



Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química

Departamento de Química Orgânica

Dissertação de Mestrado

***“Novas Abordagens para o Estudo
Mecanístico da Reação de
Morita-Baylis-Hillman”***

Thaís Regiani

Orientador: Prof. Dr. Fernando Antonio Santos Coelho

Co-Orientador: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin

Campinas, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP

R263n	<p>Regiani, Thaís. Novas abordagens para o estudo mecanístico da reação de <i>Morita-Baylis-Hillman</i> / Thaís Regiani. -- Campinas, SP: [s.n.], 2011.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Fernando Antonio Santos Coelho. Coorientador: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin.</p> <p>Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p>1. <i>Morita-Baylis-Hillman</i>. 2. Estudo mecanístico. 3. <i>Electrospray</i>. I. Coelho, Fernando Antonio Santos. II. Eberlin, Marcos Nogueira. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.</p>
-------	---

Título em inglês: New approaches to the mechanistic study of Morita-Baylis-Hillman reaction

Palavras-chaves em inglês: Morita-Baylis-Hillman, Mechanistic study, Electrospray

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Orgânica

Banca examinadora: Prof. Dr. Fernando Antonio Santos Coelho (orientador), Prof. Dr. Fábio Cesar Gozzo (IQ-UNICAMP), Prof. Dr. Humberto Márcio Santos Milagre (UNESP-Rio Claro)

Data de defesa: 24/02/2011

*Aos meus pais, Nelson e Valéria, e ao meu irmão, Ricardo, pelo apoio, incentivo,
dos quais tive o privilégio de me espelhar e fizeram o impossível para que este
trabalho se tornasse realidade.*

*Ao meu noivo, Fábio, pelo apoio, incentivo, paciência, companheirismo, carinho,
sobretudo, pelo Amor. Obrigado pela sua existência!*

Agradeço

Primeiramente a Deus por todas as minhas conquistas;

Ao **Prof. Dr. Fernando Coelho**, pela oportunidade, confiança, apoio, incentivo e discussões sobre esse trabalho. Saiba que foi um dos responsáveis pelo meu crescimento e amadurecimento como profissional. Agradeço pelas conversas, conselhos e por muitas vezes dividir suas experiências de vida e acima de tudo, muito obrigada por não me deixar desistir;

Ao **Prof. Dr. Marcos N. Eberlin** por me aceitar em seu laboratório sem mesmo me conhecer sabendo única e exclusivamente que eu precisava de sua ajuda. Agradeço pela confiança depositada e pelo incentivo;

Aos meus grandes amigos, **Vanessa, Boniek e Marla** pelas discussões, reuniões, confraternizações, enfim, por toda ajuda. Sem dúvida são pessoas realmente especiais;

Aos demais colegas do Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas;

Aos colegas do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais e Fármacos;

A minha grande amiga **Mayra**, por estar ao meu lado por todos esses anos, me apoiando, vibrando com as minhas conquistas e triste com as minhas derrotas. Sem dúvida a sua amizade é muito importante para mim;

Ao **Prof. Dr. Fábio Cesar Gozzo** e a **Dra. Regina Sparrapan** pelas contribuições no exame de qualificação deste trabalho e,

À **CAPES** pela bolsa concedida.

THAÍS REGIANI

1. Formação Acadêmica

- 2009 - 2011** Mestrado em Química.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil
Título: Novas Abordagens para o Estudo Mecanístico da Reação de Morita-Baylis-Hillman
Orientador: Prof. Dr. Fernando Antônio Santos Coelho.
Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).
- 2005 - 2008** Graduação em Bacharelado em Química.
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Campus Araraquara
Título: Preparo e caracterização de membranas de celulose bacteriana contendo nanopartículas de prata
Orientador: Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

2. Produção científica

2.1. Publicações em revistas indexadas:

Regiani, T.; Santos, V. G.; Godoi, M. N.; Vaz, B. G.; Eberlin M. N.; Coelho, F. On the Mechanism of the Aza-Morita-Baylis-Hillman Reaction: Interception of a Unique New Intermediate. *Chemical Communication*, **no prelo**.

Barud, H. S.; Regiani, T.; Marques, R. F.C.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S.J.L. Antimicrobial bacterial cellulose-silver nanoparticles composite membranes. *Journal of nanomaterials*, **no prelo**.

Santos, V. G.; Regiani, T.; Dias, F. F. G.; Romão, W.; Jara, J. L. P.; Klitzke, C. F.; Coelho, F.; Eberlin, M. N. Venturi Easy Ambient Sonic-Spray Ionization. *Analytical Chemistry*, **DOI: 10.1021/ac102765z**

Barud, H. S.; Barrio, S. C.; Regiani, T.; Marques, R. F.C.; Verelst, M.; Dexpert-Ghys, J.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S.J.L. Self-supported silver nanoparticles containing bacterial cellulose membranes. *Materials Science and Engineering C*, **2008**, *28*, 515–518.

2.2. Patente:

Barud, H. S.; Regiani, T.; Marques, R. F.C.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S.J.L. Processo de obtenção de material antimicrobiano a base de celulose bacteriana e outros tipos de amins. Patente Brasileira, **depositada**.

2.3. Trabalhos apresentados em congressos nacionais e internacionais:

Barud, H. S.; Regiani, T.; Marques, R. F. C.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. Antimicrobial activity of bacterial cellulose-silver nanoparticles. In: 18ª Reunião Anual de Usuários (RAU) do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron-LNLS, 2008, Campinas. 18ª Reunião Anual de Usuários (RAU) do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron-LNLS, 2008. v. 01. p. 211-211.

Regiani, T.; Barud, H. S.; Barrios, C. E.; Marques, R. F. C.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. Curativos antimicrobianos de celulose bacteriana contendo nanopartículas de prata. In: 5º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomaterias, 2008, Ouro Preto. Livro de Programa e Resumos Colaob, 2008. p. 79-80.

Regiani, T.; Barud, H. S.; Marques, R. F. C.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. Bacterial Cellulose-Silver Nanoparticles New Dressings. In: International Undergraduate Research Conference, 2008, Florida - EUA. 2008 FU/UF International Undergraduate Research Conference Abstracts, 2008. v. 1. p. 6-6.

Barud, H. S.; Regiani, T.; Marques, R. F. C.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. Self-supportd silver nanoparticles containing bacterial cellulose membrane: antimicrobial activity In: VII Enontro da SBPMat (Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais) Guarujá-Brasil. Abstracts, 2008. v. 1. p. A531.

Barud, H. S.; Regiani, T.; Barrios, C. E.; Marques, R. F. C.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. A celulose bacteriana como matriz para o preparo de novos compósitos. In: XV Jornada de Jovens Investigadores, 2007, San lorenzo-Pr. XV Jornada de Jovens Investigadores, 2007.

Regiani, T.; Barud, H. S.; Barrios, C. E.; Marques, R. F. C.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. Preparação e caracterização de membranas de celulose bacteriana contendo nanopartículas de prata. In: XV Jornada de Jovens Investigadores, 2007, San Lorenzo. XV Jornada de Jovens Investigadores, 2007.

Barud, H. S.; Regiani, T.; Barrios, C. E.; Marques, R. F. C.; Verelst, M.; Dexpert-Ghys, J.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. Antimicrobial bacterial cellulose-silver nanoparticles membranes. In: XIV International Sol-Gel Conference, 2007, Montpellier-França. XIV International Sol-Gel Conference, 2007 v. 01. p. 48.

Regiani, T.; Barud, H. S.; Barrios, C. E.; Marques, R. F. C.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. Membranas de celulose bacteriana-prata com atividade antimicrobiana.. In: 16 Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Quimica, 2007, Franca-SP. Empreendedorismo e Inovacao Tecnologica na Regional IPWS, 2007. v. 01. p. 227-227.

Regiani, T.; Barud, H. S.; Barrios, C. E.; Marques, R. F. C.; Lustri, W. R.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L. Preparo e caracterização de membranas de celulose bacteriana contendo nanopartículas de Prata. In: 30ª Reunião da Sociedade de Química, 2007, Águas de Lindóia-SP. 30ª Reunião da Sociedade de Química- Caderno de resumos, 2007. v. 01. p. 147-147.

2.4 Estágio internacional:

Programa piloto de estágio de Iniciação Científica nos Estados Unidos na área de Química apoiado pela Universidade de Florida em Ginesville, National Sience Foundation (NSF) e FAPESP.

2.5 Estágio Docente:

Participação do estágio docente da UNICAMP (PEDC) no segundo semestre de 2010 da disciplina de Química Orgânica I para a Engenharia Química, sob a orientação do Prof. Dr. Fernando Coelho e da Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli.

ÍNDICE GERAL

Resumo.....	x
Abstract.....	xi
Lista de Esquemas.....	xii
Lista de Figuras.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 A reação de Morita-Baylis-Hillman (MBH).....	01
1.2 A reação de <i>aza</i> -Morita-Baylis-Hillman (<i>aza</i> -MBH).....	02
1.3 Mecanismo da reação de Morita-Baylis-Hillman.....	03
1.4 Espectrometria de Massas aplicado no estudo de mecanismo de reação.....	07
1.4.1 Espectrometria de Massas com ionização por Electrospray- ESI-MS.....	08
1.4.2 Métodos para o estudo de mecanismos de reações orgânicas por espectrometria de Massas.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS ESTUDOS MECANÍSTICOS DE MBH ATRAVÉS DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	13
3.1 Estudo do mecanismo da reação de <i>aza</i> -MBH.....	13
3.1.1. Reação de <i>aza</i> -MBH utilizando acrilato de metila como sistema α,β -insaturado.....	13
3.1.2. Reação de <i>aza</i> -MBH utilizando um acrilato de hexafluoro propila como componente nucleofílica.....	27
3.1.3. Reação de <i>aza</i> -MBH utilizando propiolatos como porção nucleofílica.....	39
3.2 Aduto de MBH como fonte de próton e atuando na autocatálise de uma reação de MBH.....	50
3.3 Estudo cinético através do monitoramento on-line da reação de MBH por uma nova fonte de ionização ambiente baseada na ionização por Sonic-Spray.....	61
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	67
4.1 Estudos mecanísticos da reação <i>aza</i> -MBH e MBH.....	67
4.2 Monitoramento <i>on-line</i> da reação de MBH por V-EASI.....	71
5. CONCLUSÃO.....	73

RESUMO

Essa dissertação visa explorar o mecanismo da reação de *aza*-Morita-Baylis-Hillman (*aza*-MBH) por espectrometria de massas (ESI-MS). Essa técnica está bem consolidada para o estudo do mecanismo de reações orgânicas. Os dados disponíveis na literatura assumem que o mecanismo dessa reação é similar ao da reação de Morita-Baylis-Hillman (MBH) convencional. Entretanto, existem várias versões assimétricas para a reação de *aza*-MBH que podem ser consideradas como gerais, o que não ocorre com a reação de MBH. Sendo assim o objetivo desse trabalho foi conhecer as etapas envolvidas no mecanismo da reação de *aza*-MBH e fornecer subsídios para explicar os pontos em que esses mecanismos diferem. Avaliamos a influência do uso de diferentes bases terciária e de olefinas na reação de *aza*-MBH. Interceptamos e caracterizamos dois novos intermediários de m/z 665 e m/z 777 que aparentemente desempenham um importante papel no ciclo catalítico da reação de *aza*-MBH. A formação desses intermediários foi corroborada em um estudo envolvendo o propiolato de metila como componente nucleofílico da reação de *aza*-MBH. Em outra parte de trabalho monitoramos por ESI-MS uma reação de MBH para demonstrar a habilidade de um aduto de MBH como uma fonte de próton para a etapa lenta da reação. Assim, um aduto contendo um átomo de bromo foi utilizado como fonte de próton. Fomos capazes de interceptar e caracterizar intermediários nos quais essa fonte de próton (aduto MBH bromado) estava ligada. Esses resultados são uma evidência experimental do processo de autocatálise que pode ocorrer durante o desenvolvimento dessa reação. Finalmente, um monitoramento *on-line* por espectrometria de massas de uma reação de MBH convencional nos permitiu realizar um estudo cinético dessa reação. Esse monitoramento foi realizado utilizando uma nova fonte de ionização ambiente, baseada na ionização por Sonic Spray (V-EASI). A curva cinética nos permitiu acompanhar a reação em tempo real e observar a formação de todos os intermediários transientes do seu ciclo catalítico.

ABSTRACT

This dissertation aimed at exploring the monitoring of the mechanism of the *aza*-Morita-Baylis-Hillman reaction (*aza*-MBH) by mass spectrometry (ESI-MS). This technique is well established for studying the mechanism of organic reactions. Normally, it is assumed that the mechanism of the *aza*-MBH reaction is quite similar to the conventional Morita-Baylis-Hillman reaction. However, there are several general asymmetric versions for the *aza*-MBH reaction, which does not occur with the MBH reaction. The aim of this study was to understand the steps involved in the mechanism of *aza*-MBH reaction and provide evidences to explain the points at which these mechanisms would differ. We have evaluated the behavior of bases and acrylates often used in the reaction of *aza*-MBH. We were able to intercept and characterize by tandem MS/MS two new intermediate of m/z 665 and m/z 777 which apparently play an important role in the catalytic cycle of the *aza*-MBH reaction. The formation of these intermediates was corroborated in a study involving methyl propiolate as nucleophilic for a *aza*-MBH reaction. The two intermediates have never been cited or featured in this reaction. In another part of this work we monitored a MBH reaction by ESI-MS in order to evaluate the ability of a MBH adduct act as a proton source in the rate-determining step (RDS) of this reaction. Thus, a brominated adduct was used as a source of proton in an anhydrous medium. We were able to isolate and characterize intermediates in which the proton source (brominated adduct MBH) was on. These results provide experimental evidence that the process of autocatalysis may occur during the development of this reaction. Finally, an on-line monitoring of a conventional Morita-Baylis-Hillman by mass spectrometry enabled us to perform a kinetic study of this reaction. This monitoring was carried out using a new ionization source environment based on Sonic Spray ionization (V-EASI). The kinetic curve allowed us to monitor the reaction in real time and observe the formation of all transient intermediates which participate in its catalytic cycle.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Reação de Morita-Baylis-Hillman.....	01
Esquema 2: Reação de <i>aza</i> -Morita-Baylis-Hillman.....	02
Esquema 3: Mecanismo geral da reação de Morita-Baylis-Hillman.....	04
Esquema 4: Recentes propostas para o mecanismo da reação de MBH.....	06
Esquema 5: A) Mecanismo proposto para a reação de <i>aza</i> -MBH. B) Espécies protonadas do ciclo catalítico da <i>aza</i> -MBH C) Esquema de reação estudada.....	14
Esquema 6. Proposta do ciclo catalítico completo para a reação de <i>aza</i> -MBH, com as espécies protonadas.....	19
Esquema 7. Reação de <i>aza</i> -MBH utilizada no estudo de competição entre as bases catalíticas.....	23
Esquema 8: (A) Reação de MBH enantiosseletiva proposta por Leahy. ⁴⁰ (B) Mecanismo simplificado para a formação da dioxanona.....	28
Esquema 9: A) Resolução cinética proposta por Hatakeyama. ⁴¹ B) Estrutura da quinidina. C) Modificações na estrutura da quinidina realizadas por Hatakeyama ⁴¹	29
Esquema 10: Esquema da reação de MBH com acrilato ativado e <i>p</i> -nitrobenzaldeído, catalisada por DABCO.....	30
Esquema 11. Esquema mostrando o mecanismo simplificado da formação das espécies: A) (34) e B) (35).....	32
Esquema 12: Esquema simplificado que mostra as fragmentações sofridas pela dioxanona (31) de <i>m/z</i> 357.....	33
Esquema 13: Esquema completo para a reação de <i>aza</i> -MBH, com as espécies protonadas.....	34
Esquema 14: Esquema ilustrativo do possível ataque nucleofílico intramolecular do intermediário (38) para gerar a pirimidinona (40).....	37
Esquema 15: (A) Mecanismo proposto por Shi ⁴³ para um análogo ao aduto “anormal” (42) da reação de <i>aza</i> -MBH. (B) Mecanismo agora com as espécies protonadas que foram investigadas por espectrometria de massas.....	41
Esquema 16: (A) Mecanismo proposto por Shi ⁴³ para o análogo ao aduto	

“anormal” (43) da reação de aza-MBH. (B) Mecanismo agora com as espécies protonadas que foram investigadas por espectrometria de massas.....	43
Esquema 17: (A) Proposta simplificada do caminho de fragmentação para o aduto anormal (70) de m/z 458 e (B) Proposta simplificada do caminho de fragmentação do intermediário (67) de m/z 374.....	49
Esquema 18: Ciclo catalítico da reação de MBH com a adição de um aduto de MBH como fonte de próton.....	54
Esquema 19: Mecanismo genérico proposto para a perda de água pelo aduto de MBH adicionado (S_N2').....	56
Esquema 20: Esquema da fonte de V-EASI aplicada no monitoramento <i>online</i> de reações orgânicas.....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama esquemático da ionização por Electrospray.....	10
Figura 2: Representação esquemática de um micro reator para monitoramento <i>on-line</i> de reações. ³⁵	11
Figura 3: (A) ESI(+)-MS da reação de <i>aza</i> -MBH do acrilato de metila com a tosilimina e DABCO: T = 0 min. (B) ESI(+)-MS da reação de <i>aza</i> -MBH: T = 30 min.....	16
Figura 4: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) <i>m/z</i> 488, (B) <i>m/z</i> 777; (C) <i>m/z</i> 665; (D) <i>m/z</i> 376.....	17
Figura 5: Bases terciárias avaliadas para a reação de MBH e seus respectivos valores de pKa's.....	20
Figura 6: (A) ESI(+)-MS da reação de <i>aza</i> -MBH do acrilato de metila com a tosilimina e quinuclidina: T = 0 min. (B) ESI (+)-MS da reação de <i>aza</i> -MBH: T = 30 min.....	21
Figura 7: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) <i>m/z</i> 487 e (B) <i>m/z</i> 776... ..	22
Figura 8: (A) ESI(+)-MS da reação de <i>aza</i> -MBH do acrilato de metila com a tosilimina com DABCO e quinuclidina: T = 0 min. (B) Ampliação do espectro (A) nas regiões de interesse, auxiliando a visualização do estudo competitivo.....	24
Figura 9: (A) ESI(+)-MS da reação de <i>aza</i> -MBH do acrilato de metila com a tosilimina com DABCO e quinuclidina: T = 30 min. (B) Ampliação do espectro (A) nas regiões de interesse, auxiliando a visualização do estudo competitivo.....	25
Figura 10: (A) ESI(+)-MS da reação de <i>aza</i> -MBH do acrilato de metila com a tosilimina com DABCO e quinuclidina: T = 60 min. (B) Ampliação do espectro (A) na região de interesse, auxiliando a visualização do estudo competitivo.....	26
Figura 11: (A) ESI(+)-MS da reação de MBH do acrilato ativado com o <i>p</i> -nitrobenzaldeído e DABCO: T = 0 min. (B) ESI(+)-MS da reação de MBH do acrilato ativado com o <i>p</i> -nitrobenzaldeído e DABCO: T = 30.....	31
Figura 12: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) <i>m/z</i> 469 e (B) <i>m/z</i> 357.....	33
Figura 13: (A) ESI(+)-MS da reação de MBH do acrilato ativado com a tosilimina	

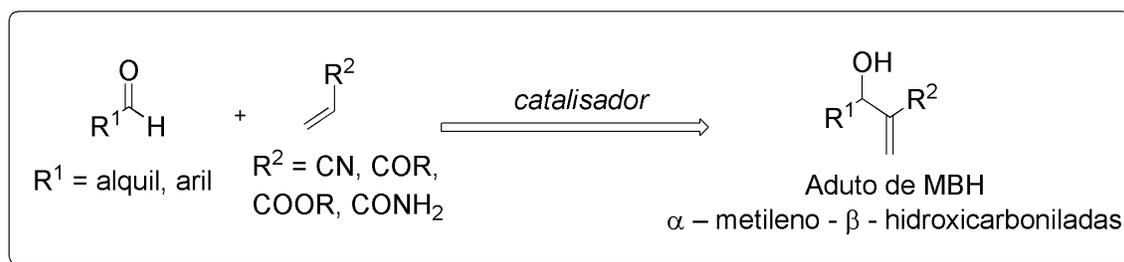
e DABCO: T = 0 min. (B) ESI(+)-MS da reação de MBH do acrilato ativado com a tosilimina e DABCO: T = 30 min.....	36
Figura 14: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) m/z 624; (B) m/z 913; (A) m/z 801 e (B) m/z 512.....	38
Figura 15: (A) ESI(+)-MS da reação de MBH do propiolato de metila com a tosilimina e DABCO: T = 0 min. (B) ESI(+)-MS da reação de MBH do propiolato de metila com a tosilimina e DABCO: T = 60 min.....	45
Figura 16: (A) Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de m/z 663 (B) Tabela das possíveis estruturas de fragmentação dos íons de m/z 663.....	46
Figura 17: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) m/z 486; (B) m/z 775; (C) m/z 458 e (D) m/z 374.....	47
Figura 18: Intermediário de m/z 449 interceptado por Coelho e colaboradores ³¹ , evidenciando o comportamento dualístico do mecanismo da reação de MBH.....	51
Figura 19: Adutos de MBH adicionados e avaliados como fonte de próton na reação de MBH. (A) 2-[hidroxi-(4-metoxi-fenil)-metil]-ácido acrílico metil éster (aduto <i>p</i> -metoxi). (B) 2-[hidroxi-(4-nitro-fenil)-metil]-ácido acrílico metil éster (aduto <i>p</i> -nitro). (C) 2-[hidroxi-(4-bromo-fenil)-metil]-ácido acrílico metil éster (aduto <i>p</i> -bromo).....	51
Figura 20: Espectros da reação de MBH em T = 15 min com (A) aduto de <i>p</i> -metoxi como fonte de próton; (B) aduto do nitro como fonte de próton.....	55
Figura 21: Espectros da reação de MBH em T = 15 min com o aduto de <i>p</i> -bromo como fonte de próton. Obs: em destaque no espectro esta a ampliação na região em que há a presença das espécies bromadas.....	57
Figura 22: Espectros de ESI(+)-MS /MS dos íons de: (A) m/z 335; (B) m/z 350; (C) m/z 383; (D) m/z 421; (E) m/z 469 e (E) m/z 527.....	58
Figura 23: Ilustração do mecanismo de doação e captura de próton pelo aduto de MBH e liberação da base terciária.....	59
Figura 24: Espectros da reação de MBH em T = 1 hora com (A) aduto de <i>p</i> -metoxi; (B) aduto <i>p</i> -nitro; C) aduto <i>p</i> -bromo.....	60
Figura 25: A) <i>Design</i> clássico do Efeito Venturi; B) <i>Design</i> do V-EASI combinando o auto-bombeamento causado pelo Efeito Venturi e a ionização	

por <i>sonic spray</i>	63
Figura 26: Modo duplo de operação do V-EASI. (A) V-EASI(+)-MS para uma solução de 30 ngmL ⁻¹ de sildenafil em metanol acidificado; (B) V-EASI(+)-MS para um comprimido de sildenafil usando metanol acidificado como o solvente para o spray.....	64
Figura 27: V-EASI(+)-MS da reação de MBH com acrilato de metila (2), DABCO (1) e 2- piridinacarboxialdeído (71) em diferentes tempos reacionais. A) 0 minutos, B) 30 minutos e C) 2 h.....	66
Figura 28: Curva cinética construída a partir dos dados de V-EASI-(+) para o monitoramento da reação de MBH.....	67
Figura 29: Detalhes do Qtof ortogonal híbrido de alta resolução da Micromass (MS2).....	68
Figura 30: Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃).....	70
Figura 31: Espectro de RMN- ¹³ C (62 MHz, CDCl ₃).....	71

1. INTRODUÇÃO

1.1 A reação de Morita-Baylis-Hillman (MBH).

A reação de MBH, conhecida desde 1968,¹ é definida como uma reação de condensação entre um carbono sp^2 eletrofílico (geralmente um aldeído) e a posição α de uma olefina contendo grupos retiradores de elétrons (derivado acrílico), catalisada por uma amina terciária ou fosfina, levando à formação de uma nova ligação σ C-C (**Esquema 1**).



Esquema 1: Reação de Morita-Baylis-Hillman.

Essa reação apresenta características que evidenciam sua vantagem como método sintético, tais como: ser régio- e quimiosseletiva. Do ponto de vista estrutural seus adutos são moléculas polifuncionalizadas e podem ser preparados em condições reacionais brandas.² Além dessas características, a reação de MBH é uma transformação eficiente no que diz respeito à economia de átomos, ou seja, todos os átomos presentes nos reagentes de partida estão incorporados no produto.

Uma restrição com relação à facilidade de utilização dessa reação diz respeito ao uso do crotonato de metila, um acrilato que possui um grupamento

¹ **a.** Baylis, A. B.; Hillman, M. E. D. German Patent 2155113, 1972 (C.A. **1972**, 77, 34174q). **b.** Morita, K.; Suzuki, Z.; Hirose, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1968**, 41, 2815.

² Revisões para a reação de MBH: **a.** Aroyan, C. E.; Dermenci, A.; Miller, S. J. *Tetrahedron* **2009**, 65, 4069. **b.** Sanchez, V. C.; Simirgiotis, M. J.; Santos, L. S. *Molecules* **2009**, 14, 3989. **c.** Ciganek, E. *In Organic Reactions*, **1997**, 51, Cap. 2, 201. **d.** Almeida, W. P.; Coelho, F. *Quím. Nova* **2000**, 23, 98.

metila na posição β da olefina, sendo este um substrato que, segundo a literatura,³ somente participa da reação de MBH sob condições extremas, tais como radiação microondas e pressões acima de 10 kbar. Porém novas metodologias têm sido investigadas e recentemente Aggarwal⁴ mostrou que o uso de quinuclidina como base terciária catalítica com piridina-2-carbaldeído e crotonato de metila em metanol gerou o aduto de MBH com um rendimento de 25% depois de 21 dias a temperatura ambiente. A dificuldade da reação com o crotonato de metila ainda não foi muito explorada, mas acredita-se que há um impedimento estéreo da metila bloqueando a adição de Michael do catalisador.

1.2 A reação de aza-Morita-Baylis-Hillman (aza-MBH).

Na reação de MBH convencional usa-se normalmente um aldeído, porém ao substituí-lo por uma imina a reação passa a ser conhecida como aza-Morita-Baylis-Hillman (aza-MBH) (**Esquema 2**) e foi reportada pela primeira vez na literatura por Perlmutter e Teo em 1984.⁵ Esta reação conduz a formação de derivados α -metileno- β -amino, em particular β -amino ésteres, quando um acrilato é usado.



Esquema 2: Reação de aza-Morita-Baylis-Hillman.

³ Kundu, M. K.; Mukherjee, S. B.; Balu, N.; Padmakumar, R.; Bhat, S. V. *Synlett* **1994**, 444.

⁴ Aggarwal, V. K.; Emme, I.; Fulford, S. Y. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 692.

⁵ Perlmutter, P.; Teo, C.C. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5951.

As aplicações em síntese da reação de MBH,⁶ bem como as suas investigações mecanísticas já foram amplamente discutidas em diversos trabalhos⁷, em contraste com a sua versão *aza*, que tem sido pouco explorada⁸ e poucos estudos foram realizados na tentativa de compreender o seu mecanismo.⁹ Para demonstrar essa discrepância, uma busca no banco de dados da *Web of Science*,¹⁰ foi realizada e o número de artigos publicados referentes à reação de *aza*-MBH gira em torno de apenas 10% em relação à MBH convencional, sendo que desses 10% há artigos destinados a aplicação sintética bem como trabalhos que envolvem o estudo mecanístico dessa reação.

Em um desses poucos trabalhos envolvendo a reação de *aza*-MBH, Leitner e colaboradores^{8a} realizaram estudos cinéticos dessa reação para demonstrar que o uso de um aditivo prótico (ácido de Brønsted) leva à aceleração substancial da etapa de eliminação da base terciária, auxiliando a transferência de próton. Outro trabalho também nesta linha foi descrito por Yu e colaboradores¹¹ que utilizaram dados de cinética de reação e cálculos teóricos para estudar um processo em que a água promovia transferência [1,2] de próton. No entanto, nesses estudos não evidenciaram possíveis estruturas para os intermediários da reação de *aza*-MBH, admitindo sempre que o mecanismo prosseguia de forma semelhante à MBH convencional.

1.3 Mecanismo da reação de Morita-Baylis-Hillman.

O mecanismo inicialmente sugerido para a reação de MBH, proposto por Hoffmann e Rabe¹², envolve quatro etapas (**Esquema 3**). Na primeira etapa,

⁶ **a.** Amarante, G. W.; Rezende, P.; Cavallaro, M.; Coelho, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3744. **b.** Coelho, F.; Veronese, D.; Pavam, C. H.; de Paula, V. I.; Buffon, R. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 4563. **c.** Basavaiah, D.; Rao, K. V.; Reddy, R. J. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, *36*, 1581.

⁷ Basavaiah, D.; Reddy, B.S.; Badsara, S.S. *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 5447.

⁸ **a.** Shi, Y. L.; Shi, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *18*, 2905. **b.** Masson, G.; Housseman, C.; Zhu, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 4614.

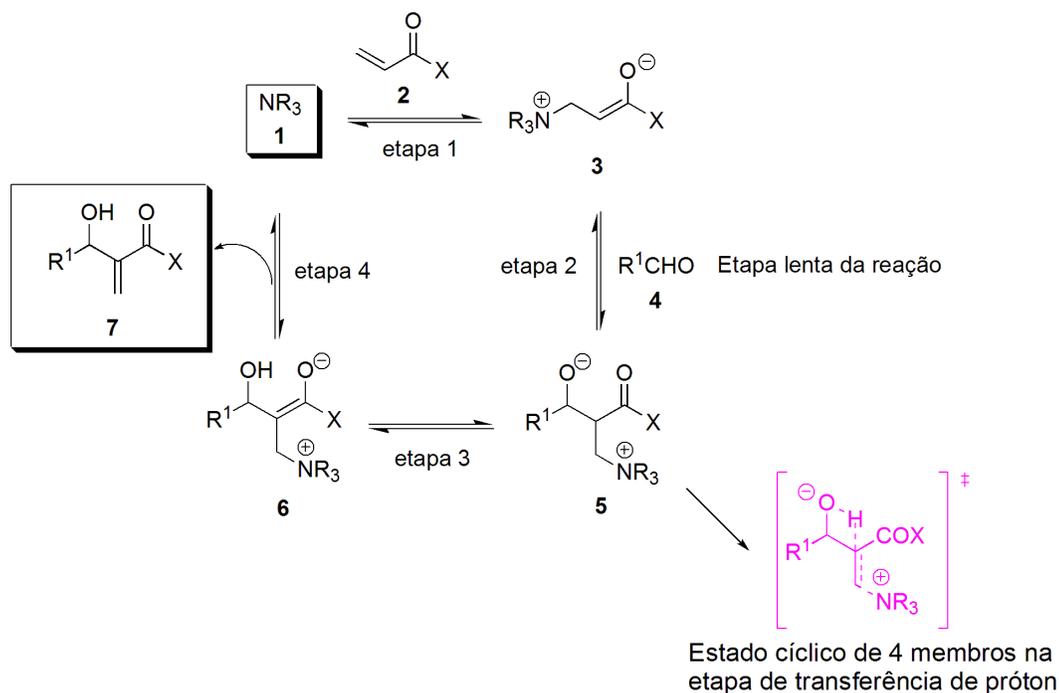
⁹ **a.** Buskens, P.; Klankermayer, J.; Leitner, W. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 16762. **b.** Raheem, I. T.; Jacobsen, E. N. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1701.

¹⁰ Banco de dados Web of Science acessado em 09 de setembro de 2010.

¹¹ Xia, Y.; Liang, Y.; Chen, Y.; Wang, M.; Jiao, L.; Huang, F.; Liu, S.; Li, Y.; Yu, Z. X. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3470.

¹² Hoffmann, H. M. R.; Rabe, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, *22*, 795

ocorre a adição de Michael do catalisador (amina terciária (**1**) ou fosfina) ao sistema α,β -insaturado **2**, gerando o *zwitterion* **3**. A adição aldólica entre o enolato **3** e o aldeído **4** gera o alcóxido **5**, que após uma transferência de próton, fornece o enolato **6**. Neste estágio este intermediário gera o produto β -hidróxi- α -metileno carbonilado **7**, com regeneração do catalisador (**1**).



Esquema 3: Mecanismo geral da reação de Morita-Baylis-Hillman.

Hill e Isaacs sustentaram esta proposta com um estudo cinético no qual não foi observado um efeito isotópico primário ($KIE^\tau = 1,03 \pm 0,1$, usando acrilonitrila como nucleófilo para a reação de MBH), indicando que a etapa lenta da reação não envolve uma migração de próton. Além deste dado, ficou constatado também que ocorria um aumento de momento de dipolo na etapa de adição aldólica devido a uma separação de cargas, por isto, esta etapa foi inicialmente considerada por Isaacs e Hill, como etapa lenta da reação (**Esquema 3**, etapa 2).¹³

Visando contribuir e sustentar a elucidação deste mecanismo, nosso grupo de pesquisa, utilizou pioneiramente a espectrometria de massas com ionização

^τ Do inglês: Kinetic Isotope Effect.

¹³ Hill, J. S.; Isaacs, N. S. *J. Phys. Org. Chem.* **1990**, *3*, 285.

por *electrospray* para estudar a reação de MBH e os intermediários **(3)** e **(5)** (**Esquema 3**) foram interceptados e caracterizados em suas formas protonadas.¹⁴

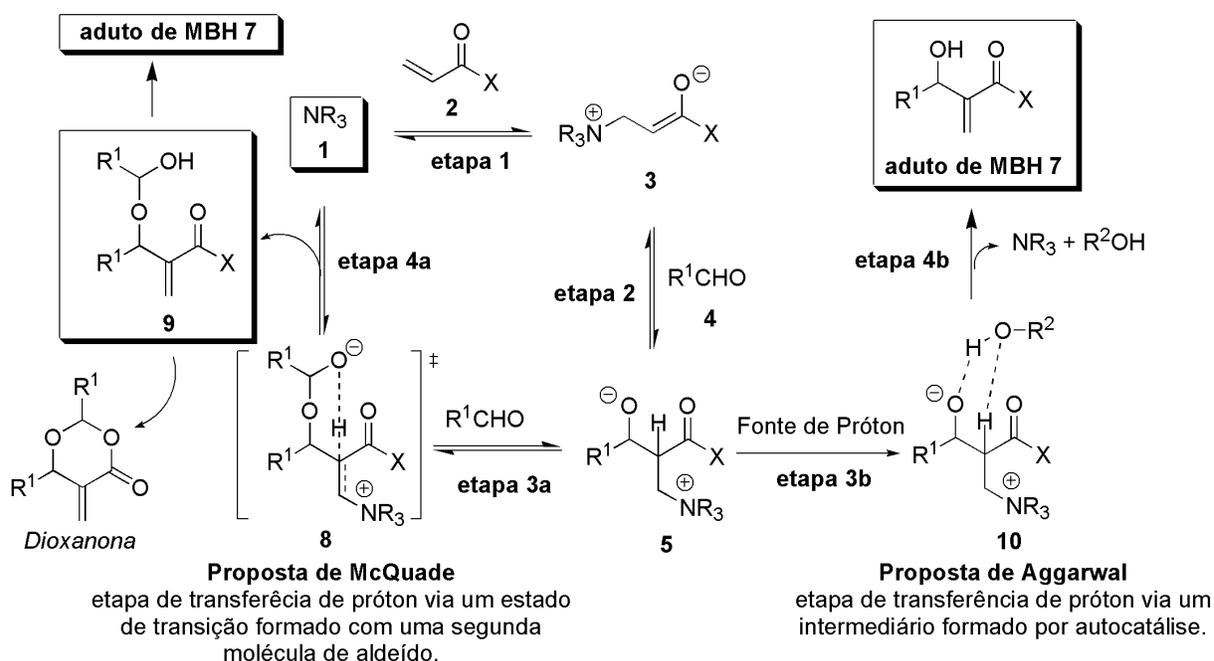
Recentemente, o mecanismo da reação de MBH foi revisto por McQuade e Aggarwal. O grupo de McQuade¹⁵ re-avaliando o experimento de cinética, realizado por Hill e Isaacs¹³, observou uma não linearidade desta reação com relação ao aldeído, verificando que a reação é de segunda ordem com relação a esse reagente. Neste experimento também foi possível observar um significativo efeito isotópico primário (KIE - $k_H/k_D = 5,2 \pm 0,6$ em dimetilsulfóxido (DMSO)), indicando a importância da etapa de transferência de próton para o ciclo catalítico desta reação.

Tendo este dado experimental, McQuade questiona o fato da etapa de transferência de próton (**Esquema 3**, etapa 3) ocorrer através de um estado de transição cíclico de quatro membros de alta restrição geométrica (**Esquema 3**). Além disso, questiona o fato dessa proposta não justificar a formação de subprodutos cíclicos contendo duas moléculas de aldeído (dioxanonas) e a estereosseletividade obtida em versões assimétricas dessa reação.¹⁵

Baseado nessa evidência cinética, McQuade propôs uma nova interpretação para este mecanismo, a qual envolvia agora uma segunda molécula de aldeído (**Esquema 4**, etapa 3a). Nesta interpretação, a etapa lenta do processo é a etapa de transferência do próton, que ocorre através de um estado de transição cíclico de seis membros **(8)** (**Esquema 4**), de menor energia comparado ao obtido para proposta inicial.

¹⁴ a. Santos, L. S.; Pavam, C. H.; Almeida, W. P.; Coelho, F.; Eberlin, M. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4330.

¹⁵ a. Price, K. E.; Broadwater, S. J.; Walker, B. J.; McQuade, D. T. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3980. b. Price K. E.; Broadwater, S. J.; Jung, H. M.; McQuade D. T. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 47.



Esquema 4: Recentes propostas para o mecanismo da reação de MBH.

Este arranjo estrutural representado pelo estado de transição (**8**) (**Esquema 4**) se decompõe para a formação do intermediário (**9**), que perde uma molécula de aldeído para fornecer o aduto de MBH (**7**) ou sofre uma reação no grupo carbonílico que conduz à formação da dioxanona, isolada como um subproduto.

O grupo de Aggarwal¹⁶ interessado na elucidação deste mecanismo também realizou experimentos cinéticos e constatou que a reação é de segunda ordem com relação ao aldeído, assim como mostrado por McQuade, porém somente no início da reação ($\leq 20\%$ de conversão). Neste experimento, os autores monitoraram o valor de KIE durante todo processo de reação, já que McQuade só realizou medidas desse efeito (KIE) nos primeiros momentos (até 10% de conversão). Por isso, Aggarwal observou que em conversões maiores havia uma perda no efeito cinético isotópico primário, sugerindo uma inversão de catálise.

Diante das evidências, Aggarwal concorda com McQuade no que diz respeito à etapa lenta do processo, a etapa de transferência de próton, porém

¹⁶ a. Aggarwal, V. K.; Fulford, S. Y.; Lloyd-Jones, G. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1706. b. Robiette, R.; Aggarwal, V. K.; Harvey, J. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15513.

devido à perda observada no efeito cinético isotópico primário, propõe que após 20 % de conversão a reação se torna autocatalítica. Aparentemente, o aduto de MBH (7, **Esquema 4**) ou qualquer outra fonte de prótons, como solventes próticos, podem atuar como doador de próton, podendo, então, assistir a etapa de transferência de próton via um intermediário cíclico de 6 membros (**Esquema 4**, etapa 4b).

Esta constatação explica o efeito de aceleração na reação de MBH em presença de solventes próticos e como estes atuam na etapa lenta da reação.

Diante do exposto, torna-se claro que alguns aspectos do mecanismo da reação de MBH ainda não foram completamente esclarecidos. Grupos de pesquisa têm realizados esforços neste sentido, com o intuito de compreender o mecanismo dessa reação e, principalmente, estabelecer uma versão assimétrica geral para essa interessante transformação química.¹⁷

Visando aprofundar o conhecimento dessa reação e apresentar mais evidências estruturais para a reação de MBH e *aza*-MBH apresentaremos, neste trabalho, os resultados de estudos mecanísticos monitorados por espectrometria de massas.

1.4 Espectrometria de massas aplicada no estudo de mecanismos de reações.

O entendimento mais preciso dos eventos que ocorrem a nível molecular quando reagentes são transformados em produtos mostra-se de extrema importância para um melhor controle e aperfeiçoamento de uma reação química. Entretanto, entender de forma completa o caminho pelo qual uma reação ocorre, nem sempre é uma tarefa fácil. De modo geral os mecanismos de reações podem ser propostos com base na reatividade dos compostos químicos envolvidos.

Existem atualmente várias técnicas pelas quais pode-se estudar uma dada proposta mecanística. Dentre elas pode-se citar a ressonância magnética nuclear

¹⁷ a. Pegot, B.; Vo-Thanh, G.; Gori, D.; Loupy, A. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6425. b. Sohtome, Y.; Tanatani, A.; Hashimoto, Y.; Kazuo, N. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5589.

(RMN)¹⁸ que vem sendo empregada corriqueiramente tanto para caracterização de intermediários chave isolados do meio reacional ou identificados na mistura reacional por meio de sinais característicos, bem como para estudos cinéticos possibilitando a avaliação direta da real participação de um dado reagente no mecanismo da reação. Outra abordagem bastante empregada é o uso de cálculos teóricos¹⁹ que prevêm a energia total de possíveis estados de transição envolvidos em uma dada proposta mecanística, ou mesmo avaliando energeticamente a formação de intermediários, possibilitando assim a comprovação ou propondo um mecanismo plausível para a reação estudada. Temos ainda, a avaliação das perturbações cinéticas causadas por substituições isotópicas em moléculas de interesse no mecanismo, avaliando assim sua influência na reação global.²⁰

Embora, essas técnicas tragam valiosas informações sobre um mecanismo, mostram-se, em certas situações, incapazes de interceptar e elucidar estruturalmente intermediários reacionais em uma mistura reacional em andamento.²¹ Neste contexto, a espectrometria de massas se apresenta como alternativa já que é uma ferramenta capaz de interceptar e caracterizar estruturalmente intermediários transientes mesmo em uma mistura reacional complexa.

1.4.1 Espectrometria de Massas com ionização por Electrospray- ESI-MS.

Graças ao advento de técnicas de ionização a pressão atmosférica (API[‡]), como a Ionização Química a Pressão Atmosférica (APCI - *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*)²² e o Electrospray (ESI - *Electrospray Ionization*),²³ no final da

¹⁸a) Szendi, Z.; Forgo, P.; Tasi, G.; Bocskei, Z.; Nyerges, L.; Sweet, F. *Steroids* **2002**, *67*, 31. b) van der Eide, E. F.; Piers, W. E. *Nature Chem.* **2010**, *2*, 571.

¹⁹ Li, X.; Guan, J.; Zheng, A.; Zhou, D.; Han, X.; Zhang, W.; Bao, X. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2010**, *330*, 99.

²⁰ Monnat, F.; Vogel, P.; Sordo, J. A. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 712.

²¹ Ma, X.; Zhang, S.; Lin, Z.; Liu, Y.; Xing, Z.; Yang, C.; Zhang, X. *Analyst* **2009**, *134*, 1863.

[‡] Do inglês: Atmospheric Pressure Ionization.

²² Horning, E. C.; Carroll, D. I.; Dzidic, I.; Haegele, K. D.; Hornning, M. G.; Stillwell, R. N. *J. Chromatogr. Sci.* **1974**, *12*, 725.

²³ Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. *Science* **1989**, *246*, 64.

década de 80 e começo dos anos 90, a espectrometria de massas sofreu uma grande revolução ampliando seu campo de aplicações. Moléculas com alta massa molecular e espécies instáveis termicamente antes não analisadas por equipamentos com Ionização por Elétrons (EI) ou Ionização Química (CI), passam a ser analisadas.

O sucesso da aplicação da espectrometria de massas para elucidar ou ajudar a consolidar propostas de mecanismos de reações orgânicas pode ser visto em diversos trabalhos, tais como: reações de substituição nucleofílica,²⁴ acilação de Friedel-Crafts,²⁵ cicloadição de Diels-Alder,²⁶ reação de Wittig,²⁷ reação de Reformatsky,²⁸ adição de Michael,²⁹ condensação de Kolbe,³⁰ reação de Cannizzaro,³¹ reação de Claisen-Schmidt,³² Tebbe³³ e Heck.³⁴

Com a ionização por ESI-MS há a possibilidade de transferir íons, de massa molecular quase ilimitada, de uma solução real diretamente para a fase gasosa de maneira branda e eficiente, possibilitando a caracterização desses íons gasosos com rapidez, sensibilidade e seletividade. Sendo essa técnica eficiente para a detecção de íons, determinando a massa e o padrão isotópico, bem como a sua versão seqüencial, ESI-MS/MS, é usada para a investigação estrutural.

Em ESI-MS moléculas de baixo ou alto peso molecular, alta polaridade e complexidade estrutural são facilmente ionizadas e analisadas. O mecanismo

²⁴ **a.** Bowie, J. H. *Acc. Chem. Res.* **1980**, *13*, 76. **b.** Riveros, J. M.; Jose, S. M.; Takashima, K. *Adv. Gas Phase Ion Chem.* **1985**, *21*, 197. **c.** DePuy, C. H.; Gronert, S.; Mullin, A.; Bierbaum, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8650. **d.** Gozzo, F. C.; Ifa, D. R.; Eberlin, M. N. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 3920. **e.** Davico, G. E.; Bierbaum, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1740. **f.** Giroldo, T.; Xavier, L. A.; Riveros, J. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3588.

²⁵ Speranza, M.; Sparapani, C. *Radiochim. Acta* **1981**, *28*, 87.

²⁶ **a.** Eberlin, M. N.; Cooks, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9226. **b.** Eberlin, M. N. *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *235*, 263. **c.** Castle, L. W.; Gross, M. L. *Org. Mass Spectrom.* **1989**, *24*, 637. **d.** Bouchoux, G.; Nguyen, M. T.; Salpin, J.-Y. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 5778.

²⁷ **a.** Johlman, C. L.; Ijames, C. F.; Wilkins, C. L.; Morton, T. H. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2628. **b.** Lum, R. C.; Grabowski, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7823.

²⁸ Castle, L. W.; Hayes, R. N.; Gross, M. L. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 2* **1990**, *2*, 267.

²⁹ **a.** McDonald, R. N.; Chowdhury, A. K.; Setser, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6491. **b.** DePuy, C. H.; Van Doren, J. M.; Gronert, S.; Kass, S. R.; Motell, E. L.; Ellison, G. B.; Bierbaum, V. M. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1846.

³⁰ Shen, J.; Evans, C.; Wade, N.; Cooks, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9762.

³¹ Sheldon, J. C.; Bowie, J. H.; Dua, S.; Smith, J. D.; O'Hair, R. A. J. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3931.

³² Hass, G. W.; Gross, M. L. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1996**, *7*, 82.

³³ Meuer, E. C.; da Rocha, L. L.; Pilli, R. A.; Eberlin, M. N. *R. Comm. Mass. Spec.* **2006**, *17*, 2626.

³⁴ **a.** Santos, L. S.; Rosso, G. B.; Pilli, R. A.; Eberlin, M. N. *J. Org. Chem.* **2007**, *15*, 5809. **b.** Sabino, A. A.; Machado, A. H. L.; Correia, C. R. D.; Eberlin, M. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *34*, 4389.

mais aceito para ionização por ESI-MS³⁵ é resultado da diminuição do raio das gotículas pela evaporação das moléculas do solvente e do conseguinte aumento da força do campo elétrico na superfície da gotícula. Assim quando a força do campo atinge a instabilidade (limite de Rayleigh), ocorre à formação de microgotículas a partir das gotículas, devido à instabilidade superficial induzida pelo campo. Portanto, juntando o processo de evaporação do solvente e da formação de microgotículas num ponto crítico de força do campo, ocorre uma emissão direta de íons dessolvatados para dentro do analisador de massas (**Figura 1**).³⁵

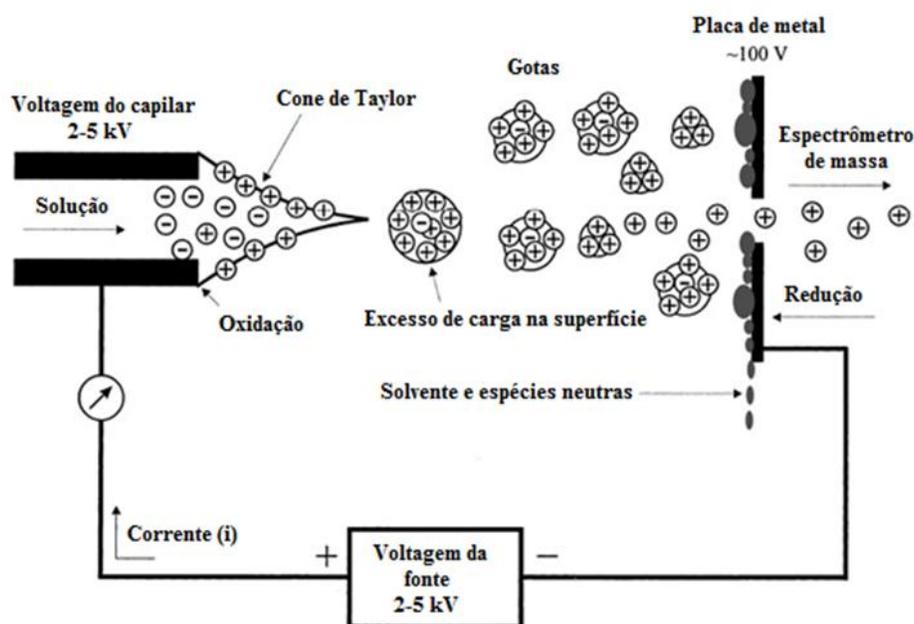


Figura 1: Diagrama esquemático da ionização por Electro spray.

1.4.2 Métodos para o estudo de mecanismos de reações orgânicas por Espectrometria de massas.

Para um melhor entendimento acerca dos experimentos que podem ser conduzidos em um estudo de mecanismos de reações por espectrometria de massas é possível classificar o monitoramento desta reação de duas maneiras:

³⁵ a. Cole, R. In *Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Fundamentals Instrumentals & Applications*. 1st Edition. John Wiley & Sons. 1997. New York. p. 577. b. Cech, N. B.; Enke, C. G. *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 362.

monitoramento *on-line* e *off-line*.³⁶ O monitoramento *off-line* será, neste contexto, definido como o acompanhamento da reação em intervalos pré-definidos de tempo. Este acompanhamento pode se dar pela adição gradual dos reagentes, tentando interceptar os intermediários formados em cada etapa, ou pelo monitoramento da formação dos produtos durante o progresso da reação. Alíquotas do meio reacional são retiradas e diluídas em um solvente apropriado para serem injetadas no espectrômetro de massas. Sua detecção depende da concentração dos intermediários no meio reacional e do tempo de vida destes.

Como monitoramento *on-line* consideraremos a aquisição dos espectros feita simultaneamente ao andamento da reação, que ocorre, por exemplo, em um reator diretamente acoplado ao espectrômetro de massas, conforme mostra a **Figura 2**.³⁶ O monitoramento *on-line* possibilita, desta forma, a caracterização de produtos instáveis e intermediários reativos com tempo de vida de milisegundos. Isso permite o monitoramento da reação em tempo real e o traqueamento das espécies transientes.

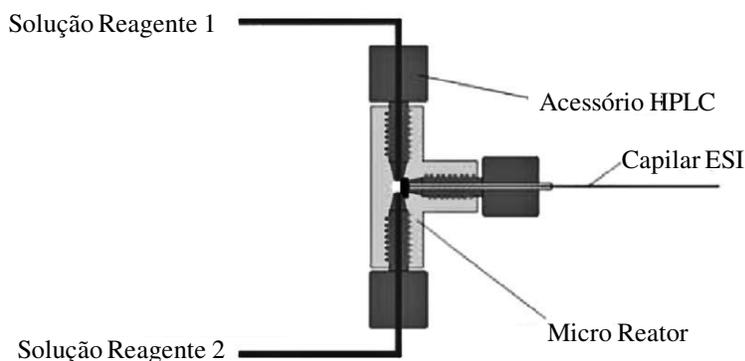


Figura 2: Representação esquemática de um micro reator para monitoramento *on-line* de reações.³⁶

³⁶ Santos, L. S. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2, 235.

2. OBJETIVOS

Esta dissertação de mestrado envolve o estudo de reações orgânicas em solução através da espectrometria de massas (MS) englobando aspectos mecanísticos da reação de MBH, no que diz respeito à interceptação e caracterização dos intermediários transientes desta reação.

Sendo assim, um dos nossos objetivos foi:

- 1) Mapear a reação *aza*-MBH visando avaliar a similaridade com o mecanismo já descrito na literatura por McQuade e Aggarwal para a reação de MBH, bem como avaliar a influência da mudança da amina terciária e da olefina no mecanismo da *aza*-MBH.
- 2) Avaliar se um aduto de MBH pode atuar como doador de próton, e conseqüentemente assistir a etapa de transferência de próton atuando na autocatálise da reação, de acordo com a proposta mecanística feita por Aggarwal.
- 3) Realizar o monitoramento *online* da reação de MBH através do estudo cinético desta reação utilizando uma nova fonte de ionização ambiente (V-EASI) baseada na ionização por *sonic spray*.

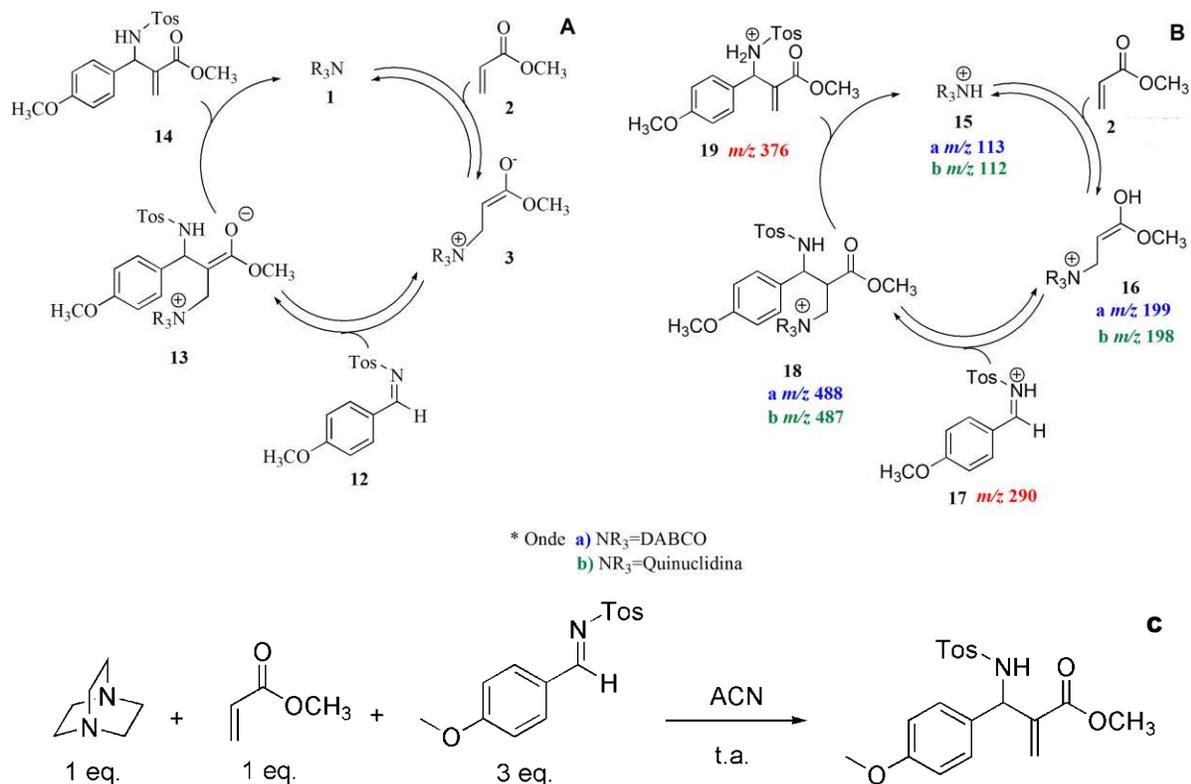
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS ESTUDOS MECANÍSTICOS DE MBH ATRAVÉS DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS.

3.1 *Estudo do mecanismo da reação de aza-MBH.*

3.1.1. Reação de aza-MBH utilizando acrilato de metila como sistema α,β -insaturado.

O mecanismo da reação de aza-MBH foi investigado através da espectrometria de massas com fonte de ionização por electrospray (ESI-MS), bem como sua versão seqüencial (ESI-MS/MS) para a caracterização estrutural dos intermediários.

A reação de aza-MBH consiste em uma seqüência de adição-eliminação e nesse caso uma tosylimina é utilizada como porção eletrofílica do processo, catalisado por uma amina terciária que se acredita adotar o mecanismo apresentado no **Esquema 5A**. O primeiro passo do mecanismo proposto é uma adição de Michael sob a dupla ligação α,β -insaturada ativada. O enolato formado (**3**) é responsável pelo ataque nucleofílico sobre a imina (**12**), gerando o produto de condensação aldólica (**13**). Sabe-se que essa imina, em comparação com os aldeídos normalmente utilizados para uma reação de MBH, é uma espécie mais reativa, uma vez que o carbono diretamente ligado ao nitrogênio é mais eletrofílico. Finalmente tem-se a transferência de próton seguido da eliminação do catalisador básico, resultando no aduto de aza-MBH (**14**). As duas primeiras etapas da reação, adição da base no acceptor de Michael e o ataque do enolato na imina são reversíveis e a etapa de transferência de próton é a etapa determinante da velocidade.



Esquema 5: A) Mecanismo proposto para a reação de aza-MBH. B) Espécies protonadas do ciclo catalítico da aza-MBH. C) Esquema da reação estudada.

Essa sugestão de mecanismo foi o alicerce para o início desse trabalho, pois consideramos que a presença de uma molécula de tosil na estrutura criaria um impedimento estérico e atrapalharia a adição de uma segunda molécula de imina, como proposto por McQuade¹⁵ e Aggarwal¹⁶ para a reação de MBH, além da baixa eletrofilicidade do nitrogênio ligado ao grupamento tosil, fortemente retirador de elétrons.

A reação de aza-MBH estudada foi realizada na presença de 1 equivalente de 1,4-diaza-biciclo[2,2,2]octano (DABCO), 1 equivalente do acrilato de metila e 3 equivalente da *N*-(4-metoxibenzoilideno)-4-metil-benzenosulfonamida (tosilimina), em acetonitrila a temperatura ambiente (**Esquema 5C**).

A **Figura 3A** mostra no espectro de ESI-MS para a reação no tempo zero, e um conjunto de seis íons são identificados na suas formas protonadas, e alguns desses íons são espécies chaves da reação, como: a amina terciária (**15a** de m/z 113), o aza-enolato protonado (**16a** de m/z 199) e o segundo intermediário (**18a** de

m/z 488) do ciclo catalítico da *aza*-MBH, a partir do ataque nucleofílico do enolato (**3**) no carbono da imina (**12**), como mostra o **Esquema 5**.

Também é possível identificar o produto (**página 42, Esquema 6**) do ataque nucleofílico do DABCO (**1**) no carbono da imina (**12**) de m/z 402 (**22a**) além da própria imina protonada (**17** m/z 290). Pela expansão na região de m/z 777 (mostrado na **Figura 3A** como uma inserção) é possível identificar o intermediário chave (**20a** de m/z 777 do **Esquema 6**) do ataque de um segundo equivalente da imina no intermediário (**18a**). O equivalente deste intermediário foi observado por nosso grupo de pesquisa³⁷ para a reação de MBH e a interceptação de (**20a**) forneceu indícios de que o mecanismo de *aza*-MBH pode se passar pelo mesmo caminho da reação convencional de MBH. Depois de um tempo reacional de 30 minutos (**Figura 3B**) foi possível interceptar um novo intermediário (**21**) de m/z 665 (**Esquema 6**), formado a partir do intermediário (**20a**), pela liberação do DABCO.

³⁷ Amarante, G. W.; Milagre, H. M. S.; Vaz, B. G.; Ferreira, B. R. V.; Eberlin M. N.; Coelho. F. J. *Org. Chem.* **2009**, *74*, 3031.

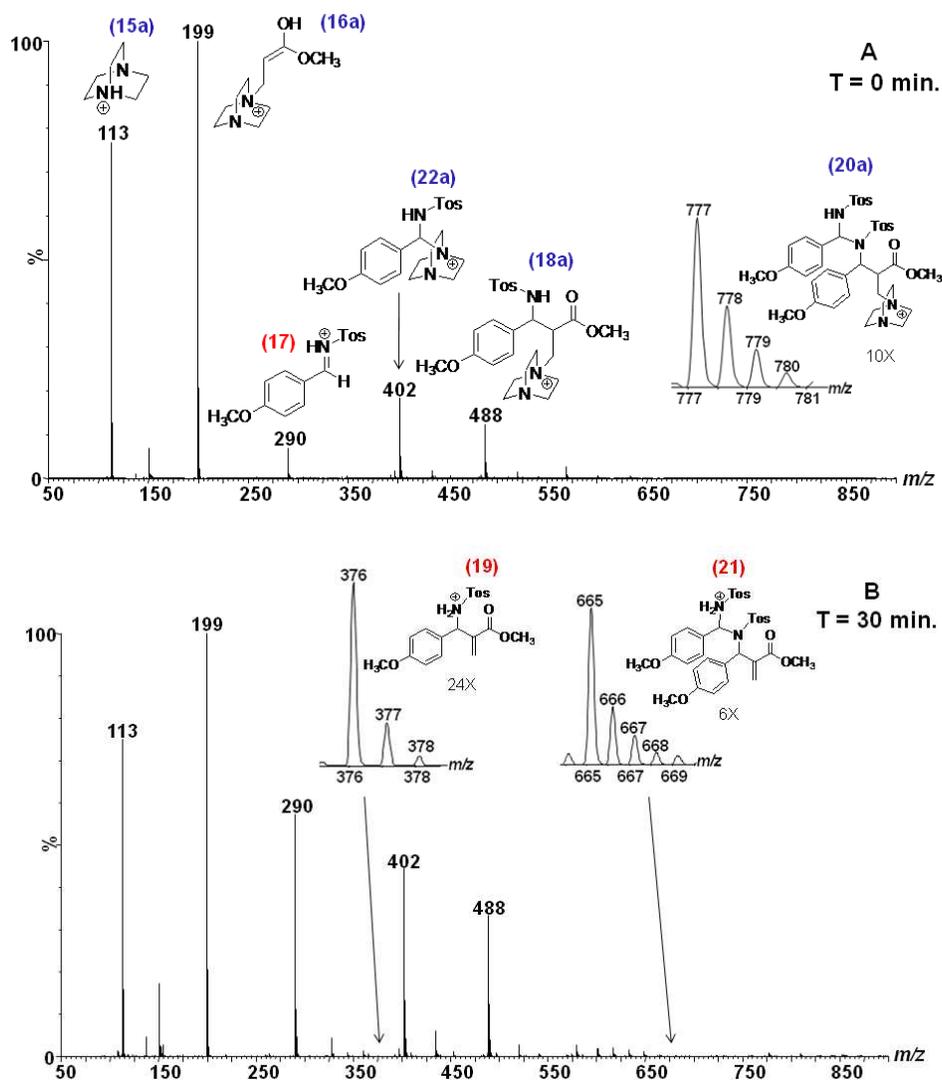


Figura 3: (A) ESI(+)-MS da reação de *aza*-MBH do acrilato de metila com a tosilimina e DABCO: T = 0 min. (B) ESI(+)-MS da reação de *aza*-MBH: T = 30 min.

Embora o intermediário **(21)** tenha sido proposto anteriormente para MBH, esta foi a primeira vez que foi interceptado e caracterizado. No mesmo espectro também foi encontrado o produto da *aza*-MBH (**19** m/z 376). Talvez o aduto da *aza*-MBH tenha sido gerado a partir do intermediário **(21)** pela liberação de uma molécula de imina (**12**). O intermediário **(21)** e produto **(19)** da *aza*-MBH foram mostrados na **Figura 3B** como uma inserção. Esses íons-chave foram caracterizados por ESI(+)-MS/MS (**Figura 4**) e puderam ser observadas as fragmentações características para cada espécie, corroborando com as estruturas propostas.

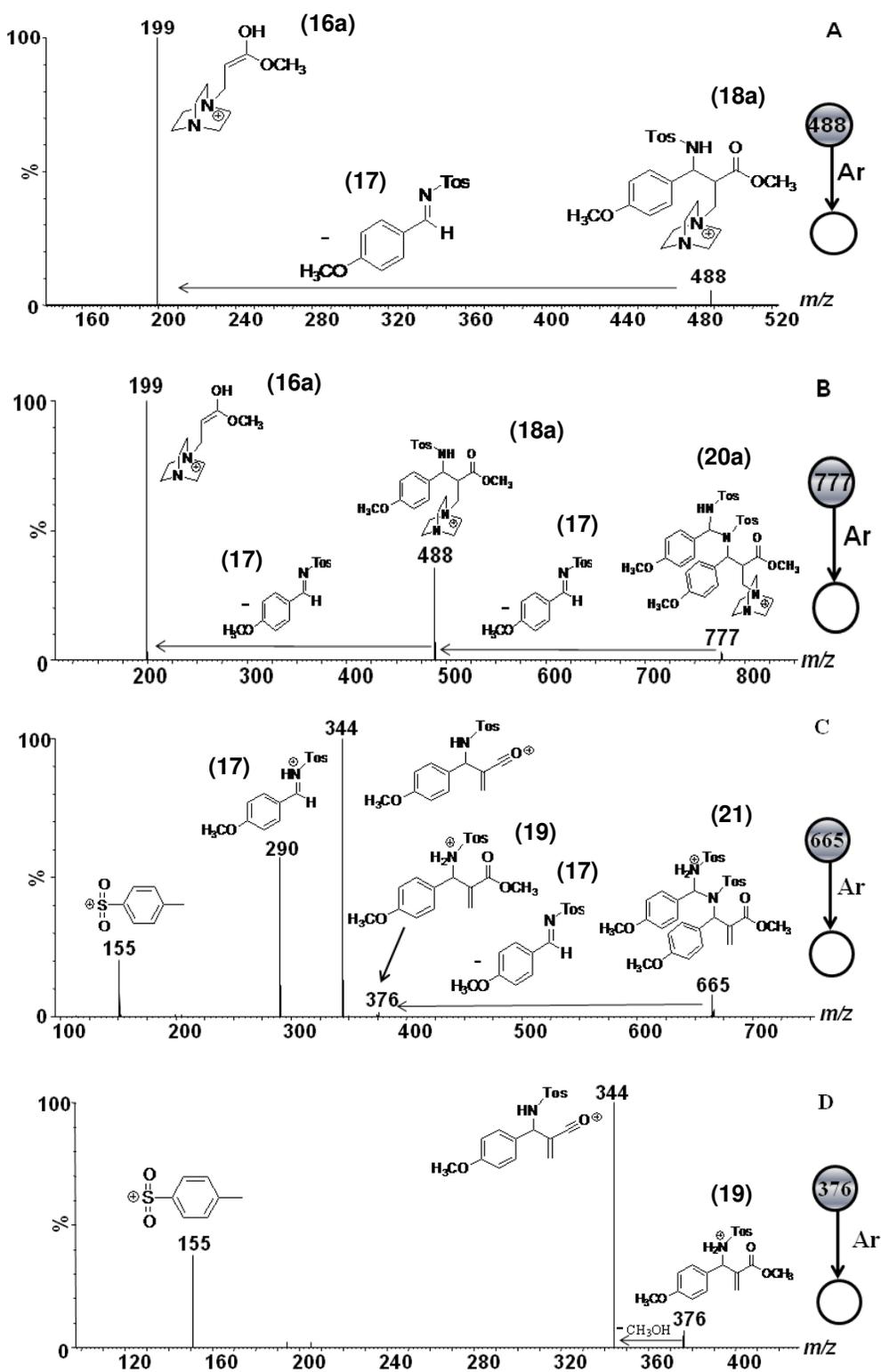


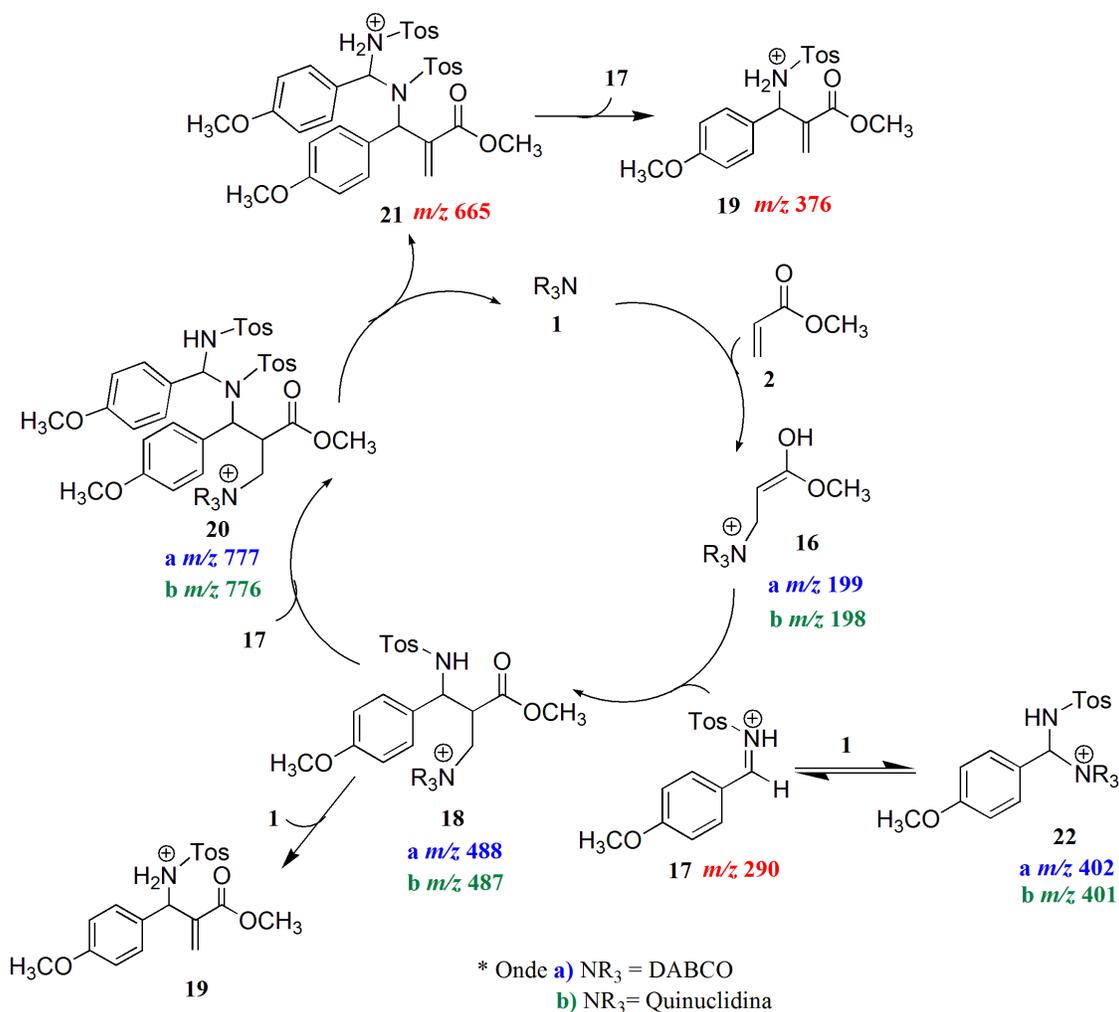
Figura 4: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) m/z 488, (B) m/z 777; (C) m/z 665; (D) m/z 376.

Sendo assim, para o íon de m/z 488 (**18a**) observamos como fragmento carregado o *aza* enolato (**16a**) e como perda neutra tem-se uma molécula de imina. Já para o intermediário (**20a**) e m/z 777 observamos uma fragmentação similar a uma retro-MBH. A primeira perda neutra é de uma molécula de imina que gera o intermediário (**18a**) que por sua vez perde outra molécula de imina produzindo o *aza*-enolato de m/z 199 (**16a**).

No espectro **C** da **Figura 4** mostramos a fragmentação do intermediário inédito (**21**) de m/z 665. Observamos uma perda neutra de uma molécula de imina que acaba gerando o aduto da reação de m/z 376 como fragmento carregado. Este último perde uma molécula de metanol, formando um íon acílio de m/z 344. Encontram-se também no espectro como fragmentos carregados uma molécula de imina de m/z 290 e o grupo tosil de m/z 155. A observação do aduto da reação de MBH como o primeiro fragmento do intermediário (**21**) forneceu indícios experimentais para as propostas teóricas feitas até o momento no que diz respeito à geração do produto da reação a partir desse intermediário. ^{15b}

Por fim tem-se a fragmentação do produto da reação de MBH de m/z 376. No seu espectro (**D**, **Figura 4**), nota-se uma fragmentação com apenas dois íons fragmentos, em que o primeiro é o íon acílio de m/z 344 resultando da perda de uma molécula de metanol, sendo o segundo e o grupo tosil de m/z 155.

Com a interpretação desses resultados de ESI(+)-MS(/MS) para a reação de *aza*-MBH, um ciclo catalítico completo, com as espécies protonadas pôde ser sugerido, **Esquema 6**, explicando assim, cada etapa do mecanismo.



Esquema 6. Proposta do ciclo catalítico completo para a reação de *aza*-MBH, com as espécies protonadas.

Além do estudo acima discutido, mais dois outros experimentos envolvendo a reação de *aza*-MBH foram realizados, contribuindo para a construção do ciclo catalítico proposto (**Esquema 6**). Em um desses trabalhos, a reação de *aza*-MBH foi repetida usando agora 1 equivalente de imina, com o intuito de saber se a espécie transiente (**20a**), e por conseqüência (**21**), realmente estão presentes como intermediários da reação ou somente aparecem devido ao uso de um excesso da imina. Quando alteramos, essas duas espécies continuaram a ser observadas.

Em seguida, avaliamos a rapidez e a facilidade de se observar os intermediários transientes da reação de *aza*-MBH, variando agora a base terciária

utilizada como catalisador. A reatividade das bases utilizadas como catalisador em reação de MBH já foi examinada por Aggarwal e colaboradores³⁸ e uma correlação direta entre sua basicidade e reatividade foi construída. A seguinte ordem de reatividade foi estabelecida com relação aos pKa's dos ácidos conjugados (medido em água): quinuclidina (11,3), 3- hidroxiquinuclidina (9,9), 3- acetoxiquinuclidina (9,3), 3-cloroquinuclidina (8,9), DABCO (8,7) e quinuclidinona (7,2), como mostrado na **Figura 5**. A quinuclidina, que tem o maior pKa, (11,3), foi também caracterizada como o catalisador mais ativo.³⁸ Sendo assim, avaliamos a influência da quinuclidina na reação de *aza*-MBH.

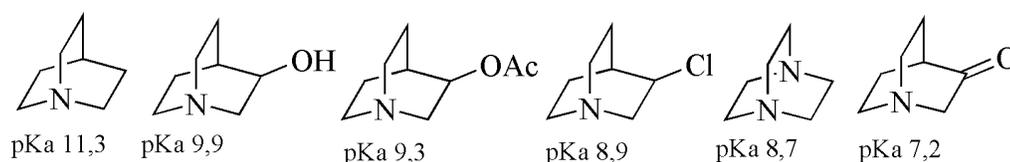


Figura 5: Bases terciárias avaliadas para a reação de MBH e seus respectivos valores de pKa's.

Na **Figura 6A** mostra o espectro de ESI(+)-MS para a reação no tempo zero com a quinuclidina, e o que se observa é o sinal referente: a amina terciária (**15b**) de m/z 112, ao *aza*-enolato protonado (**16b**) de m/z 198, ao segundo intermediário (**18b**) de m/z 487, a imina protonada (**17**) de m/z 290, a espécie (**22b**) de m/z 401 e o intermédio chave (**20b**) de m/z 776. Nesse espectro também pode ser observado o intermediário (**21**) de m/z 665, fornecendo indícios da maior reatividade e velocidade para a formação das espécies transientes presentes no ciclo catalítico da reação.

A cada 15 minutos de reação uma alíquota era retirada e analisada sendo que depois de 30 minutos foi observado o produto *aza*-MBH (**19** de m/z 376) mostrado como uma inserção no espectro da **Figura 6B**. Nesse mesmo espectro é possível visualizar o intermediário (**21**) sem a necessidade de ampliação do espectro, facilitando a sua caracterização estrutural.

³⁸ Aggarwal, V. K.; Emme, I.; Fulford, S. Y. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 692.

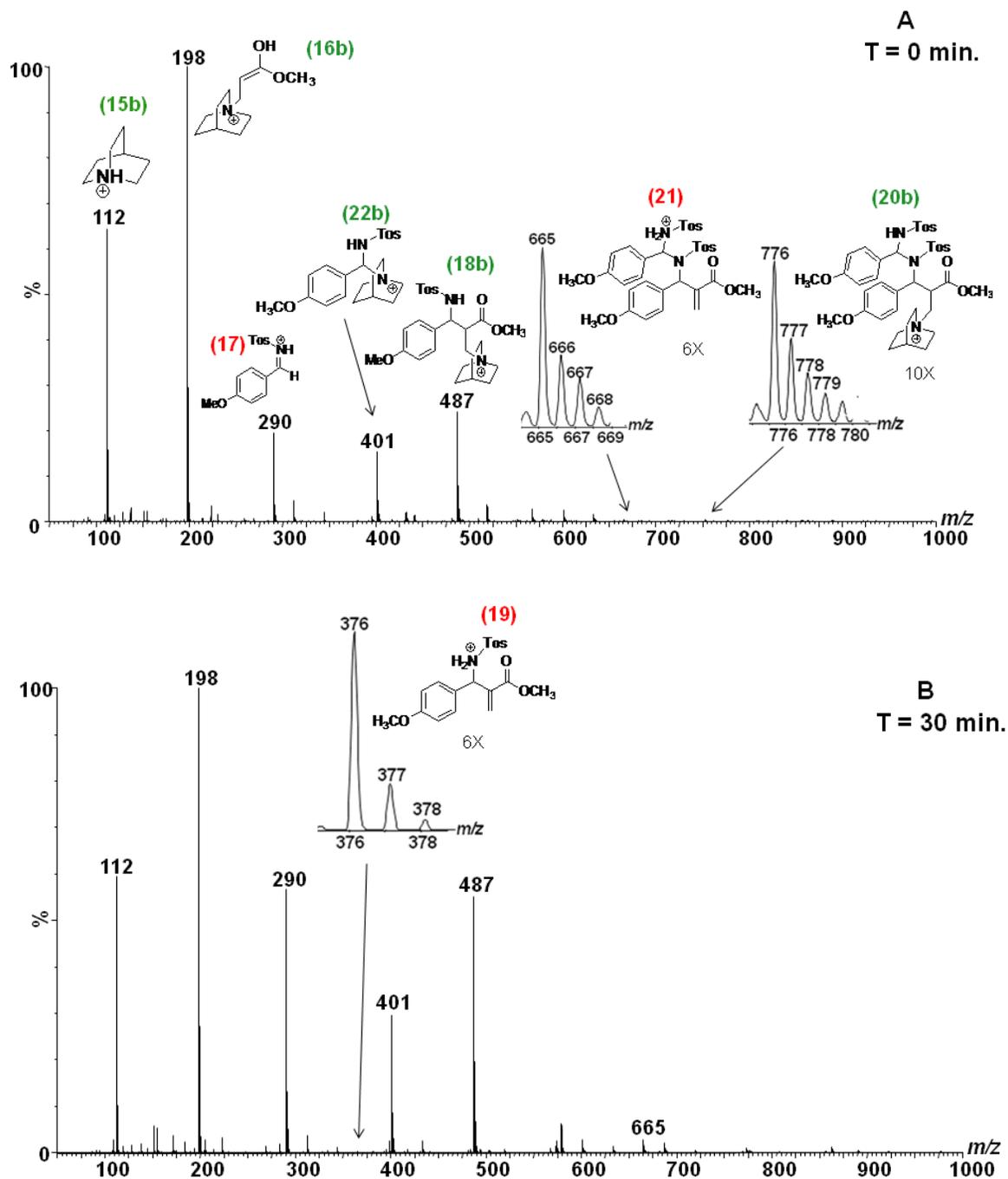


Figura 6: (A) ESI(+)-MS da reação de *aza*-MBH do acrilato de metila com a tosilimina e quinuclidina: T = 0 min. (B) ESI (+)-MS da reação de *aza*-MBH: T = 30 min.

Esses íons chave similares aos encontrados para a reação com DABCO foram também caracterizados por ESI(+)-MS/MS (**Figura 7**) e o mesmo padrão de fragmentação foi observado, ou seja, para o íon de m/z 487 (**18b**) se observa

como fragmento carregado o primeiro intermediário da reação, o *aza-enolato* (**16b**) e como perda neutra tem-se uma molécula de imina, além da própria imina carregada (**17**). Tem-se também nesse espectro a perda neutra de um aduto de *aza*-MBH (**19**) gerando como fragmento carregado uma molécula de quinuclidina (**15b**). Já para o intermediário (**20b**) de m/z 776 tem-se o que se considera uma retro-MBH como fragmentação. A primeira perda neutra é de uma molécula de imina que gera o intermediário (**18b**) que por sua vez perde outra molécula de imina produzindo o intermediário de m/z 198 (**16b**).

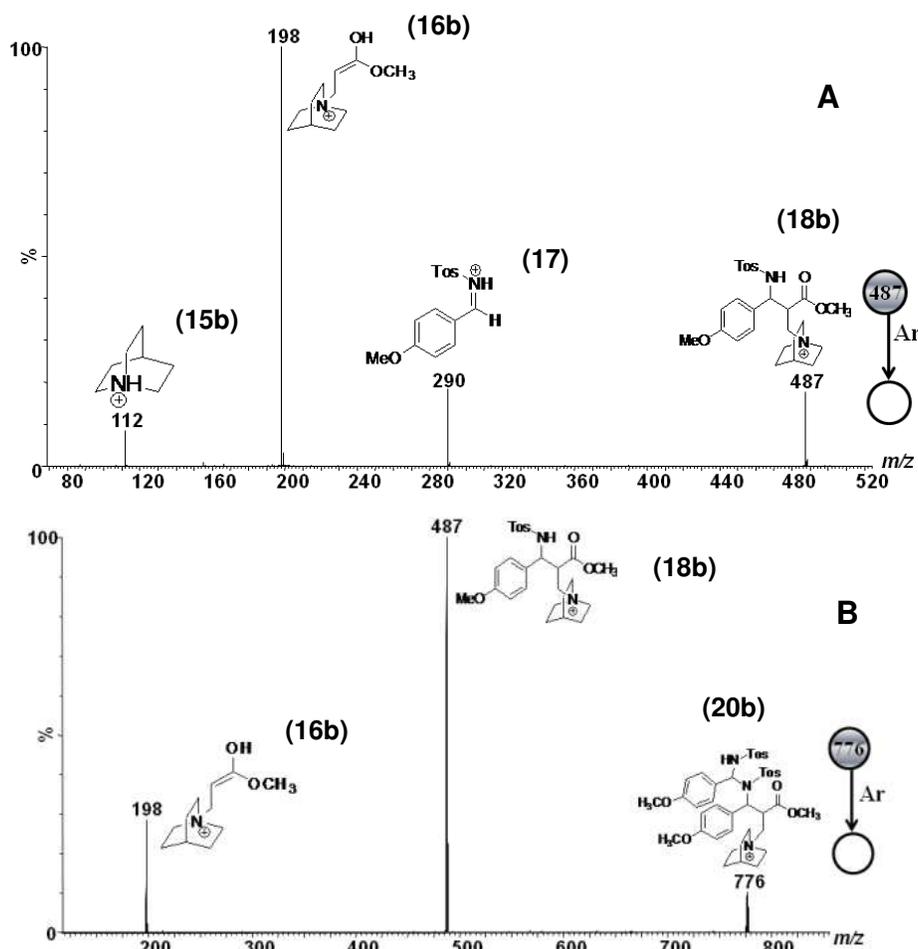
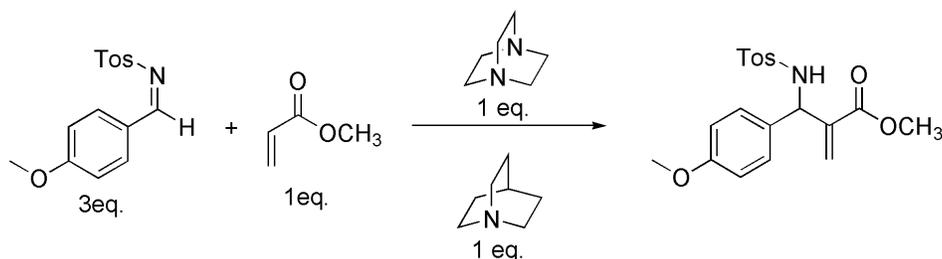


Figura 7: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) m/z 487 e (B) m/z 776.

Um estudo adicional de competição entre as bases terciárias catalíticas foi realizado com o objetivo de confirmar as afirmações acima feitas no que diz respeito à facilidade de interceptar os intermediários transientes da reação de *aza*-MBH no momento que essa reação é conduzida na presença de quinuclidina,

sendo assim considerada uma melhor base catalítica para ambas reações: MBH e *aza*-MBH. Para isso revisitou-se a reação de *aza*-MBH adicionando no meio reacional as duas bases catalíticas previamente estudadas separadamente: DABCO e quinuclidina.

Esse estudo foi realizado na presença de 1 equivalente de cada base terciária, DABCO e quinuclidina, com 1 equivalente de acrilato de metila e 3 equivalente da tosilimina (**Esquema 7**).



Esquema 7. Reação de *aza*-MBH utilizada no estudo de competição entre as bases catalíticas.

A **Figura 8A** mostra o espectro desse estudo de competição no tempo zero e o que se observa claramente é a predominância das espécies referentes à reação de *aza*-MBH com a quinuclidina: o primeiro intermediário reacional, o *aza*-enolato (**16b**) e o segundo intermediário (**18b**) referente ao ataque do *aza*-enolato (**16b**) na imina. Nesse espectro foi possível interceptar o intermediário (**20b**) de m/z 776, gerado a partir do ataque do intermediário (**18b**) em outra molécula de imina. Observamos também na **Figura 8A**, o sinal referente aos íons protonados das bases catalíticas usadas (**15a** e **15b**) e a própria imina (**17**), além da espécie referente ao dímero protonado da imina (**23**), que está presente devido ao excesso usado desse reagente.

Um dado interessante é a interceptação da espécie (**22a**) de m/z 402, espécie essa que não tem nenhuma participação no mecanismo da reação de *aza*-MBH, estando presente devido a reações paralelas que ocorrem. Como inicialmente há um acúmulo do DABCO (**15a**) na reação, uma vez que a quinuclidina reage primeiramente, essa base terciária fica mais suscetível para fazer um ataque nucleofílico na imina em excesso, formando assim a espécie (**22a**), como mostrado o **Esquema 6**.

A **Figura 8B** mostra as ampliações das regiões de interesse do espectro da **Figura 8A**. Com essas ampliações dos sinais a visualização da predominância das espécies (**16b**, **18b**, **20b**) referentes à participação da quinuclidina fica facilitada, sendo possível observar a sobreposição de sinal na espécie **20a** e **20b**.

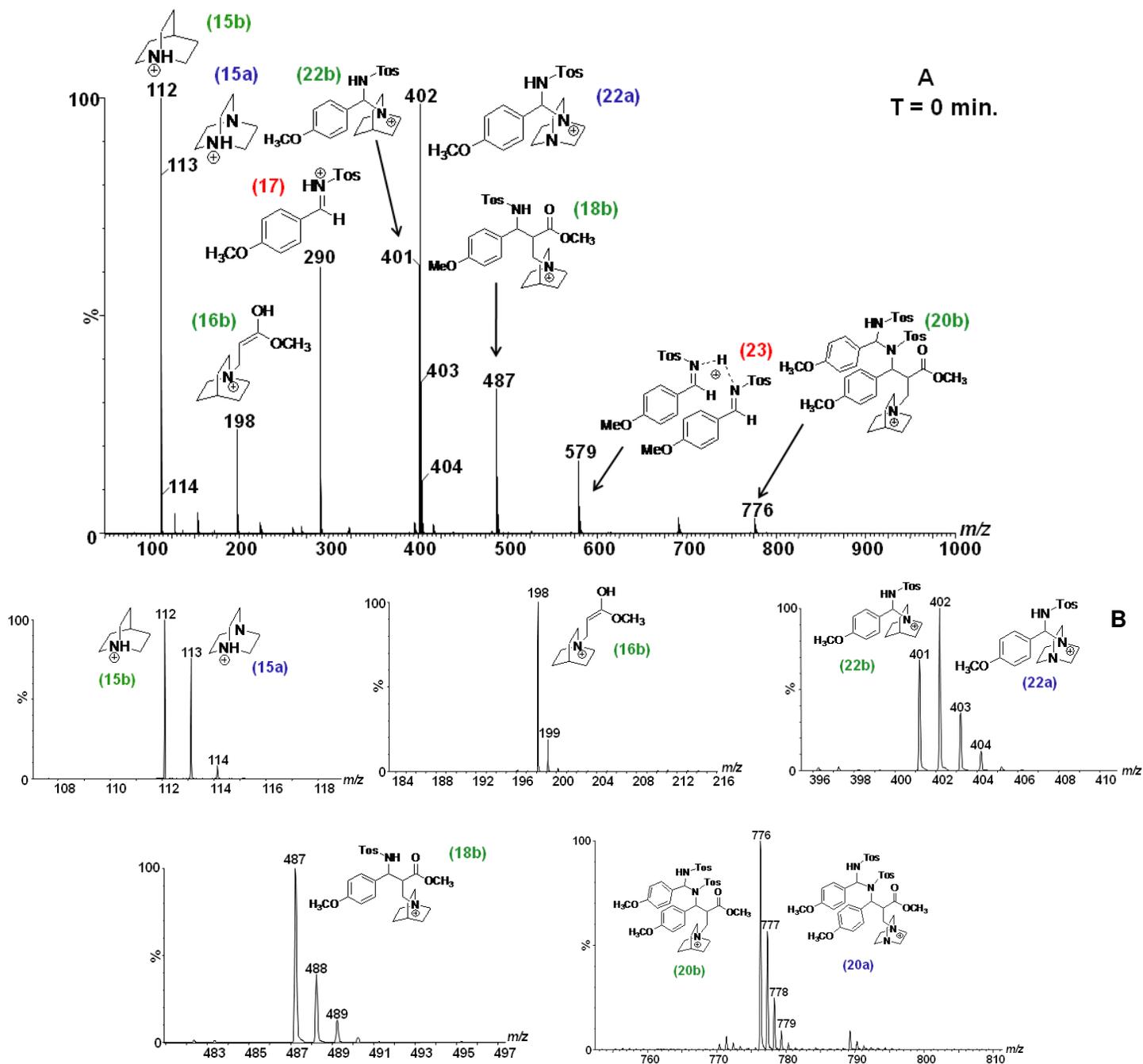


Figura 8: (A) ESI(+)-MS da reação de *aza*-MBH do acrilato de metila com a tosilimina com DABCO e quinuclidina: T = 0 min. (B) Ampliação do espectro (A) nas regiões de interesse, auxiliando a visualização do estudo competitivo.

A **Figura 9A** mostra o espectro da reação no tempo de 30 minutos e o que se observa é uma tendência para a inversão da reação, como por exemplo, o intermediário (**18a**) de m/z 488 que aparece com um sinal mais intenso com relação ao seu sinal na **Figura 8A** e agora já houve uma completa inversão de intensidade para o intermediário (**20a**) de m/z 777. Além desses intermediários já é possível observar a espécie (**21**) de m/z 665 e o aduto da reação (**19**). Novamente uma ampliação na região de interesse foi feita e mostrada na **Figura 9B**.

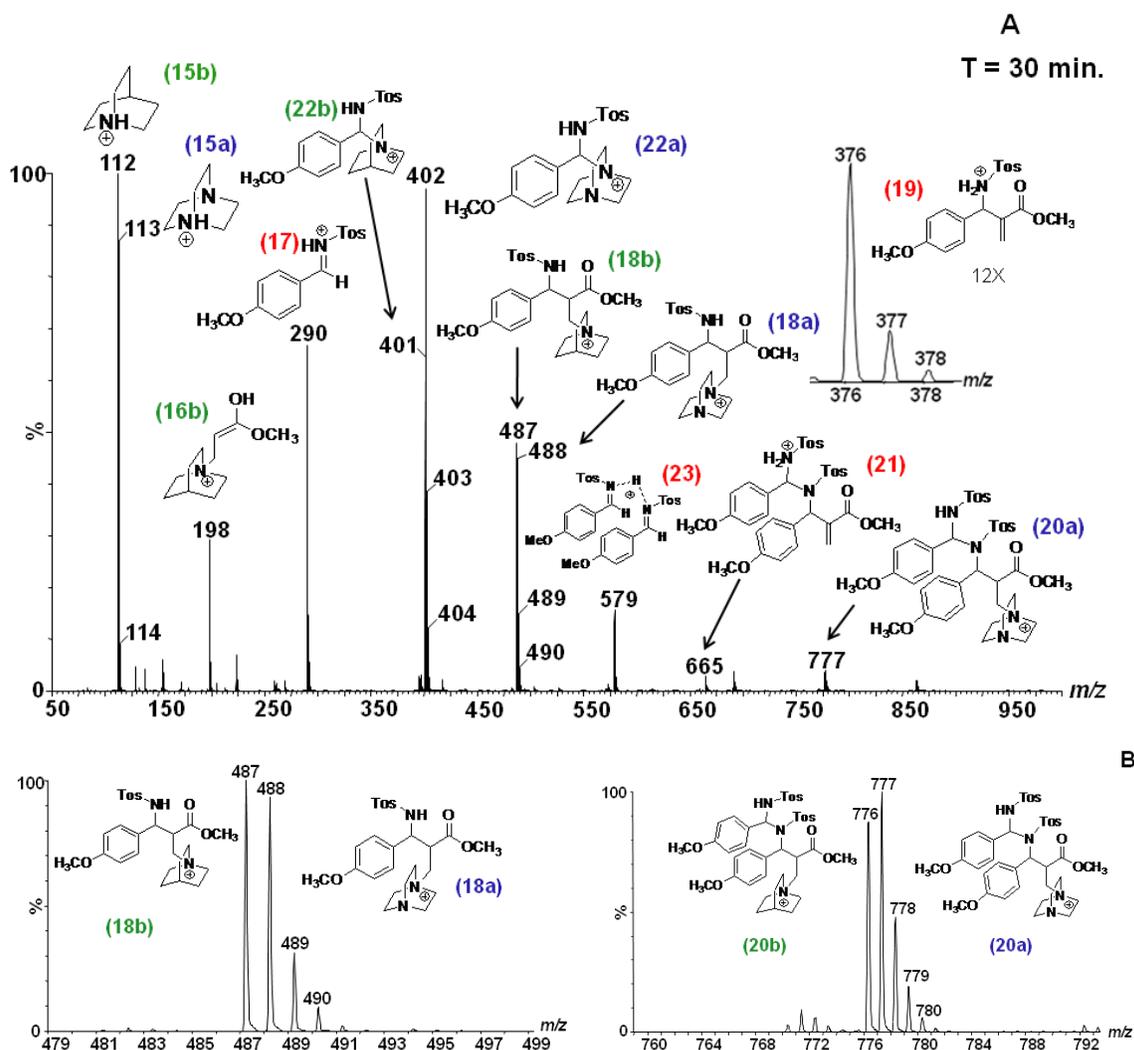


Figura 9: (A) ESI(+)-MS da reação de aza-MBH do acrilato de metila com a tosilimina com DABCO e quinuclidina: T = 30 min. (B) Ampliação do espectro (A) nas regiões de interesse, auxiliando a visualização do estudo competitivo.

Certificando assim as afirmações feitas no início desse estudo e para finalizar esse estudo de competitividade, mais alíquotas do meio reacional foram analisadas por ESI(+)-MS e no tempo de 60 minutos o que principalmente se nota (**Figura 10A**) é a completa inversão do sinal referente ao segundo intermediário (**18a** de m/z 488) do ciclo catalítico da reação de aza-MBH, sendo agora esse íon o mais intenso. O mesmo padrão do espectro já observado e discutido na **Figura 9** foi encontrado para a alíquota no tempo de 60 minutos, e a ampliação do sinal do intermediário (**18a**) esta mostrada na **Figura 10B**.

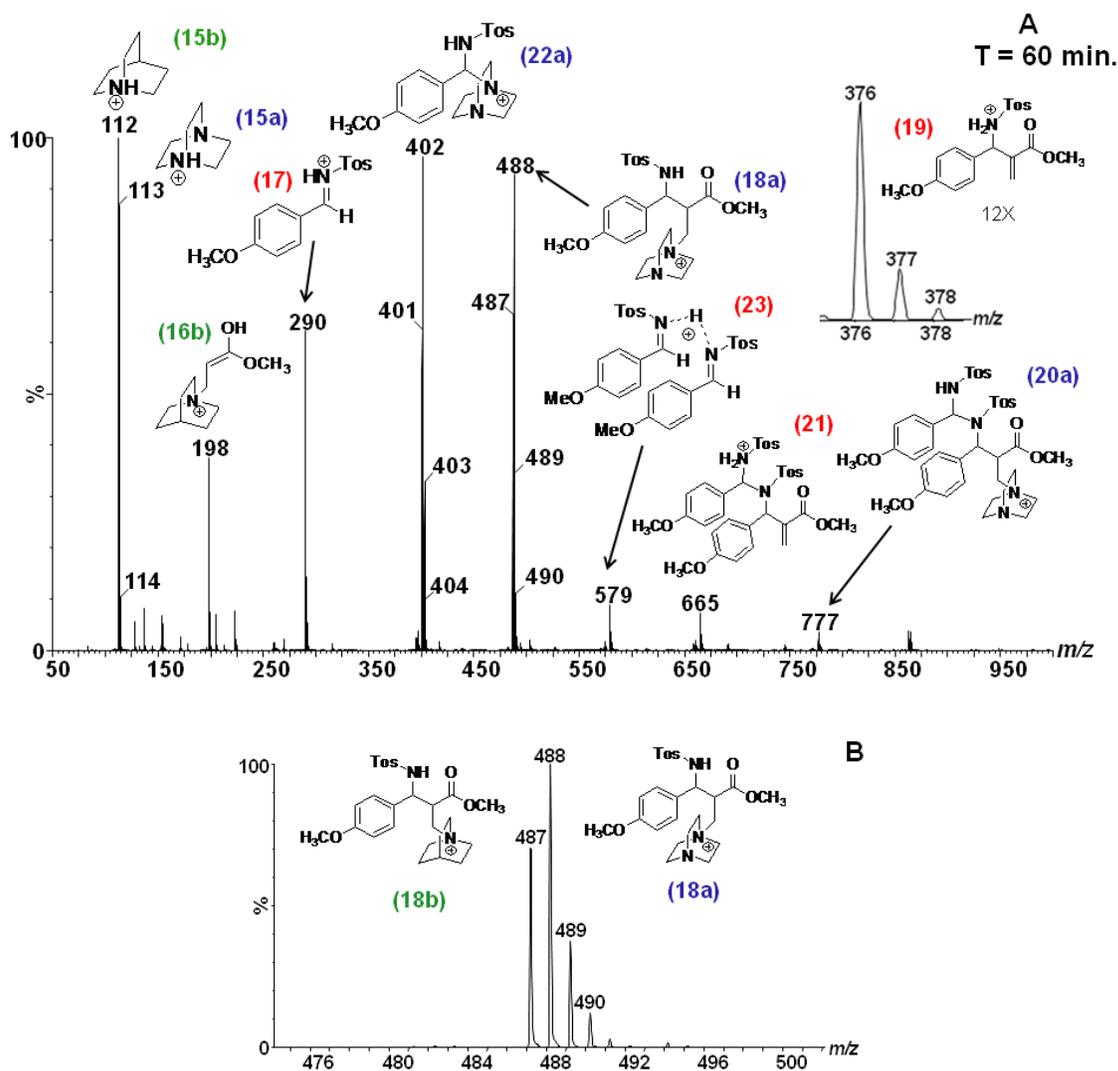


Figura 10: (A) ESI(+)-MS da reação de aza-MBH do acrilato de metila com a tosilimina com DABCO e quinuclidina: T = 60 min. (B) Ampliação do espectro (A) na região de interesse, auxiliando a visualização do estudo competitivo.

Sendo assim, utilizando a espectrometria de massas como ferramenta um ciclo catalítico completo para a reação de *aza*-MBH foi proposto, além de que uma avaliação da influência da velocidade da reação foi realizada através de um estudo variando as bases catalíticas, separadamente e por meio de um estudo de competitividade e assim como descrito por Aggarwal³⁸ para a reação de MBH, a quinuclidina trata-se também de uma base catalítica mais eficiente para a versão *aza*.

3.1.2. Reação de *aza*-MBH utilizando o acrilato de hexafluoro propila como componente nucleofílico.

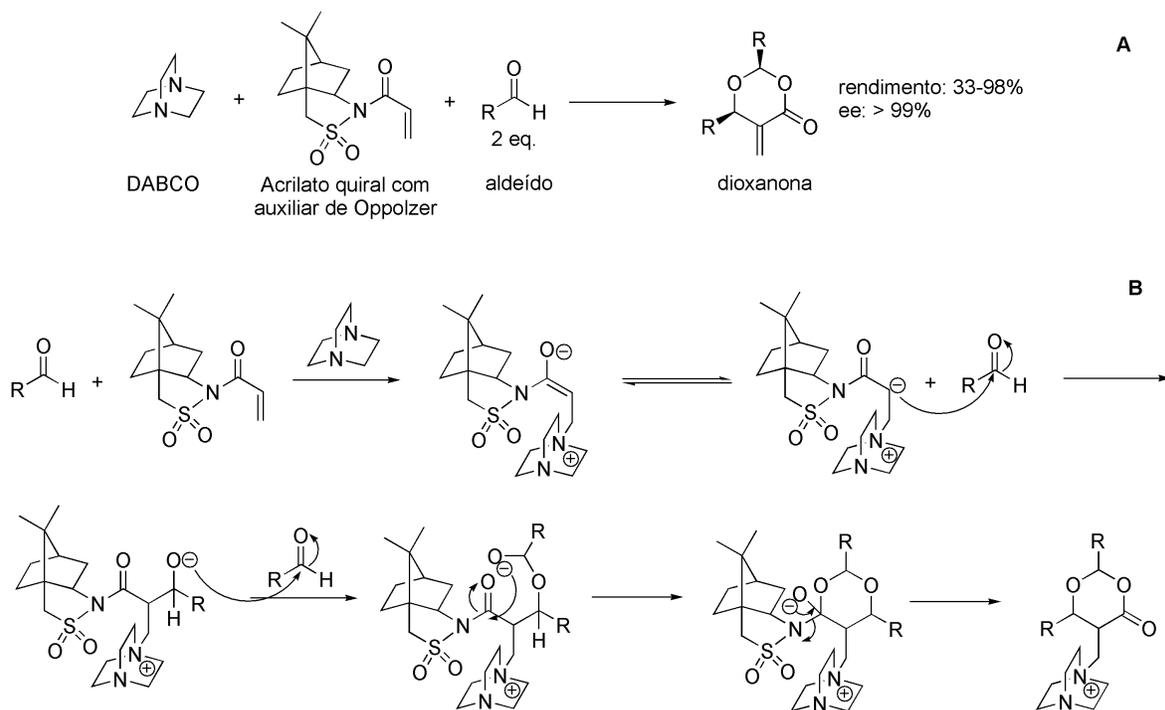
Buscando na literatura os experimentos realizados para a comprovação do mecanismo de MBH convencional para serem adaptados para a sua versão *aza* pretendendo a elucidação por completo do mecanismo dessa reação, notou-se muita discussão a cerca da formação dos subprodutos cíclicos (dioxanonas) da reação de MBH.

Este subproduto foi relatado primeiramente em 1990 por Khan³⁹ e colaboradores, sendo que a obtenção da dioxanona é facilitada através da utilização de um acrilato ativado com um bom grupo de saída e uma alta concentração de aldeído na reação.

McQuade¹⁵ e colaboradores foram um dos primeiros pesquisadores a questionar a formação desses subprodutos a partir das propostas mecanísticas presentes até aquele momento para a reação de MBH. Sendo assim, McQuade¹⁵ propôs uma nova interpretação para este mecanismo, a qual envolvia agora uma segunda molécula de aldeído (**Esquema 4**, etapa 4a, **página 29**). Este arranjo estrutural representado pelo estado de transição (**8**) (**Esquema 4**, **página 29**) se decompõe para a formação do intermediário (**9**), que perde uma molécula de aldeído para fornecer o aduto de MBH (**7**) ou sofre uma reação no grupo carbonílico que conduz a formação da dioxanona, isolada como um subproduto, contribuindo assim para a principal proposta atualmente aceita para o mecanismo dessa reação.

³⁹ Drewes, S. E.; Emslie, N. D.; Karodia, N.; Khan, A. A. *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 1447.

A formação da dioxanona foi, inusitadamente, um elemento essencial para os casos mais bem sucedidos da reação de MBH assimétricas. Na prática, porém, os auxiliares quirais fornecem baixas enantiosseletividades para as reações, exceto quando a dioxanona foi o único produto da reação. Por exemplo, Leahy⁴⁰ e colaboradores demonstraram a alta enantiosseletividade para a reação de MBH usando um acrilato quiral contendo a Sultana de Oppolzer e DABCO como base (**Esquema 8**). Neste caso, a reação produziu apenas a dioxanona, com bom rendimento e alta enantiosseletividade.



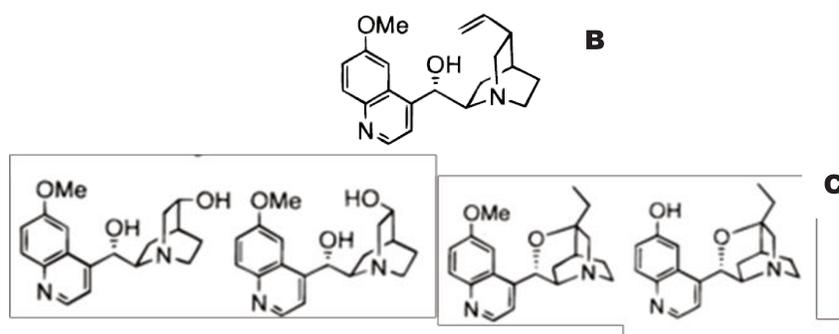
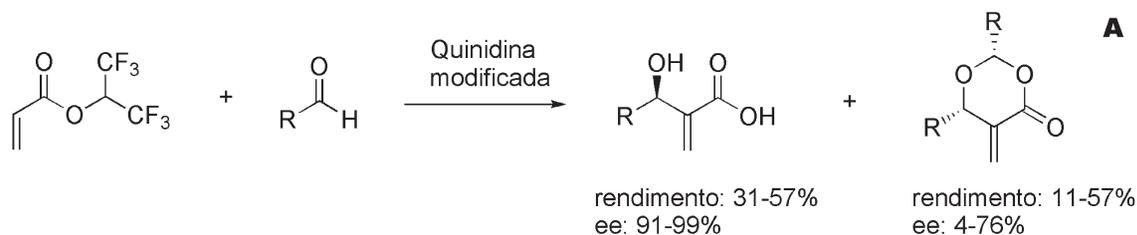
Esquema 8: (A) Reação de MBH enantiosseletiva proposta por Leahy.⁴⁰ (B) Mecanismo simplificado para a formação da dioxanona.

O diastereoisômero da dioxanona com excesso enantiomérico elevado também esteve presente em poucos casos em que a base Lewis utilizada era opticamente ativa. Hatakeyama⁴¹ e colaboradores relataram uma modificação na quinidina que proporcionou rendimentos modestos do aduto de MBH, porém quase opticamente puros. Conforme mostrado no **Esquema 9**, uma fração

⁴⁰ Brzezinski, L. J.; Rafel, S.; Leahy, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4317.

⁴¹ Iwabuchi, Y.; Nakatani, M.; Yokoyama, N.; Hatakeyama, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10219.

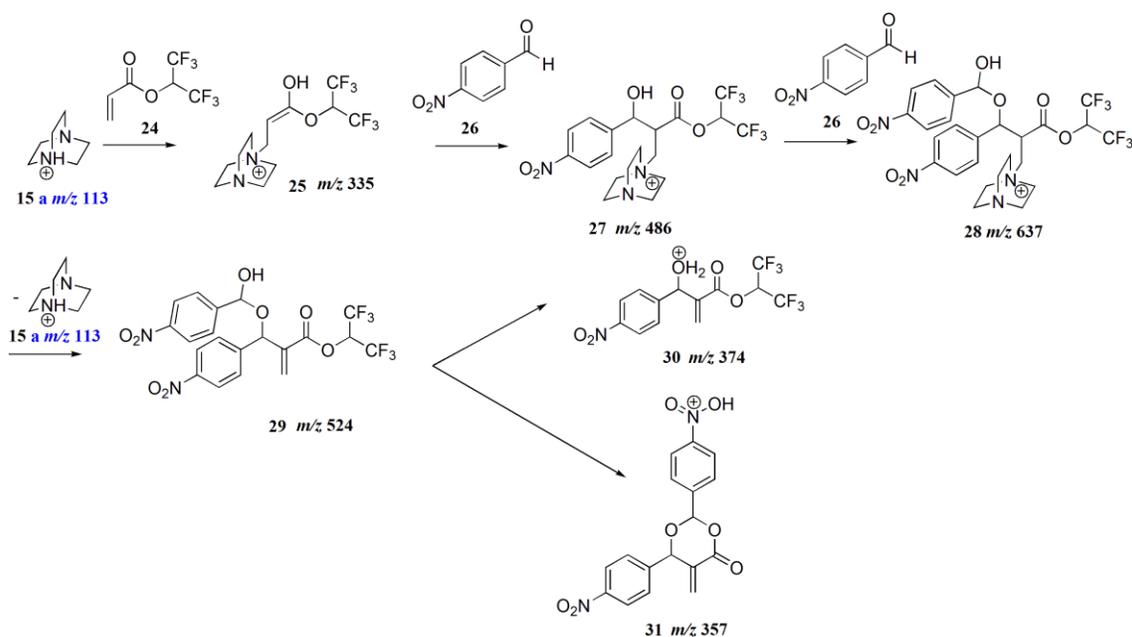
significativa do subproduto, dioxanona, é o enantiômero contrário ao do aduto de MBH, portanto, em essência, a reação foi uma resolução cinética.



Esquema 9: A) Resolução cinética proposta por Hatakeyama.⁴¹ B) Estrutura da quinidina. C) Modificações na estrutura da quinidina realizadas por Hatakeyama.⁴¹

Com esse embasamento teórico acima discutido e pela primeira vez na literatura, realizou-se um estudo por espectrometria de massas da reação estudada por McQuade, que envolvia o uso de DABCO, um acrilato ativado e *p*-nitrobenzaldeído. Esse experimento foi realizado com o objetivo de interceptarmos e caracterizarmos a dioxanona por ESI(+)-MS. Após essa comprovação foi repetido desse experimento, porém substituindo o aldeído pela imina, para investigar assim a formação de alguma espécie equivalente a dioxanona, só que agora nitrogenada (pirimidinona), contribuindo assim para o mapeamento geral da reação de *aza*-MBH.

No estudo inicial a reação foi realizada com 1 equivalente de DABCO (**1**), 1 equivalente de acrilato de 1,1,1,3,3,3-hexafluor-isopropila (**24**) e 3 equivalente do *p*-nitrobenzaldeído (**26**) em acetonitrila a temperatura ambiente e o **Esquema 10** mostra o panorama simplificado das espécies protonadas de interesse.



Esquema 10: Esquema da reação de MBH com acrilato ativado e *p*-nitrobenzaldeído, catalisada por DABCO.

A **Figura 11A** mostra o espectro da reação no tempo zero, e o que se observa como sinal base é o íon (**25**) de m/z 335, sendo essa espécie o primeiro intermediário do ciclo catalítico, obtido pelo ataque nucleofílico do DABCO no acrilato ativado. Nesse espectro ainda se observa o sinal do próprio DABCO protonado (**15b**) e do seu dímero (**33**), além de um sinal em m/z 154 atribuído como o DABCO complexado com acetonitrila que é o solvente da reação. Nesse momento ainda não há nenhum indício, nem mesmo com ampliação do espectro, de outro intermediário reacional mostrados no **Esquema 10**, incluindo da formação da dioxanona.

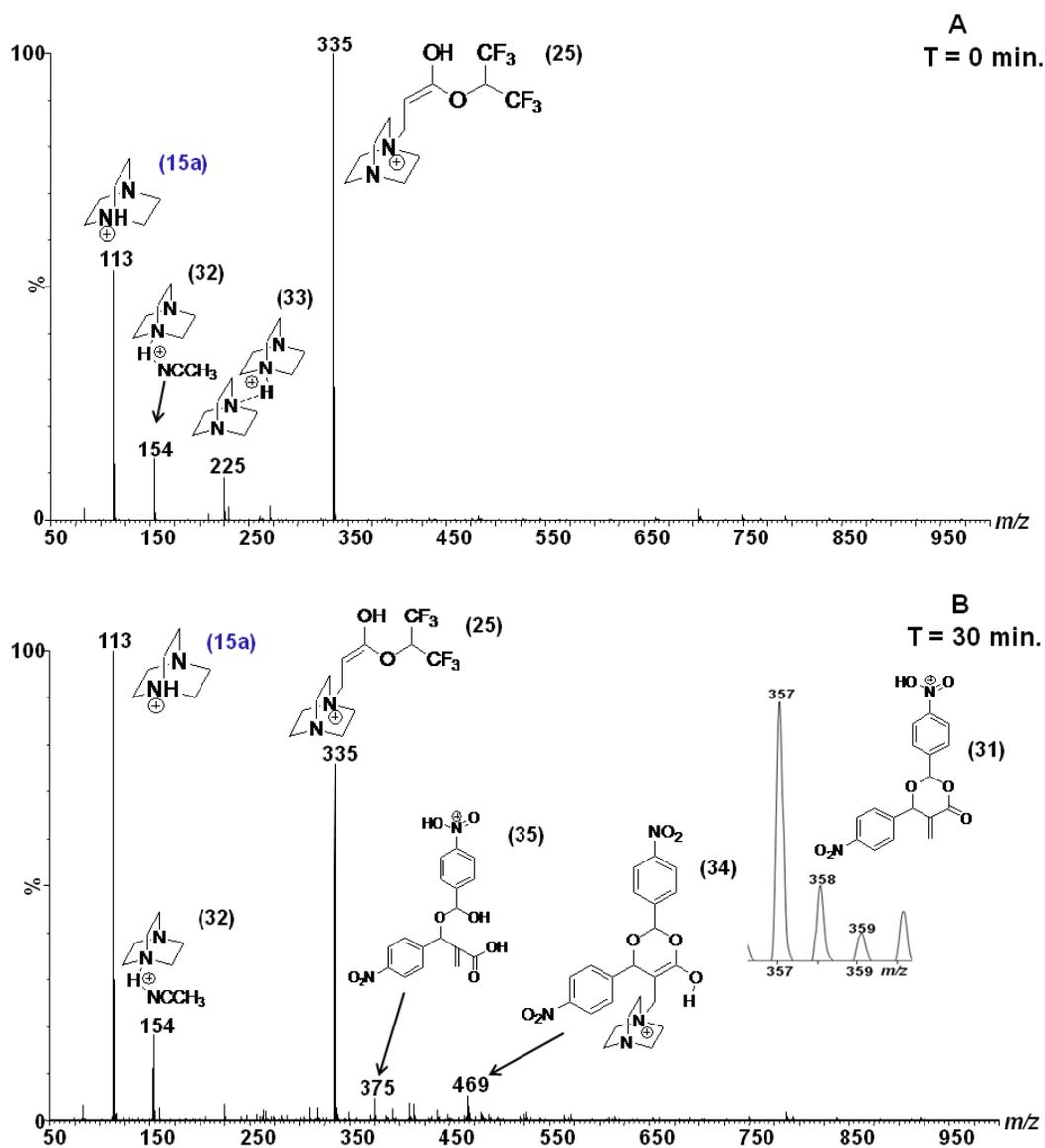
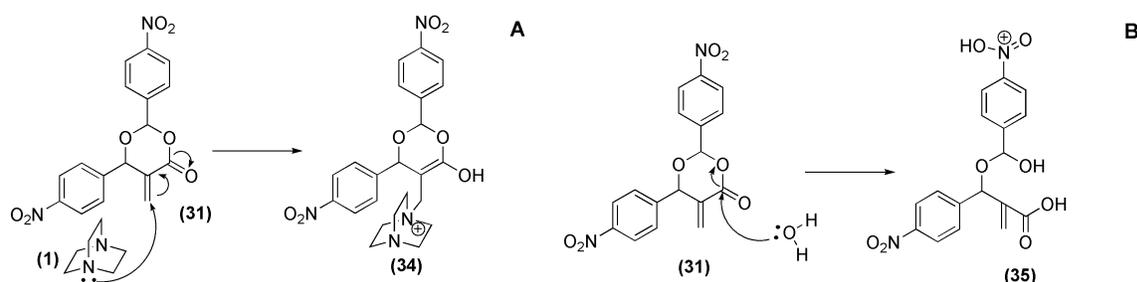


Figura 11: (A) ESI(+)-MS da reação de MBH do acrilato ativado com o *p*-nitrobenzaldeído e DABCO: T = 0 min. (B) ESI(+)-MS da reação de MBH do acrilato ativado com o *p*-nitrobenzaldeído e DABCO: T = 30 min.

A reação foi monitorada a cada 15 minutos e como mostra o espectro da **Figura 11B** depois de 30 minutos já foi possível observar a formação da dioxanona (**31**) de m/z 357 como uma inserção no espectro. Além dessa espécie foi possível interceptar o intermediário (**34**) de m/z 469 formado pelo ataque nucleofílico do DABCO no carbono deficiente de elétrons da dupla ligação α,β -insaturada da dioxanona (**Esquema 11A**) e o derivado (**35**) de m/z 375 (**Esquema**

11B), agora referente a abertura do anel pela presença de traços de água no meio reacional, proveniente do solvente utilizado na reação ou mesmo dos reagentes que não foram previamente secados ou destilados, para o caso dos reagentes líquidos.



Esquema 11. Esquema mostrando o mecanismo simplificado da formação das espécies: A) (34) e B) (35).

Essa reação foi acompanhada por mais 6 horas e a partir de 30 minutos nenhuma mudança significativa nos espectros da reação foi observada e o que precisa ser ressaltado é que apesar do acompanhamento rigoroso da reação em nenhum momento foi observado os outros intermediários do ciclo catalítico da reação de MBH, como mostrado no **Esquema 10**, nem mesmo o aduto de MBH (30).

Para a caracterização estrutural foi realizado o ESI(+)-MS/MS do derivado com DABCO da dioxanona (34) (**Figura 12A**) e da própria dioxanona (31) (**Figura 12B**). No primeiro caso encontra-se como íon fragmento o DABCO e uma molécula de dioxanona como perda neutra. Já a fragmentação da dioxanona é mais complexa e para melhor compreensão um esquema resumido foi desenhado com as principais perdas neutras e seus respectivos fragmentos carregados (**Esquema 12**).

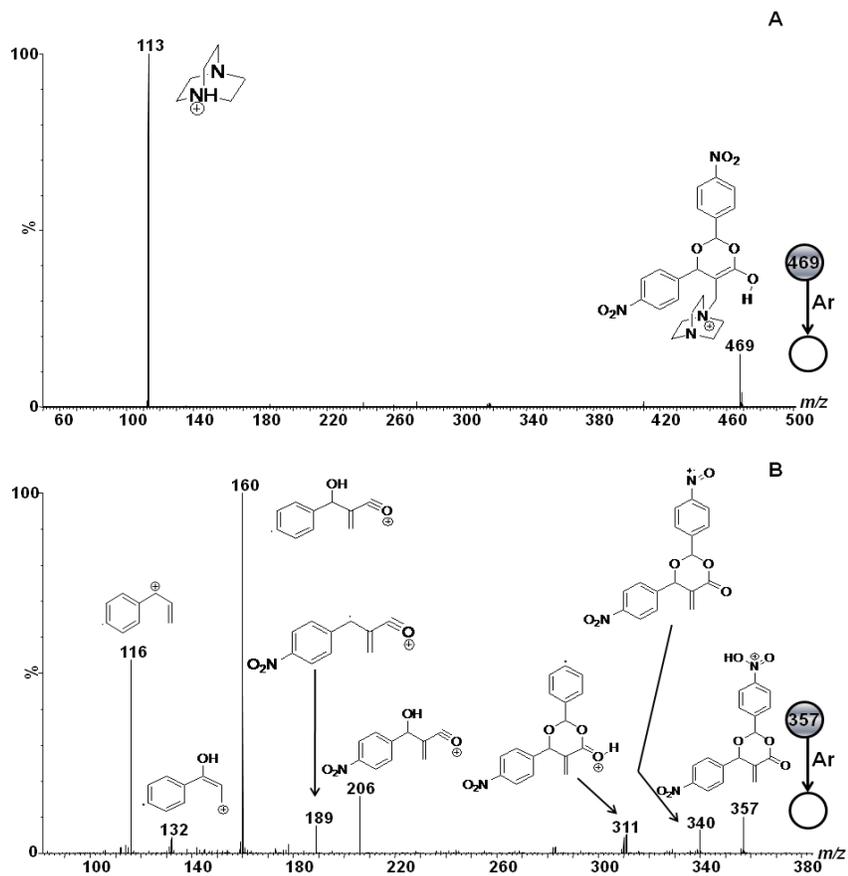
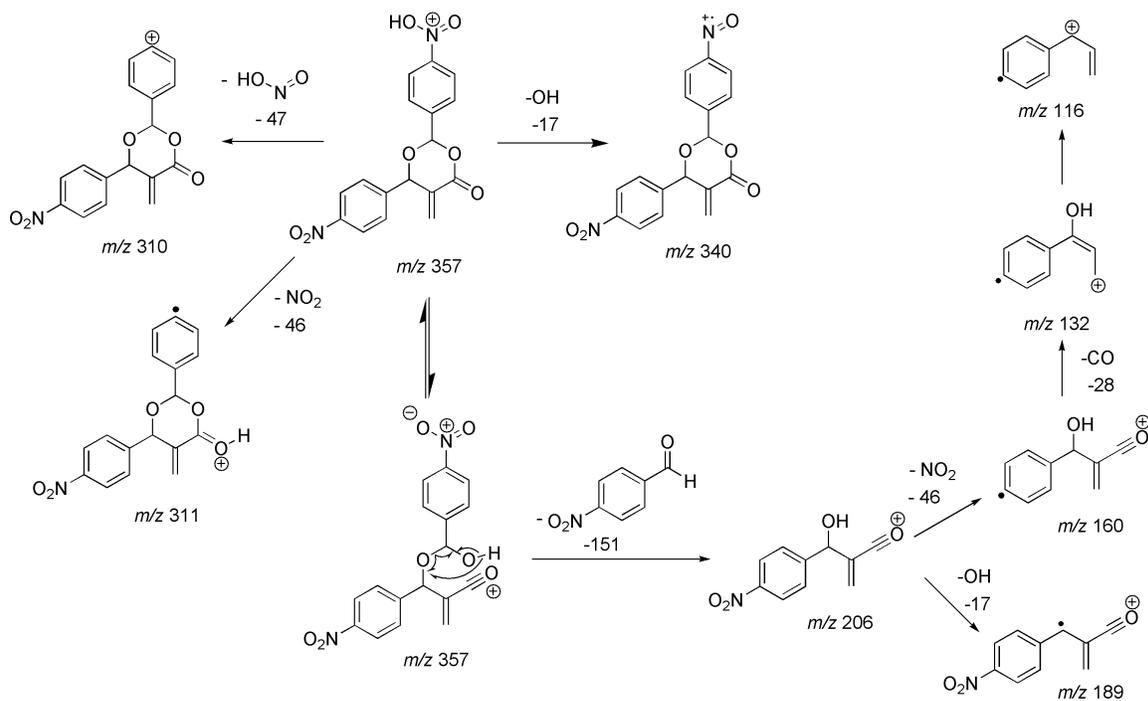


Figura 12: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) m/z 469 e (B) m/z 357.

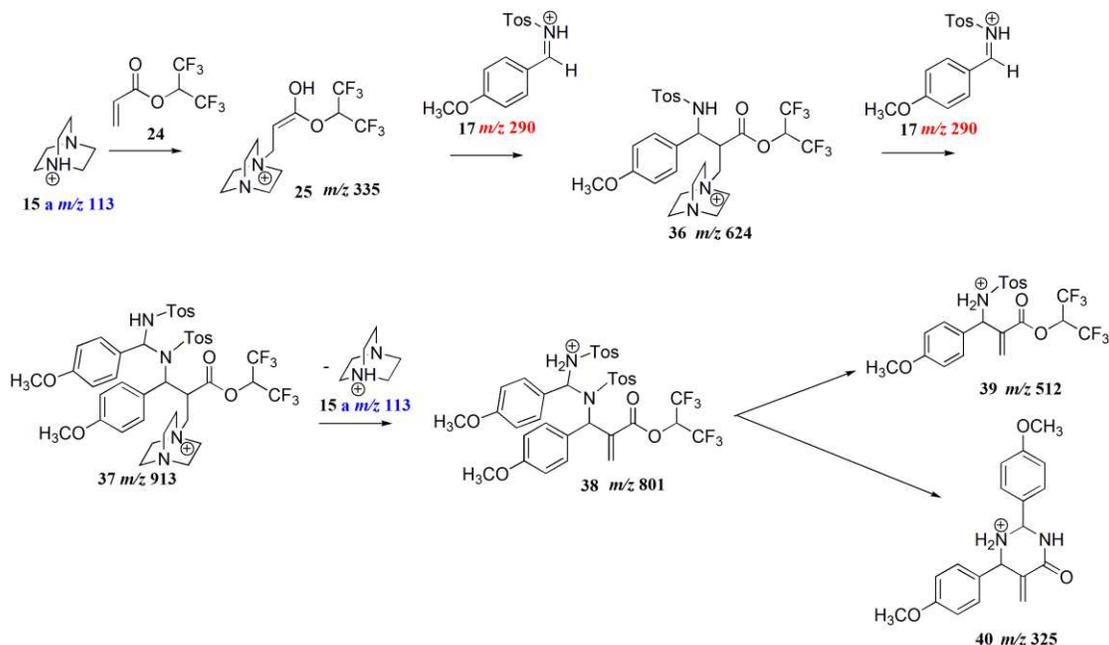


Esquema 12: Esquema simplificado que mostra as fragmentações sofridas pela dioxanona (31) de m/z 357.

Utilizando como comparação o estudo da reação de MBH com um acrilato ativado realizado acima que tem como resultado a interceptação e caracterização da dioxanona (**31**) de m/z 357 e dos derivados (**34**) e (**35**) dessa molécula, repetiram-se as condições reacionais acima mostradas, substituindo o *p*-nitrobenzaldeído pela tosilimina, com o objetivo de tentar interceptar e caracterizar uma espécie referente ao subproduto cíclico na sua versão *aza*-MBH (**40**, **Esquema 13**).

A possibilidade de observação de alguma espécie correlacionada a dioxanona seria mais uma evidência estrutural indicativa da similaridade entre os mecanismos (MBH e *aza*-MBH). Por outro lado a não observação de nenhuma espécie equivalente pode ser a resposta, muito procurada por diversos grupos de pesquisa, da diferença entre os protocolos assimétricos dessas reações sendo quase que gerais para a reação de *aza*-MBH em contrapartida da reação de MBH que são sempre específicos e pouco eficientes.

Iniciando a segunda parte desse experimento fez-se a reação entre 1 equivalente de DABCO com 1 equivalente de acrilato de 1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropila e 3 equivalente da tosilimina. E o **Esquema 13** ilustra todas as possíveis espécies protonadas presentes no meio reacional.



Esquema 13: Esquema completo para a reação de *aza*-MBH, com as espécies protonadas.

A **Figura 13A** mostra o espectro de ESI-MS para reação no tempo zero sendo possível a interceptação de um conjunto de oito íons: a amina terciária (**15a** de m/z 113), o *aza*-enolato protonado (**25** de m/z 335) e o segundo intermediário (**36** de m/z 624) do ciclo catalítico da *aza*-MBH, a partir do ataque do enolato (**25**) na imina (**12**), como mostra o **Esquema 13**. Também é possível identificar o produto (**22a** de m/z 402 do **Esquema 6**) do ataque do DABCO (**1**) na imina (**12**) além da própria imina protonada (**17** m/z 290) e o seu dímero (**23**) de m/z 579. Agora sem a necessidade de expansão do espectro consegue-se interceptar o intermédio chave (**37** de m/z 913) do ataque de um segundo equivalente da imina no intermediário (**36**). Ainda nesse espectro observa-se a presença do intermediário (**38**) de m/z 801 subsequente ao (**37**) pelo mecanismo proposto no **Esquema 13**, pela liberação do DABCO.

A reação foi monitorada ao longo do tempo e depois de 30 minutos (**Figura 13B**) foi possível interceptar o produto da *aza*-MBH (**39** m/z 512), sendo este mostrado na **Figura 13B** como uma inserção. Nesse espectro ainda é possível observar um sinal relativamente intenso de um fragmento do produto (**41**) de m/z 341, referente a uma perda neutra do grupo tosilamina.

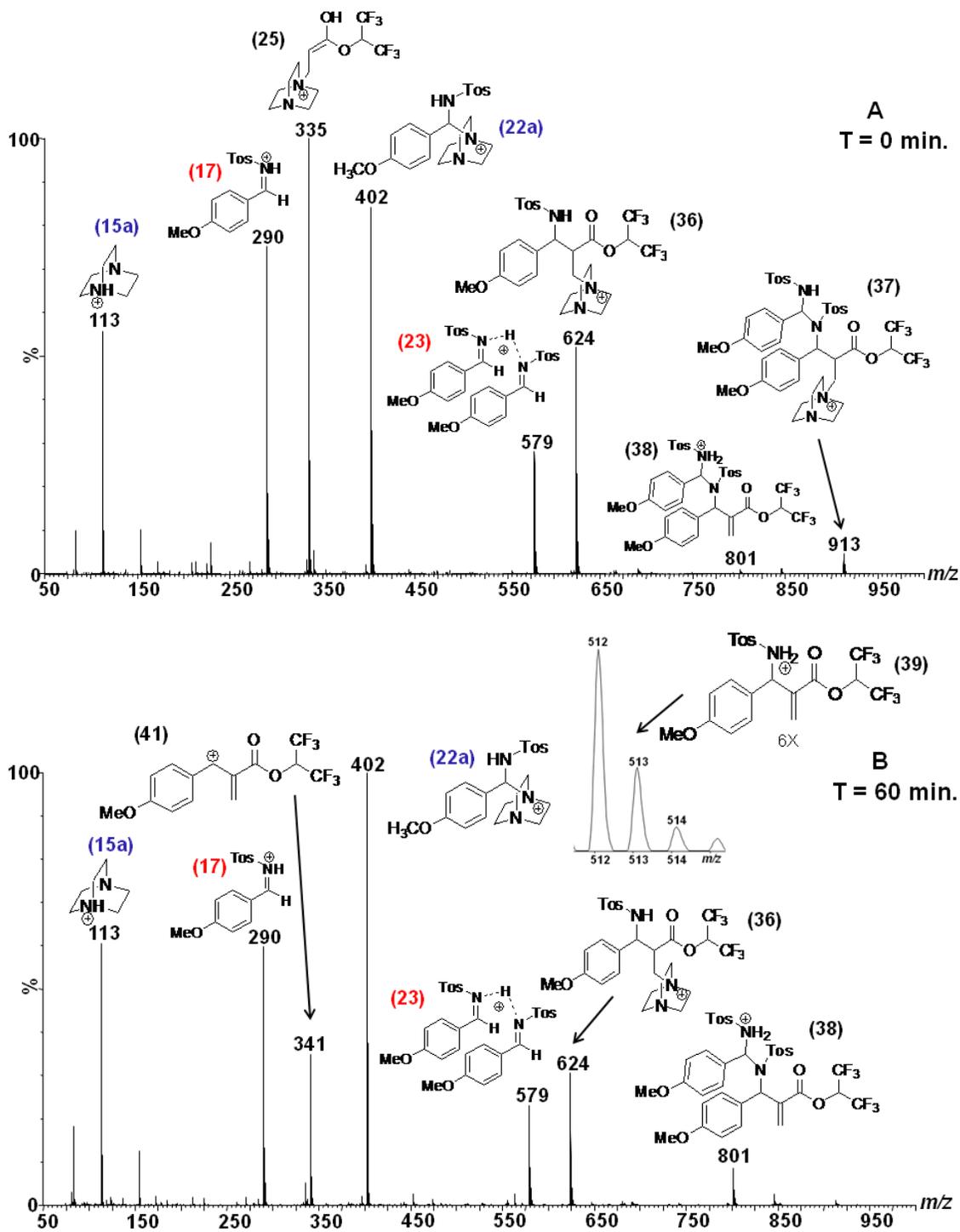
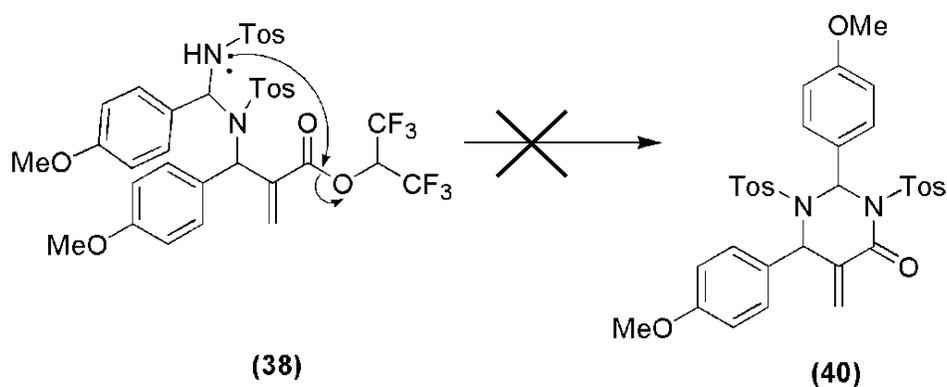


Figura 13:(A) ESI(+)-MS da reação de MBH do acrilato ativado com a tosilimina e DABCO: T = 0 min. (B) ESI(+)-MS da reação de MBH do acrilato ativado com a tosilimina e DABCO: T = 30 min.

Essa reação foi acompanhada por mais 6 horas e ensaios *off-line* das alíquotas, a cada 30 minutos, foram analisadas por espectrometria de massas e em nenhuma dessas análises houve a presença de qualquer molécula semelhante à dioxanona encontrada para a reação de MBH convencional, podendo assim concluir que a baixa nucleofilicidade do nitrogênio vizinho ao grupo tosil pode ser crucial para o mecanismo da reação de aza-MBH. Significando então que esse nitrogênio é capaz de promover uma transferência de próton intramolecular através de um estado de transição cíclico de seis membros, mas não é um nucleófilo forte o suficiente para promover um ataque nucleofílico intramolecular no carbono do acrilato hexafluoroisopropila para formar assim a pirimidinona (**40**) (**Esquema 14**).



Esquema 14: Esquema ilustrativo do possível ataque nucleofílico intramolecular do intermediário (**38**) para gerar a pirimidinona (**40**).

Para a caracterização estrutural dos intermediários acima mencionados foi realizado o ESI(+)-MS/MS como mostra a **Figura 14**.

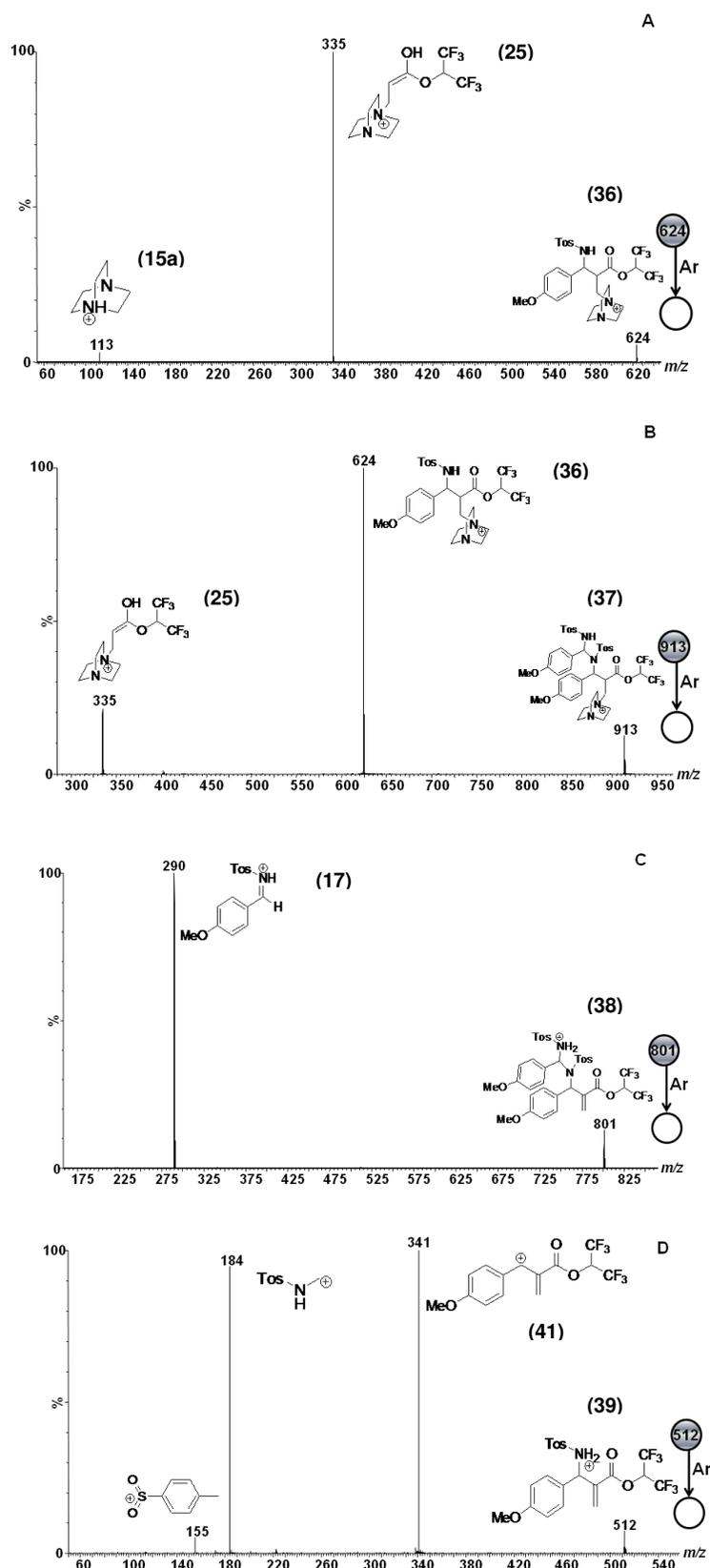


Figura 14: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) m/z 624; (B) m/z 913; (A) m/z 801 e (B) m/z 512.

Para o íon de m/z 624 (**36**) se observa como fragmento carregado o *aza* enolato (**25**) de m/z 335 e como perda neutra uma molécula de imina, e o íon fragmento do DABCO (**Figura 14A**). Já para o intermediário (**37**) de m/z 913 observa-se uma retro-MBH como fragmentação. A primeira perda neutra é de uma molécula de imina que gera o intermediário (**36**), que por sua vez perde outra molécula de imina levando à formação do intermediário (**25**) de m/z 335 (**Figura 14B**).

No espectro da **Figura 14C** encontra-se a fragmentação do intermediário (**38**) de m/z 801. Observamos como perda neutra uma molécula do aduto de *aza*-MBH, gerando como fragmento carregado uma molécula da imina protonada.

A fragmentação do produto da reação de *aza*-MBH (**39**) de m/z 512 é apresentada no espectro da **Figura 14D**. Encontra-se o primeiro fragmento carregado à espécie anteriormente observada no espectro da **Figura 13B** de m/z 341, referente a uma perda neutra de uma molécula de tosilamina sendo o segundo fragmento a própria tosilamina protonada, juntamente com o fragmento do grupo tosil de m/z 155.

3.1.3. Reação de *aza*-MBH utilizando propiolatos como porção nucleofílica.

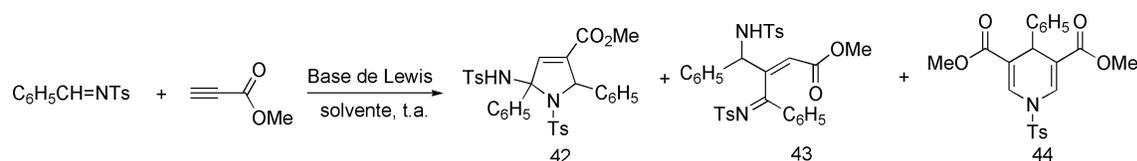
Em uma busca bibliográfica encontramos alguns exemplos de *aza*-MBH utilizando *N*-tosil-iminas com uma variedade de cetonas e ésteres α,β -insaturados, gerando adutos “normais” ou “anormais*” de *aza*-MBH, que podem ser formados em função da base de Lewis empregada. Dados da literatura mostram que as reações de *aza*-MBH conduzidas na presença de *N*-tosil-iminas com 2,3-butadienoato de etila ou penta-3,4-dieno-2-ona catalisada por DABCO e *p*-(*N,N* dimetil) aminopiridina (MSPA), forneceram o aduto normal de *aza*-MBH (azetidínico) e derivados diidropiridínicos com bons rendimento.⁴²

⁴² Zhao, G. L.; Huang, J. W.; Shi, M. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4737.

*Considera-se se adutos “anormais” de *aza*-MBH aqueles produtos diferentes dos derivados α -metileno- β -amino.

Outra vertente para a obtenção de adutos “anormais” de *aza*-MBH é usando um alcino como porção nucleofílica da reação. O propiolato de metila, como exemplo desses alcinos, já foi aplicado anteriormente por Shi⁴³ e colaboradores, sendo esse trabalho um estudo metodológico, que avaliou a influência da base catalítica usada, assim como o solvente em que a reação foi administrada (**Tabela 1**). Ainda nesse trabalho, o autor propõe alguns mecanismos para a formação dos produtos “anormais” de *aza*-MBH.

Tabela 1: Resultados do estudo metodológico alcançados por Shi e colaboradores.⁴³



Entrada	Base de Lewis	Solvente	Tempo (h)	Rendimento** (%)		
				42	43	44
1	PPh ₃	CH ₃ CN	12	0	0	0
2	DABCO	C ₆ H ₆ **	48	0	0	<10
3	DABCO	DMF	10	21	20	0
4	DABCO	THF	10	23	37	0
5	DABCO	CH ₂ Cl ₂	10	29	34	0

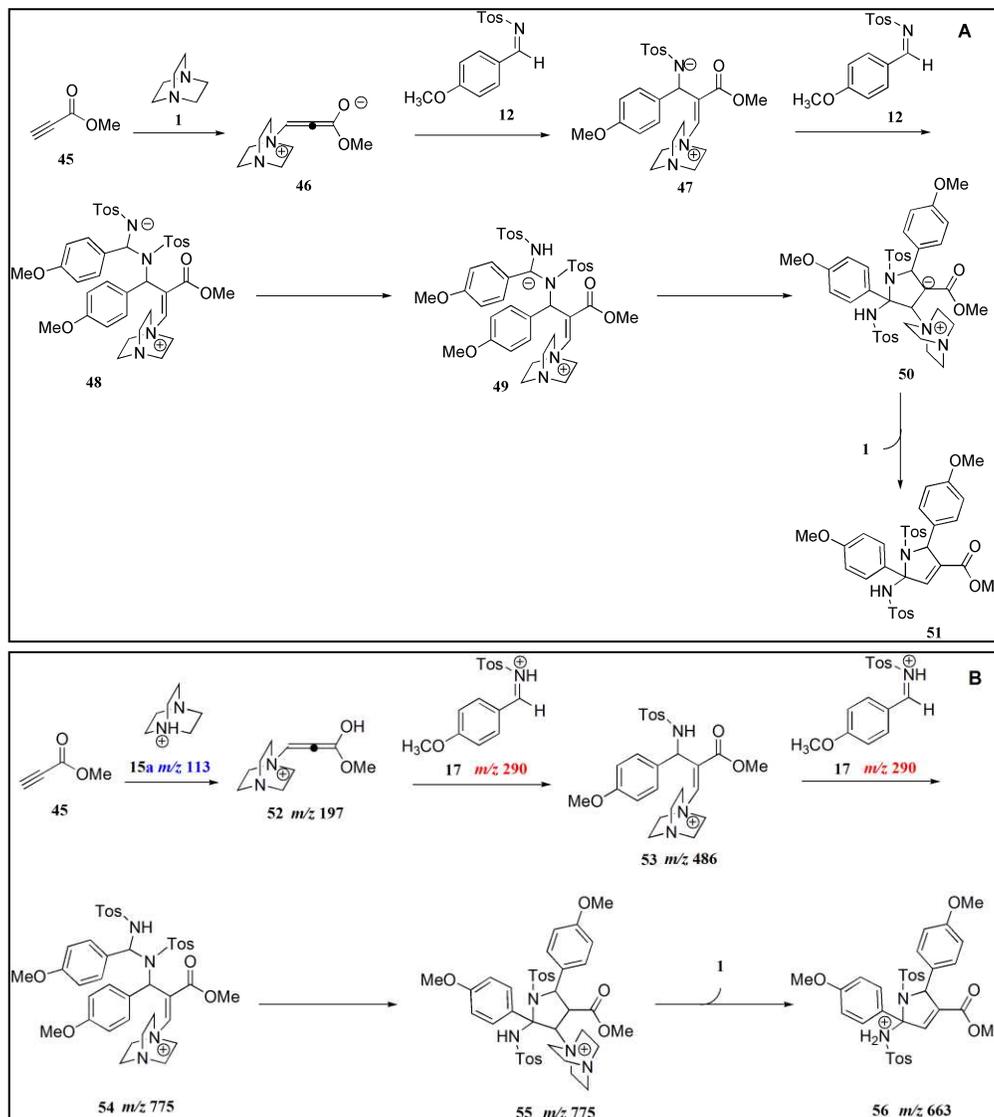
**Rendimento isolado **Reação conduzida sob refluxo de benzeno

Para compreender de forma abrangente o comportamento da reação de *aza*-MBH resolvemos estudar por espectrometria de massas essa reação usando agora o propiolato de metila, sendo que o protocolo experimental para esse estudo foi o mesmo proposto na entrada 4 da **Tabela 1**. Neste caso, utilizamos 0,5 mmol da tosylimina com 0,05 mmol do DABCO em THF, em seguida adicionou-se 1 mmol de propiolato de metila. A reação foi agitada por 10 horas a temperatura ambiente e em atmosfera inerte.***

⁴³ Zhao, G. L.; Shi, M. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9975.

*** Um detalhe importante é que segundo os autores⁴³, nas condições escolhidas para a reação o produto (**44**) não foi isolado, sendo assim não houve por parte desse trabalho preocupação com a investigação mecanística desse produto anormal de *aza*-MBH.

Os mecanismos estudados foram propostos por Shi⁴³, e são mostrados no **Esquema 15A** e **16A**. O item **B** de cada **Esquema** (15 e 16) são as espécies protonadas com as suas relações massa/carga citadas.

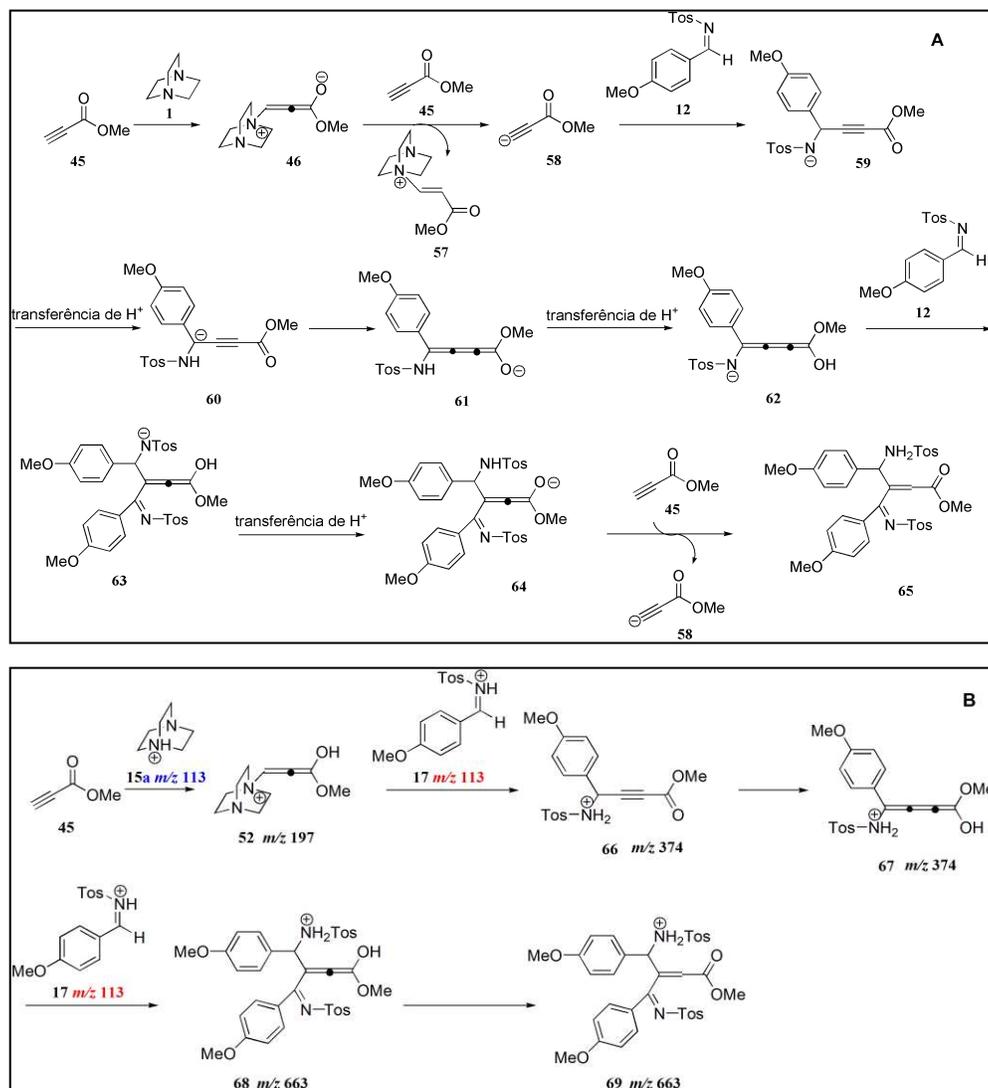


Esquema 15: (A) Mecanismo proposto por Shi⁴³ para um análogo ao aduto “anormal” (42) da reação de *aza*-MBH. (B) Mecanismo agora com as espécies protonadas que foram investigadas por espectrometria de massas.

O mecanismo proposto no **Esquema 15A** envolve primeiramente um ataque nucleofílico do DABCO ao alcino, produzindo o ceteno (46) que se adiciona a uma molécula de tosilimina gerando o intermediário (47). Esse último intermediário por sua vez adiciona-se em outra molécula da tosilimina fornecendo o intermediário (48). Uma transferência de próton produz o intermediário (49) e

uma subsequente adição de Michael intramolecular resulta no intermediário (50). A eliminação do DABCO do intermediário (50) fornece o correspondente produto (51).

O mecanismo proposto por Shi⁴³ para a obtenção do análogo ao produto (43) da **Tabela 1** está ilustrado no **Esquema 16A** e o intermediário enolato (46) serve como uma base e captura um próton do propiolato de metila formando o intermediário aniônico (58), juntamente com a formação da espécie (57). O intermediário (58) adiciona-se em uma molécula da tosilimina gerando o correspondente intermediário (59). Dois processos consecutivos de transferência de próton dão origem à enamina (62) que se adiciona à outra molécula da tosilimina resultando no intermediário (63). Este por sua vez, faz uma transferência de próton gerando o intermediário (64), que desprotona o propiolato de metila, proporcionando a formação do correspondente produto (65) e regenerando o intermediário aniônico (58).



Esquema 16: (A) Mecanismo proposto por Shi⁴³ para o análogo ao aduto "anormal" (43) da reação de aza-MBH. (B) Mecanismo agora com as espécies protonadas que foram investigadas por espectrometria de massas.

A **Figura 15A** mostra o espectro bem limpo com apenas quatro sinais de uma alíquota reacional no tempo zero, sendo todos, um indicativo da formação do produto "anormal" (56) de aza-MBH, onde se observa o sinal referente ao primeiro intermediário (52) de m/z 197 obtido do ataque nucleofílico da DABCO no alcino, seguido do intermediário (53) de m/z 486, proveniente do ataque do intermediário (52) em uma molécula de tosylimina, e do (54) de m/z 775, intermediário esse de grande interesse obtido por um ataque de (53) em uma segunda molécula de imina. Ao discutirmos a construção do ciclo catalítico para a reação de aza-MBH

(**Esquema 6**) um intermediário semelhante a esse foi proposto. Além da própria imina protonada (**17**).

Após 60 minutos de reação, **Figura 15B**, se observa que, além dos íons (**52**, **53** e **54**) já encontrados na **Figura 15A**, foi interceptado o intermediário (**68**) de m/z 374, íon esse presente na rota mecanística do outro aduto “anormal” de *aza*-MBH (**69**, **Esquema 16**). Mais um íon que pôde ser interceptado foi o produto “anormal” (**70**) de m/z 458, aduto esse não esperado, uma vez que, a reação estudada estava baseada na entrada 4 da **Tabela 1** resultante do trabalho realizado por Shi⁴³ e colaboradores que não conseguiram isolá-lo e caracterizá-lo. Por fim, ao analisar a região de m/z 660, mostrada com uma inserção no espectro da **Figura 15 B**, foi possível visualizar um sinal de m/z 663, referente a ambos os produtos “anormais” de *aza*-MBH (**56**) e (**69**).

Foi realizado o experimento de ESI(+)-MS/MS, **Figura 16** para a caracterização estrutural dos adutos (**56**) e (**69**) além da tentativa de diferenciação desses adutos pelas fragmentações exclusivas de cada isômero.

Sendo assim, para os íons de m/z 663 (**56 e 69**) se observa como fragmento carregado um sinal de m/z 631 referente ao íon acílio, obtido pela perda neutra de metanol. Outra fragmentação observada foi a de m/z 492, obtida pela perda neutra de uma molécula de tosilamina, gerando carbocátions que são benzílicos e alílicos, conferindo assim grande estabilidade para esses fragmentos. As duas fragmentações discutidas até agora não podem ser usadas para diferenciar estruturalmente ambos os adutos formados. Porém o próximo fragmento carregado (**68**) de m/z 374, íon esse presente no mecanismo do segundo aduto “anormal” (**69**) de *aza*-MBH, gerado pela perda de uma molécula neutra de imina. A observação desse fragmento característico fornece grandes indícios da presença no meio reacional do aduto (**69**). O último fragmento carregado encontrado no espectro é uma molécula de imina de m/z 290. A **Figura 16B** mostra uma tabela com as possíveis estruturas dos fragmentos carregados do experimento de ESI(+)-MS/MS do sinal m/z 663.

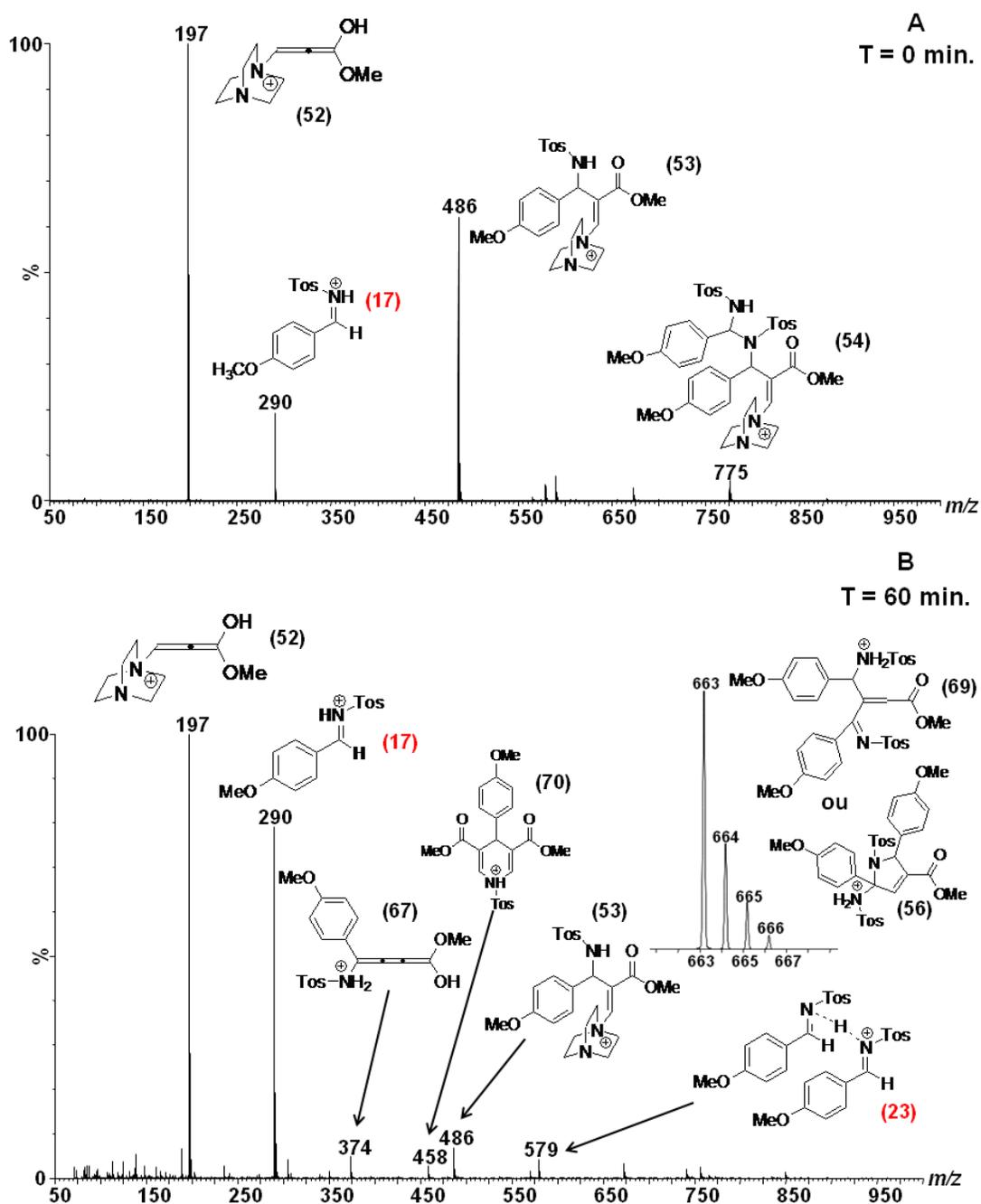


Figura 15: (A) ESI(+)-MS da reação de MBH do propiolato de metila com a tosilimina e DABCO: T = 0 min. (B) ESI(+)-MS da reação de MBH do propiolato de metila com a tosilimina e DABCO: T = 60 min.

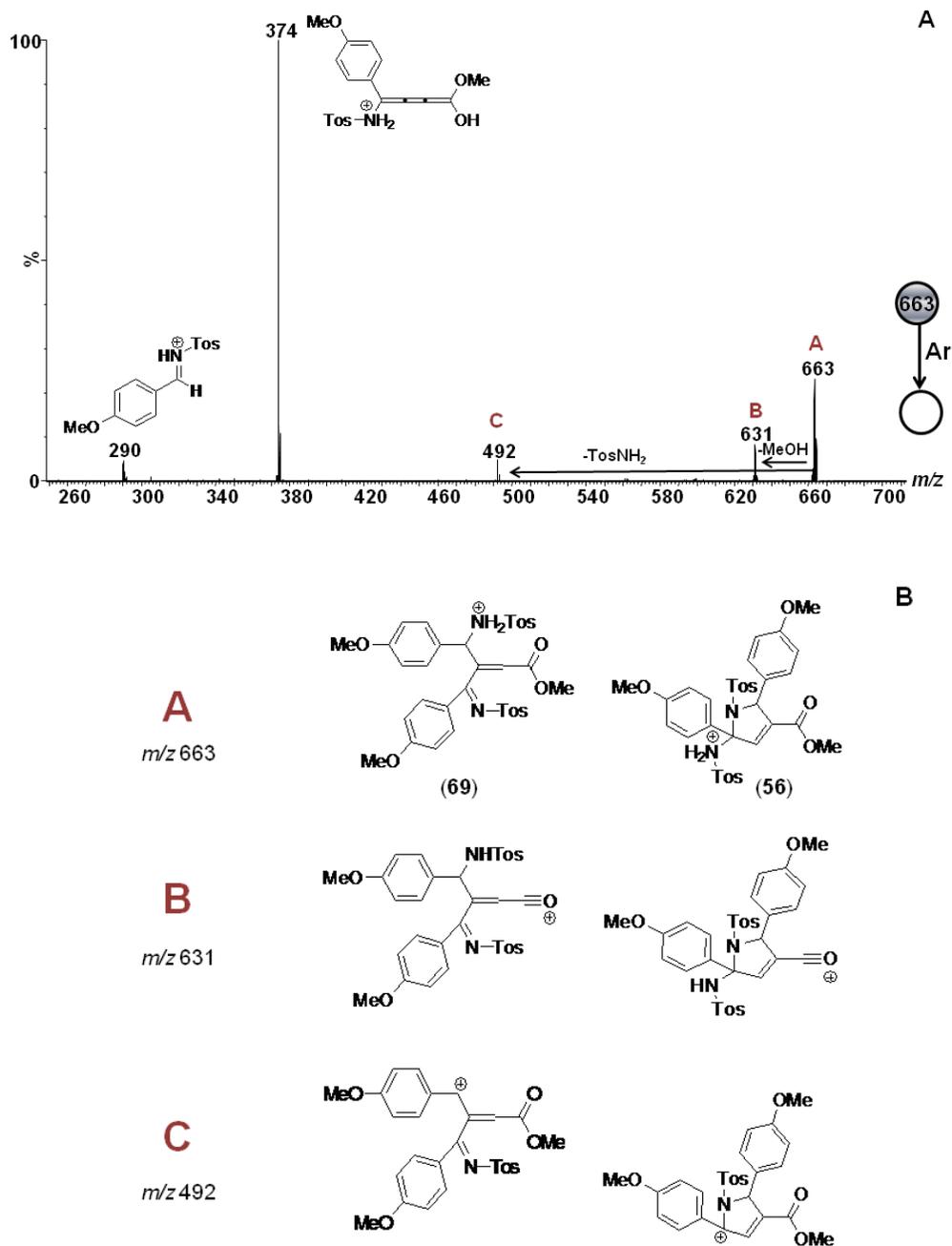


Figura 16: (A) Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de m/z 663 (B) Tabela das possíveis estruturas de fragmentação dos íons de m/z 663.

A **Figura 17** mostra o conjunto dos espectros obtidos para a caracterização de cada um dos intermediários reacionais (**53**, **54**, **70** e **67**) através do experimento de ESI(+)-MS/MS.

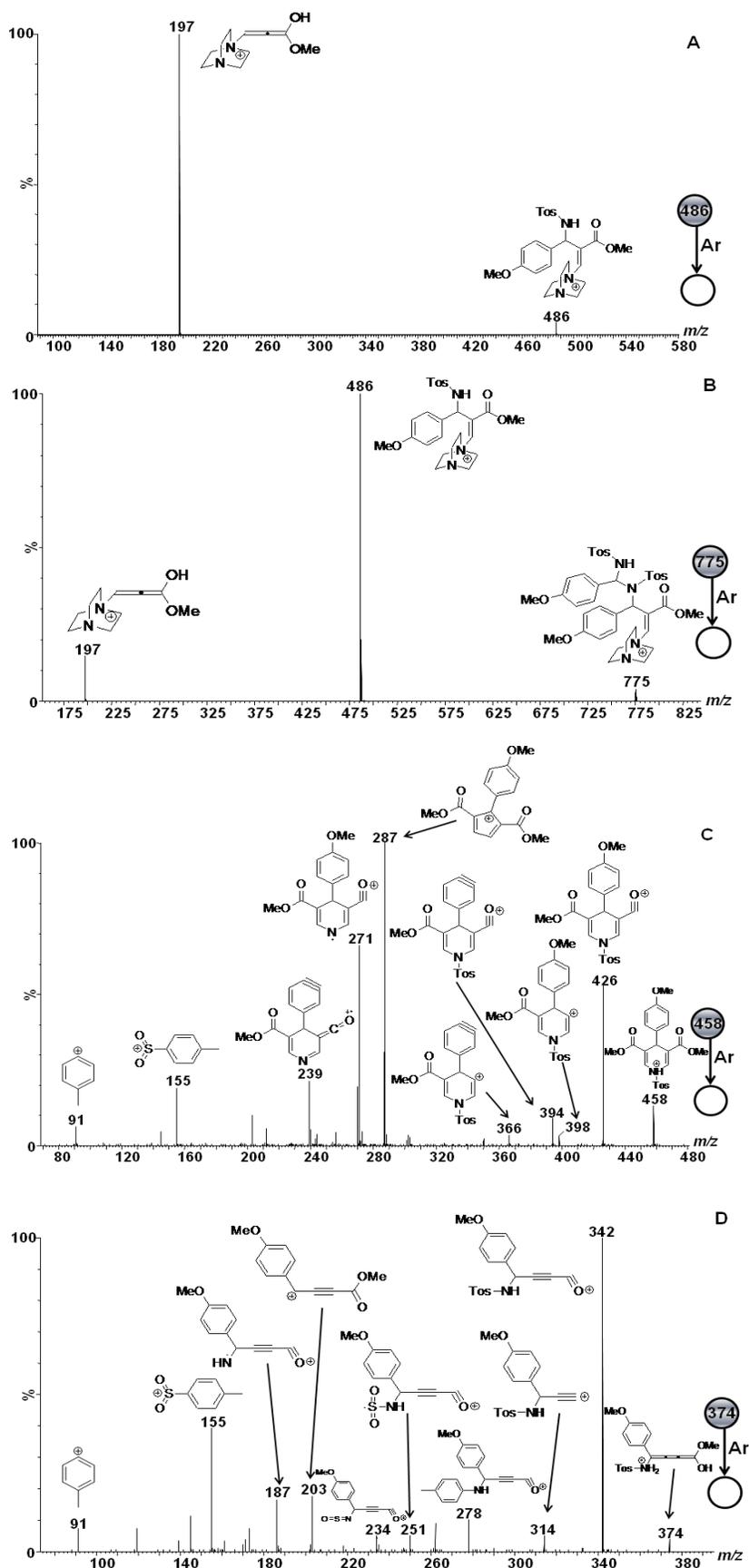


Figura 17: Espectros de ESI(+)-MS/MS dos íons de: (A) m/z 486; (B) m/z 775; (C) m/z 458 e (D) m/z 374.

Na **Figura 17A** tem-se o experimento para o intermediário (**53**) de m/z 486 e o que se nota como fragmento carregado é o primeiro intermediário (**52**) de m/z 197 do mecanismo proposto, resultante do um ataque nucleofílico do DABCO no sistema α,β -insaturado do alcino, com perda de uma tosylimina neutra.

Para o terceiro intermediário (**54**) de m/z 775, **Figura 17B**, tem-se também o que se pode considerar como uma retro-*aza*-MBH, com o primeiro fragmento carregado o intermediário (**53**) de m/z 486, obtido por uma perda neutra de uma molécula de imina. Esse fragmento carregado de m/z 486, perde por sua vez outra molécula neutra de imina, gerando o intermediário (**52**) de m/z 197.

Através do espectro **C** da **Figura 17** observa-se a fragmentação intensa do aduto anormal (**70**) de m/z 458, sendo que todo o caminho de fragmentação está ilustrado no **Esquema 17A**. O intermediário (**67**) de m/z 374, **Figura 17D**, também apresenta um espectro de ESI(+)-MS/MS complexo e apesar de todas as estruturas estarem indicadas no espectro da **Figura 17D** foi desenhado um caminho de fragmentação mostrado no **Esquema 17B**.

Deste modo, utilizando a espectrometria de massas como ferramenta foi possível investigar mais uma variação pouco explorada da reação de *aza*-MBH, na qual se usa um alcino como sistema α,β -insaturado e que apesar de produzir adutos “anormais” (**69** e **70**), com estruturas diferentes aquelas geralmente obtidas pela reação de *aza*-MBH em que se usa um acrilato (**19**, **Esquema 6**), inicialmente explorado nessa dissertação, o mecanismo proposto por Shi⁴³ e comprovado estruturalmente nesse trabalho para o aduto “anormal” (**56**) decorre por um mecanismo muito semelhante aquele já discutido (**Esquema 6**), passando pelo intermediário fundamental para a proposta da similaridade entre o mecanismo da reação de MBH e *aza*-MBH (**54**, **Esquema 15A**).

3.2 Aduto de MBH como fonte de próton e atuando na autocatálise de uma reação de MBH.

Estudos cinéticos e da influência dos solventes próticos foram realizados por Aggarwal¹⁶ e colaboradores com respeito à elucidação do mecanismo de MBH. Aggarwal¹⁶ sugere que somente no início da reação ($\leq 20\%$ de conversão, etapa rápida) a reação é de segunda ordem com relação ao aldeído, ou seja, propõe que após 20% de conversão a reação se torna autocatalítica e sugere que o aduto de MBH (**7**, **Esquema 4**, **página 29**) ou qualquer outra fonte de prótons podem atuar como doadora de prótons, podendo assim assistir a etapa de transferência de próton via um intermediário cíclico de 6 membros (**4**, **Esquema 4b**, **página 29**). Essa proposta permitiria explicar a influência dos solventes próticos na aceleração da etapa lenta da reação de MBH (**7**, **Esquema 4**, **página 29**).

Nosso grupo de pesquisa³⁷, recentemente, realizou um estudo por espectrometria de massas visando reunir evidências para essa proposta¹⁶. O experimento realizado envolveu uma reação simples de MBH (usando DABCO, benzaldeído e acrilato de metila), conduzida na presença de 3 equivalentes de β -naftol. O intermediário de m/z 449 apresentado na **Figura 18** foi interceptado e corresponde ao álcool (**5**, **Esquema 4**, **página 29**) presente no ciclo catalítico da

reação de MBH complexado ao naftol por ligações de hidrogênio. Este resultado reuniu evidências estruturais sobre o comportamento dualístico do mecanismo da reação de MBH, corroborando com as recentes propostas feitas, onde uma fonte de próton externa participa da etapa de prototropismo como doador de próton e a presença dessa fonte de próton inibe quase completamente a formação do produto de adição do alcóxido sobre uma nova molécula de aldeído (**8**, **Esquema 4**, página 29).

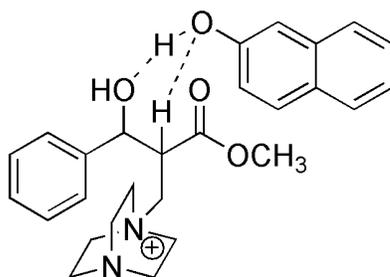


Figura 18: Intermediário de m/z 449 interceptado por Coelho e colaboradores³⁷, evidenciando o comportamento dualístico do mecanismo da reação de MBH.

Diante do exposto, esta etapa avalia a participação de um aduto de MBH (**Figura 19**) como fonte de próton. No trabalho citado anteriormente³⁷ foi utilizado uma fonte externa (β -naftol) como doadora de próton. Na verdade queremos nessa parte do nosso trabalho buscar evidências sobre a autocatálise na reação de MBH.

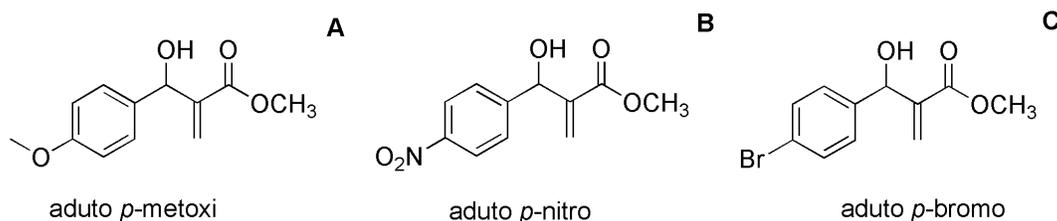


Figura 19: Adutos de MBH adicionados e avaliados como fonte de próton na reação de MBH. (A) 2-[hidroxi-(4-metoxi-fenil)-metil]-ácido acrílico metil éster (aduto *p*-metoxi). (B) 2-[hidroxi-(4-nitro-fenil)-metil]-ácido acrílico metil éster (aduto *p*-nitro). (C) 2-[hidroxi-(4-bromo-fenil)-metil]-ácido acrílico metil éster (aduto *p*-bromo).

Para validar esse estudo determinamos o teor de água dos adutos de MBH (**Figura 19**) adicionados no meio reacional e usados como fonte de próton. O

método de Karl Fischer foi escolhido como forma de avaliar a quantidade de água presente em cada aduto. Calculamos os pK_a 's dos adutos de MBH oriundos do *p*-metoxi, *p*-nitro e *p*-bromo benzaldeído. Utilizamos como modelo uma reação conhecida de MBH, que foi realizada em acetonitrila ultra-seca (Sigma-Aldrich)[®]. Essas medidas de determinação por Karl Fischer e uso de acetonitrila ultra-seca são para certificar que não há no meio reacional nenhuma outra fonte de próton que possa competir com o aduto de MBH adicionado.

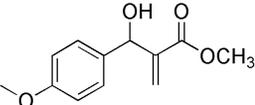
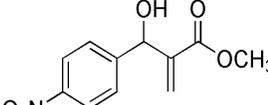
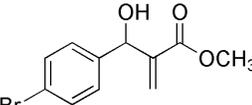
O Karl Fischer é um dos métodos mais importantes para a determinação de água em amostras diversas e se baseia na oxidação de SO₂ pelo I₂ em presença de água, empregando a reação abaixo (**Eq. 1**):



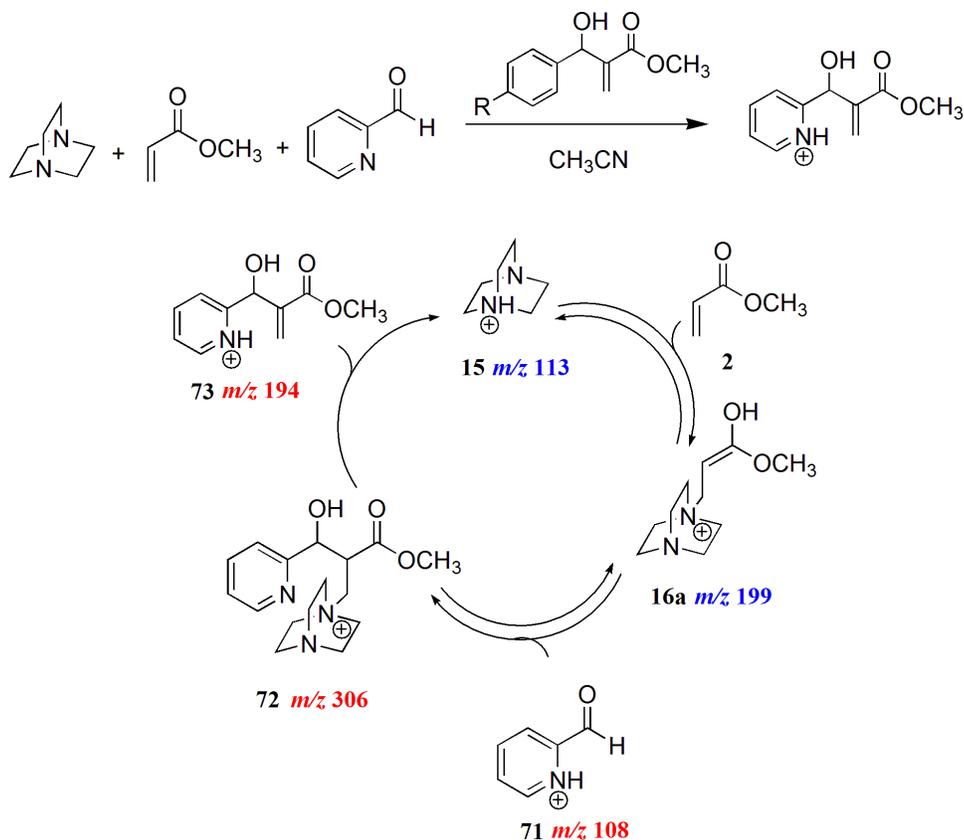
Tanto para os três adutos (*p*-metoxi, *p*-nitro e *p*-bromo), quanto para o DABCO, não foi detectado umidade, afirmando assim que as amostras possuem um teor de água menor que 0,1%.

Os valores dos pK_a 's calculados pelo programa ACDLABS estão mostrados na **Tabela 2**, e pela análise dos dados inseridos nessa tabela tem-se que o aduto *p*-nitro é mais ácido dos três adutos, como já era esperado, devido ao efeito retirador de elétrons do grupo nitro no anel benzênico e conseqüentemente maior acidez do álcool secundário, devendo assim acelerar a reação.

Tabela 2: Valores de pka's calculados pelo programa ACDLABS para os adutos de MBH.

Adutos de MBH	Valores de pka's
 aduto <i>p</i> -metoxi	12,88±0,20
 aduto <i>p</i> -nitro	12,07±0,20
 aduto <i>p</i> -bromo	12,61±0,20

Em seguida foi investigada a reação de MBH entre o acrilato de metila (1 equivalente) com um excesso de piridina-2-carbaldeído (3 equivalente) e catalisada por DABCO (1 equivalente), com acetonitrila ultra-seca como solvente. O ciclo catalítico protonado dessa reação esta ilustrado no **Esquema 18**.



Esquema 18: Ciclo catalítico da reação de MBH com a adição de um aduto de MBH como fonte de próton.

Nessa etapa da investigação vale ressaltar que ao invés da adição de ácido fórmico nas alíquotas reacionais, adiciona-se o aduto de MBH, já que os intermediários da reação de MBH são *zwitterion* ou neutros, não sendo observados por espectrometria de massas.

A **Figura 20** mostra os espectros da reação de MBH depois de 15 minutos de reação, havendo a formação dos intermediários reacionais protonados: o primeiro intermediário (**16a**) de m/z 199, formado pela adição de Michael do DABCO (**1**) no acrilato de metila (**2**) e o segundo intermediário chave da reação (**72**) de m/z 306 formado pelo ataque de (**16a**) no aldeído (**71**), além da própria base terciária (**15a**) de m/z 113.

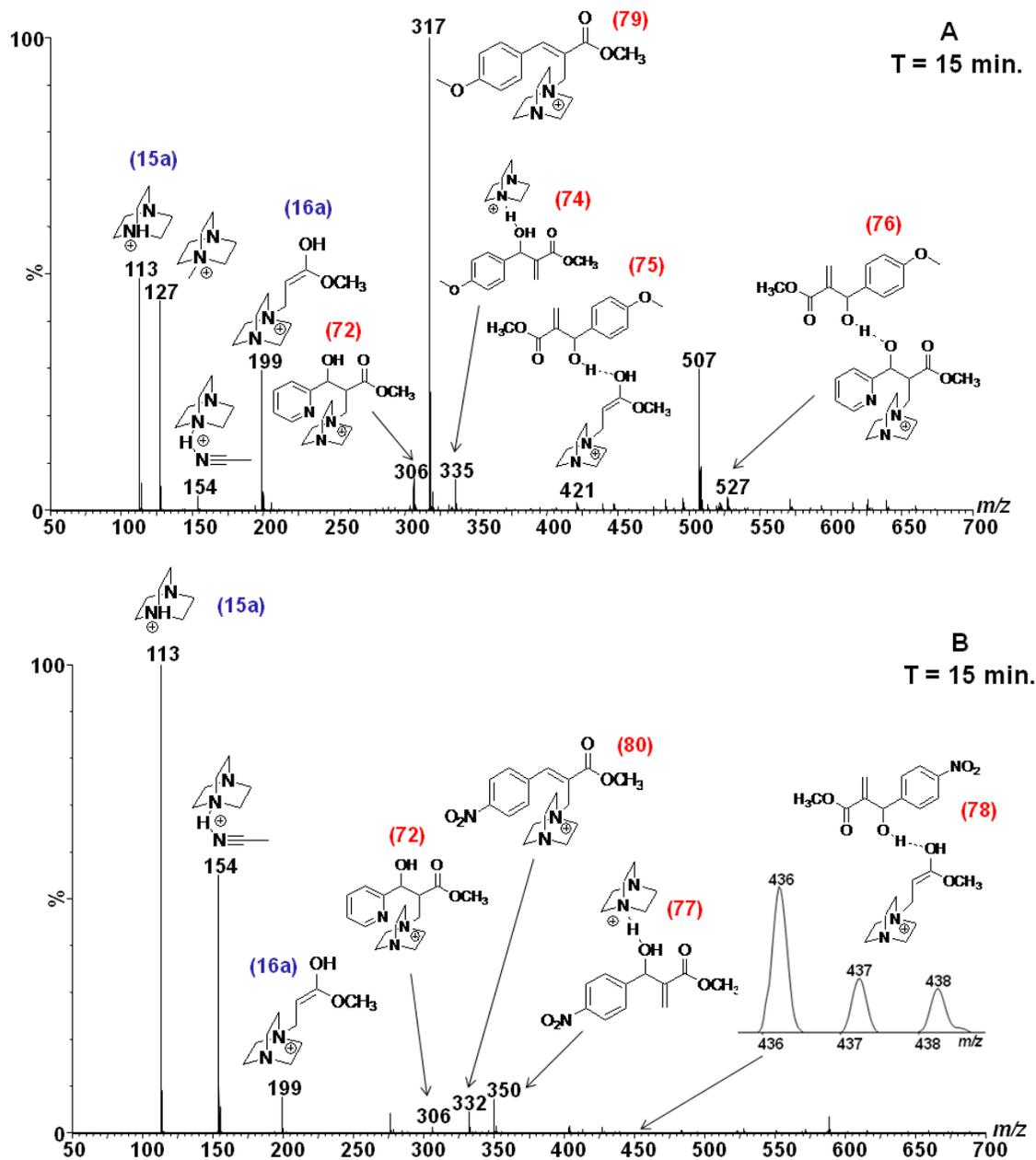


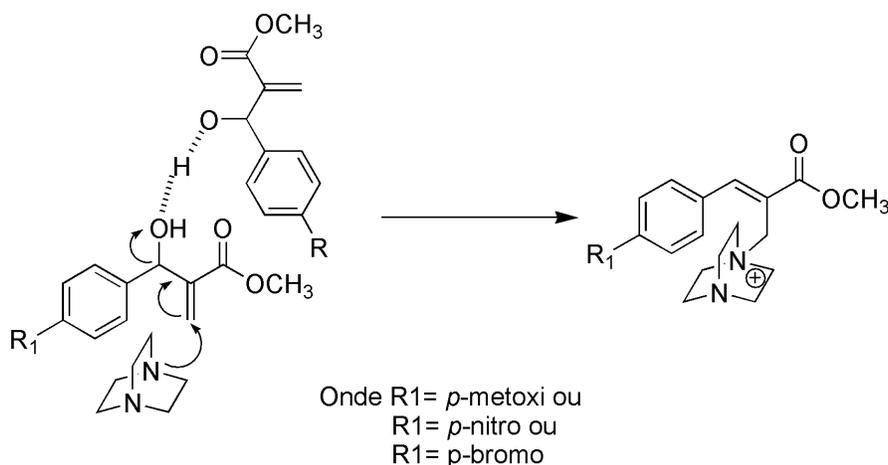
Figura 20: Espectros da reação de MBH em T = 15 min com (A) aduto de *p*-metoxi como fonte de próton; (B) aduto do nitro como fonte de próton.

Tanto para o aduto do *p*-metoxi (**Figura 20A**) quanto para o aduto *p*-nitro (**Figura 20B**) foi possível interceptar os complexos entre os adutos de MBH adicionados no meio reacional e o DABCO (**15a**) [*m/z* 335 para *p*-metoxi (**74**) e *m/z* 350 para o *p*-nitro (**77**)] e entre os adutos e o intermediário (**16a**) da reação

[m/z 421 com o aduto do *p*-metoxi (**75**) e como uma ampliação no espectro da **Figura 20B** a espécie de m/z 436 para o aduto *p*-nitro (**78**)].

Na **Figura 20A** foi possível interceptar o complexo (**76**) de m/z 527 entre o intermediário (**72**) com o aduto do *p*-metoxi. Acredita-se que a facilidade de observação dessa espécie com o aduto *p*-metoxi é devida a menor tendência na doação de próton, uma vez que esse aduto é menos ácido, como demonstrado anteriormente pelo cálculo de pK_a , não havendo troca ou doação de próton rápida, facilitando a interceptação desses complexos por espectrometria de massas.

Na **Figura 20A** também se observa o sinal base de m/z 317 (**79**) e na **Figura 20B** um sinal de m/z 332 (**80**), que podem ser atribuídos as espécies geradas pela perda de água por um ataque nucleofílico no sistema α,β -insaturado do aduto através de um mecanismo S_N2' . Essa perda pode ser assistida por outra molécula do aduto, como mostrado no **Esquema 19**, já que pode, através de uma transferência de próton, facilitar uma reação do tipo S_N2' , na qual o DABCO atua como nucleófilo. Essas espécies são de grande interesse no que se refere à atuação do aduto como fonte de próton.



Esquema 19: Mecanismo genérico proposto para a perda de água pelo aduto de MBH adicionado (S_N2').

Esses dados forneceram as primeiras evidências estruturais para a proposta de Aggarwal, de autocatálise na reação de MBH.

Fizemos também um estudo com a adição de um aduto bromado (**Figura 19C**), pois este exibe um padrão isotópico bastante peculiar corroborando com a elucidação estrutural dos possíveis complexos formados. O monitoramento da reação através da ESI(+)-MS após 15 minutos, **Figura 21**, apresenta a formação de dois complexos (**82** de m/z 383 e **83** de m/z 469) oriundos da complexação do DABCO e do intermediário reacional aza-enolato com o aduto bromado, respectivamente. Estão presentes também as espécies (**81** de m/z 365) gerada pelo ataque nucleofílico do DABCO no sistema α,β -insaturado do aduto bromado e conseqüente perda de uma molécula neutra de água; o próprio DABCO (**15a** de m/z 113) e o aldeído protonado (**17** de m/z 290); além do intermediário (**16a**) e do produto da reação (**73** de m/z 194).

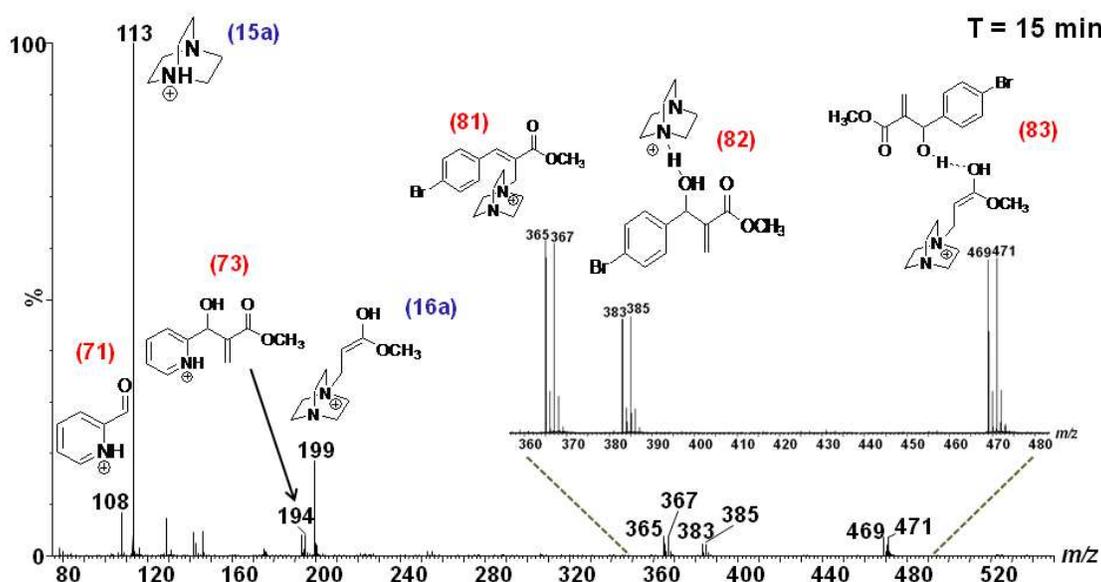


Figura 21: Espectros da reação de MBH em $T = 15$ min com o aduto de p -bromo como fonte de próton. Obs: em destaque no espectro está a ampliação na região em que há a presença das espécies bromadas.

Para a comprovação estrutural foi realizado o ESI(+)-MS/MS mostrados na **Figura 22** dos complexos de interesse obtidos com os três adutos utilizados.

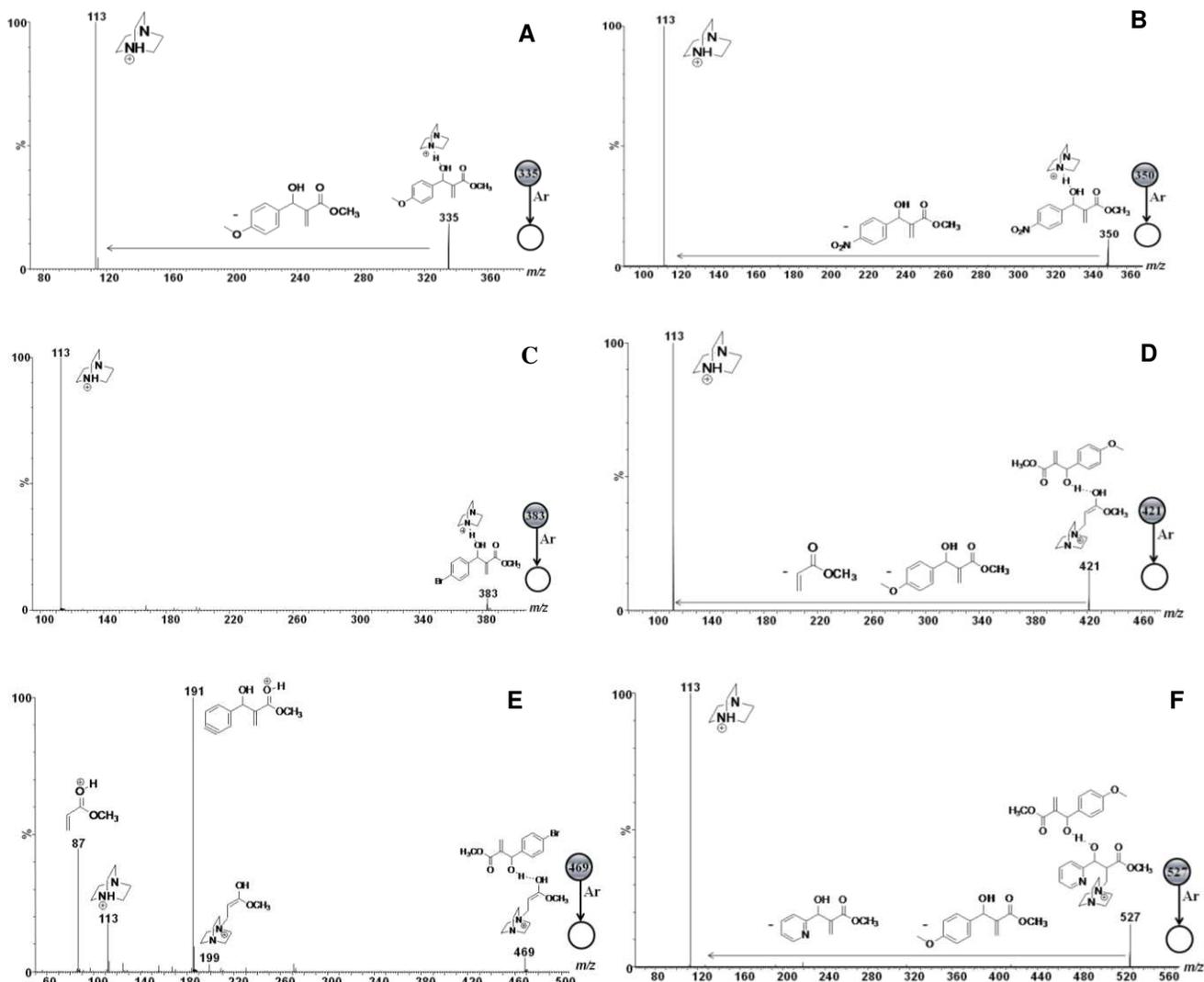


Figura 22: Espectros de ESI(+)-MS /MS dos íons de: (A) m/z 335; (B) m/z 350; (C) m/z 383; (D) m/z 421; (E) m/z 469 e (E) m/z 527.

Sendo assim, experimentos seqüenciais foram realizados para a caracterização dos íons de m/z 335, 350, 383 e 421. Observa-se a formação preferencial de um íon fragmento de m/z 113 que corresponde a uma molécula de DABCO protonado que é a base catalítica da reação. Para que houvesse essa fragmentação as espécie de m/z 335, 350, 383 perderam os respectivos adutos de MBH como molécula neutra. Vale a pena ressaltar que no caso do aza-enolato (75) de m/z 421 da **Figura 22D** apresenta como perda neutra uma molécula do aduto e uma molécula de acrilato de metila. Porém a fragmentação do mesmo

intermediário, o aza-enolato (**83**) da **Figura 22E**, se apresenta um pouco mais complexa, ou seja, se observa a própria fragmentação do aduto *p*-bromo (íon de m/z 191).

A explicação da fragmentação da espécie transiente (**76**) de m/z 527 (**Figura 22E**) que possui um único íon fragmento de m/z 113 mostrou-se muito interessante no sentido de sustentar a eficiência do aduto de MBH como doador de próton e como participante da etapa de prototropismo. Um mecanismo pôde ser proposto (**Figura 23**) para a simultânea doação e captura de próton pelo aduto e conseqüentemente a liberação da base terciária. Sendo assim o aduto complexado com o intermediário fornece um próton para o alcóxido e este por sua vez captura o hidrogênio ácido do intermediário (em destaque na cor vermelha).

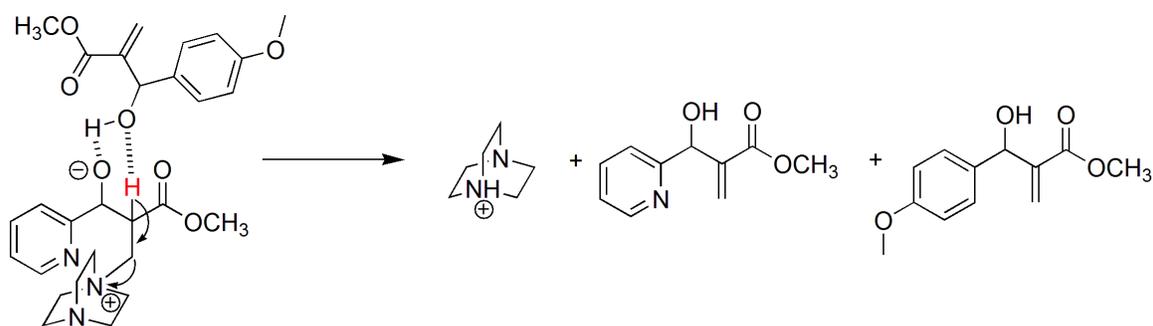


Figura 23: Ilustração do mecanismo de doação e captura de próton pelo aduto de MBH e liberação da base terciária.

A **Figura 24** mostra os espectros da reação após uma hora, sendo possível encontrar nos três espectros o produto protonado (**73**) da reação de MBH de m/z 194.

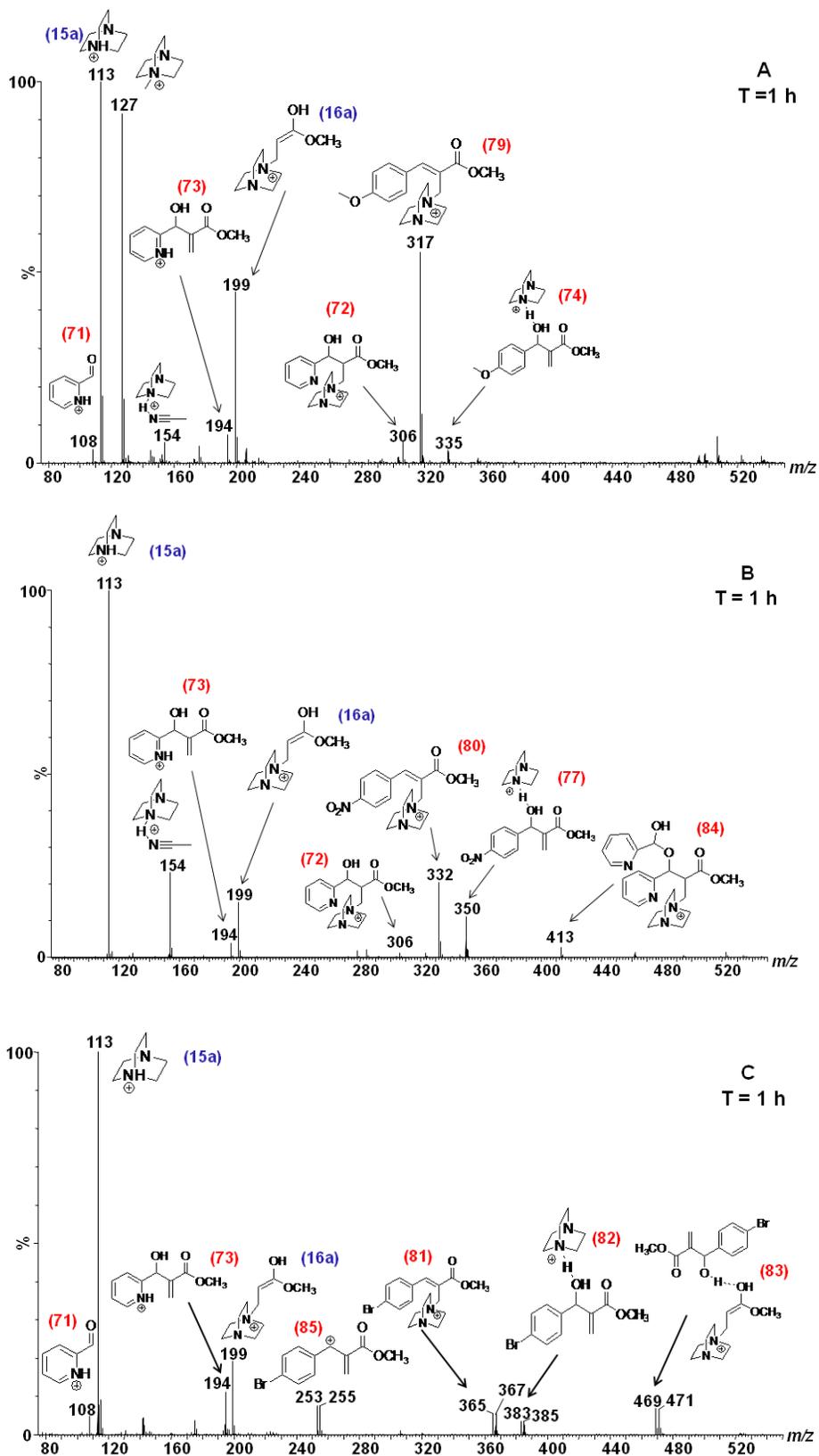


Figura 24: Espectros da reação de MBH em T = 1 h com (A) aduto de *p*-metoxi; (B) aduto *p*-nitro; C) aduto *p*-bromo.

Um indicativo do comportamento dualístico e competitivo da reação de MBH pode ser sugerido no momento em que ocorreu a interceptação e caracterização da espécie (**84**) de m/z 413 no espectro **B** da **Figura 24**, que apesar das evidências da literatura indicarem que no momento em que há no meio reacional a presença de uma fonte de próton externa, esta conseqüentemente inibiria a formação do produto de adição do alcóxido sobre uma nova molécula de aldeído (**8**, **Esquema 4**, **página 29**).

Sendo assim, a espectrometria de massas se mostrou uma técnica promissora, possibilitando a comprovação estrutural de que um aduto de MBH pode atuar como doador de próton. Esses dados permitiram reunir evidências sobre a proposta de autocatálise da reação de MBH, sugerida por Aggarwal¹⁶.

3.3 Estudo cinético através do monitoramento on-line da reação de MBH por uma nova fonte de ionização ambiente (V-EASI) baseada na ionização por Sonic-Spray

O desenvolvimento de técnicas de ionização a pressão atmosférica permitiram a investigação direta de reações químicas em soluções por espectrometria de massas. O monitoramento *on-line* de reações orgânicas em andamento é útil não apenas para monitorar a formação do produto e o andamento da reação, mas também para o estudo de mecanismos de forma mais detalhada, permitindo a detecção de intermediários transientes presentes no meio reacional, que poderão ser de extrema importância para a elucidação do mecanismo da reação.

Neste contexto, foi desenvolvida em nosso laboratório de pesquisa uma nova técnica para a investigação de mecanismos de reações orgânicas através da construção de uma fonte de ionização simples que tornasse possível a análise direta de soluções e que pudesse ser acoplada a espectrômetros de massas em miniatura, os quais poderiam ser levados a laboratórios sintéticos.

O *Venturi Easy Ambient Sonic-Spray Ionization* (V-EASI)⁴⁴, é uma técnica de ionização alicerçada na técnica *Easy Ambient Sonic-Spray Ionization* (EASI)⁴⁵ também desenvolvida no Laboratório ThoMson na UNICAMP. Em ambos os casos o processo de ionização está baseado no efeito que um gás a alta velocidade pode provocar nas gotas de um líquido durante a formação do *spray* (*Sonic Spray Ionization* - SSI)⁴⁶.

O gás de nebulização, que pode ser nitrogênio ou o ar, impulsionado a uma velocidade supersônica encontra o líquido, que passa através de um capilar de sílica fundida, causando o cisalhamento das gotas, e a distribuição desequilibrada de cargas nas gotas é o que oferece uma densa nuvem de gotículas bipolar que promovem ionização dos analitos tanto como $[M + H]^+$ ou $[M - H]$. São técnicas livres de voltagem, temperatura e radiação, que devido a pouca energia fornecida aos íons gasosos, causa pouca ou nenhuma fragmentação e uma redução do sinal-ruído. Essas técnicas de ionização ambiente também evitam processos térmicos, eletroquímicos ou por descargas que são conhecidos para o *Eletrospray* (ESI) e técnicas derivadas, que eventualmente a alta tensão usada pode gerar interferentes redox ou mecanismos competitivos diferentes para a ionização, produzindo diversas formas iônicas, como por exemplo, $[M+H]^+$ e M^+ , complicando as atribuições de massa e de composição.

Mais de dois séculos atrás, o físico italiano Giovanni Battista Venturi descobriu o efeito Venturi,⁴⁷ através do efeito sifão e que desde então tem sido amplamente utilizado em muitos dispositivos. Em espectrometria de massas, poucos processos de auto-bombeamento tem sido aplicados, e alguns dispositivos relativamente complexos baseados no efeito Venturi foram propostos para o ESI-MS⁴⁸ convencional. Como o dispositivo desenvolvido por Tempst^{48c} e

⁴⁴ Santos, V. G.; Regiani, T.; Dias, F. F. G.; Romão, W.; Jara, J. L. P.; Klitzke, C. F.; Coelho, F.; Eberlin, M. N. *Anal. Chem.* DOI: 10.1021/ac102765z

⁴⁵ Haddad, R.; Sparrapan, R.; Eberlin, M. N. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 2901-2905.

⁴⁶ a. Hirabayashi, A.; Sakairi, M.; Koizumi, H. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 4557-4559. b. Hirabayashi, A.; Sakairi, M.; Koizumi, H. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 2878-2882.

⁴⁷ Geankoplis, C. J. *Transport processes and unit operations* 3rd ed. (Prentice-Hall, Englewood Cliffs, 1993).

⁴⁸ a. Wachs, T.; Henion, J. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 632. b. Asano, K. G.; Ford, M. J.; Tomkins, B. A.; Van Berkel, G. J. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 2305. c. Geromanos, S.; Philip, J.;

colaboradores denominado JaFIS (*inJection adaptable Fine Ionization Source*) usado como fonte de nano-ESI e aplicado em uma mistura complexa de peptídeos, permitindo a completa auto-amostragem durante toda a operação.

Por definição o efeito Venturi ocorre quando um líquido de alta velocidade flui através de uma seção restrita de um tubo causando uma redução da pressão do fluido e o seu auto-bombeamento (**Figura 25A**).

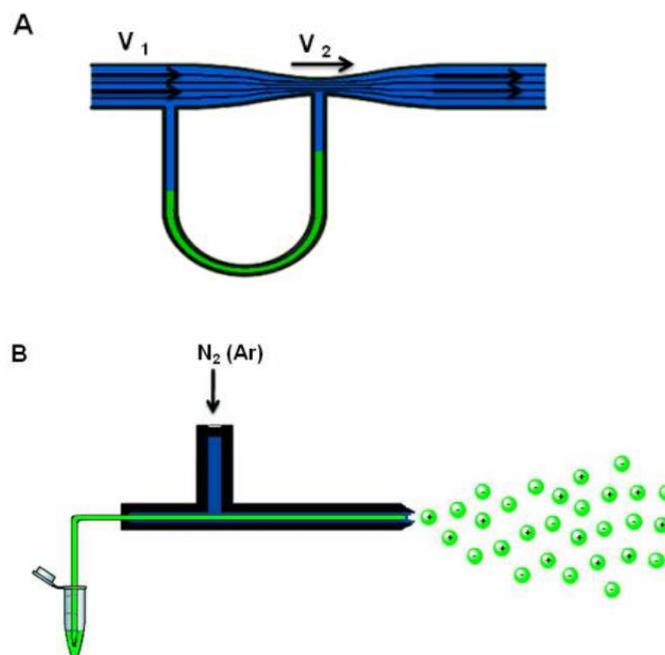


Figura 25: A) *Design* clássico do Efeito Venturi; B) *Design* do V-EASI combinando o auto-bombeamento causado pelo Efeito Venturi e a ionização por *sonic spray*.

Sendo assim, o V-EASI foi desenvolvido para acoplar a alta velocidade do gás de nebulização (*sonic spray*), usado no EASI, com o auto-bombeamento resultante do Efeito Venturi (**Figura 25B**), permitindo a análise de substância em solução sem o auxílio de bombeamento elétrico (**Figura 26A**).

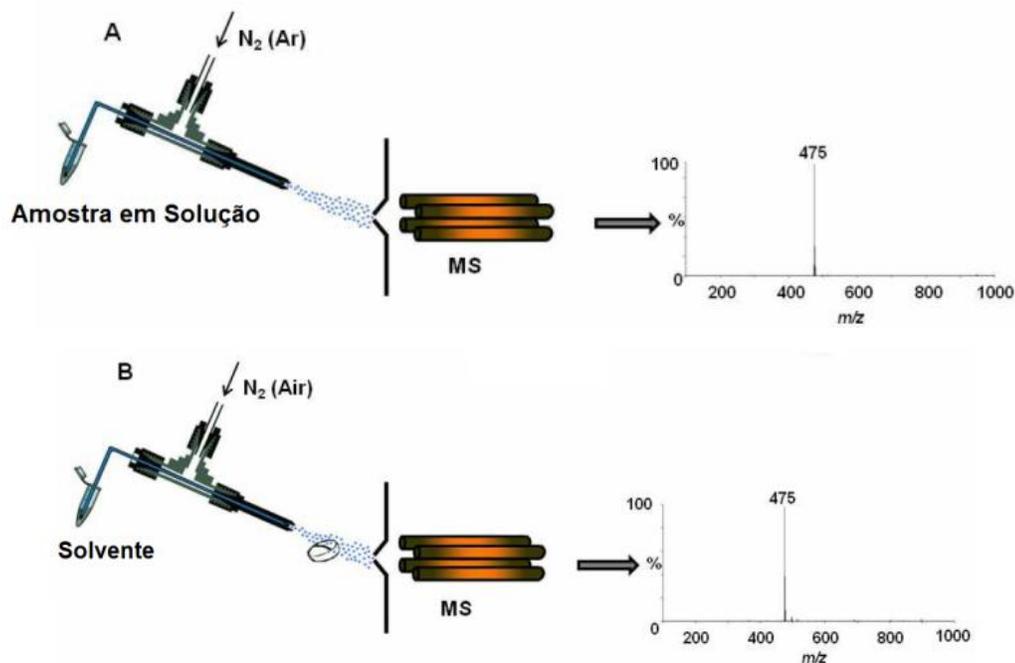


Figura 26: Modo duplo de operação do V-EASI. (A) V-EASI(+)-MS para uma solução de 30 ngmL^{-1} de sildenafil em metanol acidificado; (B) V-EASI(+)-MS para um comprimido de sildenafil usando metanol acidificado como o solvente para o spray.

Para amostras sólidas, o bombeamento pelo efeito Venturi de um solvente adequado somado com um alto fluxo do gás, forma gotas carregadas (bipolar) na superfície da amostra, causando uma eficiente dessorção e ionização, produzindo assim espectros limpos (**Figura 26B**). Fica caracterizado assim o desenvolvimento de uma fonte de ionização ambiente de modo duplo, capaz de trabalhar com amostras em solução ou sólidas.

Para demonstrar a versatilidade da técnica foi realizada uma gama de experimentos com amostras das mais variadas estruturas químicas, como por exemplo: cocaína, uma droga ilícita, PEG, um polímero de grande uso, gasolina, combustível de grande interesse econômico e cachaça uma das principais bebidas alcoólicas consumidas no Brasil. Demonstrando que essa técnica é excelente para fazer *fingerprinting* (impressão digital) de substâncias comerciais. Foram analisadas também amostras de petróleo, que está entre as misturas químicas mais complexas que se conhecem, além de biomoléculas como peptídeos e

proteínas em soluções aquosas. Porém, o no sso grande interesse é aplicar essa técnica como um dispositivo fácil e confiável para o monitoramento de reações.

A **Figura 27** ilustra o monitoramento *online* da reação de MBH em solução através do auto-bombeamento do V-EASI. Esse tipo de monitoramento simples em tempo real por espectrometria de massa é muito desejado em laboratórios de síntese orgânica, tornando-se uma ferramenta para o acompanhamento de reação na rotina diária, uma vez que, representa uma fotografia contínua da reação em solução, mostrando toda a composição iônica do meio: reagentes e produtos. O mais interessante, é a possibilidade da observação dos intermediários transientes da reação, visualizando assim o mecanismo reacional.

Foi investigado assim, a reação de MBH entre o acrilato de metila (1 equivalente) com um excesso de piridina-2-carbaldeído (3 equivalente) e catalisada por DABCO (1 equivalente). O ciclo catalítico dessa reação esta ilustrado no **Esquema 18**.

Na **Figura 27** há três espectros representativos do V-EASI adquiridos durante o curso da reação. No início, tempo de reação zero, o primeiro intermediário (**16a**) de m/z 199, formado pela adição de Michael do DABCO (**1**) no acrilato de metila (**2**) pode ser detectado, além do DABCO protonado (**15a**) de m/z 113. Depois de 30 minutos de reação (**Figura 27B**), o segundo intermediário chave da reação (**72**) de m/z 306 pode ser claramente interceptado, formado pelo ataque de (**16a**) no aldeído (**71**). No final de 2 horas de reação (**Figura 27C**), o produto de MBH protonado (**73**) de m/z 194 e sodiado [**73** + Na]⁺ de m/z 216 pode ser observado. Mais três íons adicionais foram também detectados: (**73**) de m/z 108, [**73** + MeOH]⁺ de m/z 140 e [**73** + MeOH - H₂O]⁺ de m/z 122.

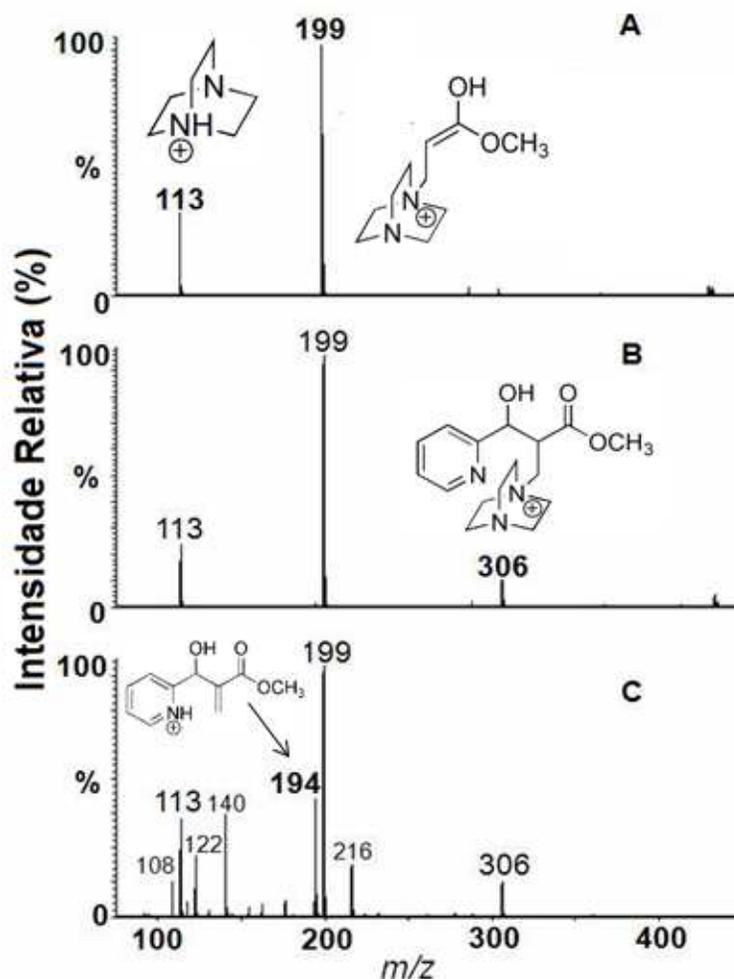


Figura 27: V-EASI(+)-MS da reação de MBH com acrilato de metila (**2**), DABCO (**1**) e 2-piridinacarboxialdeído (**71**) em diferentes tempos reacionais. A) 0 min, B) 30 min e C) 2 h.

Por fim, a **Figura 28** mostra a curva cinética para esta reação, na qual é possível observar a formação e consumo de produtos e reagentes ao longo da reação mostrando a eficácia do monitoramento contínuo realizado por meio da técnica V-EASI. Os intermediários (**16a**) e (**72**) tem o seu máximo de intensidade absoluta por volta de 15 minutos e 40 minutos de reação respectivamente, diminuindo a sua concentração ao longo da reação. O DABCO (**15a**) por sua vez, tem a sua intensidade absoluta quase que constante o que era esperado por se

tratar apenas do catalisador da reação sendo regenerado. E o produto (**73**) tem um aumento significativo da sua concentração após 80 minutos de reação.

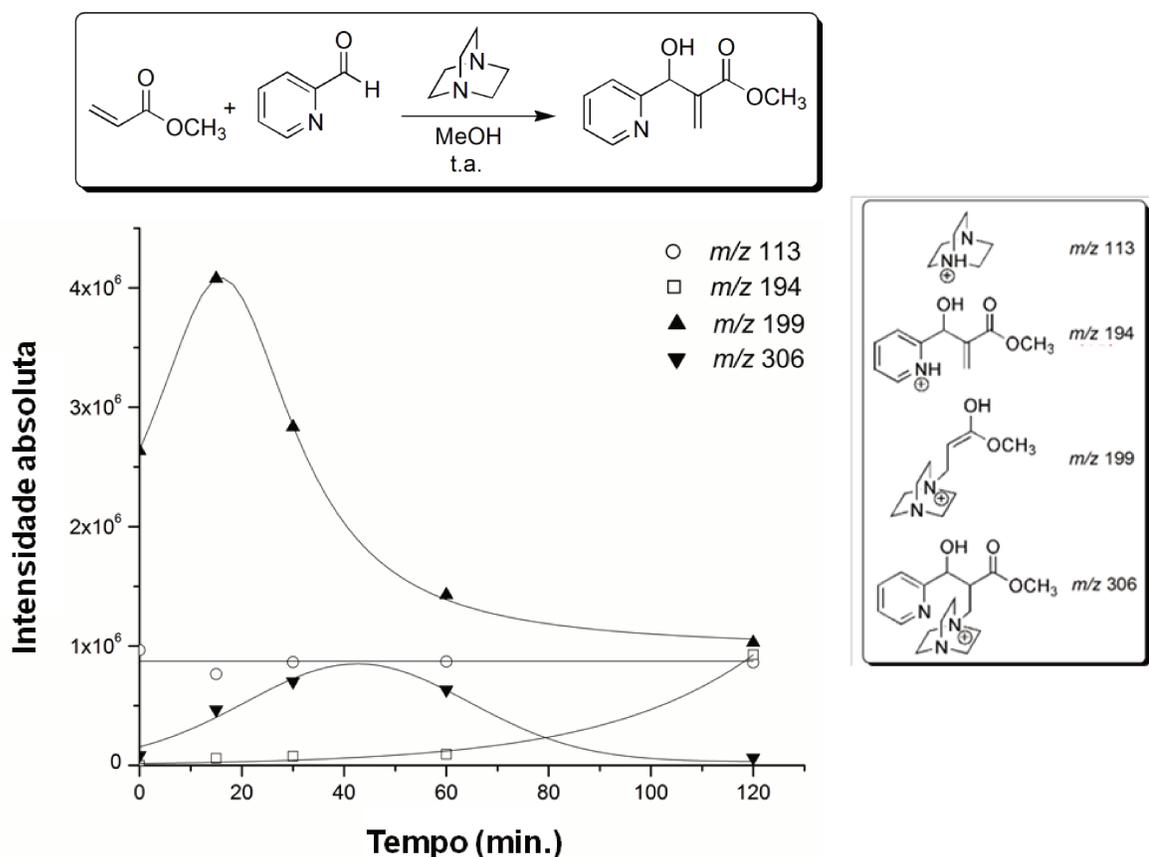


Figura 28: Curva cinética construída a partir dos dados de V-EASI(+), para o monitoramento da reação de MBH.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Estudos mecanísticos da reação aza-MBH e MBH

A técnica ESI-MS foi inicialmente escolhida para os estudos de mecanismos realizados. Para obter as massas e os padrões isotópicos dos íons intermediários, utilizamos o modo positivo do ESI-MS. Adicionalmente, para elucidar a estrutura destes intermediários, estes foram isolados e dissociados no modo seqüencial (ESI-MS/MS) de acordo com a necessidade de cada experimento. Os solventes empregados foram adaptados para cada reação sendo

escolhidos com base em um equilíbrio entre os melhores solventes para a reação em si e os melhores solventes para o processo de ESI, sendo todos os solventes Grau HPLC.

Neste trabalho foi utilizado um espectrômetro de massas híbrido com quadrupolo e um Tof da Micromass (Manchester, U.K.) de alta resolução (resolução no modo positivo em torno de 3500). O equipamento QToF apresentado combina um hexapolo (focalizador de íons), seguido de um quadrupolo que é utilizado para varredura e/ou seleção de íons. No segundo hexapolo temos a câmara de colisão onde os íons podem ser caracterizados estruturalmente de forma individual, mediante uma dissociação induzida por colisão (CDI) com um gás inerte (argônio), com energia variando de 4 a 40 eV. Em cada caso a energia de colisão foi otimizada de forma a produzir extensiva dissociação com mínima perda do íon de interesse. A combinação de um quadrupolo com filtro de massa (MS1) e um analisador TOF confere ao equipamento alta resolução (**Figura 29**). A calibração do equipamento foi realizada com uma solução 0,1% de ácido fosfórico em metanol.

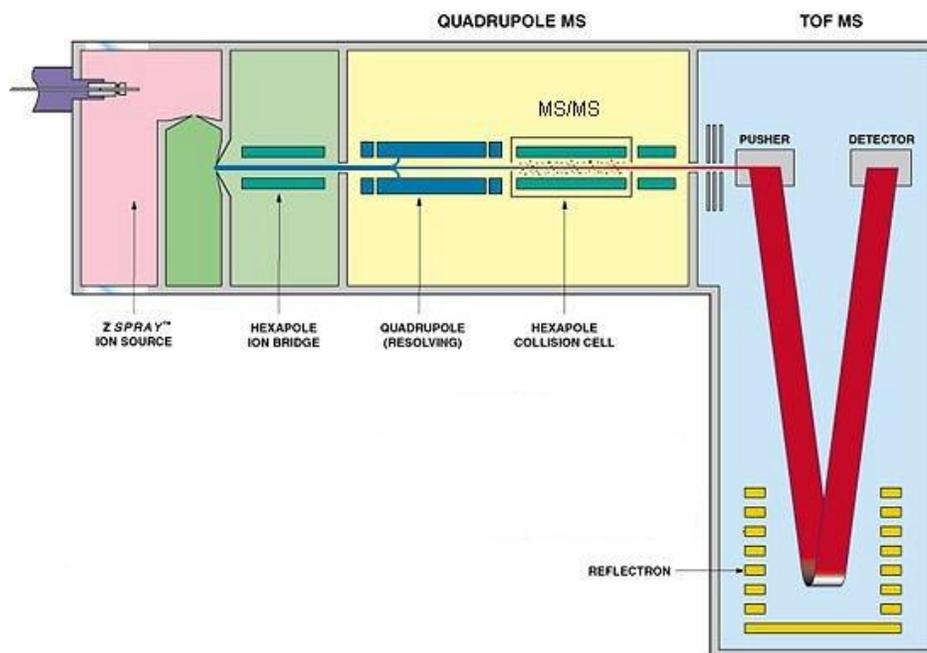
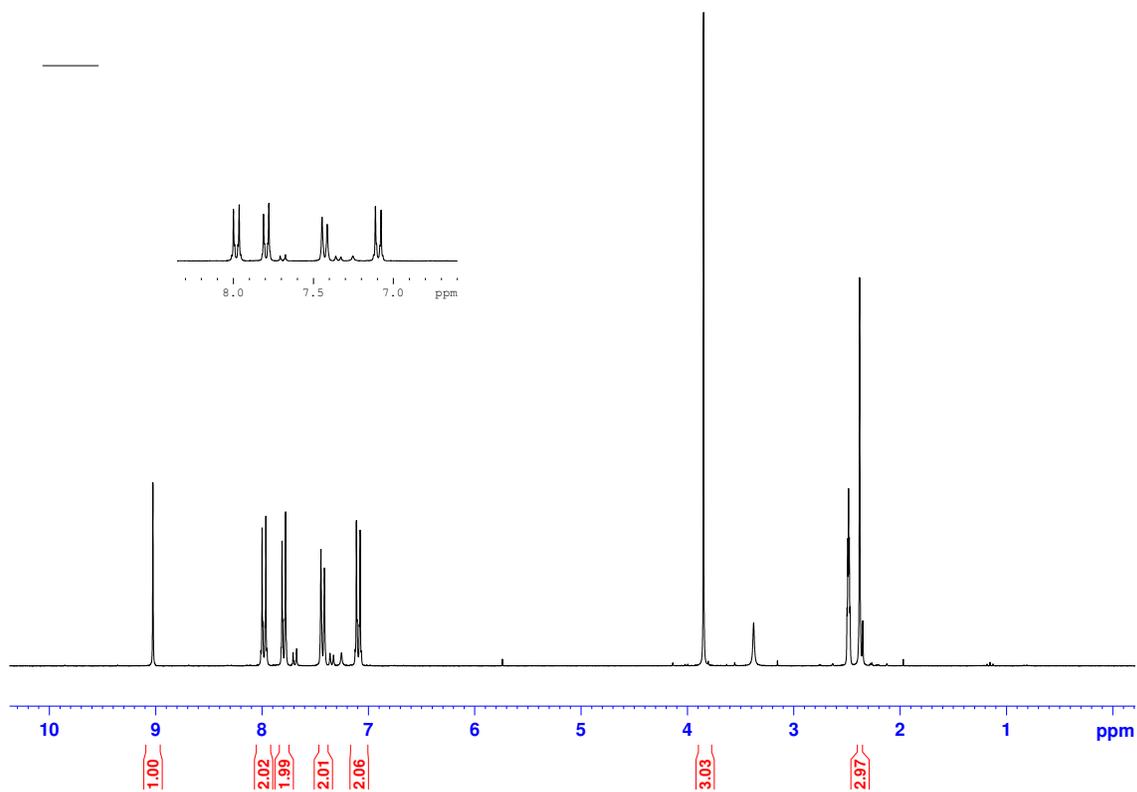


Figura 29: Detalhes do Qtof ortogonal híbrido de alta resolução da Micromass (MS²).

Estes estudos foram realizados utilizando ionização por ESI(+)-MS e as condições típicas utilizadas foram: temperatura da fonte de 100°C, temperatura de dessolvatação de 70 a 100°C, voltagem do capilar variando de 2,5 a 4 kV e a voltagem do cone variando de 10 a 40V. As amostras foram injetadas com auxílio de uma bomba injetora (Harvard Apparatus) a um fluxo de 10 $\mu\text{L min}^{-1}$. No preparo geral de amostra pegou-se 1 μL da mistura reacional e diluiu-se para 1mL de metanol dopado com ácido fórmico.

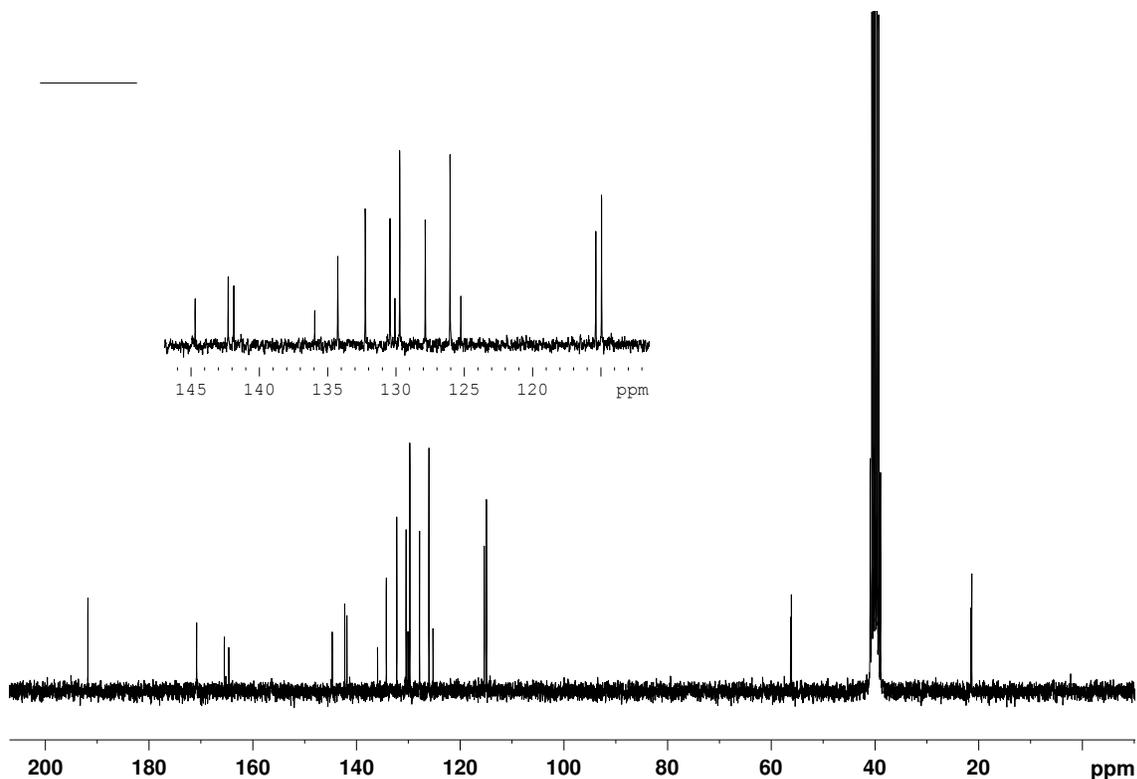
A tosylimina (**17**) utilizada no estudo da aza-MBH foi previamente sintetizada em nosso laboratório, assim como os adutos de MBH usado como fonte de próton. Os demais reagentes foram obtidos de fornecedores especializados, como Acros e Aldrich Chemical Company, sendo usados com tratamento prévio se necessário.

Na síntese da iminia adicionou-se 10g (0,074mol) de *p*-anisaldeído em 150 mL de tolueno. Em seguida misturou-se 1 mol% do ácido *p*-toluenosulfônico e 12,6g (0,074 mol) de *p*-toluenosulfonamida. Deixou agitando por 24 horas em um sistema de destilação azeotrópico com remoção de água. Após esse período evaporou o tolueno, sem necessidade de purificação, gerando um sólido rosado com rendimento quantitativo. As **Figura 30 e 31** mostram os espectros de RMN- ^1H E RMN- ^{13}C , respectivamente usados para a caracterização da imina sintetizada. No experimento de alta resolução da imina sintetizada a massa encontrada foi 290,0909 e a massa teórica calculada foi 290,0851, levando um erro de 20 ppm.



RMN- ^1H (250 MHz, DMSO d_6) δ (ppm): 2.38 (s, 3H); 3.85 (s, 3H); 7.09 (d, $J= 8.79$, 2H); 7.42 (d, $J= 8.13$, 2H); 7,79 (d, $J= 8.32$, 2H), 7.98 (d, $J=8.9$, 2H); 9.02 (s, 1H).

Figura 30: Espectro de RMN- ^1H (250 MHz, CDCl_3).



RMN-¹³C (62 MHz, DMSO d₆) δ (ppm): 21.34 (CH₃); 21.51 (CH₃); 56.13 (CH₃); 56.28(CH₃); 114.95 (CH); 115.37(CH); 125.26 (CH); 127.86(CH); 129.73 (CH); 130.08 (CH); 130.44 (CH); 132.25 (CH); 134.26 (CH); 135.95 (CH); 141.86 (CH); 142.28 (CH); 144.69 (CH); 164.65 (C); 165.51 (C); 170.85 (C); 191.76 (CH).

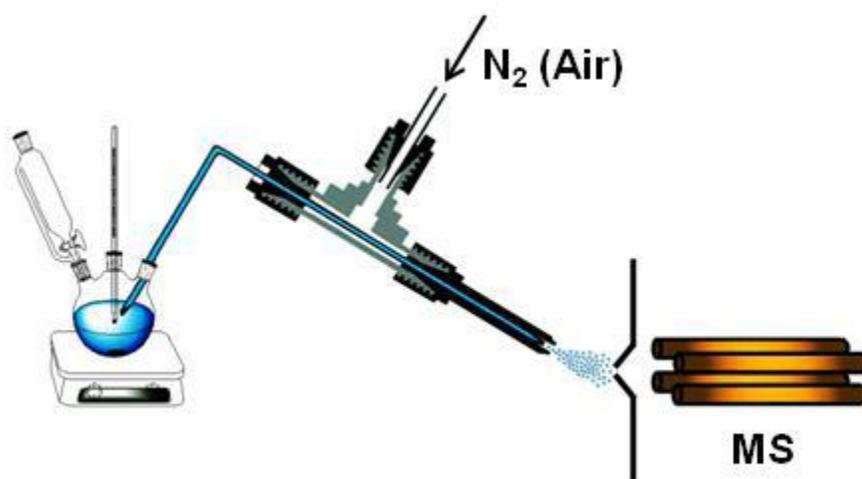
Figura 31: Espectro de RMN-¹³C (62 MHz, CDCl₃).

Para a determinação do teor de água nos adutos de MBH e DABCO foi usado um Karl Fischer da Quimis[®], modelo Q349-1.

4.2 Monitoramento *on-line* da reação de MBH por V-EASI

O monitoramento da reação de MBH foi realizado na fonte de ionização V-EASI acoplada a um espectrômetro de massa mono-quadrupolo, LCMS EV - 2010 da Shimadzu.

A ionização por *sonic spray* para o V-EASI foi assistida apenas por N₂ comprimido com uma pressão de 10 bar e um fluxo de 3,5 L min⁻¹. A fonte V-EASI usou um T simples, ponteiros de aço e um capilar de sílica fundida com 100 e 125 μm de diâmetros interno e externo, respectivamente. O solvente é aspirado com um fluxo de aproximadamente 20 μL min⁻¹ para o metanol e de aproximadamente 5-10 μL min⁻¹ para soluções aquosas. Espectros de massas foram adquiridos no intervalo de 50-2000 *m/z* (**Esquema 20**).



Esquema 20: Esquema da fonte de V-EASI aplicado no monitoramento *online* de reações orgânicas.

5. CONCLUSÃO

No presente trabalho, monitoramos o ciclo catalítico da reação de *aza*-MBH por ESI-MS. Interceptamos os intermediários dessa reação com sucesso, que estruturalmente foram caracterizados por ESI-MS/MS. Dois novos intermediários, não relatados anteriormente para essa reação foram interceptados e caracterizados, um de m/z 777 (**20a**) e o outro de m/z 665 (**21**).

Buscando um maior embasamento sobre o mecanismo da reação de *aza*-MBH realizamos outros experimentos complementares. No primeiro, comprovamos que as espécies transientes de m/z 777 (**20a**) e de m/z 665 (**21**), fazem parte do ciclo catalítico, já que mesmo com a diminuição da concentração dos reagentes (de 3 equivalentes de tosylimina para 1 equivalente desse reagente) esses intermediários continuaram a serem observados. Em seguida, mudamos a base para avaliar se comportamento se reproduziria. Como base, escolhemos a quinuclidina, que funciona com grande eficiência em reações de MBH. Interceptamos os mesmos intermediários observados anteriormente. Todos esses experimentos apontam para a participação desses intermediários no ciclo catalítico da reação de *aza*-MBH, que guarda similaridades com a reação de MBH, mas não é igual. Provavelmente a participação desses intermediários no ciclo catalítico da reação de *aza*-MBH pode ser um subsídio para explicar porque as versões assimétricas para essa reação são gerais, ao contrário do observado para uma reação de MBH.

Em outro estudo complementar aqueles descritos anteriormente, realizamos uma reação de MBH utilizando o acrilato de hexafluoropropila com componente nucleofílico da reação. O monitoramento dessa reação nos permitiu interceptar e caracterizar estruturalmente a dioxanona (**31**) de m/z 357 e os derivados (**34**) de m/z 469 e (**35**) de m/z 375 dessa molécula. Nem a dioxanona **31** nem tampouco os demais derivados foram observados na reação de *aza*-MBH realizada com o acrilato de hexafluoropropila, demonstrando que os mecanismos não são os mesmos. A formação da dioxanona **31** em versões assimétricas da reação de MBH compromete a enantiosseletividade do processo. Como não a observamos

em reações de *aza*-MBH isso poderia explicar a generalidade das versões assimétricas disponíveis para a *aza*-MBH.

Foi possível investigar também a reação uma versão anormal da reação de *aza*-MBH. Assim interceptamos um aduto anormal de m/z 663 (**56**) quando o propiolato de metila no lugar de um acrilato. Esse estudo comprovou o mecanismo proposto por Shi⁴³ e nos permitiu reunir mais subsídios experimentais sobre a formação dos intermediários de m/z 777. A formação aduto “anormal” **56** passa por um mecanismo que envolve a participação de duas moléculas de imina (**54**, m/z 775), comprovando a proposta da similaridade entre o mecanismo dessa reação com a *aza*-MBH.

Em um estudo reunimos evidências experimentais sobre a participação de um aduto de MBH como fonte de prótons. Esse dado nos permitiu avaliar a exequibilidade da hipótese de autocatálise para a reação de MBH. Essa hipótese foi comprovada utilizando um aduto bromado em um meio anidro. Interceptamos vários intermediários contendo o padrão espectrométrico do bromo em suas estruturas.

Em outra parte desse trabalho foi realizado um estudo cinético através do monitoramento *on-line* de uma reação de MBH, aplicando uma nova técnica de ionização a pressão ambiente denominada *Venturi Easy Ambient Sonic-Spray Ionization* (V-EASI)⁴⁴, que se mostrou muito eficiente, sendo possível a construção de uma curva cinética, na qual foi possível observar a formação e consumo de produtos e reagentes, além da observação da formação dos intermediários transientes ao longo da reação.