

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Maria Elisa Romanelli Diniz

**Uso da técnica de espectrometria de massas com ionização por
eletrospray (ESI-MS) para o estudo do mecanismo de reações
orgânicas e avaliação do perfil de fragmentação de bis-hidroxiiminas
aromáticas**

BELO HORIZONTE

2011

UFMG/ICEX/DQ 854^a

D. 491^a

Maria Elisa Romanelli Diniz

Uso da técnica de espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS) para o estudo do mecanismo de reações orgânicas e avaliação do perfil de fragmentação de bis-hidroxiiminas aromáticas

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre em Química - Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Adão A. Sabino

Co-orientador: Prof. Dr. Rodinei Augusti

BELO HORIZONTE

2011

Diniz, Maria Elisa Romanelli,
Uso da técnica de espectrometria de massas com
ionização por electrospray (ESI-MS) para o estudo do
mecanismo de reações orgânicas e avaliação do perfil de
fragmentação de bis-hidroxiiminas aromáticas / Maria
Elisa Romanelli Diniz. 2011.

viii, 93 f. : il.

Orientador: Adão Aparecido Sabino.

Coorientador: Rodinei Augusti.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais. Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses 2. Espectrometria de
massas - Teses 3. Mecanismos de reações orgânicas -
Teses 4. Bis-hidroxiiminas aromáticas - Teses I.
Sabino, Adão Aparecido, Orientador II. Augusti,
Rodinei, Coorientador III. Título.

CDU 043



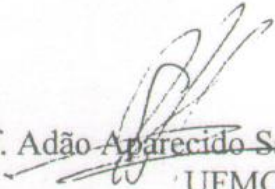
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEX
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG
TEL.: 031 - 3409-5732
FAX: 031 - 3409-5711
E-MAIL: pgquimic@qui.ufmg.br

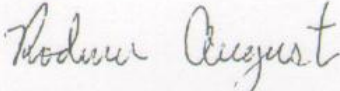



"Uso da Técnica de Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray (ESI-MS) para o Estudo do Mecanismo de Reações Orgânicas e Avaliação do Perfil de Fragmentação de Bis-hidroxiiminas Aromáticas"

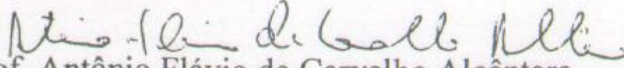
Maria Elisa Romanelli Diniz

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Adão Aparecido Sabino - Orientador
UFMG


Prof. Rodinei Augusti - Co-Orientador
UFMG


Dra. Ilza Dalmazio
CDTN


Prof. Antônio Flávio de Carvalho Alcântara
UFMG

Belo Horizonte, 04 de março de 2011.

A minha mãe, pelo seu carinho, amor, dedicação, conselhos e incentivo

AGRADECIMENTOS

A Deus e Jesus, pelas oportunidades que colocaram no meu caminho.

A minha mãe, pelo seu amor, força, incentivo, auxílio em todos os momentos e por tudo que me ensinou.

Ao meu tio Antônio e madrinha Lourdes pelo incentivo e ajuda em todos os momentos.

A minha madrinha Graça pelo seu amor, atenção e suporte.

A minha madrinha Rosária e tio Jurgen pelo auxílio em todos os momentos.

A minha irmã Lucimara pelo seu amor e incentivo.

Aos Professores Adão e Rodinei, pela orientação, compreensão e ensinamentos, essenciais para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos que sempre estiveram presentes nos momentos de luta, comemorações e de vitória.

Aos colegas de laboratório pelo companheirismo e ensinamentos.

A todos que de forma direta ou indireta colaboraram para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

Resumo

A Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray (ESI-MS) foi utilizada na investigação dos mecanismos de duas reações orgânicas: Reação de Zincke e Reação de Aza Diels Alder. Um estudo sistemático sobre a fragmentação das formas protonadas de alguns ligantes do tipo Salofen (bis-hidroxiiminas aromáticas) foi conduzido também neste trabalho. No monitoramento da reação de Zincke foram observados, além dos produtos tradicionais, intermediários inéditos, cujas estruturas foram propostas com base nos respectivos perfis de fragmentação obtidos via experimentos MS/MS. Todos esses intermediários foram detectados nas reações efetuadas com quatro aminas: 2-amino-1,3-propanodiol, α -metil-benzilamina, amino-1-propanol e α -fenil-glicinol. Estes resultados foram importantes para a confirmação do mecanismo proposto na literatura para esta reação. No monitoramento da reação de Aza Diels Alder (tri componente), conduzida em três solventes (acetonitrila, etanol e metanol), foi possível detectar intermediários que indicaram que esta reação procede por um mecanismo não-concertado, dando suporte a proposta da literatura. No estudo de fragmentação dos ligantes do tipo Salofen protonados foram observados caminhos preferenciais de fragmentação em função da posição relativa dos substituintes (grupos imina e hidroxila) que são conectados aos anéis benzênicos de suas estruturas.

Abstract

Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS) was applied to investigate the mechanism of two organic reactions: Zincke and Aza Diels Alder. A systematic study regarding the fragmentation of typical Salophen ligands (bis-hydroxy-imine) in their protonated forms was also conducted. In the Zincke reaction monitoring it was observed, besides the traditional products, novel intermediates whose structures were proposed based on their fragmentation profiles obtained by MS/MS experiments. All these intermediates were detected in reactions performed with four different amines: 2-amino-1,3-propanediol, α -methyl-benzyl, amino-1-propanol, and α -phenyl-glicinol. These results were therefore important to confirm the mechanism proposed in literature for this reaction. In the tri component Aza Diels Alder reaction, conducted in three different solvents (acetonitrile, ethanol, and methanol), the ESI-MS (and MS/MS) data provided solid evidence that this process proceeds via a non-concerted mechanism also proposed in literature. Finally, it was observed that the protonated forms of the several Salophen ligands fragmented to yield distinct product ions. The different relative positions of the substituents (hydroxyl and imino groups) in the benzene rings of such molecules were ascribed to play a major role in the distinct fragmentation profiles observed.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Componentes básicos de um espectrômetro de massas.	6
Figura 2.2: Detector fotomultiplicador com detecção de íons positivos.	9
Figura 2.3: Detector Multiplicador de elétrons. ⁷	9
Figura 2.4: Detector microchannel plate.	10
Figura 2.5: Ilustração do processo de formação de íons numa fonte de eletrospray.	12
Figura 2.6: Dois mecanismos propostos para a formação de íons gasosos no processo de electrospray. ⁶	13
Figura 3.1: Estrutura das aminas usadas como reagentes na reação de Zincke.....	22
Figura 3.2: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da reação do sal de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol após 10 minutos de reação.....	24
Figura 3.3: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da reação do sal de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol após 60 minutos de reação.....	24
Figura 3.4: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da reação do sal de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol após 180 minutos de reação.....	25
Figura 3.5: Espectro MS/MS do íon de m/z 351.	25
Figura 3.6: Espectro MS/MS do íon de m/z 259.	26
Figura 3.7: Espectro MS/MS do íon de m/z 260.	27
Figura 3.8: Espectro MS/MS do íon de m/z 168.	28
Figura 3.9: Espectro MS/MS do íon de m/z 214.	29
Figura 3.10: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da reação do sal de Zincke com α -metil-benzilamina após 10 minutos.	31
Figura 3.11: Espectro MS/MS do íon de m/z 381.	32
Figura 3.12: Espectro MS/MS do íon de m/z 319.	33
Figura 3.13: Espectro ESI(+)-MS obtido da reação do sal de Zincke com amino-1-propanol após 10 minutos.....	35
Figura 3.14: Espectro MS/MS do íon de m/z 335.	36
Figura 3.15: Espectro MS/MS do íon de m/z 227.	37
Figura 3.16: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir de uma alíquota retirada após 10 min da reação do sal de Zincke com α -fenil-glicinol.....	40
Figura 3.17: Espectro MS/MS do íon de m/z 397.	40
Figura 3.18: Espectro MS/MS do íon de m/z 351.	42
Figura 4.1: Dieno de Danishefsky.	47
Figura 4.2: Espectros ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da reação Aza Diels Alder em etanol após 10 minutos.	50
Figura 4.3: Espectros ESI-MS da reação de Aza Diels Alder em etanol após 60 minutos.	50
Figura 4.4: Espectros ESI-MS da reação de Aza Diels Alder em etanol após 90 minutos.	51
Figura 4.5: Espectros ESI-MS da reação de Aza Diels Alder em etanol após 120 minutos.	51
Figura 4.6: Espectros ESI-MS obtidos a partir da reação de Aza Diels Alder em acetonitrila após 60 minutos.	52
Figura 4.7: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 300.	53
Figura 4.8: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 254.	54
Figura 4.9: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 208.	55
Figura 4.10: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 295.	56
Figura 4.11: Espectros ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da reação de Aza Diels Alder em metanol após 60 minutos de reação.	57
Figura 4.12: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 286.	58

Figura 5.1: Estrutura de um ligante do tipo Salen.	62
Figura 5.2: Espectro de RMN de ^1H do composto 1 em CDCl_3	66
Figura 5.3: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1 em CDCl_3	66
Figura 5.4: Subespectro de DEPT do composto 1 em CDCl_3	67
Figura 5.5: Espectro de RMN de ^1H do composto 3a.	70
Figura 5.6: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 3a.	70
Figura 5.7: Subespectro de DEPT do composto 3a.	71
Figura 5.8: Espectro de RMN de ^1H do composto 6a em CDCl_3	74
Figura 5.9: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 6a em CDCl_3	75
Figura 5.10: Subespectro de DEPT do composto 6a em CDCl_3	75
Figura 5.11: Estruturas dos ligantes de Salen (1, 2, 4 e 5 e dos produtos derivados 3a e 6a) sintetizados.	76
Figura 5.12: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir de uma solução (em água-metanol 1:1 v/v) contendo o composto 2 ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e nitrato de chumbo ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). 77	77
Figura 5.13: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir de uma solução (em água-metanol 1:1 v/v) contendo o composto 1 ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e cloreto de mercúrio II ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).	77
Figura 5.14: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir de uma solução (em água-metanol 1:1 v/v) contendo o composto 4 ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e nitrato de cádmio ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). ..	78
Figura 5.15: Espectro ESI(+)-MS obtido a para o composto 1.	79
Figura 5.16: Espectro MS/MS do íon de m/z 317 referente à espécie $[1 + \text{H}]^+$	80
Figura 5.17: Espectro MS/MS do íon de m/z 317 referente à espécie $[2 + \text{H}]^+$	81
Figura 5.18: Espectro MS/MS do íon de m/z 317 referente à espécie $[3a + \text{H}]^+$	82
Figura 5.19: Espectro de ESI-MS/MS para o íon $[4 + \text{H}]^+$ de m/z 317.	83
Figura 5.20: Espectro de ESI-MS/MS para o íon $[5 + \text{H}]^+$ de m/z 317.	84
Figura 5.21: Espectro ESI(+)-MS obtido para o composto 6a.	86

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 3.1: Reação de Zincke.....	18
Esquema 3.2: Etapas propostas para a reação de Zincke.	20
Esquema 3.3: Mecanismo proposto para a reação de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol.....	23
Esquema 3.4: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 351.....	26
Esquema 3.5: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 259.....	27
Esquema 3.6: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 260.....	28
Esquema 3.7: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 168.	29
Esquema 3.8: Proposta de fragmentação do íon de m/z 214.	30
Esquema 3.9: Proposta de mecanismo da reação de Zincke com α -metil-benzilamina.	31
Esquema 3.10: Proposta de fragmentação do íon de m/z 381.	33
Esquema 3.11: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 319.	34
Esquema 3.12: Proposta de mecanismo da reação de Zicke com amino-1-propanol.....	35
Esquema 3.13: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 335.	37
Esquema 3.14: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 227.....	38
Esquema 3.15: Proposta de mecanismo da reação de Zincke usando como reagente α -fenil-glicinol.	39
Esquema 3.16: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 397.	41
Esquema 3.17: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 351.	42
Esquema 4.1: Reação de Aza Diels Alder.....	46
Esquema 4.2: Reação de Aza Diels Alder.....	48
Esquema 4.3: Proposta para um mecanismo não concertado da reação de Aza Diels Alder.	49
Esquema 4.4: Proposta para um mecanismo concertado da reação de Aza Diels Alder.....	49
Esquema 4.5: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 300.....	53
Esquema 4.6: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 254.....	54
Esquema 4.7: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 208.....	55
Esquema 4.8: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 295.....	56
Esquema 4.9: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 286.....	58
Esquema 4.10: Proposta de mecanismo para a reação de Aza Diels Alder.....	59
Esquema 5.1: Síntese do N,N'-bis[(2-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (1).	64
Esquema 5.2: Síntese do N,N'-bis[(3-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (2).	67
Esquema 5.3: Síntese do composto N,N'-bis[(4-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (3) e a conversão para sua forma cíclica 3a.	68
Esquema 5.4: Síntese do N,N'-bis(2-hidroxibenzeno) isoftaldiimina (4).	71
Esquema 5.5: Síntese do N,N'-bis[(2-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 3-fenilenodiamina] (5).	72
Esquema 5.6: Síntese proposta para o bis(m-hidroxi-benzaldeído)-o-tio-aminofenol (6) e a suposta formação do produto 6a.	73
Esquema 5.7: Proposta de fragmentação para o íon $[1 + H]^+$ de m/z 317.	80
Esquema 5.8: Proposta de fragmentação para o íon $[2 + H]^+$ de m/z 317.	81
Esquema 5.9: Proposta de fragmentação para o íon $[3a + H]^+$ de m/z 317.	82
Esquema 5.10: Proposta de fragmentação para o íon $[4 + H]^+$ de m/z 317.	83
Esquema 5.11: Proposta de fragmentação para o íon $[5 + H]^+$ de m/z 317.	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Energia de colisão e íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico detectado na reação Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol.....	30
Tabela 3.2: Energia de colisão e íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico detectado na reação Zincke com α -metil-benzilamina.	34
Tabela 3.3: Energia de colisão e íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico detectado na reação Zincke com amino-1-propanol.	38
Tabela 3.4: Energia de colisão e íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico detectado na reação Zincke com α -fenil-glicinol.	43
Tabela 3.5: Intermediários detectados na reação de Zincke para cada amina estudada..	43
Tabela 4.1: Energia de colisão usada na fragmentação de cada intermediário da reação de Aza Diels Alder em acetonitrila.....	56

LISTA DE SIGLAS

APCI – Ionização química a pressão atmosférica (*Atmospheric pressure chemical ionization*)

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CI – Ionização Química (*Chemical Ionization*)

CID – Dissociação Induzida por Colisão (*Collision-induced dissociation*)

CRM - Modelo da carga residual (*Charged Residual Model*)

DEPT - Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

EI – Ionização por Elétrons (*Electron Ionization*)

EM – Espectrometria de Massas

ESI – Ionização por Electrospray (*Electrospray Ionization*)

ESI(-)-MS – Espectrometria de massas com ionização por electrospray em modo negativo

ESI(+)-MS – Espectrometria de massas com ionização por electrospray em modo positivo

ESI-MS – Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray (*Electrospray ionization – Mass spectrometry*)

FAB – Bombardeamento por átomos rápidos (*Fast Atom Bombardment*)

m/z – Razão massa/carga

MALDI – Dessorção/ionização a laser auxiliada por matriz (*Matrix assisted laser desorption ionization*)

MCP – *microchannel plate*

MS – Espectrometria de massas (*Mass Spectrometry*)

MS/MS – Sistemas conjugados com dois analisadores de massa

MSⁿ – Espectrometria de Massas Sequencial em Múltiplos Estágios

$[M - H]^-$ – Representação da molécula ionizada através de desprotonação

$[M+H]^+$ – Representação da molécula ionizada através de protonação

Qq – Designação para duplo-quadropolo

RMN-C¹³ – Ressonância magnética nuclear de carbono-13

RMN-H¹ – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RF – Rádio frequência

SNAr – Substituição nucleofílica aromática

TOF – Analisador de massas por tempo de voo (*Time of flight*)

SUMÁRIO

AGRADECIMENTO.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE ESQUEMAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE SIGLAS.....	viii
1 RELEVÂNCIA E OBJETIVOS	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 ESPECTROMETRIA DE MASSAS	4
2.1.1 Fundamentos de Espectrometria de Massas	4
2.1.2 Métodos de ionização	6
2.1.3 Analisadores de massas	7
2.1.4 Detectores	8
2.1.5 Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray (ESI-MS).....	10
2.2 Investigação de Mecanismos de Reação Através de ESI-MS	14
2.3 Aplicação de ESI-MS na Caracterização de Complexos Metálicos.....	15
3 REAÇÃO DE ZINCKE.....	17
3.1 INTRODUÇÃO.....	18
3.1.1 Aspectos Históricos	18
3.1.2 Mecanismo Proposto	19
3.2 Objetivo	20
3.3 Parte Experimental	21
3.3.1 Reagentes.....	21
3.3.2 Procedimento geral para a Reação de Zincke.....	21
3.3.3 Monitoramento	21
3.4 Resultados e Discussão.....	22
3.5 Conclusão	44

4	REAÇÃO DE AZA DIELS ALDER	45
4.1	- Introdução.....	46
4.1.1	Reação Aza Diels Alder	46
4.2	Objetivo	47
4.3	Parte Experimental	47
4.3.1	Reagentes.....	47
4.3.2	Procedimento	47
4.3.3	Monitoramento	48
4.4	Resultados e discussão	48
4.5	Conclusão	60
5	DIFERENCIAÇÃO DE BIS-HIDROXIIMINAS AROMÁTICAS ISOMÉRICAS PELOS PERFIS DE FRAGMENTAÇÃO DOS ADUTOS PROTONADOS	61
5.1	Introdução.....	62
5.1.1	Iminas	62
5.2	Objetivos.....	62
5.3	Parte Experimental	63
5.3.1	Reagentes.....	63
5.3.2	Equipamentos	63
5.3.3	Procedimento para a síntese dos ligantes do tipo Salofen	64
5.4	Resultados e discussão	76
5.5	Conclusão	86
6	CONCLUSÃO GERAL	87

1 Relevância e objetivos

A Espectrometria de massas é a técnica instrumental mais apropriada para a investigação de estrutura e reatividade de íons. O ambiente de alto vácuo do espectrômetro é ideal para estudar as propriedades intrínsecas de espécies iônicas em fase gasosa, possibilitando fazer uma correlação com a fase condensada. Muitos íons, difíceis de serem isolados ou, até mesmo inacessíveis em solução, podem ser facilmente gerados na fase gasosa por EM.¹ Em fase gasosa, alguns íons normalmente mostram tempo de vida relativamente longo, isto permite seu isolamento e sua fragmentação através do processo conhecido como dissociação induzida por colisão (CID). Estes experimentos são muito utilizados na elucidação estrutural.

O surgimento de novas técnicas de ionização, como a ionização por Electrospray (ESI) expandiu a gama de moléculas que podem ser analisadas por espectrometria de massas, incluindo moléculas de alta polaridade, alto massa molecular e grande complexidade estrutural. Esse tipo de ionização é conhecido pela habilidade em transferir espécies da solução para a fase gasosa de forma suave, permitindo inclusive que espécies supramoleculares² fracamente ligadas permaneçam intactas. Essa característica, aliada à alta sensibilidade, torna a técnica de ESI-MS adequada para interceptar espécies transientes em reações orgânicas, ou mesmo monitorar a formação de produtos e detectar o momento que subprodutos estão sendo formados, tornando-se técnicas de escolha para o estudo de mecanismos de reação em química, bioquímica, química forense, química analítica, química de materiais, etc.

O objetivo desta dissertação é demonstrar a aplicação da espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS) na investigação de mecanismos de duas reações orgânicas selecionadas e no estudo da fragmentação de moléculas protonadas isoméricas (iminas) visando uma possível diferenciação através do perfil de ESI-MS/MS.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 ESPECTROMETRIA DE MASSAS

2.1.1 Fundamentos de Espectrometria de Massas

Desde seu surgimento, em 1897, pelo trabalho pioneiro de J. J Thomson, a espectrometria de massas (EM) tem revolucionado muitas áreas do conhecimento como a física, química e, mais recentemente, a biologia, medicina, ciência dos materiais e ciência dos alimentos, dentre outras. Com seus novos horizontes e amplas perspectivas de desenvolvimento, a EM vem se consolidando como uma ferramenta analítica extremamente versátil e essencial nessas áreas do conhecimento. Desde pesquisas aplicadas até as mais fundamentais, a EM tem exercido papel de grande destaque, com crescente atuação.

Nas aplicações mais tradicionais de EM utilizam-se as técnicas de ionização por elétrons (EI) ou ionização química (CI)³ para a ionização dos analitos, sendo técnicas reconhecidas amplamente em análises estruturais de compostos. Para a aplicação deste tipo de ionização necessita-se que o composto seja volatilizado primeiramente, e posteriormente, ionizado, limitando o uso desta técnica a compostos voláteis, termolábeis e que possuem baixas massas moleculares.

O surgimento de novas técnicas de ionização, como a (MALDI),² e a ionização por electrospray (ESI),⁴ permitiu a extensão da aplicação da ionização por dessorção a laser assistida por matriz EM para praticamente todas as classes de moléculas. Tanto ESI como MALDI, consideradas técnicas brandas de ionização, permitem a análise de moléculas termolábeis e de alta massa molecular, como proteínas e peptídeos, íons em solução, complexos organometálicos e polímeros, dentre outras.

O desenvolvimento dos espectrômetros de massas de múltiplos estágios, como os triplo e pentaquadrupolos, armadilha de íons (*ion traps*), setores elétricos e magnéticos e equipamentos híbridos (Q-tof, Q-trap) permitiu o acesso a técnicas de espectrometria de massas em sequencial (MS/MS ou MSⁿ) e, com isso, ocorreu um aumento significativo das potencialidades analíticas da técnica. As análises de íons pré-selecionados, formados através de processos de dissociação ou reações íon/molécula, permitiram a obtenção de informações mais detalhadas quando comparadas àquelas obtidas através de espectros de massas simples. Com técnicas de MSⁿ obtém-se não somente a razão massa/carga (m/z) dos íons, mas também, informações estruturais da

cada um desses íons, permitindo, portanto, a “reconstrução” da molécula precursora. A análise de misturas diretamente por MSⁿ também se tornou possível, já que íons de cada um dos seus constituintes podem ser individualmente separados e analisados. Desta forma, pode-se analisar misturas de compostos, para as quais separações cromatográficas não são indicadas.

A fase gasosa é um ambiente ideal para o estudo da reatividade intrínseca de moléculas livres de solvente e contra-íons, sendo que a espectrometria de massas de múltiplos estágios é indicada particularmente para tais estudos, pois permite que os íons formados tenham suas relações massa/carga (m/z) selecionadas e, além disso, permite que reações sejam induzidas em ambientes com condições controladas, processo conhecido como reação íon/molécula. Muitos intermediários de reações são instáveis em solução, mas possuem algum tempo de vida na fase gasosa e, portanto, podem ser selecionados e suas reatividades intrínsecas estudadas.

Na espectrometria de massas, alguma forma de energia é transferida à amostra para causar a sua ionização. Os agentes ionizantes empregados podem ser distribuídos em duas categorias: os que requerem a amostra em fase gasosa e aqueles que provocam dessorção em amostras sólidas ou líquidas. A vantagem dos últimos é que são aplicáveis a amostras não voláteis e termicamente instáveis. O princípio de funcionamento de qualquer espectrômetro de massas baseia-se na detecção de íons selecionados de acordo com a sua razão massa/carga, sendo m a massa em u [massa atômica unificada, chamada também de Dalton (Da)] e z a carga formal. A essência da técnica envolve a geração de íons que são depois detectados. A sofisticação surge nos métodos que são usados para a geração desses mesmos íons e no modo de analisá-los.

Existem diversos tipos de espectrômetros de massas, cada qual com suas vantagens e limitações. Porém, todos apresentam os mesmos componentes básicos: sistema de introdução de amostra, fonte de ionização, analisador de massas, detector e registrador. Um esquema da estrutura básica de um espectrômetro de massas é mostrado na Figura 2.1. Na fonte de íons, os componentes de uma amostra são convertidos em íons e os íons positivos ou negativos são imediatamente acelerados em direção ao analisador de massas. A função do analisador de massas é separar tais íons de acordo com a sua relação m/z . Os espectrômetros de massas podem ser classificados em várias categorias dependendo da natureza do analisador de massas. Finalmente, um detector

recebe os íons que foram separados pelo analisador, transformando a corrente de íons em sinais elétricos que são processados, armazenados na memória de um computador e mostrados em uma tela⁵.

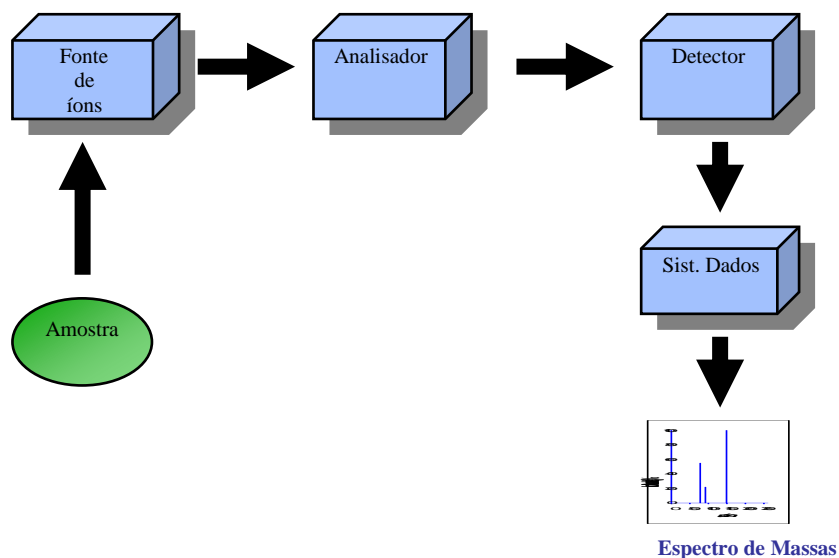


Figura 2.1: Componentes básicos de um espectrômetro de massas.

2.1.2 Métodos de ionização

A fonte de ionização é um dispositivo que promove a ionização dos analitos da amostra antes da sua entrada no analisador de massas. Existe uma grande variedade de técnicas de ionização, cuja escolha deve levar em conta as propriedades físico-químicas do analito e a energia transferida durante o processo de ionização⁶.

Os métodos de ionização mais conhecidos são: ionização por elétrons (EI), ionização química (CI),² bombardeamento por átomos rápidos (FAB),² ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI),² ionização química a pressão atmosférica (APCI)² e ionização por electrospray (ESI)². Os métodos de EI e CI são adequados para analisar apenas moléculas voláteis e termicamente estáveis, pois os íons são formados após a molécula ser volatilizada. A técnica FAB pode ser aplicada para amostras polares, iônicas, termicamente lábeis, energeticamente instáveis e de alto peso molecular, que normalmente não podem ser analisadas pelas técnicas EI e CI. A técnica MALDI baseia-se na ionização do analito adsorvido em uma substância (matriz) por um

feixe de laser. Na técnica APCI as moléculas do solvente são transferidas à fase gasosa, sendo então, aplicado uma tensão em uma agulha, próximo a saída do vaporizador, que cria uma descarga de íons através de interações com as moléculas do gás de arraste e do solvente. É uma técnica parecida com a CI, porém todo o processo ocorre sob pressão atmosférica².

2.1.3 Analisadores de massas

Após serem gerados na fonte de ionização, os íons são transferidos para uma região do equipamento, conhecida como analisador de massas, onde sua razão m/z é medida. Os tipos de analisadores utilizados são: quadrupolo (Q), aprisionamento de íons (*ion trap*), tempo de voo (TOF – *Time of Flight*), setor eletostático (E) e setor magnético (B), ressonância ciclotrônica de íons (ICR – Ion Cyclotron Resonance) e configurações híbridas como o setor eletrostático e magnético (BE), quadrupolo-quadrupolo (Qq), quadrupolo -TOF (QTof), quadrupolo - *ion trap* (Qtrap) e alguns outros.

Os analisadores quadrupolos utilizam campos elétricos oscilantes, gerados por quatro barras metálicas (eletrodos), para estabilizar ou desestabilizar seletivamente os íons, durante sua passagem pelo centro do quadrupolo, de acordo com seus valores de m/z . O quadrupolo funciona como um filtro. Isso permite que os íons de diferentes valores de m/z cheguem com tempos diferentes ao detector e, desta forma, podem ser diferenciados.²

Os analisadores *ion trap* operam por princípio semelhante ao quadrupolo, porém os íons não descrevem uma trajetória através do ambiente quadrupolar, e sim são aprisionados dentro dele. Existe um campo elétrico no interior do *ion trap* que mantém os íons em uma órbita estável em seu interior. Um potencial RF (radio frequência) é aplicado e os íons são então desestabilizados e expelidos para fora do analisador, de acordo com seus valores de m/z .²

Os analisadores tempo de voo baseiam-se no princípio de que íons com mesma carga têm energias cinéticas iguais e a velocidade de cada íon será inversamente proporcional à raiz quadrada da sua massa. Logo, se dois íons com mesma carga, mas com massas diferentes, forem acelerados através de um campo elétrico com potencial constante, suas velocidades serão dependentes de suas massas e eles atingirão o detector com “tempos de voo” diferentes.²

No analisador de Setor utiliza-se um campo elétrico estático (E) ou magnético (B) ou a combinação dos dois (BE) para alterar a trajetória e a velocidade dos íons até sua chegada ao detector. Os íons são submetidos a uma trajetória circular e os íons que possuem maiores valores de m/z percorrem uma trajetória maior, enquanto que os íons de menor valor de m/z percorrem uma trajetória menor, sendo assim separados.²

O analisador de ressonância ciclotrônica de íons, também conhecido como *penning trap*, opera com fortes campos magnéticos e elétricos estáticos para aprisionar os íons. Os íons aprisionados são excitados por pulsos de RF, descrevendo assim órbitas coerentes e, através dos detectores, os sinais elétricos dos íons são medidos. A frequência de um íon em sua órbita é determinada pela sua razão m/z .²

As três principais características de um analisador de massas são: o limite superior de medida da razão m/z , a transmissão, que é a razão entre o número de íons que alcança o detector e o número de íons produzidos na fonte, e o poder de resolução, que é a habilidade de produzir sinais distintos para dois íons com uma pequena diferença de massa³.

2.1.4 Detectores

O detector tem a função de detectar e amplificar o sinal da corrente de íons que vem do analisador e transferir o sinal para o sistema de processamento de dados. Os três principais tipos de detectores são:

- Fotomultiplicador: dinodo de conversão de alta voltagem que converte íons positivos ou negativos em elétrons, que são em seguida convertidos em luz (fótons). O fotomultiplicador é selado em um envelope de vidro, e assim é protegido de contaminação, o que faz com que seu tempo de vida seja mais longo. A Figura 2.2 mostra um fotomultiplicador com detecção de íons positivos.

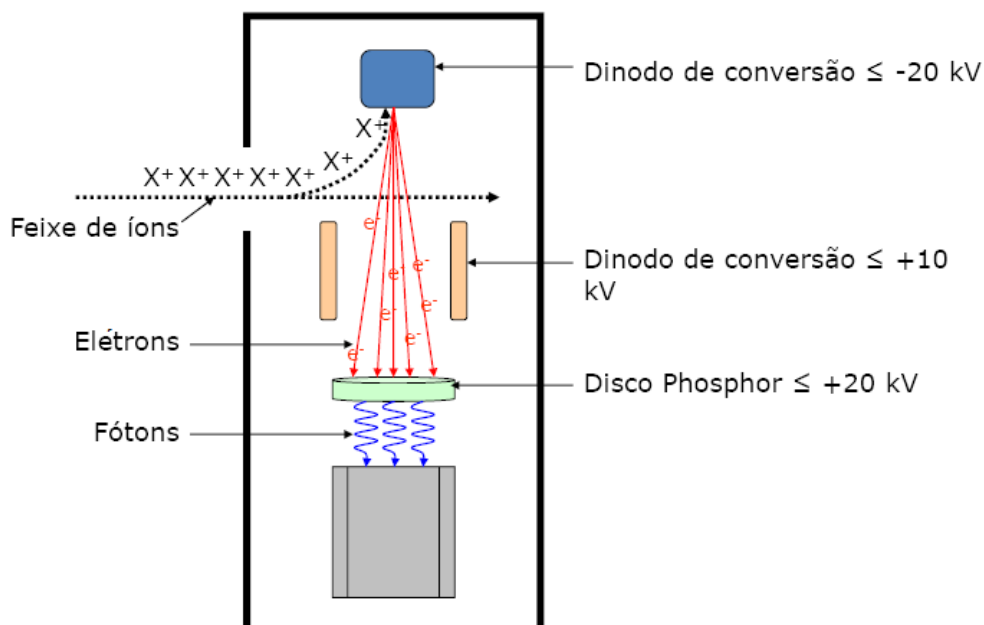


Figura 2.2: Detector fotomultiplicador com detecção de íons positivos.⁷

-Multiplicador de elétrons (Figura 2.3) são os detectores mais utilizados nos espectrômetros atuais. Funcionam pela emissão de elétrons secundários produzidos por dinodos quando os íons provenientes dos analisadores chocam-se a eles. Potenciais mais altos nos dinodos de conversão são utilizados para acelerar íons de massas altas e assim melhorar a sensibilidade.²

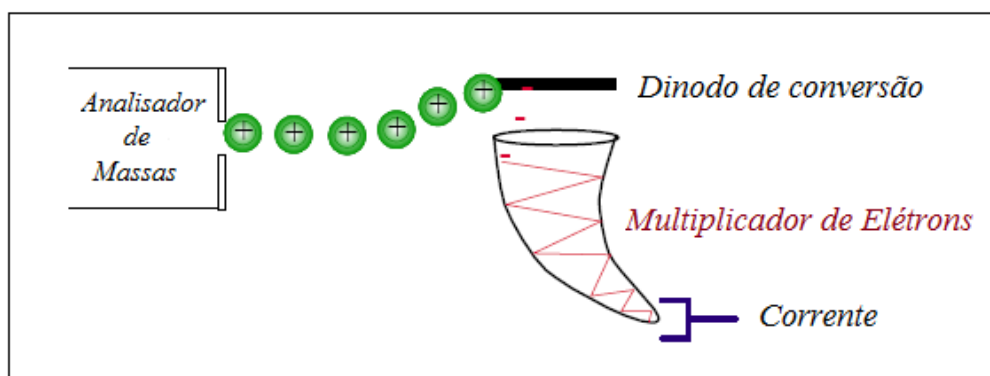


Figura 2.3: Detector Multiplicador de elétrons.⁷

- *microchannel plate* (MCP): são multiplicadores de elétrons e consistem de capilares de vidro fundidos e cortados em uma placa fina (Figura 2.4). O MCP apresenta uma elevada eficiência de detecção de elétrons e íons.²

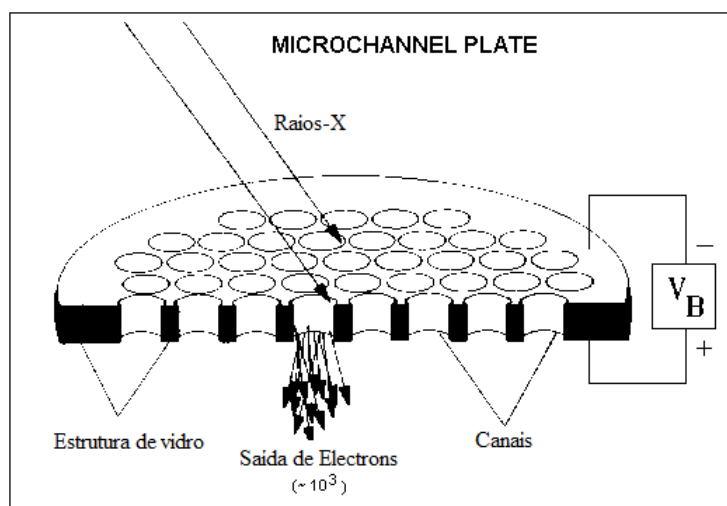


Figura 2.4: Detector *microchannel plate*.⁸

O detector depende do tipo de analisador; o fotomultiplicador e o multiplicador de elétrons são utilizados com analisadores quadrupolo, setor magnético e *ion trap* e apresentam faixa dinâmica ampla (10^5 - 10^8), enquanto que o MCP é utilizado com analisadores TOF e apresentam resposta extremamente rápida, com alta sensibilidade.

2.1.5 Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray (ESI-MS)

O conceito de ionização electrospray foi proposto inicialmente por Dole em 1968⁹. No entanto, seus experimentos não foram convincentes, pois estes visavam à análise de espécies poliméricas, como poliestireno, que não são ionizados em solução. A partir do trabalho desenvolvido por Yamashita e Fenn (em 1984), a técnica sofreu um grande avanço devido à possibilidade de se ionizar proteínas, o que permitiu a determinação de suas massas molares. Posteriormente, ESI-MS foi aplicada à análise de outros biopolímeros e pequenas moléculas polares, revelando-se uma técnica sensível e facilmente acoplável a técnicas cromatográficas⁴. Fenn recebeu o prêmio Nobel em Química, em 2002, pelo desenvolvimento da ionização por electrospray para análise de macromoléculas biológicas.

Desde seu surgimento, ESI-MS tornou-se uma das técnicas analíticas mais poderosas e amplamente utilizadas. Dentre as vantagens de ESI-MS incluem alta sensibilidade e seletividade, facilidade de uso e consumo reduzido de amostra. Uma ampla variedade de substâncias pode ser analisada, incluindo proteínas, ácidos

nucléicos, e até mesmo complexos metálicos, desde que sejam iônicos ou apresentem sítios ácidos ou básicos.^{10,11}

Há essencialmente três características que fazem com que ESI seja considerada uma técnica distinta das outras técnicas de ionização. A primeira destas características é a capacidade para produzir íons multiplamente carregados, reduzindo assim a razão m/z , de tal modo que é possível analisar compostos de elevada massa molecular. A segunda característica é que as amostras a serem analisadas devem ser introduzidas em solução, o que faz com que seja possível o acoplamento com muitas técnicas de separação. Por último, ESI é uma técnica de ionização suave, provocando pouca (ou nenhuma) fragmentação dos analitos estudados.

O processo electrospray pode ser descrito com relativa simplicidade. A produção de íons requer, essencialmente, dois passos: dispersão de gotas altamente carregadas, quase a pressão atmosférica, seguida por condições que permitam a evaporação da gota. A implementação de uma fonte de electrospray é bastante simples se comparada com outras fontes utilizadas em espectrometria de massas. É necessária uma fonte de alta tensão que esteja em contato com a solução contendo os analitos. Esta solução é transmitida através do capilar, onde é aplicado um potencial positivo ou negativo forçando um processo de oxi-redução e, conseqüentemente, a formação de algumas espécies sem seus contra-íons. Assim, a gota sendo formada na ponta do capilar estará enriquecida por íons positivos ou negativos, dependendo do potencial aplicado. Conforme a densidade de carga aumenta na gota, presa à ponta do capilar, o campo elétrico formado entre o capilar e o contra-eletrodo aumenta, provocando uma deformação na gota. A gota ganha forma de um cone, o qual é denominado de cone de Taylor. Quando a densidade de carga supera a tensão superficial, a gota se desprende do capilar subdividindo-se. A frequência deste último processo depende da magnitude do campo elétrico, da tensão superficial do solvente e da condutividade da solução.

Como resultado final, os íons tornam-se completamente dessolvatados¹². Pode-se presumir que ESI envolve apenas o rompimento gradual de interações não covalentes, principalmente a remoção de moléculas de solventes. Por exemplo, em um estudo detalhado por Kebarle e Ho, foi possível notar a transferência para a fase gasosa de diferentes íons dissolvidos em uma ampla variedade de solventes.¹³

A Figura 2.5 ilustra o processo que acontece em uma fonte ESI. Uma solução contendo íons é passada por um capilar onde é aplicada uma alta tensão, positiva ou negativa, ocorrendo então a redução/oxidação de alguns íons (etapa **a**). Nesta etapa é formado um spray eletrolítico (etapa **b**). As gotículas carregadas começam a diminuir de tamanho devido à evaporação do solvente (etapa **c**), até o momento em que são obtidos os íons isolados (etapa **d**).

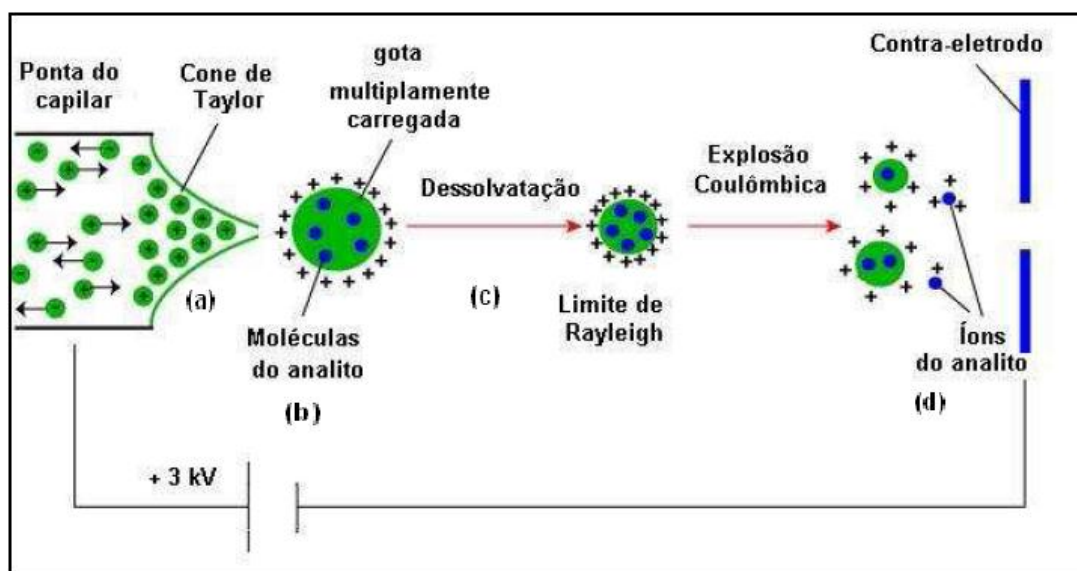


Figura 2.5: Ilustração do processo de formação de íons numa fonte de eletrospray.¹⁴

2.1.5.1 Dessolvatação das gotas

As gotas desprendidas da ponta do capilar passam por um processo de dessolvatação. Depois da liberação das gotas com alta densidade de carga do cone de Taylor, estas passam pela região entre a ponta do capilar e o contra eletrodo e vão sofrendo dessolvatação. A massa do solvente é reduzida por evaporação, sendo que, para auxiliar este processo, há um fluxo de gás inerte secante, normalmente o nitrogênio, que pode ser aquecido. Conforme a gota perde solvente, a densidade de carga aumenta até um ponto em que a tensão superficial é rompida e as gotículas são liberadas num processo conhecido como explosão de Coulomb. A carga máxima q que uma gota de diâmetro D pode manter antes de se fragmentar em gotas menores é fornecida pela Equação-1:

$$q^2 = 8 \pi^2 \cdot \epsilon_0 \cdot \gamma \cdot D^3 \quad (1)$$

Onde ϵ_0 é a permissividade no espaço e γ é a tensão superficial da gota. Esta dedução é conhecida como limite de Rayleigh. O processo de dessolvatação vem sendo estudado por vários grupos. Por exemplo, Tang e colaboradores observaram que as gotas, para sofrerem ruptura, não precisam necessariamente alcançar o limite de Rayleigh. A ruptura ocorre em torno de 80% do limite e resulta na expulsão de gotas descendentes com 2% a 3% da massa e 10% a 18% da carga da gota ascendente; sendo assim, as gotas descendentes são bem menores e possuem uma razão massa/carga menor.¹⁵ Existem dois modelos de mecanismos que propõem como os íons finalmente são transferidos para a fase gasosa (Figura 2.6). Um deles foi proposto por Dole em 1968, denominado de CRM ou modelo de carga residual¹⁶, o qual depende da formação de gotas carregadas extremamente pequenas, geradas a partir de sucessivas explosões de Coulomb, que contenha somente um íon, sendo assim, com a evaporação do solvente, restará apenas um único íon em fase gasosa. O outro mecanismo, proposto por Thomson e Iribarne é o modelo de evaporação do íon (IEM – *Ion Evaporation Model*)¹⁷. A emissão dos íons ocorre diretamente de gotas muito pequenas e altamente carregadas, onde os íons são expulsos das gotas devido à repulsão eletrostática entre as moléculas de mesma carga.

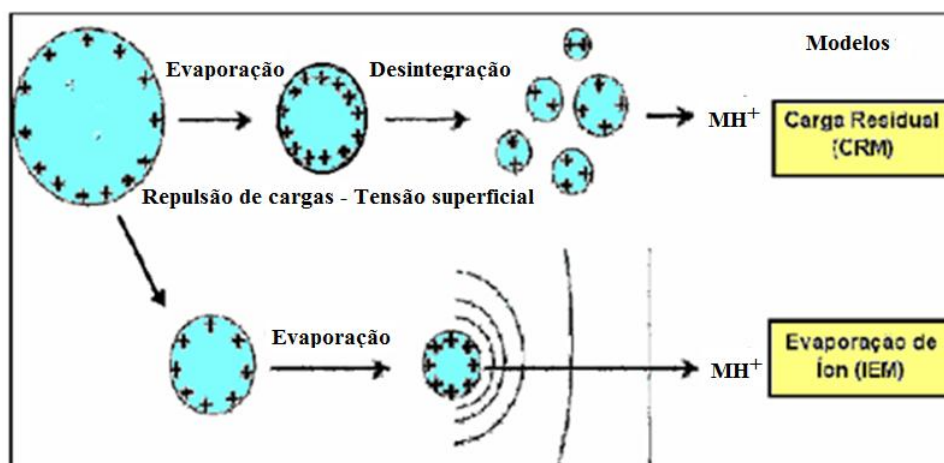


Figura 2.6: Dois mecanismos propostos para a formação de íons gasosos no processo de electrospray.⁶

O principal resultado do processo ESI é a transferência dos analitos ionizados na fase condensada para a fase gasosa como uma entidade isolada.¹⁸ As espécies iônicas podem ser protonadas, desprotonadas, além de possível formação de agregados iônicos com o solvente e adutos com cátions (Na^+ , K^+) e ânions (Cl^- , CF_3^-).³

2.1.5.2 Dissociação Induzida por Colisão

Após o íon de interesse ser formado no espectrômetro de massas, pode-se selecionar o mesmo dentro do analisador de massas e aplicar uma energia para que esse íon se fragmente. Esse processo é conhecido como dissociação induzida por colisão (CID), sendo utilizado em sistemas de espectrometria de massas sequencial (MS/MS) e desempenha um importante papel na determinação estrutural de íons e análises de misturas complexas. O processo CID pode ser dividido em duas etapas: (a) ativação do íon precursor através de colisão com um gás inerte, onde uma fração de sua energia cinética é convertida em energia interna; (b) dissociação unimolecular do íon precursor excitado. A formação de vários fragmentos provenientes da dissociação do íon precursor fornece informações valiosas sobre a estrutura deste íon, necessárias para sua identificação e caracterização.

2.2 Investigação de Mecanismos de Reação Através de ESI-MS

O crescente desenvolvimento de métodos de ionização em espectrometria de massas, tais como ESI², APCI⁴ e APPI¹⁹, tem permitido o monitoramento direto e em tempo real de reações que acontecem em fase condensada. Em princípio, estes métodos permitem a detecção e caracterização de intermediários reacionais, mesmo em diminutas concentrações, sem a necessidade de isolamento²⁰. Isto tem possibilitado a obtenção de informações detalhadas sobre o mecanismo de várias reações.

Dois tipos de monitoramento (*off-line* e *on-line*) podem ser utilizados para se investigar reações usando ESI-MS. No monitoramento *off-line* misturam-se os reagentes e, em seguida, retiram-se alíquotas ao longo do tempo. A identificação pode ser realizada pela seleção dos intermediários observados durante intervalos de tempo pré-definidos e caracterização por MS/MS. O intervalo de tempo decorrido entre as amostragens consecutivas deve ser ajustado de acordo com o tempo da reação em estudo. Uma desvantagem desse monitoramento é que não é possível analisar espécies com tempo de meia-vida curto.³

No monitoramento *on-line* utilizam-se reatores acoplados à fonte ESI. Nesses recipientes as reações ocorrem e durante todo o tempo essa reação é introduzida no espectrômetro de massas, para que intermediários e produtos possam ser analisados e

caracterizados. Este método permite a caracterização de produtos instáveis e intermediários reativos. O mais simples reator acoplado ao espectrômetro de massas é a própria seringa de injeção. Vários outros reatores tem sido utilizados especificamente no monitoramento de processos fotoquímicos e eletroquímicos.³

Existem vários trabalhos onde ESI-MS foi empregada para a elucidação de mecanismos de reação. Por exemplo, a metátese de olefinas²¹ foi monitorada por ESI-MS com a finalidade de se caracterizar complexos de rutênio reativos no meio reacional. A polimerização de Ziegler-Natta, responsável pela produção de polímeros, foi estudada também utilizando ESI-MS, tendo sido possível identificar a formação da espécie ativa alquilzirconoceno.²² O mecanismo de Baylis-Hillman²³ foi comprovado por Santos e colaboradores²⁴ utilizando-se ESI-MS, tendo sido possível detectar e caracterizar dois intermediários propostos na literatura. Outros exemplos envolveram a aplicação de ESI-MS para a detecção e caracterização de intermediários-chave em processos envolvendo compostos organotelúricos²⁵, na reação de Petasis²⁶ e na reação de Heck²⁷ e em muitas outras reações.

2.3 Aplicação de ESI-MS na Caracterização de Complexos Metálicos

Um dos objetivos do presente trabalho, que será explicado no Capítulo 5, seria utilizar a técnica ESI-MS para verificar a capacidade de complexação de íons de alguns metais pesados (Pb^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+}) por ligantes quelantes sintetizados em nosso laboratório, cujas estruturas são mostradas na Figura 5.3. Alguns trabalhos da literatura tem demonstrado a viabilidade da utilização de ESI-MS em tais estudos. Por exemplo, Moraes e colaboradores²⁸ estudaram a viabilidade de se utilizar ESI-MS para a determinação de padrões isotópicos de complexos de Zn, Cd, Ni, Fe, Hg, Cu, Tl e B,²⁹ usando ligantes monoatômicos, como I^- e F^- , que não interferem no padrão isotópico do metal. Williams³⁰, utilizando macrociclos contendo heteroátomos (N, O), confirmou a dependência entre cavidade, número de átomos e presença de substituintes na complexação de metais como Au, Ag, Cu e Fe, entre outros. Os resultados obtidos mostraram que a presença de heteroátomos e substituintes aromáticos na estrutura macrocíclica aumentava seu poder seqüestrante para Ag^+ em soluções aquosas.

Raymond e colaboradores³¹ mostraram a possibilidade de utilizar ESI-MS para a identificação de espécies de poliselenetos em soluções aquosas. Orians e

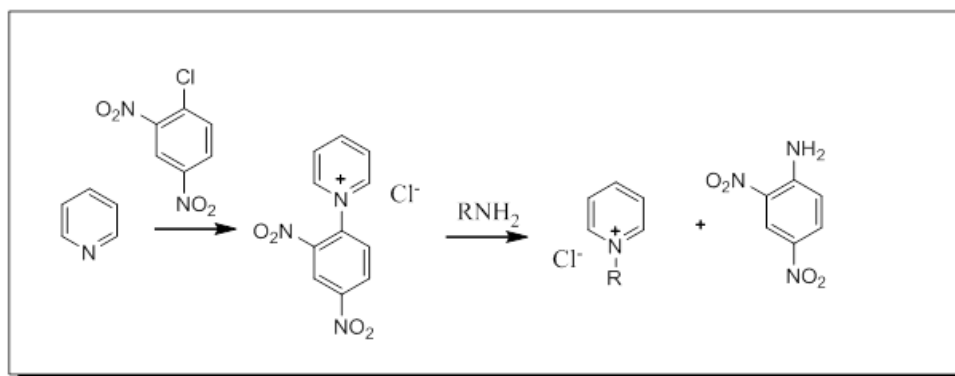
colaboradores³² estudaram a especiação de complexos de diferentes metais com ligantes orgânicos. Por exemplo, no caso do complexo de cobre com a 8-hidroxiquinolina, os autores mostraram que em soluções metanólicas a espécie predominante é o complexo com Cu^{2+} . No entanto, quando o solvente usado foi acetonitrila, a espécie predominante é o complexo com Cu^{1+} .³¹

3 Reação de Zincke

3.1 INTRODUÇÃO

3.1.1 Aspectos Históricos

Em 1904 Zincke relatou que o tratamento de cloreto de 2,4-dinitrofenil-piridínio com anilina forneceu um sal vermelho, que subseqüentemente transformou-se em cloridrato de fenil piridínio. Este processo ficou conhecido como reação de Zincke e é usado atualmente como rota sintética de sais de *N*-aril-piridínios que não podem ser formados por reação direta de eletrólitos com piridina.³³



Esquema 3.1: Reação de Zincke.

Apesar do sal inicial favorecer uma substituição nucleofílica aromática (S_NAr), a reação de Zincke forneceu um produto de piridínio impossível de ser obtido através de S_NAr. O sal vermelho intermediário foi proposto como sendo uma imina conjugada, incorporando duas unidades de anilina. De forma independente, König caracterizou sais similares, conhecidos como sais de König, mas designou a estrutura fechada do anel.³⁴ Seguindo estes relatos iniciais, Zincke e colaboradores estenderam a reação a uma variedade de piridínios substituídos.

Durante as décadas de 1950 e 1960 Hafner usou os sais de König, derivado da reação de *N*-metil-anilina com sal de Zincke, para síntese de azulenos³⁵. A reação de Zincke se tornou também conhecida na síntese de um pigmento responsável pela cor de cianina³⁶ e como um método analítico para a determinação de nicotinamida³⁷.

Os sais de Zincke representaram um importante papel na síntese de co-enzimas análogas NAD⁺/NADH desde um trabalho em 1973 sobre a síntese de Zincke de di-hidropiridina³⁸. O sal derivado de nicotinamida e sal de Zincke, inicialmente sintetizado por Lettré,³⁹ foi usado também por Shifrin em 1965 para a preparação e estudo de

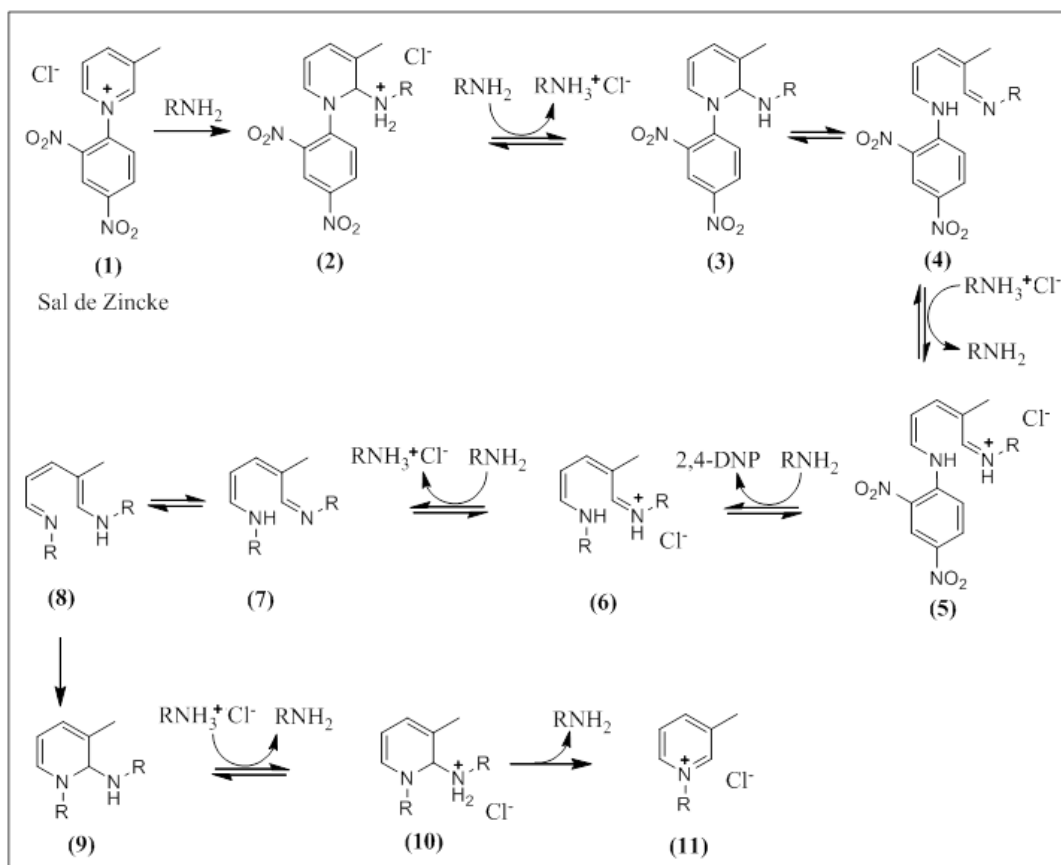
análogos NAD^+/NADH .⁴⁰ Em 1972, Secrist relatou usar esse sal para a síntese de análogos de NAD^+ simplificados.⁴¹ Na década de 1990 Marazano mostrou que a reação de Zincke foi uma ferramenta única e versátil para a preparação de sais de piridínio quirais.⁴²

Pela manipulação das condições da reação, incluindo solvente e a quantidade do sal de Zincke, o processo tem sido aplicado para a preparação de uma ampla variedade de sais piridínio, incluindo uma síntese em suporte sólido⁴³. A utilidade sintética da reação de Zincke deriva de sua eficácia em produzir sais de piridínio não obtidos pela *N*-arilação e *N*-alquilação diretas. Por exemplo, piridinas deficientes de elétrons e nucleófilos fracos podem ser convertidas para os sais *N*-2,4-dinitrofenil correspondentes e daí para sais de piridínio *N*-aril ou *N*-alquil substituídos, através da reação de Zincke. Além disso, enquanto a *N*-arilação direta de piridínios através da substituição nucleofílica aromática requer que o eletrófilo seja ativado através de grupos retiradores de elétrons, a reação de Zincke tolera uma ampla variedade de anilinas substituídas como nucleófilos, resultando em uma rota versátil para os sais de *N*-aril piridínios. Estes atributos, juntamente com a versatilidade sintética dos produtos de piridínio, têm feito da reação de Zincke um método importante em síntese orgânica.

3.1.2 Mecanismo Proposto

Inicialmente, Zincke relatou uma reação de abertura de anel do cloridrato 2,4-dinitro-fenil-piridina⁴⁴ com anilina formando um produto de coloração vermelha, que Zincke atribuiu a um intermediário, cuja existência foi proposta com base em evidências experimentais. O mecanismo de reação de Zincke foi previamente dividido em abertura de anel⁴⁵ e fechamento de anel⁴⁶.

A partir desses estudos Ise e seus colaboradores inferiram um mecanismo completo para essa reação, mostrado no Esquema 3.2.⁴⁷



Esquema 3.2: Etapas propostas para a reação de Zincke.⁴⁸

Neste mecanismo, o excesso de amina (RNH₂) auxilia a transferência de prótons, reagindo com (1) e posteriormente com (3) para formar o intermediário (7). Esta rota depende basicamente de uma reação altamente ativada do sal de Zincke com várias aminas. Do ponto de vista mecanístico, o processo global envolve o ataque nucleofílico sobre o C-2 do piridínio, abertura de anel, eletrociclicização e, finalmente, re-aromatização impulsionada pela eliminação da anilina. Apesar desta reação ser amplamente empregada em síntese orgânica, inclusive em versões assimétricas⁴⁹, o mecanismo proposto ainda não foi totalmente elucidado, pois todos os intermediários ainda não foram totalmente detectados e caracterizados

3.2 Objetivo

Devido a importância sintética da reação de Zincke e o fato da proposta mecanística ainda não estar totalmente comprovada, um dos objetivos dessa dissertação foi utilizar a técnica de ESI-MS para investigar o mecanismo dessa reação.

3.3 Parte Experimental

3.3.1 Reagentes

Os reagentes 2-amino-1,3-propanodiol 98% (Sigma Aldrich), (*S*)-(-)-2-amino-1-propanol (Sigma Aldrich), α -metil-benzilamina (Sigma Aldrich), α -fenil-glicinol (Sigma Aldrich), *tert*-butanol (Sigma Aldrich), ácido fórmico (grau HPLC, Merck), metanol (grau HPLC, Merck) foram utilizados sem purificação prévia. Utilizou-se em todos os experimentos água bi-destilada para o preparo das soluções. O reagente sal de Zincke [cloreto de *N*-(2,4-dinitrofenil)-3-metil-piridínio] foi gentilmente doado pela Professora Rossimirian do Departamento de Química da UFMG.

3.3.2 Procedimento geral para a Reação de Zincke

Em um balão de fundo chato de 25 mL, contendo aproximadamente 5 mL de *tert*-butanol, adicionou-se 0,34 mmol (100 mg) do sal de Zincke e 0,34 mmol de amina estudada e a reação foi mantida sob agitação magnética, por 180 min, posteriormente a reação foi colocada sob refluxo por mais 180 min. Durante esse período foram retiradas alíquotas em intervalos de tempos pré-definidos.

3.3.3 Monitoramento

O monitoramento das reações foi realizado utilizando um espectrômetro de massas (LCQ Fleet, ThermoScientific, San Jose, CA) localizado no Departamento de Química da UFMG, com analisador ion trap e fonte de ionização electrospray, operando em modo positivo. A voltagem do cone e do extrator foram, respectivamente, 80 e 25 V com varredura na faixa de 50-1000 *m/z*. As amostras (alíquotas reacionais) foram inseridas na fonte de ionização do instrumento por meio de uma seringa de 500 μ L (Hamilton, Reno, NV) com fluxo de 10 μ L/min. Essas alíquotas foram preparadas através da coleta de 10 μ L da reação, nos intervalos de tempo estabelecidos, e diluídos dez vezes com uma mistura de metanol: água (50: 50 v/v).

Os parâmetros do espectrômetro de massas foram ajustados para produzir uma resposta otimizada. Experimentos MS/MS foram realizados por seleção dos íons observados e, em seguida, fragmentados através de dissociação induzida por colisão (CID) utilizando hélio como gás de colisão.

3.4 Resultados e Discussão

Utilizaram-se quatro diferentes aminas para realizar o estudo, cujas estruturas encontram-se na Figura 3.1:

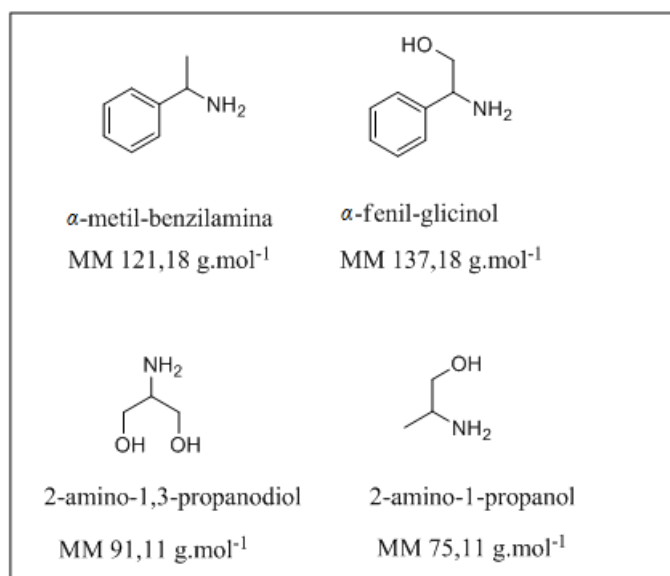


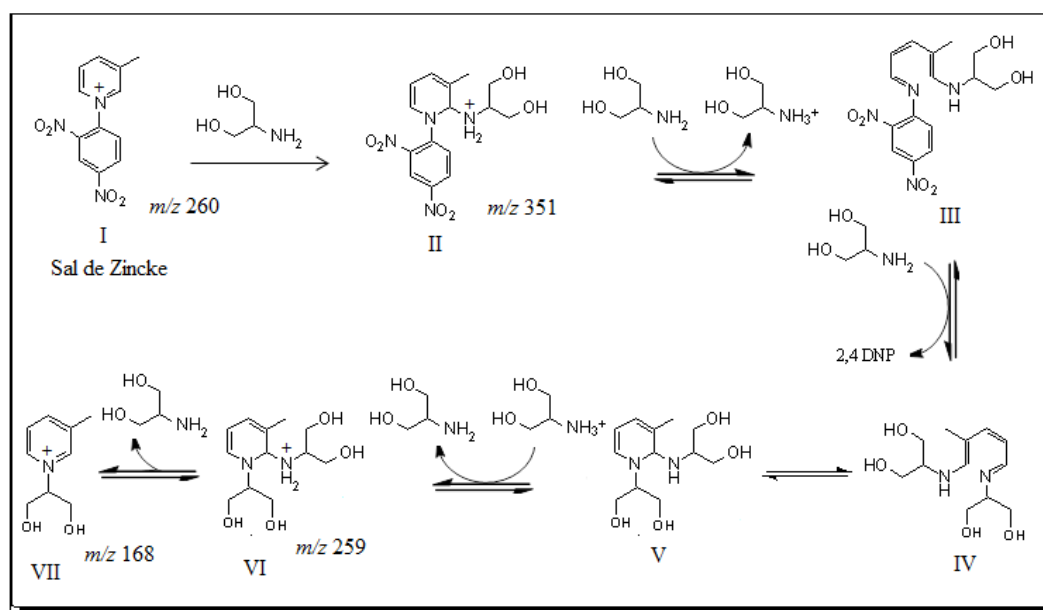
Figura 3.1: Estrutura das aminas usadas como reagentes na reação de Zincke.

Reação com 2-amino-1,3-propanodiol

Normalmente a reação de Zincke exige um refluxo de, no mínimo, 24 horas para se completar. No entanto, como o objetivo desse estudo foi detectar e analisar todos os íons formados nessa reação optou-se por monitorar a reação a temperatura ambiente para que as espécies fossem formadas mais lentamente e pudessem ser detectadas.

Esse estudo iniciou-se com a reação do sal de Zincke com a amina 2-amino-1,3-propanodiol. Alíquotas foram retiradas nos tempos 10, 30, 60, 120 e 180 minutos, as quais foram rapidamente injetadas no espectrômetro de massas. As Figuras 3.2, 3.3 e 3.4 mostram os espectros de massas das alíquotas retiradas após 10, 60 e 180 minutos. Pode-se observar que o perfil dos espectros (Figuras 3.2 a 3.4) é praticamente o mesmo desde o início do monitoramento.

Baseado na proposta mecanística descrita na literatura, a reação com essa amina deveria fornecer as seguintes espécies mostradas no Esquema 3.3.



Esquema 3.3: Mecanismo proposto para a reação de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol.

Os espectros ESI-MS (Figura 3.2 a 3.4), revelaram a presença dos íons de m/z 351, m/z 259 e o produto de m/z 168, que coincidem com a razão m/z das espécies propostas, Esquema 3.3 (intermediários II e VI, respectivamente e o produto da reação VII),. Para caracterizar esses íons realizou-se experimentos MS/MS, Figuras 3.5 a 3.10.

O Espectro de ESI(+)-MS (Figura 3.2) revelou que a reação com 2-amino-1,3-propanodiol ocorre rapidamente, mesmo em temperatura ambiente. Após 10 minutos, os intermediários esperados (II e VI) puderam ser detectados em suas formas protonadas (m/z 351 e m/z 259, respectivamente), bem como o íon precursor (sal de Zincke, m/z 260) e o produto final (VII) de m/z 168.

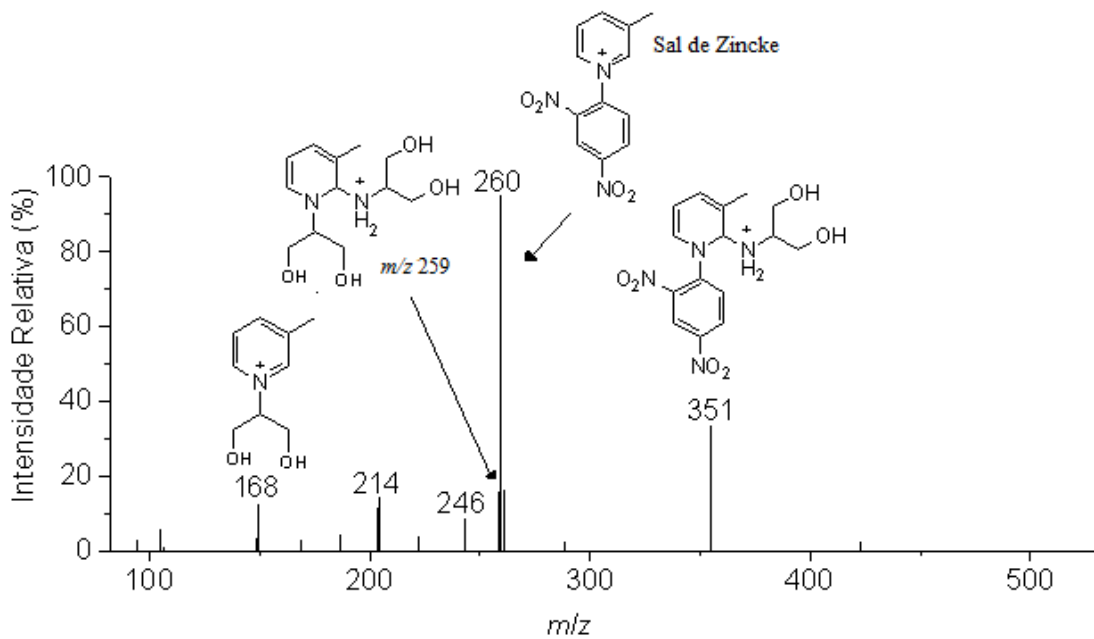


Figura 3.2: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da reação do sal de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol após 10 minutos de reação.

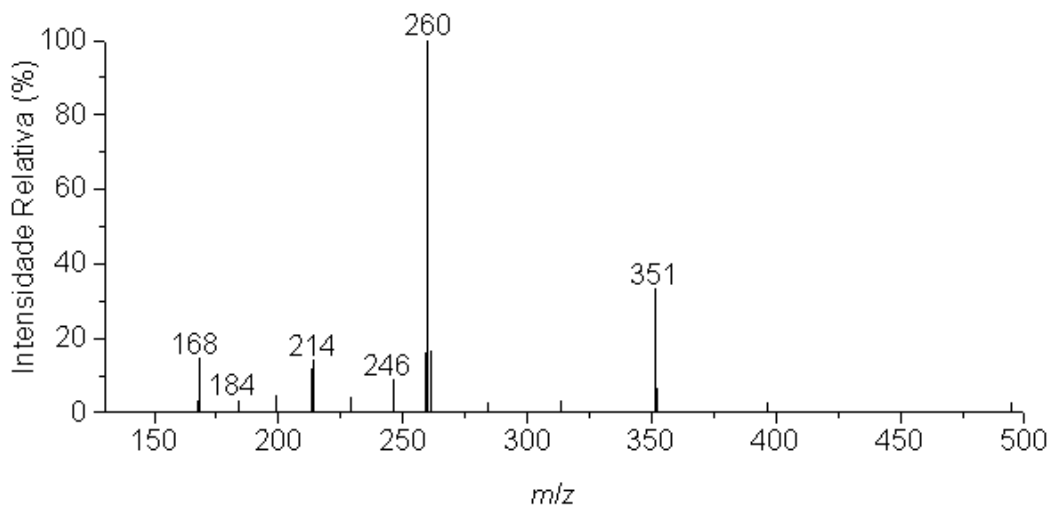


Figura 3.3: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da reação do sal de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol após 60 minutos de reação.

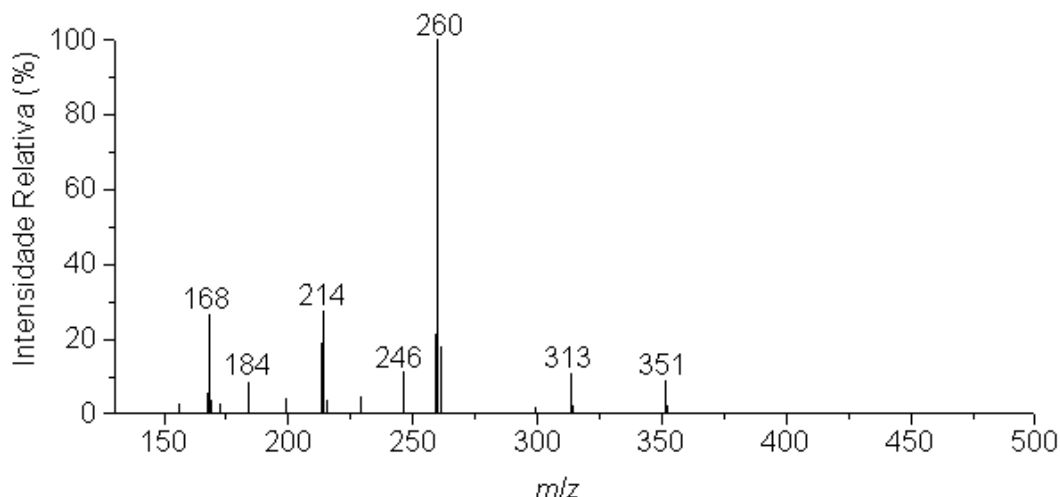


Figura 3.4: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da reação do sal de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol após 180 minutos de reação.

O espectro de MS/MS do íon de m/z 351 (Figura 3.5) revelou a presença dos fragmentos com m/z 260 e m/z 168, os quais propõem-se ser resultante das perdas de 2-amino-1,3-propanodiol e 2,4-dinitro-fenil-anilina, respectivamente. Também observou-se a formação do íon de m/z 102, que deve ser proveniente da perda de metil-1,3-ciclobutadieno do íon de m/z 168. Uma proposta para a fragmentação do íon de m/z 351 é apresentada no Esquema 3.4.

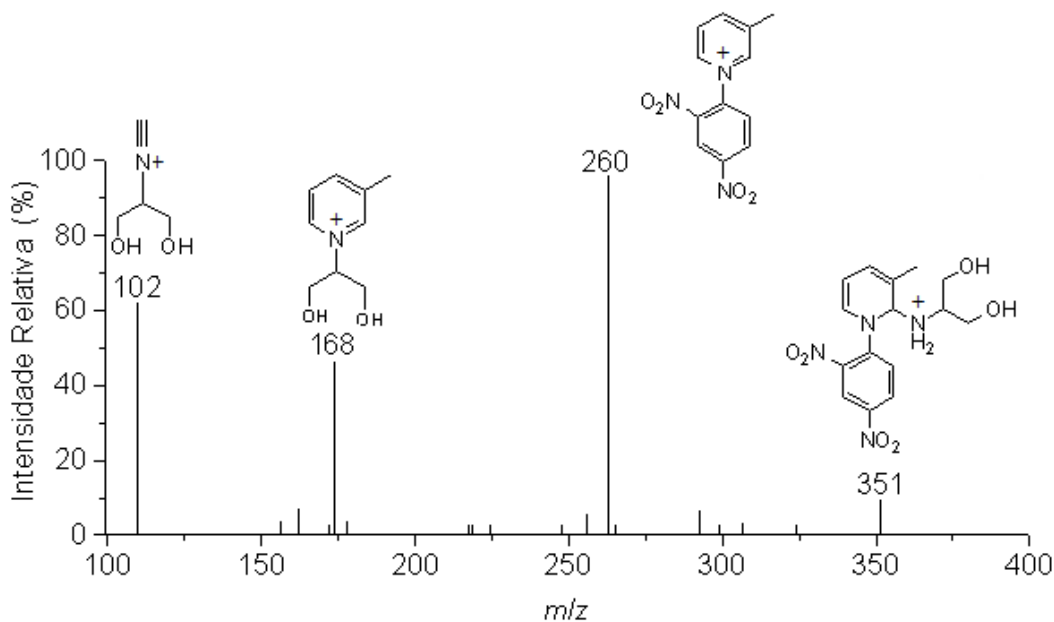
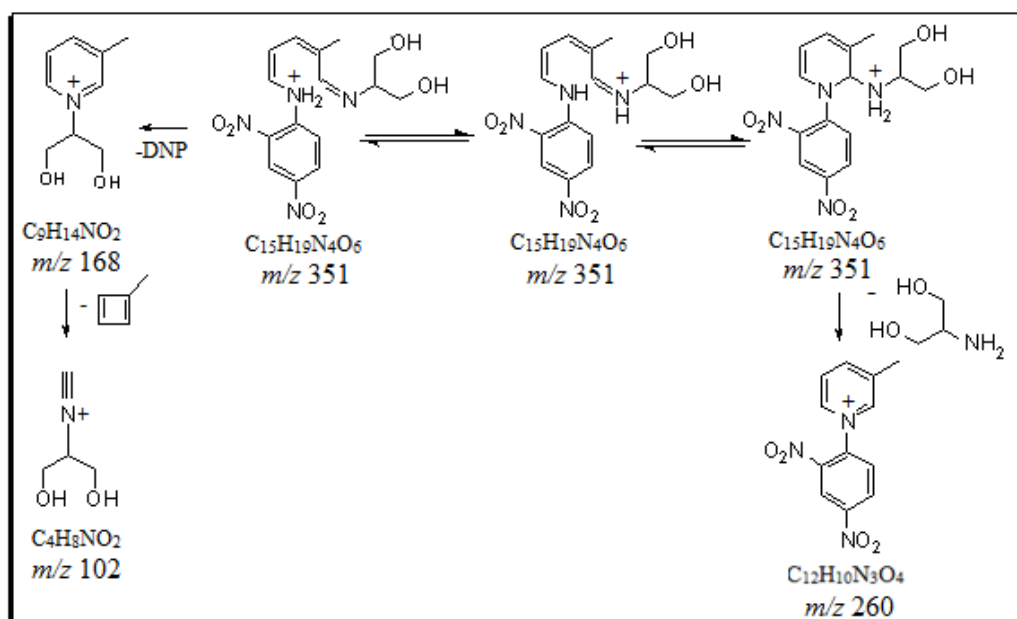


Figura 3.5: Espectro MS/MS do íon de m/z 351.



Esquema 3.4: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 351.

A dissociação do íon de m/z 259 forneceu o íon de m/z 168 (Figura 3.6), que pode ser devido à perda de 2-amino-1,3-propanodiol. O íon de m/z 102 deve ser proveniente da perda de metil-1,3-ciclobutadieno do íon de m/z 168. A presença do íon de m/z 186 sugere que o íon de m/z 259 é uma mistura de isômeros constitucionais provenientes do ataque do grupo amina ou do grupo hidroxila, do reagente 2-amino-1,3-propanodiol, ao sal de Zincke. A proposta de fragmentação para o íon de m/z 259 é mostrada no Esquema 3.5.

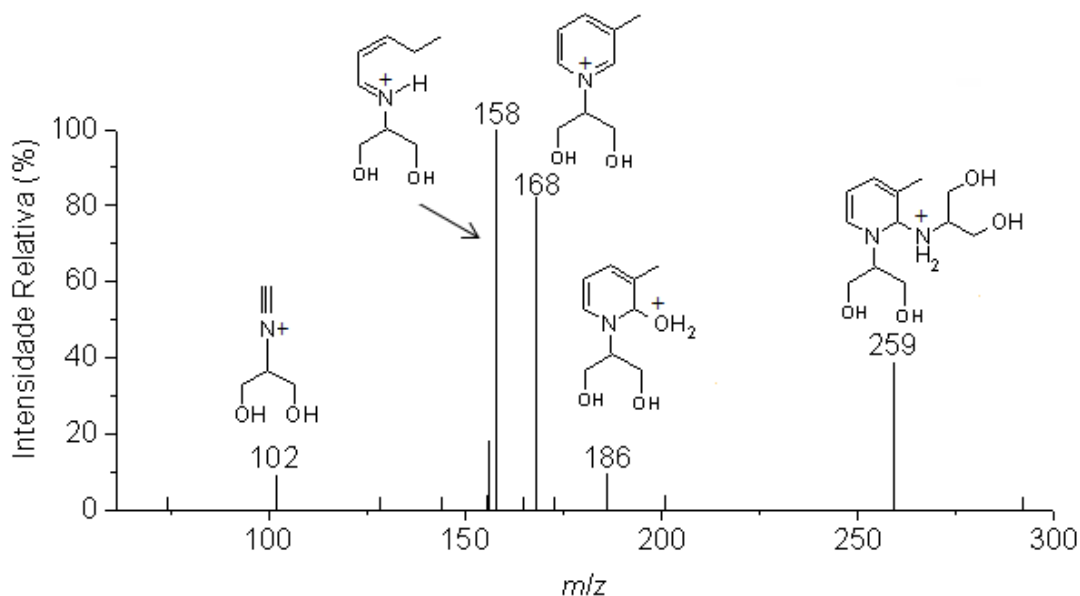
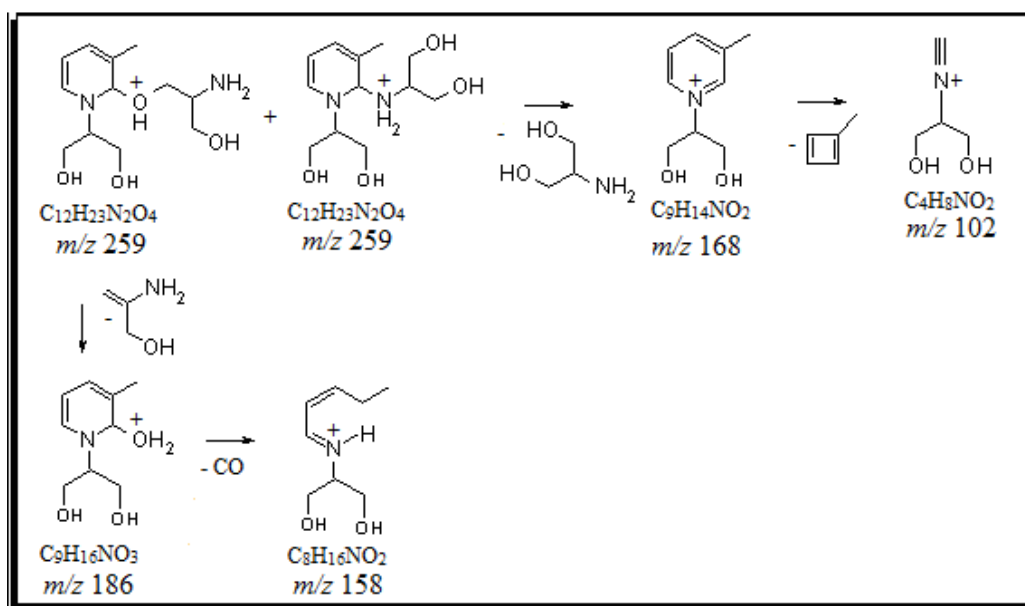


Figura 3.6: Espectro MS/MS do íon de m/z 259.



Esquema 3.5: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 259.

Decidiu-se também dissociar o íon de m/z 260 (Sal de Zincke) para garantir que os sinais observados no monitoramento da reação (Figura 3.2) não fossem produtos de dissociação desse íon.

O espectro de MS/MS do íon de m/z 260 (sal de Zincke, Figura 3.7) revelou a presença dos íons de m/z 214 e m/z 184, que se propõe ser relativo à perda de $\cdot\text{NO}_2$ e de $\cdot\text{NO}_2$ seguida por perda de $\cdot\text{NO}$ respectivamente, e o íon de m/z 167 referente a perda de metil-piridina (Esquema 3.6).

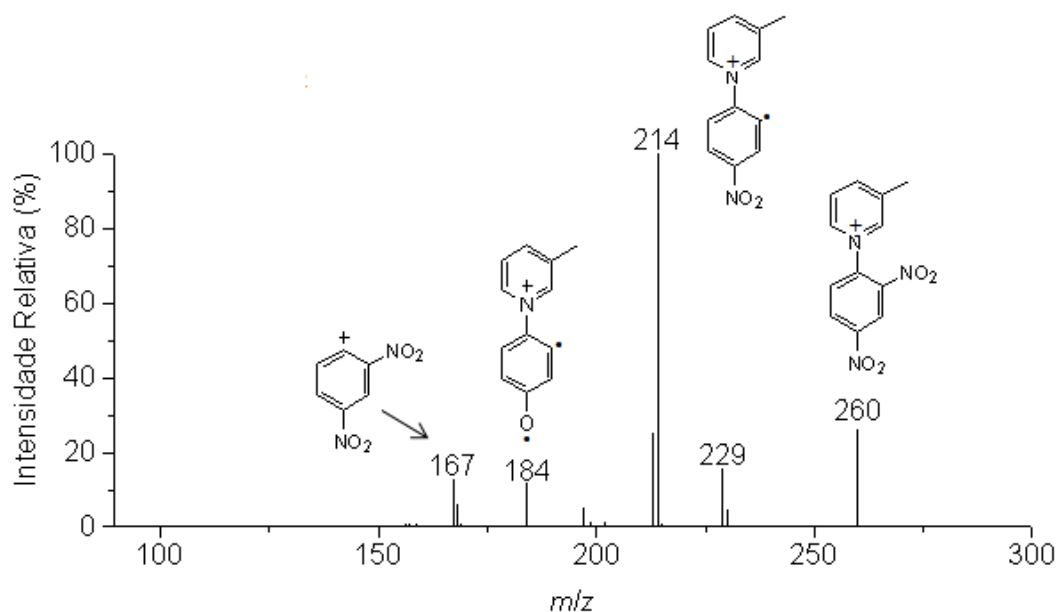
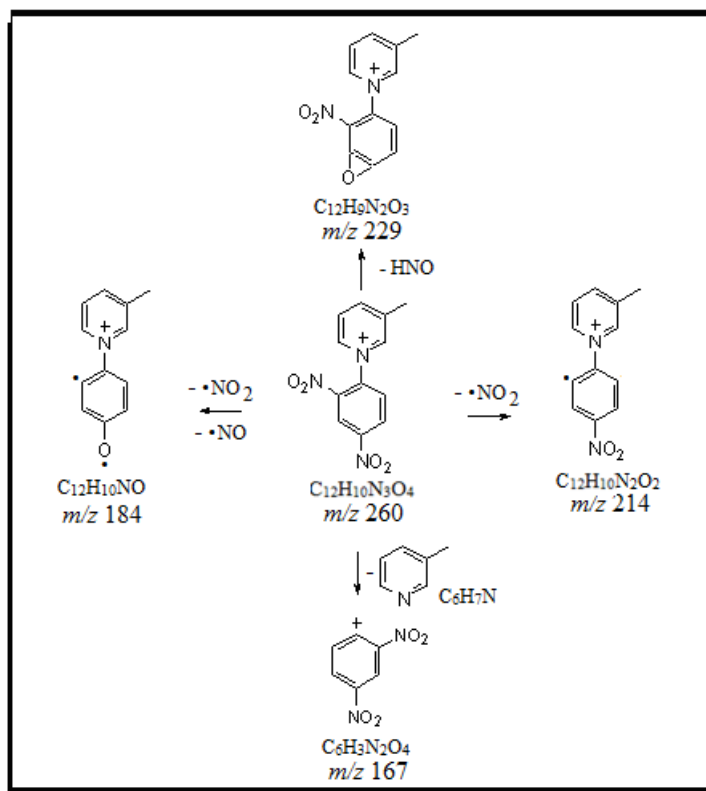


Figura 3.7: Espectro MS/MS do íon de m/z 260.



Esquema 3.6: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 260.

O Espectro de massas das alíquotas da reação de Zincke (Figura 3.2) revela o íon de m/z 168, o qual, segundo a proposta mecanística, condiz com o produto da reação de Zincke. O espectro de MS/MS desse íon (Figura 3.8) fornece os íons de m/z 94 (consistente com a perda de 1,3-propenodiol), m/z 141 (consistente com a perda de HCN) m/z 115 (que sugere-se ser relativo a perda de $HC\equiv CH$ do íon de m/z 141), como mostrado no Esquema 3.7.

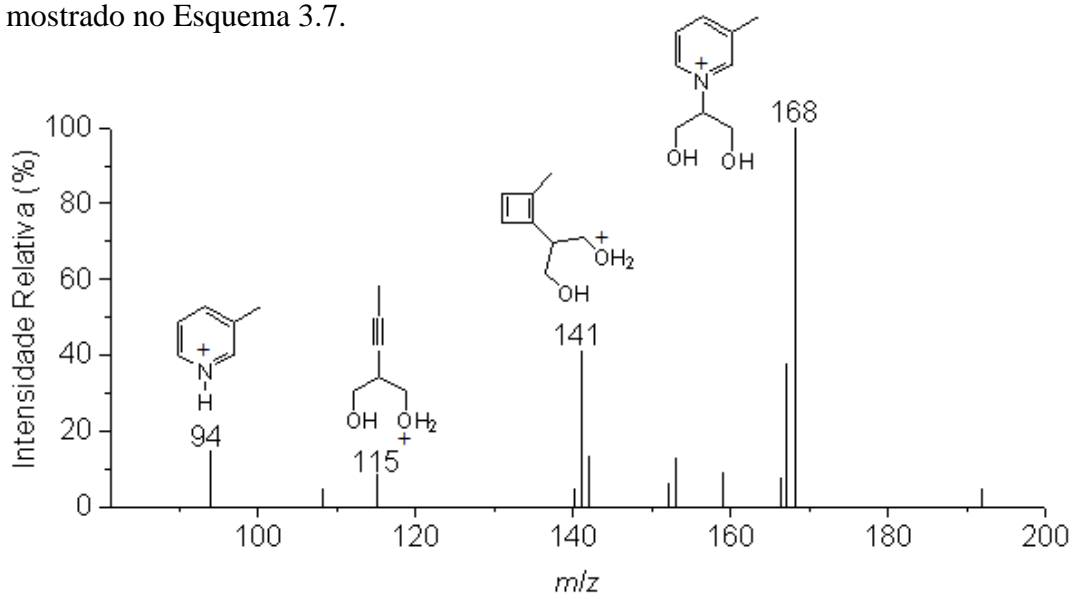
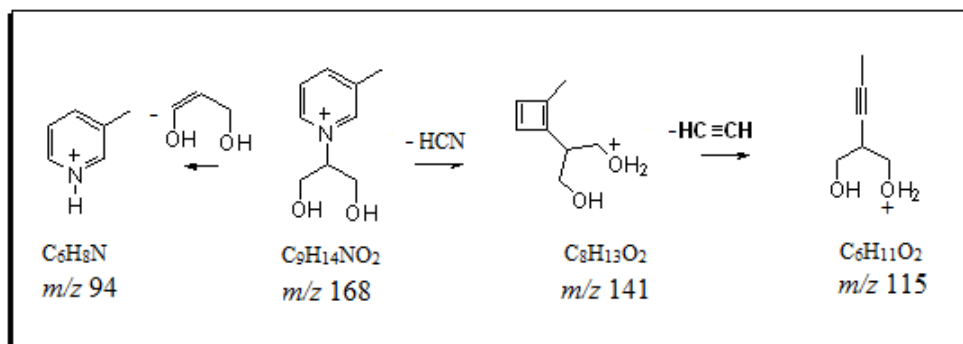


Figura 3.8: Espectro MS/MS do íon de m/z 168.



Esquema 3.7: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 168.

A fragmentação do íon de m/z 214 (Figura 3.9) revela a formação dos íons de m/z 184 (perda de $\cdot\text{NO}$), m/z 168 (perda de $\cdot\text{NO}_2$) e m/z 156 (perda de $\cdot\text{NO}$ e CO). A proposta de fragmentação para o íon de m/z 214 encontra-se no esquema 3.8.

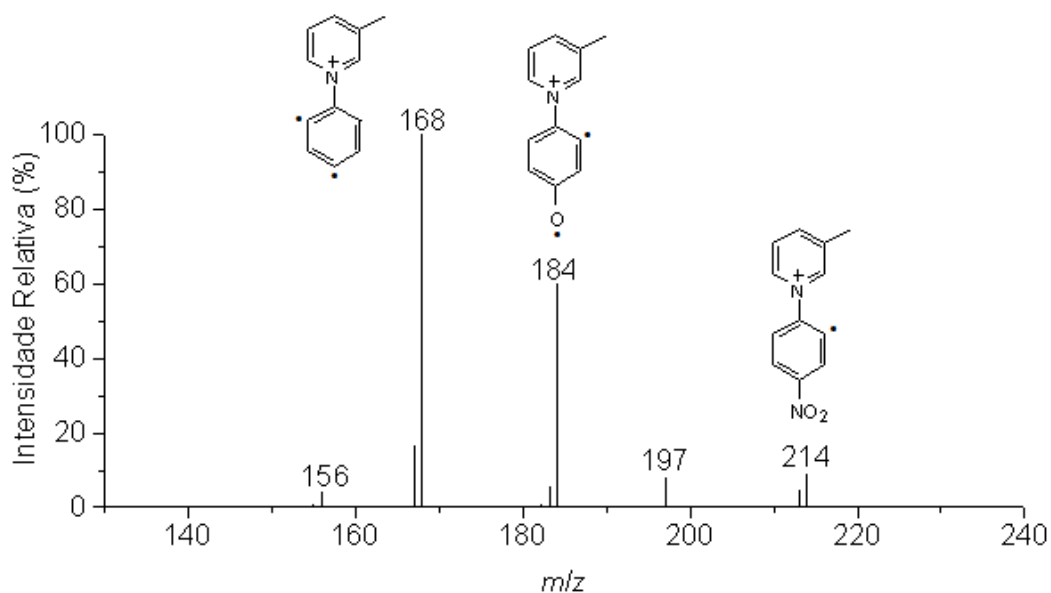
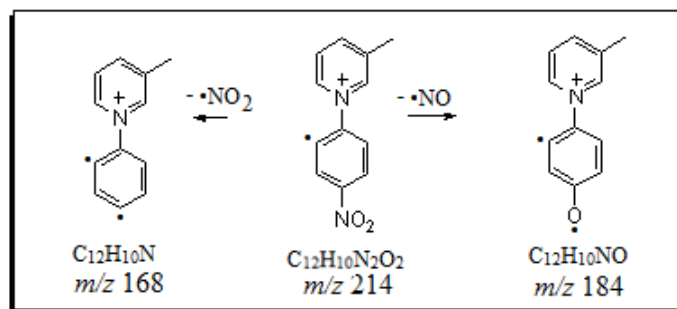


Figura 3.9: Espectro MS/MS do íon de m/z 214.



Esquema 3.8: Proposta de fragmentação do íon de m/z 214.

A Tabela 3.1 mostra a energia de colisão e os íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico observado na reação de Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol.

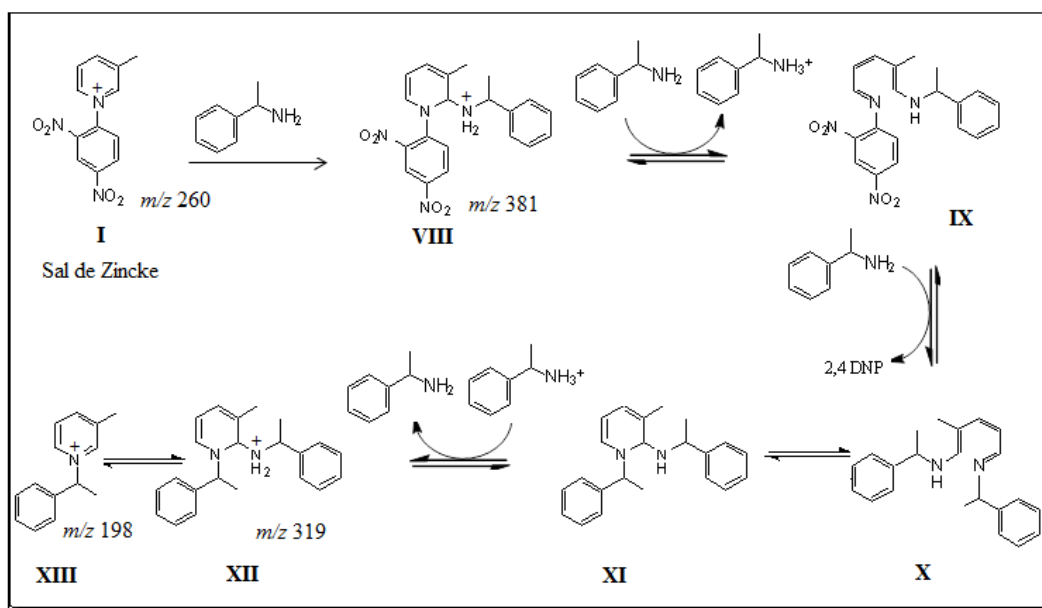
Tabela 3.1: Energia de colisão e íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico detectado na reação Zincke com 2-amino-1,3-propanodiol.

Íon precursor (m/z)	Energia de colisão	Íon produto (m/z)
351	25	260, 168, 102
260	25	214, 184, 167
259	21	186, 168, 158
214	23	184, 168, 156
168	20	141, 115, 94

Através desse experimento pode-se observar pela primeira vez os intermediários II e IV propostos na literatura. As estruturas dos intermediários foram consistentes com os perfis de fragmentação observados através dos respectivos espectros MS/MS.

Reação com α -metil-benzilamina

Com a finalidade de verificar se as mesmas espécies eram formadas com a diferença de massa entre aminas, realizou-se o experimento usando como reagente α -metil-benzilamina. A proposta de mecanismo usando α -metil-benzilamina como reagente encontra-se no Esquema 3.9.



Esquema 3.9: Proposta de mecanismo da reação de Zincke com α -metil-benzilamina.

A Figura 3.10 mostra o ESI(+)-MS da reação do sal de Zincke com α -metil-benzilamina. Após 10 minutos não é possível observar o pico referente ao produto principal da reação (m/z 198), mas pode-se notar os íons de m/z 381 e m/z 319, referente aos intermediários VIII e XII, respectivamente, e também o íon referente ao sal de Zincke (m/z 260). Somente após 1 hora de reação sob refluxo, foi possível observar o produto principal da reação (m/z 198).

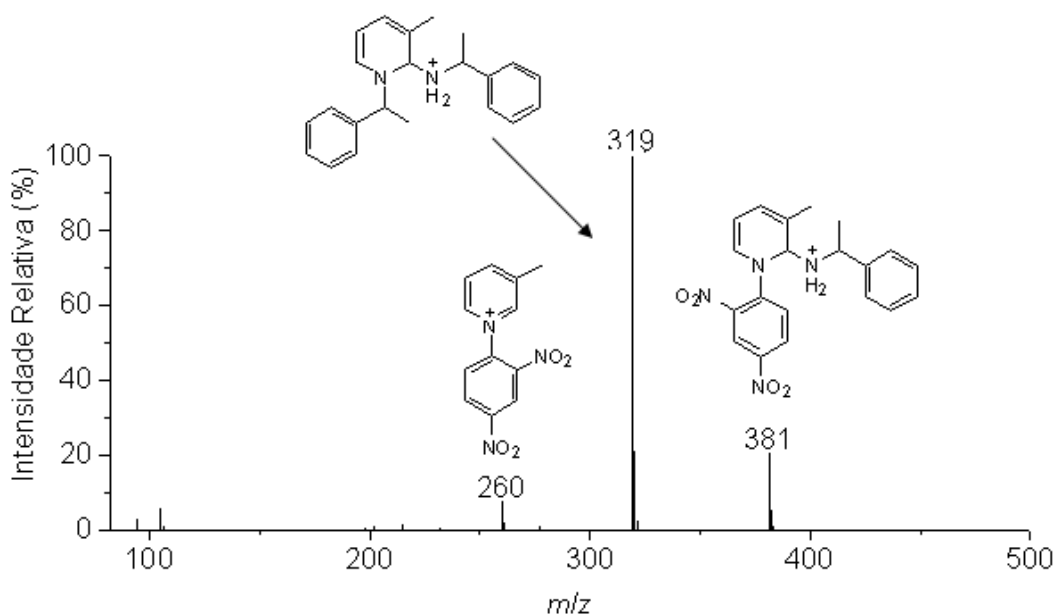


Figura 3.10: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir da reação do sal de Zincke com α -metil-benzilamina após 10 minutos.

Para realizar a caracterização estrutural, os íons observados nessa nova reação de Zincke (com 10 minutos) foram selecionados individualmente e dissociados através de MS/MS.

A Figura 3.11 mostra o espectro MS/MS do íon de m/z 381. É possível propor a perda de estireno gerando o íon de m/z 277 e a perda do grupo 2,4-dinitro-anilina gerando o íon de m/z 198. Já o espectro MS/MS do íon de m/z 319 (Figura 3.12) sugere-se, além das perdas estireno, gerando o íon de m/z 215, e de α -metil-benzilamina, gerando o íon de m/z 198, as perdas consecutivas de estireno e α -metil-benzilamina gerando o íon de m/z 94. A proposta de fragmentação para esses íons encontra-se no Esquema 3.10 e 3.11.

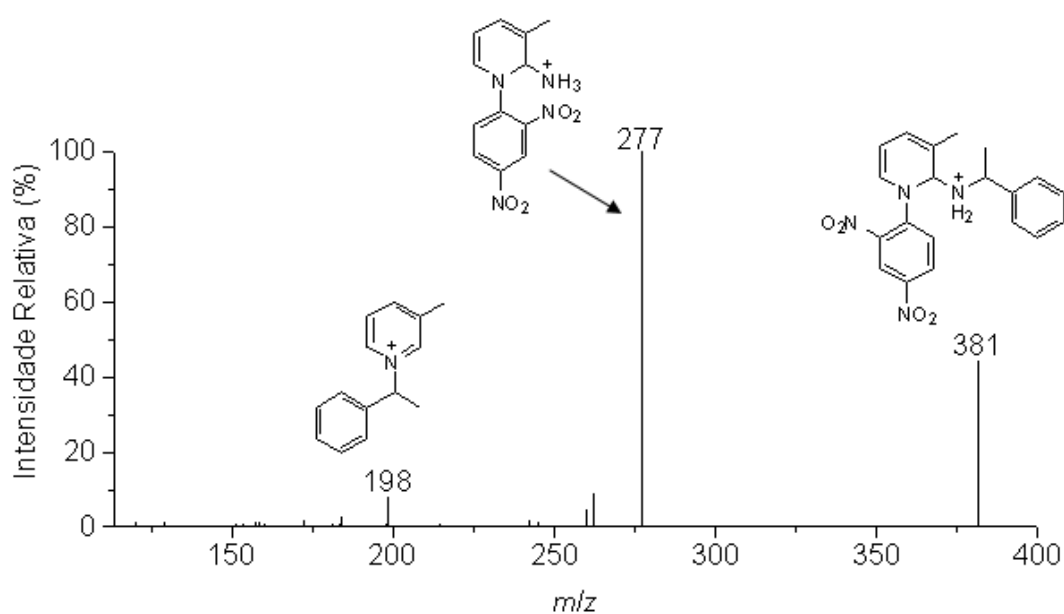
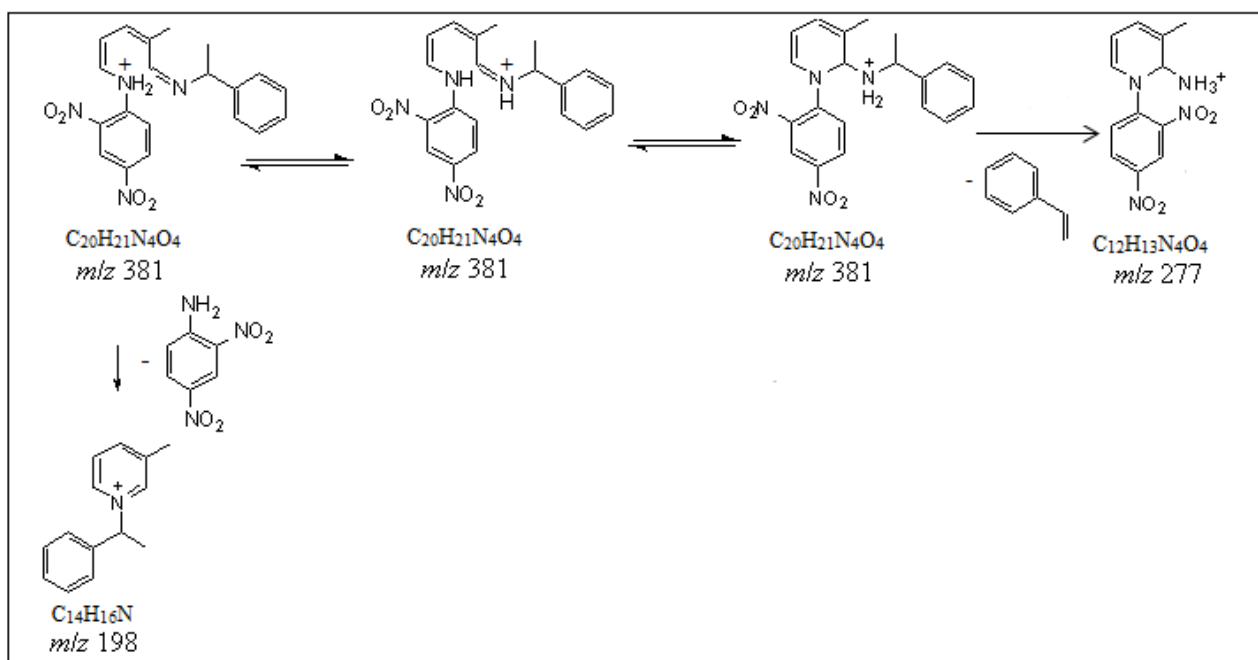


Figura 3.11: Espectro MS/MS do íon de m/z 381.



Esquema 3.10: Proposta de fragmentação do íon de m/z 381.

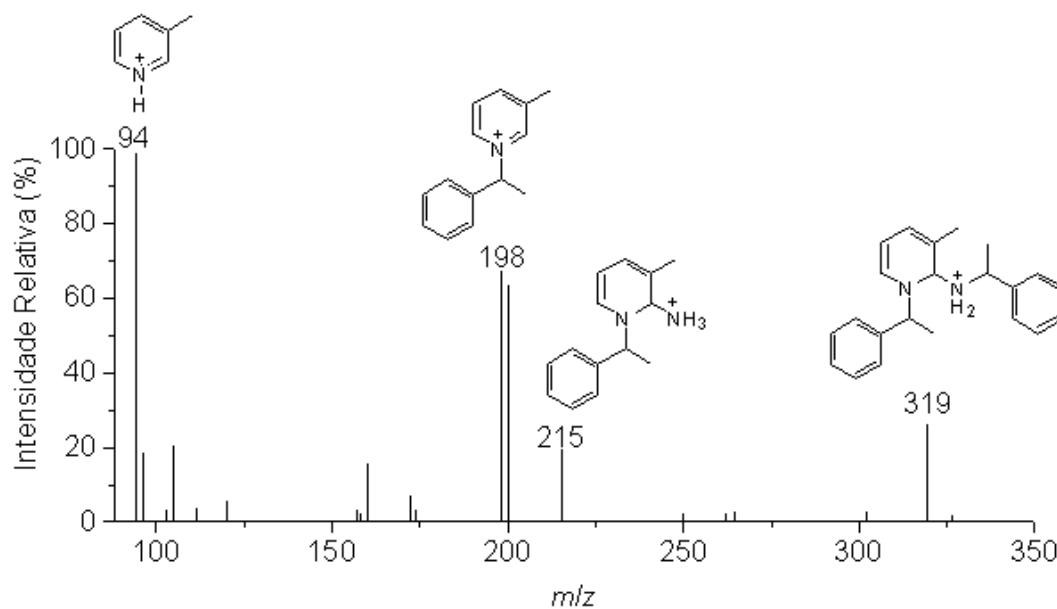
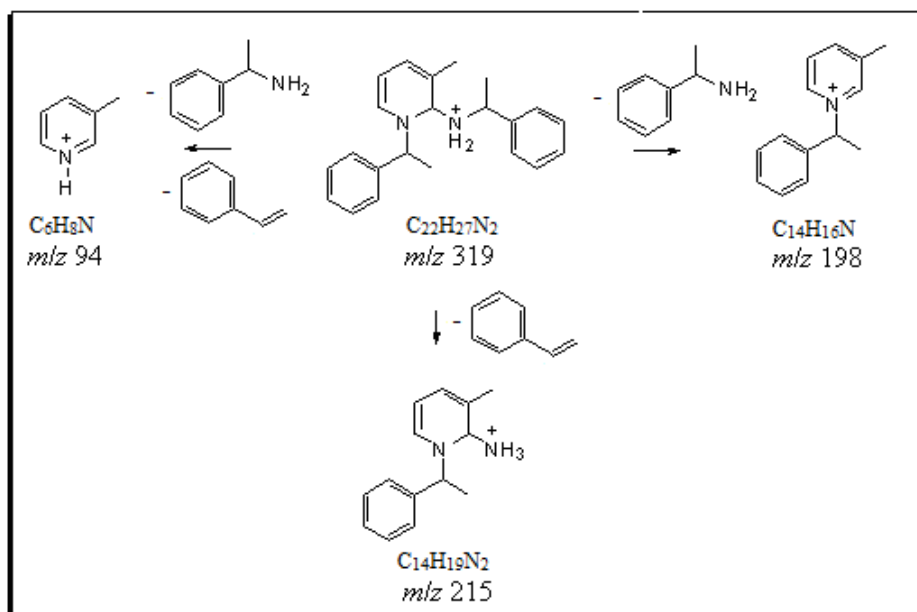


Figura 3.12: Espectro MS/MS do íon de m/z 319.



Esquema 3.11: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 319.

Com base nesses dados pôde-se identificar os intermediários VIII e XII propostos na literatura, bem como sua confirmação estrutural através de experimento de MS/MS.

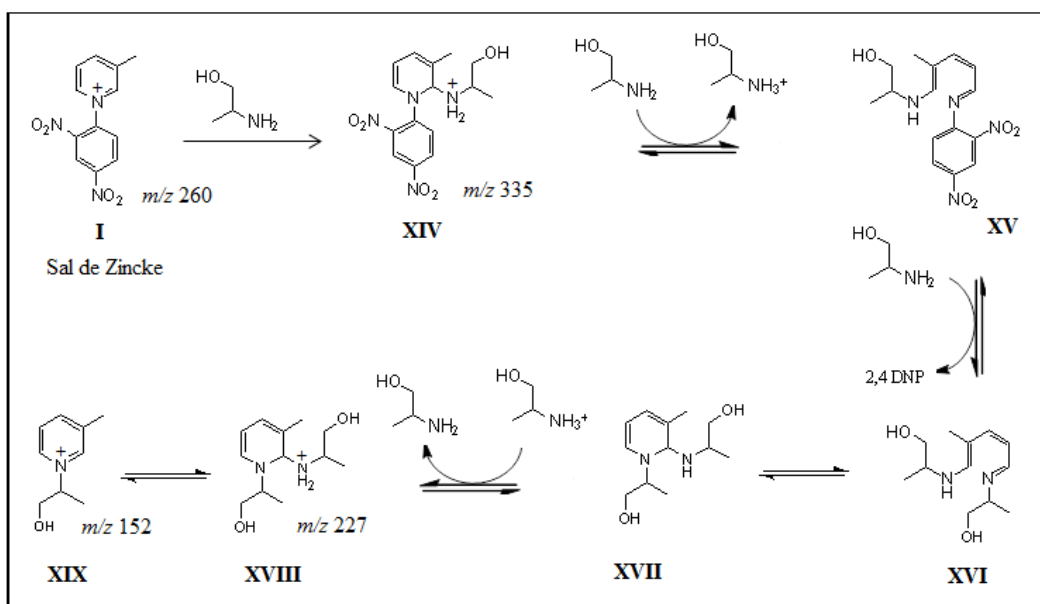
A Tabela 3.2 mostra a energia de colisão e os íons produto referente à fragmentação de cada intermediário iônico observado na reação de Zincke com α -metil-benzilamina.

Tabela 3.2: Energia de colisão e íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico detectado na reação Zincke com α -metil-benzilamina.

Íon precursor (m/z)	Energia de colisão	Íon produto (m/z)
381	34	277; 198
319	39	215; 198; 94
260	23	214

Reação com 2-amino-1-propanol

A proposta de mecanismo para a reação de Zincke com amino-1-propanol encontra-se no esquema 3.12, é importante ressaltar que os intermediários esperados possuem uma diferença de massa referente a diferença entre as massas das aminas anteriores.



Esquema 3.12: Proposta de mecanismo da reação de Zincke com amino-1-propanol.

O Espectro de ESI(+)-MS (Figura 3.13) revelou que a reação de Zincke com amino-1-propanol prossegue lentamente, mesmo sob refluxo, e o produto principal da reação (m/z 152) apenas pode ser observado após 2 horas. Após 10 minutos, os intermediários esperados (XIV e XVIII) podem ser detectados através dos íons de m/z 335 e m/z 227, bem como o íon precursor (sal Zincke, m/z 260).

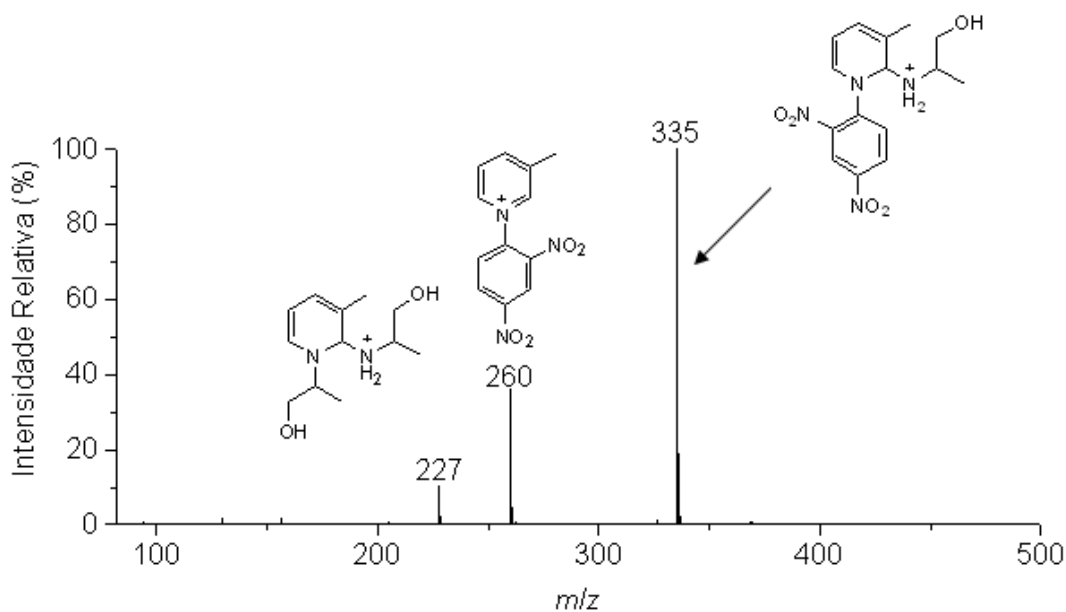


Figura 3.13: Espectro ESI(+)-MS obtido da reação do sal de Zincke com amino-1-propanol após 10 minutos.

Os íons observados na reação foram selecionados e submetidos a dissociação. Pode-se notar, pelo espectro MS/MS do íon de m/z 335 (Figura 3.14), que os principais fragmentos foram os íons de m/z 260 e m/z 152, que propõe-se ser relativo as perdas de amino-1-propanol e 2,4-dinitro-fenil-anilina, respectivamente. No espectro MS/MS do íon de m/z 277, mostrado na Figura 3.15, observa-se o íon de m/z 152 (perda de 2-amino-1-propanol) e os íons de m/z 170 (perda de 1-amino-2-propeno) e m/z 142 (perda de CO do íon de m/z 170). Isso sugere que o íon de m/z 227 é uma mistura de isômeros constitucionais provenientes do ataque do grupo amina ou do grupo hidroxila, do 2-amino-1-propanol, ao sal de Zincke. A proposta de fragmentação para os íons de m/z 335 pode ser visualizada no Esquema 3.13 e proposta para o íon de m/z 227 pode ser visualizada no Esquema 3.14.

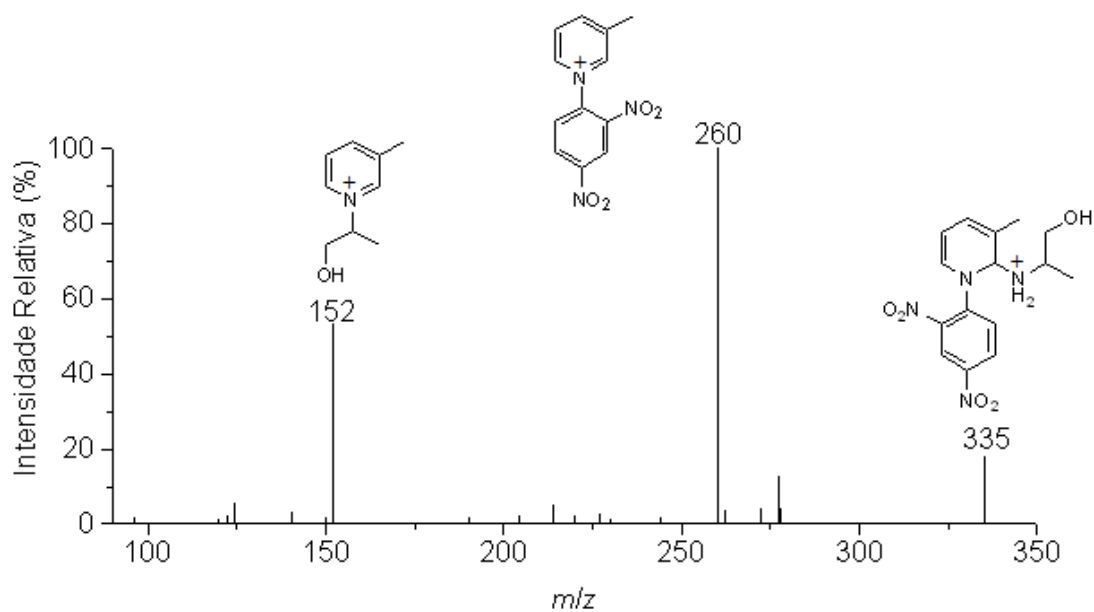
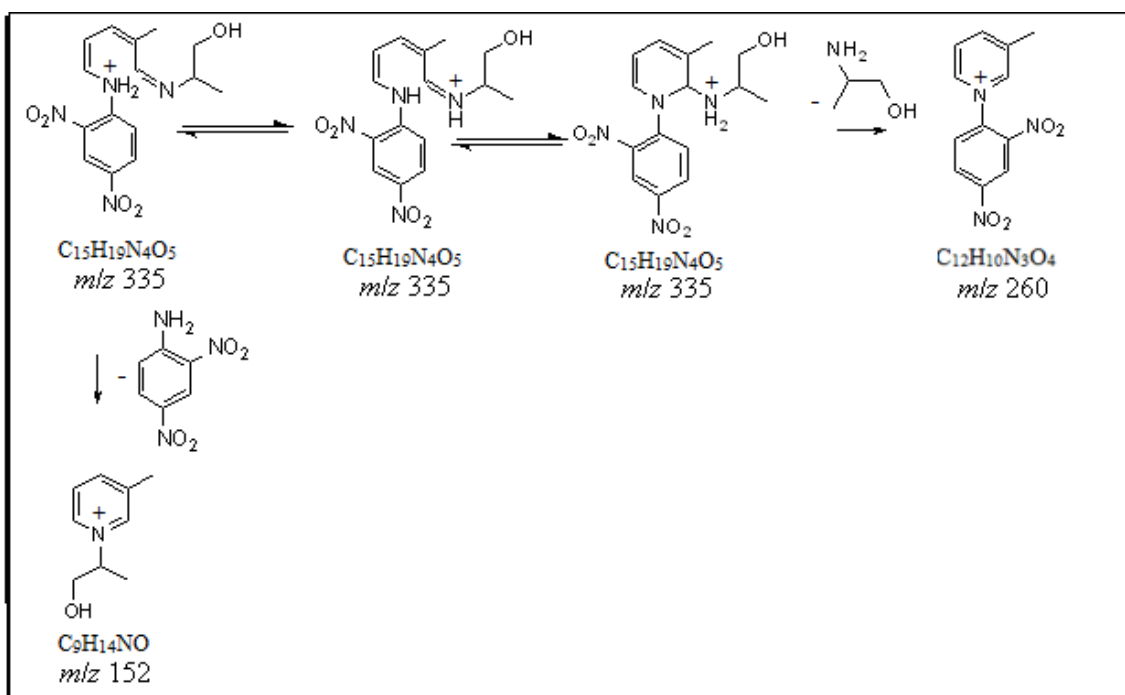


Figura 3.14: Espectro MS/MS do íon de m/z 335.



Esquema 3.13: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 335.

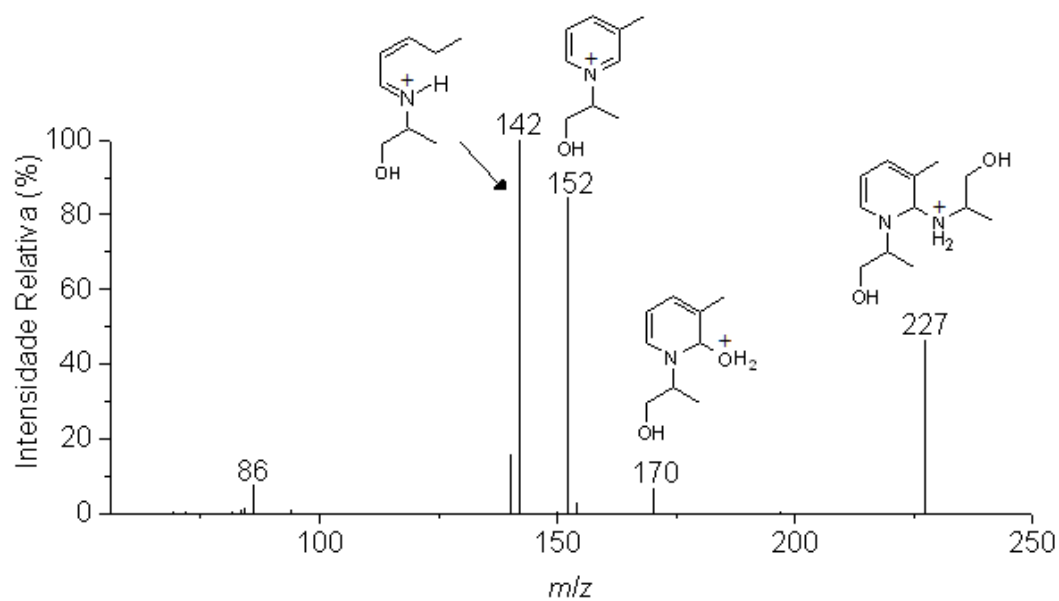
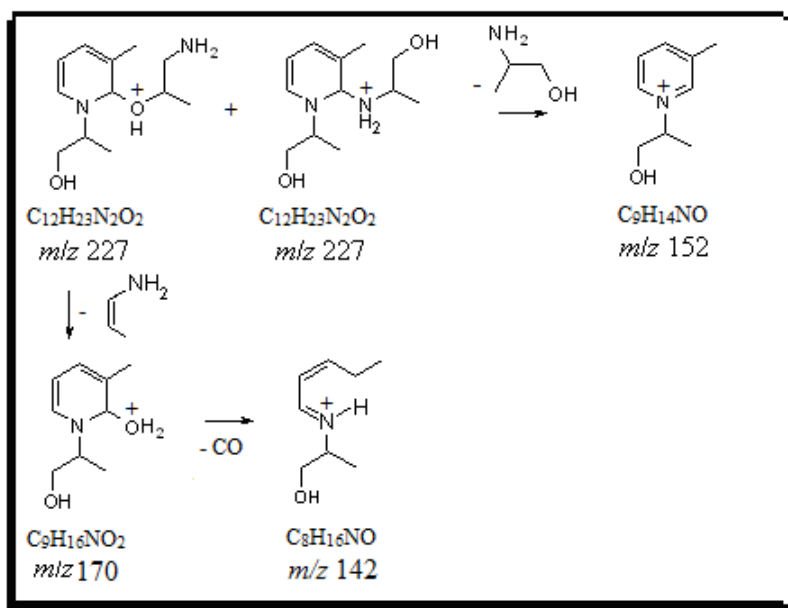


Figura 3.15: Espectro MS/MS do íon de m/z 227.



Esquema 3.14: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 227.

Mais uma vez esse experimento veio confirmar a proposta da literatura; uma vez que os intermediários propostos foram detectados e caracterizados com sucesso.

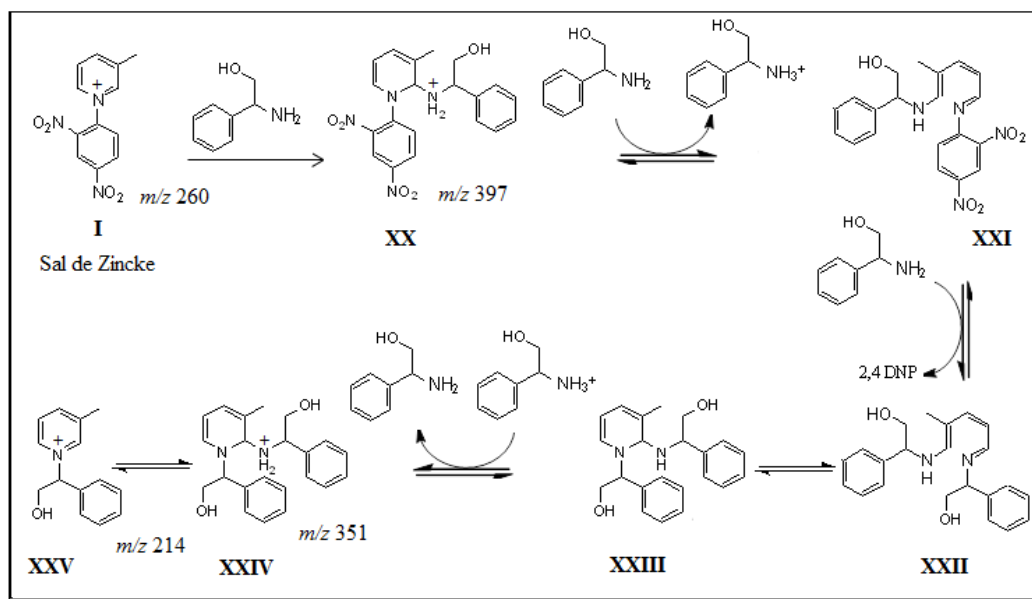
A Tabela 3.3 mostra a energia de colisão e os íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico observado na reação de Zincke com amino-1-propanol.

Tabela 3.3: Energia de colisão e íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico detectado na reação Zincke com amino-1-propanol.

Íon precursor (m/z)	Energia de colisão	Íon produto (m/z)
335	25	260; 152
260	25	214; 229; 184; 167
227	22	170, 152, 142

Reação com α -fenil-glicinol

A proposta de mecanismo de reação para α -fenil-glicinol encontra-se no Esquema 3.15



Esquema 3.15: Proposta de mecanismo da reação de Zincke usando como reagente α -fenil-glicinol.

Pode-se notar, através do esquema acima, que os intermediários esperados para essa reação são m/z 351, m/z 397 e o produto da reação de m/z 214.

O Espectro de ESI(+)-MS (Figura 3.16) revelou que não foi possível identificar o produto principal da reação do sal de Zincke com α -fenil-glicinol após 10 min de reação, sendo, porém, possível identificar os intermediários esperados (**XX** e **XXIV**) em suas formas protonadas (m/z 397 e m/z 351, respectivamente) e o íon precursor (sal de Zincke, m/z 260). O produto principal foi observado quando a reação foi submetida a refluxo.

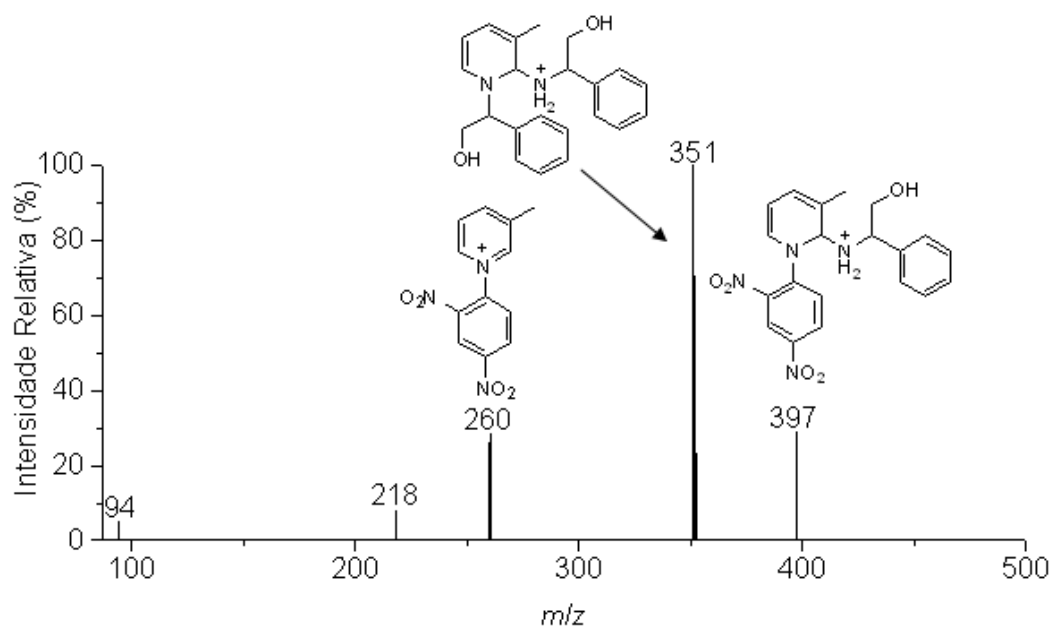


Figura 3.16: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir de uma alíquota retirada após 10 min da reação do sal de Zincke com α -fenil-glicinol.

A caracterização das espécies observadas foi realizada através de seleção seguida de colisão dissociativa.

Pode-se notar através do espectro MS/MS do íon de m/z 397 (Figura 3.17), que os principais fragmentos foram íon de m/z 277, m/z 260, m/z 214 e m/z 148, resultantes das perdas do 2-hidroxi-vinil-benzeno, α -fenil-glicinol, 2,4-di-nitro-anilina e do 2,4-di-nitro- N -(1,3 pentadienil) anilina, respectivamente, Esquema 3.16.

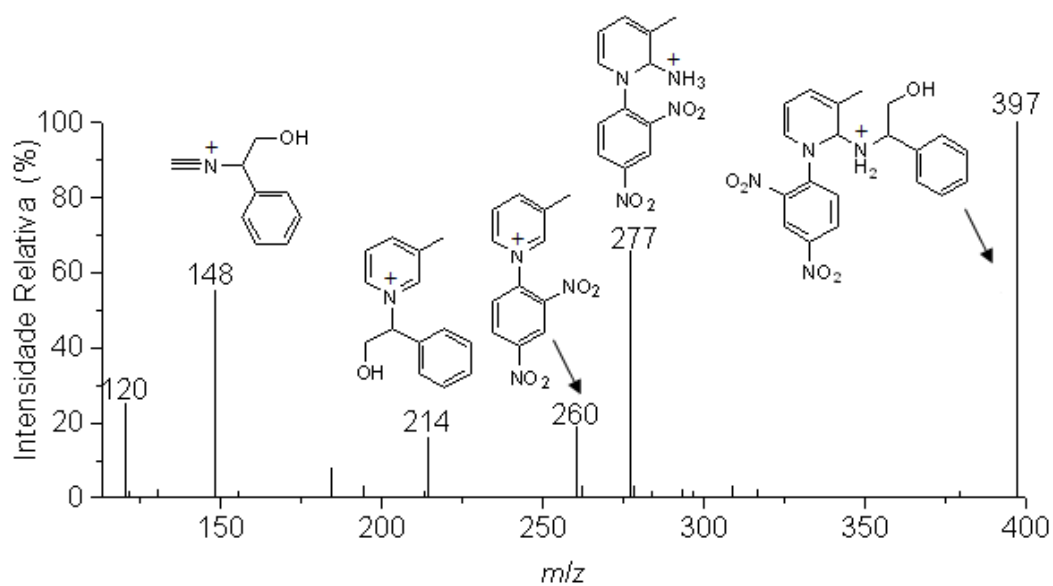
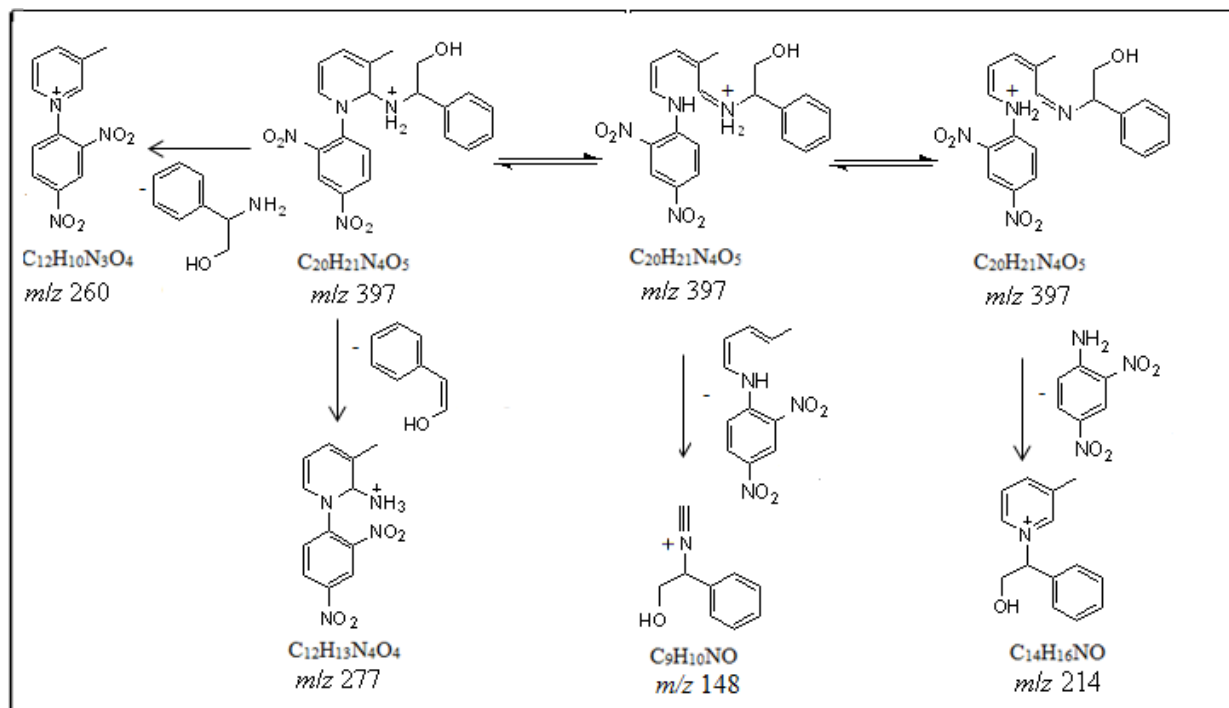


Figura 3.17: Espectro MS/MS do íon de m/z 397.



Esquema 3.16: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 397.

Pode-se notar através do espectro MS/MS do íon de m/z 351 (Figura 3.18) a formação do fragmento de m/z 214 devido a perda de α -fenil-glicinol. A observação dos íons de m/z 232 e m/z 204 sugere que o íon de m/z 351 é uma mistura de isômeros constitucionais, provenientes do ataque nucleofílico do grupo hidroxila ou da amina, do α -fenil-glicinol, ao sal de Zincke. A proposta de fragmentação encontra-se no Esquema 3.17.

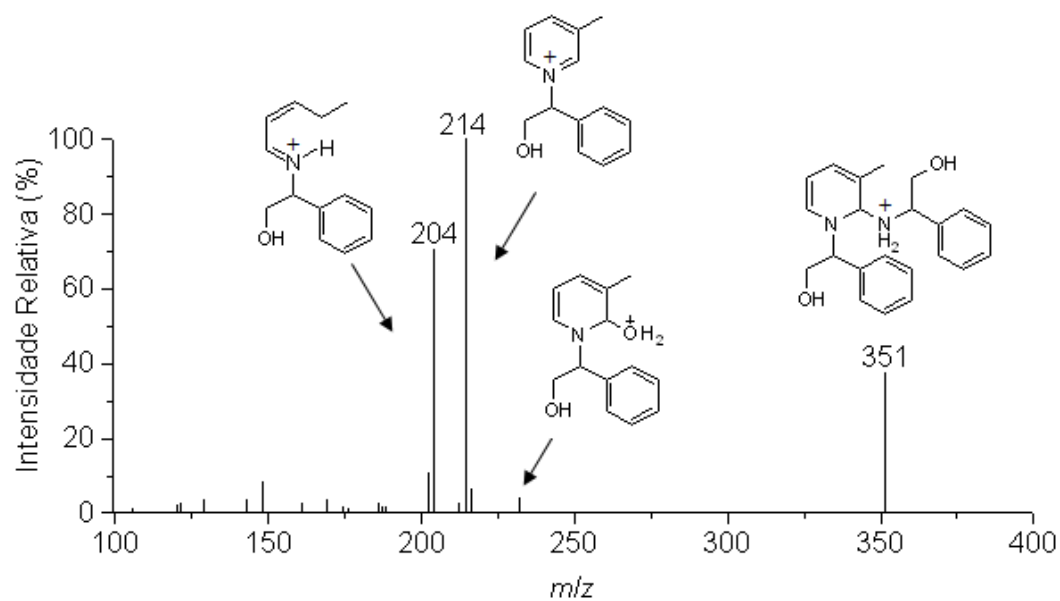
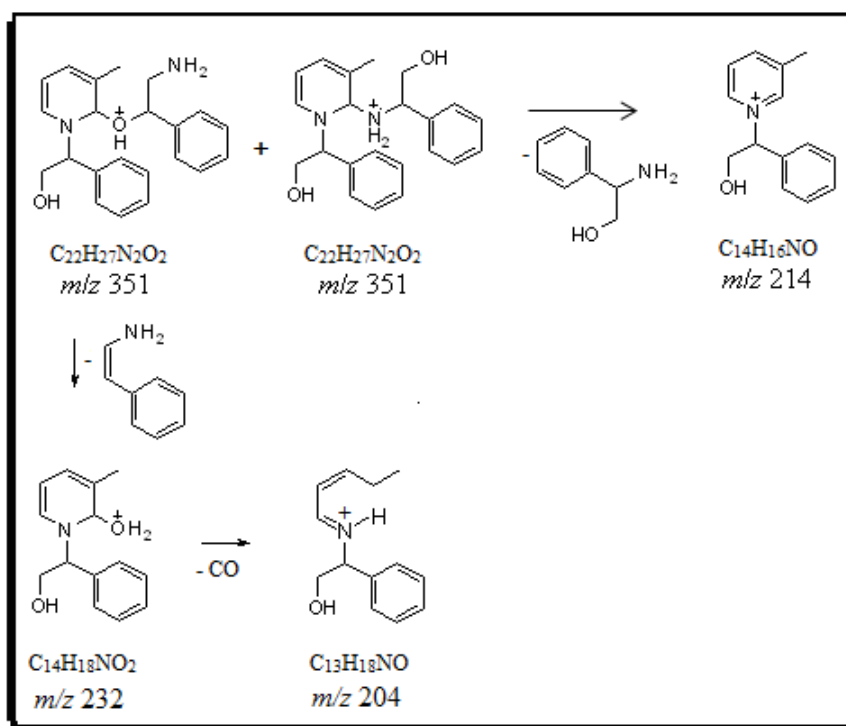


Figura 3.18: Espectro MS/MS do íon de m/z 351.



Esquema 3.17: Proposta de fragmentação para os íons de m/z 351.

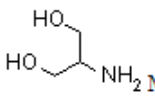
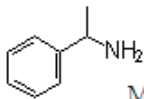
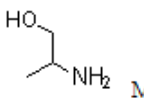
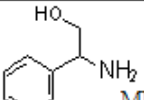
A Tabela 3.4 mostra a energia de colisão e os íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico observado na reação de Zincke com α -fenil-glicinol.

Tabela 3.4: Energia de colisão e íons produto referentes à fragmentação de cada intermediário iônico detectado na reação Zincke com α -fenil-glicinol.

Íon precursor (m/z)	Energia de colisão	Íon produto (m/z)
397	35	277; 260; 214; 148; 120
351	33	214; 204
260	25	214; 229; 184; 167

A tabela 3.5 mostra os intermediários identificados para cada amina estudada, bem como a razão m/z de cada intermediário e é possível observar a diferença de massa relativo a incorporação de diferentes aminas.

Tabela 3.5: Intermediários detectados na reação de Zincke para cada amina estudada

Amina / (MM)	Intermediários detectados / (m/z)
 <chem>NCCN</chem> MM 91 Da	II /(m/z 351); VI /(m/z 259)
 <chem>NCC1=CC=CC=C1</chem> MM 121 Da	VIII /(m/z 381); XII /(m/z 319)
 <chem>NCCC</chem> MM 75 Da	XIV /(m/z 335); XVIII /(m/z 227)
 <chem>NCC1=CC=CC=C1</chem> MM 137 Da	XX /(m/z 397); XXIV /(m/z 351)

3.5 Conclusão

O monitoramento da reação de Zincke por espectrometria de massas com ionização eletrospray (ESI-MS) revelou a presença dos intermediários **2** e **10**, detectados pela primeira vez, e do produto **11** (Esquema 3.2). Todos esses intermediários foram detectados para os quatro reagentes estudados (2-amino-1,3-propanodiol, α -metil-benzilamina, 2-amino-1-propanol e α -fenil-glicinol). As estruturas dos intermediários foram consistentes com os perfis de fragmentação observados através dos respectivos espectros MS/MS. Com esses resultados foi possível comprovar o mecanismo proposto para a reação de Zincke, mostrando o potencial da técnica de ESI-MS para o estudo de mecanismos reacionais, e uma melhor compreensão da reação de Zincke, abrindo caminho para seu aperfeiçoamento, no sentido de melhorar o rendimento e diminuir os tempos de reação, além de possibilitar o desenvolvimento de novas aplicações para a reação.

Existe uma grande necessidade de realizar uma rigorosa análise de forma inequívoca das espécies que são detectadas por ESI-MS e confirmar se elas realmente são intermediários da reação. Uma metodologia importante é executar reações com reagentes diferentes para poder observar a variação de massa dos intermediários. Esta metodologia, muito útil para descartar e assegurar a confiabilidade da análise, foi praticada nesse estudo com sucesso.

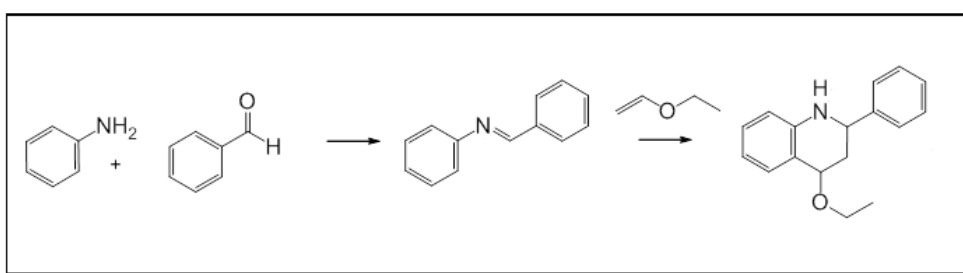
4 Reação de Aza Diels Alder

4.1 - Introdução

4.1.1 Reação Aza Diels Alder

A reação de Aza Diels Alder pode ser classificada entre os métodos mais eficientes para a construção de um anel de seis membros - contendo nitrogênio⁵⁰. Possui uma larga aplicação em síntese de psicotrópicos, anti-alérgicos e anti-inflamatórios. Entre as metodologias atualmente disponíveis, a reação de Aza Diels Alder é a abordagem mais versátil para a síntese de tetrahydroquinolinas funcionalizadas. Uma reação de Aza Diels Alder oferece uma função muito importante e um método rápido e poderoso para construir azaheterociclos.⁵¹

A reação de Aza Diels Alder baseia-se em reações de iminas, derivadas de aldeídos e aminas com alcenos, como mostrado no Esquema 4.1.



Esquema 4.1: Reação de Aza Diels Alder.

Apesar da reação de imino Diels Alder já ser conhecida há algum tempo,⁵² apenas ultimamente tem-se obtido grandes avanços no desenvolvimento de catalisadores⁵³ para essa reação, e estudos mais detalhados de seu mecanismo de reação veio a se tornar objeto de interesse.

A reação de Aza Diels Alder pode proceder na ausência de catalisador, como mostrado por Ding e colaboradores⁵⁴ que relataram que dieno de Danishefsky reage com imina derivada de anilina e benzaldeído em MeCN a temperatura ambiente, sem qualquer catalisador, entretanto, estudos realizados por Hermitage e colaboradores⁵⁵ mostram que as reações não catalisadas prosseguem muito lentamente.

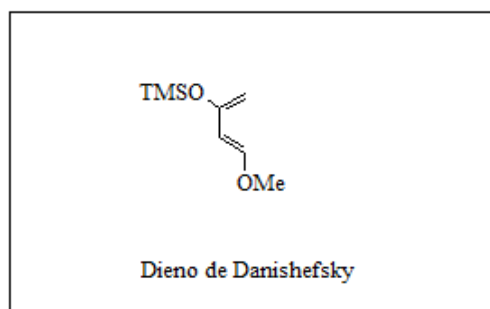


Figura 4.1:Dieno de Danishefsky.

A reação é acelerada pela adição de catalisadores como ácidos de Lewis ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ e ZnCl_2), lantanídeos contendo triflatos e ácidos de Bronsted. Isso resulta na formação de um complexo de cátion imina, que rapidamente sofre cicloadição com dienos, mesmo a temperaturas baixas.

Embora a seqüência dos produtos principais obtidos a partir de rotas sintéticas alternativas serem conhecidos,⁵⁶ não há investigações teóricas sobre a execução do mecanismo molecular. As reações de hetero Diels Alder foram comparativamente menos estudadas, do ponto de vista teórico, do que a reação de Diels Alder.⁵⁷

4.2 Objetivo

Devido a importância sintética da reação de Aza Diels Alder e o fato da proposta mecanística ainda não estar totalmente comprovada, um dos objetivos dessa dissertação foi utilizar a técnica ESI-MS para investigar o mecanismo nesta reação.

4.3 Parte Experimental

4.3.1 Reagentes

Os reagentes anilina (Sigma Aldrich), benzaldeído (Sigma Aldrich), etil-vinil-éter (Merck), etanol (Merck), hexano (Merck), acetonitrila (grau HPLC, Merck), metanol (grau HPLC, Merck) e ácido fórmico (grau HPLC, Merck) foram utilizados sem purificação prévia. Utilizou-se em todos os experimentos água bi-destilada para o preparo das soluções.

4.3.2 Procedimento

Em um balão de fundo chato de 25 mL contendo aproximadamente 10 mL de etanol, acetonitrila ou metanol, adicionou-se 1,0 mmol de anilina, 1,0 mmol de

benzaldeído e 4,0 mmol de etil-vinil-éter. A reação foi mantida sob agitação magnética e foram retiradas alíquotas após intervalos de tempos pré-definidos.

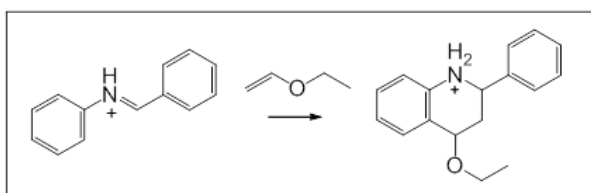
4.3.3 Monitoramento

O monitoramento das reações foi realizado utilizando o espectrômetro de massas LCQFleet, ThermoScientific, San Jose, CA, com uma fonte de ionização electrospray e analisador de massas ion trap, instalado no Departamento de Química da UFMG. A monitorização da reação foi no modo positivo. A voltagem do cone e do extrator foram, respectivamente, 75 e 15 V, com varredura na faixa de 50-1000 m/z . As amostras (alíquotas reacionais) foram inseridas na fonte de ionização do instrumento por meio de uma seringa de 500 μL (Hamilton, Reno, NV) com fluxo de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$. Essas alíquotas foram preparadas através da coleta de 10 μL da reação, nos intervalos de tempo estabelecidos, e diluídos dez vezes com uma mistura de metanol: água (50: 50 v/v).

Os parâmetros do espectrômetro de massas foram ajustados para produzir uma resposta otimizada. Experimentos MS/MS foram realizados por seleção dos íons observados e, em seguida, fragmentados através de dissociação induzida por colisão (CID) utilizando hélio como gás de colisão.

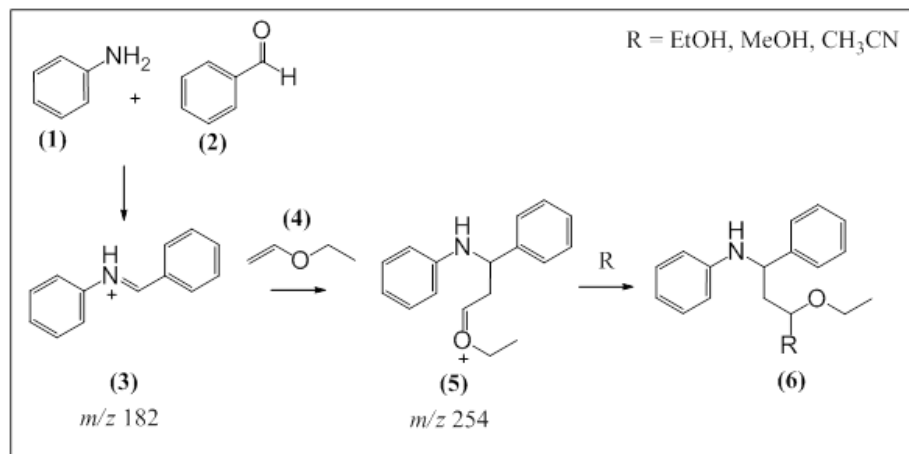
4.4 Resultados e discussão

O estudo da reação de Aza-Diels-Alder envolveu a utilização de uma imina gerada *in situ* pela condensação da anilina com benzaldeído, e do dienófilo etil-vinil-éter. As etapas envolvidas nesta reação são mostradas no Esquema 4.2.

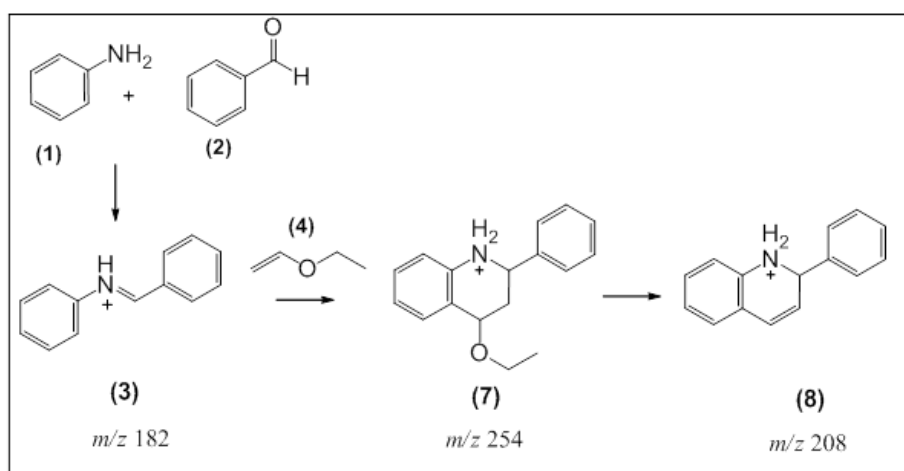


Esquema 4.2: Reação de Aza Diels Alder.

Existem duas propostas mecanísticas na literatura. Uma proposta seria por um mecanismo não concertado, que encontra-se descrito no Esquema 4.3, e a outra proposta seria um mecanismo concertado (Esquema 4.4).⁴³ Como pode-se notar, a diferença entre essas duas propostas é a formação do intermediário (6) no mecanismo não concertado.



Esquema 4.3: Proposta para um mecanismo não concertado da reação de Aza Diels Alder.



Esquema 4.4: Proposta para um mecanismo concertado da reação de Aza Diels Alder.

Como o objetivo desse estudo foi tentar detectar e analisar todos os intermediários reacionais, decidiu-se monitorar a reação a temperatura ambiente para que as espécies fossem formadas mais lentamente e pudessem ser detectadas. Monitorou-se a reação com e sem catalisador (usando calixareno como catalisador). Como não foi observado nenhuma diferença, passou-se a monitorar a reação apenas sem catalisador. A reação foi estudada utilizando três solventes (acetona, etanol e metanol) com a finalidade de visualizar a incorporação do solvente no intermediário da reação, se a mesma seguisse um mecanismo não concertado. As Figuras 4.2, 4.6 e 4.11 mostram os espectros da reação de Aza Diels Alder usando como solventes etanol, acetonitrila e metanol, respectivamente.

As reações também foram monitoradas retirando-se alíquotas nos tempos 10, 60, 90 e 120 minutos, que foram rapidamente injetadas no espectrômetro de massas. Os

espectros da reação usando etanol como solvente, monitorados nesses intervalos de tempo, encontram-se nas Figuras 4.2 a 4.5. Pode-se observar que o padrão da reação é praticamente o mesmo desde o início do monitoramento.

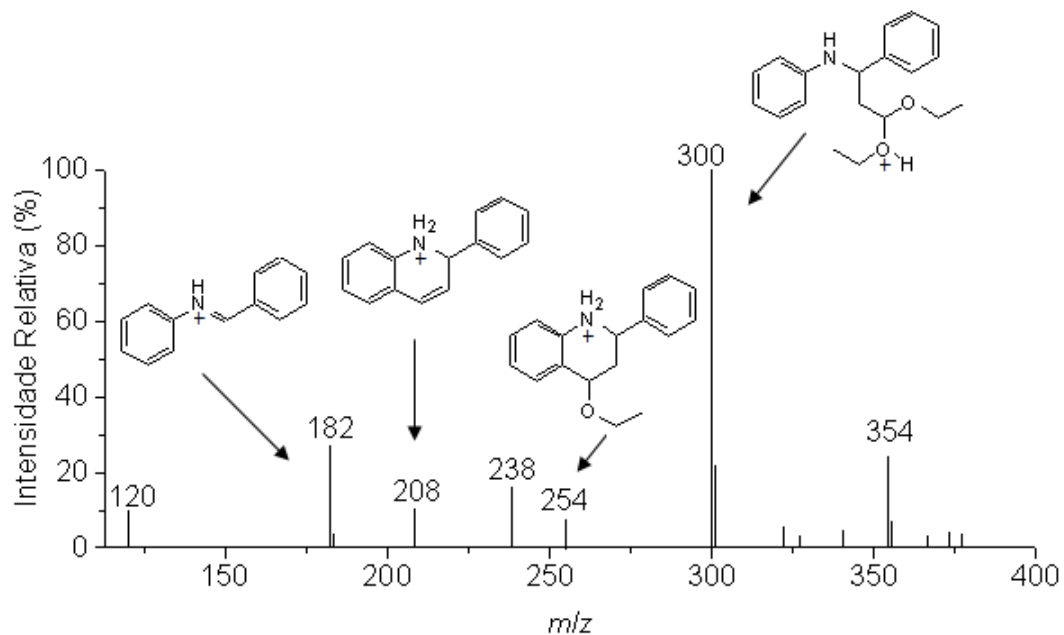


Figura 4.2: Espectros ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da reação Aza Diels Alder em etanol após 10 minutos.

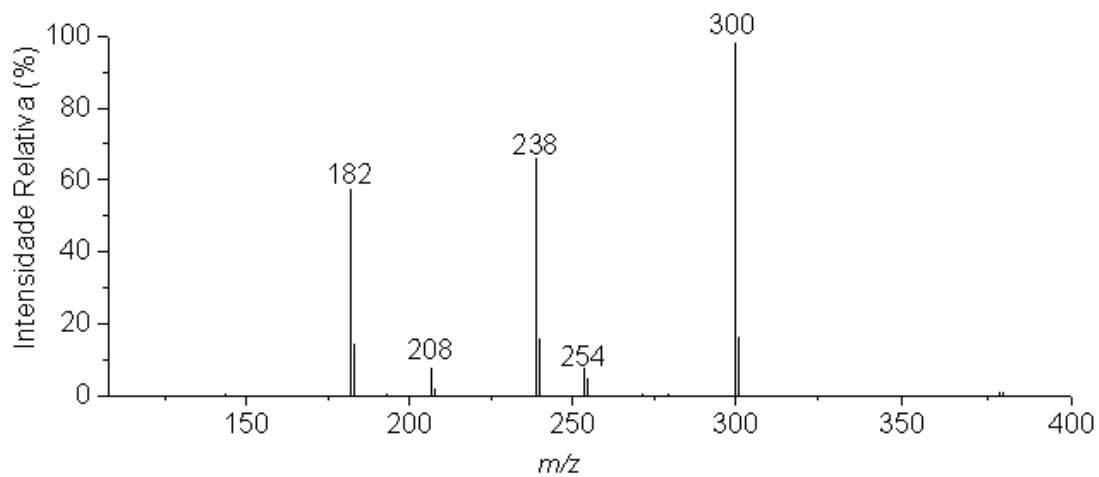


Figura 4.3: Espectros ESI-MS da reação de Aza Diels Alder em etanol após 60 minutos.

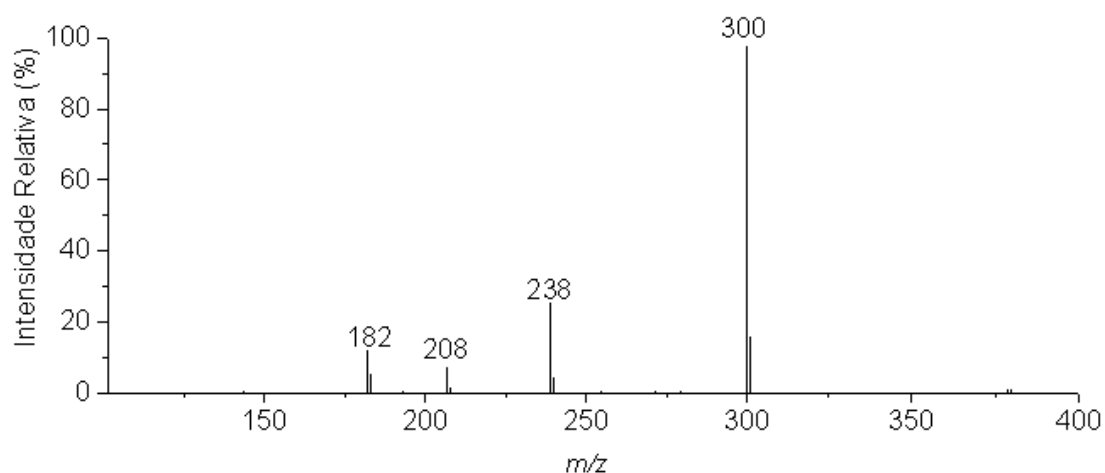


Figura 4.4: Espectros ESI-MS da reação de Aza Diels Alder em etanol após 90 minutos.

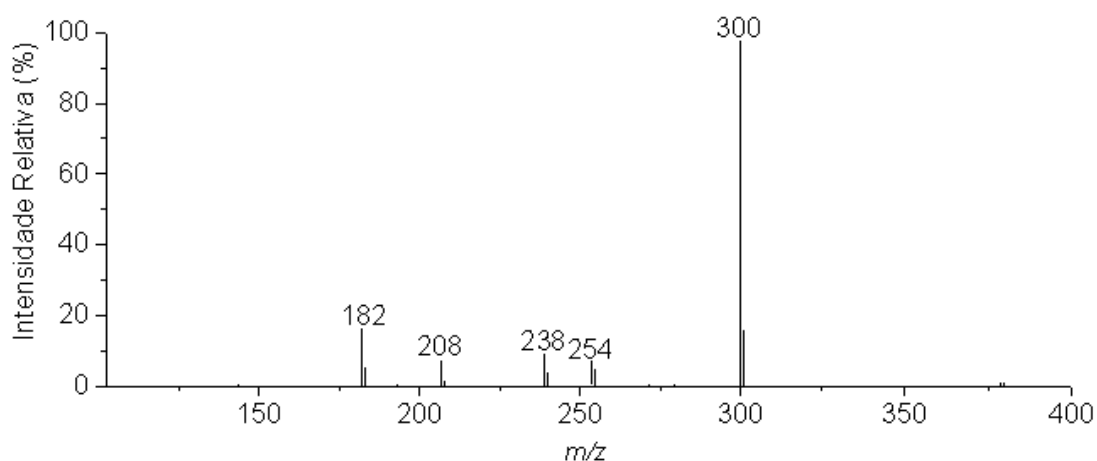


Figura 4.5: Espectros ESI-MS da reação de Aza Diels Alder em etanol após 120 minutos.

Observando a proposta de mecanismo da literatura (Esquema 4.3) e as figuras 4.2-4.5, referentes aos espectros de massas da reação de Aza Diels Alder em etanol, pode-se notar a presença dos íons de m/z 182, 254 e 300 que coincidem com a razão m/z das espécies propostas no mecanismo não concertado, Esquema 4.3, (intermediários **3**, **5** e **6**, respectivamente), bem como o produto da reação (**8**), m/z 208. Principalmente, foi importante a identificação do intermediário (**6**), que corresponde a incorporação de uma molécula de etanol, m/z 300 e que sugere que o mecanismo da reação ocorra de um modo não concertado.

Pode-se notar, no Espectro de ESI(+)-MS (Figura 4.6) das alíquotas retiradas da reação de Aza Diels Alder em acetonitrila, os intermediários (**3** e **5**) do Esquema 4.3 (m/z 182 e m/z 254, respectivamente), em suas formas protonadas, além do íon de m/z 295 referente à incorporação de uma molécula de acetonitrila. Estes resultados comprovam, mais uma vez, a rota de mecanismo não concertado.

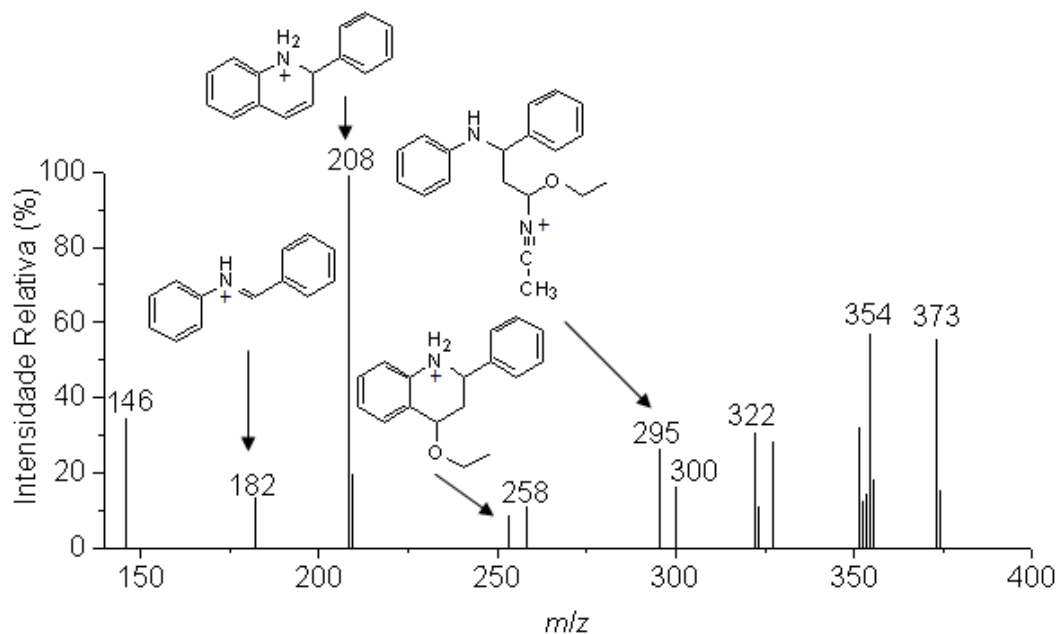


Figura 4.6: Espectros ESI-MS obtidos a partir da reação de Aza Diels Alder em acetonitrila após 60 minutos.

A Figura 4.7 mostra o MS/MS do íon de m/z 300. É possível notar a perda de etanol e um rearranjo para gerar o íon de m/z 254, e a perda de etanol do íon de m/z 300 seguida da perda de etil-vinil-éter gerando o íon de m/z 182. A proposta de fragmentação encontra-se no Esquema 4.5.

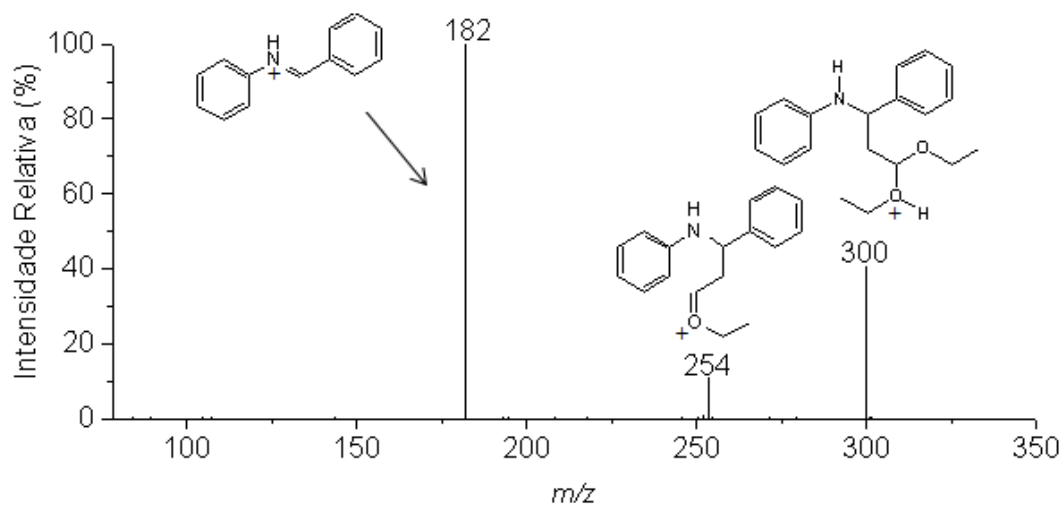
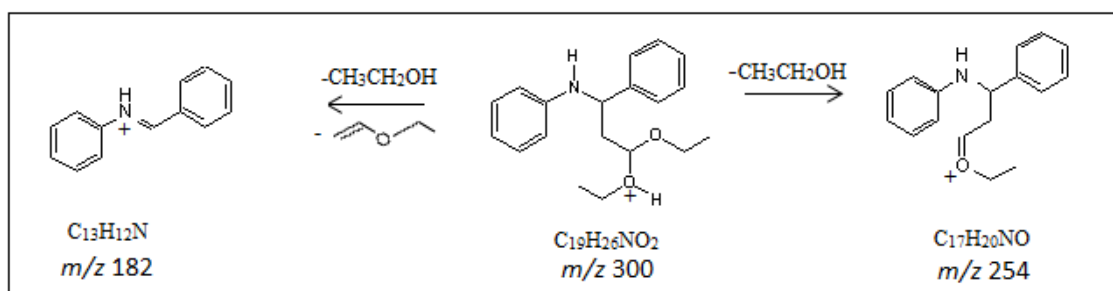


Figura 4.7: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 300.



Esquema 4.5: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 300.

A Figura 4.8 mostra o MS/MS do íon de m/z 254. É possível notar a perda de etanol gerando o íon de m/z 208. A proposta de fragmentação encontra-se no Esquema 4.6.

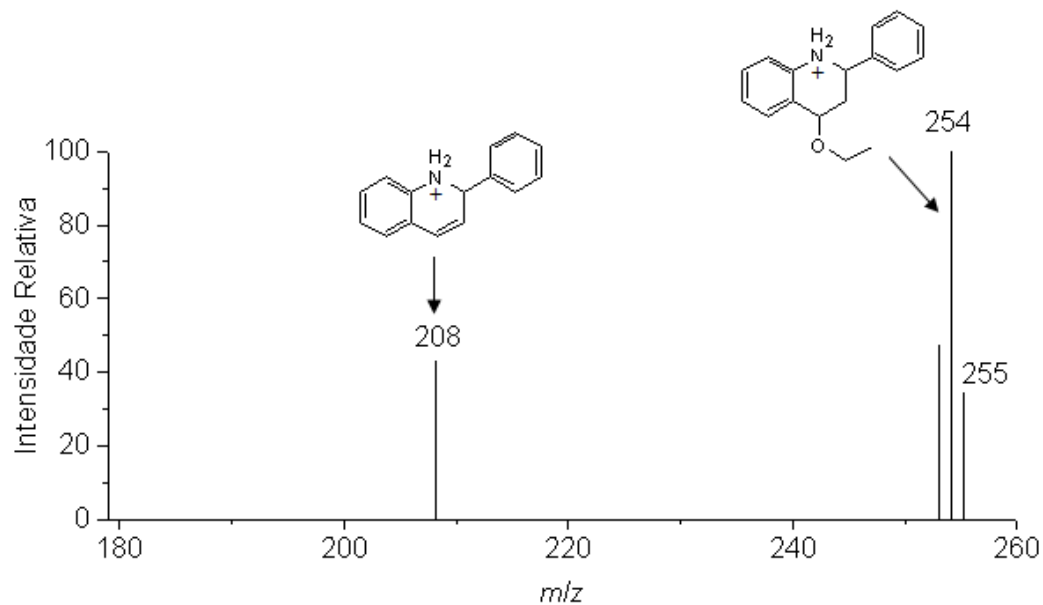
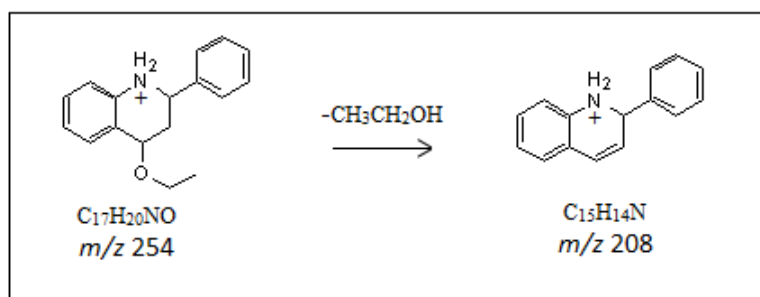


Figura 4.8: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 254.



Esquema 4.6: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 254.

A Figura 4.9 mostra o MS/MS do íon de m/z 208. É possível notar a perda de benzeno formando o íon de m/z 130. A proposta de fragmentação encontra-se no Esquema 4.7.

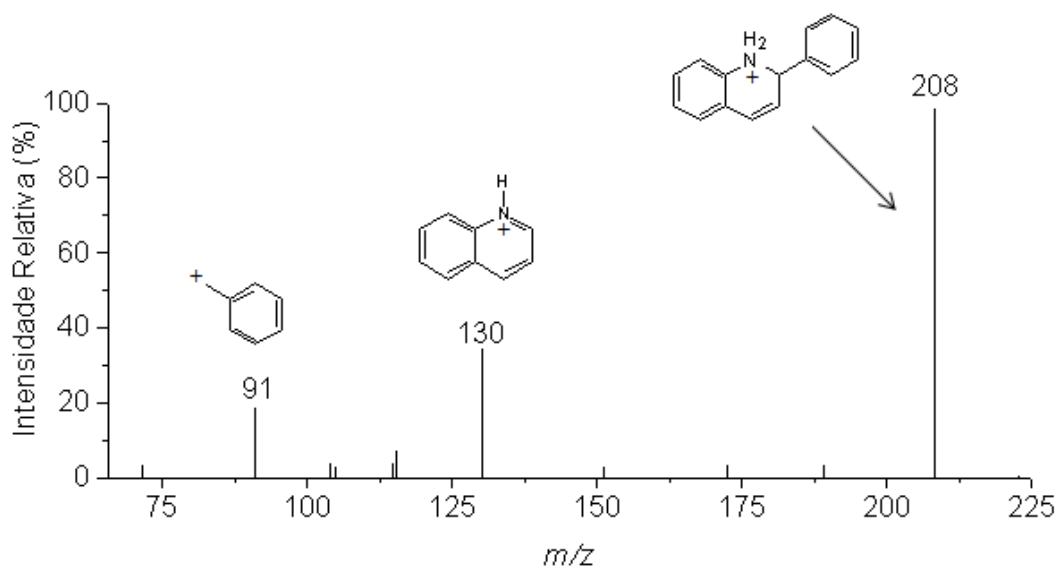
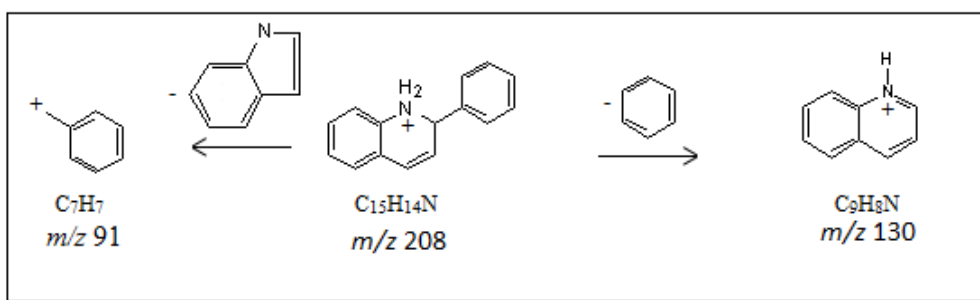


Figura 4.9: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 208.



Esquema 4.7: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 208.

A Figura 4.10 mostra o MS/MS do íon de m/z 295. É possível notar a perda de acetonitrila e um rearranjo para gerar o íon de m/z 254, e a perda de acetonitrila seguida pela perda de etil-vinil-éter, gerando íon de m/z 182. A proposta de fragmentação encontra-se no Esquema 4.8.

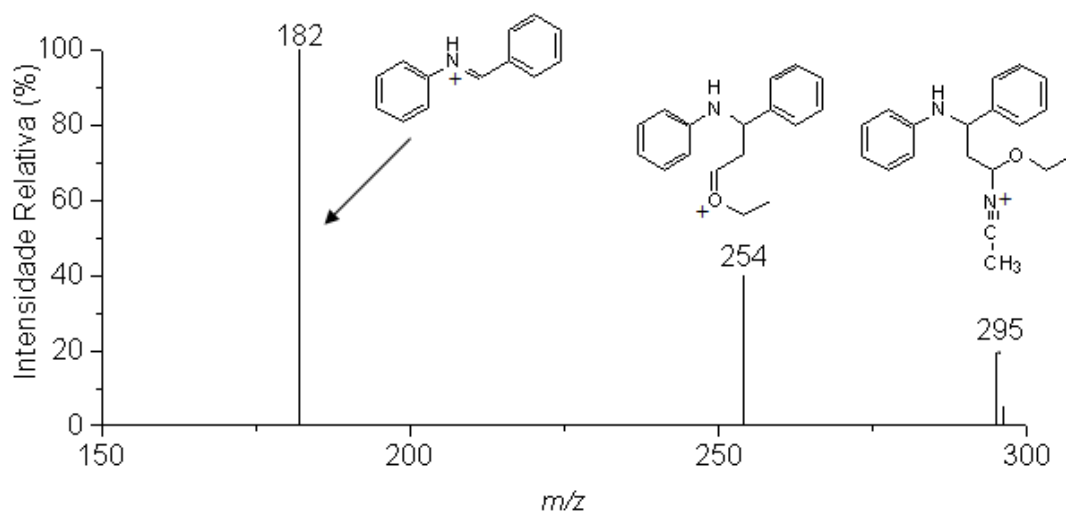
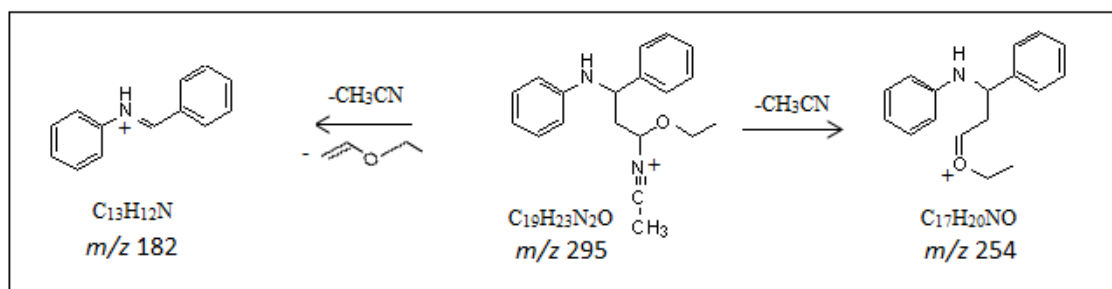


Figura 4.10: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 295.



Esquema 4.8: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 295.

A Tabela 4.1 mostra a energia de colisão usada para fragmentar cada intermediário da reação de Aza Diels Alder usando acetonitrila como solvente e a razão m/z de cada fragmento.

Tabela 4.1: Energia de colisão usada na fragmentação de cada intermediário da reação de Aza Diels Alder em acetonitrila.

Íon precursor (m/z)	Energia de colisão (CID)	Íon filho (m/z)
300	17	254; 182
295	20	254; 182
254	35	208
208	55	130; 91

Pode-se notar através do Espectro de ESI (+)-MS (Figura 4.11) das alíquotas retiradas da reação de Aza Diels Alder usando metanol como solvente, os

intermediários (**3** e **5**) (m/z 182 e m/z 254, respectivamente) Esquema 4.3, em suas formas protonadas, além do íon de m/z 286, referente à incorporação de uma molécula de metanol e o produto final de m/z 208. Note que nesse espectro não aparece o pico relativo à incorporação de acetonitrila e etanol (m/z 295 e m/z 300). Os espectros de ESI-MS/MS desses íons mostraram os mesmos fragmentos das reações conduzidas em acetonitrila. O Espectro de MS/MS do íon de m/z 286 encontra-se na Figura 4.12 e sua proposta de fragmentação encontra-se no Esquema 4.9.

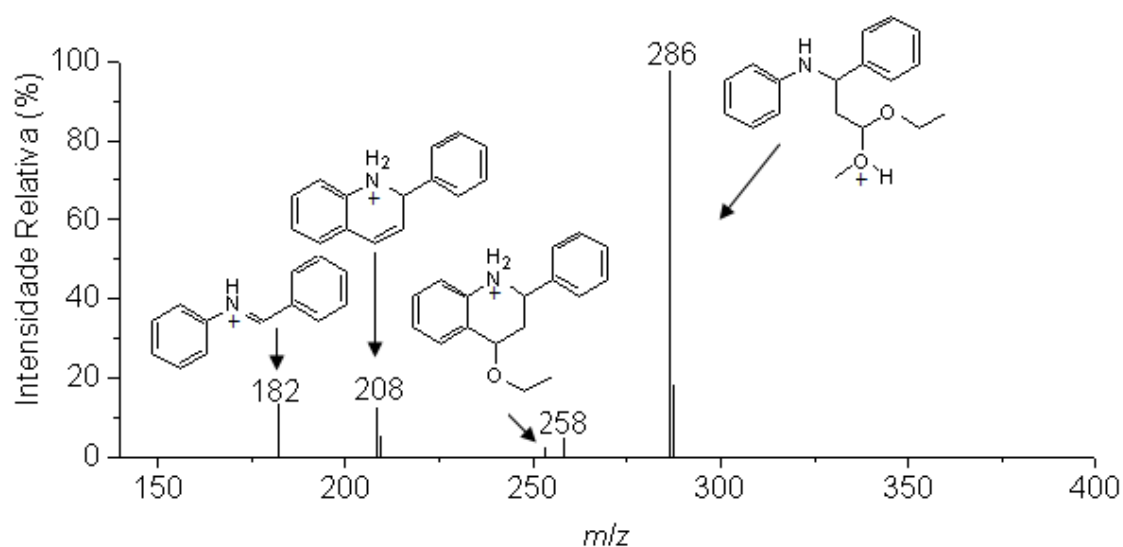


Figura 4.11: Espectros ESI-MS obtidos a partir de alíquotas da reação de Aza Diels Alder em metanol após 60 minutos de reação.

O espectro de ESI-MS/MS do íon de m/z 286 gera o íon de m/z 254 referente a perda de metanol, seguida de um rearranjo, e a perda de metanol seguida por perda de etil-vinil-éter gerando íon de m/z 182. A proposta de fragmentação encontra-se no Esquema 4.9.

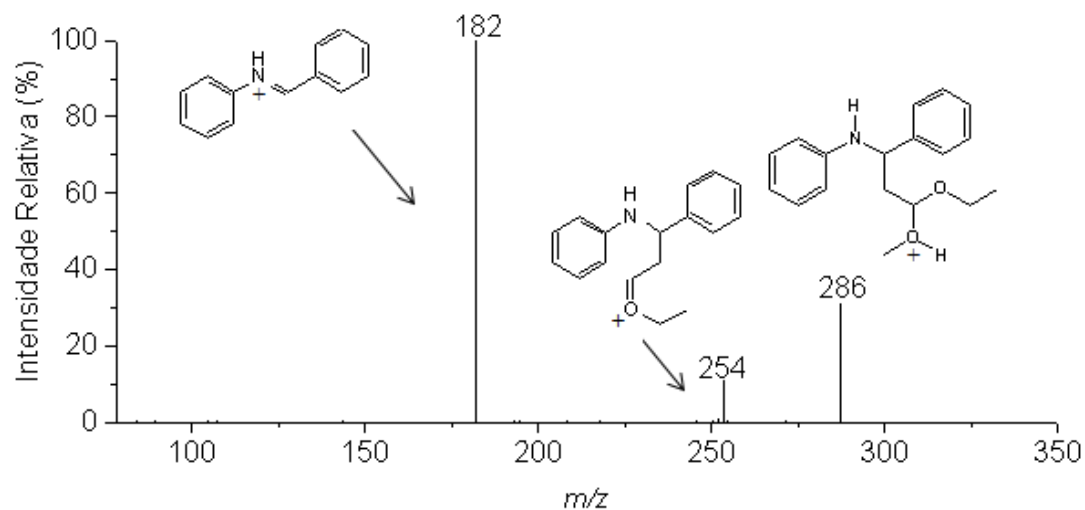
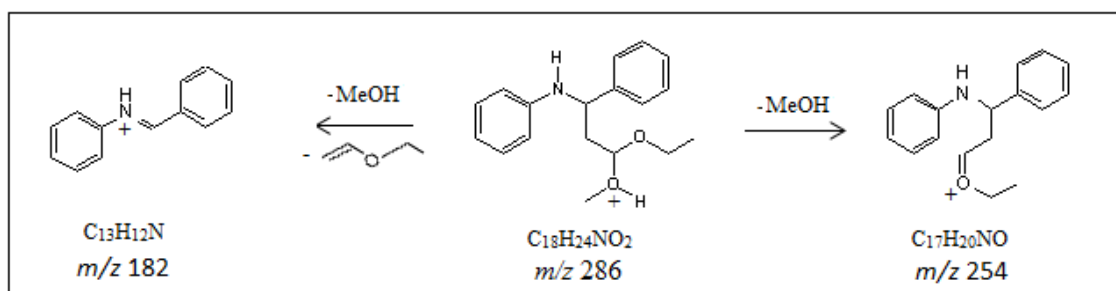
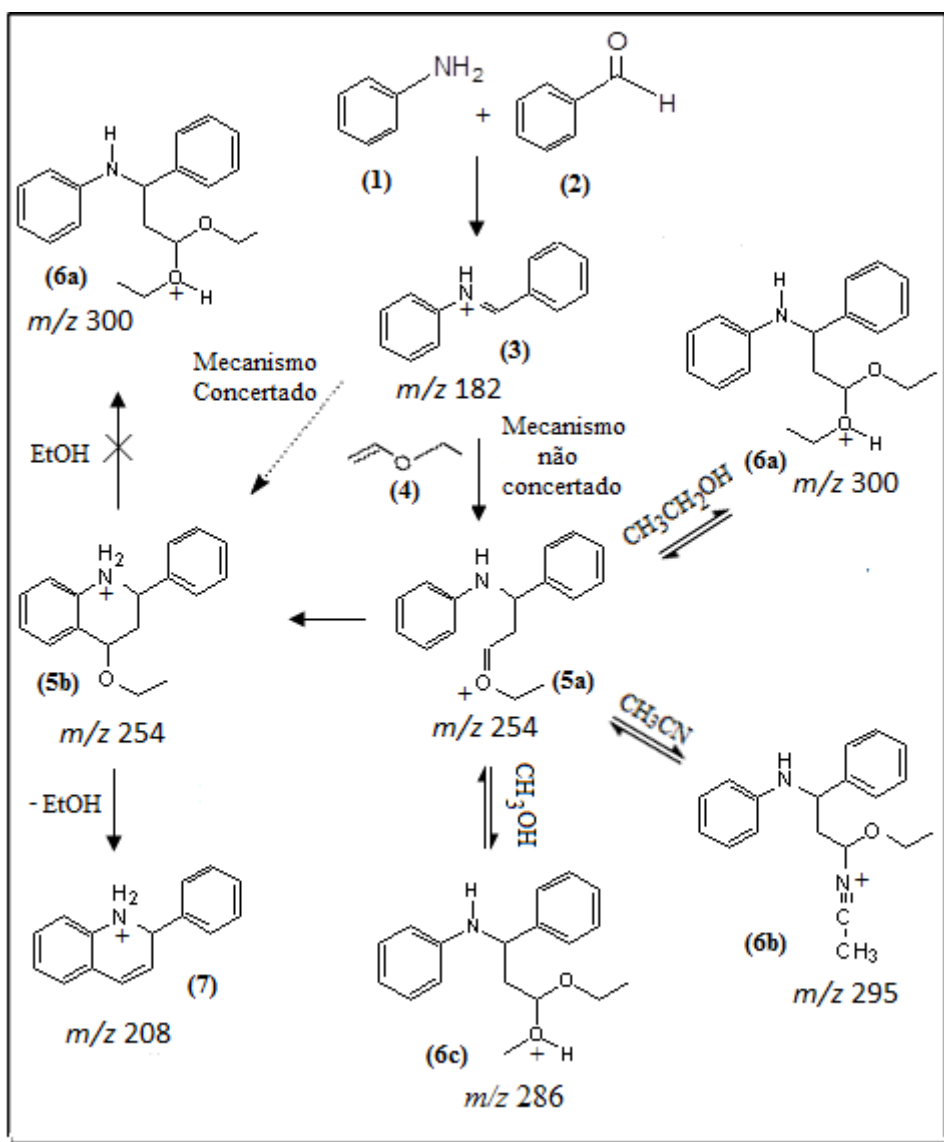


Figura 4.12: Espectro ESI-MS/MS do íon de m/z 286.



Esquema 4.9: Proposta de fragmentação para o íon de m/z 286.

Pode-se notar através do esquema 4.10 as duas propostas de mecanismo da literatura e os intermediários que foram indentificados nesse estudo e caracterizados por experimentos MS/MS.



Esquema 4.10: Proposta de mecanismo para a reação de Aza Diels Alder

Em primeiro lugar, o Espectro de ESI (+)-MS das alíquotas da reação de Aza Diels Alder revelou a presença de um íon de m/z 182 atribuída a (3). Na seqüência, a imina (3) reage com o dienófilo vinil éter etílico (4) para produzir o suposto aduto de Aza Diels Alder (5b), m/z 254, em baixa intensidade para todos os solventes testados. Como resultado da liberação de uma molécula de solvente a partir de (5b), o produto formado quinolina (7), de m/z 208, foi proposto. Essa suposição foi apoiada pelo padrão de fragmentação de (5b), que mostrou a formação exclusiva de (7) (m/z 208). Curiosamente, o principal sinal observado no Espectro de ESI (+)-MS foi relativo à incorporação de solvente, sugerindo ser a forma protonada de um intermediário acíclico (6a), (6b) e (6c) resultante de um ataque nucleofílico de (4) à imina (3) seguido pela

incorporação de solvente. A estrutura acíclica do íon **(6a)** (em vez de um aduto protonado não-covalente entre o solvente e **(5b)**) foi racionalizada por meio de experimentos de dissociação em que não houve formação de um produto de m/z 208, sem contar, que podemos observar a dificuldade que seria um ataque de uma molécula de solvente sobre o intermediário **(5b)**.

4.5 Conclusão

A reação de Aza Diels Alder foi monitorada com sucesso por ESI-MS, que foi capaz de detectar intermediários importantes, como o dieno **(3)** e aduto **(5)** para os três solventes estudados.

O resultados de ESI-MS e ESI-MS/MS sugerem uma via de mecanismo não-concertado para essa reação, pois os intermediários identificados não poderiam ser formados se o mecanismo fosse concertado.

Finalmente, os experimentos de MS/MS e a variação dos solventes foram de extrema importância para a comprovação da identificação desses intermediários.

**5 Diferenciação de Bis-hidroxiiminas
Aromáticas Isoméricas Pelos Perfis de
Fragmentação dos Adutos Protonados**

5.1 Introdução

5.1.1 Iminas

As iminas são obtidas a partir da reação de condensação entre uma amina primária com aldeídos ou cetonas.⁵⁸ Essa classe de compostos químicos contém um átomo de nitrogênio ligado a um carbono através de uma ligação dupla ($R^1R^2C=N-R$). As iminas mais estáveis possuem um grupo alquil ou aril ligados ao nitrogênio.⁵⁹

Dentre as iminas, os ligantes do tipo Salen (Figura 5.1) têm recebido atenção crescente. Esses ligantes tetradentados contêm dois átomos de nitrogênio e dois átomos de oxigênios fenólicos, sendo facilmente preparados a partir da condensação de hidroxibenzaldeídos com diaminas. Dentre os fatores que tem contribuído para o interesse generalizado e continuado em tais ligantes são sua similaridade com o grupo heme e a descoberta recente de sua aplicação como catalisadores quirais eficientes.⁶⁰

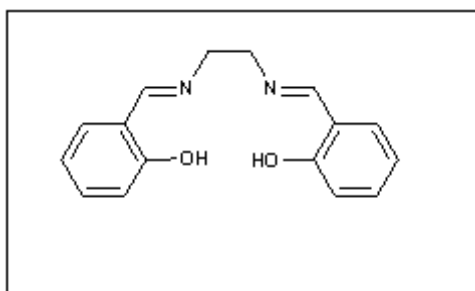


Figura 5.1: Estrutura de um ligante do tipo Salen.

A complexação dos ligantes de Salen com íons metálicos vem sendo muito investigada. Isto se deve, em parte, à facilidade de síntese dessas moléculas com diferentes substituintes e, deste modo, específicas para diferentes íons metálicos.⁶¹ Outra característica dos ligantes de Salen, embora menos estudada, é seu potencial para formar complexos multinucleares. Esta funcionalidade surge devido à susceptibilidade do oxigênio fenólico em se ligar a mais de um íon metálico.⁶²

5.2 Objetivos

Um dos objetivos iniciais do presente trabalho foi sintetizar várias *bis*-hidroxiiminas aromáticas isoméricas e avaliar suas capacidades de coordenação com

alguns cátions de metais pesados, tais como Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} . Pretendia-se empregar a espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS) para determinar a extensão de complexação de cada cátion metálico com cada ligante e avaliar a integridade do complexo formado (através de experimentos MS/MS).

Posteriormente, o objetivo do trabalho foi alterado, visando agora, realizar estudos sistemáticos sobre a fragmentação das formas protonadas dos vários ligantes do tipo Salofen sintetizados. Através do emprego da espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS), para gerar os adutos protonados, e da espectrometria de massas sequencial (MS/MS), para fragmentá-los, visando à obtenção de uma metodologia eficiente para diferenciação dos ligantes do tipo Salofen isoméricos.

5.3 Parte Experimental

5.3.1 Reagentes

Os reagentes fenilenodiamino (Sigma Aldrich), *o*-hidroxi-benzaldeído (Sigma Aldrich), *m*-hidroxi-benzaldeído (Sigma Aldrich), *o*-aminotiofenol (Sigma Aldrich), isoftalaldeído (Sigma Aldrich), tolueno (Merck), etanol (Merck), hexano (Merck) acetato de etila (Merck), metanol (grau HPLC, Merck) foram utilizados sem purificação prévia. Utilizou-se, em todos os experimentos, água bi-destilada para o preparo das soluções.

5.3.2 Equipamentos

As análises foram realizadas utilizando um espectrômetro de massas (LCQFleet, ThermoScientific, San Jose, CA) com uma fonte de ionização electrospray e analisador ion trap, equipamento este instalado no Departamento de Química da UFMG. Duas séries de soluções (em metanol: água 1:1 v/v) foram preparadas, as quais continham os ligantes sintetizados (a 1×10^{-3} mol L^{-1}) e os compostos sintetizados mais os sais $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, HgCl_2 ou $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (ambos a 1×10^{-3} mol L^{-1}). Tais soluções foram injetadas na fonte do espectrômetro de massas por meio de uma seringa de 500 μL (Hamilton, Reno, NV) num fluxo de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$. A voltagem do cone e do extrator foram respectivamente 70 e 25 V, com varredura de 50-1000 m/z . Experimentos MS/MS

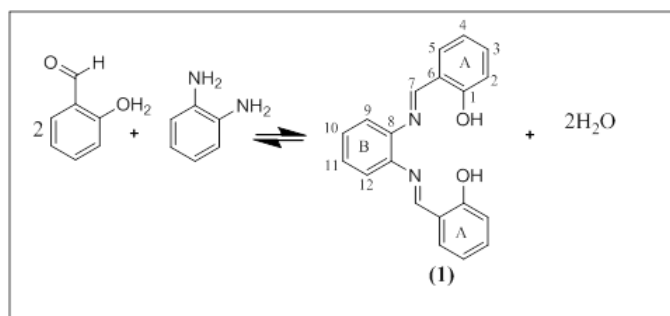
foram realizados por seleção dos íons precursores (ligantes protonados) e suas fragmentações por colisão com hélio.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C foram obtidos nos espectrômetros BRUKER AVANCE DRX/400 e DPX/200. Como referência interna foi utilizado tetrametilsilano ou, em alguns casos, o sinal residual do próprio solvente deuterado. Os deslocamentos químicos foram apresentados em δ e as multiplicidades (dos espectros de RMN ^1H) foram apresentadas de maneira abreviada a saber: s = simpleto, d = duplete, t = tripleto e m = multiplete.

Os pontos de fusão (PF) foram determinados no aparelho Gehaka PF1500.

5.3.3 Procedimento para a síntese dos ligantes do tipo Salofen

N,N'-bis[(2-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (1)



Esquema 5.1: Síntese do *N,N'*-bis[(2-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (1).

Em um balão de fundo redondo de 50 mL conectado a um sistema Dean-Stark e contendo 2-hidroxibenzaldeído (2,26 g; 18,52 mmol), adicionou-se 30 mL de tolueno anidro sob agitação magnética vigorosa e o sistema foi levado a refluxo. Após a total solubilização, adicionou-se 1,2-fenilenodiamina (1,0 g; 9,26 mmol). Depois de 6,0 hrs observou-se o término da reação através da cromatografia em camada delgada (CCD). O tolueno foi removido a pressão reduzida com o auxílio de um evaporador rotativo. O produto formado foi ressuspensionado com metanol gelado e filtrado sob pressão reduzida, fornecendo um sólido laranja com 93% de rendimento (2,73 g; 8,60 mmol). O ponto de fusão (PF) foi de 164-166 °C (PF lit.: 174 °C⁶³).

Dados espectroscópicos do composto **1**

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,92 (td, 2H, 7,6 e 0,8); 7,05 (d, 2H, 8,0); 7,26-7,23 (m, 2H); 7,39-7,33 (m, 6H); 8,64 (s, 2H); 13,01 (s, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , atribuição): 117,71 (C-2); 119,15 (C-4); 119,40 (C-6); 119,89 (C-9 e C-12); 127,88 (C-10 e C-11); 132,52 (C-5); 133,54 (C-3); 142,72 (C-8); 161,51 (C-1); 163,88 (C-7).

A análise de RMN de ^1H (400 MHz) (Figura 5.2) do produto **1** (Esquema 5.1), mostrou a presença de um simpleto em δ 13,01, integrando para dois átomos de hidrogênio, referente a hidrogênio das hidroxilas. Em δ 8,64 observa-se um simpleto, integrando para dois átomos de hidrogênio, os quais correspondem a hidrogênio do carbono do grupo imina (C-7). Em δ 7,39-7,33 há a presença de um multipeto, integrando para seis átomos de hidrogênio, correspondendo a hidrogênio do C-3, C-5 e C-9. Em δ 7,26-7,23 mostra outro multipeto, integrando para dois átomos de hidrogênio, referente a hidrogênios do C-10 e C-11. O duplete em δ 7,05 ($J = 8,0$ Hz), integrando para dois átomos de hidrogênio, corresponde a átomos de hidrogênio do C-2. O triplo duplete em δ 6,92 ($J = 7,6; 0,8$ Hz), integrando para dois átomos de hidrogênio, equivale a átomos de hidrogênio aromáticos do C-4. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 5.3) mostrou a presença de dez sinais e o subespectro de DEPT 135 (Figura 5.4) mostrou a presença de sete sinais. Tais dados estão consistentes com a estrutura do composto *N,N'*-bis[(2-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (**1**) e confirmam, portanto, a estrutura proposta.

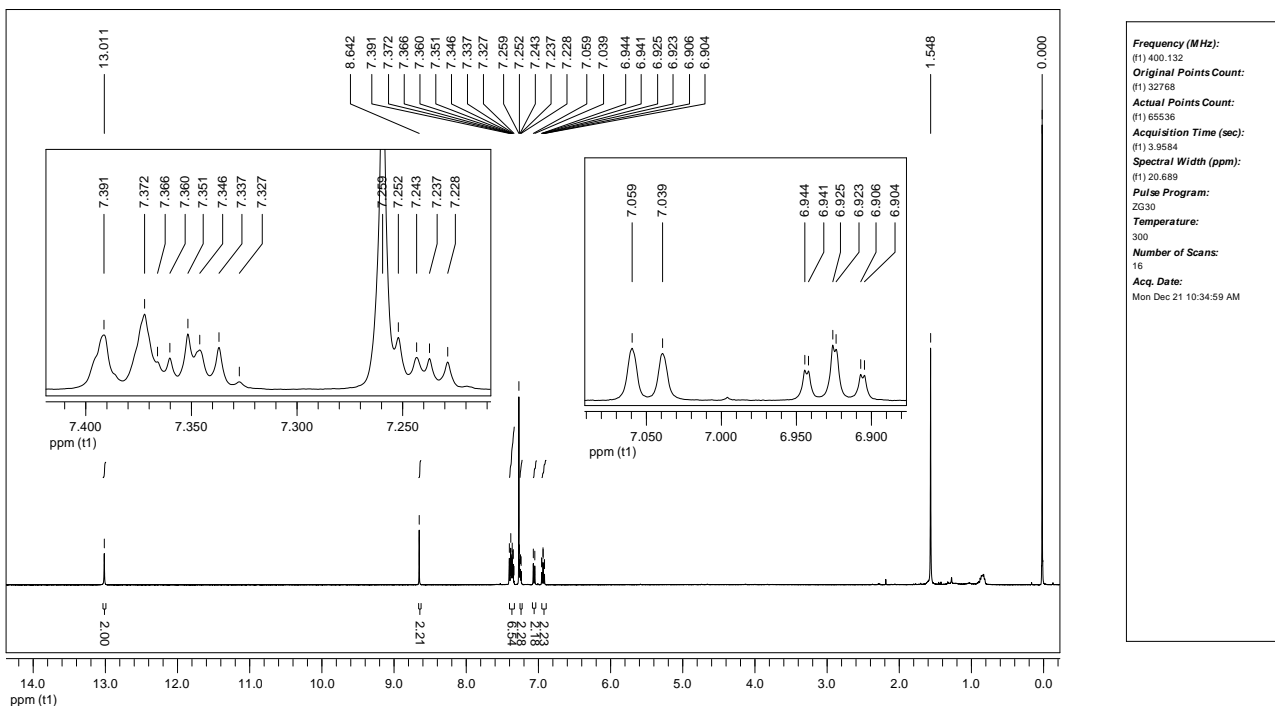


Figura 5.2: Espectro de RMN de ^1H do composto **1** em CDCl_3 .

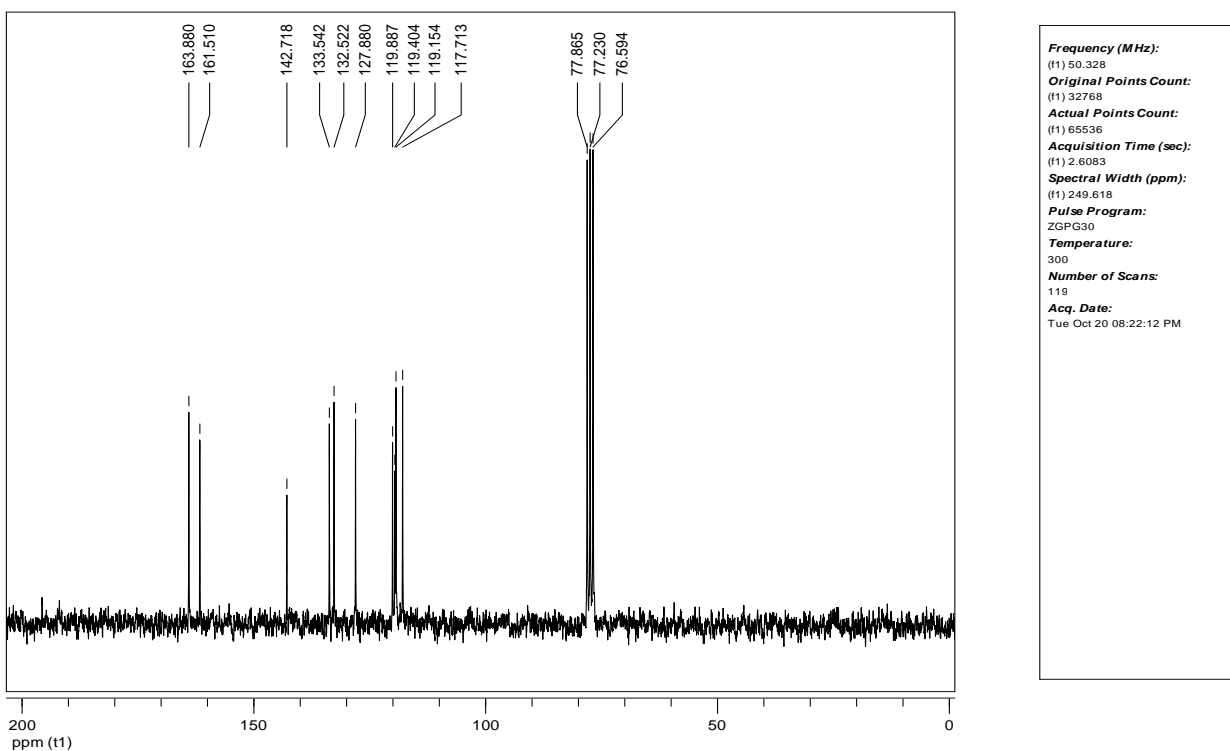


Figura 5.3: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **1** em CDCl_3 .

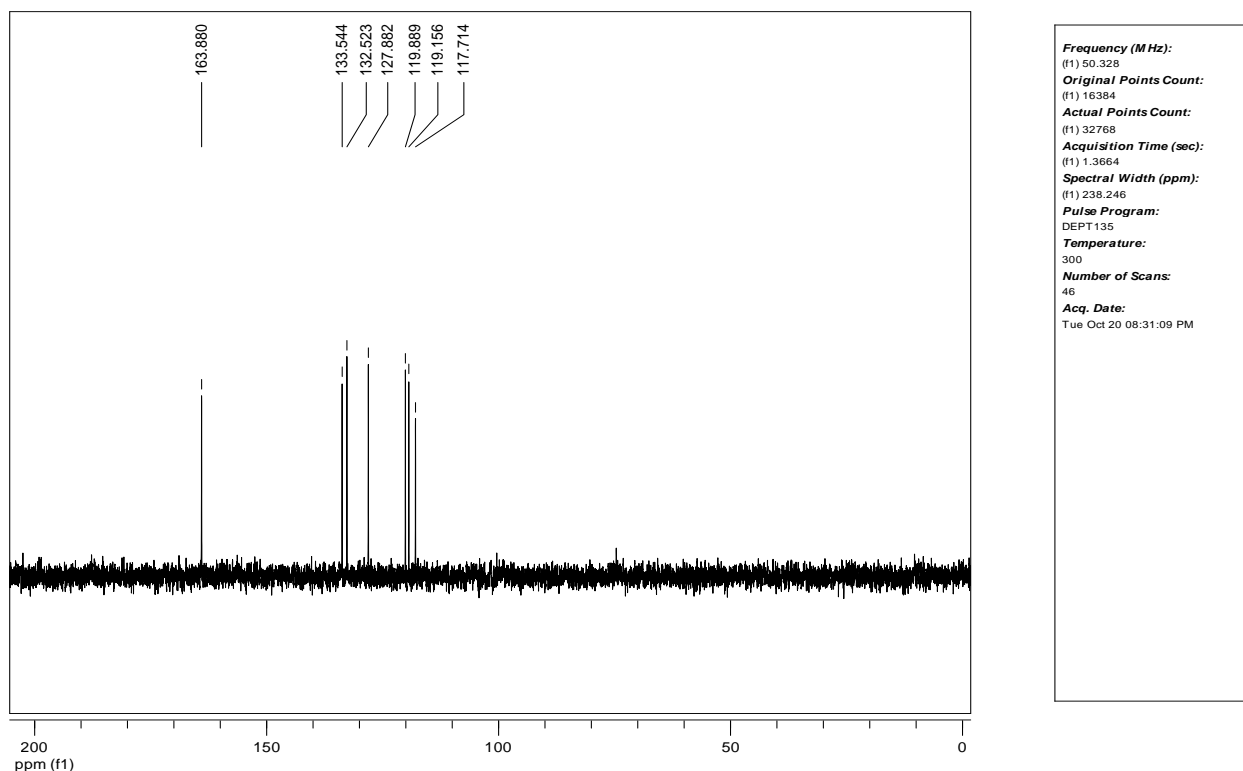
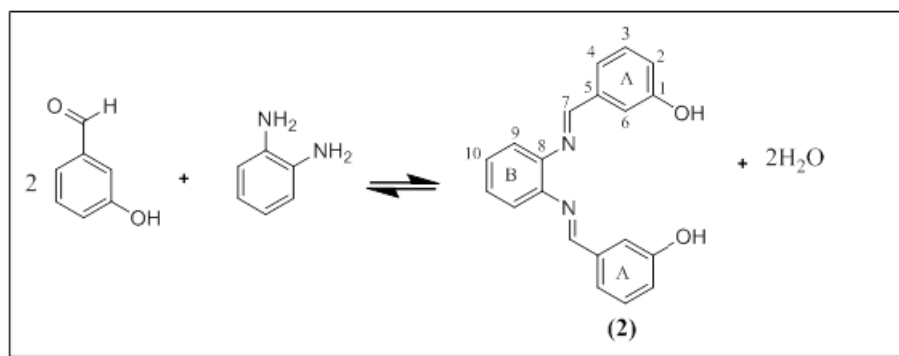


Figura 5.4: Subespectro de DEPT do composto **1** em CDCl_3 .

***N,N'*-bis[(3-hidroxi-benzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (**2**)**



Esquema 5.2: Síntese do *N,N'*-bis[(3-hidroxi-benzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (**2**).

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 3-hidroxi-benzaldeído (2,26 g; 18,52 mmol), adicionou-se 30 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa e o sistema mantido sob refluxo. Após total solubilização, adicionou-se 1,2-fenilenodiamina (1,0 g; 9,26 mmol). A mistura foi refluxada por 60 hrs e, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O etanol foi removido a pressão reduzida com o

auxílio de um evaporador rotativo. O produto formado foi lavado com uma solução de diclorometano e acetato de etila (8:2) e filtrado sob pressão reduzida, fornecendo um sólido branco com 97% de rendimento (2,83 g; 8.9 mmol). O ponto de fusão (PF) foi de 234-241 °C.

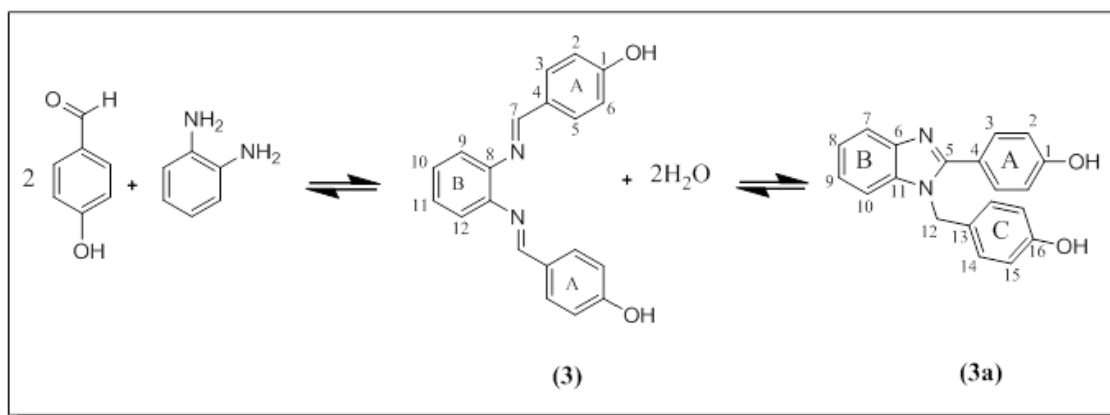
Dados espectroscópicos do composto 2

RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,90 (d, 2H, 8,0); 7,21-7,17 (m, 4H); 7,34 (t, 2H, 7,90); 7,61-7,58 (m, 4H); 9,75(s, 2H); 12,82 (s, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 113,38 (C-2 e C-6); 117,01 (C-4); 117,26 (C-9); 122,08 (C-3 e C-10); 130,04 (C-7); 131,44 (C-5); 151,40 (C-8); 157,81 (C-1)

A discussão sobre os dados de RMN do composto 2 é muito semelhante àquela conduzida para o composto 1. Por esse motivo, uma exposição detalhada sobre esses dados espectroscópicos não será realizada aqui.

Tentativa de síntese do *N,N'*-bis[(4-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (3)



Esquema 5.3: Síntese do composto *N,N'*-bis[(4-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 2-fenilenodiamina] (3) e a conversão para sua forma cíclica 3a.

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 3-hidroxibenzaldeído (183,0 mg, 1,5 mmol), adicionou-se 7 mL de diclorometano sob agitação magnética vigorosa, e o sistema mantido a temperatura ambiente. Após solubilização, adicionou-se 1,2-fenilenodiamina (54,0 mg, 0,5 mmol). Após 24 hrs, por intermédio de CCD, observou-

se o término da reação. O diclorometano foi removido à baixa pressão com o auxílio de um evaporador rotativo. O produto formado foi lavado com uma solução de diclorometano/acetato de etila (8:2) e filtrado a vácuo, resultando num sólido branco com 89% de rendimento (140,62 mg; 0,445 mmol). O ponto de fusão foi de 214-216 °C.

Dados espectroscópicos do composto **3a**

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 5,41 (s, 2H); 6,66 (d, 2H, 8,6); 6,92-6,81 (m, 4H); 7,24-7,17 (m, 2H); 7,43-7,39 (m, 1H); 7,68-7,54 (m, 3H); 9,43 (s, 1H); 9,97 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 47,09 (C-14); 110,97 (C-12); 115,50 (C-9); 115,55 (C-17 e C-19); 118,85 (C-2 e C-6); 120,83 (C-4); 121,89 (C-10); 122,14 (C-11); 127,13 (C-15); 127,51 (C-3 e C-5); 130,62 (C-16 e C-20); 135,86 (C-13); 142,72 (C-8); 153,61 (C-7); 156,69 (C-18); 158,86 (C-1).

Para a síntese do composto *N,N'*-bis[(4-hidroxibenzilideno) benzeno-1,2-diamina] (**3**) (Esquema 5.3), utilizou-se um procedimento semelhante àqueles descritos para a obtenção dos compostos **1** e **2**. Porém, após a caracterização através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135, não foi possível confirmar a formação do produto desejado (**3**). No espectro de RMN de ^1H (200 MHz) (Figura 5.5) observou-se a presença de um simpleto em δ 5,41, integrando para dois hidrogênios, e esse sinal não é compatível com a estrutura esperada de **3**. Também verificou-se a presença de dois sinais de hidroxilas fenólicas diferentes e o desaparecimento do sinal dos hidrogênios das iminas, embora a integração na região de aromáticos mostrava presença de 12 hidrogênios. O espectro de RMN ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 5.6) revelou a presença de um sinal em δ 47,09, o qual, pela análise do subespectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (Figura 5.7), foi verificado tratar-se de um carbono metilênico (CH_2), também incompatível com a estrutura do composto **3**. Com base nestes dados propôs-se, então, a estrutura **3a** para este composto (Esquema 5.3). A conversão **3** \rightarrow **3a** provavelmente ocorre por um ataque nucleofílico do nitrogênio de um dos grupamentos imina sobre o carbono do outro grupo imina, seguida por um rearranjo (migração de hidreto), com a conseqüente formação de um anel imidazólico.

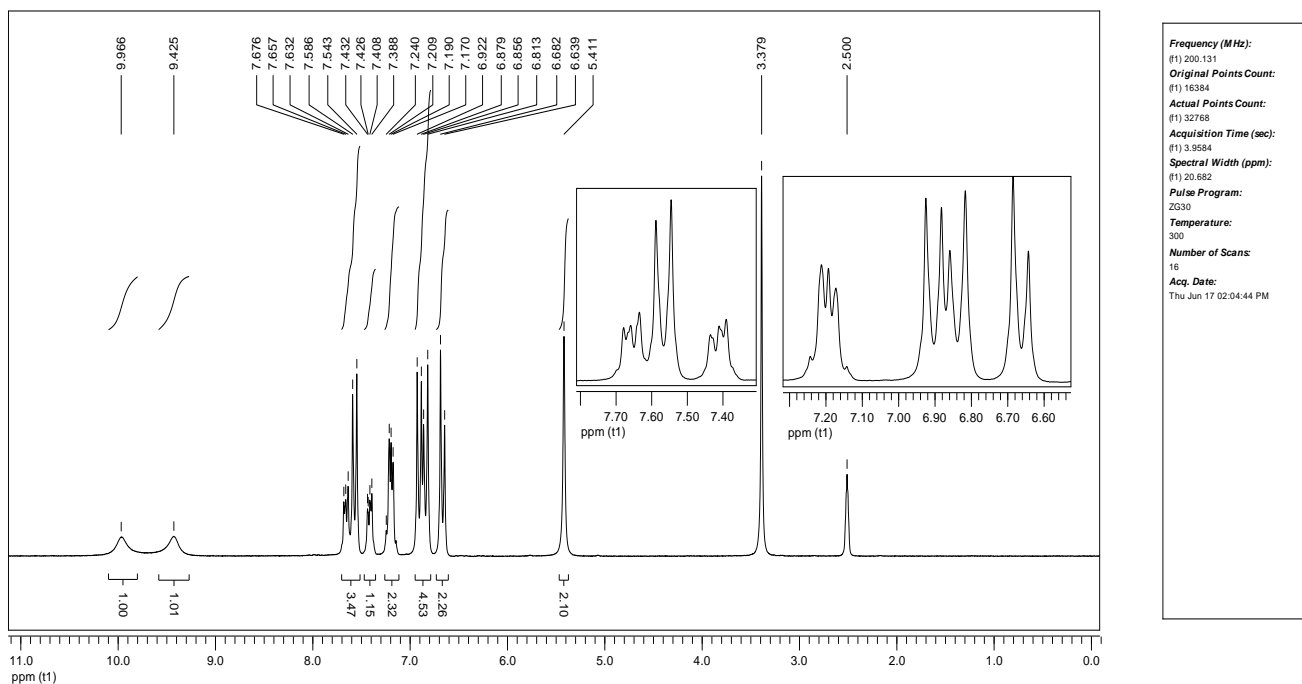


Figura 5.5: Espectro de RMN de ^1H do composto 3a.

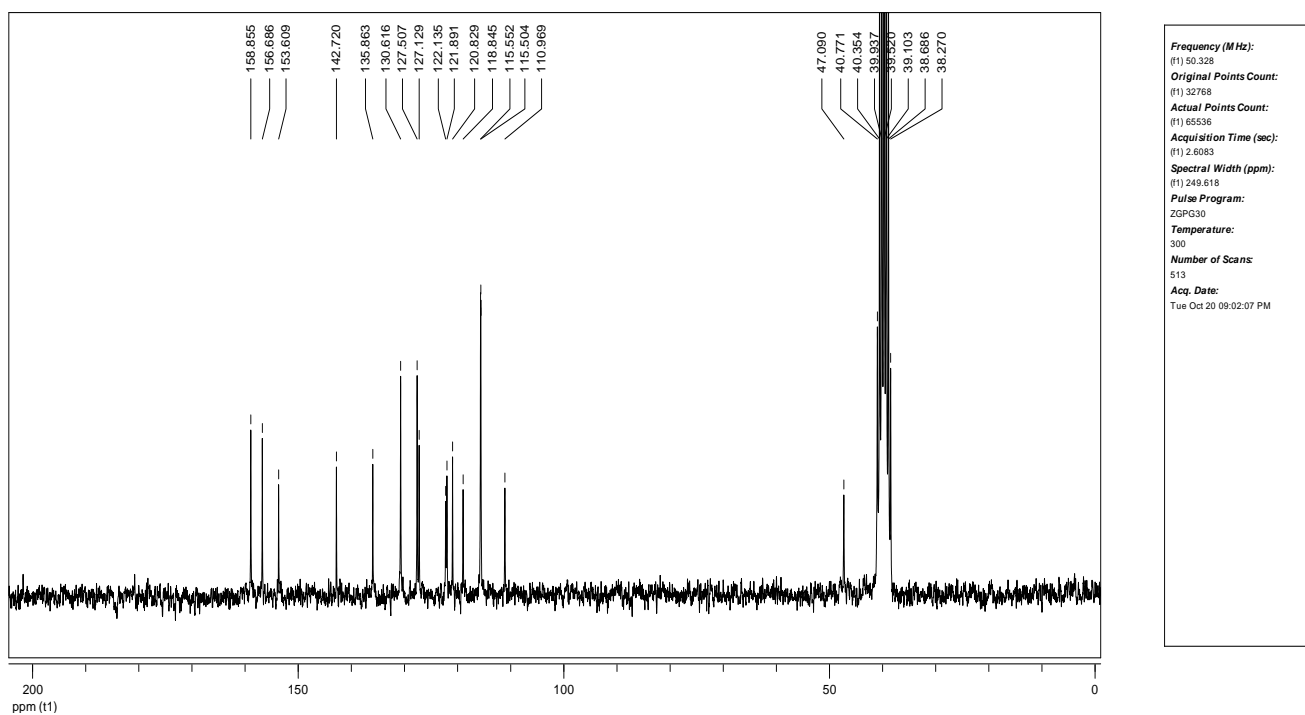


Figura 5.6: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 3a.

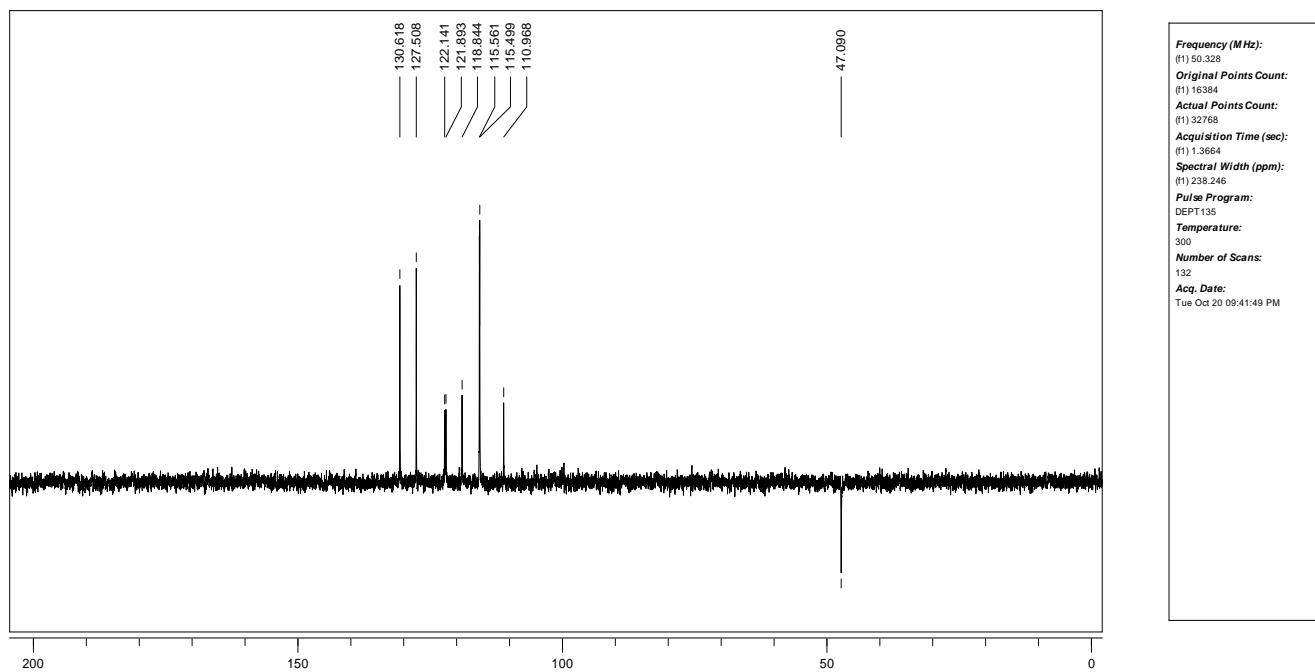
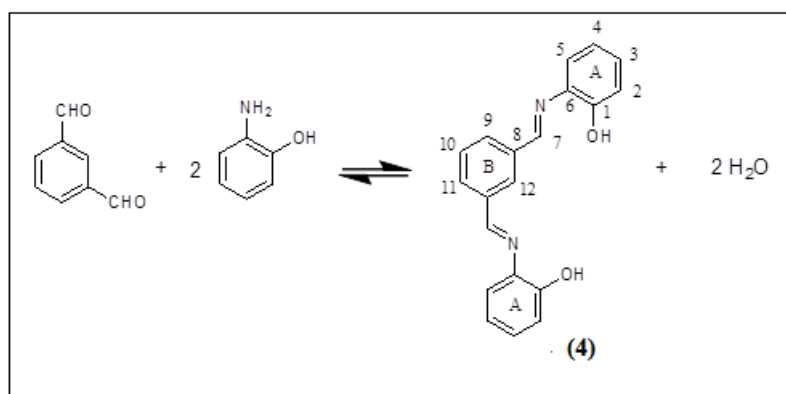


Figura 5.7: Subespectro de DEPT do composto 3a.

N,N'-bis(2-hidroxibenzeno) isoftaldiimina (4)



Esquema 5.4: Síntese do *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno) isoftaldiimina (4).

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 2-hidroxianilina (490 mg, 4,5 mmol), adicionou-se 8 mL de etanol sob agitação magnética e o sistema foi mantido sob refluxo. Adicionou-se aos poucos isoftalaldeído (300 mg, 2,2 mmol) dissolvido em 2 mL de etanol. Após 5 horas, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O etanol foi removido a pressão reduzida até a metade do volume inicial com o auxílio de um rota-evaporador. A solução foi colocada na geladeira e, após 8 horas formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado a vácuo, com 76% de rendimento (296 mg; 0,934 mmol). O ponto de fusão (PF) foi de 151-152 °C.

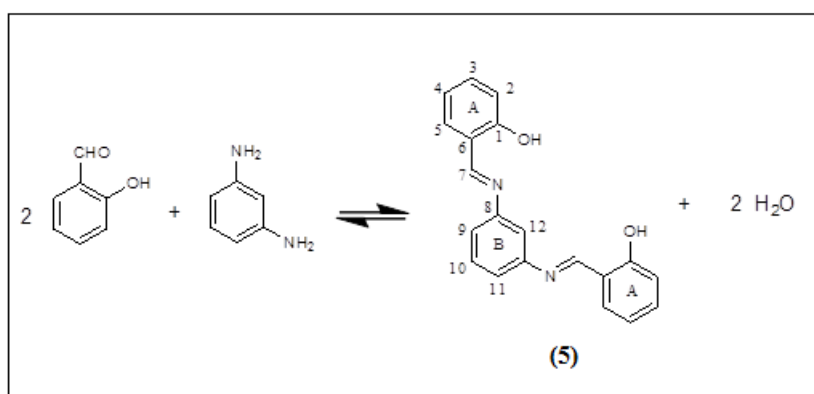
Dados espectroscópicos do composto 4

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,97-6,83 (m, 4H); 7,12 (t, 2H, 7,5); 7,26 (d, 2H, 7,4); 7,64 (t, 1H, 7,6); 8,18 (d, 2H, 7,6); 8,68 (s, 1H); 8,80 (s, 2H); 9,14 (s, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 116,22 (C-2); 119,31 (C-4); 119,68 (C-5); 127,78 (C-3); 129,18 (C-12); 131,48 (C-9 e C-11); 136,91 (C-8); 137,74 (C-6); 151,40 (C-1); 158,76 (C-7).

A discussão sobre os dados de RMN do composto 4 é muito semelhante àquela conduzida para o composto 1. Por esse motivo, uma exposição detalhada sobre esses dados espectroscópicos não será aqui realizada.

N,N'-bis[(2-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 3-fenilenodiamina] (5)



Esquema 5.5: Síntese do *N,N'*-bis[(2-hidroxibenzilideno) benzeno-1, 3-fenilenodiamina] (5).

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, contendo 2-hidroxibenzaldeído (2,26 g; 18,52 mmol), adicionou-se 30 mL de tolueno anidro sob agitação magnética vigorosa, e o sistema foi mantido sob refluxo. Após a total solubilização, adicionou-se 1,3-fenilenodiamina (1,0 g; 9,26 mmol). Depois de 9,0 hrs, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O tolueno foi removido a pressão reduzida com o auxílio de um rota-evaporador. O produto formado foi ressuscitado com metanol gelado e filtrado, fornecendo um sólido amarelo com 88% de rendimento (2,63 g; 8,3 mmol). O ponto de fusão (PF) foi de 108-110 °C.

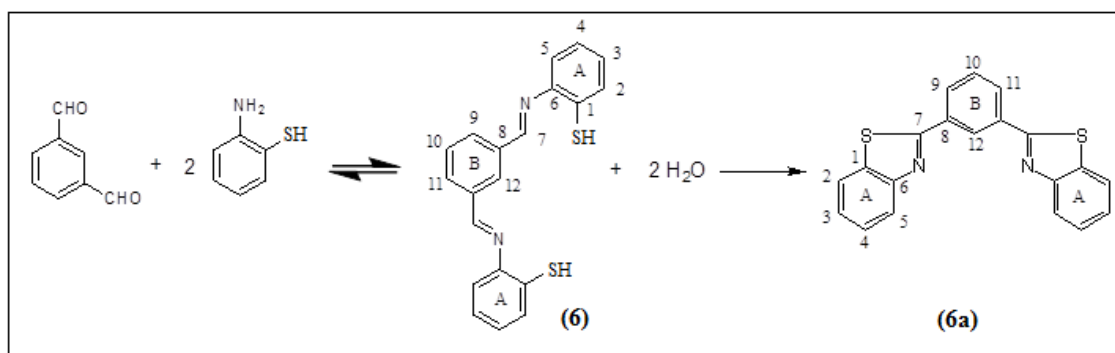
Dados espectroscópicos do composto 5

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,93 (td, 2H, 7,6 e 0,8); 7,02 (d, 2H, 8,0); 7.17-7.13 (m, 3H); 7,39-7,34 (m, 4H); 7,43 (t, 1H, 7,8); 8,61 (s, 2H); 13,08 (s, 2H)

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , atribuição): 114,05 (C-2); 117,23 (C-12); 119,03 (C-6); 119,17 (C-9 ou C-11); 119,59 (C-4); 130,21 (C-5); 132,53 (C-10); 133,40 (C-3); 149,38 (C-8); 161,12 (C-1); 163,17 (C-7).

A discussão sobre os dados de RMN do composto 5 é muito semelhante àquela conduzida para o composto 1. Por esse motivo, uma exposição detalhada sobre esses dados espectroscópicos não será realizada aqui.

Tentativa de síntese do *N,N'*-bis[(2-tiobenzilideno) benzeno-1, 3-fenilenodiamina] (6)



Esquema 5.6: Síntese proposta para o bis(*m*-hidroxi-benzaldeído)-*o*-tio-aminofenol (6) e a suposta formação do produto 6a.

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo isoftalaldeído (400,0 mg; 3,0 mmol), adicionou-se 30 mL de tolueno sob agitação magnética e o sistema foi mantido sob refluxo. Após a total solubilização, adicionou-se 2-aminotiofenol (0,64 mL; 6,0 mmol). A mistura foi refluxada por 17hrs e, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O tolueno foi removido a pressão reduzida com o auxílio de um evaporador rotativo. O produto formado foi lavado com acetato de etila e filtrado, fornecendo um sólido branco com 20% de rendimento. O ponto de fusão (PF) foi de 182-183 °C.

Dados espectroscópicos do composto 6a

RMN de ^1H (200 MHz; CDCl_3 , δ_{H} , multiplicidade, integração, $J(\text{Hz})$): 8,73 (1H, s, H-12); 8,15-8,06 (4H, m, H-5, H-9); 7,88 (2H, d, $J^3=7,8$; H-2); 7,56-7,32 (5H, m, H-3, H-4, H-10).

Para a síntese do composto *N,N'*-bis[(2-tiobenzilideno) benzeno-1, 3-fenilenodiamina] (**6**) (Esquema 5.6), utilizou-se um procedimento semelhante àqueles descritos para a obtenção dos compostos **1** e **2**. Porém, após a caracterização através de RMN de ^1H (Figura 5.8), ^{13}C (figura 5.9) e DEPT 135 (figura 5.10), não foi possível confirmar a formação do produto desejado (**6**). No espectro de RMN ^1H (200 MHz) (Figura 5.8) observou-se a presença de um simpleto em δ 8,73, integrando para um hidrogênio, e esse sinal não era compatível com a estrutura esperada de **6** que deveria apresentar um sinal nessa região integrando para 2 átomos de hidrogênio, equivalentes a hidrogênio das imina. Também verificou-se a ausência dos sinais relativos ao S-H assim como a integração mostrou a presença de apenas 12 átomos de hidrogênio, incompatível com a estrutura **6**, que deveria apresentar 16 átomos de hidrogênio. Com base nestes dados propôs-se, então, a estrutura **6a** para este composto (Esquema 5.6).

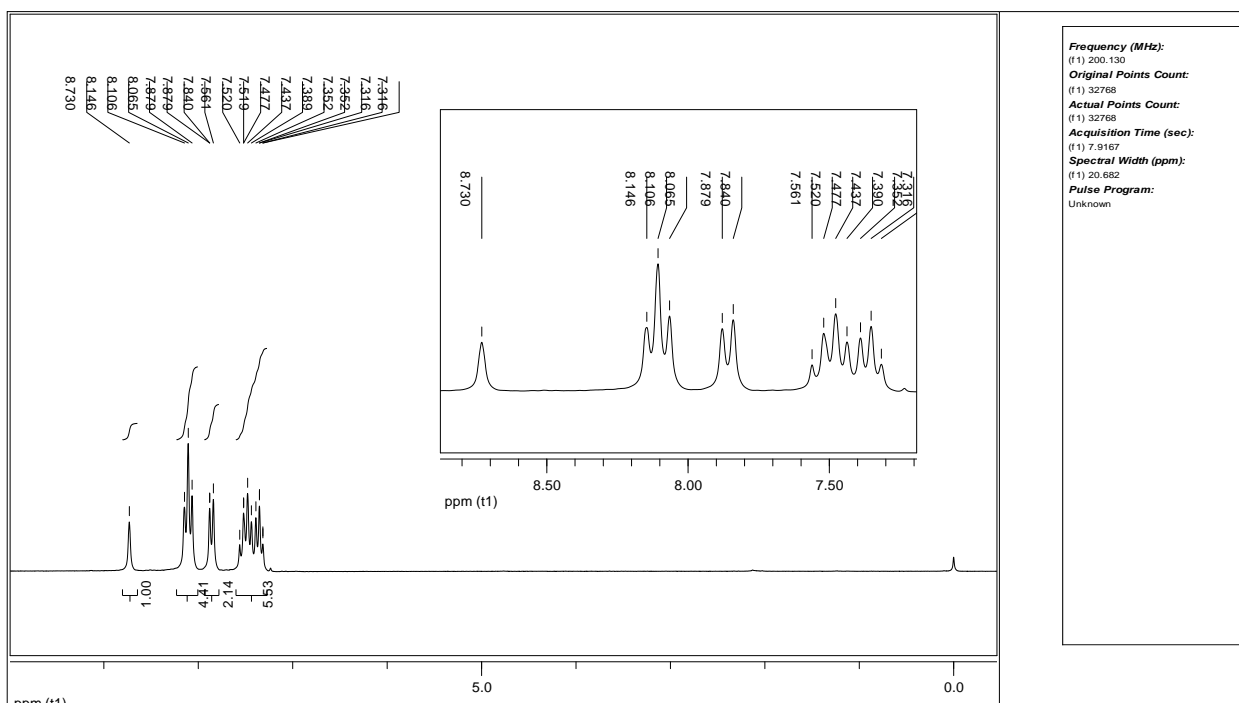


Figura 5.8: Espectro de RMN de ^1H do composto 6a em CDCl_3

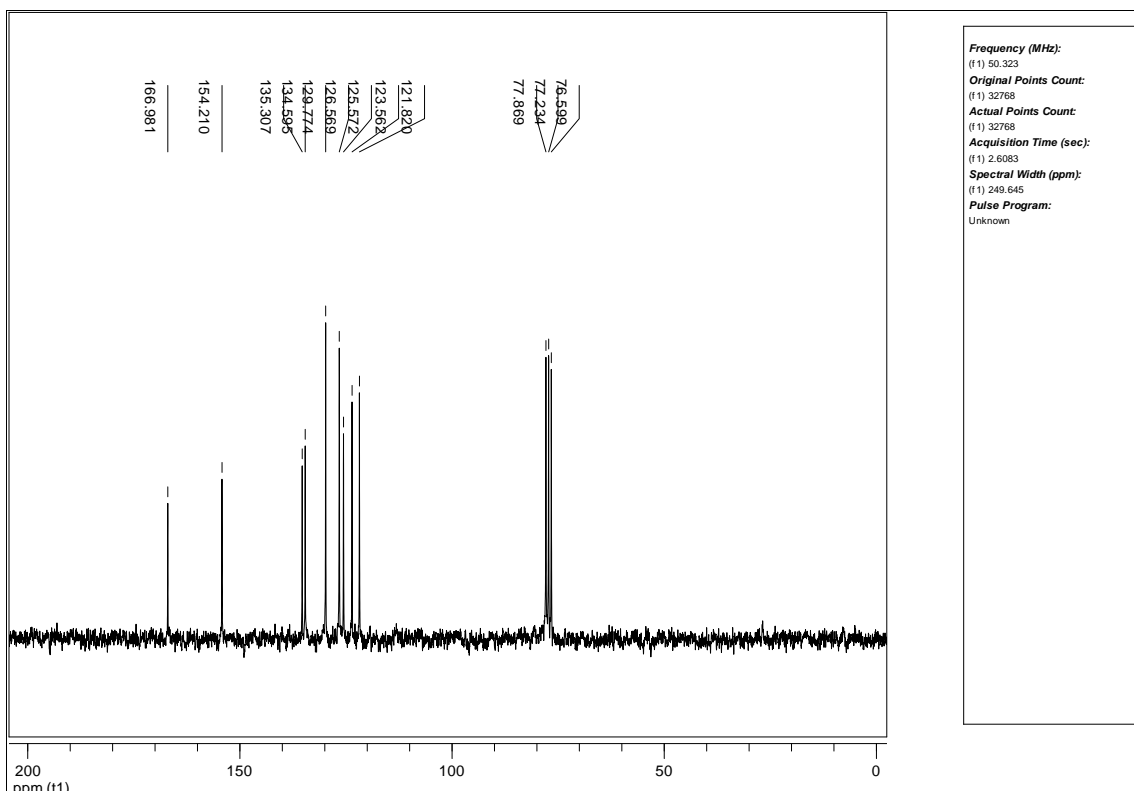


Figura 5.9: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 6a em CDCl_3

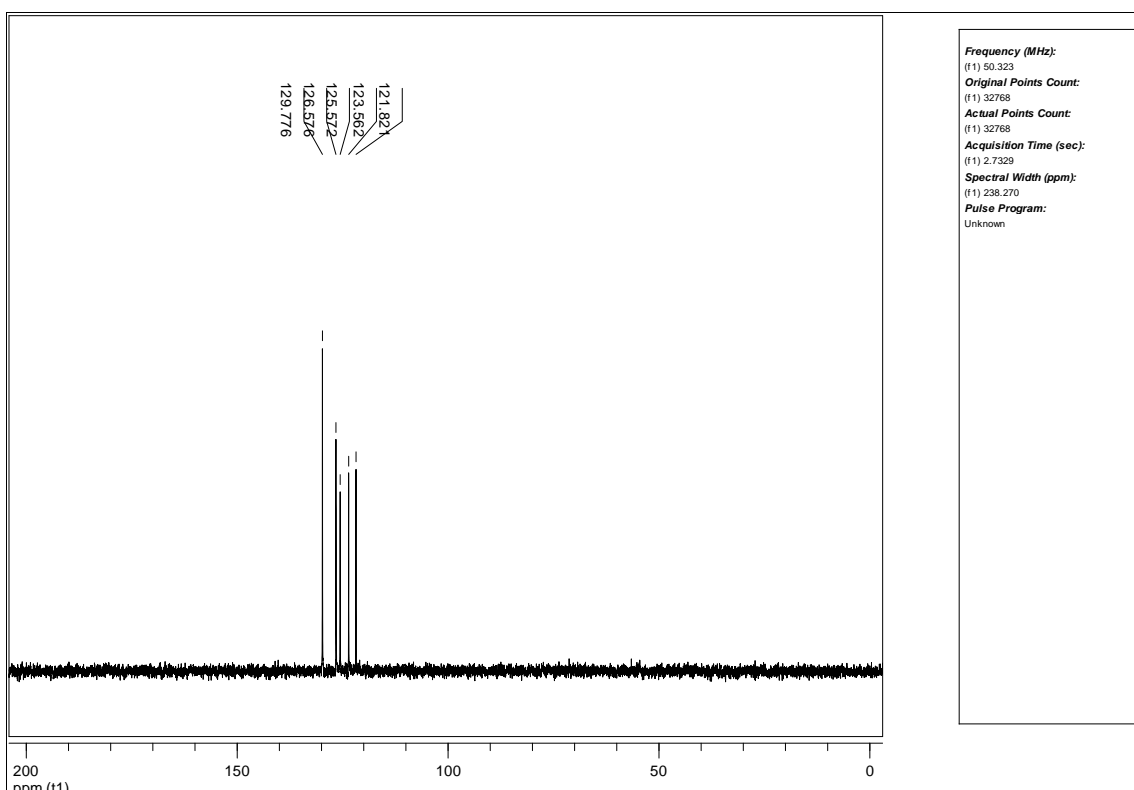


Figura 5.10: Subespectro de DEPT do composto 6a em CDCl_3

A intenção inicial foi sintetizar o ligante **6**, o análogo sulfurado de **1**. No entanto, como indicado pelos dados de RMN (e também pelos dados do ESI-MS como será mostrado adiante), o composto **6** converteu-se em **6a** (Esquema 5.6).

5.4 Resultados e discussão

Complexação dos ligantes 1, 2, 4, 5 com os cátions metálicos Pb^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+}

Um dos objetivos propostos inicialmente para este trabalho seria utilizar a técnica ESI-MS para verificar a capacidade de complexação de alguns metais pesados (Pb^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+}) pelos ligantes sintetizados (**1**, **2**, **4**, **5**), visando uma possível aplicação ambiental. Para facilitar a visualização, as estruturas de tais ligantes, bem como as estruturas dos produtos derivados **3a** e **6a**, são mostradas na Figura 5.11.

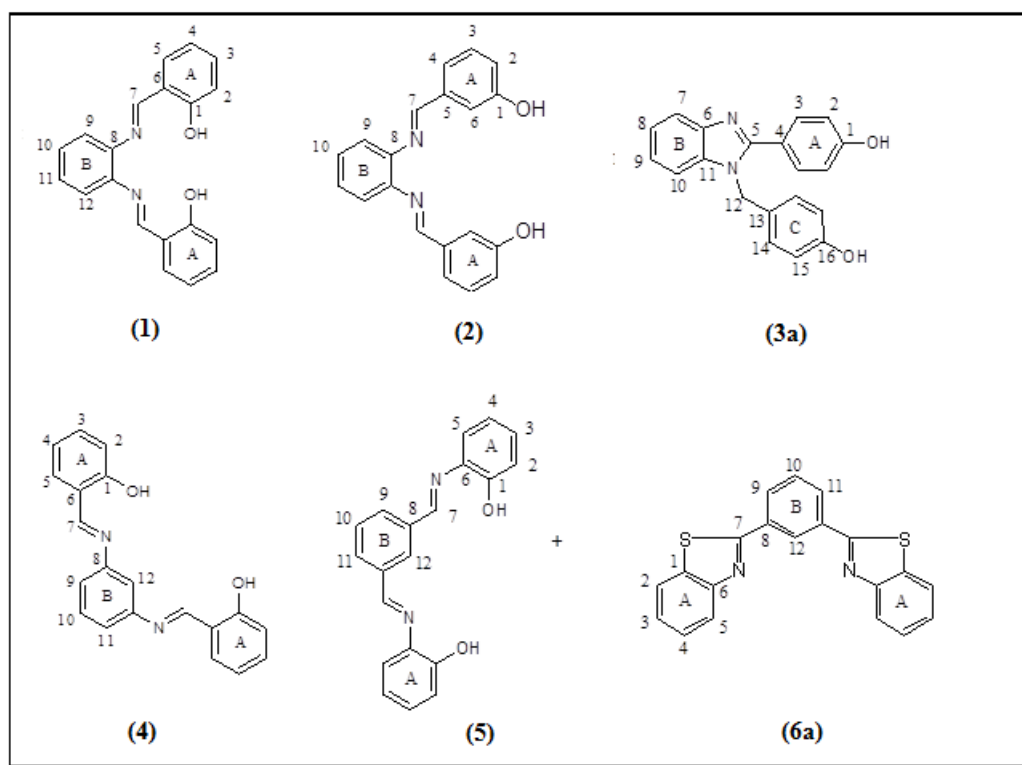


Figura 5.11: Estruturas dos ligantes de Salen (**1**, **2**, **4** e **5** e dos produtos derivados **3a** e **6a**) sintetizados.

Na condução do trabalho percebeu-se que tais ligantes (**1**, **2**, **4**, **5**) não foram eficientes para complexar os cátions metálicos (ou, menos provável, houve a formação de complexos neutros que não puderam ser detectados nos espectros ESI-MS). Deste modo, os espectros ESI-MS, mostrados nas Figuras 5.12 a 5.14, não revelaram a presença significativa dos complexos esperados. Perfis semelhantes foram observados nos demais espectros de ESI-MS, envolvendo todas as combinações possíveis entre os três cátions (Pb^{2+} , Cd^{2+} e Hg^{2+}) e os quatro ligantes avaliados (**1**, **2**, **4**, **5**).

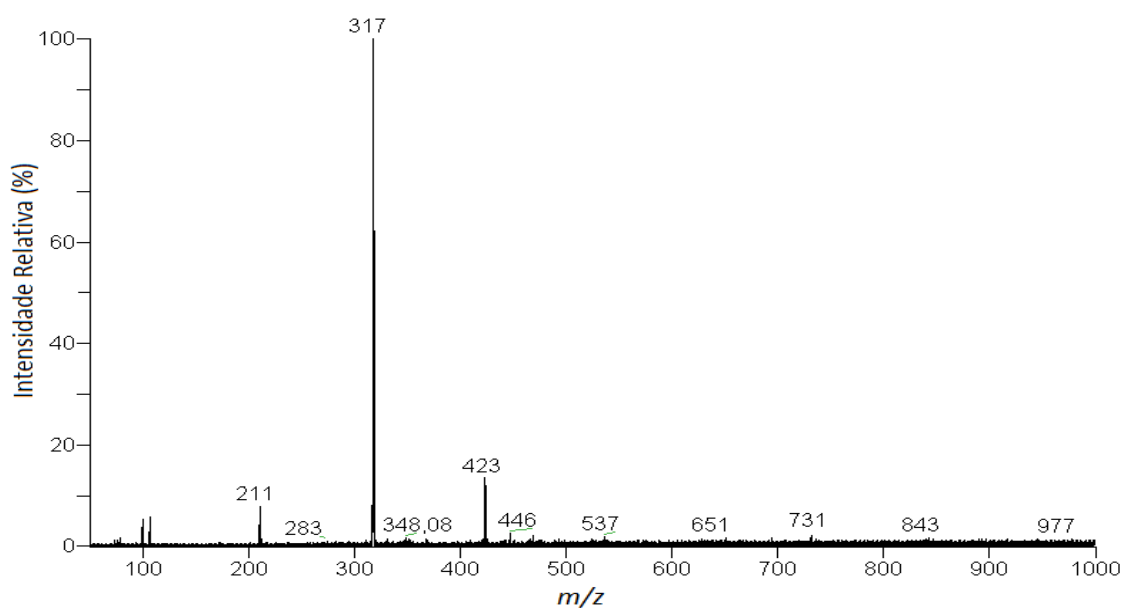


Figura 5.12: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir de uma solução (em água-metanol 1:1 v/v) contendo o composto **2** ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e nitrato de chumbo ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

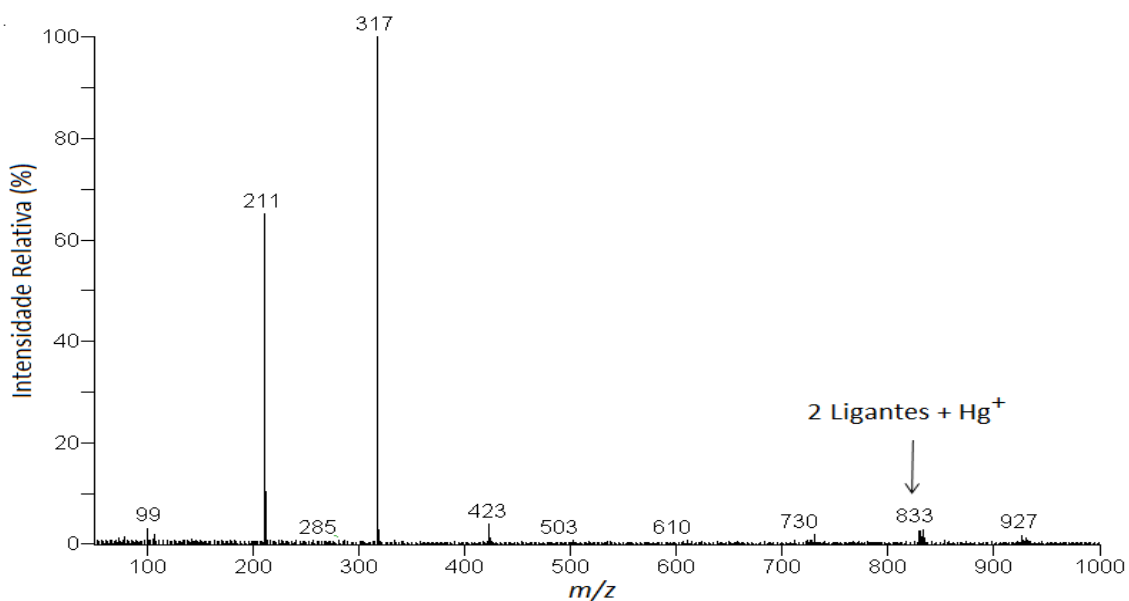


Figura 5.13: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir de uma solução (em água-metanol 1:1 v/v) contendo o composto **1** ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e cloreto de mercúrio II ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

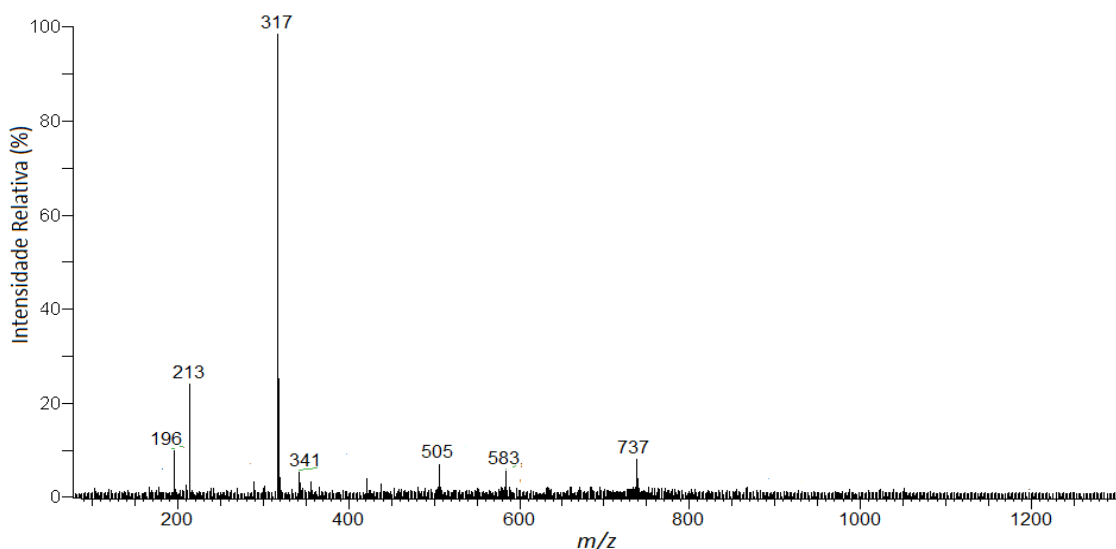


Figura 5.14: Espectro ESI(+)-MS obtido a partir de uma solução (em água-metanol 1:1 v/v) contendo o composto **4** ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e nitrato de cádmio ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

Obtenção dos perfis de fragmentação das formas protonadas dos compostos 1, 2, 3a, 4, e 5: a influência da posição dos substituintes

Tendo como base tais resultados e, também, levando-se em consideração que os ligantes do tipo Salofen são de grande interesse para o nosso grupo de pesquisa, resolveu-se realizar um trabalho sistemático voltado para a obtenção dos perfis de fragmentação das formas protonadas das moléculas isoméricas **1**, **2**, **4**, **5** e também do composto cíclico **3a**. De posse desses dados pretendia-se propor uma maneira rápida e confiável para a diferenciação dos vários isômeros. Por último, mas não menos importante, deve-se ressaltar que existem poucos trabalhos na literatura sobre a diferenciação de isômeros por ESI-MS/MS.⁶⁴

Assim, os compostos isoméricos **1** e **2** diferem entre si pela posição das hidroxilas ligadas aos anéis A (localizadas em *orto* e *meta* em relação ao substituinte imina, respectivamente). Como explicado anteriormente, o composto cíclico **3a**, também isômero de **1** e **2**, foi originado a partir do composto **3**, este último contendo as hidroxilas nas posições *para* dos anéis A. Os compostos **4** e **5** são distintos dos anteriores devido à posição em *meta* ocupada pelos substituintes imina no anel central (B), como mostrado na Figura 5.11 (página 75). Ambos os compostos (**4** e **5**) diferem entre si pela forma como os substituintes imina são ligados ao anel B (pelo N e C,

respectivamente) e, também, devido às posições distintas ocupadas pelos substituintes hidroxila nos anéis A.

Assim, o espectro ESI(+)-MS do composto **1** (Figura 5.15) mostrou a presença predominante do íon de m/z 317, relativo à forma protonada de **1**, $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$. Espectros de ESI(+)-MS foram obtidos para os outros compostos (**2**, **3a**, **4**, e **5**) e, em todos os casos, observou-se a presença predominante de $[\text{M} + \text{H}]^+$. As espécies protonadas foram, então, selecionadas e fragmentadas.

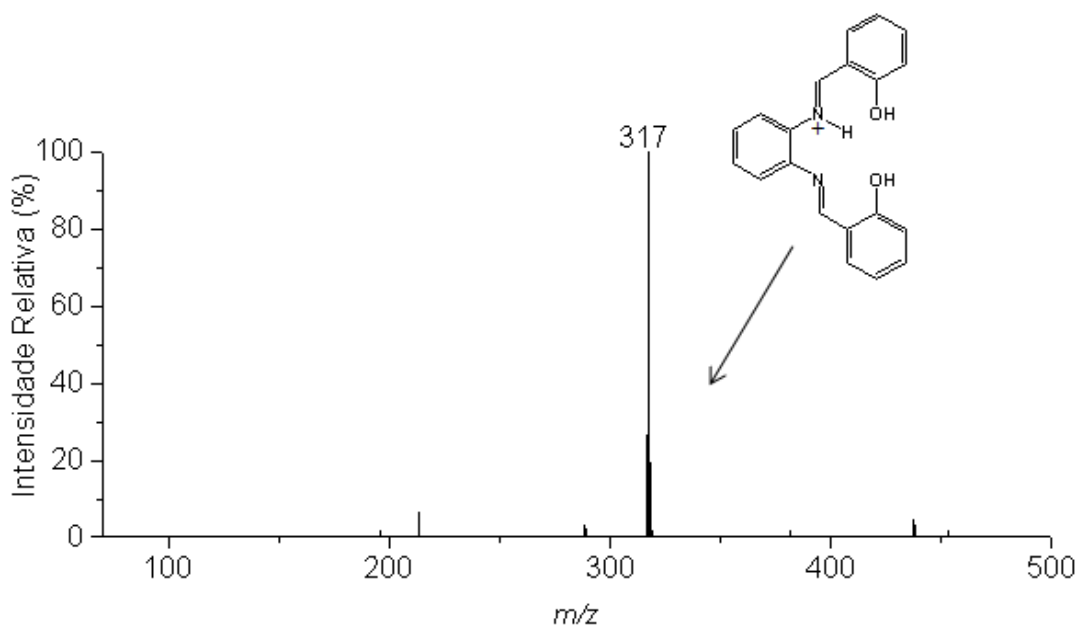


Figura 5.15: Espectro ESI(+)-MS obtido a para o composto **1**.

A fragmentação da espécie $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$, espectro MS/MS mostrado na Figura 5.16, levou à formação exclusiva do íon de m/z 211, através da perda de uma molécula de 6-metileno-2,4-ciclohexadien-1-ona (106 Da). A proposta de fragmentação de $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$ encontra-se descrita no Esquema 5.7. O íon de m/z 211 apresenta um sistema π conjugado extenso, o que lhe confere elevada estabilidade explicando, assim, sua presença exclusiva no processo de fragmentação de $[\mathbf{1} + \text{H}]^+$.

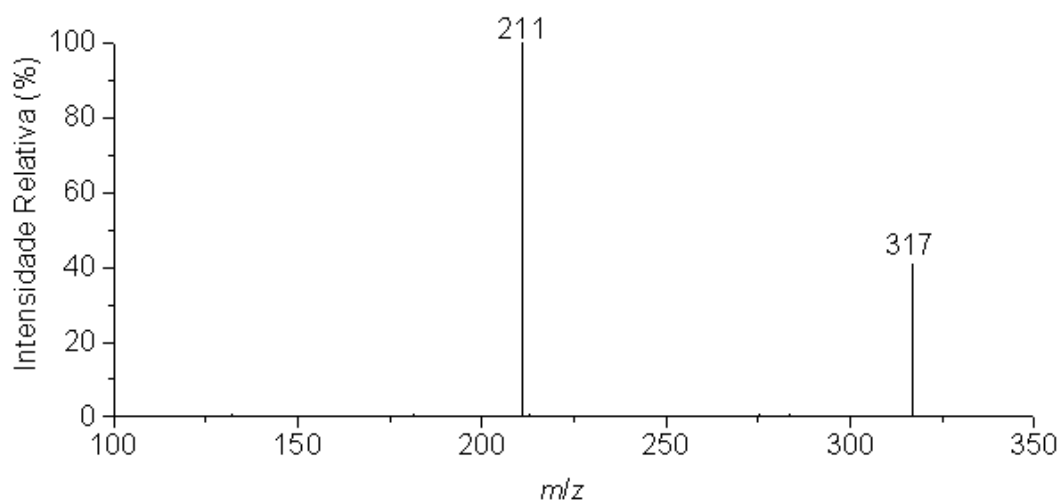
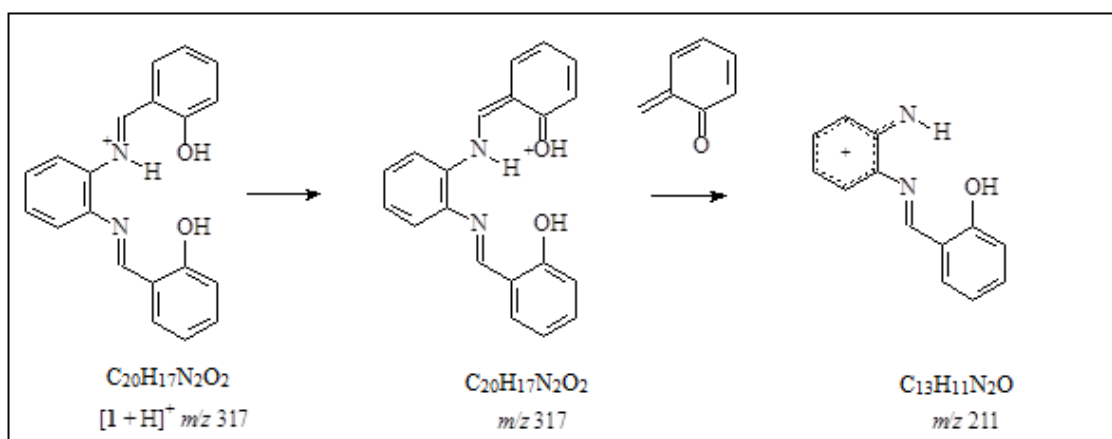


Figura 5.16: Espectro MS/MS do íon de m/z 317 referente à espécie $[1 + H]^+$.



Esquema 5.7: Proposta de fragmentação para o íon $[1 + H]^+$ de m/z 317.

O espectro MS/MS da espécie $[2 + H]^+$ (Figura 5.17) revela, além da presença predominante do íon de m/z 223 (referente à perda de uma molécula de fenol- 94 Da), os íons de m/z 211 e de m/z 107 (cátion 3-hidroxi-fenil-metilium). A proposta de fragmentação para este íon encontra-se detalhadamente descrita no Esquema 5.8. A força motriz para este processo de fragmentação provavelmente deve estar relacionada à formação dos três íons-produto, os quais são altamente estabilizados por ressonância.

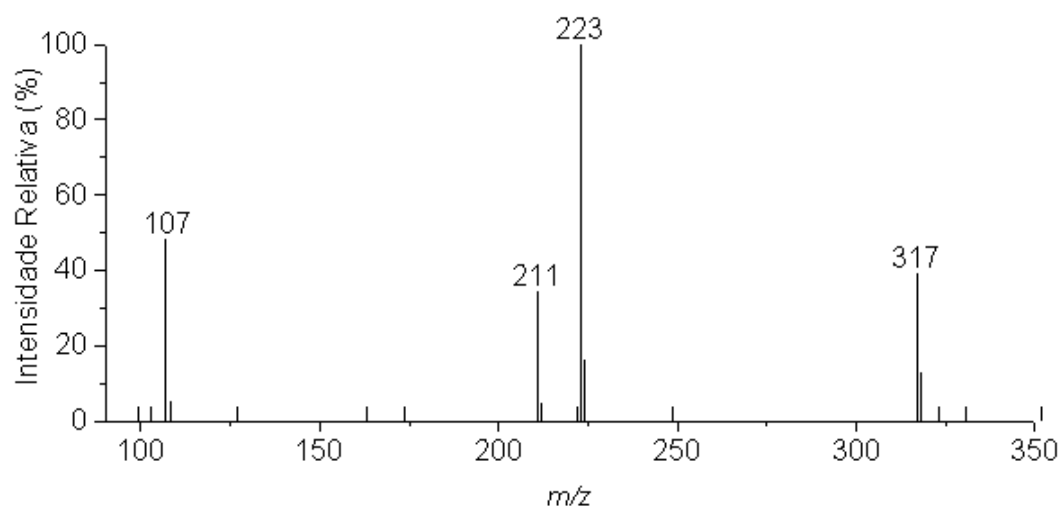
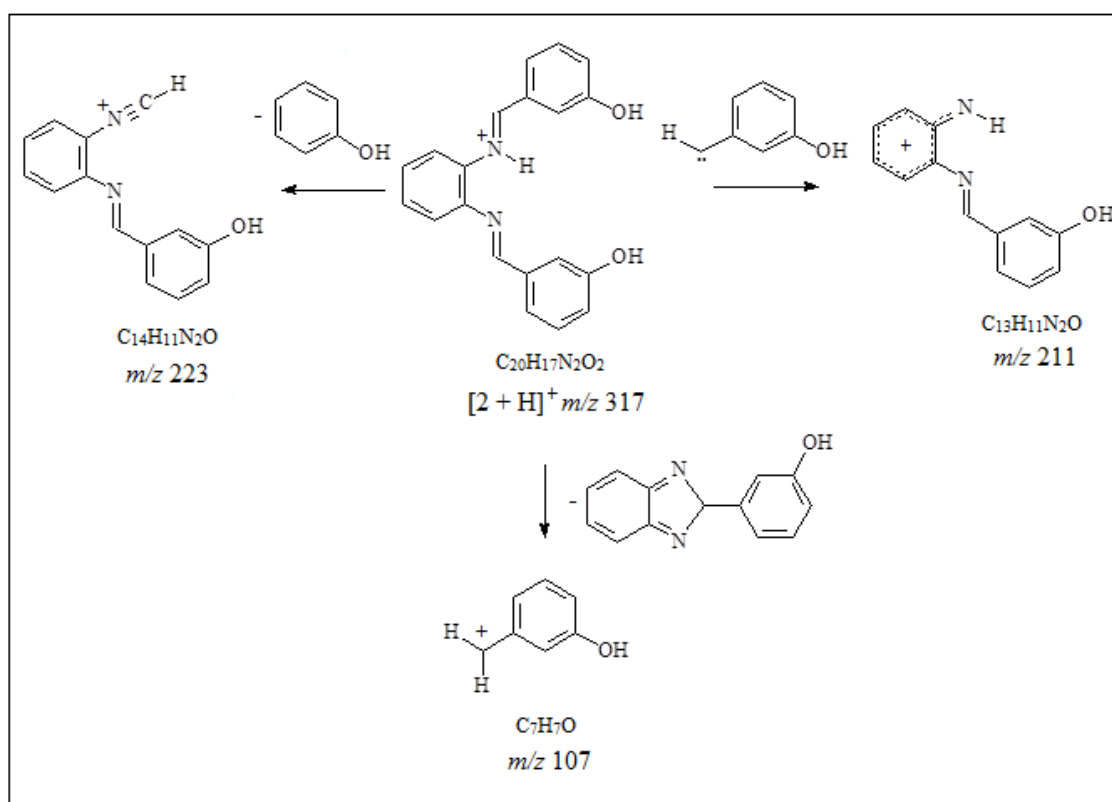


Figura 5.17: Espectro MS/MS do íon de m/z 317 referente à espécie $[2 + H]^+$.



Esquema 5.8: Proposta de fragmentação para o íon $[2 + H]^+$ de m/z 317.

Observando esses dados pode-se notar uma clara diferença entre o perfil de fragmentação de $[1 + H]^+$ em relação a seu isômero $[2 + H]^+$, o que demonstra uma diferenciação inequívoca entre ambos.

O espectro MS/MS da espécie cíclica $[3a + H]^+$, isomérica de $[1 + H]^+$ e $[2 + H]^+$, é mostrado na Figura 5.18. A fragmentação desta espécie gerou, exclusivamente, um íon de m/z 211. Note que o perfil de fragmentação para o íon $[3a + H]^+$ é muito semelhante àquele observado para $[1 + H]^+$. Uma proposta de fragmentação para esta espécie é fornecida no Esquema 5.9.

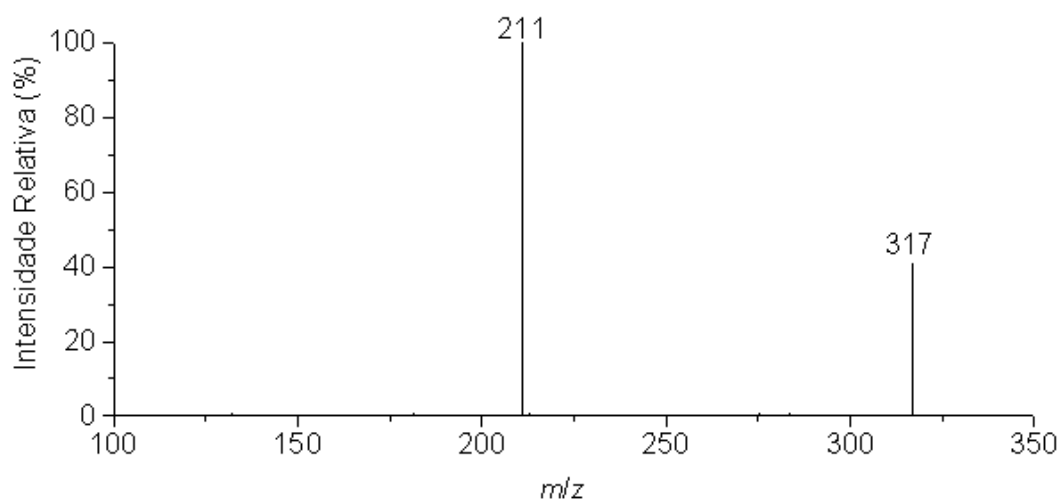
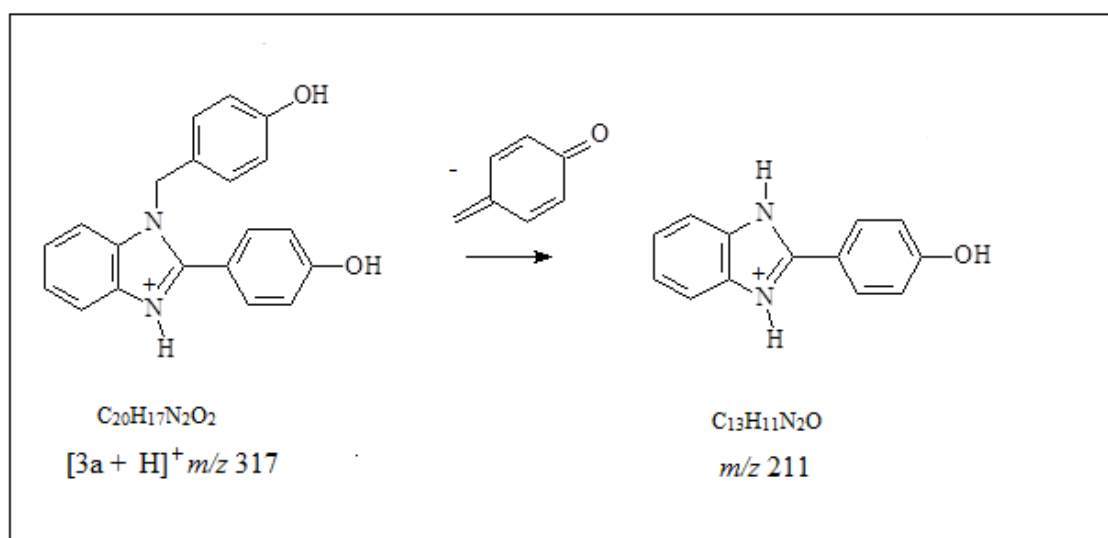


Figura 5.18: Espectro MS/MS do íon de m/z 317 referente à espécie $[3a + H]^+$.



Esquema 5.9: Proposta de fragmentação para o íon $[3a + H]^+$ de m/z 317.

A Figura 5.19 mostra o espectro MS/MS da espécie $[4 + H]^+$. Em oposição ao verificado nos três casos anteriores (Figuras 5.16- 5.18), a fragmentação deste íon não

produziu um íon de m/z 211. A principal rota de fragmentação envolveu a formação predominante de um íon de m/z 299, uma espécie contendo um anel de quatro membros e originada pela perda de H_2O do íon precursor $[4 + H]^+$, além de um outro íon de m/z 107 (o cátion 2-hidroxifenil-metilium). Uma proposta para tais canais de fragmentação encontra-se descrita no Esquema 5.10

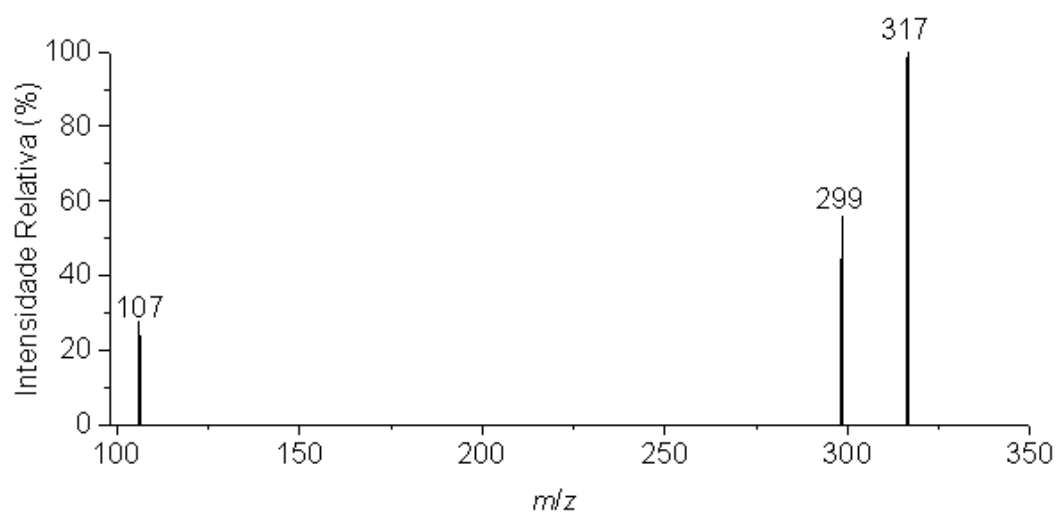
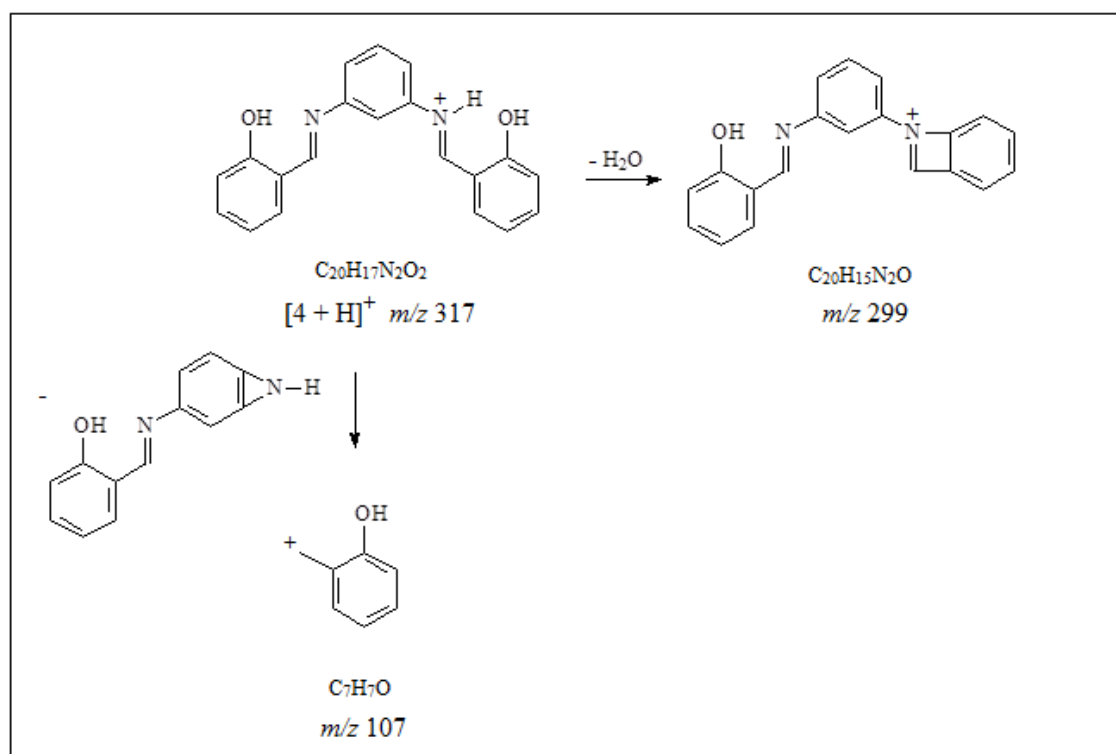


Figura 5.19: Espectro de ESI-MS/MS para o íon $[4 + H]^+$ de m/z 317.



Esquema 5.10: Proposta de fragmentação para o íon $[4 + H]^+$ de m/z 317.

A Figura 5.20 mostra o espectro MS/MS do íon de m/z 317, a forma protonada do composto **5**. É possível notar os íons de m/z 223 (formado pela perda de fenol), 198 e 120, apresentando assim um perfil de fragmentação completamente diferente dos anteriores. A proposta de fragmentação encontra-se descrita no Esquema 5.11. Diferentemente do exemplo anterior, neste caso não se observa fragmentos originários a partir de perda de uma molécula de água.

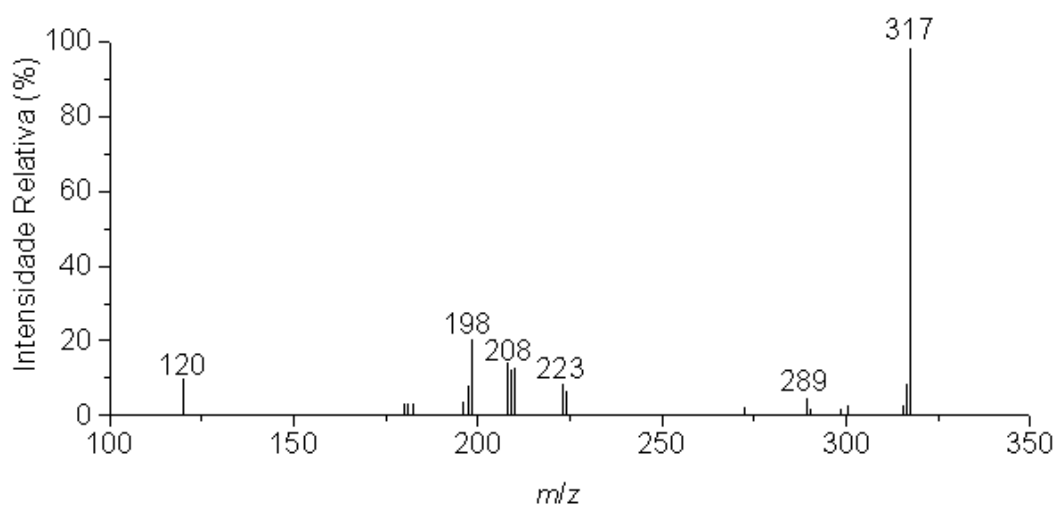
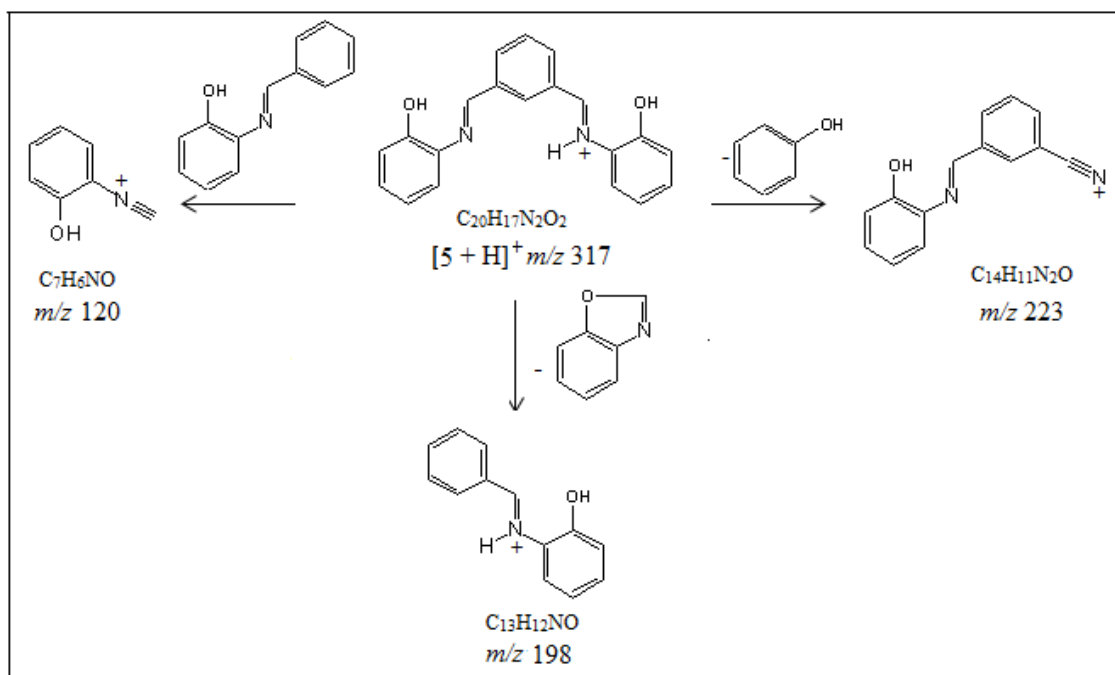


Figura 5.20: Espectro de ESI-MS/MS para o íon $[5 + H]^+$ de m/z 317



Esquema 5.11: Proposta de fragmentação para o íon $[5 + H]^+$ de m/z 317.

A partir desses dados, pode-se concluir que a fragmentação das formas protonadas dos isômeros **1**, **2**, **4** e **5** ocorreu por caminhos distintos, com exceção de $[1 + H]^+$ e $[3a + H]^+$ que, surpreendentemente, geraram perfis quase que idênticos. Estas diferenças nos caminhos de fragmentação foram, certamente, induzidas pelas diferentes posições ocupadas tanto pelos grupos hidroxila quanto pelos átomos de nitrogênio nas moléculas.

O caso da molécula sulfurada 6a: evidências estruturais fornecidas pelos espectros ESI(+)-MS e MS/MS

O estudo com o composto **6** (Esquema 5.6), o análogo sulfurado de **5**, visava verificar a influência do grupo SH (em substituição ao grupo OH) tanto na capacidade de complexação com os metais pesados quanto no perfil de fragmentação. O insucesso desta síntese, com a provável obtenção do composto cíclico **6a** como discutido anteriormente, levou a avaliar o perfil de fragmentação da forma protonada deste último, $[6a + H]^+$.

A Figura 5.21 mostra o espectro ESI(+)-MS do composto **6a**, onde se observa a presença predominante do íon de m/z 345 relativo à $[6a + H]^+$. Note que em relação à espécie $[6 + H]^+$, de m/z 349, houve um decréscimo de 4 Da referente à perda de duas moléculas de H_2 . Este resultado, portanto, corrobora com os dados provenientes de RMN e sugere a ciclização proposta no Esquema 5.6. Desde que o mecanismo para tal transformação ainda não está totalmente esclarecido, estudos adicionais, experimentais e teóricos, são necessários para que uma proposta mecanística consistente possa ser formulada. Finalmente, o íon $[6a + H]^+$ foi selecionado e fragmentado por CID. No entanto, esta espécie manteve-se resistente à fragmentação mesmo com o aumento da energia de colisão (espectro MS/MS não mostrado). Este dado também está consistente com a estrutura rígida proposta para a molécula **6a**.

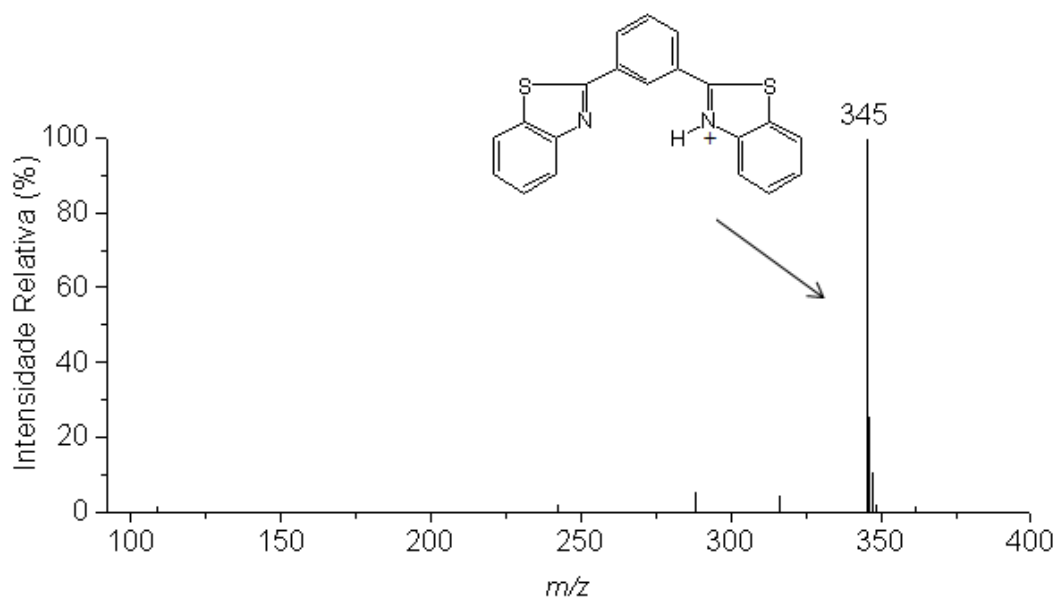


Figura 5.21: Espectro ESI(+)-MS obtido para o composto **6a**.

5.5 Conclusão

Apesar do objetivo inicial do trabalho, ou seja, a avaliação da complexação de alguns cátions de metais pesados com os ligantes sintetizados, não ter sido alcançado, o estudo do padrão de fragmentação das formas protonadas desses isômeros (através de experimentos MS/MS) revelou que é possível diferenciá-los. Tais diferenças nos caminhos preferenciais de fragmentação foram causadas pelos modos distintos como os substituintes (grupos imino e hidroxila) estão conectados nos anéis benzênicos de suas estruturas. Tal estudo também se reveste de importância, pois poucas investigações têm sido relatadas na literatura sobre este tema. Finalmente, dados obtidos por ESI-MS e MS/MS contribuíram para esclarecer a estrutura do produto sulfurado **6a** formado pela ciclização oxidativa do precursor **6**.

6 Conclusão Geral

A espectrometria de massas com ionização por electrospray foi aplicada com sucesso na investigação do mecanismo de duas reações orgânicas (Reação de Zincke e Reação de Aza Diels Alder). Nesses estudos foram possíveis à identificação de vários intermediários importantes, alguns detectados pela primeira vez, mostrando o potencial dessa técnica para o estudo de mecanismos de reações orgânicas. Foi possível também aplicar com sucesso essa técnica no estudo de fragmentação de *bis*-hidroxiiminas aromáticas isoméricas, sendo essa última aplicação de grande importância para a investigação estrutural de substâncias orgânicas, principalmente para essa classe de compostos, que não possui estudo semelhante na literatura química, através de espectrometria de massas com ionização por electrospray.

Referências Bibliográficas

- ¹ Cabrini, G. L. Aplicação de Espectrometria de Massas e Ressonância Magnética Nuclear na detecção e caracterização de intermediários chave de reações orgânicas. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, **2007**
- ² Schalley C. A., *Int. J. Mass Spectrom.*, **2000**, 194, 11.
- ³ Hoffman, E; Stroobant, V. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. Chichester: John Wiley & Sons Chichester, UK. Third Edition. **2007**.
- ⁴ (a) C.M. Whitehouse, R.N. Dreyer, M. Yamashita, J.B. Fenn, *Anal. Chem.* **57**, **1985** 675; (b) J.B. Fenn, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **4**, **1993**, 524.
- ⁵ Pavanelli, S.P. Degradação de Corantes da Indústria Alimentícia por Processos Oxidativos e Redutivos: Monitoramento por Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray (ESI-MS). Tese de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, **2010**.
- ⁶ Dalmázio, I. Aplicação da Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray no Monitoramento de Processos Oxidativos Avançados de Interesse Ambiental: Degradação de Fármacos, Avaliação de Sistemas Oxidativos e Oxidação do Isopreno. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, **2007**.
- ⁷ LC-MS technical introduction, *Waters*.
- ⁸ Adaptação da figura do site: <http://hea-www.harvard.edu/HRC/mcp/mcp.html>
- ⁹ Dole, M., L. L. Mack, et al. Molecular Beams of Macroions. *Journal of Chemical Physics*, v.49,n.5, p.2240-2249. **1968**.
- ¹⁰ Loo, J. A. *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, 200, 175-186.
- ¹¹ Heck, A. J. R.; Van den Heuvel, R. H. H. *Mass Spectrom. Rev.* **2004**, **23**, 368-389.
- ¹² S.J. Gaskell, *J. Mass Spectrom.* **32**, **1997**, 677.
- ¹³ P. Kebarle, Y. Ho, in: R.B. Cole (Ed.), *Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, Wiley, New York, **1997**, pp. 3–63.
- ¹⁴ Adaptação da figura do site: <http://www.chm.bris.ac.uk/ms/newversion/esi-ionisation.htm>
- ¹⁵ Araujo, A. S. Análise e Tipificação de Diferentes Amostras de Cervejas Através de Espectrometria de Massas por Ionização Electrospray. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, **2005**
- ¹⁶ Dole, M., L. L. Mack, et al. Molecular beams of Macroions. *Journal of Chemical Physics*, v.49, n.5, p. 2240-2249, **1968**.

-
- ¹⁷ Kitson, F. G., B. S. Larsen, et al. Gas Chromatography- Mass Spectrometry: a practical guide, San Diego, Academic Press. **1996**, 369.
- ¹⁸ (a) G.J. Van Berkel, S.A. McLuckey, G.L. Glish, *Anal. Chem.* **64**, **1992**, 1586; (b) X.M. Xu, S.P. Nolan, R.B. Cole, *Anal. Chem.* **66**, **1994**, 119.
- ¹⁹ (a) D.B. Robb, T.R. Covey, A.P. Bruins, *Anal. Chem.* **72**, **2000**, 3653; (b) T.J. Kauppila, T. Kuuranne, E.C. Meurer, M.N. Eberlin, T. Kotiaho, R. Kostianen, *Anal. Chem.* **74**, **2002**, 5470.
- ²⁰ Fabris, D. *Mass Spectrometry Rev.* **2005**, **24**, 30.
- ²¹ (a) Hinderling, C.; Adlhart, C.; Chen, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, **37**, 2685. b) Adlhart, C.; Hinderling, C.; Baumann, H.; Chen, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, **122**, 8204. (c) Adlhart, C.; volland, M. A. O.; Holfmann, P.; Chen, P. *Helv. Chim. Acta* **2000**, **83**, 3306.
- ²² Feichtinger, D.; Pattner, D. A.; Chen, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, **120**, 7125.
- ²³ Baylis, A. B.; Hillman, M. E. D.; German Patent 2155113, **1972**, *Chem, Abst.* **1972**, **77** 34174.
- ²⁴ Santos, L. S.; Pavam, C. H.; Almeida, W. P.; Coelho, F.; Eberlin, M. N. *Angew.Chem. Inter. Ed.* **2004**, **43**, 4330.
- ²⁵ Raminelli, C.; Pechtl, M. H. G.; Santos, L. S.; Eberlin, M. N.; Comasseto, J. V. *Organometallics* **2004**, **23**, 3990.
- ²⁶ Santos, L. S.; Meuer, E. C.; Pilli, R. A.; Eberlin, M. N. *Org. Lett.* **2003**, **5**, 1391.
- ²⁷ Sabino, A. A.; Machado, A. H. L.; Correia, C. R. D.; Eberlin, M. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**.
- ²⁸ Moraes, M. C. B.; Brito-Neto, J. G. A.; Lago, C. L.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, **198**, 121.
- ²⁹ Moraes, M. C. B.; Brito, J. G. A.; Lago, C. L. *J. Anal. At. Spectrom.* **2001**, **16**, 1259.
- ³⁰ Williams S. M.; Brodbelt, J. S.; Huang, Z. L.; Lai, H. G.; Marchand, A. P.; *Analyst* **2003**, **128**, 1352.
- ³¹ Raymond, C. C.; Dick, D. C.; Dorhout, P. K.; *Inorg Chem.* **1997**, **36**, 2678.
- ³² Ross, A. R. S.; Ikonomou, M. G.; Thompson, A. J.; Orians, K. J.; *Anal.Chem.* **1998**, **70**, 2225.

-
- ³³ (a) Kost, A. N.; Gromov, S. P; Sagitullin, R. S. *Tetrahedron*, **1981**, 37, 3423; (b) Genisson, Y; Marazano, C.; Mehmandoust, M.; Gnecco, D.; Das, B.C.; Synlett, **1992**, 431.
- ³⁴ Konig, W. J. *Prakt. Chem.* **1904**, 69, 105.
- ³⁵ K. Hafner, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1957**, 606, 79; K. Hafner, *Angew. Chem.*, 70, 419 (1958); K. Hafner and H. Kaiser, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **618**, 140, **1958**; K. Hafner and K.-D. Asmus, *ibid.*, **1964**, 671, 31.
- ³⁶ Hafner, F. Cyanine Dyes and Related Compounds, *Interscience*, **1964**, 244-269.
- ³⁷ Karrer, P.; Keller, H. *Helv Chim. Acta*, **1938**, 21, 463.
- ³⁸ Karrer, P.; Schwarzenbach, G.; Utzinger, G. E. *Helv. Chim. Acta*, **1937**, 20, 72.
- ³⁹ Leutr e, H.; Haede, W.; Ruhabaum, E. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1953**, 579, 123.
- ⁴⁰ Shifrin, S. *Biochim. Biophys. Acta*, **1965**, 96, 173.
- ⁴¹ Secrist, J. A.; Leonard, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 1702.
- ⁴² Y. G enisson, C. Marazano, M. Mehmandoust, D. Gnecco, B. C. Das, *Synlett*, **1992**, **46**, 431–434. See also: G.H. R. Viana, I. C. Santos, R. B. Alves, L. Gil, C. Marazano and R. P. F. Gil, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 7773–7776; T. M. Nguyen, M. del Rayo Sanchez-Salvatori, J.-C. Wypych and C. Marazano, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 5916–5919.
- ⁴³ Eda, M.; Kurth, M. J.; Nantz, M. H. *J. Org. Chem.* **2000**, 65(17), 5131 – 5135.
- ⁴⁴ (a) Th. Zincke, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1903**, 330, 361; (b) Th. Zincke, G. Heuser and W. Moller, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1904**, 333, 296.
- ⁴⁵ (a) E. Van den Dunghen, J. Nasielski and P. Van Laser, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **1957**, 66, 661; (b) J. Kavalek and V. Sterba, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **1973**, 38, 3506.
- ⁴⁶ a) E. N. Marvell, G. Caple and I. Shahidi, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, **92**, 5641; (b) E. N. Marvell and I. Shahidi, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, **92**, 5646; (c) E. N. Marvell, G. Caple and I. Shahidi, *Tetrahedron Lett.*, **1967**, **3**, 277.
- ⁴⁷ S. Kunugi, T. Okubo and N. Ise, *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, **98**, 2282.
- ⁴⁸ Viana, G.H.R. Tese 305 DQ UFMG, **2008**.
- ⁴⁹ Y. G enisson, C. Marazano and B. C. Das, *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 2052–2057; Y.-S. Wong, C. Marazano, D. Gnecco, Y. G enisson, A. Chiaroni and B. C. Das, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 729–733; D. Compere, C. Marazano and B. C. Das, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 4528–4532; L. Gil, D. Compere, B. Guilloteau-Bertin, A. Chiaroni and C.

Marazano, *Synthesis*, **2000**, 2117–2126; B. Guilloteau-Bertin, D. Compere, L. Gil, C. Marazano and B. C. Das, *Eur. J. Org. Chem.*, **2000**, 1391–1399.

⁵⁰ Weinreb, S. M. *Comprehensive Organic Synthesis*; Trost, B. M.; Fleming, I., Eds.; Pergamon: Oxford, **1991**; Vol. 5, 401.

⁵¹ Yu, Y., Zhou, J., Yao, Z., Xu, F. Shen, Q. *Heteroatom Chem*, **2010**, **21**, 351.

⁵² D. Boger and S. M. Weinreb, *Organic Synthesis*, **1987**, Academic, San Diego, Chapter 2 and references therein.

⁵³ (a) H. Ishitani and S. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, **37**, 7357; (b) S. Kobayashi, S. Komiyama and H. Ishitani, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1998**, **37**, 979; (c) S. Yao, M. Johannsen, R. G. Hazell and K. A. Jorgensen, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1998**, **37**, 3121; (d) S. Kobayashi, K. Kusakabe, S. Komiyama and H. Ishitani, *J. Org. Chem.*, **1999**, **64**, 4220; (e) S. Yao, S. Saaby, R. G. Hazell and K. A. Jorgensen, *Chem. Eur. J.*, **2000**, **6**, 2435; (f) S. Kobayashi, K. Kusakabe and H. Ishitani, *Org. Lett.*, **2000**, **2**, 1225; (g) N. S. Josephsohn, M. L. Snapper and A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, **125**, 4018.

⁵⁴ Y. Yuan, X. Li and K. Ding, *Org. Lett.*, **2002**, **4**, 3309.

⁵⁵ Hermitage, S.; Howard, J. A. K.; Jay D.; Pritchard, R. G.; Robert, M. R.; Whiting, A., *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, **2**, 2451–2460.

⁵⁶ Hedberg, C.; Pinho, P.; Roth, P.; Andersson, P. G. *J. Org. Chem.* **2000**, **65**, 2810.

⁵⁷ Tietze, L. F.; Fennen, J.; Anders, R. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1989**, **28**, 1371.

⁵⁸ Carey, F.A. *Organic Chemistry* **2000**, Ed. 5, 881-882.

⁵⁹ Funiss, B. S.; Hannaford, A. J.; Smith, P. W. G; Tatchell, A. R *Vogel's Textbook of Practical Organica Chemistry*, **1989**, Ed.5, 601-782.

⁶⁰ (a) H. Yang, L. Zhang, L. Zhong, Q. Yang, C. Li, *Angew. Chem., Int. Ed.* **46** (**2007**) 6861. (b) T.P. Yoon, E.N. Jacobsen, *Science* **299**, **2003**, 1691. (c) S. Jain, X. Zheng, C.W. Jones, M. Weck, R.J. Davis, *Inorg. Chem.* **46**, **2007**, 8887.

⁶¹ (a) T. Katsuki, *Cur. Org. Chem.* **5**, **2001**, 663. (b) R.N. Davis, J.M. Tanski, J.C. Adrian, L.A. Tyler, *Inorg. Chim. Acta* **360**, **2007**, 3061. (c) K. Nakano, T. Kamada, K. Nozaki, *Angew. Chem., Int. Ed.* **45**, **2006**, 7274. (d) A. Böttcher, H. Elias, E.G. Jäger, H. Langfeldorova, M. Mazur, L. Müller, H. Paulus, P. Pelikan, M. Rudolph, M. Valko, *Inorg. Chem.* **32**, **1993**, 4131. (e) A. Pui, C. Policar, J.P. Mahy, *Inorg. Chim. Acta* **360**, **2007**, 2139.

⁶² (a) M.J. Prushan, D.M. Tomezsko, S. Lofland, M. Zeller, A.D. Hunter, *Inorg. Chim. Acta* **360**, **2007**, 2245. (b) S. Mukerjee, K. Skogerson, S. DeGala, J.P. Caradonna, *Inorg. Chim. Acta* **297**, **2000**, 313. (c) M. Ghiladi, J.T. Gomez, A. Hazell, P. Kofod, J. Lumtscher, C.J. McKenzie, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **7**, **2003**, 1320.

⁶³ KHANDAR, A. A.; SHAABANI, B.; BELAJ, F.; BAKHTIARI, A. *Inorganica Chimica Acta* , **2007**, 360, 3255-3264.

⁶⁴ (a) R. Srikanth, P. N. Reddy, R. Narsimha, R. Srinivas, G. V. M. Sharma, K. R. Reddy, P. R. Krishna. *J.Mass Spectrom.* **2004**, 39, 1068. (b)R. Srikanth, P. N. Reddy, R. Srinivas, G. V.M. Sharma, K. R. Reddy, P. R. Krishna. *Rapid Commun.Mass Spectrom.* **2004**, 18, 3041. (c) P. N. Reddy, R. Srikanth, N. S. Swamy, R. Srinivas, G. V. M. Sharma, P. Nagendar, P. R. Krishna. *J.Mass Spectrom.* **2005**, 40, 1429.(d) P. N. Reddy,R. Srikanth,R. Srinivas,V. U. M. Sharma, G. V. M. Sharma, P. Nagendar. *Rapid Commun.Mass Spectrom.* **2006**, 20, 3351. (e) V. Ramesh, R. Srinivas, G. V. M. Sharma, P. Jayaprakash, A. C. Kunwar. *J.Mass Spectrom.* **2008**, 43, 1201. (f) V. Ramesh, M. Ramesh, R. Srinivas, G. V. M. Sharma, P. Jayaprakash. *Rapid Commun.Mass Spectrom.* **2008**, 22, 3339.