

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

*Reações Intramoleculares de Amidas e Ésteres Derivados
da Oxima do Ácido 9-Fluorenona-1-Carboxílico.
Síntese dos Compostos Modelo e Estudos Mecanísticos*

JOSIEL BARBOSA DOMINGOS

Orientador: Prof. Faruk José Nome Aguilera

FLORIANÓPOLIS

1999

JOSIEL BARBOSA DOMINGOS

***Reações Intramoleculares de Amidas e
Ésteres Derivados da Oxima do
Ácido 9-Fluorenona-1-Carboxílico.
Síntese dos Compostos Modelo e
Estudos Mecanísticos.***

Dissertação apresentada como requisito à
obtenção do grau de Mestre em Química.
Curso de Pós-Graduação em Química,
Departamento de Química, Centro de
Ciências Físicas e Matemáticas,
Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Faruk José Nome Aguilera.

FLORIANÓPOLIS

1999

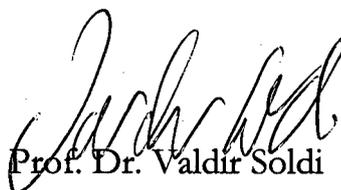
JOSIEL BARBOSA DOMINGOS

**Reações Intramoleculares de Amidas e Ésteres Derivados
da Oxima do Ácido 9-Fluorenona-1-Carboxílico.
Síntese dos Compostos Modelo e Estudos Mecanísticos**

Dissertação aprovada como requisito à obtenção do grau de Mestre em Química
no Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa
Catarina, pela Comissão formada pelos professores:

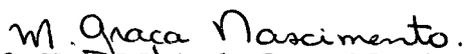


Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera
Orientador



Prof. Dr. Valdir Soldi
Coordenador

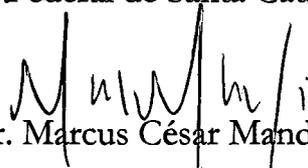
Banca Examinadora:



Profa. Dra. Maria da Graça Nascimento
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Prof. Dr. José Carlos Gesser
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Prof. Dr. Marcus César Mandolesi Sá
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Florianópolis, 22 de abril de 1999

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Faruk Nome pela paciência e brilhante orientação.

Ao Professor José Carlos Gesser pela simplicidade e companheirismo no desenvolvimento desta dissertação.

À minha família pelo apoio incondicional, como em toda minha vida acadêmica, para mim indispensável.

Aos colegas dos laboratórios QMC 303 e 305.

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

Aos demais Professores e funcionários do Departamento de Química que contribuíram para minha formação.

ÍNDICE GERAL

CAPÍTULO I

1 - Introdução	1
1.1 - Enzimas Como Catalisadores Biológicos	1
1.2 - Reações Modelos Para Catálise Enzimática	4
1.2.1 - Reações Intramoleculares	5
1.2.2 - Controle Estereopopulacional	7
1.2.3 - Direcionamento de Orbitais	12
1.2.4 - Efeitos Entrópicos	17
1.2.5 - Teoria Espaço-Temporal	18
1.3 - Objetivos	24

CAPÍTULO II

2 - Parte Experimental	25
2.1 - Reagentes	25
2.2 - Instrumentação	26
2.3 - Síntese	27
2.3.1 - Síntese de 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (I _a) e 9-fluorenona-1- fenilamida (I _b)	27
2.3.2 - Síntese de 9-fluorenona-1-propil éster (II)	28
2.3.3 - Síntese de 9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (III _a) e 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (III _b)	29
2.3.4 - Síntese de 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster (IV)	30
2.3.5 - Síntese do ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico (V)	31

2.3.6 - Síntese de cetoortoxazina (VI)	32
2.4 - Estudos Cinéticos	33

CAPÍTULO III

3 - Resultados e Discussão	34
3.1 – Dados Espectroscópicos dos Compostos Sintetizados	35
3.1.1 - 9-Fluorenona-1-N,N-dipropilamida (I _a) e 9-fluorenona-1-fenilamida (I _b)	35
3.1.2 - 9-Fluorenona-1-propil éster (II)	42
3.1.3 - (Z)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (III _{az}), (E)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (III _{ae}) e 9-hidroxiiminofluorenona-1-fenilamida (III _b)	45
3.1.4 - 9-Oximino fluoreno-1-propil éster (IV)	56
3.1.5 - Ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico (V)	59
3.1.6 - Cetoortoxazina (VI)	62
3.2 - Estudos Cinéticos	64
3.2.1 -Hidrólise intramolecular da 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster	64
3.2.2 - Hidrólise intramolecular da 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida	65
3.2.3 - Hidrólise intramolecular da 9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida	68
3.2 - Considerações Finais	72

CAPÍTULO IV

4 - Conclusão	76
----------------------	-----------

CAPÍTULO V

5 - Referências Bibliográficas	77
---------------------------------------	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 01** - Simulação da estrutura do sítio ativo da enzima serina protease, que utiliza um resíduo serina para catálise nucleofílica. _____ 3
- Figura 02** - Orientação dos átomos de oxigênio e enxofre nas reações de ciclização __ 14
- Figura 03** - Representação de um grupo de simetria esférica, somente uma pequena porção reativa de sua superfície (área sombreada). A magnitude de 2α é um indicador de quão crítica é a orientação do grupo. _____ 16
- Figura 04** - Espectros de UV-Visível para a 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**A**), e 9-fluorenona-1-fenilamida (**B**), 10^{-3} M, em H_2O , $25^\circ C$. _____ 35
- Figura 05** - Espectro de infravermelho da 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida, em pastilha de KBr. _____ 36
- Figura 06** - Espectro de infravermelho da 9-fluorenona-1-fenilamida, em pastilha de KBr _____ 36
- Figura 07** - Espectro de RMN - 1H para a 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**), em $CDCl_3$. _____ 39
- Figura 08** - Espectro de RMN - 1H para a 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**), em $DMSO-d_6$. _____ 40
- Figura 09** - Espectro de RMN - ^{13}C para a 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**), em $CDCl_3$. 41
- Figura 10** - Espectro de UV-Visível para o éster 9-fluorenona-1-propil éster, 10^{-3} M, em H_2O , $25^\circ C$ _____ 42
- Figura 11** - Espectro de infravermelho da 9-fluorenona-1-propil éster, em pastilha de KBr. _____ 43
- Figura 12** - Espectro de RMN - 1H para 9-fluorenona-1-propiléster (**II_a**), em $CDCl_3$. __ 44
- Figura 13** - Espectros de UV-Visível de (Z)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N, N-dipropilamida (**A**), (E)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (**B**) e 9-hidroxiimino fluoreno-1-fenilamida (**C**), 10^{-3} M, em H_2O , $25^\circ C$. _____ 45

Figura 14 - Espectro de infravermelho da (Z)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida, em pastilha de KBr. _____	46
Figura 15 - Espectro de infravermelho da (E)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida, em pastilha de KBr. _____	47
Figura 16 - Espectro de infravermelho da 9-hidroxiimino fluoreno-1-fenilamida, em pastilha de KBr. _____	47
Figura 17 - Espectro de RMN - ¹ H para (Z)-9-oximino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (III _{az}), em CDCl ₃ . _____	50
Figura 18 - Espectro de RMN - ¹ H para (Z)-9-oximino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (III _{az}), em DMSO-d ₆ . _____	51
Figura 19 - Espectro de RMN - ¹ H para (E)-9-oximino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (III _{ae}), CDCl ₃ . _____	52
Figura 20 - Espectro de RMN - ¹ H para a (E)-9-oximino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (III _{ae}), em DMSO-d ₆ . _____	53
Figura 21 - Espectro de RMN - ¹ H para 9-oximino fluoreno-1-fenilamida (III _b), em CDCl ₃ . _____	54
Figura 22 - Espectro de RMN - ¹³ C para 9-oximino fluoreno-1-fenilamida (III _b), em DMSO-d ₆ . _____	55
Figura 23 - Espectro de UV-Visível para a 9-hidroxiimino fluoreno-1-propil éster, 10 ⁻³ M, em H ₂ O, 25° C. _____	56
Figura 24 - Espectro de infravermelho da 9-hidroxiimino fluoreno-1-propil éster, em pastilha de KBr. _____	57
Figura 25 - Espectro de RMN - ¹ H para 9-oximino fluoreno-1-propil éster (IV), em CDCl ₃ . _____	58
Figura 26 - Espectro de UV-Visível para o ácido 9-hidroxiimino fluoreno-1-carboxílico, 10 ⁻³ M, em H ₂ O, 25° C. _____	59
Figura 27 - Espectro de infravermelho do ácido 9-hidroxiimino fluoreno-1-carboxílico, em pastilha de KBr. _____	60
Figura 28 - Espectro de RMN - ¹ H para o ácido 9-oximino fluoreno-1-carboxílico (V), em DMSO-d ₆ . _____	61

Figura 29 - Espectro de UV-Visível para a cetoortoxazina, 10^{-3} M, em H_2O , $25^\circ C$. ____	62
Figura 30 - Espectro de RMN - 1H para cetoortoxazina (VI), em $DMSO-d_6$. _____	63
Figura 31 - Variação espectral na hidrólise da 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster, $pH = 0$ a $35^\circ C$, num tempo total de 1000s. A variação de absorbância (260 nm) em função do tempo está inserida. _____	64
Figura 32 - Variação espectral na hidrólise da 9-oximinofluoreno-1-fenilamida, HCl 10^{-3} M a $35^\circ C$, num tempo total de 2000s. A variação de absorbância (220, 240, 260, 280, 300, 320 nm) em função do tempo está inserida. _____	66
Figura 33 - Variação espectral na hidrólise da 9-fluorenona-1-fenilamida, HCl 10^{-3} M a $35^\circ C$, num tempo total de 300s. A variação de absorbância (260 nm) em função do tempo está inserida. _____	67
Figura 34 - Variação espectral na hidrólise da 9-oximinofluoreno-1-N,N-dipropilamida, $H_0 = -1,76$ a $35^\circ C$, num tempo total de 7100s. A variação de absorbância (236nm) em função do tempo está inserida. _____	68
Figura 35 - Variação espectral na hidrólise do ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico, HCl 1M a $35^\circ C$, num tempo total de 1500s. _____	69
Figura 36 - Variação espectral na hidrólise da 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (I_a), $H_0 = -1,76$ a $35^\circ C$, num tempo total de 43200s. _____	71
Figura 37 - Geometrias otimizadas pelo método AM1 para os compostos III_{az} e III_{ae} . Ao lado estão representadas as respectivas projeções frontais. _____	74
Figura 38 - Mecanismos de inversão e rotação em oximas. _____	75

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de molaridade efetiva para reações que procedem por catálise intra e intermolecular. _____	6
Tabela 2 - Efeito da substituição de hidrogênio por metila sobre a velocidade relativa de ciclização de I, II e III. _____	8
Tabela 3 - Efeito do componente orientacional sobre a velocidade de lactonização de ácidos γ -hidroxicarboxílicos. _____	12
Tabela 4 - Efeito da componente orientacional sobre a velocidade de tiolactonização de ácidos γ -sulfidrilcarboxílicos. _____	13
Tabela 5 - Cálculo das funções de partição e do fator estérico para reação de formação do formiato de etila. _____	15
Tabela 6 - Efeito da estrutura sobre a velocidade de lactonização de hidroxiácidos catalisada por ácido a 25 °C. _____	16
Tabela 7 - Dados de RMN - ^1H da 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (I_a) e 9-fluorenona-1-fenilamida (I_b) _____	37
Tabela 8 - Dados de RMN - ^1H da 9-fluorenona-1-propil éster (II). _____	43
Tabela 9 - Dados de RMN - ^1H da (Z)-9-hidroximino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (III_{az}), (E)-9-hidroximino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (III_{ae}) e da 9-hidroximino fluoreno-1-fenilamida (III_b). _____	48
Tabela 10 - Dados de RMN - ^1H da 9-hidroximino fluoreno-1-propil éster (IV). _____	57
Tabela 11 - Dados de RMN - ^1H do ácido 9-hidroximino fluoreno-1-carboxílico (V). _____	60
Tabela 12 - Dados de RMN - ^1H da cetoortoxazina (VI) _____	62

RESUMO

O estudo de reações intramoleculares é apresentado neste trabalho como reações modelo, não miméticos, para catálise enzimática. Foram sintetizados sete compostos inéditos: quatro compostos modelos, 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (**III_b**), (Z)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_{az}**), (E)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_{ae}**) e 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster (**IV**); e três análogos que reagem via mecanismo bimolecular, 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**), 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**) e 9-fluorenona-1-propil éster (**II**). Os compostos, ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico (**V**) e cetoortoxazina (**VI**), também foram preparados como possíveis intermediários e produtos, respectivamente, formados na hidrólise dos compostos modelo. Os perfis cinéticos para as reações de hidrólise destes compostos modelo são extremamente complexos. A participação na assistência anquimérica do grupo hidroxila na hidrólise intramolecular foi evidente para a hidrólise intramolecular da 9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida. O efeito catalítico observado foi da ordem de 10^3 vezes mais rápida que as reações análogas bimoleculares.

ABSTRACT

The study of intramolecular reactions is presented in this work as model nonmimetic reactions, for enzymatic catalysis. It was synthesized seven new different compounds: four models compounds, 9-hydroxyminofluoreno-1-fenylamide (**III_b**), (*Z*)-9-hydroxyminofluoreno-1-*N,N*-dipropylamide (**III_{az}**), (*E*)-9-hydroxyminofluoreno-1-*N,N*-dipropylamide (**III_{ae}**) and 9-hydroxyminofluoreno-1-propyl ester (**IV**), three analogous that react via bimolecular mechanism, 9-fluorenone-1-fenylamide (**I_b**), 9-fluorenone-1-*N,N*-dipropylamide (**I_a**) and 9-fluorenone-1-propyl ester (**II**). The compounds acid 9-hydroxyminofluoreno-1-carboxylic (**V**) and cetoorthoxazine (**VI**), were also prepared as possible intermediates and products, respectively, which were are formed in the hydrolyses of models compounds. The kinetic profiles obtained for hydrolysis reactions for these models compounds, are extremely complexes. The participation of hydroxyl group in the “neighbouring” assistance was evident in the 9-hydroxyminofluoreno-1-*N,N*-dipropylamide intramolecular hydrolysis. The observed catalytic effect was 10^3 times faster than analogous bimolecular reactions.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - ENZIMAS COMO CATALISADORES BIOLÓGICOS

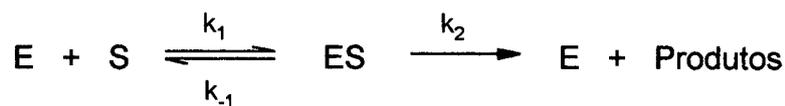
A enorme variedade das reações bioquímicas que compreende a vida são quase todas mediadas por uma série de extraordinários catalisadores biológicos conhecidos como *enzimas*.¹ A maioria das enzimas são proteínas, com exceção de certas moléculas[†] de RNA que também atuam como catalisadores. Embora as enzimas estejam sujeitas as mesmas leis da natureza que governam o comportamento de outras substâncias, elas diferem dos catalisadores químicos comuns em várias considerações importantes:

- * As velocidades de reações catalisadas enzimaticamente são tipicamente fatores na ordem de 10^6 a 10^{12} maiores, quando comparados com as correspondentes reações não catalisadas.
- * Reações catalisadas enzimaticamente ocorrem sob condições relativamente suaves: temperatura baixa, pressão atmosférica, e pH próximo a neutro. Em contraste, uma catálise química freqüentemente requer temperatura e pressão elevadas, como também pH's extremos.
- * Enzimas também mostram uma singular especificidade em relação aos substratos e produtos. Uma reação enzimática raramente produz subprodutos. Por exemplo, numa síntese enzimática de proteínas no ribossomos,

[†] A descoberta destas moléculas renderam a Sidney Altman (Yale University) e Thomas R. Cech (University of Colorado, Boulder) o Prêmio Nobel de Química em 1989.

polipeptídeos contendo mais de 1000 resíduos de aminoácidos são sintetizados livres de erros.

Sabe-se que a reação com a enzima se dá num setor característico dentro dela conhecido como "sítio ativo". Dentro deste sítio existe um centro de reconhecimento ao qual o substrato se liga por complexação não covalente com a enzima, formando assim o complexo enzima-substrato (ES) que posteriormente reage liberando os produtos, como mostrado no **Esquema 01**.



Esquema 01

Pode-se atribuir o alto poder catalítico das enzimas a três fatores que basicamente abrangem os demais. De uma forma simples são eles:

- a) **Aproximação dos grupos reagentes.** Através das interações não covalentes que a enzima estabelece com o substrato, ela consegue estabilizá-lo numa posição onde o centro catalítico ou sítio ativo se encontra na proximidade e orientação adequada para o ataque. A proximidade dos grupos também é responsável pela dessolvatação, aumentando desta forma a possibilidade do ataque.
- b) **Distorção.** Em muitas enzimas, a exemplo da lisozima, foi observado que quando o substrato se liga ao centro ativo, esta muda de conformação forçando assim a ligação do substrato a ser rompida, ou seja, a enzima leva o substrato a atingir uma conformação mais parecida com a do estado de transição, diminuindo assim a energia de ativação.
- c) **Efeito do meio.** Sendo a enzima uma macromolécula orgânica, o sítio ativo em muitos casos pode ser considerado como sendo um meio apolar. Assim, grupos reativos como a hidroxila sofrem um aumento enorme na sua nucleofilicidade (reatividade) ao perder sua camada de solvatação. Além

disto, polaridades adequadas fornecem uma grande força diretora para a reação.

Limitações técnicas e o grande número de variáveis impostas pela complexidade das enzimas forneceram, a partir de meados deste século, um impulso muito grande às pesquisas mecanísticas de reações modelos que tanto simulam a ligação no complexo enzima-substrato, como simulam as transformações químicas ocorridas no sítio ativo das enzimas (**Figura 01**). Tais modelos só puderam ser propostos e estudados a partir de informações sobre a natureza da composição do sítio ativo da enzima, obtidas com o advento de técnicas de cristalografia de raio-X.

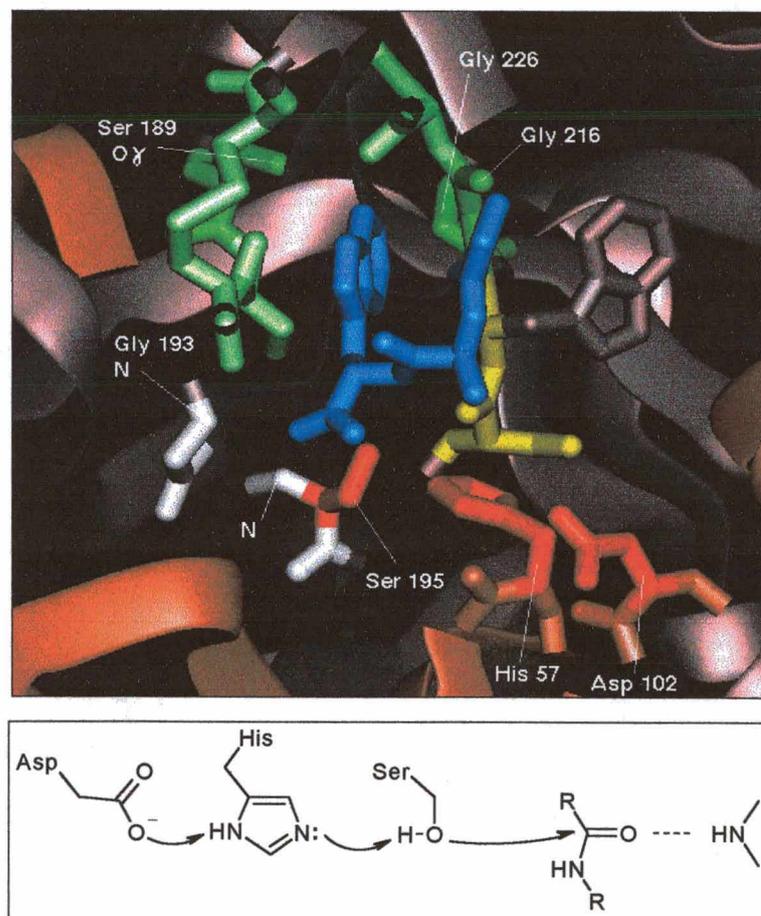


Figura 01 - Simulação da estrutura do sítio ativo de uma enzima serina protease, que utiliza os resíduos serina, ácido aspártico e histidina para catálise nucleofílica.

1.2 - REAÇÕES MODELOS PARA CATÁLISE ENZIMÁTICA

*“Um dos grandes desafios atuais das ciências naturais é um entendimento exato de como as enzimas trabalham. A um certo nível nós podemos ‘entender’ a catálise enzimática, como uma enzima se liga ao substrato e estabiliza seletivamente o estado de transição para uma reação em particular.² Mas nosso nível atual de entendimento falha no mais severo teste prático, projetar e elaborar sistemas enzimáticos artificiais com eficiência catalítica que simulem as enzimas naturais”.*³

Tais sistemas enzimáticos artificiais são conhecidos como modelos, e surgiram da necessidade de estimar quantitativamente os vários fatores responsáveis pelo aumento na velocidade observado em reações enzimáticas comparados com análogos bimoleculares. Assim, quanto mais semelhantes forem as características físico-químicas do modelo com as características da enzima em questão, mais informações este modelo proporciona.

Hoje existem vários modelos que tentam imitar as mais diversas características das enzimas. No presente trabalho, optou-se por dividir os modelos existentes em duas categorias: aqueles que tentam imitar e modelar o sítio ativo como um todo (modelos miméticos) ou modelos nos quais uma característica específica da ação enzimática é imitada (modelos não miméticos).⁴

Os modelos não miméticos podem ser subdivididos em duas categorias:

- i) aqueles que analisam a interação entre o substrato e a enzima no complexo enzima-substrato, dando origem aos estudos dos compostos de inclusão formados essencialmente por ciclodextrinas e éteres coroa.
- ii) os direcionados para os princípios físico-químicos que governam as reações no sítio ativo das enzimas, abordados mais freqüentemente por reações intramoleculares.

1.2.1 - Reações Intramoleculares

Reações intramoleculares são reações modelos simples em que os grupos reacionais estão vinculados na mesma estrutura molecular. A premissa básica é que os princípios sob os quais fundamentam-se tais modelos, estabelecem que os mesmos parâmetros físico-químicos que governam a reatividade entre dois grupamentos funcionais em uma reação intramolecular, estão também presentes para os mesmos grupamentos que constituem o sítio ativo da enzima.

As reações intramoleculares, como as ciclizações, especificamente as reações intramoleculares nucleofílicas são as únicas reações simples que podem competir com a catálise enzimática com velocidade equivalente. Partindo deste tipo de reações pode-se obter sistemas em que grupos estáveis de natureza biológica (amidas, glicosídeos, e ésteres que tipicamente possuem tempo de meia vida longos sob condições fisiológicas) são extraordinariamente clivados em segundos ou menos.

A eficiência da catálise intramolecular é convenientemente expressada em termos de Molaridade Efetiva (ME) do grupo catalítico.⁵ A ME é a razão da constante de velocidade de primeira-ordem para a reação intramolecular e a constante de velocidade de segunda-ordem para a reação intermolecular que procede pelo mesmo mecanismo sob as mesmas condições, e está representada na **Equação 01**.

$$ME = \frac{k_{intramolecular} (s^{-1})}{k_{intermolecular} (M^{-1}s^{-1})} \quad \text{(Equação 01)}$$

A ME tem a dimensão de molaridade e é facilmente entendida como a concentração do grupo catalítico que será requerido em um processo intermolecular equivalente para se igualar a velocidade da reação

intramolecular. A ME pode dizer quanta eficiência catalítica está relacionada com uma determinada estrutura em sistemas projetados para manter juntos grupos funcionais intimamente próximos, de forma semelhante como os mesmos grupos funcionais são mantidos juntos num complexo enzima-substrato.

Kirby⁵ tem se preocupado em sumariar os dados existentes sobre ME para uma série de reações intramoleculares. Dentro deste amplo levantamento de dados pode-se ver a importância deste cálculo simples. Distinguir uma reação que procede por catálise nucleofílica intramolecular ou por catálise básica geral em solução sempre foi uma tarefa complicada de ser realizada, pois ambos casos apresentam a mesma lei cinética. Um método bastante fácil para saber qual mecanismo está ocorrendo numa reação intramolecular deste tipo, é por comparação de suas molaridades efetivas, **Tabela 1**.

Tabela 1 - Valores de molaridade efetiva para reações que procedem por catálise intra e intermolecular.

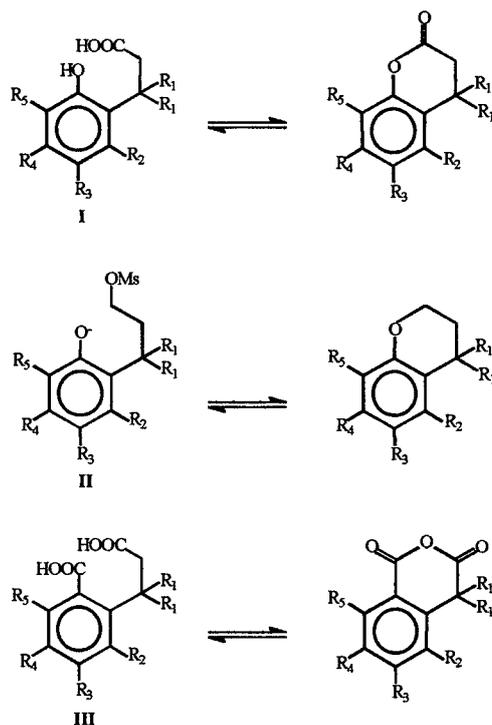
Molaridade Efetiva	
Catálise Nucleofílica Intramolecular	Catálise Básica-Geral
De 10^2 a 10^{16}	menor de 80

Há muita discussão sobre as origens do aumento de velocidade nestes sistemas. Com o estudo principalmente de reações intramoleculares de lactonização, hidrólise de ésteres e amidas, como modelos para catálise enzimática, surgiram teorias como: Controle Estereopopulacional, Direcionamento de Orbitais, e a Teoria Espaço-Temporal. Estas teorias, abordadas nas próximas seções, reivindicam para si a primazia dos efeitos de aumento de velocidade observados em sistemas intramoleculares quando comparados às reações intermoleculares similares.

1.2.2 - Controle Estereopopulacional

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

A quantificação do fator de aumento de velocidade devido à restrição conformacional foi apresentada por Milstien e Cohen, estudando como reação modelo a lactonização de derivados do ácido o-hidroxicinâmico, **I**⁶; a ciclização de mesilatos de 3-(o-hidróxifenil)-1-propila, **II**⁷, e a formação de anidridos derivados do ácido homoftálico, **III**⁸, **Esquema 02**.



Esquema 02

Tabela 2 - Efeito da substituição de hidrogênio por metila sobre a velocidade relativa de ciclização de I, II e III.

R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	I	I ^a	II	II ^b	III	III ^a
H	H	H	H	H	1	1	1	1	1	1
H	H	H	H	CH ₃	---	---	---	---	10	---
H	H	H	CH ₃	CH ₃	---	---	3,5	---	---	---
H	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	6,8	---	7	---	---	---
H	CH ₃	H	H	H	---	1 ^d	---	1,6 ^d	52	1
H	CH ₃	H	H	CH ₃	---	---	---	---	50	---
CH ₃	H	H	H	H	4.440	4.440	3.100	3.100	82.000	82.000
CH ₃	H	H	H	CH ₃	16.700	---	---	---	---	---
CH ₃	H	H	CH ₃	CH ₃	---	---	10.464	---	---	---
CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	H	8x10 ¹⁰	---	---	---	---	---
CH ₃	CH ₃	H	H	CH ₃	3x10 ¹¹	---	---	---	---	---
CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	3x10 ¹¹	---	9x10 ⁴	---	---	---
CH ₃	---	---	---	---	8x10 ⁵	---				
CH ₃	CH ₃	H	H	H	---	5x10 ^{10d}	---	2x10 ^{5d}	---	16000 ^d

a valores corrigidos para efeitos estéricos e eletrônicos, conforme referência 5; *b* valores corrigidos para efeitos estéricos e eletrônicos, conforme referência 6; *c* valores corrigidos para efeitos estéricos e eletrônicos, conforme referência 3; *d* valores obtidos por extrapolação

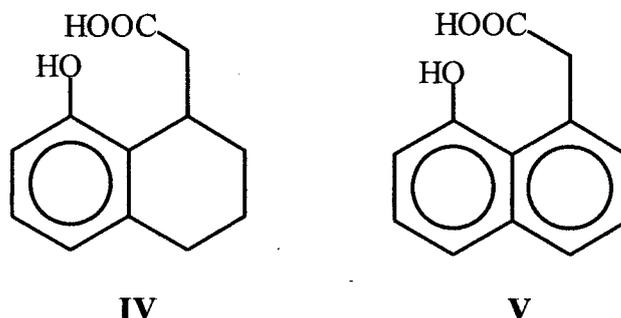
A **Tabela 2** mostra que ocorre um grande aumento de velocidade da reação quando R₁ e R₂ são grupamentos metilas. A velocidade relativa de 10¹¹ tem merecido maior atenção por parte dos autores; pois um aumento na velocidade desta magnitude aproxima-se do poder catalítico das enzimas. Milstien e Cohen atribuíram este fator de aumento de velocidade a um “bloqueio” causado pelos grupamentos metílicos que permite um congelamento conformacional da cadeia lateral no rotâmero mais produtivo para a reação. Este fenômeno caracterizado pelo aumento considerável da população do confôrmero mais reativo foi designado de “Controle

Estereopopulacional”. Contudo, ao se comparar as três reações listadas na **Tabela 2**, observa-se que a substituição nucleofílica intramolecular (**II**) e a reação do anidrido cíclico (**III**) mostram um aumento na velocidade na ordem de 10^5 e 10^4 , respectivamente, quando conformacionalmente restritos pelos grupos metílicos em R_1 e R_2 . Se estes valores representam fatores típicos de aumento de velocidade para o efeito de restrição conformacional, então a reação de **I** estaria recebendo contribuições de variáveis não identificadas até aquele momento, sendo que uma razão possível para esta diferença pode advir dos fatores orientacionais. Segundo Koshland⁹, uma orientação ótima levaria a um aumento de velocidade de 10^4 , e isto acoplado com um fator de 10^5 para o congelamento conformacional ofereceria um fator líquido de 10^9 , próximo ao valor observado. Neste contexto, uma possibilidade é de que uma orientação ótima para a reação foi alcançada para a lactonização mas não para a reação de substituição nucleofílica ou a de formação do anidrido. Outra possibilidade, é que os fatores orientacionais são menos importantes e que o fator de aumento de velocidade pelo controle estereopopulacional é muito maior que 10^5 . Isto implicaria em que barreiras reacionais teriam sido introduzidas nas reações de substituição nucleofílica e na formação do anidrido, as quais diminuem o aumento global de velocidade. Essas barreiras podem surgir de fatores estéricos ou orientacionais.

Karle e Karle¹⁰ mostraram, a partir de dados de cristalografia de raio-X da lactona e do álcool primário derivados a partir da redução do composto **I**, quando $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = \text{CH}_3$, que os ângulos de ligação entre os átomos do anel benzênico sofreram desvios do valor padrão de 120° , para poder acomodar os grupos metilas nas posições R_1 e R_2 . Bruice concluiu a partir desses dados, que o alívio da tensão angular no estado fundamental é a força diretora da reação.¹¹

Danforth e Nicholson¹², estudaram as velocidades de lactonização dos compostos **IV** e **V**, para os quais não existe dúvida da restrição

conformacional. As velocidades relativas de ciclização são 150 e 21.000 respectivamente.

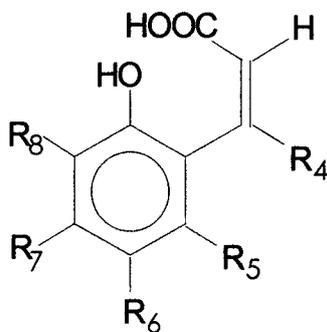


Conclui-se que o valor máximo para o aumento de velocidade resultante do congelamento conformacional é da ordem de 10^3 a 10^4 , e que algum outro fator deve ser responsável pela aceleração adicional observada para **I** com $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = \text{CH}_3$. Os autores sugerem que este aumento adicional de velocidade surge de fatores estéricos, o que foi provado a partir da observação de um efeito isotópico secundário de deutério de 1,09 para **I** com $R_1 = R_2 = R_4 = \text{CH}_3$ versus **I** com $R_1 = \text{CD}_3$ e $R_2 = R_4 = \text{CH}_3$. Este efeito isotópico secundário de deutério foi atribuído ao alívio estérico das interações do estado fundamental e é um dos maiores observados.¹³ Este resultado indica claramente a existência do alívio da compressão, como força diretora nas reações de lactonização. Porém, ainda não é claro como esse alívio da tensão estérica contribui para o aumento da velocidade.

Por outro lado, a análise dos dados da **Tabela 2**, no que concerne a formação do anidrido **III**, revela um aumento de velocidade de apenas 10 vezes quando **III** com $R_1 - R_5 = \text{CH}_3$ é comparado com **III** no qual $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 - R_5 = \text{H}$. O mesmo tipo de substituição nos compostos **I** e **II** produz um aumento de velocidade de 10^7 e 10^2 , respectivamente. Hillery e Cohen⁸ concluem, portanto, que o alívio da tensão não é o fator determinante da velocidade.

Um estudo detalhado da lactonização do ácido cumarínico VI feito por Hershfield e Schmir¹⁴ oferece informações adicionais sobre esta questão. A constante de velocidade para a lactonização catalisada por ácido com $R_1-R_5=H$ é idêntica ao processo similar em I com $R_1=CH_3$. Na lactonização de vários derivados metílicos de VI há somente uma pequena variação na velocidade (menor do que uma ordem de magnitude em qualquer direção), exceto para VI com $R_1=R_2=R_4=CH_3$, que mostra uma diminuição de 10^3 .

Uma interpretação para estes resultados sugere que a cadeia lateral do grupo carboxílico em VI com $R_1-R_5=H$ tem sua rotação restrita devido a dois fatores: sobreposição dos elétrons π da dupla ligação com o anel aromático e ligação de hidrogênio intramolecular do grupo carboxílico com o OH fenólico. Assim, uma aceleração máxima de velocidade devido à restrição conformacional já teria sido atingida no composto não substituído. Este aumento de velocidade é 10^4 quando comparado a I com $R_1-R_5=H$. A introdução de grupos metílicos em R_1 e R_2 distorce a coplanaridade entre a dupla ligação e o anel benzênico por um efeito de empacotamento. Esta quebra de coplanaridade produz um arranjo menos favorável dos grupos reacionais e cria uma barreira estérica para a lactonização, com uma conseqüente redução na velocidade.



VI

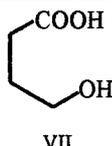
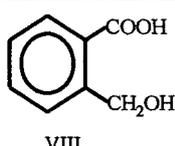
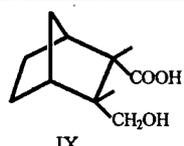
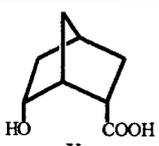
Resumindo, reações intramoleculares em sistemas modelos, nos quais os grupos reacionais estão conformacionalmente restritos, mostram grandes aumentos de velocidades. Nas reações discutidas, o fator de aumento de velocidade para restrição conformacional parece estar na faixa de 10^3 a 10^5 . A lactonização de I é a única reação com fator de aumento de velocidade maior, 10^{11} . A enorme aceleração de velocidade nesta reação provavelmente surge de fatores adicionais dos quais um, sem dúvida, é o alívio da tensão estérica.

1.2.3 - Direcionamento de Orbitais

Testando a sensibilidade de reações químicas à orientação dos átomos que participam do sítio reacional, Koshland estudou a velocidade de esterificação e lactonização de γ -hidroxiácidos.¹⁵

Quando comparadas à velocidade de esterificação entre o ácido acético e etanol, as reações de ciclização intramolecular ocorrem 10^6 vezes mais rapidamente que a reação intermolecular. Mesmo depois que correções para o efeito de proximidade, tensão e efeitos conformacionais são feitas, um fator de aumento de velocidade de 10^4 , ainda é observado, **Tabela 3**.

Tabela 3 - Efeito do componente orientacional sobre a velocidade de lactonização de ácidos γ -hidroxicarboxílicos.

Composto	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ + CH_3COOH	 VII	 VIII	 IX	 X
$V_{\text{rel.}}$	1	79	305	6630	1.027.000
$V_{\text{rel. corrig}}^a$	1	413	17	1660	18.700

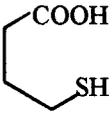
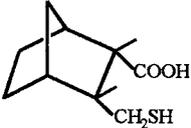
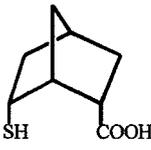
^a velocidades relativas corrigidas, conforme referência 13

Conforme a abordagem de Koshland, durante a formação dessas estruturas cíclicas, o ataque do oxigênio hidroxílico sobre o carbono carbonílico tem uma orientação limitada se comparada às orientações das colisões que ocorrem ao acaso em processos bimoleculares. Este fator orientacional, representado por $1/\theta$, *fornece uma estimativa do aumento de velocidade observada em reações enzimáticas devido à otimização da orientação dos orbitais dos átomos reacionais em questão. θ é o ângulo definido pela fração da superfície sólida, de um átomo de simetria esférica, sujeita à reação ao longo de um caminho selecionado, que corresponde a coordenada de reação.*

Um fator de aceleração da ordem de 10^4 está longe de conferir às reações intramoleculares análogas a mesma velocidade das reações enzimáticas. Porém, a combinação de vários grupos catalíticos presentes numa única estrutura carbônica, a exemplo do que ocorre num complexo enzima-substrato, pode revelar fatores tão grandes quanto 10^{12} , justificando a origem do alto poder catalítico das enzimas.

Em um experimento adicional de comprovação de sua teoria, Koshland testa o efeito da substituição de um átomo de oxigênio por um de enxofre sobre a componente angular das reações de lactonização anteriormente apresentadas, **Tabela 4**.

Tabela 4 - Efeito da componente orientacional sobre a velocidade de tiolactonização de ácidos γ -sulfidrilcarboxílicos.

Composto			
	XI	XII	XIII
$V_{rel.}$	384	90	821.000
$V_{rel. \text{ corrig.}}^a$	2020	5	15.000

^a velocidades relativas corrigidas, conforme referência 16

Como resultado, a variação de velocidade para os compostos tioanálogos, especialmente a grande diferença de velocidade entre IX e XII, é interpretada como um desvio desfavorável nos ângulos de aproximação entre os orbitais atômicos dos grupos reacionais, tornando a estrutura do tiol, (B), menos produtiva orientacionalmente, **Figura 02**.

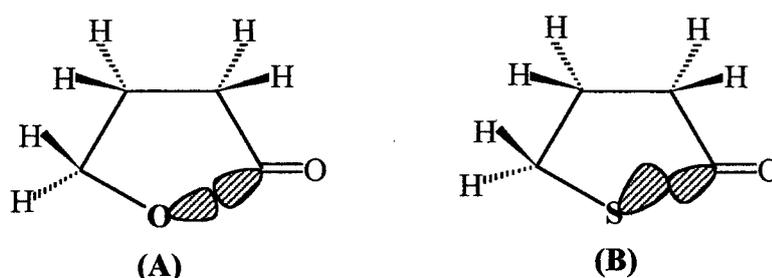


Figura 02 - Orientação dos átomos de oxigênio e enxofre nas reações de ciclização intramolecular.

Nesta etapa, a teoria de Direcionamento de Orbitais está delineada, porém não totalmente aceita; então Koshland, fazendo uso da teoria do estado de transição, procura consolidar suas hipóteses através de cálculos das funções de partições vibracionais ($q_{AB(Vib)}$ e $q_{AB(Vib)}^*$), rotacionais ($q_{AB(Rot)}$ e $q_{AB(Rot)}^*$) e rotacionais internas ($q_{AB(Rot.Int)}$ e $q_{AB(Rot.Int)}^*$) que são necessárias à avaliação do fator estérico p , presente na lei de velocidade derivada da teoria das velocidades absolutas: $k = p.z.e^{-E_0/RT}$ ⁽¹⁷⁾. O fator p é associado ao fator θ e é avaliado de acordo com a metodologia de análise de Benson¹⁸.

$$p = \frac{q_{AB(Rot)}^*}{q_{AB(Rot)} \cdot q_{A(Rot)} \cdot q_{B(Rot)}} \cdot \frac{q_{AB(Vib)}^*}{q_{A(Vib)} \cdot q_{B(Vib)}} \cdot \frac{q_{AB(Rot.Int)}^*}{q_{A(Rot.Int)} \cdot q_{B(Rot.Int)}} \quad \text{(Equação 02)}$$

A partir da **Equação 02** obtém-se valores de 10^{-3} - 10^{-5} para a reação de formação do formiato de metila, **Tabela 5**.

Tabela 5 - Cálculo das funções de partição e do fator estérico para reação de formação do formiato de metila.

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

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

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

Uma das primeiras refutações às idéias de Koshland surgiu em 1971, com Thomas C. Bruice¹⁹, num trabalho de cunho teórico onde é demonstrado que, para átomos ou grupo de átomos de simetria esférica, uma razão de velocidade $k_{intra}/k_{inter} = 10^6$ requer uma orientação crítica de $0,1^\circ$ entre os grupos participantes da reação, **Figura 03**. Conclui-se, que qualquer desvio na orientação dos orbitais desta ordem de magnitude deverá reduzir drasticamente a velocidade da reação. Além disso, a amplitude das vibrações angulares numa molécula a temperatura ambiente oscila entre 5° e 10° e, obviamente, tende a aumentar com o aumento da temperatura. Este fato, aplicado a teoria de Koshland, requer que a velocidade de uma reação química diminua com o aumento da temperatura.

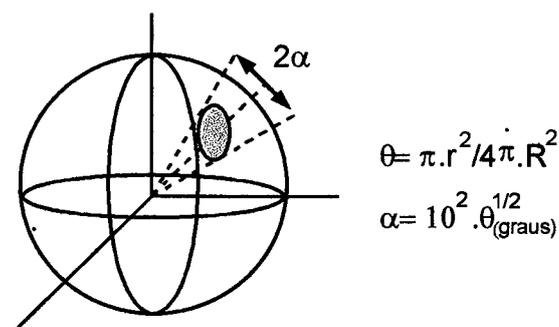


Figura 03 - Representação de um grupo de simetria esférica, somente uma pequena porção de sua superfície (área sombreada) é reativa. A magnitude de 2α é um indicador de quão crítica é a orientação do grupo.

Críticas de cunho experimental à natureza orientacional das reações enzimáticas e intramoleculares, são feitas examinando-se a reatividade entre grupos funcionais ancorados numa estrutura carbônica rígida com ângulos e distâncias bem definidos²⁰, **Tabela 6**.

Tabela 6 - Efeito da estrutura sobre a velocidade de lactonização de hidroxiácidos catalisada por ácido a 25 °C.

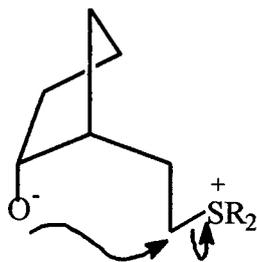
Composto				
V_{rel}	1	1,2	36	22
ângulo $O_1C_2C_3$	70	80	76	85
v_H^+	0,0083	0,01	0,30	0,18

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

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

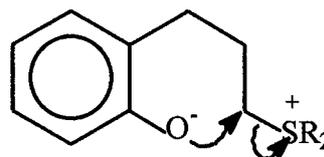
1.2.4 – Efeitos Entrópicos

Page e Jencks sustentam que uma reação intramolecular é mais rápida que uma reação intermolecular, porque a primeira é favorecida entropicamente. Cálculos teóricos sobre a dimerização Diels-Alder do ciclopentadieno em fase gasosa²¹ demonstram que uma reação intramolecular pode ser 10^8 vezes mais rápida que uma reação intermolecular e que o congelamento de um grau de liberdade rotacional de uma ligação química gera um aumento de 5 vezes na velocidade da reação. Não havendo nada de extraordinário na extrema reatividade destes processos de ciclização, valores elevados de ME seriam esperados e sua relevância para a catálise enzimática deveria ser mínima. Contudo, valores de ME menores que a unidade são descritos na literatura²² e os teoremas entrópicos falham ao explicá-los. Por exemplo, os compostos XVIII e XIX, modelos de metilases (o-metil transferases)²³, não mostram relação entrópica com a velocidade de ciclização.



XVIII

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



XIX

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

Além disso, a avaliação dos parâmetros de ativação em reações de ciclização do tipo S_N2 ^{24,25} não estabelecem qualquer relação entre a entropia de ativação e a reatividade do sistema.

A maior crítica aos fatores entrópicos, definidos por Page e Jencks, é apresentada por Daform e Koshland²⁶ durante cálculos realizados para a combinação de Br (bromo radicalar) para formar Br_2 . O mesmo método computacional usado por Page e Jencks para o estudo da dimerização do ciclopentadieno, neste caso fornece uma constante de velocidade 10^6 vezes menor que a obtida inicialmente. Desta forma, a dependência entre a sistemática de cálculo e a reação modelo usada mostra a vulnerabilidade da teoria.

1.2.5 - Teoria Espaço-Temporal

Em 1985, a fim de avaliar o efeito da proximidade em reações bimoleculares do tipo S_N2 , Menger montou um sistema estudando a reatividade da reação bimolecular S_N2 do iodeto de metila dissolvido em piridina.²⁷ Desde que a piridina servia como nucleófilo e solvente, o iodeto de

metila encontrava-se continuamente envolvido pelo segundo componente da reação S_N2 , e uma total proximidade foi alcançada.

Depois que a velocidade da reação, entre o iodeto de metila e a piridina, no sistema contendo 100% de piridina, foi determinada, o sistema foi diluído gradativamente pela adição de o-diclorobenzeno ou dicloroetileno, até que a concentração final de piridina chegasse a 1%, reduzindo desta forma a proximidade entre os reagentes. Encontrou-se a relação entre k_{obs} e $[piridina]$. Cálculos da constante de segunda ordem a 100% e 10% de piridina diferem por um fator menor que três, o que levou-o a concluir que não há nenhum aumento significativo na velocidade da reação quando é atingido um contato total entre nucleófilo e eletrófilo. As reações nas quais a trietilamina é adicionada a um solvente que atua como eletrófilo na reação de eliminação do 4-(4-nitrofenol)-2-butanona em 100% de piperidina que funcionava como a base, fundamentam as conclusões. No último caso, a reação de eliminação foi escolhida porque a transferência de próton é conhecida por ter uma ampla janela de reação²⁸, e portanto pouco dependente de fatores orientacionais. Logo se nas reações de S_N2 o estrito requerimento angular entre o eletrófilo e nucleófilo não é alcançado quando o solvente é composto inteiramente pelo nucleófilo, nesta reação de eliminação este problema deixa de existir. Nestes sistemas, o máximo de aumento de velocidade foi de apenas 12 vezes; no caso da reação de eliminação, sendo ordens de magnitude menor que a aceleração induzida pela proximidade nos numerosos sistemas intramoleculares. Segundo Menger²⁷, a conclusão é inevitável: “efeitos de proximidade manifestam-se em reações intramoleculares mas não em reações intermoleculares”. Portanto, proximidade é um componente necessário, mas não suficiente para explicar a alta reatividade de sistemas intramoleculares e conseqüentemente enzimáticos.

A questão fundamental levantada na época é traduzida da seguinte forma: “Por que efeitos de proximidade são observados em reações que

ocorrem intra e não intermolecularmente?"; ou ainda, por que certas reações intramoleculares são caracterizadas por valores tão grandes de ME?

Koshland tem argumentado que orientação e proximidade são os principais fatores responsáveis por essa discrepância. Porém, a severa dependência angular imposta por sua teoria encontra barreiras à sua aceitação. Além disso, tem sido demonstrado que são poucos os sistemas que possuem uma "janela de reação" estreita.²⁸

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

Em termos das leis formais de equilíbrio, a teoria é descrita considerando-se que duas moléculas separadas pelo solvente geram um complexo no qual os componentes do sítio reacional estão dentro de uma distância limite que impede sua solvatação. O produto formado numa segunda etapa é caracterizado por uma constante de velocidade intrínseca,

Esquema 03.



A hipótese da pré-associação é suportada por vários exemplos de reações de adição a compostos carbonílicos²⁹, substituição aromática nucleofílica³⁰, substituição aromática eletrofílica³¹, reações de Diels-Alder³² e reações via radical livre.³³

Um recente e importante trabalho de Benesi³⁴, é consistente com o **Esquema 03** e a constante de velocidade observada depende da concentração local fixa de B no “sítio reativo” de A, multiplicado por uma constante de velocidade intrínseca. Benesi descobriu que “as moléculas não tem que estar separadas para muito longe ou por muito tempo para perderem-se uma da outra”. Se A e B dentro de um complexo, “se posicionam” a uma distância maior do que 1,37 vezes a soma de seus raios de van der Waals, eles “escapam” um do outro para sempre.

Num tratamento estatístico de reações intramoleculares, Sisido³⁵ obteve um ajuste razoável com os resultados experimentais, assumindo para tanto que a constante de velocidade é proporcional ao número de pares A-B em que a separação de A/B é menor que 2,3-2,7 Å.

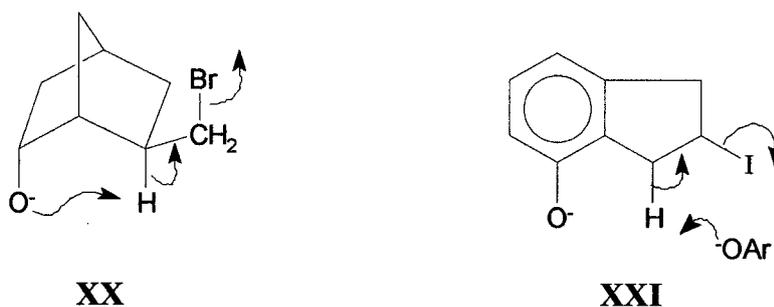
Pritchard e Polanyi, propuseram que as reações acontecem por uma ativação vibracional e não translacional.³⁶ Isto significa que a reação entre A e B dentro do complexo aconteceria no momento que este adquire energia vibracional suficiente para vencer a barreira de velocidade intrínseca.³⁷ Portanto, quanto maior o tempo despendido por A e B colocados numa posição de reação, maior será a velocidade, uma vez que aumenta a probabilidade de alcançar a ativação térmica.

Uma série de exemplos com grandes acelerações ($EM > 10^6$ M), alcançadas quando grupos A e B são colocados numa estrutura carbônica rígida e estão dentro da distância de ligação, são apresentados a seguir. A ênfase deve ser dada na definição do termo “distância de ligação”.

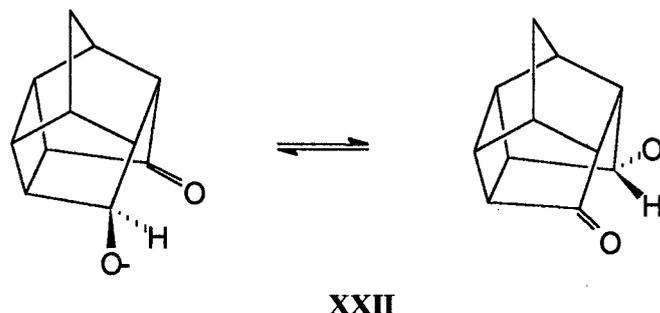
Scheiner³⁸ realizou cálculos computacionais *ab initio*, tipo 4-31G, na transferência de um próton do ion hidrônio para a água. Ele verificou que a

barreira energética necessária para a transferência do próton era igual a 1,4, 7,5, e 16,8 kcal/mol para distâncias de O-O de 2,55, 2,75, e 2,95 Å, respectivamente. Em outras palavras, a diminuição da distância O-O de 2,75 para 2,55 Å aumenta a velocidade em 10^4 vezes, enquanto que a diminuição de 2,95 para 2,55 Å aumenta a velocidade em 10^{11} vezes.

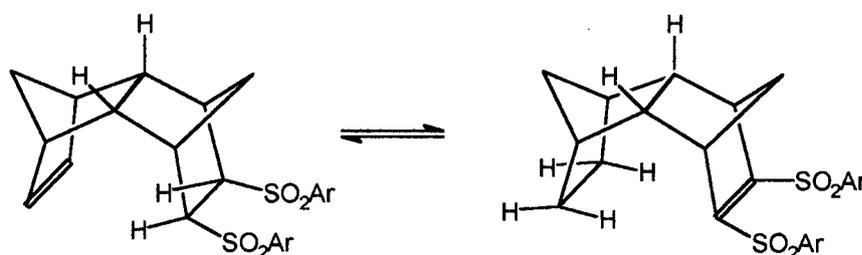
Um trabalho posterior de Menger³⁹, de caráter experimental, suporta as conclusões de Scheiner. Ele descobriu que para os compostos **XX** e **XXI**, que sofrem eliminação E2, o composto **XX** reage exclusivamente por um mecanismo intramolecular, enquanto que o composto **XXI** reage por um mecanismo intermolecular. A diferença entre estes compostos está na distância entre o oxigênio e o hidrogênio, que é de 2,2 Å para o composto **XX** e de 2,9 Å para o composto **XXI**. Aparentemente, 2,9 Å excede a distância necessária para que ocorra uma transferência de próton intramolecular eficiente.



Cálculos computacionais⁴⁰ semi-empíricos pelo programa AMPAC para a transferência do hidreto no composto **XXII** fornecem uma entalpia de ativação de 18 kcal/mol. Os cálculos mostram que a molécula gasta 13 kcal/mol para distorcer a estrutura carbônica lançando o hidrogênio para perto da carbonila. Uma vez que a distância de 1,6 Å é alcançada, a transferência do hidreto necessita vencer uma barreira de apenas 5 kcal/mol para atingir o estado de transição.



Em 1990, Leo Paquette⁴¹ posiciona-se favoravelmente em relação as teorias de Menger. Ao estudar reações simples de transisomerização (**Esquema 04**), ele observou uma grande dependência entre velocidade e distância. A vantagem desta reação reside no fato de se obter tanto reagentes como produtos no estado cristalino, e as distâncias interatômicas são exatas e já foram determinadas por raios-X.



Esquema 04

Em 1991, Leo Paquette⁴², estudando a mesma reação para um número maior de compostos, observou diversas correlações, algumas positivas e outras negativas, entre distância e a velocidade observada. Concluíram, então, que outros fatores além da distância, como janela de reação, efeitos eletrônicos, energia torsional, etc., também contribuem na reatividade da reação.

A partir das discussões das diferentes teorias, pode-se postular que todos os fatores mencionados devem contribuir de alguma maneira para os aumentos significativos observados nas constantes de velocidades de algumas reações químicas.

1.3 – OBJETIVOS

Nos últimos anos, o Grupo de Catálise e Mecanismo de Reações Orgânicas tem-se esforçado em aumentar o conhecimento na área de mecanismos de reações orgânicas e dos diferentes fatores que contribuem para a catálise enzimática através de estudos de modelos não miméticos, sempre visando desenvolver novos modelos teóricos que possam contribuir para a elucidação do mecanismo de ação enzimática. Assim, este trabalho está centrado em identificar modelos simples que possam contribuir para o entendimento dos diferentes fatores que são responsáveis pela catálise enzimática.

Os Objetivos Específicos São:

- 1.3.1 - Síntese e caracterização de amidas e ésteres derivados das oximas do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, como modelos não miméticos para catálise enzimática;
- 1.3.2 - Estudo da reatividade das oximas através de experimentos cinéticos, visando a determinação do mecanismo da reação de hidrólise intramolecular destas oximas.

2 - PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - REAGENTES

Os compostos ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, *p*-nitrofenol e carbonato de sódio, de procedência da Aldrich; o cloridrato de hidroxilamina (Merck) e ácido polifosfórico (Nuclear), para uso nas reações de síntese, foram empregados sem tratamento prévio.

N,N-Dipropilamina (Aldrich; p.e.= 110,0° C; lit⁴³= 109,4° C), anilina (Riedel; p.e.= 184,0° C; lit⁴³= 184,0° C), piperidina (Carlo Erba; p.e.= 107,5° C; lit⁴³= 106,0° C) e cloreto de tionila (Merck; p.e.=78,6° C; lit⁴³= 78,8° C) foram destilados em uma coluna capilar Ace Glass com 62 pratos teóricos.

Os solventes usados para as reações de síntese: diclorometano (Merck; p.e.=40,0° C; lit⁴³= 40,0° C), etanol absoluto (Merck; p.e.=78,5° C; lit⁴³= 78,5° C) e 1-propanol (Grupo Química; p.e.=97,2° C; lit⁴³= 97,4° C) foram destilados em coluna de fracionamento, sobre hidreto de cálcio (Aldrich) e para o preparo das soluções estoques dos substratos, foi usado acetonitrila (Merck; Uvasol).

Os adsorventes utilizados para os métodos de cromatografia de camada delgada e de coluna foram, sílica-gel (Merck; 60 mesh) e sílica-gel (Aldrich; 60 mesh), respectivamente.

2.2 - INSTRUMENTAÇÃO

Os espectros de UV-Visível e os dados cinéticos foram obtidos em um espectrofotômetro Hewlett-Packard com arranjo de diodo modelo HP 8453, utilizando-se celas de quartzo de 3 mL de capacidade e 1 cm de caminho ótico.

Um equipamento FTIR BOMEM foi usado para obtenção de espectros de IV em pastilhas de KBr. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados em um aparelho Bruker AW-200, tendo como referência interna tetrametilsilano e clorofórmio deuterado ou DMSO- d^6 como solvente.

A temperatura das soluções para as medidas cinéticas foram mantidas no valor desejado com um banho termostaticado da Microquímica, modelo MQBTC 99-20.

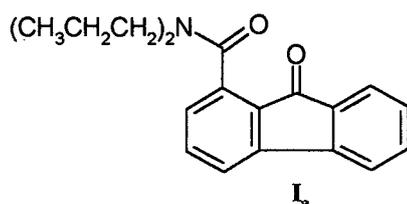
Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho de chapa quente, tipo Fisher-Johns, modelo APF 301 da Microquímica e não foram corrigidos.

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

2.3 - SÍNTESES

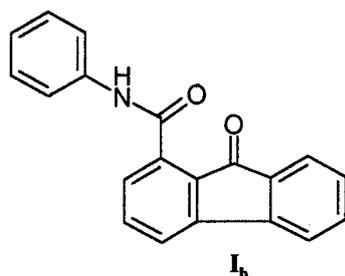
2.3.1 - Síntese de 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**) e 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**)

A 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**) foi preparada reagindo 1,0 g (4,46 mmoles) do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, dissolvido em diclorometano, com 3,0 mL (41,33 mmoles) de cloreto de tionila. A mistura



foi mantida a 35° C por uma hora. Em seguida, foi destilada sob pressão reduzida e a temperatura ambiente com o intuito de remover o diclorometano e o cloreto de tionila excedente do meio. O composto sólido resultante foi pulverizado e adicionado lentamente sobre 5,0 mL (35,52 mmoles) de N,N-dipropilamina a 0° C por duas horas sob atmosfera inerte de nitrogênio. A amina excedente é removida por destilação sob pressão reduzida, a temperatura ambiente. O produto sólido foi recristalizado em etanol/água e seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas. A cromatografia de camada delgada (CCD), com sílica-gel como adsorvente e diclorometano como eluente, mostrou a presença de uma única mancha. O ponto de fusão experimental do composto foi de 105 - 106° C, e o rendimento de 85%.

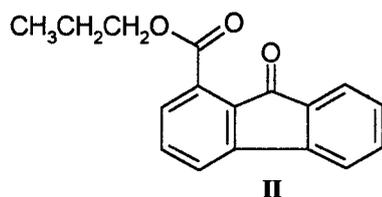
A 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**) foi preparada reagindo 1,0 g (4,46 mmoles) do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, dissolvido em diclorometano, com 3,0 mL (41,33 mmoles) de cloreto de tionila nas mesmas condições descritas para a síntese da amida 9-fluorenona-1-N,N-dipropil acima citados. O sólido obtido após a destilação sob pressão reduzida do diclorometano e do



cloreto de tionila, foi pulverizado e adicionado lentamente sobre 0,5 mL (5,37 mmoles) de anilina a 0° C por uma hora sob atmosfera inerte de nitrogênio. Em seguida, foi adicionado água à mistura a fim de solubilizar a anilina excedente do meio e precipitar o produto. O precipitado de cor amarela foi filtrado a vácuo, lavado com éter de petróleo e seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas. A CCD, com silica-gel como adsorvente e diclorometano como eluente, mostrou uma única mancha. O ponto de fusão experimental do composto foi de 190 - 191° C, e o rendimento de 71%.

2.3.2 - Síntese de 9-fluorenona-1-propil éster (II)

A 9-fluorenona-1-propil éster (II) foi preparada reagindo 1,0 g (4,46 mmoles) do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, dissolvido em diclorometano, com 3,0 mL (41,33 mmoles) de cloreto de tionila. A mistura foi mantida a

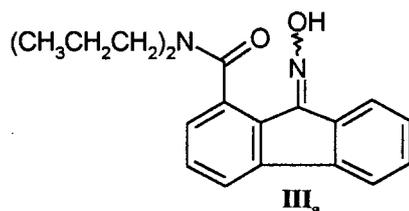


35° C por uma hora. Em seguida, a mistura foi destilada sob pressão reduzida e a temperatura ambiente com o intuito de remover o diclorometano e o cloreto de tionila excedente do meio. O composto sólido resultante foi pulverizado e adicionado lentamente sobre 5,0 mL (66,89 mmoles) de propanol. A mistura foi mantida sob refluxo por três horas e depois deixada

pernoitar à temperatura ambiente. O propanol foi removido do meio, num evaporador rotatório, restando um óleo escuro, que masserado com um bastão de vidro solidificou-se. O produto sólido foi recristalizado em etanol/água e seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas. A CCD, em sílica-gel eluída com diclorometano/hexano (2:1) revelou a presença de uma única mancha. O ponto de fusão experimental do composto foi de 47,4 - 47,9° C, e o rendimento de 51%.

2.3.3 - Síntese de 9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_a**) e 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (**III_b**)

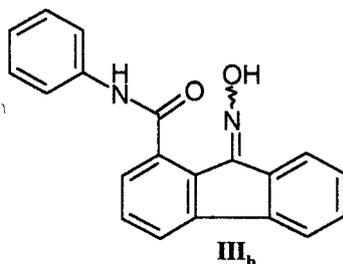
A 9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida foi preparada deixando-se reagir 0,5 g (1,62 mmoles) da respectiva amida, solubilizada em etanol absoluto, com 0,8 mL (7,84 mmoles) de piperidina e 0,57 g (8,20 mmoles)



de cloridrato de hidroxilamina. A mistura foi mantida a 60° C por doze horas. Em seguida a mistura foi tratada com carvão ativo, filtrada e ao filtrado foi adicionado água e levado a geladeira para precipitação do produto. O produto de cor amarela foi filtrado a vácuo, lavado com água e seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas. A CCD, com sílica-gel como adsorvente e diclorometano como eluente, do composto, acusou a presença de duas manchas com $R_f = 0,33$ e $0,54$, que foram cromatografadas em coluna de sílica-gel usando o eluente diclorometano/acetato de etila (5:1). Os respectivos compostos serão denominados **III_{az}** e **III_{ae}**. Os pontos de fusão

experimentais e os rendimentos dos compostos **III_{az}** e **III_{ae}** são respectivamente de 174° C, 24% e 184 - 185° C, 74%.

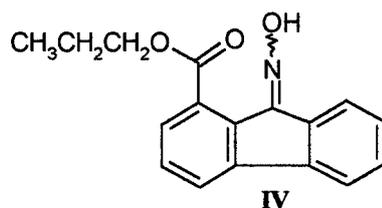
A 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (**III_b**) foi preparada reagindo 0,5 g (1,66 mmoles) da respectiva amida, solubilizada em etanol absoluto, com 1,0 mL (11,0 mmoles) de piperidina e 0,6 g (8,60 mmoles) de cloridrato de hidroxilamina. A reação foi acompanhada por CCD , sendo que após vinte



e quatro horas, mantida a 60° C, observou-se o desaparecimento da amida e a formação de uma única mancha. O produto de cor “bege” que precipitou no meio reacional foi filtrado, lavado várias vezes com água e seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas. O ponto de fusão experimental do composto foi de 233,0 - 233,5° C e o rendimento de 92%.

2.3.4 - Síntese de 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster (IV)

A 9-hidroxiiminofluoreno-1-propiléster (**IV**) foi preparada reagindo 0,45 g (1,69 mmoles) do respectivo éster, solubilizado em etanol absoluto,

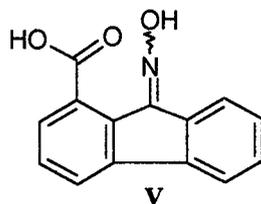


com 0,8 mL (7,84 mmoles) de piperidina e 0,5 g (7,17 mmoles) de cloridrato de hidroxilamina. A reação foi acompanhada por CCD , sendo que após seis horas mantida a 70° C, observou-se o desaparecimento do éster e a formação de uma única mancha. A mistura foi tratada com carvão ativo, filtrada e ao

filtrado foi adicionado água e levado a geladeira para precipitação do produto. O produto de cor amarela foi filtrado a vácuo, lavado com água e seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas. A CCD, com sílica-gel como adsorvente e eluída com diclorometano/acetato de etila (2:1) revelou a presença de uma única mancha. O ponto de fusão experimental do composto foi de 117,4 – 118,0° C, e o rendimento da reação foi de 72%.

2.3.5 - Síntese do ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico (V)

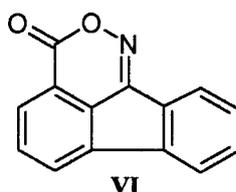
A 9-oximinofluoreno-1-ácido carboxílico (V) foi preparada reagindo 0,5 g (2,23 mmoles) de ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, solubilizado em etanol absoluto, com 0,8 g (11,47 mmoles) de cloridrato de hidroxilamina e



uma solução de 0,22 g de carbonato de sódio em água. A mistura é mantida a 35° C por 30 minutos, liberando uma grande quantidade de gás e precipitando no meio um produto de cor mostarda. O precipitado foi filtrado a vácuo, lavado diversas vezes com água. O composto sólido foi recristalizado em etanol/água e seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas. A CCD em sílica-gel diluída com diclorometano revelou a presença de uma única mancha. (p.f.= 274,0 – 275,0° C; lit⁴⁴= 275,0° C). O rendimento da reação foi de 30%.

2.3.6 - Síntese de cetoortoxazina (VI)

A cetoortoxazina (VI) foi preparada adicionando-se lentamente 0,15 g (0,46 mmoles) da 9-oximinofluoreno-1-N,N-dipropilamida (III_{ae}) sobre 5,0 mL de ácido polifosfórico aquecido a 150° C. A mistura foi mantida sob agitação por duas horas. Em seguida o meio é neutralizado com uma solução



aquosa 1M de hidróxido de sódio. O produto da reação foi precipitado em um bequer contendo água e gelo. O precipitado foi filtrado a vácuo e lavado diversas vezes com água. O composto sólido foi recristalizado em clorofórmio e seco sob pressão reduzida por vinte e quatro horas. A CCD, em sílica-gel como adsorvente e eluída com diclorometano revelou a presença de uma única mancha. (p.f.= 223,0 - 225,0° C; lit^{44,45}= 224,0-225,0° C). O rendimento da reação foi de 50%.

2.4 - ESTUDOS CINÉTICOS

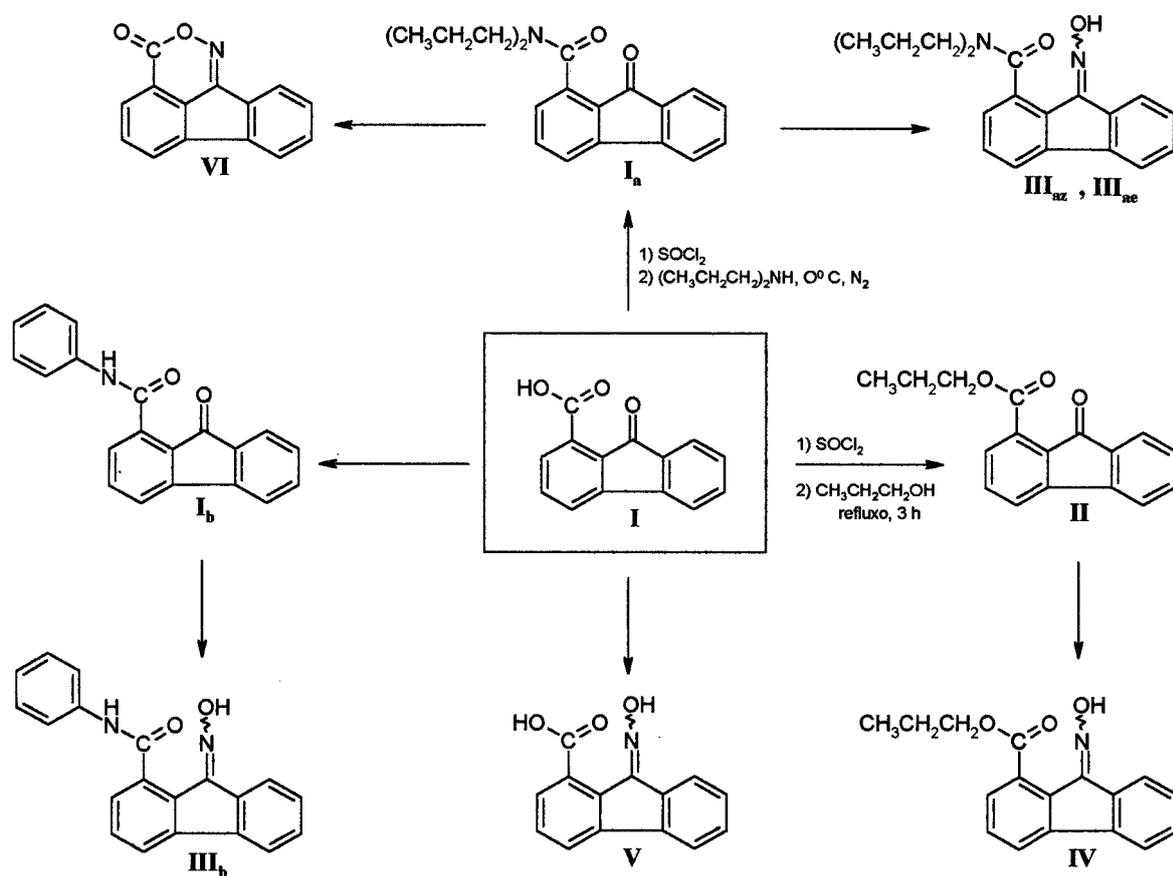
As cinéticas das reações de hidrólise das oximas derivadas das amidas e éster do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico foram efetuadas sob condições de primeira ordem, adicionando-se, geralmente, 3 μ L de uma solução estoque 10⁻³ M da respectiva oxima, III_a, III_b, IV e V a 1mL de uma solução tampão (0,1M) de pH desejado, em uma cubeta termostatizada (35,0 \pm 0,1^o C).

Todas as cinéticas foram acompanhadas por, no mínimo, 4 a 5 tempos de meia vida. Em cada corrida cinética, 150 leituras de absorvância, em média foram adquiridas e processadas por um programa HP 8453.

Os tampões utilizados para a faixa de pH's de 0,25 a 8,00 foram: ácido oxálico, ácido acético, ácido cloroacético, ácido o-fosfórico e ácido bórico a uma concentração de 0,1 M, sendo que para valores abaixo de pH 0,25 foram usados soluções de HCl.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos sintetizados neste trabalho, derivados do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, estão mostrados no **Esquema 05**.



Esquema 05

A seguir será apresentado a caracterização de todos os compostos obtidos, analisados por técnicas espectroscópicas de UV-Vis, IV e RMN de H^1 e C^{13} , além da determinação do ponto de fusão e estudos cinéticos dos mesmos.

3.1 – DADOS ESPECTROSCÓPICOS DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

3.1.1 - 9-Fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**) e 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**)

Os Espectros de UV-Visível dos compostos **I_a** e **I_b** estão representados na **Figura 04**. Tanto o composto **I_a**, quanto **I_b**, apresentam absorbância máxima em 261 nm em H₂O.

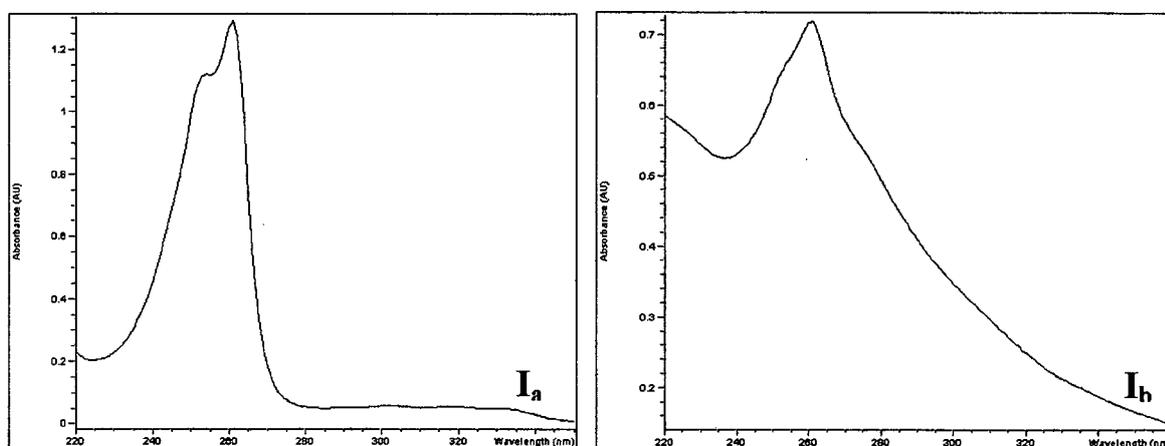


Figura 04 - Espectros de UV-Visível para a 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**), e 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**), 10^{-3} M, em H₂O, 25° C.

No espectro de IV do composto **I_a** (**Figura 05**), tem-se as absorções que identificam os principais grupos funcionais presentes neste composto, e foram interpretadas da seguinte forma: $\nu_{s(C-H, Ar)} = 3060$; $\nu_{as(CH_3)} = 2960$; $\nu_{as(CH_2)} = 2928$; $\nu_{s(CH_3)} = 2872$; $\nu_{(C=O)} = 1712$; $\nu_{(N(C=O))} = 1630$; $\nu_{s(C=C)} = 1604$; $\nu_{as(C=C)} = 1488$; $\delta_{s(CH_2)} = 1466$; $\delta_{as(CH_3)} = 1432$; $\delta_{s(CH_3)} = 1378$; e $\delta_{(C-H, Ar)} = 760$ cm^{-1} . O espectro de IV do composto **I_b** (**Figura 06**), é semelhante ao apresentado na

Figura 05. Os estiramentos e deformações axiais e angulares, receberam as seguintes atribuições: $\nu_{s(C-H, Ar)} = 3034$; $\nu_{(C=O)} = 1696$; $\nu_{(N(C=O))} = 1664$; $\nu_{s(C=C)} = 1636, 1602, 1568$; $\nu_{as(C=C)} = 1496$; $\delta_{s(CH_2)} = 1464$; $\delta_{as(CH_3)} = 1444$; $\delta_{s(CH_3)} = 1366$; $\nu_{(C-N-H)} = 1328$ e $\delta_{(C-H, Ar)} = 782, 752 \text{ cm}^{-1}$.

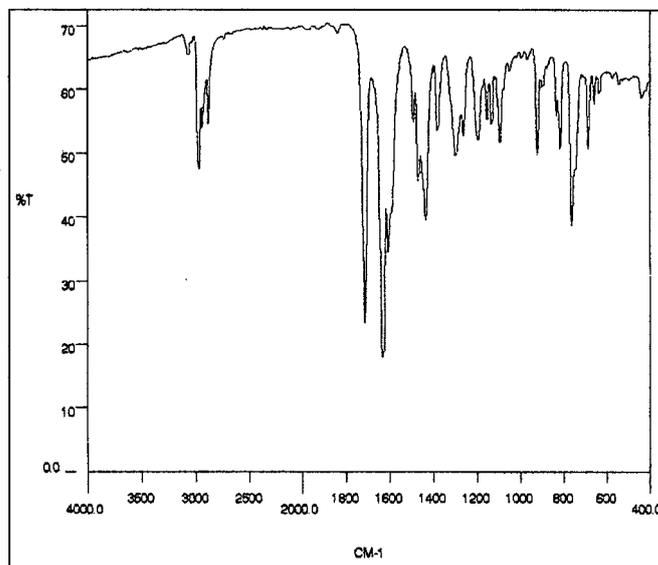


Figura 05 - Espectro de infravermelho da 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida, em pastilha de KBr.

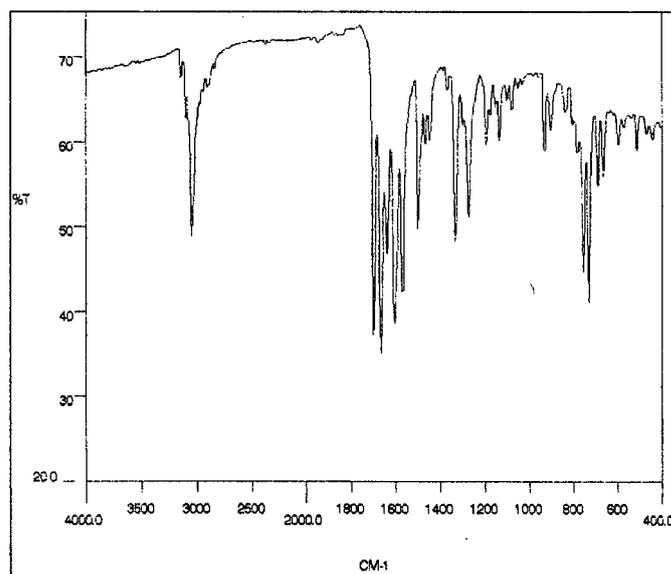


Figura 06 - Espectro de infravermelho da 9-fluorenona-1-fenilamida, em pastilha de KBr.

A análise da multiplicidade dos sinais e da integração de área do RMN - ^1H para I_a (Figura 07) e para I_b (Figura 08), permite a atribuição dos sinais, conforme dados apresentados na Tabela 7.

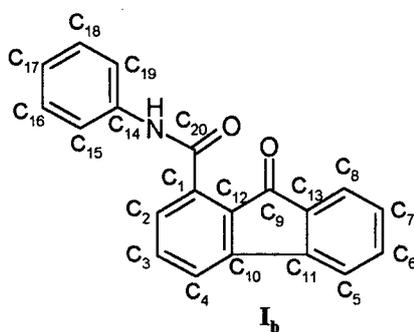
Tabela 7 - Dados de RMN - ^1H da 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (I_a) e 9-fluorenona-1-fenilamida (I_b)

Composto		Multiplicidade	número de prótons	δ (ppm)
I_a	Ar - H*	-	7	7,70 - 7,10
	-CH ₂ *-(NC=O)	Multiplete	1	3,80
	-CH ₂ *-(NC=O)	Multiplete	1	3,20
	-CH ₂ *-(NC=O)	Triplete	2	3,05
	-CH ₂ *-CH ₃	Multiplete	2	1,80
	-CH ₂ *-CH ₃	Multiplete	2	1,40
	-CH ₃ *	Triplete	3	1,06
	-CH ₃ *	Triplete	3	0,71
I_b	-CO-NH*-Ar	Singlete	1	10,51
	Ar - H*	Duplete	1	8,37
	Ar - H*	Duplete	2	7,96
	Ar - H*	Duplete	2	7,75
	Ar - H*	Multiplete	6	7,44
	Ar - H*	Triplete	1	7,08

O desdobramento dos sinais correspondentes aos grupos da cadeia alquílica da amida de I_a , característico nos espectros destes compostos, são oriundos da barreira rotacional da ligação $\text{C-N}(\text{C=O})$.⁴⁶ A diastereotopia dos prótons de um dos metilenos, surge em função de uma barreira rotacional da ligação $\text{CH}_2\text{-N}(\text{C=O})$ cuja restrição conformacional é imposta pela presença do anel aromático. O espectro de RMN - ^1H para o composto I_b , mostra o

próton ligado ao nitrogênio da amida em 10,51 ppm como singlete e os prótons aromáticos entre 8,37 e 7,08 ppm.

A atribuição dos sinais de carbono do espectro de RMN - ^{13}C (**Figura 09**) para o composto **I_b**, fundamentados nos valores calculados pelo programa ChemWindow³⁴⁷, permite a identificação dos picos em cada uma das seguintes regiões, confirmando sua estrutura: $\delta_{\text{C1}}= 134,92$; $\delta_{\text{C2}}= 123,29$, $\delta_{\text{C3}}= 136,10$; $\delta_{\text{C4}}= 135,43$; $\delta_{\text{C5}}= 124,29$; $\delta_{\text{C6}}= 132,93$; $\delta_{\text{C7}}= 125,28$; $\delta_{\text{C8}}= 129,70$; $\delta_{\text{C9}}= 195,40$; $\delta_{\text{C10}}= 143,59$; $\delta_{\text{C11}}= 138,77$; $\delta_{\text{C12}}= 129,94$; $\delta_{\text{C13}}= 132,80$; $\delta_{\text{C14}}= 145,73$, $\delta_{\text{C15}}= 120,58$; $\delta_{\text{C16}}= 128,96$; $\delta_{\text{C17}}= 120,21$; $\delta_{\text{C18}}= 128,96$; $\delta_{\text{C19}}= 120,58$ e $\delta_{\text{C20}}=161.62$ ppm.



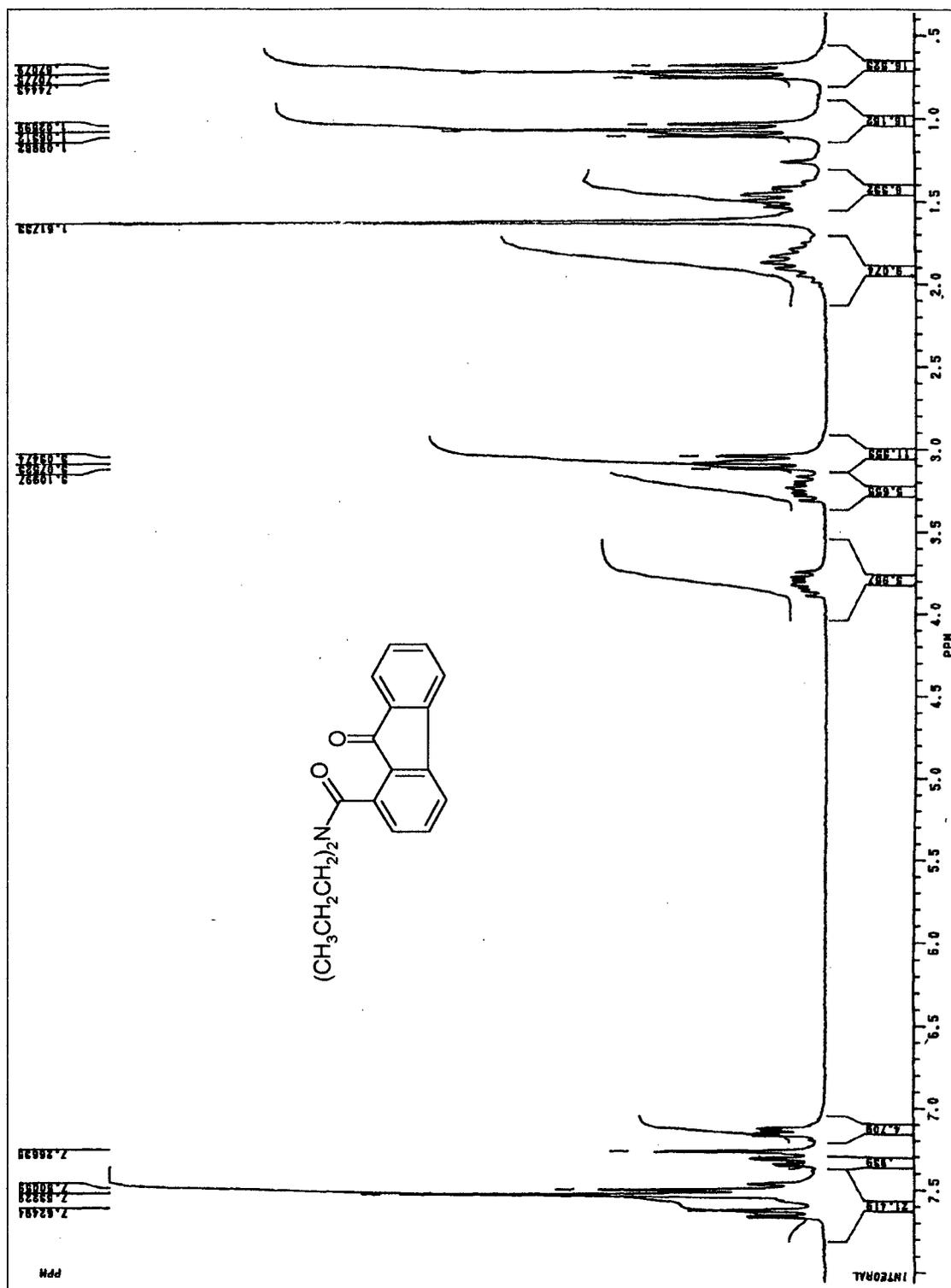


Figura 07 - Espectro de RMN - ^1H para a 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (I_a), em CDCl_3 .

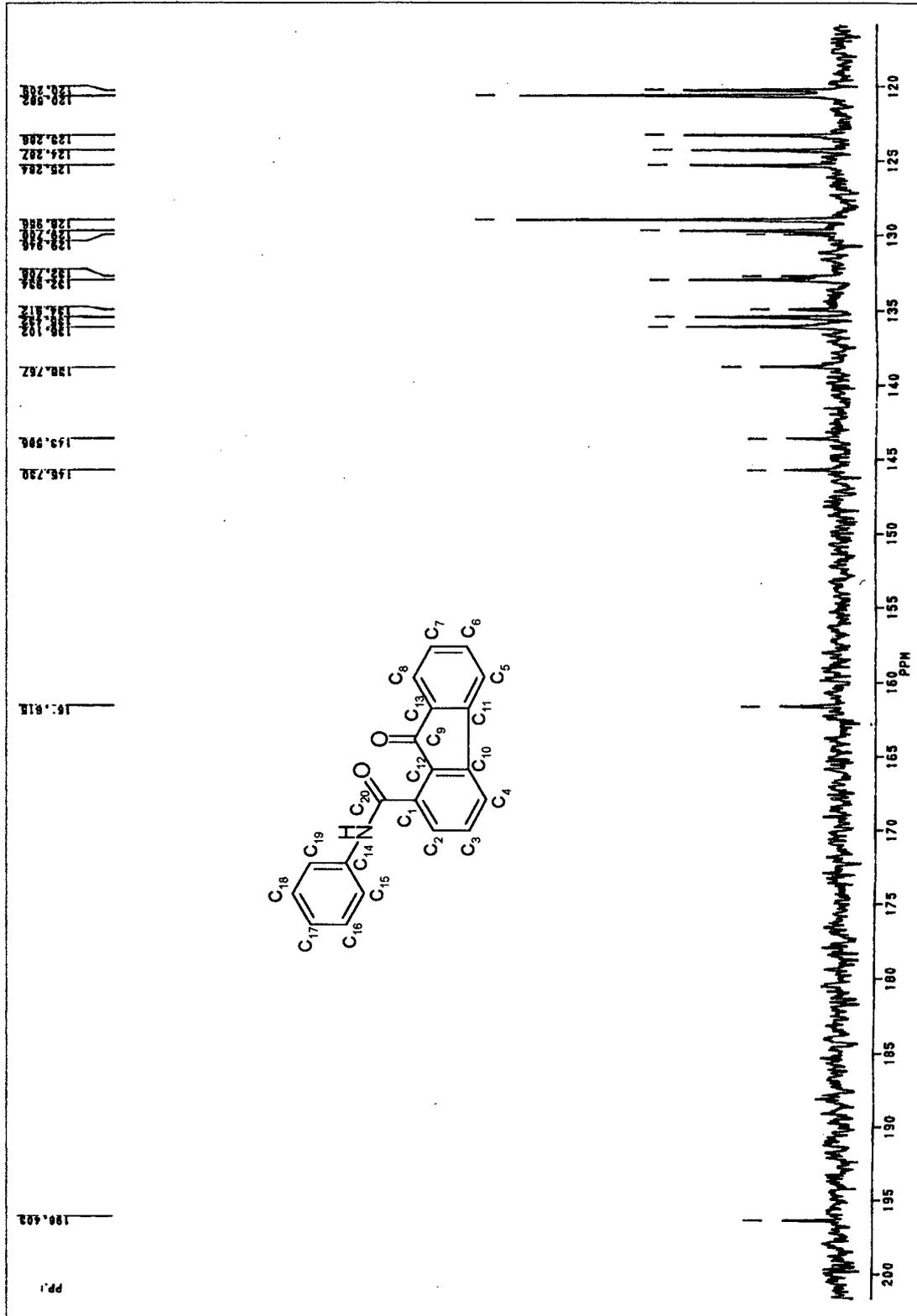


Figura 09 - Espectro de RMN – ¹³C para a 9-fluorenona-1-fenilamida (I_b), em CDCl₃.

3.1.2 - 9-Fluorenona-1-propil éster (II)

O espectro de UV-Visível do composto **II** está representado na **Figura 10**, e apresenta absorvância máxima em 260 nm em H₂O.

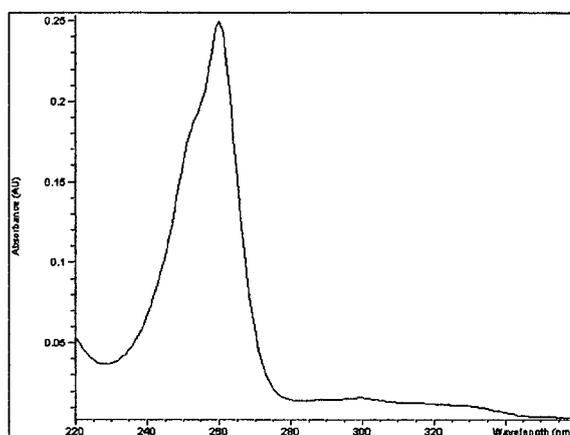


Figura 10 - Espectro de UV-Visível para o éster 9-fluorenona-1-propil éster, 10^{-3} M, em H₂O, 25° C

O espectro de IV para o composto **II** está apresentado na **Figura 11**. Os estiramentos e deformações axiais e angulares, receberam as seguintes atribuições: $\nu_{\text{as}(\text{CH}_3)} = 2970$; $\nu_{\text{s}(\text{CH}_3)} = 2884$; $\nu_{(\text{RO}(\text{C}=\text{O}))} = 1714$; $\delta_{\text{s}(\text{C}=\text{C})} = 1606$, 1584 ; $\delta_{\text{s}(\text{CH}_2)} = 1466$; $\delta_{\text{s}(\text{CH}_3)} = 1388$; $\delta_{(\text{C}-\text{CO}-\text{O})} = 1302$, 1284 ; $\delta_{(\text{O}-\text{C}-\text{C})} = 1182$, 1136 e $\delta_{(\text{C}-\text{H}, \text{Ar})} = 750$, 718 cm^{-1} .

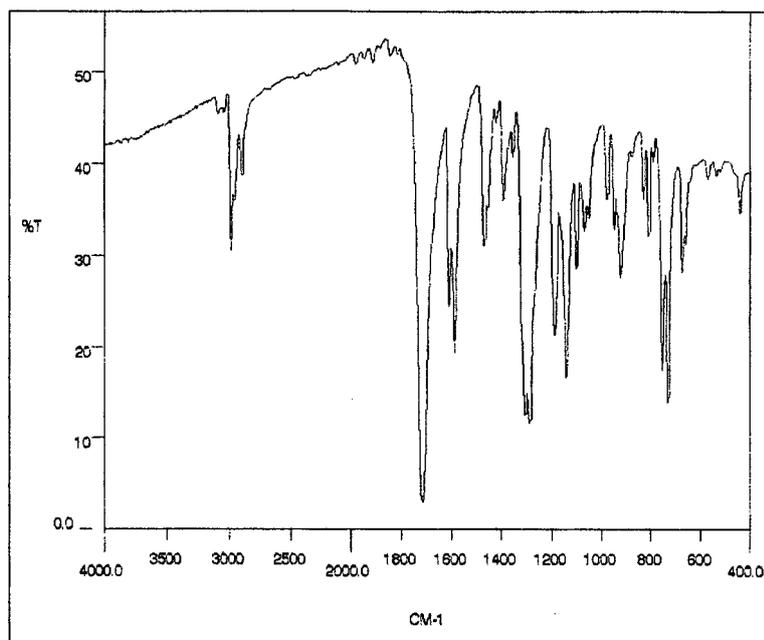


Figura 11 - Espectro de infravermelho da 9-fluorenona-1-propil éster, em pastilha de KBr.

A atribuição dos sinais, correspondente ao número de prótons obtidos da integração da área dos picos do RMN - ^1H para **II** (Figura 12), se encontram na **Tabela 8**.

Tabela 8 - Dados de RMN - ^1H da 9-fluorenona-1-propil éster (**II**).

Composto		Multiplicidade	número de prótons	δ (ppm)
II_a	Ar - H*	Multiplete	7	7,70 - 7,25
	-CH ₂ *- (OC=O)	Triplete	2	4,36
	-CH ₂ *-CH ₃	Sexteto	2	1,82
	-CH ₂ -CH ₃ *	Triplete	3	1,02

O espectro de RMN - ^1H de (**II**), **Figura 12**, mostra os sinais correspondentes aos prótons aromáticos entre 7,70 e 7,25 ppm, os dois prótons do metileno ligado ao oxigênio do éster em 4,36 ppm como triplete, os dois prótons do metileno seguinte da cadeia propílica em 1,82 ppm como sexteto e os três prótons metílicos em 1,02 ppm como um triplete.

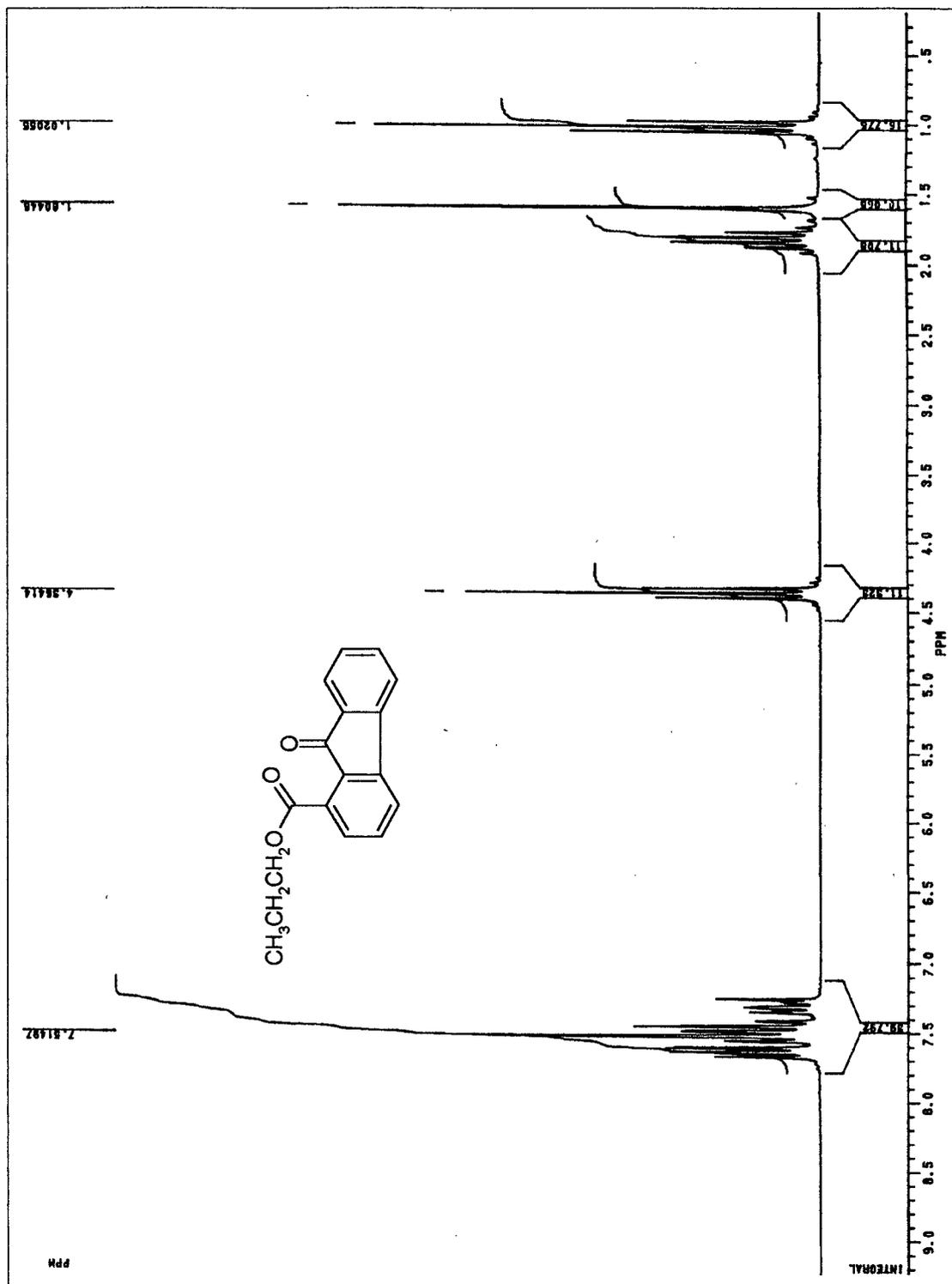


Figura 12 - Espectro de RMN - ^1H para 9-fluorenona-1-propiléster (II_a), em CDCl_3 .

3.1.3 - (Z)-9-Hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (III_{az}**),
(E)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_{ae}**)
e 9-hidroxiimino fluoreno-1-fenilamida (**III_b**)**

Os Espectros de UV-Visível dos compostos **III_{az}**, **III_{ae}** e **III_b** estão representados na **Figura 13**. e apresentam absorvância máxima em 259, 258, 257 nm, respectivamente em H₂O.

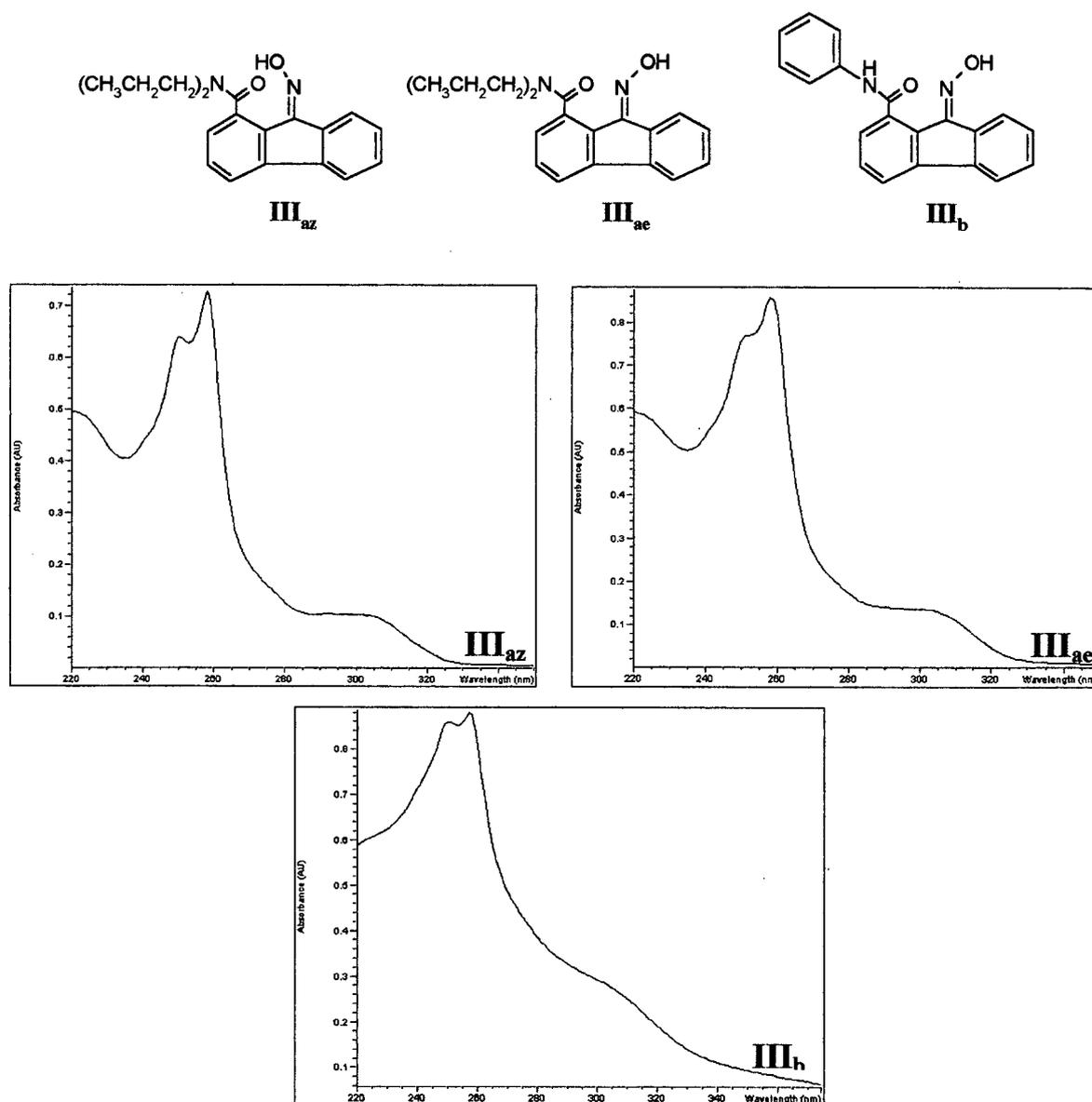


Figura 13 - Espectros de UV-Visível de (Z)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N, N-dipropilamida (**III_{az}**), (E)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_{ae}**) e 9-hidroxiimino fluoreno-1-fenilamida (**III_b**), 10⁻³ M, em H₂O, 25° C.

No espectro de IV do composto **III_{az}** (**Figura 14**), notam-se absorções que identificam os principais grupos funcionais presentes na molécula objeto de estudo e foram interpretadas da seguinte forma: $\nu_{(N-OH)} = 3420$; $\nu_{s(C-H, Ar)} = 3020$; $\nu_{as(CH_3)} = 2964$; $\nu_{as(CH_2)} = 2932$; $\nu_{s(CH_3)} = 2872$; $\nu_{(N(C=O))} = 1600$; $\nu_{as(C=C)} = 1496$; $\nu_{(C=N)} = 1444$; $\delta_{s(CH_3)} = 1370$ e $\delta_{(C-H, Ar)} = 804 \text{ cm}^{-1}$. Analogamente, a análise do espectro de IV do composto **III_{ae}** (**Figura 15**), nos permite identificar as absorções dos principais grupos funcionais presentes neste composto: $\nu_{(N-OH)} = 3454$; $\nu_{s(C-H, Ar)} = 3052$; $\nu_{as(CH_3)} = 2970$; $\nu_{as(CH_2)} = 2932$; $\nu_{s(CH_3)} = 2864$; $\nu_{(N(C=O))} = 1602$; $\nu_{as(C=C)} = 1498$; $\nu_{(C=N)} = 1440$; $\delta_{s(CH_3)} = 1370$; e $\delta_{(C-H, Ar)} = 774, 758 \text{ cm}^{-1}$. No espectro de IV do composto **III_b** (**Figura 16**), os estiramento e deformações axiais e angulares, dos principais grupos funcionais, receberam as seguintes atribuições: $\nu_{(N-H)} = 3288$; $\nu_{s(C-H, Ar)} = 3056$; $\nu_{as(CH_2)} = 2922$; $\nu_{(N(C=O))} = 1654$; $\nu_{s(C=C)} = 1598, 1526$; $\nu_{(C=N)} = 1440$; $\nu_{(C-N-H)} = 1320$ e $\delta_{(C-H, Ar)} = 754 \text{ cm}^{-1}$.

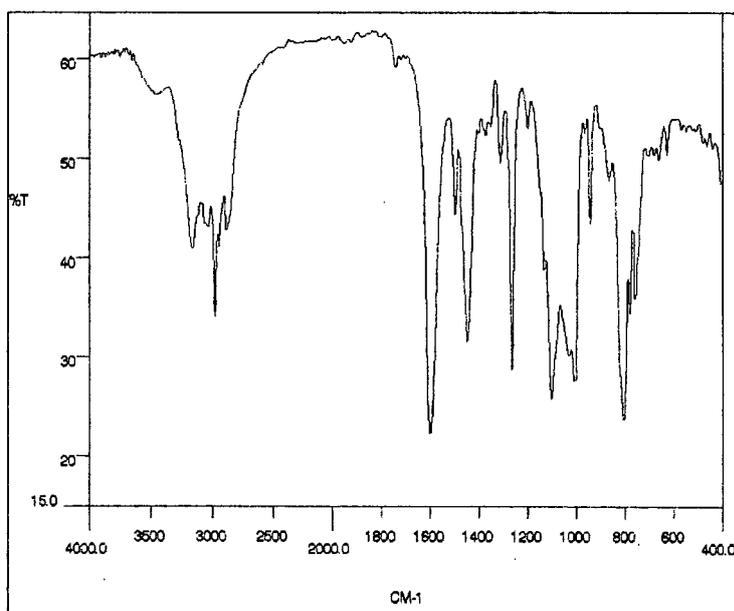


Figura 14 - Espectro de infravermelho da (Z)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida, em pastilha de KBr.

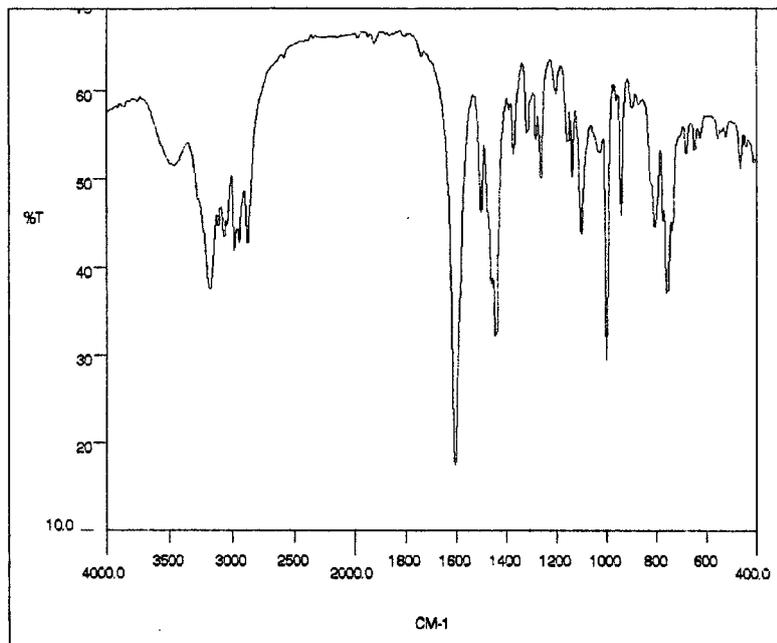


Figura 15 - Espectro de infravermelho da (E)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida, em pastilha de KBr.

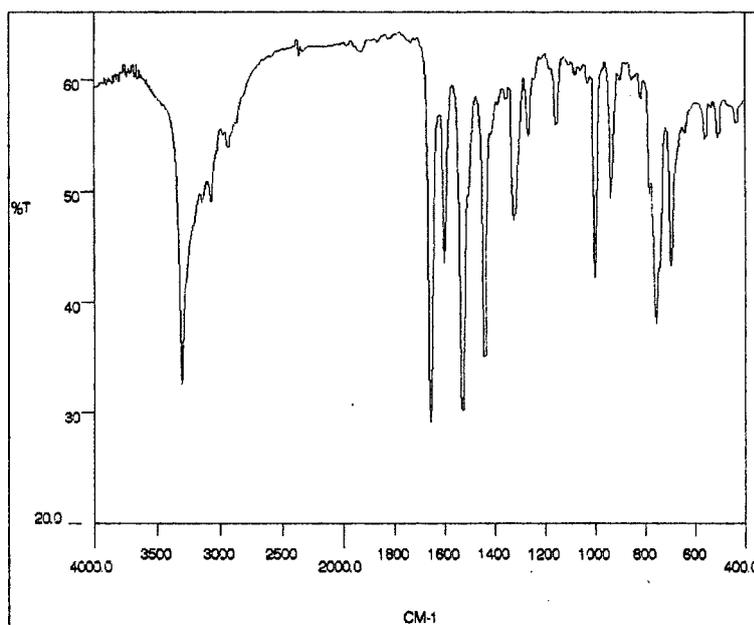


Figura 16 - Espectro de infravermelho da 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida, em pastilha de KBr.

A análise da multiplicidade dos sinais e da integração de área do RMN - ^1H para **III_{az}** (Figura 17), para **III_{ae}** (Figura 19) e , para **III_b** (Figura 21), permite, numa primeira inspeção, a atribuição dos sinais, conforme a Tabela 9.

Tabela 9 - Dados de RMN - ^1H da (Z)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_{az}**), (E)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_{ae}**) e da 9-hidroxiimino fluoreno-1-fenilamida (**III_b**) em CDCl_3 .

Composto		Multiplicidade	número de prótons	δ (ppm)
III_{az}	=N-OH*	Singlete	1	10,80
	Ar - H*	-	3	7,75 - 7,50
	Ar - H*	-	4	7,48 - 7,10
	-CH ₂ *-(NC=O)	Multiplete	1	3,47
	-CH ₂ *-(NC=O)	Multiplete	1	3,27
	-CH ₂ *-(NC=O)	Multiplete	2	2,90
	-CH ₂ *-CH ₃	Multiplete	2	1,65
	-CH ₂ *-CH ₃	Multiplete	2	1,35
	-CH ₃ *	Triplete	3	0,78
	-CH ₃ *	Triplete	3	0,54
III_{ae}	=N-OH*	Singlete	1	9,40
	Ar - H*	Duplete	1	8,30
	Ar - H*	Triplete	2	7,57
	Ar - H*	-	3	7,40 - 7,10
	Ar - H*	Duplete	1	7,05
	-CH ₂ *-(NC=O)	Triplete	2	3,45
	-CH ₂ *-(NC=O)	Triplete	2	2,98
	-CH ₂ *-CH ₃	Multiplete	2	1,70

Continuação da Tabela 9

	-CH ₂ *-CH ₃	Multiplete	2	1,40
	-CH ₃ *	Triplete	3	0,90
	-CH ₃ *	Triplete	3	0,60
III_b	-CO-NH*-Ar	Singlete	1	12,27
	Ar - H*	Singlete	1	8,36
	Ar - H*	Duplete	2	7,95
	Ar - H*	-	9	7,80 - 7,10
	=N-OH*	Singlete	1	1,70

No espectro de RMN - ¹H de **III_{az}** em CDCl₃, apresenta-se em 10,80 ppm em forma de singlete o sinal correspondente ao próton da oxima. De forma semelhante ao composto **I_a**, observa-se o desdobramento dos sinais correspondentes aos grupos da cadeia alquílica, um efeito que é oriundo da barreira rotacional da ligação C-N(C=O)⁴⁶ e a diastereotopia dos prótons de um dos metilenos também é observada e surge em função de uma barreira rotacional da ligação CH₂-N(C=O) cuja restrição conformacional é imposta pela presença do anel aromático. Já o espectro de RMN - ¹H, em CDCl₃, para o composto **III_{ac}** é muito semelhante ao espectro de **III_{az}**. O próton da oxima está situado em 9,40 ppm em forma de singlete, e os desdobramentos dos prótons dos grupos da cadeia alquílica também são observados assim como para **III_{az}**, com exceção do desdobramento dos prótons metilênicos, que se apresentam em 3,45 e 2,98 ppm, em forma de tripletes. O espectro de RMN - ¹H para o composto (**III_b**), mostra o próton ligado ao nitrogênio da amida em 12,27 ppm como singlete e os prótons aromáticos entre (8,36 - 7,10) ppm, e o próton da oxima em 1,70 ppm em forma de singlete. O espectro de RMN - ¹³C (**Figura 22**), permite identificar em 166,77 ppm o sinal corresponde ao carbono carbonílico do grupamento amida (C₂₀), já o sinal do carbono do grupo oxima (C₉) apresenta-se em 151,41 ppm, em forma de singlete.

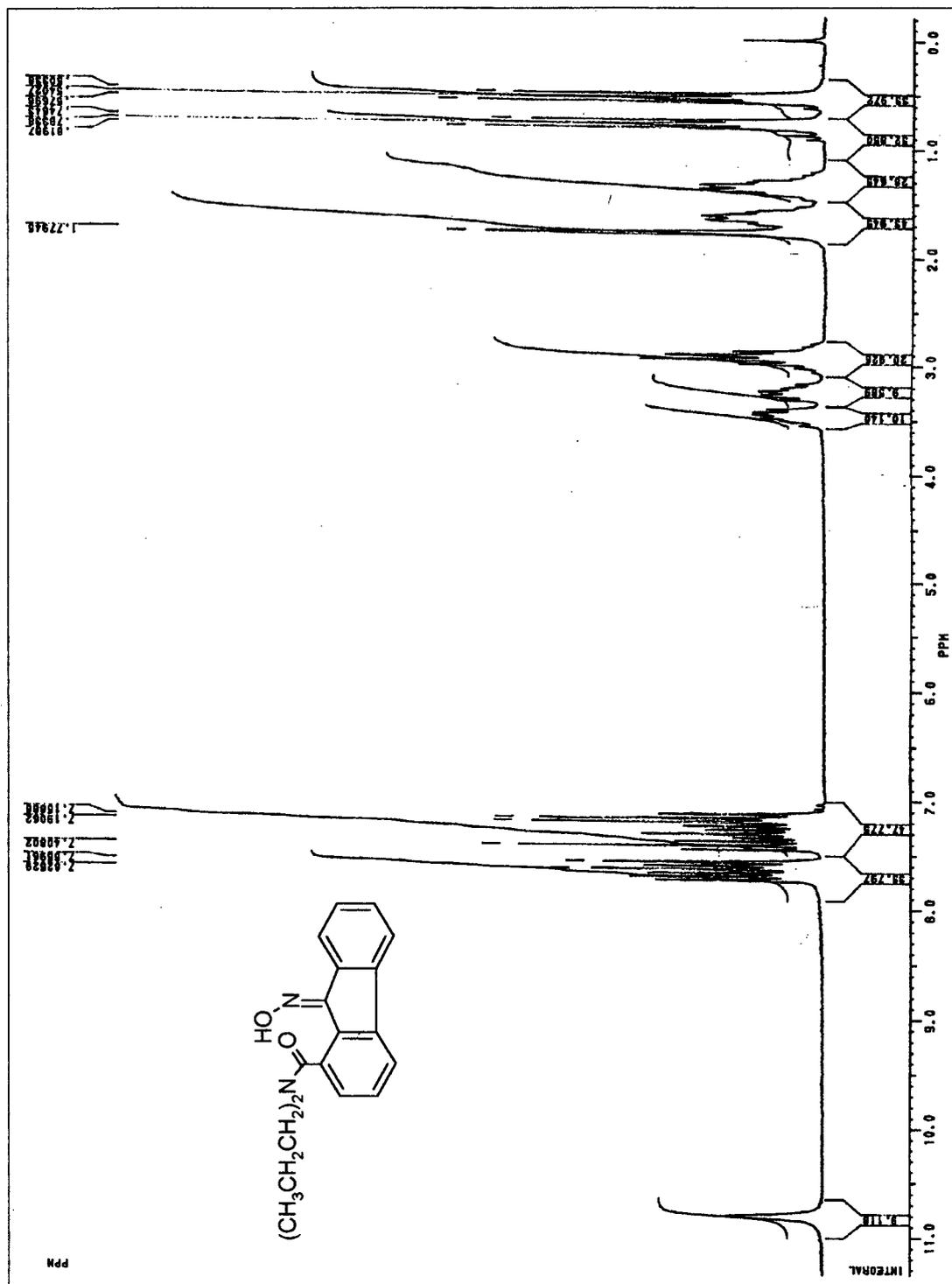


Figura 17 - Espectro de RMN- ^1H para (Z)-9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (III_{az}), em CDCl₃.

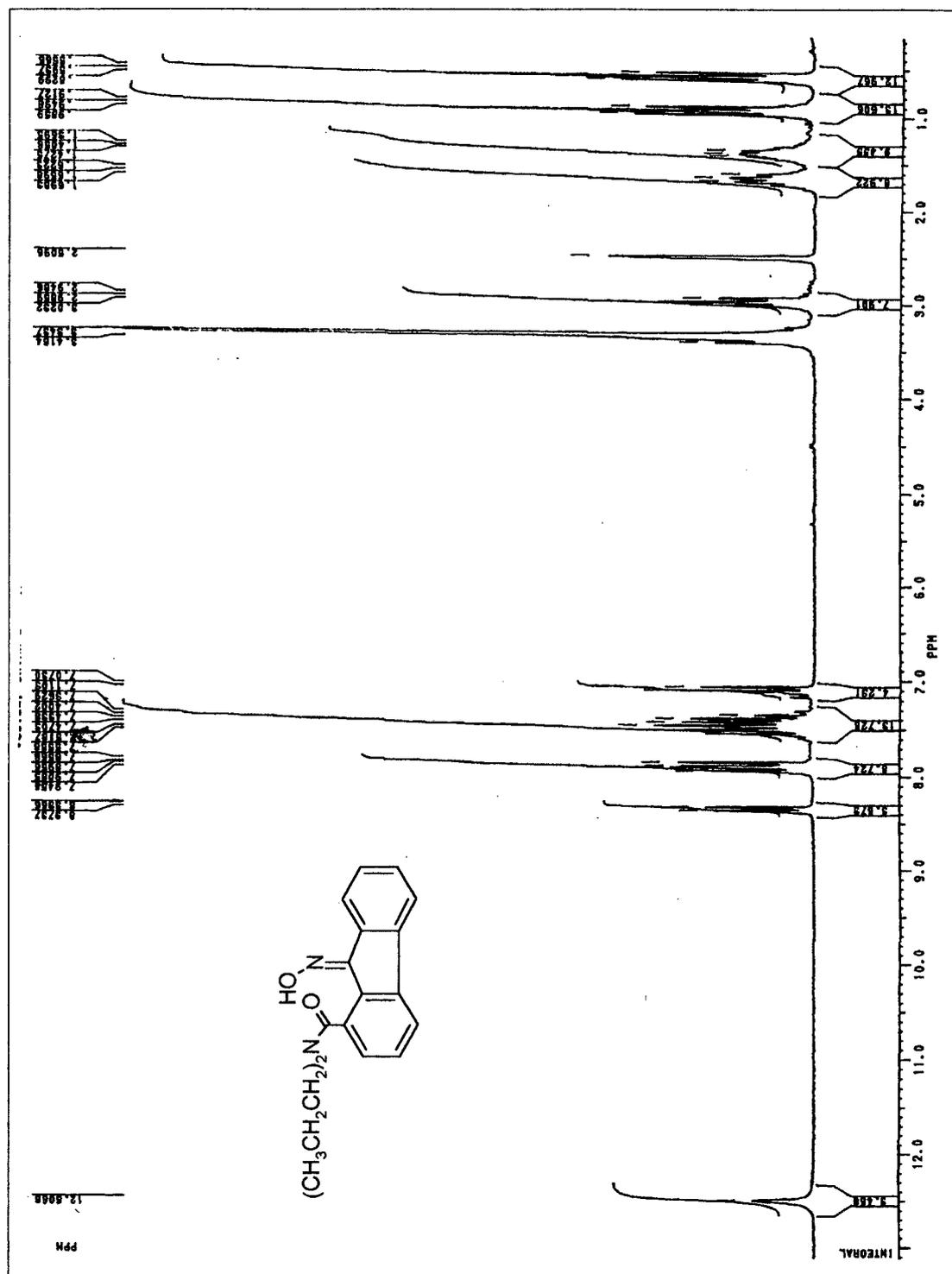
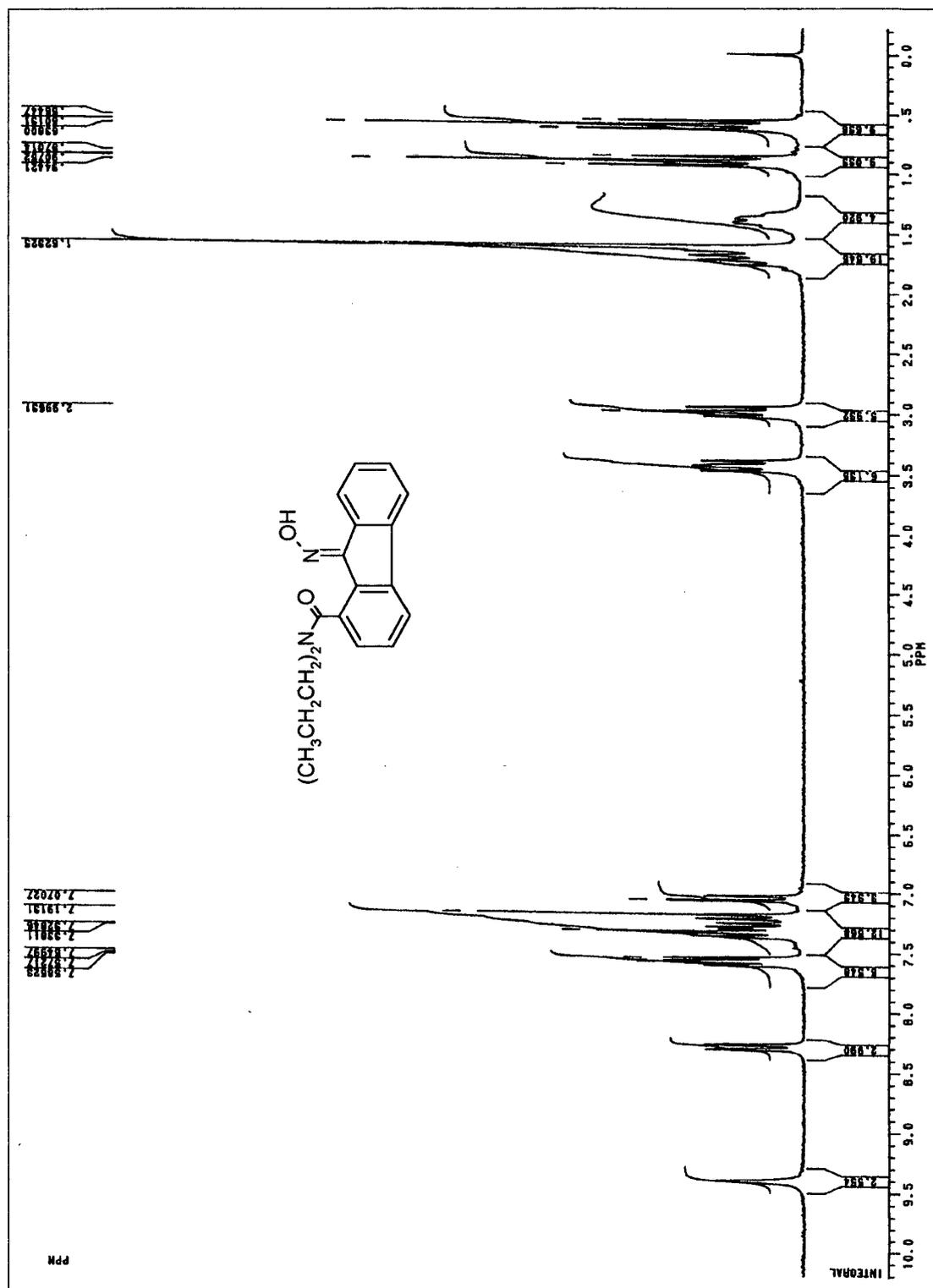


Figura 18 - Espectro de RMN - ^1H para (Z)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (III_{az}), em DMSO-d_6 .



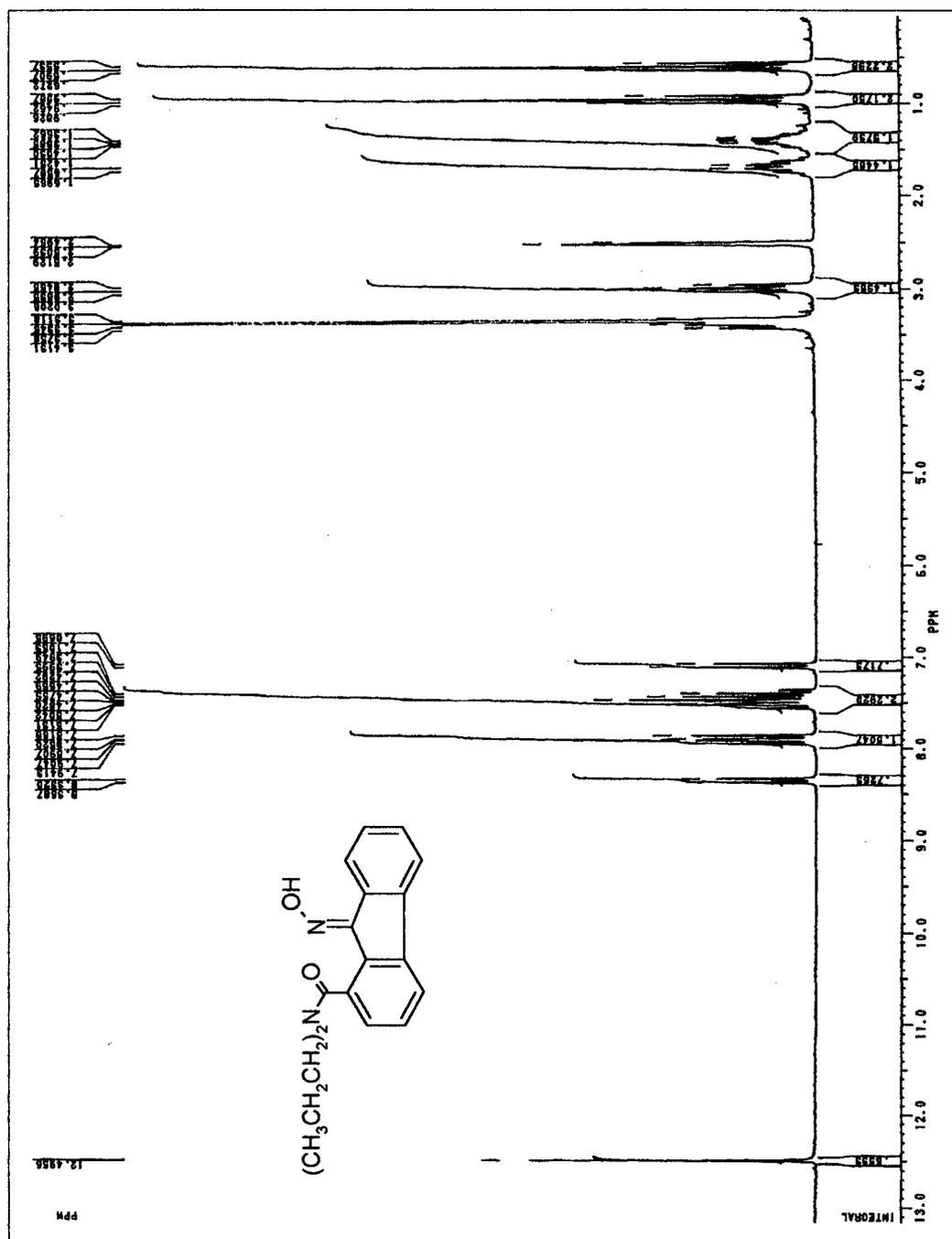


Figura 20 - Espectro de RMN - ^1H para a (E)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (III_{ae}), em DMSO- d_6 .

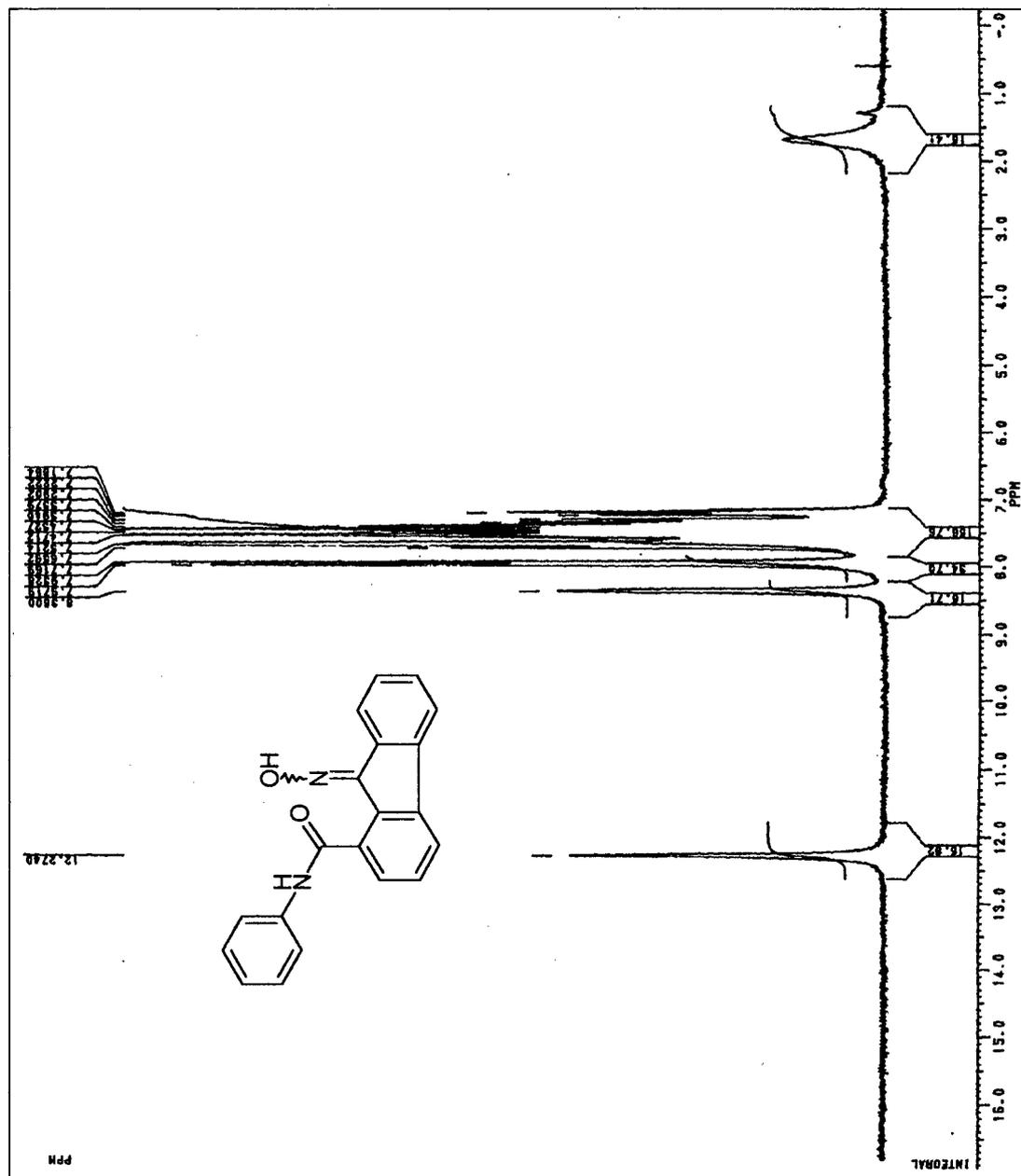


Figura 21 - Espectro de RMN - ^1H para 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (**III_b**), em CDCl_3 .

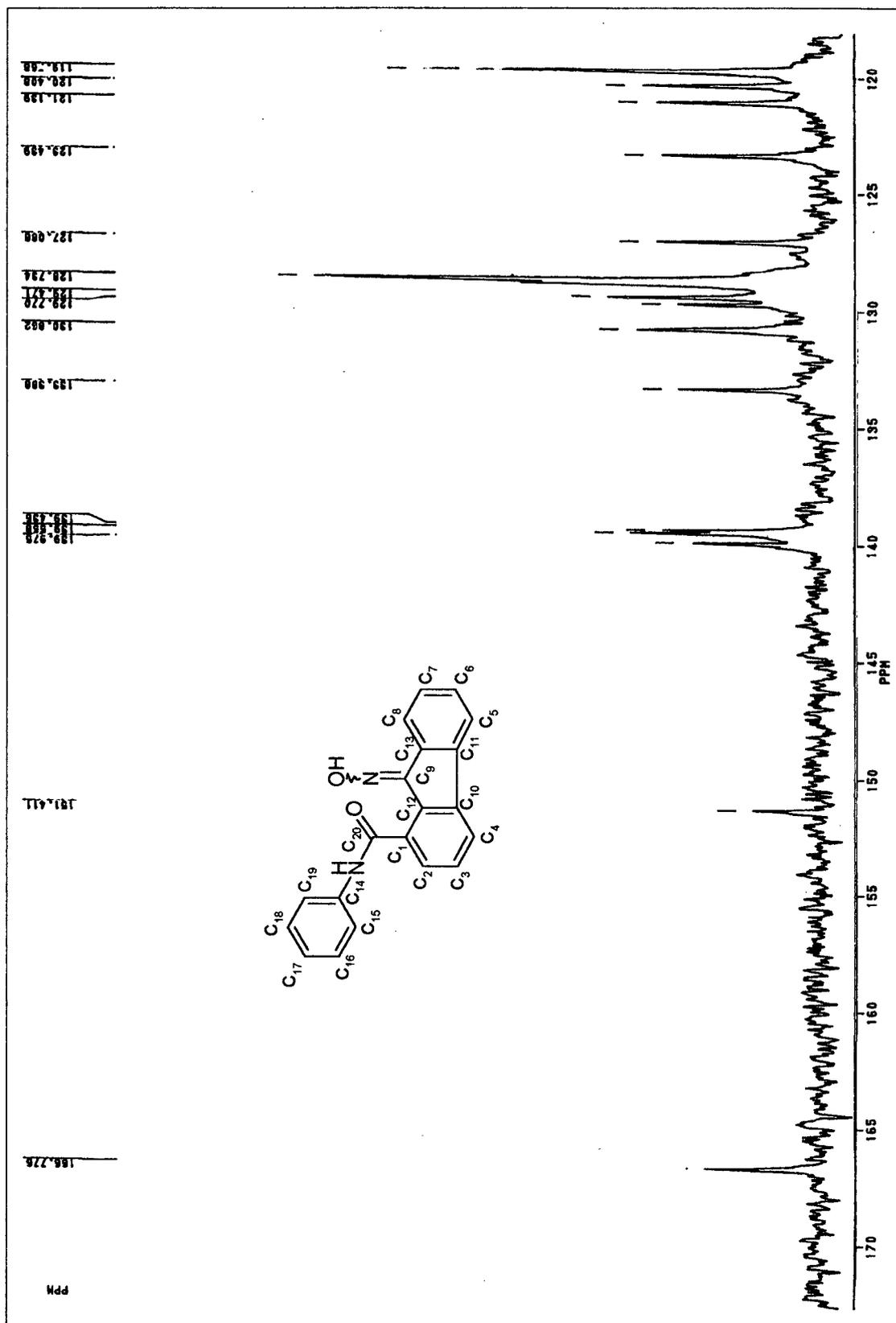


Figura 22 - Espectro de RMN - ^{13}C para 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (III_b), em DMSO-d_6 .

3.1.4 - 9-Oximinofluoreno-1-propil éster (IV)

O Espectro de UV-Visível do composto IV está representado na **Figura 23**, e apresenta absorbância máxima em 257 nm em H₂O.

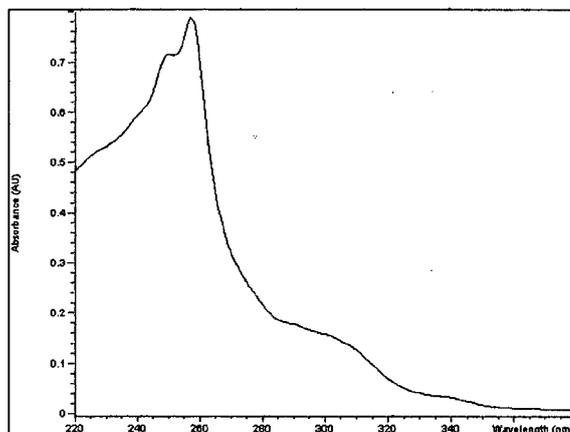


Figura 23 - Espectro de UV-Visível para a 9-hidroximinofluoreno-1-propil éster, 10^{-3} M, em H₂O, 25° C.

No estudo do espectro de IV do composto IV (**Figura 24**), notam-se as absorções que identificam os principais grupos funcionais presentes neste composto, e foram interpretadas da seguinte forma: $\nu_{(N-OH)} = 3252$; $\nu_{s(C-H, Ar)} = 3068$; $\nu_{as(CH_3)} = 2960$; $\nu_{as(CH_2)} = 2930$; $\nu_{s(CH_3)} = 2874$; $\nu_{(RO(C=O))} = 1718$; $\delta_{s(C=C)} = 1602$, $\delta_{s(CH_2)} = 1472$; $\delta_{s(C=N)} = 1438$; $\delta_{(C-CO-O)} = 1308, 1280$; $\delta_{(O-C-C)} = 1186, 1142$ e $\delta_{(C-H, Ar)} = 752, 736$ cm⁻¹.

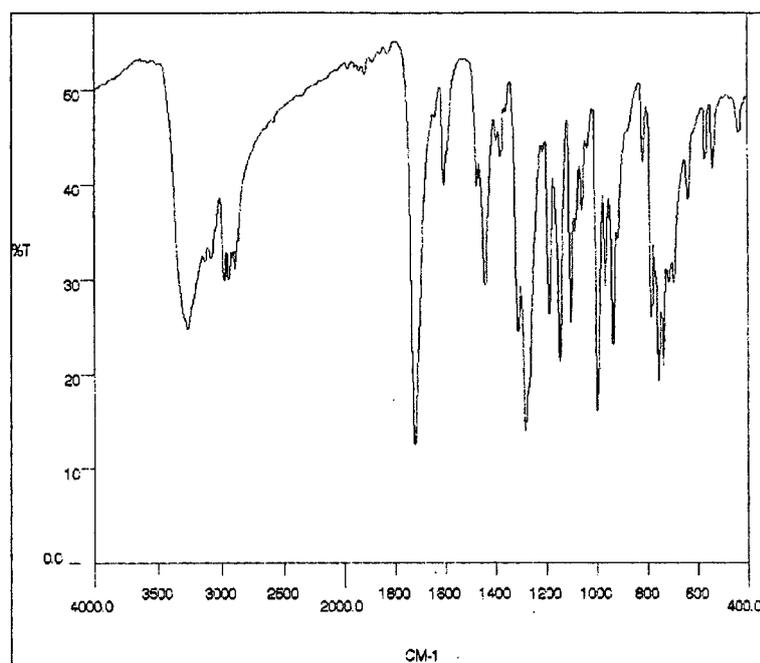


Figura 24 - Espectro de infravermelho da 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster, em pastilha de KBr.

A análise da multiplicidade dos sinais e da integração de área do RMN - ^1H para **IV** (**Figura 25**), permite, numa primeira inspeção, a atribuição dos sinais, conforme a **Tabela 10**.

Tabela 10 - Dados de RMN - ^1H da 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster (**IV**).

Composto	Multiplicidade	número de prótons	δ (ppm)
IV Ar - H*	Dupleto	1	8,60
Ar - H*	-	3	7,80 - 7,60
Ar - H*	Quinteto	3	7,32
-CH ₂ *- (OC=O)	Triplete	2	4,28
-CH ₂ *-CH ₃	Multiplete	2	1,73
=N-OH*	Singleto	1	1,62
-CH ₂ -CH ₃ *	Triplete	3	0,96

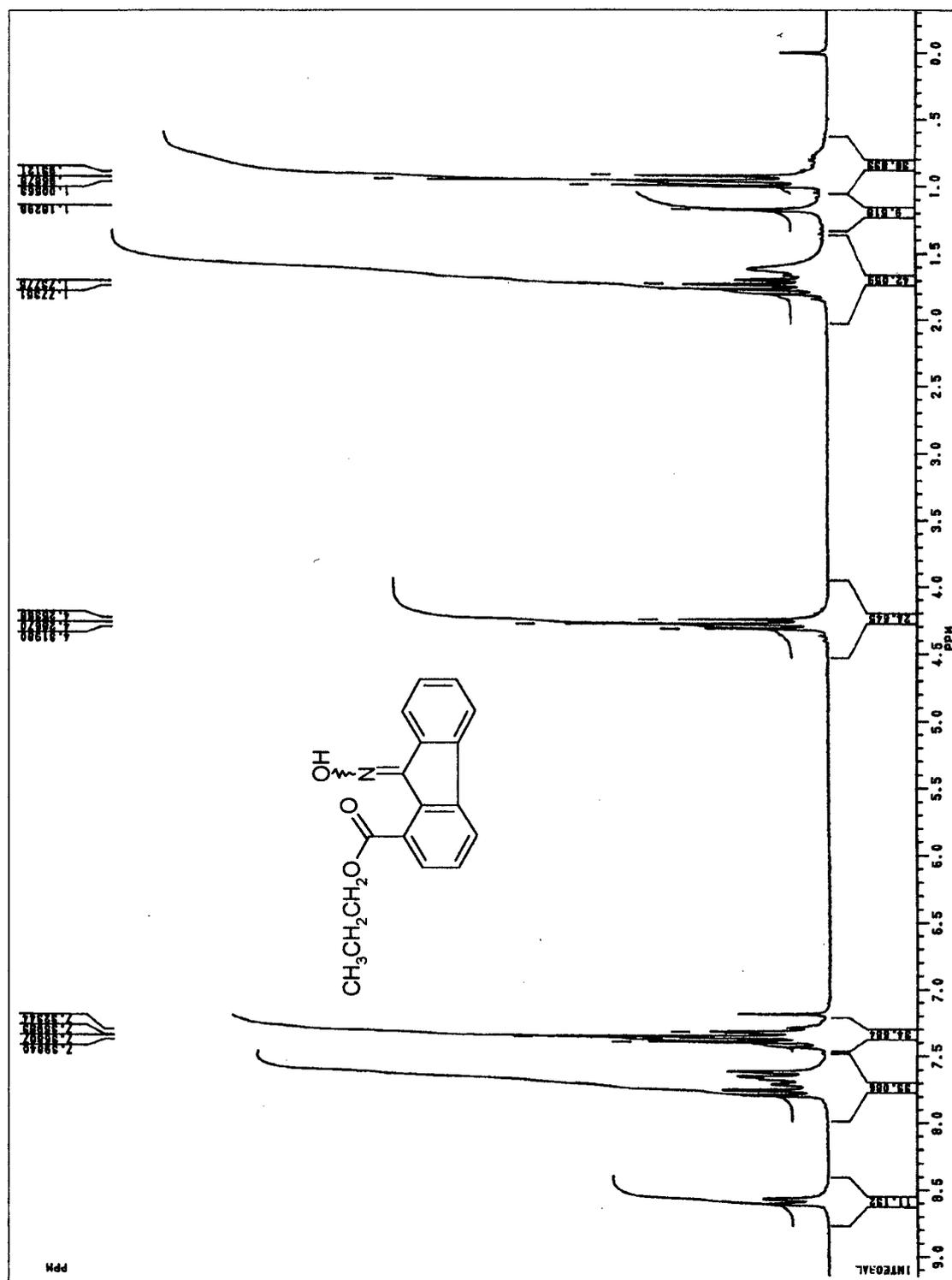


Figura 25 - Espectro de RMN - ^1H para 9-hidroxiiminofluoreno-1-propiléster (IV), em CDCl_3 .

3.1.5 - Ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico (V)

O composto V (p.f.= 274,0 - 275,0° C; lit⁴⁴= 275,0° C), foi também caracterizado por espectroscopia de UV-Visível, **Figura 26**, e apresenta absorvância máxima em 258 nm em H₂O.

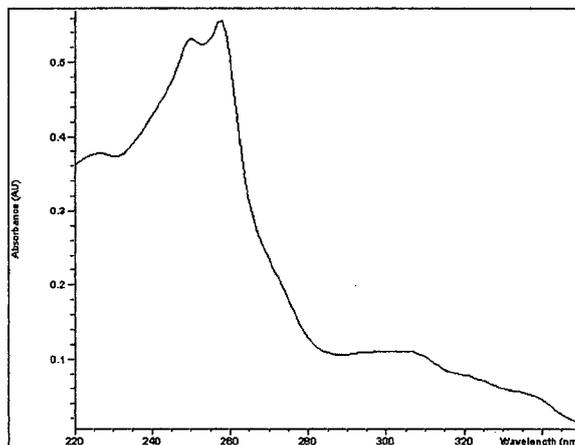


Figura 26 - Espectro de UV-Visível para o ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico, 10^{-3} M, em H₂O, 25° C.

O espectro de IV do composto V (**Figura 27**), mostra absorções que identificam os principais grupos funcionais presentes na molécula, e foram interpretadas da seguinte forma: $\nu_{(OH)} = 3458$; $\nu_{s(C-H, Ar)} = 3054$; $\nu_{s(CH_3)} = 2850$; $\nu_{as(CH_3)} = 2976$; $\nu_{as(CH_2)} = 2946$; $\nu_{(HO(C=O))} = 1676$; $\delta_{s(C=C)} = 1600, 1572$; $\nu_{(C=N)} = 1444$, $\nu_{(C-C-OH)} = 1330$, $\delta_{(C-H, Ar)} = 772, 746, 726 \text{ cm}^{-1}$.

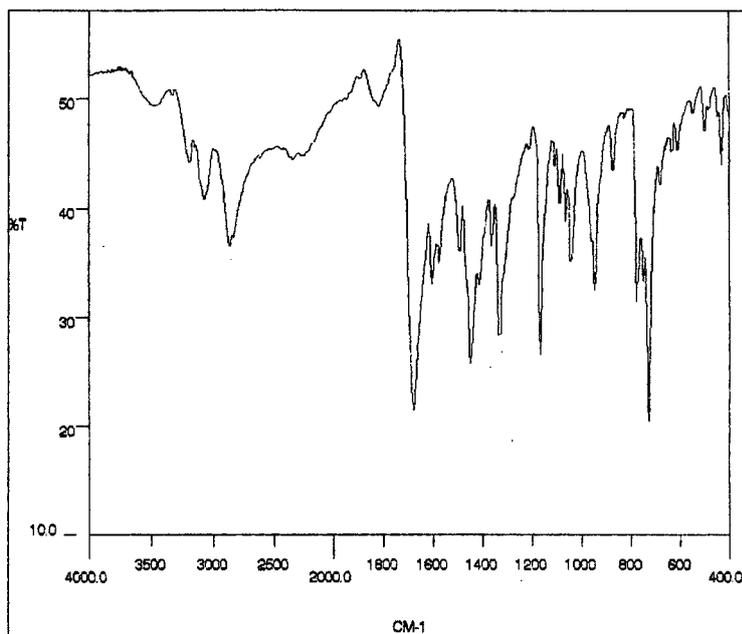


Figura 27 - Espectro de infravermelho do ácido 9-hidroxiimino-fluoreno-1-carboxílico, em pastilha de KBr.

A análise da multiplicidade dos sinais e da integração de área do RMN - ^1H para **V** (**Figura 28**), permite a atribuição dos sinais, conforme descrito na **Tabela 11**.

Tabela 11 - Dados de RMN - ^1H do ácido 9-hidroxiimino-fluoreno-1-carboxílico (**V**).

	Acoplamento	número de prótons	δ (ppm)
*H-OC=O	Singlete	1	13,40
=N-OH*	Singlete	1	13,00
Ar - H*	Duplete	1	8,38
Ar - H*	Triplete	2	7,97
Ar - H*	Multiplete	4	7,49

O espectro de RMN - ^1H do composto **V** mostra em 13,40 e 13,00 ppm, dois sinais em forma de singletes, correspondentes a um próton cada, dos grupamentos ácido e oxima, respectivamente. Na faixa de 8,38 a 7,49 ppm encontram-se os prótons aromáticos.

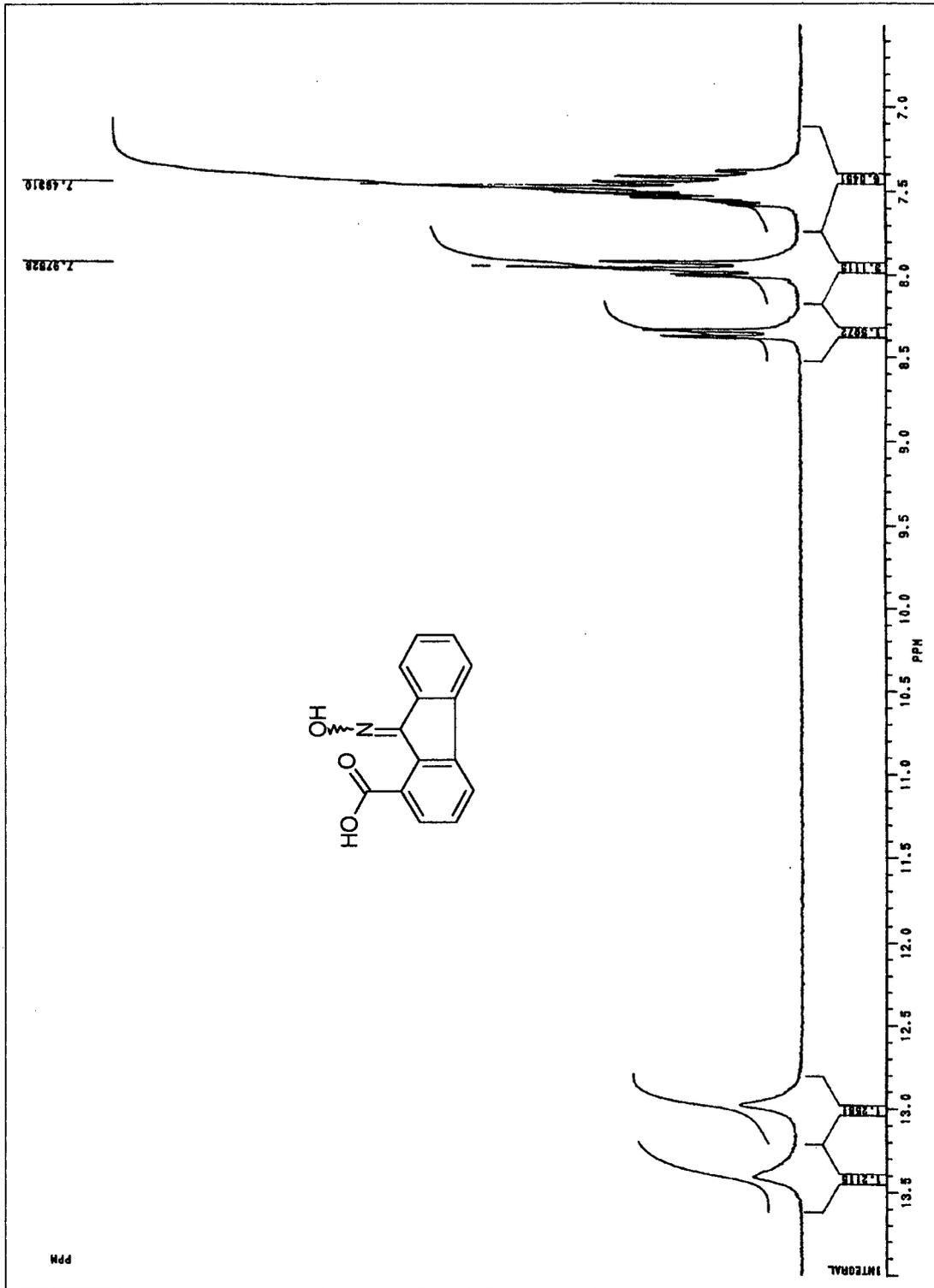


Figura 28 - Espectro de RMN - ^1H para o ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico (V), em DMSO-d_6 .

3.1.6 - Cetoortoxazina (VI)

O composto VI (p.f.= 223,0 - 225,0° C; lit^{42,43} = 224,0-225,0° C), foi caracterizado por espectroscopia de UV-Visível, **Figura 29**, e apresenta absorvância máxima em 258 nm em H₂O.

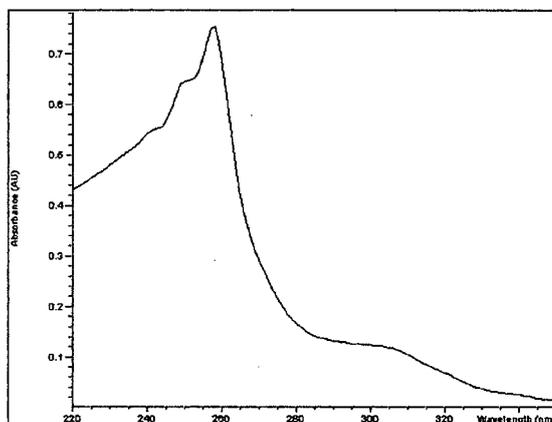


Figura 29 - Espectro de UV-Visível para a cetoortoxazina, 10⁻³ M, em H₂O, 25° C.

A análise da multiplicidade dos sinais e da integração de área do RMN - ¹H para VI (**Figura 30**), permite a atribuição dos sinais, conforme a **Tabela 12**.

Tabela 12 - Dados de RMN - ¹H da cetoortoxazina (VI)

	Acoplamento	número de prótons	δ (ppm)
Ar - H*	Triplete	1	8,20
Ar - H*	Multiplete	4	7,92
Ar - H*	Duplo duplete	1	7,60
Ar - H*	Duplo duplete	1	7,48

O RMN - ¹H apresenta somente prótons aromáticos situados na faixa de 8,20 a 7,48 ppm, coincidentes com os dados descritos na literatura.⁴²

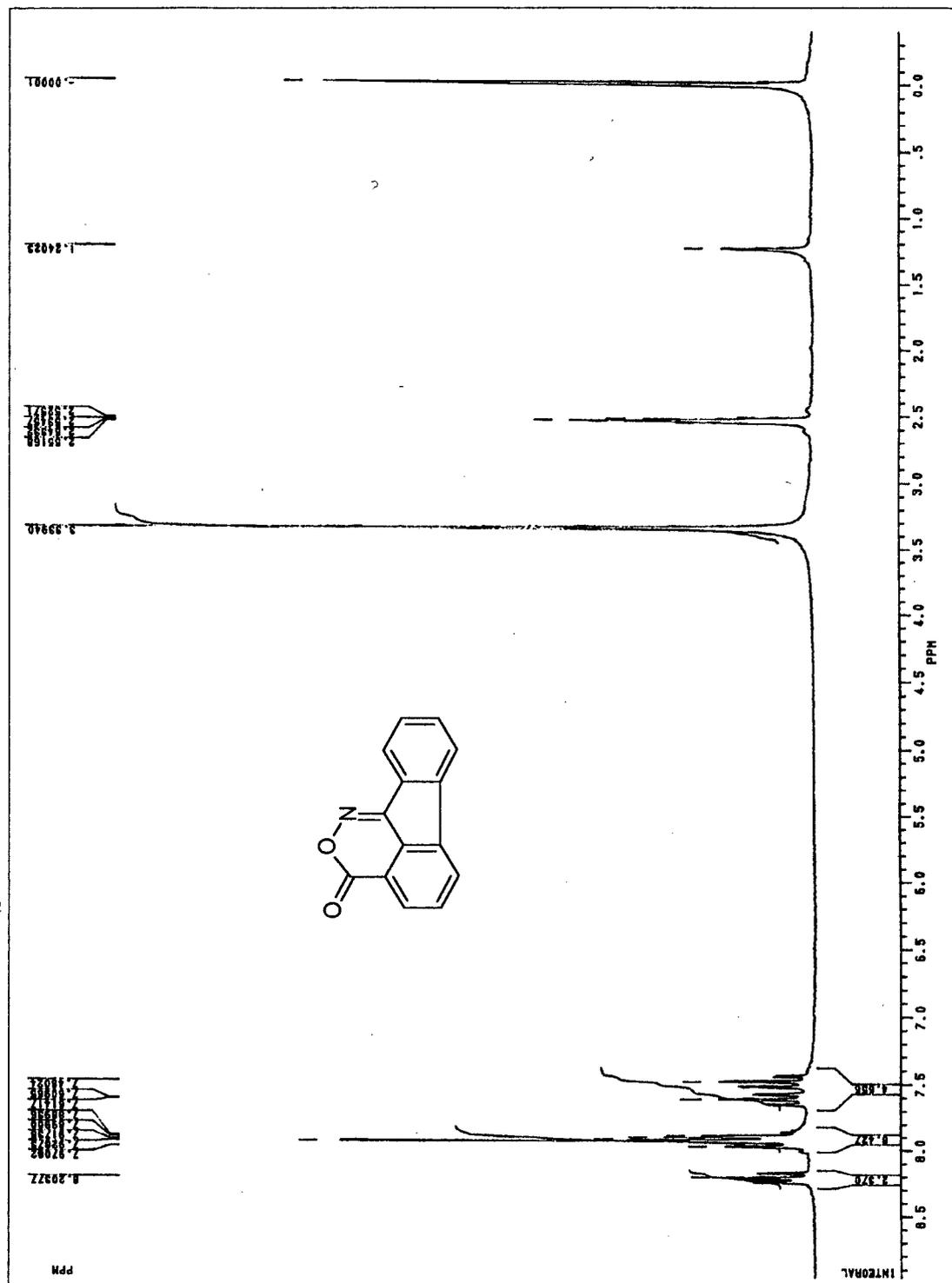


Figura 30 - Espectro de RMN - ^1H para ketoortoxazina (VI), em DMSO-d_6 .

3.2 - ESTUDOS CINÉTICOS

3.2.1 - Hidrólise intramolecular da 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster (IV)

A reação de hidrólise da 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster (IV) foi estudada na região de pH=0 a 8 a 35° C. Entretanto, uma mudança espectral significativa só foi observada para valores próximos a pH=0. A **Figura 31** mostra a variação espectral obtida na hidrólise de IV em pH=0. O espectro final é idêntico daquele reportado para a 9-fluorenona-1-propil éster (II), **Figura 10**.

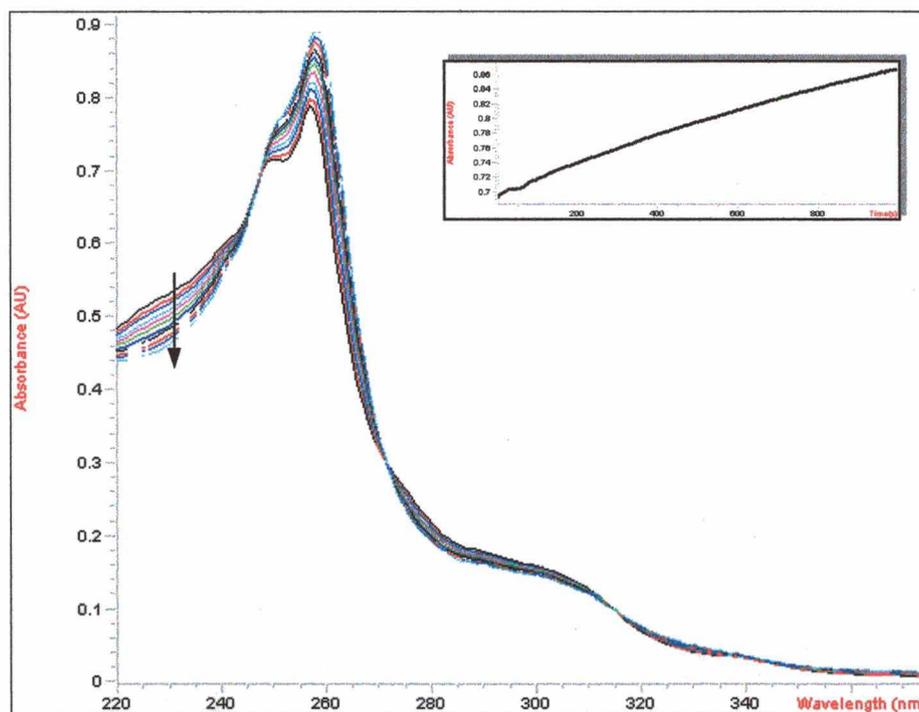
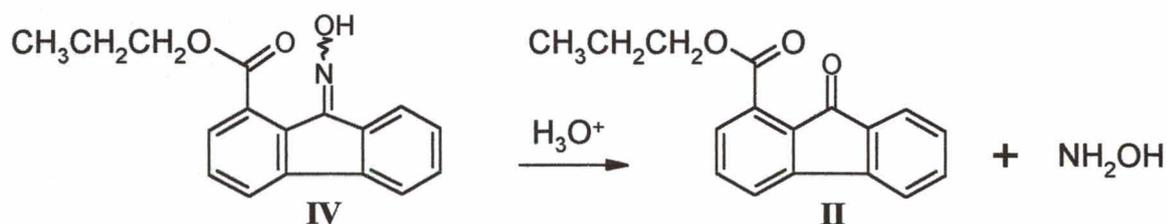


Figura 31 - Variação espectral na hidrólise da 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster, pH = 0 a 35° C, num tempo total de 1000s. A variação de absorbância (260nm) em função do tempo está inserida.

Tal observação, implica supor que na reação de hidrólise do grupo éster, esteja ocorrendo simultaneamente a reação de hidrólise do grupo oxima, **Esquema 06.**



Esquema 06

Logo, devido a falta de estabilidade da oxima, este composto não serve como modelo para estudo de reações intramoleculares. Assim, um estudo cinético e mecanístico mais detalhado seria irrelevante para os objetivos propostos.

3.2.2 - Hidrólise intramolecular da 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida

A escolha da 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (**III_b**), como modelo, é justificada em termos da variação de absorvância esperada na reação de hidrólise destes compostos, e no fato da anilina ser um bom grupo de saída. A seguir pode-se observar a variação da absorvância em diversos comprimentos de onda para a reação de hidrólise de **III_b** em HCl 1 M a 35° C, **Figura 32.**

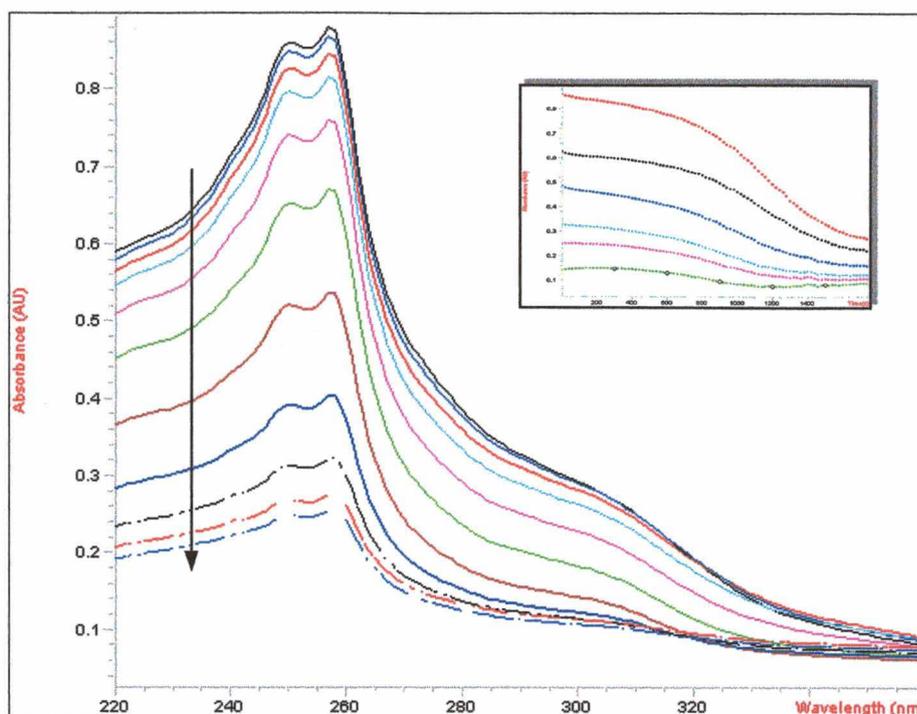


Figura 32 - Variação espectral na hidrólise da 9-oximinofluoreno-1-fenilamida, HCl 1 M a 35° C, num tempo total de 2000s. A variação de absorbância (220, 240, 260, 280, 300, 320nm) em função do tempo está inserida.

Como a **Figura 32** mostra, houve como esperado uma grande variação de absorbância em 260 nm, entretanto, o perfil cinético para este composto é extremamente complexo e de difícil quantificação.

Ao se estudar a reação de hidrólise do análogo bimolecular de **III_b**, 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**), **Figura 33**, pode-se observar que assim como para **III_b**, a cinética é complexa. Os perfis cinéticos observados, **Figuras 32** e **33**, são típicos de reações consecutivas em todos os comprimentos de ondas observados.

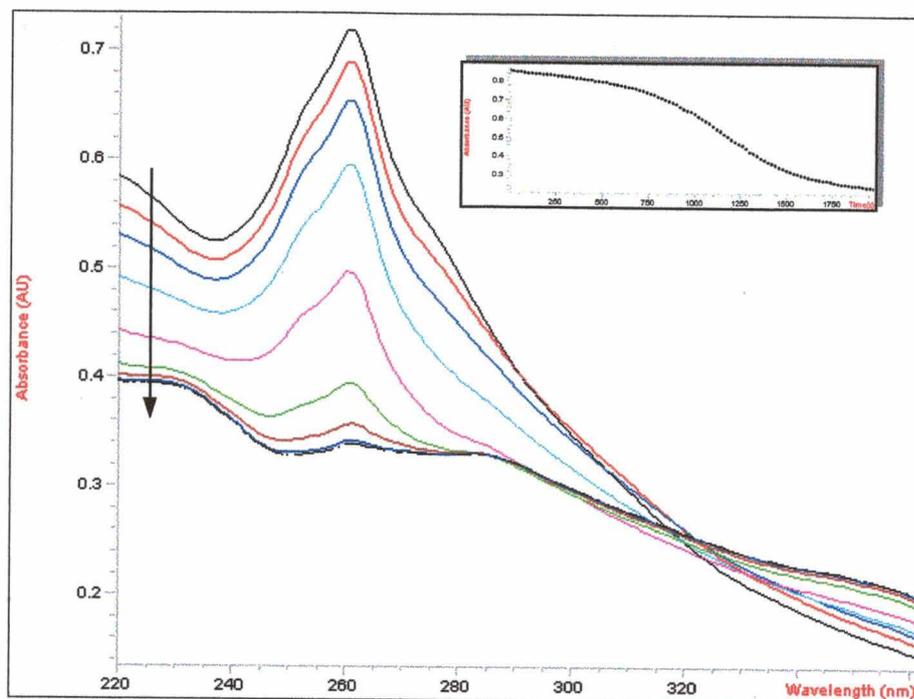
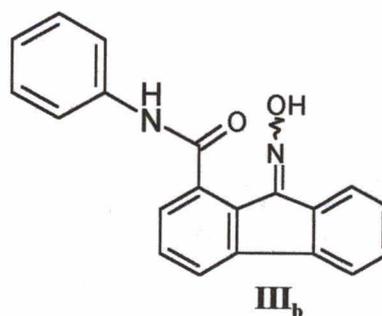
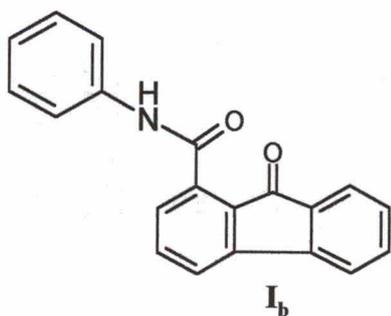


Figura 33 - Variação espectral na hidrólise da 9-fluorenona-1-fenilamida, HCl 1 M a 35° C, num tempo total de 2000s. A variação de absorbância (260nm) em função do tempo está inserida.

A reação foi examinada a diferentes valores de acidez e em todos os casos o comportamento observado foi semelhante. Adicionalmente, a escala de tempo da reação de hidrólise de **I_b** e **III_b** é semelhante. Por estas razões não foi realizado um estudo cinético detalhado.



3.2.3 - Hidrólise intramolecular da 9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida

A reação de hidrólise da 9-hidroxiimino fluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_a**) foi estudada na região de $H_0 = -2,12$ a $\text{pH} = 8,5$ a 35°C , entretanto, uma mudança espectral significativa só foi observada para valores de $H_0 < -0,69$. A **Figura 34** mostra a variação espectral obtida na hidrólise de **III_{ae}** em $H_0 = -1,76$. O espectro final é idêntico daquele reportado para a cetoortoxazina (**VI**), **Figura 29**. A cinética apresenta um comportamento aparentemente típico de reações consecutivas, caracterizado por um rápido aumento de absorvância inicial, seguido de uma mudança mais lenta.

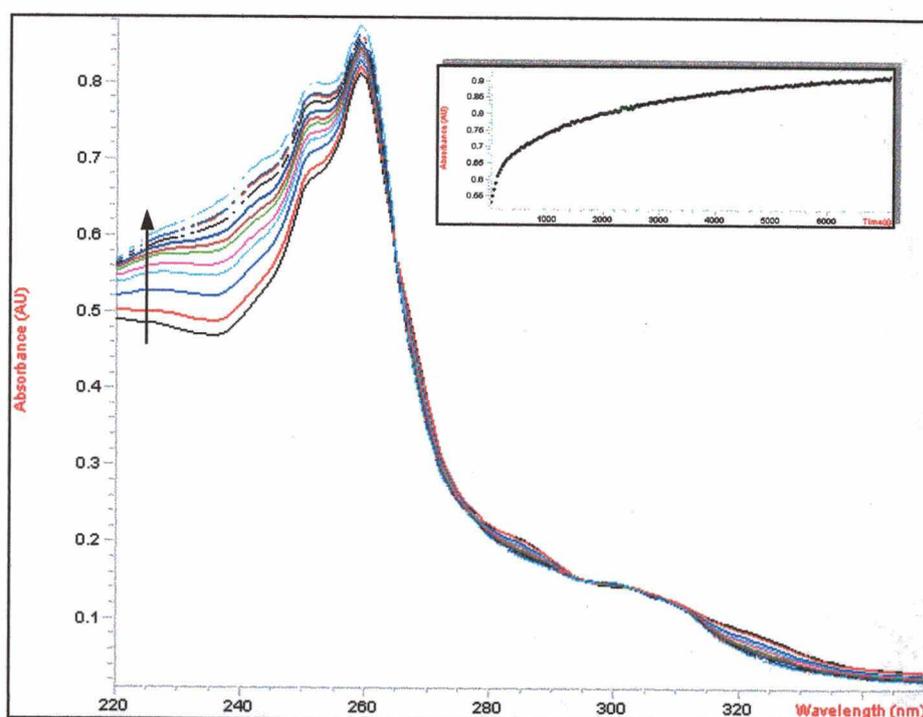


Figura 34 - Variação espectral na hidrólise da 9-oximino fluoreno-1-N,N-dipropilamida, $H_0 = -1,76$ a 35°C , num tempo total de 7100s. A variação de absorvância (236nm) em função do tempo está inserida.

Em um experimento adicional acompanhou-se a reação de ciclização do ácido 9-hidroxiimino fluoreno-1-carboxílico (**V**), em HCl 1M e temperatura de

35° C, **Figura 35**. Como sugerem os espectros, o composto **V** é ciclizado a **VI**, **Esquema 07**.

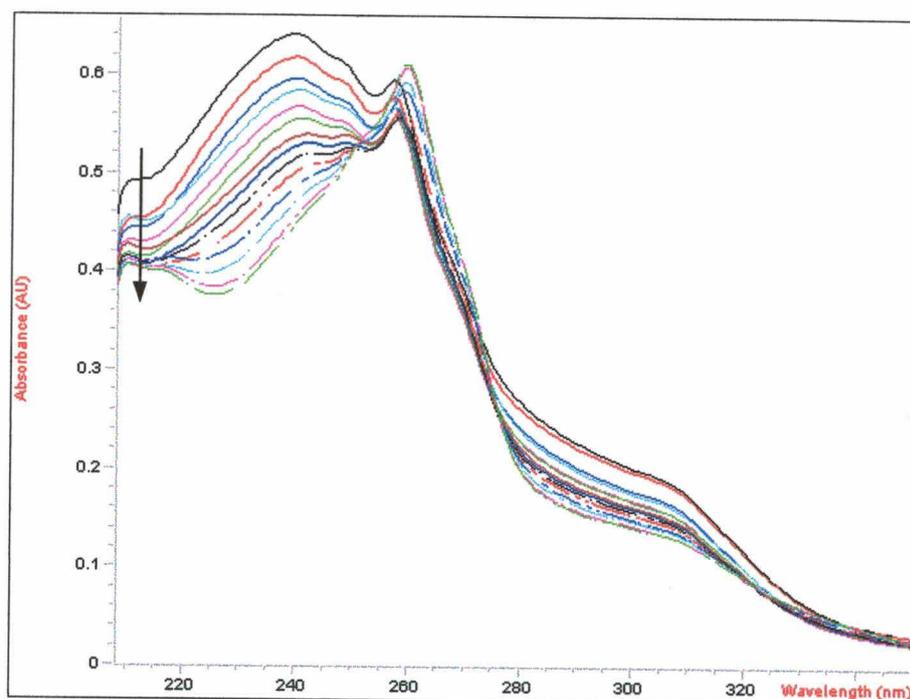
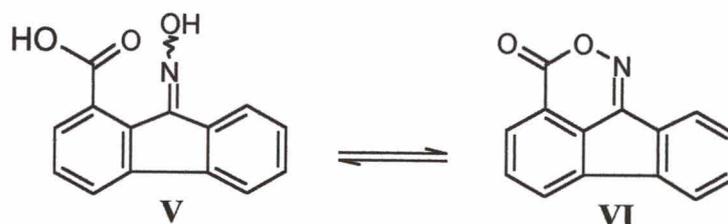


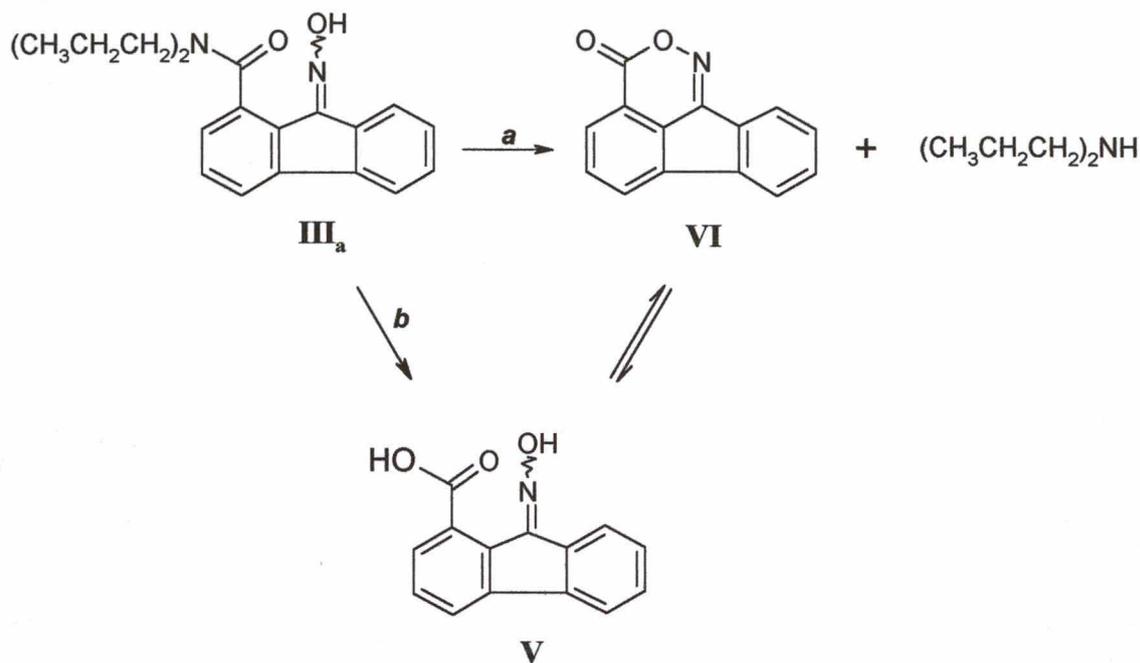
Figura 35 – Variação espectral na hidrólise do ácido 9-hidroxiiminofluoreno-1-carboxílico, HCl 1M a 35° C, num tempo total de 1500s.



Esquema 07

O tempo total para esta reação (1500s) é menor que aquele da reação de hidrólise da amida (**III_a**). Assim o **Esquema 08** descreve adequadamente as observações, incluindo o equilíbrio entre o composto cíclico e a oxima do ácido na reação de hidrólise de **III_a**. Sendo que de fato a formação do composto heterocíclico pode ter sido direta, ou após a hidrólise da amida para a formação inicial da oxima do ácido. A participação do grupamento hidroxila

num caso seria como um nucleófilo intramolecular (*a*), no outro como catalisador ácido geral (*b*).



Esquema 08

A hidrólise do composto 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**) pode servir de referência comparativa, já que a estrutura é idêntica ao composto **III_a**, exceto pela ausência da oxima. Como pode ser vista na **Figura 36**, em 43200s a variação espectral é insignificante, dificultando uma análise cinética confiável. Este resultado é razoável já que a N,N-dimetilbenzamida⁴⁸ mostra um tempo de meia vida de aproximadamente 2900s, em presença de HCl 3,6 M, a 100,4° C. Na hidrólise da N,N-dimetilbenzamida, observa-se que há um decréscimo de 10 vezes na constante de velocidade a cada 25° C. Considerando este efeito o tempo de meia vida a 35° C seria na faixa de 8×10^5 s, resultado consistente com os resultados mostrados na **Figura 36**.

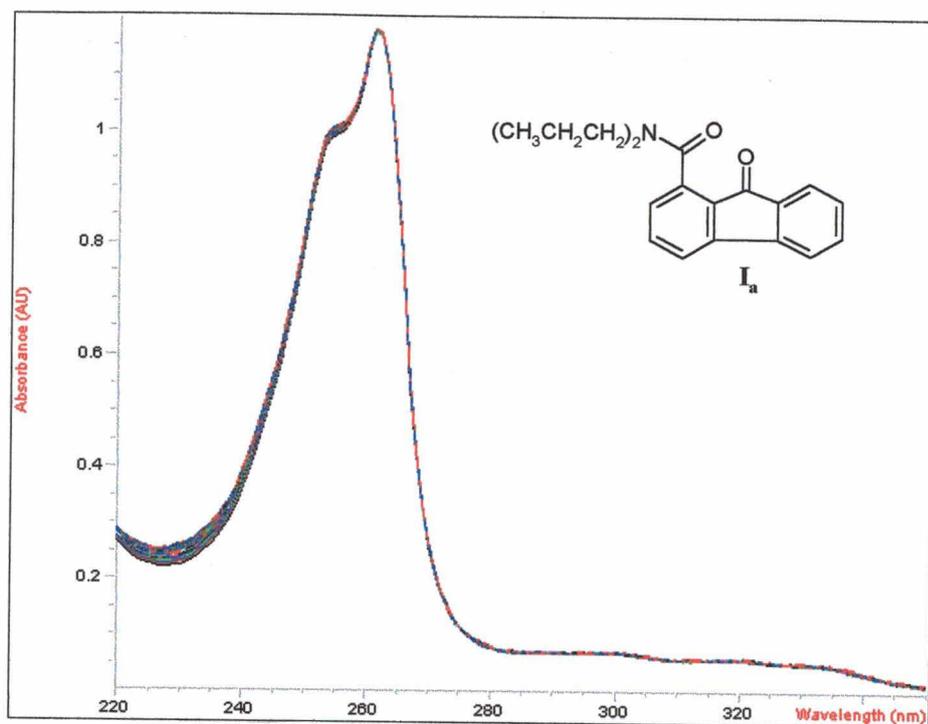


Figura 36 – Variação espectral na hidrólise da 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**), $H_0 = -1,76$ a 35°C , num tempo total de 43200s.

3.3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os compostos modelo e seus ceto análogos sintetizados são inéditos, e foram preparados com o principal objetivo da realização dos estudos cinéticos. Assim, nas sínteses, após a obtenção de quantidades suficientes dos produtos para este fim, não nos preocupamos com a otimização dos rendimentos.

A presença do grupo hidroxila no grupamento oxima dos compostos 9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_a**), 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (**III_b**) e 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster (**IV**) derivados do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, presumidamente atuaria assistindo anquiméricamente a hidrólise intramolecular dos grupamentos amidas, nos compostos **III_a** e **III_b**, e éster no composto **IV**, aumentando a velocidade quando comparado com seus ceto análogos em reações intermoleculares. Estes compostos foram sintetizados para servirem como compostos modelo, não miméticos, para catálise enzimática.

A síntese do composto 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**) teve em sí a importância de nos revelar uma relevante propriedade do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico. A metodologia utilizada para a preparação de **I_a** é bastante conhecida na literatura para preparação de amidas, e implica na preparação do cloreto do ácido, seguido da reação do mesmo com a amina escolhida. No entanto, as condições da síntese variam enormemente com o tipo de ácido utilizado, e após muitas tentativas de se preparar o cloreto de ácido, sem sucesso, observou-se a formação de um subproduto de cor amarela e de ponto de fusão definido, identificado como sendo a 9-fluorenona (p.f.=84,4°C; lit⁴¹=84,0°C), ou seja, o produto da descarboxilação do ácido. A descarboxilação de ceto-ácidos é bastante conhecida, entretanto nenhuma informação a respeito da descarboxilação deste composto encontra-se na literatura. Experimentalmente, chegou-se a

conclusão de que para evitar tal descarboxilação, a temperatura deveria ser menor que 35° C.

Na síntese do composto 9-oximinofluoreno-1-N,N-dipropilamida (**I_a**), foram obtidos dois compostos diferentes como produtos da síntese, visualizados por CCD, com índices de retenção em sílica bem diferentes, sendo assim possível separá-los por cromatografia de coluna. Os dois compostos isolados possuíam pontos de fusão diferentes e a confirmação de se tratarem de dois isômeros da oxima (*E-Z*) veio com seus espectro de RMN – ¹H, Figuras 17 e 19, onde observam-se os prótons alquílicos do grupo amida, os prótons aromáticos e os prótons da hidroxila do grupo oxima em 10,80 e 9,40 ppm em CDCl₃. Atribui-se a conformação de *Z* (*zusammen*=junto) e *E* (*entgegen*=oposto), posição da hidroxila em relação ao anel substituído, aos compostos com deslocamento dos prótons dos grupos hidroxilas em 10,80 e 9,40 ppm, respectivamente. Tal atribuição vem do fato de ser conhecido que em compostos com grupos oximas que formam pontes de hidrogênio intramolecularmente, há um forte deslocamento do próton hidroxila para campo baixo⁴⁹, o que é possível apenas para o composto **III_{az}**.

Resultados preliminares do estudo por cálculos teóricos destes compostos, realizados pelo método semi-empírico AM1, mostram uma distorção na geometria do anel benzênico substituído de **III_{az}** (Figura 37), devido uma forte repulsão entre os grupos amida e oxima, isto implica numa diferença no calor de formação de 9,0 kJ.mol⁻¹ a mais com relação ao isômero **III_{ae}**. Esta maior estabilidade relativa de **III_{ae}**, é confirmada comparando-se os rendimentos obtidos nas suas sínteses (24% e 74% para **III_{az}** e **III_{ae}**, respectivamente).

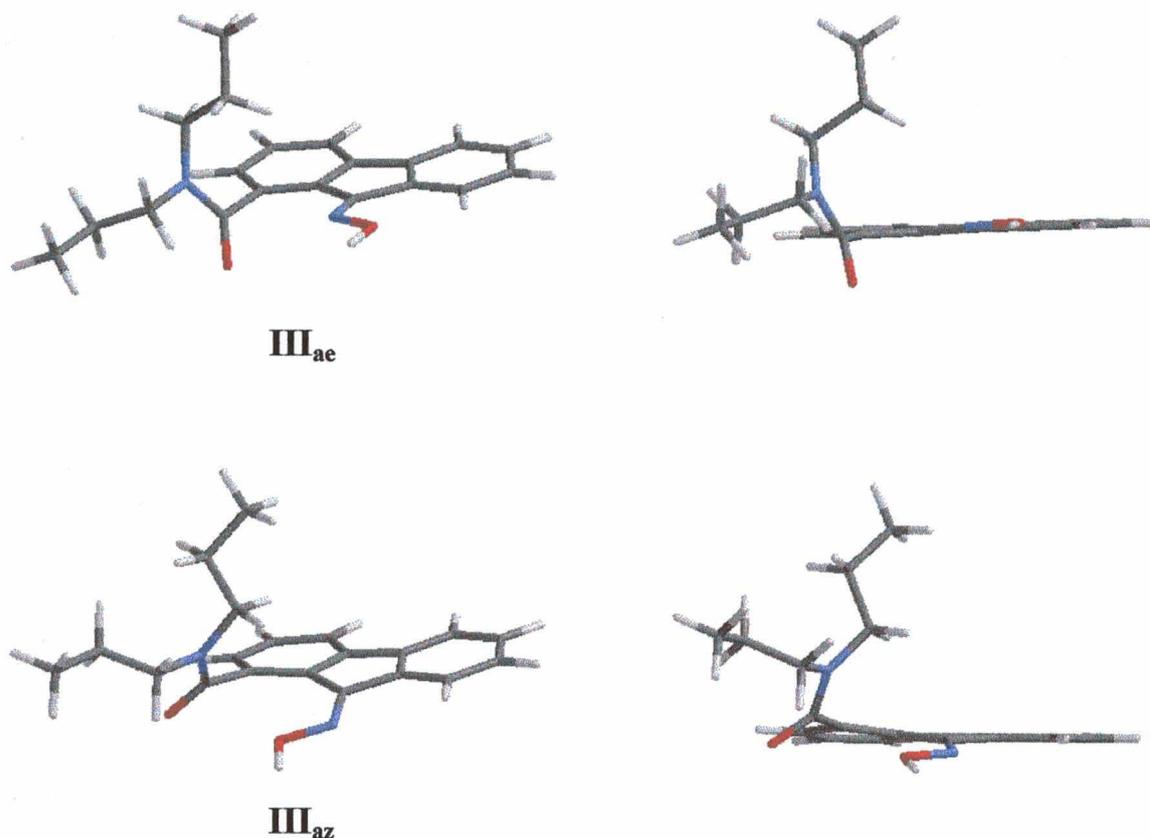


Figura 37 – Geometrias otimizadas pelo método AM1 para os compostos III_{az} e III_{ae} . Ao lado estão representadas as respectivas projeções frontais.

A interconversão entre os isômeros (III_{az} e III_{ae}) ocorre facilmente em solventes fortemente polares. Como pode-se ver, em DMSO- d_6 , **Figuras 18 e 20**. Os prótons do grupo oxima antes situados em 10,80 e 9,40 ppm (em CDCl_3), agora se apresentam em 12,50 ppm. A isomerização (*Z-E*) em oximas, é conhecida e atribuída a dois possíveis processos.⁵⁰ Um corresponde a inversão do grupo hidroxila ligado ao nitrogênio passando por um estado de transição *sp*-hibridizado (*a*), e outro a verdadeira rotação em torno da ligação $\text{C}=\text{N}$ (*b*), **Figura 38**.

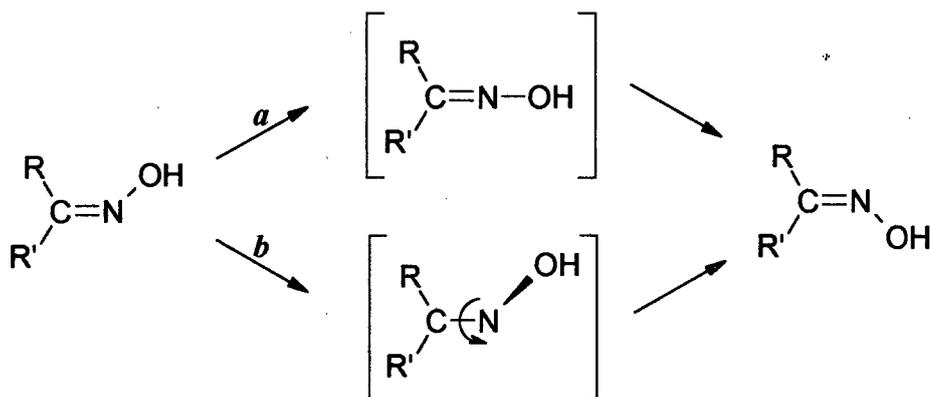


Figura 38 - Mecanismos de inversão e rotação em oximas.

A presença de um solvente fortemente polar, como o DMSO, beneficia tanto um como outro mecanismo. A quebra da ponte de hidrogênio intramolecular pelo DMSO irá permitir que ocorra a inversão do nitrogênio (*a*). No mesmo sentido, a tendência natural de polarização dos elétrons π da ligação $C=N$ é favorecida pela presença do DMSO, diminuindo a energia de ativação em torno da ligação, permitindo assim, sua livre rotação (*b*).

Nos estudos cinéticos, apenas a hidrólise intramolecular da 9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida mostrou um comportamento esperado, como modelo não-mimético.

Dos experimentos acima relatados pode se inferir que a reação de hidrólise da amida (**III_{ae}**) ocorre intramolecularmente com a formação da cetoortoxazina. E embora a cinética das reações sejam complexas, os espectros obtidos a intervalos de 30s nos leva a estimar seu tempo de meia vida de aproximadamente 600s. Comparando com a N,N-dimetilbenzamida⁴⁸, o efeito catalítico é da ordem de 10^3 vezes. Este efeito seria sugestivo de que a rota (*a*), **Esquema 08**, é preponderante, ou seja, seria efetivamente um exemplo de catálise nucleofílica intramolecular.

4 - CONCLUSÕES

Foram preparados sete compostos inéditos, sendo eles a 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida (**I_a**), 9-fluorenona-1-fenilamida (**I_b**), 9-fluorenona-1-propil éster (**II**), (*Z*)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_{az}**), (*E*)-9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida (**III_{ae}**), 9-hidroxiiminofluoreno-1-fenilamida (**III_b**) e 9-hidroxiiminofluoreno-1-propil éster (**IV**).

A determinação da isômeria (*Z-E*) em oximas, só foi possível para a 9-fluorenona-1-N,N-dipropilamida, onde os compostos foram separados e identificados com sucesso.

Resultados preliminares no estudo destes compostos por cálculos teóricos, indicam uma preferência do composto **III_a** pela conformação (*E*), com uma diferença no calor de formação de 9,0 kJ.mol⁻¹ menor em relação a (*Z*), devido a uma forte repulsão entre os grupos amida e oxima, com distorção da geometria na estrutura do anel benzênico neste composto. Tal preferência é confirmada experimentalmente, comparando-se os rendimentos obtidos para os ambos isômeros.

Os resultados obtidos revelaram que apesar da complexidade do estudo cinético das reações de hidrólise para as amidas e ésteres derivados da oxima do ácido 9-fluorenona-1-carboxílico, é evidente a participação na assistência anquimérica do grupo hidroxila na hidrólise intramolecular.

Para a 9-hidroxiiminofluoreno-1-N,N-dipropilamida, houve um aumento na velocidade de hidrólise, na ordem de 10³ vezes, comparado com compostos análogos que reagem por mecanismo bimolecular.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. VOET, D.; VOET, J.; “*Biochemistry*”, 2nd edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1995.
2. FERSHT, A. R.; “*Enzyme Structure and Mechanism*”, 2nd edition, Freeman, New York, 1985.
3. KIRBY, A. J.; *Angew. Chem.*, 1994, **106**, 573. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1994, **33**, 551.
4. GANDOUR, R. D.; “*Transition States of Biochemical Process*”, Plenum Press, New York, 1978, p. 529.
5. KIRBY, A. J.; *Adv. Phys. Org. Chem.*, 1980, **17**, 183.
6. MILSTIEN, S.; COHEN, L. A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 9158.
7. BORCHARDT, R. T.; COHEN, L.; A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 9166.
8. HILLERY, P. S.; COHEN, L. A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 2760.
9. STORM, D. R.; KOSHLAND, D. E.; *Proc. Nat. Acad. Sci. EUA.*, 1970, **66**, 445.
10. KARLE, J. M.; KARLE, L. L.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 9182.
11. BRUICE, T. C.; *Annu. Rev. Biochem.*, 1976, **45**, 331.
12. DANFORTH, A. W.; NICHOLSON, J. C.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1976, **98**, 4275.
13. FRY, J. L.; BADGER, R. C.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, **97**, 6276.
14. HERSHIFIELD, R.; SCHMIR, G. L.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, **95**, 8032.

15. STORM, D. R.; KOSHLAND, D. E.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 5805.
16. STORM, D. R.; KOSHLAND, D. E.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 5815.
17. DAFFORN, A.; KOSHLAND, D. E.; *Proc. Nat. Acad. Sci. EUA.*, 1971, **68**, 2463.
18. BENSON, S. W., "*The foundations of kinetics*". Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York, 1960.
19. BRUICE, T. C.; BROWN, A ; HARRIS, D. O.; *Proc. Nat. Acad. Sci. EUA.*, 1971, **68**, 658.
20. MENGER, F. M.; GALSS, L. E.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 5404.
21. PAGE, M. J.; JENCKS, W. P.; *Proc. Nat. Acad. Sci. EUA.*, 1978, **68**, 1678.
22. KIRBY, A. J.; *Adv. Phys. Org. Chem.*, 1980, **17**, 183.
23. KNIPE, J.O.; COWARD, J. K.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 4339.
24. DETAR, D.F.; LUTHRA, N. P.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 4505
25. BIRD, R.; STIRLING, C. J. M.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1973, 1221.
26. DAFORM, A.; KOSHLAND, D. E.; *Biochem. Res. Commun.*, 1972, **49**, 940.
27. MENGER, F. M.; VENKATARAM, U. V.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 4706.
28. MENGER, F. M.; *Tetrahedron*, 1983, **39**, 1013.
29. JENCKS, W.P.; *Acc. Chem. Res.*, 1976, **9**, 425.
30. AISNCOUGH, J. B.; CALDIN, E. F.; *J. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 4505.
31. GOLD, V.; SATCHELL, D. P. N.; *J. Chem. Soc.*, 1955, 3609.

32. BERSON, J. A.; REYNOLDS, R. D.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1955, **77**, 4434.
33. RUSSEL, G. A.; *J. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 2977.
34. BENESI, A. J.; *J. Phys. Chem.*, 1982, **86**, 4926.
35. SISIDO, M.; *Macromolecules*, 1971, **4**, 737.
36. MENGER, F. M.; *Acc. Chem. Res.*, 1985, **18**, 128-134.
37. FIRESTONE, R. A.; CHRISTENSEN, B. G.; *Tetrahedron Lett.*, 1973, **5**, 389.
38. SCHEINER, S.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 315.
39. MENGER, F. M.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 4996.
40. SHERROD, M. J.; MENGER, F. M.; *Tetrahedron Letters*, 1990, **31**, 459.
41. PAQUETTE, L. A.; KESSELMAYE, M. A.; ROGERS, R. D.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 284.
42. PAQUETTE, L. A.; O'DOHERTY, G., A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 7761.
43. "Handbook of chemistry and physics", 60th edition, CRC Press, 1979.
44. KIRPALANI, N. B.; THOAI, N.; WIEMANN, J.; *J. Indian Chem. Soc.*, 1971, **48**, 1103.
45. RESPLANDY, A.; BROUARD, J. P.; *Compte. Rendu. Acad. Sc. Paris*, 1975, **t. 280**, 669.
46. PHILLIPIS, W. D.; *J. Chem. Phys.*, 1955, **23**, 1363.
47. ChenWindow3, Versão 3.02, SoftShell International, Freeware.
48. BUNTON, C. A.; FARBER, S. J.; MILBANK, A. J. G.; O'CONNOR, C. J.; TURNEY, T. A.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1972, 1869.

49. SOHÁR, P.; *"Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy"*, Volume. II, CRC Press, Inc., Florida, p. 104, 1986.
50. ELIEL, E. L.; WILEN, S. H.; *"Stereochemistry of Organic Compounds"*, John Wiley & Sons, Inc., New York, p. 551, 1994.