HERNAN CHAIMOVICH GURALNIK

ESTRUTURA E REATIVIDADE EM MICELAS

**TESE APRESENTADA AO INSTITUTO DE QUÍMICA
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO PARA O
CONCURSO DE LIVRE DOCÊNCIA NO DEPARTA-
MENTO DE BIOQUÍMICA.**

SÃO PAULO

1979

DEDICATÓRIA E AGRADECIMENTOS

A los idos, los perdidos,
sobretudo aquellos que restaron y los encontrados
que son pocos,
pero sabrosos!

A todos os que fazem o meu dia a dia conti
nuar sendo uma aventura e aqueles que acreditam que o calor
de uma relação não diminui a criatividade e, portanto, são
capazes de distinguir frieza de competência.

Este trabalho foi realizado com o apoio de:
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)
(BIOQ/FAPESP, 76/401);
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
(CNPq) (7186/75);
UNESCO (RLA 78/024,15) e
OEA (Projeto Multinacional de Bioquímica).

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

α	grau de dissociação da micela
a_n	desdobramento hiperfino isotrópico
AMA	S-acetil- β -mercaptoetilamina
C_T	concentração total de detergente
C_D	concentração de detergente micelizado
CMC	concentração micelar crítica
CoA	coenzima A
CSL	o derivado N-oxil-4,4' dimetiloxazolidina de coles <u>tan</u> -3-ona
CTAB	brometo de hexadecil trimetilamônio
DNFB	2,4-dinitrofluorobenzeno
DTNB	ácido 5,5'-ditiobis (4-nitrobenzôico)
E	coeficiente de absorção molar
eq.	equação
esr	ressonância de spin eletrônica
GSH	glutathiona
k_ψ	constante de velocidade observada (ou observável)
k^o	constante de velocidade na fase aquosa
k_2	constante de velocidade de segunda ordem

k_m	constante de velocidade na fase micelar
$K_{x/y}$	coeficiente de seletividade na troca do íon X pelo íon Y na micela
2-MCP	cloreto de N-metil-2-cianopiridínio
4-MCP	cloreto de N-metil-4-cianopiridínio
MeSL	éster metílico do derivado N-oxil-4,4' dimetiloxazolidina do ácido 5-ceto-esteárico
NPA	acetato de p-nitrofenila
NPO	octanoato de p-nitrofenila
OMA	S-octanoil- β -mercaptoetilamina
rmn	ressonância magnética nuclear
$Ru(bpy)_3^{2+}$	tris-(bipiridina) rutênio (II) dicloreto
5-SASL	ácido derivado do S-MeSL
SDS	dodecil sulfato de sódio
τ	tempo de correlação
$\bar{V}$	volume molar parcial
X_b	concentração analítica do íon X na fase micelar
X_f	concentração analítica do íon X na fase aquosa
$\bar{X}_b$	concentração local do íon X na fase micelar
X_T	concentração total do íon X

ÍNDICE

p.

1. Preâmbulo	1
2. Introdução	3
2.1. Efeito de micelas nas reações de 2,4-dinitro fluorobenzeno com tiofenóxido e fenóxido.	3
2.2. Efeito de detergentes na transferência intra molecular de acila (S para N) em S-acil- β -mer captoetilaminas.	5
2.3. Efeito de brometo de hexadeciltrimetilamônio na tiólise de acetato de p-nitrofenila.	7
2.4. Troca iônica em soluções micelares. Sistemas tamponados.	9
2.5. Estudos de ressonância paramagnética eletrôni ca da estrutura e propriedades dinâmicas de agregados de detergentes.	12
3. Parte Experimental	15
3.1. Materiais	15
3.2. Métodos	16
3.2.1. Métodos analíticos	16
3.2.2. Cinética	17
3.2.2.1. Hidrólise	17
3.2.2.2. Reações de fenóxido e tiofenô xido com DNFB.	17

3,2,2,3. Transferência intramolecu	P.
lar de acila	18
3,2,2,4. Tiólise de NPA	18
3.2.3. Determinação do grau de dissociação ..	19
3.2,3,1. Fenol	19
3.2,3,2. Determinação do pK_{ap} dos	
tiofenóis	20
3.2.4. Determinação das constantes de distri	
buição dos tiofenóis entre as fases a	
quosa e micelar	20
3.2.5. Experimentos de ressonância paramagnê	
tica eletrônica.....	23
3.2.6. Medidas de fluorescência e determina	
ção da relação de produtos na hidról	
se de cianopiridínicos	24
3.2.7. Espectro diferencial,.....	25
4. Resultados	27
4.1. Reações de DNFB em micelas	27
4.2. Reações de S-acil- β -mercaptoetilaminas	36
4.3. Tiólise de NPA	48
4.4. Sistemas micelares tamponados	56
4.5. Análise de micelas usando sondas de spin.....	60
5. Discussão,.....	77
5.1. Reações de DNFB em micelas	77

	p.
5.2. Reações de S-acil- β -mercaptoetilaminas	84
5.3. Tiólise de NPA	90
5.4. Sistemas micelares tamponados	93
5.5. Análise de micelas usando sondas de spin	102
6. Conclusões	112
7.1. Resumo	115
7.2. Summary	118
8. Referências	121

1. PREÂMBULO

Nesta Tese se apresentam alguns dos resultados de uma linha de pesquisa sobre micelas, modelo este que permite compreender e explicar a modificação biológica de reatividade química. O estabelecimento desta linha de investigação teria sido impossível sem a participação de acadêmicos e profissionais competentes que trabalham (ou trabalharam) em nosso grupo. Por estrita ordem de aparição eles são: P.M. Monteiro; E.V. Delarosa; M. Lutfi; I.M. Cuccovia; E.H. Schröter; T. Bauch; E. Baumgarten-Rezende; M.J. Politi e R.V. Aleixo.

A evolução da nossa produção nesta área foi estimulada por colaboração estreita com a Prof. Dr. S. / Schreier e o Prof. Dr. F.H. Quina. Esta colaboração se mantém até hoje e, nesta altura já nos acostumamos a considerar boa parte do trabalho como uma criação coletiva.

O modelo escolhido para estudar a modificação de reatividade foi o sistema de interfaces formadas a partir da agregação, em solução aquosa, de compostos anfifílicos: micelas. A formação, estrutura e propriedades das micelas, bem como a cinética de reações em fase micelar foram analisadas em várias revisões recentes (Cordes e Dunlap, 1969; Bunton, 1973, 1976; Fendler e Fendler, 1975; Mittal, 1977; Cordes, 1978, Chaimovich, 1979). Acredito, portanto,

que uma introdução geral sobre propriedades de micelas e da cinética de reações em fase micelar se faz desnecessária. Por consequência, a Introdução desta tese é diretamente pertinente aos assuntos a serem tratados na parte de Resultados e discutidos posteriormente.

2. INTRODUÇÃO

2.1. Efeito de micelas nas reações de 2,4-dinitrofluorobenzeno com os ânions fenóxido e tiofenóxido ¹.

O 2,4-dinitrofluorobenzeno (DNFB) é um reagente importante para a modificação de aminoácidos, e o seguinte estudo é uma extensão de trabalhos anteriores sobre o efeito de micelas no deslocamento do íon fluoreto por nucleófilos contendo oxigênio ou nitrogênio (Herries e col. , 1964; Bunton e Robinson, 1969, 1970).

O ataque nucleofílico de íons tiolato ou fenolato sobre halonitrobenzenos na ausência de micelas foi estudado extensivamente (Bunnet e Merrit, 1957; Bunnet, 1958; Ross, 1963; Miller, 1968).

Os compostos aromáticos, especialmente aqueles que possuem substituintes que aumentam a densidade eletrônica do anel, interagem fortemente com íons tetra-alquilamô - nio (Ericksson e Gilberg, 1966; Fendler e Patterson, 1971 ; Bunton e col., 1973; Bunton e Minch, 1974) e as micelas catiônicas aceleram o ataque nucleofílico por ânions. Esperávamos, portanto, que micelas de um surfactante catiônico, o brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB), aumentassem a velocidade das reações de DNFB com íons fenóxido e tiofenóxido.

¹ Chaimovich e col. , 1975.

As reações de n-alkil mercaptanas com acetato de p-nitrofenila são fortemente aceleradas por micelas ca_tiônicas e o aumento de velocidade cresce bruscamente com o

aumento do número de carbonos no grupo n-alquila. Entretanto, neste sistema é difícil separar os efeitos das micelas sobre a ionização do tiol daqueles sobre a reatividade do íon tiolato (Tagaki e col., 1972). Em outro estudo de grande interesse, Heitman (1968) mostrou que micelas funcionais, derivados de cisteína, são agentes desacilantes muito eficientes.

2.2. Efeito de detergentes na transferência intramolecular de acila ($S \rightarrow N$) em S-acil- β -mercaptoetilaminas².

A utilidade e as limitações do modelo micela / para a compreensão do mecanismo catalítico de enzimas tem sido discutido (Bunton, 1973; Cordes, 1973, 1978; Fendler e Fendler, 1975; Chaimovich, 1979). Desde que a distorção de uma parte do substrato tem se mostrado um fator importante em algumas reações catalisadas por enzimas (Jencks, 1969 , 1975) poder-se-ia esperar que o estudo de reações intra-moleculares em micelas pudesse servir como modelo desta distorção.

Neste sentido estudamos o efeito de detergentes na transferência de acila intramolecular de S- para N- . em mercaptoetilaminas, cujo mecanismo de reação é bem conhecido (Wieland e Horning, 1956; Martin e col., 1959; Martin e Parcell, 1961; Martin, Hedrick e Parcell, 1964; Martin e He² Cuccovia e col., 1977.

drick, 1962; Barnett e Jencks, 1969). Nos primeiros trabalhos de Martin e colaboradores (1959) demonstrou-se que a transferência de acila ocorre pela formação de um intermediário cíclico do tipo proposto para a reação de transferência de acila de S- para O- na série $\text{CH}_3\text{COS}(\text{CH}_2)_n\text{OH}$. Em pH superior a 6, a partição do intermediário cíclico até / material de partida pode ser desprezada, resultando na formação de amida como o único produto (Foye, Duvall e Mickles, 1962). Mais tarde foi proposto que o passo limitante da reação é uma transferência intramolecular de prótons / (Barnett e Jencks, 1969).

A velocidade da transferência de acila de S para N em S-acil- β -mercaptoetilamina é insensível a altas / concentrações de sal ou de solvente como o butanol (Barnett e Jencks, 1969). Estes fatos facilitam a análise de efeito de detergentes nesta reação complexa uma vez que / nem a alta força iônica efetiva da camada de Stern (veja p. ex. Chaimovich, 1979), nem a baixa constante dielétrica / desta região (veja p. ex. Cordes, 1978) deveriam afetar significativamente a velocidade da reação.

Os dados sobre o efeito de detergentes na velocidade de transferência de acila S a N apresentados aqui demonstram uma significativa inibição por detergentes negativos, um efeito negligível em micelas não iônicas e uma pequena aceleração em micelas positivas.

2.3. Efeito de brometo de hexadeciltrimetilamônio na tióli se de acetato de p-nitrofenila³.

Somente um número limitado de nucleófilos participam, inequivocamente, na catálise enzimática covalente (Jencks, 1969). Entre estes, o grupo -SH da cisteína mostra uma reatividade imprevisivelmente alta quando este se encontra no sítio ativo de enzimas "SH" como papaína (Lewis, Johnson e Shafer, 1976), ficina (Metrione, Johnston e Seng, 1967), bromelina (Husain e Lowe, 1970) ou gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Byers, 1977). A reatividade nucleofílica dos grupos SH em proteínas pode variar desde / aqueles que são extremamente reativos até aqueles que são não-reativos ou "mascarados" (Friedman, 1973; Jocelyn, 1972). Embora o mecanismo desta ativação não esteja esclarecido , existe um consenso geral que atribui esta ampla variedade de reatividade dos grupos SH a microambientes distintos em cada caso particular. Compostos de baixo peso molecular como coenzima A(CoA) ou glutatona (GSH) que possuem um grupo SH, e agem como coenzimas, apresentam também uma reatividade extremamente alta em uma série de reações enzimáticas (Friedman 1973; Jocelyn, 1972). Desde que a reatividade dos grupos SH do GSH e CoA é previsível (Shinkai e Kunitake, 1976) (em comparação com outras mercaptanas), o gru

³ Cuccovia e col., 1978

po SH de GSH e CoA deve ser "ativado" pela apoenzima, de forma similar aos grupos SH do sítio ativo.

Desde que as micelas servem como modelo do (possível) papel das interfaces carregadas, e/ou neutras, na reatividade nucleofílica o estudo dos efeitos micelares sobre a reatividade de grupos SH tem relevância para se entender a questão das diferenças de reatividade encontradas em sistemas biológicos. Existem já evidências que mostram que micelas podem afetar (e muito, em alguns casos) a velocidade de diferentes reações de grupos SH / (Shinkai e Kunitake, 1976; Heitman, 1968; Tagaki e col., 1972; Niehaus, 1974; Chaimovich e col., 1975). A velocidade de reação de N-dodecanoil-dl-cisteína (DCS) com clo-roacetamida, iodoacetamida e acetato de p-nitrofenila / (NPA) é aumentada 5-7, 60-100 e 100-200 vezes, respectivamente, quando se adiciona CTAB ao sistema (Heitman, / 1968). Por outro lado, a incorporação de DCS em micelas negativas conduz a um decréscimo na reatividade aparente do grupo SH (Heitman, 1968). A velocidade de reação de alquilmercaptanas com NPA é acelerada até 10^4 vezes pela adição de detergentes do tipo brometo de alquil trimetilamônio (Tagaki e col., 1972). A formação de micelas mistas de tióis (como β -mercaptoetilamônio) e ácido / oleico tem sido proposta para explicar a isomerização / cis-trans de ácido oleico catalisada por tióis (Niehaus,

1974). CTAB produz um aumento de velocidade de 1100 vezes na velocidade de reação de tiofenóxido com 2,4-dinitrofluorobenzeno (Chaimovich e col., 1975). A velocidade de tiólise de NPA por GSH e CoA é acelerado por CTAB perto de 100 vezes (Shinkai e Kunitake, 1976).

O aumento de velocidade observado em muitas reações após a adição de micelas pode ser explicado, às vezes, por concentração dos reagentes na fase micelar e mudanças no pK aparente do nucleófilo sem ser necessário postular uma mudança na reatividade intrínseca do nucleófilo na fase micelar (Berezin, Martinek e Yatsimirski, / 1973). Antes de se atribuir o efeito observado na velocidade a mudanças de reatividade (veja Martinek e col., 1975, para uma análise pertinente) as velocidades devem ser corrigidas tanto para concentração de substratos bem como para compensar a possível distribuição diferente das formas iônicas do nucleófilo nas fases aquosa e micelar.

2.4. Troca iônica em soluções micelares: Sistemas tamponados⁴.

A distribuição de íons H^+ ou OH^- entre as fases aquosa e micelar é uma função sensível das concentrações analíticas de ácido ou base forte presentes no siste

⁴ Quina e col., 1979

ma, da natureza e concentração total de detergente (C_T) e do conteúdo iônico do meio (Bunton e Wolfe, 1974; Bunton, Rivera e Sepúlveda, 1978; Bunton, Romsted e Savelli, 1979; Quina e Chaimovich, 1979; Chaimovich, 1979; Chaimovich e col., 1979). Foi possível determinar experimentalmente a fração de H^+ ligada à fase micelar de SDS (Bunton, / Romsted e Savelli, 1979) e a fração de OH^- ligada à fase micelar de CTAB (Chaimovich e col., 1979) na ausência de tampão, em função de C_T e sal adicionado.

Apesar de se esperar que o uso de um tampão simplificasse o sistema, especialmente no estudo cinético de reações em fase micelar que envolvem H^+ ou OH^- , esta expectativa não correspondeu à realidade (veja p.ex. Cordes, 1978). Várias questões fundamentais contribuem para a complexidade do sistema micelar tamponado:

(1) até que ponto os componentes do tampão / interagem com a fase micelar e até que ponto a presença / de micelas afeta o equilíbrio do tampão e a sua capacidade tamponante (veja p.ex. Bunton e Minch, 1974 para efeito de micelas no equilíbrio tampão de ácidos carboxílicos);

(2) qual a relação entre o pH na fase aquosa e a concentração de íons ligados, $\bar{H}_b$ ou $\overline{OH}_b$, na fase micelar;

(3) as concentrações locais de H^+ ou OH^- na fase micelar na presença de tampão em diversas condições

se mantêm constantes?

Se os componentes do tampão não interagem com a fase micelar e a capacidade do tampão não é excedida, é evidente que o pH intermicelar se mantém constante sob condições diversas (p.ex. quando muda C_T ou a concentração salina). Mostramos recentemente que na presença de um sistema tamponante "adequado" e conhecidas as constantes de troca para H^+ ou OH^- é possível calcular a dependência entre as concentrações locais de íons H^+ ou OH^- ligados e trocáveis (H_b ou OH_b) e a C_T . Pudemos, assim, analisar o comportamento cinético de reações que envolvem esses íons em soluções tamponadas de detergentes iônicos (Quina e Chaimovich, 1979) (p.ex. OH^- em CTAB).

Nesta parte do trabalho analisaremos uma série de experimentos simples efetuados em soluções micelares de CTAB que demonstram, de forma inequívoca, que o tamponamento na fase aquosa não implica em tamponamento na superfície micelar. Em condições nas quais se pode demonstrar / diretamente que o tampão mantém o pH intermicelar constante, a concentração local de íons OH^- "ligados" na fase micelar (OH_b) varia com C_T acima da CMC.

2.5. Estudos de ressonância paramagnética eletrônica da estrutura e propriedades dinâmicas de agregados de detergente⁵.

Em um grande número de trabalhos têm-se utilizado a técnica de sondas de spin (e s r) para investigar as propriedades estruturais e dinâmicas das micelas (Waggoner, Griffith e Christensen, 1967; Waggoner, Kieth e Griffith, 1968; Ohnishi, Cyr e Fukushima, 1970; Fox , 1971; Oakes, 1971; Atherton e Strach, 1972; Nakagawa e Jizomoto, 1972; Brotherus e Törmälä, 1973). Temos aplicação desta técnica para examinar vários aspectos da agregação de detergentes. Neste contexto investigamos (1) a concentração micelar crítica (CMC); (2) a interação entre micelas e nucleófilos reativos; (3) o mecanismo da formação de micelas e (4) o mecanismo de distribuição de solutos hidrofóbicos em micelas. (Ernandes, Schreier e Chaimovich, 1976; Ernandes, Chaimovich e Schreier, 1977). As micelas são excelentes modelos para se estudar os efeitos da microheterogeneidade sobre reações químicas (Chaimovich, 1979 e referências ali citadas). Os problemas na interpretação dos dados surgem às vezes, do desconhecimento do grau de ligação do substrato à micela (Chaimovich, 1979; Quina e Chaimovich, 1979). Temos examinado a

⁵Schreier e col., 1978

interação entre um substrato (o íon tiofenóxido) e um detergente (CTAB), com o propósito de detectar (possíveis) mudanças estruturais nas micelas de CTAB produzidas pela adição do ânion orgânico.

A existência de agregados pré-micelares foi descrita em vários casos. Esta agregação se observa especialmente com sais biliares (Fontell, 1971) e sais de alcanatoatos (Eagland e Franks, 1965; Danielson e Stenius, / 1971; Lindman e Brun, 1973; Gustavsson e Lindman, 1975). A formação de dímeros (Mukerjee, Mysels e Dulin, 1958) e agregados maiores (Lindman, Kamenka e Brun, 1974) foi sugerida para o SDS. Utilizando e s r encontramos evidên - cias diretas que mostram a existência de agregação prê-micelar para o SDS abaixo da CMC (Ernandes, Chaimovich e Schreier, 1977).

A distribuição de solutos altamente hidrofóbicos é importante do ponto de vista das propriedades dinâmicas das soluções micelares, do estudo das propriedades catalíticas das micelas e, também, da solubilização de solutos em soluções micelares. As implicações tanto teóricas como práticas da solubilização por detergentes foram ana- lizadas por Elworthy, Florence e Mc Farlane (1968). Nos últimos anos o nosso conhecimento sobre sítios de solubi- lização de substratos em detergentes aumentou de forma / considerável (Fendler e Fendler, 1975; Mittal, 1977). De

ve-se mencionar, porém, que o mecanismo de distribuição de substratos insolúveis em água tem recebido pouca atenção.

Alguns estudos mecanísticos sobre a redistribuição de água em solventes apolares na presença de micelas reversas foram publicados (Menger, Donohue e Williams, 1973; Eicke, Sheperd e Steinmann, 1976). Foi descrito o tempo de permanência de substratos de baixa solubilidade em água em sistemas micelares aquosos (Fendler e Fendler, 1975). Na última parte de nosso trabalho apresentamos resultados que descrevem, preliminarmente, a distribuição micelar de um substrato extremamente insolúvel em água.

As sondas de e s r utilizadas neste trabalho, apesar de não serem moléculas pequenas e esféricas, apresentam tempos de correlação baixos (da ordem de 4×10^{-9} a 3×10^{-10} segundos). Assim os espectros de e s r foram analisados utilizando-se um formalismo de estreitamento (Kivelson, 1960; Freed e Frambel, 1963; Freed, 1972). Os espectros indicam, também, que as sondas experimentam um grau de ordenamento baixo que não é mensurável diretamente nos espectros nestes sistemas. Assim, as contribuições de ordem e desdobramento hiperfino causado por prótons foram desprezadas nos cálculos de tempos de correlação. Discutiremos também as contribuições do tempo de correlação rotacional das micelas nas linhas espectrais observadas.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais

Brij. 58 (Sigma Chem. Co. Lote 8.0-1150) Acetato de p-nitrofenila (Sigma Chem. Co.), ácido 5,5' ditiobis(p-nitrobenzôico) (BDH, Biochemicals), CTAB (Merck, Darmstadt) foi recristalizado (x 3) de acetona-etanol, SDS (BDH, Poole) foi recristalizado em etanol.

Tiofenol (Eastman Kodak Co) foi destilado sob pressão reduzida. p-Metoxitiofenol (Aldrich Chem. Co) foi utilizado sem purificação. p-Metil e p-clorotiofenol (Aldrich Chem. Co) foram recristalizados de etanol-água. Acetato de tiofenila foi preparado a partir de tiofenol e anidrido acético e purificado por destilação sob pressão reduzida (p.e. 110°C , 13 mm Hg) (Böhme e Schran, 1949). S-Acetil- β -mercaptoetilamina (AMA) foi sintetizada pelo método de Wieland e Bokelman (1952) (p.f. 137-138; lit. 137, Wieland e Bokelman, 1952). S-octanoil- β -mercaptoetilamina (OMA) foi sintetizada de acordo com Foye, Duval e Mickles (1962) a análise de S, e os espectros de IR, NMR e UV estão de acordo com a estrutura.

Cloreto de N-metil-2-cianopiridínio (2-MCP) / e N-metil-4-cianopiridínio (4-MCP) foram preparados a partir dos iodetos correspondentes (Kosower e Patton, 1966) por tratamento com Ag Cl, em água acidulada (HCl), a tempe

ratura ambiente. Após filtração e liofilização, os sais foram purificados por extração com CH_3CN (Aldrich, qualidade espectroscópica) e secados sob vácuo. Os coeficientes de extinção molar coincidem com os publicados (Kosower e Patton, 1966) e a titulação de cloreto (Schales e Schales, 1941) fornece o peso equivalente esperado. Uma amostra pura de octanoato de p-nitrofenila foi fornecida gentilmente pelo Prof.Dr. Omar A. El-Seoud (IQUSP). Tris-(bipiridina) rutênio (II) dicloreto hexahidrato ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$) foi usado sem purificação (G. Frederick Smith).

As sondas de spin: 2,2'-dimetil-N-oxil oxazolidina derivadas do: (1) ácido 5-ceto esteárico (5-SASL), (2) éster metílico do ácido 5-ceto esteárico (5-MeSL), (3) 5α -androstan-17 β -ol-3-ona (ASL) e (4) colestano-3-ona / (CSL) foram obtidas da Syva, Palo Alto, Califórnia.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Métodos analíticos

A concentração de CTAB foi determinada medindo brometo (Schales e Schales, 1941). A concentração de tióis livres foi determinada com DTNB usando o método descrito por Ellman (1959).

3.2.2.Cinética

3.2.2.1, Hidrólise. A hidrólise alcalina de 4-MCP foi acompanhada medindo-se o aumento de absorbância (a 269 nm) devido a formação de produtos (Politi e col., 1978, Chaimovich e col., 1979). A reação correspondente do 2-MCP foi acompanhada de forma semelhante medindo-se a absorbância a 297 nm devida a aparição da N-metil-2-piridona. A hidrólise alcalina de NPA e NPO foi acompanhada medindo-se a absorbância do íon p-nitrofenóxido a 405 nm.

3.2.2.2. Reações de fenóxido e tiofenóxido com DNFB. Todas as reações foram acompanhadas a 25°C usando um espectrofotômetro Cary 14 para as reações com fenóxido e um espectrofotômetro de fluxo (Durrum, Stopped flow) para as reações com tiofenóxido. A reação com tiofenóxido foi acompanhada a 350 nm em tampão borato (1×10^{-2} M) pH 9,27. O tiofenol está completamente ionizado neste pH (Pascal e Tarbell, / 1957; Danehy e Noel, 1960; Kreevoy e col., 1960). A concentração de DNFB foi $1.25 - 5 \times 10^{-5}$ M e a de tiofenol $2,5 - 5 \times 10^{-4}$ M. As constantes de velocidade são a média de 2 a 6 valores. Para as reações com fenóxido a concentração de fenol foi de $1.67 - 6,67 \times 10^{-4}$ M e a de DNFB de aproximadamente 1.10^{-4} M (pH 10, tampão borato). Na ausência de fenóxido ou tiofenóxido a reação de DNFB com hidróxido (pH

9,27 ou pH 10) é lenta mesmo na presença de CTAB (Bunton e Robinson, 1969; Bunton e Robinson, 1970).

3.2.2.3. Transferência intramolecular de acila. A cinética desta reação foi acompanhada a 25°C (banho circulante Masterline) no compartimento termostatizado de um espectrofotômetro Gilford. A reação foi acompanhada a 229 nm, e os coeficientes de extinção dos tioésteres coincidem com os descritos (Martin, Hedrick e Parcell, 1964). Todas as reações foram iniciadas pela adição de 10 µL de uma solução / estoque ($\sim 10^{-3}$ M) recentemente preparada do tioester.

3.2.2.4. Tiólise de NPA. A tiólise de NPA foi acompanhada/ medindo-se a aparição de p-nitrofenóxido (405 nm) num espectrofotômetro Gilford a $30 \pm 0,2^\circ\text{C}$ (banho circulante Masterline). A mistura de reação foi equilibrada a 30°C no compartimento de celas e a reação iniciada pela adição de 0,01 ml de uma solução estoque de NPA ($1-2 \times 10^{-3}$ M) em CH_3CN . O volume total de solvente orgânico nunca excedeu 0,8% (v/v). Todas as soluções foram deaeradas e mantidas sob N_2 ou Ar. As constantes de primeira ordem aparente (k_ψ), obtidas de gráficos de $\log (\text{DO}_\infty - \text{DO}_t)$ contra tempo eram lineares por (pelo menos) quatro meias vidas. As constantes de segunda ordem (k_2) foram obtidas de

$$k_2 = \frac{k_\psi - k_w}{(\text{RSH})_T} \quad (1)$$

onde k_w é a constante de primeira ordem observada para a hidrólise espontânea de NPA nas mesmas condições (CTAB, pH) na ausência de tiofenol. $(RSH)_T$ representa a concentração total de tiofenol que, nas condições empregadas, está totalmente dissociado.

3.2.3. Determinação do grau de dissociação

3.2.3.1. Fenol. O fenol não se encontra totalmente ionizado a pH 10 (o pK_a do fenol em água a 25° é aproximadamente 10). O surfactante poderia mudar a constante de dissociação tanto do ácido bórico (vide adiante) como a do fenol, e, ao estimar a "catálise" micelar é necessário considerar estas mudanças. Isto foi feito medindo-se o equilíbrio entre fenol e fenóxido, por espectrofotometria, na presença e ausência de CTAB, usando-se tampão borato pH 10 antes da adição de CTAB. O CTAB tem pouco efeito sobre o pH de tampão borato ($10^{-2}M$) que decresce ligeiramente ao se adicionar $1,5 \times 10^{-2}M$ CTAB (Bunton e Minch, 1974). As proporções relativas de fenol e fenóxido na solução de CTAB e tampão borato foram calculadas medindo-se as absorvâncias de fenol e fenóxido em CTAB e usando-se estes coeficientes de extinção nos cálculos.

3.2.3.2. Determinação do pK_{ap} dos tiofenóis. O efeito do CTAB no pK aparente dos tiofenóis foi determinado a uma concentração única (saturante) de CTAB. Os dados espectrais obtidos para tiofenol e tiofenóxido na presença e ausência de CTAB foram analisados usando-se a equação:

$$K = \frac{|H| (1 - (E_{AH}/E_{\Psi}))}{(E_A - E_{\Psi}) - 1} \quad (2)$$

onde E_{Ψ} é o coeficiente de extinção observado (igual a absorvância/(RSH)_T) em determinado pH e comprimento de onda, E_{AH} e E_A são os coeficientes de extinção do tiofenol e tiofenóxido no mesmo comprimento de onda. A lei de Lambert-Beer é obedecida sob as condições experimentais utilizadas (CTAB 4×10^{-3} M, tiofenol c.a. 2×10^{-5} M).

3.2.4. Determinação das constantes de distribuição de tiofenóis entre as fases micelar e aquosa.

Segundo o modelo de separação de fases (Berezin, Martinek e Yatsimirski, 1973) a constante de distribuição (K_a) para ânion tiofenóxido pode ser definida como

$$K_a = \frac{C_m}{C_w} \bar{V} \quad (3)$$

onde C_m e C_w são as concentrações do ânion nas fases miche-

lar e aquosas respectivamente e $\bar{V}$ é o volume molar parcial do detergente micelizado. Usando-se este modelo e assumindo-se que o volume da fase micelar é pequeno em comparação com o volume total da solução pode-se demonstrar que

$$A_T = C_m C_D \bar{V} + C_w \quad (4)$$

onde C_D , a concentração de detergente micelizado, é igual a concentração total de detergente (C_T) menos a CMC, e A_T é a concentração total de tiofenóxido.

Das equações 3 e 4 pode-se demonstrar que

$$E_\psi = \frac{K_a C_D}{(1 + K_a C_D)} E_m + \left(1 - \frac{K_a C_D}{1 + K_a C_D} \right) E_w \quad (5)$$

onde E_m e E_w são coeficientes de extinção do tiofenóxido / nas fases micelar e aquosa, respectivamente. Rearranjando a eq. 5 obtém-se uma forma linearizada que permite a determinação de K_a

$$\frac{1}{E_\psi - E_w} = \frac{1}{K_a (E_m - E_w)} \times \frac{1}{C_D} + \frac{1}{(E_m - E_w)} \quad (6)$$

Resultados típicos mostrando o efeito do CTAB no espectro de tiofenóxidos e gráficos da eq. 6 são apresentados na figura 1.

Figura 1. Efeito de CTAB no espectro de ânions derivados de tiofenóis. Todos os espectros foram obtidos em tampão borato $2 \times 10^{-2} \text{ M}$ pH 8,5 . A: (1) p-clorotiofenol; (2) p-clorotiofenol com $4 \times 10^{-3} \text{ M}$ CTAB; (3) p-metiltiofenol; (4) p-metiltiofenol com $4 \times 10^{-3} \text{ M}$ CTAB. B: Determinação de K_a de tiofenóxido de acordo com a eq. 6 : (●) 250 nm; (○) 285 nm; (□) 275 nm.

As constantes de distribuição das formas protonadas dos tiofenóis foram calculadas, como descrito por Yatsimirski, Martinek e Berezin (1971), a partir do efeito do CTAB no pK dos tiofenóis.

3.2.5. Experimentos de Ressonância paramagnética eletrônica

As amostras foram preparadas evaporando-se / uma solução clorofórmica da sonda num tubo de ensaio sob uma corrente de N₂ e retirando-se o solvente restante sob / vácuo. Neste tubo se adiciona a quantidade desejada de CTAB em água ou tampão borato (1×10^{-2} M pH 9,0). A mistura foi agitada por (aproximadamente) 5 min (quando a sonda usada / era 5-SASL, 5-MeSL ou ASL). As soluções assim obtidas foram usadas como estoque obtendo-se as concentrações menores por diluição.

A solução estoque de CSL/SDS foi preparada / de forma semelhante, mas estendendo-se o período de agitação (lenta, tubo fechado) por 24 hs. A solução estoque CSL / CTAB foi preparada adicionando-se 3,00 ml de uma solução / de CTAB em água degaseada ao tubo contendo o filme de CSL. Esta solução foi submetida a ultrasson (Virsonic, Modelo 150 Cell Disrupter, potência "60", microsonda) usando pulsos de 10 segundos por períodos de 250 ou 500 segundos. As soluções assim obtidas denominam-se S-250 e S-500, respectivamente.

A concentração de CSL em solução aquosa foi determinada após extração da sonda com clorofórmio. As soluções aquosas contendo CSL foram extraídas com clorofór - mio até não apresentarem sinal de e s r. (3 vezes). Os extratos clorofórmicos foram reunidos, concentrados sob N₂ e, finalmente o volume foi ajustado com clorofórmio. A concentração de CSL na solução clorofórmica foi determinada medindo-se a altura da linha central do espectro de e s r, usando uma curva de calibração adequada.

A concentração de CTAB retida nos experimentos de filtração foi determinada por condutimetria (Beckman Instruments) após extração dos filtros com água (50°C) até condutância constante.

A filtração foi realizada utilizando-se filtros Millipore (13 mm) e seringas com um adaptador "Swinnex".

Os espectros de e s r foram obtidos em celas planas para solução aquosa (James Scalon, Solvang, Calif.) usando-se um espectrômetro Varian E-4 a temperatura ambiente ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

3.2.6. Medidas de fluorescência e determinação de relação / de produtos na hidrólise de cianopiridínicos.

Medidas de emissão foram realizadas num espectrofluorímetro Hitachi-Perkin Elmer MPF-4 operando-se na

forma proporcional. Alíquotas (3,00 ml) de soluções contendo $\text{Ru}(\text{bpy})_3 \text{Cl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ($3,5 \times 10^{-5} \text{M}$), KBr (0,10M) e CTAB (0-0,04M) equilibradas em ar a 30°C , foram excitadas a 450 nm e os espectros foram registrados. Alíquotas sucessivas de solução estoque concentrada de 2-MCP (0,192M) ou 4-MCP (0,154M) foram adicionadas e os espectros foram registrados após cada adição. A concentração das soluções estoque foi verificada por absorvância e a adição total não foi maior que 40 μL . Os dados de emissão foram lançados num gráfico de Stern-Volmer para obter a constante de supressão de Stern-Volmer (Demas e Addington, 1976; Quina, 1977). Tanto para 2-MCP como para 4-MCP as relações de produtos de hidrólise (piridona/amida) foram determinadas por absorvância (Politi e col., 1978) ou por determinação de cianeto / (Sparlin, Hinze e Armstrong, 1977) utilizando-se curvas de calibração correspondentes às condições usadas neste trabalho.

3.2.7. Espectro Diferencial

Os espectros foram obtidos num espectrofotômetro Cary 14 usando celas calibradas. Os espectros diferenciais (Figura 2) sugerem que existe uma interação entre m-dinitrobenzeno e tiofenóxido em micelas de CTAB.

Figura 2. Espectro diferencial de $6,7 \times 10^{-5} \text{ M}$ m-dinitrobenzeno e $6,7 \times 10^{-5} \text{ M}$ tiofenóxido na presença de CTAB ($0,33 \text{ M}$) e tampão borato ($0,017 \text{ M}$). 1, 2, 3, representam 3 espectros tirados nas mesmas condições. 3 foi determinado duas vezes para mostrar o erro na determinação.

4. RESULTADOS

4.1. Reações de DNFB em micelas

Reação com o íon fenóxido. Os efeitos micelares na reação do íon tiofenóxido com DNFB são relativamente simples. Contudo, o aumento de velocidade obtido por adição de micelas de CTAB é bem maior nesta reação do que em outras reações bimoleculares em água. A constante de velocidade de segunda ordem k_2 aumenta, chega a um patamar e não apresenta um máximo (Figura 3) enquanto, para outras reações bimoleculares catalizadas por micelas, pode-se observar sempre um máximo (Fendler e Fendler, 1975; Cordes e Gitler, 1973; Bunton, 1973; Bunton e Wolfe, 1973). A constante de velocidade de segunda ordem ($k_2 = 260 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) obtida para reações na ausência de micelas é uma média de seis experimentos em que a concentração de tiofenóxido variou entre $0,25$ e $0,5 \times 10^{-3} \text{ M}$ e a concentração de DNFB entre $0,0125$ e $0,05 \times 10^{-3} \text{ M}$. Na região do patamar o valor da constante de segunda ordem na presença de micelas (k_2^{m}) é $2,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ DNF, de tal forma que o aumento da velocidade é da ordem de 1100.

Micelas não-iônicas de Brij 58 aceleram a reação mas o efeito é relativamente pequeno (Tabela 1). Uma explicação eletrostática simples da catálise micelar prevê que micelas não-iônicas não deveriam ter efeito nesta reação.

Figura 3. Reação do íon tiofenóxido com 2,4 dinitrofluorobenzeno na presença de CTAB a 25°C.

TABELA 1. Efeito do Brij 58 na reação de DNFB e tiofenóxido^a.

$C_D (M \times 10^3)$	$k_2 (M^{-1} seg^{-1})$
-	260
0,06	386
0,80	1320
3,34	3940 ^b
15,0	9340

(a) A 25°C, pH 9,27, 10^{-2} M tampão borato e 5×10^{-4} M tiofenol; $2,5 \times 10^{-5}$ M DNFB.

(b) 5×10^{-5} DNFB.

Porém, existem outros casos em que a explicação simples falha e a velocidade de reação muda (Bunton e Robinson, 1969; Fendler, Fendler e Liechti, 1970; Cordes e Gitler, 1973; Bunton, 1973; Bunton e Robinson, 1969; Buist e col., 1970) provavelmente porque os reagentes, relativamente hidrofóbicos, (DNFB e tiofenóxido) se concentram nas micelas não iônicas de Brij. A relação entre a constante de velocidade e a concentração de detergente não apresenta a forma sigmoidal característica de catálise micelar.

Efeito de CTAB na ionização do fenol. A fim de poder calcular o grau de dissociação do fenol na presença de CTAB sob as condições cinéticas, examinamos o espectro UV do fenol e do fenóxido em CTAB na ausência e na presença de CTAB usando tampão com pH nominal 10,0.

O leitor deve, neste ponto, considerar que os dados apresentados mais adiante na secção Resultados 3.4 modificam bastante tanto o desenho experimental, como a interpretação possível destes dados (veja também Chaimovich, 1979).

A ionização do fenol aumenta com a adição de até 5×10^{-3} M de CTAB (Tabela 2), concordando com outras observações sobre efeito de micelas na ionização de ácidos / não carregados (Bunton e Minch, 1957; Tong e Glessman, 1957; Hiskey e Downey, 1954).

Reação com fenóxido. A reação entre DNFB e fe nol em tampão borato pH 10 é catalisada eficientemente por

TABELA 2. Efeito do CTAB na ionização do fenol^a.

CTAB (M x 10 ³)	C _{fenóxido} / C _{fenol} + C _{fenóxido}
-	0,48
1,0	0,49
2,0	0,55
2,0	0,57
3,0	0,63
4,0	0,66
5,0	0,70
6,0	0,71
7,0	0,71
7,0	0,74 ^b
8,0	0,70 ^b
9,0	0,74
9,0	0,72
50,0	0,74

(a) A 25°C sob condições cinéticas com $6,67 \times 10^{-4}$ M fenol

(b) $3,33 \times 10^{-4}$ M fenol.

micelas de CTAB (Fig. 4). Os símbolos vazios representam a constante de segunda ordem aparente calculada dividindo-se a constante observada, k_{ψ} , pela concentração analítica de fenol. Os

símbolos cheios representam a constante calculada em termos da concentração de fenóxido estimada espectrofotometricamente. A Tabela 2 mostra o efeito do CTAB sobre o equilíbrio / fenol-fenóxido. Deve-se notar que este desenho experimental não diferencia entre solutos nas fases aquosa e micelar. A constante de segunda ordem máxima, a 4×10^{-3} M CTAB, é $158 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ baseada na concentração de fenóxido e, $107 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ baseada na concentração total de fenol. A diferença entre / estes valores demonstra a importância de se levar em conta o efeito de micelas sobre equilíbrios do tipo ácido-base ou qualquer tipo de equilíbrio onde participem os reagentes.

A constante de segunda ordem para a reação / do fenol com DNFB em água, é $0,68 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, calculada em termos de concentração de fenóxido, e $0,33 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ calculada em termos de concentração analítica de fenol ($1,33 \times 10^{-3}$ M fenol, $6,67 \times 10^{-4}$ M DNFB). Assim, o aumento de velocidade / produzido pelo CTAB é de 230 ou 315 vezes, segundo a forma na qual se efetua este cálculo. A forma da curva que relaciona k_2 com CTAB (Fig.4) mostra o máximo característico de outras reações bimoleculares na presença de micelas.

O efeito de SDS foi analisado em forma qualitativa obtendo-se o esperado retardamento da velocidade em micelas negativas.

Efeito de micelas no espectro de UV dos íons fenóxido e tiofenóxido. A adição de pequenas quantidades de

Figura 4. Reação de fenóxido com 2,4 dinitrofluorobenzeno na presença de CTAB. Os símbolos cheios representam os valores de k_2 corrigidos pela dissociação do fenol. $\diamond$ $1,67 \times 10^{-4}$; $\square$ $3,33 \times 10^{-4}$; $\circ$ $6,67 \times 10^{-4}$ M fenol.

CTAB não muda substancialmente o espectro de tiofenóxido. Porém, pode-se observar uma mudança marcante quando a concentração de surfactante é suficientemente grande para incorporar totalmente o substrato na micela. Os espectros são mostrados na Figura 5 e os coeficientes de extinção, bem como

Figura 5. Efeito do CTAB no espectro UV de $0,125 \times 10^{-3}$ M tiofenóxido. (1) na ausência de CTAB; (2) com $0,75 \times 10^{-3}$ M CTAB; (3) com 3×10^{-3} M CTAB.

os λ_{max} , na Tabela 3. Os resultados da Tabela 3 mostram que pequena quantidade de CTAB é suficiente para incorporar o tiofenóxido e este fato é confirmado medindo-se as áreas sob os picos de absorção para soluções de CTAB e tiofenóxido / (Fig. 6). Estas áreas foram estimadas de duas formas usando-se gráficos que relacionam absorbância contra frequência. Na primeira medimos a área desde ν_{max} até a frequência mais / baixa (31.300 cm^{-1} , 320 nm) e na segunda desde 43.500 cm^{-1} (230 nm) até o máximo. A variação destas duas áreas e a soma (em unidades arbitrárias) em função da concentração de CTAB são apresentadas na Figura 6. Apesar da arbitrariedade na estimativa das áreas os resultados mostram o efeito marcante do CTAB sobre o espectro do tiofenóxido. Pode-se observar também que a área espectral é aproximadamente constante acima de $1,5 \times 10^{-3} \text{ M}$ CTAB, confirmando que, a maiores concentrações de detergente o tiofenóxido está totalmente incorporado e interage fortemente com os grupos iônicos das micelas.

Evidência adicional que mostra a forte interação de tiofenóxido com CTAB provém da magnitude do decréscimo da CMC do CTAB quando se adiciona tiofenóxido. A CMC do CTAB em água é de $9 \times 10^{-4} \text{ M}$ (Fendler e Fendler, 1975). A adição de $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ tiofenóxido a pH 10 (10^{-2} M de tampão borato) produz uma diminuição da CMC até $0,8 \times 10^{-4} \text{ M}$ (25°C) e a pH 9.1 (30°C) a CMC diminui até $1 \times 10^{-4} \text{ M}$. A micelização foi estimada medindo-se a mudança de absorbância do íon tiofenó-

TABELA 3. Espectro ultravioleta do íon tiofenóxido na presença de CTAB^a.

CTAB (Mx10 ³)	λ_{max}	E _{max}	E ₂₆₂	E ₂₇₄
-	263	12.600	12.600	8.750
0,75	264	9.250	9.230	6.450
1,50	271	7.570	7.000	7.500
2,00	272	7.670	6.740	7.600
3,00	274	8.320	6.420	8.320

(a) com $1,25 \times 10^{-4}$ M tiofenol, λ em nm.

Figura 6. Efeito do CTAB nas áreas dos picos de absorção do tiofenóxido (unidades arbitrárias); O, de ν_{max} a 43.500 cm^{-1} ; Δ , ν_{max} a 31.300 cm^{-1} , ●, área total.

xido a 275 nm.

Os efeitos da CTAB no espectro de UV de fenol e do íon fenóxido são muito menores daqueles causados pelo / mesmo detergente no espectro do tiofenóxido. Existem, porém, efeitos batocrômicos (Figura 7) que são, como se poderia esperar, maiores no fenóxido que no fenol, seguramente pelo / maior grau de interação do íon com o detergente. Porém, o efeito na absorbância é sempre menor que no tiofenóxido. Tanto o λ_{max} quanto o E_{max} do fenol e fenóxido mudam quando estes se incorporam em micelas de CTAB. As diferenças entre fenóxido e tiofenóxido são compreensíveis, uma vez que as ligações de hidrogênio ao enxofre são mais fracas que ao oxigênio. Por - tanto, o tiofenóxido deveria interagir mais fortemente do que o fenóxido com uma micela catiônica.

4.2. Reações de S-acil- β -mercaptoetilaminas

O detergente catiônico, CTAB, cataliza a transferência do grupo acila de S para N na S-octanoil- β -mercaptoetilamina (OMA) (Figura 8), e se observa que a constante de / velocidade para esta reação aumenta bruscamente quando a concentração de CTAB é superior a 3×10^{-4} M. A CMC do CTAB em água é 9×10^{-4} M (Fendler e Fendler, 1975) mas é sabido que / tanto a adição de sais como a adição de alguns eletrólitos anfifílicos podem diminuir a CMC deste detergente (Bunton, 1973;

Figura 7. Efeito do CTAB em λ_{max} (□ ■) e E_{max} (O ●) de fenol (pontos vazios) e fenóxido (pontos cheios).

Fendler e Fendler, 1975). Utilizando-se o valor de $3 \times 10^{-4} M$ como CMC efetiva nas nossas condições cinéticas, pode-se calcular a aceleração máxima e o coeficiente de partição do / substrato entre a água e a pseudofase micelar (Berezin, Martinek e Yatsimirski, 1973). Utilizando o modelo de separação de fase na sua forma mais simples (veja, por exemplo, Berezin, Martinek e Yatsimirski, 1973; Quina e Chaimovich, 1979

Figura 8. Catálise da reação de transferência de acila ($S \rightarrow N$) em S-octanoil- β -mercaptoetilamina / por CTAB. A linha sólida foi calculada (veja texto).

e Chaimovich, 1979) uma reação unimolecular pode ser analisada utilizando-se a equação:

$$k_{\psi} = \frac{k_m K (C_T - CMC) + k^0}{K (C_T - CMC) + 1} \quad (7)$$

onde k_{ψ} é a constante de primeira ordem observada, C_T é a

concentração total de detergente, k^0 é a constante observada na ausência de detergente, k_m é a constante de velocidade na fase micelar e K a constante de distribuição do substrato. k_m e K foram calculadas por iteração a partir de um valor inicial de k_m igual a k_ψ máxima (Figura 8). Somente / os dados cinéticos obtidos até $5,5 \times 10^{-3}$ M de CTAB foram u tilizados nestes cálculos. Em pH 6,8 (tampão fosfato de sódio 0,01 M) k^0 é $0,026 \text{ s}^{-1}$, a k_m calculada sob as mesmas con dições é $0,12 \text{ s}^{-1}$, de tal modo que a aceleração causada por CTAB é 4,6 vezes.

Com o intuito de descartar a possibilidade / de que a agregação do substrato modificasse de alguma ma neira o valor da constante de velocidade da reação não cata lizada, a concentração de OMA foi variada entre $2,8 \times 10^{-5}$ e $4,2 \times 10^{-4}$ M. Entre estes limites, k^0 é constante. Como / se pode observar na Figura 8 os valores de k_ψ obtidos a con centração alta de detergente se desviam significativamente da curva teórica indicando, claramente, que o modelo descri to pela equação 7 explica os dados obtidos de modo apenas/ parcial.

O efeito inibitório de detergentes negativos como o dodecil sulfato de sódio (SDS) neste sistema é muito maior que o (pequeno) efeito catalítico observado com CTAB (Figura 9).

Vários modelos foram considerados para acom

Figura 9. Efeito de SDS na reação de transferência de acila ($S \rightarrow N$) em S-octanoil- β -mercaptoetilamina. A linha sólida foi calculada, o gráfico inscrito / mostra a mesma região de concentração de SDS lançado de acordo com a equação 8 (veja texto). A concentração inicial de OMA é 2×10^{-4} M.

dar todos os dados experimentais que são mostrados na Figura 9. Estes modelos se basearam na suposição da formação de agregados, contendo substrato e SDS em proporções definidas, em toda a faixa de concentração de SDS (esquema I).

ESQUEMA I

O tratamento usado não poderia, de fato, se ajustar aos dados cinéticos. Sem tentar agora uma análise / quantitativa, podemos esquematizar os equilíbrios que devem ser considerados na análise:

onde OMA_f^+ , OMA_b^+ , OMA_f e OMA_b representam as espécies protonadas nas fases aquosa e micelar, respectivamente. Uma / descrição da análise deste sistema pode ser encontrada em Quina e Chaimovich (1979) e Chaimovich (1979). No esquema I, i representa os moles de OMA no agregado substrato-detergente; j o número de moles de detergente no agrega-

do, K a constante de equilíbrio e k_{ij} a constante de velocidade para a transferência intramolecular de acila de S para N num agregado contendo i moles de OMA e j moles de SDS. Este modelo foi utilizado com sucesso em outros sistemas de aminólise (Bruice, Katzhendler e Fedor, 1968). Porém, este método não forneceu resultados internamente consistentes / neste caso. A inaplicabilidade deste modelo é, provavelmente um reflexo da existência de equilíbrios múltiplos entre o SDS e o substrato que resultam num conjunto de agregados, com i e j variáveis (esquema I) e, conseqüentemente, k_{ij} diferentes. A relação i/j deveria variar com a concentração de detergente. Desde que a inibição por SDS se observa facilmente até em proporções OMA/SDS maiores que 1, (Figura 9) i pode ser maior que j nos agregados em concentrações baixas de SDS.

Os pontos experimentais obtidos a $SDS/OMA > 10$, onde o agregado pode ser visto como uma micela típica de SDS, foram ajustados utilizando-se o modelo de distribuição já comentado quando da análise do efeito de CTAB na mesma / reação (linha cheia na Figura 9). Na inserção utiliza-se outra forma da equação 7:

$$\frac{1}{k^O - k_\psi} = \frac{1}{k^O - k_m} + \frac{1}{(k^O - k_m)K} \times \frac{1}{(C_T - CMC)} \quad (8)$$

O procedimento iterativo resulta num valor de $K = 8,2 \times 10^4$. Constantes de distribuição desta ordem de magnitude já foram observadas em aminólises intermoleculares usando uma micela / funcional e um éster com carga oposta como substrato (Bruice, Katzhendler e Fedor, 1968). k_m foi calculada e forneceu um valor de $1,5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ com uma CMC de $1,2 \times 10^{-3} \text{ M}$.

A velocidade da reação de transferência intra molecular de S para N é ligeiramente inibida pela adição de um detergente não-iônico (Brij 35) (Tabela 4).

TABELA 4. Efeito de Brij 35 sobre a velocidade de transferência de acila ($S \rightarrow N$) em S-octanoil- β -mercapto etilamina^a.

Brij 35 ($\text{M} \times 10^4$)	k_ψ ($\text{s}^{-1} \times 10^2$)
-	4,4
2,7	4,3
5,5	4,4
11,0	3,7
22,0	4,0
55,0	2,5

(a) 25°C em $4,0 \times 10^{-2} \text{ M}$ na fosfato, pH 6,80. Concentração inicial de AMA $2,54 \times 10^{-4} \text{ M}$.

Com o intuito de estimar as contribuições relativas das partes hidrofóbicas e eletrostáticas nos efeitos dos detergentes sobre esta reação, estudamos a transferência

intramolecular de acila de S para N em S-acetil- β -mercaptoetilamina (AMA). A velocidade da reação, utilizando AMA como substrato, não é afetada pela adição de CTAB até 0,1M. Este (falta de) efeito poderia ser esperado com base nos resultados anteriores de aminólise de ésteres carregados (Bruice, Katzhendler e Fedor, 1968) e indica que o AMA não se incorpora, de forma significativa, na fase micelar do CTAB. O SDS inibe a reação de transferência intramolecular em AMA / (Figura 10). Os resultados de inibição podem ser ajustados a um modelo de distribuição simples utilizando a equação 7. Os parâmetros calculados foram ainda analisados variando-se o pH entre 6,4 e 7,8 (Tabela 5).

TABELA 5. Efeito de SDS na velocidade de transferência de acila (S $\rightarrow$ N) em S-acetil- β -mercaptoetilamina^a.

pH	k_o (s^{-1})	k_m (s^{-1})	K
6,4	0,054	$4,0 \times 10^{-4}$	322
6,8	0,122	$1,52 \times 10^{-3}$	375
7,14	0,234	$2,0 \times 10^{-3}$	279
7,8	0,722	7×10^{-3}	202

(a) 25^o, 2×10^{-2} M Na fosfato. Concentração inicial de substrato 2×10^{-4} M. Veja o texto para a descrição do cálculo de k_m (constante de velocidade na fase micelar) e K (constante de distribuição do substrato). k_o representa o valor da constante de velocidade na fase aquosa.

A inibição máxima (k_o/k_m) causada por SDS é da ordem de 100 vezes em todos os pHs estudados. O aumento

Figura 10. Efeito de SDS na reação de transferência de acila (S+N) em S-acetil- β -mercaptoetilamina. As linhas foram calculadas de acordo com a eq.7.

(■) pH 6,4; (□) pH 6,8; (●) pH 7,14; (○) pH 7,8.

Todos os tampões continham 0,02 M NaH_2PO_4 ajustado ao pH desejado com NaOH.

observado da velocidade com pH está de acordo com os efeitos de pH, já publicados, nesta reação (Barnett e Jencks, / 1969). O efeito de pH sobre k_m e K (Figura / 10 e Tabela 5) indica que a forma protonada de AMA se liga

melhor a SDS, fato este esperado para um sistema onde a ligação é, predominantemente, iônica.

Desde que o efeito de SDS na velocidade de transferência em OMA pode ser atribuído (como limite) a um simples efeito na constante de dissociação do amônio (veja adiante), efetuamos uma pesquisa restrita, por ressonância nuclear magnética (RNM), dos complexos OMA/SDS a fim de tentar distinguir outros efeitos que não envolvessem a ação do SDS no pK do grupo amônio terminal. Para este fim prepararam-se uma série de soluções aquosas de OMA contendo concentrações crescentes de SDS. Calculou-se que nestas condições (pH $5,0 \pm 0,2$; numa diluição de 1:100) as medidas de rmn poderiam ser efetuadas antes que ocorresse qualquer mudança significativa na concentração de OMA. A largura a meia altura do sinal da ponte metilênica aumenta (Tabela 6) para logo diminuir até alcançar um patamar onde o valor da largura observado é significativamente maior no complexo. / OMA/SDS que no OMA livre. Esta variação na largura das linhas concorda com a proposição, formulada anteriormente, que existiria um contínuo de complexos de OMA/SDS, em proporções molares variáveis. Uma investigação detalhada destes complexos foi dificultada pela baixa solubilidade dos mesmos nestas concentrações de OMA. Deve-se notar ainda, que o tripleto do $C_2(H_2)$ da cadeia do resíduo octanoila se alarga de tal forma que se torna de difícil resolução nas mais

TABELA 6. Alargamento do sinal de ressonância magnética nuclear de ^1H dos prótons da ponte metilênica de $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COS}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_3\text{Cl}$ (OMA) produzido por SDS^a.

OMA (M)	SDS (M)	Largura da linha (Hz)
0,025	-	1,6
"	0,125	2,6
"	0,188	2,0
"	0,250	2,0
"	0,375	2,0
"	0,500	2,0
0,050	-	1,7
"	0,220	5,6
"	0,325	3,6
"	0,375	3,6
"	0,300	4,0

(a) Veja Resultados e Parte Experimental para detalhes. A incerteza na determinação da largura da linha é 0,1 Hz.

baixas concentrações de SDS. Estes resultados constituem indicação de uma diminuição da liberdade conformacional do OMA quando este se incorpora num agregado contendo SDS.

4.3. Tiólise de NPA

Mostramos anteriormente que o CTAB tem um profundo efeito no espectro UV do íon tiofenóxido (Chaimovich e col., 1975). Estas mudanças espectrais foram usadas para calcular tanto as constantes de distribuição como os pK_{ap} dos tiofenóis nas fases aquosa e micelar. (veja Parte Experimental 3.2.3.2. e 3.2.4.). Os dados espectrais mais relevantes se apresentam na Tabela 7.

A Tabela 8 resume os resultados do efeito do CTAB sobre o pK_{ap} dos tiofenóis substituídos e as constantes de distribuição correspondentes entre as fases aquosa e micelar, tanto para as formas protonadas como para as não protonadas. De uma inspecção dos valores dos pK_{ap} é evidente que todos os tiofenóis estão completamente dissociados nas condições cinéticas ($pH > 7.8$), especialmente na presença de CTAB. Assim, as constantes de segunda ordem calculadas para a tiô-lise do NPA representam a reação entre os ânions tiofenóxido e o NPA.

A adição de CTAB produz um aumento de aproxi-madamente 50 vezes na velocidade de tiólise do NPA por tiofenóxido (Figuras 11 e 12, Tabela 9). Os produtos destas reações são, em todos os casos, p-nitrofenóxido e os acetatos de tiofenila correspondentes. Com base nos dados conhecidos sobre a velocidade de hidrólise de tioésteres (Jencks, 1969; Shin-

TABELA 7. Efeito do CTAB no espectro de tiofênis

Composto	R SH ^a $\lambda_{\max}$ E, M ⁻¹ cm ⁻¹		R S ^{-b} $\lambda_{\max}$ E, M ⁻¹ cm ⁻¹		RSH + CTAB ^c $\lambda_{\max}$ E, M ⁻¹ cm ⁻¹		RS ⁻ + CTAB ^d $\lambda_{\max}$ E, M ⁻¹ cm ⁻¹	
tiofenol	237,8	271	262,5	12600	238	252	275	9468
p- metoxitiofenol	239	753	262,5	14097	241	650	270	16632
p-clorotiofenol	245	1041	270	15143	247	1650	285	15500
p-metiltiofenol	238	511	265	12634	240	522	276	12426

λ em nm (a) Em HCl 0,01M; (b) Tampão borato 0,02M pH 8,5; (c) Em HCl 0,01M contendo 4×10^{-3} M CTAB; (d) Em tampão borato 0,02M pH 8,5 contendo 4×10^{-3} M CTAB.

TABELA 8. Constantes de distribuição de tiofenóis entre a água e CTAB e efeito de CTAB no pK aparente de tiofenóis.

Composto	$K_a(\text{SH})^a$ $\times 10^{-3}$	$K_a \times 10^{-3b}$	pK^c	pK_m^d
p-clorotiofenol	1	20 $\pm$ 5	6,5	5,3
tiofenol	1	4,7 $\pm$ 0,8	6,8	6,2
p-retiltiofenol	1	8,2 $\pm$ 0,5	7,1	6,3
p-metoxitiofenol	0,93	2,7 $\pm$ 0,4	7,0	6,6

(a) Calculado segundo Yatsimirski, Martinek e Berezin (1971);

(b) Calculado a partir da equação 6 ; (ver 3.2.4.)

(c) pK em água (veja Chuchani e Frohlich, 1971);

(d) $\text{pK}_{\text{aparente}}$ na presença de CTAB $4 \times 10^{-3}\text{M}$, calculado usando a equação 2 . (ver 3.2.3.2.)

Figura 11. Efeito de CTAB na tiólise de NPA (●) p-cloro_tiofenol em (2×10^{-2} M) tampão borato pH 8.5; (O) tiofenol em tampão borato ($4,5 \times 10^{-2}$ M) pH 7.8. As curvas foram calculadas usando a eq.9 (veja o texto). A concentração de NPA utilizada foi, em geral, 5×10^{-6} M e a dos tiofenóis 5×10^{-5} M.

Figura 12. Efeito de CTAB na tiólise de NPA: (○) p-metil tiofenol; (●) p-metoxitiofenol. As reações foram feitas em tampão borato ($2 \times 10^{-2} \text{ M}$) pH 8.5; as curvas foram / calculadas usando a eq. 9 (veja o texto). A concentra- ção de NPA foi geralmente $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ e a dos tiofenóis / $5 \times 10^{-5} \text{ M}$.

TABELA 9. Efeito de CTAB na tiólise de NPA por tiofenóxidos.

Composto	$k_{2w}, M^{-1}s^{-1}a$	$k_{2max}, M^{-1}s^{-1}b$	$k_{2M}, M^{-1}s^{-1}c$	$K_a M^{-1}d$
p-clorotiofenóxido	0,30	12,7	0,19	15000
tiofenóxido	0,36	25,0	0,39	3900
p-metiltiofenóxido	1,08	59,4	0,91	2300
p-metoxitiofenóxido	2,29	130	2,18	2300

- (a) Constante de segunda ordem na fase aquosa;
 (b) Constante de segunda ordem máxima observada na presença de CTAB (veja Figuras 11 e 12);
 (c) Valor calculado para a constante de segunda ordem na fase micelar (eq. 9 , veja o texto);
 (d) Valor de melhor ajuste para a constante de distribuição (eq. 9 , veja o texto).

kai e Kunitake, 1976; Connors e Bender, 1961; Noda, Kuby e Lardy, 1953) pode-se antecipar que os tioésteres resultantes devem ser estáveis sob nossas condições de reação. Evidências conclusivas dessa estabilidade foram obtidas demonstrando-se uma correspondência quantitativa entre o decréscimo da concentração de SH livre e a produção de p-nitrofenóxido, tan

to na ausência como na presença $4 \times 10^{-3} \text{ M}$ de CTAB e também a estabilidade do acetato de tiofenila sob todas as condições descritas neste trabalho.

As constantes de segunda ordem aumentam bruscamente a concentrações de CTAB maiores a $5 \times 10^{-4} \text{ M}$. Medidas condutimétricas independentes confirmaram que, sob nossas condições cinéticas, a CMC do CTAB é, de fato, diminuída de $9 \times 10^{-4} \text{ M}$ (Fendler e Fendler, 1975) para $5 \times 10^{-4} \text{ M}$.

O efeito do CTAB na velocidade de tiólise foi analisado quantitativamente utilizando-se um modelo de separação de fases (Berezin, Martinek e Yatsimirski, 1973) (eq. 9).

$$k_{2\Psi} = \frac{(k_{2m}/\bar{V}) K_a K_b C_D + k_2^O}{(1 + K_a C_D) (1 + K_b C_D)} \quad (9)$$

onde $k_{2\Psi}$ é a constante de segunda ordem observada, k_{2m} e k_2^O são as constantes de segunda ordem nas fases micelar e aquosa, respectivamente, e K_a e K_b são as constantes de distribuição de tiofenóxido e NPA, respectivamente.

A equação 9 se ajustou aos dados experimentais da seguinte forma: Tomando $K_b = 27 \text{ M}^{-1}$ (Martinek e col., 1975), $\text{CMC} = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ (vide acima) e $\bar{V} = 0,37 \text{ M}^{-1}$ (Martinek e col., 1975) e usando os dados experimentais para k_2^O (Tabela 9) os melhores valores para K_a e k_{2m} foram ajustados por iteração sucessiva. O valor inicial de K_a foi obtido a partir dos resultados apresentados na Tabela 8. Uma esti

mativa inicial de k_{2m} pode ser obtida examinando o aumento máximo de velocidade. Da equação 9 pode ser demonstrado que (Berezin, Martinek e Yatsimirski, 1973):

$$\frac{k_{2\max}}{k_2^0} = \frac{k_{2m}}{k_2^0 \bar{V}} \times \frac{K_a K_b}{(K_a^{1/2} + K_b^{1/2})^2} \quad (10)$$

onde $k_{2\max}$ é a constante de segunda ordem máxima obtida pela adição de detergente. Quando $K_a \gg K_b$ a equação 8 reduz a:

$$\lim_{K_a \gg K_b} \frac{k_{2\max}}{k_2^0} = \frac{k_{2m}}{k_2^0} \times \frac{K_b}{\bar{V}} \quad (11)$$

para $K_b = 27 \text{ M}^{-1}$ e $\bar{V} = 0,37 \text{ M}^{-1}$

$$\lim_{K_a \gg K_b} \frac{k_{2\max}}{k_2^0} = \frac{k_{2m}}{k_2^0} \times 77$$

o que prediz um aumento de velocidade de 77 se $k_{2m} \equiv k_2^0$. Desde que os aumentos de velocidade encontrados não são maiores que 50, um valor inicial de $k_{2m} = k_2^0$ é plenamente justificado. Os valores de k_{2m} e K_a com os quais a equação 9 se ajusta melhor aos dados experimentais são apresentados na Tabela 9. Deve-se notar que os valores de K_a assim obtidos são iguais aos determinados pelos dados de absorção dentro dos erros experimentais (comparar Tabela 8 com Tabela 9). As cons

tantes de segunda ordem nas fases micelar (k_{2m}) e aquosa (k_2^0) são essencialmente iguais (com exceção do p-clorotiofenóxido).

4.4. Sistemas micelares tamponados.

Temos empregado íons N-alquil-4-cianopiridínio como substrato para estudar o efeito de micelas na distribuição de produtos (Politi e col., 1978) e quantificar a ligação de OH^- a micelas de CTAB (Chaimovich et al., 1979). Estes estudos tem aproveitado o fato de que estes íons suprimem a emissão de sondas tais como $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ e que, por serem íons positivos, são excluídos de micelas de mesma / carga (Quina, 1977). Estes íons piridínicos sofrem hidrólise alcalina para fornecer o N-alquil-4-carbamidopiridínio (A) e a N-alquil-4-piridona (P) correspondente numa proporção (P/A) que depende do meio e do pH (Kosower e Patton, 1966; Politi e col., 1978). Deve-se notar ainda que os íons piridínicos mencionados são, por sua vez, completamente excluídos da fase micelar de CTAB quando o grupo alquila é metila (Quina, 1977; Chaimovich e col., 1979). Seria lógico / esperar, por analogia, que o N-metil-2-cianopiridínio (2-MCP) fosse também excluído da fase micelar. Esta exclusão foi demonstrada pelo fato de que as constantes de Stern-Volmer (K_{SV}) para a supressão da emissão do $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ por 4-MCP

($1040 \pm 20 \text{ M}^{-1}$) e 2-MCP ($870 \pm 10 \text{ M}^{-1}$) são independentes da concentração de CTAB (0-0,04 M), dentro de erro experimental na presença de 0,10M KBr.

Em contraste com os nossos resultados anteriores obtidos na ausência de tampão (Chaimovich e col., 1979), o CTAB não afeta a constante de velocidade observada ($k_{\psi}(\text{MCP})$) para a hidrólise alcalina de 4-MCP ou 2-MCP na presença de 0,02 M tampão borato (Figura 13). Por outro lado, nas mesmas condições, as constantes de velocidade observadas ($k_{\psi}(\text{NPO})$) para a hidrólise alcalina de NPO, um substrato que deveria / ser incorporado eficientemente na fase micelar, diminuem bruscamente com o aumento da concentração de CTAB acima de $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ (figura 13B). O valor da constante de associação de NPO, $K = 1.5 \times 10^4 \text{ M}$, foi calculada por extrapolação de dados de literatura obtidos para homólogos de cadeia mais curta; / (Gitler e Ochoa Solano, 1968; Yatsimirski, Martinek e Berezin, 1971). Finalmente, o perfil cinético para a hidrólise alcalina de NPA, um substrato que se particiona entre a fase aquosa e a fase micelar, mostra um máximo com uma diminuição gradual de k_{ψ} a concentração alta de CTAB (Figura 14). Deve-se notar que hidrólise alcalina de NPA na presença de detergentes é, possivelmente, um dos sistemas mais estudados no campo da catálise micelar (Romsted e Cordes, 1968; Behme e col., 1965; Meyer, 1972; Chevion, Katzhendler e Sarel, 1972). Po

Figura 13. Efeito do CTAB na constante de velocidade observada para a hidrólise alcalina na presença de tampão borato 0,020M.

A. 2-MCP a pH 9,50 (●) e

4-MCP a pH 9,80 (○)

B. NPO a pH 9.50 (○) e a pH 9,80 (●). Os dados obtidos a CTAB baixo são mostrados em escala / expandida. As curvas foram calculadas (Veja texto)

Figura 14. Efeito do CTAB na constante de velocidade observada para a hidrôlise alcalina de NPA a pH 9.50, tampão borato 0,020M. A curva é calculada segundo a descrição do texto.

rém, apesar da popularidade deste sistema, a análise quantitativa somente começou a ser feita recentemente (Funasaki, 1979, Chaimovich, 1979).

4.5. Análise de micelas usando sondas de spin.

A. Análise espectral

Vários fatores determinam a forma e a largura das bandas observadas em $e s r$ (a) o(s) tempo(s) de correlação rotacional (anisotrópico) da sonda de spin; (b) o tempo de correlação rotacional do agregado; (c) o grau de ordem da sonda no agregado; (d) desdobramentos hiperfinos não resolvidos devidos aos prótons e (e) interações spin-spin intermoleculares. Uma análise computacional sofisticada poderia, eventualmente, avaliar a contribuição de cada um destes fatores nos espectros observados. Desde que os sistemas com os quais temos trabalhado são complexos e não estão completamente definidos e já que informações relevantes sobre propriedades estruturais e dinâmicas podem ser obtidas através de uma análise espectral mais simples, o formalismo de estreitamento rotacional foi utilizado em toda a análise espectral. A rigor este formalismo só pode ser aplicado a moléculas esféricas. Entretanto, os espectros obtidos, sobretudo no caso de micelas e sondas relatiu

vamente solúveis, mostram que as sondas estão se movendo em forma rápida e quase isotrópica. Assim, os resultados foram analisados utilizando-se as expressões propostas por Cannon e col. (1975) para calcular os tempos de correlação.

$$\tau_1 = 6,5 \times 10^{-10} w_o \left[\left(\frac{h_o}{h_{-1}} \right)^{1/2} + \left(\frac{h_o}{h_{+1}} \right)^{1/2} - 2 \right] s \quad (12)$$

$$\tau_2 = 5,9 \times 10^{-10} w_o \left[\left(\frac{h_o}{h_{-1}} \right)^{1/2} - \left(\frac{h_o}{h_{+1}} \right)^{1/2} \right] s \quad (13)$$

onde τ_1 (τ_2) é o tempo de correlação, w_o é a largura da banda central e h_o , h_{-1} , h_{+1} são as alturas das linhas central, campo baixo e campo alto respectivamente.

B. A concentração micelar crítica e o efeito de substrato na estrutura da micela: interação entre o tiofenóxido e o CTAB.

A figura 15 mostra o espectro de uma sonda de spin anfifílica em tampão (a) e em CTAB em concentração abaixo (b) e acima (c) da CMC ($9,2 \times 10^{-4} M$ a $25^\circ C$, Fendler e Fendler, 1975). As restrições impostas ao movimento da sonda pela incorporação à estrutura micelar são bem evidentes. Parte desta restrição pode ser devida a uma interação eletrostática entre a sonda e a superfície carregada positivamente. Abaixo da CMC dever-se-ia esperar somente o espectro da sonda em

Figura 15. Espectro de e s r do 5-SASL.
(a) em tampão; (b) em 6×10^{-4} M CTAB e
(c) em 5.73×10^{-3} M CTAB.

água, mas pelo contrário, observa-se um maior grau de imobilização quando comparado com o espectro da mesma sonda em micelas. Este ponto será discutido mais adiante.

Quando a sonda utilizada é o 5-MeSL (o metil éster da sonda anterior) os espectros são similares, mas duas diferenças significativas podem ser apontadas: (1) a sonda não é suficientemente solúvel em água para apresentar um espectro nas nossas condições; (2) o tempo de correlação calculado em detergente é significativamente menor. A Figura 16 mostra a variação dos valores de τ_1 em função da concentração de CTAB para 5-SASL e 5-MeSL. O tempo de correlação rotacional (τ_1) aumenta discretamente acima da CMC, enquanto que na CMC, se observa uma variação brusca do τ_1 , especialmente quando a sonda utilizada é 5-SASL. A possibilidade de relacionar o comportamento espectral da sonda e uma propriedade física do detergente é, então, clara e, a partir destes dados, calculamos: uma CMC do CTAB de $8,75 \pm 0,25 \times 10^{-4} \text{ M}$, em excelente concordância com os dados da literatura (Fendler e Fendler, 1975).

A adição do íon tiofenóxido a micelas de CTAB foi examinada sob duas condições experimentais: (1) variando-se a concentração de detergente e mantendo-se a concentração de tiofenóxido constante (1×10^{-4}), (2) mantendo-se o detergente constante ($3 \times 10^{-3} \text{ M}$) e variando-se a concentração de tiofenóxido. O primeiro tipo de experimentos permi -

Figura 16. τ_1 para 5-SASL (O) e 5-MeSL (●) em função da concentração de CTAB.

tiu observar uma diminuição da CMC (até $5 \times 10^{-4} \text{ M}$) e um valor médio de τ_1 de $2,3 \pm 0,04 \times 10^{-9} \text{ s}$ na ausência e $2,052 \pm 0,03 \times 10^{-9} \text{ s}$ na presença de tiofenóxido, sempre acima da CMC do CTAB. O segundo protocolo mostrou que a adição de tiofenóxido causa um decréscimo no valor de τ_1 que atinge um mínimo ($1,7 \times 10^{-9} \text{ s}$) quando a relação CTAB/tiofenóxido é de 6 ± 1 . Aumentando-se a concentração de tiofenóxido o τ_1 au-

menta, chegando a um patamar onde o valor de τ_1 é $2,5 \times 10^{-9}$ s. Observou-se também que, quando a sonda usada é 5-MeSL, o desdobramento hiperfino do espectro da sonda diminui em função do aumento da concentração de tiofenóxido de 14,56 até 14,04 G, (6×10^{-3} M tiofenóxido) indicando / que a sonda está inserida numa região de menor polaridade em alta concentração do tiofenóxido.

C. Agregação de detergentes abaixo da concentração micelar crítica,

A figura 17 mostra o espectro que resulta / da incorporação de 5-SASL em várias concentrações de SDS. Apesar da solubilidade mensurável do 5-SASL em água (Figura 17a) não se observa nenhum componente do tipo "fase aquosa" no espectro desta sonda em SDS acima da CMC (Figura / 17c). Abaixo da CMC, porém, dois componentes são claramente distinguíveis (Figura 17b e 17d). O valor publicado para a CMC do SDS ($7,6 - 8,6 \times 10^{-3}$ M, Williams, Phillips e Mysels, 1955) coincide com o valor por nós determinado/ usando o método de e s r ($8,5 - 9,0 \times 10^{-3}$ M). É claro, por outro lado, que abaixo da CMC podem se distinguir claramente dois tipos de sinal (Figura 17b). Experimentos de controle realizados extraíndo-se a sonda com soluções de SDS ou diluindo-se soluções que contêm sonda e detergen-

Figura 17. Espectro de e s r de 5-SASL em várias concentrações de SDS: (a) 0; (b) $5 \times 10^{-3} \text{M}$; (c) 10^{-2}M e (d) $4 \times 10^{-3} \text{M}$.

te (figura 17d) mostram que os sinais observados abaixo da CMC do SDS não representam um artefato de diluição. Experimentos semelhantes com outra sonda solúvel (ASL) mostraram resultados análogos apesar da diferença estrutural entre / ASL e SASL.

Os resultados obtidos ao se utilizar sondas insolúveis em água (5-MeSL e CSL) são algo diferentes. Al

gumas características espectrais são apresentadas na Figura 18 para 5-MeSL. O espectro de 5-MeSL em SDS acima da CMC / mostra que o movimento desta sonda é menos restrito que o obtido para 5-SASL nas mesmas condições (Figura 18c). Estes resultados são apresentados na Tabela 10.

Figura 18. Espectro de e s r de 5-MeSL em várias concentrações de SDS (a) 0; (b) $6 \times 10^{-3} \text{ M}$; (c) 1.10^{-2} M e (d) $5 \times 10^{-3} \text{ M}$.

TABELA 10. Tempos de correlação calculados usando as equações 12 e 13 e desdobramentos hiperfinos isotrópicos para as sondas 5-SASL e 5-MeSL em solventes orgânicos e micelas de SDS e CTAB.

Sonda	Parâmetros espectrais	SOLVENTE			
		clorofórmio	Éter de petróleo	SDS ($2,0 \times 10^{-2}$ M)	CTAB (2×10^{-3} M)
5-SASL ^a	τ_1 (seg $\times 10^{11}$)	7,8	10,6	73,0	201
	τ_2 (seg $\times 10^{11}$)	7,0	9,1	54,6	117
	$\Delta\tau$ (seg $\times 10^{11}$)	0,8	1,5	18,5	84,4
	a_n (G)	14,3	14,0	14,75	14,50
5-MeSL	τ_1 (seg $\times 10^{11}$)	5,6	6,8	51,8	101
	τ_2 (seg $\times 10^{11}$)	6,2	5,3	39,6	73
	$\Delta\tau$ (seg $\times 10^{11}$)	0,3	1,5	12,2	28
	a_n (G)	14,13	13,8	14,7	14,4

(a) O a_n para esta sonda em água é 15,2 G.

Os espectros das sondas insolúveis em água / (Figura 18a) não apresentam dois componentes quando os espectros são obtidos abaixo da CMC do detergente (comparar 18b e e d com 17 b e d) . As linhas aparecem alargadas devido, se

guramente, a interação spin-spin (Figura 18b e d). Desde que a relação detergente/sonda é idêntica acima e abaixo da CMC, devemos concluir que abaixo da CMC, toda a sonda está contida em agregados de detergente onde a fração de detergente é menor que aquela existente acima da CMC. Existe, portanto, um aumento líquido da relação sonda/detergente nos agregados o que dá origem à interação intermolecular observada. Um experimento controle foi realizado solubilizando-se um filme de sonda com uma solução de SDS abaixo da CMC. O espectro resultante (Figura 18d) é idêntico ao observado quando a solução contendo sonda e SDS é diluída até uma concentração semelhante de SDS (Figura 18b).

D. Distribuição de solutos insolúveis em agregados de detergente.

O sistema aqui utilizado consiste em CTAB e CSL em água. O espectro de e s r de CSL em $1 \times 10^{-2} M$ CTAB após sonicação (solução S250 Parte Experimental 3.2.5.) consiste de uma única linha alargada por troca (Figura 19a). A forma deste espectro muda quando o tempo de sonicação aumenta ou quando a solução é mantida a $50^{\circ}C$ (Fig. 19b).

Quando um filme de CSL é sonicado em água o espectro obtido na "solução" resultante é similar ao mostrado (Fig. 19a). porém de menor intensidade. A forma do espec-

Figura 19. Espectro de e s r de CSL. (a) $6,7 \times 10^{-5}$ M CSL em 10^{-2} M CTAB após 250 seg de sonicação; (b) 2×10^{-5} M CSL em 10^{-2} M CTAB após filtração por $2200\text{\AA}$ e mantido a 50°C por 30 min.

tro não muda com o aumento do tempo de sonicação, desaparece quando a solução é filtrada ($2200\text{\AA}$) e diminui de intensidade com o tempo. Estes resultados sugerem que a sonicação de CSL em água produz uma dispersão de CSL que, como seria de se esperar, é retirada por filtração e sedimenta lentamente causando uma perda do sinal de e s r

A sonicação de CSL com CTAB abaixo da CMC ($1 \times 10^{-4} \text{M}$) produz um espectro similar em forma e intensidade àquele mostrado (Figura 19a). Contudo, neste caso, o espectro não muda, em forma ou intensidade, com o tempo e a espécie que produz o espectro de ^1H é completamente retida por filtração ($2200 \text{ \AA}$).

O espectro de CSL em CTAB 10^{-2}M obtido após sonicação e filtração (Millipore, $2200 \text{ \AA}$) (solução S500 / Parte Experimental 3.2.5.) apresenta mais de um componente (linha cheia da Figura 20). Um dos componentes é uma linha alargada, não resolvida, característica de um agregado onde existe um alto grau de interação spin-spin. Sob as condições usadas (CSL: CTAB = 0,01) e tomando-se 100 como limite superior do número de agregação de CTAB (Fendler e Fendler, 1975), o número médio de ocupação seria 1 CSL por micela. Tal distribuição não deveria resultar num espectro / como o observado e pode-se concluir, portanto, que o CSL não se distribui rapidamente na fase micelar do CTAB.

Os resultados apresentados acima, tomados / em conjunto, indicam que este sistema poderia gerar informações úteis sobre o mecanismo de solubilização por detergentes. Este problema foi focalizado em duas formas diferentes: utilizando-se filtração e acompanhando-se a cinética de redistribuição do CSL em CTAB.

Quando a solução S500 (que contém CSL em CTAB

Figura 20. Espectro de e s r de CSL após filtração por Millipore de diversos tamanhos de poro (—) CSL em CTAB ($10^{-2}M$) após sonicação e filtração por 2200 Å; (-----) solução acima após filtração por 1000 Å; (-.-.-.-), solução acima após filtração por 250 Å.

$10^{-2}M$) é filtrada em Millipore de tamanho de poro decrescente o componente que mostra um espectro alargado (por interação spin-spin) é perdido gradualmente e se obtém, finalmente, o espectro esperado para CSL monomérico em micelas de CTAB /

(Figura 20). O valor da relação CSL: CTAB existente nos agregados retidos nos filtros foi determinado medindo-se diretamente a quantidade de CTAB retida nos filtros e estimando-se a concentração de CSL por diferença. Estes experimentos permitem descrever, aproximadamente, as classes de agregados inicialmente presentes na solução S500. Na Tabela 11 pode-se observar que o conjunto dos agregados retidos por filtração

TABELA 11. Fração de sonda em diferentes agregados CTAB-CSL

Amostra	CTAB M	CSL M	CTAB/CSL	% CSL
Solução S500	10^{-2}	2×10^{-5}	500	(100)
Retido por filtro de 2200 Å	-	-	3	60
Retido por filtro de 1000 Å	-	-	100	10
Filtrado	10^{-2}	6×10^{-6}	1700	30

em 2200 Å contém 60% da concentração inicial de CSL e apresentam uma relação CTAB: CSL relativamente baixa. Uma percentagem baixa do CSL é contida inicialmente em agregados que são retidos por filtros de 1000 Å. A solução remanescente contém quase a totalidade de CTAB presente na solução inicial e 30% do CSL. A relação CTAB/CSL nesta população é bem maior que a inicial.

O espectro mostrado com linha cheia na Figura 21 corresponde à solução S500 após filtração por um Millipore de 2200 Å. Este espectro pode ser reproduzido pela adição de espectros característicos das situações inicial e final / no processo de redistribuição (Figura 21.). Note que os valo

Figura 21. Espectro de e s r da solução S 250 (---) (veja Parte Experimental 3,2.5 e texto); e após incubação por 48 hs a 50°C (-.-.-). A linha cheia corresponde ao espectro da solução S500 (veja Parte Experimental 3.2.5. e texto) após filtração por 2200 Å, o mesmo espectro pode ser obtido somando os dois primeiros (27:1).

res de g nos espectros são significativamente diferentes. A cinética de redistribuição do CSL em CTAB foi estudada em função do tempo e da temperatura (Tabela 12). A situação final mostrada pelos espectros de e s r é aquela correspondente à esperada para CSL distribuído uniformemente em micelas de CTAB (Figura 22).

TABELA 12. Meia vida aparente $t_{1/2}$ para a redistribuição de CSL em micelas de CTAB.

CSL (M x 10 ⁶)	CTAB (M x 10 ²)	AMOSTRA	t° (°C)	t _{1/2} (hr)
8	1	Filtrada por 1000Å	50	7,8
5,6	1	Filtrada por 2200Å	50	8,7
6	1	Filtrada por 2200Å	50	7,8
6	0,2	Filtrada por 2200Å	50	7,8
6	1	Filtrada por 2200Å	25	90

Figura 22. Espectros de e s r do CSL após filtração da solução S250 por 2200 Å e incubação a 50° por tempos diferentes. Os tempos de incubação e a sensibilidade usada para registrar o espectro são: (a) 0 min., 2×10^4 ; (b) 60 min., 2×10^4 ; (c) 120 min., $1,25 \times 10^4$; (d) 240 min., 1×10^4 e (e) 480 min., $3,2 \times 10^3$.

"Agora estamos novamente no limite de nosso bom senso, exatamente onde os seres humanos perdem a razão".

Goethe

5. DISCUSSÃO

5.1. Reações do DNFB em micelas

Aumentos de velocidade relativos produzidos por CTAB. Em geral é difícil medir a constante de velocidade de segunda ordem da reação bimolecular que ocorre na superfície micelar pois, embora seja fácil incorporar todo o substrato não-iônico, é bem mais difícil estimar o grau de partição do reagente hidrofílico iônico entre as fases aquosa e micelar (Bunton e Wolfe, 1973) (Porém, ver Quina e Chaimovich, 1979). Os aumentos de velocidade relativos produzidos por CTAB micelizado para várias reações de DNFB com nucleófilos iônicos são apresentados na Tabela 13. Estes valores foram calculadas no máximo das curvas que relacionam k_{ψ} com CTAB. A catálise micelar aumenta de forma significativa e a concentração de detergente no máximo de catálise decresce à medida que o nucleófilo é mais hidrofóbico. Este efeito já fora descrito em outros sistemas catalizados por micelas (Berezin, Martinek e Yatsimirski, 1973; Gitler e Ochoa-Solano, 1968; Bunton, Robinson e Sepúlveda,

TABELA 13. "Catálise" por CTAB de reações de ataque nucleofílico à DNFB^a.

Nucleófilo	k _{rel}
OH^-	58 ^b
$\text{H}_2\text{N CH}_2\text{CO}_2^-$	30 ^b
Anilina	8 ^b
Fenóxido	230
Tiofenóxido	1100

(a) A 25°C relativo à reação em água; (b) Bunton e Robinson (1969, 1970).

1969). Estas diferenças poderiam ter duas causas: (1) A incorporação dos nucleófilos hidrofóbicos, como fenóxido e tiofenóxido, na fase micelar seria maior e, (2) ao mesmo tempo, estes penetrariam mais profundamente na camada de Stern, que constitui o sítio de reação. Os compostos aromáticos, em especial aqueles que possuem substituintes que doam elétrons, interagem fortemente com micelas.

Reação com o íon tiofenóxido. As reações bimoleculares modificadas por micelas exibem, em geral, um máximo definido com o aumento da concentração de detergente.

Estes máximos tem sido racionalizados em termos de efeitos salinos negativos causados pelo contração do detergente (Cordes e Gitler, 1973) e a partição do reagente iônico entre a água e a fase micelar (Bunton e Robinson, 1968). Este último, que é na verdade um efeito de diluição, tem sido aplicado quantitativamente para analisar entre outras reações a hidrólise de acetais catalizada por SDS (Bunton e Wolfe, 1973).

A reação de DNFB com tiofenóxido é uma exceção a norma. Aplicando-se o tratamento de diluição ao máximo de velocidade, assumiu-se que um reagente não afetaria a incorporação do outro na micela. A observação de um patamar na reação do tiofenóxido sugere que um reagente pode afetar a interação do outro com a micela, embora isso não aconteça aparentemente com o fenóxido. Se o tiofenóxido e o DNFB formam um complexo na micela, o perfil do gráfico k_{ψ}/CTAB poderia apresentar um patamar como o observado para as reações unimoleculares catalizadas por micelas (Bunton e col., 1967; Bunton e col., 1973; Bunton, Kamego e Minch, 1972). Alternativamente poder-se-ia assumir que um reagente altera a estrutura da micela de modo que a nova fase micelar incorpore o segundo substrato mais facilmente. A forte interação entre o tiofenóxido e o CTAB fazem esta hipótese atraente, e é apoiada pela observação de um espectro diferencial entre o m-dinitrobenzeno e o tiofenóxido na presença de CTAB. A análise quantitativa, rigorosa, destes dados não foi realizada

até agora. Apresentamos, neste trabalho, um início de análise que, usando o formalismo da teoria de troca iônica em soluções micelares (Quina e Chaimovich, 1979, Chaimovich, 1979), oferece uma primeira interpretação do efeito de micelas na reação do tiofenol com DNFB.

Mostramos, recentemente (Quina e Chaimovich, 1979) que a expressão apropriada para a constante de velocidade observada (k_ψ) de uma reação entre um substrato não carregado, como DNFB, e um nucleófilo cuja carga é oposta à da micela, como o tiofenóxido, numa solução micelar de CTAB é

$$k_\psi = \frac{x_T \left[\frac{k_{2m}}{\bar{V}} K_S K_{X/Br} \frac{Br_b}{Br_f} + k_2^o \right]}{(1 + K_S C_D) \left(1 + K_{X/Br} \frac{Br_b}{Br_f} \right)} \quad (14)$$

Nesta equação K_S é a constante de distribuição do substrato neutro. O valor mais utilizado de K_S para DNFB é 27 M^{-1} (Yatimirski e col., 1975). Por analogia com outros derivados / como os nitroanisois ($K \approx 100 \text{ M}^{-1}$) (Bonilha e col., 1979) e considerando outros valores publicados para a constante de incorporação de DNFB (Fendler e Fendler, 1975) é difícil acreditar que 27 M^{-1} seja o valor correto de K_S para DNFB.

x_T é a concentração total de tiofenol adicionado, k_{2m} e k_2^o ($260 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) são as constantes de segunda ordem nas fases micelar e aquosa, respectivamente. $\bar{V}$ é o volu

me de reação por mol de detergente micelizado (0,37 L/mol para CTAB, veja 4.4). $K_{X/Br}$ é o coeficiente de seletividade para troca tiofenóxido/brometo na superfície da micela. Este valor foi calculado a partir da constante de distribuição do tiofenóxido, $K_X (= 3900 \text{ M}^{-1}$, Cuccovia e col., 1978) já que se pode demonstrar (Quina e Chaimovich, 1979) que estas constantes estão relacionados por: (ver Chaimovich, 1979 para uma análise da diferença entre os dois parâmetros).

$$K_X \approx K_{X/Br} \frac{(1-\alpha)}{Br_f} \quad (15)$$

onde α é o grau de ionização da micela ($= 0,2 \pm 0,05$, Romsted, 1975; Funasaki, 1978; Smith, 1979) e Br_f é a concentração analítica de brometo livre. O valor utilizado no cálculo foi $K_{X/Br} = 15$.

Na presença de um sal não comum, neste caso a espécie $B(OH)_4^-$ derivada do tampão, que interage com a fase micelar (veja 4.4 e 5.4), as expressões apropriadas / para as concentrações analíticas de borato total (B_T), borato ligado (B_b), brometo ligado (Br_b), B_f e tiofenóxido ligado (X_b) são: (Quina e Chaimovich, 1979)

$$B_T = B_b + B_f$$

$$B_b = \frac{X_b B_T}{K_{X/B} X_T + X_b (1 - K_{X/B})} \quad (16)$$

$$\text{Br}_f = \alpha C_D + \text{CMC} + X_b + Z_b \quad (17)$$

$$\text{Br}_b = (1 - \alpha) C_D - X_b - Z_b \quad (18)$$

$$\begin{aligned} X_b^3 (1 - K_{X/B}) (1 - K_{X/B}) + X_b^2 | A_1 (1 - K_{X/B}) + (1 - K_{X/Br}) \\ (X_T K_{X/B} + B_T) | + X_b X_T | K_{X/Br} (B_T - (1 - \alpha) C_D (1 - K_{X/B}) \\ + K_{X/B} A_1 | - K_{X/Br} (1 - \alpha) C_D K_{X/B} X_T^2 = 0 \end{aligned} \quad (19)$$

onde

$$A_1 = \alpha C_D + \text{CMC} + K_{X/Br} X_T + (1 - \alpha) C_D K_{X/Br} \quad (20)$$

Nesta equação usamos o coeficiente de seletividade para a troca tiofenóxido/borato definido como

$$K_{X/B} = \frac{X_b B_f}{X_f B_b} \quad (21)$$

que pode ser relacionado com os coeficientes correspondentes para a troca tiofenóxido/brometo e borato/brometo por

$$K_{X/B} = K_{X/Br} / K_{B/Br} = 400 \quad (\text{veja 4.4 e 5.4})$$

Utilizando as equações 14 e 16-19 foram obtidas as curvas /

mostradas na Figura 23, Pode-se observar que utilizando-se

Figura 23. Cálculo do efeito de CTAB na reação de tiofenóxido com DNFB (veja o texto) (Δ) pontos / experimentais; Parâmetros utilizados $CMC = 5 \times 10^{-4}$ M; $K_{X/B} = 15$; $\alpha = 0,2$; $k_2^O = 260 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; $\bar{V} = 0,37 \text{ M}^{-1}$; (—) $K_S = 27 \text{ M}^{-1}$, $k_{2m} = 4420$, $B_T = 0,01 \text{ M}$; (---) $K_S = 100 \text{ M}^{-1}$; $k_{2m} = 1.300$; $B_T = 0,01 \text{ M}$.

o conjunto de parâmetros mais adequados (curva) a forma da curva prediz uma diminuição de velocidade bem mais actuada que a observada. Deve-se notar ainda que em nenhum / dos casos simulados k_o se aproxima de k_{2m} sugerindo que, neste caso, a micela de CTAB aumenta a reatividade intrínseca do tiofenóxido.

É possível que, de fato, a formação de um complexo entre os substratos (na fase micelar) seja a melhor racionalização deste efeito (veja o espectro diferencial no modelo, Parte Experimental 3.2.7.) Somente com uma análise quantitativa rigorosa poderá se afirmar se neste sistema existe uma mudança real da reatividade causada pela interface de fase micelar do CTAB.

5.2. Reações de S-acil- β -mercaptoetilaminas

A "catálise" micelar provém, frequentemente, da concentração dos reagentes na fase micelar; este efeito obviamente não existe em reações mono- e intramoleculares. Se a reação não catalizada é muito sensível a mudanças no solvente ou à adição de eletrólitos, as modificações na velocidade causadas por micelas vão refletir, diretamente, a incorporação de substrato num meio diferente da água. Assim, as modificações na velocidade são dificilmente interpretáveis em termos de efeitos específicos das micelas na reatidada

de do substrato,

A fonte mais provável do efeito inibitório do SDS na reação de transferência intramolecular de acila de S para N em β -mercaptoetilaminas seria uma mudança de pK do grupo amônio terminal causada pela interação eletrostática com a superfície negativa da micela. No caso de substratos de cadeia longa, uma diminuição da sua flexibilidade, causada tanto pela contribuição superficial como hidrofóbica, poderia conduzir a uma estabilidade adicional do estado inicial e, assim, a um aumento da inibição causada pela micela negativamente carregada.

A explicação mais simples para a diminuição de velocidade causada pelo SDS na reação do AMA é um aumento do pK do amônio terminal. De fato a inibição de 100 vezes observada para o AMA pode ser explicada por um aumento de pK por duas unidades. Deslocamentos de pK desta magnitude tem sido observadas numa série de reações modificadas / por micelas (Bunton, 1973; Cordes, 1973; Fendler e Fendler, 1975). Se este efeito fosse a única fonte de inibição, a velocidade de reação da forma desprotonada não seria afetada na camada de Stern da micela. Por sua vez, isto sugeriria pouca penetração do substrato na fase micelar e estaria de acordo com a pequena estabilização hidrofóbica esperada para um único grupo CH_3 e o valor da constante de distribuição do AMA em SDS. Desde que o pK do grupo amônio é

9,1 (Martin e Hedrick, 1962) o pK aparente em micelas de SDS deve ser da ordem de 11.

A relações altas SDS/OMA, onde o efeito inibitório pode ser analisado quantitativamente, a velocidade em micelas é menor que a velocidade em água por um fator de $1,7 \times 10^3$. Uma mudança de pK, como única fonte de inibição é improvável. Embora o efeito de SDS no pK de amins alifáticas não tenha sido descrito, o deslocamento do H_o em amins primárias, secundárias e terciárias é, no máximo 1,25 unidades (Bunton e Robinson, 1970). Além disto, a diminuição de pK de dodecilamônio após micelização (que pode ser considerado o efeito reverso da incorporação do íon alquilamônio numa micela negativa) não é maior que 1,4 unidades de pH (Menger e Lynn, 1975). Estas considerações e o efeito de SDS na reação de AMA permitem colocar um limite de duas unidades de pH no deslocamento do pK do OMA produzido por SDS. Mesmo se considerando o efeito de SDS no pK existe um fator de, pelo menos 20 vezes, não explicado na inibição.

Este último fator pode ser facilmente explicado assumindo-se uma diminuição de flexibilidade do substrato. Os experimentos de rmn mostram que o sinal observado para os prótons da ponte metilênica do OMA é alargada por SDS. Desde que não se observa desdobramento do sinal em nossas condições, os dados sugerem fortemente que o alargamento se deve a uma diminuição da liberdade conformacional deste segmento do

substrato.

Os solutos possuem uma mobilidade considerável na fase micelar (Fendler e Fendler, 1975; Ohnishi, Cyr e Fukushima, 1970; Nakagawa e Jizimoto, 1972). e a liberdade de movimento ao longo da cadeia do detergente é restrita de forma apenas moderada; contudo, a restrição máxima da liberdade de movimento tem sido observada perto do segmento polar da cadeia do detergente (Williams e col., 1973), e o tipo de movimento do substrato pode ser restrito de acordo com sua relação estrutural com a superfície da micela (Shinitzky e col., 1971). Um bom exemplo desta relação entre a estrutura do substrato e a natureza do detergente é o aumento da população de um dos isômeros de N-octanoato de sarcosina (Takahashi e col., 1976), demonstrando que interações favoráveis podem estabilizar significativamente / uma conformação particular do substrato na interface.

Desde que as constantes de distribuição (água/micela) de substratos hidrofóbicos são elevados, poder-se-ia esperar que o OMA protonado interagisse favoravelmente com SDS. De fato o alto valor de K ($8,2 \times 10^4$) para OMA em SDS e o coeficiente 250 vezes menor para AMA no mesmo detergente sugerem que a associação possui componentes hidrofóbicos bem como eletrostáticos. As interações hidrofílicas e/ou eletrostáticas facilitarão a inserção da amina na camada de Stern. A(s) contribuição hidrofóbica, por ou

tro lado, favorecerá a inserção da cadeia do resíduo acila no interior da micela. Estas interações, em conjunto, favorecerão a conformação alongada do substrato (Forma 1, esquema 2). O movimento molecular de OMA em SDS será, portanto, anisotrópico, desde que a conversão na forma 2, (esquema 2) necessária para o ataque, será altamente improvável devido em parte, à exposição da ponte metilênica ao solvente. Anisotropia rotacional de uma sonda de spin incorporada em micelas com carga positiva foi descrita recentemente

ESQUEMA 2

(Ernandes, Schreier e Chaimovich, 1976). Em outro sistema / inibido por SDS, propôs-se que o arranjo iônico do substrato positivo na micela negativa era necessariamente compacto a fim de explicar a estereoseletividade da reação (Sukernik, Weissman e Bergman, 1975).

A velocidade da reação de transferência intramolecular de acila de S para N em OMA aumenta quase cinco / vezes na presença de CTAB. A explicação mais simples deste (pequeno) efeito seria uma diminuição do pK do grupo amônio terminal aumentando assim a concentração da forma reativa. Num sistema relacionado, foi demonstrado que a micelização do cloreto de dimetildodecilamônio produz um aumento da velocidade de troca de prótons e uma diminuição do pK de 1,4 unidades de pH (Menger e Lynn, 1975). Tomando-se este último sistema como referência esperar-se-ia um aumento de velocidade de 30 vezes no sistema OMA/CTAB. A aceleração obtida é significativamente menor indicando a possível existência de um efeito misto (ativação-inibição) de CTAB neste sistema.

A estabilização preferencial de uma das formas do substrato foi, indiretamente, mostrada de maneira / extremamente elegante por Moss, Lee e Lukas (1979). Estes autores mostraram que uma micela funcional, sem atividade óptica, pode reagir de forma estereoseletiva com LL e DL-N-carbobenzylloxialanilprolina-p-nitrofeniléster. Embora não

tenha sido feita uma análise quantitativa da velocidade da reação e explicação mais provável desta estereoseletividade é a maior afinidade da forma LL pela micela funcional. Desde que, como os mesmos autores sugerem, a forma estendida da LL pode-se encaixar melhor na micela, o modelo proposto para a inibição da reação de S-acil- β -mercaptoetilaminas deve ser bastante geral.

5.3. Tiólise de NPA

A interpretação do efeito de micelas em reações entre nucleófilos hidrofóbicos e substratos incorporados em micelas foi grandemente facilitado pela análise de vida ao grupo de Berezin (Berezin, Martinek e Yatsimirski, 1973; Martinek e col., 1977) no qual se leva em conta, explicitamente, a concentração dos substratos na fase micelar. Pode ser demonstrado (Quina, 1977) que este tratamento se aplica rigorosamente (isto é, as micelas podem ser consideradas como uma pseudofase separada) quando a concentração dos substratos não é suficiente para saturar a fase e os substratos se particionam de forma independente.

A análise do efeito de CTAB na tiólise de NPA demonstra, inequivocamente, que o aumento de velocidade pode ser atribuído, exclusivamente, à concentração dos substratos na fase micelar. As constantes de segunda ordem

calculadas para tiólise de NPA por tiofenóxido, p-metiltiofenóxido e p-metoxitiofenóxido na fase micelar são idênticas, dentro do erro experimental, às constantes de velocidade de segunda ordem medidas na ausência de CTAB. A constante de segunda ordem calculada para p-clorotiofenóxido é menor ainda na fase micelar que na fase aquosa. Contudo, a té neste último caso observa-se um aumento de velocidade / já que a diminuição de reatividade é compensada pela con -centração de NPA e p-clorotiofenóxido na fase micelar.

As constantes de distribuição para os ânions derivados de tiofenol aumentam na ordem

Por outro lado as constantes de distribuição dos tiofenóis não dissociados são menores que as dos ânions correspondentes e tem um valor constante de aproximadamente $1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$. A diferença entre as constantes de distribuição das formas protonada e aniônica indicam que a associação dos tiofenóxidos com a micela possui um componente eletrostático importante. Outrossim, a associação dos tiofenóxidos com CTAB mostra uma dependência do substituinte na posição para; e feitos de substituinte análogos tem sido observados em outros estudos sobre incorporação de derivados aromáticos / carregados negativamente em CTAB (Larsen e Tepley, 1976 ; Lapinte e Viout, 1972).

Associado com o efeito de substituintes em K_a , a micela de CTAB exerce um efeito correspondente nos pK 's dos tiofenóis na ordem:

Visto que a micela não produz uma alteração significativa na reatividade dos tiofenóxidos, esta mudança de pK pode ser atribuída a um aumento da solubilização dos tiofenóxiidos na fase micelar.

Os dados apresentados sugerem que a falta/ de efeitos micelares na constante de segunda ordem está relacionada com a posição dos tiofenóxidos na micela de CTAB. A ordem da magnitude das constantes de associação dos tiofenóis e tiofenóxidos sugere que a interação principal / do(s) tiofenóxido(s) com a micela é aquela entre o anel aromático e o grupo tetraalquilamônio do detergente (Fendler e Fendler, 1975). Esta interação restringiria o meio ambiente do enxofre negativamente carregado à camada de Stern. Este meio (aquoso) e o fato de que o ataque nucleofílico não é, provavelmente, a etapa limitante da velocidade neste caso (Hupe e Jencks, 1977) tenderiam a minimizar o efeito da interface na velocidade de reação.

Devemos enfatizar, porém, que a falta de efeitos intrínsecos na reatividade produzidos pelo CTAB na tiólise de NPA por tiofenóxidos não pode ser considerado /

como um efeito geral, isto é, ausência de efeito de interfaces carregadas na reatividade de grupos SH.

5.4. Sistemas micelares tamponados.

Os resultados apresentados na Secção 3.4. (1) demonstraram que na faixa de pH investigada, a concentração / intermicelar de OH^- livre (OH_f) é mantida constante pelo tampão borato (0,02 M) até 0,10M de CTAB; (2) mostram que a concentração local de íons OH^- na fase micelar (OH_b) diminui, sob estas condições, quando a concentração de detergente micelizado aumenta; (3) implicam que pode existir uma pequena interação entre o íon borato e a fase micelar, interação esta que é insuficiente para exceder a capacidade do tampão e (4) assinalam várias complicações potenciais na análise quantitativa de reatividade em sistemas micelares tamponados. Cada um destes pontos será analisado separadamente.

É OH_f constante num sistema micelar tamponado adequadamente? A hidrólise de N-metil-cianopiridínios, íons estes que são estritamente excluídos pela fase micelar, é uma medida sensível da concentração de OH_f (Chaimovich e col., 1979). A constante de velocidade observada (k_ψ (MCP)) pode ser relacionada com o pH intermicelar pela equação seguinte

$$k_\psi \text{ (MCP)} = k_2^O \text{ antilog (pH - pK}_w\text{)} \quad (22)$$

Desde que k_ψ (MCP) não varia significativamente (Fig. 13a) quando se aumenta a concentração de CTAB, devemos concluir que o pH intermicelar é mantido constante pelo tampão bo rato 0,02M até (pelo menos) 0,10M CTAB.

A relação de produtos P/A é constante ($0,05 \pm 0,01$) para 4-MCP a pH 9,8 em toda a faixa de concentração de CTAB (0-0,1M). A relação de produtos P/A para 2-MCP a pH 9,5 é constante ($2,4 \pm 0,2$) de 0 até 0,04M CTAB. Acima de 0,04M CTAB a relação P/A para 2-MCP aumenta gradualmente a até alcançar um valor de 4,4 a 0,10M CTAB. Desde que P/A pa ra 4-MCP e k_ψ (MCP) para 2-MCP são independentes da concentração de CTAB, suspeitamos que este aumento em P/A a CTAB alto pode refletir uma maior formação de piridona causada pela micela (Politi e col., 1978). Isto pode ser devido a entrada da cianohidrina intermediária neutra na fase micelar após (Kosower e Patton, 1966) o ataque de OH^- , e não a uma variação de OH_f . Existe uma variação de $\overline{\text{OH}}_b$ na presença de tampão quando se varia a concentração de detergente? Para um substrato totalmente incorporado na fase micelar, a constante de velocidade para a hidrólise alcalina pode ser representado por (Quina e Chaimovich, 1979).

$$k_\psi = k_{2m} \overline{\text{OH}}_b \quad (23)$$

onde k_{2m} é a constante de velocidade de segunda ordem para a reação de hidrólise na fase micelar. Estimando-se que a

constante de incorporação de NPO é $1,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (vide supra), o limite de incorporação total (isto é $> 95\%$) é atingido a concentração de detergente ligeiramente superiores / (perto de 3 vezes) à CMC do CTAB nestas condições ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$). Assim, os dados cinéticos obtidos para hidrólise alcalina de NPO deveriam refletir, diretamente, $\overline{\text{OH}}_b$ a concentrações de CTAB maiores que $2 \times 10^{-3} \text{ M}$. Desde que k_ψ (NPO) / não é constante, e diminui com o aumento da concentração do detergente podemos concluir que $\overline{\text{OH}}_b$ diminui de uma forma semelhante. Este decréscimo implica que o tampão borato $0,02 \text{ M}$, que mantém OH_f constante, não mantém $\overline{\text{OH}}_b$ constante quando muda a concentração de detergente.

Análise quantitativa da hidrólise alcalina / modificada por micelas na presença de um tampão. Temos demonstrado recentemente (Quina e Chaimovich, 1979) que, na presença de um tampão que mantém OH_f constante, a expressão apropriada para a constante observada de pseudo-primeira ordem (k_ψ) para uma reação bimolecular entre um substrato não carregado (como NPA ou NPO) e um íon univalente reativo (como OH^-) numa solução micelar de CTAB é:

$$k_\psi = \frac{\text{OH}_f \frac{k_{2m}}{\bar{V}} K_S K_{\text{OH}/\text{Br}} \frac{\text{Br}_b}{\text{Br}_f} + k_2^o}{(1 + K_S C_D)} \quad (24)$$

Nesta equação, K_S é a constante de distribuição do substrato neutro ($54M^{-1}$ para NPA, Funasaki, 1979 ; e $1,5 \times 10^4 M^{-1}$ para NPO); k_2^o e k_{2m} são as constantes de segunda ordem para a reação de hidrólise alcalina nas fases aquosa e micelar, respectivamente. $\bar{V}$ é o volume por mol de detergente micelizado na região da micela onde o íon pode se definir como "ligado"; o valor de $\bar{V}$ tem-se aproximado ao volume parcial molar do detergente (0,37 L/mole para CTAB; Yatsimirski, Martinek e Berezin, 1971; Corkill, Goodman e Walker, 1967). $K_{OH/Br}$ é o coeficiente de seletividade para a troca OH/Br na superfície da micela (0,08, Chaimovich e col., 1979) e C_D é a concentração analítica de detergente micelizado. Na presença de um tampão ideal, isto é, um tampão que não inte rage com a fase micelar, as expressões adequadas para as concentrações analíticas de brometo ligado (Br_b) e livre (Br_f) e hidróxido ligado (OH_b) são (Quina e Chaimovich, 1979):

$$Br_b = (1 - \alpha) C_D - OH_b \quad (25)$$

$$Br_f = \alpha C_D + CMC + OH_b \quad (26)$$

$$OH_b = \frac{-A_2 + \sqrt{(A_2)^2 + 4K_{OH/Br}OH_f(1-\alpha)C_D}}{2} \quad (27)$$

onde

$$A_2 = \alpha C_D + CMC + K_{OH/Br} + OH_f \quad (28)$$

e α é o grau de ionização da micela ($=0,2 \pm 0,5$ Romsted, 1975; Funasaki, 1978; Smith, 1979).

Utilizando os valores experimentais para K_S ($54M^{-1}$ para NPA e $1,5 \times 10^4 M^{-1}$ para NPO), $K_{OH/Br}$ (0,08), CMC ($5 \times 10^{-4} M$) e k_2^O ($0,05 \text{ min}^{-1}$ para NPA pH 9,50, $0,027 \text{ min}^{-1}$ para NPO a pH 9,50 e $0,048 \text{ min}^{-1}$ para NPO a pH 9,80 na ausência de CTAB) e os valores de $\bar{V} = 0,37M^{-1}$ e $\alpha=0,2$ e as equações 24-28 não se achou valor de k_{2m} que simulasse satisfatoriamente os dados cinéticos de NPA ou NPO. Variação simultânea de α e k_{2m} resultou também em simulações pouco adequadas dos dados cinéticos. A diferença entre os dados simulados e os experimentais diminui usando valores extremamente pequenos de α ($< 0,1$).

De fato, a suposição da completa ausência de ligação do íon borato à fase micelar (como nas equações 24-28) pode ser por demais simplista. Assim se o íon borato se liga a fase micelar de CTAB as expressões para Br_b , Br_f e OH_b vem a ser

$$Br_b = (1 - \alpha) C_D - OH_b - B_b \quad (29)$$

$$Br_f = \alpha C_D + CMC + OH_b + B_b \quad (30)$$

$$OH_b^3 + OH_b^2 (A^2 + K_{OH/B} OH_f + B_T) + OH_b OH_f (K_{OH/B} A_2 + K_{OH/Br} (B_T - (1 - \alpha) C_D)) - K_{OH/Br} OH_f^2 (1 - \alpha) C_D K_{OH/B} = 0 \quad (31)$$

onde A_2 é definido pela eq. 28. Na equação 31 usamos o co
eficiente de troca iônica borato/hidr $\acute{o}$ xido definido como

$$K_{OH/B} = \frac{OH_b B_f}{OH_f B_b} = \frac{OH_b (B_T - B_b)}{OH_b B_b} \quad (32)$$

que est $\acute{a}$ relacionado com o coeficiente de seletividade borat
to-brometo por

$$K_{OH/Br} / K_{OH/B} = K_{B/Br} = \frac{B_b Br_f}{B_f Br_b} \quad (33)$$

onde $B_T = B_f + B_b$ é a concentraç $\tilde{o}$ do íon $B(OH)_4^-$ no pH exper
rimental. Duas linhas independentes de evid $\tilde{e}$ ncia experiment
tal indicam que a troca borato/brometo é altamente desfavor
rável. Uma ligaç $\tilde{o}$ substancial de borato deveria mudar o
equilíbrio do tamp $\tilde{o}$ e, conseq $\tilde{u}$ entemente, produzir uma variaç
ç $\tilde{o}$ de OH_f na fase aquosa intermicelar. Ainda, a adiç $\tilde{o}$ de
borato 0,02M somente diminui a CMC de CTAB de $9 \times 10^{-4}M$ até
 $5 \times 10^{-4}M$ (veja p.ex. o efeito de tiofen $\acute{o}$ xido na CMC de CTAB).
Por $\tilde{e}$ m um $K_{B/Br}$ pequeno n $\tilde{a}$ o implica, necessariamente, que a
ligaç $\tilde{o}$ de borato n $\tilde{a}$ o afetar $\tilde{a}$ a diluiç $\tilde{o}$ de $\overline{OH}_b$. Neste context
to os fatores chaves s $\tilde{a}$ o a ligaç $\tilde{o}$ desfavorável de $\overline{OH}$ $\tilde{a}$ mic
ela de CTAB e a baixa concentraç $\tilde{o}$ de OH_f (pH 9,5-9,8). Com
mo conseq $\tilde{u}$ ência, qualquer ligaç $\tilde{o}$ do íon $B(OH)_4^-$ cuja conc
centraç $\tilde{o}$ é ordens de magnitude mais alta que a de OH_f , pod
der $\tilde{a}$ exercer um efeito marcante na quantidade de $\overline{OH}$ ligado

à micela de CTAB especialmente a C_D baixo,

Se a ligação de borato é altamente desfavorável e o equilíbrio do tampão não é perturbado significativamente, podemos aproximar B_T .

$$B_T \approx B_f = BH_T \quad |1 + \text{antilog} (pK_a - pH)|^{-1} \quad (34)$$

onde BH_T é a concentração total de espécies iônicas do tampão e pK_a é o valor da constante de dissociação do ácido bórico (9,22; Kolthoff, 1959). Usando as equações 24 e 29-32 e os valores dos parâmetros já discutidos (com $\alpha=0,2$) foram feitas simulações variando-se somente k_{2m} e $K_{OH/B}$ com a restrição adicional que $K_{OH/B}$ deveria ser idêntica em todos os casos. Os valores que forneceram melhor simulação foram $k_{2m}/k_2^O = 0,37$ para NPA pH 9,50, $k_{2m}/k_2^O = 0,29$ para NPO e pH 9,50 e 9,80 e $K_{OH/B} = 2,3$. O $K_{B/Br} \approx 0,035$ é satisfatório já que corresponde ao valor esperado para uma ligação de borato pouco eficiente à micela de CTAB como tínhamos previsto.

Deve-se observar que os valores de k_{2m}/k_2^O derivados da nossa análise não têm, necessariamente, uma significação absoluta, desde que dependem do valor escolhido para $\bar{V}$. Contudo, é pouco provável que o valor de $\bar{V}$ seja muito maior que aquele utilizado neste trabalho. Assim, os nossos valores de k_{2m}/k_2^O coincidem com outras indicações da literatura (Bunton e col., 1978) na medida que indicam uma diminuição da reatividade aparente do ^-OH na fase micelar do CTAB.

Neste contexto devemos salientar, porém, que até um valor absoluto de k_{2m} (a diferença de k_2^O) será um reflexo da reatividade aparente na fase micelar. Destarte, k_{2m} é uma resultante onde devem ser consideradas tanto a reatividade / absoluta do nucleófilo iônico "ligado" num elemento de volume relacionado com $\bar{V}$, como a probabilidade de encontrar o substrato incorporado na micela no mesmo elemento de volume. Se a região de reação englobasse um elemento de volume correspondente à camada de Stern, isto é a região onde se deveria encontrar a mais alta concentração de íons OH^- "ligados", o valor de k_{2m} deveria refletir a reatividade / absoluta atenuada pela distribuição intramicelar do NPA ou NPO entre a região não reativa (o núcleo da micela) e a região reativa (a camada de Stern). Desde que NPO é, seguramente, mais lipossolúvel que NPA, o modelo recentemente proposto por Almgren, Grieser e Thomas (1979) sugeriria uma diferença na distribuição intramicelar destes dois substratos na direção que favorecesse a menor reatividade aparente de NPO com OH^- observada neste trabalho ($k_{2m}(NPO)/k_{2m}^{NPA} \approx 0,4$).

Algumas considerações sobre tampões em solução micelar.

Um dos problemas fundamentais na análise de reatividade em sistemas micelares tamponados tem sido a forma do cálculo correto da concentração total de uma espécie iônica "tamponada" numa determinada concentração de deter -

gente (Cordes, 1978; Funasaki, 1979). Existem hoje métodos experimentais que permitem medir as constantes de seletividade das trocas dos íons H^+ (Bunton e Wolfe, 1974) e OH^- (Chaimovich e col., 1979) com os contraíons da micela na ausência de tampão. As equações utilizadas neste trabalho bem como a demonstração de que o tampão pode manter OH_f^- constante, permitem, ao menos formalmente (Quina e Chaimovich, 1979), calcular o comportamento quantitativo de OH_b^- (ou, por analogia H_b) em função da concentração de C_D a partir do valor do coeficiente de seletividade determinado na ausência de tampão.

Todavia, deve-se enfatizar que o fato de OH_f^- não mudar com C_D no sistema estudado neste trabalho, não significa que, em todos os sistemas micelares onde se adiciona um tampão, a concentração do íon tamponante intermicelar (X_f) seja uma constante quando se varia C_D . Vários fatores podem contribuir, às vezes de forma simultânea, para variações de OH_f^- , mesmo na presença de um tampão, quando se aumenta a concentração de detergente. Por exemplo, a pHs altos o grau de ligação de OH^- na fase micelar de um detergente catiônico se faz significativo em relação à capacidade de um tampão. Assim, desprezando-se a ligação de espécies iônicas do tampão, pode-se estimar que aproximadamente $10^{-3}M$ OH^- ligar-se-ão à fase micelar do CTAB a pH 11,5 no limite de concentração alta de detergente (Quina e Chai

movich, 1979). Desta forma, ainda para um tampão "ideal", a capacidade do tampão poderia ser excedida neste, ou em valores de pH mais altos, a menos que se utilizassem concentrações relativamente altas de um sistema tampão perto do pK_a e se trabalhasse na região de C_D baixo. A troca iônica com as espécies iônicas provenientes do tampão apresenta complicações drásticas, tanto em termos do efeito da troca na capacidade do tampão quanto no perfil de diluição de $\overline{OH}_b$. Estes efeitos podem depender não somente da natureza química como também das proporções relativas e concentração total das espécies iônicas do tampão.

De um ponto de vista conceitual, especialmente no que se refere à análise quantitativa, talvez o tampão mais adequado para um sistema micelar seja aquele cujas espécies iônicas são altamente hidrofílicas, têm a mesma carga do monômero e possuem contraíons idênticos aos do detergente. Sob estas condições a influência do tampão pode ser analisado como um efeito de sal comum (Quina e Chaimovich, 1979).

5.5. Análise de micelas utilizando sondas de spin

A. Estrutura micelar

A anisotropia do movimento rotacional de moléculas em meios tanto isotrópicos como anisotrópicos foi

analisada em detalhe nos trabalhos de Freed e colaboradores (Freed, Bruno e Polnaszek, 1971; Goldman e col., 1972; Goldman, Bruno e Freed, 1973; Polnaszek e Freed, 1975). A complexidade de nossos sistemas fazem com que seja difícil aplicar análises similares aos resultados. Contudo, Polnaszek / (1978) apresentou a base sobre a qual os tempos de correlação, calculados a partir do formalismo de estreitamento para movimento isotrópico, podem ser interpretados como anisotropia devida ao movimento molecular. Os tempos de correlação (τ) foram calculados de acordo com esse formalismo usando as equações 12 e 13 a partir das larguras e as alturas / das linhas espectrais. Na Tabela 10 se apresentam os valores de τ para 5-SASL e 5-MeSL em soluções orgânicas e micelas / junto com os desdobramentos hiperfinos isotrópicos.

É provável que a largura de linha observada provenha de dois tipos de movimentos: aquele da sonda de spin no agregado e o da própria micela. Waggoner e colaboradores (Waggoner, Griffith e Christensen, 1967; Waggoner, / Keith e Griffith, 1968) foram os primeiros a aplicar a técnica de marcação de spin ao estudo de moléculas associadas com micelas. Estes autores calcularam τ para uma sonda de spin em dodecano ($1,6 \times 10^{-10}$ seg), água ($1,8 \times 10^{-10}$ seg) e numa micela ($1,1 \times 10^{-8}$ seg) utilizando a equação de Stokes-Einstein. A partir de medidas de e e s r os τ calculados para uma sonda em dodecano, água e SDS são $9,1 \times 10^{-11}$, $7 \times$

10^{-11} e 6×10^{-10} seg. Observa-se uma grande discrepância entre os valores de τ para a sonda na micela e o τ calculado. Pode-se concluir então que, neste caso, a forma da linha é determinada, sobretudo, pelo próprio movimento molecular da sonda. Contudo o tamanho duma micela é tal que se poderia esperar que o seu movimento afetasse, em algum grau, o espectro observado.

Recentemente, Stockton e col. (1976) calcularam o tempo de correlação rotacional de vesículas de uma única bicamada composta de lipídeos. O valor obtido por rmn de deutério ($5,8 \times 10^{-7}$ seg) é bastante semelhante ao obtido utilizando-se a equação de Stokes-Einstein ($9,4 \times 10^{-7}$ seg). Os cálculos de τ para micelas são mais complexos, em parte devido as dificuldades na determinação do raio hidrodinâmico da micela. Ainda observou-se que o modelo de difusão Stokes-Einstein pode não ser adequado para sistemas onde os solutos interagem fortemente com o solvente (Edward, 1970) e nas micelas os grupos polares estão bem mais expostos ao solvente que os grupos polares de uma vesícula de fosfolipídio (Tanford, 1974). Deve-se lembrar ainda que o tempo de correlação rotacional será determinado pela microviscosidade e que este parâmetro é difícil de definir numa micela. Deste modo definimos um "tempo de correlação efetivo" e analisamos os nossos dados assumindo que este se deve, essencialmente, ao componente do próprio mo

vimento da sonda dentro da micela. Na Tabela 10 apresentam-se os valores calculados de τ bem como o $\Delta\tau = \tau_1 - \tau_2$. A quantidade $\Delta\tau$ está associada à anisotropia do movimento da sonda (Polnaszek, 1978). Os valores de τ_1 , τ_2 e $\Delta\tau$ são bem maiores nas micelas do que nos solventes orgânicos utilizados como referência, sendo também maiores para 5-SASL que para 5-MeSL. Nas micelas esta diferença pode ser devida à carga da parte polar do 5-SASL que favoreceria a sua interação com o meio aquoso. Além disto é de se esperar / uma interação eletrostática adicional quando 5-SASL é utilizado como sonda em micelas de CTAB que possuem uma carga oposta.

Contudo, a diferença nos valores de τ calculados para as sondas em micelas de SDS e CTAB poderiam / ser atribuídas a diferenças nos movimentos rotacionais das micelas. Assumindo-se uma conformação trans para as moléculas do detergente e usando-se a equação de Stokes-Einstein, o valor de τ (CTAB) $\sim 2\tau$ (SDS) coincidindo com os resultados da Tabela 1. Os tempos de correlação rotacional das micelas teriam um efeito nos espectros se as sondas estivessem ordenadas ao nível microscópico. A rotação das micelas, então, tenderia a compensar estatisticamente os desdobramentos anisotrópicos hiperfinos (a_{11} e a_1) esperados para as sondas ordenadas e obter-se-ia um espectro de três linhas. Neste caso o valor calculado de τ seria também uma função

do tempo de correlação rotacional da micela.

Os valores de a_n obtidos para 5-SASL em micelas são menores que os da mesma sonda em água indicando assim que o segmento contendo o nitróxido se encontra num ambiente menos polar. Os valores de a_n em micelas são intermediários entre aqueles obtidos em água e em solventes não polares. Este último dado sugere que os grupos metilênicos / perto da porção polar do detergente se encontram hidratados (veja Introdução, Chaimovich, 1979).

O valor de a_n é sempre menor em CTAB que em SDS sugerindo que a micela de SDS é mais "mole" e, consequentemente, mais hidratada.

B. Efeito de tiofenóxido na micela de CTAB.

A adição de tiofenóxido afeta a CMC do CTAB, os tempos de correlação calculados para sondas e os valores de a_n para 5-MeSL. A diminuição e o aumento subsequente de τ para o experimento em que se aumentou tiofenóxido a concentração constante de CTAB foram interpretados em termos / de uma competição entre o ânion e o 5-SASL na interação eletrostática com os grupos carregados do detergente. Tiofenóxido deslocaria o 5-SASL e este deslocamento conduziria a uma diminuição de τ . O aumento da concentração de tiofenóxido levaria a uma neutralização parcial da carga dos gru

pos alquiltrimetilamônio, diminuiria a repulsão, produzindo um empacotamento maior da micela e um aumento consequente - de τ .

A diminuição de a_n decorrente do aumento de tiofenóxido indica que o segmento paramagnético está sentindo um ambiente menos polar. Isto poderia se dever seja a um movimento da sonda até um sítio menos polar ou a uma diminuição da polaridade do sítio. Esta última hipótese poderia acontecer por desidratação de micela após ligação do substrato. Este fenômeno foi considerado um evento importante em catálise micelar desde que causaria um aumento da reatividade de substratos nucleofílicos (Fendler e Patterson, 1971; Larsen, Magid e Payton, 1973; Chaimovich e col., 1975; Martinek e col., 1975). Diversos compostos, quando adicionados em alta concentração a micelas de CTAB mudam a estrutura da fase (Fendler e Patterson, 1971; Larsen, Magid e Payton, 1973; Hyde e Steverson, 1969; Lindblom, Lindman e Mandell, 1973). Observando-se a relaxação de ^{81}Br por ressonância nuclear / magnética, concluiu-se que a solubilização de compostos como benzeno, hexanol e N,N-dimetilanilina provavelmente envolve a remoção de água da estrutura micelar (Lindblom, Lindman e Mandel, 1973).

C. Agregação de detergentes abaixo da CMC.

Os espectros obtidos com diversas sondas em SDS abaixo da CMC indicavam agregação pré-micelar. A quantificação desta agregação foi feita aumentando a concentração da sonda (5-MeSL) em solução micelar de SDS até se obter espectros comparáveis com os obtidos abaixo da CMC. Os resultados indicaram que as porcentagens de agregação abaixo da CMC são 5,3 ($6,5 \times 10^{-3} \text{M}$), 9,6 ($7 \times 10^{-3} \text{M}$), 19,2 ($7,5 \times 10^{-3} \text{M}$) e 24 ($8 \times 10^{-3} \text{M}$).

Uma análise termodinâmica das forças envolvidas na formação de micelas indica que a CMC, e o número de agregação, só podem ser afetadas quando o soluto é adicionado em uma quantidade suficiente para alterar o balanço entre as contribuições hidrofóbicas e hidrofílicas relacionadas com a formação das micelas (Tanford, 1974). Duma inspeção da literatura pode-se concluir que a quantidade de reagente necessária para alterar a CMC e o número de agregação é, em geral, alta (Fendler e Patterson, 1971; Larsen, Magid e Payton, 1973; Hyde e Stevenson, 1969; Lindblom, Lindman e Mandell, 1973; Hutchinson, Inaba, Bailey 1955; Parfitt e Wood, 1969; Kalyanasundaram, Grätzel e Thomas, 1975). A natureza anfifílica das sondas utilizadas sugere, também, que o balanço hidrofílico-hidrofóbico do sistema não deveria ser perturbado. Deve ser notado, além disso, que a relação son-

da/detergente foi sempre baixa ($< 1:100$) e que as sondas utilizadas tem estruturas bem diferentes entre si e deveriam interagir de formas desiguais com os agregados de detergentes. O conjunto destes argumentos indica que é pouco provável que as sondas usadas fossem a fonte (e não a medida) da agregação de SDS observado abaixo da CMC.

D. Distribuição não homogênea de um soluto hidrofóbico em solução micelar.

Restrições termodinâmicas demandam que, no equilíbrio, o sistema utilizado deveria consistir de micelas contendo, em média, uma sonda por micela (sonda/detergente $\sim 1:100$, número de agregação perto de 100).

O espectro de $e s r$ de soluções de CTAB-CSL / recentemente preparadas mostram a existência de agregados onde a relação sonda/detergente é bem diferente. O processo de redistribuição é lento, depende de tempo e temperatura, mas é, aparentemente independente da concentração inicial de CTAB / (acima da CMC), da concentração de CSL ou do tamanho dos agregados iniciais.

A escala de tempo em que se processa a troca / de monômeros ou a dissociação de micelas é da ordem de mili- / ou microsegundos (Fendler e Fendler, 1975; Lang e col., 1975; Aniansson e col., 1976). Em isooctano (onde um composto solú

vel em água é "completamente" insolúvel) a troca de água entre agregados de detergente é mais rápida que o tempo de mistura (1 a 2 mseg.) (Eicke, Sheperd e Steinemann, 1976). Quando as micelas contêm uma molécula de substrato que possui uma solubilidade mensurável em água, o tempo de permanência do substrato é da ordem do tempo de relaxação da micela (Fendler e Fendler, 1975; Eriksson e Gilberg, 1966). / Compostos mais hidrofóbicos, por outro lado, apresentam uma velocidade de troca lenta entre a água e a fase micelar (Eriksson e Gilberg, 1966; Dorrance e Hunter, 1972, 1974).

A meia vida para a redistribuição do CSL é da ordem de horas e a independência da concentração de detergente (acima da CMC) sugere que a velocidade de chegada ao equilíbrio depende, somente, da colisão entre agregados (contendo CSL) em monômeros do detergente.

Os nossos estudos da distribuição não homogênea de CSL em CTAB, bem como estudos de distribuição em outros sistemas (Dorrance e Hunter, 1973; Infelta, Grätzel e Thomas, 1974) são relevantes na descrição de propriedades / dinâmicas de sistemas micelares, catálise micelar e propriedades solubilizantes de agregados micelares. Vários modelos de solubilização foram propostos (Tachiya, 1971) e o nosso sistema é, em princípio similar ao proposto por Dorrance e Hunter (1974). O modelo é válido somente para estes solutos extremamente hidrofóbicos que difundem na solução somen

te quando associados à detergentes.

A distribuição, no equilíbrio, no sistema CSL-CTAB, é alcançado após uma sequência de etapas que pode ser descrita no sistema aqui apresentado. A descrição detalhada é complexa e exige mais dados do que dispomos atualmente.

O espectro do CSL nos dois tipos extremos de agregados tem valores de g bem diferentes. Foi descrito que o valor de g de nitróxidos, bem como a constante de acoplamento hiperfino, varia com a mudança de polaridade do meio (Brière, Lemaire e Rassat, 1965). O valor de g mais alto na situação inicial sugere que o ambiente da maioria das moléculas de CSL é pouco polar. O valor mais baixo de g observado no espectro de CSL em micelas sugere que a sonda está orientada com o segmento N-O perto da interface, de forma semelhante à observada em cristais líquidos (Seelig, 1970) e bicamadas de fosfolípidios (Schreier-Muccillo, Marsh e Smith, 1976).

6. CONCLUSÕES

As micelas, da mesma forma que as enzimas, mo dificam a velocidade de reações químicas como "demônios en trópicos" já que a perda de entropia associada a concentração de reagentes num volume pequeno da solução, a fase micelar, é compensada pelo decréscimo de energia livre associado à trans ferência do substrato da fase aquosa à fase micelar. Neste / trabalho demonstrou-se, de forma inequívoca, que a tiólise de ésteres é acelerada pela adição de micelas muito embora a reatividade dos tiofenóxidos nas fases micelar e aquosa possa ser idêntica. Neste caso, portanto, toda a aceleração é devi da à concentração dos reagentes na fase micelar. Por outro la do, a simples concentração de reagentes não é suficiente pa ra explicar a aceleração da reação de dinitrofluorobenzeno / com tiofenóxido. Neste último caso, um cálculo preliminar in dica que a reatividade do ânion na fase micelar deve ser, pe lo menos, dez vezes superior à reatividade na fase aquosa. A formação de um complexo entre os substratos, complexo este estabilizado pela fase micelar, parece, de momento, ser a explicação mais razoável para a aceleração "extra" na reação do tiofenóxido com dinitrofluorobenzeno. A modificação da ve locidade de uma reação química em fase micelar pode, ainda, estar associada a mudanças do grau de dissociação de grupos ionizáveis do substrato. Assim, tanto a aceleração da reação

de transferência intramolecular de S para N em S-octanoil- β -mercaptoetilamina (OMA) causada por CTAB como a inibição da mesma reação em S-acetil-mercaptoetilamina causada por dodecilsulfato do sódio (SDS) podem ser atribuídas a uma mudança de pK do grupo amônio terminal na fase micelar.

Outro tipo de efeito causado pela introdução de um substrato na fase micelar pode ser a seleção de uma conformação particular do substrato que resulte, ao mesmo tempo, numa interação máxima com a fase e, em consequência, num efeito cinético na reação na qual o substrato participa. De fato, a inibição da reação intramolecular de transferência de acila em OMA na fase micelar de SDS pode ser explicada em base a os resultados estruturais obtidos por ressonância nuclear magnética, por uma seleção da configuração não reativa do substrato. Esta seleção que, necessariamente, resulta numa anisotropia de movimento a nível molecular, também foi observada para sondas de spin em micelas de CTAB.

A existência de uma interface carregada determina uma distribuição iônica entre as fases micelar e aquosa que depende do pH, da natureza e concentração do tampão e outros sais presentes e do tamanho da fase micelar. Neste trabalho demonstrou-se, diretamente, que ainda sob condições em que o pH intermicelar se mantém constante, a concentração de OH^- ligados à interface varia com a

concentração de detergente. Este resultado (1) mostra a aplicabilidade da teoria de troca seletiva de íons em sistemas / tamponados (Quina e Chaimovich, J. Phys. Chem., 83, 1844, 1979); (2) indica condições de trabalho para se analisar reações em fase micelar na presença de tampão; (3) contribui para a compreensão do significado de "pH" em interfaces e, portanto, abre a perspectiva de se poder analisar este problema em outros sistemas mais complexos como vesículas e membranas.

A utilização de sondas de spin permite analisar parâmetros estruturais e dinâmicos em sistemas micelares. A localização de sondas de spin em micelas pode ser descrita, a partir dos resultados apresentados, por um modelo onde a penetração de água alcança os primeiros carbonos da cadeia do detergente. É possível que a hidratação nesta região mude quando um substrato iônico é incorporado a fase micelar. A agregação premicelar em SDS foi demonstrada inequivocamente utilizando-se sondas de spin de estrutura molecular diferentes. Os dados obtidos ao se estudar as variações espectrais de sondas de spin insolúveis em água em solução de CTAB sugerem, fortemente, que o mecanismo de redistribuição estatística (lenta) da sonda envolve a colisão de monômeros do detergente com agregados contendo o substrato insolúvel.

7. RESUMO

A adição de brometo de N-hexadecil-N,N,N-trimetilamônio (CTAB) produz um aumento da velocidade das reações de 2,4-dinitrofluorobenzeno (DNFB) com fenóxido (230 vezes) e tiofenóxido (1100 vezes). O efeito de CTAB na reação de DNFB com tiofenóxido foi analisada quantitativamente, de forma preliminar, (Quina e Chaimovich, J. Phys. Chem., 83, 1844, 1979) podendo-se concluir que a aceleração produzida por CTAB não pode ser atribuída exclusivamente à concentração de substratos na micela.

A tiólise de acetato de p-nitrofenila (NPA) por tiofenóis é também acelerada pela adição de CTAB. Demonstrou-se que a reatividade dos tiofenóis nas fases micelar e aquosa é comparável e que o aumento da velocidade pode ser explicado em base a concentração dos reagentes na fase micelar.

A velocidade de transferência intramolecular de acila de S para N em S-acetil- β -mercaptoetilamina (AMA) e S-octanoil- β -mercaptoetilamina (OMA) foi estudada na presença de CTAB e dodecilsulfato de sódio (SDS). Observou-se uma aceleração da velocidade de reação com OMA na presença de CTAB e uma inibição com SDS que é da ordem de 100 vezes para AMA e mais de mil vezes para OMA. Estudos de ressonância nuclear magnética demonstraram uma imobilização da pon

te metilênica do OMA nos complexos de SDS-OMA. O efeito de detergentes na reação foram explicados em termos de uma variação do pK do grupo amônio terminal do substrato e um movimento anisotrópico do substrato mais hidrofóbico (OMA) na micela de SDS.

O estudo de reatividade em solução micelar foi complementado com uma investigação da relação entre o pH do meio aquoso na presença de tampão e a concentração / de OH^- na fase micelar. A velocidade de hidrólise alcalina de N-metil-4- e, N-metil-2-cianopiridínios não sofrem alteração quando se adiciona CTAB na presença de tampão borato a pH 9,6 ou 9,8. Estes dados e a completa exclusão dos N-Metilcianopiridínios da fase micelar demonstram inequivocamente que, nestas condições, o pH intermicelar não varia quando se adiciona CTAB. Por outro lado a hidrólise alcalina de octanoato de p-nitrofenila, um substrato que participa favoravelmente na fase micelar, diminui quando a concentração de detergente excede a necessária para alcançar a incorporação total do substrato. Estudou-se também a hidrólise de NPA em função da concentração de CTAB na presença de tampão. Os dados de hidrólise foram analisados quantitativamente de acordo com a teoria proposta por Quina e Chaimovich (op. cit) e os dados experimentais podem ser reproduzidos quantitativamente supondo uma ligação fraca do tampão à micela.

Neste trabalho se analisa o uso de ressonância eletrônica paramagnética para o estudo de agregados de detergentes. Utilizando-se diversas sondas de spin determina-se a concentração micelar crítica, verifica-se o efeito de tiofenóxido na estrutura micelar de micelas de CTAB, demonstra-se a existência de agregação premicelar em SDS e se estabelecem critérios para estudar o fenômeno de redistribuição de substratos insolúveis em água em soluções de detergentes. Estes resultados são analisados em termos da relevância para se entender formação de micelas, aceleração de reações em fase micelar e mecanismos de solubilização em fase micelar.

7.2 . SUMMARY

The reactions of 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) with phenoxide and thiophenoxide ions are accelerated by the addition of N-hexadecyl-N,N,N-trimethylammonium bromide (CTAB) by factors of 230 and 1100, respectively. The effect of CTAB on the reaction of DNFB with thiophenoxide ion was analyzed quantitatively (Quina & Chaimovich, J. Phys. Chem., 83, 1844, 1979) demonstrating that the rate enhancement can not be attributed, exclusively, to substrate concentration in the micellar phase. The thiolysis of p-nitrophenylacetate by thiophenoxides is accelerated (50 fold) by the addition of CTAB. The quantitative analysis of the effect of CTAB on thiolysis demonstrated that the reactivity of thiophenoxides in the aqueous and micellar phases is comparable and that the rate enhancement can be explained entirely on the basis of concentration of the substrates in the micellar phase. The effect of detergents on the intramolecular (S to N) acyl transfer was studied using S-acetyl- β -mercaptoethylanine (AMA) and S-octanoyl- β -mercaptoethylanine (OMA). The addition of CTAB produces a moderate rate enhancement in the rate of acyl transfer in OMA. The addition of sodium dodecyl sulfate (SDS) produces a rate decrease of 100 fold for AMA and 1000 fold in OMA. Nuclear magnetic resonance studies of OMA-SDS complexes were interpreted in terms of immobilization of the

methylenic bridge of OMA in the complex (es). The overall effect of detergents in the S to N acyl transfer in mercaptoethylanines were explained in terms of variation of the pK of the terminal ammonium group and anisotropy of the molecular motions of the hydrophobic substrate in the SDS micelle.

The studies of reactivity in micellar solutions were complemented with an investigation of the relationship between the pH in the aqueous intermicellar phase in the presence of buffer and the ^-OH concentration in the micellar phase. The rate of alkaline hydrolysis of N-methyl-4- and N-methyl-2-cyanopyridinium ions is not altered by the addition of CTAB in the presence of borate (0,02M) buffer pH 9.6 or 9.8. These data, and the complete exclusion of the N-methyl-cyanopyridinium ions from the CTAB micellar phase demonstrates unequivocally, that under these conditions the intermicellar pH does not vary with increasing CTAB. The rate of alkaline hydrolysis of p-nitrophenyl octanoate, a substrate that is totally incorporated in the micellar phase of CTAB, diminishes with increasing detergent concentration in the presence of buffer. The hydrolysis of NPA was also studied as a function of $|\text{CTAB}|$ in the presence of buffer. The experimental data for the alkaline hydrolysis of esters in the presence of buffered micellar CTAB was analysed quantitatively using the selective ion exchange approach

proposed by Quina & Chaimovich (ref. cit,).

Using various spin probes (1) premicellar aggregation, (2) the effect of substrates on micellar structure, (3) the critical micelle concentration of detergents and (4) redistribution of water insoluble substrates in detergent solutions were analysed in terms of micelle formation mechanism, rate enhancements in micellar solutions and solubilization mechanisms by detergents.

8. REFERÊNCIAS

1. Almgren, M., Grieser, F. & Thomas, J.K. (1979). J. Am. Chem. Soc., 101, 279.
2. Annianson, E.A.G., Wall, S.N., Almgren, M., Hoffman, H., Kielmann, I., Ulbricht, W., Zana, R., Lang, J. & Tondre, C. (1976). J. Phys. Chem., 80, 905.
3. Atherton, N.M. & Strach, S. (1972). J. Chem. Soc. Faraday II. 68, 374.
4. Barnett, R.F. & Jencks, W.P. (1969). J. Am. Chem. Soc., 91, 2358.
5. Behme, M.T.A., Fullington, J.G., Noel, R. & Cordes, E.H. (1965). J. Am. Chem.Soc., 87, 266.
6. Berezin, J.V., Martinek, K., Yatsimirski, A.K. (1973). Russ. Chem. Revs. (English Transl.) 42, 487.
7. Böhme, H. & Schran, H. (1949). Chem. Ber., 82, 453.
8. Bonilha, J.B.S., Chaimovich, H., Toscano, V. & Quina, F.H. (1979). J. Phys. Chem., 83, 00.
9. Brière, R., Lemaire, H. e Rassat, A. (1965). Bull. Soc. Chim. Fr., 3273.
10. Brotherus, J. & Törmälä, P. (1973). Kolloid Z.Z. Polym., 251, 774.

11. Bruice, T.C., Katzhendler, J. & Fedor, L.R. (1968).
J. Am. Chem. Soc., 90, 1333.
12. Buist, G.J., Bunton, C.A., Robinson, L., Sepúlveda, L.
& Stam, M. (1970). J. Am. Chem. Soc., 92, 4072.
13. Bunnett, J.F. (1958). Quart. Rev. (London), 12, 1.
14. Bunnett, J.F. & Merrit, W.D. (1957). J. Am. Chem. Soc.,
78, 5967.
15. Bunton, C.A. (1973). Progr. Solid State Chem., 8, 239.
16. Bunton, C.A. (1976), in "Applications of Biomedical
Systems in Chemistry". Part II. J.B. Jones, Ed, J.
Wiley & Sons. New York, N.Y.
17. Bunton, C.A., Carrasco, N., Huang, S.K., Paik, C.H. &
Romsted, L.S. (1978). J. Am. Chem. Soc., 100, 5420.
18. Bunton, C.A., Fendler, E.J., Sepúlveda, L. & Yang, K.U.
(1967). J. Am. Chem. Soc., 89, 1221.
19. Bunton, C.A., Kamego, A. & Minch, M. (1972). J. Org.
Chem., 37, 1388.
20. Bunton, C.A., Minch, M.J., Hidalgo, J. & Sepúlveda, L.
(1973). J. Am. Chem. Soc., 95, 3262.
21. Bunton, C.A. & Minch, M.J. (1974). J. Phys. Chem., 78,
1490.
22. Bunton, C.A., Rivera, F. & Sepúlveda, L. (1978). J. Org.
Chem., 43, 1166.

23. Bunton, C.A. & Robinson, L. (1968). J. Am. Chem. Soc.,
90, 5972.
24. Bunton, C.A. & Robinson, L. (1969). J. Org. Chem., 34,
780.
25. Bunton, C.A. & Robinson, L. (1970). J. Am. Chem. Soc.,
92, 356.
26. Bunton, C.A. & Robinson, L. (1970). J. Phys. Chem., 74,
1062.
27. Bunton, C.A., Robinson, L. & Sepúlveda, L. (1969). J.
Am. Chem. Soc., 91, 4813.
28. Bunton, C.A., Romsted, L.S. & Savelli, G. (1979). J. Am.
Chem. Soc., 101, 1253.
29. Bunton, C.A. & Wolfe, B. (1973). J. Am. Chem. Soc., 95,
3742.
30. Bunton, C.A. & Wolfe, B. (1974). J. Am. Chem. Soc.,
96, 7747.
31. Byers, L.D. (1977). J. Am. Chem. Soc., 99, 4146.
32. Cannon, B., Polnaszek, C.F., Butler, K.W., Eriksson,
L.E.G. & Smith, I.C.P. (1975). Arch. Biochem. Biophys.,
167, 505.
33. Chaimovich G., H. (1979) Tese de Doutorado, Institut
to de Química, USP.

34. Chaimovich, H., Blanco, A., Chayet, L., Costa, L.M., Monteiro, P.M., Bunton, C.A. e Paik, C. (1975). *Tetrahedron*, 31, 1139.
35. Chaimovich, H., Politi, M.J., Bonilha, J.B.S. & Quina, F.H. (1979). *J. Phys. Chem.*, 83, 1851.
36. Chevion, M., Katzhendler, J. & Sarel, S. (1972). *Israel J. Chem.*, 10, 975.
37. Chuchani, G. & Frohlich, A.J. (1971). *J. Chem. Soc.*, 13, 1417.
38. Connors, K.A. & Bender, M.L. (1961). *J. Org. Chem.*, 26, 2498.
39. Cordes, E.H. ed (1973). "Reaction Kinetics in Micelles" Plenum Press, New York.
40. Cordes, E.H. (1978). *Pure. Appl. Chem.*, 50, 617.
41. Cordes, E.H. & Dunlap, R.B. (1969). *Acts. Chem. Res.*, 2, 329.
42. Cordes, E.H. & Gitler, C. (1973). *Progr. Bioorg. Chem.*, 2, 1.
43. Corkill, J.M., Goodman, J.F. & Walker, T. (1967). *Trans. Faraday Soc.*, 63, 768.
44. Cuccovia, I.M., Schroter, E.H., Baptista, R.C. & Chaimovich, H. (1977). *J. Org. Chem.*, 42, 3400.

45. Cuccovia, I.M., Schroter, E.H., Monteiro, P.M. & Chaimovich, H. (1978). J. Org. Chem., 43, 2248.
46. Danehy, P. & Noel, C.J. (1960). J. Am. Chem. Soc., 82, 2511.
47. Danielsson, I. & Stenius, P. (1971). J. Colloid. Interf. Sci., 37, 264.
48. Demas, J.N. & Addington, J. (1976). J. Am. Chem. Soc., 98, 5800.
49. Dorrance, R.C. & Hunter, T.F. (1972). J. Chem. Soc. Faraday I. 68, 1312.
50. Dorrance, R.C. & Hunter, T.F. (1974). J. Chem. Soc. Faraday I, 70, 1572.
51. Eagland, D. & Franks, F. (1965). Trans. Faraday Soc., 61, 2468.
52. Edward, J.T. (1970). J. Chem. Educ., 47, 261.
53. Eicke, H., Sheperd, J.C.W. & Steineman, A. (1976). J. Coll. Interf. Sci., 56, 168.
54. Ellman, G.L. (1959). Arch. Biochem. Biophys., 82, 70.
55. Elworthy, P.H., Florence, A.T. & Mac Farlane, C.B. (1968). "Solubilization by Surface Active Agents and Its Applications in Chemistry and the Biological Sciences". Chapman and Hall, London.

56. Ernandes, J.R., Chaimovich, H. & Schreier, S. (1977).
Chem. Phys. Lipids 18, 304.
57. Ernandes, J.R., Schreier, S. & Chaimovich, H. (1976).
Chem. Phys. Lipids , 16, 19.
58. Eriksson, J.C. & Gillberg, G. (1966). Acta Chem. Scand.,
20, 2019.
59. Fendler, J.H. & Fendler, E.J. (1975). "Catalysis in
Micellar and Macromolecular Systems". Academic Press,
New York.
60. Fendler, E.J., Fendler, J.H. & Liechti, R.R. (1970).
J. Org. Chem., 35, 1658.
61. Fendler, J.H. & Patterson, L.K. (1971). J. Phys. Chem.,
75, 3907.
62. Fontell, K. (1971). Kolloid Z.Z. Polym., 244, 253.
63. Fontell, K. (1971). Kolloid Z.Z. Polym., 244, 246.
64. Foye, W.O., Duvall, R.N. & Mickles, J. (1962). J.
Pharm. Sci., 51, 168.
65. Fox, K.K. (1971). Trans. Faraday Soc., 67, 2802.
66. Freed, J.H. (1972). Ann. Rev. Phys. Chem., 23, 265.
67. Freed, J.H., Bruno, G.V. & Polnaszek, C.F. (1971). J.
Phys. Chem., 76, 3385.

68. Freed, J.H. & Fraenkel, G.K. (1963). J. Chem. Phys.,
39, 326.
69. Friedman, M. (1973). "The Chemistry and Biochemistry
of the Sulfhydryl Group in Aminoacids, Peptides and
Proteins". Pergamon Press, New York, N.Y. Cap. 12.
70. Funasaki, N. (1978). J. Coll. Interf. Sci., 64, 641.
71. Funasaki, N. (1979). J. Phys. Chem., 83, 237.
72. Gitler, C. & Ochoa-Solano, A. (1968). J. Am. Chem. Soc.,
90, 5004.
73. Goldman, S.A., Bruno, G.V. & Freed, J.H. (1973). J.Chem.
Phys., 59, 3071.
74. Goldman, S.A., Bruno, G.V., Polnaszek, C.F. & Freed, J.H.
(1972). J. Chem. Phys., 56, 716.
75. Gustavsson, H. & Lindman, B. (1975). J. Am. Chem. Soc.,
97, 3923.
76. Hauser, M. & Klein, U. (1972), Z. Phys, Chem, Neue Folges,
78, 32.
77. Heitman, P. (1978). European J. Biochem. 5, 305.
78. Herries, D. G., Bishop, W. & Richards, F.M. (1964). J.
Phys. Chem., 68, 1842.
79. Hiskey, C.F. & Downey, T.A. (1954). J. Phys. Chem., 58,
835.

80. Hupe, D.J. & Jencks, W.P. (1977). J. Am. Chem. Soc.,
99, 451.
81. Husain, S.S. & Lowe, G. (1970)- Biochem. J., 117, 341.
82. Hutchinson, E., Inaba, A. & Bailey, L.G. (1955). Z.
Phys. Chem. (Frankfurt), 5, 344.
83. Hyde, A.J. & Stevenson, D.M. (1969). Kolloid Z.Z. Polym.,
232, 797.
84. Infelta, P.P., Grätzel, M. & Thomas, J.K. (1974). J.Phys.
Chem., 78, 190.
85. Jencks, W.P. (1969). "Catalysis in Chemistry and Enzymology".
Mc Graw-Hill Inc.
86. Jencks, W.P. (1975). Adv. in Enzymol., 43, 219.
87. Jocelyn, P.C. (1972). "Biochemistry of the SH Group".
Academic Press, New York, N.Y. Cap, 6.
88. Kalyanasundaram, K., Grätzel, M. & Thomas, J.K. (1975).
J. Am. Chem. Soc., 97, 3915.
89. Kivelson, D. (1960). J. Chem. Phys., 30, 1094.
90. Kolthoff, I.H. (1959). "Treatise on Analytical Chemistry".
Interscience Encyclopedia, Inc. New York, N.Y.
91. Kosower, E.M. & Patton, J.W. (1966). Tetrahedron, 22,
2081.

92. Kreevoy, M.M., Harper, E.T., Duvall, R.E., Wilgus, H.S.
& Ditsch, L.T. (1960). J. Am. Chem. Soc., 82, 4899.
93. Lang, J., Tondre, C., Zana, R., Bauer, R., Hoffman, H.
& Ulbricht, W. (1975). J. Phys. Chem., 79, 276.
94. Lapinte, C. & Viout, P. (1972). Tetrahedron Lett., 4221.
95. Larsen, J.W., Magid, L.J. & Payton, V. (1973). Tetrahe-
dron Lett., 2663.
96. Larsen, J.W. & Tepley, L.B. (1976). J. Org. Chem., 41,
2968.
97. Lewis, S.D., Johnson, F.A. & Shafer, J.A. (1976). Bio-
chemistry, 15, 5009.
98. Lindblom, G., Lindman, B. & Mandell, L. (1973). J. Coll.
Interf. Sci., 42, 400.
99. Lindman, B. & Brun, B. (1973). J. Coll. Interf. Sci.,
42, 388.
100. Lindman, B., Kamenka, N. & Brun, B. (1974). C.R. Acad.
Sci. Ser. C., 278, 393.
101. Martin, R.B. & Hedrick, R.I. (1962). J. Am. Chem. Soc.,
84, 106.
102. Martin, R.B., Hedrick, R.I. & Parcell, A. (1964). J. Org.
Chem., 29, 3197.
103. Martin, R.B., Lowey, S., Elson, E.L. & Edsall, J.T.
(1959). J. Am. Chem. Soc., 81, 5089.

104. Martin, R.B. & Parcell, A. (1961). J. Am. Chem. Soc.,
83, 4830.
105. Martinek, K., Osipov, A.P., Yatsimirski, A.K. & Bere-
zin, I.V. (1975). Tetrahedron, 31, 709.
106. Menger, F.M., Donohue, J.A. & Williams, J.R. (1973).
J. Am. Chem. Soc., 95, 286.
107. Menger, F.M. & Lynn, J.L. (1975). J. Am. Chem. Soc.,
97, 948.
108. Metrione, R.M., Johnston, R.B. & Seng, R. (1967). Arch.
Biochem. Biophys., 122, 137.
109. Meyer, G. (1972). Tetrahedron Lett. 4581.
110. Miller, J. (1968). "Aromatic Nucleophilic Substitution".
Elsevier, New York.
111. Mittal, K.L. ed. (1977). "Micellization, Solubilization
and Microemulsions". Vol. 1 & 2. Plenum, Press, New
York.
112. Moss, R.A., Lee, Y-S & Lukas, T.J. (1979). J. Am. Chem.
Soc., 101, 2499.
113. Mukerjee, P., Mysels, K.J. & Dulin, C.I. (1958). J. Phys.
Chem., 62, 1390.
114. Nakagawa, T. & Jizimoto, H. (1972). Kolloid Z.Z. Polym.,
250, 594.

115. Niehaus, W.G. (1974). Bioorg. Chem., 3, 302.
116. Noda, L.H., Kuby, S.A. & Lardy, H.A. (1953). J. Am. Chem. Soc., 75, 913.
117. Oakes, J. (1971). Nature (London) 231, 38.
118. Ohnishi, S., Cyr, T.J.R. & Fukushima, H. (1970). Bull. Chem. Soc. Jpn., 43, 673.
119. Parfitt, G.D. & Wood, A. (1969). Kolloid Z.Z. Polym., 229, 55.
120. Pascal, I. & Tarbell, D.S. (1957). J. Am. Chem. Soc., 79, 6015.
121. Politi, M., Cuccovia, I.M., Chaimovich, H., Almeida, M. L.C., Bonilha, J.B.S. & Quina, F.H. (1978). Tetrahedron Lett., 115.
122. Polnaszek, C.F. (1978). Quart. Rev. Biophys. submetido
123. Polnaszek, C.F. & Freed, J.H. (1975). J. Phys. Chem., 79, 2283.
124. Quina, F.H. (1977). Tese de Livre Docência, Instituto de Química, Universidade de São Paulo.
125. Quina, F.H. & Chaimovich, H. (1979). J. Phys. Chem., 83, 1844.
126. Quina, F.H., Politi, M.J., Cuccovia, I.M., Baumgarten, E., Martins-Francheti, S. & Chaimovich, H. (1979). submetido à publicação.

127. Romsted, L.R. (1975). PhD Thesis. Dept. Chem. Indiana University. Bloomington Indiana.
128. Romsted, L.R. & Cordes, E.H. (1968). J. Am. Chem. Soc., 90, 4404.
~~
129. Ross, S.D. (1963). Progr. Phys. Org. Chem., 1, 31.
~
130. Schales, O. & Schales, S.S. (1941). J. Biol. Chem., 140, 879.
~~~
131. Schreier, S., Ernandes, J.R., Cuccovia, I. & Chaimovich, H. (1978). J. Mag. Resn., 30, 283.  
~~
132. Schreier-Muccillo, S., Marsh, D. & Smith, I.C.P. (1976) Arch. Biochem. Biophys., 172, 1.  
~~~
133. Seelig, J. (1970). J. Am. Chem. Soc., 92, 3881
~~
134. Shinitzky, M. Dianoux, A.C., Gitler, C. & Weber, G. (1971). Biochemistry, 10, 2106.
~~
135. Shinkai, S. & Kunitake, T. (1976). Bull. Chem. Soc. Jpn., 49, 3219.
~~
136. Smith, D.H. (1979). J. Coll. Interf. Sci., 68, 70.
~~
137. Sparlin, S., Hinze, W. & Armstrong, D.W. (1977). Analytical Lett., 10, 997.
~~
138. Stockton, G.W., Polnaszek, C.F., Tulloch, A.P., Hasan, F. & Smith, I.C.P. (1976). Biochemistry, 15, 954.
~~

139. Sukenik, C.N., Weissman, B-A. & Berman, R.G. (1975).
J. Am. Chem. Soc., 97, 445.
140. Tachiya, M. (1975). Chem. Phys. Lett., 36, 289.
141. Tagaki, W., Amada, T., Yamashita, J. & Yano, J. (1972).
Chem. Comm. 1131.
142. Takahashi, H., Nakayama, Y., Hori, H., Kihara, K., Okabayashi, H. & Okuyama, M. (1976). J. Coll. Interf. Sci., 54, 102.
143. Tanford, C. (1974). J. Phys. Chem., 78, 2469.
144. Tong, L.K.J. & Glesman, M.C. (1957). J. Am. Chem. Soc.,
79, 4305.
145. Waggoner, A.S., Griffith, O.H. & Christensen, C.R.(1967).
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 57, 1198.
146. Waggoner, A.S., Kieth, A.D., & Griffith, O.H. (1968).
J. Phys. Chem., 72, 4129.
147. Wieland, T. & Bokelman, F. (1952). Ann. Chem., 576, 20.
148. Wieland, T. & Horning, H. (1956). Ann. Chem., 600, 12.
149. Williams, E., Sears, B., Allerhand, A. & Cordes, E.H.
(1973). J. Am. Chem. Soc., 95, 4871.
150. Williams, R.J., Philips, J.N. & Mysels, K.J. (1955).
Trans. Faraday Soc., 51, 728.

151. Yatsimirski, A.K., Martinek, K. & Berezin, I.V. (1971).
Tetrahedron, 27, 2855.
152. Yatsimirski, A.P., Osipov, A.P., Martinek, K. & Berezin,
I.V. (1975). Kolloid Zhurn (Russ) 37, 526.