

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

JOÃO VICTOR COELHO PIMENTA

**USO DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM  
IONIZAÇÃO POR *PAPER SPRAY* (PS-MS) NO ESTUDO  
DE REAÇÕES ORGÂNICAS EM SUPERFÍCIE**

Belo Horizonte

2021

UFMG/ICEX/DQ. 1.444  
D. 785

JOÃO VICTOR COELHO PIMENTA

**USO DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM  
IONIZAÇÃO POR *PAPER SPRAY* (PS-MS) NO ESTUDO  
DE REAÇÕES ORGÂNICAS EM SUPERFÍCIE**

Dissertação de mestrado 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.

Orientador: Rodinei Augusti

Coorientador: Adão Aparecido Sabino

Belo Horizonte

2021

Ficha Catalográfica

P644u Pimenta, João Victor Coelho  
2021      Uso da espectrometria de massas com ionização por paper  
D      spray (PS-MS) no estudo de reações orgânicas em superfície  
[manuscrito] / João Victor Coelho Pimenta. 2021.  
127 f. : il.

Orientador: Rodinei Augusti.  
Coorientador: Adão Aparecido Sabino.

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

1. Química orgânica - Teses. 2. Espectrometria de  
massa - Teses. 3. Catalisadores - Teses. 4. Alcoóis -  
Oxidação - Química de superfície - Teses. 5.  
Mecanismos de reações orgânicas - Teses. 6. Aldeídos -  
Teses. 7. Ácidos carboxílicos - Teses. 8. Ésteres -  
Teses. 9. Rutênio - Teses. 10. Ácido fórmico - Teses.  
I. Augusti, Rodinei, Orientador. II. Sabino, Adão  
Aparecido, Coorientador. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



"Uso da Espectrometria de Massas com Ionização por Paper Spray (PS-MS) no Estudo de Reações Orgânicas em Superfície"

João Victor Coelho Pimenta

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Rodinei Augusti - Orientador  
UFMG

Prof. Adão Aparecido Sabino - Coorientador  
UFMG

Profa. Lucienir Pains Duarte  
UFMG

Profa. Amanda Silva de Miranda  
UFMG

Belo Horizonte, 06 de maio de 2021.





Documento assinado eletronicamente por Rodinei Augusti, Professor do Magistério Superior, em 06/05/2021, às 16:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Lucienir Pains Duarte, Professora do Magistério Superior, em 06/05/2021, às 16:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Adão Aparecido Sabino, Professor do Magistério Superior, em 06/05/2021, às 16:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Amanda Silva de Miranda, Professora do Magistério Superior, em 06/05/2021, às 16:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 0706867 e o código CRC B8462EAE.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus por toda a ajuda que me deu ao longo desta trajetória, nos momentos bons e ruins, sei que Ele estava comigo, sempre me ajudando. Sem Ele nada disto seria possível. Agradeço imensamente aos meus pais, Soraia e Luciano, por todo o apoio dado durante a minha vida. Aos meus irmãos, Luciano e Antônio, por toda a ajuda. Aos meus familiares, tias, tios e primos, pelo apoio em minha educação, principalmente à minha prima, Cynthia. Agradeço também a todos os amigos e colegas que passaram por mim, e que de alguma forma, contribuíram para que eu chegasse até aqui, principalmente à Jéssica, Amanda e Lucas. Agradeço ao GEQOB e ao LAQMASS pela ajuda e oportunidade, principalmente à Juliana, Yuri, Tálita, Wellington, Nayara, Hebert e Lucas. Aos meus professores, o meu agradecimento, em especial ao Professor Rodinei e ao Professor Adão. Aos órgãos de fomento à pesquisa, tais como a CAPES, o CNPq e a FAPEMIG. E que, a partir de agora, possa aplicar todos os conhecimentos pessoais e profissionais adquiridos para ajudar o mundo a se tornar um lugar melhor.

## RESUMO

A Espectrometria de Massas com Ionização por *Paper Spray* (PS-MS) é uma das mais recentes e inovadoras técnicas de ionização a pressão ambiente, desenvolvida por Cooks e colaboradores em 2010. Esta técnica é utilizada na análise de diferentes compostos, desde drogas, alimentos e bebidas, até o estudo de reações químicas em superfície. Em relação ao estudo de reações químicas, a ionização por *paper spray* vem se tornando uma ferramenta importante e inovadora que possibilita o estudo de reações em superfície, permitindo a visualização rápida e eficiente de intermediários e produtos. Neste trabalho foram investigadas três diferentes reações em superfície: a oxidação de álcoois catalisada por rutênio, onde cinco produtos foram visualizados ao final de sessenta minutos, dentre eles, o aldeído, o ácido carboxílico e o éster correspondente ao álcool empregado; a desacetilação enzimática de açúcares peracetilados catalisada pela lipase *Burkholderia cepacia*, cuja atividade foi avaliada após sessenta minutos, sobre o substrato 1,2,3,4-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-xilopirranose; e a reação multicomponente de Povarov, onde diferentes intermediários e produtos foram visualizados ao final de dez minutos, após a reação entre a *p*-bromoanilina e diversos aldeídos na presença do 2,3-diidrofurano e ácido fórmico. Em todas essas reações conduzidas em superfície, a PS-MS se mostrou uma ótima ferramenta, fornecendo respostas rápidas, sensíveis e coerentes, facilitando o monitoramento de cada reação proposta neste trabalho.

**Palavras-chave:** espectrometria de massas, reações em superfície, oxidação de álcoois, reação enzimática, reação de Povarov.

## ABSTRACT

Paper Spray Mass Spectrometry (PS-MS), developed by Cooks and co-workers in 2010, is one of the most novel and innovative atmospheric pressure ionization methods. This technique has been used to analyze different compounds, from drugs, foods, drinks, and also on-surface chemical reactions. Regarding the study of chemical reactions, paper spray ionization comes as an important and innovative tool that allows the study of on-surface reactions, enabling the visualization of intermediates and products in a fast and efficient way. In this work aims to study three different on-surface reactions: the alcohol oxidation catalyzed by ruthenium, that undergoes to five new products at sixty minutes, among them, the aldehyde, the carboxylic acid and the ester; the enzymatic deacetylation of peracetylated sugars catalyzed by *Burkholderia cepacia* lipase whose activity was evaluated after at sixty minutes, on the 1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-xylopyranose substrate; and Povarov's multicomponent reaction, in which different intermediates and products were visualized at ten minutes, after *p*-bromoaniline and several aldehydes react in the presence of 2,3-dihydrofuran and formic acid. In all these on-surface reactions, PS-MS proved to be a great tool, providing fast, sensitive and consistent responses facilitating the monitoring of each reaction proposed in this work.

**Key-words:** mass spectrometry, on-surface reaction, alcohol oxidation, enzymatic reaction, Povarov reaction.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Componentes principais do espectrômetro de massas.....	2
<b>Figura 2:</b> Mecanismo de ionização por <i>eletrospray</i> (ESI): subdivisão das gotas. ....	4
<b>Figura 3:</b> Funcionamento simplificado do analisador <i>ion trap</i> (IT).....	5
<b>Figura 4:</b> Detector MCP. <sup>[6]</sup> .....	6
<b>Figura 5:</b> Processo de ionização por <i>paper spray</i> (PS). <sup>[9]</sup> .....	7
<b>Figura 6:</b> Distribuição por áreas das publicações relacionadas a espectrometria de massas.....	8
<b>Figura 7:</b> Oxidação de álcoois a aldeídos empregando Fe(III), ABNO e O <sub>2</sub> . ....	10
<b>Figura 8:</b> Oxidação de álcoois a aldeídos empregando catalisadores de rutênio. ....	10
<b>Figura 9:</b> Ciclos catalíticos propostos para oxidação de álcoois catalisada por rutênio, via oxometal (A) e peroxometal (B).....	11
<b>Figura 10:</b> Intermediários da reação de esterificação (A) e hidrólise (B) .....	13
<b>Figura 11:</b> Desacetilação regioseletiva do 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-glucopiranosose empregando lipases de diferentes microorganismos: PFL ( <i>Pseudomonas fluorescens</i> ) e CRL ( <i>Candida rugosa</i> ).....	14
<b>Figura 12:</b> Acetilação regioseletiva e estereosseletiva do 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-glucopiranosose empregando lipase BCL e $\beta$ -lactamas.....	14
<b>Figura 13:</b> Síntese de $\alpha$ -aminoácidos de Strecker. ....	15
<b>Figura 14:</b> Reação de Povarov. ....	15
<b>Figura 15:</b> Mecanismos propostos (A e B) para a Reação de Povarov. ....	16
<b>Figura 16:</b> Espectro ESI(-)-MS obtido a partir da síntese do complexo de rutênio em EtOH.....	27
<b>Figura 17:</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do <b>composto 1a</b> .....	29
<b>Figura 18:</b> Espectro na região do infravermelho do <b>composto 1a</b> (KBr).....	30
<b>Figura 19:</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do <b>composto 1</b> . ....	31
<b>Figura 20:</b> PS(+)-MS do <b>composto 1</b> (Espectro A).....	32
<b>Figura 21:</b> PS(+)-MS da reação em superfície em 0, 10, 30 e 60 minutos .....	33
<b>Figura 22:</b> Representação esquemática dos compostos ( <b>2-6</b> ) formados na reação de oxidação do <b>composto 1</b> em superfície empregando TBHP e RuCl <sub>3</sub> . ....	34
<b>Figura 23:</b> Mecanismo de fragmentação proposto para o íon <i>m/z</i> 236. ....	35

<b>Figura 24:</b> Mecanismo proposto para a formação do <b>éster 4</b> (íon $m/z$ 236) e <b>ácido carboxílico 3</b> (íon $m/z$ 180).....	35
<b>Figura 25:</b> Mecanismos de fragmentação propostos para o íon $m/z$ 254. ....	36
<b>Figura 26:</b> Mecanismo de fragmentação para o íon de $m/z$ 252.....	37
<b>Figura 27:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (200 MHz, DMSO- $d_6$ ) do <b>composto 2</b> . ....	39
<b>Figura 28:</b> PS(+)-MS do <b>composto 2</b> (A) e PS(+)-MS/MS do íon $m/z$ 164 (B).....	40
<b>Figura 29:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do <b>composto 3a</b> . ....	41
<b>Figura 30:</b> Espectro na região do infravermelho do <b>composto 3a</b> pastilhado em KBr. 42	
<b>Figura 31:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do <b>composto 3</b> . ....	43
<b>Figura 32:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) e DEPT-135 do <b>composto 3</b> . ....	44
<b>Figura 33:</b> PS(+)-MS do <b>composto 3</b> (A) e PS(+)-MS/MS do íon $m/z$ 180 (B). ....	45
<b>Figura 34:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do <b>composto 4a</b> .....	46
<b>Figura 35:</b> Espectro na região do infravermelho do <b>composto 4a</b> pastilhado em KBr. 47	
<b>Figura 36:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do <b>composto 4</b> . ....	48
<b>Figura 37:</b> PS(+)-MS do <b>composto 4</b> (A) e PS(+)-MS/MS do íon $m/z$ 236 (B).....	49
<b>Figura 38:</b> Reação de oxidação em superfície em diferentes condições (normal A/B, aquecimento a 80 °C C/D e radiação UV E/F) em 10 e 60 min, respectivamente. ....	50
<b>Figura 39:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do <b>composto 8</b> .....	55
<b>Figura 40:</b> Representação geral da reação de desacetilação enzimática em superfície. 56	
<b>Figura 41:</b> PS(+)-MS da reação em superfície da desacetilação do substrato <b>8</b> em diferentes concentrações da lipase BCL (60 minutos). ....	58
<b>Figura 42:</b> PS(+)-MS da reação em superfície da desacetilação enzimática do <b>substrato 8</b> em 0 (A), 10 (B), 30 (C) e 60 (D) minutos. ....	59
<b>Figura 43:</b> Mecanismo de fragmentação proposto para o íon $m/z$ 299. ....	60
<b>Figura 44:</b> PS(+)-MS da Reação de Povarov em superfície em 0 min (A), 10 min (B) e 30 min (C).....	62
<b>Figura 45:</b> Mecanismo de formação do íon de $m/z$ 196. ....	63
<b>Figura 46:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 196. ....	63
<b>Figura 47:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 196.....	63
<b>Figura 48:</b> Mecanismo de formação do íons de $m/z$ 317 e 319.....	64
<b>Figura 49:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 317. ....	64
<b>Figura 50:</b> Mecanismo de fragmentação do íon $m/z$ 317. ....	64
<b>Figura 51:</b> Mecanismo de formação do íons de $m/z$ 349 e 351.....	65

<b>Figura 52:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 349. ....	65
<b>Figura 53:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 349.....	66
<b>Figura 54:</b> Mecanismo de formação dos íons de $m/z$ 387 e 389. ....	66
<b>Figura 55:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 387. ....	67
<b>Figura 56:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 387.....	67
<b>Figura 57:</b> PS(+)-MS/MS dos íons de $m/z$ 405 (A) e 433 (B).....	68
<b>Figura 58:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 405.....	68
<b>Figura 59:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 433.....	69
<b>Figura 60:</b> PS(+)-MS da Reação de Povarov em superfície em 0 min (A), 10 min (B) e 30 min (C).....	70
<b>Figura 61:</b> Mecanismo de formação do íon de $m/z$ 210. ....	71
<b>Figura 62:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 210. ....	71
<b>Figura 63:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 210.....	71
<b>Figura 64:</b> Equilíbrio conformacional do íon de $m/z$ 419.....	72
<b>Figura 65:</b> PS(+)-MS/MS do íon $m/z$ 419. ....	73
<b>Figura 66:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 419.....	73
<b>Figura 67:</b> Aldeídos utilizados na Reação de Povarov em superfície. ....	75
<b>Figura 68:</b> PS(+)-MS reação com <b>aldeído 9</b> em superfície após 5 minutos. ....	76
<b>Figura 69:</b> Mecanismo de formação do íon de $m/z$ 242. ....	76
<b>Figura 70:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 242.....	76
<b>Figura 71:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 242. ....	77
<b>Figura 72:</b> Mecanismo de formação do íon de $m/z$ 312. ....	77
<b>Figura 73:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 312. ....	78
<b>Figura 74:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 312.....	78
<b>Figura 75:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 344. ....	79
<b>Figura 76:</b> PS(+)-MS reação com <b>aldeído 10</b> em superfície após 5 minutos. ....	79
<b>Figura 77:</b> PS(+)-MS reação com <b>aldeído 11</b> em superfície após 5 minutos. ....	80
<b>Figura 78:</b> PS(+)-MS reação com <b>aldeído 12</b> em superfície após 5 minutos. ....	80
<b>Figura 79:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 308. ....	80
<b>Figura 80:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 378. ....	81
<b>Figura 81:</b> Mecanismo de formação do íon de $m/z$ 378. ....	81
<b>Figura 82:</b> PS(+)-MS reação com <b>aldeído 13</b> em superfície após 5 minutos. ....	82
<b>Figura 83:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 240. ....	82
<b>Figura 84:</b> Mecanismo de fragmentação do íon de $m/z$ 240.....	82

<b>Figura 85:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 310. ....	83
<b>Figura 86:</b> PS(+)-MS/MS do íon de $m/z$ 328. ....	83

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b> Síntese dos complexos de rutênio. ....	27
<b>Esquema 2:</b> Síntese do <b>composto 1a</b> . ....	28
<b>Esquema 3:</b> Síntese do <b>composto 1</b> . ....	30
<b>Esquema 4:</b> Reação de oxidação em superfície. ....	33
<b>Esquema 5:</b> Síntese do <b>composto 3</b> . ....	38
<b>Esquema 6:</b> Síntese do <b>composto 3a</b> . ....	40
<b>Esquema 7:</b> Síntese do <b>composto 3</b> . ....	42
<b>Esquema 8:</b> Síntese do <b>composto 4a</b> . ....	45
<b>Esquema 9:</b> Síntese do <b>composto 4</b> . ....	47
<b>Esquema 10:</b> Síntese do <b>composto 7</b> . ....	53
<b>Esquema 11:</b> Síntese do <b>composto 8</b> . ....	54
<b>Esquema 12:</b> Reação de Povarov em superfície. ....	61
<b>Esquema 13:</b> Esquema geral da Reação de Povarov utilizando diferentes aldeídos.....	75

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Comparação entre os sinais do RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) para o <b>composto 1a</b> . ..	29
<b>Tabela 2:</b> Comparação entre os sinais do RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ ) para o <b>composto 1</b> . .....	31
<b>Tabela 3:</b> Comparação entre os sinais de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ ) para o <b>composto 2</b> . .....	39
<b>Tabela 4:</b> Comparação entre os sinais de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ ) para o <b>composto 3a</b> . .....	41



**Tabela 5:** Comparação entre os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) para o **composto 3**.

..... 43

**Tabela 6:** Comparação entre os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) para o **composto 6**..... 55

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABNO – N-oxil-9-azabicyclo[3.3.1]nonano

ACN – Acetonitrila

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

DCM – Diclorometano

DMF – Dimetilformamida

DMSO-*d*<sub>6</sub> – Dimetilsulfóxido deuterado

EM – Espectrometria de Massas

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

IV – Espectroscopia na Região do Infravermelho

*m/z* – razão massa/carga

PS-MS – *Paper Spray Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massas com Ionização por *Paper Spray*)

PF – Ponto de Fusão

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

T.A. – Temperatura Ambiente

TBHP – *tert*-butilidroperóxido

TMS – Tetrametilsilano

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

UV – Ultravioleta

*s* – simpleto

*d* – duplete

*dd* – duplete duplo

$m$  – multiplete

$\delta$  – deslocamento químico

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1. Espectrometria de Massas .....	1
1.1.1. Fontes de Ionização .....	2
1.1.2. Analisadores de Massas .....	4
1.1.3. Detectores .....	6
1.2. Dissociação Induzida por Colisão .....	6
1.3. Espectrometria de Massas com Ionização por <i>Paper Spray</i> .....	7
1.4. Espectrometria de Massas e Reações Químicas.....	8
1.5. Ionização por <i>Paper Spray</i> e Reações em Superfície .....	9
1.6. Reações de Oxidação de Álcoois .....	10
1.7. Reações Enzimáticas .....	11
1.8. Reações Multicomponentes .....	15
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
<b>3. MATERIAIS, MÉTODOS E CARACTERIZAÇÃO</b>	<b>17</b>
3.1. Síntese e Caracterização.....	18
3.1.1. Síntese do Álcool 4-( <i>N,N</i> -dimetilamino)benzílico (1a) .....	18
3.1.2. Síntese do Iodeto de 4-(hidroximetilfenil) <i>N,N,N</i> -trimetilamônio (1) .....	18
3.1.3. Síntese do Iodeto de 4-(formilfenil) <i>N,N,N</i> -trimetilamônio (2).....	19
3.1.4. Síntese do Ácido 4-( <i>N,N</i> -dimetilamino)benzóico (3a) .....	20
3.1.5. Síntese do Iodeto de 4-(carboxifenil) <i>N,N,N</i> -trimetilamônio (3).....	20
3.1.6. Síntese do 4-( <i>N,N</i> -dimetilamino)benzoato de <i>terc</i> -butila (4a).....	21
3.1.7. Síntese do Iodeto de 4-( <i>terc</i> -butoxicarbonilfenil) <i>N,N,N</i> -trimetilamônio (4).....	22
3.1.8. Síntese do 1-metoxi-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (7) .....	22
3.1.9. Síntese do 1,2,3,4-tetra- <i>O</i> -acetil- $\beta$ -D-xilopiranosídeo (8).....	23
3.2. Procedimento Experimental: Reação de Oxidação de Álcoois.....	24

3.3. Procedimento Experimental: Reação Enzimática .....	25
3.4. Procedimento Experimental: Reação Multicomponente.....	25
<b>4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS</b>	<b>26</b>
4.1. Reação de Oxidação de Álcoois.....	26
4.1.1. Aquecimento e Radiação UV .....	50
4.1.2. Outros Metais e Água Oxigenada .....	51
4.1.3. Reação em Fase Condensada .....	51
4.1.4. Conclusões.....	52
4.2. Reações Enzimáticas .....	52
4.2.1. Conclusões.....	61
4.3. Reações Multicomponentes .....	61
4.3.1. Conclusões.....	83
<b>5. CONCLUSÃO GERAL</b>	<b>84</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>85</b>
<b>ANEXO</b>	<b>90</b>

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Espectrometria de Massas

Ao final do século XIX muitos cientistas procuravam entender a natureza dos raios catódicos. Em busca de respostas, o físico britânico Joseph John Thomson utilizou o tubo de raios catódicos, no qual observou a deflexão de algumas partículas quando se aplicava um campo elétrico em um determinado ponto da trajetória desses raios. Deste modo, Thomson conseguiu medir simultaneamente a razão carga/massa ( $e/m$ ) e a carga ( $e$ ) dessas partículas, podendo então, medir indiretamente sua massa. Essas partículas foram chamadas de elétrons e com isso, J. J. Thomson propôs um novo modelo atômico e recebeu o Prêmio Nobel de Física em 1906 devido à descoberta do elétron.<sup>[1]</sup>

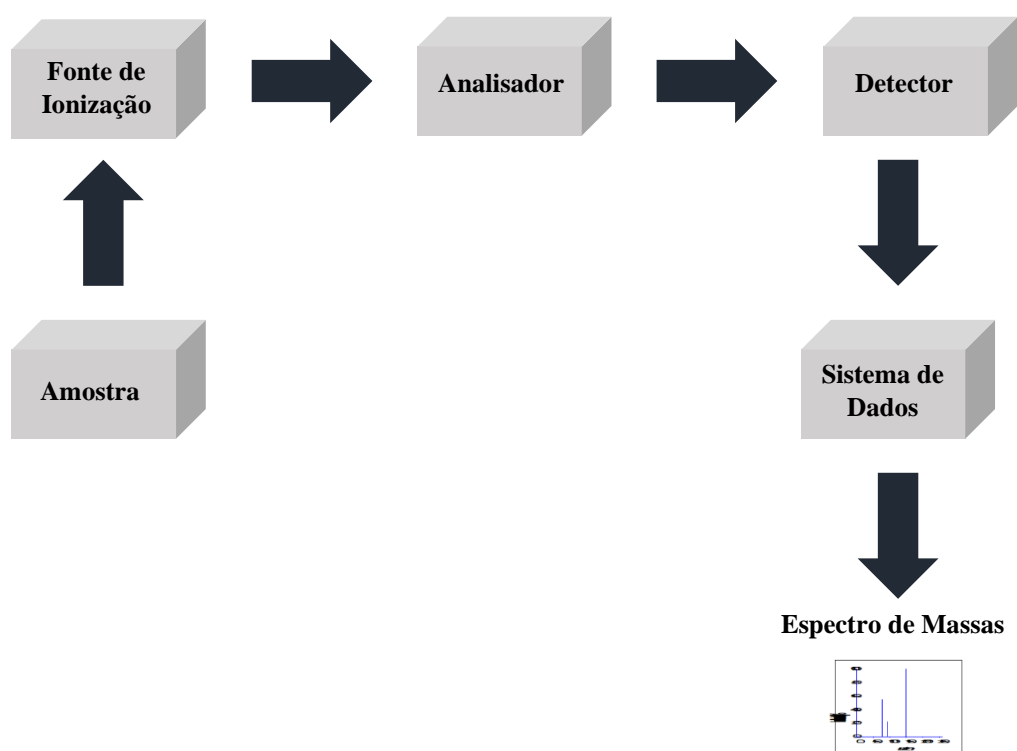
Posteriormente, J. J. Thomson e Francis Aston construíram juntos, o que se acredita ser, o primeiro espectrômetro de massas da história, que era capaz de medir a massa de átomos ionizados. Nas primeiras décadas do século XX, Aston buscou aprimorar os equipamentos construídos até então, na busca de aumentar o poder de resolução, para separar e provar a existência de isótopos. F. Aston recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1922 devido às descobertas feitas no campo dos isótopos não-radioativos.<sup>[1]</sup>

Em meados do século XX, Alfred Nier, um físico americano, foi responsável por difundir a espectrometria de massas além da comunidade de físicos, que na época dominavam essa área do conhecimento. Nier auxiliou biólogos em estudos com  $^{13}\text{C}$ , geoquímicos no estudo com isótopos de Pb e um dos trabalhos mais importantes, a separação e quantificação dos isótopos de Urânio (U) utilizando a espectrometria de massas e provando que o  $^{235}\text{U}$  seria o responsável pelo processo de fissão nuclear. A importância dos isótopos em meados do século XX, devido à Segunda Guerra Mundial, fez com que a espectrometria de massas surgisse como uma importante técnica instrumental.<sup>[1]</sup>

Ainda em meados do século XX, os espectrômetros de massas foram evoluindo e sendo aplicados na detecção de pequenos hidrocarbonetos em petróleo e na área de produtos naturais. Fred McLafferty, Klaus Biemann e Carl Djerassi foram os químicos responsáveis por utilizar a espectrometria de massas na elucidação de estruturas de diversas moléculas orgânicas desconhecidas através do padrão de fragmentação.<sup>[1]</sup> Deste

modo, a espectrometria de massas se firmou como uma importante ferramenta na análise estrutural de diversas moléculas.

Atualmente, a espectrometria de massas é uma técnica analítica que permite a análise estrutural e determinação das massas moleculares de compostos, como: fármacos,<sup>[2]</sup> metabólitos,<sup>[3]</sup> proteínas<sup>[4]</sup> e polímeros.<sup>[5]</sup> A técnica é baseada na geração de íons positivos ou negativos, que são separados através da sua razão massa/carga ( $m/z$ ) utilizando a propriedade eletromagnética. Basicamente, o espectrômetro de massas é dividido em três partes: a fonte de ionização, o analisador de massas e o detector (**Figura 1**). As diferentes combinações desses componentes fizeram com que diversos tipos de equipamentos fossem desenvolvidos e pudessem ser acoplados a técnicas cromatográficas.



**Figura 1:** Componentes principais do espectrômetro de massas.

### 1.1.1. Fontes de Ionização

A fonte de ionização é responsável por ionizar a amostra para que possa ser analisada no analisador de massas. Existem fontes de ionização que operam à pressão reduzida, como: ionização por elétrons (*electron ionization* - EI) e ionização química (*chemical ionization* - CI); e aquelas que trabalham a pressão ambiente, como: ionização química à pressão atmosférica (*atmospheric pressure chemical ionization* - APCI), ionização por

*eletrospray* (*electrospray ionization* - ESI), ionização a laser assistida por matriz (*matrix-assisted laser desorption ionization* - MALDI), ionização de dessorção por *eletrospray* (*desorption electrospray ionization* - DESI) ou ionização por *paper spray* (*paper spray ionization* - PS).<sup>[6]</sup> Essa diversificação na natureza das fontes de ionização é o principal motivo do crescimento da espectrometria de massas.

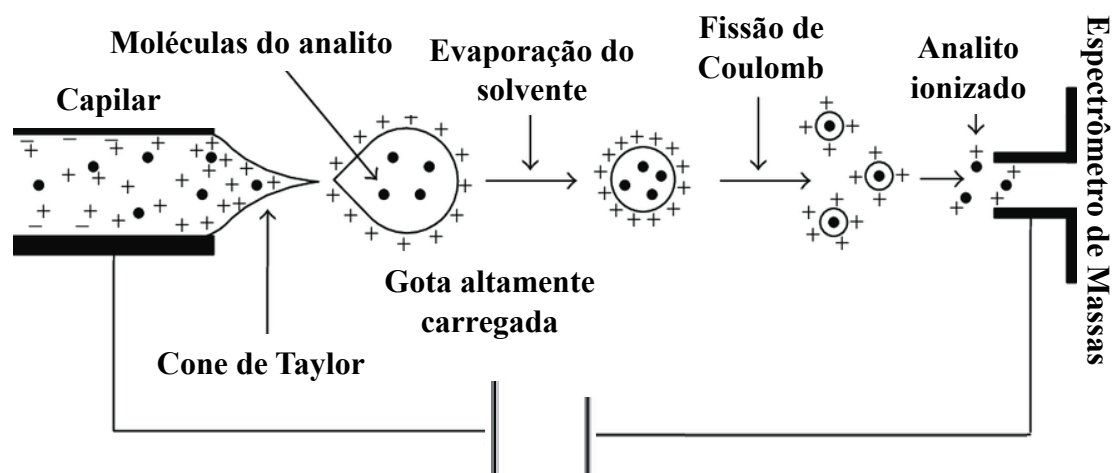
A ionização por elétrons (EI) é uma técnica de ionização a pressão reduzida baseada na geração de íons em fase gasosa, onde moléculas são expostas a um feixe de elétrons. Neste processo, elétrons são retirados ou capturados dos átomos presentes na estrutura da molécula, criando uma espécie íon-radical, chamada por definição de íon-molecular. Esta técnica de ionização permite a análise de moléculas voláteis, termoestáveis, de baixa massa molecular e baixa polaridade, sendo acoplada principalmente à cromatografia gasosa. Geralmente, ocorre fragmentação total ou parcial do íon-molecular.<sup>[7]</sup>

Devido à natureza das técnicas de ionização a pressão reduzida (EI e CI), somente moléculas voláteis, termoestáveis, de baixa massa molecular e baixa polaridade podiam ser analisadas. Moléculas como aminoácidos, açúcares e macromoléculas, como proteínas, ácidos nucleicos e polímeros, não podiam ser analisadas por EM. O surgimento das técnicas de ionização a pressão atmosférica e condições mais brandas, como a ESI em meados da década de 80, foram de extrema importância para o crescimento da EM.<sup>[1,6]</sup>

Dentre as técnicas de ionização atmosférica, a ionização por *eletrospray* (ESI) é uma das técnicas de ionização mais difundidas em EM devido à grande variedade de moléculas que podem ser analisadas sob condições brandas de ionização. Essas características renderam o Prêmio Nobel de Química de 2002 ao pesquisador John B. Feen.

A ESI é uma técnica que se baseia na aplicação de um potencial elétrico em um capilar contendo o analito em solução, onde ocorre um processo de oxirredução e a molécula é ionizada positivamente ou negativamente, dependendo do potencial aplicado. A partir disso, os íons se acumulam na ponta deste capilar (cone de Taylor), até que a densidade de carga chegue ao seu limite e a gota se desprenda e se subdivida em gotas menores, gerando o *spray*. As gotas altamente carregadas, agora em fase gasosa, vão sofrendo um processo de dessolvatação e ficando menores (fissão de Coulomb), até que o analito fique isolado, sendo assim, atraído para o interior do espectrômetro de massas, onde é analisado (**Figura 2, página 4**).<sup>[8]</sup>





**Figura 2:** Mecanismo de ionização por *eletrospray* (ESI): subdivisão das gotas.

A ionização por *eletrospray* permite a análise de moléculas de alta polaridade e alta massa molecular, como proteínas, carboidratos e polímeros, gerando o íon molecular com pouca ou nenhuma fragmentação. Entretanto, pode gerar moléculas com muitos estados de carga, dificultando um pouco a análise. Devido ao fato do processo de ionização ocorrer em solução, essa técnica pode ser acoplada a cromatografia líquida de alta eficiência.

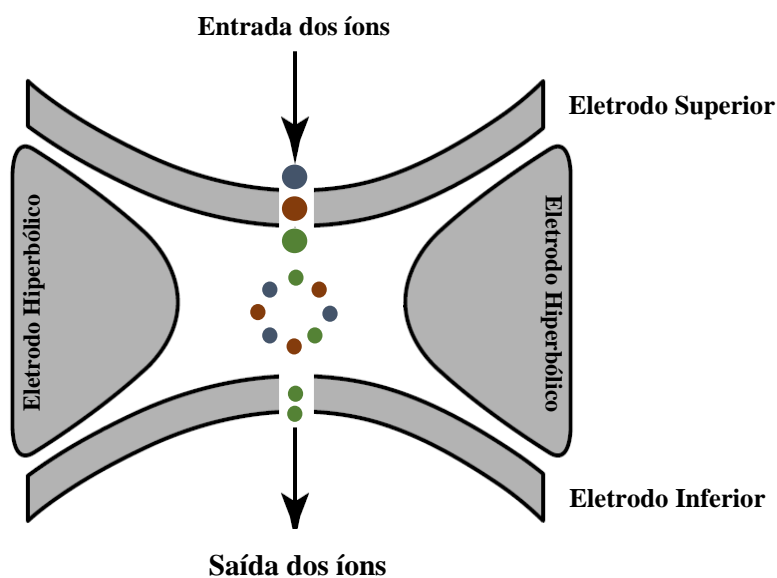
### 1.1.2. Analisadores de Massas

Os analisadores de massas são responsáveis por analisar e separar os íons gerados na fonte de ionização através da razão  $m/z$ . Basicamente, os analisadores utilizam a propriedade eletromagnética para separar esses íons, ou seja, aplicação de um campo elétrico, magnético ou a combinação dos dois. Os analisadores possuem três características que os diferenciam entre si: o poder de resolução, que é a capacidade do analisador diferenciar íons com valores de  $m/z$  bem próximos; o limite de medição da razão  $m/z$ ; e a capacidade de transmissão dos íons, ou seja, a razão entre a quantidade de íons produzidos na fonte e a quantidade que é detectada.<sup>[6]</sup>

Alguns exemplos de analisadores de massas existentes são: setor magnético (B), quadrupolo (Q), armadilha de íons (*ion trap* – IT), tempo de voo (*time of flight* – TOF), *orbitrap*, ressonância ciclotrônica de íons (*ion cyclotron resonance* – ICR). Existem também analisadores híbridos, como: setor magnético-eletrostático (BE), triplo quadrupolo (QqQ), quadrupolo-TOF (QTOF), *ion trap*-TOF (IT-TOF), entre outros.<sup>[6]</sup>

Os analisadores quadrupolos (Q) são constituídos por quatro barras cilíndricas equidistantes, dispostas paralelamente e arranjadas em dois pares opostos. Um potencial elétrico oscilante é aplicado nas barras de modo que, apenas um íon apresente uma trajetória estável através delas, alcançando o detector. Assim, variando o potencial, o analisador é capaz de separar os íons de acordo com sua razão  $m/z$ . São analisadores de baixa resolução e baixa sensibilidade, mas são relativamente baratos e facilmente acoplados a outros analisadores.<sup>[6]</sup>

Os analisadores *ion trap* (IT) podem ser compreendidos como analisadores quadrupolo, entretanto, ao invés de descreverem uma trajetória através dele, os íons são aprisionados no analisador (**Figura 3**). Esses íons são mantidos orbitando estavelmente dentro do analisador através da aplicação de um potencial elétrico, até que um determinado potencial seja aplicado, desestabilizando a órbita dos íons e expulsando-os de acordo com a sua razão  $m/z$ . São analisadores de baixa resolução, mas possuem uma alta sensibilidade, são relativamente baratos e permitem sucessíveis processos de dissociação induzida por colisão.<sup>[6]</sup>



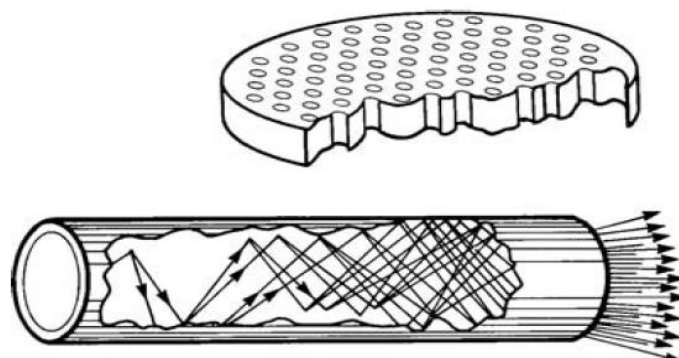
**Figura 3:** Funcionamento simplificado do analisador *ion trap* (IT).

### 1.1.3. Detectores

Os detectores são responsáveis por gerar um sinal elétrico amplificado para cada íon que colide em sua superfície gerando, posteriormente, o espectro de massas. A escolha do detector depende do analisador. Os detectores mais utilizados na EM são: o multiplicador de elétrons e o *microchannel plate* (MCP).<sup>[6]</sup>

O multiplicador de elétrons é um detector baseado na aceleração dos íons que saem do analisador em direção a um diodo de conversão, onde ocorre a conversão dos íons em elétrons. Esses elétrons são direcionados para o multiplicador de elétrons, onde um efeito cascata acontece e os elétrons são multiplicados, gerando uma corrente elétrica.<sup>[6]</sup>

O placa de microcanal (*microchannel plate* - MCP) são multiplicadores de elétrons. Entretanto, neste caso, o detector é constituído por uma placa com vários canais cilíndricos revestidos internamente por um material semicondutor (**Figura 4**). Então, devido a presença de diversos canais, a multiplicação de elétrons é mais eficiente e, conseqüentemente, o detector é mais sensível.<sup>[6]</sup>



**Figura 4:** Detector MCP.<sup>[6]</sup>

## 1.2. Dissociação Induzida por Colisão

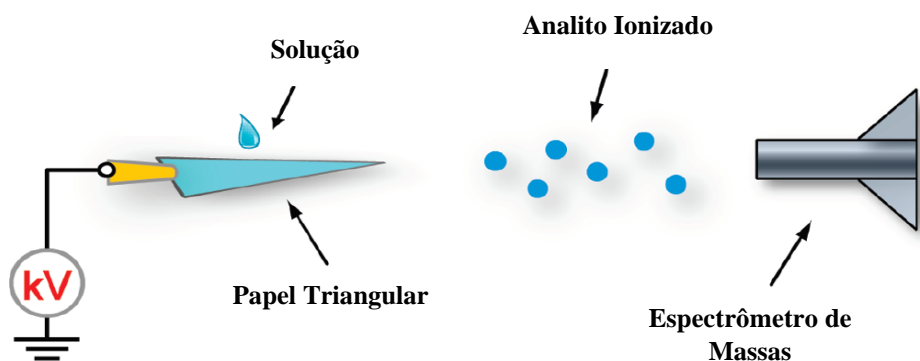
A Dissociação Induzida por Colisão (CID), conhecida como espectrometria de massas sequencial ( $MS/MS$ ,  $MS^n$ ), é um experimento que permite a fragmentação de íons isolados no analisador através da colisão com um gás inerte (ex.: argônio). É uma ferramenta muito importante na EM, podendo fornecer informações adicionais sobre a estrutura do íon, necessária para sua caracterização.

O mecanismo de fragmentação de um íon pode ser dividido em duas etapas: uma etapa muito rápida, onde o íon é atingido pelas moléculas do gás inerte e parte da energia

cinética é convertida em energia interna e uma etapa de decomposição unilateral do íon previamente ativado. Os analisadores como o *ion trap* ou triplo quadrupolo são capazes de realizar esse experimento, sendo que, o *ion trap* possibilita muitas etapas seguidas de MS/MS ou MS<sup>n</sup>.<sup>[6]</sup>

### 1.3. Espectrometria de Massas com Ionização por *Paper Spray*

A ionização por *paper spray* (PS) é uma das mais recentes e inovadoras técnicas de ionização ambiente, desenvolvida por Cooks e colaboradores em 2010.<sup>[9]</sup> A ionização por *paper spray* se baseia na aplicação de um potencial elétrico na base de um papel cromatográfico de formato triangular. O *spray* é gerado nos vértices desse papel e o analito ionizado é liberado em fase gasosa, sendo atraído para o interior do espectrômetro de massas onde é analisado (**Figura 5**). A amostra pode ser aplicada diretamente no papel, seguida da adição do solvente, ou através de uma solução contendo o analito.



**Figura 5:** Processo de ionização por *paper spray* (PS).<sup>[9]</sup>

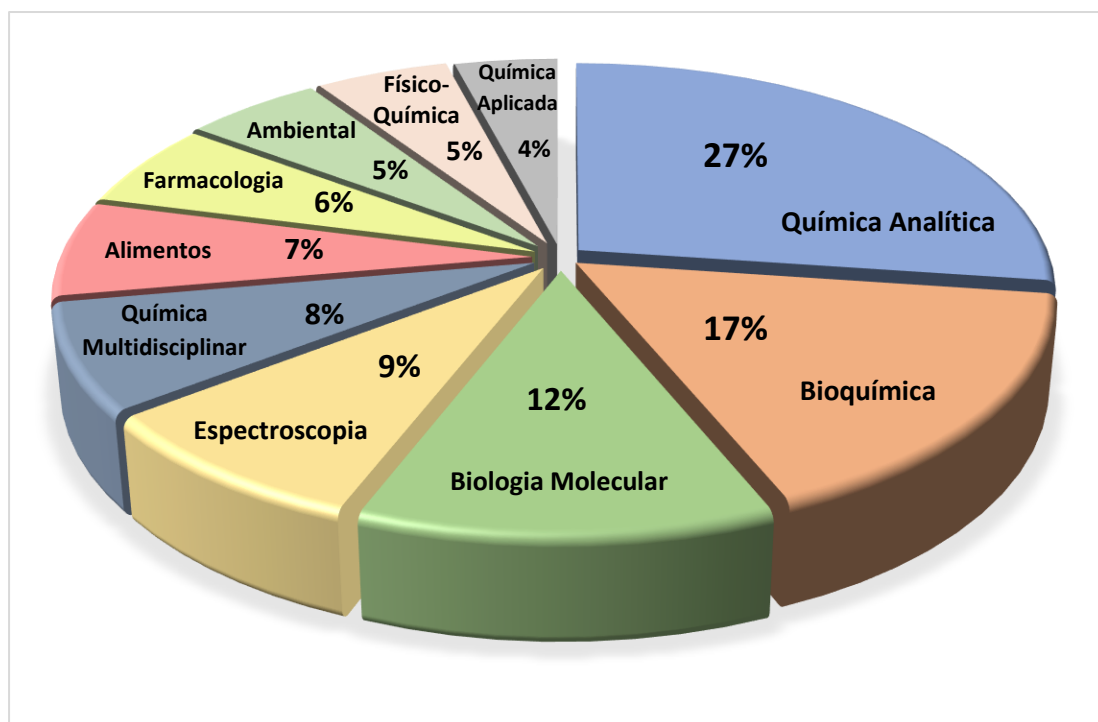
O mecanismo de ionização é pouco conhecido, mas acredita-se que o processo de ionização seja semelhante ao ESI. Seguindo esta lógica, o potencial elétrico aplicado no papel faz com que as moléculas se ionizem, positivamente ou negativamente, e se acumulem nos vértices do papel triangular. O acúmulo de carga chega a um limite e a gota se desprende formando gotículas menores, gerando o *spray*. As gotículas são dessolvatadas e o analito ionizado é atraído para o interior do espectrômetro de massas. Sabe-se que alguns fatores influenciam no processo de ionização: o ângulo e a distância do papel utilizado, em relação a entrada do espectrômetro de massas, e a composição do solvente.<sup>[10]</sup>

Esta nova fonte de ionização ambiente possui algumas vantagens se comparada com as outras técnicas de ionização: a facilidade de aplicação da amostra, baixo custo e disponibilidade do papel utilizado, nenhum ou quase nenhum pré-tratamento da amostra, além da possibilidade de modificações químicas no papel, aumentando a variedade de substâncias que podem ser analisadas.<sup>[10]</sup> Todos esses fatores contribuem para uma análise mais barata, rápida e eficiente.

A ionização por *paper spray* permite a análise de moléculas de alta polaridade e alta massa molecular, gerando pouca ou nenhuma fragmentação dos analitos carregados. Há também a possibilidade de se gerar moléculas com mais de um estado de carga e gerar espectros com uma alta razão sinal-ruído.

#### 1.4. Espectrometria de Massas e Reações Químicas

A EM, principalmente devido ao desenvolvimento de novas técnicas de ionização (ex.: ESI, APCI e APPI), tem sido aplicada em diferentes áreas, mas é principalmente utilizada no desenvolvimento de métodos analíticos (**Figura 6**). Entretanto, por ser uma técnica muito versátil, a EM também pode ser empregada no estudo de reações químicas em fase condensada.



**Figura 6:** Distribuição por áreas das publicações relacionadas a espectrometria de massas.

Fonte: Web of Science, termo procurado “*mass spectrometry*”, de 1945 a 2021, 26/02/2021 às 11:50.

O estudo de reações químicas por EM é muito utilizado para detectar e determinar, com certa exatidão estrutural, quais intermediários reacionais são formados ao longo de uma reação, mesmo em quantidades muito baixas e sem a necessidade de isolamento. Se pensarmos que diferentes solventes, temperaturas, pH, quantidade de reagentes, etc; podem afetar diretamente na formação de um determinado produto, a EM pode ser utilizada como uma ferramenta que auxilia o pesquisador a ter uma visão global da reação. Além disso, o uso da EM sequencial ( $MS^n$ ) permite a obtenção de informações estruturais das espécies formadas.

Existem diversos exemplos da aplicação da EM no monitoramento de reações químicas, empregando principalmente a ESI<sup>[11]</sup> e experimentos MS/MS, como: a reação de Baylis-Hillman onde os autores corroboraram o mecanismo proposto visualizando a formação de intermediários;<sup>[12]</sup> na reação de Metátese de Olefinas com a observação dos complexos ativos de rutênio;<sup>[13]</sup> na reação de polimerização de Ziegler-Natta, onde espécies alquilzirconoceno foram detectadas;<sup>[14]</sup> espécies ativas de paládio também foram detectadas empregando ESI no monitoramento das reações de Heck,<sup>[15]</sup> Suzuki<sup>[16]</sup> e Stille;<sup>[17]</sup> reações de acoplamento carbono-carbono de extrema importância na área de síntese orgânica.

### **1.5. Ionização por *Paper Spray* e Reações em Superfície**

Com o surgimento da ionização por *paper spray* vários estudos foram desenvolvidos abrangendo desde análises de fármacos,<sup>[18]</sup> metabólitos,<sup>[19]</sup> materiais,<sup>[20]</sup> alimentos<sup>[21]</sup> e bebidas,<sup>[22]</sup> microrganismos,<sup>[23]</sup> até o estudo de reações químicas.<sup>[24]</sup> Como dito anteriormente, o estudo de reações químicas é de extrema importância para entender a formação de intermediários e produtos formados durante uma reação, além de auxiliar na definição de parâmetros reacionais. Assim, a ionização por *paper spray* surge como uma ferramenta inovadora no estudo e monitoramento de reações em superfície (superfície do papel).

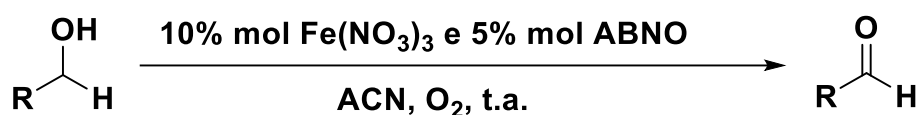
O estudo de reações em superfície é uma nova forma de investigar reações químicas, muito mais simples e rápida, se comparado aos estudos de reações em fase condensada, gerando bons resultados. Portanto, novos estudos vêm sendo desenvolvidos abordando reações em superfície, como: a condensação de Claisen-Schmidt entre a 6-hidroxi-1-indanona e *p*-benzaldeído (2014);<sup>[25]</sup> a reação do halofórmio utilizando a acetonaftona e

hipoclorito de sódio (2016);<sup>[26]</sup> o estudo de reações de acoplamento C-C e reações de oxirredução, catalisadas por nanopartículas metálicas (2016);<sup>[27]</sup> a degradação fotocatalítica do azul de metileno empregando óxido de titânio e radiação UV (2017)<sup>[28]</sup> e um estudo de oxidação de álcoois utilizando hipoclorito de sódio e radiação UV (2019).<sup>[29]</sup>

### 1.6. Reações de Oxidação de Álcoois

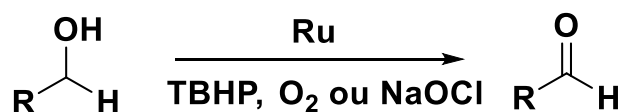
A oxidação de álcoois é uma metodologia de grande importância na química orgânica, permitindo a síntese de aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos, substâncias de alto valor sintético. Existem muitas metodologias na literatura que permitem a síntese desses compostos, como as metodologias clássicas: PCC (clorocromato de piridínio)<sup>[30]</sup> e oxidação de Jones (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e CrO<sub>3</sub>).<sup>[31]</sup> Entretanto, algumas metodologias utilizam condições drásticas e compostos tóxicos, além de terem baixa seletividade.

Portanto, metodologias mais brandas de oxidação e mais seletivas vêm sendo desenvolvidas, empregando metais de transição como catalisadores e novos oxidantes. Wang e colaboradores desenvolveram uma metodologia de oxidação de álcoois à aldeídos, com rendimentos quantitativos, utilizando um catalisador de Fe(III), na presença de ABNO (iniciador radicalar) e sob atmosfera de oxigênio (**Figura 7**).<sup>[32]</sup>



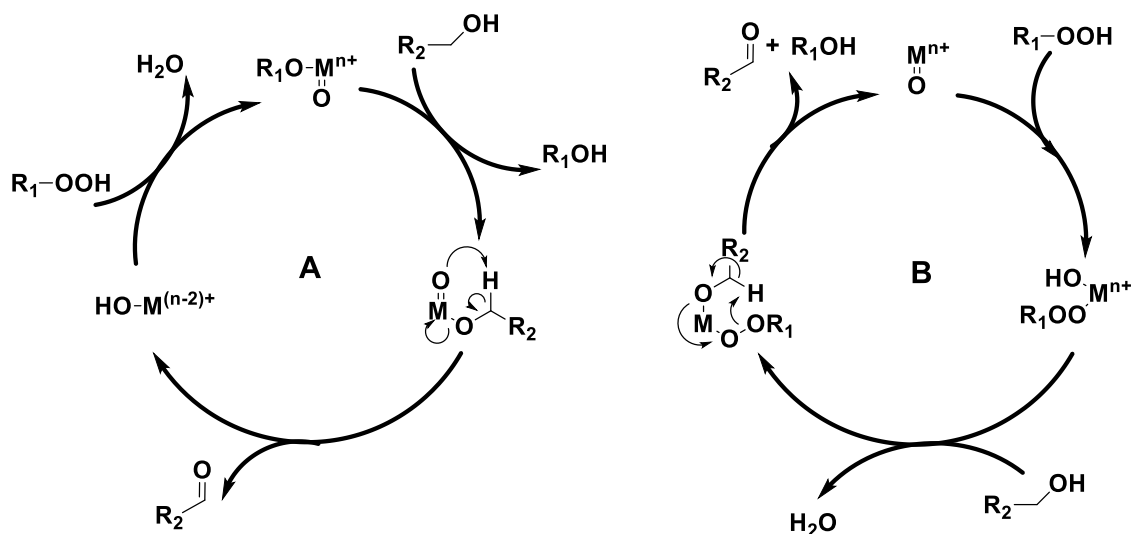
**Figura 7:** Oxidação de álcoois a aldeídos empregando Fe(III), ABNO e O<sub>2</sub>.

Outro metal de transição muito utilizado na oxidação de álcoois é o rutênio, na presença de oxidantes como oxigênio e hidroperóxidos. Kockritz e colaboradores reportaram o uso de catalisadores de rutênio depositados em suportes de titânia e zircônia na oxidação de álcoois a aldeídos, com bons rendimentos, empregando TBHP, oxigênio ou hipoclorito de sódio como oxidante (**Figura 8**).<sup>[33]</sup>



**Figura 8:** Oxidação de álcoois a aldeídos empregando catalisadores de rutênio.

Existem dois mecanismos propostos para a oxidação de álcoois catalisada por rutênio (Figura 9).<sup>[34]</sup>



**Figura 9:** Ciclos catalíticos propostos para oxidação de álcoois catalisada por rutênio, via oxometal (A) e peroxometal (B).

As duas propostas se iniciam com uma espécie ativa de rutênio, no qual é atacada pelo oxigênio do álcool ou do hidropéroxido, dependendo da via. O intermediário formado libera o produto e o estado de oxidação do metal é restaurado. De acordo com a literatura, com os metais de transição iniciais com configuração  $d^0$ , como Mo(VI) e W(VI), geralmente é observado a via peroxometal. Em metais de transição terminais, como Os(VIII), Ru(VI) e Ru(VIII) é observado a via oxometal.<sup>[34]</sup>

### 1.7. Reações Enzimáticas

Enzimas são catalisadores naturais encontrados nos mais diversos organismos vivos, geralmente de natureza proteica, formadas pela ligação de diversos aminoácidos. Essas macromoléculas possuem extrema importância para o funcionamento dos sistemas biológicos porque são responsáveis por catalisar reações *in vivo* de diferentes naturezas, desde reações de hidrólise, descarboxilações e oxirredução, até reações de polimerização.<sup>[35]</sup>

Por serem consideradas “catalisadores naturais”, acredita-se que as enzimas aumentam a velocidade reacional num fator de até um milhão de vezes, se comparada



com a velocidade de uma reação não-enzimática. A anidrase carbônica, por exemplo, responsável por converter CO<sub>2</sub> em ácido carbônico, permite que a reação seja 10<sup>7</sup> vezes mais rápida do que uma reação não-enzimática.<sup>[35]</sup>

Essa capacidade das enzimas de aumentar a cinética reacional, ou seja, desempenhar o papel como catalisador numa reação, é atribuída a alta seletividade que elas possuem com um substrato específico. Isso significa que, geralmente, uma enzima catalisa apenas uma reação ou um conjunto de reações de uma classe de substratos específicos. A especificidade de uma enzima é resultado de sua complexa estrutura tridimensional, no qual permite uma interação precisa com o substrato.<sup>[35]</sup>

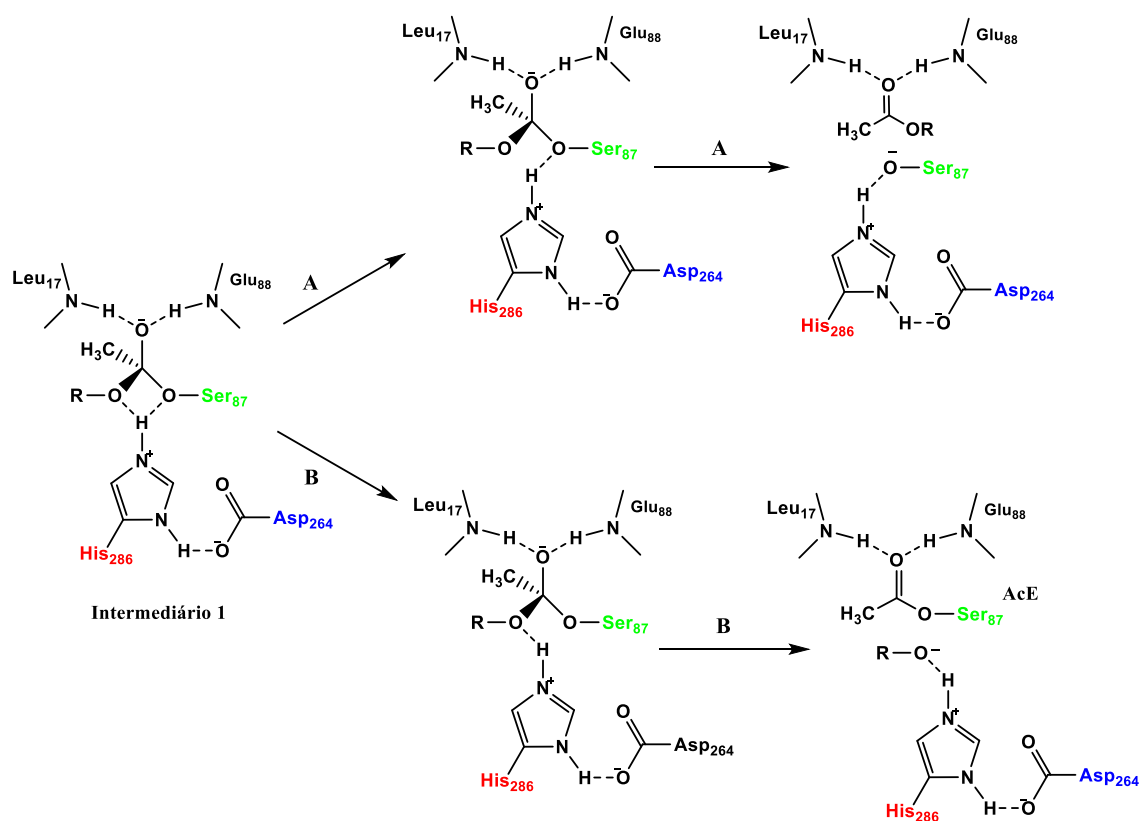
A estrutura tridimensional da enzima permite que determinados locais, chamados de sítios ativos, sejam ideais para a formação de um complexo enzima-substrato (ES). O sítio ativo é uma pequena região da enzima, onde resíduos de aminoácidos ou cofatores estão presentes, facilitando a quebra e/ou formação de ligações químicas, estabilizando e diminuindo a energia do estado de transição. Acredita-se que o sítio ativo de uma enzima se molda para que ocorra o encaixe perfeito com o substrato, processo chamado de sistema de encaixe induzido.<sup>[35]</sup>

As lipases são uma classe de enzimas responsáveis pela biotransformação dos lipídios no organismo, transformando triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol. De uma maneira geral, o sítio ativo dessas enzimas é capaz de se moldar a diferentes substratos, possibilitando a ocorrência de reações de esterificação e/ou hidrólise. A atividade enzimática das lipases é atribuída a uma tríade de resíduos de aminoácidos presentes em seu sítio ativo: serina (Ser), histidina (His) e ácido aspártico (Asp).<sup>[36,37]</sup>

Durante a reação, forma-se um **intermediário 1** tetraédrico, envolvendo cinco ligações de hidrogênio, que são fundamentais na estabilização do estado de transição (**Figura 10, página 13**). Primeiramente, em reações de esterificação (A) é necessário a presença de um agente acilante (ex.: acetato de vinila) para que, inicialmente, ocorra uma reação com o resíduo de serina, formando a espécie acilenzima (AcE). O substrato (ex.: álcoois) ataca a espécie AcE, fornecendo o **intermediário 1** que, posteriormente, libera o produto acilado.<sup>[37]</sup>

Em reações de hidrólise (B), o resíduo de serina exerce a mesma função descrita anteriormente, entretanto, atuando em outro substrato, o éster. Assim, o mesmo **intermediário 1** visto nas reações de esterificação é formado nas reações de hidrólise.

Deste modo, ao final da reação a espécie AcE é liberada, juntamente com o substrato desacetilado. Existem dois modos para que a enzima retorne ao seu estado nativo: através do ataque por água à espécie AcE, liberando ácido acético e a enzima (hidrólise); ou por meio de uma reação onde outro substrato (ex.: álcoois) ataca a espécie AcE (transesterificação). Em ambas as vias, os resíduos de histidina (His) e ácido aspártico (Asp) funcionam como um par ácido-base, responsável por estabilizar o intermediário através de ligações de hidrogênio, bem como, os resíduos de leucina (Leu) e ácido glutâmico (Glu).<sup>[37]</sup>

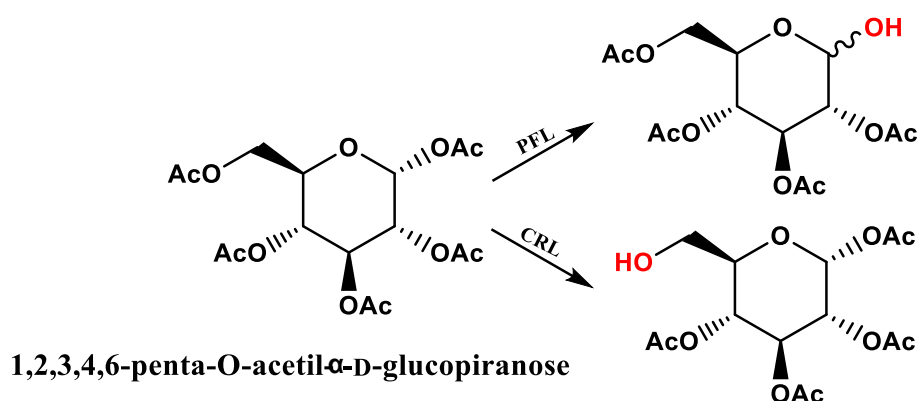


**Figura 10:** Intermediários da reação de esterificação (A) e hidrólise (B) catalisada pela enzima lipase.

As lipases possuem atividade catalítica frente a diversos substratos e um dos seus principais usos são em reações enantiosseletivas, onde ocorre a resolução cinética de substratos enantioméricos.<sup>[38]</sup> Além disso, devido à versatilidade desta enzima em relação ao substrato, elas podem ser utilizadas na esterificação ou hidrólise regioseletiva de carboidratos.<sup>[39]</sup> Essas reações de esterificação ou hidrólise regioseletivas em

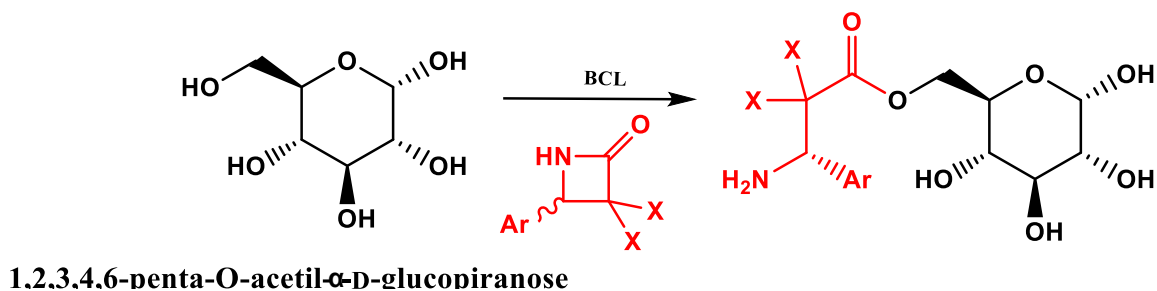
carboidratos podem ser feitas através de vias sintéticas clássicas, entretanto, envolvem mais etapas de síntese e geralmente, possuem um menor rendimento.<sup>[40]</sup>

A atividade enzimática das lipases pode mudar dependendo de diferentes fatores, como: temperatura, pH, solvente e o a origem do microrganismo. Guisan e colaboradores utilizaram as lipases na desacetilação regioseletiva de carboidratos peracetilados, onde demonstrou-se que as enzimas catalisavam a reação em diferentes grupos do carboidrato dependendo da origem do microrganismo (**Figura 11**).<sup>[41]</sup>



**Figura 11:** Desacetilação regioseletiva do 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- $\alpha$ -D-glucopiranosose empregando lipases de diferentes microrganismos: PFL (*Pseudomonas fluorescens*) e CRL (*Candida rugosa*).

Um outro microrganismo que pode fornecer a enzima lipase é a bactéria *Burkholderia cepacia* (BCL). Apesar de apresentar a mesma função das lipases apresentadas anteriormente, lipases BCL exibem atividade a um maior número de substratos, maior resistência a temperatura e a solventes orgânicos, como álcoois de cadeia curta.<sup>[42]</sup> Kanerva e colaboradores empregaram a lipase BCL na acetilação regioseletiva e estereosseletiva de carboidratos com  $\beta$ -lactamas (**Figura 12**).<sup>[43]</sup>

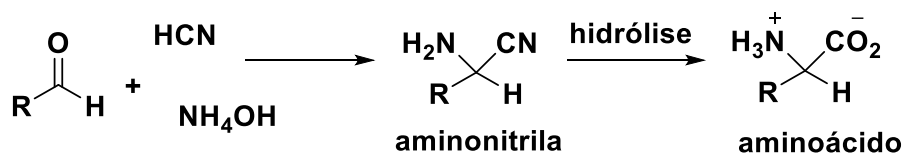


**Figura 12:** Acetilação regioseletiva e estereosseletiva do 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- $\alpha$ -D-glucopiranosose empregando lipase BCL e  $\beta$ -lactamas.

## 1.8. Reações Multicomponentes

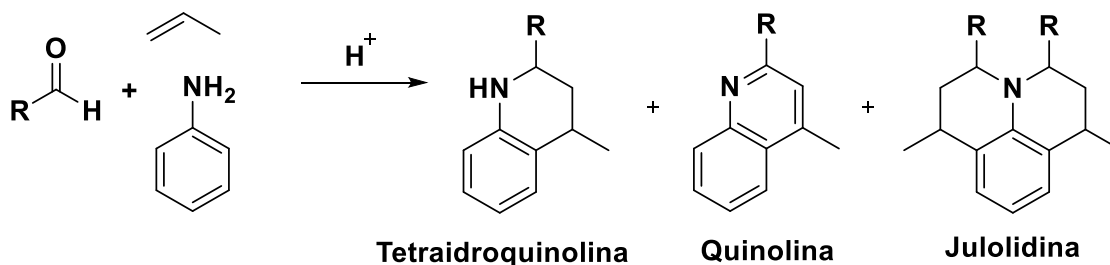
As reações multicomponentes são reações onde três ou mais componentes são adicionados à mistura reacional para a formação do produto final. Essas reações são amplamente usadas porque permitem a síntese do produto final em número menor de etapas de síntese e conseqüentemente, um menor número de etapas de purificação. Além disso, reduz a geração de resíduos e aumenta a economia atômica.<sup>[44]</sup> Esses fatores contribuem para uma síntese verde e mais eficiente.

Acredita-se que Strecker foi um dos pioneiros no uso de reações multicomponentes para a síntese de  $\alpha$ -aminoácidos (1850).<sup>[44]</sup> A síntese desses compostos por Strecker é descrita empregando três reagentes, em apenas duas etapas (**Figura 13**). A primeira etapa consiste na formação de uma  $\alpha$ -aminonitrila, partindo-se do ácido cianídrico, hidróxido de amônio e um aldeído. A segunda etapa é apenas uma hidrólise do grupo nitrila, produzindo o  $\alpha$ -aminoácido.



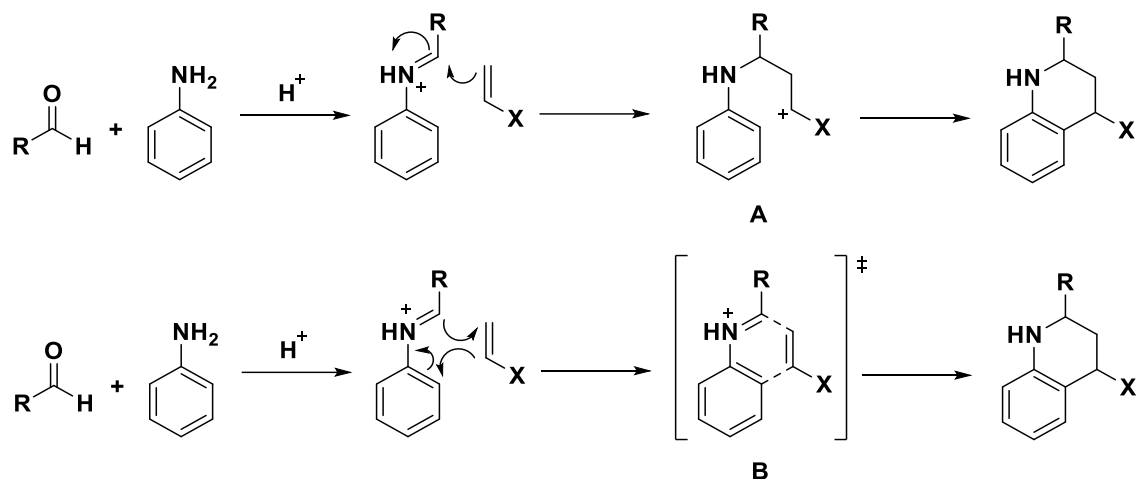
**Figura 13:** Síntese de  $\alpha$ -aminoácidos de Strecker.

A Reação de Povarov é uma reação multicomponente que permite a construção de compostos cíclicos nitrogenados em apenas uma etapa. É uma reação que envolve um aldeído, uma amina aromática e um alceno, na presença de um ácido de Bronsted ou Lewis. Dependendo das condições reacionais utilizadas, a Reação de Povarov origina anéis tetraidroquinolínicos, quinolínicos ou julolidínicos (**Figura 14**).<sup>[45]</sup>



**Figura 14:** Reação de Povarov.

Há duas propostas em relação ao mecanismo dessa reação. A primeira delas é se há a formação de um intermediário iônico (**A**), ou seja, a formação de um carbocátion. A segunda proposta consiste em um mecanismo concertado, ou seja, através de uma reação de cicloadição Aza Diels-Alder (**B**).<sup>[45]</sup> Esses mecanismos estão mostrados na **Figura 15**. Destaca-se que a formação da imina é essencial e aparece nas duas propostas.



**Figura 15:** Mecanismos propostos (A e B) para a Reação de Povarov.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Empregar a Espectrometria de Massas com ionização por *Paper Spray* (PS-MS) no estudo de **reações químicas em superfície**. Dentre as reações estudadas, estão: **reação de oxidação de álcoois catalisada por rutênio, reação de desacetilação enzimática de carboidratos peracetilados catalisada pela lipase BCL e reação multicomponente de Povarov**.

### 2.2. Objetivos Específicos

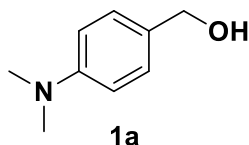
- Explorar a técnica PS-MS no estudo e monitoramento de reações em superfície, variando reagentes e condições reacionais;
- Analisar os mecanismos, os intermediários e os produtos formados nas reações avaliadas.

## 3. MATERIAIS, MÉTODOS E CARACTERIZAÇÃO

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Spectro RX I da Perkin Elmer (Waltham, Massachusetts, USA). Os compostos foram pastilhados com KBr e os espectros adquiridos na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com a resolução de 2,0  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 foram obtidos no equipamento Bruker Avance DPX/200 (Billerica, Massachusetts, USA), operando a 200 MHz para  $^1\text{H}$  e a 50 MHz para  $^{13}\text{C}$ , e no equipamento Bruker Avance NANOBAV (Billerica, Massachusetts, USA), operando a 400 MHz para  $^1\text{H}$  e 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ . Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho Gehaka PF 1500 (São Paulo, Brasil). Os espectros de massas, utilizando a ionização por *electrospray* (ESI) e a ionização por *paper spray* (PS), foram obtidos em um espectrômetro de massas Thermo LCQ-Fleet (San Jose, California, USA). As condições para ESI foram: temperatura do bloco: 250 °C; voltagem do capilar: (+) 5,0 kV; fluxo de gás: 30 a.u. As soluções foram injetadas por infusão direta. As condições para PS foram: temperatura do bloco: 275 °C, voltagem do capilar: 5,0 kV, 20  $\mu\text{L}$  de solvente, papel cromatográfico triangular com dimensões de (1,0 x 1,5 x 1,5 cm) e distância entre a ponta do papel e a entrada do espectrômetro de massas de aproximadamente 5 cm.

### 3.1. Síntese e Caracterização

#### 3.1.1. Síntese do Álcool 4-(*N,N*-dimetilamino)benzílico (**1a**)



Em um balão de 25 mL adicionaram-se, 10 mL de metanol e 500 mg (3.4 mmol) de ***p*-dimetilaminobenzaldeído**. Após homogeneização, adicionou-se 140 mg (3.74 mmol) de boroidreto de sódio e a reação foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD e após trinta minutos houve o consumo do material de partida. Adicionou-se água destilada à solução reacional, para destruição do boroidreto de sódio residual. Realizou-se uma extração líquido-líquido com acetato de etila e a fase orgânica foi concentrada em um rotaevaporador, fornecendo 487 mg (95%) de um óleo amarelo.<sup>[46]</sup>

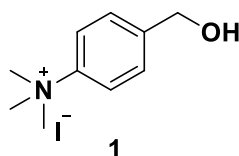
**RMN de <sup>1</sup>H** (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7,22 (*d*, *J* = 8,4 Hz, 2H, Ar-H); 6,71 (*d*, *J* = 8,4 Hz, 2H, Ar-H); 4,53 (*s*, 2H, CH<sub>2</sub>); 2,92 (*s*, 6H, CH<sub>3</sub>).

**RMN de <sup>13</sup>C** (50 MHz; CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 150,3; 128,9; 128,6; 112,6; 65,1; 40,6.

**IV (KBr)**:  $\tilde{\nu}$  = 3398 cm<sup>-1</sup> (O-H) e 2880 cm<sup>-1</sup> (C-H).

**PS(+)-MS**: 152,00 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 3.1.2. Síntese do Iodeto de 4-(hidroximetilfenil) *N,N,N*-trimetilamônio (**1**)



Em um balão de 25 mL adicionaram-se, 300 mg (2,0 mmol) do **composto 1a** e 10 mL de acetona. O sistema foi mantido sob agitação magnética e após a homogeneização, adicionou-se 247  $\mu$ L (4,0 mmol) de iodeto de metila. A reação foi mantida à temperatura ambiente durante 16 horas. A suspensão foi filtrada a vácuo e lavada com acetona, fornecendo 496 mg (85%) de um sólido branco.<sup>[46]</sup>

**RMN de  $^1\text{H}$**  (200 MHz; DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 7,93$  (*d*,  $J = 8,7$  Hz, 2H, Ar-H); 7,53 (*d*,  $J = 8,7$  Hz, 2H, Ar-H); 5,40 (*t*,  $J = 5,6$  Hz, 1H, OH); 4,56 (*d*,  $J = 5,6$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 3,61 (*s*, 9H, CH<sub>3</sub>).

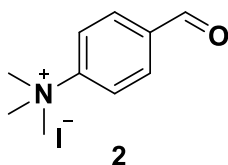
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (50 MHz; DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 145,7$ ; 144,7; 127,5; 120,2; 61,7; 56,5.

**IV (KBr):**  $\tilde{\nu} = 3352 \text{ cm}^{-1}$  (O-H).

**Faixa de fusão:** 228-230 °C.

**PS(+)-MS:** 166,03 [M-I]<sup>+</sup>.

### 3.1.3. Síntese do Iodeto de 4-(formilfenil) *N,N,N*-trimetilamônio (2)



Em um balão de 50 mL adicionou-se, 500 mg (3,4 mmol) do *p*-**dimetilaminobenzaldeído** e 25 mL de acetona. O sistema foi mantido sob agitação magnética e após a homogeneização, adicionou-se 630  $\mu\text{L}$  (10,2 mmol) de iodeto de metila. A reação foi mantida em refluxo durante 24 horas. A suspensão foi filtrada a vácuo e lavada com acetona, fornecendo 453 mg (46%) de um sólido branco.<sup>[47]</sup>

**RMN de  $^1\text{H}$**  (200 MHz; DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 10,12$  (*s*, 1H, CHO); 8,25 (*d*,  $J = 8,9$  Hz, 2H, Ar-H); 8,15 (*d*,  $J = 8,9$  Hz, 2H, Ar-H); 3,68 (*s*, 9H, CH<sub>3</sub>).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (50 MHz; DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 192,1$ ; 151,0; 136,7; 130,9; 121,8; 56,4.

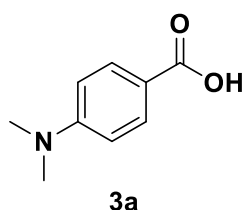
**IV (KBr):**  $\tilde{\nu} = 1702 \text{ cm}^{-1}$  (C=O).

**Faixa de fusão:** 161-164 °C.

**PS(+)-MS:** 164,02 [M-I]<sup>+</sup>.



### 3.1.4. Síntese do Ácido 4-(*N,N*-dimetilamino)benzóico (3a)



Em um balão de 125 mL adicionaram-se, 40 mL de uma solução aquosa de hidróxido de potássio 7% e 1,0 g (6,67 mmol) do *p*-dimetilaminobenzaldeído. A suspensão foi colocada sob agitação magnética. Posteriormente, adicionou-se 2.13 g (12,7 mmol) de nitrato de prata. A reação foi mantida sob agitação, a 60 °C durante 24 horas e acompanhada por CCD. O sólido cinza, provavelmente resíduo de prata, foi retirado através de uma filtração simples. Em seguida, submeteu-se o filtrado a uma extração líquido-líquido com diclorometano. Adicionou-se ácido clorídrico gota a gota (até pH 4-5) à fase aquosa, sob agitação magnética. O sólido foi filtrado à vácuo, lavado com água destilada e seco sob alto vácuo, fornecendo 1,0 g (91%) de um sólido branco.<sup>[48]</sup>

**RMN de <sup>1</sup>H** (400 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 7,75 (*d*, *J* = 8,9 Hz, 2H, Ar-H); 6,69 (*d*, *J* = 8,9 Hz, 2H, Ar-H); 2,97 (*s*, 6H, CH<sub>3</sub>).

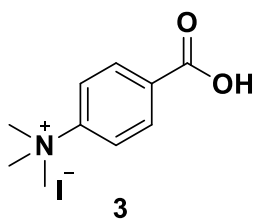
**RMN de <sup>13</sup>C** (100 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 167,6; 153,1; 130,9; 116,9; 110,8; 39,6.

**IV (KBr):**  $\tilde{\nu}$  = 1670 cm<sup>-1</sup> (C=O).

**Faixa de fusão:** 239-240 °C.

**PS(+)-MS:** 166,02 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3.1.5. Síntese do Iodeto de 4-(carboxifenil) *N,N,N*-trimetilamônio (3)



Em um balão de 50 mL adicionaram-se, 500 mg (3,0 mmol) do **composto 3a** e 25 mL de acetona. O sistema foi mantido sob agitação magnética e após a homogeneização,

adicionou-se 741  $\mu\text{L}$  (12,0 mmol) de iodeto de metila. A reação foi mantida em refluxo durante 24 horas. A suspensão foi filtrada a vácuo e lavada com acetona, fornecendo 532 mg (58%) de um sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (400 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta = 8,12$  (s, 4H, Ar-H); 3,36 (s, 9H,  $\text{CH}_3$ ).

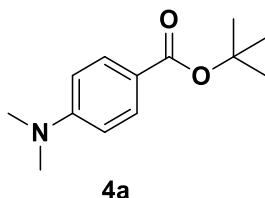
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta = 166,0$ ; 150,2; 132,3; 130,9; 121,2; 56,4.

**IV (KBr):**  $\tilde{\nu} = 1726 \text{ cm}^{-1}$  (C=O).

**Faixa de fusão:** 240-243  $^\circ\text{C}$ .

**PS(+)-MS:** 180,09 [M-I] $^+$ .

### 3.1.6. Síntese do 4-(*N,N*-dimetilamino)benzoato de *tert*-butila (**4a**)



Em um balão de 25 mL adicionaram-se, 500 mg (3,0 mmol) do **composto 3a**, 15 mL de diclorometano e 209  $\mu\text{L}$  (1,5 mmol) de trietilamina. O sistema foi mantido sob agitação magnética e após a homogeneização, adicionaram-se 674  $\mu\text{L}$  (6,0 mmol) de brometo de *tert*-butila e 695 mg (3,0 mmol) óxido de prata. A reação foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente, durante 24 horas, e acompanhada por CCD. O produto foi purificado por meio de uma coluna cromatográfica utilizando sílica gel como fase estacionária e diclorometano como fase móvel. O solvente foi removido em um rotaevaporador, fornecendo 350 mg (52%) de um óleo amarelo.<sup>[49]</sup>

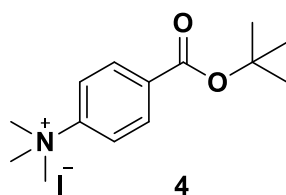
**RMN de  $^1\text{H}$**  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,86$  (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, Ar-H); 6,63 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, Ar-H); 3,01 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ ); 1,57 (s, 9H,  $\text{CH}_3$ ).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 166,5$ ; 153,2; 131,1; 119,1; 110,8; 79,8; 40,2; 28,5.

**IV (KBr):**  $\tilde{\nu} = 1690 \text{ cm}^{-1}$  (C=O).

**PS(+)-MS:** 222,00 [M+H] $^+$ .

### 3.1.7. Síntese do Iodeto de 4-(*tert*-butoxicarbonilfenil) *N,N,N*-trimetilamônio (4)



Em um balão de 50 mL adicionaram-se, 100 mg (1,5 mmol) do **composto 4a** e 5 mL de acetona e 1 mL de dimetilformamida. O sistema foi mantido sob agitação magnética e após a homogeneização, adicionou-se 370  $\mu$ L (6,0 mmol) de iodeto de metila. A reação foi mantida a 50 °C durante 24 horas. A suspensão foi filtrada a vácuo e lavada com acetona, fornecendo 125 mg (23 %) de um sólido branco.

**RMN de  $^1\text{H}$**  (400 MHz; DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 8,12 (*d*,  $J$  = 9,2 Hz, 2H, Ar-H); 8,07 (*d*,  $J$  = 9,2, 9H, Ar-H); 3,66 (*s*, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,56 (*s*, 9H, CH<sub>3</sub>).

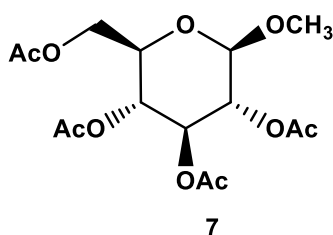
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz; DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 163,5; 150,2; 132,7; 130,5; 121,2; 81,8; 56,4; 27,7.

**IV (KBr):**  $\tilde{\nu}$  = 1708  $\text{cm}^{-1}$  (C=O).

**Faixa de fusão:** 165-167 °C.

**PS(+)-MS:** 236,04 [M-I]<sup>+</sup>.

### 3.1.8. Síntese do 1-metoxi-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (7)



Em um balão de 50 mL adicionaram-se, 500 mg (2,6 mmol) do metoxi  $\beta$ -D-glucopiranosídeo e 838,0  $\mu$ L (10,4 mmol) de piridina, em 25,0 mL de ACN. A mistura foi mantida a 0 °C e posteriormente, adicionou-se 892,0  $\mu$ L (12,5 mmol) de cloreto de acetila. A reação foi aquecida, mantida em refluxo e agitação magnética durante 24 horas. Acompanhou-se a reação por CCD, utilizando uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, seguida de aquecimento, para a revelação. Ao final da reação, o pH foi ajustado para

aproximadamente 5 com uma solução de ácido clorídrico e posteriormente, realizou-se uma extração com acetato de etila. Após a fase orgânica ser concentrada, adicionou-se hexano frio e o precipitado branco foi filtrado (89 %).<sup>[50]</sup>

**RMN de <sup>1</sup>H** (400 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 5,19 (*t*, 1H, *J* = 8,1 Hz); 4,83 (*t*, 1H, *J* = 7,6 Hz); 4,71-4,62 (*m*, 2H); 4,12 (*dd*, 1H, *J*<sub>1</sub> = 12,2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 4,9 Hz); 3,94 (*m*, 2H); 3,31 (*s*, 3H) 1,95-1,86 (3x *s*, 12H).

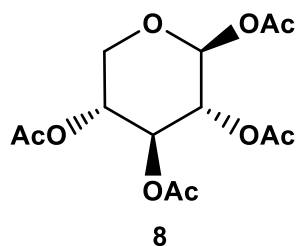
**RMN de <sup>13</sup>C** (100 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 170,0; 169,5; 169,3; 169,1; 100,1; 72,1; 70,8; 70,5; 68,2; 61,7; 56,2; 20,5; 20,4; 20,3; 20,2.

**IV (KBr):**  $\tilde{\nu}$  = 1744 cm<sup>-1</sup> (C=O).

**Faixa de fusão:** 105-108 °C.

**PS(+)-MS:** 385,08 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 3.1.9. Síntese do 1,2,3,4-tetra-*O*-acetil- $\beta$ -D-xilopiranosídeo (8)



Em um balão de 25 mL, adicionaram-se 1,0 g (6,65 mmol) de D-xilopiranosose, 545 mg (6,65 mmol) de acetato de sódio e 7,5 mL (79 mmol) de anidrido acético. A reação foi mantida a 80 °C e agitação magnética constante, durante 24 horas, e acompanhada por CCD, utilizando uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, seguida de aquecimento, para a revelação. Ao final, a reação foi vertida em um banho de gelo moído e realizou-se uma extração com diclorometano. A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de bicarbonato de sódio e água, até pH 7. Adicionou-se Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se e concentrou-se a fase orgânica. O óleo amarelo foi cristalizado em etanol (45%).<sup>[51]</sup>

**RMN de <sup>1</sup>H** (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 5,72 (*d*, 1H, *J* = 6,9 Hz); 5,21 (*t*, 1H, *J* = 8,2 Hz); 4,95-5,06 (*m*, 2H); 4,15 (*dd*, 1H, *J*<sub>1</sub> = 8,4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,5 Hz); 3,53 (*dd*, 1H, *J*<sub>1</sub> = 4,9 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7,1 Hz); 2,06-2,11 (3x *s*, 12H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 169,84; 169,32; 169,05; 92,06; 77,38; 77,06; 76,74; 71,02; 69,51; 68,34; 62,82; 20,82; 20,73; 20,67; 20,61$ .

**IV (KBr):**  $\tilde{\nu} = 1750 \text{ cm}^{-1}$  (C=O).

**Faixa de fusão:** 131-133 °C.

**PS(+)-MS:** 341,03 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 3.2. Procedimento Experimental: Reação de Oxidação de Álcoois

Aplicaram-se no papel triangular 5  $\mu\text{L}$  (0,75  $\mu\text{mol}$ ) de uma solução de  $\text{RuCl}_3$  (0,15  $\text{mol.L}^{-1}$ ) em ACN grau HPLC, 5  $\mu\text{L}$  (7,5  $\mu\text{mol}$ ) de uma solução de TBHP (1,50  $\text{mol.L}^{-1}$ ) e 5  $\mu\text{L}$  (0,75  $\mu\text{mol}$ ) de uma solução do **composto 1** (0,15  $\text{mol.L}^{-1}$ ), previamente caracterizado, em  $\text{H}_2\text{O}$  deionizada e ACN grau HPLC (1:1 v/v). Os reagentes foram aplicados no papel nesta mesma ordem. As análises por PS-MS foram realizadas em 0, 10, 30 e 60 minutos, empregando ACN grau HPLC, seguindo as condições descritas anteriormente.

Os testes realizados submetendo o papel com os reagentes a radiação UV foram feitos empregando uma lâmpada UV Techlux 6 W (Belo Horizonte, Brasil), mantendo os papéis em uma câmara fechada, numa distância de aproximadamente 20 cm da lâmpada. Já os testes realizados submetendo o papel com os reagentes ao aquecimento foram feitos colando o papel com pequenos pedaços de fita adesiva em uma placa de Petri. Deste modo, um secador foi posicionado perpendicularmente a essa placa, de modo que, a temperatura na região dos papéis fosse de aproximadamente 80 °C. A temperatura foi acompanhada durante todo o experimento através de um termômetro colocado ao lado do papel. Destaca-se que a ordem de adição, bem como, a solução de  $\text{RuCl}_3$ , TBHP, **composto 1** e as condições nas análises por PS-MS foram as mesmas utilizadas inicialmente. Os papéis foram retirados para a análise por PS-MS em 10 e 60 minutos em ambos os experimentos.

Para avaliar a atividade catalítica de outros metais, como: paládio, platina e ferro; foram feitas soluções de cada composto ( $\text{PdCl}_2$ ,  $\text{PtCl}_4\text{K}_2$  e  $\text{FeCl}_3$ ) com concentrações iguais à solução de  $\text{RuCl}_3$ , descrita anteriormente. Com relação ao teste empregando  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ressalta-se que a solução preparada possuía a mesma concentração da solução de

TBHP descrita inicialmente. Destaca-se que a ordem de adição, bem como, a solução de RuCl<sub>3</sub>, TBHP, **composto 1** e as condições das análises por PS-MS empregadas nesses testes, foram as mesmas utilizadas inicialmente.

O teste da reação em fase condensada foi realizado em um balão de 10 mL, solubilizando 15,6 mg (0,075 mmol) de RuCl<sub>3</sub>, 500 µL (0,75 mmol) de uma solução de TBHP 1,50 mol.L<sup>-1</sup> (preparada em ACN grau HPLC) e 22,0 mg (0,075 mmol) de **composto 1** em uma mistura de 300 µL de ACN e 200 µL de H<sub>2</sub>O. A reação foi mantida sob agitação constante, em temperatura ambiente, e alíquotas foram coletadas em 0, 10, 30 e 60 minutos para a análise de PS-MS. Além disso, uma alíquota foi retirada após 24 horas.

Experimentos de controle (brancos) foram realizados aplicando separadamente no papel cada reagente (RuCl<sub>3</sub>, TBHP e **composto 1**) e os analisando por PS-MS nas mesmas condições descritas anteriormente. Além disso, analisou-se a combinação entre todos os reagentes (ex.: RuCl<sub>3</sub> e TBHP). Realizou-se a análise dos brancos nos testes em aquecimento e radiação UV. Ressalta-se que apenas a combinação dos três reagentes (RuCl<sub>3</sub>, TBHP e **composto 1**) gerou os resultados apresentados neste trabalho.

### 3.3. Procedimento Experimental: Reação Enzimática

Aplicaram-se no papel 5 µL de uma solução da **lipase BCL** (10 mg.mL<sup>-1</sup>) em H<sub>2</sub>O deionizada e 5 µL (1,4 µmol) de uma solução do **substrato** (0,028 mol.L<sup>-1</sup>), previamente caracterizado, em ACN grau HPLC. Os reagentes foram aplicados no papel nesta mesma ordem. As análises por PS-MS foram realizadas em 0, 10, 30 e 60 minutos, empregando ACN grau HPLC, seguindo as condições descritas anteriormente.

Experimentos de controle (brancos) foram feitos aplicando separadamente no papel cada reagente (**lipase BCL** e **substrato**) e analisando por PS-MS nas mesmas condições dos testes. Além disso, analisou-se a adição de H<sub>2</sub>O ao substrato, sem a presença da enzima, para avaliar a reação de hidrólise na ausência da **lipase BCL**.

### 3.4. Procedimento Experimental: Reação Multicomponente

Aplicaram-se no papel 1,0 µL (0,027 µmol) de uma solução de **ácido fórmico** (0,027 mol.L<sup>-1</sup>) em MeOH grau HPLC, 5 µL (0,29 µmol) de uma solução de **p-bromoanilina** (0,06 mol.L<sup>-1</sup>) em MeOH grau HPLC, 5 µL (0,58 µmol) de uma solução do **composto 2**

(0,12 mol.L<sup>-1</sup>), previamente caracterizado, em H<sub>2</sub>O deionizada e ACN grau HPLC (1:1 v/v) e 1,0 µL (13 µmol) de uma solução de **2,3-diidrofurano** (>98%). Os reagentes foram aplicados no papel nesta mesma ordem. As análises por PS-MS foram realizadas em 0, 10 e 30 minutos, empregando MeOH grau HPLC, seguindo as condições descritas anteriormente.

Para avaliar a atividade catalítica de outros ácidos, como o **ácido *p*-sulfônico cálix[4]areno** e **ácido acético**, foram feitas soluções de cada composto com concentrações iguais à solução de **ácido fórmico**, descrita anteriormente. Com relação aos testes empregando **2,3-diidropirano** e **estireno**, ressalta-se que as soluções preparadas possuíam a mesma concentração da solução de **2,3-diidrofurano** descrita acima. Destaca-se que a ordem de adição, bem como, a solução de ***p*-bromoanilina** e **composto 2** e as condições das análises por PS-MS empregadas nesses testes, foram as mesmas descritas inicialmente.

Os testes utilizando outros aldeídos, como: ***p*-nitrobenzaldeído**, ***p*-anisaldeído**, ***p*-metoxicinamaldeído**, **citronelal** e **valeraldeído**; foram feitos empregando uma solução de cada aldeído com a mesma concentração do **composto 2**. Destaca-se que a ordem de adição, bem como, as soluções de **ácido fórmico**, ***p*-bromoanilina** e **2,3-diidrofurano** e as condições das análises por PS-MS empregadas nesses testes, foram as mesmas descritas inicialmente.

Experimentos de controle (brancos) foram realizados aplicando separadamente no papel cada reagente (***p*-bromoanilina**, **2,3-diidrofurano** e **composto 2**) e os analisando por PS-MS nas mesmas condições descritas anteriormente. Além disso, analisou-se a combinação entre todos os reagentes (ex.: **2,3-diidrofurano** e **composto 2**). Ressalta-se que apenas a combinação dos três reagentes (***p*-bromoanilina**, **2,3-diidrofurano** e **composto 2**), na presença do **ácido fórmico**, gerou os resultados apresentados neste trabalho.

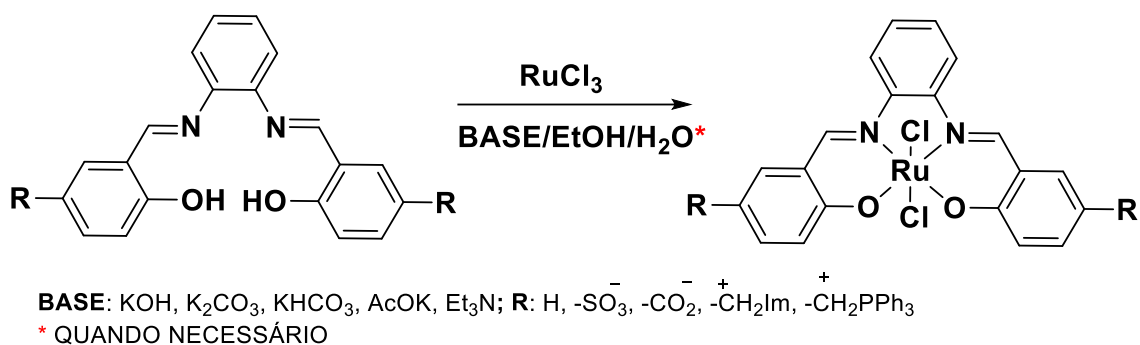
## 4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 4.1. Reação de Oxidação de Álcoois

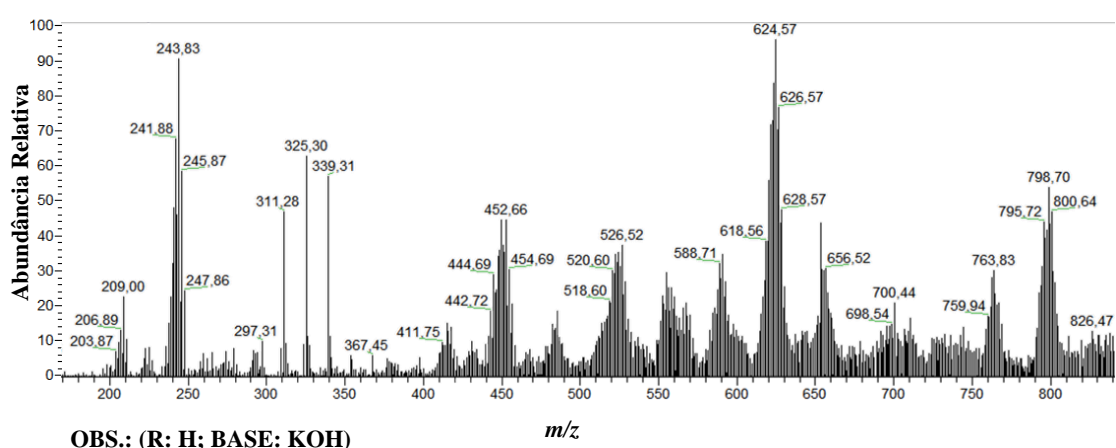
A ideia de se estudar reações de oxidação de álcoois em superfície surgiu a partir de um trabalho desenvolvido no nosso grupo de pesquisa, onde empregou-se complexos de rutênio derivados de bases de Schiff, na reação de oxidação de álcoois em fase

condensada. Deste modo, o primeiro passo deste trabalho foi a tentativa de síntese desses complexos de rutênio (**Esquema 1**). Entretanto, apesar das várias tentativas, não foi possível obtê-los neste trabalho.

As reações foram acompanhadas por CCD e analisadas através da espectrometria de massas. Variaram-se parâmetros experimentais, como solvente e base utilizada, mas ainda assim não se observou a formação do composto desejado. Na maioria dos testes realizados, observou-se a hidrólise do ligante devido ao uso de base. Além disso, acredita-se que houve a formação de *clusters* de rutênio, observados nos espectros de massas mediante análise dos padrões isotópicos (**Figura 16**). Esses fatores podem dificultar o processo de complexação e obtenção dos complexos. Deste modo, optou-se por utilizar uma fonte mais simples de rutênio ( $\text{RuCl}_3$ ) nas reações de oxidação em superfície.



**Esquema 1:** Síntese dos complexos de rutênio.

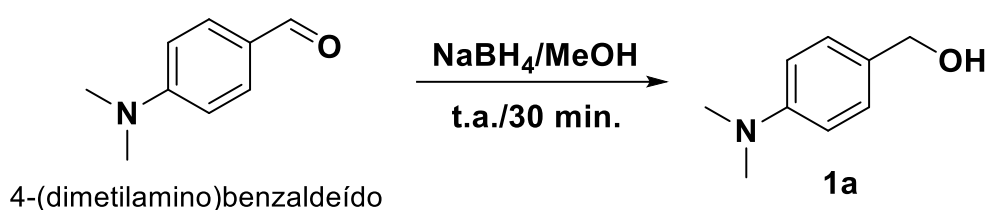


**Figura 16:** Espectro ESI(-)-MS obtido a partir da síntese do complexo de rutênio em EtOH.



Assim, o próximo passo foi a escolha do álcool que seria utilizado nos testes de oxidação em superfície. De acordo com trabalhos anteriores<sup>[52]</sup>, álcoois benzílicos foram oxidados a aldeídos com bons rendimentos. Então, decidiu-se modificar a estrutura do **álcool *p*-dimetilaminobenzílico (1)**, com o objetivo de obter um composto iônico, melhorando sua detecção no espectrômetro de massas e, posteriormente, dos produtos que poderiam se formar na reação.

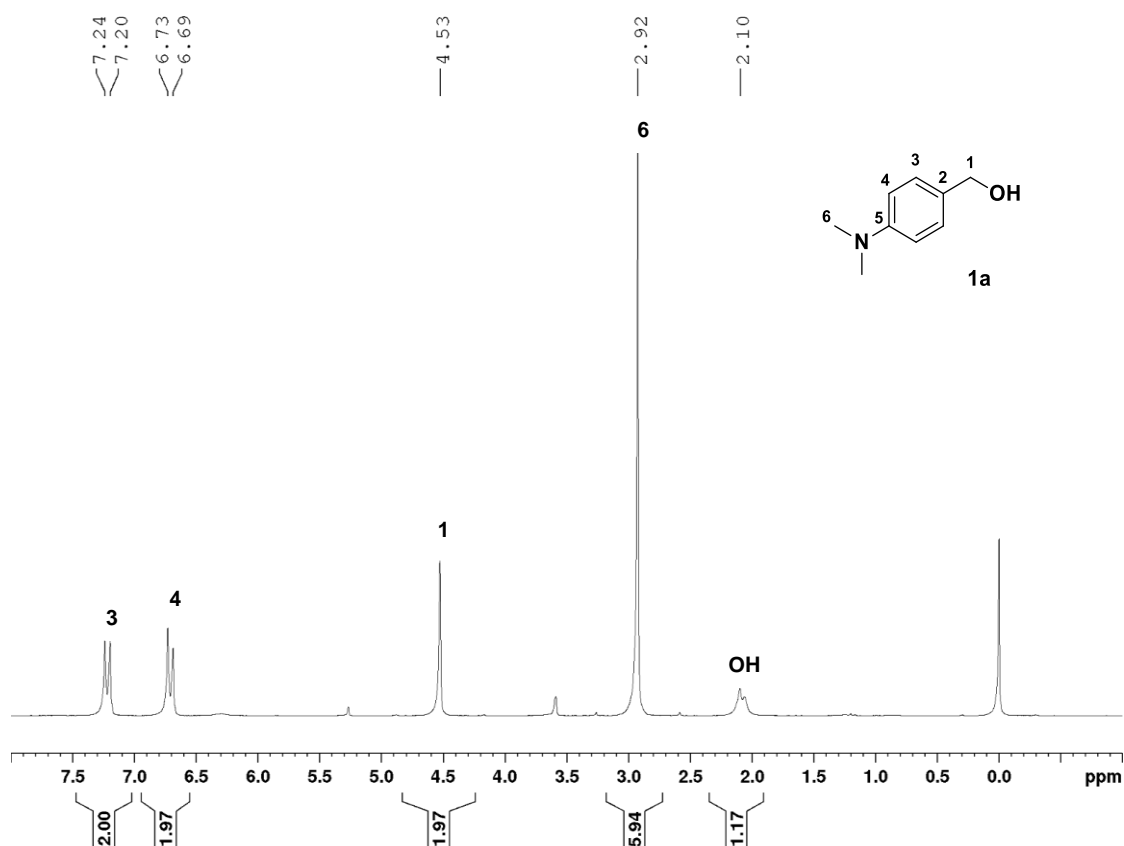
A síntese do **composto 1** foi realizada em duas etapas. A primeira etapa consistiu na reação de redução do **4-(dimetilamino)benzaldeído** empregando boroidreto de sódio em metanol, à temperatura ambiente, durante 30 minutos (**Esquema 2**).



**Esquema 2:** Síntese do **composto 1a**.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H do **composto 1a** (**Figura 17, página 29**) apresenta entre 7,30 e 6,60 ppm os sinais referentes aos hidrogênios do anel aromático. Dois simpletos em 4,53 e 2,92 ppm referente aos hidrogênios metílicos e metilênicos, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>, respectivamente. Destaca-se que as integrações dos sinais são coerentes com a estrutura proposta.

Os valores dos sinais do RMN de <sup>1</sup>H descritos na literatura<sup>[46]</sup> para o **composto 1a** estão apresentados na **Tabela 1**. Comparando esses valores aos obtidos experimentalmente para o **composto 1a**, mostrado na **Figura 17, página 29**, conclui-se que houve sucesso em sua síntese.

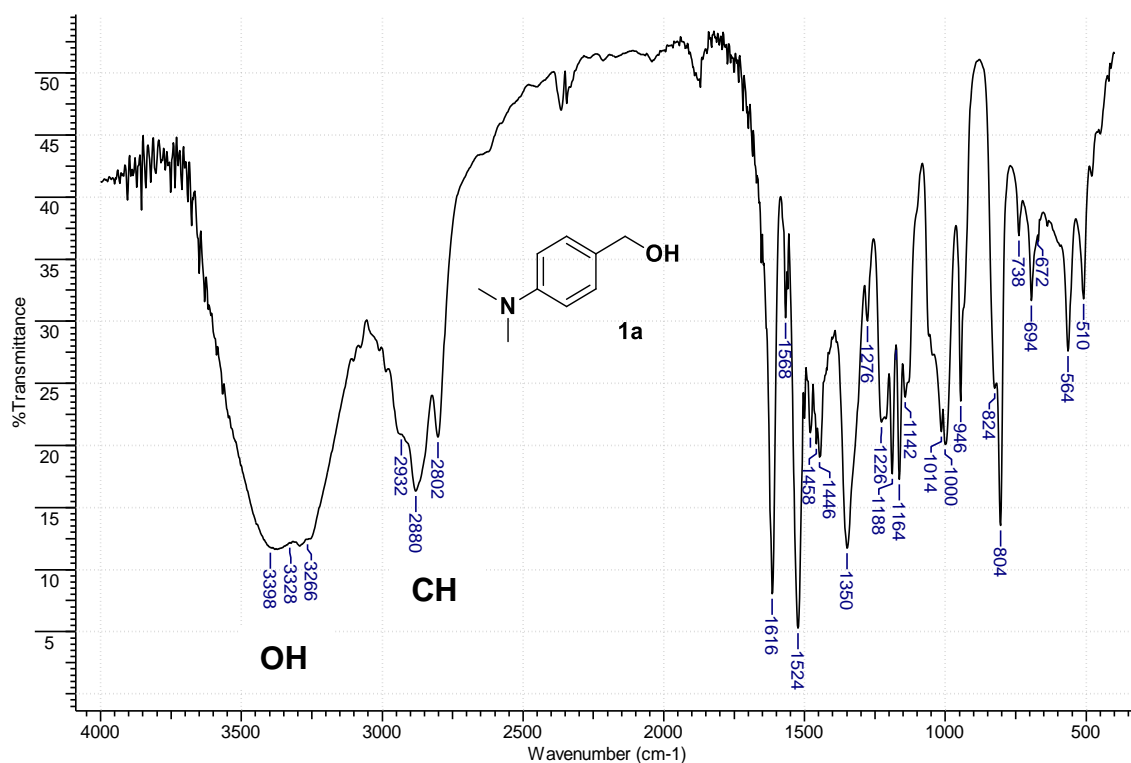


**Figura 17:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do **composto 1a**.

**Tabela 1:** Comparação entre os sinais do RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) para o **composto 1a**.

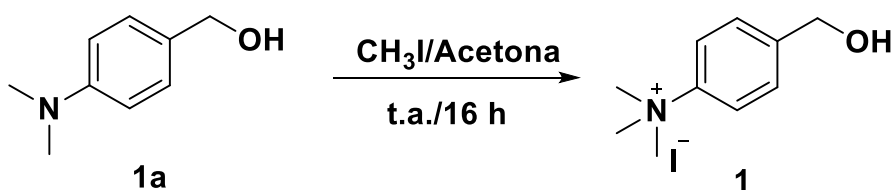
HIDROGÊNIOS	LITERATURA <sup>[46]</sup> (ppm)	EXPERIMENTAL (ppm)
$\text{CH}_3$	2,95 ( <i>s</i> , 6H)	2,92 ( <i>s</i> , 6H)
$\text{CH}_2$	4,57 ( <i>s</i> , 2H)	4,53 ( <i>s</i> , 2H)
AROMÁTICOS	7,25 ( <i>d</i> , $J = 9,0$ Hz, 2H) 6,73 ( <i>d</i> , $J = 9,0$ Hz, 2H)	7,22 ( <i>d</i> , $J = 8,4$ Hz, 2H) 6,71 ( <i>d</i> , $J = 8,4$ Hz, 2H)

O espectro na região de IV do **composto 1a** (**Figura 18, página 30**) mostra bandas em torno de  $3300\text{ cm}^{-1}$  e  $2800\text{ cm}^{-1}$  características do estiramento da ligação O-H e estiramento da ligação C-H, respectivamente. Além disso, destaca-se que não há uma banda característica do estiramento C=O de aldeído, presente no material de partida.



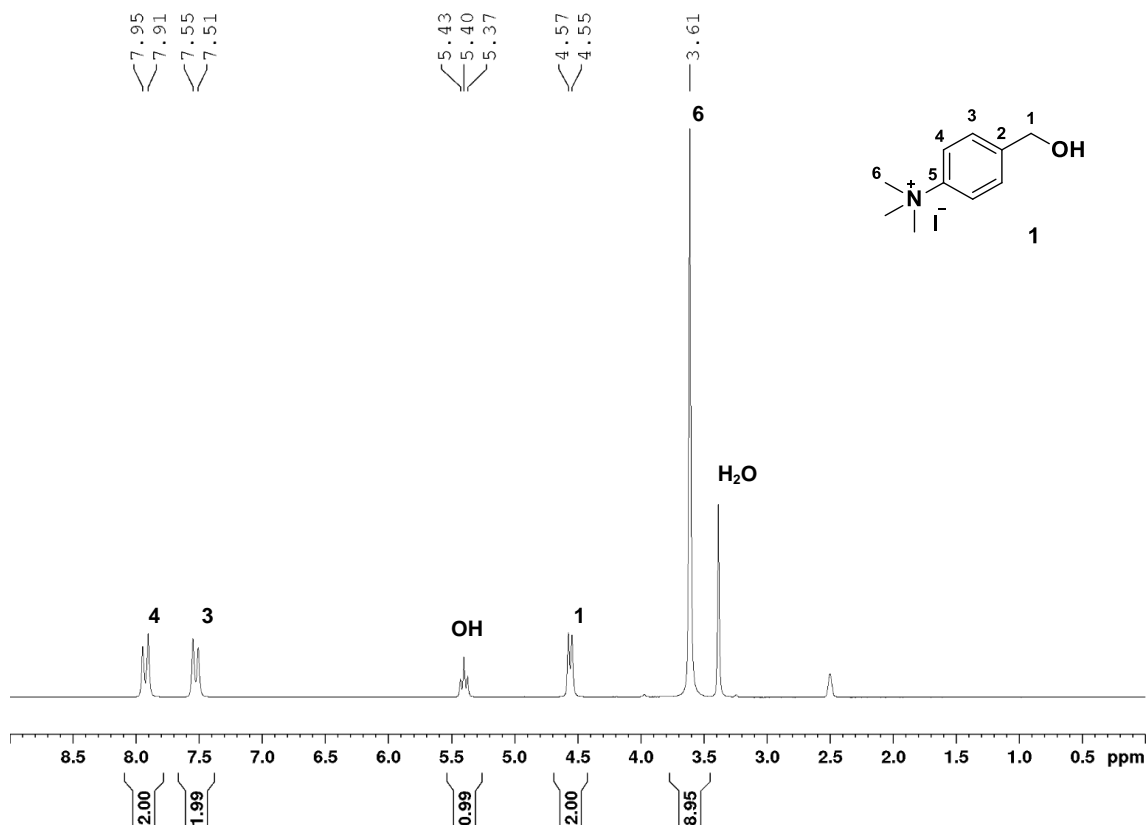
**Figura 18:** Espectro na região do infravermelho do **composto 1a** (KBr).

A segunda etapa para a síntese do **composto 1** consistiu na precipitação de um sal de amônio quaternário, resultando na criação do sítio iônico na molécula. É uma reação onde se empregou iodeto de metila, à temperatura ambiente, em acetona, durante 16 horas (**Esquema 3**).



**Esquema 3:** Síntese do **composto 1**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 1** (**Figura 19**, página 31) apresenta entre 8,00 e 7,50 ppm os sinais referentes aos hidrogênios do anel aromático. Há um tripleto em 5,40 ppm referente ao hidrogênio da hidroxila e um duplete em 4,56 ppm referente aos hidrogênios metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) e outro simpleto em 3,61 ppm referente aos hidrogênios metílicos ( $\text{CH}_3$ ). Destaca-se que as integrações dos sinais são coerentes com a estrutura proposta.



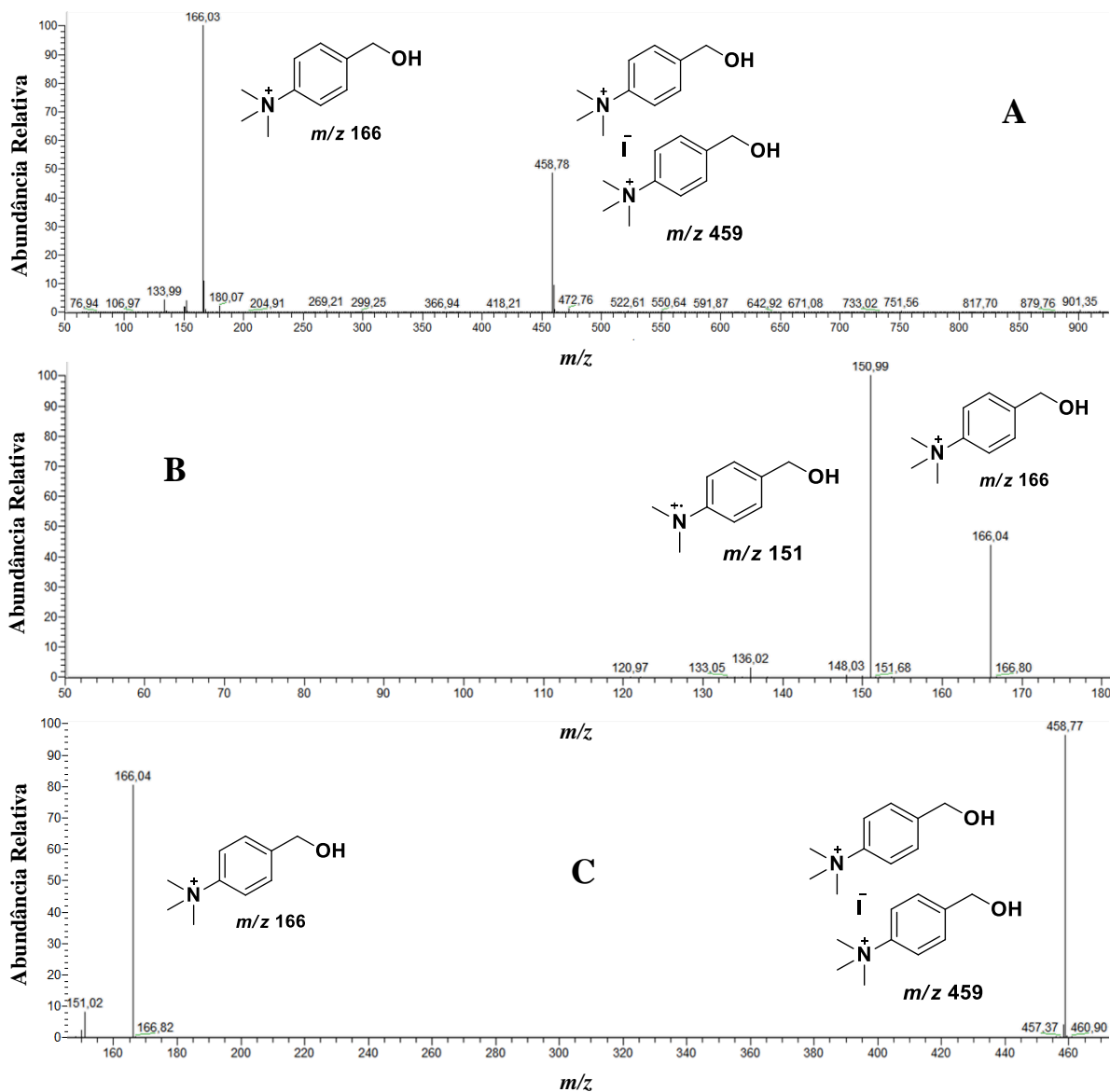
**Figura 19:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do **composto 1**.

Os valores dos sinais do RMN de  $^1\text{H}$  descritos na literatura<sup>[46]</sup> para o **composto 1** estão apresentados na Tabela 2. Comparando os valores dos sinais com os obtidos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 1**, mostrado na **Figura 19**, conclui-se que a metodologia adotada foi efetiva na síntese do **composto 1**.

**Tabela 2:** Comparação entre os sinais do RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) para o **composto 1**.

HIDROGÊNIO	LITERATURA <sup>[46]</sup> (ppm)	EXPERIMENTAL (ppm)
$\text{CH}_3$	3,59 ( <i>s</i> , 9H)	3,61 ( <i>s</i> , 9H)
$\text{CH}_2$	4,57 ( <i>s</i> , 2H)	4,56 ( <i>d</i> , $J = 6,0$ Hz, 2H)
AROMÁTICOS	7,90 ( <i>d</i> , $J = 9,0$ Hz, 2H)	7,93 ( <i>d</i> , $J = 8,7$ Hz, 2H)
	7,53 ( <i>d</i> , $J = 9,0$ Hz, 2H)	7,53 ( <i>d</i> , $J = 8,7$ Hz, 2H)

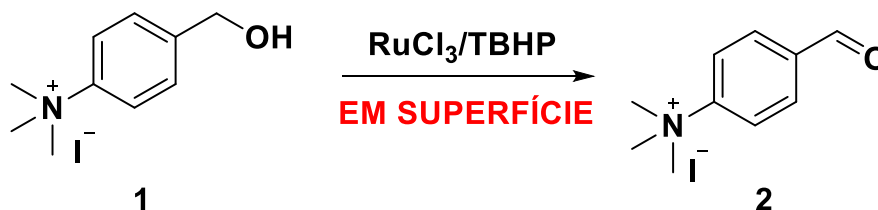
Uma análise do espectro de massas do **composto 1** revelou um sinal intenso de  $m/z$  166, de acordo com a massa nominal esperada, e outro sinal de  $m/z$  459. O espectro de fragmentação do íon  $m/z$  166 mostrou uma perda de 15 Da, consistente com a perda de radical metila. A fragmentação obtida do íon  $m/z$  459, mostrou uma perda de massa de 293 Da, formando o íon  $m/z$  166. Portanto, provavelmente, o íon  $m/z$  459 é um dímero de iodo (**Figura 20**).



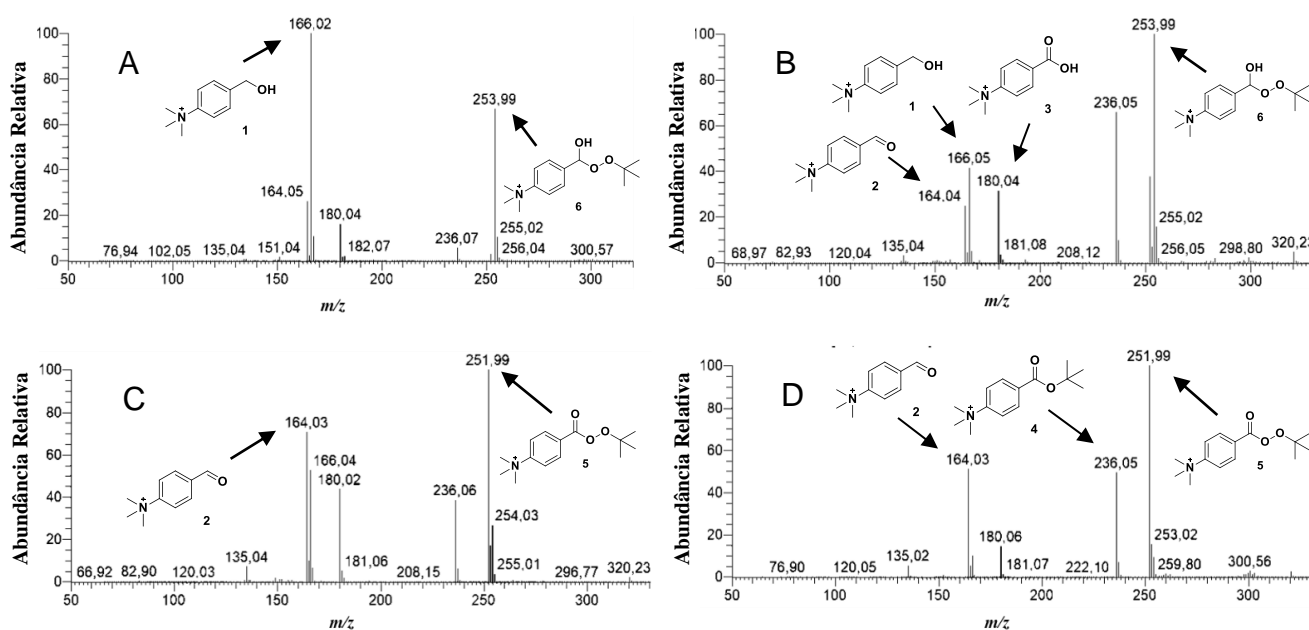
**Figura 20: PS(+)-MS do composto 1 (Espectro A)**

PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  166 (Espectro B) e do íon  $m/z$  459 (Espectro C).

O próximo passo foi empregar o **composto 1** na reação de oxidação em superfície. Baseado nos trabalhos anteriores do grupo de pesquisa<sup>[52]</sup>, o TBHP apresentou bons resultados, então optou-se por mantê-lo como oxidante (**Esquema 4**).

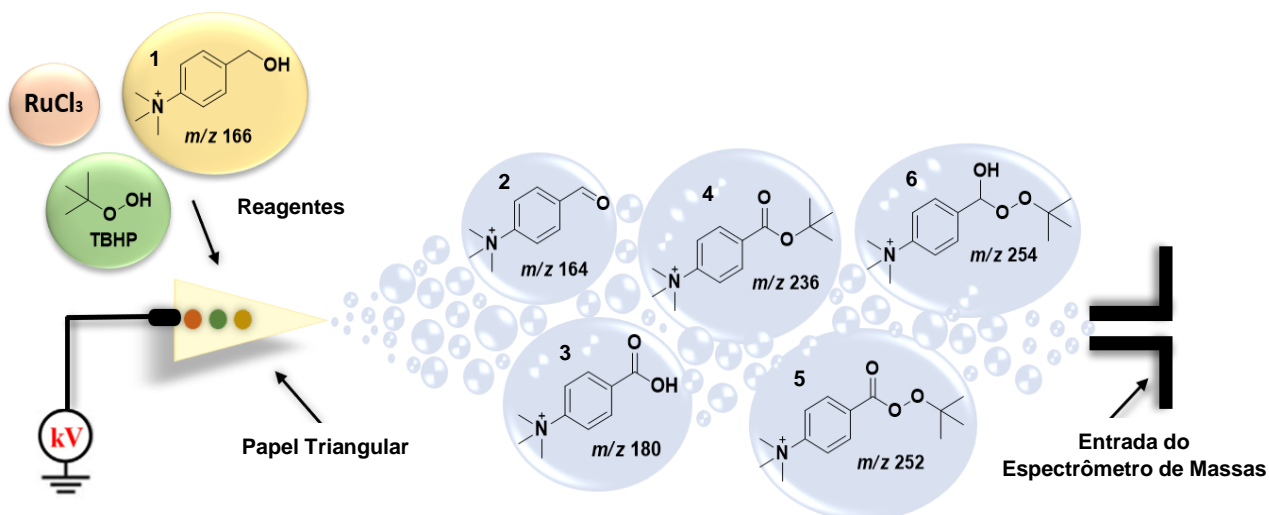


**Esquema 4:** Reação de oxidação em superfície.



**Figura 21:** PS(+)-MS da reação em superfície em 0, 10, 30 e 60 minutos (A, B, C e D, respectivamente).

A **Figura 21** mostra a mudança no perfil dos espectros em quatro diferentes momentos, indicando que a reação ocorreu na superfície do papel e não nas microgotas do *spray*, caso contrário, não ocorreria mudança nas intensidades dos íons ao longo do tempo. Destaca-se que houve a conversão do **composto 1** em aldeído e outros quatro compostos ao final de 60 minutos, que serão discutidos a seguir (**Figura 22, página 34**).

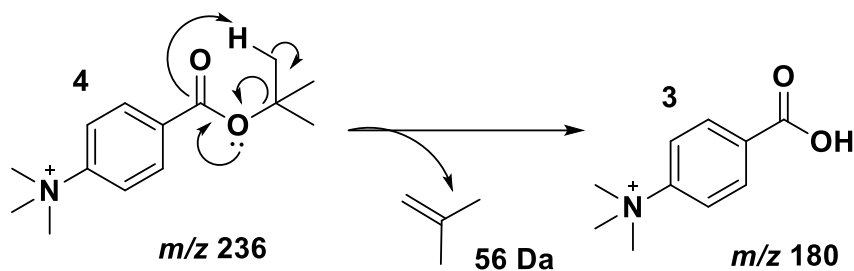


**Figura 22:** Representação esquemática dos compostos (2-6) formados na reação de oxidação do **composto 1** em superfície empregando TBHP e  $\text{RuCl}_3$ .

O íon de  $m/z$  164 corresponde ao **aldeído 2**, sendo sua formação já esperado. A fragmentação deste íon mostrou uma perda de 15 Da, referente a um radical metila. (ANEXO – Figura 1). O íon de  $m/z$  180 se refere ao **ácido carboxílico 3**. O espectro de fragmentação deste íon mostrou uma perda de 15 Da, relacionado à perda do radical metila, (ANEXO – Figura 2). Existem duas hipóteses para a formação desta espécie durante a reação: 1) a presença de água na solução padrão do **álcool 1** que facilitaria a formação do hidrato a partir do íon  $m/z$  164 (**aldeído 2**), seguido de uma oxidação; 2) o sistema reacional é capaz de oxidar o íon  $m/z$  164 (**aldeído 2**) o ácido carboxílico.

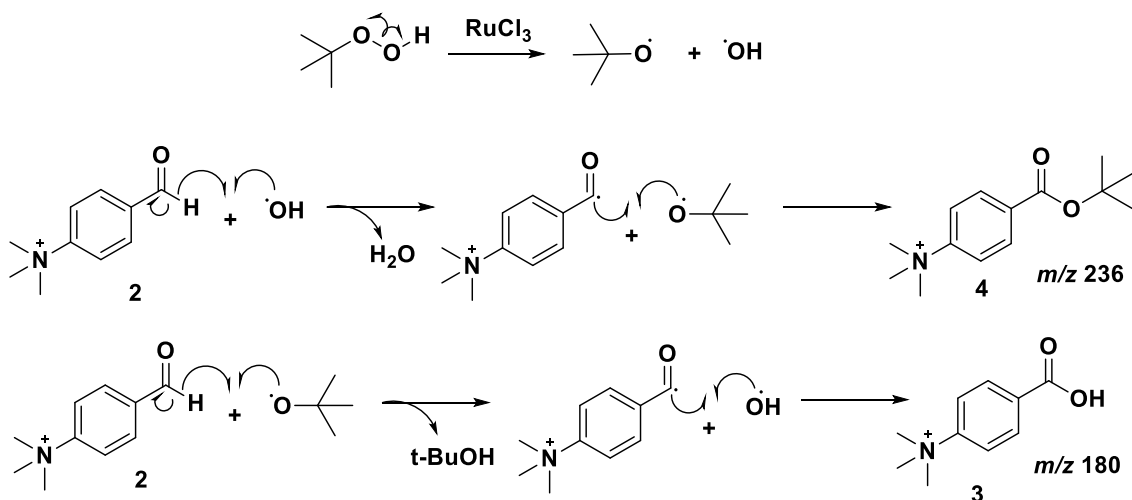
Para avaliar a primeira hipótese, trocou-se a água por DMSO durante o preparo da solução padrão do **álcool 1**. Entretanto, não houve mudança no perfil do espectro, ou seja, formaram-se os mesmos íons vistos inicialmente. Deste modo, para avaliar a segunda hipótese, aplicou-se no papel o **aldeído 2**,  $\text{RuCl}_3$  e TBHP, e o resultado mostrou a formação do ácido carboxílico, levando a conclusão que a segunda hipótese seja a mais provável. Portanto, acredita-se que o íon  $m/z$  180 (**ácido carboxílico 3**) se origina do íon  $m/z$  164 (**aldeído 2**) através de um mecanismo de oxidação radicalar, que será discutido posteriormente.

O íon  $m/z$  236 se refere ao **éster 4**. O espectro de fragmentação (ANEXO – Figura 3) deste íon mostrou uma perda de 56 Da, relacionado à perda de 2-metil-propeno, consistente com a estrutura proposta (**Figura 23, página 35**).



**Figura 23:** Mecanismo de fragmentação proposto para o íon  $m/z$  236.

De acordo com a literatura, sais de cobre podem facilitar a degradação de peróxidos de *tert*-butila à radicais *tert*-butóxidos. Esses radicais formados reagem com o aldeído presente no meio e desencadeiam reações que levam à formação de ésteres de *tert*-butila.<sup>[53]</sup> Portanto, analogamente, acredita-se que o rutênio facilite a degradação do TBHP em radicais *tert*-butóxidos e hidroxilas e assim, possibilite a formação do **éster 4** (íon de  $m/z$  236) e **ácido carboxílico 3** (íon de  $m/z$  180).



**Figura 24:** Mecanismo proposto para a formação do **éster 4** (íon  $m/z$  236) e **ácido carboxílico 3** (íon  $m/z$  180).

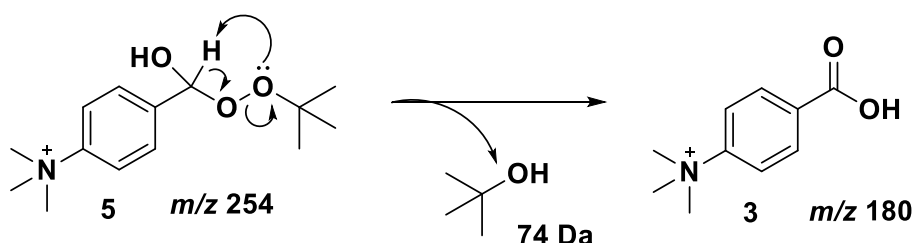
O mecanismo proposto na **Figura 24** se inicia com a quebra homolítica da ligação O-O do TBHP na presença de rutênio, e dois radicais são formados: radical hidroxila e radical *tert*-butóxido. Posteriormente, dois caminhos reacionais são possíveis: o primeiro, o **éster 4** (íon de  $m/z$  236) é formado, a partir da reação entre o radical *tert*-butóxido e



**aldeído 2**; o segundo, o radical hidroxila reage com o **aldeído 2**, gerando o **ácido carboxílico 3** (íon de  $m/z$  180).

O íon de  $m/z$  254 é resultado de uma simples adição do TBHP ao **aldeído 2** (íon de  $m/z$  164), formando assim, uma espécie de hemiperacetal. Essas espécies são formadas quando compostos carbonílicos (aldeídos e cetonas) e álcoois reagem por meio de catálise ácida.<sup>[54]</sup> Neste caso, acredita-se que a alta nucleofilicidade do oxigênio terminal do TBHP, juntamente com a alta eletrofilicidade da carbonila do **aldeído 2** favoreceu a formação desta espécie.

O espectro de fragmentação (ANEXO – Figura 5) do **hemiperacetal 6** (íon  $m/z$  254) apresenta o íon de  $m/z$  180 (**ácido carboxílico 3**), através da perda de 74 Da (**Figura 25**). Essa perda é coerente com a estrutura proposta.

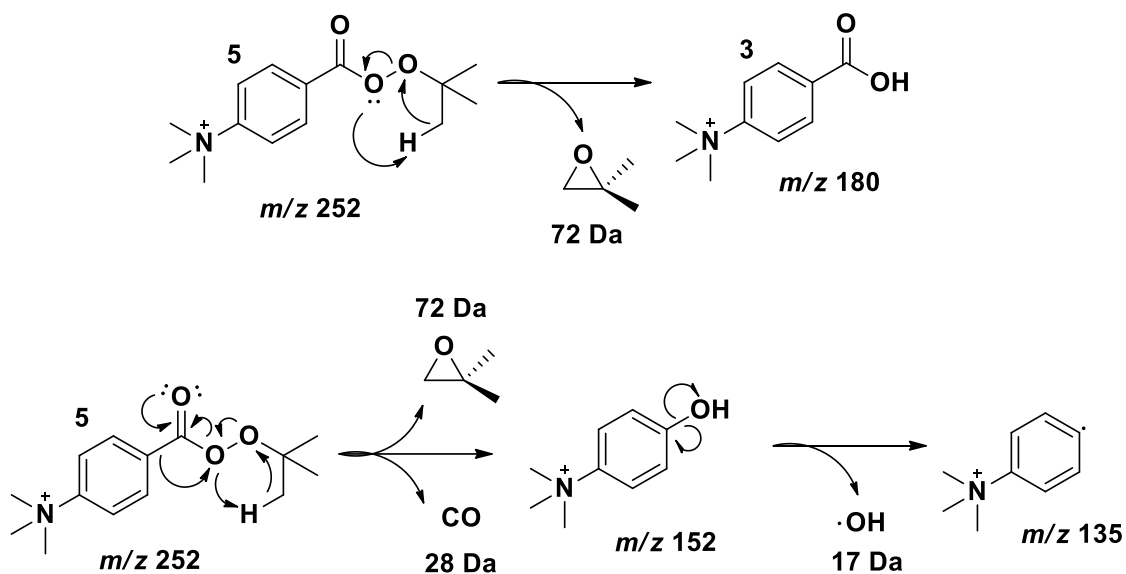


**Figura 25:** Mecanismos de fragmentação propostos para o íon  $m/z$  254.

O íon de  $m/z$  252 é referente ao **peréster 5**. A fragmentação deste íon (ANEXO – Figura 4) mostrou a formação de três outros íons:  $m/z$  180,  $m/z$  152 e  $m/z$  135. O íon de  $m/z$  180, discutido anteriormente, é referente ao **ácido carboxílico 3** após a perda de 72 Da a partir do íon  $m/z$  252. Para o íon de  $m/z$  152 é proposto uma estrutura fenólica e para o íon de  $m/z$  135 uma estrutura cátion-radicalar. Devido à ausência dos íons de  $m/z$  152 e  $m/z$  135 no espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  180 (**ácido carboxílico 3**), acredita-se que estes íons se originam através de outro mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  252 (**Figura 26, página 37**).

A síntese de *tert*-butil perésteres é descrita na literatura partindo-se de cloretos de ácido na presença de TBHP<sup>[55]</sup> ou entre aldeídos e TBHP, catalisada por iodeto, por meio de um mecanismo radicalar.<sup>[56]</sup> A primeira via é improvável devido à ausência de uma rota de síntese que possibilite a formação de um cloreto de ácido no meio reacional. A segunda via é uma alternativa a ser avaliada devido à presença de iodeto como contra-íon

no **álcool 1**. Portanto, para avaliar esta segunda hipótese, adicionou-se a uma alíquota da solução do **álcool 1**, algumas gotas de uma solução de nitrato de prata para que ocorresse a precipitação do iodeto em forma de iodeto de prata. Após a centrifugação, uma alíquota do sobrenadante foi adicionado ao papel juntamente com TBHP e RuCl<sub>3</sub>, mas não houve mudança no perfil dos espectros, ou seja, foram vistos os mesmos íons descritos anteriormente. Portanto, propõem-se que ocorra uma oxidação do **hemiperacetal 6** (*m/z* 254) na presença de rutênio, formando assim, o **peréster 5** (*m/z* 252).



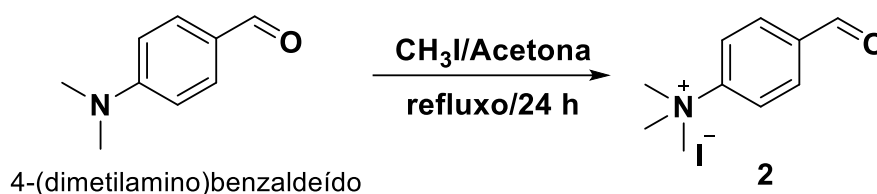
**Figura 26:** Mecanismo de fragmentação para o íon de *m/z* 252.

Logo, após analisar e reunir os resultados mostrados anteriormente, é possível construir um caminho lógico de como as reações se processam em superfície. Primeiramente, o rutênio oxida o **álcool 1** ao **aldeído 2**. Assim que formado, o **aldeído 2** é atacado pelo TBHP formando o **hemiperacetal 6**, que posteriormente é oxidado a **peréster 5** na presença de rutênio. Além disso, o rutênio é responsável por degradar o TBHP em radicais hidroxila e *terc*-butil hidróxido, que reagem com o **aldeído 2**, resultando na formação do **ácido carboxílico 3** e **éster 4**. Portanto, é perceptível que o rutênio tem um papel importante nas reações descritas anteriormente. Além disso, destaca-se que a baixa intensidade do sinal referente ao **aldeído 2** (*m/z* 164) pode ser atribuída à importância desse composto na formação dos outros íons.

Na tentativa de compreender as reações que resultam nas espécies descritas anteriormente, o **aldeído 2** foi adicionado ao papel juntamente com TBHP e RuCl<sub>3</sub> e não

houve alteração no perfil do espectro, ou seja, todas as espécies (3-6) são detectadas. O **ácido carboxílico 3** ( $m/z$  180) também foi aplicado juntamente com TBHP e  $\text{RuCl}_3$  para avaliar se, ao invés do **aldeído 2** ( $m/z$  164), o íon de  $m/z$  180 seria o responsável por formar os compostos **éster 4** e **peréster 5**. Entretanto, não houve mudança no perfil do espectro, mostrando apenas o sinal  $m/z$  180. Deste modo, o mais provável, como dito anteriormente, é que os compostos se originem do **aldeído 2**.

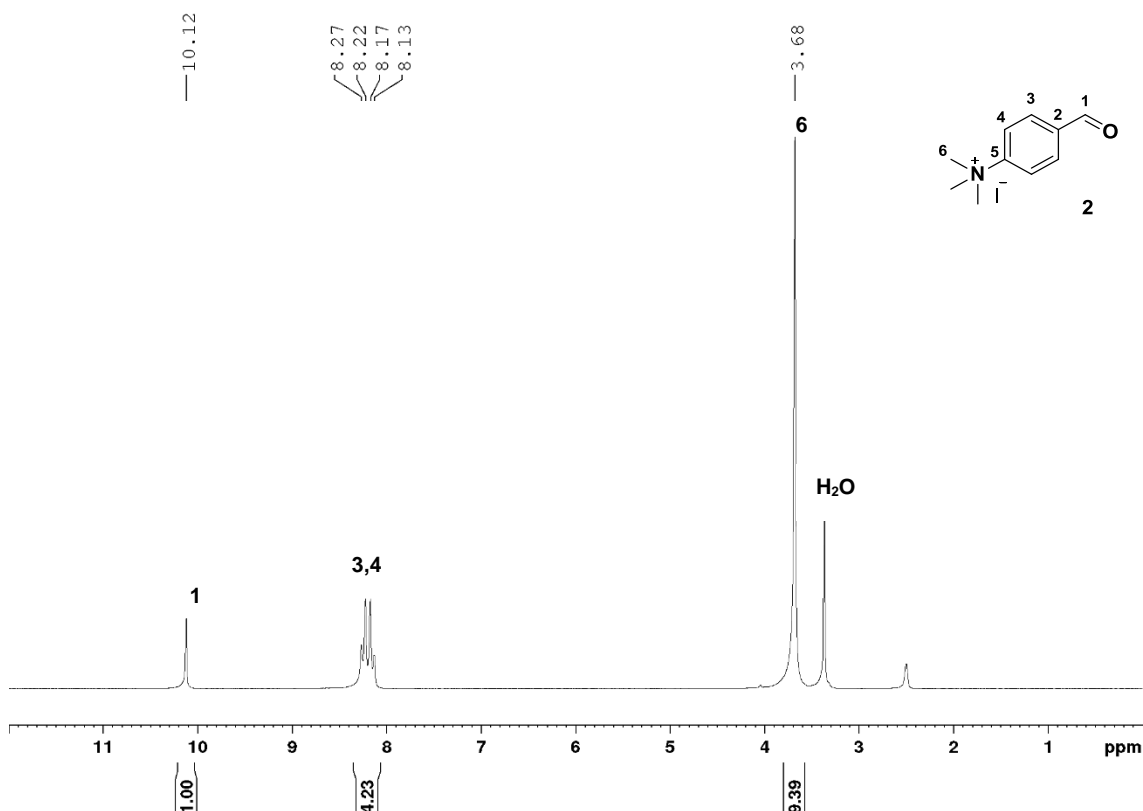
Para auxiliar na elucidação estrutural dos íons através do padrão de fragmentação e compreender como essas espécies são formadas, optou-se por sintetizar os compostos formados na reação em superfície e caracterizá-los. A síntese do **composto 2** consiste na formação de um sal de amônio quaternário a partir do **4-(dimetilamino)benzaldeído**. Empregou-se iodeto de metila, em acetona e refluxo, durante 24 horas. (**Esquema 5**).



**Esquema 5:** Síntese do **composto 3**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 2** (**Figura 27, página 39**) apresenta em 10,12 ppm um simpleto característico de hidrogênio de aldeído. Entre, 8,30 e 8,10 ppm aparecem os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e em 3,68 ppm um simpleto referente aos hidrogênios metílicos. Destaca-se que as integrações dos sinais são coerentes com a estrutura proposta.

Os valores dos sinais do RMN de  $^1\text{H}$  descritos na literatura<sup>[47]</sup> para o **composto 2** estão apresentados na **Tabela 3, página 39**. Comparando os valores dos sinais com os obtidos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 2**, mostrado na **Figura 27**, conclui-se que a metodologia adotada foi eficaz na síntese do **composto 2**.

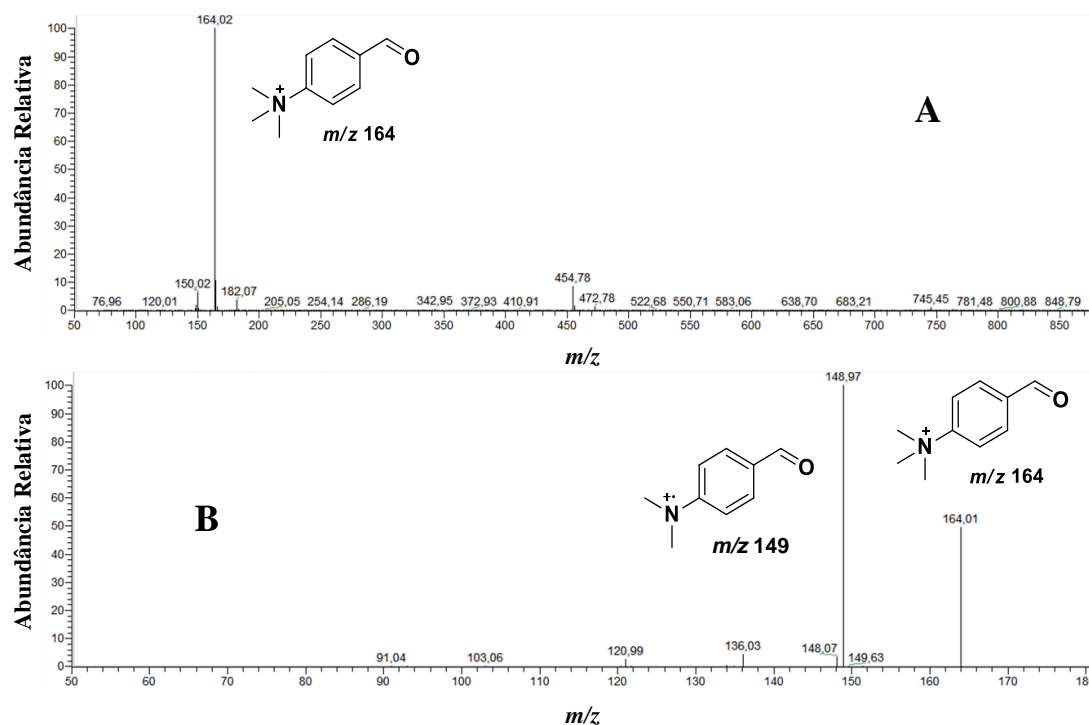


**Figura 27:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do **composto 2**.

**Tabela 3:** Comparação entre os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) para o **composto 2**.

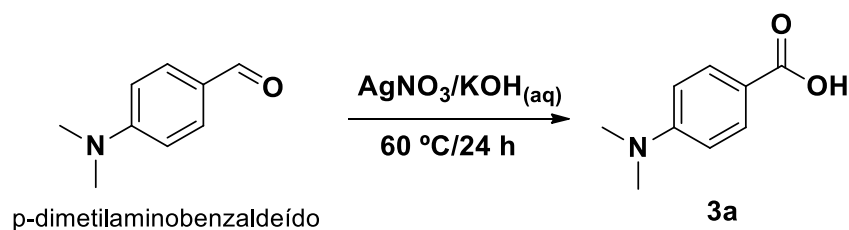
HIDROGÊNIO	LITERATURA <sup>[47]</sup> (ppm)	EXPERIMENTAL (ppm)
$\text{CH}_3$	3,67 ( <i>s</i> , 9H)	3,68 ( <i>s</i> , 9H)
CHO	10,12 ( <i>s</i> , 1H)	10,12 ( <i>s</i> , 1H)
AROMÁTICOS	8,24 ( <i>d</i> , $J = 8,7$ Hz, 2H)	8,25 ( <i>d</i> , $J = 8,9$ Hz, 2H)
	8,16 ( <i>d</i> , $J = 8,7$ Hz, 2H)	8,15 ( <i>d</i> , $J = 8,9$ Hz, 2H)

O espectro de massas do **composto 2** (**Figura 28, página 40**) mostrou um sinal intenso de  $m/z$  164, de acordo com a massa nominal esperada. O espectro de fragmentação deste íon mostrou uma perda de 15 Da, consistente com o perfil de fragmentação obtido para o íon de  $m/z$  164 detectado na reação em superfície, comprovando sua estrutura.



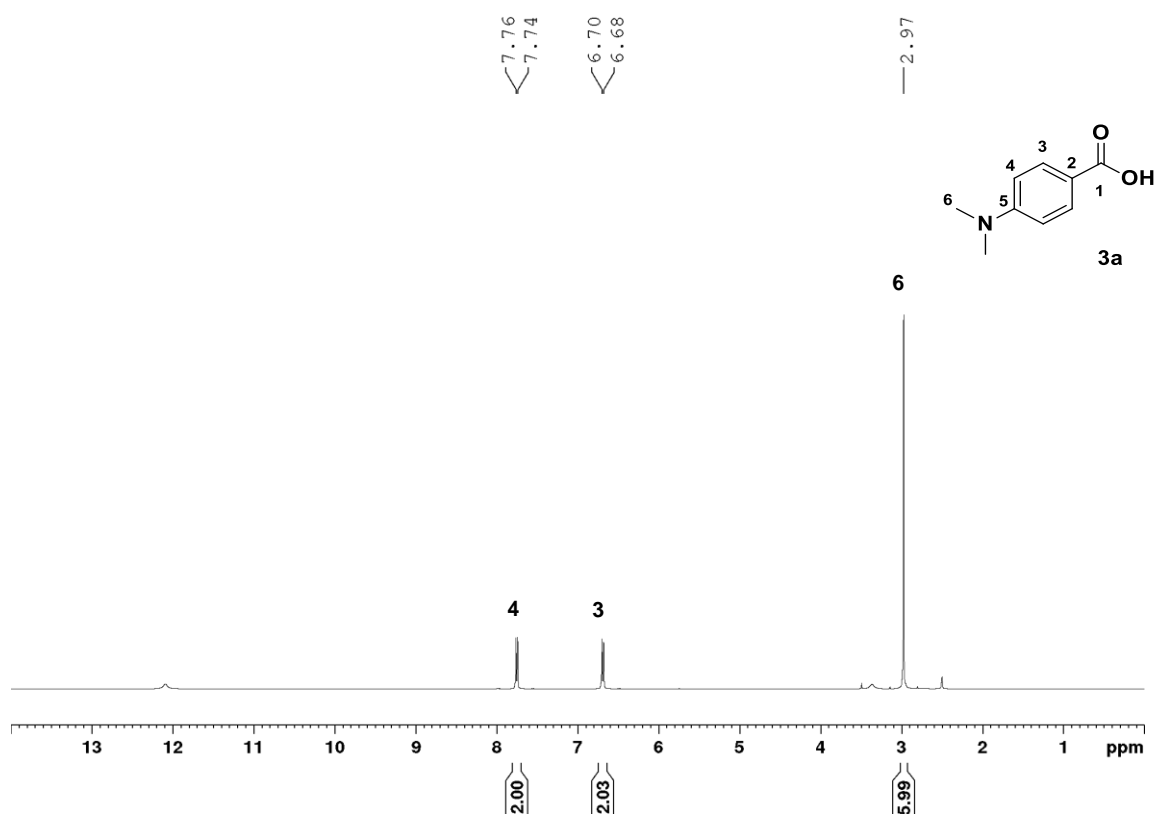
**Figura 28:** PS(+)-MS do **composto 2** (A) e PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  164 (B).

O **composto 3** foi sintetizado em duas etapas: a primeira etapa consiste numa reação de oxidação do **4-(dimetilamino)benzaldeído**. Após algumas tentativas empregando  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{NaBO}_3/\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$  ou  $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ , sem sucesso, a reação forneceu o **composto 3a** utilizando nitrato de prata, em uma solução 7% de hidróxido de potássio, a  $60^\circ\text{C}$  durante 24 horas (**Esquema 6**).



**Esquema 6:** Síntese do **composto 3a**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 3a** (**Figura 29**, página 41) apresenta entre 7,80 e 6,65 ppm os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e um simpleto em 2,97 ppm referente aos hidrogênios metílicos. Destaca-se que as integrações dos sinais são coerentes com a estrutura proposta.



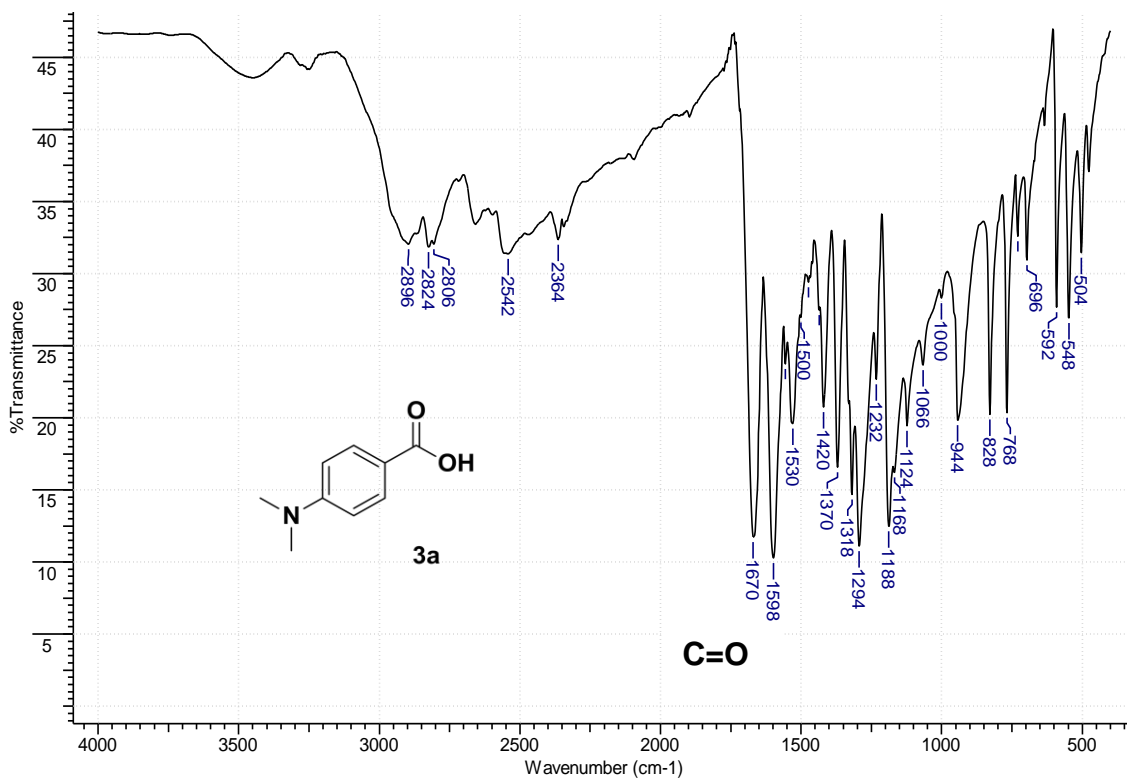
**Figura 29:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do **composto 3a**.

Os valores dos sinais do RMN de  $^1\text{H}$  descritos na literatura<sup>[57]</sup> para o **composto 3a** estão apresentados na **Tabela 4**. Comparando os sinais obtidos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 3a**, mostrado na **Figura 29**, com a literatura, concluiu-se que a síntese foi bem sucedida.

**Tabela 4:** Comparação entre os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) para o **composto 3a**.

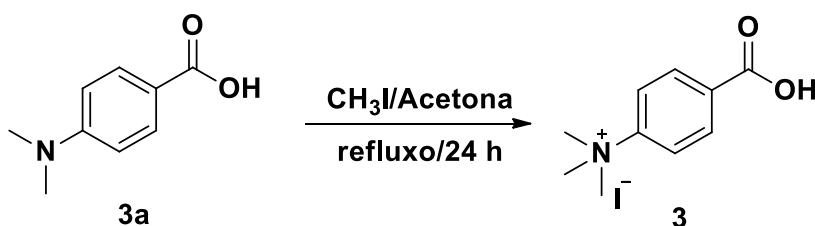
HIDROGÊNIOS	LITERATURA <sup>[57]</sup> (ppm)	EXPERIMENTAL (ppm)
$\text{CH}_3$	2,99 ( <i>s</i> , 6H)	2,97 ( <i>s</i> , 6H)
AROMÁTICOS	7,75 ( <i>d</i> , $J = 8,7$ Hz, 2H) 6,70 ( <i>d</i> , $J = 8,7$ Hz, 2H)	7,75 ( <i>d</i> , $J = 8,9$ Hz, 2H) 6,69 ( <i>d</i> , $J = 8,9$ Hz, 2H)

O espectro na região de IV do **composto 3a** (**Figura 30**) mostra uma banda larga entre  $3500$  e  $2000\text{ cm}^{-1}$ , característico de ácidos carboxílicos. Em  $1670\text{ cm}^{-1}$  encontra-se uma banda característica de estiramento  $\text{C}=\text{O}$  de ácido carboxílicos.



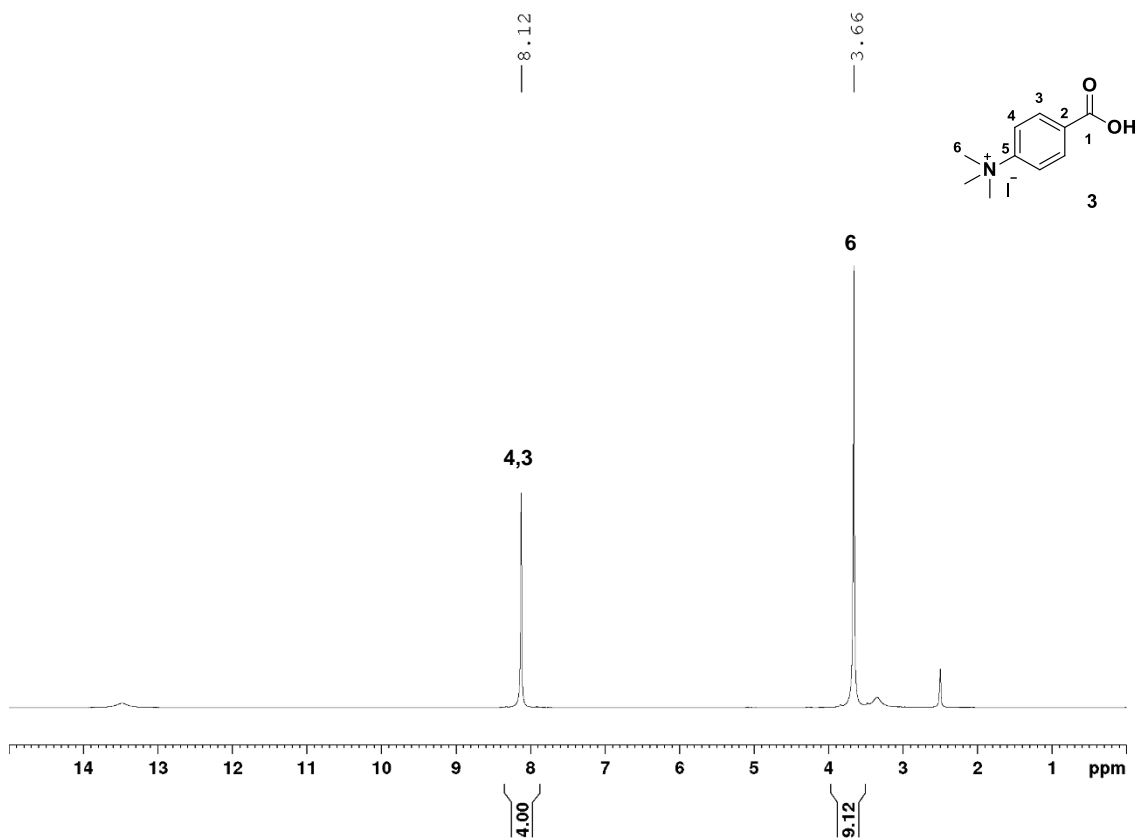
**Figura 30:** Espectro na região do infravermelho do **composto 3a** pastilhado em KBr.

A segunda etapa para a síntese do **composto 3** consistiu na formação de um sal de amônio quaternário. Empregou-se iodeto de metila, em acetona e refluxo, durante 24 horas (**Esquema 7**).



**Esquema 7:** Síntese do **composto 3**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 3** (**Figura 31**, página 43) apresenta em 8,12 ppm um simpleto atribuído aos hidrogênios aromáticos e em 3,66 ppm um outro simpleto atribuído aos hidrogênios metílicos. A diferença entre o deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos é muito pequena e de fato, os sinais se tornam um só. As integrações dos sinais são coerentes com a estrutura proposta.



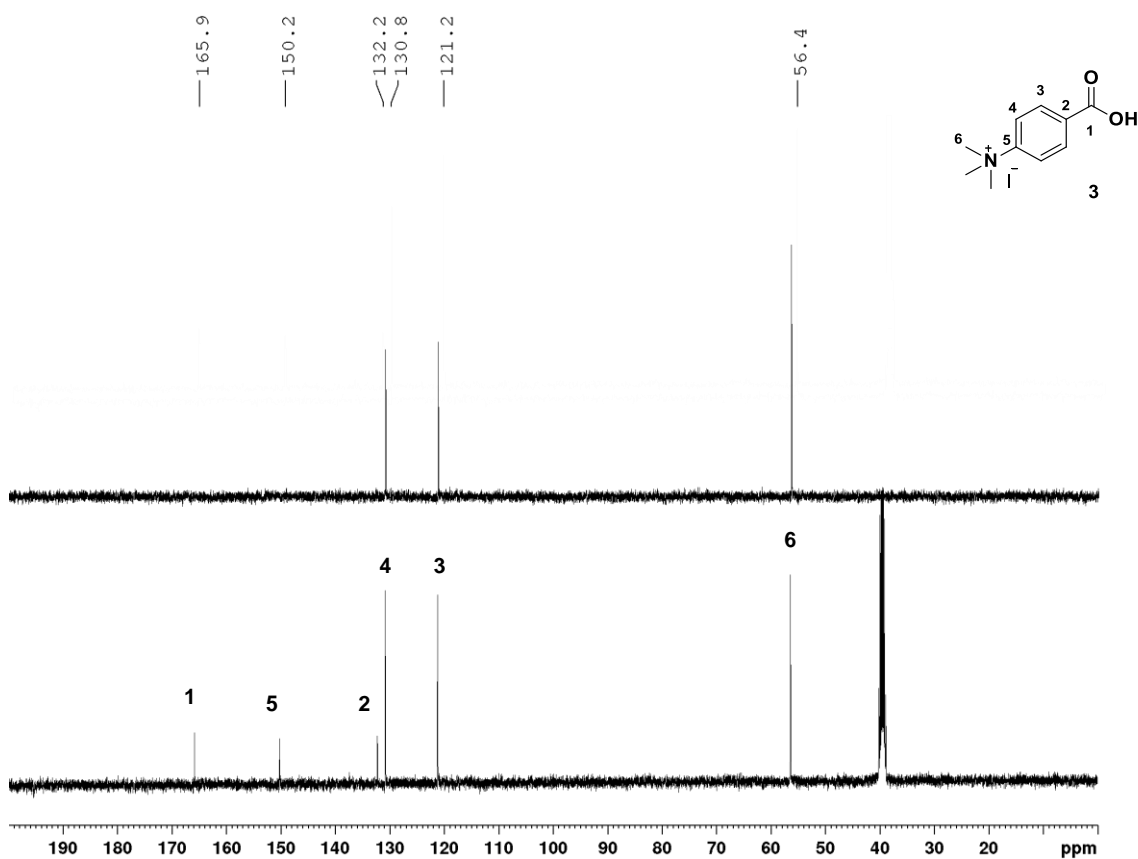
**Figura 31:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do **composto 3**.

Os valores dos sinais do RMN de  $^1\text{H}$  descritos na literatura<sup>[58]</sup> para o **composto 3a** estão apresentados na **Tabela 5**. Comparando os sinais obtidos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 3a**, mostrado na Figura 23, com a literatura, conclui-se que não houve sucesso na síntese. Entretanto, o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (**Figura 32**, **página 44**), demonstram resultados coerentes com a estrutura proposta.

**Tabela 5:** Comparação entre os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) para o **composto 3**.

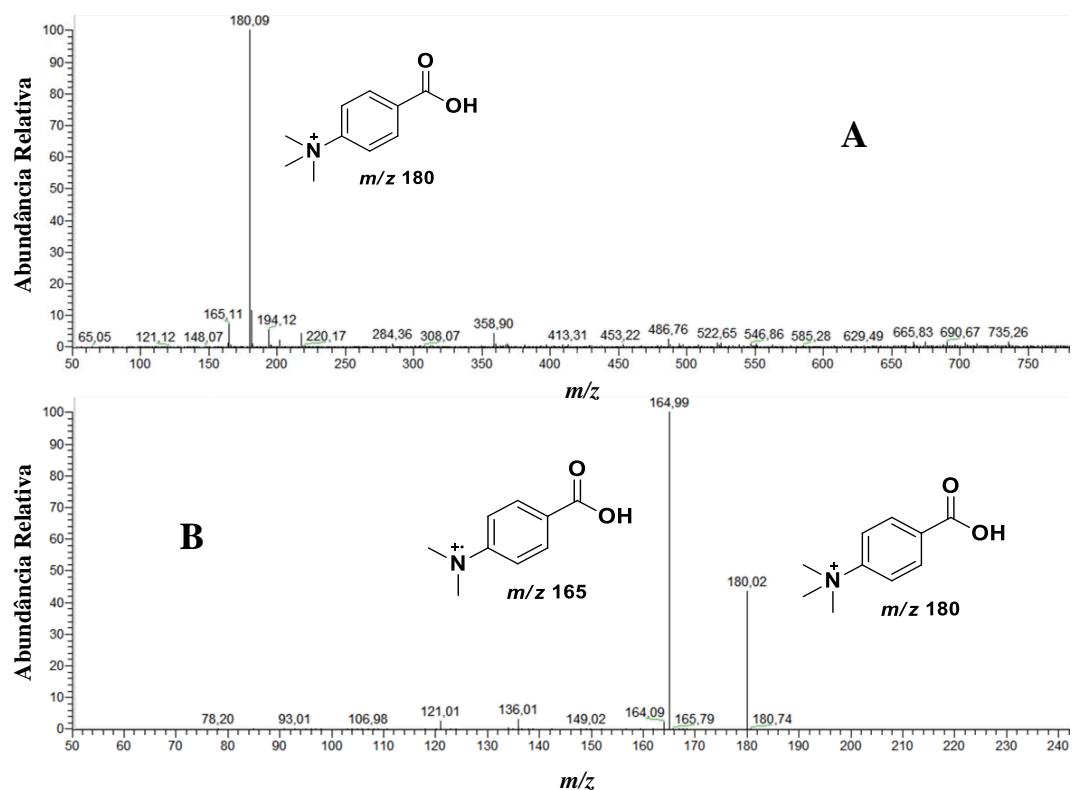
HIDROGÊNIOS	LITERATURA <sup>[58]</sup> (ppm)	EXPERIMENTAL (ppm)
$\text{CH}_3$	4,64 ( <i>s</i> , 9H)	3,66 ( <i>s</i> , 9H)
AROMÁTICOS	7,79 ( <i>d</i> , $J = 9,1$ Hz, 2H) 8,01 ( <i>d</i> , $J = 9,1$ Hz, 2H)	8,12 ( <i>s</i> , 4H)





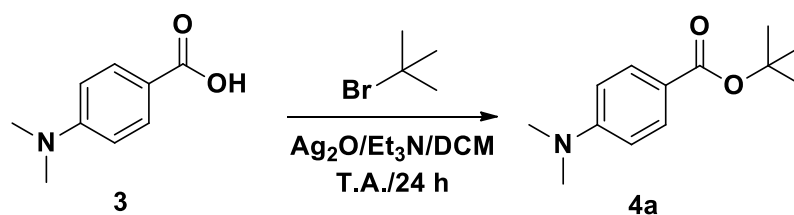
**Figura 32:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) e DEPT-135 do **composto 3**.

Além disso, o espectro de massas do **composto 3** (**Figura 33, página 45**) mostrou um sinal intenso com  $m/z$  180, de acordo com a massa nominal esperada. O espectro de fragmentação deste íon mostrou uma perda de 15 Da, consistente com o padrão de fragmentação do íon de  $m/z$  180 (**ácido 3**) obtido na reação em superfície.



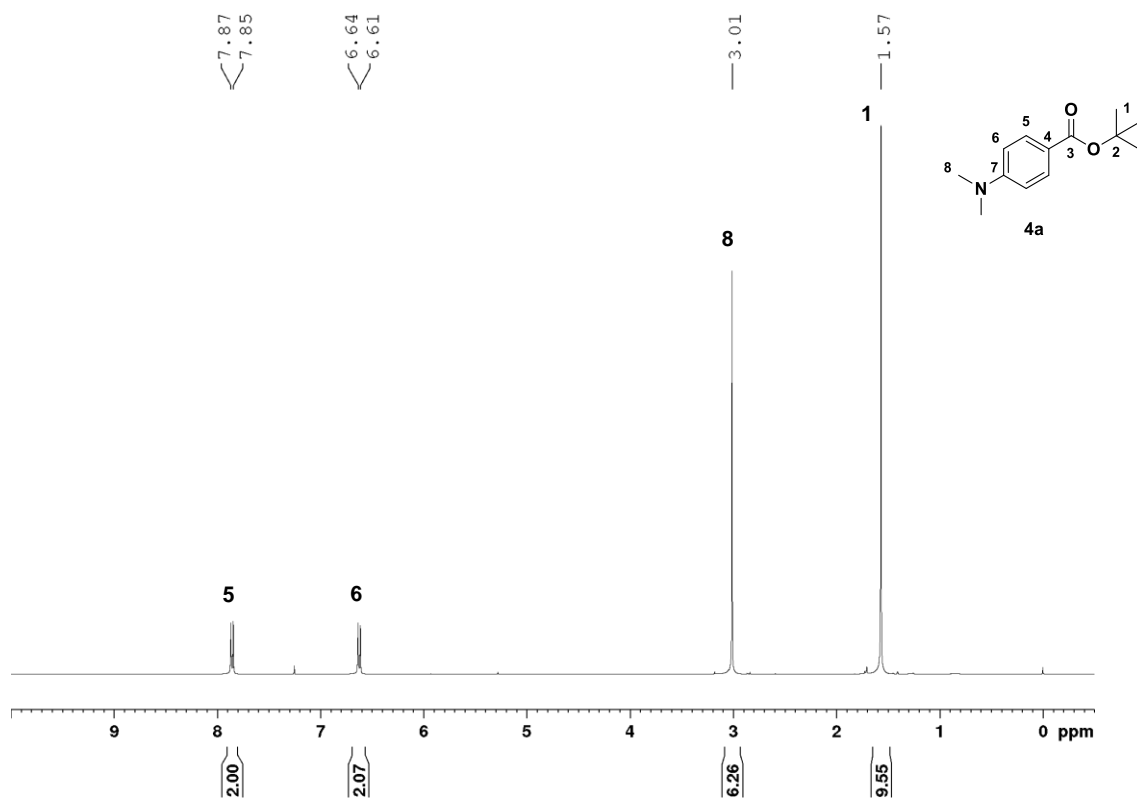
**Figura 33:** PS(+)-MS do **composto 3** (A) e PS(+)-MS/MS do íon m/z 180 (B).

O **composto 4** foi sintetizado em duas etapas: a primeira etapa consistiu numa reação de esterificação do **composto 3**. Após diversas tentativas, sem sucesso, empregando esterificação de Fischer, esterificação de Yamaguchi, esterificação de Steglich e de cloretos de ácido, o uso de brometo de *tert*-butila na presença de óxido de prata e trietilamina (**Esquema 8**) mostrou-se eficiente.



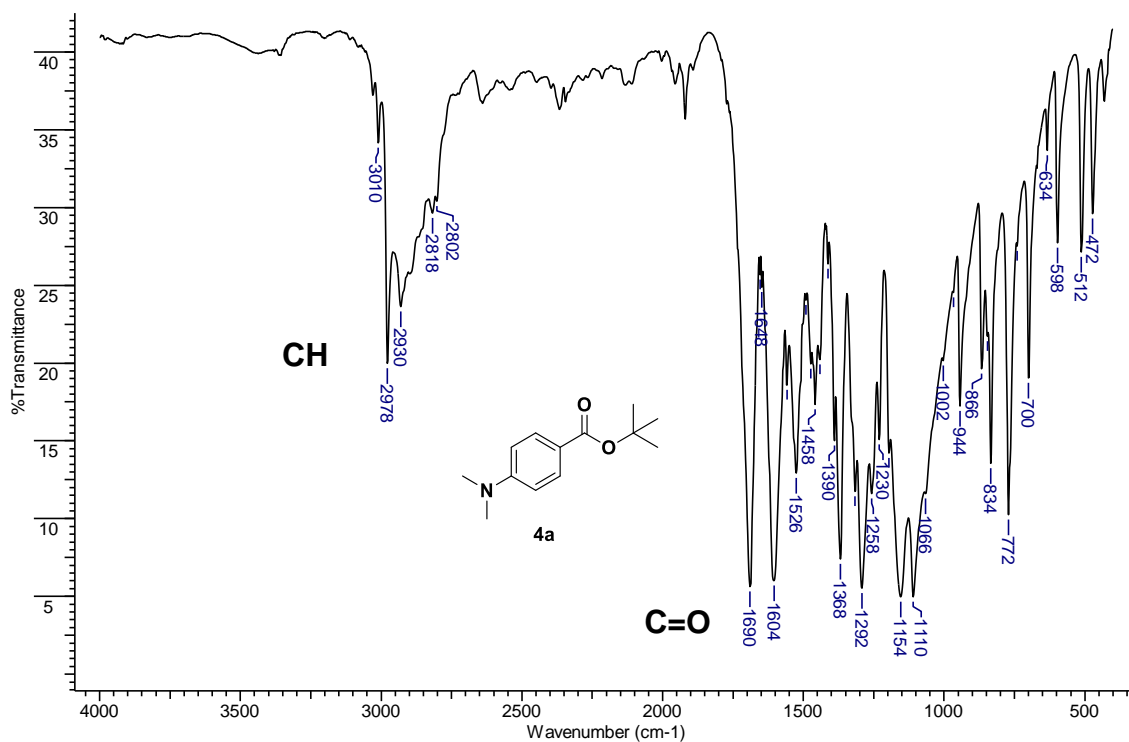
**Esquema 8:** Síntese do **composto 4a**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 4a** (**Figura 34**) apresenta dois dupletos entre 6,60 e 7,90 ppm referentes aos hidrogênios aromáticos. Há um simpleto em 3,01 ppm referente aos hidrogênios metílicos e outro simpleto em 1,57 ppm referente aos hidrogênios *terc*-butílicos. Destaca-se que os sinais e as integrações são coerentes com a estrutura proposta.



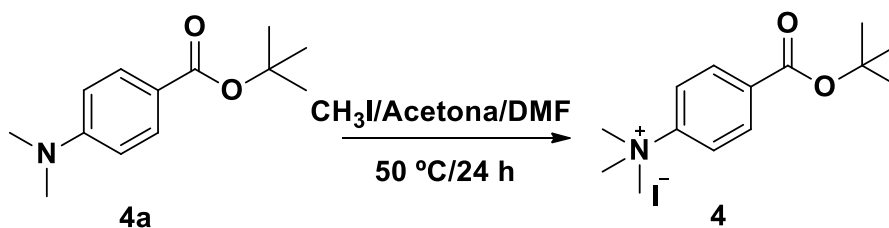
**Figura 34:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do **composto 4a**.

O espectro na região de IV do **composto 4a** (**Figura 35, página 47**) mostra bandas entre 2800 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ , características do estiramento de ligações C-H. Além disso, apresenta uma banda em 1690  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento de C=O do éster.



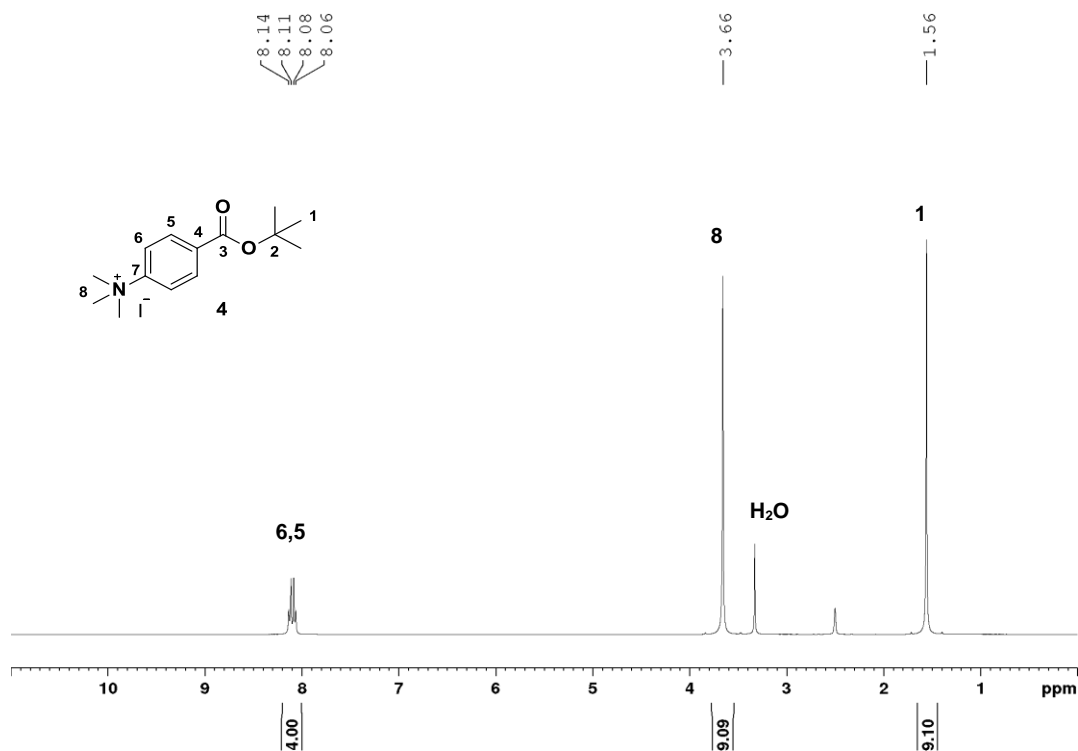
**Figura 35:** Espectro na região do infravermelho do **composto 4a** pastilhado em KBr.

A segunda etapa consistiu na formação de um sal de amônio quaternário. Primeiramente, empregou-se iodeto de metila, em acetona e refluxo, durante 24 horas, mas não houve precipitado algum, além de nenhuma evidência de formação do composto mediante análise por CCD. Deixou-se por mais tempo, mas não houve mudança. Então, optou-se por adicionar algumas gotas de DMF e diminuir o volume de solvente utilizado. (Esquema 9).



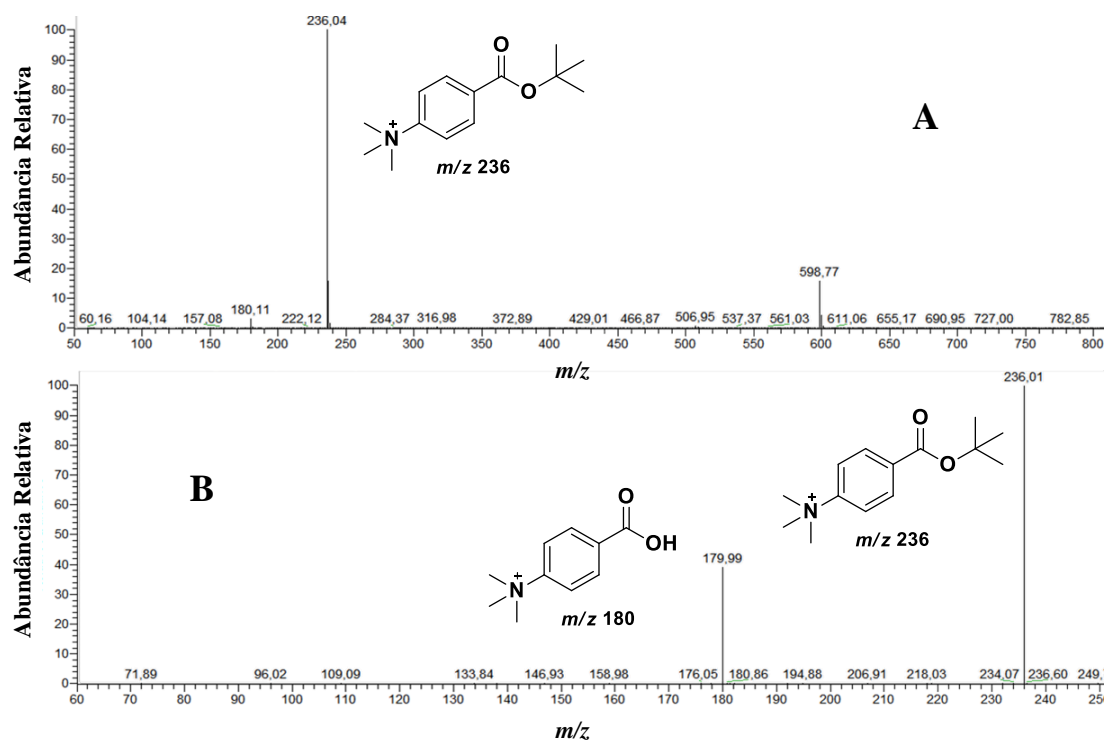
**Esquema 9:** Síntese do **composto 4**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 4** (**Figura 36**) apresenta entre 8,15 e 8,05 ppm os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e dois simpletos, um em 3,66 ppm e outro em 1,56 ppm, referentes aos hidrogênios metílicos. Destaca-se que os sinais e as integrações são coerentes com a estrutura proposta e com o mesmo padrão do íon de  $m/z$  236 obtido na reação em superfície.



**Figura 36:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do **composto 4**.

O espectro de massas do **composto 4** (**Figura 37, página 49**) mostrou um sinal intenso com  $m/z$  236, de acordo com a massa nominal esperada. O espectro de fragmentação deste íon mostrou uma perda de 56 Da, consistente com a estrutura proposta para esse composto, referente a uma molécula de 2-metilpropeno.

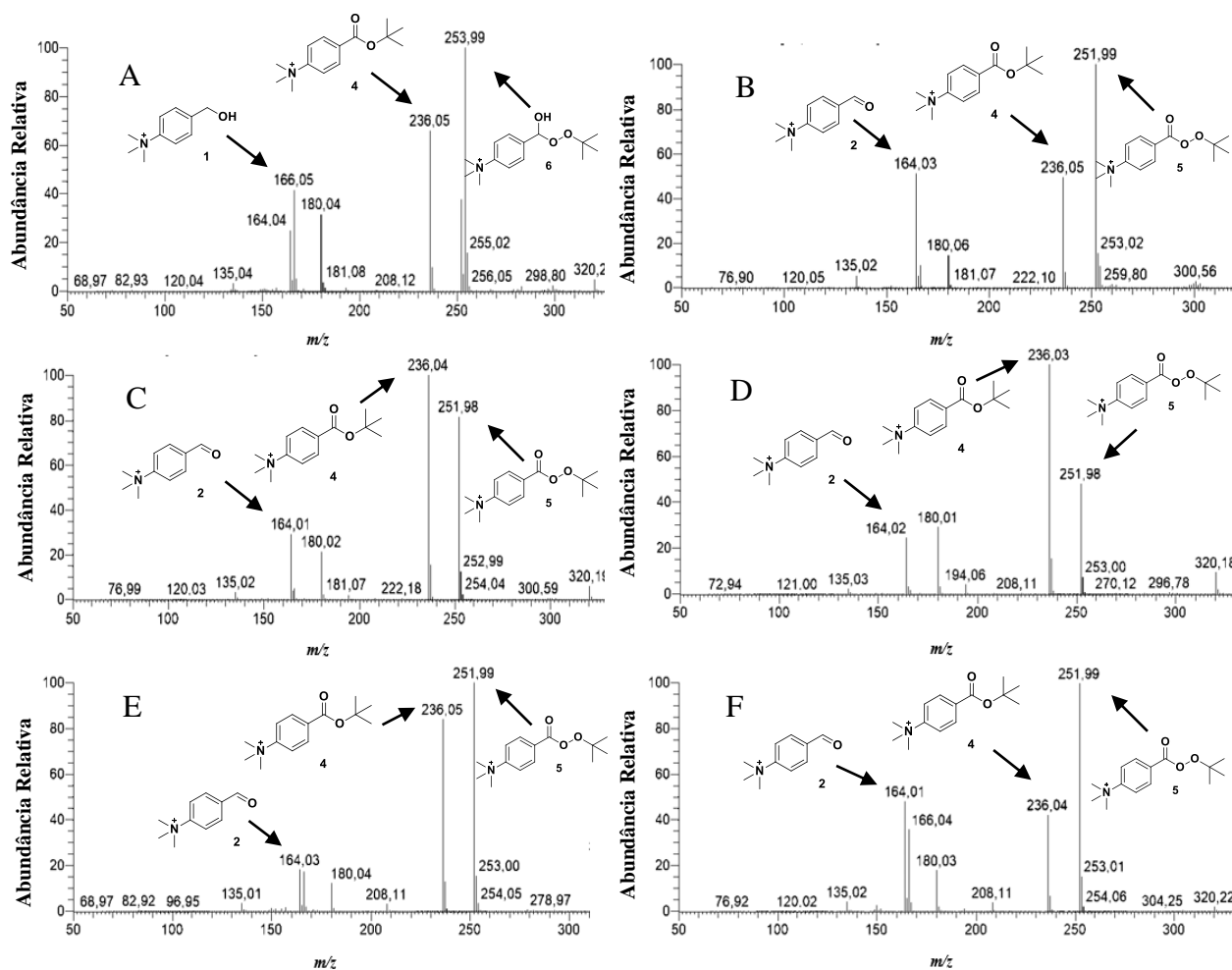


**Figura 37:** PS(+)-MS do composto **4** (A) e PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  236 (B).

O **peréster 5** ( $m/z$  252) não foi obtido, mesmo após algumas tentativas de síntese, como o uso de cloreto de ácido na presença de TBHP. De acordo com a estrutura apresentada, o **hemiperacetal 6** ( $m/z$  254) seria um composto instável e difícil de ser isolado e caracterizado, portanto, optou-se por não sintetizá-lo.

#### 4.1.1. Aquecimento e Radiação UV

Outro teste realizado neste trabalho foi submeter o papel contendo os reagentes à radiação ultravioleta (UV) e ao aquecimento. As análises dos espectros mostraram a formação dos mesmos íons quando o **composto 1**, RuCl<sub>3</sub> e TBHP são aplicados no papel e expostos a essas condições, se comparados com os resultados encontrados em condições normais. Destaca-se que os espectros de fragmentação desses íons formados em condições de aquecimento e radiação UV são iguais aos encontrados para os íons gerados em condições normais.



**Figura 38:** Reação de oxidação em superfície em diferentes condições (normal A/B, aquecimento a 80 °C C/D e radiação UV E/F) em 10 e 60 min, respectivamente.

Comparando o perfil dos espectros (**Figura 38**) em condições normais, radiação UV e em aquecimento, é nítido que quando os reagentes são submetidos a essas novas condições, há um aumento na velocidade da reação. É perceptível que em 10 minutos de reação em aquecimento e radiação UV houve o consumo total ou quase total do íon  $m/z$  166 (**álcool 1**), se comparado com o espectro em 10 minutos em condições normais. Ao final de 60 minutos os mesmos íons são formados, mas nota-se que houve mudança na intensidade relativa nas diferentes condições aplicadas.

#### 4.1.2. Outros Metais e Água Oxigenada

Além dos testes anteriores, realizou-se outros dois testes: o primeiro empregando outros metais ao invés do rutênio; o segundo utilizando água oxigenada ( $H_2O_2$ ) ao invés de TBHP. Primeiramente, para avaliar a atividade catalítica de outros metais, aplicou-se ao papel a mesma solução do **álcool 1** (íon  $m/z$  166) e TBHP, juntamente com a solução de cada novo metal: paládio, platina e ferro; com a mesma concentração da solução de  $RuCl_3$  e submetidos às mesmas condições. Entretanto, os espectros não mostraram a formação de nenhuma das espécies discutidas anteriormente, apenas o sinal intenso do **álcool 1** (íon  $m/z$  166). Esse resultado demonstra, mais uma vez, a importância do rutênio como catalisador frente a oxidação de álcoois.

O outro teste realizado foi o uso de  $H_2O_2$ , ao invés de TBHP. Aplicou-se no papel as mesmas soluções de  $RuCl_3$  e do **composto 1**, juntamente com uma solução de  $H_2O_2$  na mesma concentração da solução de TBHP. O papel foi submetido as mesmas condições, mas não houve a formação de nenhum dos íons. Acredita-se que o rutênio catalisa rapidamente a degradação da  $H_2O_2$ , inviabilizando a sua atuação como oxidante na reação.<sup>[34]</sup> Além disso, esse resultado está de acordo com os resultados encontrados em trabalhos anteriores<sup>[52]</sup> onde complexos de rutênios foram empregados, sem sucesso, na oxidação de álcoois na presença de  $H_2O_2$ , porém em fase condensada. Aplicou-se também a  $H_2O_2$  na presença dos outros metais, mas nenhum apresentou atividade catalítica frente a oxidação.

#### 4.1.3. Reação em Fase Condensada

Compararam-se os resultados entre as reações em superfície e em fase condensada. Após 60 minutos da reação em fase condensada, a análise PS-MS mostrou apenas o sinal do íon  $m/z$  166 (**álcool 1**). Nenhum dos outros íons descritos anteriormente foram vistos,



apenas o íon  $m/z$  164 (**aldeído 2**) em intensidade muito baixa. Além disso, submeteu-se a reação ao aquecimento sob refluxo e, após 60 minutos, uma alíquota foi retirada para análise de PS-MS, mas não houve diferença significativa no perfil do espectro, nem mesmo após 24 horas.

Portanto, isso indica que a reação em fase condensada é mais lenta e menos efetiva que o processo em superfície, mesmo empregando as mesmas proporções dos reagentes e nas condições reacionais propostas neste trabalho. Todos esses resultados demonstram, mais uma vez, que a PS-MS é uma forma simples e eficaz de estudar reações químicas em superfície.

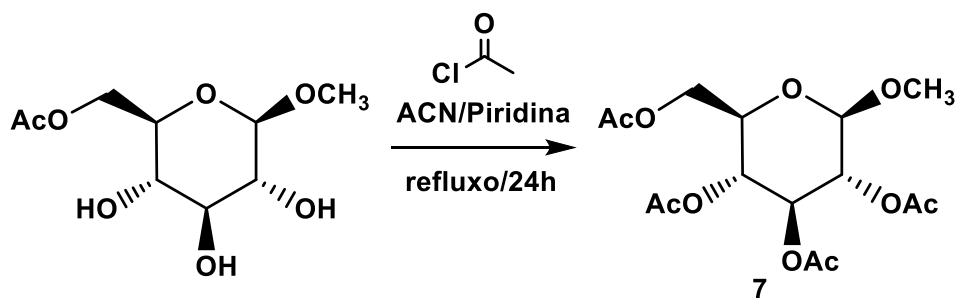
#### 4.1.4. Conclusões

A oxidação do **álcool 1** em superfície, empregando  $\text{RuCl}_3$  e TBHP, mostrou bons resultados. Cinco produtos foram visualizados durante os sessenta minutos de reação: o **aldeído 2**, **ácido carboxílico 3**, **éster 4**, **peréster 5** e **hemiperacetal 6**. Realizou-se a fragmentação das espécies formadas, e isso auxiliou na elucidação estrutural de cada composto. Além disso, foram realizadas a síntese e caracterização do **aldeído 2**, **ácido carboxílico 3** e **éster 4**, assim, pode-se comparar o perfil de fragmentação das espécies formadas na reação em superfície com o perfil dos compostos sintetizados. Testes submetendo-se os reagentes ao aquecimento e a radiação UV também foram feitos e mostraram que a reação se processa mais rapidamente.

## 4.2. Reações Enzimáticas

O primeiro passo para avaliar a reação enzimática em superfície foi a escolha do substrato. Devido a disponibilidade do **metil  $\beta$ -D-glucopiranosídeo**, optou-se por utilizá-lo como substrato inicial. Deste modo, inicialmente, testou-se a reação de acetilação empregando **acetato de vinila**, lipase **BCL** e o **metil  $\beta$ -D-glucopiranosídeo**. Apesar de vários testes preliminares, essa reação não mostrou resultados.

Portanto, optou-se por testar a reação de desacetilação do derivado acetilado do **1-metoxi- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (7)**. O **composto 7** foi sintetizado utilizando-se cloreto de acetila e piridina, em ACN (**Esquema 10, página 53**).



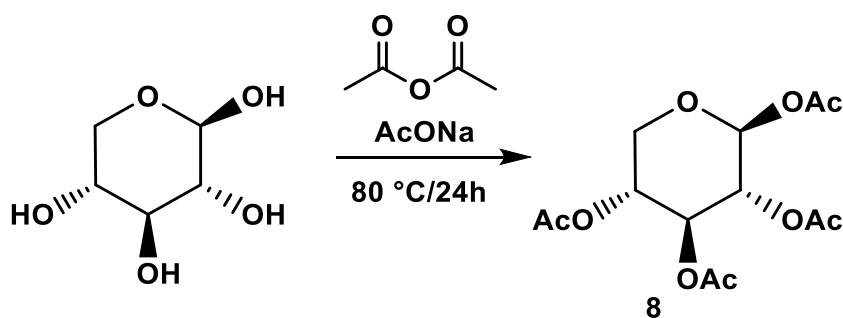
**Esquema 10:** Síntese do **composto 7**.

Após as análises dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e por espectrometria de massas (ANEXO – Figuras 19-22), foi possível confirmar a obtenção do **composto 7** peracetilado. A etapa seguinte foram os testes em superfície, visando a reação de desacetilação enzimática, no entanto, a **lipase BCL** não mostrou atividade frente a esse substrato. Apesar de existirem na literatura trabalhos que empregam a BCL lipase na desacetilação regiosseletiva do **composto 7**, mas em fase condensada.

Uma possível explicação para esses resultados negativos, devido a diferença natural entre os meios reacionais (fase condensada e superfície). Acredita-se que a celulose do papel possa interferir na estrutura da enzima, ou seja, os grupos hidroxila livres presentes na celulose, através de interações intermoleculares (ligações de hidrogênio), conseguem fixar a enzima numa determinada conformação, tornando-a inativa frente a um substrato.<sup>[59]</sup>

Diante deste resultado, optou-se por empregar outro substrato com características estruturais diferentes, neste caso, a **D-xilopirranose**. Primeiramente, avaliou-se a reação de acetilação da **D-xilopirranose** em superfície, utilizando a **lipase BCL** e **acetato de vinila**, no entanto, a reação não mostrou resultados. Acredita-se que as hidroxilas livres da celulose estejam sendo acetiladas nesse processo, ao invés do substrato de interesse, desempenhando o papel de aceptores dos grupos acetila.

Outra estratégia foi testar a reação de desacetilação com o derivado peracetilado da **D-xilopirranose**. A síntese desse **composto 8** foi realizada utilizando-se anidrido acético e acetato de sódio, a  $80\text{ }^\circ\text{C}$ . (**Esquema 11, página 54**).



**Esquema 11:** Síntese do **composto 8**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 8** (**Figura 39, página 55**) apresentou, inicialmente, três simpletos entre 2,06 e 2,11 ppm referente aos hidrogênios metílicos do grupo acetila. A princípio, esperava-se o surgimento de quatro simpletos devido à presença de quatro grupos acetila na molécula, entretanto, ocorre a sobreposição dos sinais. A integração está de acordo com o esperado.

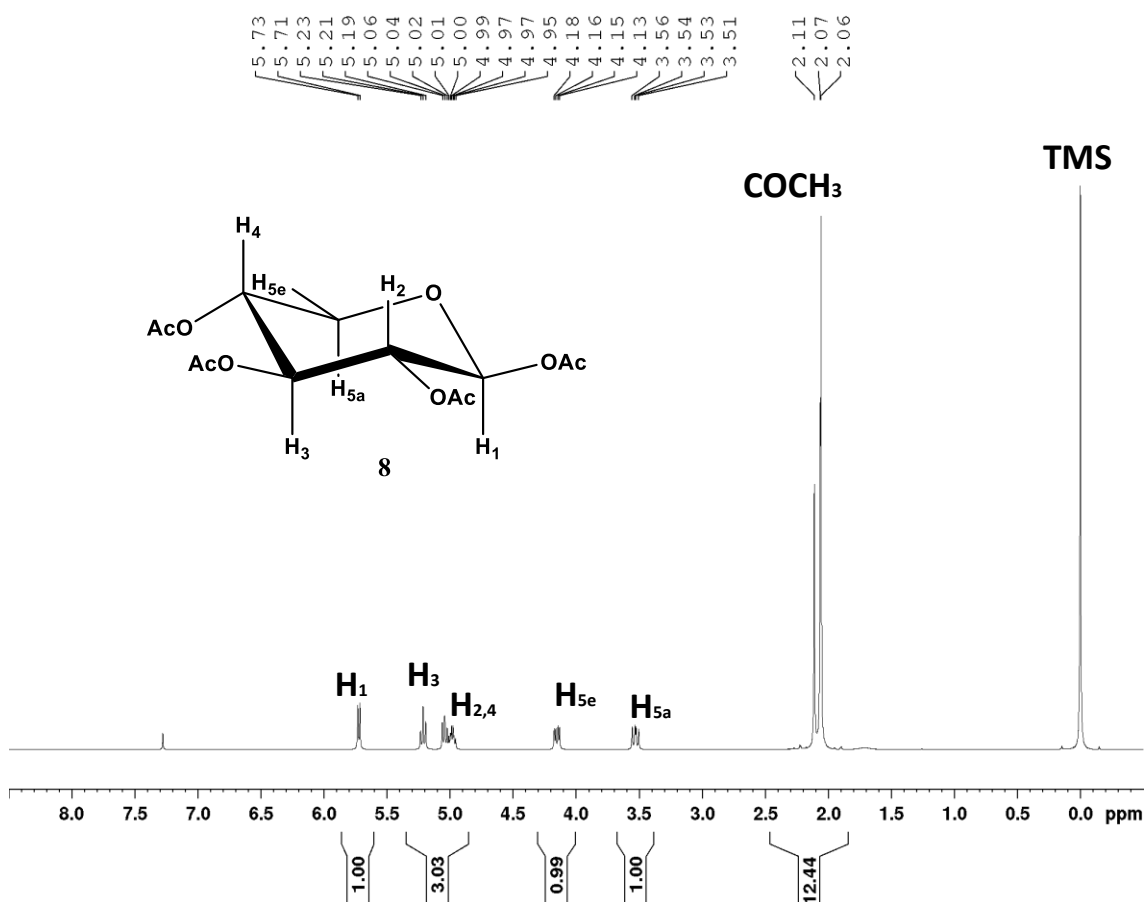
Observou-se também dois dupletos duplos (*dd*) em 3,53 e 4,16 ppm. Esses sinais são referentes aos  $\text{H}_5$ , sendo um na posição axial e outro na posição equatorial. Esses hidrogênios são diastereotópicos, devido a isso eles se apresentam como *dd*, acoplando, primeiramente, entre si, com  $J = 8,5$  Hz e posteriormente, acoplam com o  $\text{H}_4$ .

Entre 4,95 e 5,06 ppm aparece um multipletto, referente aos hidrogênios  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_4$ . Devido ao acoplamento escalar e espacial, eles se apresentam em forma de multipletto. Em 5,23 ppm, há um tripleto referente ao  $\text{H}_3$  que acopla com o  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_4$ , se desdobrando em três sinais. Por fim, observou-se um dupletto referente ao  $\text{H}_1$  em 5,73 ppm. Esses dados corroboram a estrutura proposta.

Os valores dos sinais do RMN de  $^1\text{H}$  descritos na literatura<sup>[51]</sup> para o **composto 8** estão apresentados na **Tabela 6, página 55**. A comparação dos sinais obtidos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **composto 8**, mostrado na **Figura 39, página 55**, com os da literatura, confirmam a obtenção do **composto 8**.

**Tabela 6:** Comparação entre os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) para o **composto 6**.

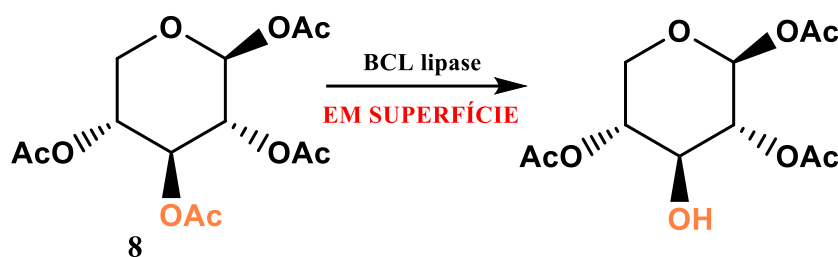
HIDROGÊNIO	LITERATURA <sup>[51]</sup> (ppm)	EXPERIMENTAL (ppm)
$\text{COCH}_3$	2,00-2,20 (4x s, 12H)	2,06-2,11 (3x s, 12H)
$\text{H}_{5\text{A}}$	3,35 ( <i>dd</i> , 1H, $J = 12,0$ Hz $J = 8,5$ Hz)	3,53 ( <i>dd</i> , 1H, $J = 12,0$ Hz $J = 8,0$ Hz)
$\text{H}_{5\text{E}}$	4,16 ( <i>dd</i> , 1H, $J = 12,0$ Hz $J = 4,9$ Hz)	4,15 ( <i>dd</i> , 1H, $J = 12,0$ Hz $J = 8,0$ Hz)
$\text{H}_2, \text{H}_4$	4,93-5,10 ( <i>m</i> , 2H)	4,95-5,06 ( <i>m</i> , 2H)
$\text{H}_3$	5,22 ( <i>t</i> , 1H, $J = 8,2$ Hz)	5,21 ( <i>t</i> , 1H, $J = 8,2$ Hz)
$\text{H}_1$	5,73 ( <i>d</i> , 1H, $J = 6,8$ Hz)	5,72 ( <i>d</i> , 1H, $J = 6,9$ Hz)



**Figura 39:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do **composto 8**.

Após a síntese, os testes da reação de desacetilação do **composto 8** na presença da **lipase BCL** foi realizado em superfície fornecendo bons resultados, mostrados a seguir.

Primeiramente, avaliou-se a influência da concentração da enzima **lipase BCL** na reação de desacetilação da **1,2,3,4-tetra-O-acetil-β-D-xilopiranosose** (**Figura 40**). Soluções de diferentes concentrações (2, 4, 6, 8 e 10 mg.mL<sup>-1</sup>) da **lipase BCL** foram aplicadas no papel, juntamente com o **composto 8** e monitorou-se a reação por PS(+)-MS em 5, 10, 30 e 60 minutos.



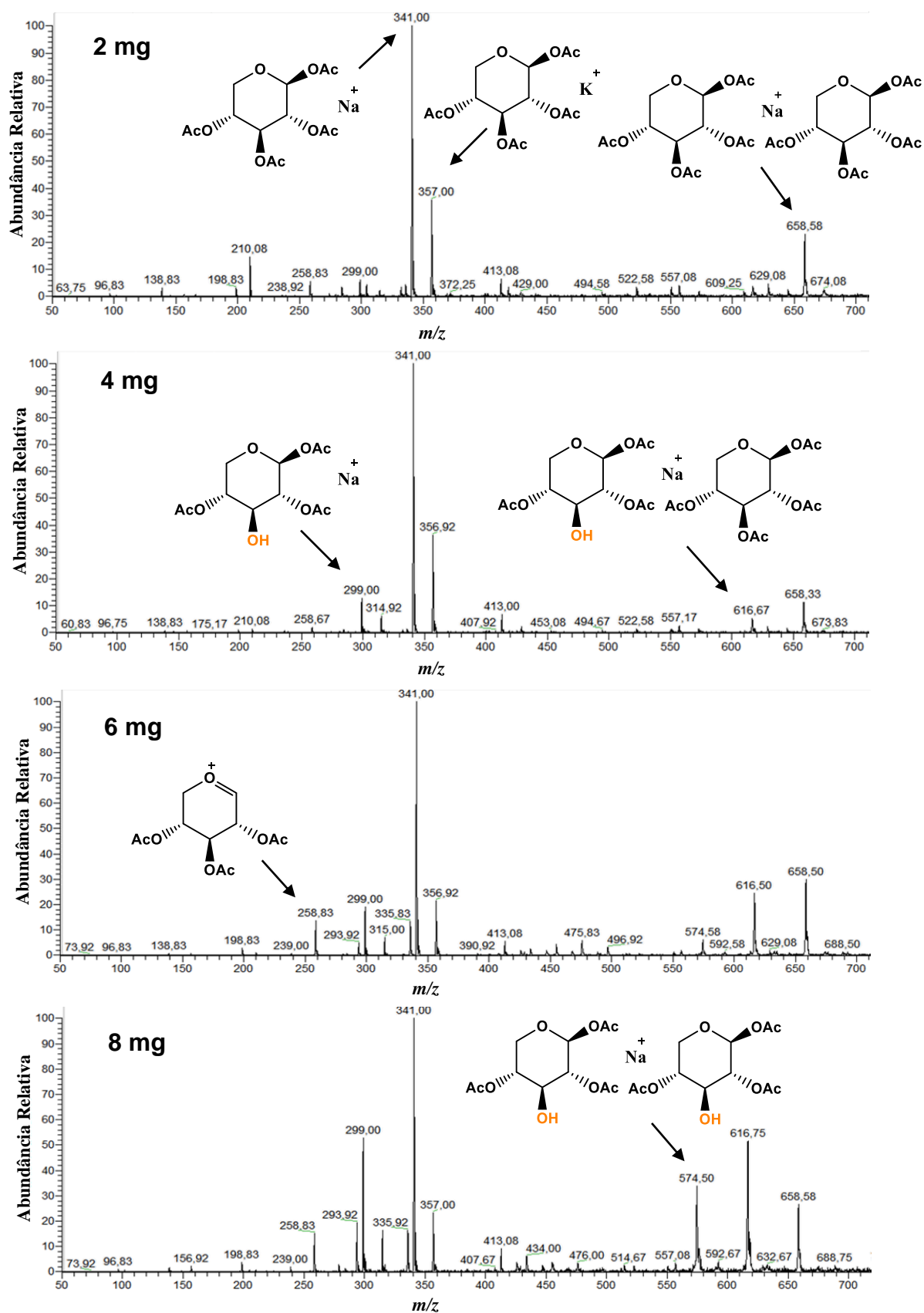
**Figura 40:** Representação geral da reação de desacetilação enzimática em superfície.

Mediante a análise dos espectros na **Figura 41, página 58**, é possível observar a mudança no perfil dos espectros à medida que a concentração da **lipase BCL** aumenta, ao final de 60 minutos. Nota-se que alguns íons se tornam mais intensos ( $m/z$  299,  $m/z$  575 e  $m/z$  617) ao se adicionar 8 mg de **lipase BCL**, mantendo a mesma concentração do **substrato 8**. Esses íons são referentes às estruturas onde grupos hidroxilas foram monodesacetilados e isso será discutido posteriormente.

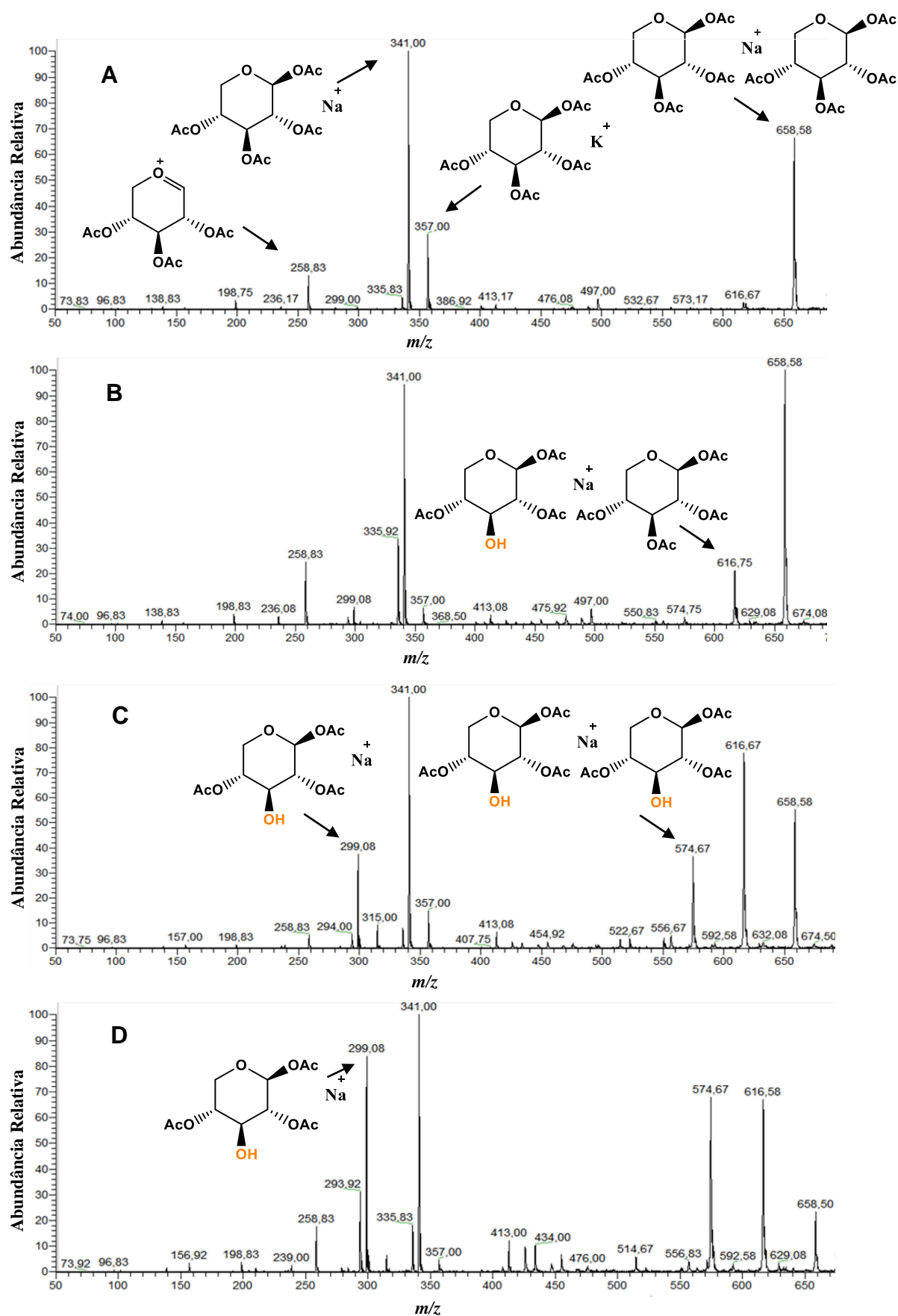
É importante mencionar que, devido à baixa ionização de carboidratos, todas as estruturas mostradas nesse estudo são observadas na forma de adutos de sódio ou potássio. Entretanto, ao contrário dos íons descritos anteriormente, o íon  $m/z$  259 não é visualizado na forma de adutos de sódio ou potássio. Esse íon seja o produto da eliminação de um grupo acetila no C-1, devido a assistência anquimérica dos pares de elétrons do oxigênio vizinho, resultando no íon oxônio.

Analisando-se a **Figura 41, página 58**, é perceptível que o aumento da concentração da enzima afeta diretamente a formação dos produtos. Deste modo, optou-se por utilizar 10 mg da lipase BCL neste estudo porque essa concentração de enzima mostrou os mesmos resultados vistos com 8 mg da enzima, porém, com a metade do tempo de reação. A concentração do **substrato 8** foi mantida, bem como, os outros parâmetros de análise.

A análise dos espectros na **Figura 42, página 59**, permitiu avaliar a mudança no perfil dos espectros através do tempo, indicando que a reação ocorre em superfície e não nas microgotas do *spray*. Os íons formados são os mesmos descritos anteriormente e há mudança na intensidade de alguns íons ao final de 60 minutos. Os íons de  $m/z$  299,  $m/z$  575 e  $m/z$  617 são referentes aos produtos monodesacetilados e se tornam mais intensos a cada intervalo de tempo.



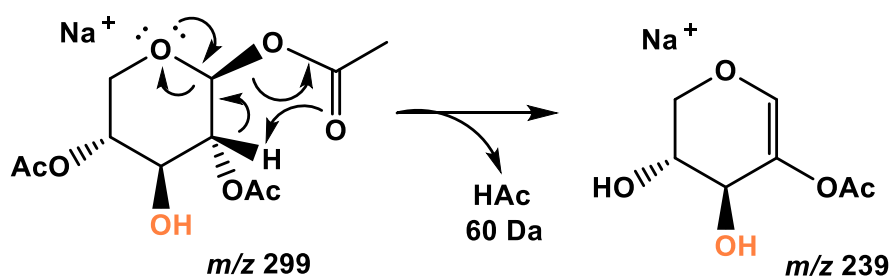
**Figura 41:** PS(+)-MS da reação em superfície da desacetilação do substrato **8** em diferentes concentrações da lipase BCL (60 minutos).



**Figura 42:** PS(+)-MS da reação em superfície da desacetilação enzimática do substrato **8** em 0 (A), 10 (B), 30 (C) e 60 (D) minutos.



A fragmentação do íon de  $m/z$  299 (ANEXO – Figura 24) revelou a perda de 60 Da, referente a perda de uma molécula de ácido acético (**Figura 43**). Essa proposta de fragmentação está de acordo com a estrutura proposta. Os íons  $m/z$  575 e  $m/z$  617, que seriam os produtos da reação em forma de dímeros de sódio, não sofreram fragmentação. Além disso, o produto em forma de adutos de potássio também não pode ser fragmentado devido à baixa intensidade.



**Figura 43:** Mecanismo de fragmentação proposto para o íon  $m/z$  299.

O íon de  $m/z$  259 poderia dar origem ao íon de  $m/z$  299 e conseqüentemente, aos íons de  $m/z$  575 e  $m/z$  617. Devido à eliminação do grupo acetila no C-1, ocorre a formação do íon oxônio (íon de  $m/z$  259). Essa espécie poderia ser facilmente atacada por moléculas nucleofílicas, como água, produzindo os íons  $m/z$  299,  $m/z$  575 e  $m/z$  617. Entretanto, no experimento controle, onde se adiciona apenas o **substrato 8** e água ao papel, mantendo os mesmos parâmetros experimentais, não é visualizado nenhum dos íons discutidos acima.

Há uma dúvida sobre a ação da **BCL lipase** no substrato, ou seja, qual grupo sofreu a ação da enzima, já que existem quatro diferentes grupos acetilas no substrato. A regioseletividade dessa reação, geralmente, depende da origem da enzima, ou seja, de qual microrganismo é extraída.<sup>[60]</sup>

Fernández-Mayoralas e Torres apresentaram a acetilação/desacetilação regioseletiva de derivados da **D-xilopiranosose**, frente à atividade enzimática de lipases. Os autores demonstraram a acetilação com até 70% de rendimento na posição C-3, utilizando a lipase *Pseudomonas cepacia*. Além disso, demonstraram a desacetilação regioseletiva na posição C-3, com até 95% de rendimento, empregando a lipase *Candida antarctica* imobilizada (Novozym 345).<sup>[61]</sup> Portanto, acredita-se que o grupo acetila que sofreu ação da BCL lipase foi o que se encontra no C-3.

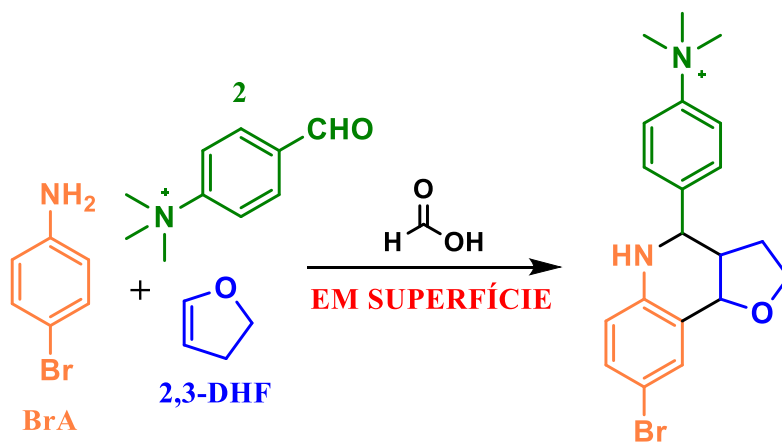
Outro teste realizado foi o uso de ácido clorídrico ( $5 \text{ mol.L}^{-1}$ ) na reação de desacetilação do **substrato 8**, ao invés da **lipase BCL**. Os resultados mostraram que o HCl não possui atividade na hidrólise desses grupos do **substrato 8** após 120 minutos. Isso demonstra que a **lipase BCL** é de extrema importância no estudo da reação de desacetilação desse substrato em superfície.

#### 4.2.1. Conclusões

A desacetilação enzimática do substrato **1,2,3,4-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-xilopiranosose (6)** em superfície, empregando a BCL lipase, mostrou bons resultados. Ao final de sessenta minutos, o produto da monodesacetilação foi visto em intensidade relativamente alta. A fragmentação dessa espécie mostrou a perda de uma molécula de ácido acético, de acordo com a estrutura proposta para o produto monodesacetilado.

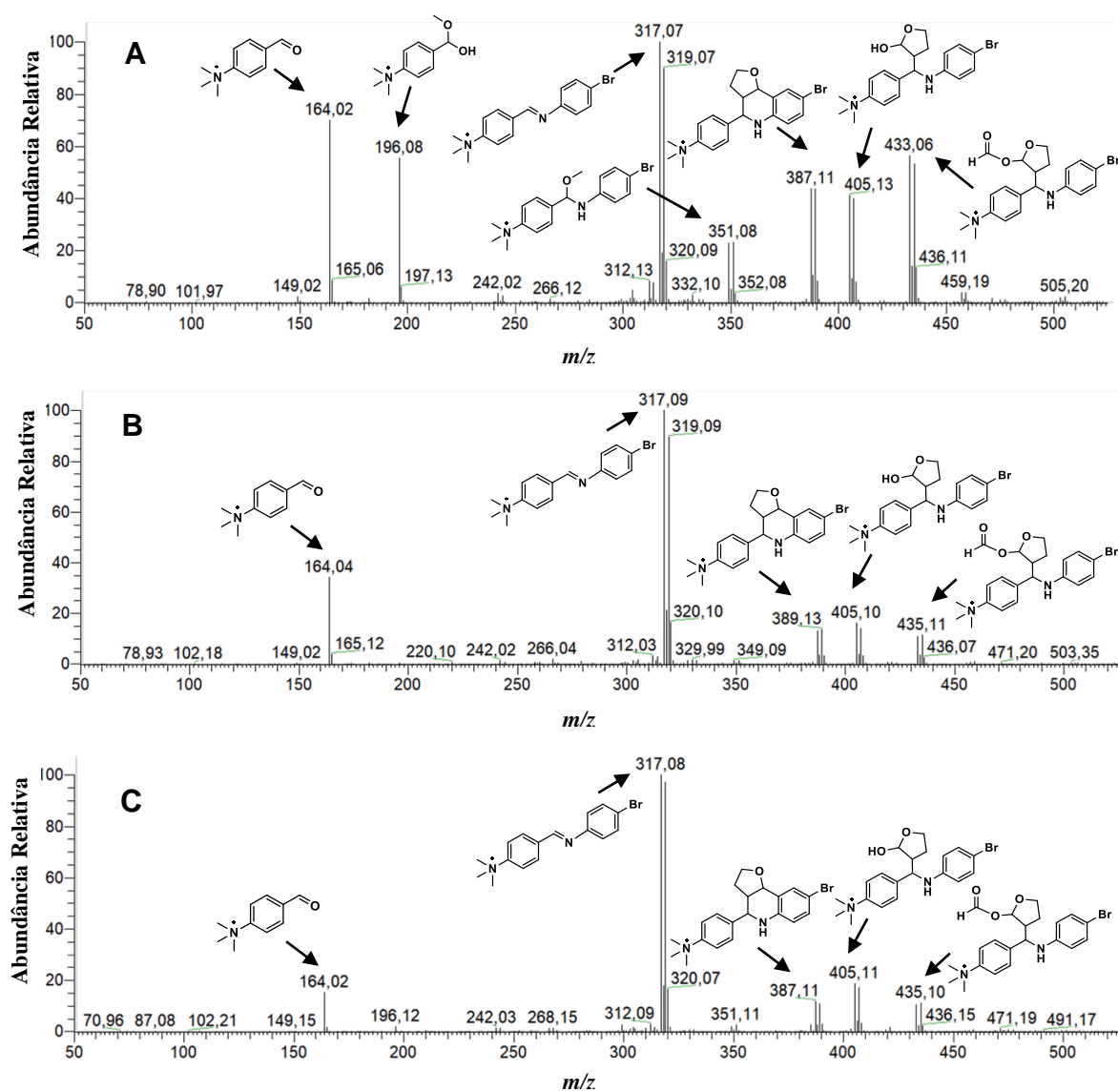
#### 4.3. Reações Multicomponentes

O primeiro passo para o estudo da reação de Povarov em superfície foi a escolha dos reagentes. Sabe-se que para a formação dos produtos é necessário a presença de três componentes: amina aromática, aldeído e alceno, na presença de um catalisador ácido. Portanto, inicialmente, optou-se por utilizar a **4-bromoanilina (BrA)**, o **iodeto de 4-(formilfenil) *N,N,N*-trimetilamônio (2)**, o **2,3-diidrofurano (2,3-DHF)** como alceno e o **ácido fórmico** como catalisador ácido (**Esquema 12**).



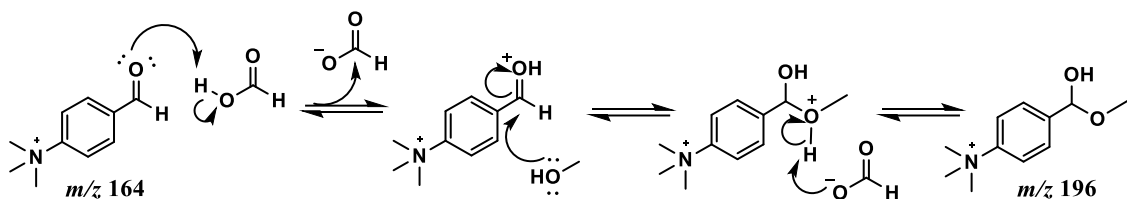
**Esquema 12:** Reação de Povarov em superfície.

A análise dos espectros na **Figura 44** revelou uma mudança no perfil dos espectros ao longo do tempo. Nota-se que a reação é muito rápida, formando os íons em poucos minutos. As propostas de formação de cada íon serão discutidas a seguir, bem como, sua caracterização por meio do padrão de fragmentação.



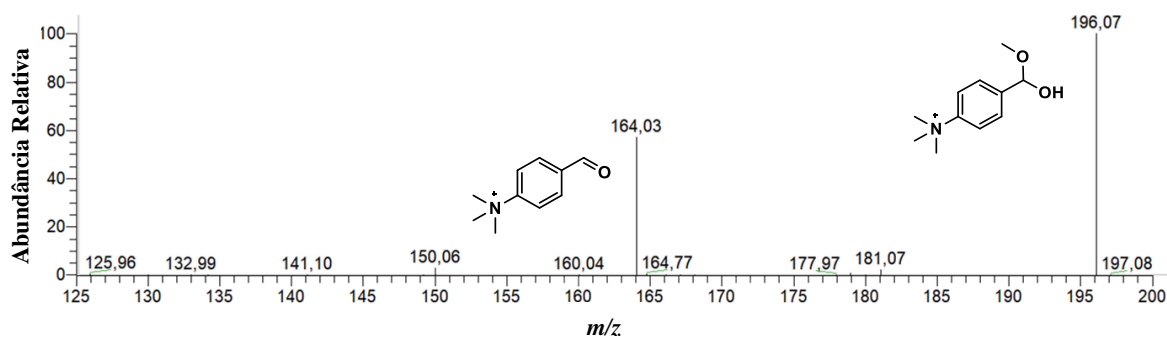
**Figura 44:** PS(+)-MS da Reação de Povarov em superfície em 0 min (A), 10 min (B) e 30 min (C).

Acredita-se que o íon de  $m/z$  196 corresponde a adição de metanol ao íon de  $m/z$  164 (aldeído **2**), formando um hemiacetal. A formação dessa espécie é explicada através da presença de metanol, oriundo das soluções dos reagentes, em meio ácido (**Figura 45**, página 63). Nota-se que ao passar do tempo sua intensidade vai diminuindo, indicando que à medida que o metanol evapora da superfície do papel, a formação do íon de  $m/z$  196 diminui.

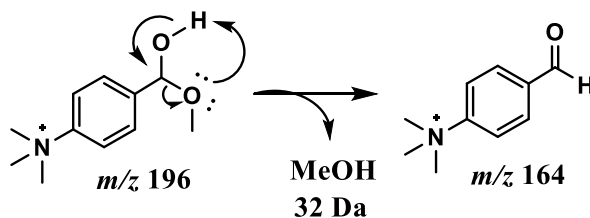


**Figura 45:** Mecanismo de formação do íon de  $m/z$  196.

O espectro de fragmentação (**Figura 46**) deste íon mostrou a perda de 32 Da, referente a uma molécula de metanol. O mecanismo de fragmentação é mostrado na **Figura 47**.

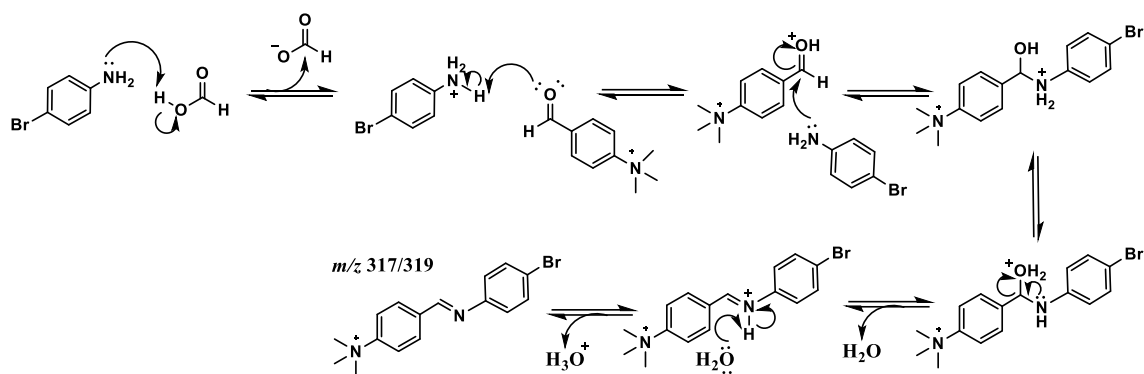


**Figura 46:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  196.



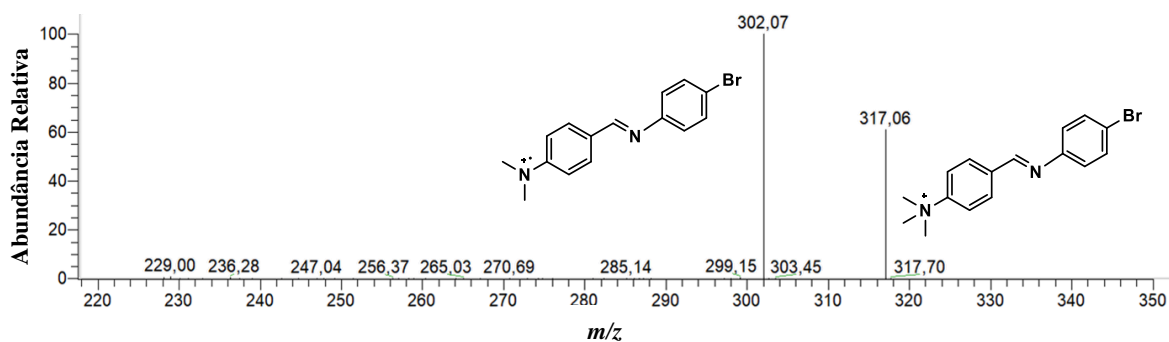
**Figura 47:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  196.

Os íons de  $m/z$  317 e 319 são atribuídos a imina. Esses íons são os mais intensos do espectro, mesmo após 30 minutos, e sua formação já era esperada. Destaca-se que o padrão isotópico do bromo é visto, indicando que houve participação da **BrA** na formação desta espécie. O mecanismo de formação destes íons é mostrado a seguir (**Figura 48**, página 62).

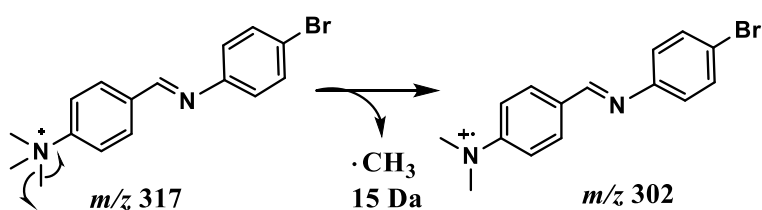


**Figura 48:** Mecanismo de formação do íons de  $m/z$  317 e 319.

O espectro de fragmentação (**Figura 49**) do íon de  $m/z$  317, assim como o íon  $m/z$  319, mostra a redução de 15 Da em relação a sua massa inicial, indicando a perda de um radical metila. O mecanismo de fragmentação é mostrado na **Figura 50**.

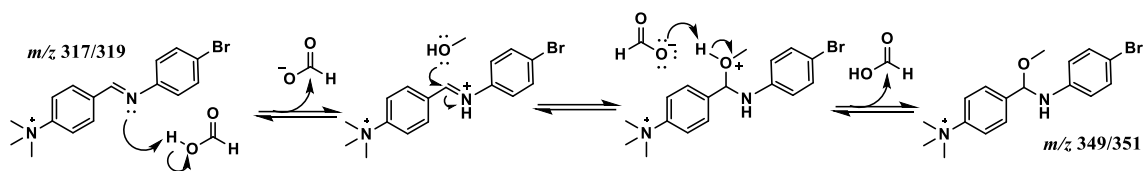


**Figura 49:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  317.



**Figura 50:** Mecanismo de fragmentação do íon  $m/z$  317.

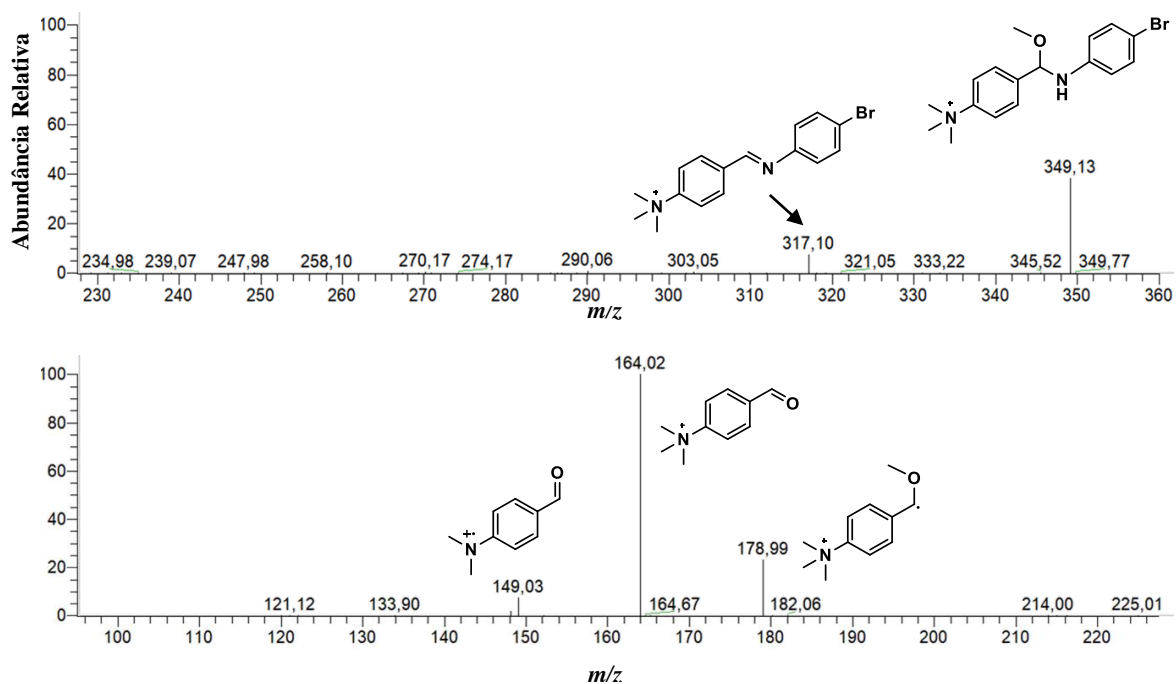
Os íons de  $m/z$  349 e 351 possuem uma diferença de 32 Da com relação aos íons  $m/z$  317 e 319, indicando que, possivelmente, ocorreu uma simples adição de metanol a imina. Além disso, destaca-se que o padrão isotópico do bromo é visto neste íon, indicando que houve participação da **BrA** na formação desta espécie. O mecanismo de formação deste íon é mostrado a seguir (**Figura 51, página 65**).



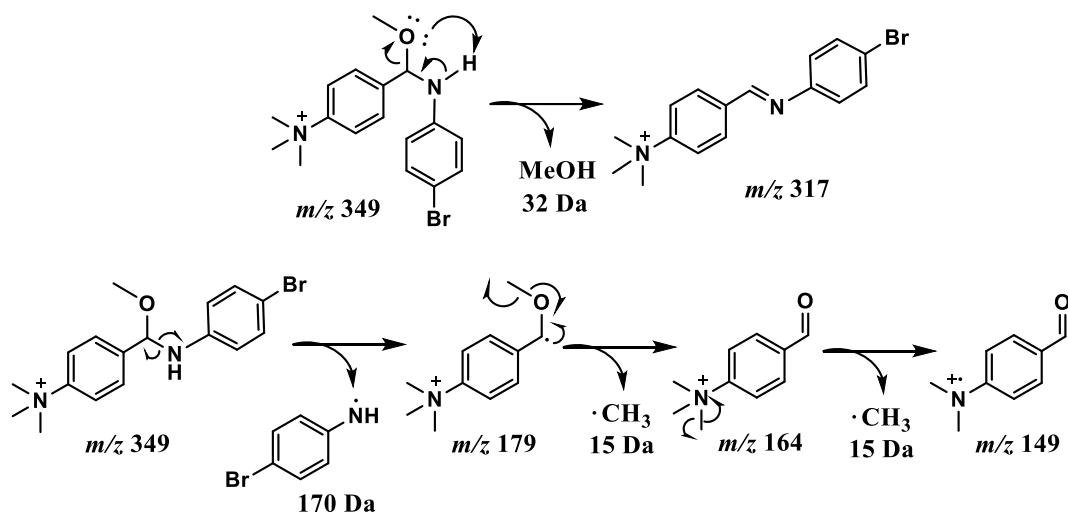
**Figura 51:** Mecanismo de formação do íons de  $m/z$  349 e 351.

A adição de uma molécula de metanol aos íons  $m/z$  317 e 319 ocorre devido a acidez do meio, na presença de um composto nucleofílico. De um modo geral, quando ocorre a protonação do átomo de nitrogênio da ligação  $\text{C}=\text{N}$ , a ligação se torna altamente reativa a um ataque nucleofílico. Além disso, é perceptível que sua intensidade diminui à medida que o metanol evapora da superfície do papel.

O espectro de fragmentação (**Figura 52**) do íon de  $m/z$  349, assim como o íon de  $m/z$  351, mostra a formação de quatro principais fragmentos. O mecanismo de fragmentação é mostrado na **Figura 53**, página 66.

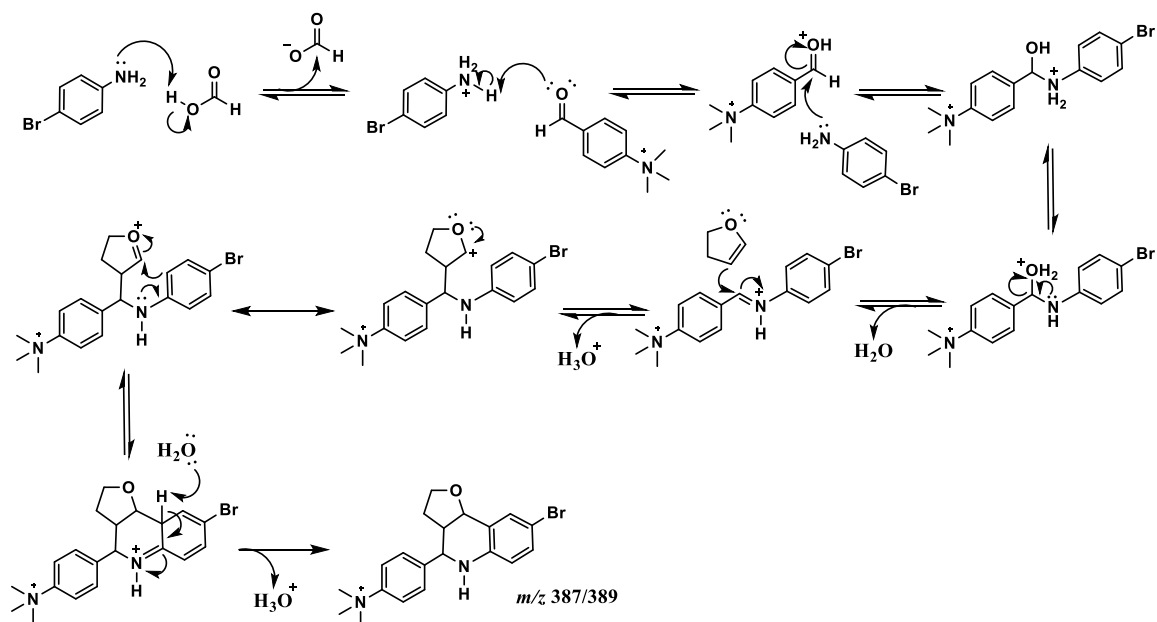


**Figura 52:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  349.



**Figura 53:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  349.

Os íons de  $m/z$  387 e 389 são atribuídos ao produto final, ou seja, o produto formado quando ocorre a reação entre os três reagentes principais resultando na produção do anel tetraidroquinolínico. Destaca-se, mais uma vez, que o padrão isotópico do bromo é visto nestes íons, indicando que há participação da **BrA** na formação do mesmo. O mecanismo de formação destes íons é mostrado na **Figura 54**.

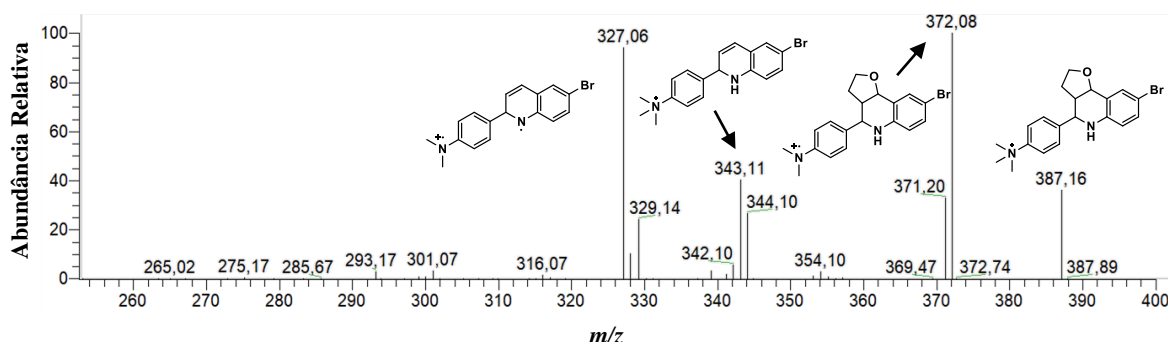


**Figura 54:** Mecanismo de formação dos íons de  $m/z$  387 e 389.

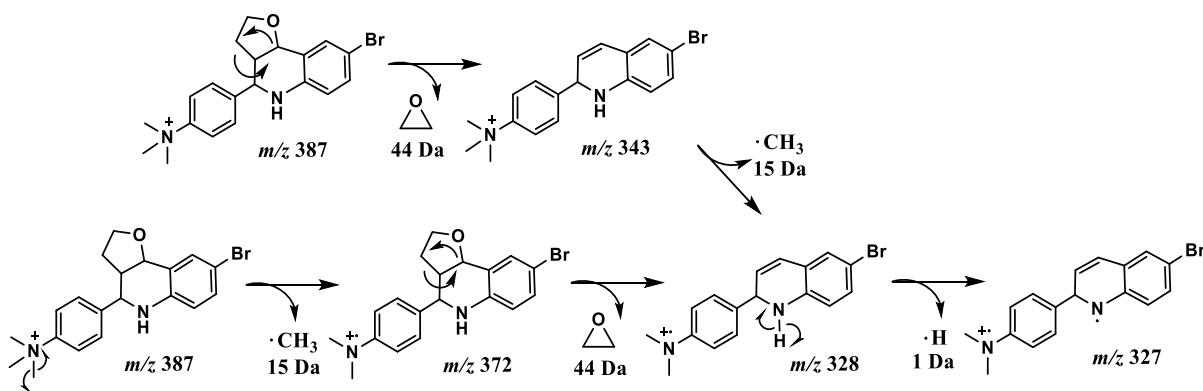
Basicamente, o mecanismo para a formação dos íons de  $m/z$  387 e 389 processa-se, primeiramente, com a formação da imina (íons de  $m/z$  317 e 319). Posteriormente, a imina

é protonada, o carbono da ligação C=N se torna altamente reativo e o **2,3-DHF**, atuando como nucleófilo, ataca o carbono da ligação C=N<sup>+</sup>H. Um carbocátion é formado, sendo estabilizado por ressonância através da formação de um oxônio. Por fim, o oxônio é atacado através de uma reação de substituição eletrofílica aromática, formando o anel tetraidroquinolínico.

O espectro de fragmentação (**Figura 55**) do íon de  $m/z$  387, assim como o íon de  $m/z$  389, mostra a formação de três principais fragmentos. O mecanismo de fragmentação é mostrado na **Figura 56**.



**Figura 55:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  387.

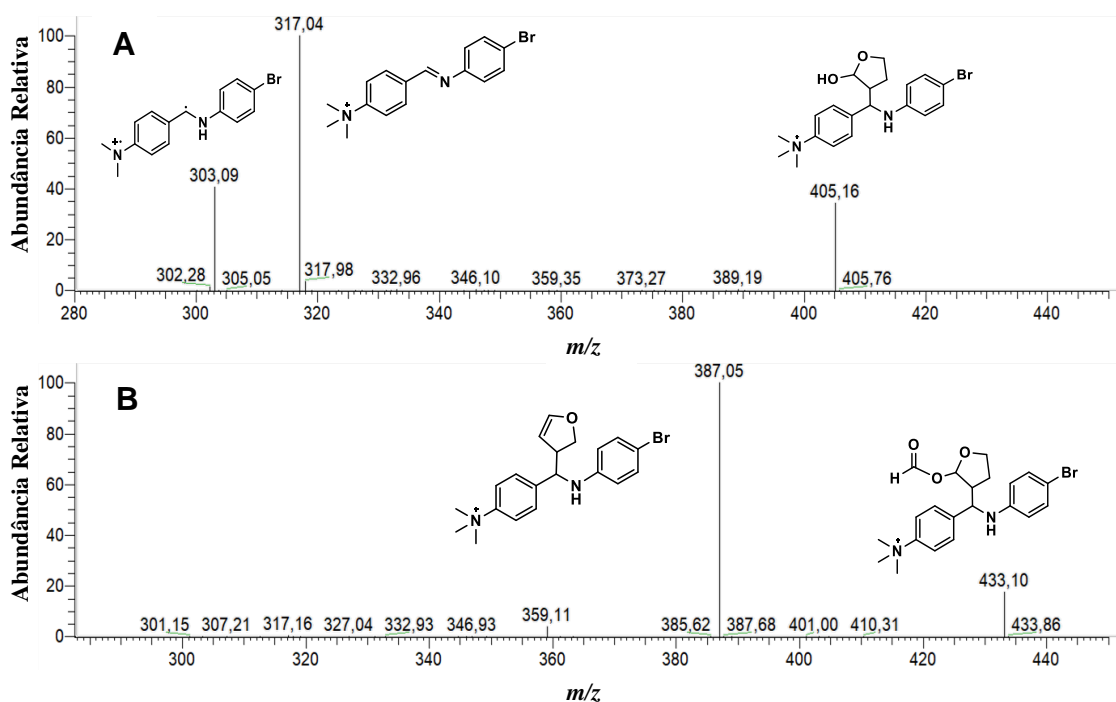


**Figura 56:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  387.

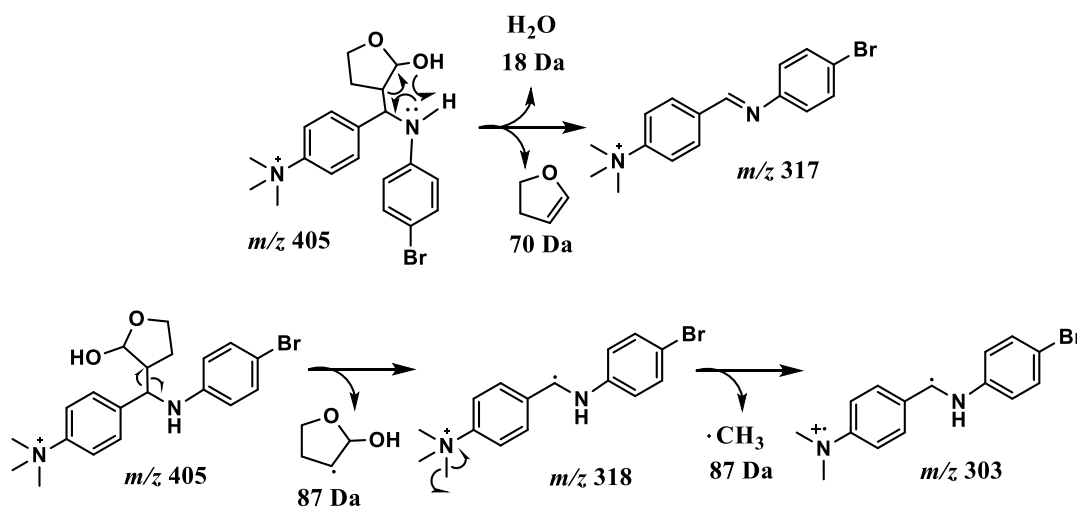
Os íons de  $m/z$  405/407 e 433/435 mostram uma diferença de 18 Da e 46 Da, respectivamente, em relação aos íons de  $m/z$  387 e 389. Portanto, acredita-se que eles se referem a espécies onde o intermediário oxônio é atacado por água e ácido fórmico, respectivamente. Destaca-se, mais uma vez, que o padrão isotópico do bromo é visto nestes íons, indicando que há participação da **BrA** na formação do mesmo.



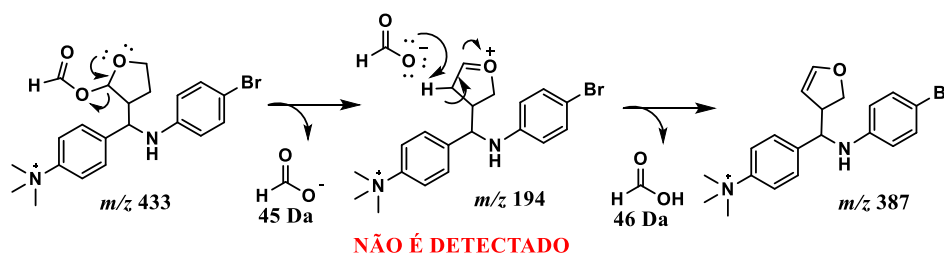
O espectro de fragmentação destes íons é mostrado nas **Figuras 57**, onde nota-se o surgimento de alguns fragmentos. Seus respectivos mecanismos de fragmentação são mostrados a seguir (**Figura 58 e Figura 59**, respectivamente).



**Figura 57:** PS(+)-MS/MS dos íons de  $m/z$  405 (A) e 433 (B).



**Figura 58:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  405.



**Figura 59:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  433.

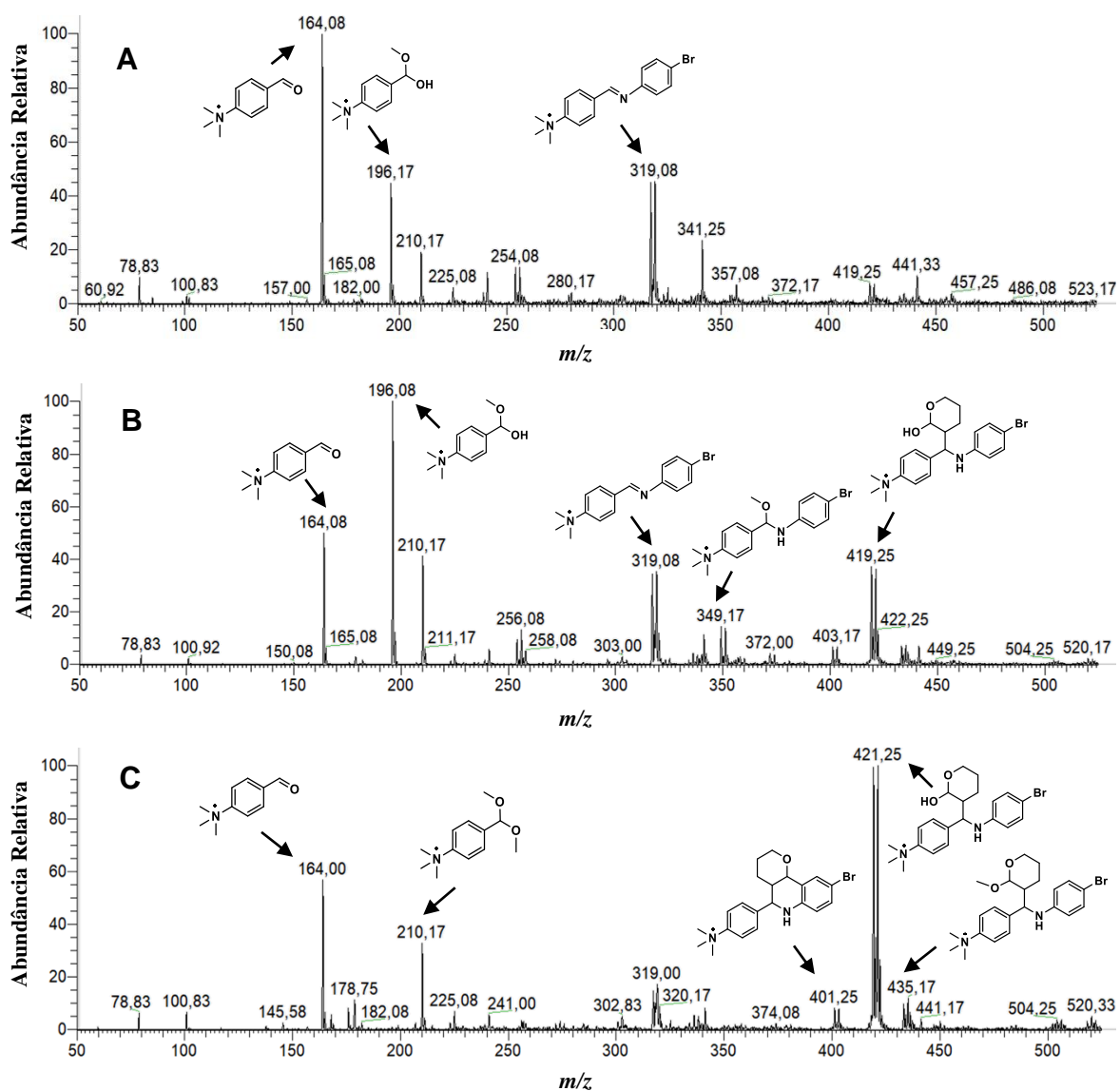
Portanto, com os resultados mostrados acima, concluiu-se que a reação funcionou em superfície. Provavelmente esta reação se processa via mecanismo iônico com a formação de carbocátion, ao invés de um mecanismo concertado, como uma reação de Aza Diels-Alder. Apesar do íon referente ao intermediário carbocátion não ter sido detectado, os produtos de adição de água e ácido fórmico ( $m/z$  405 e  $m/z$  433) comprovam sua formação.

A visualização dos intermediários e produtos é um ótimo resultado, assim como a mudança no perfil do espectro de massas com o passar do tempo. Entretanto, devido a rápida evolução da reação em superfície e a alta volatilidade de alguns reagentes, como o **2,3-DHF**, após 10 minutos não há uma mudança significativa nos espectros. Portanto, optou-se por variar alguns reagentes utilizados na reação, com o objetivo de melhorar a distribuição das espécies formadas ao longo do tempo.

O primeiro componente reacional a ser avaliado foi o **2,3-diidropirano (2,3-DHP)**. Optou-se por substituir o **2,3-DHF** pelo **2,3-DHP**, devido a sua menor volatilidade se comparada com o **2,3-DHF**. Os resultados obtidos foram semelhantes, porém, houve mudança na distribuição das espécies, bem como, em suas abundâncias relativas (**Figura 60, página 70**).

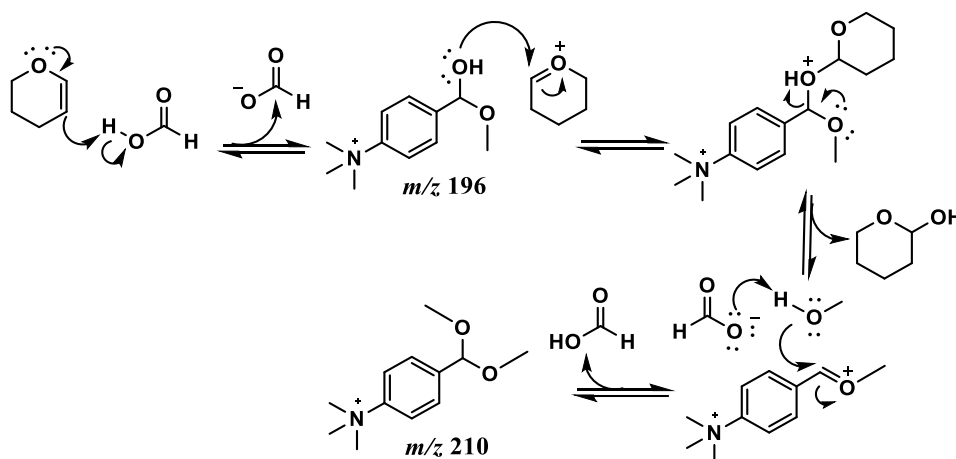
Nota-se que o íon de  $m/z$  196 também é formado nessa reação empregando o **2,3-DHP**. Como mostrado anteriormente, esse íon corresponde à adição de metanol ao **aldeído 2**, formando um hemiacetal. O perfil de fragmentação deste íon é o mesmo visto na **Figura 47**, discutido acima.

O íon de  $m/z$  210 é visto pela primeira vez nesta nova condição e nota-se que há um leve aumento em sua intensidade com o passar do tempo. Devido à uma diferença de 14 Da em relação ao íon de  $m/z$  196, acredita-se que esse íon seja uma segunda adição de metanol ao **aldeído 2**, formando o acetal.



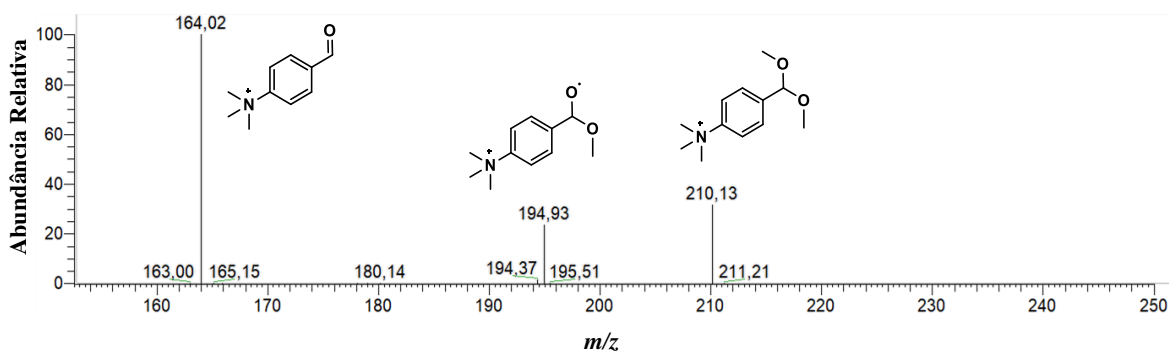
**Figura 60:** PS(+)-MS da Reação de Povarov em superfície em 0 min (A), 10 min (B) e 30 min (C).

O **2,3-DHP** é conhecido por ser uma substância usada como grupo protetor de álcoois. Essa proteção é feita em meio ácido e é capaz de proteger o grupo hidroxila em forma de acetal, o que o torna resistente a certas condições reacionais. Deste modo, acredita-se que o **2,3-DHP** tenha participação na formação do íon  $m/z$  210 (Figura 61, página 71).

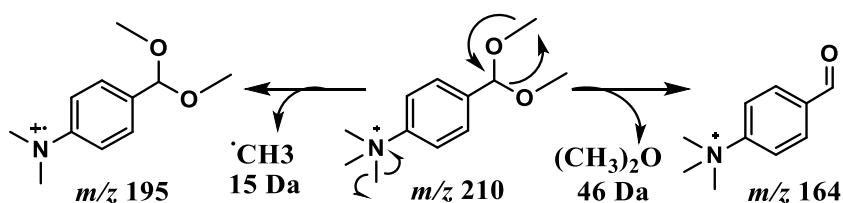


**Figura 61:** Mecanismo de formação do íon de  $m/z$  210.

O espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  210 mostra a formação de dois íons principais (**Figura 62**). O mecanismo de fragmentação é mostrado na **Figura 63**.



**Figura 62:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  210.



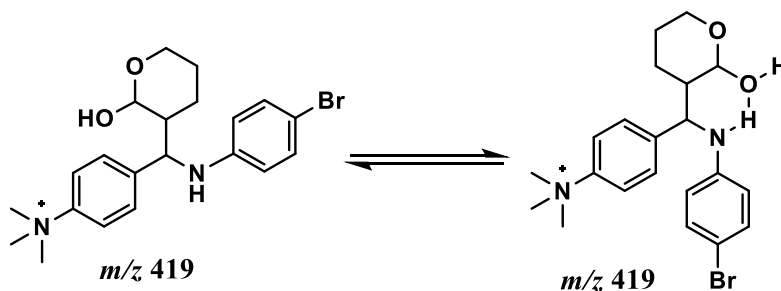
**Figura 63:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  210.

Os íons de  $m/z$  317/319 e 349/351 são vistos em menor intensidade quando empregamos o **2,3-DHP**. Esses íons já eram esperados e correspondem à imina e à adição de uma molécula de metanol à imina, como discutido anteriormente. O espectro de fragmentação desses íons mostrou os mesmos perfis exibidos nas **Figuras 49 e 52**

(página 64 e 65, respectivamente). O produto desejado, ou seja, a espécie onde há o anel tetraidroquinolínico ( $m/z$  401/403), é visto, mas em intensidade muito baixa.

O íon mais intenso é o de  $m/z$  419/421. Esse íon possui uma diferença de 18 Da com relação ao íon de  $m/z$  401/403, indicando que, provavelmente, houve adição de água ao intermediário oxônio, como foi visto quando se empregou **2,3-DHF**. O mecanismo de formação deste íon é semelhante ao mostrado na **Figura 55, página 67**, com o **2,3-DHP** atacando a ligação  $C=N^+H$  e posteriormente, sofrendo a adição de uma molécula de água.

Provavelmente, neste caso, o íon de  $m/z$  419/421 é o mais intenso porque existe a possibilidade de formação de um ciclo de seis membros que auxilia na estabilização da espécie. A formação desse ciclo é resultado de ligações de hidrogênio intramoleculares, como mostrado na **Figura 64**.



**Figura 64:** Equilíbrio conformacional do íon de  $m/z$  419.

O espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  419, assim como o íon de  $m/z$  421, apresenta muitos fragmentos (**Figura 65, página 73**). Os mecanismos de fragmentação são mostrados a seguir (**Figura 66, página 73**).

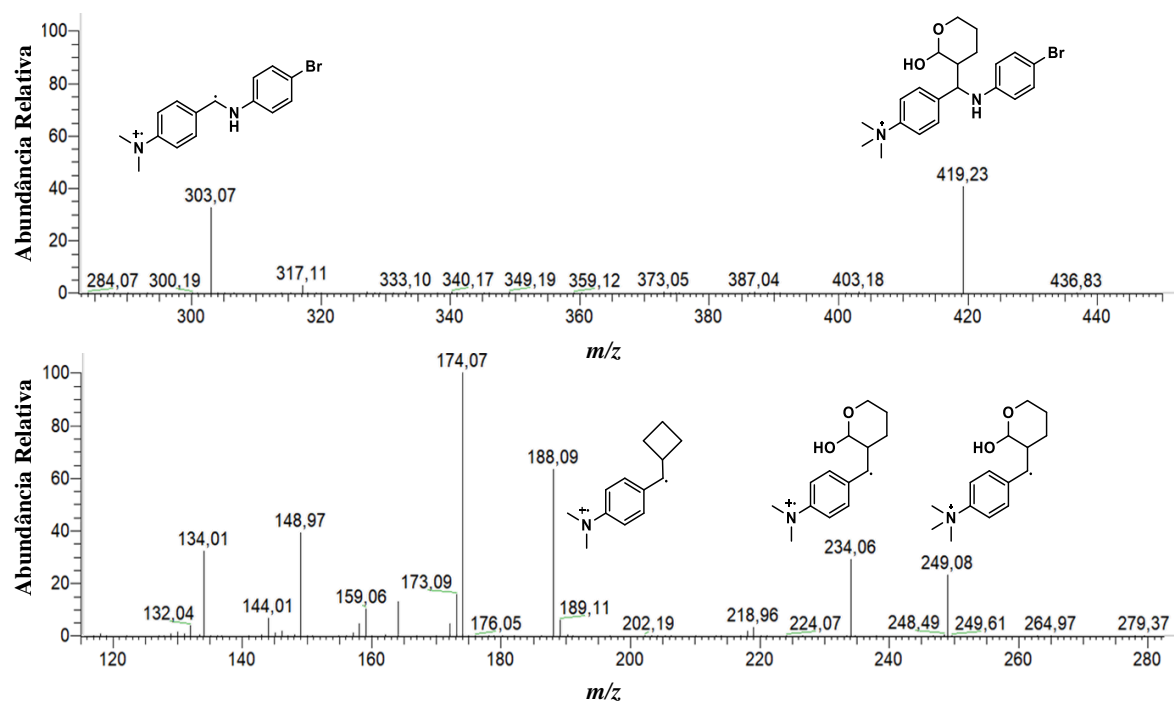


Figura 65: PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  419.

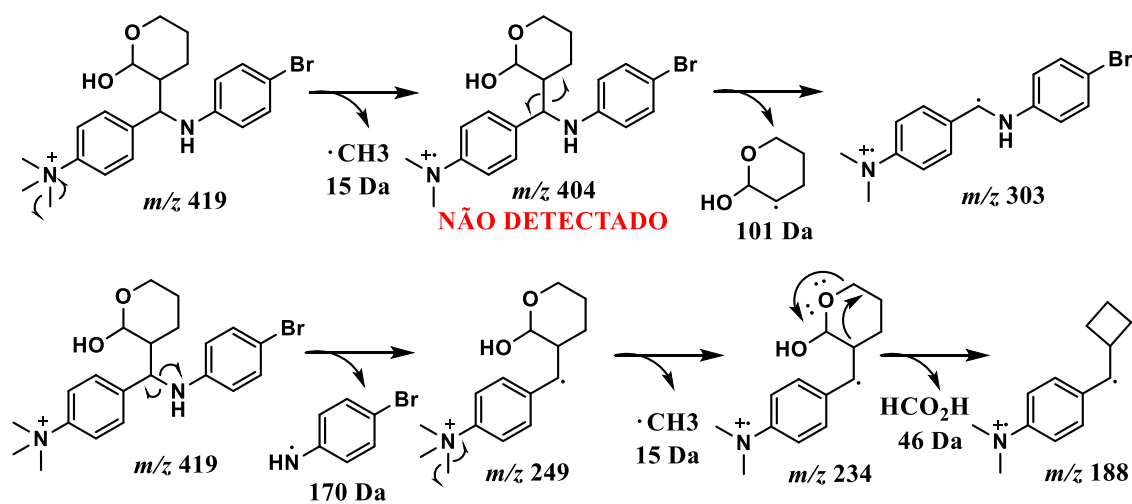


Figura 66: Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  419.

Os íons de  $m/z$  433 e 435 também são vistos em baixa intensidade ao final de trinta minutos. Acredita-se que essa seja a espécie resultante da adição de uma molécula de metanol ao intermediário formado, já que, possui uma diferença de 32 Da com relação aos íons de  $m/z$  401 e 403.

No caso dessa reação onde o **2,3-DHP** é empregado no lugar do **2,3-DHF**, os íons mais intensos ao final da reação são os íons de  $m/z$  419 e 421. Como dito anteriormente,

esses íons correspondem à adição de uma molécula de água aos íons  $m/z$  401 e 403. Não se observou a adição de ácido fórmico, como é anteriormente com o uso do **2,3-DHF**.

O **estireno** também foi utilizado como alceno nesta reação, entretanto não mostrou bons resultados com relação a formação de produtos e intermediários. Inicialmente, os sinais dos íons de  $m/z$  317 e 319 (referentes a imina) são visualizados, mas após 30 minutos não há mudança no perfil do espectro (ANEXO - Figura 27). Acredita-se que, por não ser um alceno doador de densidade eletrônica, tão eficiente como o **2,3-DHF** e **2,3-DHP**, o **estireno** não seja um bom substrato para esta reação.

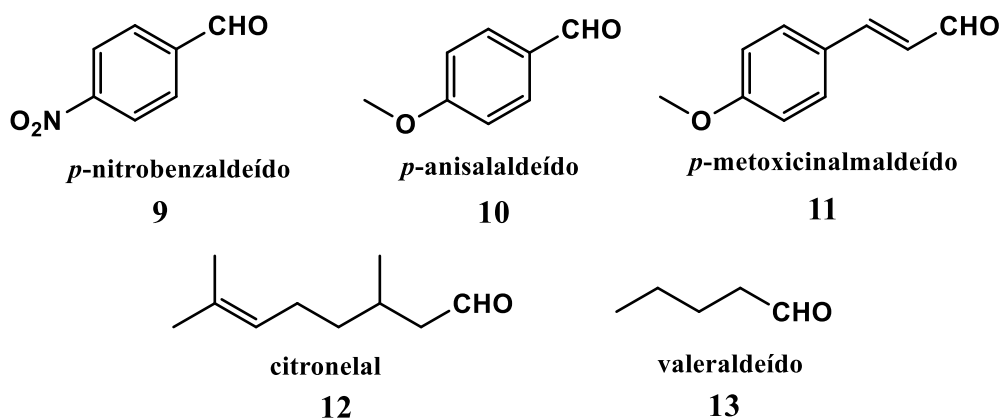
Analisando os resultados discutidos acima, concluiu-se que o melhor alceno para o estudo da Reação de Povarov em superfície foi o **2,3-DHF** que possibilitou a formação de mais intermediários e produtos. Outro teste realizado foi a mudança do ácido utilizado na reação. Primeiramente, optou-se por utilizar **ácido acético**, ao invés de **ácido fórmico**, juntamente com **aldeído 2, BrA** e **2,3-DHF**.

Os resultados mostraram que a reação funciona, alguns intermediários são vistos, como o íon de  $m/z$  196 (referente ao hemiacetal), os íons de  $m/z$  317 e 319 (referentes a imina) e os íons de  $m/z$  349 e 341 (referentes a adição de metanol a imina). Entretanto, após 30 minutos não houve o surgimento de nenhum outro íon e não houve mudança no perfil do espectro com o passar do tempo (ANEXO - Figura 28).

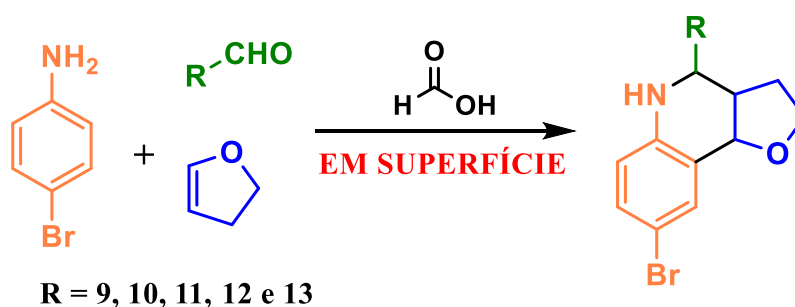
Além disso, visando o uso de catalisadores ácidos não-nucleofílicos, ou seja, ácido nos quais suas respectivas bases conjugadas não sejam nucleofílicas, decidiu-se por utilizar os calixarenos. É descrito na literatura o uso de calixarenos como catalisadores ácidos, inclusive em Reações de Povarov.<sup>[45]</sup> Portanto, optou-se por utilizar o **ácido *p*-sulfônico cálix[4]areno**, ao invés do **ácido fórmico**, juntamente com **aldeído 2, BrA** e **2,3-DHF**. Alguns intermediários são vistos, porém, não há mudança no perfil do espectro (ANEXO - Figura 29), sinalizando que o **cálix[4]areno** não seja um catalisador adequado para esse tipo de estudo.

Destaca-se que a reação na ausência de **ácido fórmico** não produz os intermediários e produtos mostrados anteriormente. Os únicos íons vistos são os referentes a imina, os íons de  $m/z$  317 e 319. Os íons correspondentes a essa espécie se formam quase que espontaneamente, mas a produção de outros intermediários não é vista, muito menos a formação do produto final.

Deste modo, o ácido que se mostrou ser o melhor catalisador para esta reação é **ácido fórmico**. Com isso, chegou-se a uma condição otimizada para a reação em superfície, empregando o **aldeído 2**, **BrA** e **2,3-DHF**, na presença de **ácido fórmico**. Visando investigar a reatividade frente a Reação de Povarov, optou-se por utilizar diferentes aldeídos (**Figura 67**) na presença de **BrA**, **2,3-DHF** e **ácido fórmico** (**Esquema 13**).



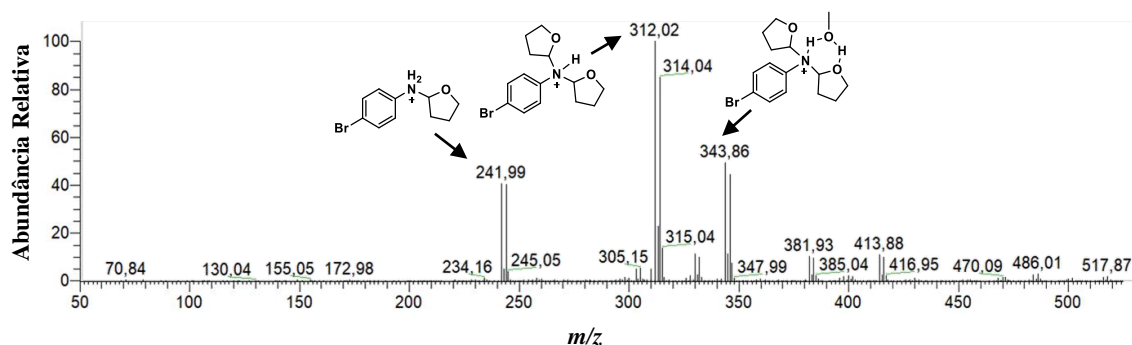
**Figura 67:** Aldeídos utilizados na Reação de Povarov em superfície.



**Esquema 13:** Esquema geral da Reação de Povarov utilizando diferentes aldeídos.

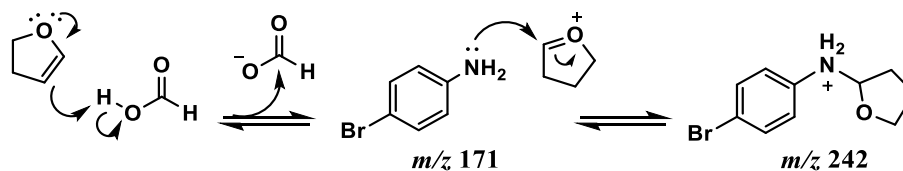
O primeiro aldeído testado foi o **4-nitrobenzaldeído (9)**, mantendo os mesmos reagentes e condições de análise descritos anteriormente. A **Figura 68, página 76**, mostra o espectro obtido ao fim da reação. Nota-se a presença de íons que não foram vistos anteriormente, que serão discutidos a seguir.



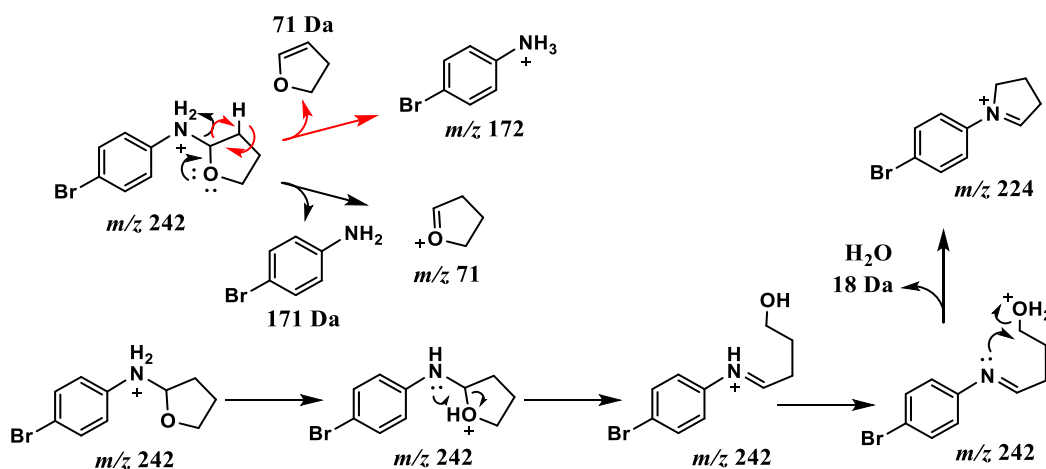


**Figura 68:** PS(+)-MS reação com **aldeído 9** em superfície após 5 minutos.

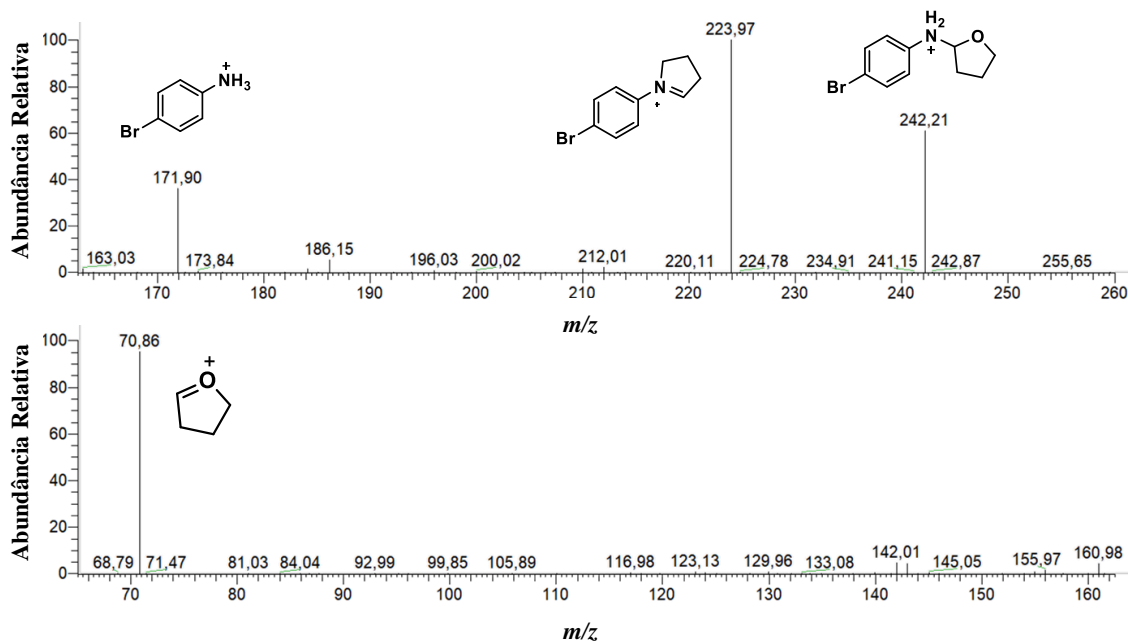
Os íons de  $m/z$  242 e 244 se referem a adição da **4-bromoanilina (BrA)** ao **2,3-DHF**. O mecanismo de formação desse íon é mostrado na **Figura 69**. A produção desses compostos pode ser explicada devido ao fato de que o **2,3-DHF**, em meio ácido, pode capturar um próton formando um intermediário oxônio, que é altamente reativo frente a nucleófilos. O mecanismo de fragmentação é mostrado na **Figura 70**. O espectro de fragmentação (**Figura 71**) do íon  $m/z$  242, assim como o íon  $m/z$  244, mostra três principais fragmentos.



**Figura 69:** Mecanismo de formação do íon de  $m/z$  242.

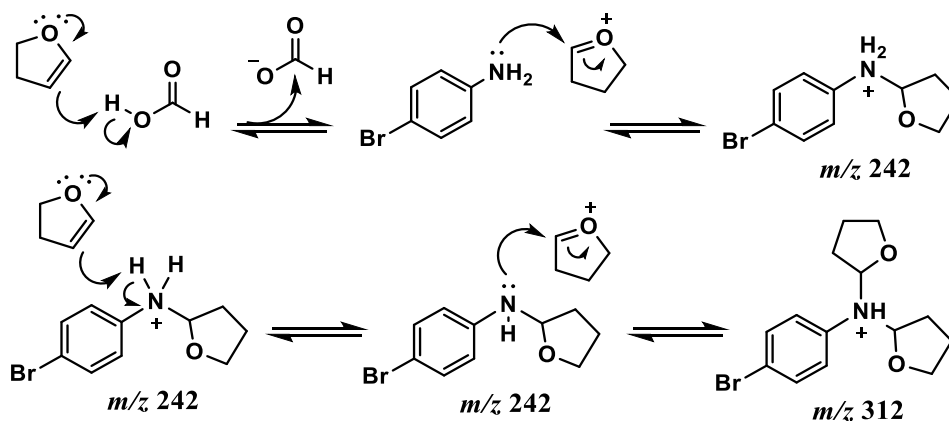


**Figura 70:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  242.



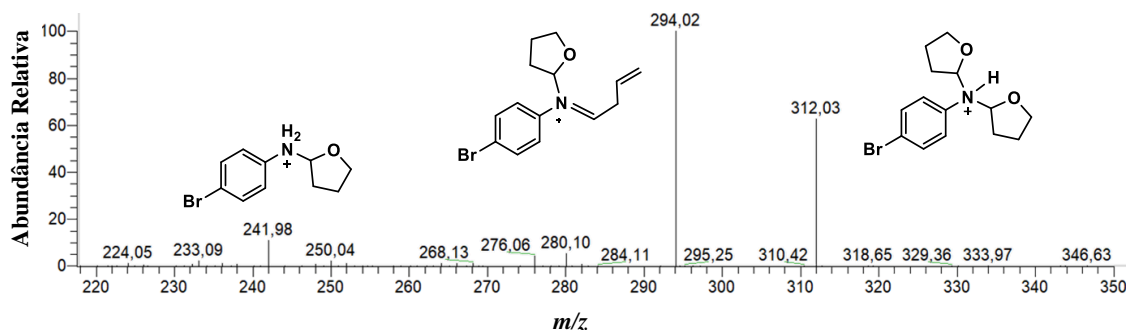
**Figura 71:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  242.

Por apresentarem uma diferença de 70 Da em relação aos íons de  $m/z$  242 e 244, acredita-se que os íons de  $m/z$  312 e 314 sejam uma segunda inserção do **2,3-DHF** à **BrA**. O mecanismo de formação destas espécies se iniciaria da mesma maneira mostrada na **Figura 69**, página 70, entretanto os íons de  $m/z$  242 e 244 reagem mais uma vez com o do **2,3-DHF** (**Figura 72**).

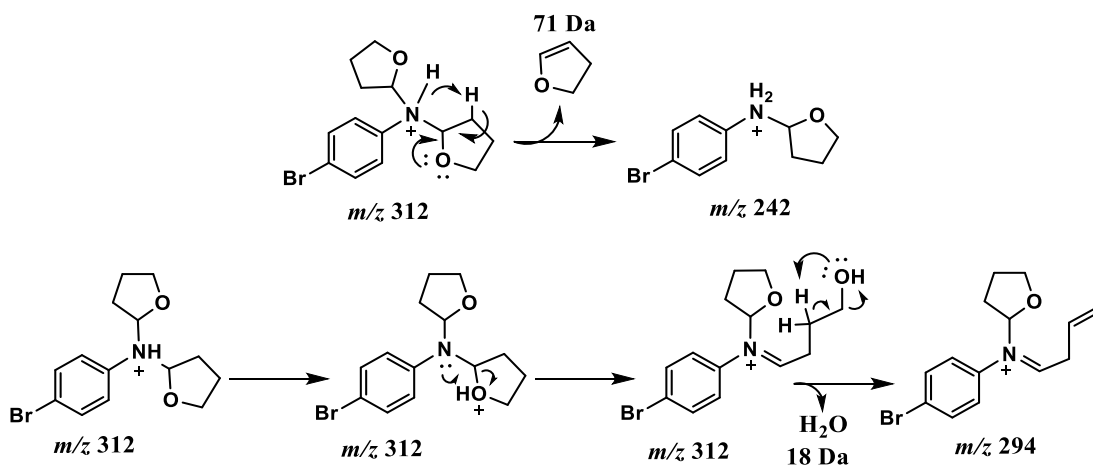


**Figura 72:** Mecanismo de formação do íon de  $m/z$  312.

O espectro de fragmentação (**Figura 73**) do íon  $m/z$  312, assim como o íon  $m/z$  314, mostra dois principais fragmentos. O mecanismo de fragmentação é mostrado na **Figura 74**.

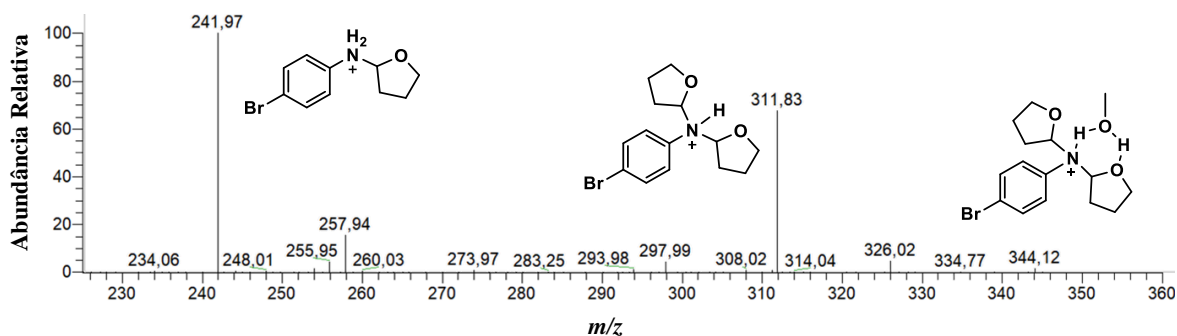


**Figura 73:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  312.



**Figura 74:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  312.

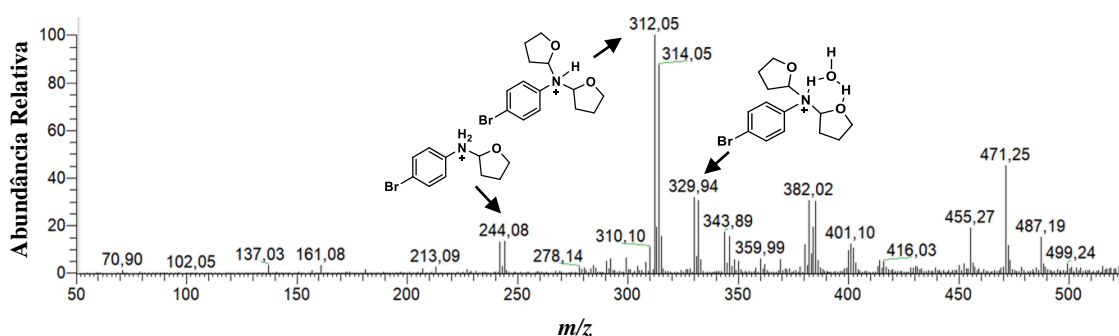
Por fim, os íons de  $m/z$  344 e 346 são adutos de metanol com os íons de  $m/z$  312 e 314, respectivamente, apresentando uma diferença de 32 Da. A formação desse aduto é favorecida devido ao uso de metanol como solvente e por formar um ciclo estável de seis membros, através de ligações de hidrogênio. O espectro de fragmentação (**Figura 75, página 79**) do íon de  $m/z$  344, assim como do íon de  $m/z$  346, mostrou dois principais fragmentos, o primeiro deles é a perda de uma molécula de metanol e outro é perda de uma molécula de **2,3-DHF**.



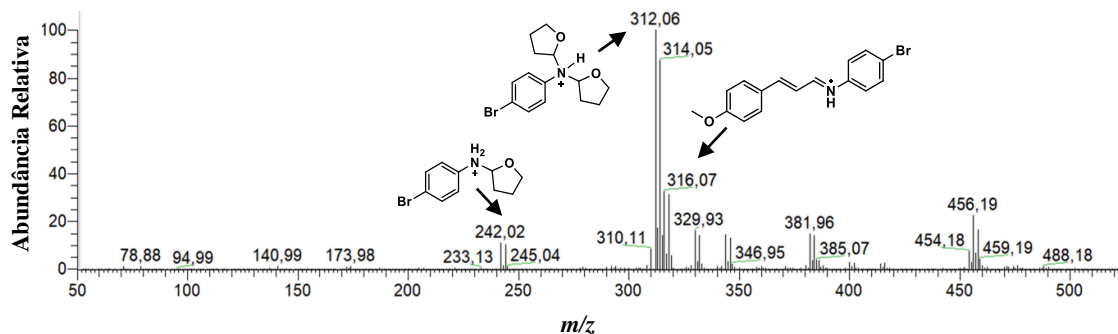
**Figura 75:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  344.

Aparentemente, a reação em superfície utilizando o ***p*-nitrobenzaldeído** não funcionou. Acredita-se que os íons vistos após 5 minutos se referem a adição de **BrA** ao **2,3-DHF**. Além disso, os íons referentes à imina ( $m/z$  305 e 307) não foram detectados. Portanto, concluiu-se que não houve sucesso na reação de Povarov em superfície empregando o **4-nitrobenzaldeído**.

Em seguida, testou-se o ***p*-anisaldeído (10)** e ***p*-metoxicinamaldeído (11)**. Os espectros de massas obtidos ao final das reações são mostrados nas **Figuras 76 e 77 (página 79 e 80, respectivamente)**, respectivamente. Nota-se que houve a formação das mesmas espécies discutidas anteriormente, ou seja, adição de **BrA** ao **2,3-DHF**. No caso do **aldeído 11** é possível visualizar os sinais referentes à sua respectiva imina ( $m/z$  316 e 318), mas em baixa intensidade. Portanto, a reação empregando esses dois aldeídos também não funcionou.

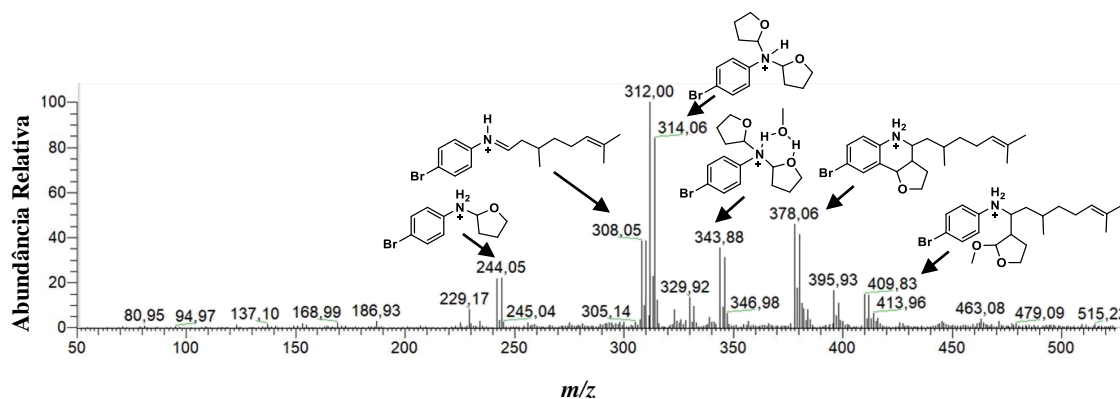


**Figura 76:** PS(+)-MS reação com **aldeído 10** em superfície após 5 minutos.



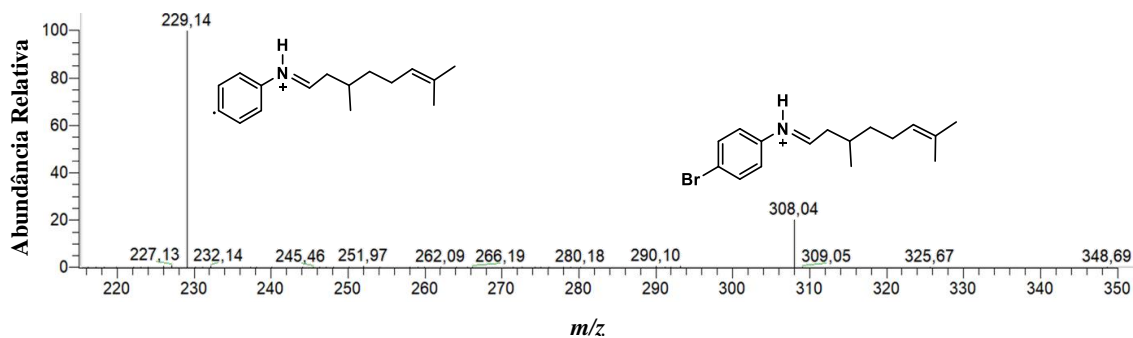
**Figura 77:** PS(+)-MS reação com **aldeído 11** em superfície após 5 minutos.

O próximo aldeído testado foi o **citronelal (12)**. O espectro de massas após 5 minutos é mostrado na **Figura 78**. Nota-se que os intermediários discutidos anteriormente também são vistos, entretanto, neste caso, os íons referentes à imina ( $m/z$  308 e 310) e ao produto final ( $m/z$  378 e 380) aparecem em maior intensidade.



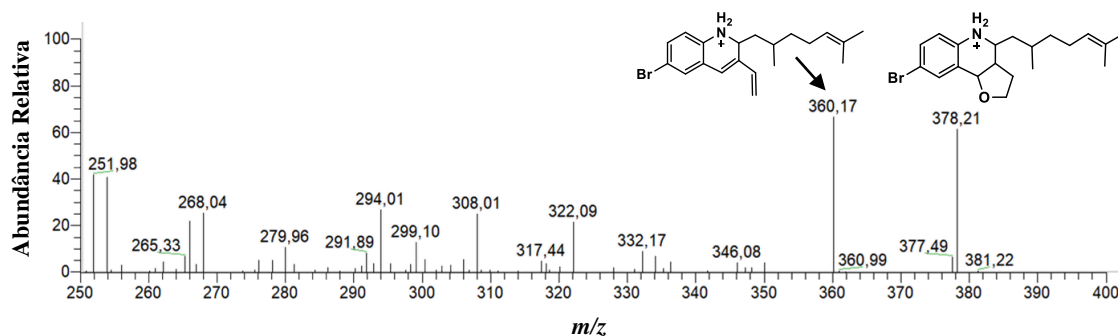
**Figura 78:** PS(+)-MS reação com **aldeído 12** em superfície após 5 minutos.

O espectro de fragmentação (**Figura 79**) do íon de  $m/z$  308, assim como o íon  $m/z$  310, mostra um fragmento principal. Esse fragmento possui uma diferença de 79 Da, portanto, acredita-se que seja relacionado a perda do átomo de bromo.

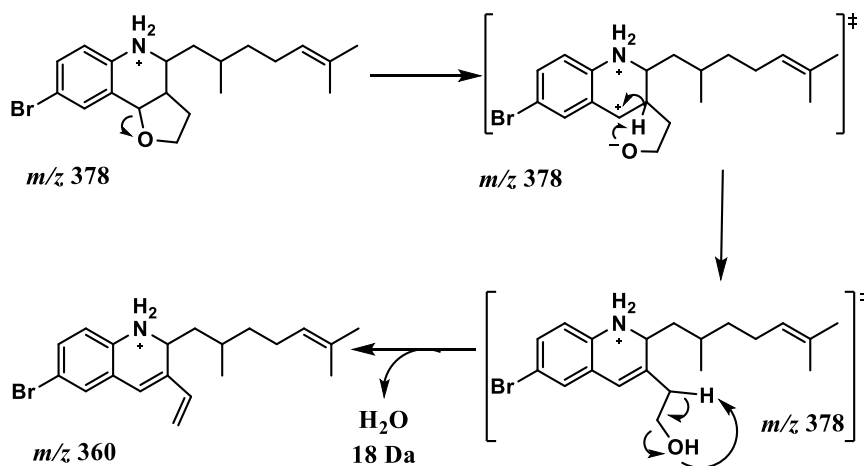


**Figura 79:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  308.

O espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  378 (**Figura 80**), assim como o íon de  $m/z$  380, mostra diversos fragmentos. O mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  378 é mostrado na **Figura 81**.

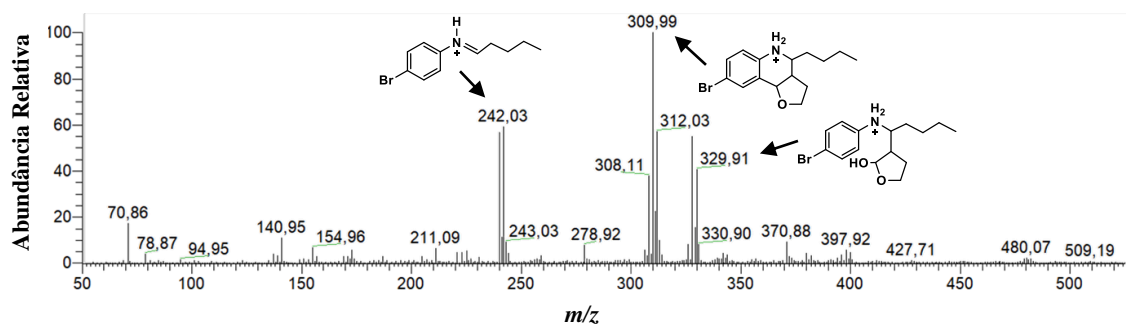


**Figura 80:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  378.



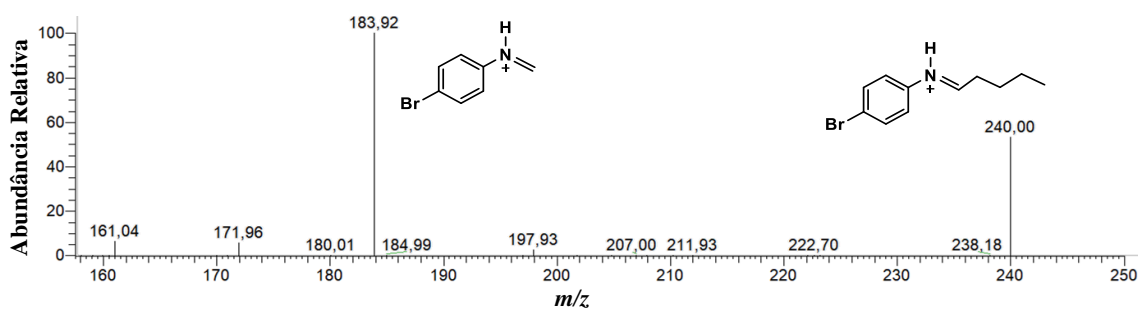
**Figura 81:** Mecanismo de formação do íon de  $m/z$  378.

Por fim, o último aldeído testado foi o **valeraldeído (13)**. O espectro de massas após 5 minutos é mostrado na **Figura 82, página 82**. Diferentemente dos outros aldeídos, onde os íons correspondentes a adição de **BrA** ao **2,3-DHF** eram os mais intensos, quando o aldeído **13** é usado na reação três novos íons aparecem e cada um deles será discutido a seguir.

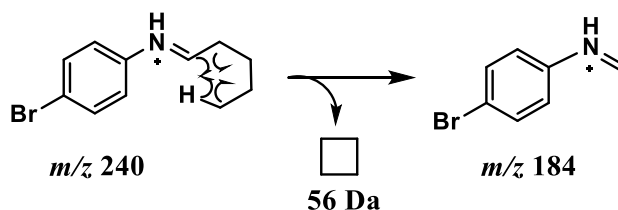


**Figura 82:** PS(+)-MS reação com **aldeído 13** em superfície após 5 minutos.

Acredita-se que os íons de  $m/z$  240 e 242 correspondem à imina. O espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  240, assim como o do íon de  $m/z$  242, apresenta apenas um fragmento principal (**Figura 83**). O mecanismo de fragmentação é mostrado na **Figura 84**.

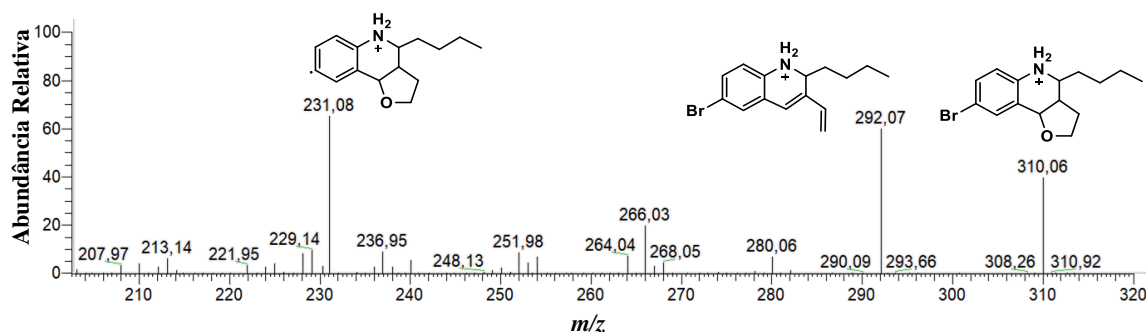


**Figura 83:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  240.



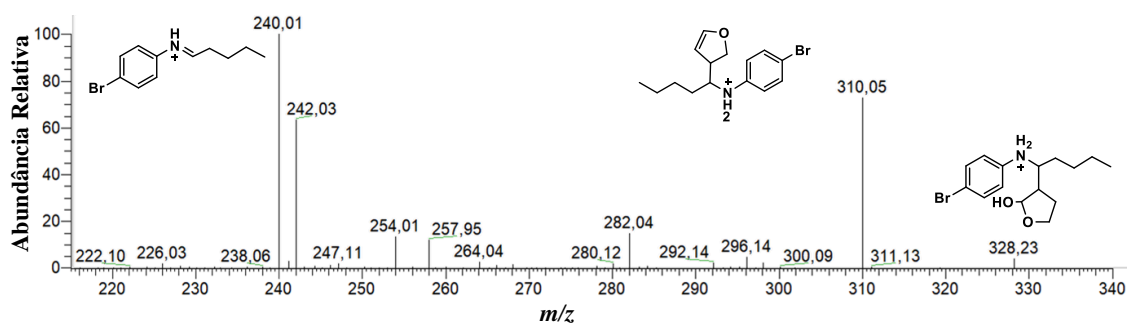
**Figura 84:** Mecanismo de fragmentação do íon de  $m/z$  240.

Os íons de  $m/z$  310 e 312 são referentes ao produto final. O espectro de fragmentação do íon  $m/z$  310 (**Figura 85**), assim como do  $m/z$  312, mostra dois fragmentos principais. Os mecanismos de formação de espécies semelhantes já foram mostrados acima.



**Figura 85:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  310.

Os íons de  $m/z$  328 e 330 correspondem à adição de uma molécula de água ao intermediário oxônio. O espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  328 (**Figura 86**), assim como do íon de  $m/z$  330, mostra dois principais fragmentos.



**Figura 86:** PS(+)-MS/MS do íon de  $m/z$  328.

Esses dois últimos aldeídos (**citronelal e valeraldeído**) mostraram boa reatividade frente a Reação de Povarov em superfície, juntamente com *p*-bromoanilina e **2,3-DHF**, na presença de **ácido fórmico**. É perceptível que o melhor resultado foi obtido utilizando-se o **valeraldeído (13)**, que gerou o aduto de Povarov com uma intensidade relativamente alta. Deste modo, os resultados indicam que aldeídos alifáticos possuem maior reatividade na Reação de Povarov em superfície.

#### 4.3.1. Conclusões

A Reação de Povarov em superfície mostrou bons resultados empregando o **aldeído 13**, *p*-bromoanilina e **2,3-diidrofurano**, na presença de **ácido fórmico**. Diferentes



intermediários e o produto principal são vistos ao final de cinco minutos. Realizou-se a fragmentação para auxiliar na elucidação das espécies. Além disso, outros aldeídos foram utilizados e os resultados mostraram que aldeídos alifáticos (**citronelal** e **valeraldeído**) são mais reativos frente a Reação de Povarov em superfície, se comparados a aldeídos aromáticos.

## 5. CONCLUSÃO GERAL

Este trabalho mostrou que a Espectrometria de Massas com Ionização por *Paper Spray* (PS-MS) é uma técnica altamente poderosa no estudo de reações orgânicas em superfície. Devido as características deste método recente de ionização, reações orgânicas de diferentes naturezas puderam ser avaliadas em superfície, permitindo a visualização de intermediários e produtos, em condições mais simples e rápidas.

Primeiramente, avaliou-se a reação de oxidação de álcool catalisada por rutênio, onde cinco produtos foram visualizados. Posteriormente, estudou-se uma reação de desacetilação enzimática de açúcares peracetilados catalisada pela lipase *Burkholderia cepacia* (BCL lipase). Por fim, a reação multicomponente de Povarov foi estudada e diversos intermediários e produtos foram detectados, além da avaliação da reatividade de diferentes substratos. Experimentos de fragmentação sequenciais também foram feitos e auxiliaram na elucidação das espécies formadas.

Essas reações foram estudadas em superfície e mostraram bons resultados. Isso mostra a versatilidade e funcionalidade do *paper spray* no estudo de reações em superfície, abrindo uma nova perspectiva na área da espectrometria de massas, visando a investigação e o *screening* de novas reações.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] J. Griffiths, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 5678–5683.
- [2] D. N. Atecha, C. Kuhlmann, C. Engelhard, *Anal. Methods* **2019**, *11*, 566–574.
- [3] A. Moreno-Pedraza, I. Rosas-Román, N. S. Garcia-Rojas, H. Guillén-Alonso, C. Ovando-Vázquez, D. Díaz-Ramírez, J. Cuevas-Contreras, F. Vergara, N. Marsch-Martínez, J. Molina-Torres, R. Winkler, *Anal. Chem.* **2019**.
- [4] M. Yamaguchi, T. Nakazawa, H. Kuyama, T. Obama, E. Ando, T. A. Okamura, N. Ueyama, S. Norioka, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 645–651.
- [5] A. Stolarzewicz, B. Morejko-Buz, D. Neugebauer, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2000**, *14*, 2170–2174.
- [6] E. de Hoffmann, V. Stroobant, *Mass Spectrometry Principles and Applications*, John Wiley & Sons Ltd., **2007**.
- [7] W. Bleakney, *Phys. Rev.* **1930**, *35*, 1180–1186.
- [8] K. Hiraoka, I. Kudaka, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1990**, *4*, 519–526.
- [9] R. G. et. al. Ouyang, Z. and Cooks, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 2463–2471.
- [10] E. M. McBride, P. M. Mach, E. S. Dhummakupt, S. Dowling, D. O. Carmany, P. S. Demond, G. Rizzo, N. E. Manicke, T. Glaros, *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2019**, *118*, 722–730.
- [11] L. S. Santos, *J. Braz. Chem. Soc.* **2011**, *22*, 1827–1840.
- [12] L. S. Santos, C. H. Pavam, W. P. Almeida, F. Coelho, M. N. Eberlin, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2004**, *43*, 4330–4333.

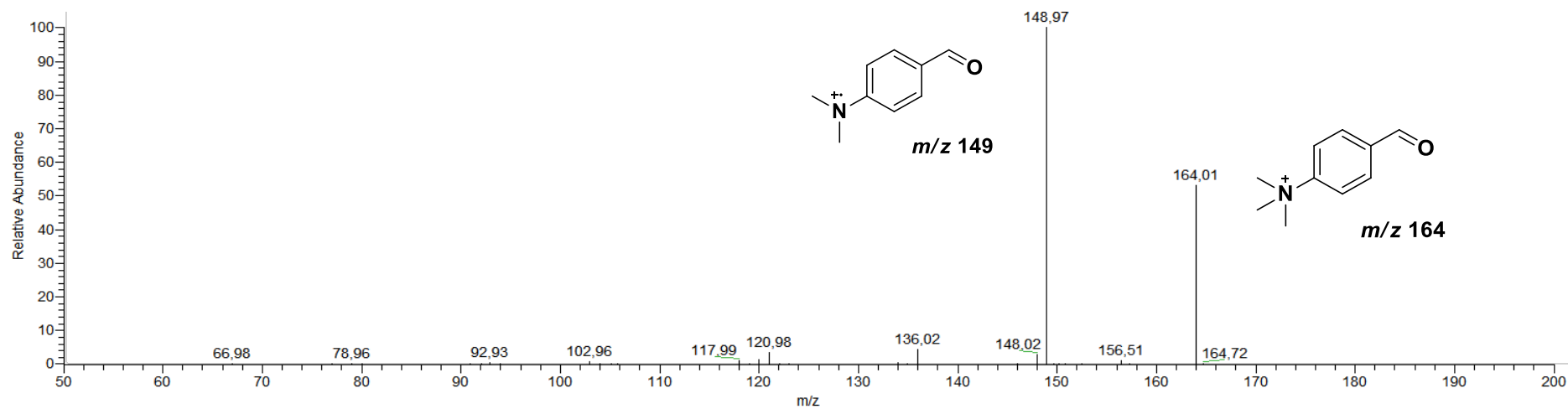
- [13] C. Hinderling, C. Adlhart, P. Chen, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **1998**, *37*, 2685–2689.
- [14] D. Feichtinger, D. A. Plattner, P. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7125–7126.
- [15] A. A. Sabino, A. H. L. Machado, C. R. D. Correia, M. N. Eberlin, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2004**, *43*, 2514–2518.
- [16] A. O. Aliprantis, J. W. Canary, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6985–6986.
- [17] L. S. Santos, G. B. Rosso, R. A. Pilli, M. N. Eberlin, *Synthesis (Stuttg.)* **2007**, 5809–5812.
- [18] R. Z. Shi, E. T. M. El Gierari, N. E. Manicke, J. D. Faix, *Clin. Chim. Acta* **2015**, *441*, 99–104.
- [19] Y. C. Huang, H. H. Chung, E. P. Dutkiewicz, C. L. Chen, H. Y. Hsieh, B. R. Chen, M. Y. Wang, C. C. Hsu, *Anal. Chem.* **2020**, *92*, 1653–1657.
- [20] T. Guo, Z. Zhang, K. E. Yannell, Y. Dong, R. G. Cooks, *Anal. Methods* **2017**, *9*, 6273–6279.
- [21] A. C. M. Moura, I. N. Lago, C. F. Cardoso, A. dos Reis Nascimento, I. Pereira, B. G. Vaz, *Food Chem.* **2020**, *310*, 125938.
- [22] F. Tosato, R. M. Correia, B. G. Oliveira, A. M. Fontes, H. S. França, W. K. T. Coltro, P. R. Filgueiras, W. Romão, *Anal. Methods* **2018**, *10*, 1952–1960.
- [23] A. M. Hamid, P. Wei, A. K. Jarmusch, V. Pirro, R. G. Cooks, *Int. J. Mass Spectrom.* **2015**, *378*, 288–293.
- [24] X. Wang, Y. Zheng, J. Shi, X. Gong, Y. Ji, W. Han, Y. Jiang, D. E. Austin, X. Fang, Z. Zhang, *Anal. Chem.* **2018**, *90*, 11138–11145.
- [25] R. M. Bain, C. J. Pulliam, X. Yan, K. F. Moore, T. Müller, R. G. Cooks, *J. Chem.*

- Educ.* **2014**, *91*, 1985–1989.
- [26] R. M. Bain, C. J. Pulliam, S. A. Raab, R. G. Cooks, *J. Chem. Educ.* **2016**, *93*, 340–344.
- [27] S. Banerjee, C. Basheer, R. N. Zare, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2016**, *55*, 12807–12811.
- [28] S. F. Resende, J. A. R. Teodoro, I. Binatti, R. L. Gouveia, B. S. Oliveira, R. Augusti, *Int. J. Mass Spectrom.* **2017**, *418*, 107–111.
- [29] X. Zhu, W. Zhang, Q. Lin, M. Ye, L. Xue, J. Liu, Y. Wang, H. Cheng, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2019**, *7*, 6486–6491.
- [30] E. J. Corey, J. W. Suggs, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 2647–2650.
- [31] K. E. Harding, L. M. May, K. F. Dick, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 1664–1665.
- [32] L. Wang, S. Sen Shang, G. Li, L. Ren, Y. Lv, S. Gao, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 2189–2193.
- [33] A. Köckritz, M. Sebek, A. Dittmar, J. Radnik, A. Brückner, U. Bentrup, M. M. Pohl, H. Hugl, W. Mägerlein, *J. Mol. Catal. A Chem.* **2006**, *246*, 85–99.
- [34] R. A. Sheldon, I. W. C. E. Arends, A. Dijkman, *Catal. Today* **2000**, *57*, 157–166.
- [35] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Bioquímica*.
- [36] P. Taylor, **2000**, 37–41.
- [37] M. Luić, Z. Štefanić, I. Ceilinger, M. Hodošček, D. Janežič, T. Lenac, I. L. Ašler, D. Šepac, S. Tomić, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 4876–4883.
- [38] A. Ghanem, H. Y. Aboul-Enein, *Chirality* **2005**, *17*, 1–15.

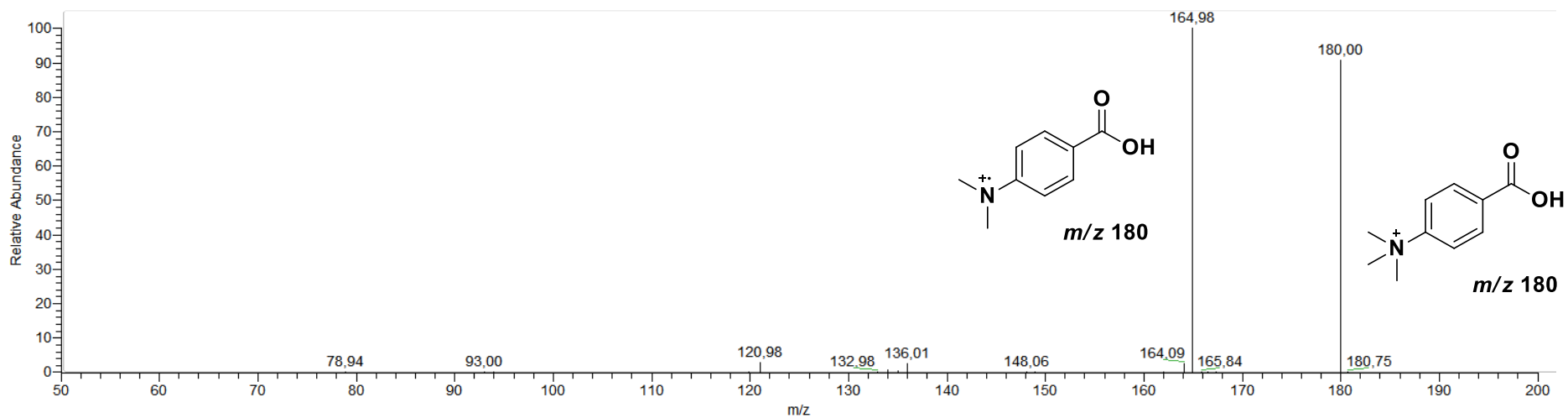
- [39] F. Björkling, S. E. Godtfredsen, O. Kirk, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 934–935.
- [40] V. Romanucci, C. Agarwal, R. Agarwal, C. Pannecouque, M. Iuliano, G. De Tommaso, T. Caruso, G. Di Fabio, A. Zarrelli, *Bioorg. Chem.* **2018**, *77*, 349–359.
- [41] G. Fernandez-Lorente, J. M. Palomo, J. Cocca, C. Mateo, P. Moro, M. Terreni, R. Fernandez-Lafuente, J. M. Guisan, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5705–5711.
- [42] D. A. Sánchez, G. M. Tonetto, M. L. Ferreira, *Biotechnol. Bioeng.* **2018**, *115*, 6–24.
- [43] R. Sundell, E. Siirola, L. T. Kanerva, *European J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 6753–6760.
- [44] P. N. Batalha, *Rev. Virtual Quim.* **2012**, *4*, 13–45.
- [45] J. B. Simões, Â. De Fátima, A. A. Sabino, F. J. T. De Aquino, D. L. Da Silva, L. C. A. Barbosa, S. A. Fernandes, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 5069–5073.
- [46] P. W. Moore, J. P. Hooker, A. Zavras, G. N. Khairallah, E. H. Krenske, P. V. Bernhardt, G. Quach, E. G. Moore, R. A. J. O’Hair, C. M. Williams, *Aust. J. Chem.* **2017**, *70*, 397–406.
- [47] H. Yuan, Z. Zhou, J. Xiao, L. Liang, L. Dai, *Tetrahedron Asymmetry* **2010**, *21*, 1874–1884.
- [48] H. Mu, R. Gong, L. Ren, C. Zhong, Y. Sun, E. Fu, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2008**, *70*, 923–928.
- [49] P. Vachal, J. M. Fletcher, W. K. Hagmann, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5761–5765.

- [50] P. Tiwari, A. K. Misra, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 339–350.
- [51] J. Camponovo, C. Hadad, J. Ruiz, E. Cloutet, S. Gatard, J. Muzart, S. Bouquillon, D. Astruc, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5071–5074.
- [52] J. Y. Kadooca, Universidade Federal de Minas Gerais, **2016**.
- [53] M. S. Kharasch, A. Fono, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 606–614.
- [54] F. H. Dickey, F. F. Rust, W. E. Vaughan, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 1432–1434.
- [55] L. S. Silbert, D. Swern, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 2364–2367.
- [56] W. Wei, C. Zhang, Y. Xu, X. Wan, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 10827–10829.
- [57] G. An, H. Ahn, K. A. De Castro, H. Rhee, *Synthesis (Stuttg.)* **2010**, 477–485.
- [58] J. Pícha, R. Cibulka, F. Liška, P. Pařík, O. Pytela, *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **2004**, *69*, 2239–2252.
- [59] M. A. Geluk, W. Norde, H. K. A. I. Van Kalsbeek, K. Van't Riet, *Enzyme Microb. Technol.* **1992**, *14*, 748–754.
- [60] A. FERNANDEZ-MAYORALAS, *ChemInform* **2010**, *28*.
- [61] C. Torres, A. Fernandez-Mayoralas, *Lett. Org. Chem.* **2005**, *1*, 173–175.

# ANEXO

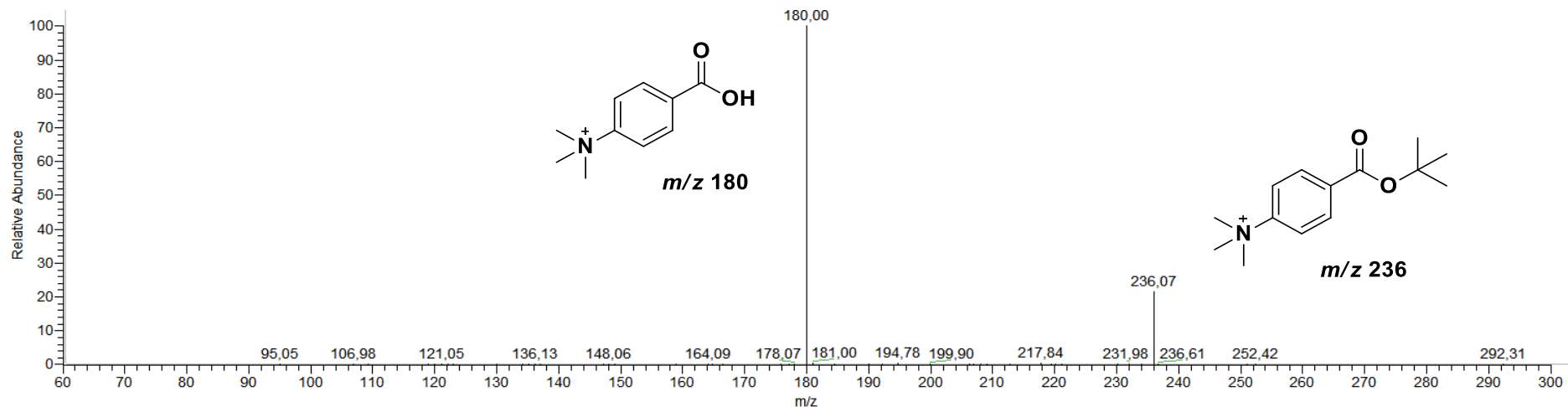


**Figura 1:** PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  164.

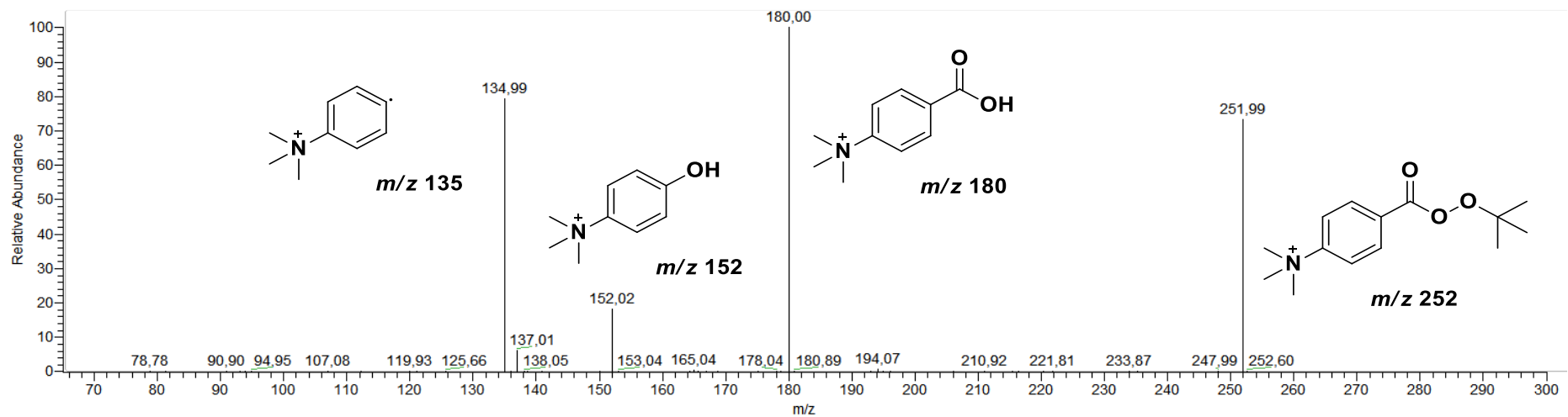


**Figura 2:** PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  180.

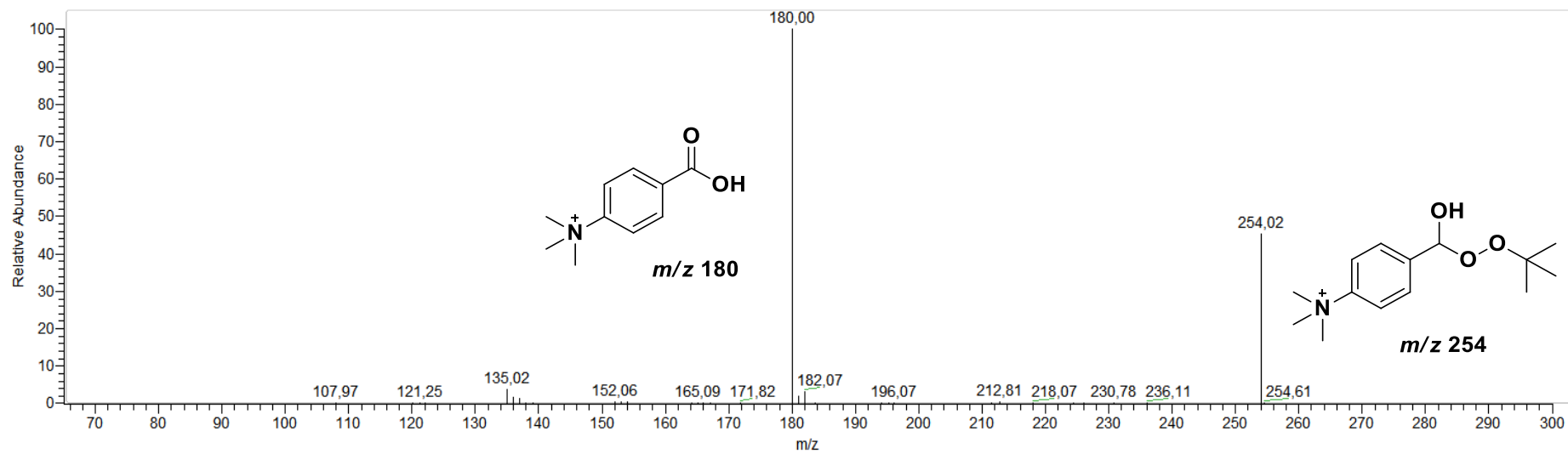




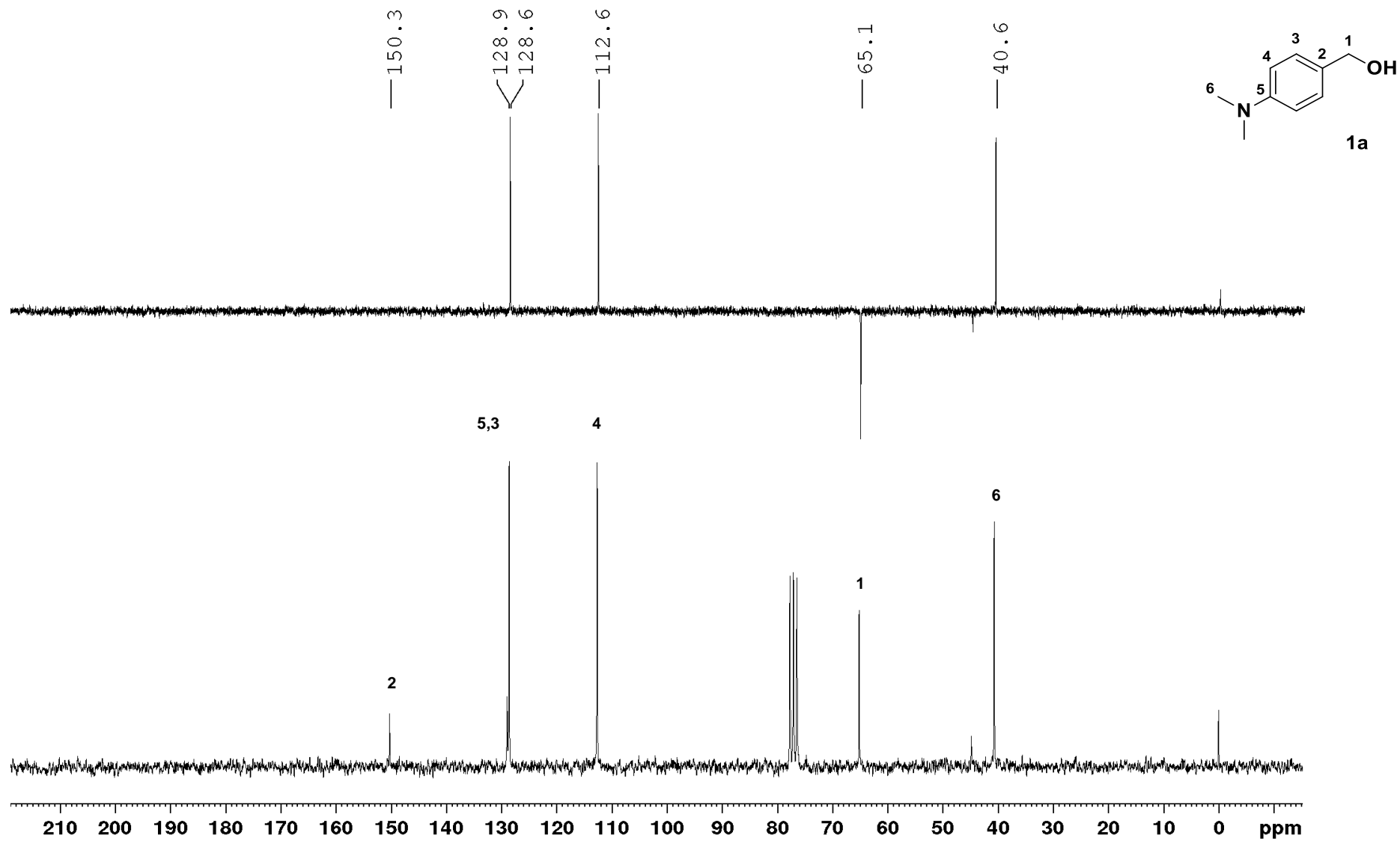
**Figura 3:** PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  236.



**Figura 4:** PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  252.



**Figura 5:** PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  254.



**Figura 6:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **1a**.

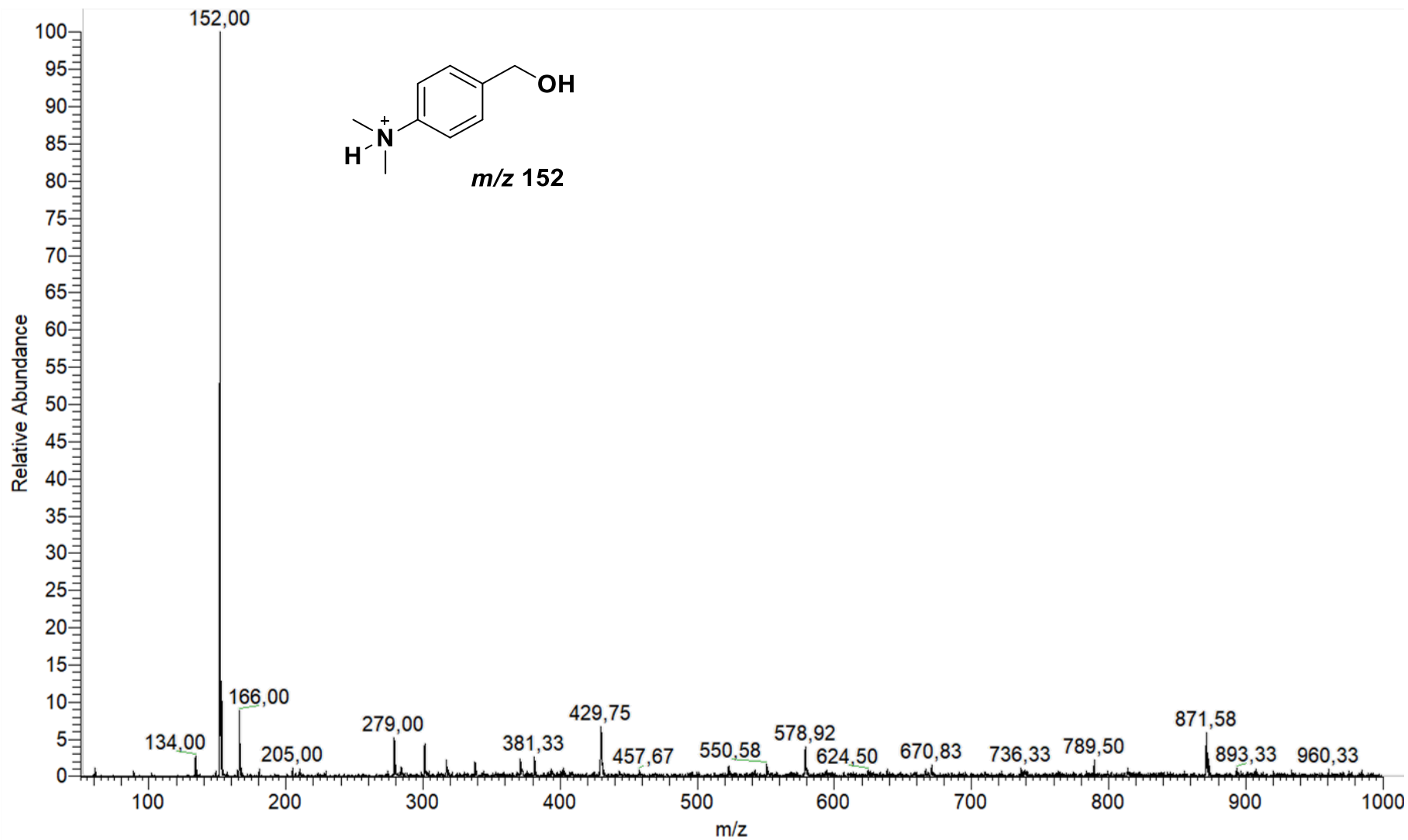
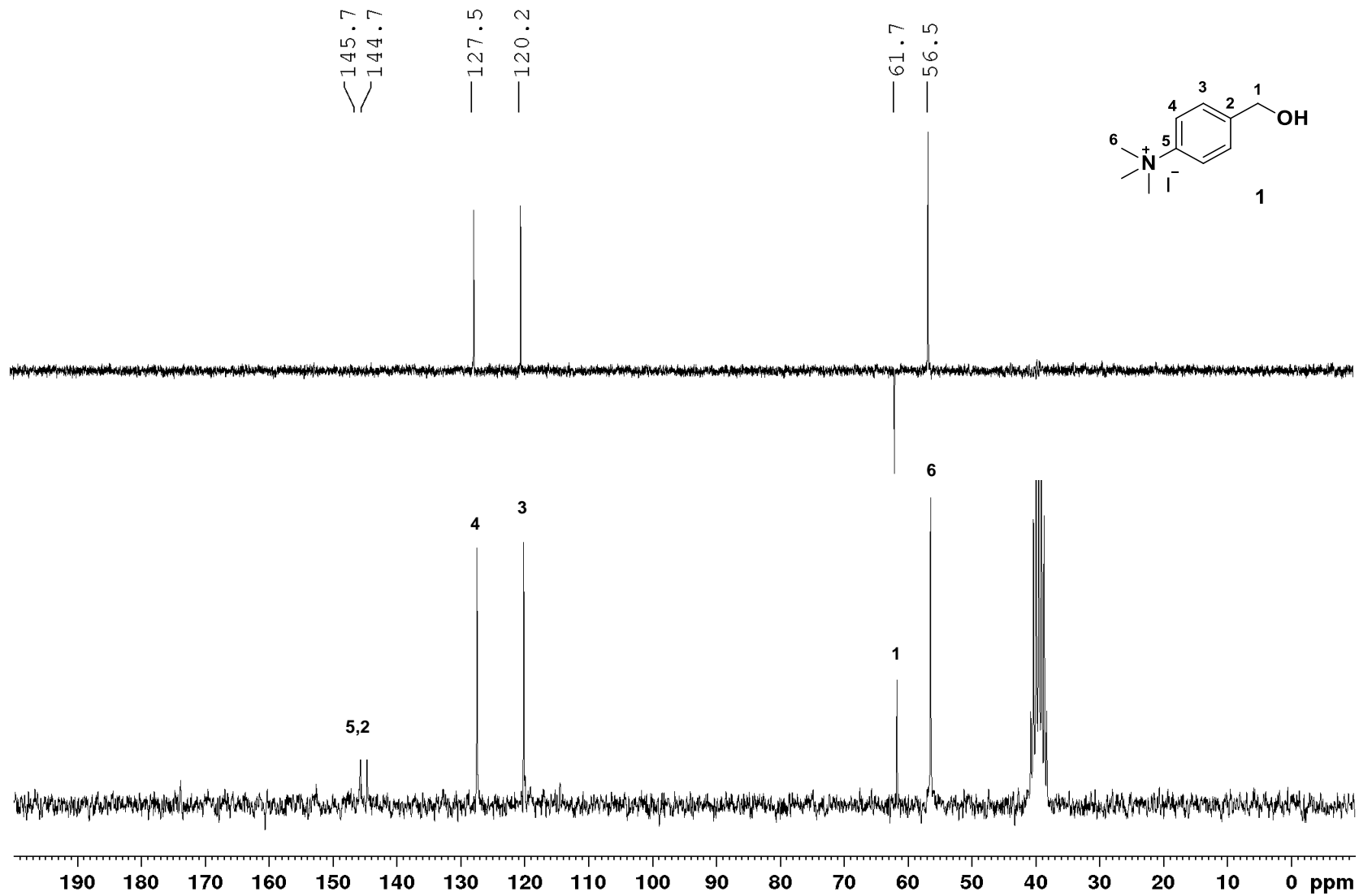


Figura 7: Espectro PS(+)-MS do composto 1a.



**Figura 8:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 (50 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do **composto 1**.

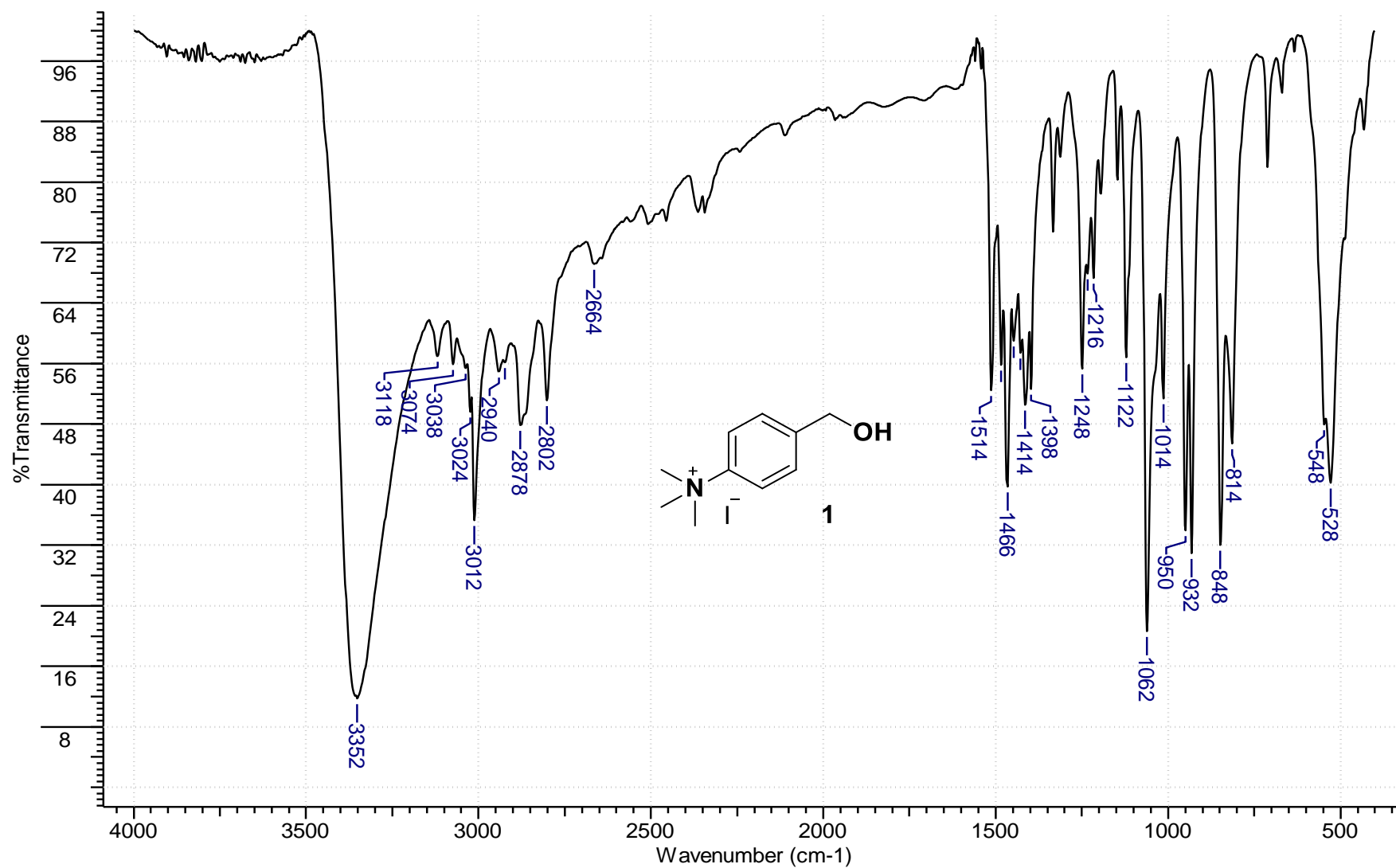


Figura 9: Espectro na região do infravermelho do **composto 1** (KBr).

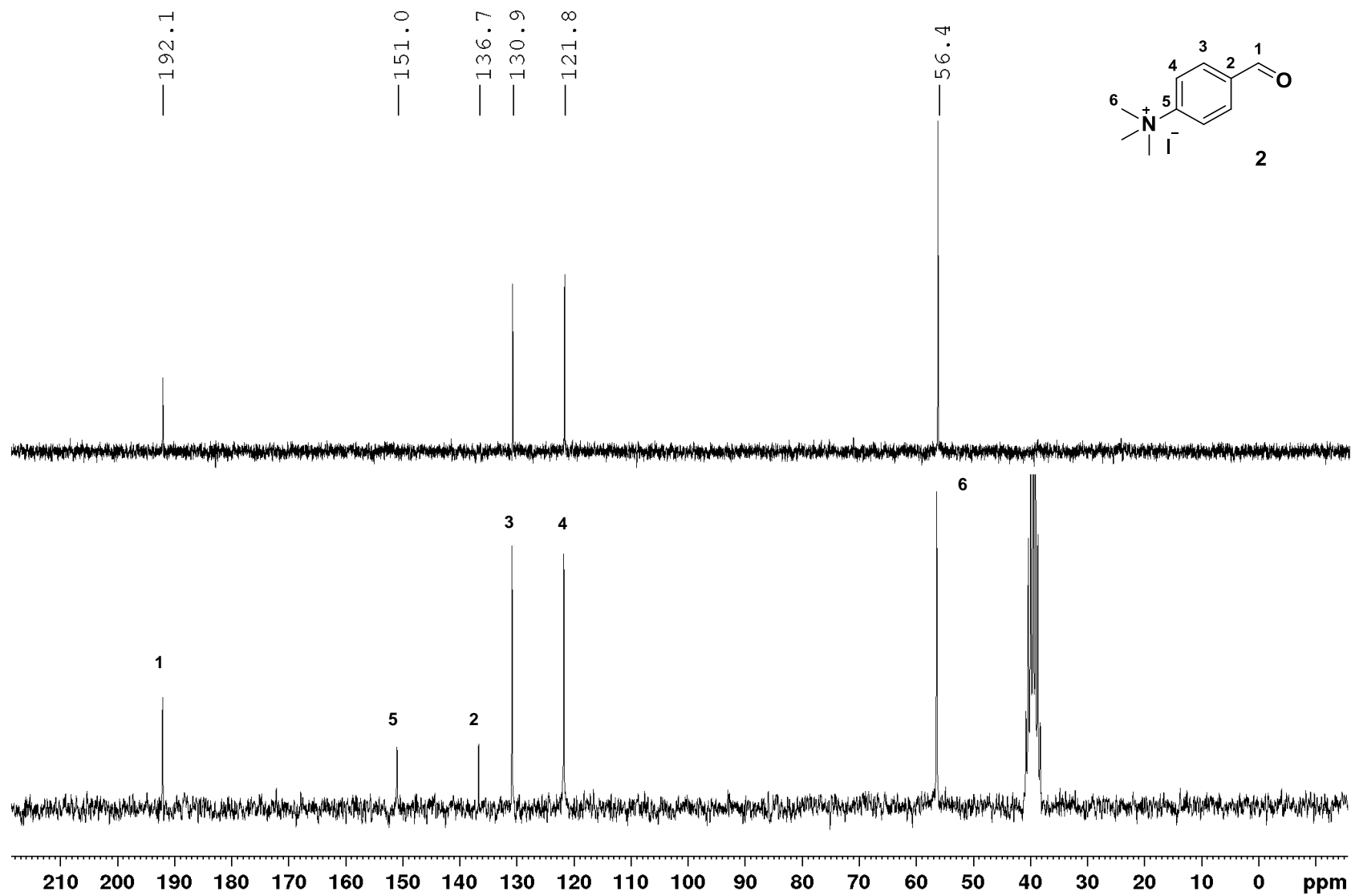
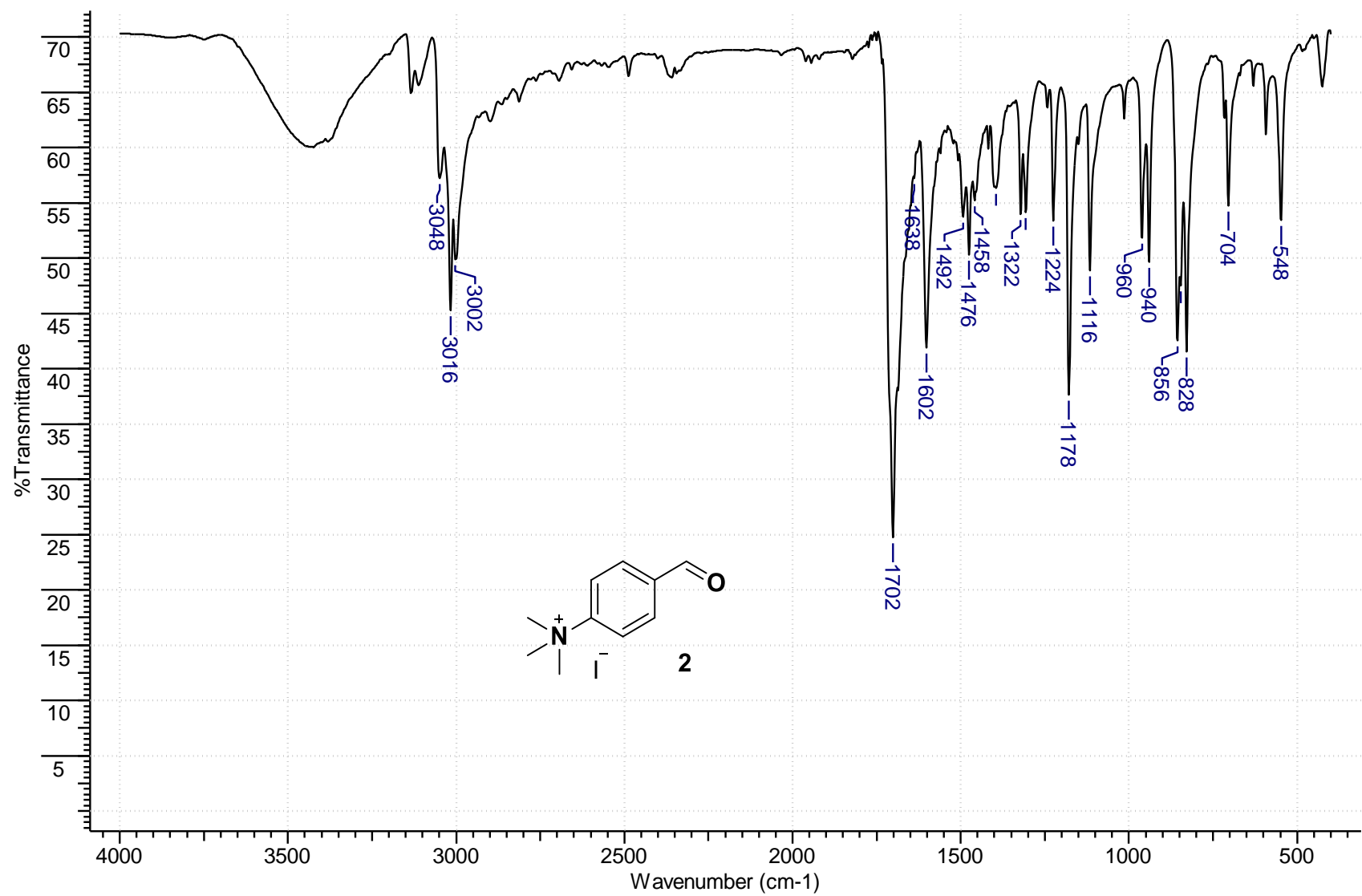


Figura 10: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 (50 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do composto 2.



**Figura 11:** Espectro na região do infravermelho do **composto 2** (KBr).



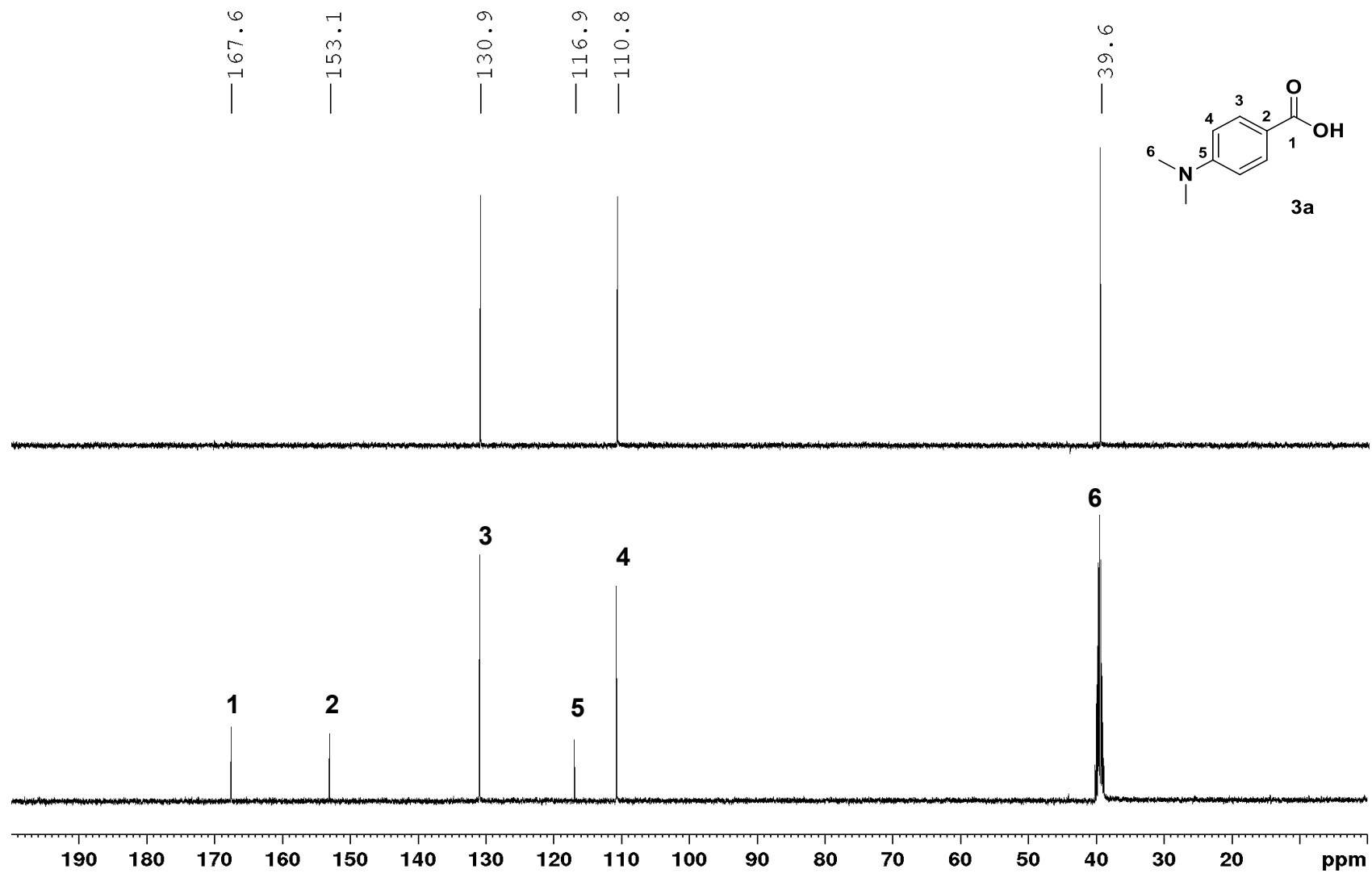
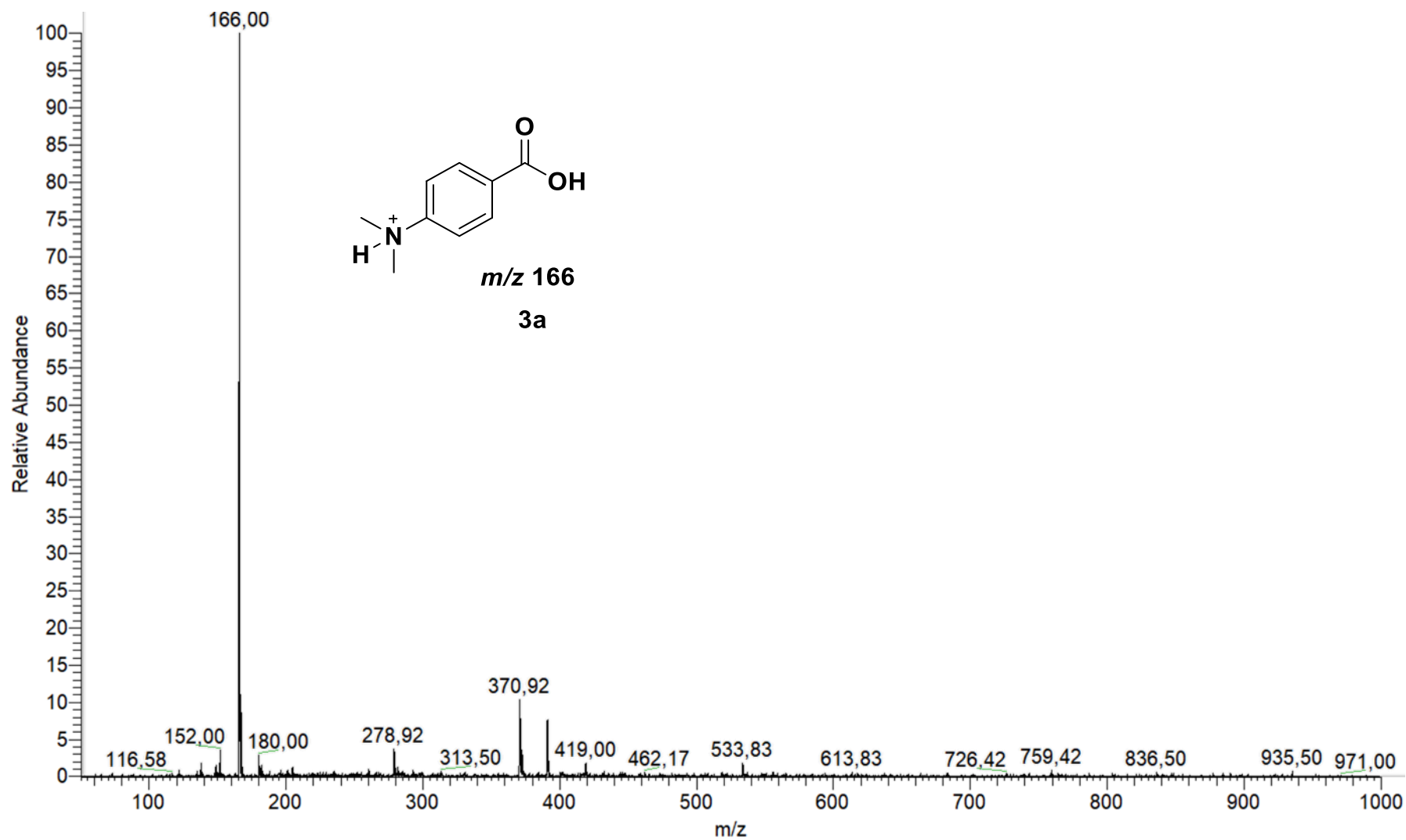


Figura 12: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do composto 3a.



**Figura 13:** Espectro PS(+)-MS do composto 3a.

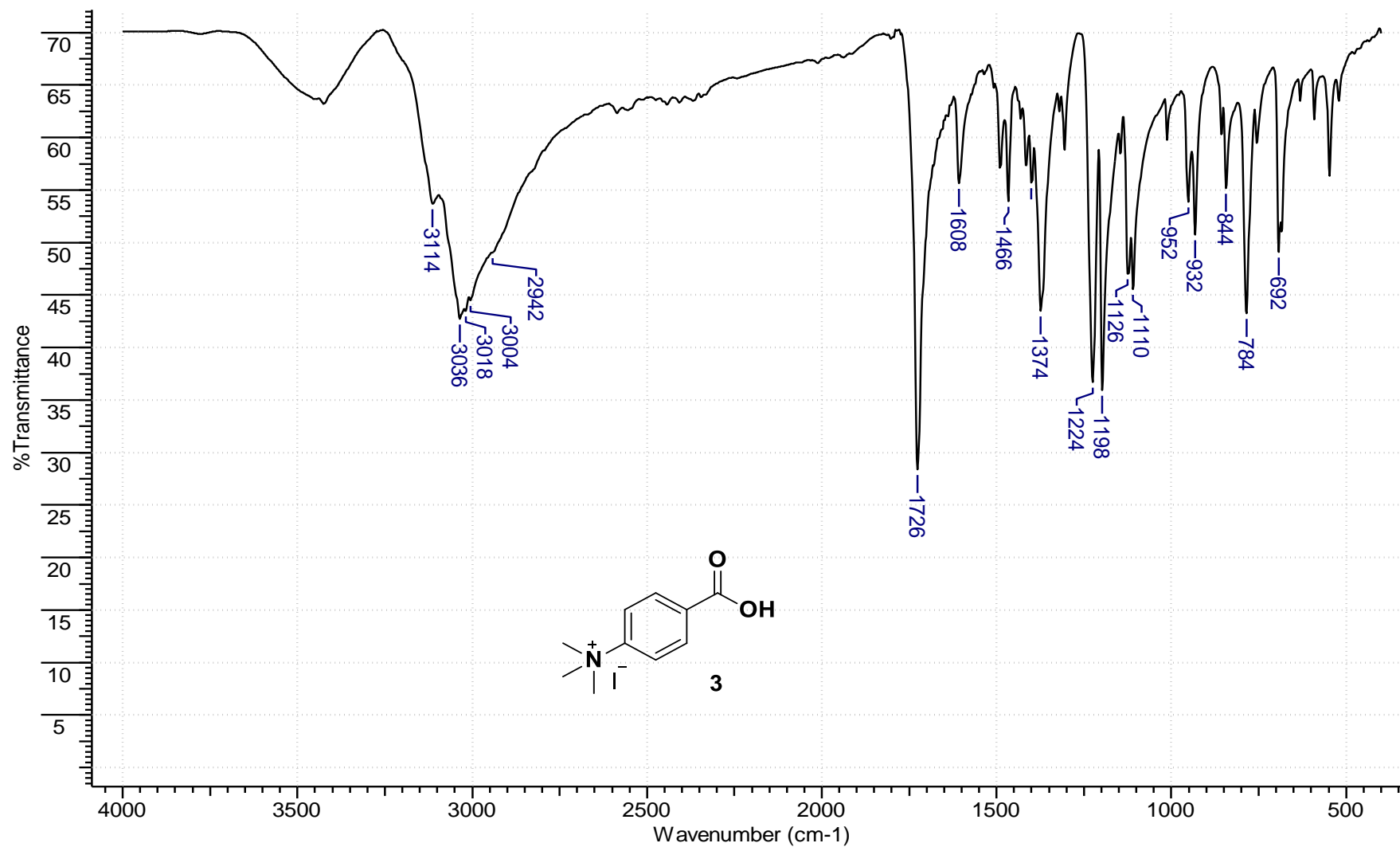


Figura 14: Espectro na região do infravermelho do **composto 3** pastilhado em KBr.

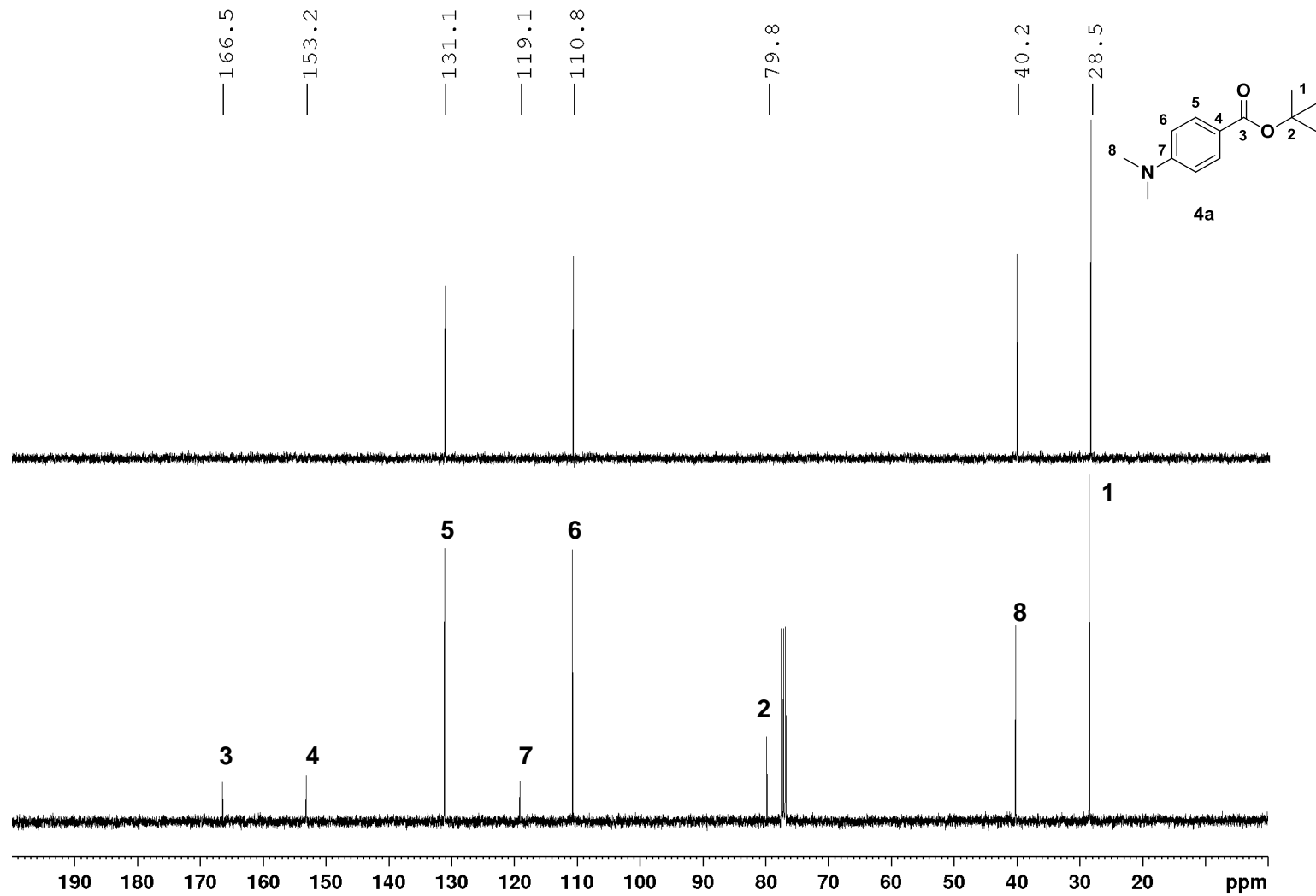
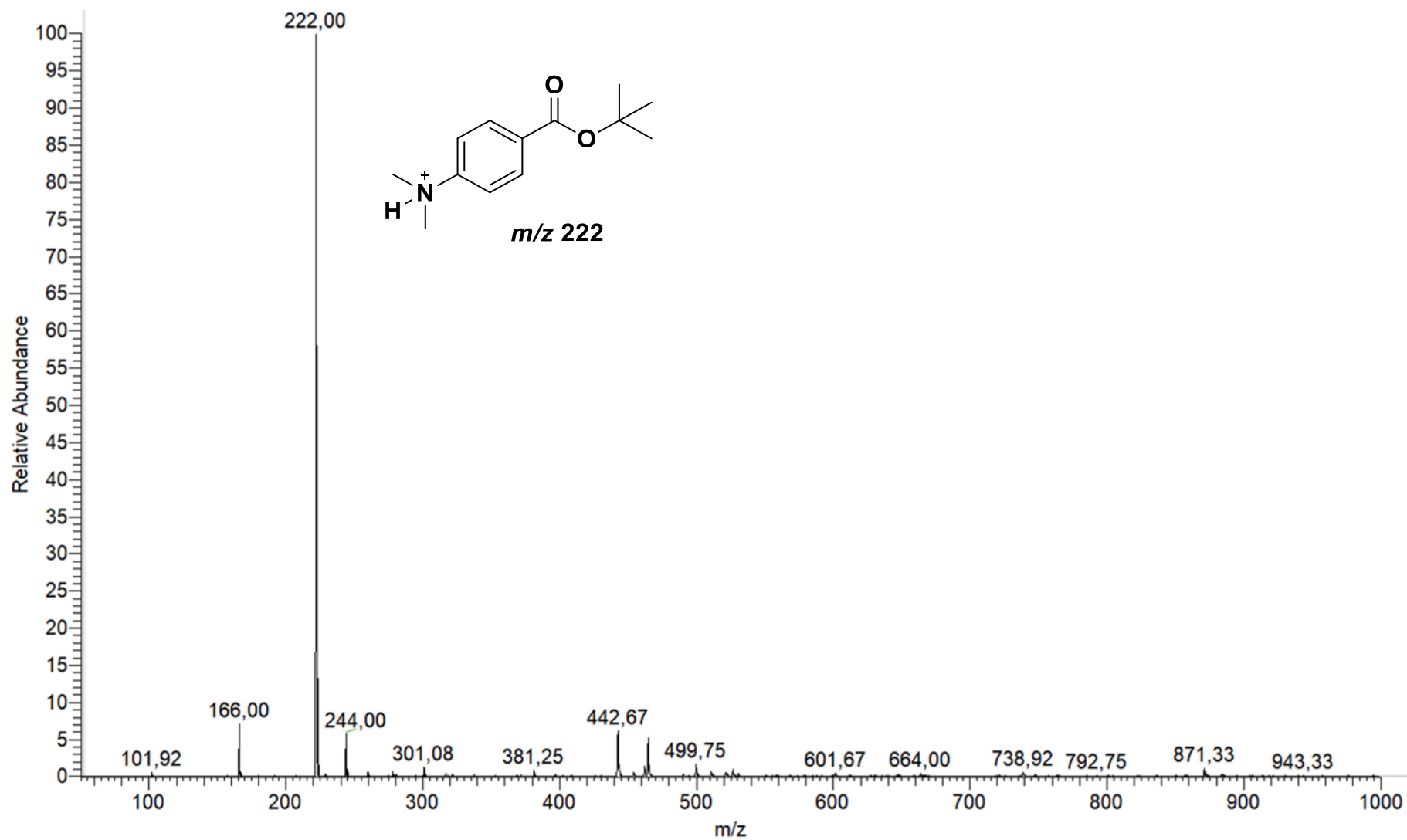


Figura 15: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C e DEPT 135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 4a.



**Figura 16:** Espectro PS(+)-MS do composto **4a**.

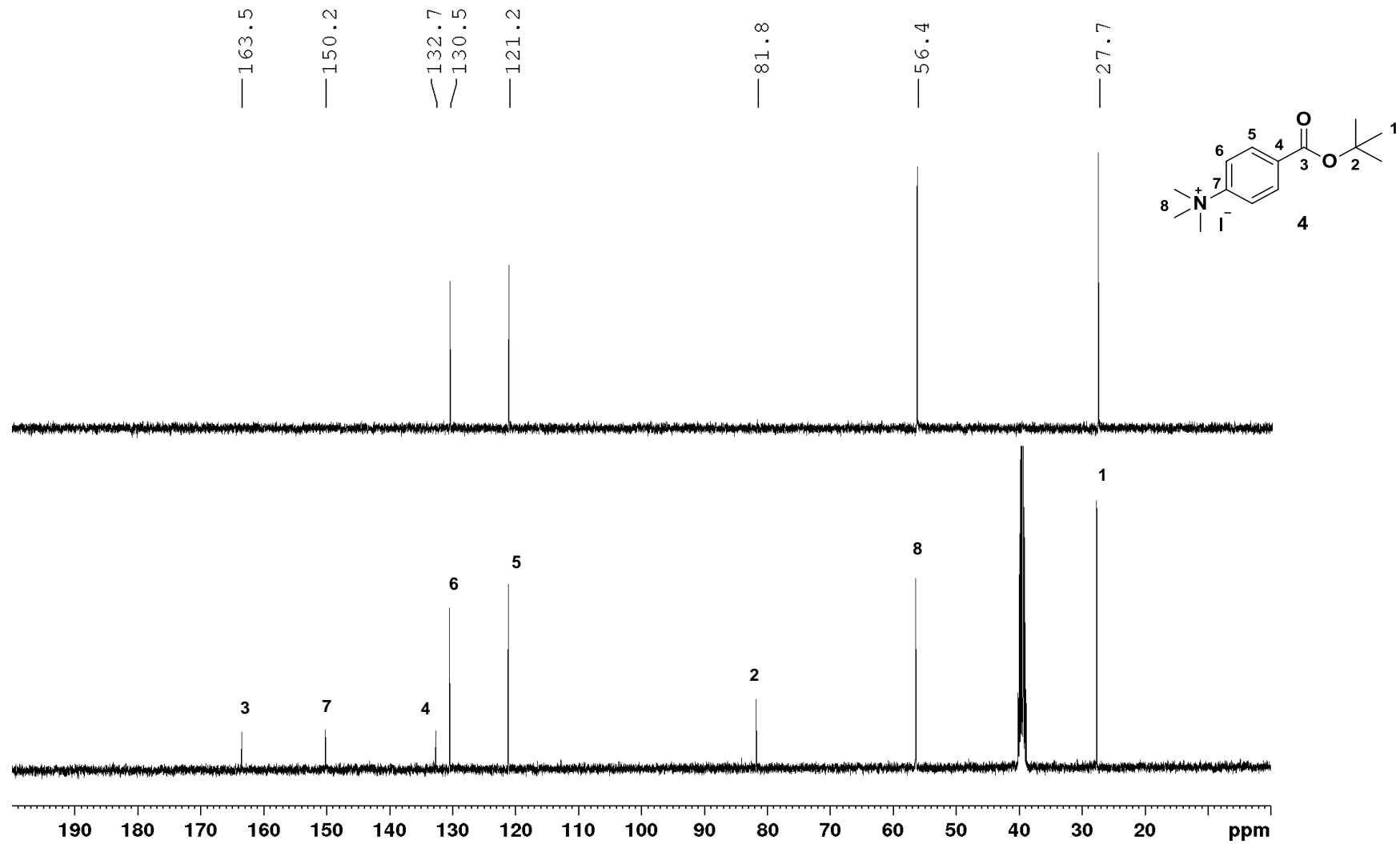
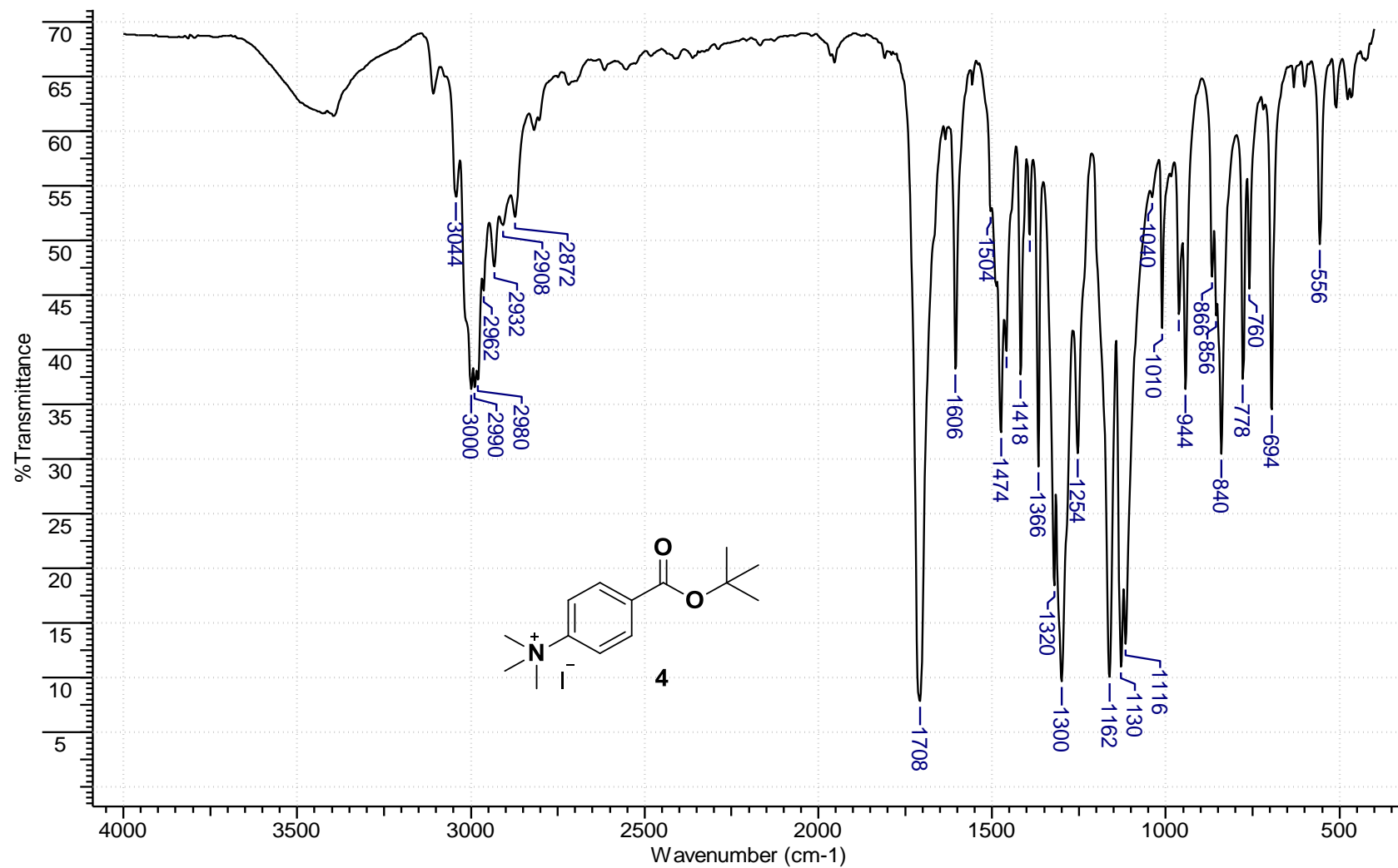


Figura 17: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto 4.



**Figura 18:** Espectro na região do infravermelho do **composto 4** (KBr).

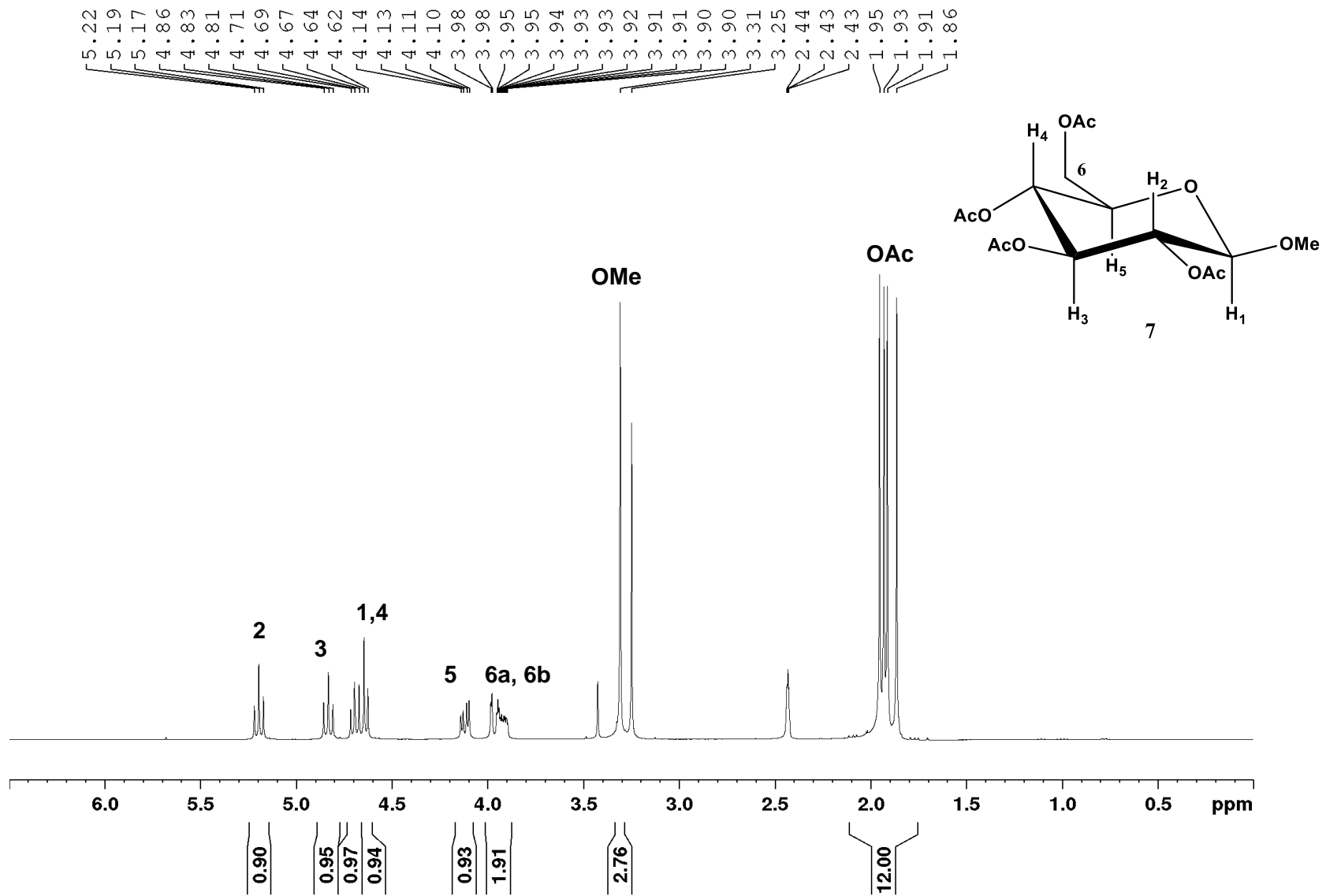


Figura 19: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do composto 7.



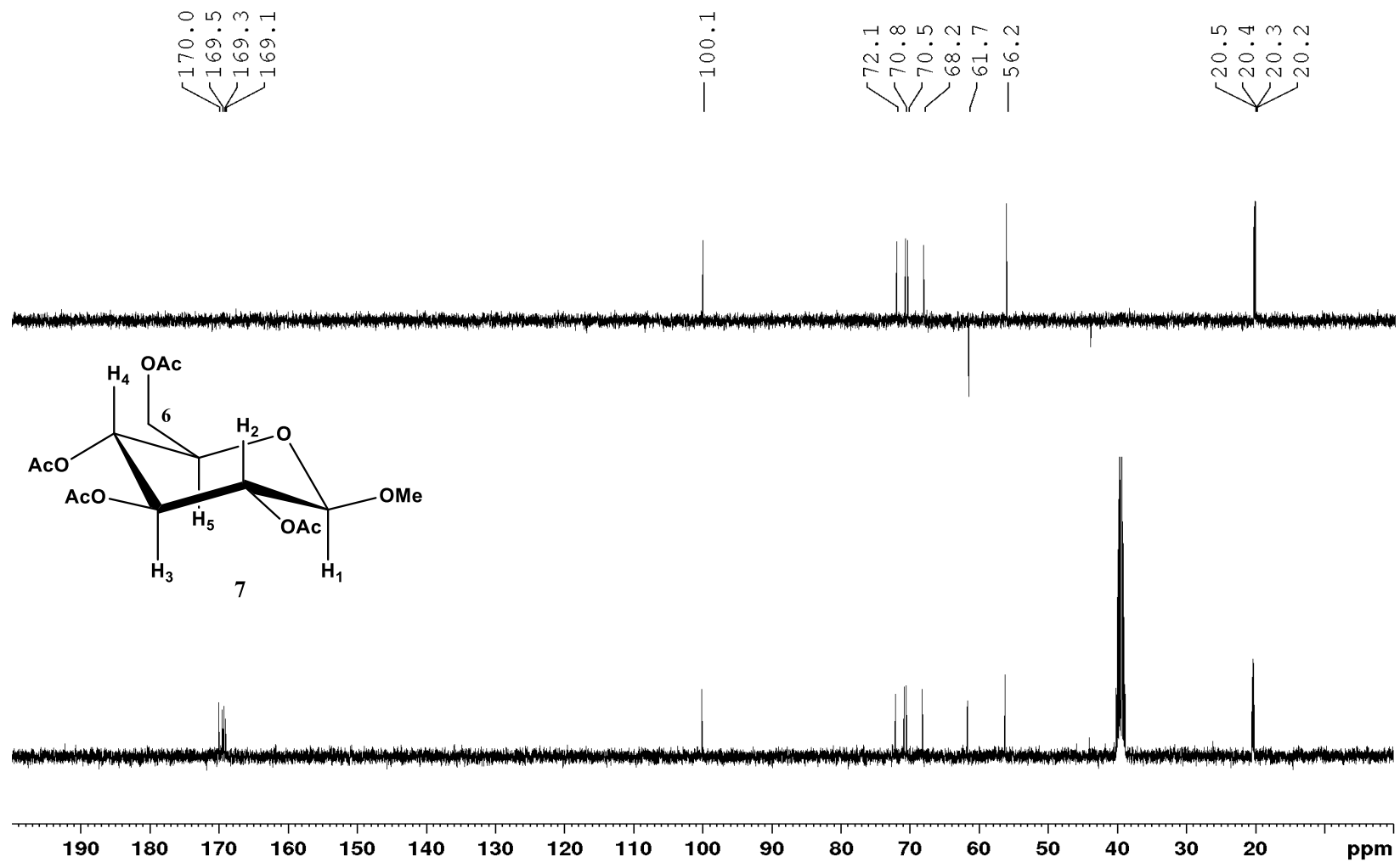
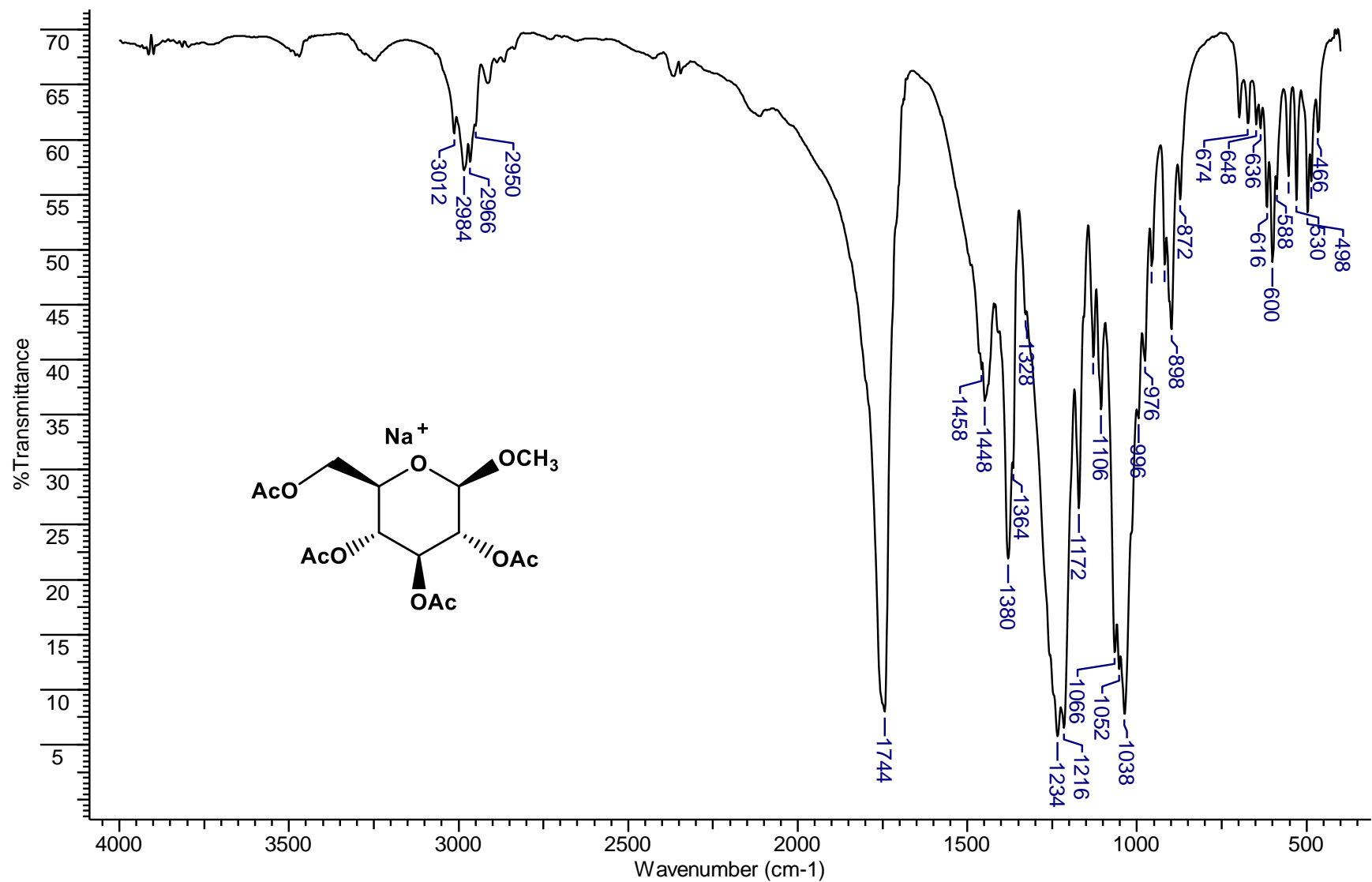


Figura 20: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C e DEPT 135 (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto 7.



**Figura 21:** Espectro na região do infravermelho do **composto 7** (KBr).

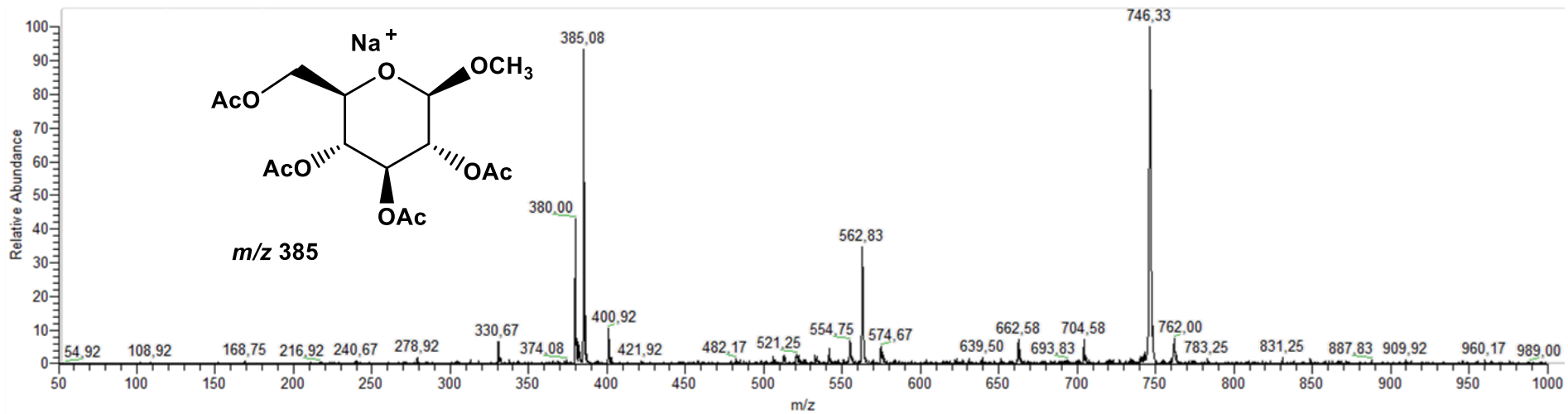


Figura 22: PS(+)-MS do composto 7.

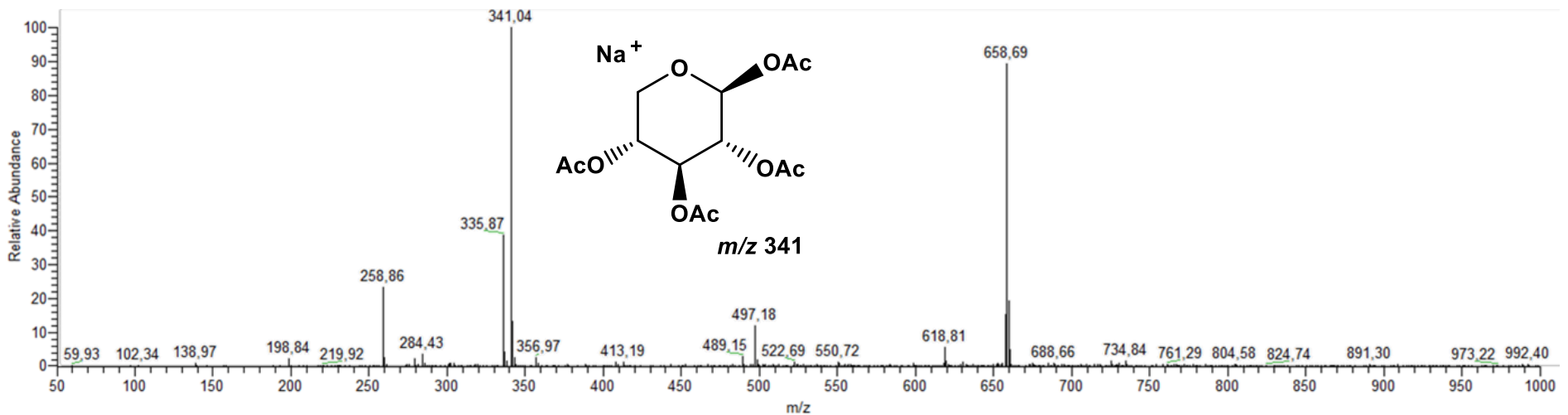
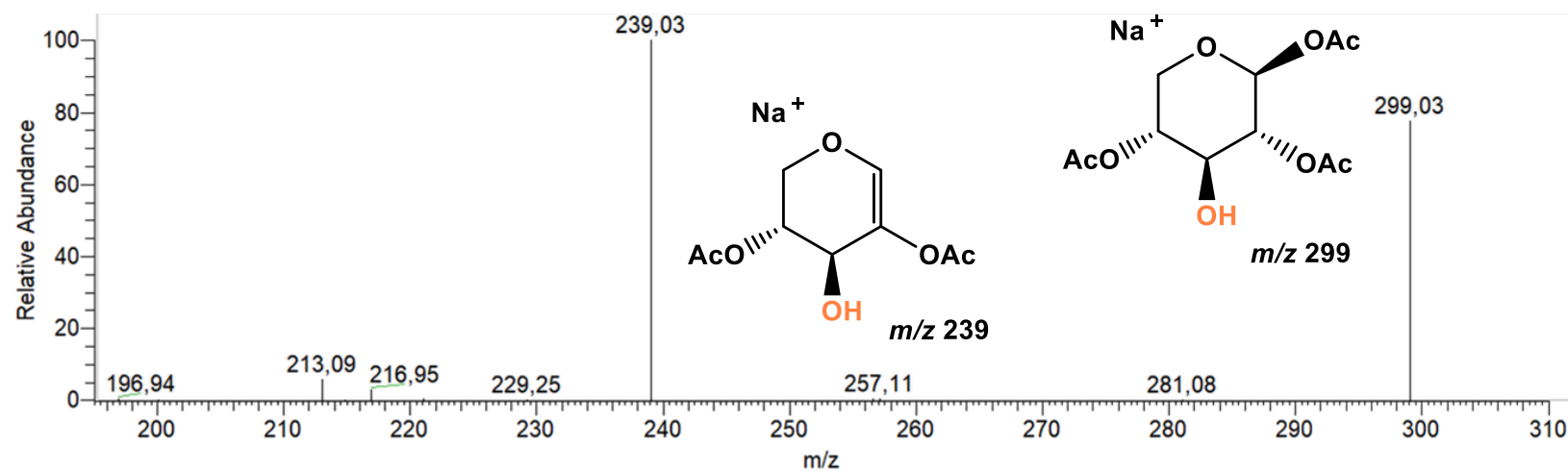


Figura 23: PS(+)-MS do composto 8.



**Figura 24:** PS(+)-MS/MS do íon  $m/z$  299.

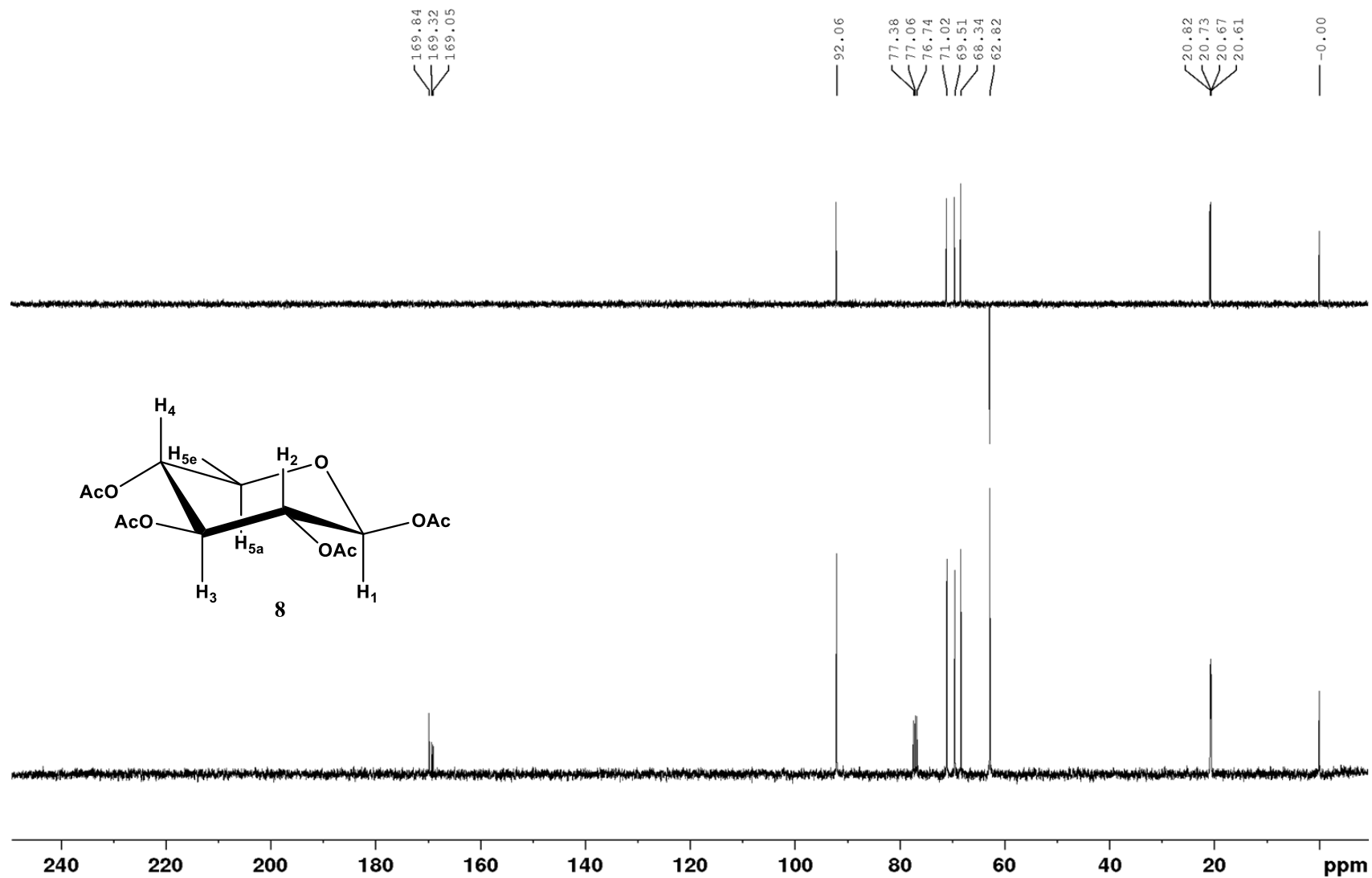


Figura 25: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C e DEPT 135 (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto 8.

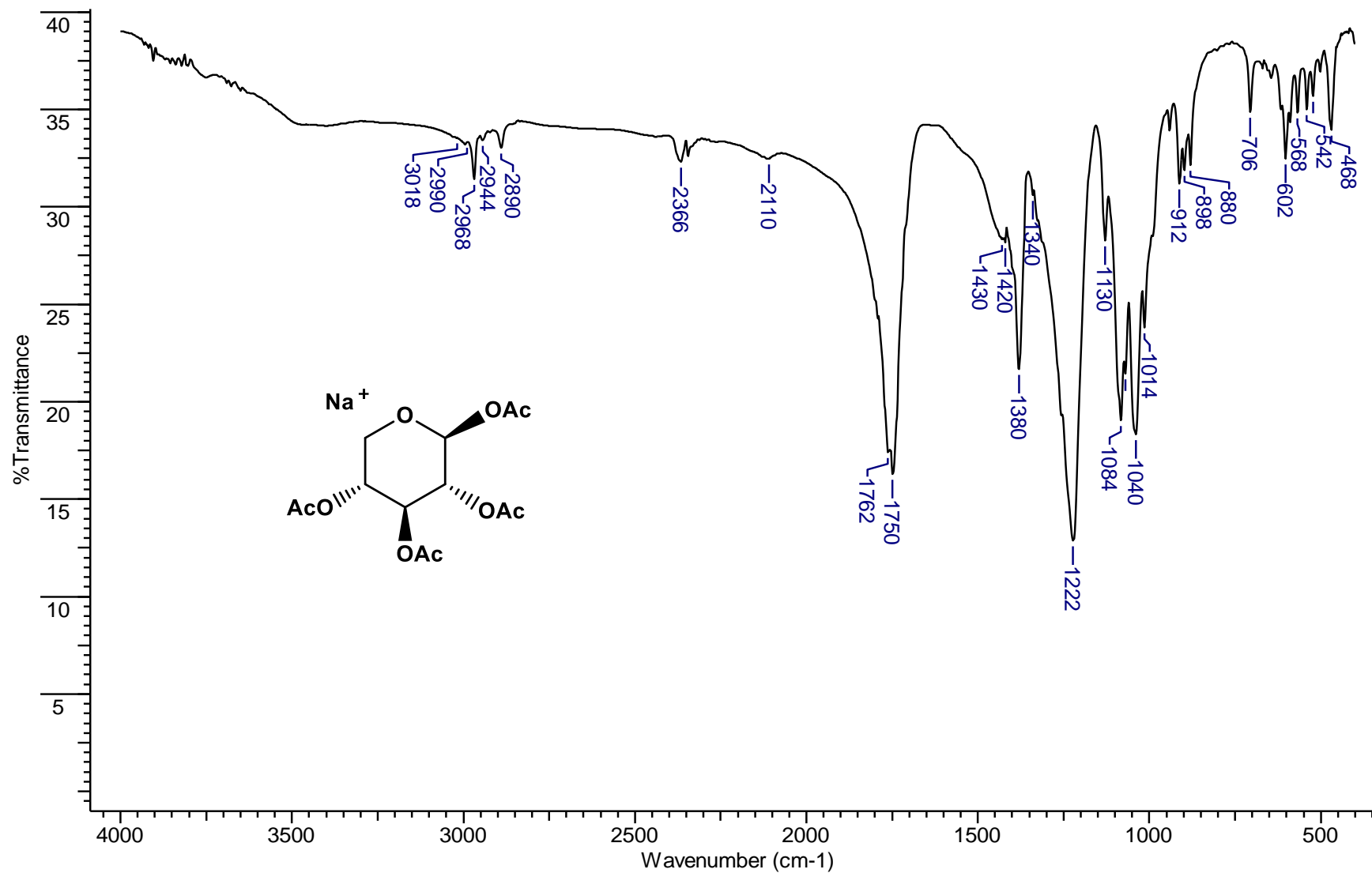
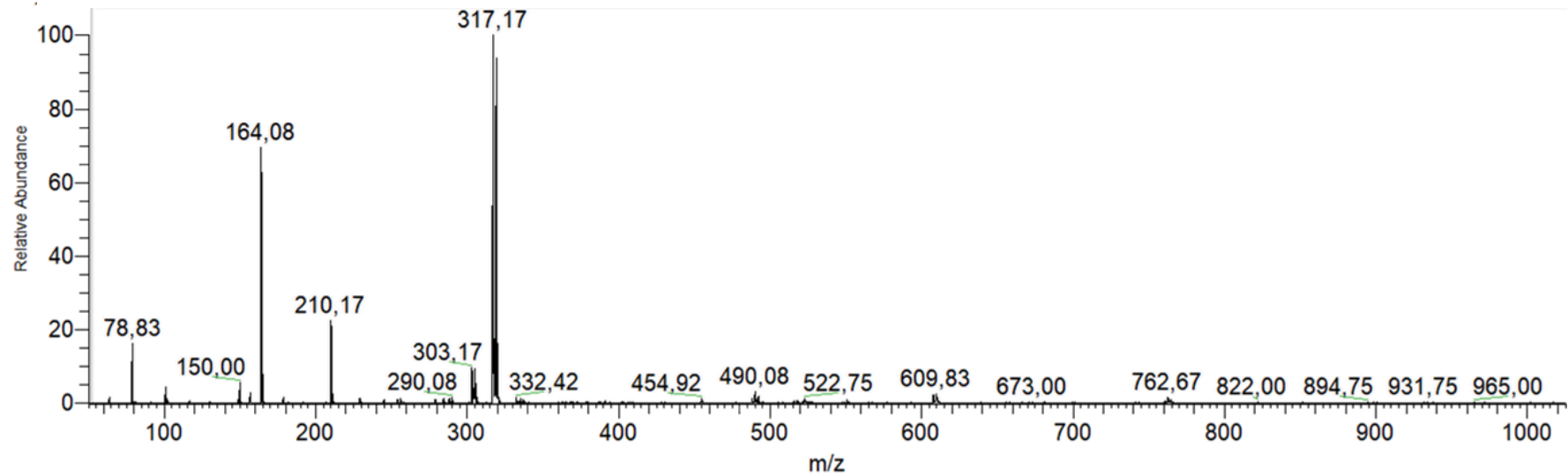
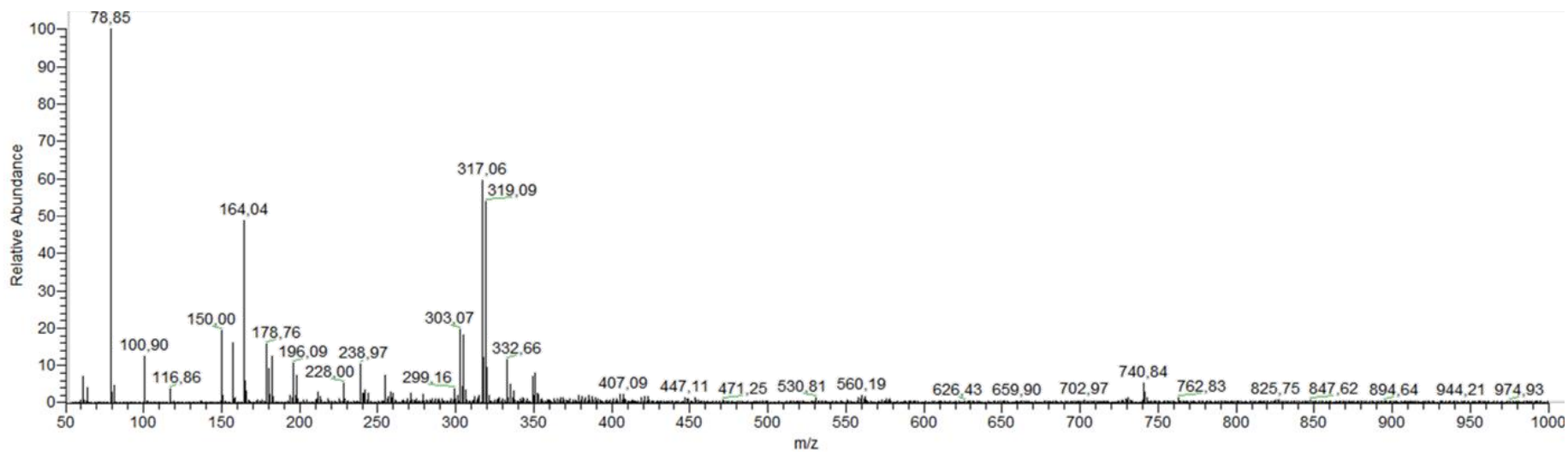


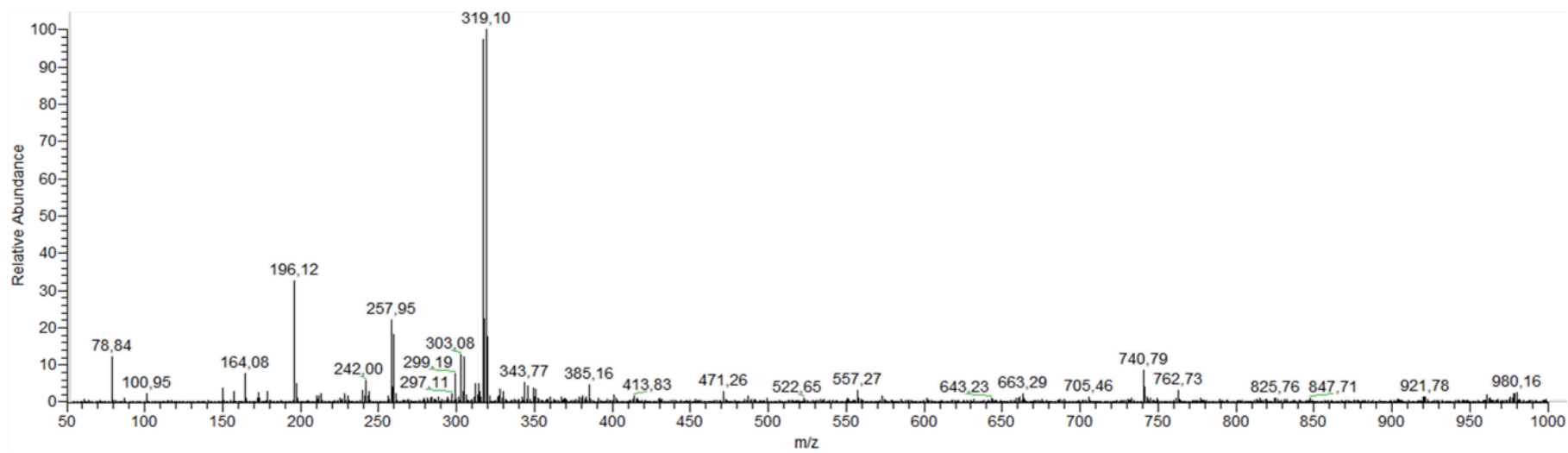
Figura 26: Espectro na região do infravermelho do **composto 8** (KBr).



**Figura 27:** PS(+)-MS da reação de Povarov em superfície empregando estireno em 30 minutos.



**Figura 28:** PS(+)-MS da reação de Povarov em superfície empregando ácido acético em 30 minutos.



**Figura 29:** PS(+)-MS da reação de Povarov em superfície empregando ácido *p*-sulfônico cálix[4]areno em 30 minutos.