

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO  
CAMPUS MORRINHOS  
LICENCIATURA EM QUÍMICA

JULIANA MOREIRA SILVA

**PREDIÇÃO TEÓRICA DOS VALORES DE pKa PARA DERIVADOS DE  
ANILINAS E AMINAS APLICANDO MODELOS CONTÍNUOS DE  
SOLVATAÇÃO**

Morrinhos  
2018

JULIANA MOREIRA SILVA

**PREDIÇÃO TEÓRICA DOS VALORES DE  $pK_a$  PARA DERIVADOS DE  
ANILINAS E AMINAS APLICANDO MODELOS CONTÍNUOS DE  
SOLVATAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de Licenciatura  
em Química do Instituto Federal de  
Educação, Ciência e Tecnologia  
Goiano – *Campus Morrinhos*, como  
requisito parcial para a obtenção do  
grau em Licenciado em Química.

Orientadora:

Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup> Bruna Luana Marcial

Morrinhos  
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos**

S586p Silva, Juliana Moreira.

Predição Teórica dos valores de pKa: para derivados de anilinas e aminas aplicando modelos contínuos de solvatação.  
/ Juliana Moreira Silva. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2017.  
52 f. : il. color.

Orientadora: Dra. Bruna Luana Marcial.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Licenciatura em Química, 2017.

1. Cálculos Teóricos. 2. DFT. 3. Modelos de Solvatação.  
I. Marcial, Bruna Luana. II. Instituto Federal Goiano. Curso de Licenciatura em Química. III. Título

CDU 544.353.2

JULIANA MOREIRA SILVA

**PREDIÇÃO TEÓRICA DOS VALORES DE  $pK_a$  PARA DERIVADOS DE  
ANILINAS E AMINAS APLICANDO MODELOS CONTÍNUOS DE  
SOLVATAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus Morrinhos*, como requisito parcial para a obtenção do grau em Licenciado em Química.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup> Bruna Luana Marcial

---

Prof.<sup>a</sup>Dr.<sup>a</sup> Emmanuela Ferreira de Lima

---

Prof. Dr. Vytor Pinheiro Oliveira

Morrinhos  
2018

Em memória de Allan Moreira Silva,  
amado irmão e amigo.

## AGRADECIMENTOS

É difícil agradecer a todos que, de algum modo, fizeram parte desta jornada. Foram tantos momentos que me trouxeram aqui que seria impossível expressar minha gratidão aos que sempre estiveram ao meu lado, então agradeço de coração.

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por permitir que mais esta etapa fosse concluída, apesar das dificuldades.

À minha orientadora Prof.<sup>a</sup>. Bruna pela extrema paciência que teve comigo nestes últimos quatro anos, e principalmente na realização deste trabalho. Não tenho palavras para expressar o reconhecimento e admiração que tenho por ti. Agradeço acima de tudo, por acreditar e não desistir de mim e nem me deixar desistir, obrigada pelo apoio, compreensão e amizade durante esta jornada.

À Prof.<sup>a</sup>. Emmanuela que se tornou mais que uma professora, foi um ombro amigo inestimável. Obrigada pelas inúmeras portas que me mostrou, me aconselhando sobre caminhos que poderia seguir. Tenho orgulho de ter trabalhado contigo nos últimos anos e agradeço por possibilitar este vínculo maravilhoso que levarei por toda minha vida.

Um agradecimento especial ao Prof. Dr. Leonardo Aparecido de Souza do Departamento de Química da Universidade Federal Fluminense, por disponibilizar o acesso ao pacote Gaussian<sup>®</sup> para realização deste trabalho.

À Prof.<sup>a</sup>. Sandra que sempre ofereceu sua sala para meus desabafos constantes quando a confusão era insuportável.

A todos os professores e técnicos do núcleo de química por me proporcionarem experiências únicas para meu desenvolvimento acadêmico e pessoal. Em especial ao professor Antonio, pelas palavras de conforto nos momentos mais difíceis.

Às minhas amigas Laury e Fran pelos dois anos em que me acolheram em sua casa. Pelas palavras de conforto quando o medo era mais forte. Pelas válvulas de escape quando a pressão da graduação era demais para suportar. Por todos os momentos que compartilhamos e que não caberiam aqui.

À minha amiga Alejandra, por me ensinar os motivos pelos quais se deve lutar. Pelo conforto e paz que me proporcionou nos últimos anos. Pelo dom de me fazer sorrir, mesmo quando também está mal. Sua amizade é inestimável para mim. Você, com seu jeito louco, acabou se tornando parte permanente da minha vida e eu agradeço todos os dias por isso.

À minha “amida” Lidiane. Não importa quanto tempo passe, ou os problemas que tivermos, eu sempre vou estar lá para você, assim como você tem estado para mim. Sem sua amizade a graduação teria sido muito entediante.

Aos meus amigos Bruno, Yasmin e Leonardo, que se tornaram essenciais nos momentos em que o IF quase se tornou nossa primeira casa. E também ao Marden, pela ajuda durante os momentos de finalização deste trabalho.

Aos meus amigos, Yorrana, Vanda, Alexia, Kelly e Hiury que tornaram os anos na graduação inenarráveis.

A minha amiga Ana Carlyne que mesmo distante conseguiu estar presente em todos os momentos.

A todos meus amigos do “Chalé”, por tudo o que compartilhamos nesses três longos anos. Em especial para Karolyne, Wini, Willi, Fer, João e Manu, que fizeram estes momentos inesquecíveis.

Ao meu amigo Maykon, por ser exatamente o que eu preciso.

Ao meu pai que, nos dias bons, tentou estar presente e me apoiou. Fez de tudo para que eu tivesse um futuro e a família que ele nunca teve.

À minha mãe maravilhosa que, mesmo sem o ensino fundamental é minha maior professora. Obrigada por me fazer manter os pés no chão, por me ensinar tudo o que pôde, me apoiando a cada passo e me amparando nas inúmeras vezes em que caí.

E por último, a pessoa mais importante da minha vida, meu melhor amigo e irmão, Luiggi por me entender como ninguém. Com seu jeito especial me deu força e coragem para enfrentar os obstáculos. Ajudou-me em cada tropeço, cuidou de mim em cada passo do caminho. Esta conquista é mais sua do que minha.

*[...] alguns fracassos na vida são inevitáveis. É impossível viver sem fracassar em algo, a não ser que você viva tão cautelosamente que é como se você nem estivesse vivendo — o que também é um fracasso.*

*Joanne Kathleen Rowling*

## RESUMO

Diversas metodologias vêm sendo extensivamente estudadas e empregadas para o cálculo teórico do  $pK_a$  em sistemas simples e complexos visando as mais diversas aplicações na ciência, especialmente na farmacologia, tendo em vista que esta é uma das propriedades físico-químicas mais fundamentais no desenvolvimento de novos fármacos. Dentro dos métodos computacionais de predição mais recentes destaca-se a aplicação de cálculos de primeiros princípios para as espécies envolvidas na reação de transferência de prótons diretamente em solução, evitando a necessidade do uso do ciclo termodinâmico (CT), essa aproximação é chamada de método direto. Neste trabalho o método direto, empregando DFT e modelos contínuos de solvatação, foi aplicado na predição dos valores de  $pK_a$  para uma série de moléculas derivadas de aminas primárias, secundárias e terciárias, bem como um conjunto de anilinas *orto/para* substituídas e ainda dois fármacos comerciais que possuem funções nitrogenadas, o paracetamol e a sulfadiazina. As estruturas selecionadas foram otimizadas nas formas neutra e protonada, utilizando DFT com o funcional híbrido B3LYP e o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p), em solução aquosa aplicando modelo de solvatação SMD. Foi analisado o efeito estrutural e dos substituintes nos valores do  $pK_a$ . Os dados experimentais foram comparados com os resultados obtidos, para verificar a precisão do método. Os resultados obtidos para os derivados das aminas apresentam desvios menores que duas unidades de  $pK_a$ , os erros para os derivados das anilinas e para as moléculas dos fármacos foram da ordem de 3-5 unidades de  $pK_a$  em relação ao valor experimental. Esses resultados sugerem que a combinação do método direto com o nível B3LYP/6-31+G(d,p):SMD não foi capaz de prever com acurácia aceitável o  $pK_a$  de moléculas complexas. No entanto, os métodos foram eficientes na predição do  $pK_a$  das aminas e em ambos os sistemas estudados foi possível fazer uma relação direta dos valores de  $pK_a$  e o efeito dos substituintes na propriedade.

**Palavras Chaves:** Cálculos teóricos, Predição teórica do  $pK_a$ , modelos de solvatação.

## ABSTRACT

Several methodologies have been extensively studied and used for the theoretical calculation of  $pK_a$  in simple and complex systems aiming the most diverse applications in science, specially in pharmacology, considering that this is one of the most fundamental physicochemical properties in the development of new drugs. Among the most recent computational methods of  $pK_a$  prediction, emerge the application of first principles calculations for the species involved in the protons transfer reaction directly in solution, avoiding the necessity of the thermodynamic cycle (TC), the approach is named direct method. In this work the direct method, using DFT and continuum solvation methods, were applied to predict the  $pK_a$  values for a series of primary, secondary and tertiary amine derivatives, as well as a set of *ortho/para* substituted anilines and two commercial drugs which have nitrogen functions, paracetamol and sulfadiazine. The selected structures were optimized in the neutral and protonated forms, using DFT with the hybrid functional B3LYP and the set of basic functions 6-31+G(d, p), in aqueous solution applying the SMD solvation model. The substituent and the structure effect on the  $pK_a$  values were analyzed. The experimental data were compared with the results obtained, to verify the method accuracy. The results obtained for the amine derivatives showed deviations less than two  $pK_a$  units, the errors for the anilines derivatives and the drug molecules were around 3-5  $pK_a$  units in compare to the experimental values. These results suggest that the combination of direct method with the theory level B3LYP/6-31+G(d,p):SMD was not able to predict  $pK_a$  with acceptable accuracy for complexes molecules. However, the method was efficient to predict the  $pK_a$  for amines molecules and in both systems, it was possible to make a direct relation of the  $pK_a$  values and the substituents effect on the property.

**Key Words:** Theoretical calculations, Theoretical prediction of  $pK_a$ , Solvation models.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Variação do $pK_a$ para diferentes aminas. ....	17
Figura 2: Variação do $pK_a$ a partir de mudanças na posição do substituinte. ....	17
Figura 3: Ciclo termodinâmico para um ácido genérico $BH^+$ . ....	18
Figura 4: Estrutura do conjunto de aminas estudadas neste trabalho. ....	21
Figura 5: Estrutura do conjunto de anilinas estudadas neste trabalho. ....	22
Figura 6: Estrutura da molécula <b>8</b> otimizada no nível B3LYP/6-31+G(d,p). ....	27
Figura 7: Correlação entre $pK_a$ calculado e $pK_a$ experimental. ....	28
Figura 8: Valores de $pK_a$ para algumas aminas alifáticas (ZHANG, 2012). ....	29
Figura 9: Estruturas de ressonância para a molécula <b>13</b> (BRUICE, 2006 <sup>b</sup> ). ....	30
Figura 10: Estruturas de ressonância para a molécula de anilina. ....	31
Figura 11: Ressonância de elétrons $\pi$ provocada pela adição do grupo nitro na posição para da anilina. ....	32
Figura 12: Estruturas otimizadas da p-dimetilamino anilina protonada (a) e neutra (b) obtidas no nível B3LYP/6-31+G(d,p). ....	35
Figura 13: Valor de $pK_a$ experimental para a acetanilida (a) e valores de $pK_a$ calculados para as moléculas de o-acetamida (b) e p-acetamida (c). ....	36
Figura 14: Definição dos parâmetros estruturais (a) distância R(C-N) (b) Ângulo $\theta$ ( $\angle H-N-H$ ). ....	38
Figura 15: Reação de síntese do paracetamol, utilizando acetilação com anidrido acético. ....	41
Figura 16: Molécula de prontosil. ....	42
Figura 17: Molécula de sulfadiazina. ....	43
Figura 18: Reação de dissociação da sulfadiazina (SANLI et al., 2010). ....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Visão geral dos pontos fortes (++) e fracos (--) para os métodos de obtenção do $pK_a$ .....	16
Tabela 2: Valores da variação da energia Livre de Gibbs em solução ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ), considerando o modelo de solvatação SMD, e os valores de $pK_a$ experimentais e calculados para as aminas descritas na Figura 4.....	26
Tabela 3: Classificação dos substituintes escolhidos em relação a sua capacidade de doar ou retirar elétrons para/do anel aromático. ....	33
Tabela 4: Valores da variação da energia Livre de Gibbs em solução ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) e os valores de $pK_a$ experimentais e calculados para os derivados de anilinas na posição orto. ....	33
Tabela 5: Valores da variação da energia Livre de Gibbs em solução ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) e os valores de $pK_a$ experimentais e calculados para os derivados de anilinas na posição para. ....	34
Tabela 6: Valores de Raio atômico ( $\text{\AA}$ ) para os halogênios (F, Cl e Br) e valores de $pK_a$ experimentais e calculados para os derivados de anilinas orto e para-halogênio substituídos. ....	37
Tabela 7: Comprimento da ligação ( $\text{\AA}$ ) e ângulo de ligação ( $^\circ$ ) calculados para a molécula de anilina e para as orto-anilinas no nível B3LYP/6-31+G(d,p).....	38
Tabela 8: Comprimento da ligação ( $\text{\AA}$ ) e ângulo de ligação ( $^\circ$ ) calculados para as para-anilinas no nível B3LYP/6-31+G(d,p). ....	39
Tabela 9: Classificação das sulfas. ....	42
Tabela 10: Valores da variação da energia Livre de Gibbs em solução ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) e os valores de $pK_a$ experimentais e calculados para os fármacos.....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>K<sub>a</sub></b>	Constante de acidez
<b>T</b>	Temperatura
<b>CT</b>	Ciclo termodinâmico
<b><math>\Delta G_{aq}^0</math></b>	Variação da Energia Livre de Gibbs em solução
<b><math>\Delta G_g^0</math></b>	Variação da Energia Livre de Gibbs em fase gasosa
<b><math>\Delta G_{solv}^0</math></b>	Variação da Energia Livre de Gibbs de solvatação
<b><math>\Delta G^{basicity}</math></b>	Variação da Energia de Livre de Gibbs entre a espécie protonada e neutra em solução aquosa.
<b>DFT</b>	Density Functional Theory
<b>B3LYP</b>	Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr.
<b>SMD</b>	Solvation Model–Density
<b>SEP</b>	Superfície de Energia Potencial
<b>PCM</b>	Polarizable Continuum Model
<b>IEF-PCM</b>	Integral Equation Formalism Polarizable Continuum Method

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1. Definição de $pK_a$ .....	14
1.2. Importância do $pK_a$ .....	16
1.3. Predição Teórica do $pK_a$ .....	18
2. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICO.....	23
3. METODOLOGIA DE EXECUÇÃO.....	23
3.1. Obtenção das geometrias e propriedades termodinâmicas.....	23
3.2. Inclusão do solvente: Modelo Contínuo de Solvatação.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1. Cálculo do $pK_a$ para Aminas.....	26
4.1.1. Efeito estrutural no $pK_a$ .....	28
4.2. Cálculo do $pK_a$ para Anilinas.....	31
4.2.1. Efeito dos Substituintes em diferentes posições.....	35
4.2.2. Análise Estrutural.....	37
4.3. Aplicação do Método às Moléculas de Medicamentos.....	40
4.3.1. Paracetamol.....	40
4.3.2. Sulfadiazina.....	41
4.3.3. Valores de $pK_a$ calculados.....	44
5. CONSIDERAÇÕES E PERSPECTIVAS.....	45
6. REFERÊNCIAS.....	48

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Definição de $pK_a$

Uma das reações químicas fundamentais conhecidas é a que envolve a transferência de prótons em solução. Das definições ácido-base existentes, a de Lewis é a mais geral e envolve a troca de pares de elétrons entre duas espécies, onde a base é a espécie com pares de elétrons passíveis de serem doados, e o ácido a que aceitará o par de elétron. Entretanto, em reações envolvendo compostos orgânicos, é mais comum a utilização da definição de Brønsted-Lowry, que envolve a capacidade de doar ou aceitar prótons. Nesta definição, o ácido é a espécie capaz de doar prótons e a base é a espécie que receberá o próton. A reação associada ao equilíbrio ácido-base de Brønsted-Lowry é mostrada abaixo.



Onde, em solução, o ácido  $BH^+$  dissocia-se na base conjugada B liberando um próton  $H^+$ . Para cada reação está associada uma constante de acidez ( $K_a$ ) que, para soluções diluídas, pode ser obtido a partir da seguinte expressão:

$$K_a = \frac{[B][H^+]}{[BH^+]} \quad (2)$$

Entretanto, é mais comum a expressão desta constante com seu logaritmo negativo, o  $pK_a$ .

$$pK_a = -\log K_a \quad (3)$$

A partir desta relação, quanto maior for o valor da constante de acidez, menor o valor do  $pK_a$  e mais ácido é o composto. E, para valores mais significativos, o pH de uma substância pode ser obtido a partir de seu  $pK_a$ , por meio da equação de Henderson-Hasselbalch, onde:

$$pH = pK_a + \log \left( \frac{[B]}{[BH^+]} \right) \quad (4)$$

Geralmente, os valores de  $pK_a$  são facilmente obtidos a partir de métodos experimentais. Desde 1900, com a potenciometria, o surgimento e aprimoramento das técnicas para obtenção do  $pK_a$  tem sido notável. Cada técnica possui o seu princípio básico para a determinação da propriedade, dentro das principais técnicas podemos citar: a Potenciometria (SIGEL; ZUBERBUHLER; YAMAUCHI, 1991); Condutometria (APELBLAT, 2002); Voltametria (KALVODA, 1994); Calorimetria (FENBY, 1987); Ressonância Magnética Nuclear (RABESTEINS; SAYER, 1976); Eletroforese (GLUCK; CLEVELAND, 1994); Cromatografia Líquida de Alta Performance (HORVÁTH; MELANDER; MOLNÁR, 1977); Partição e Distribuição (GOLUMBIC; ORCHIN; WELLER, 1949); Solubilidade (ZIMMERMAN, 1982); Espectrometria UV/Vis (HOLMES; SNYDER, 1925); Fluorometria (ROSENBERG; SIMONS; SCHULMAN, 1879); Polarimetria (KATZIN; GULYAS, 1960); Métodos Cinéticos (BUNNETT; NUDELMAN, 1969) e por fim, os métodos computacionais (SILVA; SILVA; NASCIMENTO, 1999).

Com a exceção da última, as demais técnicas citadas acima são experimentais e baseiam-se na interação da amostra com reagentes/equipamentos para a determinação da constante de acidez. No entanto, muitas espécies químicas são mais difíceis de serem caracterizadas experimentalmente, por exemplo, intermediários de reação, ácidos muito fortes/fracos ou bases com um  $pK_a$  fora da faixa de 0 e 14 em solução aquosa, o que dificulta o uso de métodos experimentais. Nesse sentido, a aplicação e o desenvolvimento de métodos computacionais na predição dos valores de  $pK_a$  tem sido amplamente discutido na literatura e usado por grandes companhias farmacêuticas no desenvolvimento de novos medicamentos, tendo em vista que esses métodos computacionais utilizam sequências matemáticas sem a necessidade de amostras físicas

(REIJENGA, et al., 2013; ALONGI; SHIELDS, 2010). A Tabela 1 ilustra algumas vantagens e desvantagens no uso das diferentes técnicas para determinação do  $pK_a$ .

Tabela 1: Visão geral dos pontos fortes (++) e fracos (--) para os métodos de obtenção do  $pK_a$ .

	Sensibilidade	Restrições	Faixa de $pK_a$	Custo/Tempo	Precisão
Potenciometria	-	+	--	++	+
Condutimetria	-	++	-	+	+
Voltametria	-	+	+	+	+
Calorimetria	-	++	++	+	+
RMN	-	-	++	--	++
Eletroforese	++	+	+	+	++
HPLC	++	+	-	+	+
Solubilidade	-	-	+	--	+
UV/Vis	+	+	+	+	++
Fluorometria	+	-	+	+	--
Polarimetria	+	--	+	+	+
Cinética	--	--	-	-	+
Computacional	++	-	++	-	--

(Adaptada de REIJENGA, et al., 2013).

## 1.2. Importância do $pK_a$

O  $pK_a$  de um fármaco influencia em diversos fatores de importância biológica, como permeabilidade, solubilidade, lipofilicidade, absorção, distribuição, metabolismo e excreção (MANALLACK, 2007). O  $pK_a$  das moléculas pode variar a depender de suas características em relação à polaridade e em relação ao solvente considerado. No entanto, a estrutura molecular é o fator que mais influencia no  $pK_a$  de um composto. Em geral, os fatores estruturais modificam a distribuição eletrônica dos compostos alterando a disponibilidade do próton em solução, exemplo claro dessa influência pode ser notado para as aminas alifáticas, que possuem  $pK_a$  mais alto que aminas aromáticas (Figura 1).

Isto ocorre devido ao efeito da deslocalização de pares de elétrons  $\pi$  do anel aromático, uma vez que a basicidade do composto diminui à medida que o caráter  $s$  da ligação aumenta. Entretanto, esta ressonância em aminas aromáticas ocorre somente na forma neutra.

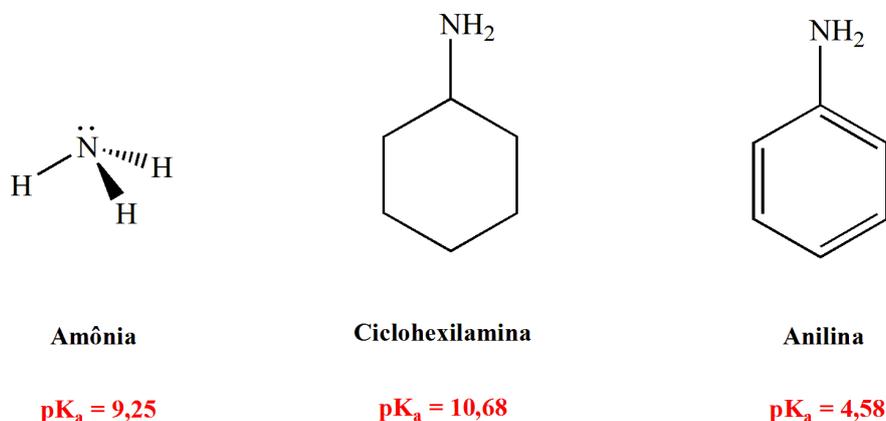


Figura 1: Variação do  $pK_a$  para diferentes aminas.

De maneira geral, em compostos aromáticos quando há substituintes no anel as propriedades são alteradas, e com o  $pK_a$  não seria diferente (GROSS; SEYBOLD, 2000). Grupos retiradores de elétrons, como halogênios (Cl, F, Br, I) e  $NO_2$  favorecem certas estruturas de ressonância em compostos aromáticos, de acordo com a posição em que estão, em relação ao grupo principal, alterando a distribuição eletrônica na molécula (Figura 2). Neste sentido, é possível analisar a influência da estrutura no  $pK_a$  de aminas alifáticas e aromáticas, com a introdução de grupamentos mais ou menos volumosos nas aminas alifáticas, que podem alterar o efeito da solvatação da molécula, e grupos doadores e/ou retiradores de elétrons, no caso das aminas aromáticas.

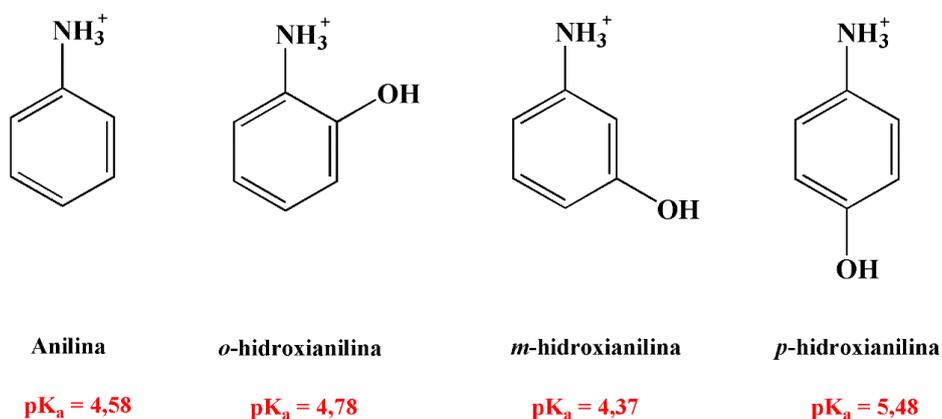


Figura 2: Variação do  $pK_a$  a partir de mudanças na posição do substituinte.

A química computacional tem representado uma ferramenta valiosa na predição e elucidação do  $pK_a$  e a avaliação dos efeitos eletrônicos provocado por essas alterações estruturais.

### 1.3. Predição Teórica do $pK_a$

O  $pK_a$  de uma espécie em solução varia, além da pressão e concentração, com a temperatura (T) do sistema. Nesse sentido é possível expressar seu valor a partir da variação da energia livre de Gibbs do processo em solução ( $\Delta G_{aq}$ ), que pode ser obtida mediante um ciclo termodinâmico (CT) ilustrado na Figura 3.

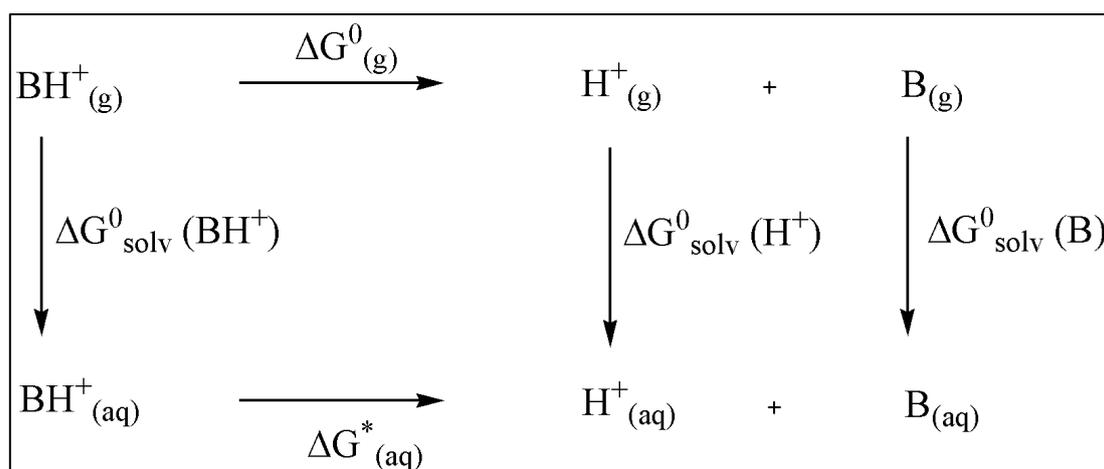


Figura 3: Ciclo termodinâmico para um ácido genérico  $BH^+$ .

O ciclo termodinâmico representado acima descreve a reação química da Eq. (1) ocorrendo em solução aquosa e em fase gasosa. Neste sistema  $\Delta G_{aq}^*$  representa a variação na energia livre de Gibbs desta reação em meio aquoso;  $\Delta G_g^0$  é a variação de energia livre na fase gasosa e  $\Delta G_{solv}^0$  é a variação da energia livre de solvatação das espécies envolvidas no processo. O valor de  $\Delta G_{aq}^*$  pode ser calculado como:

$$\Delta G_{aq}^* = -RT \ln K_a \quad (5)$$

Combinado as Eq. (3) e (5) obtém-se:

$$pK_a = \frac{\Delta G_{aq}^*}{2,303RT} \quad (6)$$

A energia livre de Gibbs é uma função de estado e, portanto, pode ser obtida do CT ilustrado acima, como:

$$\Delta G_{aq}^* = \Delta G_g^0 + [\Delta G_{solv}^0(B) + \Delta G_{solv}^0(H^+) - \Delta G_{solv}^0(BH^+)] \quad (7)$$

Sendo que,

$$\Delta G_g^0 = G_g^0(B) + G_g^0(H^+) - G_g^0(BH^+) \quad (8)$$

O terceiro termo da Eq. (7) corresponde à energia livre de solvatação para o próton e foi obtido da literatura recente, para  $T = 298,15$  K e 1 atm equivale a  $\Delta G_{aq}(H^+) = -270,29$  kcal/mol. Para calcular a variação da energia livre de Gibbs em fase gasosa, segundo termo da Eq (8), foi usado o valor da energia livre do próton de  $G_g(H^+) = -6.28$  kcal.mol<sup>-1</sup> a 298,15 K e 1 atm. A correção de  $RT \ln(RT/P)$  foi incluída no cálculo para correção do estado padrão de 1 atm para 1 M, representados pelos símbolos <sup>0</sup> e \*, respectivamente (SHIELDS; SEYBOLD, 2014).

A variação da energia livre de Gibbs em solução tem sido calculada na literatura usando diferentes ciclos termodinâmicos (GHALAMI-CHOOBAR, et al., 2012). Mais recentemente, HO e colaboradores têm discutido a eficiência de se calcular o  $\Delta G_{aq}^0$  diretamente do cálculo em solução evitando assim a necessidade de se realizar cálculos em fase gasosa (HO, 2015). Vários trabalhos recentes têm usado esta aproximação com

resultados promissores e aplicáveis para diferentes sistemas orgânicos e inorgânicos (THAPA; SCHLEGEL, 2016). Esses trabalhos têm avaliado não somente a acurácia dos níveis de teoria aplicados, mas, sobretudo a influência do solvente e dos substituintes nos valores das constantes de ionização e, portanto, na atividade biológica das moléculas (ECKERT; KLAMT, 2006; GHALAMI-CHOOBAR, et al., 2012, SHIELDS; SEYBOLD, 2014).

O método direto considera apenas a reação ocorrendo em solução aquosa (segunda equação na Figura 3), dessa forma temos:

$$pK_a = \frac{\Delta G_{aq}^*}{2,303RT} = \frac{G_{aq}^*(B) + G_{aq}^*(H^+) - G_{aq}^*(BH^+)}{2,303RT} \quad (9)$$

Onde  $G_{aq}^*$  denota a energia Livre de Gibbs padrão das espécies protonadas e desprotonadas em solução. A diferença de energia entre essas espécies pode ser calculada e chamada de energia de basicidade,  $\Delta G^{basicity}$ .

$$\Delta G^{basicity} = G_{aq}^*(B) - G_{aq}^*(BH^+) \quad (10)$$

A energia do próton em solução é calculada como:

$$\Delta G_{aq}^*(BH^+) = G_g^0(H^+) + \Delta G_{aq,H^+}^* + \Delta G^{1atm \rightarrow 1M} \quad (11)$$

Nesse trabalho, foi aplicado o método direto, proposto por HO, para cálculo do  $pK_a$  para um conjunto de aminas primárias, secundárias e terciárias (Figura 4) bem como uma família de derivados de anilinas (Figura 5) usando métodos de estrutura eletrônica em conjunto com modelos contínuos de solvatação.

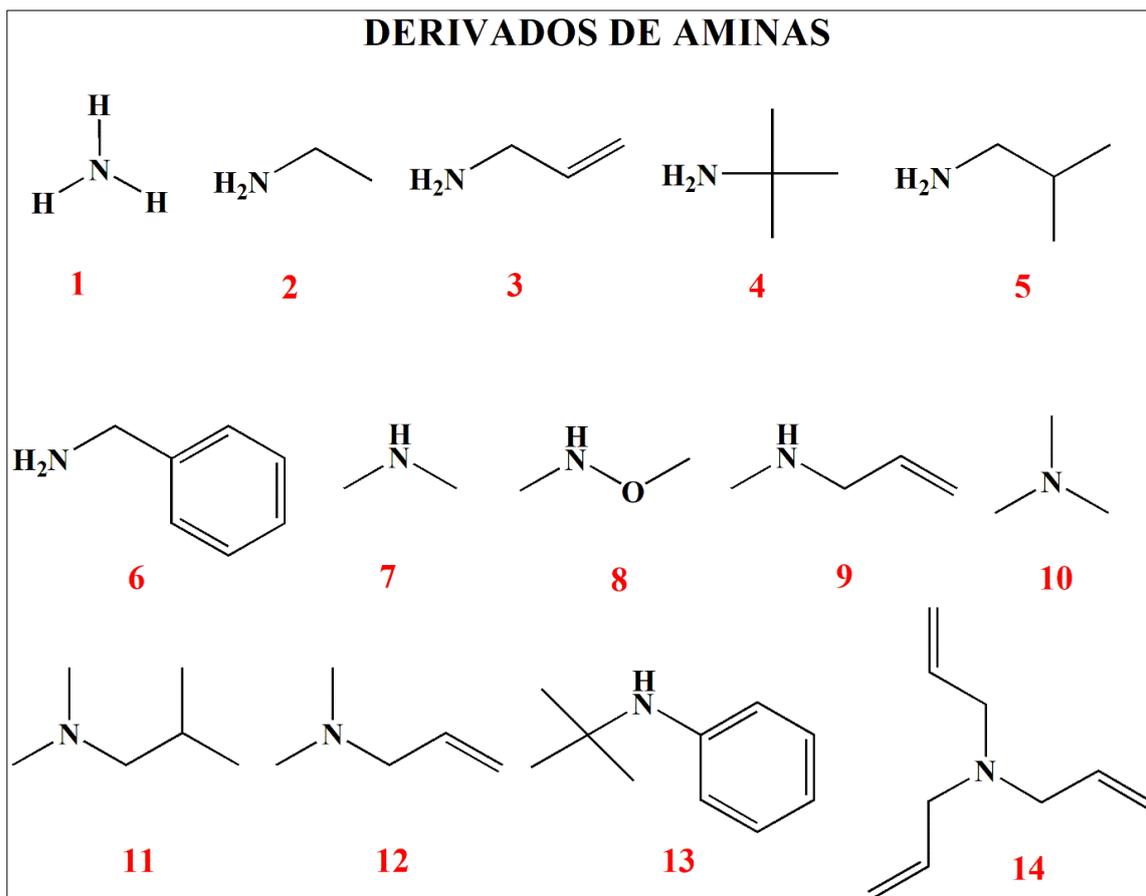


Figura 4: Estrutura do conjunto de aminas estudadas neste trabalho.

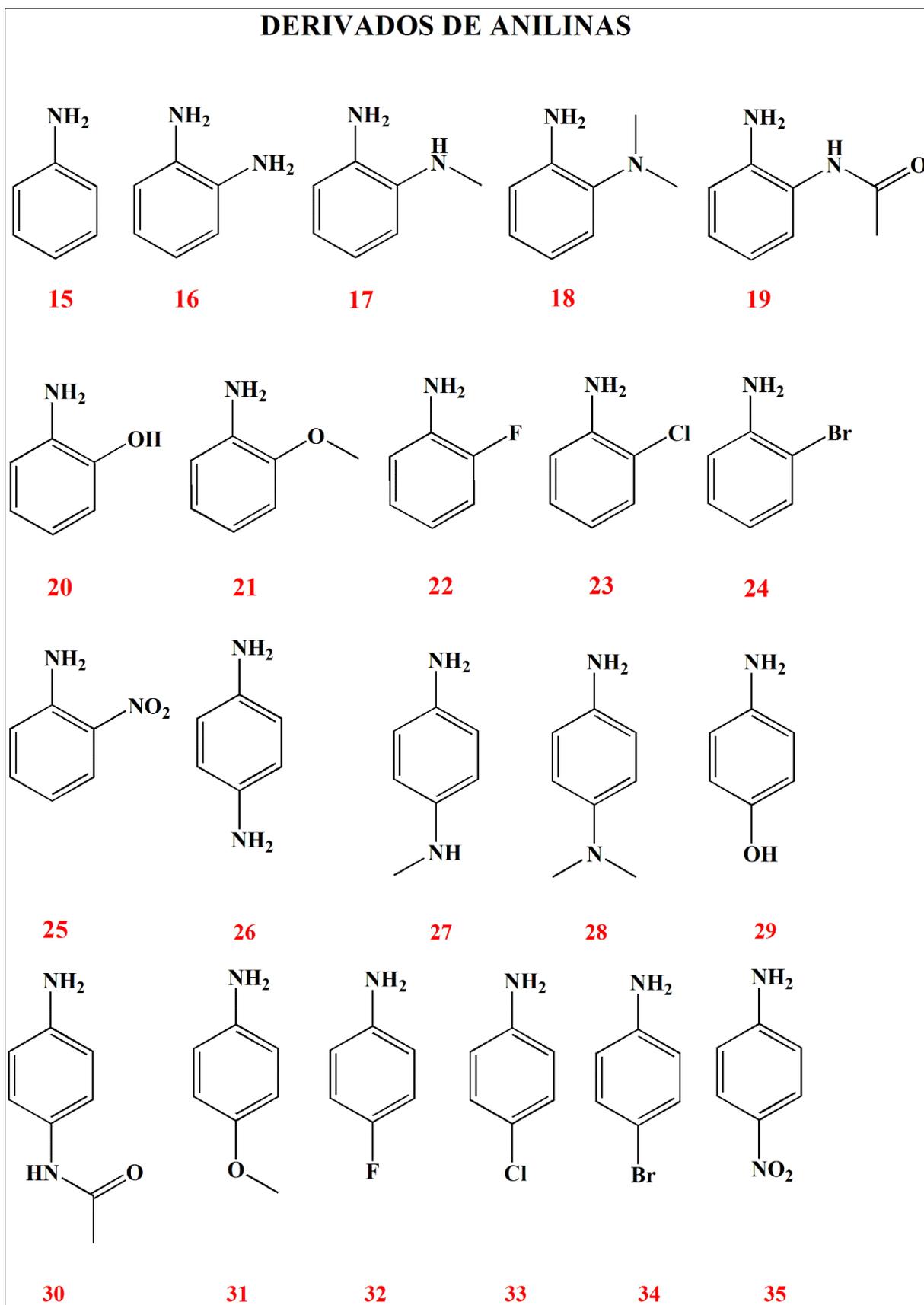


Figura 5: Estrutura do conjunto de anilinas estudadas neste trabalho.

## 2. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICO

O objetivo geral do presente projeto é explorar as metodologias teóricas, através de cálculos de primeiros princípios empregando DFT e métodos contínuos de solvatação, na predição dos valores de  $pK_a$  para um conjunto de aminas primárias, secundárias e terciárias, bem como uma família de derivados de anilinas para avaliar o efeito do substituinte na basicidade dos compostos, bem como a acurácia do nível de teoria no cálculo do  $pK_a$ . Como objetivo específico espera-se obter uma metodologia adequada para calcular  $pK_a$  de compostos nitrogenados (aminas e anilinas), que será testada para alguns fármacos derivados desses compostos e que estão disponíveis no mercado.

## 3. METODOLOGIA DE EXECUÇÃO

### 3.1. Obtenção das geometrias e propriedades termodinâmicas

As estruturas ilustradas nas Figuras 4 e 5 foram obtidas da literatura e otimizadas nas formas neutra e protonada aplicando o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) (ZHANG, 2012). Foi aplicado o funcional de densidade híbrido B3LYP, que gera menor custo computacional com resultados bem próximos dos obtidos experimentalmente, e o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p) para todos os átomos em solução aquosa utilizando o modelo de solvatação SMD (GHALAMI-CHOOBAR, 2012; ZHANG, 2012). Foram realizados cálculos de frequências harmônicas no mesmo nível de teoria para verificar que se tratava de mínimos na Superfície de Energia Potencial (SEP) e posterior obtenção das propriedades termodinâmicas para as espécies protonada ( $BH^+$ ) e desprotonada (B). Para todos os compostos foi considerada a reação de dissociação descrita na Eq. (1). Os cálculos foram realizados utilizando o pacote computacional Gaussian 09<sup>®</sup>, disponibilizado pelo professor Leonardo Aparecido de Souza do depto. de química da UFF.

### 3.2. Inclusão do solvente: Modelo Contínuo de Solvatação

Quando consideradas como gás ideal, as moléculas não interagem umas com as outras, tornando a descrição a partir de modelos teóricos bem simples. Entretanto, grande parte das interações ocorrem em solução, como por exemplo, em sistemas biológicos, havendo grande influência do solvente sobre o sistema. Dessa forma, a aplicação destes modelos teóricos é um pouco mais complicada (CRAMER, 2004). Existem diferentes formas de considerar o efeito do solvente durante o cálculo. O mais comum deles consiste em considerar um solvente como um contínuo dielétrico com uma descrição implícita do solvente, sem a adição de moléculas ao redor do soluto. Este método é chamado de modelo contínuo de solvatação. Uma segunda maneira é considerando moléculas em torno do soluto, o que torna o cálculo bem mais dispendioso, uma vez que se torna necessário o conhecimento total do arranjo tridimensional de solvatação (MORGON; COUTINHO, 2007).

A influência do solvente no modelo contínuo não se limita aos arredores do soluto, ou seja, as interações a longa distância também são consideradas. De acordo com Onsager (1936) no modelo contínuo o soluto é “colocado” em uma espécie de cavidade esférica dentro do solvente, que possui uma constante dielétrica. O modelo contínuo polarizável (PCM – do inglês *Polarizable Continuum Model*) descreve o soluto a partir de modelos quânticos e, segundo Tomasi, Mennucci e Cammi (2005), a cavidade no solvente é tratada como uma esfera com raio proporcional aos das forças de van der Waals em cada átomo. Entretanto, no pacote Gaussian, o método de solvatação utilizado é o IEF-PCM (*Integral Equation Formalism Polarizable Continuum Method*) que exige uma menor demanda computacional que o PCM e possui bons resultados na simulação de vários solventes isotrópicos, cálculos de energia e otimizações das geometrias (TOMASI, CAMMI, MENNUCCI, 1999).

Um método contínuo derivado do IEF-PCM é o modelo contínuo universal SMD (*solvation model density*) desenvolvido por Donald Truhlar e colaboradores (MARENICH; CRAMER; TRUHLAR, 2009) que trata qualquer soluto carregado ou neutro em solução, sendo bastante utilizado para o cálculo da energia livre de solvatação ( $\Delta G_{\text{solv}}$ ) com erros entre 0,6 e 1,0 kcal/mol em solutos neutros e 4 kcal/mol em solutos

iônicos. Neste trabalho foi aplicado o modelo SMD para inclusão do efeito do solvente em todas as reações estudadas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Cálculo do pK<sub>a</sub> para Aminas

Aminas são compostos derivados da amônia em que um hidrogênio (amina primária), dois (amina secundária), ou os três (amina terciária) foram substituídos por grupos alquila ou arila. Muitos compostos ativos em meio biológico costumam apresentar grupamentos amina, primárias, secundárias e terciárias, em sua forma alifática ou cíclica. Neste estudo adotamos moléculas com ambos os grupamentos, como mostra a Figura 4, para o cálculo do pK<sub>a</sub>. Os resultados obtidos para esse grupo de moléculas (Figura 4) estão disponíveis na Tabela 2, que apresenta os valores de pK<sub>a</sub> calculados ( $pK_a^{calc}$ ), bem como os valores experimentais ( $pK_a^{exp}$ ) disponíveis na literatura e a diferença entre eles ( $\delta pK_a$ ).

Tabela 2: Valores da variação da energia Livre de Gibbs em solução (kcal.mol<sup>-1</sup>), considerando o modelo de solvatação SMD, e os valores de pK<sub>a</sub> experimentais e calculados para as aminas descritas na Figura 4.

B3LYP 6-31+G (d,p)					
Molécula	$\Delta G^{basicity}$	$\Delta G_{aq}^*$	$pK_a^{exp}$	$pK_a^{cal}$	$\delta pK_a$
1	280,65	10,36	9,25	7,60	-1,65
2	285,10	14,81	10,63	10,86	0,23
3	283,57	13,28	9,49	9,74	0,25
4	285,72	15,43	10,68	11,32	0,64
5	284,95	14,66	10,68	10,75	0,07
6	283,57	13,28	9,34	9,74	0,40
7	284,57	14,28	10,77	10,48	-0,29
8	273,25	2,96	4,75	2,17	-2,58
9	284,04	13,75	10,11	10,08	-0,03
10	283,87	13,58	9,81	9,96	0,15
11	286,09	15,80	9,91	11,59	1,68
12	285,10	14,81	9,99	10,86	0,87
13	280,79	10,50	7,1	7,70	0,60
14	282,73	12,44	8,31	9,12	0,81

Os resultados obtidos sugerem boa concordância entre valores calculados e experimentais. Com exceção das moléculas **1**, **8** e **11**, que apresentam  $\delta pK_a$  maiores que uma unidade, as demais apresentam um erro abaixo de uma unidade de  $pK_a$ . Comumente, erros menores que 2 unidades de  $pK_a$  são aceitos como razoavelmente precisos enquanto que, erros maiores podem estar associados ao modelo de solvatação utilizado (SMD) (REBOLLAR-ZEPEDA; GALANO, 2012) entre outros fatores que podem influenciar na acuraria da predição do  $pK_a$ .

A geometria otimizada da molécula **8** está ilustrada na Figura 6, esta molécula é uma amina secundária, na qual o átomo de nitrogênio protonável encontra-se ligado a um átomo de oxigênio, que é bastante eletronegativo. O forte efeito da presença do oxigênio poderia contribuir para o aumento do erro na predição teórica do  $pK_a$  (Tabela 2). Uma forma de contornar este problema seria a adição de algumas moléculas explícitas de solvente (neste caso a água) próximas às regiões de alta densidade eletrônica, como no átomo de oxigênio, durante o cálculo usando o SMD. Este modelo de solvatação híbrido explícito-implícito também é conhecido como discreto-contínuo, ou modelo contínuo de cluster e vem sendo discutido e testado na literatura para diferentes sistemas moleculares (REBOLLAR-ZEPEDA; GALANO, 2012).

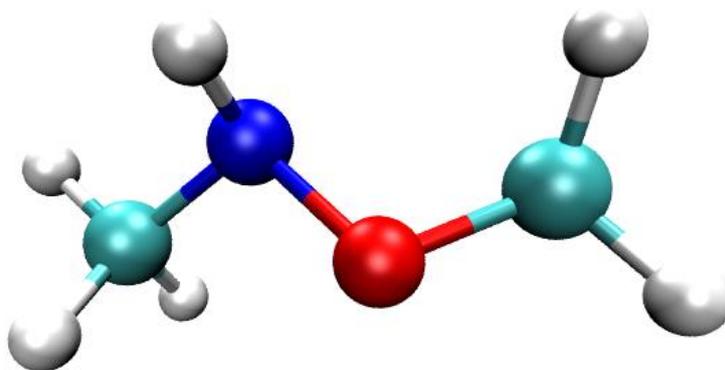


Figura 6: Estrutura da molécula **8** otimizada no nível B3LYP;6-31+G(d,p).

Os valores de  $pK_a$  calculados foram correlacionados com os valores experimentais como ilustrado na Figura 7. Nota-se uma tendência a linearidade dos valores de  $pK_a$ , embora com um certo grau de dispersão, proveniente da diferença entre o valor calculado e o valor de referência. Aplicando o ajuste linear ao gráfico, obteve-se

coeficiente de determinação de  $R^2 = 0,86$ . O grau de correlação sugere que a combinação de métodos aplicadas precisa ser refinada para essa classe de moléculas, no entanto a análise individual dos valores preditos sugere que os erros estão dentro da faixa de valores descritas para sistemas similares na literatura (ZHANG, 2012).

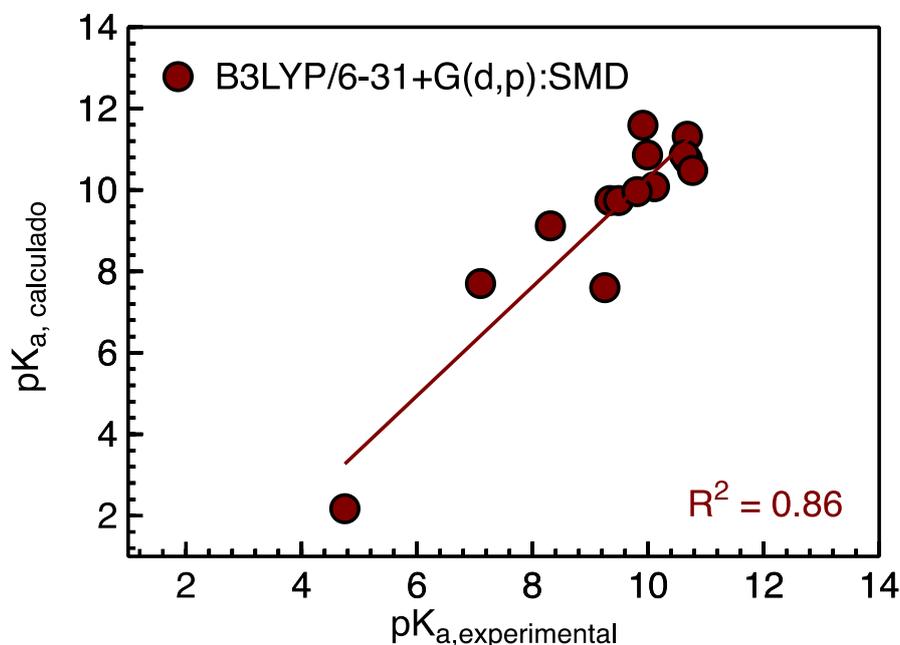
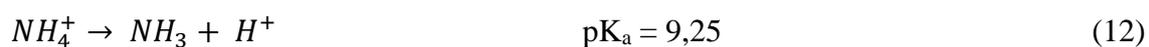


Figura 7: Correlação entre pKa calculado e pKa experimental.

#### 4.1.1. Efeito estrutural no pKa

Tendo em vista a importância da química que caracteriza as reações ácido-base e os efeitos estruturais na basicidade dos compostos avaliou-se o mesmo na família de aminas aqui estudadas. Tomando a amônia como base (Figura 4), o equilíbrio é regido pela seguinte reação:



Na molécula de amônia o átomo de nitrogênio possui hibridização  $sp^3$ , com um par isolado de elétrons, e todos os substituintes são hidrogênios, ela tem caráter básico. Porém, quando adicionados substituintes diferentes de hidrogênio ao nitrogênio, a

basicidade do composto pode aumentar, é o caso das aminas secundárias que possuem substituintes do tipo alquil, hidrocarbonetos com fórmula  $(C_nH_{2n+1})$ . Esses grupamentos alquílicos possuem maior efeito indutivo de elétrons (efeito doador de elétrons, +I) em relação ao átomo de nitrogênio, o que conseqüentemente aumenta a densidade eletrônica do átomo, deixando o par de elétrons isolados do nitrogênio mais disponível para formar ligações covalentes. Portanto, os valores de  $pK_a$ 's das aminas secundárias são maiores, como é observado experimentalmente, e também pode ser verificado a partir dos dados obtidos na Tabela 2 (DEWICK, 2006).

Observa-se também a tendência de  $pK_a$ 's menores em aminas terciárias (moléculas de **10**, **11**, **12** e **14**). Isto era esperado, uma vez que, em aminas terciárias os substituintes alquílicos dificultam a solvatação do átomo de nitrogênio, gerando menores valores de  $pK_a$ . Em geral, a basicidade em aminas obedece à seguinte ordem:



Esta ordem é melhor observada na Figura 8. A solvatação na trietilamina é dificultada devido ao número de substituintes, o que resulta em  $pK_a$ 's menores que em aminas alifáticas primárias e secundárias.

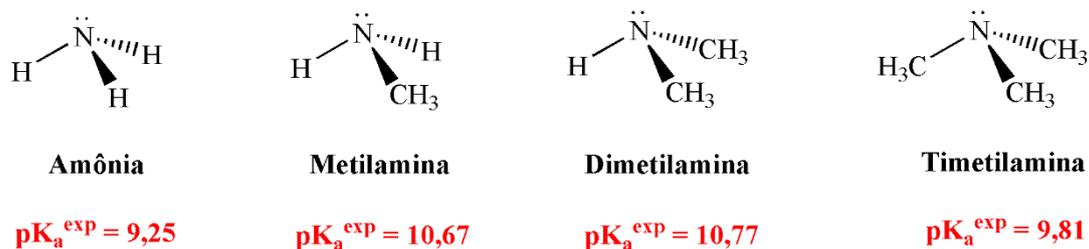


Figura 8: Valores de  $pK_a$  para algumas aminas alifáticas (ZHANG, 2012).

Esta ordem pode ser alterada quando são considerados alguns substituintes, como anéis aromáticos, duplas ligações próximas ao átomo de nitrogênio ou efeito de polarização do solvente. Como pode ser observado nas estruturas **3**, **6**, **13** e **14** (Figura 4). Por exemplo, na molécula **13**, o par de elétrons não ligantes do nitrogênio está em ressonância com o anel aromático, como mostrado abaixo:

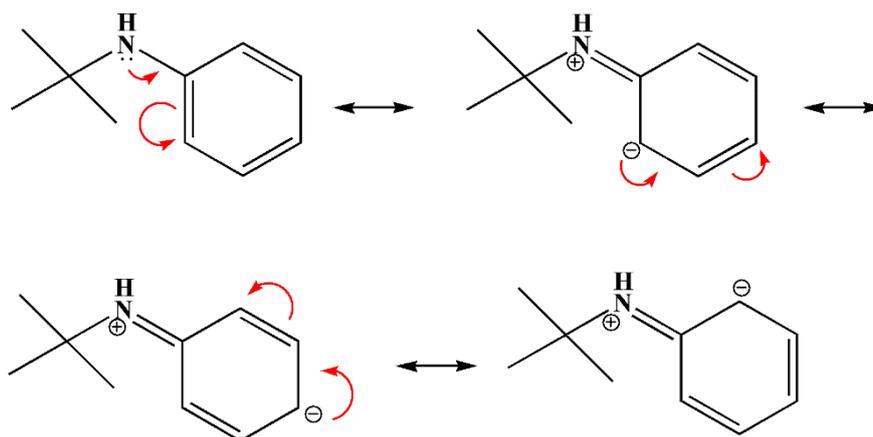


Figura 9: Estruturas de ressonância para a molécula **13** (BRUICE, 2006<sup>b</sup>).

Devido a esta deslocalização dos pares de elétrons o  $pK_a$  de aminas aromáticas, ou de aminas com cadeias insaturadas é menor do que em aminas alifáticas e com cadeias saturadas.

Juntamente com a molécula **13**, a molécula **14** apresenta  $pK_a$  bem menor do que o apresentado para os demais derivados de aminas considerados neste estudo (Tabela 2). O que é devido à configuração estrutural do composto. Sendo uma amina terciária, em solução, era de se esperar um decréscimo no  $pK_a$ , que também é afetado pelo alto grau de insaturação devido a presença das duplas ligações nas proximidades do átomo de nitrogênio (Figura 5).

Em moléculas mais simples, como as aminas consideradas, é mais fácil identificar o local de protonação e desprotonação e a influência estrutural na basicidade destes compostos, porém, à medida que a complexidade do sistema considerado aumenta, a predição teórica torna-se mais difícil, devido a um maior número de sítios passíveis de serem protonados.

A acidez ou basicidade de um composto em solução irá depender das propriedades do solvente empregado e o modelo de solvatação utilizado (nos métodos computacionais). Assim, a ordem de estabilidade aqui adotada é em meio aquoso. Em solventes apróticos ou apolares, a escala de basicidade seria alterada. A basicidade, ao contrário da acidez, envolve desestabilização do par de elétrons (no caso das aminas, o par de elétrons livres do nitrogênio). Assim, quanto mais instável o par de elétrons, mais básico é o composto. Esta mudança na basicidade pode ocorrer tanto por efeitos indutivos, como por

ressonância, quando são consideradas insaturações ou anéis aromáticos, que serão discutidos na próxima seção (RIVEROS, 1970).

## 4.2. Cálculo do $pK_a$ para Anilinas

A anilina (Figura 5) é uma amina primária não planar, formada por um grupo  $-NH_2$  ligado diretamente ao anel aromático, a uma distância aproximada de 1,4 Å em relação ao carbono do anel, formando um ângulo aproximado de 40° em relação ao plano do anel (GROSS; SEYBOLD, 2000).

A anilina e seus derivados costumam ser menos básicas que aminas alifáticas, com  $pK_a$ 's menores que 7 (ZHANG, 2012). O substituinte e a sua posição em relação ao grupamento amino influenciam diretamente no  $pK_a$  das anilinas, bem como na distância entre o  $-NH_2$  e o anel aromático e a angulação entre os átomos do grupo amino. Para verificar esta influência foram calculados os  $pK_a$ 's para diferentes derivados da anilina, bem como foram obtidos parâmetros estruturais dessas moléculas, que serão discutidos na seção 4.2.2. O fato das anilinas serem menos básicas que aminas alifáticas provêm da deslocalização de elétrons pelo anel aromático, obedecendo ao seguinte esquema de ressonância:

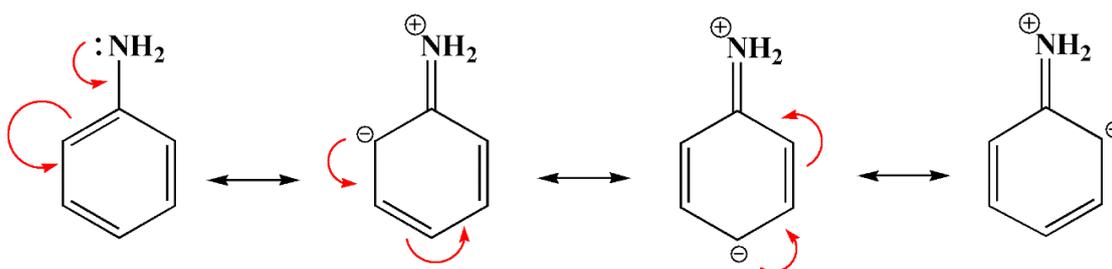


Figura 10: Estruturas de ressonância para a molécula de anilina.

Esta capacidade de doar elétrons ao anel, gerando as diferentes estruturas de ressonância, faz com que o grupo amino ligado ao anel seja fortemente ativante, tornando o anel benzênico mais reativo em substituições eletrofílicas e orientando o próximo grupo de substituinte preferencialmente nas posições *orto* ou *para*; ou seja, o grupo amino é *orto/para*-dirigente (BRUICE, 2006<sup>b</sup>). Nesse sentido, foram analisados dez substituintes

diferentes nas posições *orto* e *para* da molécula de anilina, e sua influência no  $pK_a$  do composto.

Quando substituintes retiradores de elétrons estão ligados ao anel aromático, a acidez do composto tem tendência a aumentar, assim, a doação de elétrons ou retirada de elétrons irá refletir nos valores de  $pK_a$  dos derivados de anilina. Por exemplo, a anilina apresenta  $pK_a = 4,61$ , porém, quando adicionado um grupo nitro ( $-NO_2$ ) na posição *para*, seu  $pK_a$  decresce para 1,03. Isto ocorre porque o grupo nitro retira elétrons do anel aromático por ressonância de ligações  $\pi$ , como mostrado na figura 10 (BRUICE, 2006<sup>b</sup>).

Substituintes retiradores de elétrons, como o grupamento nitro, estabilizam melhor a base conjugada associada à reação e, geralmente, aumentam a acidez da substância, com consequente diminuição do  $pK_a$ . O contrário ocorre com substituintes que doam elétrons ao anel aromático. Eles tendem diminuir a acidez da substância, aumentando seu  $pK_a$ , como por exemplo, a adição do metil ( $-CH_3$ ), que doa elétrons por indução (por meio de uma ligação  $\sigma$ ), na posição *para* da anilina (toluidina), que eleva o  $pK_a$  de 4,61 para 5,10. (BRUICE, 2006<sup>a</sup>).

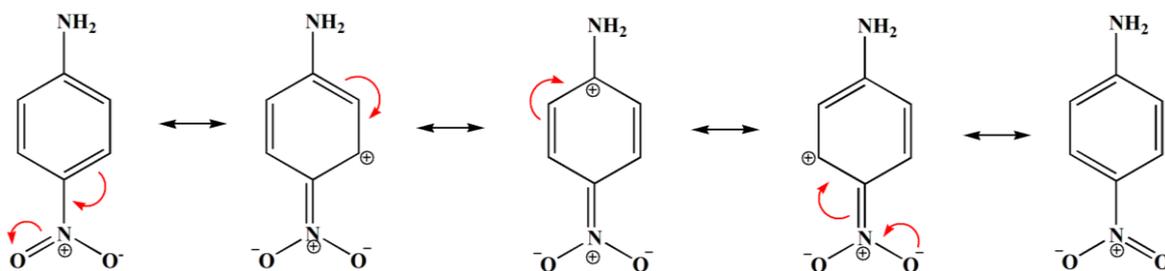


Figura 11: Ressonância de elétrons  $\pi$  provocada pela adição do grupo nitro na posição *para* da anilina.

Tendo em vista a importância de conhecer a estrutura dos compostos a serem analisados, primeiramente os substituintes selecionados foram classificados em dois grupos: doadores ou retiradores de elétrons em relação ao anel, como disponível na tabela 3 (BRUICE, 2006<sup>b</sup>).

Tabela 3: Classificação dos substituintes escolhidos em relação a sua capacidade de doar ou retirar elétrons para/do anel aromático.

Moléculas	Grupo Substituinte	Classificação
16/26	-NH <sub>2</sub>	Doador
17/27	-NHCH <sub>3</sub>	Doador
18/28	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Doador
19/30	-NHCOCH <sub>3</sub>	Doador
20/29	-OH	Doador
21/31	-OCH <sub>3</sub>	Doador
22/32	-F	Retirador
23/33	-Cl	Retirador
24/34	-Br	Retirador
25/35	-NO <sub>2</sub>	Retirador

As tabelas 4 e 5 exibem os valores de pK<sub>a</sub> experimental e calculado para o grupo de anilinas estudados (Fig. 5). Alguns valores de pK<sub>a</sub> não foram encontrados para serem comparados com o valor calculado, porém, os valores foram mantidos para análise estrutural.

Tabela 4: Valores da variação da energia Livre de Gibbs em solução (kcal.mol<sup>-1</sup>) e os valores de pK<sub>a</sub> experimentais e calculados para os derivados de anilinas na posição orto.

<b>B3LYP 6-31+G (d,p)</b>					
Molécula	$\Delta G^{\text{basicity}}$	$\Delta G_{aq}^*$	pK <sub>a</sub> <sup>exp</sup>	pK <sub>a</sub> <sup>cal</sup>	$\delta pK_a$
15	278,49	1,95	4,58	6,01	1,43
16	273,94	3,65	4,47	2,68	-1,79
17	276,27	5,98	-	4,39	-
18	273,33	3,04	-	2,23	-
19	270,18	-0,11	-	-0,08	-
20	274,34	2,73	4,84	2,97	-1,87
21	274,89	4,60	4,53	3,37	-1,16
22	274,73	4,44	2,96	3,26	0,30

23	274,37	4,08	2,66	2,99	-0,96
24	274,11	3,82	2,61	2,80	0,19
25	269,98	-0,31	-0,29	-0,23	0,06

Tabela 5: Valores da variação da energia Livre de Gibbs em solução ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) e os valores de  $\text{pK}_a$  experimentais e calculados para os derivados de anilinas na posição para.

<b>B3LYP 6-31+G (d,p)</b>					
<b>Molécula</b>	$\Delta G^{\text{basicity}}$	$\Delta G_{aq}^*$	$\text{pk}_a^{\text{exp}}$	$\text{pk}_a^{\text{cal}}$	$\delta \text{pK}_a$
26	283,57	13,28	6,2	9,74	3,54
27	276,75	6,46	-	4,74	-
28	279,08	8,79	6,59	6,45	-0,14
29	274,31	4,02	5,5	2,94	-2,56
30	271,12	0,83	-	0,61	-
31	273,13	2,84	5,36	2,08	-3,28
32	274,54	4,25	4,61	3,11	-1,50
33	273,76	3,47	3,95	2,55	-1,40
34	273,66	3,37	3,86	2,47	-1,39
35	265,61	-4,68	1,03	3,43	-4,46

Adotando o mesmo parâmetro usado para as aminas, é possível notar que, para as *o*-anilinas, a diferença entre o valor experimental e o calculado fica abaixo de duas unidades em todos os casos onde há o valor de referência. Sugerindo que o método aplicado foi capaz de reproduzir com precisão aceitável os dados experimentais (REBOLLAR-ZEPEDA; GALANO, 2012) para as *o*-anilinas.

As *p*-anilinas apresentam quase metade dos valores com uma diferença maior que duas unidades de  $\text{pK}_a$ . Além disso, é possível ver que, grande parte dos valores calculados, em ambas as posições, são menores do que os valores experimentais, sugerindo que o método teórico subestima a variação de energia livre em solução ( $\Delta G_{aq}^*$ ). Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que nas reações estudadas aqui temos uma espécie protonada no reagente e uma espécie neutra no produto, ou seja, quando calculamos o  $\Delta G_{aq}^{\text{basicity}}$  consideramos a diferença entre uma espécie neutra e uma

carregada (Figura 12). O efeito de solvatação dessas espécies deve ser diferente, se o modelo contínuo não puder reproduzir bem esse efeito certamente haverá um erro associado a superestimação da energia da espécie carregada. Nestes casos a inclusão de moléculas de solvente explícita no sistema pode ajudar na estabilização das cargas das espécies catiônicas.

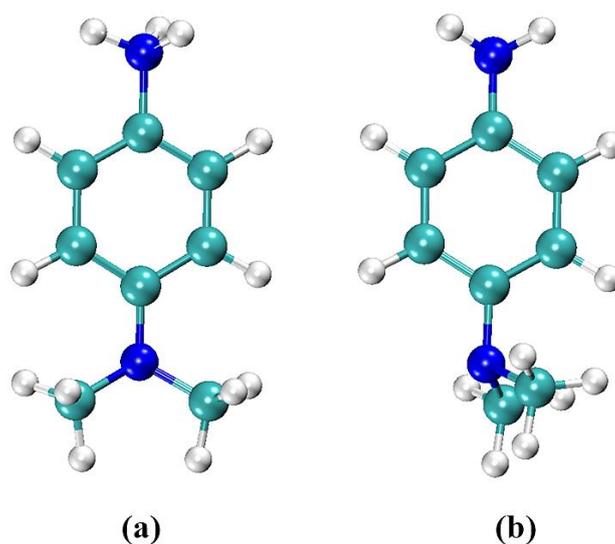


Figura 12: Estruturas otimizadas da p-dimetilamino anilina protonada (a) e neutra (b) obtidas no nível B3LYP/6-31+G(d,p).

#### 4.2.1. Efeito dos Substituintes em diferentes posições

Substituintes retiradores de elétrons tendem a diminuir a basicidade dos compostos, enquanto os doadores de elétrons tendem a aumentar a basicidade (GROSS; SEYBOLD, 2000). A retirada de elétrons diminui a densidade eletrônica do grupo amina, fazendo com que o  $pK_a$  seja menor para substituintes retiradores de elétrons, como pode ser observado nas tabelas 4 e 5. O  $pK_a$  para as moléculas **22/32**, **23/33**, **24/34** e **25/35**, que apresentam grupos retiradores de elétrons, são menores do que os valores das moléculas que possuem grupos doadores de elétrons. Porém, observando a molécula **19/30** (Figura 5) e os valores de  $pK_a$  calculados, nota-se que apresentam o segundo menor valor, perdendo apenas para as moléculas que possuem o grupo nitro ( $-NO_2$ ), que é um forte retirador de elétrons. Esta baixa basicidade das moléculas **19** e **30** pode ser justificada

pela presença do grupo acetamida que, devido a deslocalização eletrônica e conjugação com o anel, deve estabilizar o par de elétrons isolados do átomo de N. Considerando apenas a molécula de acetanilida, que possui o grupo acetamida, mas sem a presença do grupo amino característico da anilina, verificamos um valor de  $pK_a$  experimental de 0,50. Esse valor é próximo ao observado para a molécula **30**, que é *para*-substituída com o grupo acetamida, como mostrado abaixo na Figura 13. Esses dados sugerem que os valores obtidos teoricamente para as moléculas **19** e **30** estão em acordo com dados experimentais.

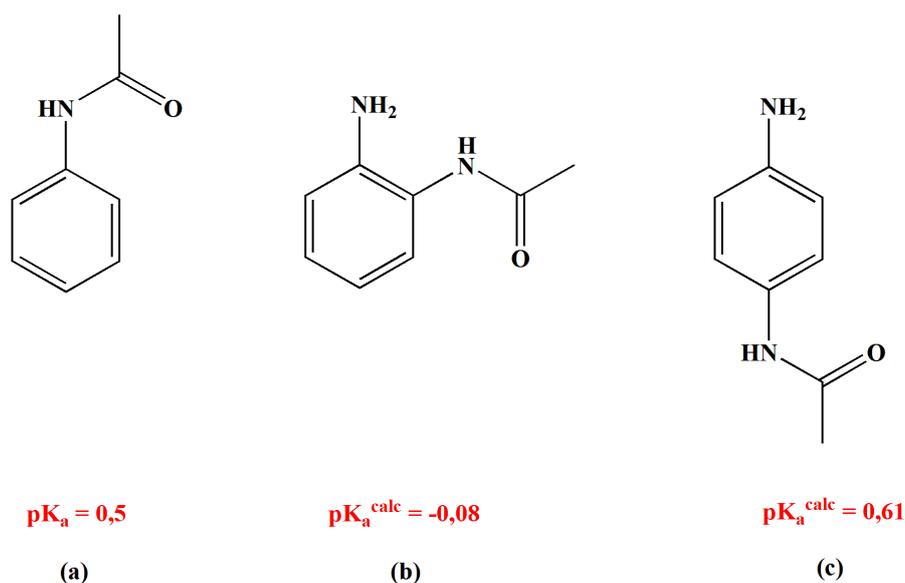


Figura 13: Valor de  $pK_a$  experimental para a acetanilida (a) e valores de  $pK_a$  calculados para as moléculas de *o*-acetamida (b) e *p*-acetamida (c).

No que diz respeito à posição dos substituintes, os derivados *para*-substituídos apresentam maiores valores de  $pK_a$ , quando comparados com os *orto*-substituídos. O que já era esperado, uma vez que, estando mais distantes do grupo amino, seu efeito de doar ou retirar elétrons será menos significativo na mudança da densidade eletrônica do grupo.

O efeito de substituintes da mesma família no  $pK_a$  também pode ser analisada, é o caso dos substituintes halogenados considerados neste estudo (F, Cl e Br), e, apesar da grande importância biológica do iodo, o mesmo não foi considerado para o presente estudo, devido ao volume do átomo. Por serem grupos retiradores de elétrons eles possuem a tendência de diminuir o  $pK_a$  do composto, porém, estes três átomos possuem tamanhos e densidades eletrônicas diferentes, o que deve influenciar na acidez-

basicidade dos compostos. É descrito na literatura uma relação entre o  $pK_a$  e o raio atômico, esta prevê que quanto maior o raio atômico do substituinte, menor o  $pK_a$  e mais ácido é o composto (WELLER et al., 2017). E isto fica evidente quando se compara os raios atômicos destes halogênios e os valores de  $pK_a$  calculados como apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Valores de Raio atômico (Å) para os halogênios (F, Cl e Br) e valores de  $pK_a$  experimentais e calculados para os derivados de anilinas *orto* e *para*-halogênio substituídos.

Substituinte	Raio atômico (Å)	<i>Orto</i>		<i>Para</i>	
		$pK_a^{\text{exp}}$	$pK_a^{\text{calc}}$	$pK_a^{\text{exp}}$	$pK_a^{\text{calc}}$
<b>F</b>	0,71	2,96	3,26	4,61	3,11
<b>Cl</b>	0,99	2,66	2,99	3,95	2,55
<b>Br</b>	1,14	2,61	2,80	3,86	2,47

(SHRIVER; ATKINS, 2003).

Os valores de  $pK_a$  decaem a medida que o raio atômico aumenta, esse efeito pode ser observado nos valores experimentais e também nos valores calculados computacionalmente. Isto pode ser explicado pela maior facilidade que os átomos maiores terão de acomodar os elétrons retirados por indução ou ressonância. É perceptível também que o cloro e o bromo têm tamanhos similares, o que também explica o porquê da pequena variação de  $pK_a$  entre eles, para uma mesma posição, enquanto que do flúor para o cloro, na posição *orto*, o  $pK_a$  diminui 0,3 unidades. Do cloro para o bromo, essa diferença é de apenas 0,05 unidades.

#### 4.2.2. Análise Estrutural

É descrito na literatura que o grupo amino da anilina forma um ângulo aproximado de  $42^\circ$  em relação ao plano do anel aromático, e o átomo de nitrogênio está a uma distância de  $1,40\text{Å}$  do carbono  $sp^2$  do anel, em fase gasosa (GROSS, SEYBOLD, 2000;

LISTER et al., 1974). Entretanto, a presença de substituintes, ou mesmo a consideração do solvente, podem alterar estes valores, provocando um afastamento ou aproximação deste grupo em relação ao anel ou a variação no ângulo formado entre os três átomos. Para verificar esta relação, os valores do comprimento da ligação R(C-N), isto é distância entre o carbono  $sp^2$  e o nitrogênio do grupo amina e o ângulo  $\theta$  ( $\angle\text{H-N-H}$ ) formado entre o átomo de nitrogênio e os átomos de hidrogênio a ele coordenados foram medidos (ver Figura 14). Os valores obtidos estão disponíveis na tabela 7, para as *orto*-anilinas e na tabela 8 para as *para*-anilinas.

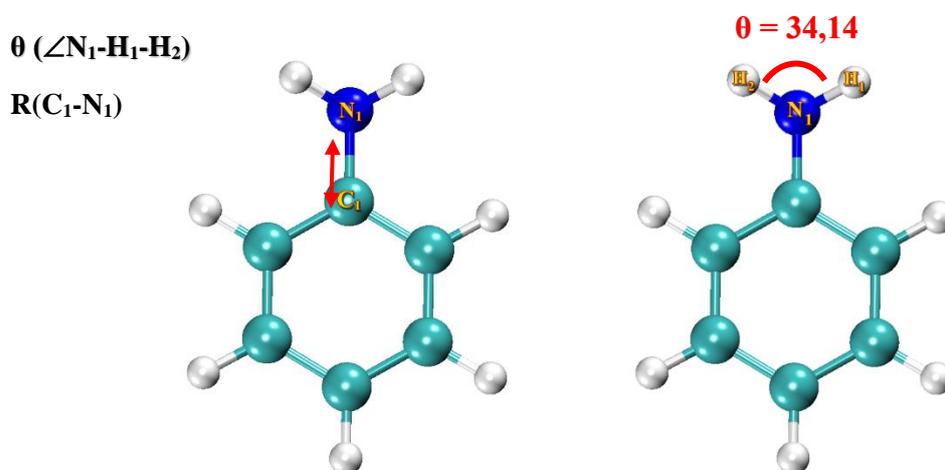


Figura 14: Definição dos parâmetros estruturais (a) distância R(C-N) (b) Ângulo  $\theta$  ( $\angle\text{H-N-H}$ ).

Tabela 7: Comprimento da ligação (Å) e ângulo de ligação ( $^\circ$ ) calculados para a molécula de anilina e para as *orto*-anilinas no nível B3LYP/6-31+G(d,p).

Molécula	R(C-N)	$\theta$ ( $\angle\text{H-N-H}$ )
15	1,40	34,14
16	1,41	35,36
17	1,40	34,03
18	1,40	34,12
19	1,39	33,69
20	1,40	34,21
21	1,40	33,77
22	1,39	33,99
23	1,39	33,80

24	1,39	33,67
25	1,35	29,83

Tabela 8: Comprimento da ligação (Å) e ângulo de ligação (°) calculados para as *para*-anilinas no nível B3LYP/6-31+G(d,p).

Molécula	R(C-N)	$\theta$ ( $\angle$ H-N-H)
26	1,38	37,20
27	1,41	34,98
28	1,40	34,30
29	1,41	34,74
30	1,40	33,97
31	1,40	34,37
32	1,40	34,33
33	1,40	33,99
34	1,39	33,95
35	1,35	30,82

Os dados disponíveis nas tabelas 7 e 8 sugerem que a mudança na posição do substituinte influencia mais no ângulo formado pelos átomos do grupo amino do que no comprimento de ligação R(C-N). Tomando a anilina como referência (Figura 5), é possível ver que as moléculas com grupos retiradores de elétrons apresentam ângulos menores que a anilina, se comparados com os substituintes doadores de elétrons. Isto mostra que, grupos doadores de elétrons, quando aumentam o ângulo  $\theta$  em relação ao plano do anel, estão tornando a molécula mais planar. Este resultado vai de encontro ao observado por Gross e Seybold (2000). Isto sugere que, a proximidade dos substituintes orientados em *orto* em relação ao grupamento amino, gerando maior impedimento estérico no grupamento. A diferença dos ângulos aqui apresentados e os verificados por Gross e Seybold pode ser associada ao efeito do solvente, uma vez que não foi considerado em seu trabalho. Haja visto que, a retirada de elétrons pelos substituintes diminui a densidade eletrônica do grupo amino e, conseqüentemente, seu  $pK_a$  é menor que o observado para os grupos que doam elétrons. Os grupos retiradores de elétrons irão favorecer a formação de uma estrutura piramidal do grupo amino, por meio da diminuição do ângulo  $\angle$ H-N-H, menores comprimentos de ligação R(C-N) e menores  $pK_a$ 's.

Também é possível ver uma tendência entre os grupos doadores/retiradores de elétrons e o comprimento da ligação R(C-N). Grupos doadores de elétrons geram um maior afastamento entre o nitrogênio e o carbono  $sp^2$ . Este efeito fica mais evidente nas *orto*-anilinas. Os valores de distância de ligação calculados no nível B3LYP/6-31+G(d,p) forneceram valores em acordo com os descritos na literatura. Por exemplo, a anilina apresenta comprimento de ligação experimental C-N de 1,40 Å, que é igual ao valor calculado neste trabalho. Em moléculas como a *para*-amino anilina e a *para*-nitroanilina (Figura 5), os resultados apresentam erros da ordem de 0,02 Å, uma vez que os valores disponíveis na literatura são de 1,41 Å e 1,37Å, respectivamente, enquanto que os obtidos neste trabalho foram de 1,38Å e 1,35Å. Esta diferença, assim como a encontrada das demais moléculas, pode estar associada ao uso do solvente que altera a conformação molecular de cada substância, bem como as distâncias de cada ligação. Além disto, com a exceção do grupo amino, os substituintes orientados na posição *para* exercem maior efeito no aumento do comprimento de ligação R(C-N) (LISTER et al., 1974; TRUEBLOOD; GOLDISH; DONOHUE, 1961; COLAPIETRO et al., 1987).

### 4.3. Aplicação do Método às Moléculas de Medicamentos

Baseado nos resultados obtidos utilizando o nível B3LYP/6-31+G(d,p), aplicou-se o método direto usando mesmo nível de cálculo para dois compostos nitrogenados, que são medicamentos disponíveis no mercado farmacêutico. São eles, Paracetamol e Sulfadiazina.

#### 4.3.1. Paracetamol

O acetaminofenol ou N-acetil-*p*-aminofenol, comumente conhecido como paracetamol® (Figura 15), foi introduzido no mercado após a saída da fenacetina, devido aos seus riscos à saúde. Atualmente é um dos princípios ativos mais utilizados em analgésicos, liderando o mercado consumidor de medicamentos. Suas propriedades antipiréticas aliviam febre acima de 37 °C (ESPINOSA, et al., 2006). Geralmente é vendido na forma de comprimidos com dosagem de 500 mg, com ingestão máxima

recomendada de 4 g por dia (BERTOLINI, et al., 2006). Para a produção de paracetamol, a rota sintética mais viável é por meio da acetilação do *p*-aminofenol com anidrido acético, como mostrado abaixo (KOROLKOVAS; BURCKHALTER, 1988).

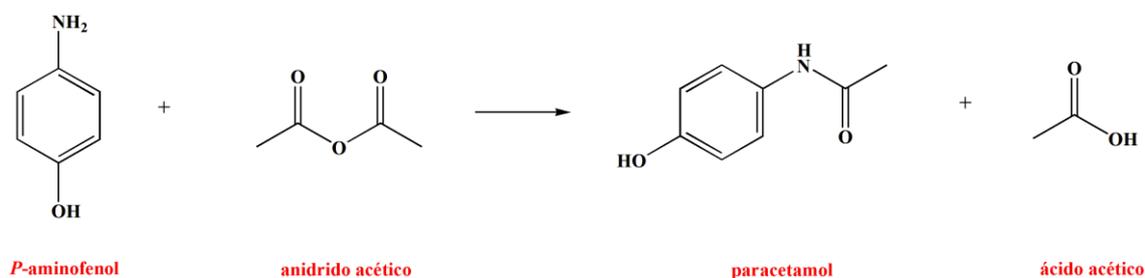


Figura 15: Reação de síntese do paracetamol, utilizando acetilação com anidrido acético.

A facilidade com que o grupo –OH pode ser oxidado, é uma das características principais referentes a atividade do composto em meio biológico. Segundo Graham e colaboradores (2013), a molécula inibe a ação de proteases como COX-1, COX-2 e da mieloperoxidase agindo como um substrato. O paracetamol dissipa o calor corporal por meio de duas ações fundamentais: bloqueio de prostaglandinas no sistema nervoso central e bloqueio de pirogênios endógenos em receptores do hipotálamo (ANDERSON, et al., 2004). O paracetamol atua como ácido fraco, exibindo  $pK_a = 9,38$ , referente a ionização do H do grupo fenol (IONESCU, et al., 2015). Esse valor de  $pK_a$  sugere que no pH do estômago o composto está totalmente neutro e pouquíssimo ionizado em pH fisiológico, portanto, altamente eficiente ao atravessar as membranas celulares, tanto por via oral como por via intravenosa. Dessa forma a maior taxa de absorção ocorre no intestino delgado, quando atinge o estômago, o paracetamol é redirecionado para o intestino, onde é absorvido (PLEUVRY, 2005).

#### 4.3.2. Sulfadiazina

As pesquisas de Gerhard Domagk na Bayer de I.G.Frabenindustrie com agentes ativos contra estreptococos consistia basicamente em testar o efeito de tinturas

sintetizadas em estreptococos *in vitro* e, caso houvesse o ataque à bactéria, seu efeito seria testado em ratos de laboratório. Em 1932, trabalhando com um corante chamado de *p*-sulfamidocrisoidina, de coloração vermelha, inativo *in vitro*, Domagk decidiu testá-lo em ratos, obtendo resultados satisfatórios, acarretando na patente de um composto chamado Prontosil (Figura 16), dentre outros azo-corantes com um característico grupo sulfonamida (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

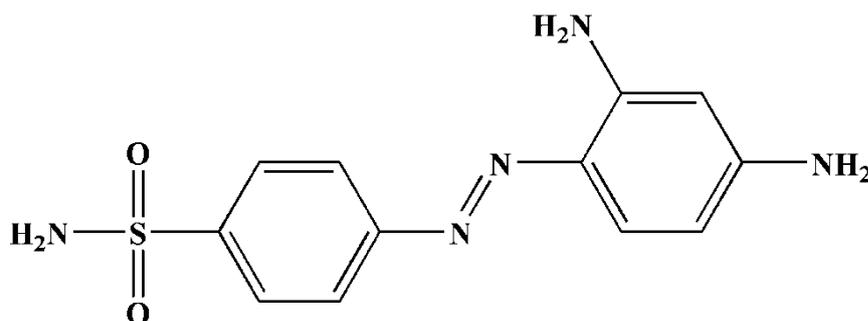


Figura 16: Molécula de prontosil.

A inatividade do prontosil *in vitro* e atividade *in vivo* foi mais tarde associada à liberação de *p*-aminobenossulfanamida, que é a parte ativa da molécula para estreptococos. Os derivados desta parte ativa são geralmente conhecidos como sulfas e podem ser classificadas de acordo com sua absorção e excreção (ANDRADE, 2002)

Tabela 9: Classificação das sulfas.

Absorção	Excreção	Exemplos
Rápida	Rápida	Sulfatiazol, <b>sulfadiazina</b>
Rápida	Lenta	Sulfametoxazol
Rápida	Lenta com ação prolongada	Sulfadimetoxina
Rápida	Muito lenta e ação prolongada	Sulfadoxina
Não absorvidas oralmente	-	Sulfaguanidina

(ANDRADE, 2002).

As sulfas são ativas contra uma ampla gama de bactérias gram-positivas e gram-negativas, podendo ser administradas por via oral, parenteral, retal ou tópica. Dentre elas, encontra-se a sulfadiazina (Figura 17), que é resultado de modificações estruturais na *P*-aminobenzenosulfonamida. A sulfadiazina tem como ação principal a inibição da síntese do folato bacteriano, que participa de uma série de reações biológicas, sendo altamente seletiva para células bacterianas (GOLAN, 2014).

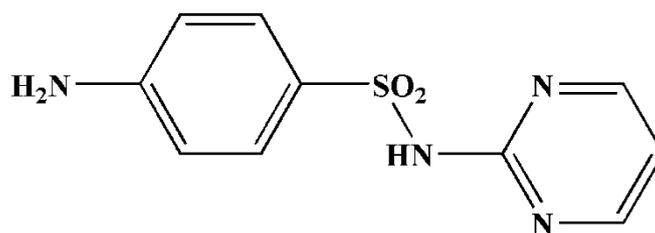


Figura 17: Molécula de sulfadiazina.

Uma das formas mais comuns da sulfadiazina é a que forma um complexo com a prata, tendo sido descoberta em 1968 e utilizada no tratamento de queimaduras de primeiro, segundo e terceiro grau, prevenindo a infecção por bactérias e fungos (FERREIRA; PAULA, 2013).

Os valores de  $pK_a$  para a sulfadiazina descritos na literatura são de 2,09 e 6,28, que correspondem a dissociação da amina aromática e do grupo sulfanil, respectivamente (Figura 18).

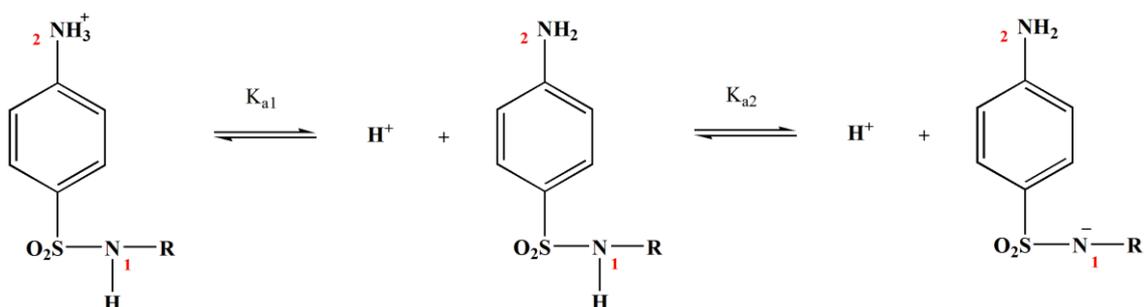


Figura 18: Reação de dissociação da sulfadiazina (SANLI et al., 2010).

### 4.3.3. Valores de pK<sub>a</sub> calculados

Os valores de pK<sub>a</sub> calculados para os fármacos estão resumidos na Tabela 10. É possível observar que os erros são da ordem de 4,5 unidades de pka, o que não está em acordo com os desvios aceitáveis para predições teóricas de pK<sub>a</sub>.

Tabela 10: Valores da variação da energia Livre de Gibbs em solução (kcal.mol<sup>-1</sup>) e os valores de pK<sub>a</sub> experimentais e calculados para os fármacos.

<b>B3LYP 6-31+G (d,p)</b>					
<b>Molécula</b>	$\Delta G^{\text{basicity}}$	$\Delta G^*_{aq}$	<b>pka<sup>exp</sup></b>	<b>pka<sup>cal</sup></b>	<b><math>\delta pK_a</math></b>
paracetamol	288,95	18,66	9,25	13.68	4.43
sulfadiazina	266,13	-4,16	2,06	-3,05	-5,11

Entretanto, dada a complexidade estrutural e, portanto, eletrônica das moléculas calculadas, fica claro que é preciso considerar diversos fatores que podem ter efeitos na predição da acidez/basicidade de moléculas. O funcional B3LYP em conjunto com a base 6-31+G(d,p):SMD não se mostrou eficiente para predizer com acurácia os valores de pK<sub>a</sub> para moléculas complexas como do paracetamol e da sulfadiazina.

Erros menores para moléculas mais complexas são encontrados usando funcionais mais recentes, como M05-2X e PBE0 (REBOLLAR-ZEPEDA; GALANO, 2012).

## 5. CONSIDERAÇÕES E PERSPECTIVAS

O desenvolvimento e aperfeiçoamento de modelos teóricos capazes de descrever o comportamento de substâncias em solução tem sido um desafio para os pesquisadores, principalmente no que diz respeito às moléculas mais complexas. A maturidade conquistada pelos avanços da química computacional proporcionou ferramentas para a descrição de certas propriedades físico-químicas, como o  $pK_a$ , que é um parâmetro fundamental no desenvolvimento de fármacos.

Com o objetivo de explorar metodologias teóricas para o cálculo  $pK_a$ , utilizando DFT, foi aplicado o funcional B3LYP e o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p):SMD em aminas primárias, secundárias e terciárias, bem como em derivados de anilinas *orto/para* substituídos. O método mostrou-se eficaz para a predição teórica do  $pK_a$  de moléculas mais simples, como as aminas, obtendo coeficiente de determinação  $R^2 = 0,86$ , com erros menores que duas unidades de  $pK_a$ , o que indica uma precisão razoável dos dados obtidos. Erros maiores que duas unidades foram observados apenas em uma das moléculas das aminas, na qual havia um átomo de oxigênio diretamente ligado ao nitrogênio, o que sugere que a protonação possa ocorrer no oxigênio, ao invés do nitrogênio, o que explica o baixo valor do  $pK_a$  experimental ( $pK_a = 4,75$ ) próximo ao de aminas aromáticas.

Foi possível verificar a tendência de basicidade nas aminas, obtendo  $pK_a$ 's maiores para aminas secundárias, depois para aminas primárias e os menores são verificados para aminas terciárias, devido a dificuldade de solvatação pelo solvente neste último caso. A relação entre a estrutura e a basicidade também foi observada, resultando no aumento do  $pK_a$  a medida que substituintes alquílicos eram adicionados no lugar do hidrogênio da amônia, uma vez que estes substituintes aumentam a densidade do átomo de nitrogênio por meio da indução de elétrons.

Para moléculas mais complexas, como os derivados de anilinas, o método não se mostrou acurado, apresentando erros mais acentuados do que os mostrados para os derivados das aminas. Devido ao fato do grupo amino ser *orto/para*-dirigente, preferencialmente, foram analisados dez substituintes nestas posições. Foi possível observar que a anilina e seus derivados apresentam  $pK_a$ 's menores que as aminas

estudadas, sendo isto proveniente da ressonância entre o par de elétrons livres do nitrogênio do grupo amino e os elétrons das ligações  $\pi$  do anel aromático.

A influência do substituinte sugere que os grupos caracterizados pela retirada de elétrons exibem  $pK_a$ 's menores que os apresentados para os doadores de elétrons, o que provém da melhor estabilização da base conjugada e diminuição da densidade eletrônica do grupo amino, por parte dos grupos retiradores de elétrons. Os desvios dos valores experimentais foram mais acentuados nas moléculas com substituições em *para*. Este comportamento mostra que o método escolhido superestima a variação da energia livre em meio aquoso  $\Delta G_{aq}^*$ , podendo ser decorrente de um modelo de solvatação diferente. Substituintes halogenados tendem a diminuir o  $pK_a$  a medida que o raio atômico aumenta. Esta relação se deve ao melhor acomodamento dos elétrons retirados por indução ou ressonância. Em átomos como cloro e bromo, que possuem raios atômicos mais próximos, o  $pK_a$  também é parecido. A mudança na posição do substituinte acarretou maior influência no ângulo formado pelos átomos do grupo amino ( $\angle H-N-H$ ) do que na distância entre o átomo de nitrogênio e o carbono  $sp^2$  do anel aromático. Foi observado que substituintes doadores de elétrons aumentam tanto o ângulo da ligação  $\angle H-N-H$  quanto o comprimento da ligação R(C-N), o que favorece a formação de uma estrutura piramidal, com  $pK_a$  maiores.

O método não se mostrou eficaz para o cálculo do  $pK_a$  de medicamentos, devido a complexidade estrutural observada para as moléculas, com desvios da ordem de 4,5 unidades de  $pK_a$ . De forma geral, os resultados sugerem que para sistemas mais complexos o uso do funcional B3LYP com o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p):SMD não é indicado.

Os maiores erros podem estar associados ao modelo de solvatação escolhido (SMD) que pode não ter sido capaz de descrever bem o comportamento soluto-solvente, acarretado nos desvios observados. Neste sentido, uma possível solução para este problema está na perspectiva do uso de um modelo de solvatação híbrido explícito-implícito, por meio da adição de algumas moléculas explícitas do solvente, ao redor do soluto. Este método vem sendo bastante pesquisado ultimamente, porém, requer o conhecimento das interações soluto-solvente para a proposição da quantidade de moléculas explícitas que serão adicionadas.

Neste sentido, na sequência deste estudo serão realizados novos cálculos usando funcionais diferentes, como M06-2X, que tem mostrado melhores resultados na predição de  $pK_a$ 's, além da possibilidade de testar a combinação com diferentes conjuntos de funções de base.

## 6. REFERÊNCIAS

ALONGI, K. S.; SHIELDS, G. C. Theoretical Calculations of Acid Dissociation Constants: A Review Article. In: WHEELER, R. A; SPELLMEYER, D. (Eds.). **Annual Reports in Computational Chemistry**. Oxford: Elsevier, 2010. p. 113-138.

ANDERSON, B. J. et al. Comparing the efficacy of NSAIDs and paracetamol in children. **Paediatric Anaesthesia**, v. 14, n. 3, p. 201-217, mar. 2004.

ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 3 ed. São Paulo: Editora Roca, 2008. 912 p.

APELBLAT, A. Dissociation constants and limiting conductance of organics acids in water. **Journal of Molecular Liquids**, v. 95, n. 2, p. 9-145, fev. 2002.

BERTOLINI, A., et al. Paracetamol: new vistas of an old drug. **CNS Drug Reviews**, v. 12, n. 3-4, p. 250-275, set, 2006.

BUNNETT, J. F.; NUDELMAN, N. S. An Independent Kinetic Method for Determining Acid Dissociation Constants in Methanol. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 34, n. 7, p. 2043-2046, jul. 1969.

BRUICE, P. Y. **Química orgânica**: volume 1. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. 690 p.

BRUICE, P. Y. **Química orgânica**: volume 2. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. 702 p.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12 ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. 2112p.

CRAMER, C. J. **Essentials of computational chemistry**: Theories and models. 2 ed. England: John Wiley & Sons Ltd., 2004. 579 p.

COLAPIETRO, M., et al. Molecular structure of *p*-diaminobenzene in the gaseous phase and in the crystal. **Te Journal of Physical Chemistry**, v. 91, n. 7, p. 1728-1737, mar. 1987.

DEWICK, P. M. **Essentials of Organic Chemistry**: for studens of pharmacy, medicinal and biological chemistry: John Wiley & Sons Ltd., 2006. 696 p.

ECKERT, F.; KLAMT, A. Accurate prediction of basicity in aqueous solution with COSMO-RS. **Journal of Computational Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 11-19, jan. 2006.

ESPINOSA, B. M., et al. Determination of paracetamol: historical evolution. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 42, n. 3, p. 291-321, set. 2006.

FENBY, D. V. Heat: its measurement from Galileo to Lavoisier. **Pure and Applied Chemistry**, v. 59, n. 1, p. 91-100, jan. 1987.

FERREIRA, F. V.; PAULA, L. B. Sulfadiazina de prata versus medicamentos fitoterápicos: estudo comparativo dos efeitos no tratamento de queimaduras. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 12, n. 3, p. 132-139, mai. 2013.

GHALAMI-CHOOBAR, B. et al. Theoretical calculation of the pK<sub>a</sub> values of some drugs in aqueous solution. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 112, n. 10, p. 2275-2280, mai. 2012.

GLUCK, S J.; CLEVELAND, J. A. Investigation of experimental approaches to the determination of pK<sub>a</sub> values by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 680, n. 1, p. 49-56, set. 1994.

GOLAN, D. E. et al. **Princípios de Farmacologia**: a base fisiopatológica da farmacoterapia. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 871 p.

GOLUMBIC, C.; ORCHIN, M.; WELLER, S. Partition Studies on Phenols. I. Relation between Partition Coefficient and Ionization Constant. **Journal of the American Chemical Society**, v. 71, n. 8, p. 2624-2627, jan. 1949.

GRAHAM, G. G. et al. The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. **Inflammopharmacology**, v. 21, n. 3, p. 201-232, jun., 2013.

GROSS, K. C.; SEYBOLD, P. G. Substituent Effects on the Physical Properties and  $pK_a$  of Aniline. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 80, n. 5, p. 1107-1115, jan. 2000.

HO, J. Are thermodynamic cycles necessary for continuum solvent calculation of  $pK_a$ s and reduction potentials?. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 4, p. 2859–2868, jan. 2015.

HOLMES, W. C.; SNYDER, E. F. Spectrophotometric determination of hydrogenion concentrations and of the apparent dissociation constants of indicators IV. 1-naphthol-2-sodium sulfonate indophenol. **Journal of the American Chemical Society**, v. 47, n. 8, p. 2232-2236, ago. 1925.

HORVÁTH, C; MELANDER, W.; MOLNAR, I. Liquid chromatography of ionogenic substances with non polar stationary phases. **Analytical Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 142-154, jan. 1977.

IONESCU, C. M. et al. Atomic Charge Calculator: interactive web-based calculation of atomic charges in large biomolecular complexes and drug-like molecules. **Journal of Cheminformatics**, v. 7, n. 50, p. 1-13, out. 2015.

KALVODA, R. Review of adsorptive stripping voltammetry assessment and prospects. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 349, n. 9, p. 565-570, ago. 1994.

KATZIN, L. I.; GULYAS, E. Dissociation constants of tartaric acid with the acid of polarimetry. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 64, n. 11, p. 1739-1741, nov. 1960.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica**: Guanabara, 1988. 792 p.

LISTER, et al. The microwave spectrum, structure and dipole moment of aniline. **Journal of Molecular Structure**, v. 23, n. 2, p. 253-264, Nov. 1974.

MANALLACK, D. T. The  $pK_a$  Distribution of Drugs: Application to Drug Discovery. **Perspectives in Medicinal Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 25-38, set. 2007.

MARENICH, A. V.; CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Universal salvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric Constant and atomic surface tensions. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 113, n. 18, p. 6378-6396, mai. 2009.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de química quântica e modelagem molecular**. 1 ed. São Paulo: Livraria da Física, 2007. 540 p.

ONSAGER, L. Electric Moments of Molecules in liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 58, n. 8, p. 1486-1493, ago. 1936.

RABENSTEIN, D. L.; SAYER, T. L. Determination of microscopic acid dissociation constants by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 1141-1146, jul. 1976.

REBOLLAR-ZEPEDA, A. M.; GALANO, A. First Principles Calculations of pK<sub>a</sub> Values of Amines in Aqueous Solution: Application to Neurotransmitters. **International Journal of quantum Chemistry**, v. 112, n. 21, p. 3449-3460, nov. 2012.

REIJENGA, J. et al. Development of methods for the determination of pK<sub>a</sub> values. **Analytical Chemistry Insights**, v. 8, n. 8, p. 53-71, jan. 2013.

RIVEROS, J. M. **Determinação da basicidade relativa das aminas por ressonância ciclôtrica de ions**. 1970. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ROSENBERG, L. S.; SIMONS, J.; SCHULMANS, S. G. Determination of pK<sub>a</sub> values of N-heterocyclic bases by fluorescence spectrophotometry. **Talanta**, v. 26, n. 9, p. 867-871, set. 1979.

SANLI, N. et al. Determination of pK<sub>a</sub> values of some sulfonamides by LC and LC-PDA methods in acetonitrile-water binary mixtures. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 1952-1960, jul. 2010.

SHIELDS, G. C.; SEYBOLD, P. G. **Computational approaches for the prediction of pK<sub>a</sub> values**. 1 ed. Boca Raton: CRC Press, 2014. 164 p.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química Inorgânica**. 3 ed. Porto Alegre: Bookman, 2003.

SIGEL, H.; ZUBERBÜHLER, A. D.; YAMAUCHI, O. Comments on potentiometric pH titrations and the relationship between pH-meter reading and hydrogenion concentration. **Analytica Chimica Acta**, v. 255, n. 1, dez. 1991.

SILVA, C. O.; SILVA, E. C.; NASCIMENTO, M. A. C. Ab Initio Calculations of Absolute  $pK_a$  Values in Aqueous Solution II. Aliphatic Alcohols, Thiols, and Halogenated Carboxylic Acids. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 104, n. 11, p. 2402-2409, dez. 1999.

THAPA, B.; SCHLEGEL, H. B. Theoretical Calculation of  $pK_a$ 's of Selenols in Aqueous Solution Using an Implicit Solvation Model and Explicit Water Molecules. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 120, n. 44, p. 8916-8922, out. 2016.

TOMASI, J.; CAMMI, R.; MENNUCCI, B. Medium effects on the properties of chemical systems: An overview of recent formulations in the polarizable continuum model (PCM). **Quantum Chemistry**, v. 75, n. 5, p. 783-803, out. 1999.

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 8, p. 2999-3094, jul. 2005.

TRUEBLOOD, K. N.; GOLDISH, E.; DONOHUE, J. A three-dimensional refinement of the crystal structure of 4-nitroaniline. **Acta Crystallographica**, v. 14, n. 1, p. 1009-1017, jan. 1961.

WELLER, M. et al. **Química Inorgânica**. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2017. 900 p.

ZHANG, S. A reliable and efficient first principles-based method for predicting  $pK_a$  values. 4. Organic bases. **Journal of Computational Chemistry**, v. 33, n. 31, p. 2469-2482, dec. 2012

ZIMMERMANN, I. Determination of  $pK_a$  values from solubility data. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 13, n. 1, p. 57-65, dez. 1982.