

ESTUDO DA INTERAÇÃO DO ION PENTACIANOFERRATO(II)
COM OS LIGANTES ADENINA E GUANINA


MIRIAN PARENTE MONTEIRO



DISSERTAÇÃO SUBMETIDA A COORDENAÇÃO DO CURSO DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INORGÂNICA PARA
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ


Fortaleza - 1987




A


Esta Dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química Inorgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.


A citação de qualquer trecho desta Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.


Mirian Parente Monteiro

Dissertação aprovada em: 03/04/87


Augusto Leite Coelho
Orientador


Douglas Wagner Franco
Instituto de Física e Química
de São Carlos - USP


Judith Feitosa Rodrigues
Universidade Federal do Ceará

À meus pais AUDÁLIO e MIRIAN pelo muito
que sempre fizeram por mim.
Ao ALBERTO pelo apoio e incentivo nos
momentos difíceis.

Este trabalho foi realizado sob a orientação do Professor AUGUSTO LEITE' COELHO do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Augusto Leite Coelho pela orientação neste trabalho, bem como pela valiosa contribuição prestada ao meu aperfeiçoamento profissional

Ao professor Ícaro de Souza Moreira pela imensurável dedicação e prestimosa colaboração na execução deste trabalho.

Aos colegas do curso pela amizade e companheirismo.

Aos professores e funcionários da instituição que participaram ativamente conosco em uma ou outra fase de elaboração desta Dissertação.

Ao CNPq e à CAPES pelo suporte financeiro.

Ao Orlando, Verônica e a todos os amigos que colaboraram direta ou indiretamente na preparação e impressão desta Dissertação.

NÓS NÃO TEMOS CONSEGUIDO RESOLVER
TODOS OS SEUS PROBLEMAS
AS RESPOSTAS QUE TEMOS ENCONTRADO
SÓ SERVEM PARA LEVANTAR UM NOVO CONJUNTO
DE PERGUNTAS.
DE ALGUM MODO ACHAMOS QUE ESTAMOS
TÃO CONFUSOS COMO ANTES;
MAS ESTAMOS CONFUSOS NUM
NÍVEL MAIS ALTO E SOBRE COISAS
MAIS IMPORTANTES

Anonymus

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	01
1.1	Propriedades e características dos ligantes	03
1.2	Tautomerismo das Bases de Ácidos Nucleícos	05
1.2.1.	Mecanismo e Velocidade de Interconversão	08
1.2.2.	Tautomerismo nas Bases Adenina e Guanina	10
2.	PARTE EXPERIMENTAL	14
2.1	Preparação dos Compostos	14
2.1.1.	Aminpentacianoferrato(II) de Sódio	14
2.1.2.	Perclorato de Lítio	15
2.1.3.	Solução de Perclorato de Crômio(III)	16
2.1.4.	Amálgama de Zinco	16
2.1.5.	Ligantes	17
2.1.6.	Complexo de Pentacianoferrato(II) com o ligante Adenina	17
2.1.7.	Complexo de Pentacianoferrato(II) com o ligante Guanina	18
2.2.	Aparelhagens e Técnicas Experimentais	19
2.2.1.	Espectros Eletrônicos	19
2.2.2.	Espectros Vibracionais	19
2.2.3.	Espectros de Ressonância Magnética Nuclear	19
2.2.4.	Medidas Cinéticas das Reações	19
2.2.5.	Linha de Argônio	19
2.2.6.	Análise Elementar	20
2.3.	Tratamento dos Dados Experimentais	20
2.3.1.	Medidas Espectroscópicas	20
2.3.2.	Medidas Cinéticas	20
2.3.3.	Parâmetros de Ativação	21
2.3.4.	Avaliação dos Erros Experimentais	22

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.1 Espectros Eletrônicos	23
3.2 Espectros Vibracionais na Região do Infravermelho	29
3.2.1. Frequências Vibracionais associadas aos Grupos CN e Fe-CN	29
3.2.2. Vibrações associadas aos ligantes Adenina e Gua nina	33
3.3 Espectros de Ressonância Magnética Nuclear (^1H)	37
3.4 Cinética e Mecanismo de Substituição	47
3.4.1. Cinética de Substituição no íon complexo Penta- cianoadeninaferrato(II)	47
3.4.2. Cinética de Substituição no íon complexo Penta- cianoguaninaferrato(II)	55
3.4.3. Cinética de Substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5$ Gua^{3-} , na ausência de excesso de guanina	62
3.4.4. Mecanismo de Substituição de ligantes em ions complexos de Pentacianoferrato(II)	69
3.4.5. Entalpias e Entropias de Ativação	73
4. CONCLUSÕES	76
RESUMO	78
"ABSTRACT"	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
APÊNDICES	85

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Embora a bioquímica seja geralmente associada a química orgânica, verifica-se nos fenômenos de fixação de N_2 e O_2 , armazenamento de energia, fenômenos redox, equilíbrios osmóticos e nos mecanismos de ativação da membrana celular, que os elementos inorgânicos são fundamentais para tais processos.

Devido ao aparecimento de muitos simpósios e jornais científicos envolvendo a bioquímica inorgânica criou-se a terminologia "Química Bioinorgânica" para expressar este novo ramo da química.

Nesta área têm surgido trabalhos envolvendo o estudo do efeito dos íons metálicos na estrutura dos ácidos nucleicos. Estes trabalhos têm abordado diferentes aspectos, tais como: identificar a interação dos íons metálicos com as bases "nucleosídicas" que são responsáveis pelo código genético, pesquisar a função biológica dos íons metálicos ou ainda, numa visão mais inorgânica, estudar a interação dos íons metálicos com os ácidos nucleicos, sob o ponto de vista de uma macromolécula com um grande número de sítios de coordenação.

O presente trabalho visa o estudo da interação de um centro metálico com duas das bases heterocíclicas presente na molécula dos ácidos nucleicos. Estas bases são a adenina e a guanina e o seu comportamento químico, frente a um íon monocoordenativo, foi pesquisado através de investigações cinético-mecanísticas de reações destas bases com o íon pentacianoferrato (II).

A síntese e caracterização dos complexos, a atribuição do provável sítio de coordenação e as correlações estrutura-reatividade constituem os objetivos específicos deste trabalho.

O íon pentacianoferrato (II) foi escolhido como centro metálico para interagir com os ligantes adenina e guanina,

por ser um íon monocoordenativo ao contrário da maioria dos íons de metais de transição. Isto facilita a verificação de interações específicas, quando o ligante possui, potencialmente, mais de um ponto de coordenação.

Desse modo também pode ser avaliado de maneira direta a estabilidade das ligações na ausência de efeitos quelato. Além disso o íon $\text{Fe}(\text{CN})_5^{3-}$ apresenta características bastante favoráveis para estudos espectroscópicos.

Até então, na literatura, existem poucos registros relacionados ao compromisso do íon pentacianoferrato (II) com as bases nitrogenadas dos ácidos nucleicos. Estudos com essas bases e o íon pentacianonitrosilferrato (II) foram feitos, embora maior atenção tenha sido conferida ao seu papel biológico¹.

Os ácidos nucleicos são moléculas que transportam e transmitem informação genética usada na síntese de proteína celular. Podem ser divididos em duas classes distintas dependendo da estrutura de seus açúcares constituintes.

O ácido ribonucleico (RNA) contém D-ribose enquanto o ácido desoxiribonucleico (DNA) contém 2 - deoxi - D - ribose. A ligação primária geral da cadeia de ácido nucleico consiste de grupos alternantes de açúcar e fosfato ligados por meio de ligações ester nas posições 3 e 5 hidroxil do açúcar. O esqueleto da cadeia de ácido é portanto um copolímero de um açúcar ribose e ácido fosfórico. Ligada a cada um dos grupos açúcar numa determinada posição está uma base nitrogenada. Normalmente essa base será uma das seguintes: adenina (Ade), guanina (Gua), citosina (Cit), uracila (Ura), ou 5 - metiluracil chamada timina (Tim). Como regra geral uracila é encontrada somente no RNA e timina apenas no DNA.

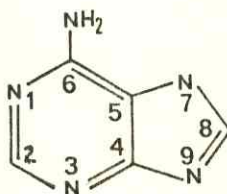
O funcionamento biológico dos ácidos nucleicos envolve a participação de íons metálicos. Além disso, os nucleotídeos (unidade estrutural dos ácidos nucleicos) como monômeros são de grande importância em vários processos metabólicos, muitos dos quais são também mediados por íons metálicos.

1.1. Propriedades e Características dos ligantes.

ADENINA

Adenina é o nome trivial utilizado para representar o composto que recebe as seguintes denominações: 1H - purina - 6 - amina; 6 - aminopurina; 6 - amino - 1H - purina; 6 - amino - 3H - purina; 6 - amino - 9H - purina; 1,6 - dihidro - 6 - iminopurina; 3,6 - dihidro - 6 - imino-purina; Leuco - 4².

A adenina é também referida como vitamina B₄. Foi isolada primeiramente por Kossel (1885)³, a partir de pâncreas bovino. De fórmula molecular C₅H₅N₅, seu peso molecular é 135,14 e sua estrutura é representada da seguinte maneira.



Os valores de pK_a para a adenina podem ser citados como pK_1 , 4,12 e pK_2 9,75⁴.

A adenina apresenta ponto de fusão na faixa de 360 - 365°C. É pouco solúvel em água, levemente solúvel em álcool e praticamente insolúvel em éter e clorofórmio. Encontra-se adenina em tecidos de plantas e animais combinada com a niacinamida, D-ribose e ácido fosfórico.

Utiliza-se adenina na determinação microbiológica de niacina; em pesquisa sobre hereditariedade, doenças viróticas e câncer.

cer.

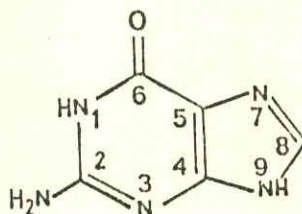
GUANINA

Guanina é o nome trivial usado para designar o composto 2 - amino-1, 1,7 - dihidro - 6 - H - purina - 6 - ona, também denominado 2 - aminohipoxantina.

Foi primeiramente isolada a partir de excrementos de certos tipos de aves marinhas da costa do Peru⁵⁻⁷.

A fórmula molecular da guanina é $C_5H_5NO_5$, sendo seu peso molecular 151,13.

A representação da estrutura da guanina é dada, a seguir:



A guanina apresenta ponto de fusão ao redor de 360°C , com sublimação parcial. Praticamente insolúvel em água, muito solúvel em hidróxido de amônio (NH_4OH), soluções aquosas de KOH e ácidos diluídos; pouco solúvel em álcool e éter².

Valores de pK_a para a guanina

	pK_1		pK_2		pK
Ref. 8	3,0*	Ref. 8	9,3**	Ref. 8	12,3***
Ref. 9	3,3	Ref. 10	9,2	Ref. 10	12,3

* Para a transição de espécies catiônicas à espécies neutras.

** Para a transição de espécies neutras à anion.

*** Para a transição de anion à dianion.

O RNA é geralmente mais rico em guanina que o DNA. O conteúdo em guanina do RNA de transferência e do RNA ribossômico isolado de numerosas fontes varia de 26 a 34% ¹².

1.2. Tautomerismo das bases de ácidos nucleicos.

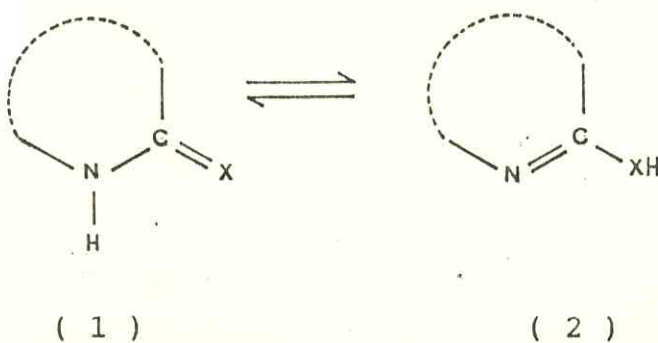
Um dos aspectos mais importantes da química das bases de ácidos nucleicos é seu tautomerismo.

Uma teoria amplamente aceita é que a mutação espontânea é atribuída, possivelmente, a ocorrência de bases em diferentes formas tautoméricas nos ácidos nucleicos ¹³.

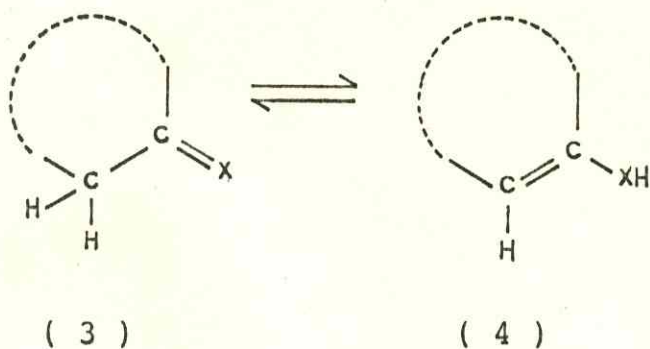
Tem sido atribuído, por exemplo, que citosina na forma amino, devido a sua estrutura eletrônica, forme um par complementar com guanina, enquanto na sua forma imino forme seu par complementar com adenina.

Os primeiros tipos de tautomerismo podem ser classificados de acordo com a natureza e a posição dos átomos entre os quais os prótons se movimentam:

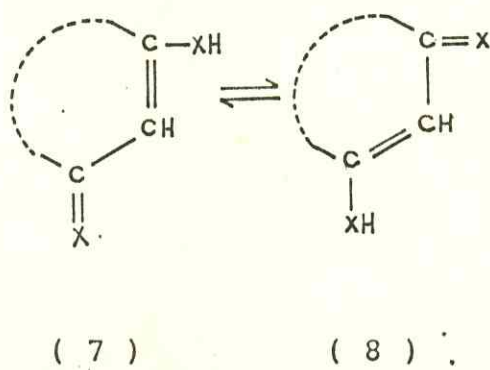
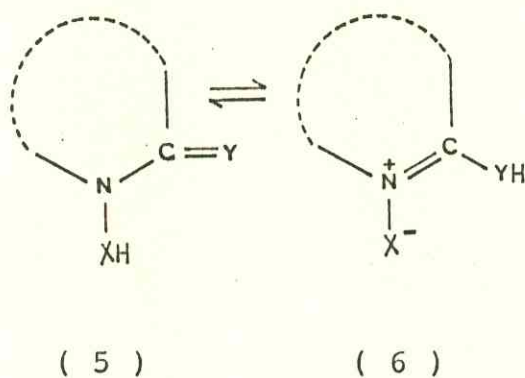
(I) Nitrogênio anular e um átomo adjacente ao anel.



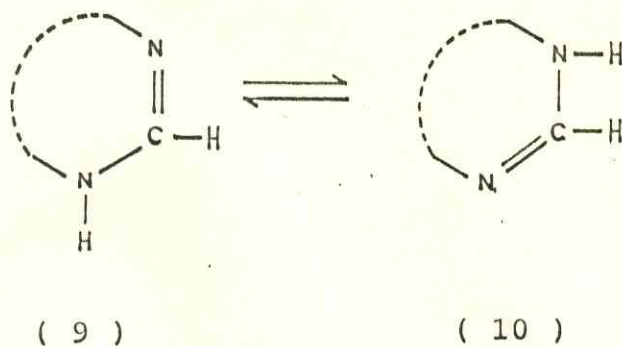
II) Carbono anular e um átomo adjacente ao anel.



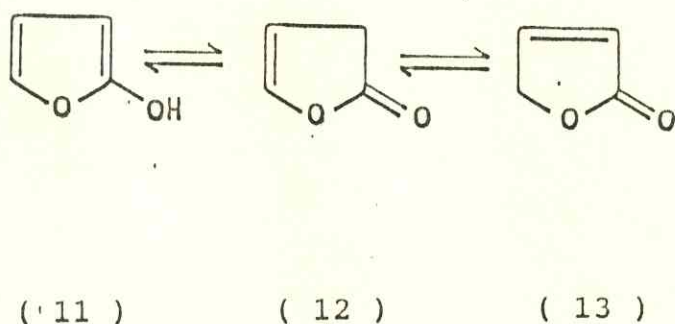
III) Dois átomos adjacentes ao anel.



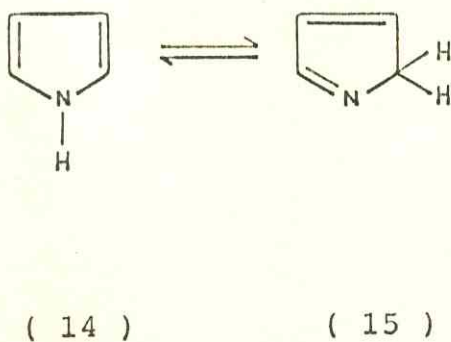
IV) Dois átomos de nitrogênio anulares.



V) Dois átomos de carbono anulares.



VI) Carbono anular e átomos de nitrogênio



Os tipos II e II são os mais importantes. Uma diferença essencial entre eles é que no tipo I os tautômeros podem ser aromáticos.

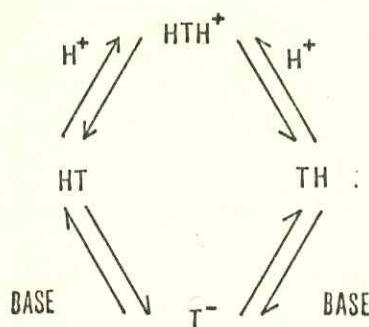
Em geral, o tautomerismo do tipo I é importante para heterocíclico de seis membros contendo pelo menos um átomo de nitrogênio anular, tais como piridinas e azinas, enquanto o do tipo II é importante para heterocíclicos com um heteroátomo anular, ex.: pirróis, furanos e tiofenos. Tautomerismo de ambos os tipos, I e II, é importante para anéis de cinco membros contendo dois ou mais heteroátomos anulares.

Tautomerismo dos tipos III - V ocorrem menos frequentemente que os do tipo I e II.

Com regra geral, as estruturas tautoméricas dos tipos III, IV e V não serão aromáticas, e somente uma estrutura do tipo VI será aromática.

1.2.1. Mecanismo e velocidade de interconversão.

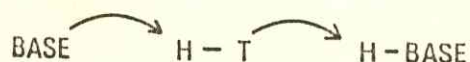
A interconversão entre duas estruturas tautoméricas pode ocorrer via intermediários cationicos ou anionicos discretos.



(16)

Obs.: T é um anion capaz de reagir com um próton em um mínimo de dois sítios diferentes.

Por outro lado, a interconversão pode ocorrer por perda e ganho simultâneo de diferentes prótons.



Esses mecanismos estão bem estabelecidos para compostos acíclicos, mas não tem sido profundamente investigados para sistemas heteroaromáticos¹⁴.

A velocidade de interconversão de dois tautômeros é maior quando ambos os átomos alternativos com o qual o próton móvel pode ser ligado são heteroátomos, e o isolamento dos isômeros separados é usualmente impossível neste caso.

Se um dos átomos alternativos envolvido na tautomerização é carbono, a velocidade de interconversão é de algum modo mais lenta, mas ainda assim é rápida. Quando ambos os átomos são carbonos, a interconversão é, geralmente, mais lenta e requer a presença de um catalizador.

O tautomerismo encontrado na maioria dos sistemas heterocíclicos é do tipo I ou II, e em geral, muito pouco é conhecido sobre as velocidades de interconversão exceto que são rápidas.

Cada base, que é um componente de um ácido nucleico, pode de maneira geral, existir em várias formas tautoméricas, e o número delas dependerá do número de grupos exocíclicos no anel purinico ou pirimidinico.

Heterocíclicos com grupos hidroxil e compostos amino não exibem tautomerismo ceto-enólico e amino-imino, respectivamente^{14,15}.

A abordagem do problema de qual das formas tautoméricas é mais estável, sob condições particulares, requer a consideração de vários fatores: primeiro, durante uma mudança na forma tautomérica o sistema de ligações σ da molécula é reorganizado. Segundo a estrutura do sistema de elétrons π nas moléculas conjugadas é modificada e, conseqüentemente, também sua energia de ressonância. Terceiro, se o equilíbrio tautomérico é

examinado em solução, o poder solubilizante da molécula é alterado, tornando a situação mais interessante para investigação de problemas químicos e bioquímicos. Finalmente, durante a transformação do composto de uma forma tautomérica para outra o sistema de ligações hidrogênio intramolecular é modificado.

A ação combinada desses fatores determina a estabilidade relativa das diferentes formas tautoméricas sob determinadas condições particulares.

A estabilidade relativa das várias formas tautoméricas pode ser estimada teoricamente, desprezando-se as diferenças em seus graus de solvatação.

Para cada forma tautomérica a energia da molécula como um todo tem sido calculada a partir de dados experimentais para as energias de ligações isoladas representadas na fórmula canônica, e a energia de ressonância pode ser calculada por química quântica e adicionada ao valor calculado anteriormente, ou um cálculo completo através de química quântica, pode ser feito considerando ambas as ligações τ e π ¹⁶.

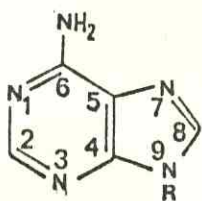
A proporção de qualquer tautômero presente numa mistura em equilíbrio pode mudar, se uma mudança no meio altera as estabilidades relativas dos isômeros, estabilizando um deles preferencialmente.

Se um isômero é mais polar que outro, ele preferencialmente será estabilizado em um meio com alta constante dielétrica, ou seja, ele será mais estável em água do que num hidrocarboneto como solvente. Interações específicas com o solvente, em particular ligação hidrogênio com o solvente que atua como doador de hidrogênio ou aceptor, frequentemente estabiliza um isômero.

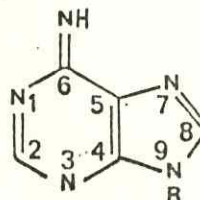
1.2.2. Tautomerismo nas bases adenina e guanina

Estudos de tautomerismo, nos quais espectros de aminopurinas e seus análogos amino substituídos foram comparados, mos-

trãam claramente que a forma amino e não a forma imino predomi -
na¹⁷.



forma amino



forma imino

No caso do equilíbrio amina-imino, as energias das li -
gações o nas duas formas tautoméricas podem ser tomadas como
iguais, nesse caso a estabilidade dessas formas pode ser determi -
nada pela razão entre suas energias de ressonância¹³.

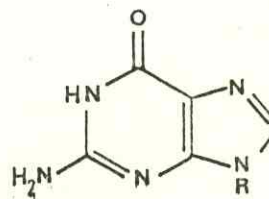
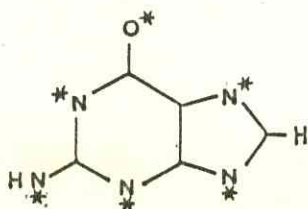
Cálculos de orbital moleculares efetuados pelo méto -
do de Hückel mostram que a energia de ressonância da forma amino
é maior do que a energia de ressonância da forma imino, sendo a
primeira portanto mais estável¹⁸⁻²⁰.

Para a base adenina que é uma aminopurina, ela é en -
contrada na forma amino por ser esta mais estável que a forma imi -
no.

Dentre os componentes mais comun- dos ácidos nucleí -
cos a guanina tem o maior número possível de formas tautoméri -
cas.

Na figura 1.a temos uma representação da guanina, in -
cluindo dois prótons que provavelmente não estão envolvidos no
tautomerismo.

1.a.



1.b

Tem sido atribuído⁷ vinte e duas maneiras nas quais os três prótons restantes podem ser distribuídos entre três dos seis sítios indicados pelos asteriscos na figura 1.a.

Entretanto, parece existir uma forte tendência para o sistema assumir um arranjo único como é mostrado na figura 1.b, e como é empregada na teoria de Watson-Crick²¹.

Atualmente essa forma tautomérica é sustentada por um bom número de evidências experimentais. Dentre essas evidências podem ser citados: estudos de difração de raio-X de derivados de guanina²²⁻²⁶ e co-cristais de guanina 21-29, estudos no infravermelho de guanosina em solução e no estado sólido³⁰⁻³².

Espectros de ressonância magnética nuclear de guanosina^{30, 33, 34} e deoxiguanosina³⁴ em dimetil sulfóxido também estão de acordo com a estrutura da figura 1.b.

Cálculos de orbitais moleculares indicam uma estabilidade intrínseca da forma ceto em relação a forma enólica da guanina¹⁶.

Kochetkov e Budoviskii¹³ efetuaram cálculos com valores das energias de ressonância¹⁶ para as formas ceto e enólica, em condições padrão (25°C, 1 atm) e concluíram que a forma hidróxido é mais estável (tabela I), entretanto cálculos de energia da molécula a partir das ligações isoladas (tabela I) da correspondente forma tautomérica mostra sob condições padrão que a forma ceto é mais estável do que a forma enólica, e que a diferença entre as energias combinadas das ligações isoladas ($\Delta = 18$) das formas ceto e enólica é maior do que a diferença entre os correspondentes valores da energia de ressonância ($\Delta = 6$).

Do ponto de vista da energia de ligação no equilíbrio tautomérico da guanina sob condições padrão a forma ceto é predominante sobre a enólica.

Energia combinada das ligações isoladas e Energia de ressonância para as formas enó-lica e ceto de bases

13

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Preparação dos compostos

2.1.1. Aminpentacianoanferrato (II) de sódio

O sal aminpentacianoanferrato(II) de sódio foi obtido a partir do pentacianonitrosilferrato(II) de sódio dihidratado de procedência Carlo Erba, segundo o procedimento de Hoffmann descrito por Brauer³⁵ com pequenas modificações³⁶.

30g de $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ foram dissolvidos em 120ml de uma solução 6M de hidróxido de amônio, sob agitação e em banho de gelo. A solução foi transferida para um balão e saturada com amônia, mediante borbulhamento contínuo de NH_3 proveniente de um frasco gerador contendo NH_4OH e NaOH .

Após seis horas de reação, observou-se a formação de um sólido de cor amarela nas paredes do balão. Deixou-se que a reação prosseguisse até que fosse completado o período de 10 horas, para então, efetuar-se a separação do sólido obtido, por filtração em funil de placa porosa. Em seguida o sólido foi lavado com etanol absoluto. Adicionou-se ao filtrado cerca de 20g de iodeto de sódio, ou iodeto de potássio, agitando-se a mistura até a completa dissolução e, em seguida, etanol, lentamente, até que todo o produto precipitasse sob a forma de um sólido amarelo.

O produto foi redissolvido em cerca de 100ml de uma solução 3M de NH_4OH , para que fossem eliminados possíveis traços de pentacianonitrosilferrato(II) de sódio e novamente precipitado por tratamento com iodeto de sódio ou iodeto de potássio e adição lenta de etanol. As operações desta etapa foram realizadas com a solução permanecendo em banho de gelo, e na ausência de luz.

A mistura foi filtrada em funil de placa porosa, isolando-se o produto desejado e lavando-o com solução 1:4 água-etanol e, em seguida, com etanol absoluto.

O produto foi mantido em dessecador com cloreto de cálcio, submetido a secagem à vacuo até peso constante e na ausência de luz, para evitar possíveis alterações resultantes de processos fotoquímicos indesejáveis³⁷.

A equação representativa do processo é dada por:



2.1.2. Perclorato de lítio

O perclorato de lítio foi preparado na forma hidratada à partir de carbonato de lítio (Carlo Erba) adicionado a uma solução de ácido perclórico (Carlo Erba), seguido de evaporação em evaporador rotativo, sob vácuo, com aquecimento (60°C) até a secura.

O sal foi recristalizado, secado a vácuo e mantido em dessecador com CaCl_2 .

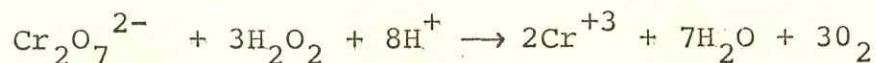
A determinação do perclorato de lítio foi feita a partir de soluções aquosas 0,1M. O anion perclorato foi separado utilizando-se resinas trocadoras de ions (amberlite IR-124) na forma H^+ , titulando-se o ácido liberado com solução padrão de hidróxido de sódio 0,1N, usando-se como indicador alaranjado de metila³⁸.

A validade deste procedimento limita-se contudo, para soluções moderadamente concentradas, visto que, a eficiência de troca para as resinas mais comuns é relativamente baixa.

O perclorato de lítio foi utilizado em concentrações apropriadas, nas soluções preparadas para uso nos estudos cinéticos, com a finalidade de manter a força iônica.

2.1.3. Solução de perclorato de crômio (III)

O perclorato de crômio (III) foi preparado em solução, pela redução do dicromato de potássio (Grupo Química) com peróxido de hidrogênio (Grupo Química) em excesso de ácido perclórico - co conforme a reação.



37g de dicromato de potássio foram dissolvidos em 300 ml de uma solução de ácido perclórico aproximadamente 50% em volume. A solução foi mantida em banho de gelo enquanto adicionava-se 250 ml de peróxido de hidrogênio 30%, sob agitação.

Terminada a reação, a solução resultante foi aquecida à ebulição durante 4 horas para eliminar o excesso de peróxido de hidrogênio. A solução foi deixada em repouso em banho de gelo por 12 horas e o precipitado volumoso de perclorato de potássio, removido por filtração em funil de vidro sinterizado.

O filtrado foi diluído a 1,00 litro, obtendo-se uma solução de perclorato de crômio III, ca 0,25 M.

A solução de perclorato de crômio III foi preparada para ser utilizada na linha de argônio, com a finalidade de purificar o argônio, de possíveis traços de oxigênio.

2.1.4. Amálgama de zinco

O amálgama de zinco empregado como agente redutor da solução de Cr(III), foi utilizada na forma granulada, para favorecer o borbulhamento do argônio na solução e a circulação do líquido.

Na preparação do amálgama tratou-se o zinco granulado com ác. clorídrico aproximadamente 2M, e em seguida com óxido de mercúrio (II) (Carlo Erba). Após alguns minutos, separou-se o amálgama da solução, lavou-se com água abundantemente e secou-se em papel de filtro.

O amálgama foi utilizado logo após a preparação, ficando em contato com a solução de perclorato de crômio (III), em frasco lavador.

2.1.5. Ligantes

Os ligantes adenina (Sigma) e guanina (Aldrich) foram utilizados sem qualquer purificação prévia, tendo em vista a sua procedência e a constatação da sua pureza, através de propriedades físicas e espectroscópicas.

Os ligantes dimetil sulfóxido (Merck) e piridina (Riedel) foram utilizados nas cinéticas de substituição, como ligantes de troca.

2.1.6. Complexo de pentacianoferrato (II) com o ligante adenina

O complexo de pentacianoferrato (II) com o ligante adenina foi preparado de acordo com o seguinte procedimento:

Dissolveu-se 1,0g ($[3,06 \times 10^{-3} \text{M}]$) do sal aminpentacianoferrato(II) de sódio em 10 ml de água destilada. A esta solução adicionou-se uma outra, contendo um excesso do ligante (5 vezes) $[1,53 \times 10^{-2} \text{M}]$, dissolvido em 10 ml de água destilada.

A solução resultante foi mantida em agitação por 2 horas, ao abrigo da luz. Após esse tempo, esta solução foi filtrada, para retirar o excesso do ligante não dissolvido, em virtude de sua pouca solubilidade em água.

Em seguida, adicionou-se 5g de iodeto de potássio à solução filtrada. Tratou-se a mistura com etanol sob agitação lenta, até a completa precipitação do produto.

Filtrou-se o precipitado obtido, que em seguida foi lavado várias vezes com etanol.

O precipitado obtido foi secado à vácuo, em dessecador com cloreto de cálcio.

O produto formado apresentou-se sob forma de pó amarelo, bastante higroscópico.

A recristalização foi feita redissolvendo-se o produto em 10 ml de H_2O e adicionando-se o ligante em excesso.

A solução foi deixada sob agitação por 2 horas. Após esse período, adicionou-se 5g de iodeto de potássio e em seguida etanol.

A separação do produto foi feita por filtração em funil de placa porosa. Todo o trabalho de síntese foi realizado sob proteção da luz.

2.1.7. Complexo de pentacianoferrato(II) com ligante guanina.

O procedimento de preparação do complexo de pentacianoferrato(II) com o ligante guanina, foi idêntico ao descrito para adenina, diferenciando-se apenas na etapa de dissolução do ligante que é realizada em solução alcalina, $pH = 12,60$.

Usou-se o meio alcalino devido a baixa solubilidade do ligante em solução aquosa com pH próximo de 7.

Nesta síntese não foi necessária a filtração para retirar o excesso de ligante, uma vez que este é bastante solúvel em solução alcalina.

O produto amarelo, de natureza higroscópica, foi mantido sob vácuo, na presença de cloreto de cálcio, em dessecador.

As análises elementares dos compostos foram efetuados por procedimento microanalítico (Laboratório de Microanálises do Instituto de Química da Universidade de São Paulo), e apresentaram os seguintes resultados:

$Na_3Fe(CN)_5Ade.10H_2O$ calculado: % C 21,07; % N 24,56 % H 4,38 - experimental: % C 21,34; % N 21,36; % H 3,87 - $Na_3Fe(CN)_5Gua.10H_2O$ calculado: % C 20,48; % N 23,89; % H 4,09 experimental: % C 20,44 % N 18,31; % H 3,16.

2.2. APARELHAGENS E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS

2.2.1. Espectros eletrônicos.

Os espectros eletrônicos dos complexos em solução aquosa foram obtidos na faixa de 500 a 200nm, empregando-se o espectrofotômetro Cary modelo 17D.

Foram utilizados celas de quartzo de 1,00 cm de caminho ótico.

2.2.2. Espectros vibracionais.

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se o espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo 283B. As amostras sólidas foram preparadas na forma de pastilhas de brometo de potássio (KBr) e/ou em nujol.

2.2.3. Espectros de ressonância magnética nuclear (^1H).

Os espectros de RMN (^1H) foram obtido em um aparelho VARIAN modelo EM 360 (em solução de NaOD em água deuterada), e como padrão interno Dioxano (Merck).

2.2.4. Medidas cinéticas das reações.

As medidas cinéticas das reações de substituição foram acompanhadas utilizando-se a técnica espectrofotométrica convencional para cinética lenta^{39,40}. Para tal utilizou-se um espectrofotômetro VARIAN modelo Cary 17D, equipado com uma camisa termostaticável para o compartimento de célula. O controle de temperatura foi feito através de um banho termostático Haake modelo FK2 com precisão de 0,1°C.

Em cada experimento cinético registrou-se a variação das absorvâncias num dado comprimento de onda, em função do tempo.

2.2.5. Linha de argônio.

A linha de argônio foi utilizada com o objetivo de arrastar a amônia presente nas soluções usadas nos estudos cinéticos.

O argônio (White Martins) foi borbulhado em uma solução 0,25M de perclorato de crômio(II), produzida pelo amálgama de zinco na presença de perclorato de crômio III, em meio ácido (HClO_4 1,0 molar).

A solução de crômio(II), foi mantida em frasco lavador juntamente com o amálgama de zinco.

Em seguida, o gás era conduzido através de vários frascos lavadores imersos em frascos Dewar contendo gelo ou nitrogênio líquido.

O gás purificado foi borbulhado na solução do complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}]^{3-}$ provocando o arraste da amônia. Simultaneamente uma bomba de vácuo conectada ao balão que continha a solução, auxiliava esta operação.

2.2.6. Análise elementar (carbono, hidrogênio e nitrogênio).

A análise elementar das amostras foi realizada no Instituto de Química - USP. Obtendo-se informações sobre a composição das amostras quanto ao seu teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio.

2.3. TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS.

2.3.1. Medidas Espectroscópicas.

As medidas de absorbância nos espectros eletrônicos foram feitas diretamente da leitura dos espectros, sendo realizadas as devidas correções pelas respectivas linhas base, nas mesmas condições usadas para as amostras.

As absorptividades molares foram calculadas com base na Lei de Lambert-Beer tendo-se considerado a concentração do complexo como sendo a do reagente $\text{Na}_3[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ na presença de excesso de ligante.

2.3.2. Medidas Cinéticas.

As constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem foram avaliadas graficamente, determinando-se o coeficiente angular do gráfico $\ln (A_{\infty} - A_t)$ versus tempo, onde A_t refere-se à absorbância da solução no tempo t , e A_{∞} à absorbância da mesma após o término da reação. Para tal aplicou-se um programa de Regressão Linear⁴¹ num microcomputador DGT-100, da DIGITUS em linguagem Basic. Obtidos os coeficientes angulares (constantes de velocidade, k_{obs}), plotou-se esses valores versus as concentrações correspondentes do ligante substituinte e obteve-se as curvas cinéticas.

2.3.3. Parâmetros de Ativação

Os parâmetros de ativação foram avaliados com base na expressão derivada da teoria do estado de transição.

$$k_{obs} = \frac{k \cdot t}{h} \cdot e^{\frac{\Delta S^{\ddagger}}{R}} \cdot e^{\frac{-\Delta H}{RT}} \quad (1)$$

sendo

- k_{obs} = constante de velocidade da reação
- k = constante de Boltzmann
- T = Temperatura de Kelvin
- h = constante de Planck
- R = constante dos gases
- ΔS^{\ddagger} = entropia de ativação
- ΔH^{\ddagger} = entalpia de ativação

Desenvolvendo-se esta equação, obtém-se a seguinte expressão:

$$\ln \frac{k_{obs}}{T} = \ln \frac{k}{h} + \frac{\Delta S^{\ddagger}}{R} - \frac{\Delta H^{\ddagger}}{RT} \quad (2)$$

As constantes de velocidades obtidas através de medidas cinéticas em várias temperaturas, foram utilizadas no cálculo dos valores correspondentes a $\ln \frac{k_{obs}}{T}$.

Plotando-se $\ln \frac{k_{obs}}{T}$ versus $\frac{1}{T}$ obtém-se uma reta cujo coeficiente angular será:

$$- \frac{\Delta H}{R}$$

Conhecendo-se os valores de ΔH^\ddagger , podemos aplicá-los na equação (2) e determinar os valores de ΔS^\ddagger .

As correlações numéricas foram avaliadas por um programa de regressão linear⁴¹, em um microcomputador DGT-100 da DIGITUS.

2.3.4. Avaliação dos erros experimentais.

Os erros experimentais das medidas cinéticas foram avaliados, em geral, por meio de gráficos sendo a correlação de dados numéricos tratada estatisticamente por programa de regressão linear.

Os erros experimentais são originados das incertezas nas concentrações e temperaturas bem como do envelhecimento das soluções, sendo possível minimizá-las com repetições exaustivas dos pontos cinéticos, logicamente, renovando sempre que necessário as soluções. O controle da temperatura foi feito através do termômetro digital com o termistor em contato direto com a câmara de termostatização⁴².

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ESPECTROS ELETRÔNICOS

Os espectros eletrônicos nas regiões do visível e ultravioleta dos complexos de pentacianoferrato(II) com os ligantes diversos geralmente apresentam transições "d-d" e de transferência de elétrons.

Estas últimas são de três tipos: Metal-Ligante, Metal-Cianeto e transições internas no ligante.

As transições "d-d", sendo proibidas pela regra de seleção de Laporte, são de baixa intensidade e algumas vezes apresentam-se encobertas por bandas de transferência de elétrons que são mais intensas. Considerando-se a micro-simetria C_{4v} para o ion complexo $Fe(CN)_5L$ onde L é diferente de cianeto, estas bandas são atribuídas segundo a teoria do campo cristalino como sendo:



Para que as transições de transferência de elétrons possam ocorrer é necessário que existam orbitais de simetrias apropriadas, com energias aproximadas, possíveis de interagir entre si, com um grau de recobrimento não nulo.

Pode-se fazer uma abordagem, para explicar as transferências de elétrons no sistema pentacianoferrato(II)-N-heterocíclicos, utilizando-se de orbitais moleculares simplificados, que conduz a uma aproximação razoavelmente boa do problema.

Considerando-se a simetria total do complexo incluindo o ligante N-heterocíclico a transformação dos orbitais deve ocorrer de acordo com a representação do grupo C_{2v} .

As representações dos orbitais de simetria " π " do ligante e "d" do metal são mostradas no diagrama de energia de orbitais moleculares simplificado visto a seguir.

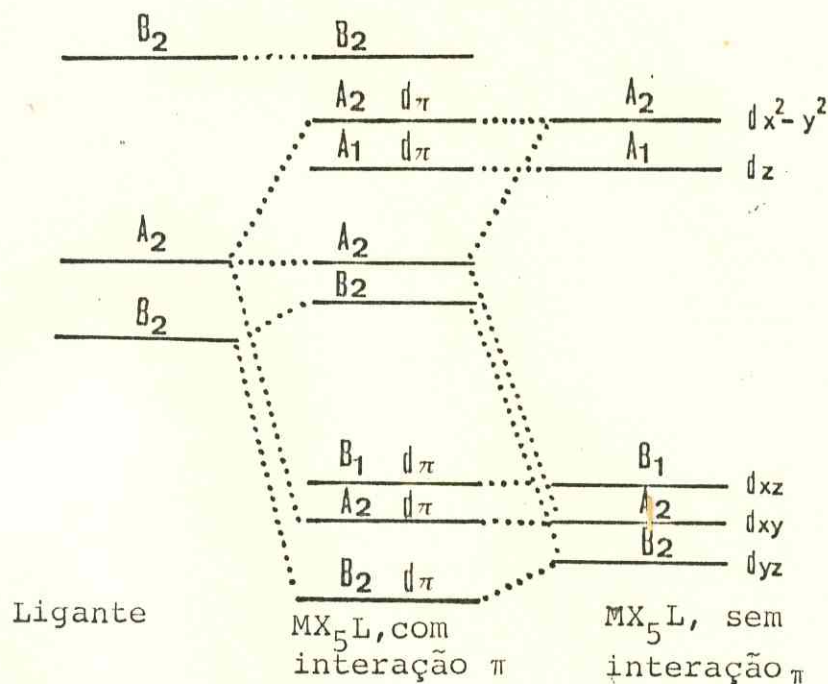
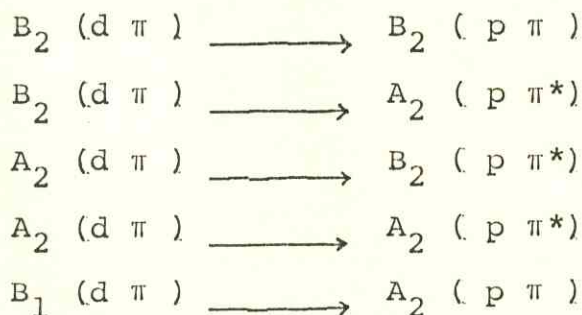


Diagrama de orbitais moleculares, simplificado, para complexos do tipo $Fe(CN)_5L^{3-}$, $L = N$ -heterocíclicos.

Exceto as transições $A_2 \longrightarrow A_1$ e $B_2 \longrightarrow B_1$, todas as outras são permitidas por simetria:



Segundo Ford^{44,45} as transições para o orbital A_2 são de baixa probabilidade devido a existência de um nó na posição para neste orbital, fato que tornaria as transições pouco sensíveis a natureza do solvente, ao contrário do que se observa. Em

outros trabalhos^{46,36} envolvendo N-heterocíclicos pode-se constatar o efeito do substituinte na posição para, o que vem a reforçar que a transição deve ocorrer para o orbital de simetria B_2 . Mesmo assim duas transições são ainda possíveis, e em uma delas os orbitais são de mesma representação, o que vem a conferir um maior grau de recobrimento. Esta transição que ocorre de $B_2(\pi) \longrightarrow B_2(\pi^*)$ é sugerida ser responsável pela banda geralmente observada neste tipo de complexo.

O segundo tipo de transição de transferência de elétrons oriunda do metal, que é observada nos pentacianoferratos é uma transição do tipo $(d \pi) \longrightarrow (p \pi^*)$ envolvendo os orbitais localizados no ferro (II) e no cianeto. Esta transição ocorre na região do ultravioleta sendo observada aproximadamente em ... 220 nm.

Pode-se observar também uma transição do tipo $\pi \longrightarrow \pi^*$ onde estão envolvidos apenas os orbitais de simetria π do ligante. Esta transição ocorre geralmente na região do ultravioleta e em posição muito próxima, se não coincidente, com aquela verificada no ligante livre.

Neste trabalho foram detectadas apenas três bandas as quais são mostradas na tabela 3.1.

Todas estas bandas foram atribuídas como sendo de transferência de elétrons devido as suas características de serem sensíveis ao efeito do solvente e/ou possuírem alta absortividade molar.

Os espectros eletrônicos, nas regiões do visível e ultravioleta, dos complexos de pentacianoferrato(II) com os ligantes adenina e guanina são mostrados nas figuras 3.1 e 3.2.

TABELA 3.1.

Dados os Espectros Eletrônicos de complexos de pentacianoferrato(II).

Fe(CN) ₅ L ³⁻ L	Metal → Ligante		Lig → Lig (livre)		Lig → Lig e/ou Fe-CN (coordenado)	
	λ m̄ax (nm)	ξ x 10 ⁻³ (M ⁻¹ cm ⁻¹)	λ m̄ax (nm)	ξ x 10 ⁻³ (M ⁻¹ cm ⁻¹)	λ m̄ax (nm)	ξ x 10 ⁻³ (M ⁻¹ cm ⁻¹)
ADENINA	350	3,00	260	12,6 ^b	260	a
			208	18,7 ^b	205	a
GUANINA	390	0,490	275	8,10 ^c	270	a
					220	a
NH ₃ (AMIN)	398	0,450			230	10,0

(a) - não pesquisada, (b) Ref. 47 (c) Ref. 48.

- pH da sol. do complexo de adenina = 18,64

- pH da sol. do complexo de guanina = 10,22

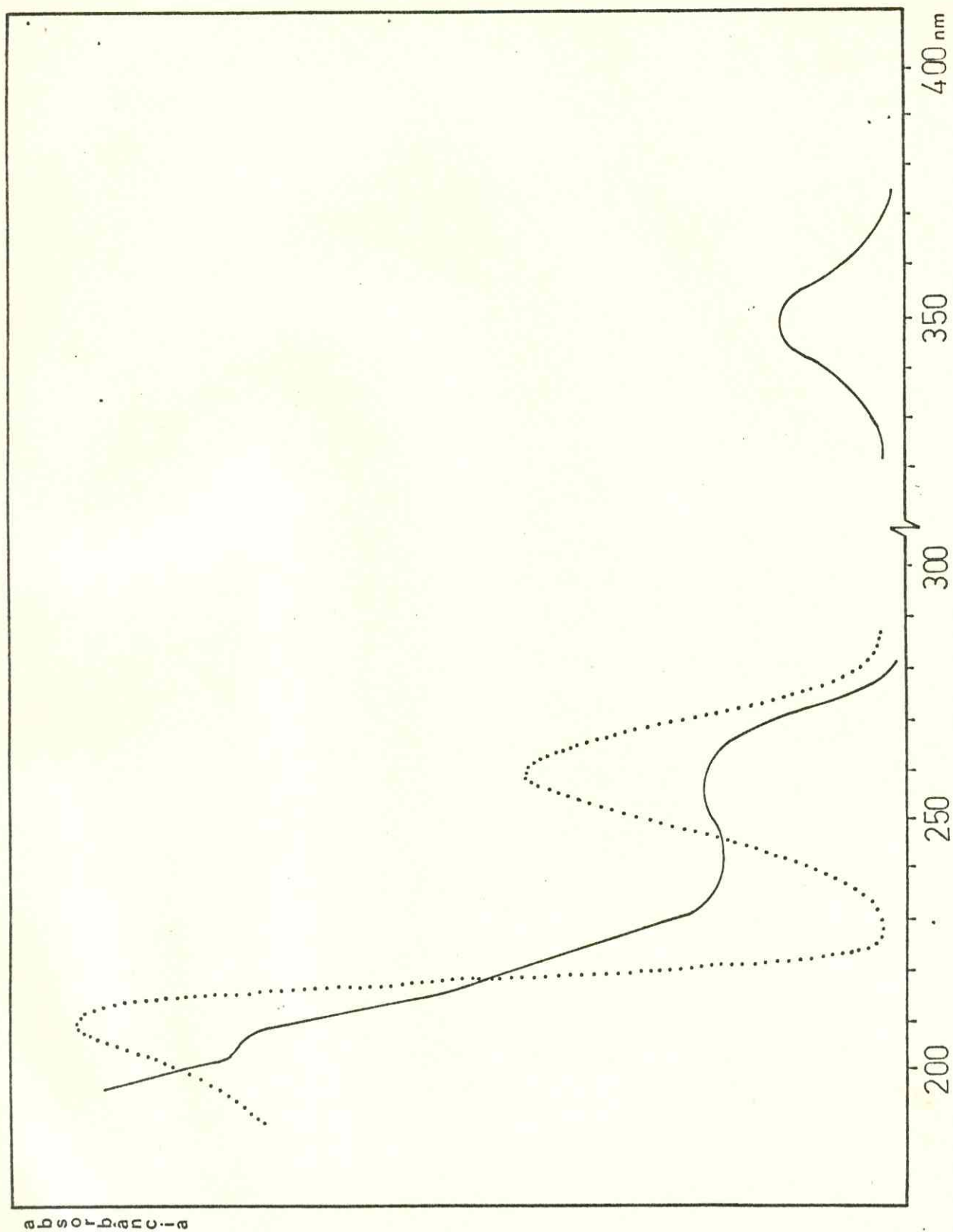


FIGURA 3.1 - Espectro eletrônico, em solução aquosa, na região visível e ultravioleta, do complexo $\text{Fe(CN)}_5\text{Ade}^{3-}$ (— complexo); (espectros em escalas diferentes); (...) ligante livre).

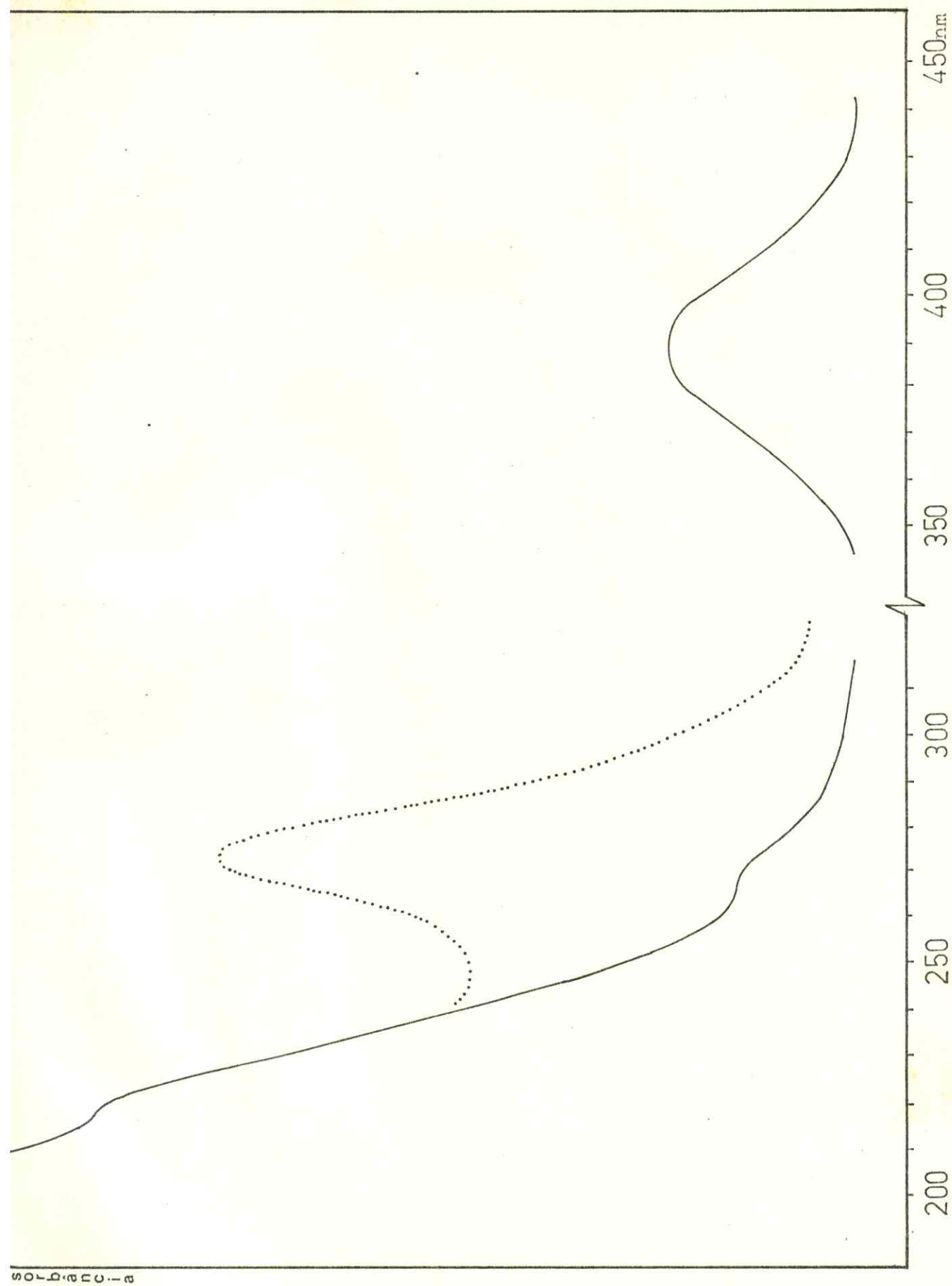


FIGURA 3.2 - Espectro eletrônico, em solução aquosa, na região visível e ultravioleta, do complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$ (— complexo); (.... espectros em escalar diferentes); (... 28 ligante livre).

3.2. ESPECTROS VIBRACIONAIS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

3.2.1. Frequências vibracionais associadas aos grupos CN e Fe-CN.

As tentativas de atribuição das bandas do infravermelho com consequentes caracterizações estruturais não tem sido satisfatórias em compostos de pentacianoferrato(II)⁴⁹. Isto se deve ao fato de geralmente as bandas de estiramento FeL (Fe-N, $245-223\text{cm}^{-1}$)⁵⁰ que seriam de grande importância no estudo de correlação entre os espectros dos complexos e dos ligantes livres, apresentarem-se com baixas intensidades e localizações, às vezes, inconvenientes a estudos mais elucidativos.

Portanto, as atribuições aos espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos de pentacianoferrato(II) com adenina e guanina relatadas neste trabalho são limitadas aos estiramentos CN e a deformação FeCN, os quais são mostrados na tabela 3.2.

Os cianoferratos exibem bandas características na região $2.200-2.000\text{cm}^{-1}$, atribuídas a estiramentos CN. Nos estudos de espectroscopia vibracional no complexo $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ realizados por Tosi^{51,52}, as duas bandas em frequência mais alta são atribuídas como sendo do tipo A_1 . Dentre essas a de maior frequência é atribuída ao cianeto axial, e a de menor frequência ao cianeto equatorial. Uma outra banda de maior intensidade e larga foi atribuída a vibração duplamente degenerada E.

Nos espectros dos compostos de pentacianoferrato(II) com os ligantes adenina e guanina, mostrados nas figuras 3.5 e 3.6 observa-se como característica comum, a presença de uma inflexão na região de 2.100cm^{-1} , atribuída ao estiramento CN, ao qual sugere-se como sendo do tipo A_1 , por analogia, envolvendo o cianeto axial.

As frequências vibracionais dos cianetos equatoriais do tipo A_1 e E são muito próximas, sendo portanto, esperado que estas ocorram superpostas, predominando a banda larga e assimétrica atribuída a vibração duplamente degenerada E, que desta forma são observadas nos espectros.

TABELA 3.2.

Frequências vibracionais na região infravermelho de complexos de pentacianoferrato(II). Valores em cm^{-1} .

Complexos	$\nu\text{CN}(A_1)$ axial	$\nu\text{CN}(A_1 \text{ e } E)$ equatorial	$\delta\text{Fe-CN}$	Ref.
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	2100 (sh)	2060 (F)	560 (m)	---
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	2100 (sh)	2060 (F)	570 (m)	---
$\text{Na}[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	2085 (sh)	2040 (m)	570 (m)	49
$\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2173 (f)	2161 (m) 2143 (F)	498 (f)	51,52

sh = ombro ou inflexão; (F) = banda forte; (m) = banda de intensidade média; (f) banda fraca.

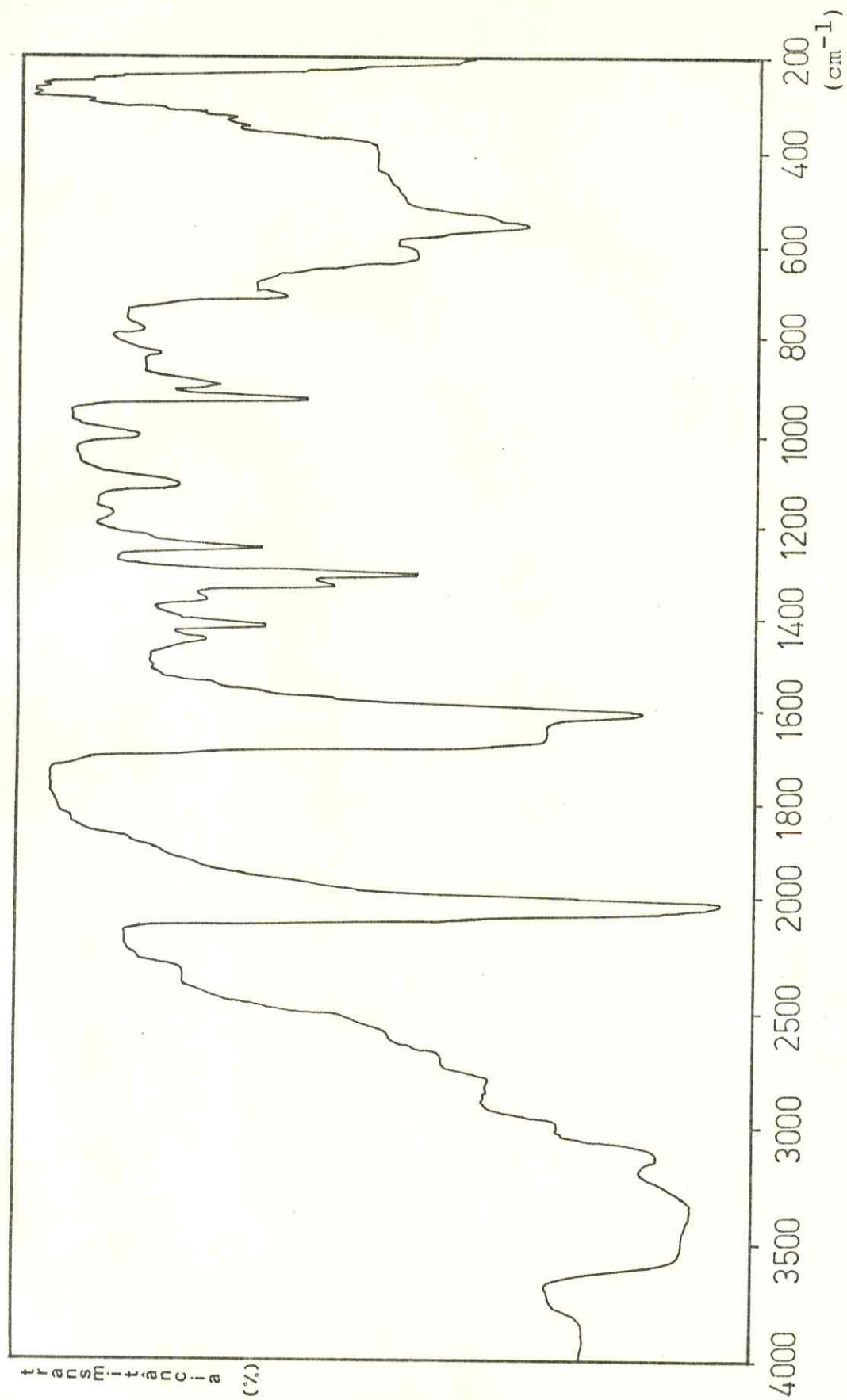


FIGURA 3.5 - Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo de penta-
cianoferrato(II) com o ligante adenina, em pastilha de KBr.

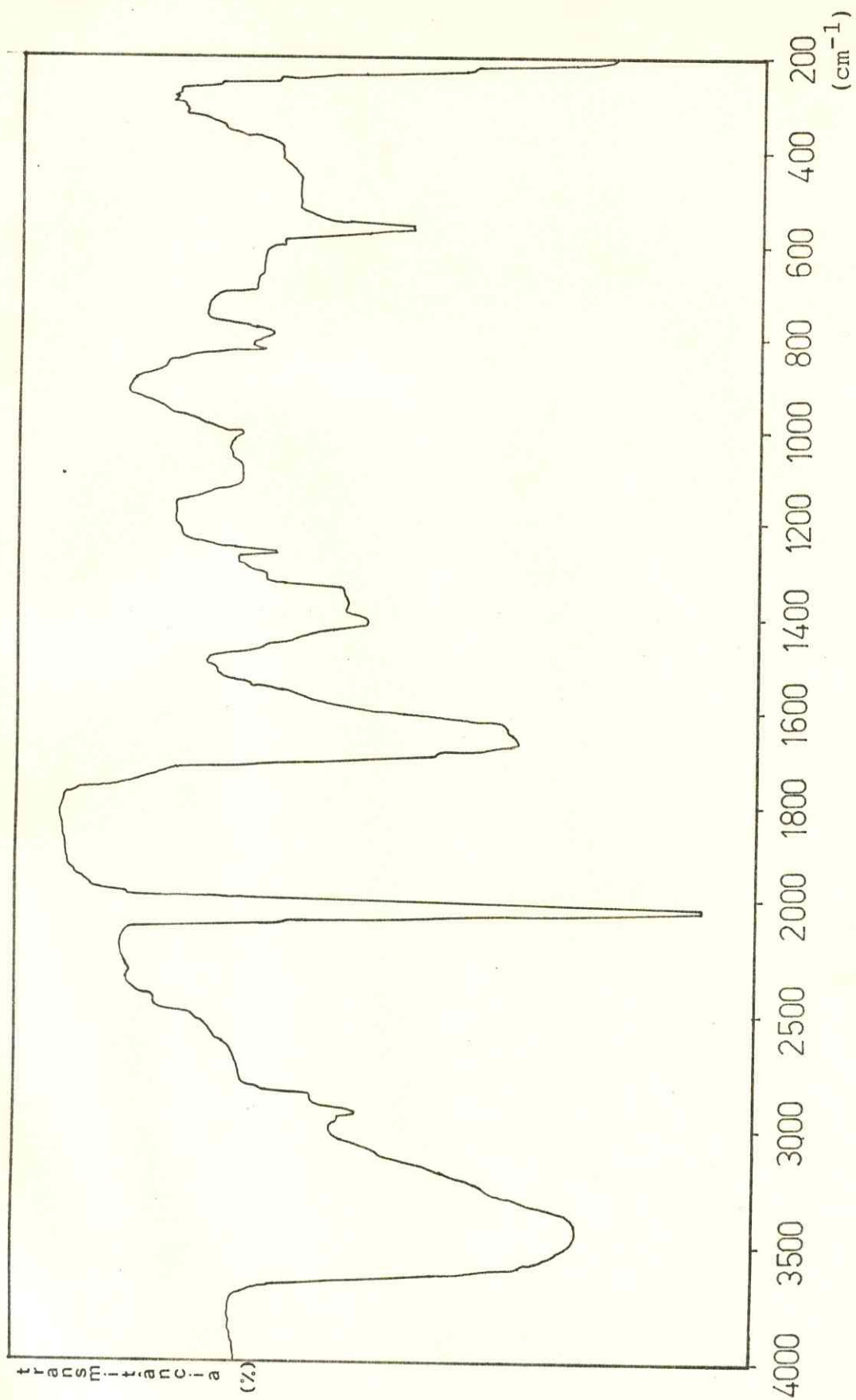


FIGURA 3.6 - Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo de penta cianoferrato(II) com o ligante guanina, em pastilha de KBr.

3.2.2. Vibrações associadas aos ligantes adenina e guanina.

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho tem esclarecido que as purinas e pirimidinas do tipo hidroxí devem existir preferencialmente na forma ceto. Estudos realizados com guanina e citosina no estado sólido mostram a presença de uma banda forte em 1705 cm^{-1} , que é atribuída ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ ³²

No espectro da adenina sólida as duas bandas fortes que aparecem em 3100 cm^{-1} e 3.300 cm^{-1} , são características de aminas aromáticas e tem sido atribuídas por Angell³² como evidência da existência deste composto na forma tautomérica amino. Nos espectros de guanina e adenina mostrados nas figuras 3.3 e 3.4 observa-se além destas bandas, outras que estão relacionadas na tabela 3.3 com as respectivas atribuições.

As bandas de estiramento N-H não foram constatadas nos espectros dos complexos, devido ao recobrimento com as bandas de água que ocorrem nesta região.

As bandas associadas a frequências de estiramento dos ligantes entre $600\text{-}300\text{ cm}^{-1}$, observadas nos espectros dos ligantes livres, foram nitidamente encobertas pela banda $\delta\text{Fe} - \text{CN}$, nos espectros dos complexos.

As tentativas de correlação entre as demais bandas do ligante livre e coordenado, foram insatisfatórias, sendo por isso omitidas deste trabalho.

TABELA 3.3

Frequências vibracionais das bandas de absorção de adenina e guanina. (Valores em cm^{-1})

Adenina	Guanina	Atribuições
3300; 3140s; 3000w	3330s; 3290sh 3120s	$\nu \text{ NH}_2$
2800w; 2680w	2900s; 2850s 2700s	$\nu \text{ NH}$
	1705s	$\nu \text{ C} = \text{O}$
1672	1680s	$\delta \text{ NH}_2$
1610	1635sh; 1575m 1563m.....	$\nu \text{ C} = \text{C} + \nu \text{C} = \text{N}$ $\delta \text{ NH}$
1451w; 1418m	1477m, 1464m	vibrações de anel
1368m; 1333m	1418m, 1375m	
	1263m	$\nu \text{ C} - \text{N}$
1250		$\delta \text{ NH}_2$
	1209m, 1169m	vibrações do anel
1155w	1110m	$\delta \text{ NH}_2$
1022	1040w	vibração do anel
938; 910m		$\delta \text{ NH}_2$
870w; 847w 797m	875m; 840sh; 850m; 780m	$\delta \text{ NH} + \delta \text{ CH}$
720	705m; 680m; 640m	$\delta \text{ NH}_2$ vibrações do anel
	608m; 570m 544w; 515w 506w, 440w	ν ligante em $600\text{-}400\text{cm}^{-1}$
	370w, 345w	
		ν ligante em $400\text{-}300\text{cm}^{-1}$

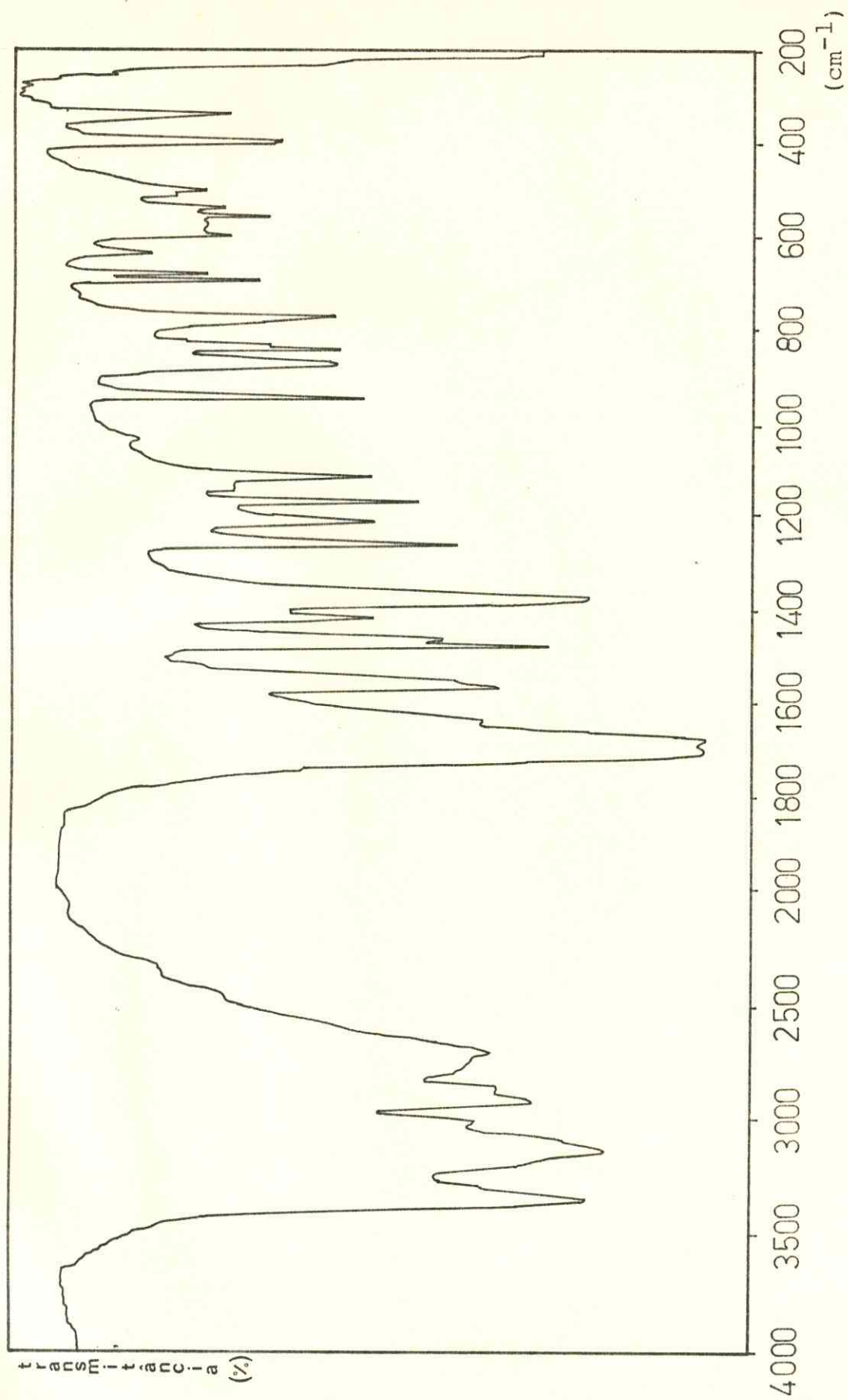


FIGURA 3.3 - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante guanina, em pastilha de KBr.

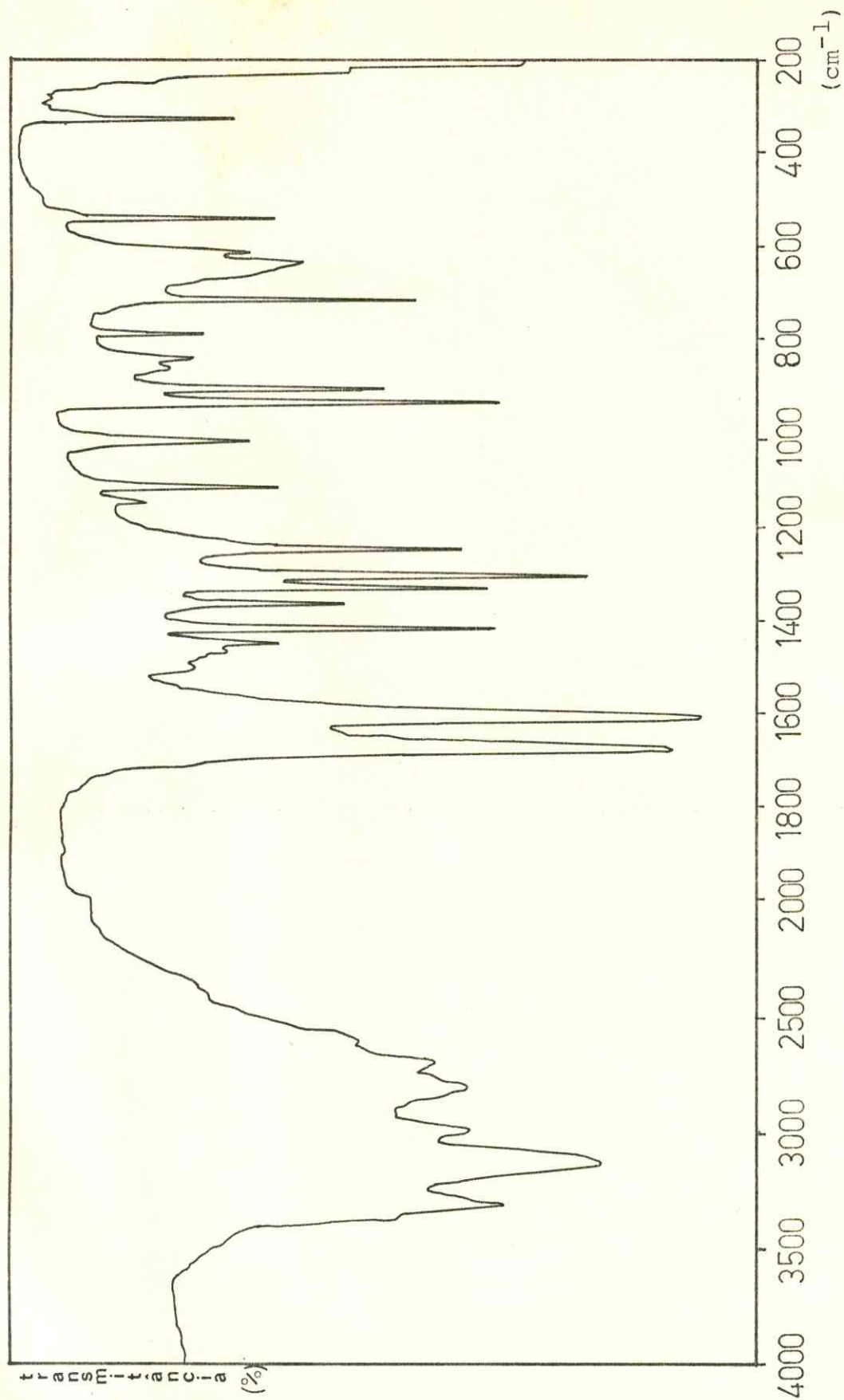


FIGURA 3.4 - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante adenina, em pastilha de KBr.

3.3. ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (^1H).

Os aspectos de RMN(^1H) dos complexos de pentacianoferrato(II) com os ligantes adenina e guanina assim como os destes ligantes livres, são mostrados nas figuras 3.7; 3.8; 3.9; 3.10, respectivamente.

Os espectros ligantes livres mostram apenas dois picos para adenina e um para guanina. Segundo Jardetzky e Jardetzky⁵⁴ isto deve-se ao fato da facilidade com que os prótons amino e aqueles ligados aos átomos de nitrogênio do anel sofrem troca com o solvente deuterado.

Na adenina, restam os prótons ligados ao C-8 e C-2, o que torna-se bastante consistente com o espectro observado. Diversos estudos foram realizados com o intuito de atribuição dos sinais apresentados nos espectros destes compostos^{54, 55, 56}.

Jardetzky e colaborador⁵⁴, usando o tolueno como padrão externo e utilizando o método de modulação da banda lateral atribuem aos prótons ligados ao C-8 e C-2 os deslocamentos químicos observados em -1,48ppm e -1,62ppm, respectivamente, com relação ao sinal do próton aromático do tolueno, tomando como tendo o deslocamento químico zero.

Os autores baseiam-se, para fazer tal atribuição, na comparação dos espectros de algumas bases purínicas com seus derivados ribose em soluções de peróxido de sódio em D_2O .

Bullock e Jardetzky⁵⁵, tendo em vista a facilidade que tem as purinas de sofrer a troca de hidrogênio por deutério, realizaram a síntese de várias 6- e 8- deuteriopurinas afim de propor a atribuição do espectro de ressonância magnética protônica e confirmaram a atribuição dos prótons em C_2 e C_8 , tal como citada por Jardetzky e Jardetzky⁵⁴.

Os autores consideram ainda, que apenas nas condições de pH neutro, para adenina e hipoxantina, esta atribuição permanece como uma tentativa.

Com bases nessas atribuições e analisando-se os resultados obtidos neste trabalho, nas condições descritas na parte experimental, atribuiu-se aos sinais em 7,8 e 8,00ppm, em relação ao dioxino, no espectro da adenina, como sendo dos prótons do C-8 e C-2, respectivamente.

Os efeitos causados pela coordenação do íon $\text{Fe}(\text{CN})_5^{3-}$ nos prótons do C-2 e C-8 foram avaliados com o intuito de se obter informações que contribuíssem para sugestões de atribuição do sítio de coordenação.

Analisando-se o espectro do íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}^{3-}$, observa-se os sinais de prótons em 7,95 e em 8,10ppm.

Supondo a coordenação pelo N-7 ou N-9, em ambos os casos, seria esperado que o próton do C-8 apresentasse deslocamento para campo mais baixo. A justificativa para essa ocorrência reside no fato de que, o campo induzido perpendicular as ligações $\text{C} \equiv \text{N}$ (figura 3.11) não se opõe ao campo externo, acarretando uma desproteção dos prótons adjacentes ao íon $\text{Fe}(\text{CN})_5^{3-}$.

Já os efeitos de proteção previstos, devido à anisotropia paramagnética do íon metálico, que acarretaria efeito oposto, parecem ser superados pelos efeitos da anisotropia associada aos ligantes cianetos vizinhos aos prótons adjacentes ao íon metálico³⁶.

Os prótons mais afastados estão menos sujeitos aos efeitos de anisotropia diamagnética das ligações $\text{C} \equiv \text{N}$, os quais crescem com a terceira potência da distância. Nesses prótons devem atuar os efeitos indutivos e mesoméricos que tem como meio de propagação as ligações químicas podendo por isso atuarem mesmo à distância.

Portanto os prótons mais afastados do sítio de coordenação, tendem a deslocar-se para campo alto. Com base nesta análise, poderia ser esperado que o próton do C-2 se deslocasse para campo mais alto.

Analisando-se os dados espectroscópicos, apresentados na tabela 3.4 e relacionando-os com a coordenação em N-7 ou N-9, atribui-se que o sinal em 8,00ppm relativo ao próton do C-2 foi deslocado para campo mais alto, em 7,95ppm, quando coordenado. Já o sinal observado em 7,80ppm relativo ao próton do C-8, foi deslocado para 8,10ppm, isto é, para campo mais baixo.

Não se pode entretanto deixar de analisar a possibilidade da coordenação ocorrer pelo N-1 ou N-3. Neste caso, o próton adjacente seria o do C-2, esperando-se portanto, um deslocamento para um campo mais baixo, quando coordenado. Por esta análise o deslocamento observado para o próton do C-2 seria de 8,00ppm para 8,10ppm. Nesta situação, o sinal do próton do C-8 deveria se deslocar para campo alto. Contudo, por esta hipótese, observa-se que a posição do sinal seria deslocada de 8,80 para 7,95ppm, contrapondo-se ao esperado. Desta maneira, a coordenação por N-1 ou N-3 não seria consistente com os espectros obtidos dos complexos.

Uma dificuldade adicional de atribuição de coordenação ao N-1 reside no fato de que, várias tentativas de interação de ligantes que possuem grupos substituídos em posições adjacentes ao átomo coordenante, tais como, 2-metil piridina e 2-aminopiridina, com o íon pentacianoferrato(II) foram infrutíferas. Isto, provavelmente, devido a efeitos estéricos. Também, a literatura não registra compostos de pentacianoferrato(II) com ligantes N-heterocíclicos 2-substituídos.

Portanto, a análise dos espectros de ressonância magnética nuclear sugere que o sítio de coordenação da adenina, no complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}^{3-}$, seja N-7 ou N-9.

Comparando-se os espectros da guanina livre e coordenada ao íon pentacianoferrato(II), figuras 3.10 e 3.8, observa-se um deslocamento do sinal do próton do C-8 para campo mais baixo, de 0,10ppm.

No complexo de pentacianoferrato(II) com imidazol ^{57,58}, também foram observados pequenos deslocamentos dos sinais dos pró

tons adjacentes ao íon metálico.

Estes pequenos deslocamentos podem ser justificados pela ocorrência de efeitos de proteção que se opõem aos dos ligantes cianetos. Tais efeitos são originados da anisotropia paramagnética do íon metálico central e do aumento da densidade eletrônica do anel aromático, provocado pela interação de retro-doação $d\pi \text{ (Fe)} \longrightarrow p\pi \text{ (lig)}$. Esta interações tem sido evidenciadas em compostos de pentacianoferrato(II) com ligantes insaturados.

Portanto, mesmo sendo pequeno o deslocamento observado, pode-se atribuí-lo como indicativo da coordenação através do N-7 ou N-9.

A possibilidade de coordenação ter ocorrido em N-1 ou .. N-3, não seria consistente com os espectros observados, já que, desta maneira seria esperado um deslocamento para campo mais alto do sinal do próton do C-8, o que não foi observado.

TABELA 3.4.

Deslocamento químico dos prótons dos ligantes livres e coordenados ao pentacianoferrato(II). Valores em ppm.

Composto	$\delta(-CH)$ (C-2)	$\delta(-CH)$ (C-8)	$\delta(-CH)$ (C-4)	$\delta(-CH)$ (C-6)	$\delta(-CH)$ (C-5)	Atribuição de Coordenação
Adenina	8,00	7,80	--	--	--	--
$Fe(CN)_5Ade^{3-}$	7,95	8,10	--	--	--	N-7 ou N-9
Guanina	--	7,60	--	--	--	--
$Fe(CN)_5Gua^{3-}$	--	7,70	--	--	--	N-7 ou N-9
Purina*	8,81	8,50	--	8,93	--	--
$Fe(CN)_5Purina^{3-*}$	9,25	8,43	--	9,50	--	N-1
Pirimidina*	9,3	--	9,0	9,0	7,8	--
$Fe(CN)_5Pirimidina^{3-*}$	9,5	--	9,2	8,6	7,36	N-3

* Valores com relação ao TMS. (REF. 59)

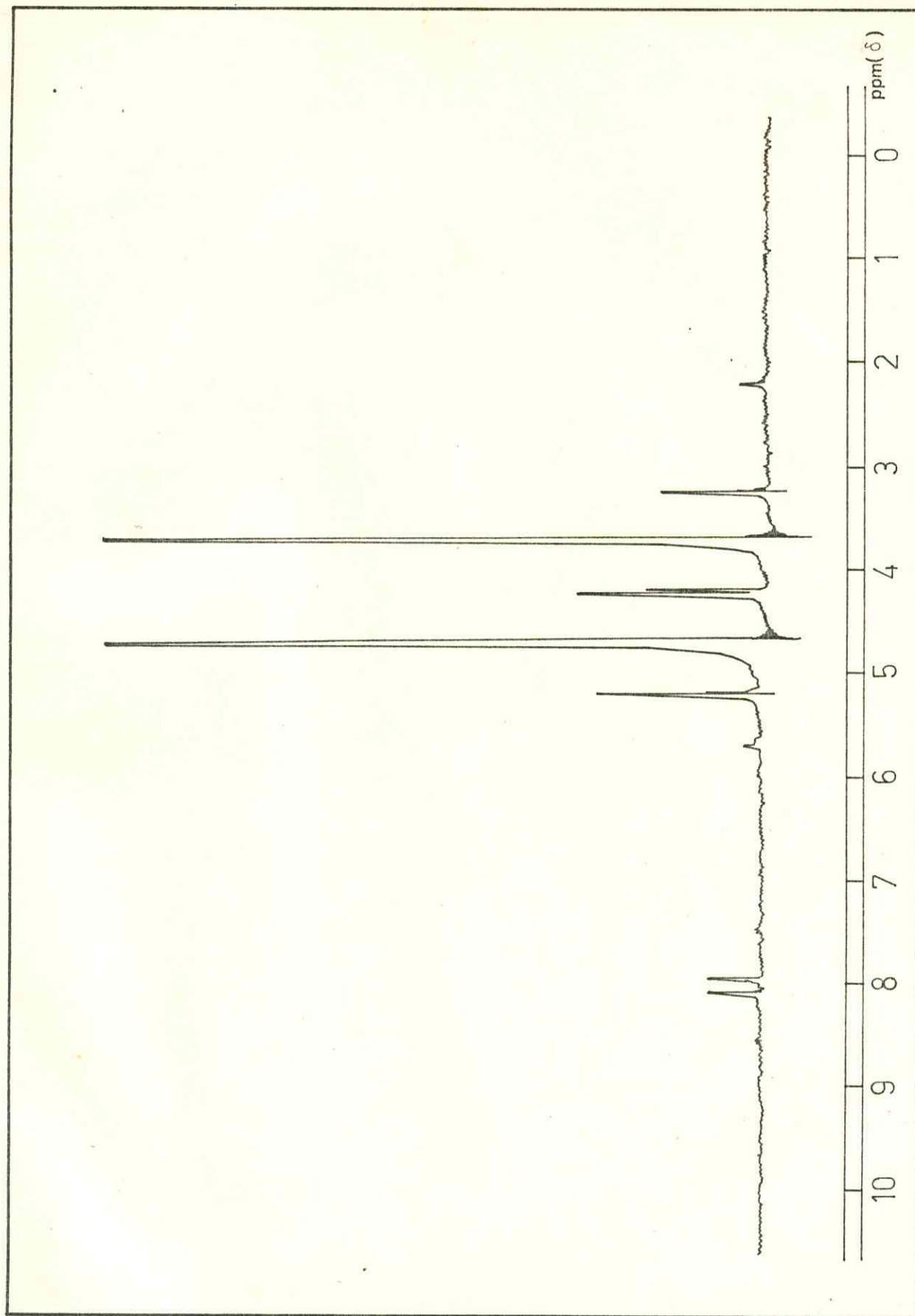


FIGURA 3.7 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear do complexo de pentacianoferrato(II) com o ligante adenina, D₂O como solvente.

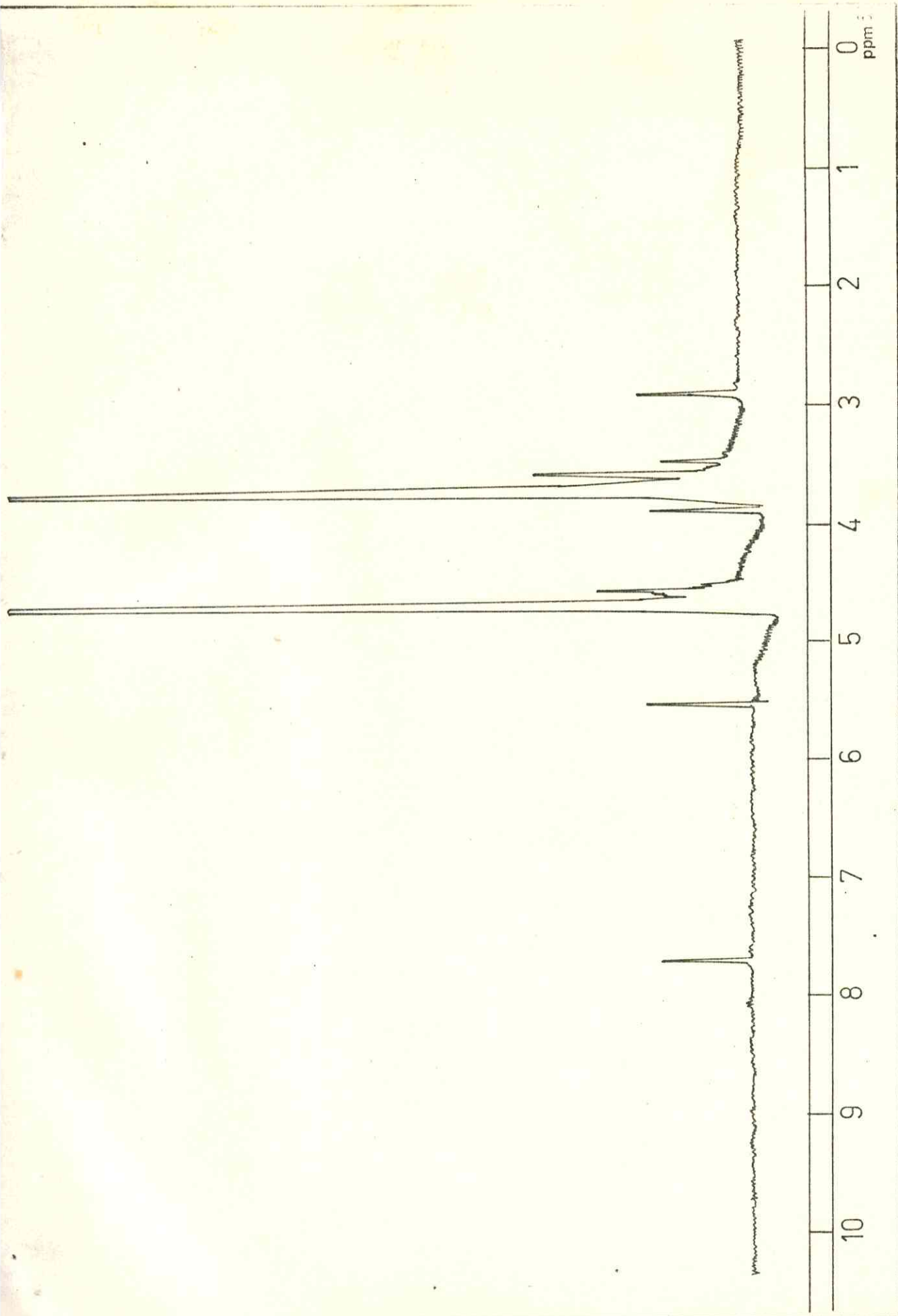


FIGURA 3.8 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear do complexo de pentacianoferrato(II) com o ligante guanina, D₂O como solvente.

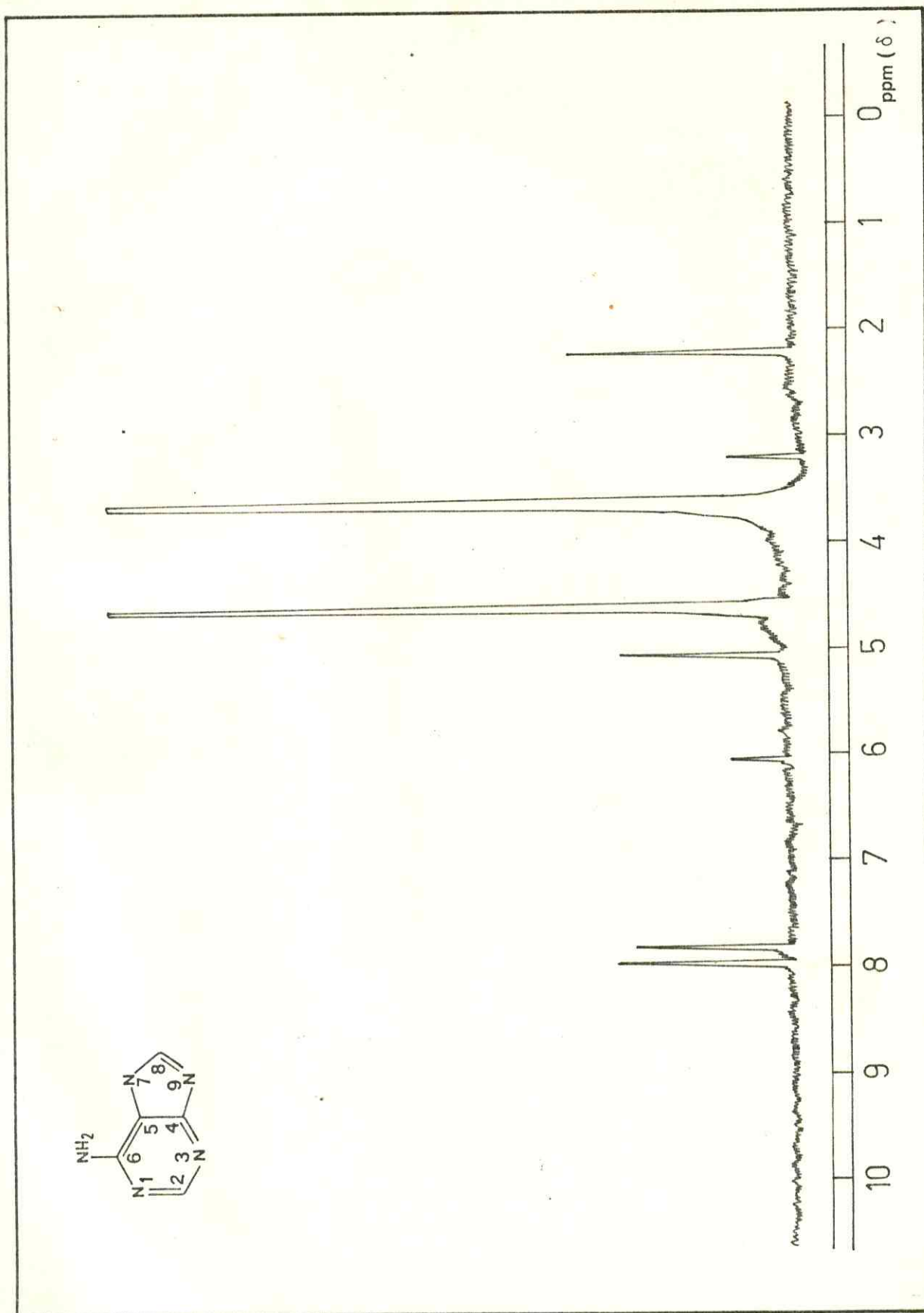


FIGURA 3.9 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear do ligante adenina, NaOD-D₂O como solvente.

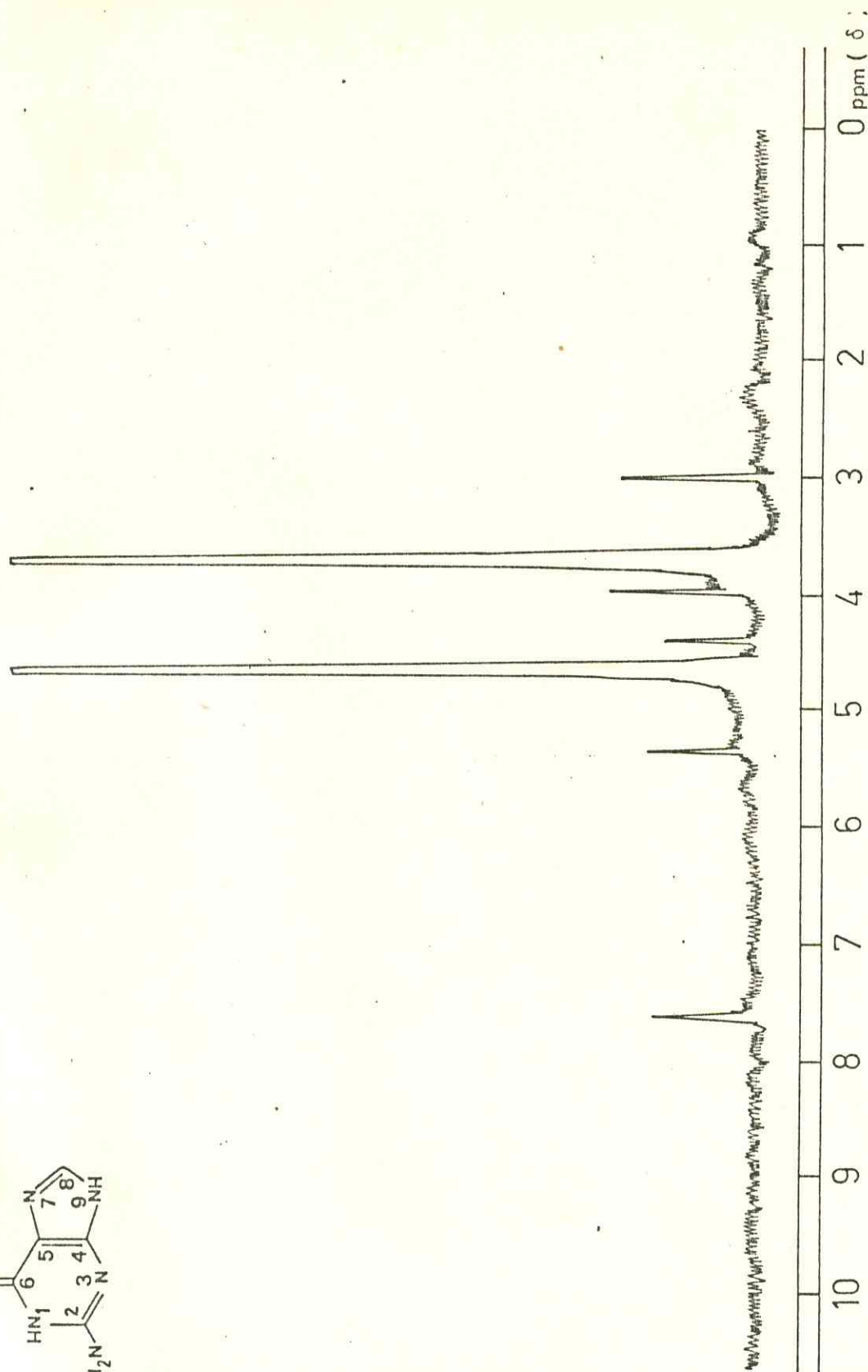
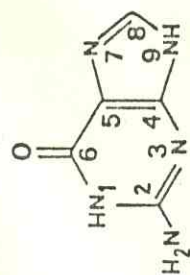


FIGURA 3.10 - Espectro de Ressonância Magnética Nuclear do ligante guanina, NaOD-D₂O como solvente.

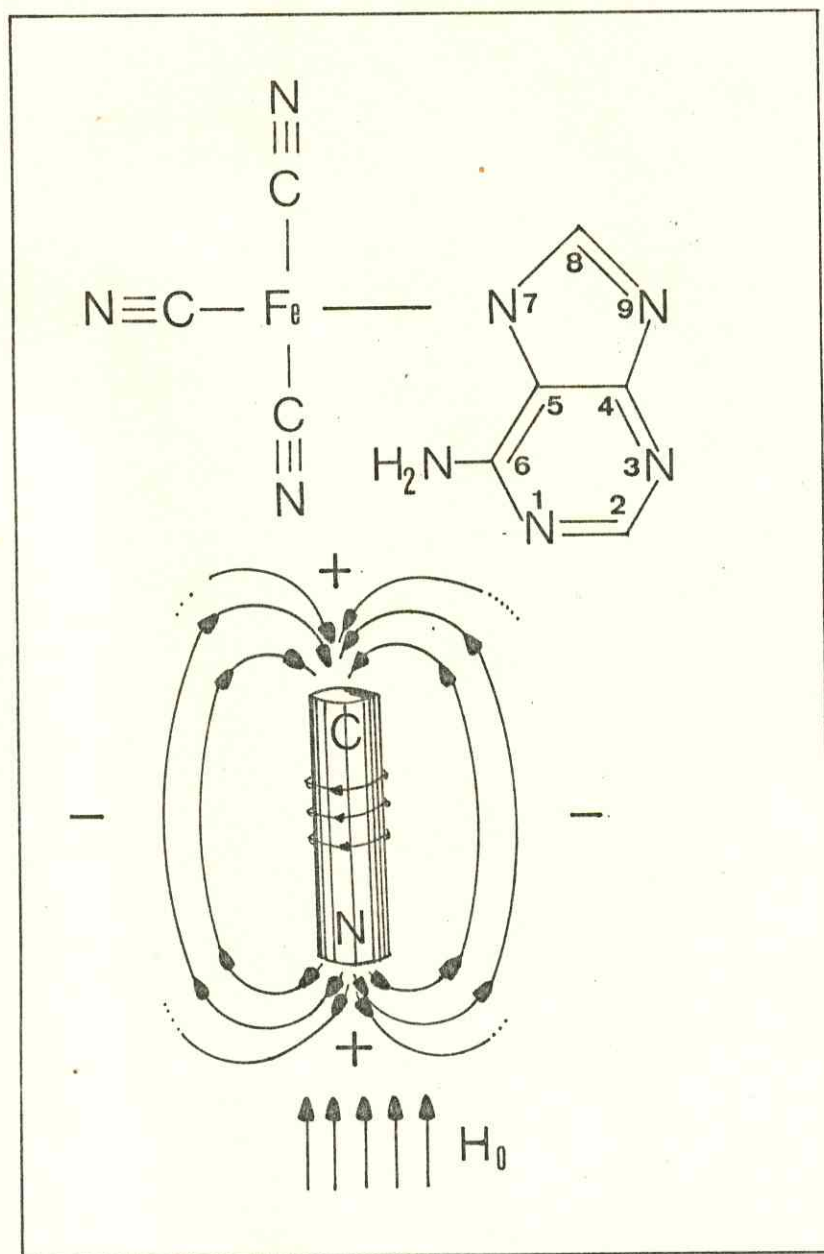


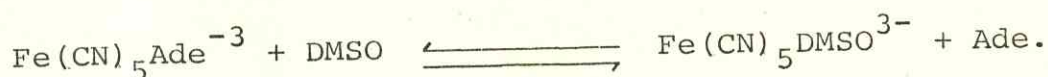
FIGURA 3.11 - Efeitos anisotrópicos da ligação $\text{C} \equiv \text{N}$.

3.4. CINÉTICA E MECANISMO DE SUBSTITUIÇÃO

3.4.1. Cinética de substituição no íon complexo pentacianoferrato(II).

O comportamento cinético da reação de substituição no íon complexo de $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}^{3-}$ foi estudado em solução aquosa. O ligante substituinte usado foi o DMSO em vista do produto $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{DMSO}^{3-}$ ser estável e apresentar uma banda d-d em 352nm com coeficientes em absorvância molar $2,1 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ³². Apesar do produto $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{DMSO}^{3-}$ apresentar uma banda de absorção próxima a região da absorção do complexo de partida ($\lambda = 345\text{nm}$; $\epsilon = 3,00 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), foi possível a utilização desse ligante devido a significativa diferença entre os coeficientes de extinção dos complexos. Por consequência, os valores absorciométricos lidos devem-se principalmente ao composto de partida. As medidas foram feitas em força iônica 0,1M LiClO_4 , em condições de pseudo-primeira ordem.

A equação representativa do processo é dada por:



Os resultados obtidos são mostrados na tabela 3.5 e sua análise gráfica é ilustrada na figura 3.12 onde pode-se ler a constante de velocidade igual a $1,12 \times 10^2 \text{ s}^{-1}$, na região da curva onde o k_{obs} independe da concentração do substituinte. Esta região é denominada de ponto de saturação ou patamar da curva.

TABELA 3.5

Cinética de substituição no íon pentacianoadeninaferrato(II) por DMSO, a 25°C.

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3^{3-}| = 2,00 \times 10^{-4}\text{M}; |\text{Ade}| = 5,50 \times 10^{-3}\text{M}$$

$$\mu = 0,01\text{M}, \text{LiClO}_4.$$

$ \text{DMSO} \times 10^3\text{M}$	$k_{\text{obs}} \times 10^3\text{s}^{-1}$	$ \text{DMSO} \times 10^2\text{M}$	$k_{\text{obs}} \times 10^3\text{s}^{-1}$
1,00	3,65	1,00	9,23
1,26	4,78	2,25	10,3
2,36	6,05	3,50	10,9
2,49	6,40	7,50	11,2
3,73	6,97	9,00	11,2
3,80	7,22	10,1	11,2
4,69	7,32	11,3	11,2
7,46	7,83	11,4	11,2

O estudo da dependência de temperatura foi realizada na condição de saturação. Os resultados obtidos são mostrados na tabela 3.6 e interpretados graficamente conforme ilustra a figura 3.13.

Os parâmetros de ativação obtidos em análise apresentam os seguintes valores:

$$\Delta H^\ddagger = 62 \text{ KJ mol}^{-1} \text{ e } \Delta S^\ddagger = -76 \text{ J mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$$

TABELA 3.6.

Dependência da temperatura no ponto de saturação para reação de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}^{3-}$.

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}^{3-}| = 2,00 \times 10^{-4}\text{M}; |\text{Ade}| = 5,50 \times 10^{-3}\text{M}$$

$$\mu = 0,1 \text{ M LiClO}_4$$

Temperatura (°C)	DMSO $\times 10^2\text{M}$	$k_{\text{obs}} \times 10^3\text{s}^{-1}$
15,0	30,0	4,46
20,00	30,0	8,31
25,0	30,0	11,2
30,0	30,0	19,0
35,0	30,0	25,9

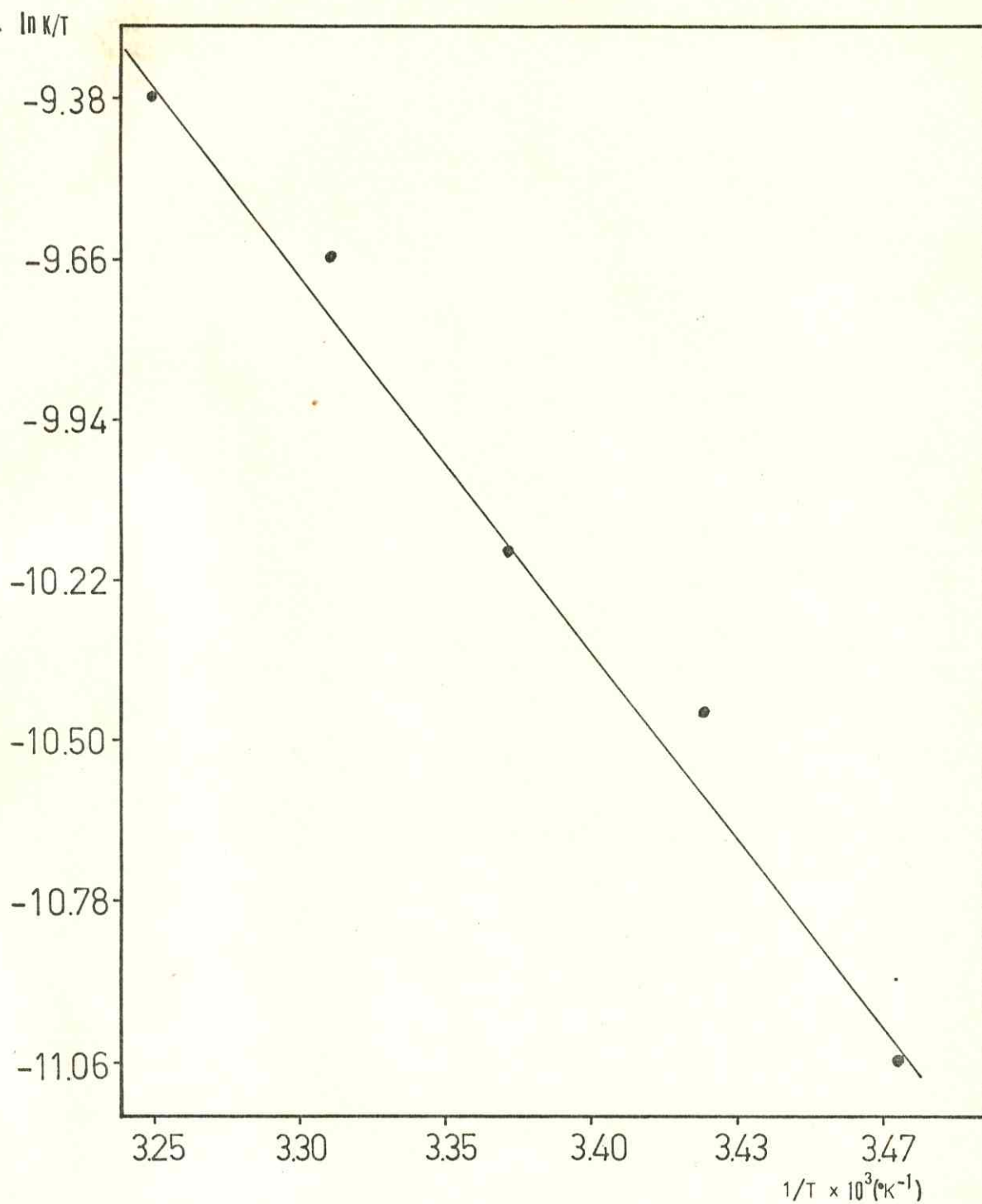


FIGURA 3.13 - Dependência da temperatura, no ponto de saturação, para a reação de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}^{3-}$.

Com intuito de verificar a influência da natureza do substituinte na velocidade da reação, foi feita a cinética de substituição da adenina no íon $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}^{3-}$ pelo íon N-metil pirazínio, nas mesmas condições anteriormente citadas para reação de substituição por DMSO.

Os resultados dessa cinética de substituição são mostrados na tabela 3.7 e na figura 3.12, onde pode se observar que a troca do ligante substituinte não influencia as constantes de velocidade observada.

TABELA 3.7

Cinética de substituição no íon pentacianoadeninaferrato(II),
por N-MPz, a 25°C.

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Ade}^{3-}| = 2,00 \times 10^{-3}\text{M}; |\text{Ade}| = 5,50 \times 10^{-3}\text{M}$$

$$\mu = 0,1 \text{ M, LiClO}_4.$$

$ \text{N-metilpirazínio} \times 10^3\text{M}$	$k_{\text{obs}} \times 10^3 \text{ s}^{-1}$
1,00	3,60
2,00	4,83
2,50	6,00
4,00	7,03
9,00	9,15
15,00	9,95
20,00	10,9
40,00	11,2
50,00	11,2

3.4.2. Cinética de substituição no íon complexo pentacianoguanina ferrato (II).

Os resultados cinéticos da reação de substituição de guanina no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$, apresentaram-se bastante interessantes no que diz respeito às condições de reação.

Foram detectadas duas constantes de velocidade observadas quando a reação é realizada em excesso de guanina figura 3.14, as quais não haviam sido verificadas anteriormente nos trabalhos com purina⁵⁹ e adenina.

Com intuito de explicar tal fenômeno foram feitos vários experimentos onde foram analisados diversos fatores, tais como : pH e força iônica do meio, natureza do substituinte e concentração da guanina.

Cada um desses fatores foi cuidadosamente investigado , variando-se um deles e mantendo-se os demais com valores constantes.

Inicialmente, especulou-se sobre a influência da natureza do substituinte realizando-se medidas cinéticas das reações de substituição da guanina no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$ por dimetil' sulfóxido e piridina.

Antes de adicionar-se o ligante substituinte e acompanhar a cinética das reações, efetuou-se o borbulhamento de argônio nas soluções por aproximadamente 40 minutos, ao abrigo da luz, para que toda amônia fosse deslocada.

Os valores das constantes alteram-se com o aumento das concentrações dos substituintes, conforme era esperado (Tabela .. 3.8). Porém, em nenhuma ocasião a natureza do substituinte nem tão pouco a variação de suas concentrações modificaram o comportamento cinético. Isto é, continuou-se a observar a presença das duas curvas cinéticas.

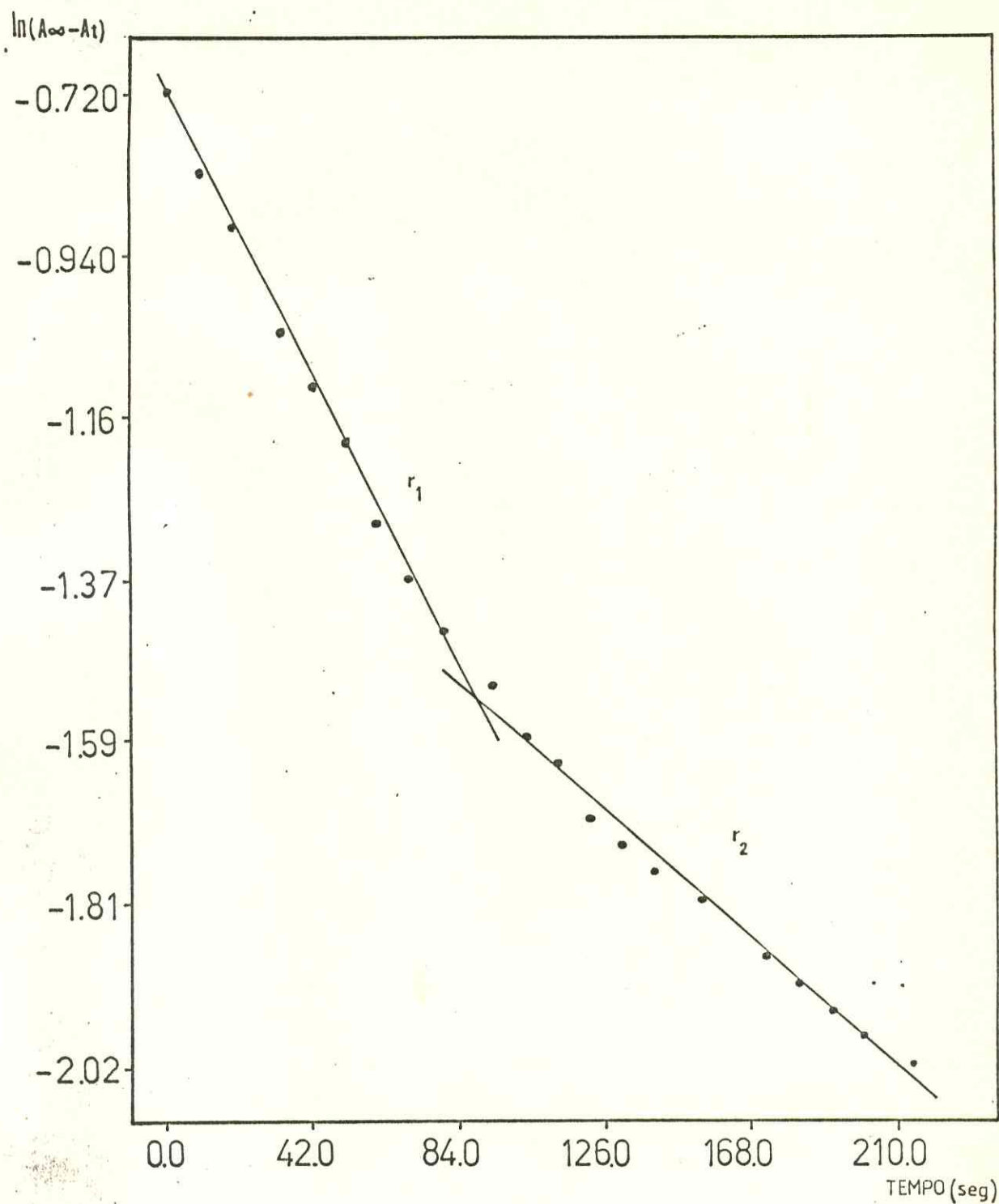


FIGURA 3.14 - Comportamento cinético da reação de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5 \text{Gua}^{3-}$ com guanina em excesso, por Py e DMSO, a 25°C .
 $[\text{Fe}(\text{CN})_5 \text{Gua}^{3-}] = 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}$ $[\text{Gua}] = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$
 $= 0,5 \text{ (KOH)}$ $\text{pH} = 9,4$

TABELA 3.8

Constantes de velocidade observada para a Reação de Substituição' no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$ a 25° C.

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}| = 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}; |\text{Gua}| = 4,00 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$\mu = 0,5 \text{ (KOH)} \quad \text{pH} = 9,4$$

DMSO (M)	$k_1 \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$k_2 \text{ (s}^{-1}\text{)}$
$1,00 \times 10^{-3}$	$1,60 \times 10^{-2}$	$2,00 \times 10^{-3}$
$5,00 \times 10^{-3}$	$1,85 \times 10^{-2}$	$3,42 \times 10^{-3}$
$1,00 \times 10^{-2}$	$1,89 \times 10^{-2}$	$5,08 \times 10^{-3}$
$5,00 \times 10^{-2}$	$2,00 \times 10^{-2}$	$8,90 \times 10^{-3}$

Variou-se então o pH do meio reacional no intuito de verificar o comportamento cinético da reação. Para tal, utilizou-se soluções de ácido clorídrico e hidróxido de potássio e, alguns casos, solução tampão $\text{KCl} + \text{NaOH}$ ($\text{pH} = 12,20$) e $\text{NaHCO}_3 + \text{NaOH}$ ($\text{pH} = 9,7$)⁶⁰. Os valores obtidos dos experimentos são mostrados na tabela 3.9, onde pode-se observar que o comportamento cinético não foi alterado com a variação do pH do meio, persistindo o aparecimento das duas curvas cinéticas.

TABELA 3.9

Constantes de velocidade observada para a reação de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$ a 25°C.

$$[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}] = 2,00 \times 10^{-4} \text{M}; \quad |\text{Gua}| = 4,00 \times 10^{-3} \text{M}; \mu = 0,5 \quad (\text{KOH})$$

pH	PY	K_1	K_2
9,40	0,04	$9,4 \times 10^{-3}$	$2,20 \times 10^{-3}$
2,00	0,04	$1,28 \times 10^{-3}$	$5,88 \times 10^{-3}$
1,20	0,06	$1,40 \times 10^{-2}$	$5,30 \times 10^{-3}$
3,00	0,06	$6,35 \times 10^{-3}$	$1,72 \times 10^{-3}$

A variação da força iônica também mostrou não influenciar no comportamento cinético da reação, embora tenha sido observado que a constante da primeira reta (R_1) não sofre alterações significativas enquanto que a constante obtida da segunda reta (R_2) variou de modo mais pronunciado (tabela 3.10).

TABELA 3.10

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}| = 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}; |\text{Gua}| = 4,00 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$|\text{Py}| = 0,01 \text{ M}$$

Constantes de velocidade observada para reação de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$ a 25°C.

μ	k_1	k_2
0,10	$9,40 \times 10^{-3}$	$0,02 \times 10^{-3}$
0,20	$9,53 \times 10^{-3}$	$5,95 \times 10^{-3}$
0,25	$9,36 \times 10^{-3}$	$5,08 \times 10^{-3}$
0,37	$8,76 \times 10^{-3}$	$3,42 \times 10^{-3}$
0,50	$8,94 \times 10^{-3}$	$2,00 \times 10^{-3}$

A mudança do comportamento cinético foi observada somente quando variou-se a concentração de guanina na mistura reacional como mostra a Tabela 3.11. A concentração de guanina foi variada de maneira decrescente, partindo de um excesso de 20 vezes em relação a concentração do íon $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3^{3-}$ até a relação estequiométrica.

TABELA 3.11

Constante de velocidade observada para a reação de substituição de guanina no íon $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$, a 25° C.

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3| = 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}; \text{ pH} = 10,0 \quad \mu = 0,10$$

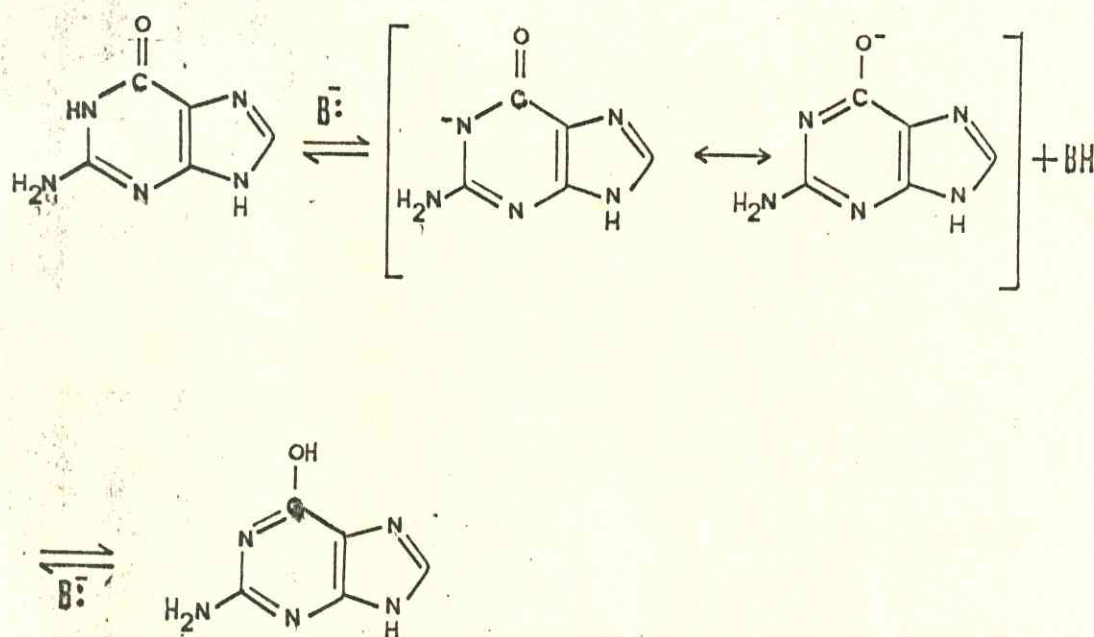
$$|\text{Py}| = 0,50 \text{ M}$$

Proporção de Guanina: $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3^{3-}$	k_1	k_2
20 : 1	$1,97 \times 10^{-2}$	$8,90 \times 10^{-3}$
5 : 1	$1,90 \times 10^{-2}$	$1,37 \times 10^{-2}$
1 : 1	$2,00 \times 10^{-2}$	-

É interessante observar que os valores obtidos para a primeira curva, R_1 , não sofrem alterações significativas com a variação da concentração guanina. Entretanto os valores obtidos para a segunda reta, R_2 , variam bastante, tendendo para k_1 à medida em que se diminui o excesso de guanina na mistura reacional. Isto sugere que o aparecimento da segunda reta (R_2) se deve ao excesso de guanina que, provavelmente ocasiona reações competitivas devido ao equilíbrio tautomérico ceto-enólico nela existente. Também, obteve-se apenas uma reta correspondente a k_1 , quando realizou-se a cinética de substituição no produto obtido na síntese onde não havia ligante em excesso.

A guanina existe principalmente na forma tautomérica cetona, e não na forma enólica¹³. Sendo que a interconversão cetoenólica está sujeita a catálise ácida ou básica.

O processo pode ocorrer por etapas ou por maneira integrada. A base remove o próton do nitrogênio 5, formando o íon, enolato, que por sua vez é protonado no oxigênio, favorecendo a forma enólica, conforme é mostrado no esquema, a seguir:



Como o meio solvente utilizado para a reação era alcalino, supõe-se que o excesso de ligante seja afetado por este e provavelmente o equilíbrio tautomérico seja deslocado, favorecendo a forma enólica. Já o ligante coordenado não seria afetado significativamente pelo pH do meio racional, estando, provavelmente, em sua forma tautomérica mais estável, isto é, na forma cetona. Desta maneira, haveria reações competitivas envolvendo o ligante substituinte e a guanina na forma enólica.

Esta atribuição pode ser reforçada pela observação de que os valores da constante de velocidade k_2 variam de maneira bastante pronunciada com a força iônica enquanto que os valores da constante de velocidade k_1 permanecem praticamente inalterados.

Na ausência do excesso de ligante onde observa-se uma única curva cinética atribuída a primeira reta (R_1) espera-se que o ligante coordenado se encontre na forma ceto, já que é a mais estável e o pH do meio solvente pouco influenciaria.

Isto significaria o não aparecimento das duas curvas cinéticas já que a forma enólica não mais estaria presente.

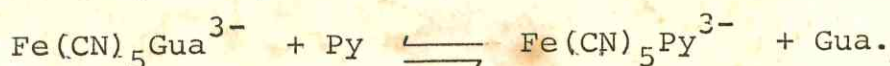
Tendo em vista a ocorrência de apenas uma curva cinética, quando feita a reação sem guanina em excesso, cuja constante de velocidade observada aproxima-se bastante dos valores de k_1 , em excesso de guanina, fez-se o estudo cinético sistemático e convencional aos sistemas semelhantes, nestas condições.

3.4.3. Cinética de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$, na ausência de excesso de guanina.

A cinética de substituição da guanina no íon $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$ foi estudada em solução aquosa, pH = 11,0, por ser o ligante suficientemente solúvel nestas condições. O ligante substituinte utilizado foi a piridina já que o produto $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Py}^{3-}$ é estável e apresenta um máximo de absorção em 362 nm ($\epsilon = 4,00 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)³⁶, região esta em que o complexo de partida não absorve sensivelmente ($\lambda = 390 \text{ nm}$; $\epsilon = 4,90 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

Por conseguinte, os valores absorciométricos lidos devem-se principalmente ao produto em formação. As medidas foram feitas em força iônica 0,10 M LiClO_4 , em condições de pseudo-primeira ordem.

A equação representativa do processo é dada por:



Os resultados obtidos são mostrados na tabela 3.12 e o gráfico obtido destes resultados encontra-se ilustrado na figura 3.15 onde pode-se ler diretamente a constante de velocidade no patamar, igual a $2,00 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$.

TABELA 3.12

cinética de substituição de guanina no íon pentacianoguaninaferrato(II) por piridina, a 25° C.

$$\begin{aligned} |\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}| &= 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}; |\text{Gua}| = 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}; \\ \mu &= 0,10 (\text{LiClO}_4) \end{aligned}$$

piridina M	k_{obs}
$3,60 \times 10^{-4}$	$1,50 \times 10^{-2}$
$1,00 \times 10^{-3}$	$1,60 \times 10^{-2}$
$2,50 \times 10^{-3}$	$1,78 \times 10^{-2}$
$5,00 \times 10^{-3}$	$1,85 \times 10^{-2}$
$7,00 \times 10^{-3}$	$1,91 \times 10^{-2}$
$2,50 \times 10^{-2}$	$1,93 \times 10^{-2}$
$1,00 \times 10^{-1}$	$2,00 \times 10^{-2}$
$2,00 \times 10^{-1}$	$2,00 \times 10^{-2}$
$5,00 \times 10^{-1}$	$2,00 \times 10^{-2}$

Os resultados obtidos da cinética de substituição da guanina no íon $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$ por dimetil sulfóxido, mostrados na tabela 3.13, são indicativos da não influência da natureza do substituinte na velocidade da reação.

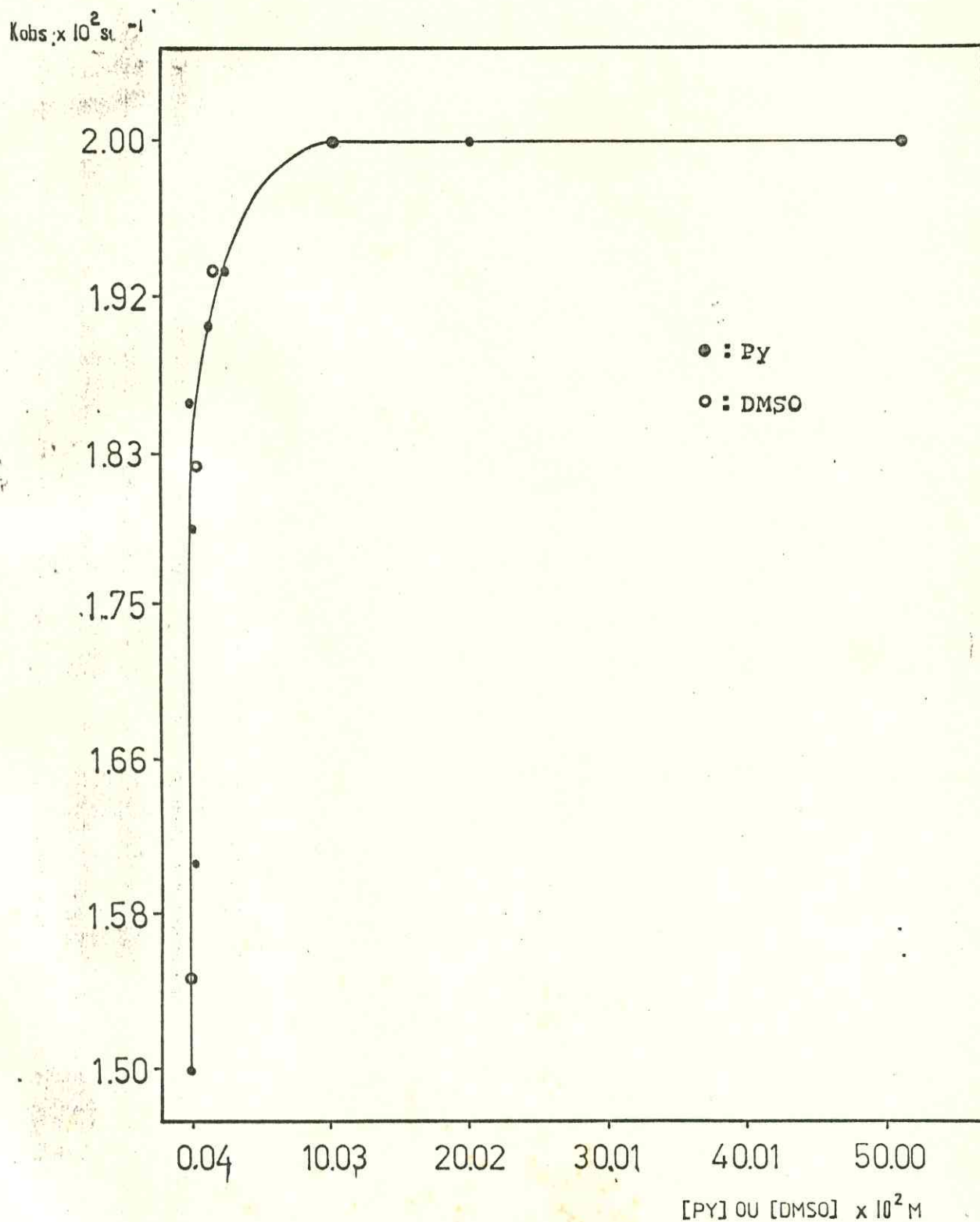


FIGURA 3.15 - Comportamento cinético da reação de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5 \text{Gua}^{3-}$ na ausência de excesso de guanina, por Py e DMSO, a 25°C .

TABELA 3.13

Cinética de substituição da guanina no íon $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$ por dimetil sulfóxido, a 25°C.

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}| = 2,00 \times 10^{-4}; \quad |\text{Gua}| = 2,00 \times 10^{-4}; \quad \mu = 0,10 \text{ M} \\ (\text{LiClO}_4)$$

$ \text{DMSO} \text{ M}$	$k_{\text{obs}} \times 10^2 \text{ s}^{-1}$
$4,00 \times 10^{-4}$	1,55
$2,50 \times 10^{-3}$	1,81
$7,00 \times 10^{-3}$	1,93
$2,50 \times 10^{-2}$	1,97
$1,00 \times 10^{-1}$	2,00
$5,00 \times 10^{-1}$	2,00

O estudo da dependência da temperatura foi realizado em condições de saturação. Os resultados deste estudo encontram-se na tabela 3.14 e sua interpretação gráfica na figura 3.16.

Os parâmetros de ativação calculados a partir destes dados, mostram os seguintes valores:

$$\Delta H^\ddagger = 47 \text{ KJmol}^{-1} \quad \Delta S^\ddagger = -121 \text{ J.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$$

TABELA 3.14

Dependência de temperatura no ponto de saturação para a reação
de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$.

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}| = 2,00 \times 10^{-4} \text{M}; \quad |\text{Gua}| = 2,00 \times 10^{-4} \text{M}$$

$$\mu = 0,01 (\text{LiClO})$$

Temperatura °C	Py	$k_{\text{obs}} \times 10^2 \text{s}^{-1}$
15,0	0,50	0,92
21,0	0,50	1,32
25,0	0,50	2,00
30,0	0,50	2,75
35,0	0,50	3,19

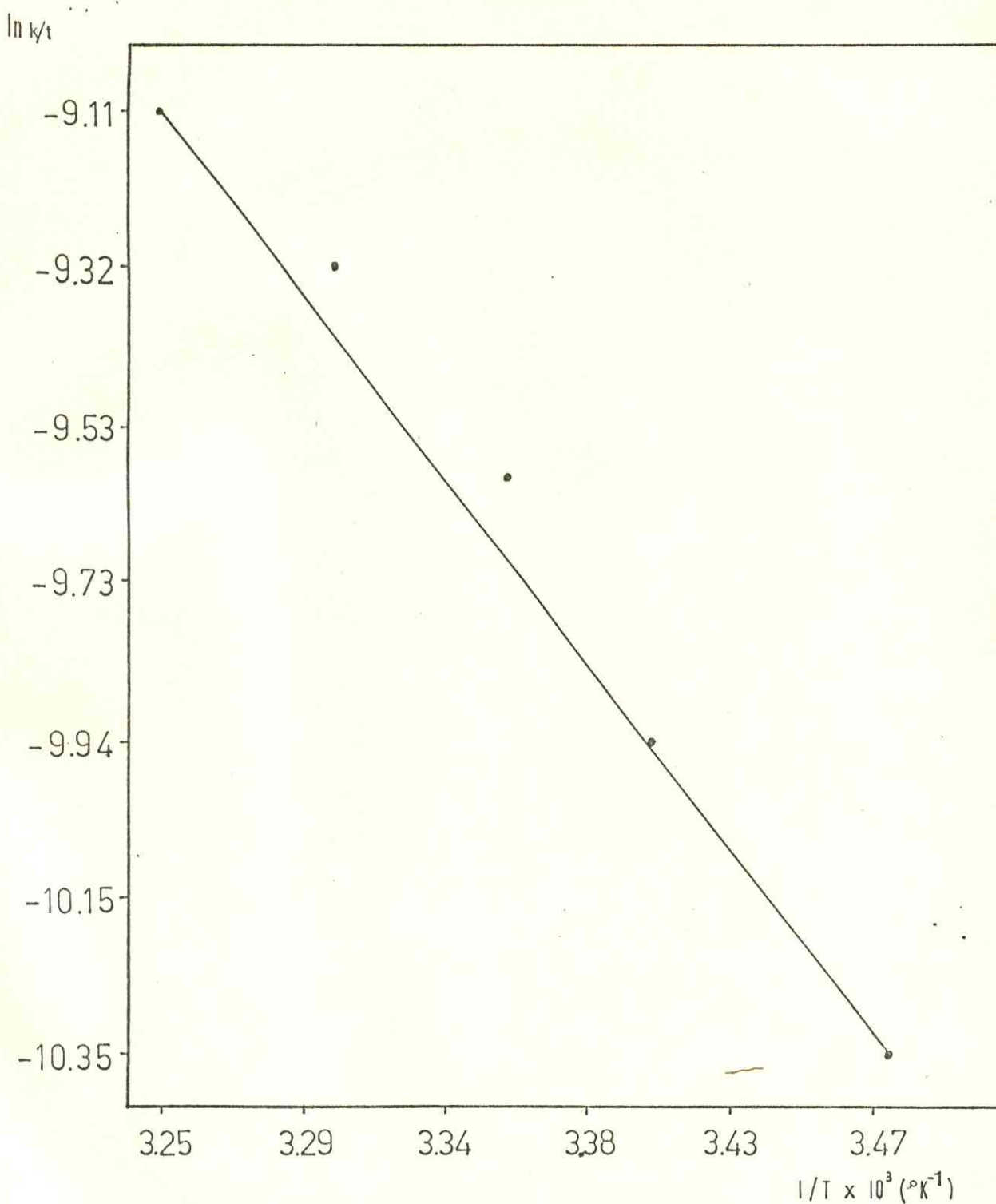


FIGURA 3.16 - Dependência da temperatura, no ponto de saturação, para a reação de substituição no íon complexo $\text{Fe}(\text{CN})_5\text{Gua}^{3-}$, na ausência de excesso de guanina.

3.4.4. Mecanismo de Substituição de Ligantes em Ions Complexos de pentacianoferrato(II).

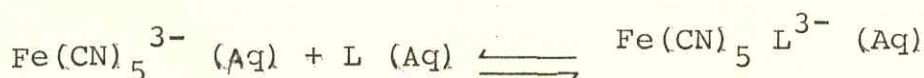
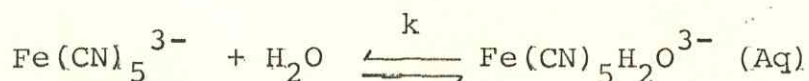
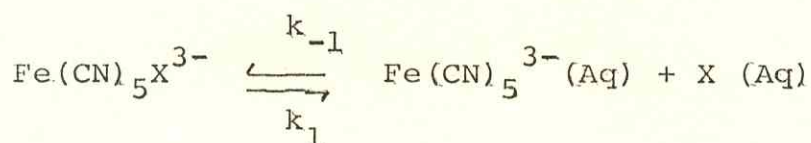
As figuras 3.12 e 3.15 ilustram idênticos comportamentos cinéticos para as reações de substituição dos ligantes adenina e guanina em compostos de pentacianoferrato(II). Destas figuras pode-se tecer as seguintes considerações:

1. Para pequenas concentrações do ligante substituinte, a velocidade inicial da reação aproxima-se de uma relação de proporcionalidade com a concentração do substituinte; pode-se dizer que nesta região, a reação apresenta características de 1ª ordem com relação ao ligante substituinte.
2. A medida que a concentração do ligante substituinte aumenta, a velocidade inicial da reação é reduzida e não existe uma relação de proporcionalidade com esta concentração; nessa região a reação é de ordem mista.
3. A partir de determinado valor da concentração do ligante, qualquer acréscimo desta não mais afeta a velocidade da reação, tornando-a pois, constante nessa faixa de concentração, a reação é essencialmente de ordem zero com relação ao ligante substituinte, diz-se que a mesma atingiu o ponto de saturação.

Nos complexos de pentacianoferrato(II) já estudados por vários autores^{36, 59, 61} a característica mais acentuada que se observa nos estudos cinéticos, é a existência deste ponto de saturação nas constantes de velocidade com respeito à concentração do substituinte.

O fato da constante de velocidade no ponto de saturação ser independente da natureza do ligante substituinte, sugere que a etapa determinante da reação envolve apenas o complexo de partida, como seria esperado para um mecanismo dissociativo.

Baseado na observação anterior pode-se propor o seguinte esquema mecanístico:



Onde X é o ligante de saída e L é o ligante substituinte.

A lei de velocidade é dada pela relação:

$$\frac{d[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{L}]^{3-}}{dt} = k_{\text{obs}} \left[[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{X}]^{3-} - [\text{Fe}(\text{CN})_5\text{X}]_{\infty}^{3-} \right]$$

A constante de velocidade (k_{obs}) pode ser expressa pela equação 1, conforme dedução apresentada no apêndice.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_{-1} \cdot k_2 |L| + k_1 \cdot k_{-2} |X|}{k_2 |L| + k_1 |X|} \quad (1)$$

Ao analisar-se a expressão da constante de velocidade (equação 1), observa-se que, para uma pequena concentração do ligante de partida (X), à medida em que aumenta a concentração do ligante substituinte (L), os termos que encontram-se multiplicados por (L) tendem a predominar no numerador e no denominador. Isto significa um aumento proporcional, uma vez $k_2|L|$ é comum ao quociente da equação 1. Portanto, quando a concentração de substituinte é muito maior que a concentração do ligante de partida, os termos em $|X|$ são perfeitamente desprezíveis, e a expressão da constante de velocidade pode ser simplificada, nessas circunstâncias.

$$k_{\text{obs}} = k_{-1} \quad (2)$$

Isto significa dizer que o valor da constante de velocidade de saída do ligante X, coordenado ao íon pentacianoferrato(II) é obtido na zona de saturação, na qual a constante de velocidade independe da natureza do ligante substituinte.

Por outro lado, se a concentração do substituinte tende para zero, os termos que encontram-se por $|L|$ passam a não influenciar na expressão de velocidade, e a constante reduz-se simplesmente à equação 3.

$$k_{\text{obs}} = k_{-2} \quad (3)$$

Portanto, nessa região da curva cinética, a constante de velocidade tende à constante de velocidade de saída do ligante substituinte $|L|$, coordenada ao íon pentacianoferrato(II). Teoricamente nas curvas cinéticas, extrapolando-se a concentração do substituinte ao valor nulo, pode-se obter a constante de velocidade de saída do ligante $|L|$, nestes sistemas.

Os resultados cinéticos das reações de substituição de ligantes nos complexos de pentacianoferrato(II) com os ligantes adenina e guanina encontram-se condensados na tabela 3.15 juntamente com alguns valores, compilados de outros autores, para efeitos de comparação.

TABELA 3.15

Constantes de velocidade e parâmetros de ativação para substituição dissociativa de ligante em complexos de pentacianoferato(II).



X =	L =	k(a 25°C) -X(s ⁻¹)	ΔH_d^\ddagger (KJ mol ⁻¹)	ΔS_d^\ddagger (J mol ⁻¹ O _K -1)	Ref.
QUIN	DSMO	6,20 X 10 ⁻¹	82,0	16,74	62
N(3)HISTID.	DSMO	1,09 X 10 ⁻¹	91,20	41,84	63
METSDO	DSMO	2,10 X 10 ⁻²	93,30	58,57	64,65
PIP	Py	7,00 X 10 ⁻³	94,97	29,29	66,67
MFSO	Py	2,52 X 10 ⁻³	92	52	68
DBSO	Py	1,70 X 10 ⁻³	90	44	68
ETS	Py	1,12 X 10 ⁻²	81	27	68
ADT-4	DSMO	1,10 X 10 ⁻³	100	74	68
TU	Py	2,90 X 10 ⁻²	63	-23	68
Ade	DSMO	1,12 X 10 ⁻²	62	-76	-
Gua	Py	2,00 X 10 ⁻²	47	-121	-

3.4.5. Entalpias e Entropias de Ativação.

A entropia de ativação é interpretada como sendo a diferença na entropia entre estado de transição e estado fundamental dos reagentes. Sendo determinada em grande parte pela perda de liberdade rotacional e translacional das partículas que alcançam o complexo ativado.

Segundo Tobe⁶⁹ e Archer⁷⁰, valores muito positivos da entropia de ativação, são uma evidência de reação na qual se tem a -centuada mudança estereoquímica.

Nos casos em que, o intermediário assume a geometria pirâmide quadrada, que não difere muito da geometria octaédrica, o mais provável é que se encontre valores negativos para a entropia de ativação, devido a retenção de configuração.

Para o intermediário pentacoordenado, que no processo dissociativo, possui geometria bipirâmide trigonal, valores positivos para entropia de ativação são encontrados, como resultado da forte mudança estereoquímica que acontece.

Efeitos de solvatação frequentemente influenciam a entropia de ativação, nas soluções onde partículas carregadas estejam envolvidas. Se íons são formados a partir de moléculas neutras, as moléculas do solvente permanecem como que imóveis em volta dos íons, perdendo sua entropia. Deste modo, ΔS^\ddagger torna-se negativo, sendo maior o efeito quanto maior for a carga.

Se por outro lado, os íons alcançam juntos o estado de transição com neutralização da carga, as moléculas de solvatação são liberadas, levando a uma entropia mais positiva.

Os componentes de pentacioanoferrato(II) estudados anteriormente, apresentaram na sua maioria, valores positivos para as entropias de ativação, o que é sugestivo de um mecanismo dissociativo, sendo o intermediário pentacoordenado de geometria bipirâmide trigonal.

Para as reações de substituição nos complexos de pentacianoferrato com os ligantes adenina e guanina foram encontrados valores negativos para as entropias de ativação. Apesar de tais valores terem sido encontrados, a atribuição do mecanismo D para reação, não torna-se prejudicada, de acordo com a análise feita para valores de ΔS^\ddagger .

A curva isocinética construída a partir de valores de ΔS^\ddagger e ΔH^\ddagger de alguns complexos de pentacianoferrato(II) já estudados, mostra que os parâmetros de ativação para os ligantes adenina e guanina são coerentes com a atribuição de um mesmo mecanismo.

A existência de uma correlação entre os parâmetros de ativação nos íons complexos de pentacianoferrato(II) com os ligantes, aqui estudados, encontra-se na figura 3.17.

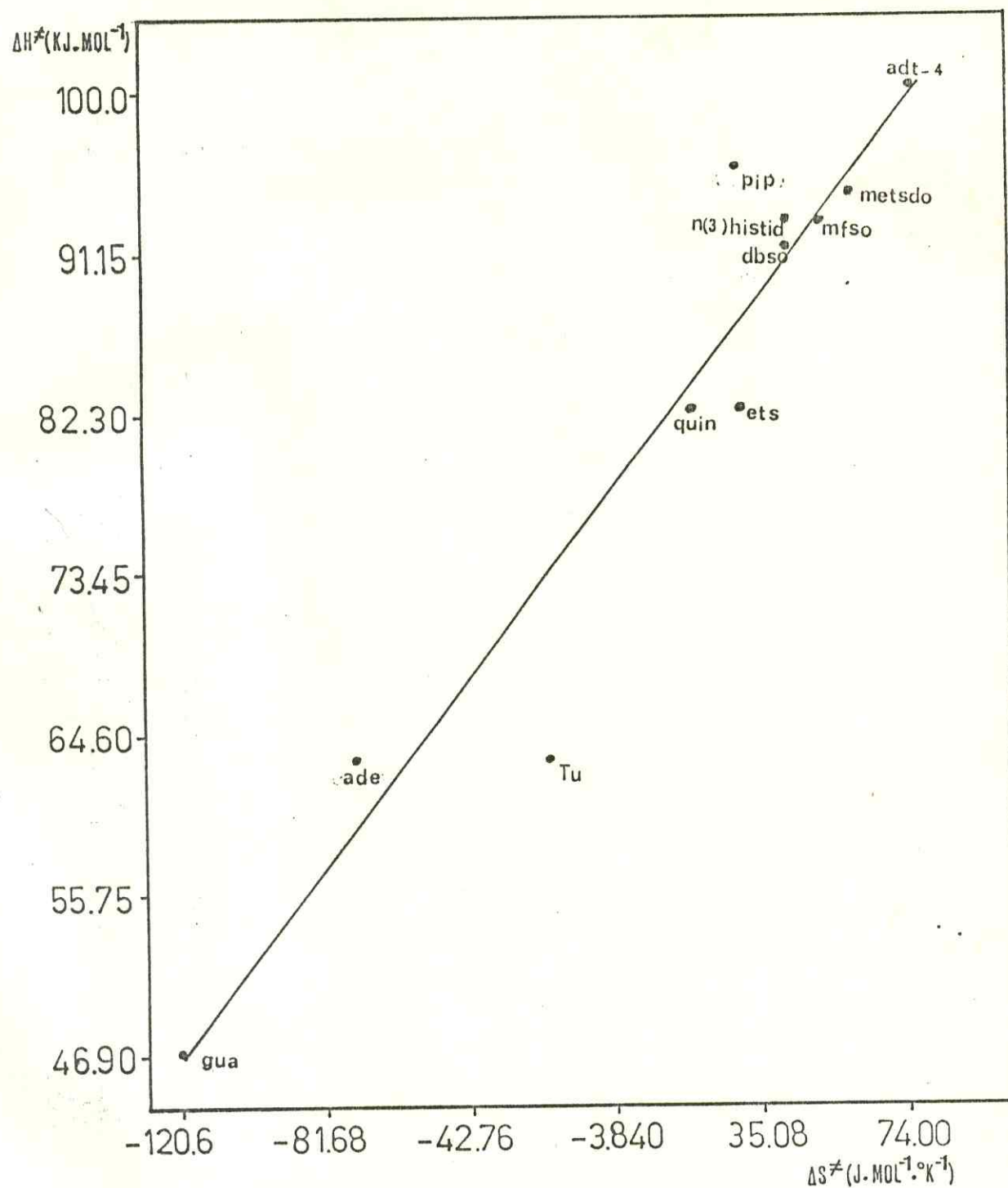


FIGURA 3.17 - Correlação isocinética para complexos de Pentacianoferrato(II).

4. CONCLUSÕES

Os estudos da interação de íons metálicos com ácidos nucleicos muito tem contribuído para ampliação do conhecimento do seu comportamento químico.

O presente trabalho acrescenta informações sobre o comportamento químico das bases adenina e guanina, com o íon $\text{Fe}(\text{CN})_5^{3-}$, através de investigação cinético-mecanístico possibilitando o entendimento das interações do centro metálico com estas bases.

Os estudos espectroscópicos na região do visível e ultravioleta, indicam, além das bandas atribuídas a transições $\text{Fe} - \text{CN}$ e intraligantes, a presença de uma banda de transferência de elétrons em ambos os complexos, sendo sugerida ser uma transição do tipo $d(\pi) - \pi^*$.

A análise dos espectros vibracionais na região do infravermelho, evidenciam bandas de absorção atribuídas aos estiramentos CN e deformação FeCN, bem como as bandas características dos ligantes livres.

Os espectros de ressonância magnética nuclear protônica dos compostos constituem a melhor fonte de informação, para a tentativa de atribuição do possível sítio de coordenação do metal com as bases. Analisando-se os deslocamentos químicos que ocorrem nos prótons adjacentes ao íon metálico e comparando-os com os deslocamentos dos prótons nos ligantes livres, pode-se sugerir que a coordenação em ambos os casos, ocorre via N-7 ou N-9.

Dados da literatura⁷¹ referentes as interações de Fe^{+2} e Fe^{+3} com adenina nucleotídeos, poli(A) e poli(A) metilado, estudados por espectroscopia Mossbauer, sugerem que a posição N-7 é o mais provável sítio de ligação dos nucleotídeos.

Estudos efetuados com Ni^{+2} , Co^{+2} , Mn^{+2} e Zn^{+2} sugerem também N-7 com sítio de interação do metal com as bases estuda -

das⁷²⁻⁷⁸.

Dos estudos cinéticos para a reação de substituição, no complexo com o ligante adenina, realizados em condições de pseudo-primeira ordem, obteve-se os seguintes valores dos parâmetros de ativação $\Delta H^\ddagger = 62 \text{ KJ mol}^{-1}$ e $\Delta S^\ddagger = -76 \text{ J mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{K}^{-1}$ e da constante de velocidade $k = 1,12 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$.

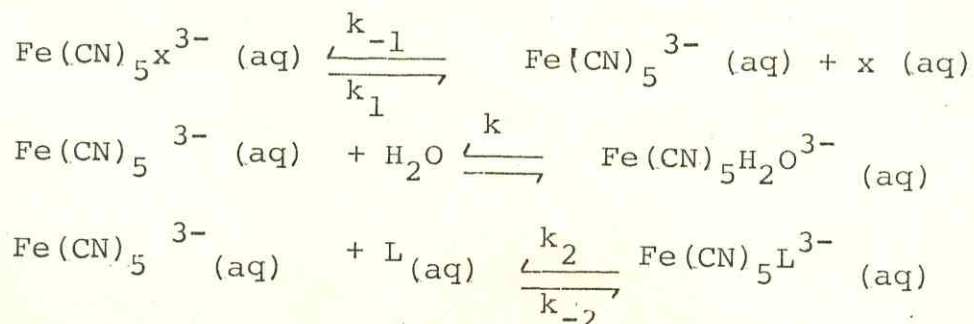
A não influência da natureza do substituinte na reação sugere o mecanismo dissociativo (D).

Os estudos cinéticos efetuados para reação de substituição de guanina no íon $\text{Fe}(\text{CN})_5 \text{L}^{3-}$, mostraram duas curvas cinéticas quando se trabalhava com o ligante em excesso. Somente quando se utilizou o ligante em proporção estequiométrica em relação ao íon $\text{Fe}(\text{CN})_5^{3-}$ obteve-se uma única curva cinética.

A explicação para esse tipo de comportamento está baseada no tautomerismo ceto-enólico apresentado pelo ligante guanina.

Os parâmetros de ativação apresentaram os seguintes valores $\Delta H^\ddagger = 47 \text{ KJ mol}^{-1}$ e $\Delta S^\ddagger = -121 \text{ J mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{K}^{-1}$, constante de velocidade $k = 2,00 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$.

As constantes de velocidade de dissociação de ambos os sistemas, não apresentaram dependência com relação à natureza do substituinte, sugerindo um mecanismo dissociativo (D), para o qual se propõe o seguinte esquema mecanístico:



A relação isocinética sugere a existência de um único mecanismo em todas as reações de substituição, nos compostos estudados.

RESUMO

Tendo em vista a relevância das interações de íons metálicos com ácidos nucleicos, realizou-se estudos com as bases adenina e guanina com o íon pentacianoferrato(II).

Os complexos foram isolados na forma sólida e caracterizados por microanálises, espectroscopia no infravermelho e, em solução, por espectroscopia eletrônica e ressonância magnética nuclear protônica.

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta-visível dos complexos mostram em comum uma banda de transferência de elétrons atribuída a transição $d(\pi) \rightarrow \pi^*$.

Os espectros de RMN (^1H) dos complexos fornecem subsídios para atribuição do sítio de coordenação pelos nitrogênios N-7 ou N-9.

No estudo cinético das reações de substituição de ligantes nos complexos foi usada a técnica espectroscópica convencional para cinética lenta.

Os resultados dos estudos cinéticos para ambos os complexos em solução indicam ser o mecanismo do tipo dissociativo (D).

Cálculos dos parâmetros de ativação ΔS_d^\ddagger e ΔH_d^\ddagger efetuados com base na teoria do estado de transição apresentaram os seguintes valores: variação entropia de $-76 \text{ J mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{K}^{-1}$ e $-121 \text{ J mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{K}^{-1}$ e a variação de entalpia 62 KJ mol^{-1} e 47 KJ mol^{-1} para a adenina e guanina respectivamente e a correlação entre elas reforça a atribuição de um único tipo de mecanismo nas reações estudadas.

O aparecimento de um comportamento cinético não usual na reação de substituição da guanina no complexo de pentacianoferrato(II), foi sugerido ser devido ao tauterismo ceto-enólico apresentado por esta base.

ABSTRACT

The interaction of metal ions with the nucleic acids and their derivatives has been the source of considerable investigation. The numerous binding sites and the complexity of the possible interactions between a metal ion and a base, accounts for this fact.

Because of this complexity in interaction, studies were performed with the purine bases, adenine and guanine, and the pentacyanoferrate(II) ion.

The compounds were isolated in the solid state and characterized through microanalysis and infrared spectroscopy, and in solution through electronic spectroscopy and protonic nuclear magnetic resonance.

The visible and ultraviolet absorption spectra of the pentacyanoferrate(II) complexes of adenine and guanine exhibit as a common feature a band due to the electron transfer assigned to the $(d \pi) \rightarrow (\pi^*)$ transition.

The proton magnetic resonance spectra provided a framework for the assignment of the possible site involving the N-7 or N-9 positions.

The Kinetic study of the ligand substitution reactions in the complex compounds was estimated through the standard spectroscopic technique, for slow reactions.

The results of the kinetic studies for both complex compounds, in aqueous solution, suggested a (D) dissociative mechanism.

The activation parameters, $\Delta S_d^\ddagger = 76 \text{ J mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{K}^{-1}$ and $\Delta H_d^\ddagger = 47 \text{ KJ mol}^{-1}$ for the ligand adenine, and $\Delta S_d^\ddagger = -121 \text{ J mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{K}^{-1}$ and $\Delta H_d^\ddagger = 62 \text{ KJ mol}^{-1}$ for the ligand guanine, were calculated according to the theory of the transition state and the correlation of these suggests the existence of just one mechanism for the studied reactions.

In the kinetic study of substitution reaction for the ligand guanine was observed a kinetic behaviour not usual for the pentacyanoferrate(II) complexes.

The reason for such behaviour has been assigned to the keto-enol tautomerism in the ligand guanine.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BECK M.T. e DOZSA. L., Bioinorg. Chem., 7, 1, (1977)
02. "The Merck Index", Merck & Co. Inc., New York (1976)
03. KOSSEL., Chem. Ber., 18, 79, 1928 (1885)
04. ALBERTY. R.A. e SMITH. R.M., J. Biol. Chem. 193, 425 (1951)
05. MAGNUS. H., ANN. Chem., 51, 395 (1844)
06. UNGER B., Ann.Chem., 58, 18 (1846)
07. UNGER B., Ann. Chem., 58, 58 (1846)
08. PFLEIDER W., Ann. Chem., 647, 167 (1967)
09. NAKAJIMA T. e PULLMAN B., Bull Soc. Chim. France 25, 1502 (1958)
10. TAYLOR, J., J. Chem. Soc. 765 (1948)
11. MC. CARTHY B.J., Prog. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol., 4, 129 (1965)
12. KOCHETKOV N.K. e BUDOVSKII E. I., "Organic Chemistry of Nucleic Acids" pg. 121. Plenum Press, London (1975)
13. KATRIZKY A. R. e LAGOWSKY J.M., "Advances in Heterocyclic Chemistry", pg. 312, Academic Press, New York (1963)
14. MASON S. F., "The Chemistry and Biology of Purines", Ciba Foundation Symposium, 60, London (1957)
15. PULLMAN B. e PULLMAN A., "Quantum Biochemistry", Wiley, New York (1963)
16. PULLMAN B. e PULLMAN A., "Quantum Biochemistry", Wiley, New York (1963)
17. MASON S. F., J. Chem. Soc., 2071 (1954)
18. KUPRIEVICH V.A., DANILOV V. I. e SHRAMKO O. V., Teor. i Eksper Khim., 2, 734 (1966)
19. VEILLARD A. e PULLMAN B., J. Theoret. Biol., 4, 37 (1963)
20. NAGATA C., IMANURA A., TAGASHIRA Y. e KODAMA M., Bull., Chem. Soc. 38, 1638 (1965)
21. WATSON J. D. e CRICK F. H. C., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 18, 123 (1953)
22. BROOMHEAD J. M., Acta Cryst., 4, 92 (1951)
23. PAULING L. e COREY R. B., Arch. Biochem. Biophys., 65, 164 (1956)
24. SPENCER M., Acta Cryst. 12, 59 (1959)
25. IBALL J. e WILSON H. R., Nature, 198, 1193 (1963)
26. SOBELL H. M. e TOMITA K. I. Acta Cryst., 17, 126 (1964)

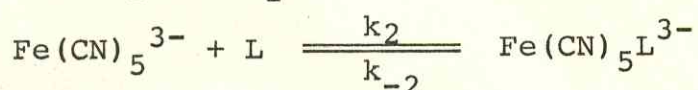
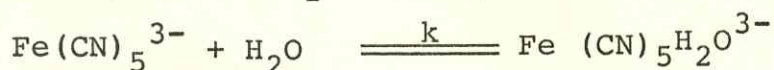
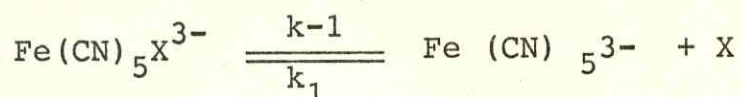
27. O'BRIEN E. J., J. Mol. Biol. 7, 107 (1963)
28. SOBELL H. M., TOMITA K. I. e RICH A., Proc. Natl. Acad. Sci. US. 49, 885 (1963)
29. HASCHEMEYER A. E. V. e SOBELL H. M., Acta Cryst., 19, 125 (1965)
30. MILES H. T., HOWARD F. B. e FRAKIER J., Science, 142, 1458 (1963)
31. TSUBOI M., KUOGOKU K. e SHIMANOUCI T., Biochim. Biophys. Acta 55 1 (1962)
32. ANGELL C. L., J. Chem. Soc., 504 (1961)
33. KOKKO J. P., GOLDSTEIN J. H. e MANDELL L., J. Am. Chem. Soc., 83, 2909 (1961)
34. GATLIN L. e DAVIS J. C. Jr., J. Am. Chem. Soc., 84, 4462 (1962)
35. BRAUER G. "Handbook of Preparative Inorganic Chemistry" Academic Press., New York (1970)
36. TOMA H. E., Tese de Doutorado - IQUSP (1974)
37. BALZANI V. e CARASSITE V., "PhotoChemistry of Coordination Compounds" Academic Press, New York (1970)
38. OLIVEIRA V., Tese de Doutorado - IQUSP (1975)
39. SYKES A. G., "Kinetics of Inorganic Reactions", London (1966)
40. SERGÉIEV G., KASÁNSKAIA N., VZHINOV B., PAPISOVA V., GURMAN V., MELÚZOVA G., ZENIN S. e ROMÁNOV V., "Métodos Experimentais de la Cinética Química" Editorial MIR, Moscow (1975)
41. COELHO A. L., MOREIRA I. S. e PINHEIRO P. R. G., Ciência e Cultura 36, 511 (1984)
42. DIAS A. J. S., COELHO A. L. e MOREIRA I. S., Ciência e Cultura 38, 7, (1986).
43. GRAY H. B. e BALLHAUSEN C. J., Chem. Phys., 36, 1151 (1962)
44. FORD P., RUDD F. P., GAUNDER R. e TAUBE H., J. Am. Chem. Soc., 90, 1187 (1968)
45. FORD P. e SUTTON C., Inorg. Chem., 8, 1544 (1969).
46. TOMA H. E. e MALIN J. M., Inorg. Chem. 12, 1039 (1973)
47. CLARCK L. B. e TINOCO I., J. Am. Chem. Soc., 87, 11 (1965)
48. VOET D. e GRATZER W. B., COX R. A. e DOTY P., Biopolymers., 1, 193 (1963)
49. TOMA H. E., Tese de Livre Docência - IQUSP (1979)
50. MIKULSKI C. M., MATTUCI L., SMITH Y., THU BA TRAN e KARAYANNIS N., Inorg. Chim. Acta, 80, 127 (1983)

51. TOSI L., Spectrochimia Acta - 26-A, 1975 (1970)
52. TOSI L., Spectrochimia Acta - 29-A, 353 (1973)
53. SPECA A. N., MIKULSKI C. M., IACONIANNI F. J., PYTLEWSKI L. L.
e KARAYANNIS N. M., Inorg. Chim. Acta, 37 L-551 - L-554 (1979)
54. JARDETZKY C. D. e JARDETZKY O., J. Am. Chem. Soc., 82, 222 (1960)
55. BULLOCK F. J. e JARDETZKY O., J. Org. Chem., 29 (7), 1988 (1964)
56. SARMA R. H., CHE HUNG LEE., EVANS F. E., YATHINDRA N. e SUNDARALI
GAM M., J. Am. Chem. Soc., 56, 7337 (1974)
57. SHEPERD R. E., J. Am. Chem. Soc., 98, 11, 3329 (1976)
58. MARTINS J. M. - Tese de Mestrado - IQUSP (1978)
59. COELHO A. L. - Tese de Doutorado - IQUSP (1979)
60. LANGER HANDBOOK OF CHEMISTRY, Mc Graw Hill Book Company (1973)
61. TOMA H. E., MARTINS J. M. e GIESBRECHT E., Inorg. Chem., 12, 2084
(1973)
62. TOMA H. E., MARTINS J. M., GIESBRECHT E., SPROULES J. C. e MALIN
J. M., Proc. Midwest. Reg. Meeting. Am. Chem. Soc. Rolla, Mis
souri (1977)
63. TOMA H. E., MARTINS J. M. e GIESBRECHT E., J. Chem. Soc. Dalton
1610 (1978)
64. TOMA H. E. e BATISTA A. A., Ciência e Cultura, 30, 275 (1978)
65. BATISTA A. A. - Dissertação de Mestrado - IQUSP (1978)
66. KATZ N. E. - Tese de Doutorado, Univ. Nac. Tucuman, Argentina
(1977)
67. KATZ N. E. , AYMUNINO P. J., BLESÁ M. A. e OLABE J. A., Inorg.,
Chem., 17, 556 (1978)
68. MOREIRA I. S. - Dissertação de Mestrado - Univ. Fed. Ceará (1983)
69. TOBE M. L., Inorg. Chem., 7, 1260 (1968)
70. ARCHER R. D., Coord. Chem Rev., 4, 243 (1969)
71. RABINOWITZ I. N., DAVIS F. F. e HERBER R. H., J. Am. Chem. Soc.
88, 4346 (1966)
72. EICHHORN G. L. e SHIN Y. A., J. Am. Chem. Soc., 90, 7323 (1968)
73. BRIGANDO J. e COLAITIS D., Bull. Soc. Chim. Fr., 3445 (1969)
74. RIMAI L. e HEYDE M. E., Biochem. Biophys. Res. Commun., 41, 313
(1970)
75. COHN M. e HUGHES T. R., J. Biol. Chem., 237, 176 (1962)

76. STERNLICHT H., JONES D. E., e KUSTIN K., J. Am. Chem.Soc., 90, 7110 (1968)
77. MALING J. E., TASKOVICK L. T. e BLOIS M. S., Biophys. J., 3, 79 (1963)
78. IZATT R. M., CRISTENSEN J. J. e RYTTING J. H., Chem. Rev., 5,71 (1971).

APÊNDICE A

Derivação da Lei de Velocidade para o Mecanismo.



$$\text{Chamando } |\text{Fe}(\text{CN})_5\text{L}^{3-}| = |\text{P}|$$

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5\text{X}^{3-}| = |\text{C}|$$

$$|\text{Fe}(\text{CN})_5^{3-}| = |\text{I}|$$

$$\frac{d|\text{P}|}{dt} = k_2 \cdot |\text{I}| \cdot |\text{L}| - k_{-2} \cdot |\text{P}| \quad (1)$$

$$\frac{d|\text{I}|}{dt} = K_{-1}|\text{C}| + k_{-2}|\text{P}| - k_1|\text{I}| \cdot |\text{X}| - k_2|\text{I}| \cdot |\text{L}|$$

assumindo a hipótese do estado estacionário I

$$\frac{d|\text{I}|}{dt} = 0 \Rightarrow |\text{I}| (k_1|\text{X}| + k_2|\text{L}|) = K_{-1}|\text{C}| + k_{-2}|\text{P}|$$

$$|\text{I}| = \frac{k_1|\text{C}| + k_{-2}|\text{P}|}{k_1|\text{X}| + k_2|\text{L}|}$$

Substituindo (2) em (1)

$$\frac{d|\text{P}|}{dt} = k_2 \frac{(k_{-1}|\text{C}| + k_2|\text{P}|) |\text{L}|}{k_1|\text{X}| + k_2|\text{L}|} - k_{-2}|\text{P}|$$

$$\frac{d|P|}{dt} = \frac{k_2 k_{-1} |C| \cdot |L| - k_2 \cdot k |P| |X|}{k_1 |X| + k_2 |L|} \quad (3)$$

Chamado de $|C_o|$ a concentração total de complexos

$$|C_o| = |C| + |P| = |C| + |P| \quad (4)$$

No equilíbrio

$$\frac{|P|}{|C|} = \frac{k_2 k_{-1} |L|}{k_{-2} \cdot k_1 |X|} \quad (5)$$

Substituindo C por $|C_o| - |P|$ na equação (3)

$$\frac{d|P|}{dt} = \frac{k_{+2} k_{-1} |C_o| |L| - k_2 k_{-1} |L| |P| - k_{-2} \cdot k_{-1} |P| |X|}{k_1 |X| + k_2 |L|}$$

Introduzindo a equação (5) na equação (6),

$$\frac{d|P|}{dt} = \frac{k_{+2} \cdot k_{-1} |L| (|C_o| - |C| - |P| + k_{-2} \cdot k_1 |X| (|P| - |P|))}{k_1 |X| + k_2 |L|}$$

Considerando $|C_o| - |C| = |P|$

$$\frac{d|P|}{dt} = \frac{k_2 \cdot k_1 |L| (|P| - |P|) + k_{-2} \cdot k_1 |X| (|P| - |P|)}{k_1 |X| + k_2 |L|}$$

$$\frac{d|P|}{|P| - |P|} = \frac{k_2 k_{-1} |L| + k_{-2} \cdot k_1 |X|}{k_1 |X| + k_2 |L|} dt$$

$$\text{Integrando} = \frac{k_2 k_{-1} |L| + k_1 k_{-2} |X|}{k_1 |X| + k_2 |L|}$$

APÊNDICE B

NOME	ABREVIACÃO
Adenina	Ade
Guanina	Gua
Dimetil sulfóxido	DMSO
Ion N-metil pirazíneo	N-MPz
Piridina	Py
Quinoxalina	QUIN
N(3) Histidina	N(3) HISTID
Metionina sulfóxido	METSDO
Piperidina	PIP
Metil fenil sulfóxido	MFSO
Di-butil sulfóxido	DBSO
Etileno sulfito	ETS
Aldritiol	ADT-4
Tiouréia	TU
Ácido poliadenílico	POLI (a)