



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

**ESTUDO DO MECANISMO DA REAÇÃO ENTRE
GLICINA E ASPIRINA**

NATÁLIA BRUZAMARELLO CAON

FLORIANÓPOLIS/SC

JUNHO – 2008

NATÁLIA BRUZAMARELLO CAON

**ESTUDO DO MECANISMO DA REAÇÃO ENTRE
GLICINA E ASPIRINA**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Química (área de concentração: Físico-Química Orgânica), da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Química.

Coordenador de Estágio: Prof^a. Dra. Inês Maria Costa Brighente

Orientador: Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

FLORIANÓPOLIS / SC

JUNHO - 2008

RESUMO

A presença da catálise básica geral nos sistemas biológicos é importante para que uma série de reações, por exemplo as reações enzimáticas, ocorram com maior velocidade e eficiência. No caso do presente trabalho, o substrato (aspirina) é conhecido por ser um exemplo clássico de reação de hidrólise que ocorre com o auxílio de uma catálise intramolecular básica geral.

O estudo realizado com a glicina consistiu na obtenção de dados físico-químicos para fornecer relações que pudessem ser consistentes para a proposta do possível mecanismo que ocorre quando a glicina reage com a aspirina na sua forma monoaniônica.

Nesse sentido, foi avaliada a dependência da velocidade da reação com a concentração de glicina, o perfil da alteração da velocidade da reação de acordo com o pH do meio reacional, o efeito dos substituintes doadores e retiradores de elétrons (relação de Hammett e Jaffé) e da força do nucleófilo (relação de Brønsted), bem como o efeito isotópico cinético, utilizando meio reacional deuterado.

Os dados e relações obtidos são consistentes com uma catálise intramolecular básica geral, em que o carboxilato catalisa o ataque do grupo amino da glicina ao carbono carbonílico do éster da aspirina. O estado de transição é provavelmente do tipo concertado, em que a quebra e a formação das ligações ocorrem de maneira orquestrada, sem a formação de intermediário tetraédrico.

AGRADECIMENTOS

Gostaria primeiramente de agradecer a meus pais, José Osmar e Jovelina, pelo carinho, atenção e confiança que depositaram em mim durante todos esses anos de convivência em família. Também quero agradecer a meus irmãos, Caroline e Guilherme, pela cumplicidade e amizade.

Não poderia deixar de agradecer ao meu noivo Márcio, pela compreensão durante toda a realização deste trabalho, pela valiosa companhia e pelo carinho manifestado sempre que eu precisei. *Obrigada amor!!*

Meus mais importantes agradecimentos no que diz respeito à Química são para o Professor Faruk Nome e para todo seu grupo de pesquisa do LaCFI. Grande parte do que aprendi na faculdade eu tive oportunidade de colocar em prática nos dias de trabalho na pesquisa, sempre contando com o apoio do Professor Faruk e com ajuda dos doutorandos e mestrandos do laboratório, bem como dos colegas de *iniciação científica*. Nesse sentido, gostaria especialmente de lembrar da Michelle, grande amiga e exemplo de organização, Bruno, Renata, Elisa, Alex, Jacks, Ramon, Jonas, Jânio... a lista é longa e todos contribuíram de alguma forma para meu crescimento.

Aos professores do Departamento de Química da UFSC, muito obrigada pela oportunidade que me proporcionaram de poder aprender **com** o professor, **sem** o professor e **apesar do** professor.

Por fim, gostaria de agradecer aos amigos que conviveram comigo durante este período de faculdade, pela companhia nos finais de semana de estudo, pela sinceridade e compreensão.

"Qualquer tolo inteligente consegue fazer coisas maiores e mais complexas. É necessário um toque de gênio e muita coragem para ir na direção oposta."

(Albert Einstein)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Constantes de velocidade e mecanismo	1
1.2 A Catálise Intramolecular	1
1.2.1 Catálise Intramolecular Básica Geral	3
1.3 A Hidrólise de Aspirina	6
1.4 Relações quantitativas entre estrutura molecular e reatividade química	8
1.4.1 A equação de Hammett	8
1.4.2 A relação de Jaffé	10
1.4.3 A equação de Brönsted	11
1.5 O Efeito Isotópico Cinético	13
2. JUSTIFICATIVA	14
3. OBJETIVOS	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1 Equipamentos	16
4.2 Reagentes	16
4.3 Medidas cinéticas	17
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5.1 Medidas cinéticas	18
5.2 Efeito da concentração de glicina	19
5.3 Efeito do pH	20
5.4 Efeito dos substituintes. Análise da equação de Hammett e de Jaffé ..	24
5.5 Efeito da força do nucleófilo: correlação de Brönsted	26
5.6 Efeito isotópico	27
6. CONCLUSÃO	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de energia livre genérico para reação exotérmica.	1
Figura 2. Representação da hidrólise de amidas no sítio ativo da α -quimotripsina.	4
Figura 3. Gráfico de Brønsted para mecanismo concertado.	12
Figura 4. Gráfico de Brønsted para mecanismo via intermediário tetraédrico. ..	13
Figura 5. Espectros de UV sucessivos da reação entre glicina e 5-cloroaspirina a 25 °C, força iônica 1,0 M e pH 7,0.	18
Figura 6. Absorbância em função do tempo na reação entre glicina e 5-nitroaspirina em pH 5,5 e força iônica 1,0. Concentração de tampão acetato 0,01 M.	18
Figura 7. Efeito da concentração de glicina aniônica nas reações com aspirinas substituídas: (■) 5-nitro; (Δ) 5-cloro; (●) 5-flúor; (○) aspirina; (∇) 5-metóxi, a 25 °C, μ 1,0 (KCl).	19
Figura 8. Perfil de pH das reações entre glicina e aspirinas: (■) 5-nitro; (●) 5-cloro; (□) 5-flúor; (\blacktriangle) aspirina; (○) 5-metóxi, a 25 °C, μ 1,0 (KCl) e concentração de glicina 0,3 M.	20
Figura 9. Variação de k_{obs} em função do pH para a (■) hidrólise da 5-nitroaspirina e (o) da reação da 5-nitroaspirina com a glicina. As constantes observadas para a hidrólise são para a reação a 25 °C e força iônica 1,0.	23
Figura 10. Gráfico da equação de Hammett para a reação da glicina com a série de aspirinas estudadas.	24
Figura 11. Gráfico da equação de Jaffé para a reação da glicina com a série de aspirinas estudadas.	25
Figura 12. Gráfico de Brønsted das reações estudadas.	26
Figura 13. Perfil da reação da 5-nitroaspirina (■) e 5-cloroaspirina (●) com glicina.	27

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Eficiência da catálise intramolecular básica geral.	5
Tabela 2. Valores de σ para alguns substituintes e de pK_a para ácidos benzóicos substituídos a 25 °C.	9
Tabela 3. Tampões utilizados no estudo cinético das reações entre glicina e aspirinas substituídas.	17
Tabela 4. Comprimentos de onda para as reações entre glicina e aspirinas substituídas.	17
Tabela 5. Constantes de segunda ordem para as reações entre glicina e aspirinas substituídas.	20
Tabela 6. pK_a s das aspirinas estudadas obtidos experimentalmente por titulação potenciométrica.	21
Tabela 7. Constantes cinéticas das reações entre glicina e aspirinas substituídas.	23
Tabela 8. Valores de σ para a construção dos gráficos da equação de Hammett e de Jaffé.	24
Tabela 9. Valores de ρ para a série de reações de aspirinas substituídas com glicina.	25
Tabela 10. Parâmetros cinéticos para as reações em água e água deuterada.	28
Tabela 11. Efeito isotópico das reações entre glicina e aspirinas substituídas.	28

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

k_2 – constante de velocidade de segunda ordem ($\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$);

k – constante de velocidade de primeira ordem (s^{-1});

ME – Molaridade Efetiva;

eu – unidade de entropia;

σ – medida da habilidade do substituinte de modificar a força do ácido benzóico;

ρ – parâmetro de Hammett;

pK_a – inverso do logaritmo da constante de dissociação ácida ($-\log K_a$);

α – coeficiente de Brønsted (catálise ácida);

β – coeficiente de Brønsted (catálise básica);

KIE – efeito isotópico cinético (do inglês *kinetic isotope effect*);

D – átomo de deutério;

UV-VIS – Ultravioleta-visível;

M – $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$;

μ – força iônica.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Constantes de velocidade e mecanismo

Um mecanismo bimolecular entre moléculas iguais ou diferentes levará a uma lei de velocidade de segunda ordem, cuja constante de velocidade, k_2 , usualmente tem unidades de $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. De maneira correspondente, mecanismos unimoleculares apresentam leis de velocidade de primeira ordem, e k tem unidade s^{-1} .¹

Muitas reações de compostos orgânicos, em solução ou em fase gasosa, apresentam leis de velocidade de primeira e segunda ordem, que decorrem da simplicidade de seu mecanismo. Entretanto, uma lei de velocidade complexa é conseqüência de um mecanismo complexo, mas que é interconectado com etapas elementares simples, que individualmente são unimoleculares ou bimoleculares.¹

1.2 A Catálise Intramolecular

A função do catalisador é fornecer um novo caminho de reação em que a etapa determinante (lenta) tenha uma energia livre de ativação menor do que na reação não catalisada. Com isso, todos os estados de transição têm menores energias do que o estado de transição mais energético da reação não catalisada.² A **Figura 1**³ apresenta o diagrama genérico de energia livre de uma reação exotérmica.

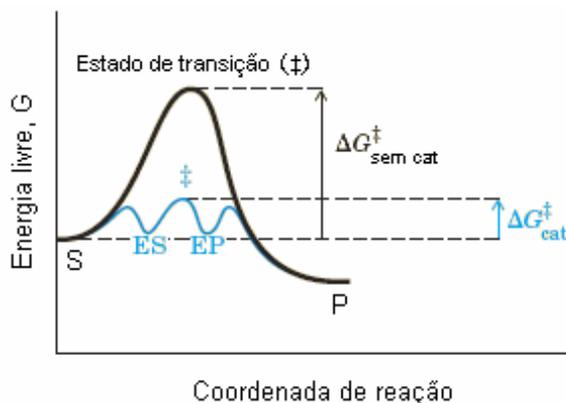
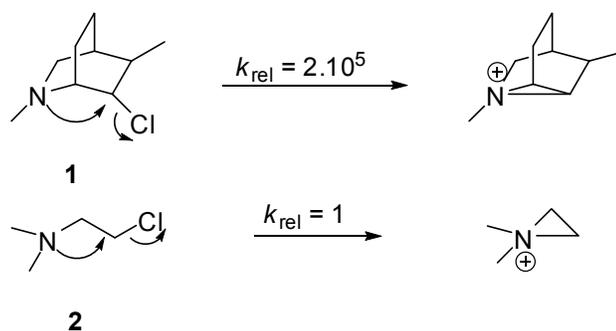


Figura 1. Diagrama de energia livre genérico para reação exotérmica. A linha azul corresponde à reação catalisada.

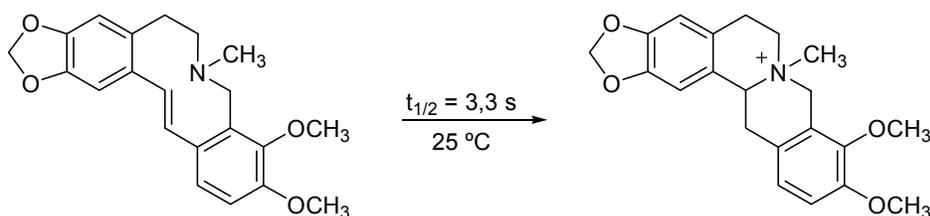
A catálise pode ser dividida em catálise intermolecular e intramolecular, sendo que uma catálise intermolecular é aquela que ocorre entre moléculas diferentes. A catálise intramolecular é aquela onde um ou mais grupos funcionais de uma molécula podem auxiliar na reação de outro grupo funcional da mesma molécula, sendo muito mais eficiente que a intermolecular.

Ainda existem muitas dúvidas na atribuição dos fatores responsáveis por esta eficiência. Por exemplo, de acordo com a teoria espaço-temporal, os grupos devem ficar tempo suficiente e em uma distância ótima para apresentar velocidades semelhantes daquelas observadas em reações enzimáticas. O **Esquema 1** ilustra esta teoria, utilizando o estudo de Hutchins e Rua⁴ onde o cloreto azabíclico **1** sofre solvólise em etanol aquoso $2 \cdot 10^5$ vezes mais rapidamente do que o acíclico análogo **2**.



Esquema 1

No **Esquema 2** está representado um exemplo de catálise intramolecular, onde Kirby observou que o grupo amino adiciona-se rapidamente à dupla ligação carbono-carbono, não sendo necessário nenhum grupo retirador de elétrons⁵. Assim, na reação intramolecular há um tempo suficiente a uma distância crítica, o que permite que ocorra a reação entre o grupo amino e a dupla ligação.

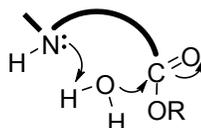


Esquema 2

A proximidade é um componente necessário, todavia não suficiente para explicar a alta reatividade de sistemas intramoleculares. Assim, Page e Jencks sustentam que uma reação intramolecular é mais rápida que uma reação intermolecular porque a primeira é favorecida entropicamente. Porém, ao termo entropia está atrelado a diversos conceitos como variações na solvatação, conformação e molecularidade, entre muitos outros.⁶

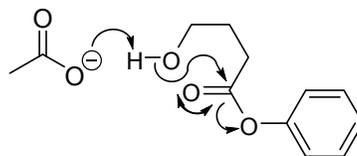
1.2.1 Catálise Intramolecular Básica Geral

Os estudos de reações intramoleculares são interessantes para modelar as características principais do sítio ativo de enzimas, e assim explicar em nível molecular a eficiência da catálise enzimática. Entre os processos mais importantes que têm sido destacados está a catálise intramolecular básica geral (**Esquema 3**).



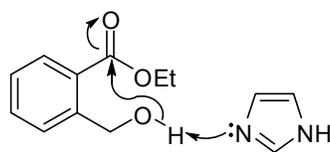
Esquema 3

Nesse sentido, tem-se grande interesse em estudar modelos para estas reações, como por exemplo, a catálise pelo acetato na formação da γ -butirolactona a partir do 4-hidroxibutirato⁷ (**Esquema 4**).



Esquema 4

Uma reação similar é a ciclização do etil 2-hidroximetilbenzoato (**Esquema 5**), catalisada pelo imidazol, onde se sugere um mecanismo de catálise básica geral.⁷



Esquema 5

Essa reação é de interesse especial porque pode ser um modelo simples para o mecanismo que envolve a ação da família das serina proteinases nos sistemas biológicos. Na reação de hidrólise das amidas e ésteres que são catalisadas por α -quimotripsina (**Figura 2**³), por exemplo, o grupo imidazol da histidina-57 deve agir como uma base geral para catalisar o ataque do grupo OH da serina-195 na carbonila do substrato.⁷

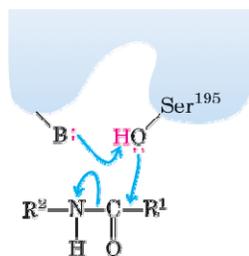
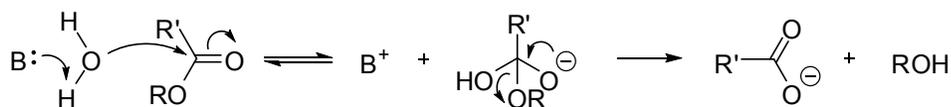


Figura 2. Representação da hidrólise de amidas no sítio ativo da α -quimotripsina.

A hidrólise de ésteres sob condições amenas de temperatura e pH fisiológico envolve um mecanismo de catálise básica geral, em que o ataque nucleofílico da água no grupo carbonila é assistido por uma segunda molécula de solvente ou outra base geral (**Esquema 6**).⁷



Esquema 6

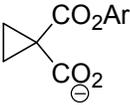
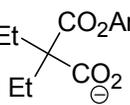
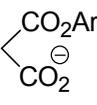
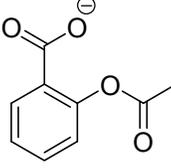
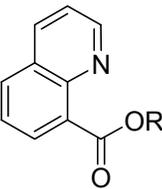
Uma forma de evidenciar a eficiência da catálise intramolecular básica geral é por intermédio do cálculo da Molaridade Efetiva (ME), a qual corresponde à razão entre a constante de velocidade da reação intramolecular e a constante de velocidade da reação intermolecular (**Equação 1**).

$$ME = \frac{k_{\text{intra}} (\text{s}^{-1})}{k_{\text{inter}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})} \quad (1)$$

A ME é interpretada como sendo a concentração do nucleófilo ou eletrófilo na reação intermolecular necessária para que esta e a reação intramolecular tenham velocidades equivalentes. Para que esse tipo de comparação tenha validade, as reações comparadas devem ocorrer pelo mesmo mecanismo.⁶

A **Tabela 1** apresenta valores de molaridade efetiva para algumas reações de hidrólise em que ocorre catálise básica geral. Os valores indicam que a presença do grupo catalítico na mesma molécula provoca uma reação muito mais rápida do que a reação intermolecular correspondente.

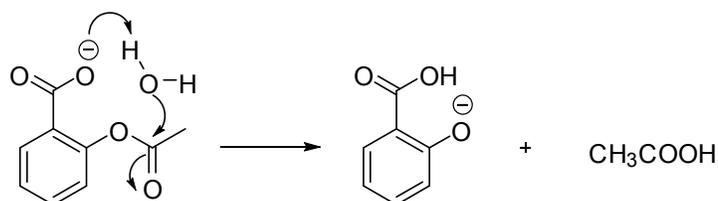
Tabela 1. Eficiência da catálise intramolecular básica geral.

Composto	Estrutura	ME do grupo catalítico
1,1-dicarboxilato de fenilciclopropano ^a		60M
dietilmalonato de <i>p</i> -nitrofenila ^a		0,3M
malonato de fenila ^a		25M
aspirina ^{8,9,11}		13M
carboxilatos de 8-fenilquinolina ^b		> 100M

^a KIRBY, A. J.; LLOYD, G.J. *J. C. S. Perkin II*, 1974, **6**, 637. ^b BRUICE, P. Y.; BRUICE, T. C. *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, **96**, 5523.

1.3 A Hidrólise de Aspirina

A hidrólise da aspirina é um exemplo clássico de catálise intramolecular básica geral. As pesquisas⁷⁻¹² revelam um efeito catalítico intramolecular na aspirina proporcionado pelo grupo carboxilato. Autores sugerem, sem ambigüidades, que o íon carboxilato não age como um nucleófilo e sim como uma base geral (**Esquema 7**).⁸

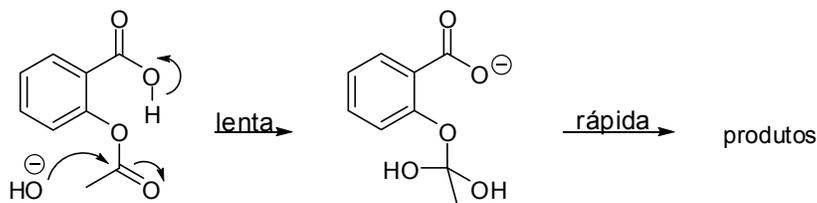


Esquema 7

Em seus estudos sobre a hidrólise da aspirina, Fersht e Kirby⁸ apresentam considerações sobre os mecanismos que são consistentes com os resultados cinéticos: i) um processo unimolecular em que o grupo carboxilato age como um nucleófilo e ii) dois mecanismos bimoleculares envolvendo catálise básica geral da água e catálise ácida geral do ataque do ânion hidróxido.

Discutindo sobre os possíveis mecanismos, Fersht e Kirby afirmam que a etapa determinante da velocidade da reação não deve ser o processo unimolecular que envolve o ataque nucleofílico do íon carboxilato, especialmente porque a entropia de ativação é de $-22,5$ eu, o que seria uma exceção da generalização que reações unimoleculares de solvólise apresentam entropias de ativação próximas do zero. Logo, uma segunda molécula deve estar envolvida no estado de transição e o mecanismo de catálise nucleofílica intramolecular foi descartado por não haver evidências para poder suportá-lo.

Com relação à catálise ácida geral na reação de ataque do íon hidróxido (**Esquema 8**), Fersht e Kirby apresentam evidências que este mecanismo não apresenta uma contribuição significativa para a hidrólise da aspirina. Os dados termodinâmicos da reação permitem calcular um valor de ΔH_2^\ddagger para a reação bimolecular com um valor próximo à zero (160 cal/mol), o que é cineticamente incomum.

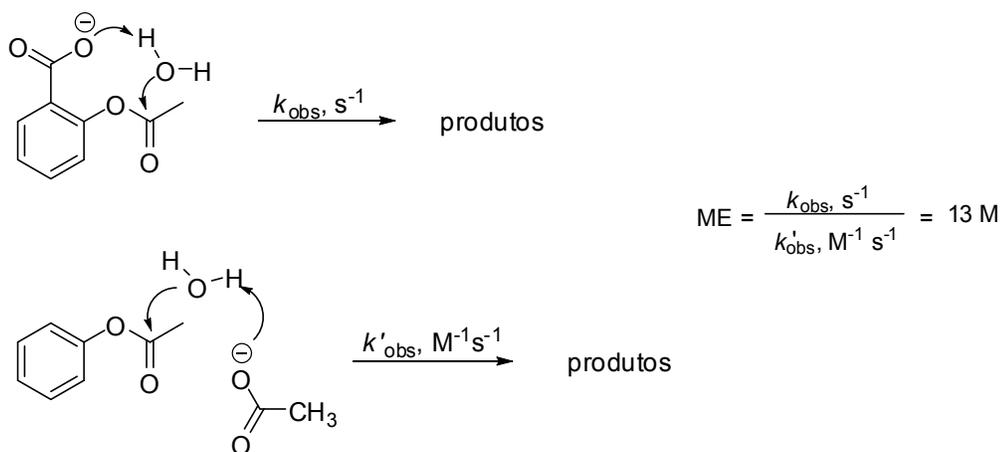


Esquema 8

De fato, os parâmetros termodinâmicos medidos por Fersht e Kirby são condizentes com a catálise intramolecular básica geral e eles concluem que o mecanismo da hidrólise da aspirina é um clássico mecanismo de catálise básica geral com o grupo carboxilato atacando a água e esta reação é bimolecular de acordo com a entropia de ativação observada.

No caso da aspirina, a reação nucleofílica é reversível e termodinamicamente desfavorável¹², evidenciando mais uma vez o mecanismo de catálise básica geral intramolecular. Quando as reações de hidrólise da aspirina na presença de nucleófilos são avaliadas, a forma ácida da aspirina é muito mais reativa com nucleófilos α , porém não são detectadas reações da forma ácida da aspirina com aminas básicas.¹⁰

Com relação à eficiência da catálise básica geral intramolecular, a hidrólise da aspirina apresenta uma molaridade efetiva de 13 M,^{8,9,11} o que indica que o efeito do carboxilato na reação intramolecular é equivalente a presença de acetato em concentração 13 M (**Esquema 9**).



Esquema 9

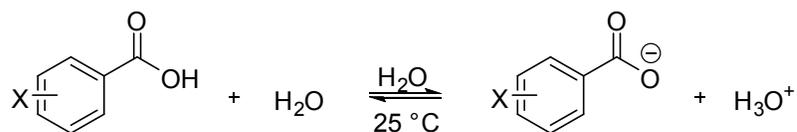
1.4 Relações quantitativas entre estrutura molecular e reatividade química

1.4.1 A equação de Hammett

Em compostos orgânicos que possuem anel aromático, existem várias possibilidades de substituintes serem introduzidos na molécula. De acordo com a capacidade dos substituintes doarem ou receberem elétrons, varia a reatividade do substrato frente a reações que envolvem formação ou desaparecimento de densidade de carga.

A teoria de Hammett avalia o efeito desses substituintes, quantificando sua influência sobre a reatividade da molécula substituída e dá outras informações sobre o mecanismo da reação.

Existem alguns parâmetros para a análise do efeito dos substituintes. O parâmetro σ é a medida da habilidade do substituinte de modificar a força do ácido benzóico¹ (**Esquema 10**). Este parâmetro é definido pela **Equação 2**, ou seja, pela diferença entre os valores de pK_a do ácido benzóico e do ácido benzóico substituído.



Esquema 10

$$\sigma_x = pK_a^H - pK_a^X \quad (2)$$

A **Tabela 2** apresenta alguns valores¹ de σ e os pK_a s de ácidos benzóicos substituídos. Um valor positivo de σ indica um substituinte que atrai elétrons e um valor de σ negativo indica um substituinte que doa elétrons.

Tabela 2. Valores de σ para alguns substituintes e de pK_a para ácidos benzóicos substituídos a 25 °C.

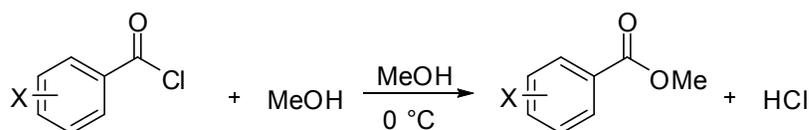
Substituinte X	pK_a ($XC_6H_4CO_2H$)	σ_X
H	4,20	0
3-OMe	4,09	0,11
3-F	3,86	0,34
3-NO ₂	3,49	0,71
4-NO ₂	3,42	0,78
4-Me	4,37	-0,17
4-OMe	4,48	-0,28

A equação de Hammett (**Equação 3**) envolve o parâmetro σ e um novo parâmetro, denominado ρ , que é característico para uma família de reações sob condições experimentais específicas.

$$\log \frac{k^X}{k^H} = \rho \times \sigma_X \quad (3)$$

Os termos da equação de Hammett aplicada à cinética têm o seguinte significado: k^X é a constante de velocidade para o composto substituído; k^H é a constante de velocidade para o composto não substituído, ou seja para $X = H$; σ_X é o parâmetro do substituinte, já definido acima e ρ é o parâmetro da reação.

Os valores e sinais de ρ podem fornecer informações sobre a estrutura do estado de transição bem como da distribuição da carga no átomo que contém a fenila substituída. Como exemplo, tem-se a metanólise de cloretos de aroila¹ (**Esquema 11**).

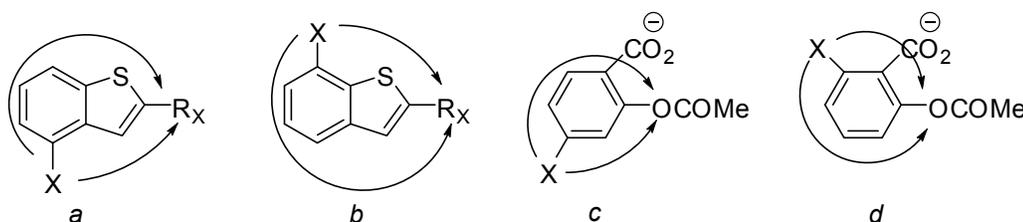


Esquema 11

Nesta reação o valor de $\rho = 1,42$ indica que a introdução de grupos retiradores de elétrons no anel aromático provoca um aumento na reatividade do cloreto de aroíla. Ou seja, valores positivos de ρ mostram que deve haver um aumento da densidade eletrônica no carbono ligado ao anel no estado de transição, o que é consistente com um mecanismo de adição-eliminação, com formação ou decomposição do intermediário tetraédrico como etapa determinante da velocidade da reação.¹

1.4.2 A relação de Jaffé¹³

A transmissão do efeito do substituinte X até o centro reativo R_X, em sistemas benzenóides, envolve mais de uma rota (**Esquema 12**, em que as estruturas *a* e *b* ilustram essa situação em R_X para benzotiazóis; *c* e *d* são para a hidrólise de ésteres de salicilato, que incluem a transmissão via ânion carboxilato). O efeito total do substituinte é devido à combinação das rotas de transmissão.



Esquema 12

Em alguns sistemas aromáticos, as duas rotas de transmissão podem ser separadas experimentalmente, e a eficiência relativa das rotas de transmissão para sistemas como os apresentados no **Esquema 12** pode ser determinada utilizando a equação de Jaffé (**Equação 4**).

$$\log \frac{k^X}{k^H} = \rho_A \sigma_A + \rho_B \sigma_B \quad (4)$$

A equação permite verificar se o substituinte apresenta efeito tanto no nucleófilo como no eletrófilo em uma reação intramolecular.

1.4.3 A equação de Brønsted

A transferência de próton para um substrato S de um ácido agindo como doador de próton (**Equação 5**) exibe uma relação linear de energia livre, e um comportamento similar ocorre quando uma base age como um acceptor de próton (**Equação 6**). Essas equações são conhecidas como as equações de Brønsted para os casos específicos de catálise ácida (α) e catálise básica (β), respectivamente.¹³

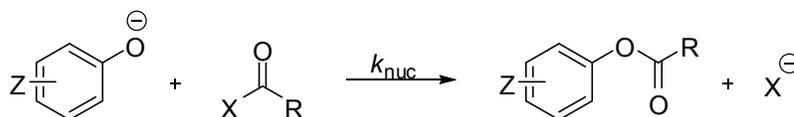
$$\log k_{\text{HA}} = -\alpha pK_a^{\text{HA}} + C \quad (5)$$

$$\log k_{\text{B}} = \beta pK_a^{\text{HB}} + C \quad (6)$$

Os coeficientes α e β relacionam a mudança da energia do estado de transição relativa às mudanças provocadas nos reagentes devido ao efeito de aumento ou diminuição da reação de dissociação ácida.

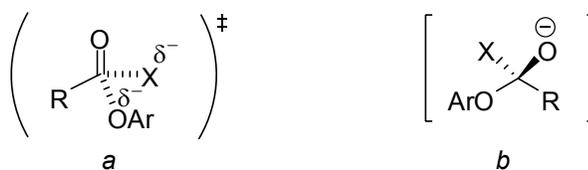
A relação de Brønsted para reações de transferência de próton está diretamente relacionada ao processo de dissociação que formalmente envolve a adição ou remoção de uma unidade de carga.

No **Esquema 13** está apresentada uma família de reações¹ em que fenolatos substituídos reagem com um derivado de acila. É avaliado que, a mudança do substituinte Z na família de fenolatos, provoca mudanças na nucleofilicidade que são paralelas as mudanças da força da base.



Esquema 13

A reação apresentada no **Esquema 13** é um exemplo do uso do parâmetro β para determinar se nessa família de reações está envolvida uma remoção concertada (**Esquema 14, a**) de X^- pelo fenolato via uma única estrutura de transição ou se as reações ocorrem via formação de um intermediário tetraédrico (**Esquema 14, b**).



Se o mecanismo é concertado, então os substituintes Z que afetam a afinidade dos fenolatos por prótons (força da base), terão efeitos paralelos sobre a afinidade dos fenolatos pelo reagente eletrofílico RCOX. Nesse caso, espera-se um gráfico de Brønsted como apresentado na **Figura 3**.

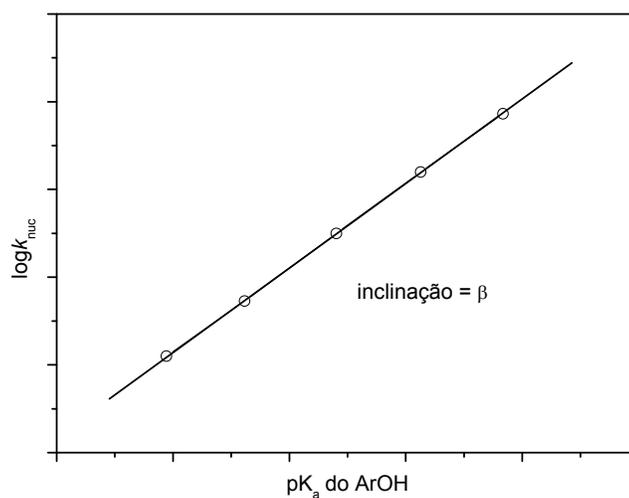


Figura 3. Gráfico de Brønsted para mecanismo concertado.

Se o mecanismo da reação inclui a formação de intermediário tetraédrico, a etapa determinante depende da natureza do substituinte e pode ser ou a formação ou a decomposição do intermediário. Neste caso, o gráfico de Brønsted apresenta a forma genérica mostrada na **Figura 4**.

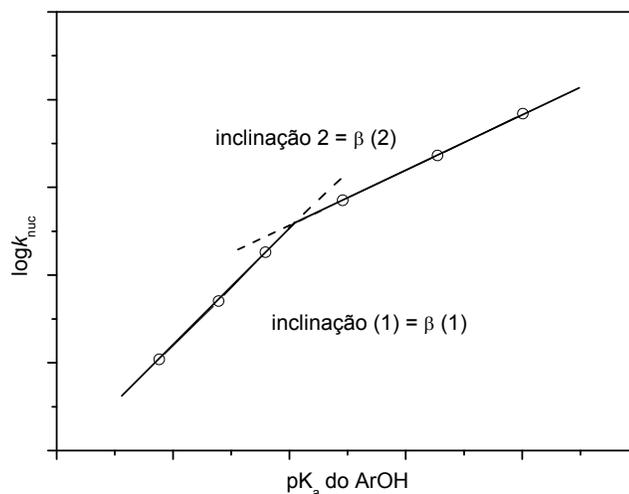


Figura 4. Gráfico de Brønsted para mecanismo via intermediário tetraédrico.

1.5 O Efeito Isotópico Cinético¹³

O efeito isotópico cinético (KIE) corresponde à mudança na constante de velocidade de uma reação quando se comparam reações na presença de H ou D. Para átomos de hidrogênio ligados ao carbono, a frequência de estiramento vibracional é calculada do número de onda do estiramento C-L (L = H ou D) no espectro de infravermelho (2914 cm^{-1} para C-H e 2085 cm^{-1} para C-D). A partir dessa análise, é possível concluir que uma reação química que procede com transferência de próton na etapa determinante da velocidade terá um efeito isotópico cinético devido à substituição de hidrogênio por deutério.

A magnitude do efeito isotópico cinético (valor da relação k_H/k_D) fornece informações sobre o mecanismo da reação. Se o efeito isotópico é igual a 1, conclui-se que a ligação onde houve a troca isotópica não está mudando durante a etapa determinante. Se o valor é menor do que 1, chama-se efeito isotópico inverso. Caso seja maior do que 1, chama-se efeito isotópico normal. Quando o efeito isotópico pode ser atribuído à quebra na ligação X-H / X-D, tem-se o efeito isotópico primário. Se o efeito é atribuído para uma reibridização ou vem de uma substituição isotópica remota com relação às ligações que estão envolvidas na reação, ocorre o efeito isotópico secundário.

2. JUSTIFICATIVA

A presença da catálise básica geral nos sistemas biológicos é importante para que uma série de reações, por exemplo, as enzimáticas, ocorram com maior velocidade e eficiência. Nesse sentido, é interessante o estudo físico-químico orgânico de sistemas que provavelmente envolvam esse tipo de catálise, a fim de tentar aprofundar o entendimento das razões da eficiência enzimática.

A catálise intramolecular pode mimetizar as características de proximidade do sistema enzimático. Nesse contexto, o estudo da reação da glicina com a aspirina, onde a reação de hidrólise do monoânion é um exemplo clássico de catálise intramolecular, apresenta-se como alternativa por fornecer uma aproximação interessante do que ocorre quando existe catálise básica geral.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é estudar o mecanismo da reação entre glicina e aspirina, a fim de levantar parâmetros que possam caracterizar o tipo de catálise presente nesse sistema.

Objetivos específicos

Para poder alcançar o objetivo geral, as estratégias utilizadas neste trabalho são:

- Avaliar a dependência da concentração de glicina nas reações com aspirinas substituídas;
- Realizar um estudo cinético das reações entre glicina e aspirinas substituídas em função do pH (faixa de pH 4,0 a pH 12,0);
- Verificar o efeito de substituintes nas reações da glicina com diferentes aspirinas substituídas (relação de Hammett e Jaffé);
- Obter o gráfico de Brønsted para a reação da aspirina com um conjunto de nucleófilos com grupo amino;
- Realizar um estudo do efeito isotópico cinético para a reação da glicina com 5-nitroaspirina e com 5-cloroaspirina.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Equipamentos

As medidas cinéticas foram realizadas em dois espectrofotômetros: HP 8453, acoplado a um microcomputador, contendo um sistema de aquisição e tratamento de dados cinéticos HP ChemStation versão A.02.05; e VARIAN modelo CARY 50, acoplado a um microcomputador, contendo um sistema de aquisição e tratamento de dados cinéticos CARY WINUV 3.00. Os espectrofotômetros foram acoplados a um banho termostático da Microquímica calibrado para $25,0 \pm 0,1$ °C.

As medidas de pH nos procedimentos cinéticos foram realizadas em um pHmetro digital Hanna, calibrado previamente com soluções padrão pHs 4,00, 7,00 e 10,00 (Carlo Erba).

4.2 Reagentes

Água destilada foi utilizada durante todos os experimentos. O pH das soluções nas cubetas era ajustado com adição de solução concentrada de HCl e de KOH, e mantido com adição de tampão na concentração 0,01 M (**Tabela 3**). A força iônica foi mantida em 1,0 (KCl) e, para o ajuste da força iônica, foi considerado o equilíbrio entre a forma catiônica, zwitteriônica e aniônica da glicina.

Para o estudo do efeito isotópico, foi utilizado óxido de deutério (D_2O), NaOD e DCl. O pH foi ajustado segundo a equação $pD = pH_{lido} + 0,4$.¹⁴

Aspirina e seus derivados monossubstituídos foram sintetizadas conforme descrito na **referência 15** e feitas soluções estoque em acetonitrila. Glicina (VETEC) foi utilizada como recebida.

Tabela 3. Tampões utilizados no estudo cinético das reações entre glicina e aspirinas substituídas.

pH	Tampão
4,0	Formiato
4,5	Citrato
5,0 – 5,5	Acetato
6,0 – 7,0	Fosfato
8,0 – 9,0	TRIS
9,5 – 10,5	Carbonato
11,0 – 12,0	Hidrogenofosfato

4.3 Medidas cinéticas

As constantes foram obtidas das reações entre a glicina e diferentes substratos de aspirinas. Em cada cubeta foram adicionados 3 mL de solução de glicina com pH previamente ajustado e 20 μL de uma solução estoque do substrato, obtendo-se uma concentração final de $1,33 \cdot 10^{-4}$ M. No caso da 5-nitroaspirina, a concentração final foi $6,67 \cdot 10^{-5}$ M.

Cada corrida cinética foi acompanhada por aproximadamente cinco tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) no comprimento de onda de maior variação de absorbância (**Tabela 4**). As constantes de velocidade observadas (k_{obs}) foram calculadas do gráfico de absorbância *versus* tempo nos programas HP ChemStation e Cary 50 Scan.

Tabela 4. Comprimentos de onda para as reações entre glicina e aspirinas substituídas.

Substrato	λ , nm
5-Cl	308
5-F	300
H	296
5-MeO	308
5-NO ₂	411

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Medidas cinéticas

A **Figura 5** apresenta os espectros sucessivos obtidos por espectrofotometria UV-VIS para a reação entre glicina e 5-cloroaspirina, com concentração de tampão fosfato 0,01 M, em pH 7,0.

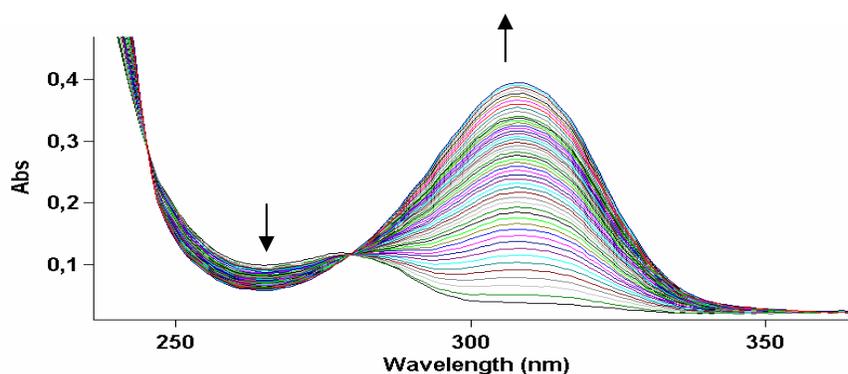


Figura 5. Espectros de UV sucessivos da reação entre glicina e 5-cloroaspirina a 25 °C, força iônica 1,0 M e pH 7,0.

As constantes observadas (k_{obs}) de cada reação foram extraídas de gráficos similares de espectros sucessivos, obtidos pelos programas de aquisição de dados do respectivo espectrofotômetro utilizado. A **Figura 6** apresenta um gráfico característico de absorbância vs tempo das reações efetuadas.

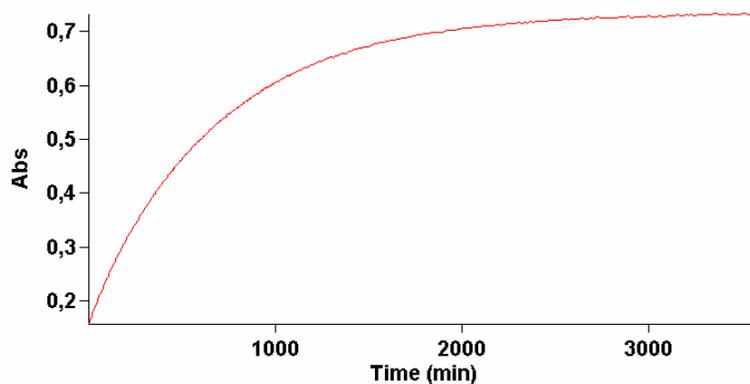


Figura 6. Absorbância em função do tempo na reação entre glicina e 5-nitroaspirina em pH 5,5 e força iônica 1,0. Concentração de tampão acetato 0,01 M.

Destes gráficos foram obtidas as constantes de velocidade de cada reação (em s^{-1}), sendo que cada cinética foi estritamente de primeira ordem.

5.2 Efeito da concentração de glicina

A **Figura 7** mostra a variação das constantes de velocidade observadas em função do aumento da concentração de glicina, na forma aniônica, nas reações com as aspirinas substituídas.

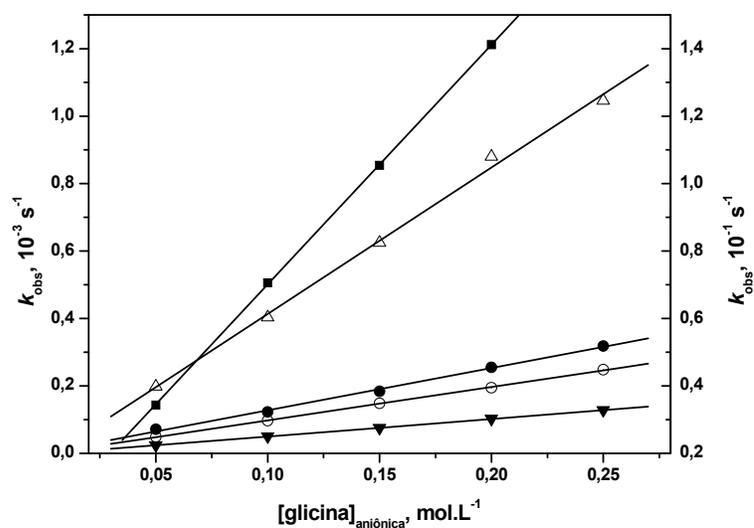


Figura 7. Efeito da concentração de glicina aniônica nas reações com aspirinas substituídas: (■) 5-nitro; (Δ) 5-cloro; (●) 5-flúor; (○) aspirina; (▼) 5-metóxi, a 25 °C, μ 1,0 (KCl). Os dados da 5-nitroaspirina (■) são referentes ao eixo da direita.

O coeficiente angular das retas obtidas fornece o valor da constante de segunda ordem para as reações. Os valores de k_2 estão listados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Constantes de segunda ordem para as reações entre glicina e aspirinas substituídas.

Substrato	$k_2, M^{-1}.s^{-1}$
5-nitroaspirina	$7,11 \cdot 10^{-1}$
Aspirina	$9,91 \cdot 10^{-3}$
5-cloroaspirina	$4,34 \cdot 10^{-2}$
5-fluoroaspirina	$1,25 \cdot 10^{-2}$
5-metoxiaspirina	$5,21 \cdot 10^{-3}$

Os valores apresentados na **Figura 7** e na **Tabela 5** mostram que existe uma significativa diferença na constante de velocidade das reações das diferentes aspirinas. Essa diferença pode ser explicada pelo efeito dos substituintes, que será tratado mais adiante na discussão.

5.3 Efeito do pH

A **Figura 8** apresenta o perfil de pH ($\log k_{obs}$ vs pH) das reações entre a glicina e aspirinas substituídas, com concentração de glicina 0,3 M e 0,01 M do respectivo tampão, a 25 °C e força iônica corrigida para 1,0 com KCl.

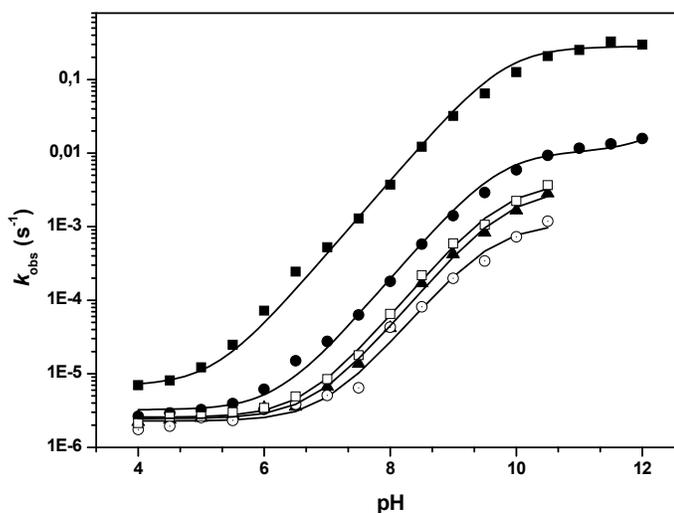
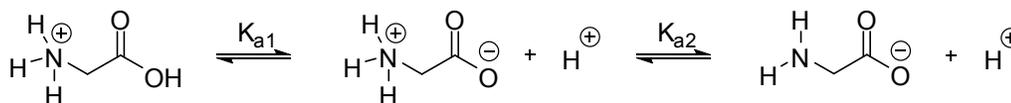
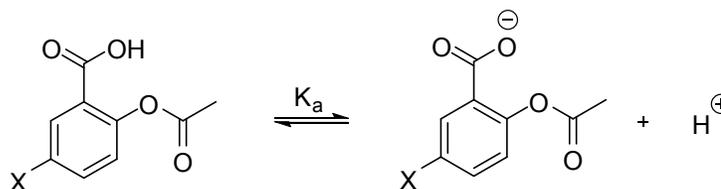


Figura 8. Perfil de pH das reações entre glicina e aspirinas: (■) 5-nitro; (●) 5-cloro; (□) 5-fluor; (▲) aspirina; (○) 5-metóxi, a 25 °C, μ 1,0 (KCl) e concentração de glicina 0,3 M.

Os equilíbrios envolvidos nessa reação estão apresentados no **Esquema 15** para glicina que possui valores de $pK_{a_s}^{16}$ de 2,44 e 9,66, e no **Esquema 16** para as aspirinas substituídas, sendo que seus pK_{a_s} estão apresentados na **Tabela 6**.



Esquema 15



Esquema 16

Tabela 6. pK_{a_s} das aspirinas estudadas obtidos experimentalmente por titulação potenciométrica. ^a

Substrato	pK_a
5-nitroaspirina	2,78
5-cloroaspirina	3,21
5-fluoroaspirina	3,24
5-metoxiaspirina	3,36
Aspirina	3,48

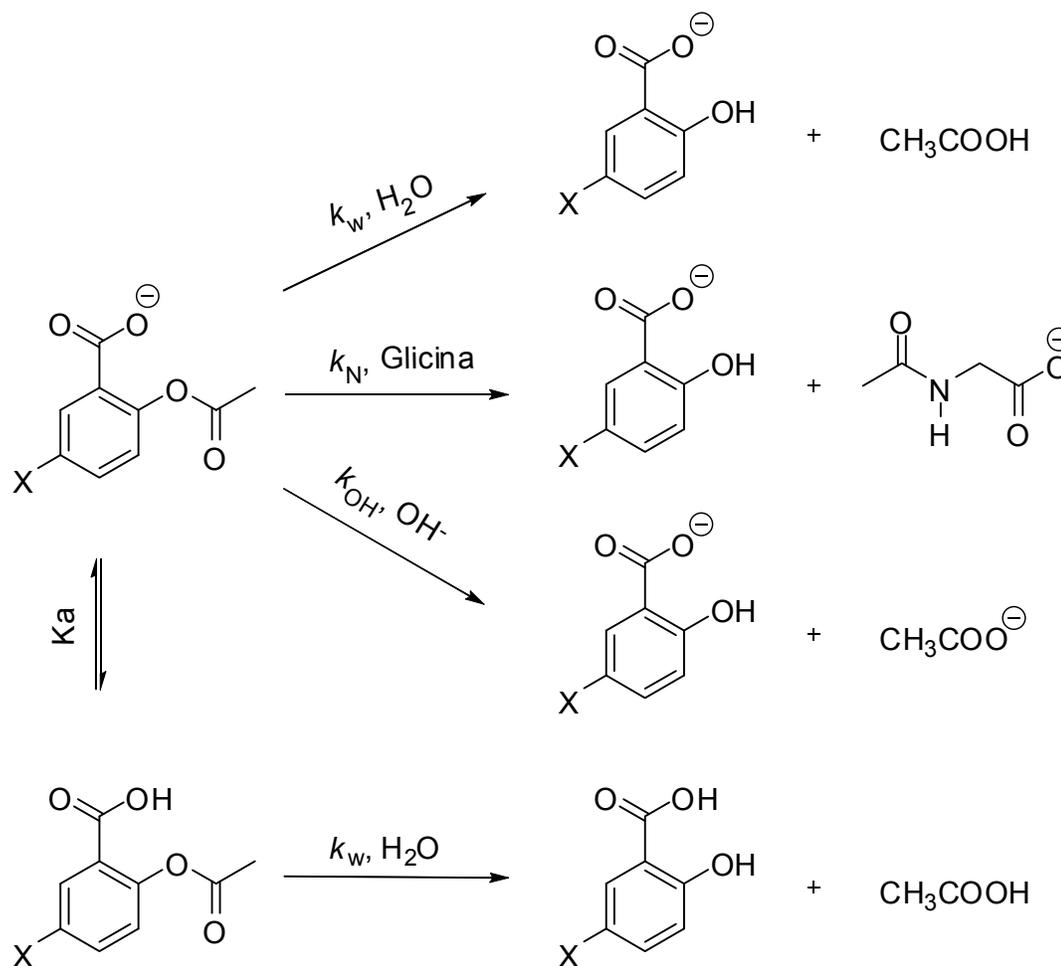
^a Medeiros, M.; Brandão, T. A. S.; Souza, B. S. e Nome, F. *Catálise Básica-Geral Intramolecular nas Reações entre Hidroxilamina e Aspirinas Substituídas*. 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2006.

Analisando a **Figura 8** e os **Esquemas 15** e **16**, observa-se um aumento da constante de velocidade com o aumento do pH, evidenciando que a forma mais reativa da glicina é a aniônica, em que o grupo amino encontra-se desprotonado, bem como a forma monoaniônica da aspirina e de seus derivados substituídos.

O perfil das curvas apresentadas na **Figura 8** é condizente com o perfil das reações que ocorrem via catálise básica geral¹⁷, em que uma base geral atua facilitando o ataque do nucleófilo ao centro eletrofílico.

Os resultados experimentais são condizentes com o **Esquema 17**, que foi utilizado para deduzir a **Equação 7**, onde k_w é a constante de velocidade para a

hidrólise espontânea, k_N é a constante de velocidade de segunda ordem para a reação com a glicina, k_{OH} é a constante de velocidade de segunda ordem para a reação do íon hidróxido, $\chi_{Glicina}$ é a fração molar de glicina no meio reacional, χ_{AAS} é a fração molar de aspirina na forma neutra e χ_{AAS^-} é a fração na forma monoaniônica.



Esquema 17

$$k_{obs} = k_w \chi_{AAS} + (k_w + k_N [Glicina] \chi_{Glicina} + k_{OH^-} [OH^-]) \chi_{AAS^-} \quad (7)$$

Pelo ajuste iterativo dos resultados da **Figura 8** utilizando a **Equação 7** foram obtidos os valores de k_w , k_N e k_{OH} apresentados na **Tabela 7**.

Tabela 7. Constantes cinéticas das reações entre glicina e aspirinas substituídas.

Substrato	$k_w, 10^{-6} \text{ s}^{-1}$	$k_N, 10^{-2} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$	$k_{\text{OH}}, 10^{-1} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$
5-nitroaspirina	6,90	93,6 ⁶	2,20
5-cloroaspirina	3,24	3,57	4,80
Aspirina	2,46 ⁶	1,05	--
5-fluoroaspirina	2,57 ⁶	1,32	--
5-metoxiaspirina	2,28 ⁶	0,336	--

Apesar da reação da aspirina com água (k_w) ocorrer com uma eficiente catálise básica geral, os parâmetros cinéticos obtidos mostram que a reação da aspirina com glicina é mais rápida. Ainda, a **Figura 9** apresenta uma comparação do perfil de pH da reação de hidrólise da 5-nitroaspirina com a reação da glicina e 5-nitroaspirina.

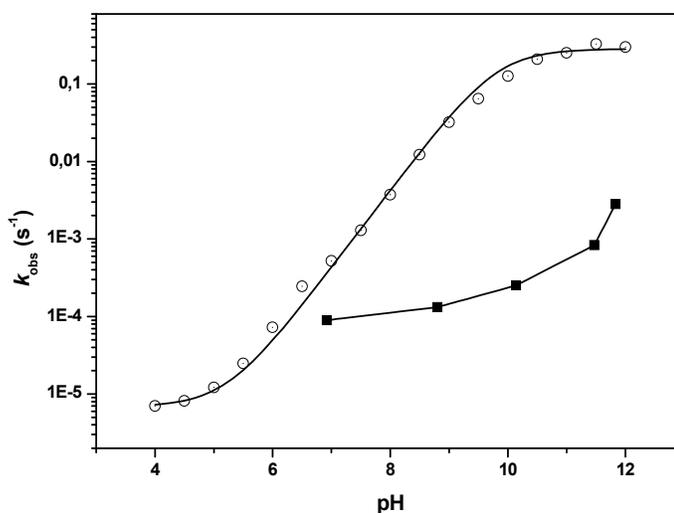


Figura 9. Variação de k_{obs} em função do pH para a (■) hidrólise da 5-nitroaspirina e (○) da reação da 5-nitroaspirina com a glicina. As constantes observadas para a hidrólise são para a reação a 25 °C e força iônica 1,0.

É possível verificar que a constante de velocidade da reação é significativamente maior na presença de glicina. Em pH fortemente básico, poderia haver constantes de velocidade semelhantes para glicina e íon hidróxido, mas na região de pH estudada, os dados da **Figura 9** descartam essa hipótese. Em meio ácido, observa-se a reação da água, pois a glicina encontra-se protonada, o que diminui sua reatividade.

5.4 Efeito dos substituintes. Análise da equação de Hammett e de Jaffé

A **Figura 10** apresenta o gráfico de Hammett para a família de reações estudadas. Observa-se, pela disposição dos dados e pela correlação entre os pontos ($R = 0,987$), que não há uma correlação perfeita e, portanto, cabe neste caso uma análise também pela relação de Jaffé.

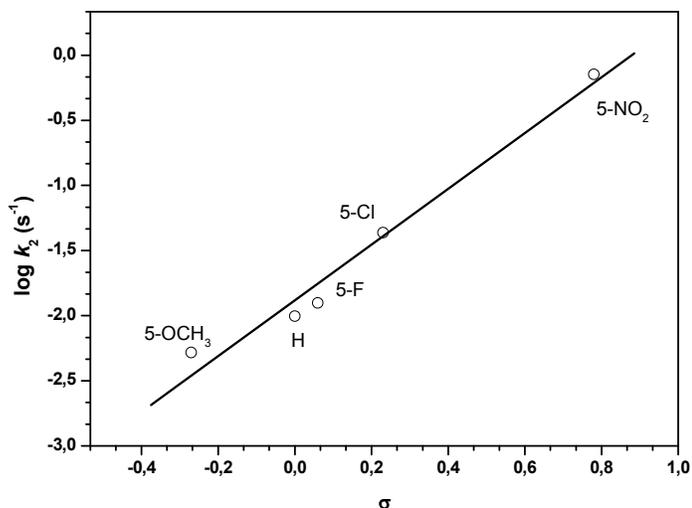


Figura 10. Gráfico da equação de Hammett para a reação da glicina com a série de aspirinas estudadas. Os valores de σ utilizados estão listados na **Tabela 8**.

Tabela 8. Valores de σ para a construção dos gráficos da equação de Hammett e de Jaffé.^a

Substituinte	σ	σ_{para}	σ_{meta}
5-nitro	0,78	1,24	0,72
5-cloro	0,23	0,19	0,37
Hidrogênio	0	0	0
5-flúor	0,06	-0,03	0,34
5-metóxi	-0,27	-0,26	0,11

^a Dados de σ , σ_{para} e σ_{meta} obtidos da referência 13.

Uma análise mais aprofundada pode ser feita utilizando-se a relação de Jaffé. Na **Figura 11** está apresentado o gráfico da equação de Jaffé, e na **Tabela 9** estão os valores de ρ para esta família de reações.

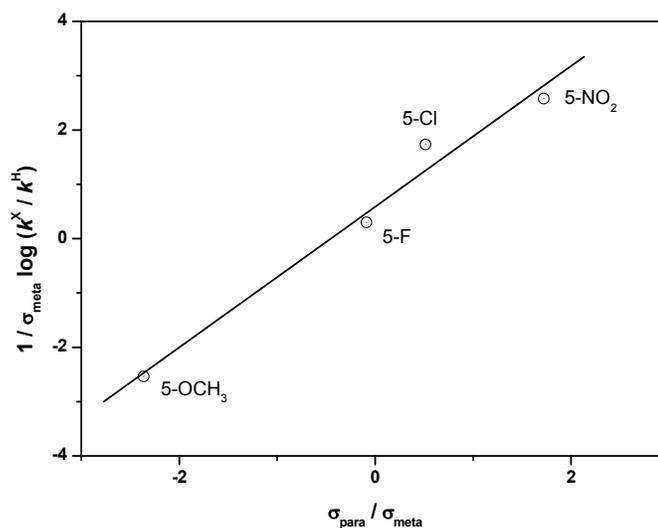


Figura 11. Gráfico da equação de Jaffé para a reação da glicina com a série de aspirinas estudadas. Os valores de σ_{para} e σ_{meta} utilizados estão listados na **Tabela 8**.

Tabela 9. Valores de ρ para a série de reações de aspirinas substituídas com glicina.

	Hammett	Jaffé	
	ρ	$\rho_{\text{ácido}}$	ρ_{fenol}
Glicina	2.14 ± 0.20	0.59 ± 0.20	1.30 ± 0.14

Observa-se que, de acordo com os valores apresentados na **Tabela 9**, o estado de transição para a série de reações desenvolve densidade de carga negativa, particularmente no oxigênio fenólico (ρ_{fenol}). É importante notar que os substituintes têm efeitos diferentes, até opostos, no carboxilato e no éster. Aparentemente, os substituintes afetam mais o grupo de saída (ρ_{fenol}) do que a catálise básica ($\rho_{\text{ácido}}$).

5.5 Efeito da força do nucleófilo: correlação de Brønsted

A **Figura 12** apresenta o gráfico de Brønsted, que correlaciona a constante de velocidade com o pK_a dos nucleófilos.

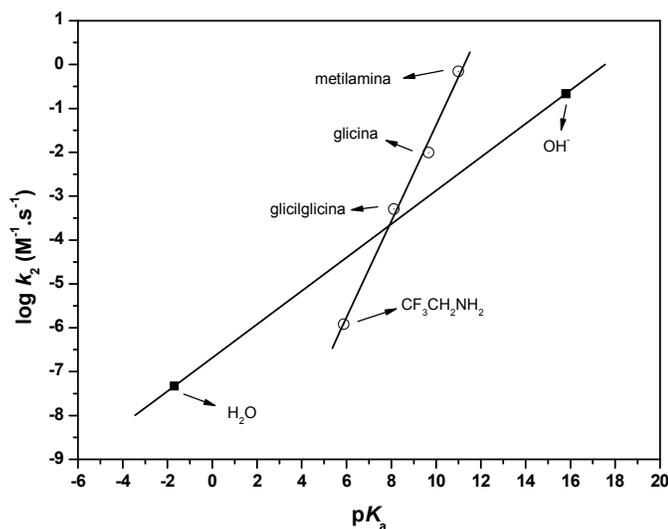
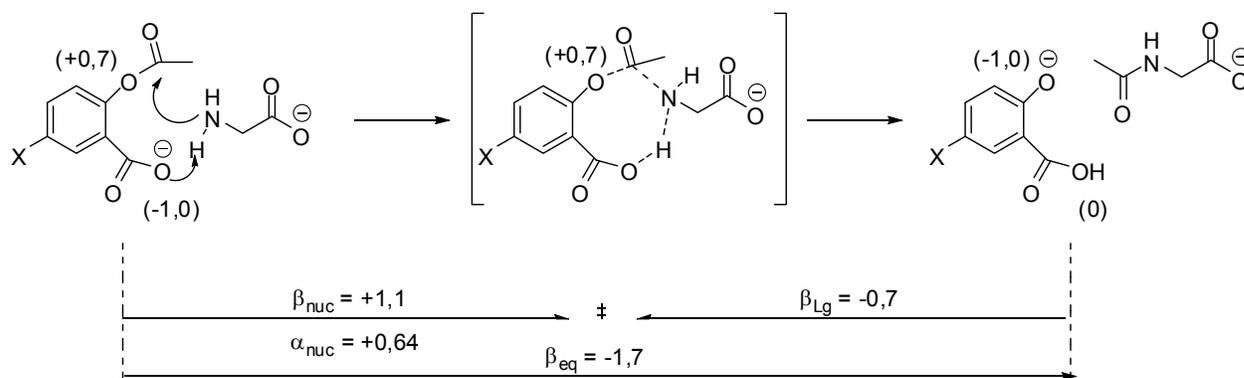


Figura 12. Gráfico de Brønsted das reações estudadas. O dado da metilamina é da referência 7.

O valor 1,1 para β indica que o efeito total da mudança de basicidade é refletido na nucleofilicidade¹⁷. Isto significa que para um conjunto de nucleófilos de estrutura semelhante, as mudanças de basicidade dos nucleófilos justificam plenamente as diferenças na reatividade.

O perfil da reta dos nucleófilos nitrogenados na **Figura 12** é consistente com um mecanismo do tipo concertado, em que se obtém apenas um valor de β , indicando que o ataque na carbonila e a saída do fenolato ocorrem numa mesma etapa.

O **Esquema 18** apresenta o estudo da carga efetiva no estado de transição da reação utilizando o valor obtido de β .



Esquema 18

Pelo diagrama, é possível verificar que a ligação entre o nitrogênio e o carbono carbonílico está aproximadamente 60 % (α_{nuc}) formada no estado de transição.

5.6 Efeito isotópico

A **Figura 13** apresenta o perfil de constantes de velocidade em função do pH para as reações estudadas em H_2O e D_2O e observa-se que há um deslocamento significativo das constantes de velocidade em função da composição do solvente.

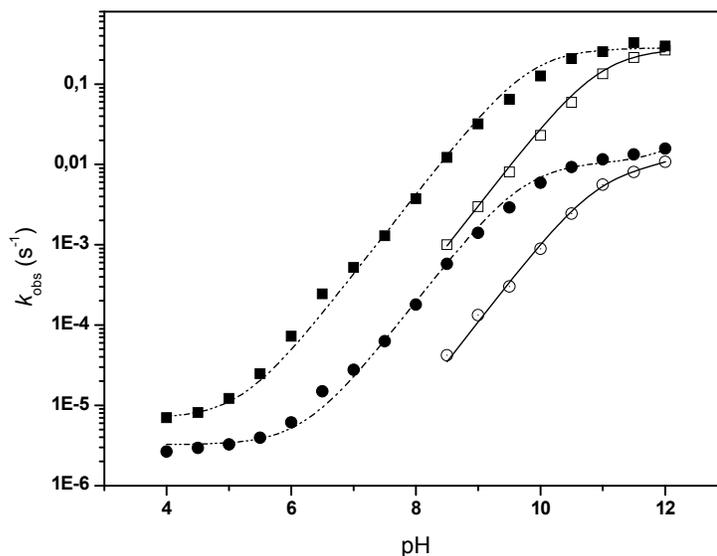


Figura 13. Perfil da reação da 5-nitroaspirina (■) e 5-cloroaspirina (●) com glicina. Os pontos fechados são da reação em água e os abertos, da reação em D_2O . Os valores de efeito isotópico estão apresentados na **Tabela 11**.

Como o pK_a da glicina muda significativamente em meio deuterado, foi necessário ajustar as curvas pela **Equação 7**, em que k_N é referente à reação da glicina, k_w à da água e k_{OH} à do hidróxido. Assim, o efeito isotópico será dado pela razão de k_N em H_2O e D_2O , **Equação 8**. Na **Tabela 10** estão apresentados os valores dos parâmetros cinéticos obtidos pelos ajustes teóricos dos dados.

$$EI = \frac{k_N^{H_2O}}{k_N^{D_2O}} \quad (8)$$

Tabela 10. Parâmetros cinéticos para as reações em água e água deuterada (valores em itálico).

Substrato	k_w ($10^{-6} s^{-1}$)	k_N ($10^{-2} M^{-1}.s^{-1}$)	k_{OH} ($10^{-1} M^{-1}.s^{-1}$)	pKa glicina
5-cloroaspirina	3,24	3,52 (3,26)	4,80 (1,80)	9,73 (10,55)
5-nitroaspirina	6,90	93,66 (91,8)	2,20 (1,80)	9,81 (10,55)

Tabela 11. Efeito isotópico das reações entre glicina e aspirinas substituídas.

Substrato	Efeito isotópico
5-cloroaspirina	1,08
5-nitroaspirina	1,03

A análise da **Tabela 11** indica que as reações em D_2O são mais lentas do que em água. Dessa forma, a transferência de próton está presente na etapa determinante dessa reação.

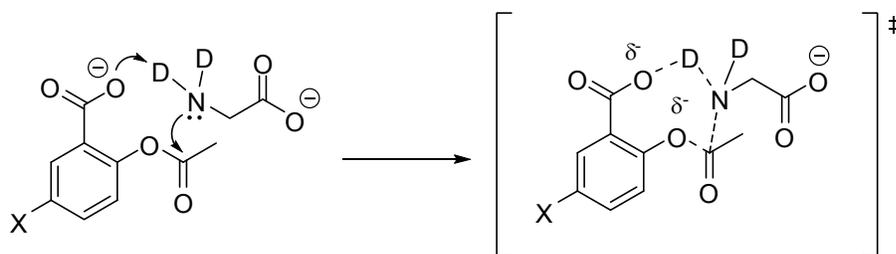
Os valores baixos do efeito isotópico cinético são típicos de reações do tipo concertadas. É provável que as reações estudadas ocorram com a formação de um estado de transição em que abstração do próton ocorre na etapa determinante da velocidade, e o carboxilato catalisa o ataque do grupo amino ao carbono da carbonila do éster.

O valor calculado do pK_a da glicina em água deuterada (10,17) pela **Equação 9**¹⁸ foi bem próximo do valor obtidos pelo ajuste teórico da **Figura 13**.

$$K_D = \frac{K_H \times \phi_{H_3O^+} \times \phi_{NH_2}}{\phi_{NH_3^+}} \quad (9)$$

Nessa equação, K_H e K_D são as constantes de dissociação em água e em D_2O e ϕ é o fator de fracionamento dos hidrogênios envolvidos na dissociação.

Propõe-se o estado de transição para as reações estudadas no **Esquema 19**, onde se observa que há desenvolvimento de densidade de carga negativa, que é consistente com os valores de p para estas reações, apresentados anteriormente.



Esquema 19

6. CONCLUSÃO

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

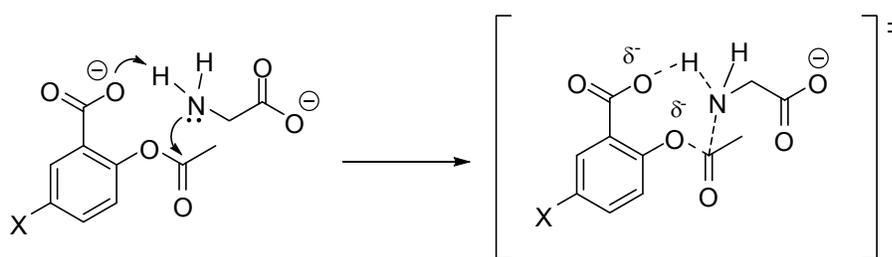
(i) os estudos cinéticos mostram que o ataque da glicina apresenta cinética de 1ª ordem, e que a reação é sensível ao pH, visto que o pH altera a distribuição das espécies catiônica, zwitteriônica e aniônica da glicina, bem como a forma protonada e desprotonada da aspirina;

(ii) em meio com pH elevado, o ataque da glicina ocorre com uma constante de velocidade maior do que o do íon hidróxido;

(iii) a reação é sensível a substituintes, sendo que os retiradores de elétrons aceleram a velocidade da reação. Portanto, há desenvolvimento de densidade de carga negativa no estado de transição (Hammett), e os substituintes tem um efeito mais pronunciado no grupo de saída do que na catálise básica (Jaffé);

(iv) o gráfico de Brønsted é consistente com um mecanismo do tipo concertado e a análise do diagrama de carga efetiva mostra que a ligação do nitrogênio ao carbono da carbonila está aproximadamente 60 % formada;

(v) existe transferência de próton no estado de transição (efeito isotópico), e os valores são concordantes com um mecanismo concertado (**Esquema 20**);



Esquema 20

(vi) o grupo carboxilato catalisa o ataque da glicina, atuando como catalisador básico geral.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MASKILL, H. **Structure and Reactivity in Organic Chemistry**. New York: Oxford, 1999, pp. 19-20.
2. DUGAS, Hermann. **Bioorganic chemistry: a chemical approach to enzyme action**. 3rd. ed. New York: Springer, 1996.
3. LEHNINGER, Albert L.; NELSON, David L.; COX, Michael M. **Principles of Biochemistry**. 4^a ed. São Paulo: Sarvier, 2005.
4. Hutchins, R. O.; Rua, L. Neighboring group assistance in azabicyclic derivatives. Tremendous rate accelerations in 2-aza-6-halobicyclo[2.2.2]- and 6-aza-4-halobicyclo[3.2.1]octanes. **J. Org. Chem.** v. 40, p. 2567, 1975.
5. MENGER, F.M. On the Source of Intramolecular and Enzymatic Reactivity. **Acc. Chem. Res.**, v. 18, p. 128-134, 1985.
6. GESSER, J. C.; YUNES, S.; CLEMENTIN, R. M.; NOME, F. Reações Intramoleculares como Modelos Não Miméticos de Catálise Enzimática. **Química Nova**. v.20, p. 631, 1997.
7. KIRBY, A. J.; LLOYD, G.J. Intramolecular General Base Catalysis of Intramolecular Nucleophilic Catalysis of Ester Hydrolysis. **J. C. S. Perkin II**. v.6, p. 637-642, 1974.
8. FERSHT, A. R.; KIRBY, A. J. The Hydrolysis of Aspirin. Intramolecular General Base Catalysis of Ester Hydrolysis. **J. Am. Chem. Soc.** v.89, p. 4857, 1967.
9. FERSHT, A.R.; KIRBY, A.J. Intramolecular Nucleophilic Catalysis in the Hydrolysis of Substituted Aspirin Acids. **J. Am. Chem. Soc.**, v.90, p. 5826, 1968.
10. ST. PIERRE, T.; JENCKS, W. P. Intramolecular Catalysis in the Reactions of Nucleophilic Reagents with Aspirin. **J. Am. Chem. Soc.** v.90, p. 3817, 1968.
11. FERSHT, A.R.; KIRBY, A.J. Structure and Mechanism in Intramolecular Catalysis. The Hydrolysis of Substituted Aspirin. **J. Am. Chem. Soc.**, v.89, p. 4853, 1967.

12. KIRBY, A. J.; LLOYD, G. J. Structure and Efficiency in Intramolecular and Enzymic Catalysis: Intramolecular General Base Catalysis. Hydrolysis of Monoaryl Malonates. **J. C. S. Perkin II.** v.14, p. 1753-1761, 1976.
13. WILLIAMS, A. **Free Energy Relationships in Organic and Bioorganic Chemistry.** Cambridge: RSC, 2003. 62 p.
14. FIFE, T. H.; BRUICE, T. C. The Temperature Dependence of the ΔpD Correction for the Use of the Glass Electrode in D_2O . **J. Phys. Chem.**, v. 65, p. 1079, 1961.
15. MEDEIROS, M. Reações entre Hidroxilamina e Aspirinas. Catálise Básica Geral Intramolecular. **Relatório PIBIC**, UFSC, 2006.
16. NIST Metal Complexes v. 6. **NIST Standard Reference Database 46.**
17. ANSLYN, E. V.; DOUGHERTY, D. A. **Modern Physical Organic Chemistry.** University Science Books, California, 2006.
18. SCHOWEN, K. B. Solvent Hydrogen Isotope Effects. In: **Transition States Of Biochemical Processes.** New York, 1978.