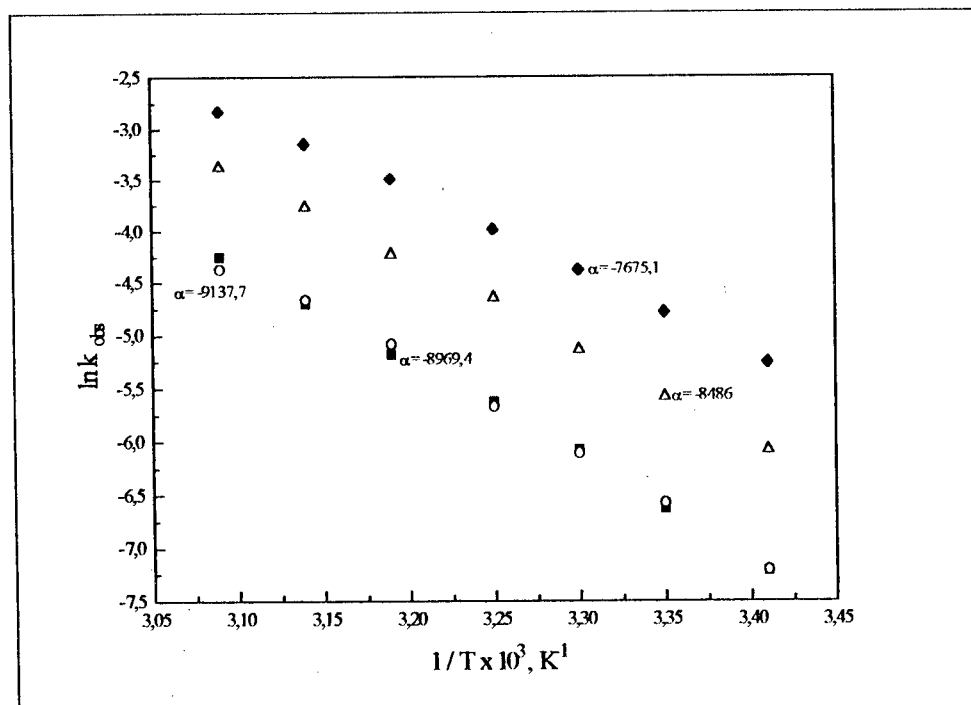
\*DEA, pH = 3,75; DPA, pH = 4,25; MFA, pH = 3,50; MBA, pH = 4,0

**Tabela 11** - Parâmetros de ativação na reação de hidrólise dos compostos DEA, DPA, MFA e MBA, a 35°C.

Composto	pH	$10^3 k_{\text{obs}}, \text{ s}^{-1}$	$\Delta H^\ddagger \text{ kcal/mol}$	$\Delta S^\ddagger, \text{ u.e.}$	$\Delta G^\ddagger \text{ kcal/mol}$
DEA	1,00	3,39	17,35	-13,6	21,53
DEA	3,75	34,0	18,43	-5,5	20,12
DPA	1,00	3,44	17,29	-13,7	21,52
DPA	4,25	49,1	19,35	-1,8	19,90
MFA	1,75	18,5	14,76	-18,6	20,49
MFA	3,50	83,1	17,09	-8,1	19,57
MBA	1,00	9,55	16,39	-14,6	20,90
MBA	4,00	45,1	18,01	-6,3	19,95



**Figura 20** - Gráfico de  $\ln k_{obs}$  vs  $1/T$  para os ácidos DEA (■) pH=3,75; DPA (○) pH=4,25; MBA (Δ) pH=3,50 e MFA (◆) pH=4,00.

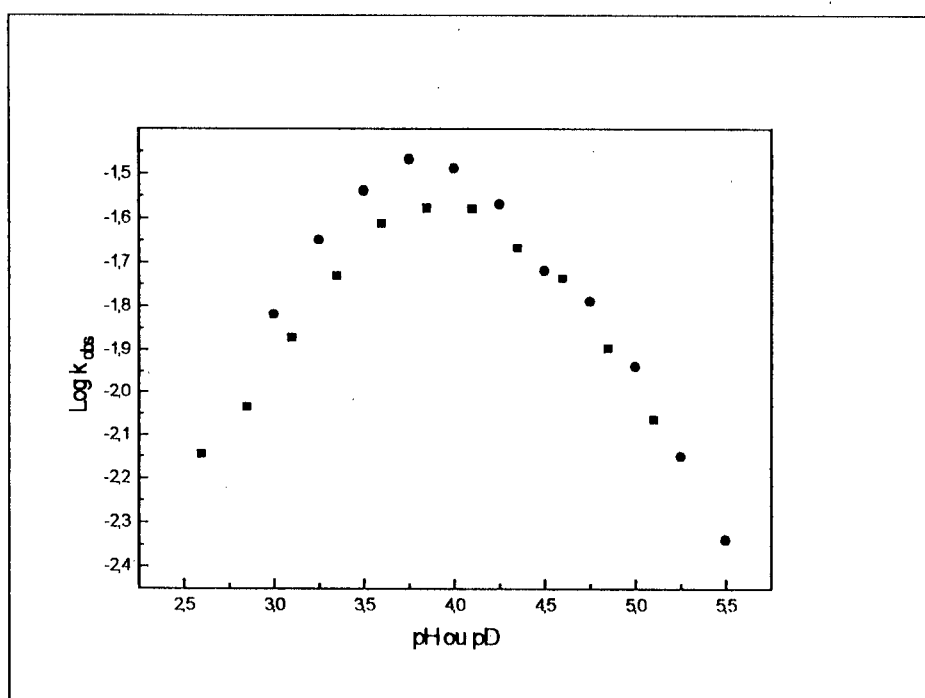


**Figura 21**- Gráfico de  $\ln k_{obs}$  versus  $1/T$  para os ácidos DEA (■), DPA (○) e MBA (Δ) pH=1,00; MFA (◆) pH=1,75.

Com o intuito de compreender a participação do grupamento carboxílico não ionizado durante a reação, foi determinado o efeito isotópico cinético do solvente sobre a velocidade de hidrólise do ácido *N,N*-dietilnaftalâmico nos valores de pD na região de catálise intramolecular. As constantes de velocidade média (5 experimentos), foram obtidas para toda a região do sino, (Tabela 12 e Apêndice 18), e mostraram que a forma do perfil de  $\text{pH(D)}-\log k_{\text{obs}}$  é mantida inalterada<sup>51</sup>, (Figura 22). Observa-se ainda que a velocidade da reação em óxido de deutério é menor que em água até alcançar o máximo de velocidade e que após este ponto ocorre uma inversão, passando a reação em óxido de deutério a ser mais rápida que em água. Este efeito é principalmente devido ao fato do perfil de pH estar deslocado em  $\sim 0,4$  unidades para valores de pH menores em óxido de deutério que em água. Isto reflete nos valores de  $\text{pK}_a$  que estão deslocados em aproximadamente 0,1 unidades de pH em óxido de deutério. Como o  $\Delta\text{pK}_a$  em água e em óxido de deutério é de  $\sim 0,1$  unidade acima, a razão  $k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$  para o máximo de velocidade deve ser obtida utilizando-se o valor da constante de velocidade para um valor de pD 0,1 unidade maior que o valor de pH, tendo-se uma razão de 1,04. O deslocamento de curvas de constantes de velocidade em função do pH é um fato conhecido e está associado ao fato de ser  $\text{D}_3\text{O}^+$  um ácido mais forte que  $\text{H}_3\text{O}^+$  e às diferenças nos valores das constantes de força das ligações O-H e O-D. O efeito cinético observado é absolutamente consistente com o mecanismo proposto e não indica que algum próton esteja sendo transferido na etapa determinante da velocidade para esta reação.

**Tabela 12** - Efeito isotópico de solvente sobre a velocidade de hidrólise Intramolecular de DEA a 35°C.

Experimento	$10^4 k_{\text{obs}}, \text{ s}^{-1}$				
	pD=3,10	pD=3,35	pD=3,60	pD=3,85	pD=4,10
01	136	187	246	266	261
02	136	186	244	266	264
03	131	185	242	260	261
04	131	186	245	268	264
05	132	181	243	261	263
Média	133	185	244	264	263
$k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$	2,14	1,84	1,34	1,03	0,73



**Figura 22**- Gráfico da constante de velocidade de hidrólise do ácido *N,N*-dietilnaftalâmico em função do pH em água (●) e em óxido de deutério (■) a 35°C.

## CAPÍTULO IV

### 4- Conclusões

Na reação de hidrólise dos anidridos 2-carbóxi e 4-carbóxi-1,8-naftálico, a posição em que se encontra o grupamento carbóxi não mostra uma grande influência sobre a velocidade de hidrólise. Porém mostra que há uma diferença significativa em termos mecanísticos, com perfis de constantes de velocidade versus pH notoriamente diferenciados. De fato, a forma de sino detectada para o anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico na região de 1,50 até 5,50 mostra que há uma participação de dois grupos, sendo um na forma de ácido carboxílico e outro na forma de carboxilato, o que não é possível de se conseguir no caso do anidrido 4-carbóxi-1,8-naftálico.

Apesar de ter-se uma participação efetiva da carboxila na posição dois, não há um acréscimo significativo na velocidade de reação e, ao contrário do que é observado para a hidrólise das amidas derivadas do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico, o grupamento em posição dois diminui a velocidade da reação para valores de pH menores do que 3,00.

A reação do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico com excesso de diferentes *N,N*-dialquilaminas produz os respectivos sais de *N,N*-dialquilamônio do ácido *N,N*-dialquilnaftalâmico.

A reação de hidrólise das respectivas amidas ocorre intramolecularmente através da participação do grupamento carboxílico em sua forma não ionizada na região de pH 2,00-0,00 e através da participação de um grupamento carboxílico e outro grupamento carboxilato na região do sino, o que faz com que a velocidade da reação aumente. Já a forma de dicarboxilato é cineticamente menos ativa,

## CAPÍTULO IV

### 4- Conclusões

Na reação de hidrólise dos anidridos 2-carbóxi e 4-carbóxi-1,8-naftálico, a posição em que se encontra o grupamento carbóxi não mostra uma grande influência sobre a velocidade de hidrólise. Porém mostra que há uma diferença significativa em termos mecanísticos, com perfis de constantes de velocidade versus pH notoriamente diferenciados. De fato, a forma de sino detectada para o anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico na região de 1,50 até 5,50 mostra que há uma participação de dois grupos, sendo um na forma de ácido carboxílico e outro na forma de carboxilato, o que não é possível de se conseguir no caso do anidrido 4-carbóxi-1,8-naftálico.

Apesar de ter-se uma participação efetiva da carboxila na posição dois, não há um acréscimo significativo na velocidade de reação e, ao contrário do que é observado para a hidrólise das amidas derivadas do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico, o grupamento em posição dois diminui a velocidade da reação para valores de pH menores do que 3,00.

A reação do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico com excesso de diferentes *N,N*-dialquilaminas produz os respectivos sais de *N,N*-dialquilamônio do ácido *N,N*-dialquilnaftalâmico.

A reação de hidrólise das respectivas amidas ocorre intramolecularmente através da participação do grupamento carboxílico em sua forma não ionizada na região de pH 2,00-0,00 e através da participação de um grupamento carboxílico e outro grupamento carboxilato na região do sino, o que faz com que a velocidade da reação aumente. Já a forma de dicarboxilato é cineticamente menos ativa,



provocando a diminuição da velocidade da reação de hidrólise para valores de pH maiores do que 4,00 para todos os substratos.

Os parâmetros de ativação mostraram que a reatividade dos ácidos é dependente de fatores entrópicos e entálpicos: onde uma pequena variação entálpica é compensada por uma variação entrópica maior, não parecendo portanto, neste caso, que as velocidades das reações intramoleculares sejam controladas entropicamente.

O efeito isotópico do solvente indica que nenhum próton está sendo transferido na etapa determinante da velocidade da reação, mas que a variação observada na relação  $k_H/k_D$  para toda a região de catálise intramolecular se deve a diferença na força dos ácidos  $H_3O^+$  ou  $D_3O^+$ , presentes nos respectivos solventes.

O perfil observado de  $k_{obs}$  versus pH, no caso dos ácidos 2-carboxi-*N,N*-dialquilnaftalâmicos são característicos de muitas proteinases aspárticas, para as quais se tem descrito que a hidrólise de ligações amídicas se devem á participação de dois grupamentos carboxílicos, nas formas descritas em nosso trabalho. Observou-se também que a forma totalmente ionizada, na qual os dois grupamentos encontram-se na forma de carboxilato, não é reativa. Outro fator importante a ressaltar é que o pH ótimo de ação catalítica para a maioria das proteinases aspárticas está na faixa de pH de 1,90 a 4,00, sendo observado em nosso trabalho um máximo de velocidade, fundamentalmente da reação intramolecular, em valores de pH próximos de 4,00. Para as proteinases aspárticas, observou-se também que os valores de  $pK_a$  dos grupos carboxílicos que participam da hidrólise das ligações amídicas são de aproximadamente 1,40 e 4,50<sup>52</sup>. Nos substratos estudados, observou-se que os valores de  $pK_a$  dos grupos estão na faixa de 3,30 a 4,50, o que nos faz crer que os substratos selecionados representam um bom modelo para as proteinases aspárticas.

As velocidades das reações enzimáticas se devem a um somatório de fatores que fazem com que elas sejam muito superiores as velocidades de reações intermoleculares e mesmo das intramoleculares. No entanto, os modelos intramoleculares podem fornecer várias informações sobre o comportamento enzimático. Neste trabalho pode-se observar que um aumento significativo nas velocidades das reações de hidrólise de amidas pode ser alcançado quando se coloca mais de um grupamento com atividade catalítica próximo à ligação a ser cindida, ancorados em uma estrutura carbônica rígida, o que facilita a reação pois os grupamentos podem estar melhor orientados, evitando-se também efeitos inibitórios causados pela solvatação dos grupos reativos.

## 5 - APÊNDICE

**Apêndice 1 - Valores das constantes de velocidade de abertura do anidrido 2-carbóxi-1,8-naftálico (A2CN) a 35,0 °C e tampão 0,1 M.**

pH(H <sub>0</sub> )	10 <sup>4</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )	pH	10 <sup>4</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )
(-2,5)	78,0	3,00	5,86
(-2,12)	47,3	3,25	5,87
(-1,76)	29,7	3,50	5,53
(-1,58)	19,3	4,00	4,38
(-1,40)	14,3	4,50	3,03
(-1,23)	11,2	5,00	2,06
(-1,05)	9,48	5,25	1,77
(-0,87)	7,78	5,50	1,75
(-0,69)	6,38	5,75	1,67
(-0,47)	5,43	6,00	1,79
0,00	4,33	6,25	1,85
0,25	4,57	6,50	1,86
0,50	3,91	6,75	2,52
0,75	3,83	7,00	2,81
1,00	3,57	7,50	5,62
1,25	3,64	8,00	13,4
1,50	3,53	8,50	54,1
1,75	3,87	9,00	157
2,00	4,11	9,50	485
2,50	4,45	10,0	1490

**Apêndice 2 - Valores das constantes de velocidade de abertura do anidrido 4-carbóxi-1,8-naftálico (A4CN) a 35,0 °C e tampão 0,1 M.**

pH(H <sub>0</sub> )	10 <sup>4</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )	pH	10 <sup>4</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )
(-1,76)	41,2	4,50	2,26
(-1,05)	41,1	5,00	1,33
(-0,69)	29,7	5,25	0,77
(-0,47)	21,1	5,50	1,55
0,50	12,0	5,75	1,40
1,00	9,74	6,00	1,54
1,50	10,3	6,25	1,84
2,00	9,64	6,50	2,89
2,50	8,21	6,75	4,06
3,00	5,18	7,00	6,39
3,25	6,23	9,00	308
3,50	4,90	10,0	1780
4,00	3,41		

**Apêndice 3 - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi- *N,N*-dietilnaftalâmico (DEA) a 35,0 °C e tampão 0,1 M.**

pH(H <sub>0</sub> )	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )	pH	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )
(-3,59)	15,0	2,00	4,13
(-3,22)	14,1	2,25	5,13
(-2,86)	14,5	2,50	7,26
(-2,50)	10,7	2,75	10,5
(-2,12)	9,67	3,00	15,0
(-1,76)	7,55	3,25	22,3
(-1,40)	6,70	3,50	28,6
(-1,05)	5,22	3,75	34,0
(-0,69)	4,31	4,00	32,6
(-0,47)	3,83	4,25	27,1
0,00	3,35	4,50	19,1
0,25	3,48	4,75	16,3
0,50	3,42	5,00	11,5
0,75	3,45	5,25	7,15
1,00	3,39	5,50	4,60
1,25	3,56	5,75	2,61
1,50	3,64	6,00	1,63
1,75	3,77	6,50	0,944

**Apêndice 4 - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido  
2,8-carbóxi-*N,N*-dipropilnaftalâmico (DPA) a 35,0 °C e  
tampão 0,1 M.**

pH(H <sub>0</sub> )	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )	pH	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )
(-2,86)	15,1	2,50	9,25
(-2,50)	16,3	2,75	13,4
(-2,12)	13,1	3,00	21,1
(-1,76)	11,9	3,25	28,1
(-1,40)	9,33	3,50	37,1
(-1,05)	6,79	3,75	48,7
(-0,69)	4,96	4,00	48,6
(-0,47)	4,42	4,25	49,1
0,00	4,07	4,50	39,4
0,25	4,01	4,75	29,1
0,50	3,77	5,00	17,7
0,75	3,45	5,25	10,8
1,00	3,44	5,50	7,01
1,25	3,57	5,75	4,29
1,50	3,63	6,00	2,46
1,75	4,06	6,50	1,18
2,00	4,12		
2,25	5,68		

**Apêndice 5 - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi-Morfolinonaftalâmico (MFA) a 35,0 °C e tampão 0,1 M.**

pH(H <sub>0</sub> )	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )	pH	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )
(-2,50)	137	2,50	32,3
(-2,12)	134	2,75	44,9
(-1,76)	126	3,00	59,1
(-1,05)	98,6	3,25	74,8
(-0,69)	86,0	3,50	83,1
(-0,47)	75,7	3,75	79,8
0,00	67,4	4,00	77,9
0,25	61,1	4,25	59,4
0,50	50,8	4,50	41,3
0,75	38,6	4,75	26,3
1,00	29,4	5,00	14,5
1,25	23,4	5,25	9,40
1,50	19,9	5,50	5,26
1,75	18,5	5,75	3,05
2,00	18,3	6,00	2,02
2,25	23,0	6,50	1,07

**Apêndice 6- Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi-*N*-metil-*N*-butilnaftalâmico (MBA) à 35,0 °C e tampão 0,1 M.**

pH(H <sub>0</sub> )	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )	pH	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )
(-2,50)	34,9	2,50	15,6
(-2,12)	29,8	2,75	20,9
(-1,76)	25,1	3,00	28,2
(-1,40)	19,9	3,25	34,8
(-1,05)	15,8	3,50	40,5
(-0,69)	13,0	3,75	43,1
(-0,47)	11,6	4,00	45,1
0,00	11,0	4,25	40,1
0,25	10,1	4,50	31,2
0,50	10,6	4,75	22,5
0,75	9,58	5,00	14,6
1,00	9,55	5,25	9,23
1,25	9,37	5,50	5,92
1,50	9,29	5,75	3,81
1,75	9,59	6,00	2,31
2,00	9,53	6,50	0,687
2,25	11,5		



**Apêndice 7** - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do anidrido A2CN a 35,0 °C, pH 1,00 em tampão ácido oxálico.

[TAMPÃO]/M	$10^4 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$
0,01	3,43
0,05	3,53
0,1	3,50
0,2	3,42
0,5	3,43

**Apêndice 8** - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do anidrido A2CN a 35,0 °C, pH 3,25, em tampão ácido cloroacético.

[TAMPÃO]/M	$10^4 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$
0,01	5,88
0,05	5,884
0,10	5,87
0,15	5,76
0,20	5,81

**Apêndice 9** - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do anidrido A2CN a 35,0 °C, pH 5,50, em tampão ácido acético.

[TAMPÃO]/M	$10^4 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$
0,01	1,58
0,05	1,53
0,10	1,68
0,20	1,84
0,50	2,20

**Apêndice 10** - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do anidrido A2CN a 35,0 °C, pH 8,50, em tampão ácido bórico.

[TAMPÃO]/M	$10^4 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$
0,01	49,6
0,05	54,6
0,10	57,3
0,20	64,1
0,50	96,6

**Apêndice 11- Valores das constantes de velocidade de hidrólise dos anidridos  
A2CN e A4CN a diferentes temperaturas e valores de pH.**

pH(H <sub>0</sub> )	t, °C	10 <sup>4</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )	
		A4CN	A2CN
(-0,47)	35	21,4	-
(-0,47)	40	32,4	-
(-0,47)	45	46,8	-
(-0,47)	50	81,3	-
(-0,47)	55	110	-
(-0,47)	60	155	-
(-1,40)	35	-	14,3
(-1,40)	40	-	22,1
(-1,40)	45	-	36,9
(-1,40)	50	-	50,9
(-1,40)	55	-	80,9
(-1,40)	60	-	97,0
1,00	35	9,74	3,57
1,00	40	16,2	5,79
1,00	45	21,9	8,85
1,00	50	40,7	13,7
1,00	55	53,7	20,3
1,00	60	81,3	30,5
6,00	35	-	1,82
6,00	40	-	2,82
6,00	45	-	4,47
6,00	50	-	6,92

*cont. apêndice 11.*

6,00	55	-	10,5
6,00	60	-	15,8
9,00	35	309	157
9,00	40	549	189
9,00	45	813	283
9,00	50	1.120	452
9,00	55	1.778	665
9,00	60	2.884	1.023

**Apêndice 12 - Parâmetros de ativação para os anidridos A2CN e A4CN a 35°C.**

Composto	pH(H <sub>0</sub> )	E <sub>a</sub> kcal/mol	ΔH <sup>‡</sup> kcal/mol	ΔS <sup>‡</sup> u.e	ΔG <sup>‡</sup> kcal/mol
A4CN	(-0,47)	16,66	16,04	-18,7	21,81
A4CN	1,00	15,74	15,13	-23,3	22,29
A4CN	9,00	17,75	17,14	-9,9	20,18
A2CN	(-1,40)	15,23	14,62	-24,2	22,06
A2CN	1,00	17,06	16,45	-21,0	22,91
A2CN	6,00	17,21	16,59	-21,9	23,33
A2CN	9,00	14,88	14,27	-20,5	20,59

**Apêndice 13 - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi-*N,N*-dietilnaftalâmico (DEA) em diferentes temperaturas e valores de pH.**

pH	t, °C	$10^3 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$	pH	t, °C	$10^3 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$
1,00	20	0,733	4,00	25	11,3
1,00	25	1,32	4,00	30	19,7
1,00	30	2,28	4,00	35	31,4
1,00	35	3,60	4,00	40	54,0
1,00	40	5,59	4,00	45	92,5
1,00	45	9,03	4,00	50	154
1,00	50	14,1	4,25	20	5,26
3,50	20	5,90	4,25	25	9,75
3,50	25	10,4	4,25	30	16,2
3,50	30	17,6	4,25	35	26,5
3,50	35	28,2	4,25	40	45,6
3,50	40	46,3	4,25	45	81,7
3,50	45	71,8	4,25	50	125
3,50	50	123	4,50	20	3,99
3,75	20	6,65	4,50	25	7,27
3,75	25	11,6	4,50	30	12,3
3,75	30	17,8	4,50	35	21,9
3,75	35	33,8	4,50	40	36,5
3,75	40	49,6	4,50	45	64,7
3,75	45	86,5	4,50	50	98,3
3,75	50	142	-	-	-
4,00	20	6,26	-	-	-

**Apêndice 14 - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi-*N,N*-dipropilnaftalâmico (DPA) em diferentes temperaturas e valores de pH.**

pH	t, °C	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )	pH	t, °C	10 <sup>3</sup> k <sub>obs</sub> (s <sup>-1</sup> )
1,00	20	0,741	4,00	25	15,0
1,00	25	1,40	4,00	30	26,3
1,00	30	2,22	4,00	35	48,6
1,00	35	3,44	4,00	40	69,4
1,00	40	6,19	4,00	45	107
1,00	45	9,43	4,00	50	176
1,00	50	12,6	4,25	20	7,13
3,50	20	7,16	4,25	25	13,5
3,50	25	12,5	4,25	30	22,3
3,50	30	21,7	4,25	35	49,1
3,50	35	37,2	4,25	40	63,2
3,50	40	55,1	4,25	45	107
3,50	45	94,7	4,25	50	181
3,50	50	147	4,50	20	5,35
3,75	20	8,25	4,50	25	10,1
3,75	25	14,8	4,50	30	17,6
3,75	30	24,8	4,50	35	39,4
3,75	35	47,7	4,50	40	51,2
3,75	40	69,6	4,50	45	85,9
3,75	45	112	4,50	50	137
3,75	50	169	-	-	-
4,00	20	8,73	-	-	-

**Apêndice 15 - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi-Morfolinonaftalâmico (MFA) em diferentes temperaturas e valores de pH.**

pH	t, °C	$10^3 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$	pH	t, °C	$10^3 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$
1,75	20	5,22	3,50	25	31,5
1,75	25	8,38	3,50	30	50,5
1,75	30	12,5	3,50	35	83,1
1,75	35	18,5	3,50	40	128
1,75	40	30,3	3,50	45	236
1,75	45	42,8	3,50	50	301
1,75	50	59,2	4,00	20	13,5
3,00	20	14,6	4,00	25	23,1
3,00	25	23,4	4,00	30	39,6
3,00	30	38,1	4,00	35	77,9
3,00	35	59,1	4,00	40	103
3,00	40	93,9	4,00	45	162
3,00	45	146	4,00	50	238
3,00	50	218	4,50	20	3,99
3,25	20	18,1	4,50	25	7,27
3,25	25	29,3	4,50	30	12,3
3,25	30	44,7	4,50	35	21,9
3,25	35	74,8	4,50	40	36,5
3,25	40	119	4,50	45	64,7
3,25	45	162	4,50	50	98,3
3,25	50	261	-	-	-
3,50	20	19,5	-	-	-

**Apêndice 16 - Valores das constantes de velocidade de hidrólise do ácido 2-carbóxi-N-metil-N-butilnaftalâmico(MBA) em diferentes temperaturas e valores de pH.**

pH	t, °C	$10^3 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$	pH	t, °C	$10^3 k_{\text{obs}} (\text{s}^{-1})$
1,00	20	2,28	4,25	20	8,40
1,00	25	3,76	4,25	25	14,7
1,00	30	5,86	4,25	30	24,1
1,00	35	9,55	4,25	35	40,1
1,00	40	14,5	4,25	40	68,1
1,00	45	23,0	4,25	45	111
1,00	50	34,2	4,25	50	153
3,75	20	9,81	4,50	20	6,14
3,75	25	16,1	4,50	25	10,4
3,75	30	27,8	4,50	30	20,1
3,75	35	43,1	4,50	35	31,2
3,75	40	73,5	4,50	40	53,8
3,75	45	112,1	4,50	45	81,0
3,75	50	175	4,50	50	138
4,00	20	9,75	-	-	-
4,00	25	17,1	-	-	-
4,00	30	28,0	-	-	-
4,00	35	45,1	-	-	-
4,00	40	77,2	-	-	-
4,00	45	121	-	-	-
4,00	50	191	-	-	-



**Apêndice 17 - Parâmetros de ativação para DEA, DPA, MFA e MBA, a 35°C.**

Composto	pH	$E_a$ kcal/mol	$\Delta H^\ddagger$ kcal/mol	$\Delta S^\ddagger$ u.e	$\Delta G^\ddagger$ kcal/mol
DEA	1,00	17,96	17,35	-13,6	21,53
DEA	3,50	18,90	18,29	-6,3	20,22
DEA	3,75	19,04	18,43	-5,5	20,12
DEA	4,00	18,74	18,13	-6,5	20,14
DEA	4,25	20,04	19,43	-2,7	20,26
DPA	1,00	17,90	17,29	-13,7	21,52
DPA	3,50	18,83	18,21	-6,0	20,07
DPA	3,75	18,97	18,36	-5,0	19,90
DPA	4,00	18,67	18,06	-6,0	19,90
DPA	4,25	19,96	19,35	-1,8	19,90
DPA	4,50	20,21	19,59	-1,4	20,03
MFA	1,75	15,37	14,76	-18,6	20,49
MFA	3,00	17,03	16,42	-10,9	19,78
MFA	3,25	16,67	16,06	-11,6	19,64
MFA	3,50	17,71	17,09	-8,1	19,57
MFA	4,00	18,68	18,06	-5,0	19,61
MFA	4,25	17,95	17,33	-7,9	19,78
MBA	1,00	17,01	16,39	-14,6	20,90
MBA	3,75	18,14	17,52	-7,9	19,97
MBA	4,00	18,62	18,01	-6,3	19,95
MBA	4,25	18,55	17,94	-6,7	20,02
MBA	4,50	19,40	18,78	-4,5	20,17

**Apêndice 18** - Valores das constantes de velocidade para a hidrólise do **ácido 2-carbóxi-*N,N*-dietilnaftalâmico (DEA)** em meio deuterado a 35°C.

pD	$10^4 k_{\text{obs}} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$
2,60	71,4	2,10
2,85	91,9	2,43
3,10	133	2,14
3,35	185	1,84
3,60	244	1,34
3,85	264	1,03
4,10	263	0,72
4,35	214	0,76
4,60	183	0,63
4,85	126	0,57
5,10	86,2	0,53

## CAPÍTULO V

### 5- Referências bibliográficas

1. LENINGHER, A. L. Bioquímica, São Paulo: Ed. Edgard Blucher LTDA, 1976. 4v. V.1. p. 1-7.
2. STRYER, L., Bioquímica, Rio de Janeiro: Editorial Revertè S.A., 1979. 875p.
3. KIRBY, A. J., Angew. Chem. Int. Ed. Engl., v. 35, p. 707-724, 1996.
4. KLUGER, R., CHIN, J., Carboxylic acid participation in amide hydrolysis. Evidence that separation of a nonbonded complex can be rate determining. J. Am. Chem. Soc., v. 104, p. 2891-2897, 1982.
5. RICH, D.H., BERNATOWICZ, M.S., SCHIMIDT, P.G., Direct  $^{13}\text{C}$  NMR evidence for a tetrahedral intermediate in the binding of a pepstatin analogue to porcine pepsin. J. Am. Chem. Soc. V. 104, p. 3535, 1982.
6. KIRBY, A.J. and FERSCHT, A.R., Prog. Bioorg. Chem., v. 1, p. 1, 1971.
7. KLUGER, R. and CHOY, W.W., Carboxylic acid participation in amide hydrolysis. Reactivity of intermediates in the internally catalyzed hydrolysis of N-substituted 2,3-dimethylmaleamic acids. J. Am. Chem. Soc., v. 101, p. 6976-6980, 1979.
8. GANDOUR, R.D., Intramolecular reactions and the relevance of models. In: Transition States of Biochemical Process, Plenum Press, New York, N.Y. p. 535-551, 1978.
9. GESSER, J. C., YUNES, S., CLEMENTIN, R.M. E NOME, F., Reações intramoleculares como modelos não miméticos de catálise enzimática. Quím. Nova, v.15, n. 5, 1996
10. PAGE, M.I. and WILLIAMS, Enzyme Mechanisms, The Royal Society of

Chemistry, pag. 1-13, 1987.

11. BRUICE, T.C. and BENKOVIC, S.J., A comparison of the bimolecular and intramolecular nucleophilic catalysis of the hydrolysis of substituted phenyl acylates by the dimethylamino group. J. Am. Chem. Soc., v. 85, p. 1-8, 1963
12. JENCKS, W.J., Advances in Enzymology, v. 43, p. 219, 1975.
13. PAGE, M.I., JENCKS, W. P. Entropic contributions to rate accelerations in enzymic and intramolecular reactions and the chelate effects. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, v. 68, p. 1678-1683, 1971
14. KOSHLAND, D.E., NEET, K.E., The catalytic and regulatory properties of enzymes. Annual Review of Biochemistry. p. 359-410, 1968.
15. BRUICE, T.C., PANDIT, U. K. Intramolecular models depicting the kinetic importance of "fit" in enzymatic catalysis. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, v. 46, p. 402-404, 1960.
16. BRUICE, T.C., Proximity effects and enzyme catalysis. In: BOYER, P. D. The Enzymes, Vol III, 3<sup>a</sup> ed., Academic Press, 1972 p.217-279.
17. KOSHLAND, D.E., A source for the special catalytic power of enzymes: orbital steering. Proc. Nat. Acad. Sci., v. 66, n. 2, p. 445-452, 1970.
18. KOSHLAND, D.E., DAFFORN, A., Theoretical aspects of orbital steering. Proc. Nat. Acad. Sci., v. 68, n. 10, p. 2463-2467, 1971.
19. BRUICE, T.C. BROWN, A., HARRIS, D.O., On the concept of orbital steering in catalytic reactions. Proc. Nat. Acad. Sci. V. 68, n. 3, p. 658-661, 1971.
20. MENGER, F.M. and GLASS, L.E., Contribution of orbital alignment to organic and enzymatic reactivity. J. Am. Chem. Soc., v. 102, p. 5404-5407, 1980.
21. MILSTIEN, S., COHEN, L.A., Rate acceleration by stereopopulation control:

- models for enzymic action. Proc. Nat. Acad. Sci., v. 67, n. 3, p. 1143-1147, 1970.
22. KARLE, J.M., KARLE, L.L., Correlation of rate acceleration with rotational restriction. Crystal-structure analysis of compounds with a trialkyl lock. J. Am. Chem. Soc. v. 94, p. 9182-9189, 1972.
23. MENGER, F.M., VENKANATARAM, U.V., On the source of intramolecular and enzymatic reactivity. J. Am. Chem. Soc. v. 107, n. 16, p. 4706-07 1985.
24. MENGER, F.M., Acc. Chem. Res., v. 18, p. 128-134, 1985
25. a) BENESI, A.J., Theory of elementary bimolecular reactions in liquid solutions. 1. Time spacing of recollisions between nonreactive molecules in liquid solutions. J. Phys. Chem. v. 86, p. 4926-4930 1982. b) *ibid*, Theory of elementary bimolecular reactions in liquid solutions. 2. Predictions of bimolecular reaction rates from fundamental molecular parameters, v. 88, p. 4729-4735, 1984.
26. FIRESTONE, R.A., CHRISTENSEN, B.G., Vibrational activation I. A source for the catalytic power of enzymes. Tetrahedron Letters n° 5, p. 389-392, 1973.
27. MENGER, F.M., LADIKA, M., Fast hydrolysis of an aliphatic amide at neutral pH and ambient temperature. A peptidase model. J. Am. Chem. Soc., v. 110, p. 6794-6796, 1988.
28. PAQUETTE, L., KESSELMAYER, M. A., ROGERS, R. D., Quantitation of proximity effects on rate. A case study involving dyotropic hydrogen migration within syn-sesquinorbornene disulfones carrying central substituents having different spatial demands. J. Am. Chem. Soc. v. 112, p. 284-291, 1990.
29. PAQUETTE, L., O'DOHERTY, G. A., ROGERS, R. D., Intramolecular

- reaction rate is not determined exclusively by the distance separating reaction centers. The kinetic consequences of modulated ground state strain on dyotropic hydrogen migration in systems of very similar geometric disposition. J. Am. Chem. Soc. v. 113, p. 7761-7762, 1991.
30. CURRAN, T. P., BORYSENKO, C. W., ABELLEIRA, S. M., MESSIER, R. J., J. Org. Chem., v. 59, p. 3522, 1994.
31. BENNET, A. J., WANG, Q.-P., SLEBOCKA-TILK, H., SOMAYAJI, V., BROWN, R. S., Relationship between amidic distortion and ease of hydrolysis in base. If amidic resonance does not exist, then what accounts for the accelerated hydrolysis of distorted amides? J. Am. Chem. Soc. v. 112, p. 6383-6385, 1990.
32. BRUICE, T. C., BENKOVIC, S. J., Bio-organic Mechanism, New York, N.Y., 1996.
33. MORAWETZ, H., ORESKES, I., Intramolecular bifunctional catalysis of ester hydrolysis. J. Am. Chem. Soc., v. 80, p. 2591-2592, 1958.
34. FERSHT, A. R., KIRBY, A. J., Series nucleophilic catalysis in the hydrolysis of 3-acetoxypthalate. Intramolecular catalysis of ester hydrolysis by the carboxyl group once removed. J. Am. Chem. Soc., v. 90, p. 5833-5838, 1968.
35. KILLIAN F. L. and BENDER, M. L., Tetrahedron Lett., p. 1255, 1969.
36. MAUGH II, T., BRUICE, T. C., The role of intramolecular bifunctional catalysis of ester hydrolysis in water. J. Am. Chem. Soc., v. 93, n. 13, p. 3237-3248, 1971.
37. HIGUSHI, T., TAKECHI, H., PITMAN, I. H., FUNG, H. L., Intramolecular bifunctional facilitation in complex molecules. Combined nucleophilic and general acid participation in hydrolysis of hexachlorophene monosuccinate. J. Am. Chem. Soc., v. 93, n. 2, p. 539-540, 1971.

38. Handbook of Chemistry and Physics, 64th edition, CRC PRESS, 1983.
39. Langes's Handbook of Chemistry, 13th edition, McGraw-Hill, 7-501, 1996.
40. WIBERG, K.B., Physical Organic Chemistry, John Wiley & Sons, Inc., New York, Pag. 297, 1963.
41. FIESER, L.F., PETERS, M.A., Condensations and ring closures in the naphthalene series. III. Peri-succinoylacenaphthene. J. Am. Chem. Soc. v. 54, p. 4347-4356, 1932.
42. DOZEN, Y., Syntheses of all isomers of naphthlenetricarboxylic acids. Bulletin of The Chem. Soc. of Japan, v. 45, p. 519-525, 1972.
43. HALLWASS, F., RMN de Naftalenos 1,4 e 1,4,8-Substituídos: Estudo da Interdependência do deslocamento químico e da constante de acoplamento com as propriedades do substituinte, 1996. 80 p. Dissertação ( Mestrado em Química) – Departamento de Química, UFSC, 1996
44. YUNES, S.F., Assistência anquimérica pelo grupo carboxílico na hidrólise de monoalquil ésteres do ácido 1,8-naftálico. Estudo do mecanismo de reação por métodos experimentais e métodos teóricos com cálculos semi-empíricos., 1997. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, UFSC, 1997.
45. BARROS, T. C., Formação e Decomposição de Naftalimidias em solução aquosa: Dependência Estrutural e Efeito de Micelas, 1991. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Bioquímica, IQ-USP, 1991.
46. HAWKINS, M. D., Hydrolysis of phthalic and 3,6-dimethylphthalic anhydrides. J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, p. 282-284, 1975
47. EBERSON, L., WELINDER, H., Studies on cyclic anhydrides. III. Equilibrium constants for the acid-anhydride in aqueous solutions of certain vicinal diacids. J. Am. Chem. Soc., v. 93, n. 22, p. 5821-5826,

- 1971.
48. GESSER, J.C., Reação de Hidrólise Intramolecular de Ácidos N,N-Dialquilnaftalâmicos: Um Modelo Não Mimético de Catálise Enzimática, 1997. 97 p. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, UFSC, 1997.
49. PAGE, M. I. and JENCKS, W., Proc. Nat. Acad. Sci. USA., v. 68, p. 1678, 1971
50. JENCKS, W. P., Catalysis in Chemistry and Enzimology, Dover Publications, Inc., New York, p.615, 1987.
51. BENDER, M. L., CLEMENT, G. E., KÉZDY, F. J., HECK, H. d'A., The correlation of the pH(pD) dependence and the stepwise mechanism of  $\alpha$ -chymotrypsin-catalyzed reactions. J. Am. Chem. Soc., v. 86, p. 3680-3690, 1964.
52. Y. CLEMENT, G. E., Progr. Bioorg. Chem., v. 2, p. 177, 1973.