



**Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Curso de Graduação em Química Bacharelado**

Hidrólise do bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato na presença de diferentes nucleófilos

Eduardo Ulisses Bastos e Silva

**FLORIANÓPOLIS/SC
NOVEMBRO - 2005**

EDUARDO ULISSES BASTOS E SILVA

**Hidrólise do bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato na presença
de diferentes nucleófilos**

Monografia apresentada ao curso de Graduação
em Química, da Universidade Federal de Santa
Catarina – UFSC, como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharel em Química

Coordenador de Estágio: Prof. Dr. Iolanda da Cruz Vieira

Orientador: Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

FLORIANÓPOLIS / SC
NOVEMBRO – 2005

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado saúde, sabedoria, paz e paciência em toda a minha caminhada na UFSC, para que a cada dia eu pudesse retornar aos estudos.

Aos meus pais, Angelo e Ana, pois deles não faltaram esforços, carinho atenção e amor, para que eu concluísse a graduação.

Aos meus irmãos, Barbara e Leonardo, pois sempre me incentivaram em continuar no curso.

A minha esposa Fabiane, que nos últimos tempos de UFSC não poupou esforços para me ajudar e apoiar para a conclusão do curso, se mostrando muito amiga e carinhosa.

A minha linda filha Sofia, que vem sendo a inspiração da minha vida.

Ao professor Faruk pela oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa, me incentivar e me contagiar com sua simpatia e seu espírito científico.

Aos colegas do Laboratório LACFI 210, pois sempre que precisei estavam presentes e dispensando suas atenções para me ajudar a resolver os problemas que apareciam em especial aos doutorandos Davi da Silva e Tiago Brandão.

Ao meu amigo Marcelo Silva, pelas longas horas de conversa sobre os assuntos da química e principalmente “filosofando” e aprendendo sobre os mistérios da vida.

A todos os meus companheiros do CALQ (Centro Acadêmico Livre de Química), já que neste espaço muitas amizades foram construídas e cultivadas.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Justificativa.....	1
1.2. Objetivos	3
1.3. Revisão Bibliográfica	4
1.3.1. Cinética Química	4
1.3.2. Reações de Substituição Nucleofílica em Ésteres Fosfóricos	7
1.3.3. O efeito α dos Nucleófilos	10
2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	12
2.1. Equipamentos.....	12
2.2. Reagentes.....	12
2.3. Estudos Cinéticos	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4. CONCLUSÃO	22
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura dos diferentes tipos de éster fosfóricos.....	1
Figura 2. Bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato (BDNPP).....	2
Figura 3. Diagrama de energia livre hipotético para uma reação; onde ΔG_0^\ddagger e ΔG_c^\ddagger são respectivamente, a energia de ativação para a reação na ausência e presença de catalisador.....	6
Figura 4. Algumas espécies nucleofílicas que apresentam o efeito α em processo nucleofílicos.....	10
Figura 5. Estruturas dos alfa nucleófilos utilizados neste trabalho.....	13
Figura 6. A. Espectros sucessivos para a reação de hidrólise do bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato na presença de benzo(1,2)dioxona-4-carboxaldoxima, GS 164, onde se pode observar o aparecimento do 2,4-dinitrofenol; B. Variação da absorbância em função do tempo, para os dados da Figura 6 A , 35,0 °C, $\mu = 1,0$ (KCl)	14
Figura 7. k_{obs} em função da concentração dos nucleófilos para a degradação do bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato, 35,0 °C, $\mu = 1,0$ (KCl),	16
Figura 8. Gráfico de Brønsted, mostrando em negrito os nucleófilos usados neste trabalho; (—) alfa-nucleófilos; (---) aminas alifáticas; (—) oxiânions simples sem efeito alfa.....	19

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Valores de pK_a dos nucleófilos e constantes de velocidade de segunda ordem para a degradação do bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato na presença de diferentes nucleófilos, 35,0 °C, $\mu = 1,0$ (KCl).18

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

BDNPP	Bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato
DNP	2,4-dinitrofenol
DNA	Ácido desoxiribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
ATP	Trifosfato de adenosina (AcP)
AcP	Acetilfosfato
GS 85	2- Furaldeido oxima
GS 113	1-Dimetilamino-propan-2-ona oxima
GS 164	Benzo(1,2)dioxona-4-carboxaloxima
GS VOX	4-hidroxi-3-metoxi-benzaloxima
GS ACA	Cloreto de 2-metilamonio-piridina

RESUMO

O estudo da química de ésteres de fosfato é uma área atraente, sendo que esses compostos estão vastamente distribuídos na natureza e não se conhece um ser vivo que não utilize a química desses compostos. Este fato foi bem destacado em uma frase de Westheimer: “todas as reações que envolvam a formação ou a quebra de ligações de ésteres fosfóricos são vitais para o entendimento dos sistemas vivos”.

Neste trabalho, avaliou-se a hidrólise do bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato (BDNPP) na presença de diferentes nucleófilos: 2-furaldoxima (GS 85); 1-dimetilamino-propan-2-ona oxima (GS 113); benzo(1,2)dioxona-4-carboxaldoxima (GS 164); 4-hidroxi-3-metoxi-benzaldoxima (GS VOX) e cloreto de 2-metilamonio-piridina (GS ACA).

A reação de hidrólise do BDNPP apresentou um comportamento que foi diretamente proporcional ao aumento da concentração do nucleófilo. A reatividade dos alfa nucleófilos foi comparada a de outros nucleófilos utilizando a relação de Brønsted. Observou-se que os nucleófilos detentores de efeito alfa são espécies com poder de ataque ao centro eletrofílico do átomo de fósforo superior do que aquele apresentado por nucleófilos sem esta especificidade estrutural.

Foi possível estabelecer uma ordem crescente de reatividade para os nucleófilos estudados nesse trabalho: GS ACA < GS164 < GS113 < GS 85. O GS 85 apresentou um resultado dentro do esperado, com um valor de constante de velocidade de segunda ordem (k_2) correspondente com aquele de outros nucleófilos alfa de mesma basicidade. No caso do GS 113 houve uma diminuição na reatividade que pode ser devida aos efeitos estéricos. Foi observado em pH 11,52 que o GS VOX não atuou como um alfa nucleófilo e sim como um oxiânion simples não detentor de efeito alfa, um fato que indica que o provável centro reacional (nucleófilo) nesse caso era o oxigênio fenólico. No caso da amina GS ACA essa se comportou como o esperado, com uma reatividade esperada para aminas alifáticas.

1 INTRODUÇÃO

1.1. Justificativa.

O átomo de fósforo é um elemento indispensável na composição da matéria viva, não se conhece um organismo vivo que não utilize a química deste elemento. Os alimentos são as grandes fontes de onde os animais absorvem o fósforo, onde grande parte dele encontra-se nos mesmos como “fosfato orgânico”, nas formas de mono e diésteres. Além de fosfatos orgânicos há polifosfatos inorgânicos e uma variedade de compostos igualmente importantes com ligações N-P (fosfocreatina, fosforiginina).¹

Os ésteres fosfóricos são extremamente numerosos e podem ser classificados em monoésteres, diésteres e triésteres de acordo com o número de grupos alquila ou arila presentes, sendo que em geral, não há exemplos conhecidos atualmente da participação dos triésteres em processos biológicos.

Os mono e diésteres do ácido fosfórico possuem uma funcionalidade adicional de acordo com o número de grupos hidroxilas na estrutura, caracterizando-se portanto como ácidos dipróticos ou monopróticos, respectivamente.

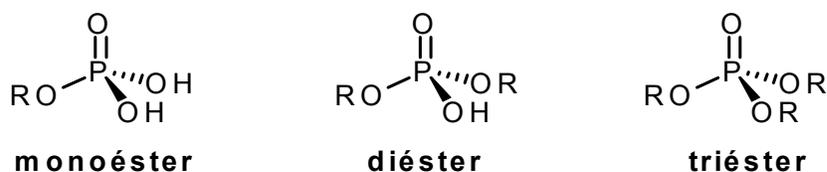


Figura 1. Estrutura de diferentes tipos de éster fosfóricos.

O corpo humano contém aproximadamente 1% em massa deste elemento e, embora esta quantidade de fósforo orgânico seja pequena, o seu papel é essencial nos processos celulares. Os ésteres fosfóricos são os principais responsáveis pelo armazenamento e transmissão de informação genética (os fosfodiésteres DNA e RNA),² participam da estrutura de várias coenzimas³ e, anidridos fosfóricos e compostos orgânicos contendo ligações N-P servem como

principal reserva de energia (trifosfato de adenosina (ATP), creatina fosfato, acetilfosfato (AcP), fosfoenolpiruvato e polifosfato inorgânico).^{4,5} Além da sua importância em processos biológicos, os ésteres fosfóricos encontram aplicações como: plastificantes, reagentes na preparação de polímeros organofosforados, complexantes para a extração de cátions de metais pesados, pesticidas e compostos tóxicos utilizados como armas de guerra.⁶

A solução encontrada pela natureza para garantir aos seres vivos a sua perpetuação se deu pelo uso das ligações P-O para formar os fosfodiésteres DNA e RNA. A evolução encontrou esta ligação como a ideal para este propósito devido à estabilidade dos diésteres fosfóricos. É interessante também observar que compostos organofosforados foram selecionados pelo homem para desenvolver pesticidas e gases de guerra. As ligações P-O são ideais para o desenho desta classe de compostos, já que torná-os resistentes à ação da água, do solo e do ar a fim de que possam atingir o seu alvo sem serem alterados quimicamente, ficando aptos para acumular nos tecidos e provocar danos aos seres vivos.

Embora o estudo da hidrólise de ésteres fosfóricos esteja bem documentado, ainda muitas perguntas permanecem sem respostas. Principalmente, destacando o papel de nucleófilos capazes de hidrolisar rapidamente ésteres fosfóricos, o que pode ser futuramente interessante no desenvolvimento de novos catalisadores para a quebra de ésteres fosfóricos extremamente resistentes, como pesticidas e gases de guerra, ou em outros processos como a terapia gênica.

O presente trabalho vem na direção de ajudar a entender as reações de hidrólise do diéster fosfórico bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato (BDNPP) na presença de diferentes nucleófilos.

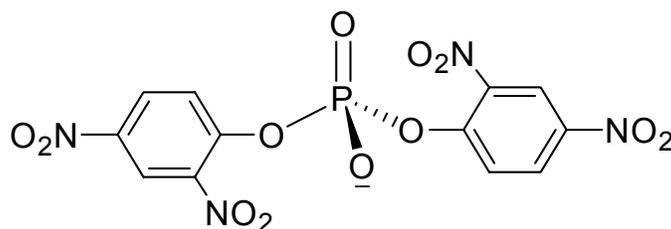


Figura 2. Bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato (BDNPP)

1.2. Objetivos

Gerais:

O objetivo principal desse trabalho é estudar a hidrólise do bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato de piridínio (BDNPP) na presença de diferentes nucleófilos.

Específicos:

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Estudar o efeito catalítico dos nucleófilos 2-furaldoxima (GS 85); 1-dimetilamino-propan-2-ona oxima (GS 113); benzo(1,2)dioxona-4-carboxaldoxima (GS 164); 4-hidroxi-3-metoxi-benzaldoxima (GS VOX) e cloreto de 2-metilamonio-piridina (GS ACA) sobre a reação de degradação do BDNPP;
- Comparar as reatividades dos nucleófilos utilizando como base o gráfico de Brønsted.

1.3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA:

1.3.1. Cinética Química:

A cinética química determina, em função do tempo de reação, as concentrações de reagentes e produtos. As velocidades de reação obtidas destas medidas são, em geral, dependentes da temperatura, força iônica, pH, entre outros fatores. Por esta razão muitas vezes as reações são estudadas sob condições em que uma ou mais destas propriedades são mantidas inalteradas, enquanto que outra propriedade de interesse é variada no curso da reação.

Há vários métodos para se acompanhar as mudanças de concentração nas reações, e dependem das espécies químicas envolvidas e da rapidez das alterações, pois as reações podem atingir o equilíbrio muito lentamente ou de forma praticamente instantânea.

Um dos métodos mais usados para o acompanhamento do avanço de uma reação é a medida espectrofotométrica da absorção de luz de uma espécie química numa certa região do espectro. Esta técnica é especialmente apropriada quando a substância possui características de absorção muito definidas numa região de fácil acesso do espectro eletromagnético.⁷

Como as velocidades de reações dependem da composição da mistura reacional, muitas vezes se verifica que a velocidade de uma reação é proporcional a concentração dos reagentes elevadas a certas potências. Por exemplo, a velocidade da reação pode ser proporcional a molaridade do reagente **A** multiplicada pela molaridade do reagente **B**, como segue, $v = k.[A].[B]$, onde cada concentração está elevada a primeira potência. O coeficiente k é a constante de velocidade que não depende da concentração, mas que pode depender de outros fatores, tal como a temperatura. A medida experimental da velocidade de reação em função da concentração dos reagentes permite deduzir uma equação que é chamada de lei de velocidade. É importante ressaltar que esta lei de velocidade só pode ser determinada experimentalmente e não pode ser deduzida de uma simples equação química.^{7,8}

Em geral, as reações são seguidas cineticamente sob condições de primeira ordem ou ainda de pseudoprimeira ordem, no último caso é especialmente importante no estudo de reações de segunda ou terceira ordem. No caso de primeira ordem, utiliza-se um grande excesso estequiométrico de todos os reagentes, exceto de um deles, de modo que somente a concentração deste reagente, efetivamente, varie com o tempo. Nos casos, onde o íon H^+ participa da reação o simples fato de tamponar a solução faz com que o pH se mantenha constante durante a reação. A dedução da equação de velocidade para estes tipos de reações pode ser obtida da derivação de uma simples reação onde apenas a concentração de um reagente varia com o tempo como segue abaixo;⁸

$$\frac{\partial[A]}{\partial t} = -k \cdot [A] \quad (1) \quad \therefore \quad \frac{\partial[A]}{[A]} = -k \cdot dt \quad (2)$$

integrando a Equação 2 tomando como limites $[A]_0$ (a concentração no $t = 0$) e $[A]$ (a concentração no tempo t) obtém-se a equação 4 que permite calcular k .

$$\int_{[A]_0}^{[A]} \frac{\partial[A]}{[A]} = -k \cdot \int_0^t dt \quad (3) \quad \therefore \quad \ln[A]_0 - \ln[A] = -k \cdot t \quad (4)$$

O tempo de meia-vida, $t_{1/2}$, que é o tempo necessário para que a concentração da espécie considerada diminua para a metade do seu valor inicial, $[A] = [A]_0/2$, pode ser calculado substituindo os valores de A na Equação 4;

$$k \cdot t_{1/2} = \ln \frac{[A]_0}{2} - \ln[A]_0 \quad (5)$$

que após simplificar permite obter a Equação 6;

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0,693}{k} \quad (6)$$

na qual se pode observar que a constante de velocidade independe da concentração inicial de reagente utilizada.

A velocidade de uma reação pode ser sensivelmente aumentada na presença de uma pequena quantidade de substância, comumente conhecida

como catalisador. A seguir, descreve-se algumas importantes particularidades com relação às características do processo de catálise de reações químicas.⁹

- O catalisador deve aumentar a velocidade da reação quando presente em pequenas quantidades;
- Deve permanecer quimicamente inalterado no fim da reação, apesar de poder participar da reação e ser regenerado posteriormente;
- Não pode alterar as variações de entalpia e de energia livre da reação, ou seja, não deve alterar o valor da constante de equilíbrio da reação.

Segundo Bender,¹⁰ a função do catalisador é prover um novo caminho reacional, no qual a etapa determinante da velocidade tem a energia livre de ativação diminuída em relação à etapa determinante da reação não catalisada. Assim, a energia do estado de transição da reação catalisada é menor que na não catalisada (**Figura 3**).

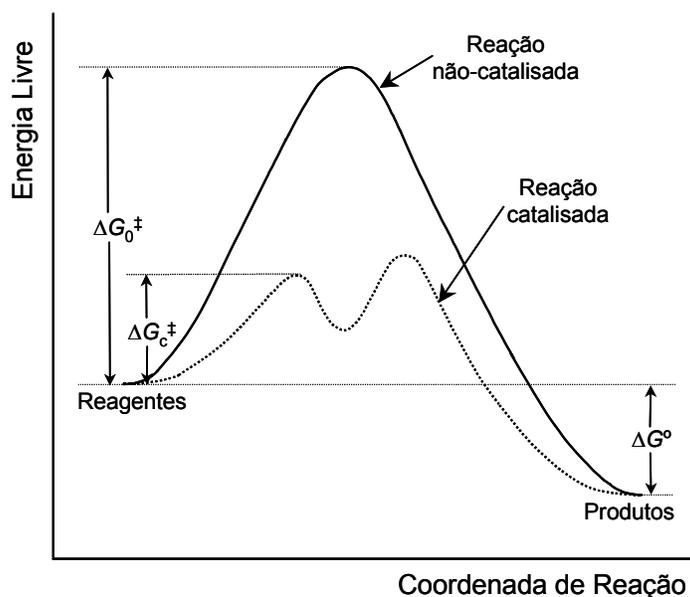
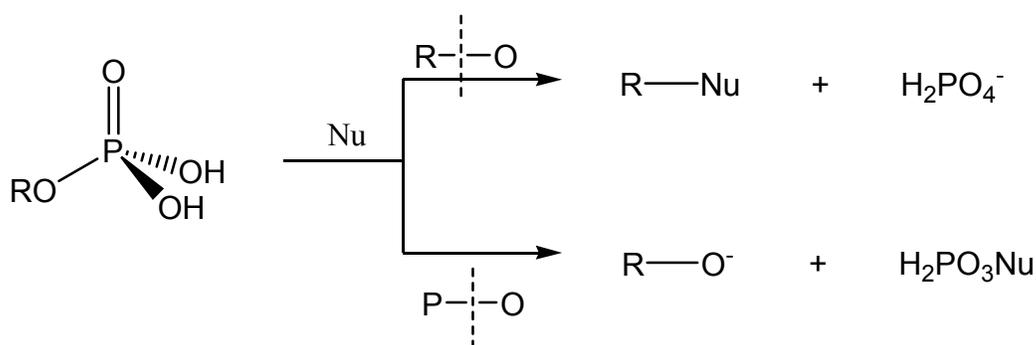


Figura 3. Diagrama de energia livre hipotético para uma reação; onde ΔG_0^\ddagger e ΔG_c^\ddagger são respectivamente, a energia de ativação para a reação na ausência e presença de catalisador.

1.3.2. Reações de Substituição Nucleofílica em Ésteres Fosfóricos

As ligações encontradas nos fosfodiésteres podem ser muito estáveis. O tempo de meia vida ($t_{1/2}$) para a hidrólise de certos ésteres fosfóricos de longe excede o tempo de vida alcançado por um ser humano. Por exemplo, o $t_{1/2}$ para a reação de hidrólise espontânea do difenil fosfato é de 180 anos a 100 °C.¹¹ A hidrólise espontânea do DNA em solução neutra é tão lenta que a constante de velocidade para este processo é desconhecida.¹² Tal estabilidade é coerente como papel fundamental do DNA na preservação da informação genética.

Em essência, dois mecanismos fundamentais para uma reação de substituição nucleofílica de ésteres fosfóricos são conhecidos. No primeiro, o átomo de carbono da ligação P-O-C do éster pode servir como eletrófilo, sendo todo o grupo fosfato substituído pelo nucleófilo. No segundo, o nucleófilo ataca o átomo central e desloca o álcool ou o alcóxido via quebra da ligação P-O, mantendo a ligação C-O intacta (**Esquema 1**).



Esquema 1

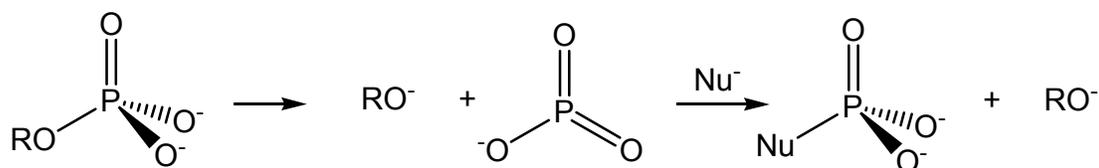
O mecanismo de quebra da ligação alquil-oxigênio somente é o caminho principal em pH baixo, onde o grupo de saída é o ácido fosfórico neutro. A hidrólise de ésteres fosfóricos, tais como o benzil e o *t*-butilfosfato, que possuem

grupos alquílicos que formam carbocátions estáveis pela quebra da ligação C-O (alquilfosfatos terciários), ocorre via um processo de ionização S_N1 .

Em pH baixo, os alquilfosfatos primários e secundários são hidrolisados através de dois mecanismos competitivos, por S_N2 com clivagem da ligação alquil-oxigênio ou por quebra da ligação P-O.¹³ Acima de pH 1,5, onde o grupo de saída fosfato possui pelo menos uma carga negativa, a hidrólise se processa principalmente via mecanismos de clivagem da ligação P-O.¹⁴ Em meios biológicos, as reações enzimáticas ocorrem na sua grande maioria por clivagem da ligação P-O do éster fosfórico.¹⁵

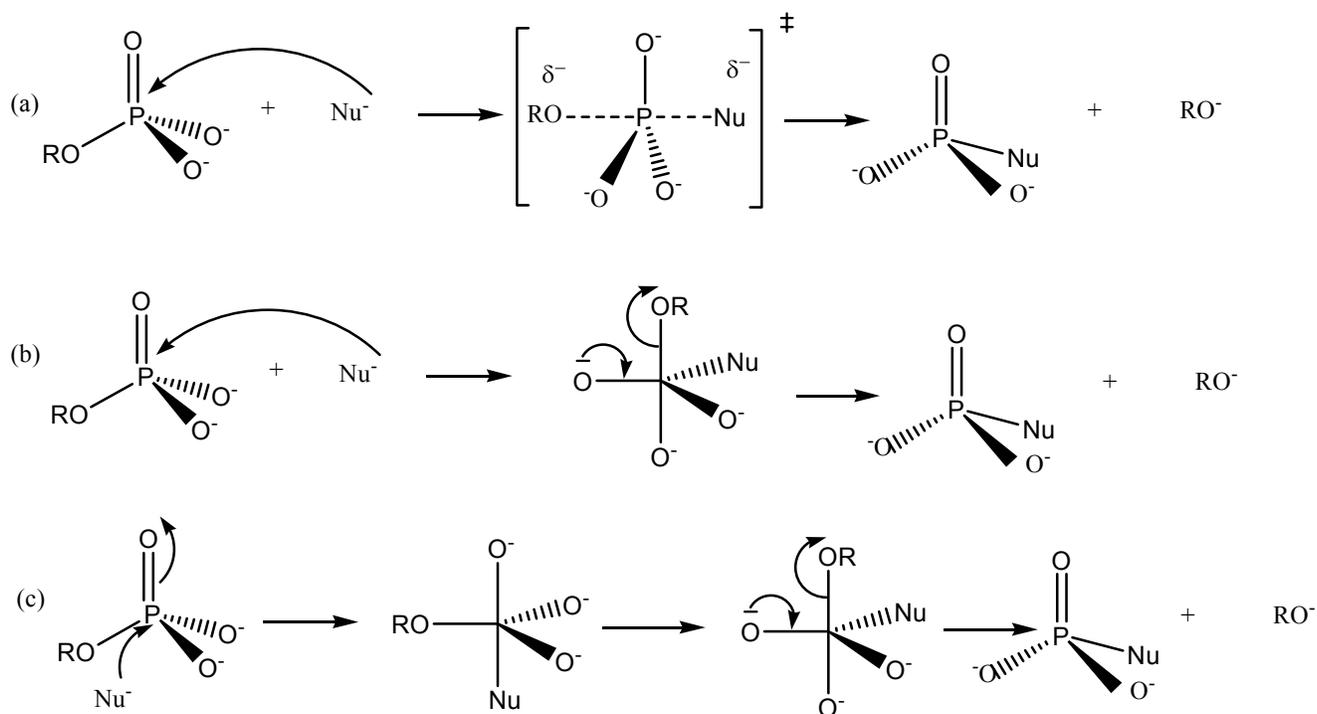
As reações de substituição em ésteres fosfóricos com quebra de ligação P-O têm sido por muito tempo consideradas mecanisticamente análogas àquelas envolvendo substituição no carbono tetraédrico, do tipo S_N1 ou S_N2 .¹⁴ Estes mecanismos têm sido descritos na literatura¹⁴⁻¹⁷ como pertencentes a duas classes: dissociativo e associativo.

O mecanismo dissociativo procede através da liberação do íon metafosfato hidratado (PO_3^-), uma reação análoga ao processo S_N1 na química do carbono. O ânion metafosfato gerado é uma espécie trigonal e pode reagir com um nucleófilo por ambas faces (**Esquema 2**).



Esquema 2

Os mecanismos associativos de adição-eliminação, denominados $S_N2(P)$, são análogos ao mecanismo S_N2 para a substituição no átomo de carbono. A espécie formada no ataque do nucleófilo sobre o átomo de fósforo tetraédrico é pentacoordenado com geometria do tipo bipirâmide trigonal (B.P.T.), sendo esta espécie um intermediário ou um estado de transição. Os mecanismos associativos podem ser representados de acordo com o Esquema 3.



Esquema 3

O mecanismo representado em (a) mostra um processo associativo em linha, onde o estado de transição (E.T.) é pentacoordenado, com o nucleófilo e o grupo de saída nas posições apicais parcialmente ligados ao átomo de fósforo central, levando a inversão de configuração. O mecanismo (b) também apresenta um processo associativo em linha, mas leva a um intermediário pentacoordenado estável e à inversão de configuração. Finalmente, o mecanismo apresentado em (c) mostra retenção de configuração, num processo associativo adjacente pelo qual o intermediário pentacoordenado sofre uma pseudo-rotação para que o grupo de saída fique na posição apical.

1.3.3. O Efeito Alfa (α) dos Nucleófilos.

O uso de nucleófilos detentores do efeito α constitui uma estratégia bastante vantajosa na obtenção de nucleófilos reativos que possam produzir uma clivagem quantitativa da ligação P-O.

Desde que foi enunciado por Edwards e Pearson¹⁸ este tipo de efeito tem sido motivo desafiador para vários pesquisadores. Define-se como efeito α o aumento da reatividade de nucleófilos que tenham pares de elétrons não compartilhados sobre o átomo adjacente ao centro nucleofílico, quando comparados a um nucleófilo "normal" (nucleófilo que não possui o efeito α) de mesma basicidade.

Algumas das espécies que exibem este tipo de efeito α , são: hidroxilamina, a hidrazina, o ânion hipoclorito, os ácidos hidroxâmicos, as oximas, os hidroperóxidos, o nitrito e o sulfito (**Figura 4**).

Nucleófilos tipo $\ddot{X} - Y$:

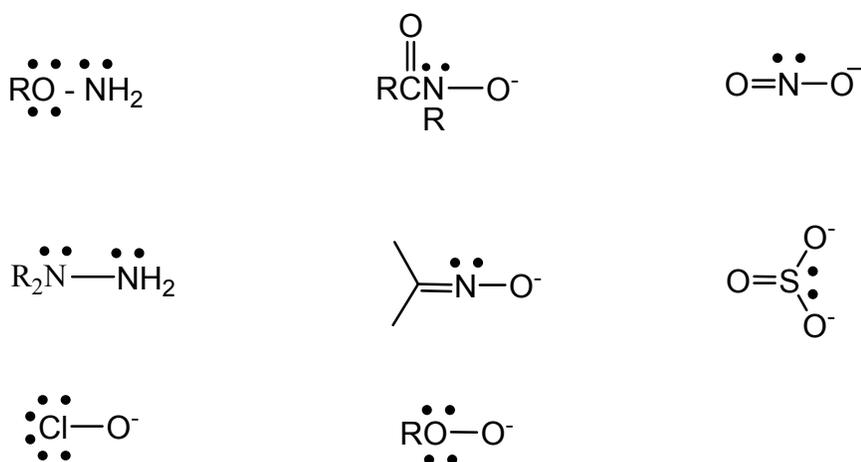
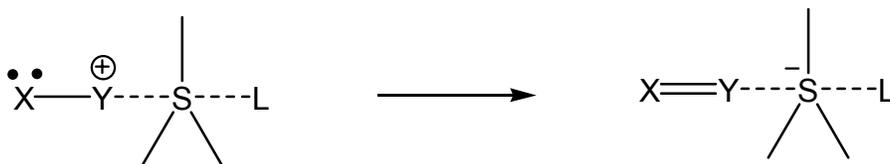


Figura 4. Algumas espécies nucleofílicas que apresentam o efeito α em processos nucleofílicos.

O efeito α pode ser devido a diversos fatores. É provável que o átomo eletronegativo que está na posição α com o seu par de elétrons livres contribua diretamente para o aumento da nucleofilicidade de alguns, senão todos, destes nucleófilos. A explicação mais freqüentemente proposta para o efeito α é a de que os pares de elétrons sobre os átomos na posição α aumentem a densidade eletrônica efetiva no centro da reação e a afinidade do átomo nucleofílico. Uma idéia bastante aceita, é a de que a remoção parcial dos elétrons de Y no nucleófilo X-Y (**Esquema 4**) por doação ao substrato S no caminho que leva ao estado de transição cria uma deficiência eletrônica sobre Y, esse efeito pode ser estabilizado pela doação eletrônica de X. Dessa maneira o resultado será um aumento na densidade eletrônica efetiva no substrato e, conseqüentemente, na nucleofilicidade de X-Y.¹⁹



Esquema 4

2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

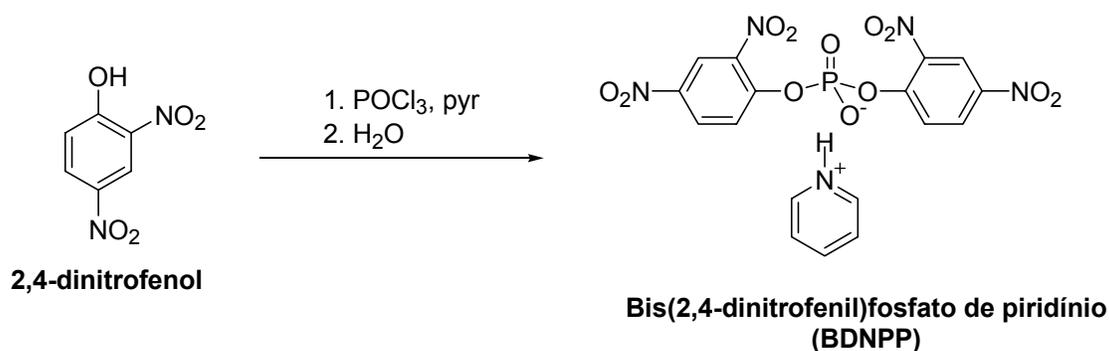
2.1 Equipamentos

Os espectros de UV/VIS, bem como as medidas cinéticas foram realizadas em um espectrofotômetro Varian Cary 50, acoplado a um microcomputador, contendo um sistema de aquisição e tratamento de dados cinéticos Cary WinUV versão 3.00(183). O espectrofotômetro era acoplado a um banho termostático (Microquímica) calibrado para $35,0 \pm 0,1$ °C. As reações foram feitas em cubetas de quartzo de capacidade de 4 mL com 1 cm de caminho ótico.

As medidas de pH nos procedimentos cinéticos foram realizadas em um potenciômetro digital Hanna, calibrado previamente com soluções padrão pHs 7,00 e 10,00 (Carlo Erba).

2.2 Reagentes

Bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato (BDNPP) foi previamente sintetizado em nosso laboratório (**Esquema 5**), os nucleófilos foram sintetizados por Gustavo Pozza Silveira (**Figura 5**) e a síntese dos mesmos será descrita na Tese de Doutorado do mesmo. Os demais reagentes foram adquiridos comercialmente em grau P.A. e purificados previamente quando necessário.



Esquema 5

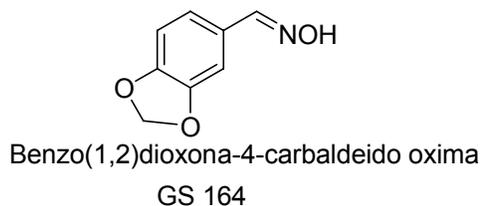
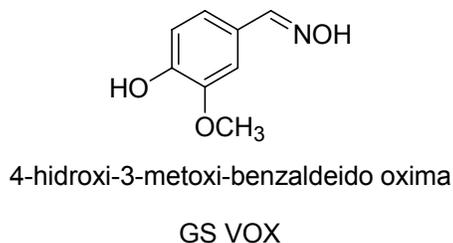
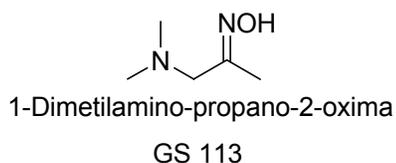
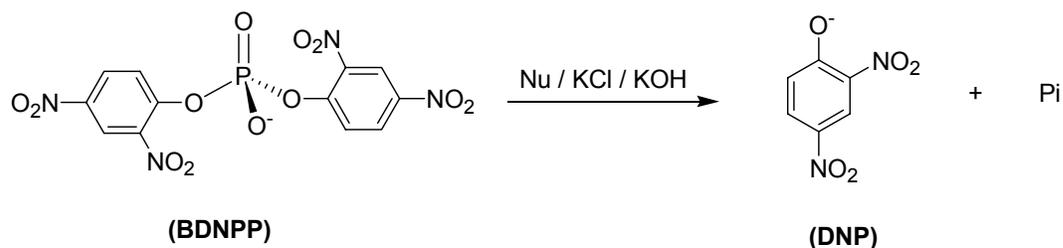


Figura 5. Estruturas dos nucleófilos utilizados neste trabalho.

2.3 Estudos Cinéticos

As reações foram iniciadas adicionando uma alíquota de 15 μL da solução estoque do substrato (0,001 M em acetonitrila) em 3 mL da mistura reacional contendo os nucleófilos, cujas concentrações variaram entre 0,010 e 0,10 M. A proporção de metanol na mistura aquosa reacional foi de 30% em volume. A força iônica foi mantida em 1,0 pela adição de uma solução de KCl. A adição de 50% em equivalente molar de KOH 0,1 M padronizado garantiu a neutralização de 50% do nucleófilo, ou seja, o pH da solução era o mesmo do $\text{p}K_a$ do nucleófilo. O pH sempre básico garantiu que a hidrólise ocorresse via mecanismos de clivagem da ligação P-O.¹⁴ A reação foi acompanhada pelo consumo do substrato no

comprimento de onda de (λ) 400nm que corresponde a formação do íon 2,4-dinitrofenolato (DNP) que apresenta máximos de absorção nos comprimentos de onda 360 e 400 nm (**Figura 5**). A seguir, o esquema 6, mostra de forma simplificada a reação do alfa nucleófilo com o BDNPP gerando o DNP.



Esquema 6

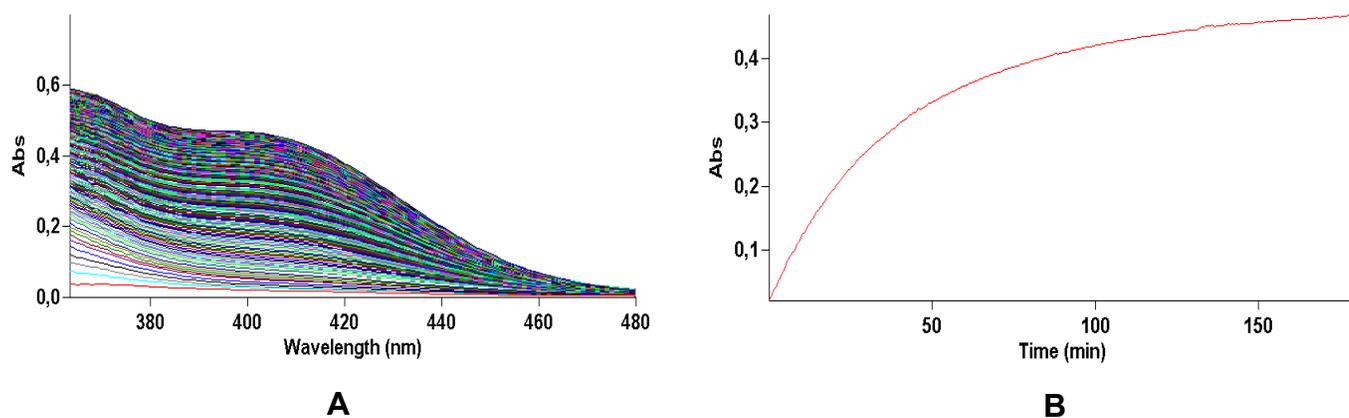


Figura 6. A. Espectros sucessivos para a reação de hidrólise do bis-(2,4-dinitrofenil) fosfato na presença de benzo(1,2)dioxona-4-carboxaldoxima, GS 164, onde se pode observar o aparecimento do 2,4-dinitrofenol; **B.** Variação da absorbância em função do tempo, para os dados da **Figura 6 A**, 35,0 °C, $\mu = 1,0$ (KCl)14

As reações foram feitas sob condições de primeira ordem em excesso de nucleófilo. As constantes de primeira ordem, k_{obs} , foram estimadas do ajuste linear de $\ln(A_{\infty} - A_t)$ em função do tempo utilizando um ajuste iterativo de mínimos quadrados (Equação 6), os coeficientes de correlação, ρ , foram > 0.998 para todas as medidas cinéticas.

$$\ln \frac{(A_0 - A_t)}{(A_t - A_{\infty})} = k.t \quad (6)$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta parte do trabalho serão apresentados e discutidos os resultados dos estudos cinéticos obtidos a partir da reação do substrato BDNPP com os nucleófilos apresentados na **figura 5**. Estas reações foram estudadas com o intuito de entender o efeito catalítico de diferentes nucleófilos sobre a reação de degradação do BDNPP.

Todas as cinéticas foram realizadas em condições de primeira ordem em excesso dos nucleófilos, como descrito na parte experimental do trabalho.

A reatividade esperada para estes tipos de nucleófilos é bastante elevada, tendo em vista que as oximas (GS 85; GS 113; GS 164 e GS VOX), apresentam uma estrutura característica de alfa nucleófilos, o que aumenta o poder nucleofílico destes compostos, em relação a amina (GS ACA) é esperado uma reatividade média entre os alfa nucleófilos e os oxiânions.

No gráfico de k_{obs} em função da concentração do nucleófilo [Nu], a reação de hidrólise do BDNPP apresentou um comportamento linear que foi diretamente proporcional ao aumento da concentração do nucleófilo (**Figura 7**).

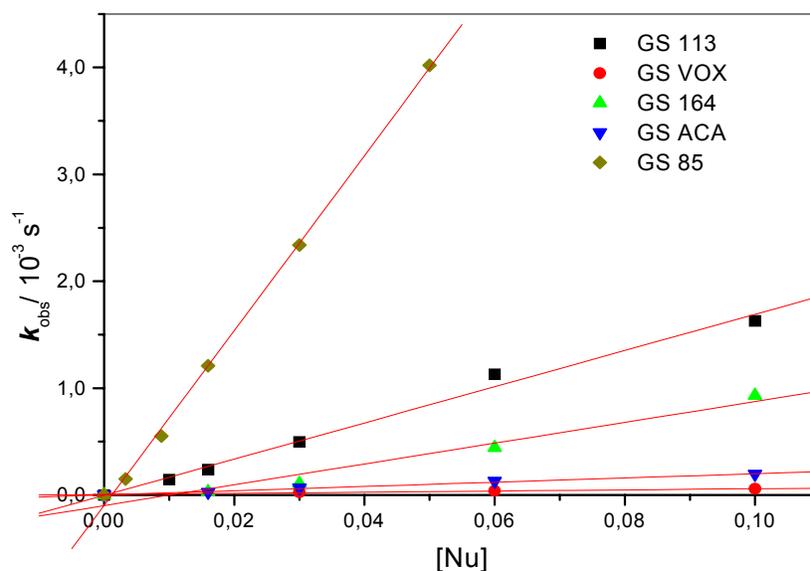


Figura 7. k_{obs} em função da concentração dos nucleófilos para a reação de hidrólise do BDNPP em 35,0 °C, $\mu = 1,0$ (KCl), $\chi_{Nu} = 0,5$.

Para se conseguir calcular os valores de constante de velocidade de segunda ordem na presença dos nucleófilos, alguns tratamentos matemáticos foram realizados. Sabendo-se que as reações são de primeira ordem, pode-se calcular k_{2obs} a partir de k_{obs} utilizando a Equação 8.

$$k_{obs} = k_{2obs} \cdot [Nu]_{total} \quad (8)$$

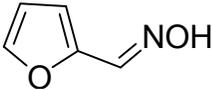
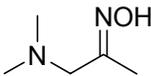
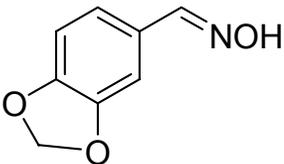
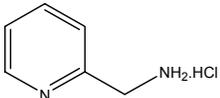
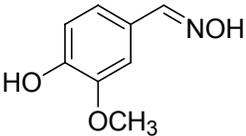
onde, k_{2obs} corresponde à constante de velocidade de segunda ordem observada considerando a concentração total do nucleófilo.

A partir de um ajuste linear das retas mostradas na Figura 7 pode-se calcular através da Equação 8 os valores k_{2obs} para os diferentes nucleófilos, os quais foram corrigidos através da Equação 9 para obter os valores de k_2 , constante de velocidade de segunda-ordem considerando todo o nucleófilo desprotonado.

$$k_{2obs} = k_2 \cdot \chi_{Nu} \quad (9)$$

Na Tabela 1 estão apresentados os valores pK_a e de k_2 . Os valores de pK_a foram obtidos adicionando-se 50% em mols de KOH 0,1 M padronizado o que garante a desprotonação de 50% em mols da espécie nucleofílica. Desde que a fração molar da espécie nucleofílica será de 0,5, a leitura do pH dessa solução em um pH metro condiz ao valor aproximado do pK_a do nucleófilo nas condições experimentais.

Tabela 1. Valores de pK_a dos nucleófilos e k_2 para reação de hidrólise do BDNPP na presença dos diferentes nucleófilos, 35,0 °C, $\mu = 1,0$ (KCl), $\chi_{Nu} = 0,5$.

Nu	pK_a	$k_2, M^{-1}s^{-1}$
GS 85 	11,10	$8,20 \times 10^{-2}$
GS 113 	11,30	$3,25 \times 10^{-2}$
GS 164 	11,97	$1,03 \times 10^{-2}$
GS ACA 	10,05	$1,98 \times 10^{-3}$
GS VOX 	11,52	$5,40 \times 10^{-4}$

Os resultados da **Tabela 1** foram utilizados em um estudo comparativo da reatividade com outros nucleófilos já estudados em nosso laboratório.²⁰⁻²² Na Figura 8 está mostrado um gráfico de Brønsted para os nucleófilos estudados nesse trabalho e aqueles de prévios estudos.

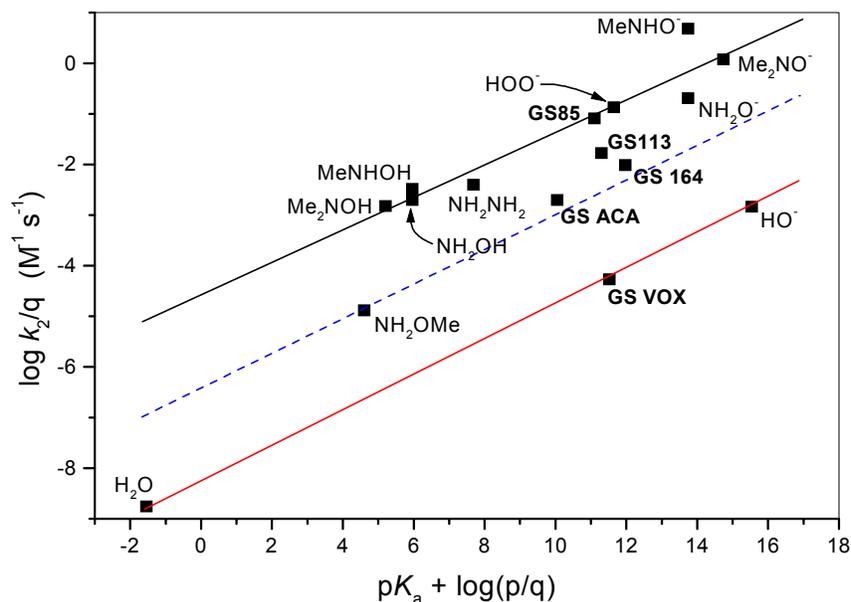
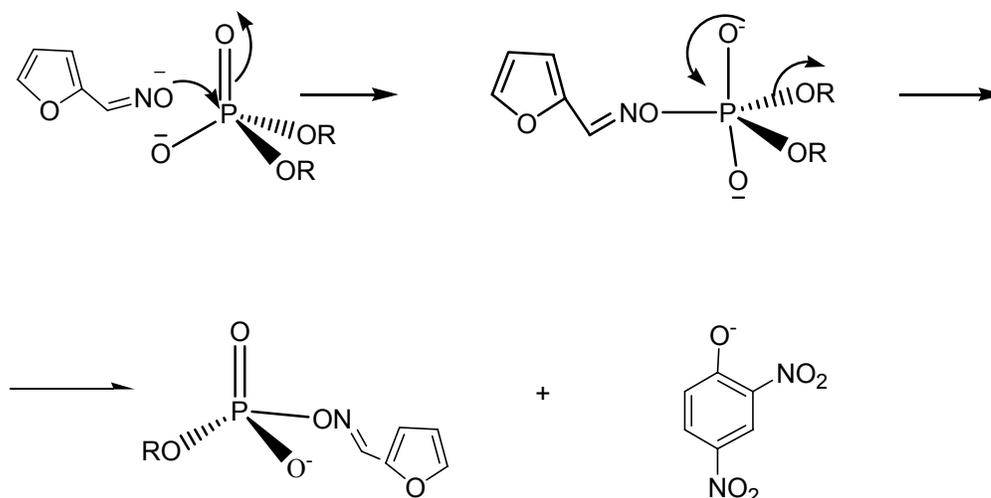


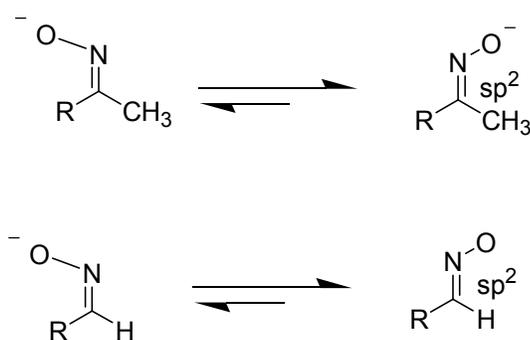
Figura 8. Gráfico de Brønsted, mostrando em negrito os nucleófilos usados neste trabalho; (—) alfa-nucleófilos; (---) aminas alifáticas; (—) oxianions simples sem efeito alfa.

De acordo com o estudo comparativo mostrado na Figura 8, a oxima GS 85 apresentou um resultado dentro do esperado, desde que seu valor de k_2 corresponde exatamente aquele de outros nucleófilos alfa de mesma basicidade. Este nucleófilo dentre os estudados nesse trabalho foi o que mais rapidamente reagiu com o BDNPP, um mecanismo baseado em prévios estudos e que é consistente com o fato de que apenas 1 mol de 2,4-dinitrofenolato é liberado²⁰⁻²², está apresentado no **Esquema 7**.



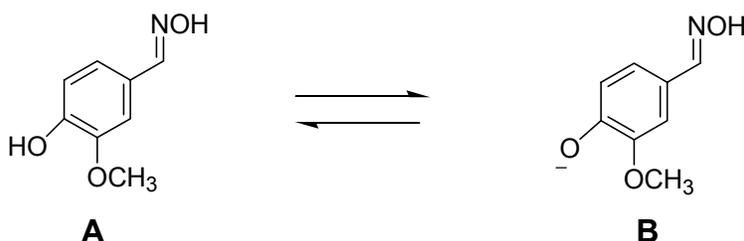
Esquema 7

Em relação a oxima GS 113 uma causa possível para a diminuição observada na reatividade pode ser explicada pelo efeito estérico. Os átomos de carbono e nitrogênio desse alfa nucleófilo encontram-se hibridizados em sp^2 , assim o átomo de oxigênio que atua como nucleófilo sofre facilmente impedimento estérico pelos grupos ligados ao átomo de carbono sp^2 (**Esquema 8**), de modo que nesta oxima a estericidade deve ser superior a observada para uma oxima como a GS 85. Este efeito provocou na GS 113 uma diminuição de aproximadamente 6,6 vezes na sua reatividade em relação a um nucleófilo alfa com a mesma basicidade.



Esquema 8

No caso do GS VOX o motivo pelo qual esse apresentou uma reatividade tal qual de um oxianion simples pode ser entendido pelo seguinte fato, a quantidade de base adicionada à solução de nucleófilo foi suficiente para desprotonar a hidroxila fenólica, a qual apresenta um valor de pKa menor. Desde que o experimento foi realizado em pH 11,52 é provável que a reação de substituição nucleofílica tenha ocorrido não com o oxigênio da oxima, mas sim com o oxigênio fenólico. A provável espécie nucleofílica que reagiu com o BDNPP esta mostrada no Esquema 9, onde a espécie **A** é o nucleófilo ainda protonado e a **B** corresponde à forma desprotonada, que pode ter contribuído na reação com o BDNPP.



Esquema 9

No caso da amina GS ACA, a mesma se comportou conforme esperado. Sua reatividade é semelhante daquela esperada para aminas alifáticas. A queda na reatividade em relação a nucleófilos alfa tem sido bem discutida, e acredita-se que a reação do BDNPP com nucleófilos ocorre preferencialmente com ataque do átomo de oxigênio nos nucleófilos alfa. Esse fato concorda com os resultados para a reação do BDNPP na presença de metoxilamina, onde o átomo de oxigênio está metilado e impedido de ataque que ocorre somente pelo átomo de nitrogênio.²⁰⁻²² Desse modo, não é uma surpresa que a amina GS ACA deve possuir dentro da relação Brønsted uma nucleofilicidade similar a da metoxilamina.

A oxima GS 164 requer um estudo cinético mais aprofundado, apesar de apresentar uma estrutura que deve possuir um poder nucleofílico bem acentuado, quando seus resultados foram relacionados no gráfico de Brønsted o resultado de sua reatividade foi bem abaixo daquele esperado. Um gráfico de $\log k_{\text{obs}}$ versus

$\log[\text{Nu}]$ apresentou um coeficiente angular de 2, que indica que a reação é de segunda ordem com relação ao nucleófilo, esse fato também é o responsável pelo ajuste linear dos resultados de k_{obs} versus $[\text{Nu}]$ possuírem um coeficiente de correlação relativamente baixo. Cumpre salientar, que um mesmo gráfico de $\log k_{\text{obs}}$ versus $\log[\text{Nu}]$ para os demais nucleófilos apresentou um coeficiente angular próximo a 1, demonstrando que a reação foi de primeira ordem com relação ao nucleófilo.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados nesse trabalho, pode-se concluir que:

- i. Os nucleófilos detentores de efeito alfa são espécies com poder de ataque ao centro eletrofílico do átomo de fósforo superior a nucleófilos sem esta especificidade estrutural.
- ii. É possível colocar os nucleófilos aqui estudados em uma ordem crescente de reatividade: cloreto de 2-metilamonio-piridina (GS ACA) < benzo(1,2)dioxona-4-carboxaldoxima (GS 164) < 1-dimetilamino-propan-2-ona oxima (GS 113) < 2-furaldoxima (GS 85)
- iii. Foi observado em pH 11,52 que o 4-hidroxi-3-metoxi-benzaldoxima (GS VOX) não atuou como um alfa nucleófilo e sim como um oxianion simples não detentor de efeito alfa. Demonstrando que o provável centro reacional (nucleófilo) nesse caso era o oxigênio fenólico e não o oximíco.
- iv. O GS 164 necessita de um estudo mais aprofundado para que se possa compreender melhor o motivo da sua baixa reatividade comparada aos demais alfa nucleófilos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. CORBRIDGE, D. E. C. Esters and Biochemistry. In: **Phosphorus: An outline of its chemistry, biochemistry and technology**. Amsterdam: Elsevier, 1978, pp. 261-325.
2. SAENGER, W. **Principles of Nucleic Acid Structure**. New York: Springer, 1984.
3. DUGAS, H. **Bioorganic Chemistry: A Chemical Approach to Enzyme Action**. 3^a ed., New York: VCH, 1996.
4. WESTHEIMER, F. H. Why Nature Chose Phosphates. **Science**, v. 234, n. 4793, p. 1173-1178, 1987.
5. MACHADO, V. G.; NOME, F. Energy-Rich Phosphate Compounds. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 351-357, 1999.
6. YANG, Y.-C.; BAKER, J. A.; WARD, J. R. Decontamination of Chemical Warfare Agents. **Chemical Reviews**, v. 92, n. 8, p. 1729-1743, 1992.
7. ATKINS, P.W. **Físico-química**. 6^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999.
8. MAHAN, B.M.; MYERS, R.J. **Química Um Curso Universitário**. 4^a ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1995, pp. 233-265.
9. CASTELLAN, Gilbert William. **Físico-química**. V. 2. Rio de Janeiro: LTC, 1972, pp. 69-73.
10. BENDER, M.L. Mechanism of Homogeneous Catalysis from Protons to Proteins. New York: Wiley, 1971.
11. KIRBY, A. J.; YOUNAS, M. The Reactivity of Phosphate Esters. Diesters Hydrolysis. **J. Chem. Soc. B**, n. 6, p. 510-513, 1970.
12. THATCHER, G. R. J.; KLUGER, R. Mechanism and Catalysis of Nucleophilic Substitution in Phosphate Esters. **Adv. Phys. Org. Chem.**, v. 25, p. 99-265, 1989.
13. BRUCE, T. C.; BENKOVIC, S. J. **Biorganic Mechanisms**. Vol. 2. New York: W. A. Benjamin, 1966.
14. COX, J. R.; RAMSAY, O. B. Mechanisms of Nucleophilic Substitution on Phosphate Esters. **Chem. Rev.**, v. 64, n. 4, p. 317-352, 1964.

15. LUM, R. C.; GRABOWSKI, J. J. Trimethyl Phosphate: The Intrinsic Reactivity of Carbon Versus Phosphorus Site with Anionic Nucleophiles. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 114, n. 22, p. 8619-8627, 1992.
16. WESTHEIMER, F. H. Monomeric Metaphosphates. **Chem. Rev.**, v. 81, n. 4, p. 313-326, 1981.
17. FLORIÁN, J.; WARSHEL, A. Phosphate Ester Hydrolysis in Aqueous Solution: Associative Versus Dissociative mechanisms. **J. Phys. Chem. (B)**, v. 102, n. 4, p. 719-734, 1998.
18. EDWARDS, J. O.; PEARSON, R. G. The Factors Determining Nucleophilic Reactivities. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 84, n. 1, p. 16-24, 1962.
19. GERSTEIN, J.; JENCKS, W. P. Equilibria and rates for Acetyl Transfer Among Substituted Phenyl Acetates, Acetylimidazole, O-acylhydroxamic Acids, and Thiol Esters. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 86, n. 21, p. 4655-4663, 1964.
20. DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; BUNTON, C. A.; NOME, F. Reactions of Bis(2,4-dinitrophenyl) Phosphate with Hydroxylamine. **J. Org. Chem.** v. 68, n. 18, p. 7051-7058, 2003.
21. DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; BUNTON, C. A.; NOME, F. Reaction of Bis(2,4-dinitrophenyl) Phosphate with Hydrazine and Hydrogen Peroxide. Comparison of *O*- and *N*- Phosphorylation. **J. Org. Chem.**, v. 68, n. 12, p. 7051-7058, 2003.
22. DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; BRANDAO, T. A. S.; BUNTON, C. A.; SANTOS, L. S.; EBERLIN, M. N.; NOME, F. Mechanisms of Nucleophilic Substitution Reactions of Methylated Hydroxylamines with Bis(2,4-dinitrophenyl)phosphate. Mass Spectrometric Identification of Key Intermediates **J. Org. Chem.**, v. 69, n. 18, p. 6024-6033, 2004.