UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
CAMPUS CENTRO-OESTE DONA LINDU – CCO
E-mail: ppgmq@ufsj.edu.br

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI - UFSJ

LUCIANO PEGUINI DE SOUSA

PROCESSOS CATALÍTICOS ASSIMÉTRICOS APLICADOS EM REAÇÕES O-MICHAEL-ALDOL UTILIZANDO DERIVADOS DE *L*-AMINO ÁCIDOS E ENZIMAS

Divinópolis-MG
Março/2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

CAMPUS CENTRO-OESTE DONA LINDU – CCO

E-mail: ppgmq@ufsj.edu.br

LUCIANO PEGUINI DE SOUSA

PROCESSOS CATALÍTICOS ASSIMÉTRICOS APLICADOS EM REAÇÕES O-MICHAEL-ALDOL UTILIZANDO DERIVADOS DE *L*-AMINO ÁCIDOS E ENZIMAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais da Universidade Federal de São João del-Rei, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. José Augusto Ferreira Perez Villar.

Divinópolis
Março/2023

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S725p

Sousa, Luciano Peguini de.
PROCESSOS CATALÍTICOS ASSIMÉTRICOS APLICADOS EM REAÇÕES O-MICHAEL-ALDOL UTILIZANDO DERIVADOS DE L AMINO ÁCIDOS E ENZIMAS / Luciano Peguini de Sousa ; orientador José Augusto Ferreira Perez Villar. -- Divinópolis, 2023.
124 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais) -- Universidade Federal de São João del-Rei, 2023.

1. Catálise assimétrica. 2. Organocatálise. 3. Biocatálise. 4. Cromenos. I. Villar, José Augusto Ferreira Perez , orient. II. Título.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA

HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 6 / 2023 - PPGMQ (13.31)

Nº do Protocolo: 23122.008713/2023-35

São João del-Rei-MG, 13 de março de 2023.

A dissertação **"PROCESSOS CATALÍTICOS ASSIMÉTRICOS APLICADOS EM REAÇÕES O-MICHAEL-ALDOL UTILIZANDO DERIVADOS DE L-AMINO ÁCIDOS E ENZIMAS"**, elaborada por **Luciano Peguini de Souza** e aprovada por todos os membros da banca examinadora, foi aceita pelo Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, da Universidade Federal de São João del-Rei como requisito parcial à obtenção do título de

MESTRE EM QUÍMICA

(Assinado digitalmente em 13/03/2023 13:40)
JEFFERSON LUIZ PRINCIVAL
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
CCO (10.02)
Matrícula: 1805937

(Assinado digitalmente em 14/03/2023 08:50)
JOSE AUGUSTO FERREIRA PEREZ VILLAR
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
PPGCS (13.06)
Matrícula: 1675886

(Assinado digitalmente em 13/03/2023 19:16)
GIULIANO CESAR CLOSOSKI
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 018.451.939-03

Para verificar a autenticidade deste documento entre em **https://sipac.ufsj.edu.br/public/documentos/index.jsp** informando seu número: **6**, ano: **2023**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, data de emissão: **13/03/2023** e o código de verificação: **45f6ff2e7f**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por se fazer presente nos momentos mais difíceis.

Agradeço a minha esposa Kaliane e filha Ana Luísa, pelo apoio, amor, dedicação e paciência.

Agradeço aos meus pais Rafael e Aparecida e ao meu irmão Juliano, pelo apoio e amor incondicional.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. José Augusto Ferreira Perez Villar pelo acolhimento, pelos valiosos momentos de aprendizado, pelas oportunidades e paciência. Por sempre disponibilizar o seu melhor para conosco do laboratório e nos amparar durante essa jornada.

Agradeço ao Matheus, amigo que não mediu esforços para me socorrer ao longo desse processo e contribuiu de forma ímpar para minha formação acadêmica, profissional, política e humana.

Agradeço aos meus companheiros (as) de laboratório, Andreza, Gabriel, Gabriela, Gustavo, Jenny, Juliana e demais membros pelo bom convívio, auxílio, pela amizade e pelo excelente tempo que passamos juntos.

Agradeço ao Prof. Dr.Jefferson Luiz Princival pela amizade, e pelo auxílio com a biocatálise.

Agradeço a Universidade Federal do Paraná (UFPR) pelas análises de espectrometria de RMN ^{13}C e ^{1}H.

Agradeço ao PPGMQ/Rede Mineira de Química por proporcionar um ensino sério, responsável e de qualidade.

Por fim agradeço a instituição de ensino UFSJ-campus CCO, pelo espaço de ensino aprendizagem ofertado.

RESUMO

A catálise assimétrica é uma interessante via de obtenção de compostos enantiomericamente puros ou com elevada pureza enantiomérica. A catálise assimétrica se divide em três grandes áreas: organocatálise, biocatálise e catálise metálica. Este trabalho focou na síntese de cromenos (benzopiranos) através da organocatálise e biocatálise da reação oxa-Michael-aldol de nitroestireno ou cinamaldeído com salicilaldeído. Cromenos são heterociclos com um núcleo básico constituído de um anel pirano fundido a um anel benzênico (bicíclicos). São importantes moléculas para diversos ramos industriais, mas principalmente o farmacêutico. Fármacos quirais ocupam um lugar de destaque na indústria pela capacidade destes em interagir seletivamente com enzimas ou com um receptor biológico estereoespecífico (macromoléculas quirais), provocando assim uma resposta biológica. Através da organocatálise, usando-se tiazolidinas (**3a** e **3b**) e derivado da *L*-prolina (**4**) em diferentes condições, buscou-se sintetizar os compostos **1a** e **1b**, com excesso enantiomérico. Os resultados apontaram que para as condições e compostos testados, não é possível sintetizar as moléculas com excesso enantiomérico. Com o uso de enzimas (biocatálise), CAL-B e α-amilase, tentou-se sintetizar os compostos **1a** e **1b, 2a** e **2b** com excesso enantiomérico, mais uma vez sem sucesso. Tanto na organocatálise quanto na biocatálise dos derivados cromenos que se tentou sintetizar, não se obteve êxito quanto ao excesso enantiomérico, isso pode estar relacionado a não ativação do nucleófilo e eletrófilo ou falta de orientação induzida da olefina durante a etapa de transição.

Palavras-chave: Catálise assimétrica, Organocatálise, Biocatálise, Cromenos.

ABSTRACT

Asymmetric catalysis is an interesting way to obtain obtain enantiomerically pure or enantioenriched compounds. Asymmetric catalysis can be divided in: organocatalysis, biocatalysis and metallic catalysis. This work focused on the synthesis of chromenes (benzopyrans) through organocatalysis or biocatalysis of the oxa-Michael-aldol reaction of nitrostyrene or cinnamaldehyde with salicylaldehyde. Chromenes are heterocycles with a basic nucleus consisting of a pyran ring fused to a benzene ring (bicyclic). They are important molecules for several industrial branches, but mainly the pharmaceutical one. Chiral drugs occupy a prominent place in the industry due to their ability to selectively interact with enzymes or with a stereospecific biological receptor (chiral macromolecules), thus provoking a biological response. Through organocatalysis, using thiazolidines (**3a** and **3b**) and *L*-proline derivative (**4**) under different conditions, it was attempted to synthesize compounds **1a** and **1b**, with enantiomeric excess. The results showed that for the conditions and compounds tested, it is not possible to synthesize molecules with enantiomeric excess. With the use of enzymes (biocatalysis), CAL-B and α-amylase, attempts were made to synthesize compounds **1a** and **1b**, **2a** and **2b** with enantiomeric excess, once again without success. Both in the organocatalysis and in the biocatalysis of the chromene derivatives that were tried to synthesize, the enantiomeric excess was unsuccessful, this may be related to non-activation of the nucleophile and electrophile or lack of induced orientation of the olefin during the transition step.

Keywords: Asymmetric catalysis, Organocatalysis, Biocatalysis, Chromenes.

LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS

Binap	2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'binaftil
CAL-B	lipase B de *Candida antarctica*
CCD	Cromatografia em camada delgada
$CDCl_3$	Clorofórmio deuterado
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
d	Dupleto
dd	Duplo Dupleto
DCM	Diclorometano
DET	Dietiltartarato
DFT	Teoria do funcional da densidade, do inglês: *"Density functional theory"*
DIPAMP	(*R,R*)-1,2-bis[(*orto*-metoxifenil)-fenilfosfino]etano
DMSO	Dimetilsulfóxido
E1cB	Reação de eliminação de base conjugada
ee	Excesso Enantiomérico
F.M.	Fórmula molecular
GRE	Grupo retirador de elétrons
J	Constante de acoplamento
kDa	quilodalton, 1 kDa = 1000 u
LKADAH	Álcool desidrogenase de *Lactobacillus kefir*
LrOH	*Lactobacillus reuteri* - enzima oleato hidratase
m	Multipleto
Mult.	Multiplicidade
M.M.	Massa molar
m/z	Razão massa carga
o	Orto
OMH	Oxa-Michael-Henry
One-pot	único vaso
Pro	*L*-Prolina
Re	Face *Re*
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ^{1}H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
Si	Face *Si*
t	Tripleto
THF	Tetraidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
δ	Deslocamento químico
4-OT	4-oxalocrotonato tautomerase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Moléculas contendo carbonos tetraédrico, trigonal e linear respectivamente. 14
Figura 2 (2S)-2,6-Ácido diaminohexanóico (L-lisina). 15
Figura 3 Exemplos de isômeros constitucionais. 15
Figura 4 Dois isômeros: um éter e um álcool. 15
Figura 5 Tipos de isomeria. 16
Figura 6 Exemplos de diastereoisômeros, ácidos maleico e fumárico. 17
Figura 7 Estruturas dos isômeros do ácido tartárico, um exemplo de estereoisômeros. ..17
Figura 8 Cristais quirais, imagem especular uma do outro. Adaptado[8]. 18
Figura 9 Enantiômeros e diastereoisômeros. 19
Figura 10 Síntese da ureia. 19
Figura 11 Enantiômeros da Mefloquina. 20
Figura 12 Modelo chave/fechadura, interação de enantiômeros e sítios ativos de enzimas. 21
Figura 13 Isômeros da asparagina. 21
Figura 14 Isômeros da Talidomida. 22
Figura 15 Representação das faces Re e Si. 25
Figura 16 Exemplos de organocatalisadores. Adaptado[36]. 32
Figura 17 Gráfico de número de publicações/citações contendo o termo "organocatalysis" dos últimos 22 anos, encontradas na base de dados Web of Science. Acesso em: 09/02/23. 34
Figura 18 Estricnina. 34
Figura 19 Estrutura da (+)-ricciocarpin A. 36
Figura 20 Íon Imínio. 39
Figura 21 Estruturas de cromenos. 43
Figura 22 Exemplos de cromenos que apresentam atividade biológica. 43
Figura 23 Derivado cromeno com potencial atividade antibacteriana. 44
Figura 24 Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$). 48
Figura 25 Ampliação do espectro de RMN ^{1}H (400 MHz em $CDCl_3$) do cromeno. 50
Figura 26 Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$). 51
Figura 27 Cromatograma de CLAE para a mistura racêmica do cromeno. 51
Figura 28 RMN de ^{1}H de tiazolidinas formadas pela reação entre propionaldeído e (L)-cisteína 55
Figura 29 Cromatogramas das reações nº 7 e 11, e do padrão da mistura racêmica dos NFC. Coluna C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$. (A) – Salicialdeído; (B) – Nitroestireno; (1a,1b) – Padrão Cromenos (expandido). 59
Figura 30 Cromatogramas da reação nº 10 e padrão da mistura racêmica dos NFC. Coluna C18, MeOH:H2O 80:20, fluxo 0,8 mL $min.^{-1}$. (A) – Salicialdeído; (B) – Nitroestireno; (1a/1b) – Padrão Cromenos. 60
Figura 31 Cromatograma da reação nº 2. Coluna C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$. 62
Figura 32 Cromatograma da reação nº 4. Coluna C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$. 62
Figura 33 Cromatograma da amostra padrão da mistura racêmica de **1a e 1b**. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$. 63

Figura 34 Cromatograma da reação nº 2. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 63
Figura 35 Cromatograma da reação nº 7. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 63
Figura 36 Cromatograma da reação nº 6. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 65
Figura 37 Cromatograma da reação nº 9. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 65
Figura 38 Cromatograma da reação nº 11. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 66
Figura 39 Cromatograma da reação nº 4. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 67
Figura 40 Tiazolidinas derivatizadas para reação de alquilação. 71
Figura 41 Representação do ataque de E-imínio à face Si de nitroestireno[19]. 73
Figura 42 Interação do nitroestireno e o organocatalisador, denotada pela variação no deslocamento do sinal do hidrogênio da amida no RMN de ^{1}H. 76
Figura 43 Perspectiva mecanística na adição de oxa-Michael dirigida por ligação de H..76
Figura 44 Espectros de RMN de ^{1}H variando a temperatura de 25 °C até -15 °C. 79
Figura 45 Espectro de RMN de ^{1}H do composto N-Boc-N'-fenil-(L)-prolinamida (**L**). 80
Figura 46 Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H do composto (**L**). 81
Figura 47 Ampliação do espectro de RMN do composto (**L**). 82
Figura 48 Ampliação do espectro de RMN do composto (**L**). 83
Figura 49 Espectro de RMN de ^{13}C do composto (**L**). 84
Figura 50 Sinais de RMN ^{1}H dos confôrmeros cis e trans. 85
Figura 51 Espectro de RMN de ^{1}H da prolinamida (**4**). 86
Figura 52 Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H da prolinamida (**4**). 87
Figura 53 Cromatograma da reação nº **1** e padrão cromenos **1b;1a**. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 88
Figura 54 Cromatograma da reação nº **7**. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 89
Figura 55 Cromatograma/acompanhamento da evolução da reação nº 1, 24h de reação. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 93
Figura 56 Cromatograma/acompanhamento da evolução da reação nº 1, 17d de reação. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.-1. 94
Figura 57 Cromatograma/acompanhamento da evolução da reação nº 1, 30d de reação. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$. 94
Figura 58 Cromatograma da reação nº 5. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$.. 96
Figura 59 Cromatograma da reação nº 10. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.-1. 98
Figura 60 [(E)-2-nitroetenil]benzeno 104
Figura 61 Isômeros R e S do NFC. 105
Figura 62 Ácido (R)-2,2-dimetil-1,3-tiazolidina-4-carboxílico. 106
Figura 63 ácido (R)-1,3-tiazolidina-4-carboxílico. 107
Figura 64 (S)-N-fenilpirrolidina-2-carboxamida (Prolinamida). 109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Parâmetros da síntese do catalisador de tiazolidina **3a**.....57
Tabela 2 Síntese “one-pot” cromenos.....58
Tabela 3 Síntese “one-pot” cromenos.....60
Tabela 4 Síntese “one-pot” cromenos.....61
Tabela 5 Síntese one-pot cromenos. 64
Tabela 6 Síntese one-pot cromenos. 66
Tabela 7 Acompanhamento do pH das reações. 67
Tabela 8 Comparação dos sinais de RMN de ^{13}C da prolinamida sintética com a literatura. 87
Tabela 9 Síntese organocatalítica do composto **1a**. 88
Tabela 10 Síntese biocatalítica dos cromenos. 93
Tabela 11 Síntese biocatalítica dos cromenos. 95
Tabela 12 Síntese biocatalítica dos cromenos. 96
Tabela 13 Síntese biocatalítica dos cromenos. 97
Tabela 14 Síntese biocatalítica dos cromenos utilizando **α**-amilase. 100
Tabela 15 Condições das reações. 111
Tabela 16 Síntese one-pot de cromenos biocatalisada por CAL B. 112
Tabela 17 Síntese one-pot de cromenos biocatalisada por CAL B. 112
Tabela 18 Síntese one-pot de cromenos biocatalisada por CAL B. 113

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 Reação de Grignard. 23
Esquema 2 Síntese de Knowles empregando o Rh-DIPAMP. 24
Esquema 3 Síntese de Noyori usando o composto BINAP. 25
Esquema 4 Reação de Sharpless catalisada por DET. 26
Esquema 5 Adição assimétrica de Michael de aldeídos lineares a β-nitroestirenos, catalisada pela enzima promíscua 4-oxalocrotonato tautomerase (4-OT). 28
Esquema 6 Mecanismo proposto pelos autores da reação biocatalisada de Michael de aldeídos lineares a β-nitroestirenos, catalisada pela enzima promíscua 4-oxalocrotonato tautomerase (4-OT). 28
Esquema 7 Síntese de alcoóis graxos enantiomericamente puros usando a fotoenzima CvFAP. 29
Esquema 8 Síntese de cetonas bicíclicas quirais, por meio de reações aldólicas intramoleculares[32, 33] 30
Esquema 9 Exemplos de reações organocatalisadas por prolina. Adaptado[19]. 33
Esquema 10 Reação organocatálitica de MacMillan. 33
Esquema 11 Reação multicomponente de Mannich, usando bis-tioureia quiral como organocatalisador. 38
Esquema 12 Reação de alquilação de Friedel-Crafts de indóis com substratos enal alifáticos na presença de LmrR. 39
Esquema 13 Exemplo reação de adição 1,4 de Michael. 40
Esquema 14 Reação de condensação aldólica. 41
Esquema 15 Exemplo de reação em cascata oxa-Michael/aldol. 42
Esquema 16 Reação em cascata oxa-Michael/aldol para a síntese de 2H-cromenos quirais catalisados. Adaptado[46]. 42
Esquema 17 Síntese de diferentes cromenos. 46
Esquema 18 Síntese do nitroestireno. 47
Esquema 19 Síntese do nitroestireno através de uma reação de Henry seguida por uma desidratação de um intermediário β-nitroálcool. 47
Esquema 20 Proposta do mecanismo da reação em cascata oxa-Michael-Henry (OMH). 49
Esquema 21 Reação aldol assimétrica organocatalítica de acetona e fenilmetanal. 52
Esquema 22 Reação de Michael assimétrica usando organocatalisador quiral. 53
Esquema 23 Reação de adição de Michael. 53
Esquema 24 Reação aldol assimétrica. 53
Esquema 25 Reação de formação de tiazolidina. 54
Esquema 26 Esquema geral da reação de síntese de nitro-fenilcromeno (NFC) catalisada por tiazolidina. 56
Esquema 27 Reação de formação de tiazolidina a partir de propanona e (L)-cisteína. 56
Esquema 28 Mecanismo proposto para síntese de **3a** ($R_1 = CH_3$) e **3b** ($R_1 = H$). 57
Esquema 29 Reação de formação de tiazolidina a partir de metanal e (L)-cisteína. 59
Esquema 30 Proposta de possível mecanismo para síntese assimétrica discutida. 68
Esquema 31 Adição de Michael de cicloexanona e nitroestireno. Adaptado[56]. 69
Esquema 32 Síntese assimétrica de nitrocromenos. Adaptado[56] 70
Esquema 33 Reação de alquilação enantiosseletiva do benzaldeído com dietilzinco. Adaptado[57]. 70
Esquema 34 Reação assimétrica de Michael entre a cicloexanona e nitroestireno. 71

Esquema 35 Síntese do cromeno utilizando L-prolina como organocatalisador. Adaptado[19]. 72
Esquema 36 Síntese do cromeno utilizando L-prolina e aditivo. Adaptado[19]. 73
Esquema 37 Síntese de de 3-nitro-2H-cromenos catalisada por uma 4-hidroxiprolinamida simples com 4-nitrofenol como cocatalisador. Adaptado[49]. 74
Esquema 38 Reação tandem o-Michael-Henry catalisada por N-fenil-L-prolinamida. 75
Esquema 39 Síntese da prolinamida (**4**). 77
Esquema 40 Mecanismo da reação de síntese do organocatalisador **4**. 78
Esquema 41 Reação aldólica enantiosseletiva de aldeídos para síntese de (R)-pantolactonas. 90
Esquema 42 Reação intramolecular de Michael na síntese de ceto-aldeídos ciclicos quirais. 91
Esquema 43 Desacetilação enzimática promovida por CAL-B. 92
Esquema 44 Mecanismo proposto para adição aza-Michael de anilina a 2-butenona usando α-amilase. 99
Esquema 45 Reação de síntese do nitroestireno. 103

SUMÁRIO

RESUMO iv
ABSTRACT v
LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS vi
LISTA DE FIGURAS vii
LISTA DE ESQUEMAS x
1 INTRODUÇÃO 14
1.1 ESTEREOQUÍMICA, ISOMERIA E REAÇÕES ORGÂNICAS 14
1.2 SÍNTESE ASSIMÉTRICA 19
1.2.1 CATÁLISE ASSIMÉTRICA 23
1.3 REAÇÕES DE MICHAEL, ALDÓLICAS E EM CASCATA OXA-MICHAEL/ALDOL 39
1.4 CROMENOS 43
2 OBJETIVOS 45
2.1 GERAIS 45
2.2 ESPECÍFICOS 45
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 46
3.1 SÍNTESE *ONE-POT* (ÚNICO VASO) DE (*R*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1a) E (*S*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1b) UTILIZANDO TIAZOLIDINA (3a) DERIVADA DE (*L*)-CISTEÍNA PRODUZIDA EM SITU. 52
3.2 SÍNTESE *ONE-POT* (ÚNICO VASO) DE (*R*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1a) E (*S*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1b) UTILIZANDO DERIVADO DE (*L*)-PROLINA 72
3.3 SÍNTESE ONE-POT DE (*R*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1a)/(*S*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1b) E (*R*)-2-FENIL-2*H*-CHROMENO-3-CARBALDEÍDO (2a)/(*S*)-2-FENIL-2*H*-CHROMENO-3-CARBALDEÍDO (2b) UTILIZANDO A ENZIMA CAL-B 91
3.4 SÍNTESE ONE-POT DE (*R*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1a)/(*S*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1b) E (*R*)-2-FENIL-2*H*-CHROMENO-3-CARBALDEÍDO (2ª)/(*S*)-2-FENIL-2*H*-CHROMENO-3-CARBALDEÍDO (2b) UTILIZANDO α-AMILASE 98
4 CONCLUSÕES 102
5 PARTE EXPERIMENTAL 103
5.1 MÉTODOS GERAIS 103
5.2 METÓDOS PARA A OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS PROPOSTOS 103
5.2.1 Procedimento para síntese de [(*E*)-2-nitroetenil]benzeno (B) (nitroestireno) 103
5.2.2 MÉTODO GERAL PARA A SÍNTESE DOS CROMENOS 104
5.2.3 SÍNTESE CATALISADA POR TIAZOLIDINAS 3a E 3b 106
5.2.4 SÍNTESE CATALISADA POR PROLINAMIDA (4) 109
5.2.5 SÍNTESE CATALISADA POR ENZIMAS 111
6 Referências 115

7 APÊNDICE 119

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESTEREOQUÍMICA, ISOMERIA E REAÇÕES ORGÂNICAS

Compostos de carbono, que é tetravalente, apresentam várias possibilidades estruturais. Átomos de carbono, ao formar cadeias carbônicas, podem apresentar geometria tetraédrica, trigonal ou linear. Isso ocorre devido à capacidade dos seus orbitais s e p, do nível mais externo, se hibridizarem formando novos orbitais do tipo sp^3, sp^2 ou sp.

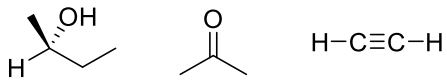


Figura 1 Moléculas contendo carbonos tetraédrico, trigonal e linear respectivamente.

A possibilidade da vida na terra, e até onde se sabe no universo, é estrita à existência de cadeias carbônicas que formam compostos como: açúcares, aminoácidos, que compõem as proteínas, e ácidos nucleicos. Encontrada em alimentos ricos em proteínas como: ovo, carne, leite e derivados, soja e feijão, a L-lisina (Figura 2) é um aminoácido essencial que não pode ser biosintetizado[1]. A lisina ajuda o corpo humano a absorver cálcio e desempenha um papel importante na formação de colágeno, uma substância importante para os ossos e tecidos conjuntivos, incluindo pele, tendões e cartilagens.

Os aminoácidos são compostos anfipróticos, ou seja, que podem receber ou doar prótons. Também são anfotéricos, pois na sua cadeia há um grupo ácido e um básico, o que faz com que possam reagir tanto com um ácido quanto com uma base. Em pH fisiológico, próximo de 7, a L-lisina existe na sua forma carregada positivamente (Figura 2). Na faixa de pH 9,2 a 10,8 assume a forma de um "zwitterion", molécula neutra que apresenta átomos com carga positiva e negativa em equivalência na estrutura (Figura 2). Os aminoácidos e ou seus derivados podem ser utilizados pela indústria farmacêutica, um exemplo é o cloridrato de lisina que pode ser usado na profilaxia do herpes simples recorrente orolabial[2].

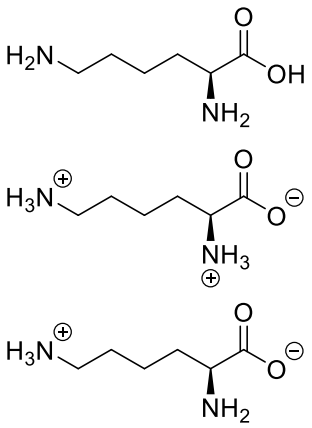


Figura 2 (2*S*)-2,6-Ácido diaminohexanóico (L-lisina).

O arranjo espacial dos compostos de carbono diz muito sobre suas propriedades físicas, químicas e bioquímicas. A temperatura de ebulição do isobutano é -11,7 °C e do butano é -1 °C (Figura 3).

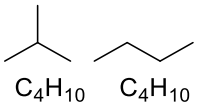


Figura 3 Exemplos de isômeros constitucionais.

Uma possibilidade interessante que envolve o arranjo dos átomos em compostos orgânicos é de duas ou mais moléculas apresentarem isomeria. Em 1830 o sueco Jöns Jakob Berzelius (1779-1848) cunhou os termos: isômero e isomeria[3]. A palavra deriva do grego *isos* que significa "igual", e *meros* que significa "parte". Isomeria é um fenômeno em que mais de um composto apresenta a mesma fórmula molecular e diferente fórmula estrutural e propriedades, não necessariamente todas.

Compostos que apresentam mesma fórmula molecular, ou seja, mesma composição atômica e que diferem quanto à conectividade de seus elementos ou no arranjo espacial dos mesmos são chamados de isômeros (Figura 4)[4].

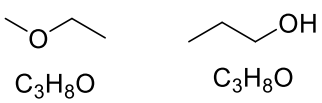


Figura 4 Dois isômeros: um éter e um álcool.

Eles se dividem em constitucionais cujos compostos se diferem devido à conectividade dos átomos e os estereoisômeros, que apresentam a mesma conectividade, porém, a disposição espacial de seus átomos é diferente. Estereoisômeros se dividem em dois grupos: os diastereoisômeros e os enantiômeros. Há também os estereoisômeros conformacionais, que estão relacionados um ao outro por rotações de ligações. Figura 5.

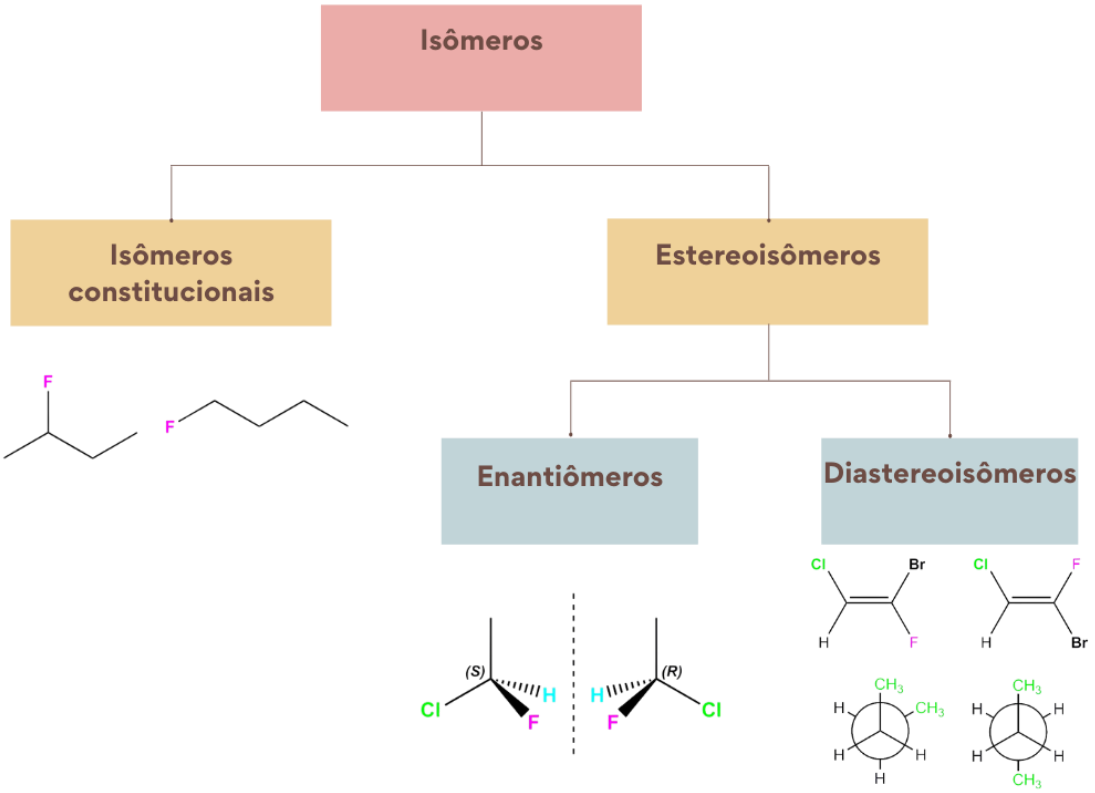
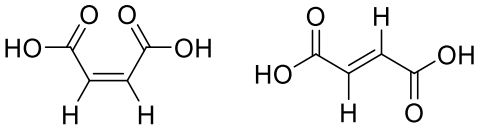


Figura 5 Tipos de isomeria.

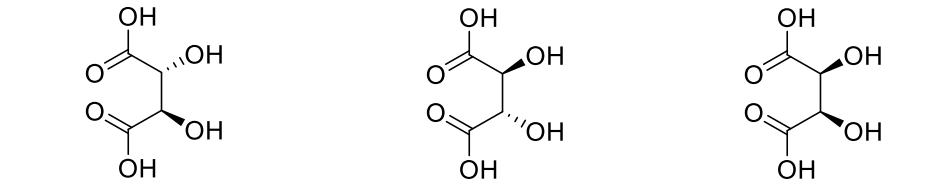
Dois exemplos de diastereoisômeros são os ácidos maleico e fumárico (Figura 6), cujas estruturas fornecem um comportamento químico diferente para cada molécula. Ao contrário do isômero *E*, ácido fumárico, o ácido maleico é capaz de sofrer uma desidratação intramolecular, uma vez que suas carboxilas estão no mesmo plano, sendo ele o isômero *Z*[5].



Ácido Maleico $C_4H_4O_4$ Ácido Fumárico $C_4H_4O_4$

Figura 6 Exemplos de diastereoisômeros, ácidos maleico e fumárico.

Em 1848 Louis Pasteur anunciou na sessão da *Académie des Sciences* (Acadêmia de Ciências) no Instituto da França em Paris, a descoberta de que os formatos dos cristais de ácido tartárico e de seus sais formados em tonéis de vinho eram diferentes, sendo assim pouco simétricos[6]. Ao isolar as substâncias percebeu que desviavam o plano da luz polarizada para lados opostos.



(+)-(*R,R*)-Ácido Tartárico (-)-(*S,S*)-Ácido Tartárico meso-Ácido Tartárico

Figura 7 Estruturas dos isômeros do ácido tartárico, um exemplo de estereoisômeros.

Pasteur passou pela tradicional educação francesa, na qual o deixou: proficiente em latim e grego, ótimo em ciências e retórica[3]. Em 1881 foi eleito membro da "Academia Francesa de Letras". Termos como assimetria ou dissimetria não eram usados nas áreas de ciências ou quase não usados, tampouco havia na época conhecimentos abrangentes sobre estruturas moleculares, ligações, reações e estereoquímica. Pasteur para classificar as substâncias estudadas adotou termos franceses *dissymétrie* (dissimetria) e sua forma de adjetivo *dissymétrique* (dissimétrica), acredita-se que ele entendeu a diferença científica entre assimetria (ausência de simetria) e quiralidade (a ideia, não a palavra), por isso usou dissimetria (quase nenhuma simetria) e evitou assimetria. Ao longo do seu trabalho passou a usar o termo dissimetria para comparar imagens especulares não sobreponíveis. O físico britânico Sir William Thomson (*Lord Kelvin*, 1824-1907) em 1894, criou os termos quiral e quiralidade. Pouco depois foram introduzidos: racêmico, prefixos levo- e dextro-[3].

Quiralidade é um fenômeno relacionado ao arranjo espacial das moléculas orgânicas, uma molécula quiral é aquela que apresenta imagem especular não sobreponível. Para que haja quiralidade a molécula não deve ser sobreponível a sua imagem especular e para isso apresentar: um centro de quiralidade (C*, Si*, S*, P*, N*, (em que asterisco (*) indica que está ligado a grupos diferentes), eixo de quiralidade (alcenos e espiranos), plano de quiralidade, ou uma forma de hélice (hexaecileno)[7]. Uma molécula quiral não apresenta plano de simetria e um carbono quiral ou assimétrico é aquele que apresenta quatro grupos ligantes diferentes, em uma molécula ele é chamado de centro de quiralidade. A figura 8 retrata duas espécies quirais.

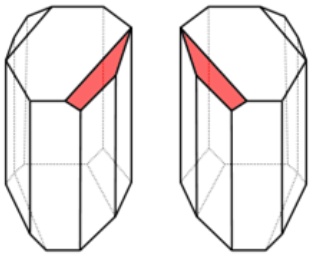


Figura 8 Cristais quirais, imagem especular uma do outro. Adaptado[8].

Enantiômeros são compostos quirais, uma vez que, são imagens especulares não sobreponíveis. Geralmente o par de enantiômeros apresenta propriedades físico-químicas praticamente idênticas, entretanto desviam o plano da luz polarizada em direções opostas. Eles também diferem na reatividade com um receptor.

Enantiômeros puros são opticamente ativos, ou seja, provocam rotação líquida no plano da luz polarizada. Uma mistura equimolar de dois enantiômeros, chamada de mistura racêmica, não é opticamente ativa. Para misturas em que a quantidade de um dos enantiômeros é maior, o termo excesso enantiomérico (*ee*), introduzido em 1971 por Morrison e Mosher[9], é utilizado para se referir à proporção maior de um com relação ao outro.

Tendo o enantiômero um único centro de quiralidade, a troca entre dois de seus grupos ligados a esse centro, provoca a sua conversão no outro que é seu par. O átomo em que uma troca de grupos produz um estereoisômero é

denominado centro estereogênico[10]. Como estereoisômeros nem sempre são quirais, um centro estereogênico também não será sempre um centro quiral.

Diastereoisômeros ativos são iguais a 2^n em que n é o número de centros quirais. Esse cálculo pode ser afetado caso haja um diastereoisômero meso (tem plano de simetria), que é aquiral e é opticamente inativo. No geral os diastereoisômeros apresentam propriedades físicas e químicas diferentes e podem ser identificados por técnicas como: difração de raios x, infravermelho, RMN e espectrômetria de massas. Os enantiômeros podem ser identificados pela rotação óptica (alfa), RMN com solvente quiral, CLAE e CGL com fase estacionária quiral, dentre outras.

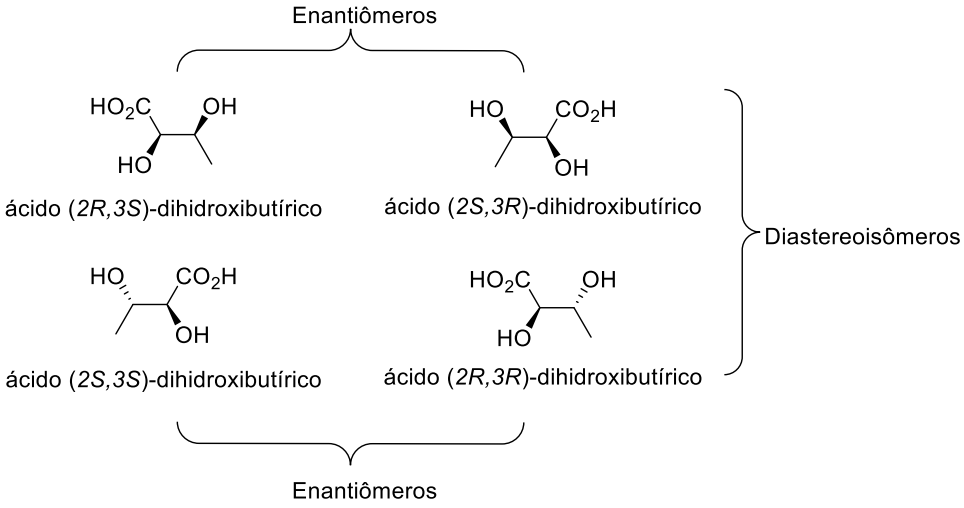


Figura 9 Enantiômeros e diastereoisômeros.

1.2 SÍNTESE ASSIMÉTRICA

Desde o advento da química orgânica como subárea da química em 1828 quando o alemão Friedrich Wöhler (1800-1882), que teve uma posição no laboratório de Berzelius[11], sintetizou a ureia a partir de substâncias inorgânicas (Figura 10), a síntese orgânica entrou em evidência[12].

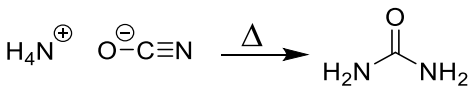


Figura 10 Síntese da ureia.

Atualmente há uma preocupação com a síntese orgânica assimétrica, isso se dá por muitos motivos, inclusive pelo fato de o meio biológico do corpo humano ser quiral, e por isso, para o tratamento de diversas enfermidades ser necessário o uso de fármacos quirais.

Mefloquina (Figura 11), um derivado da quinolina, é usado no tratamento e prevenção da malária[13] a administração é feita da mistura racêmica dos enantiômeros (*R,S*) e (*S,R*).

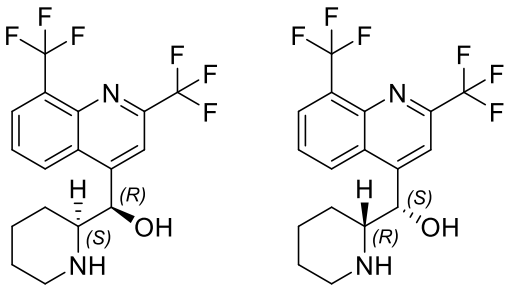


Figura 11 Enantiômeros da Mefloquina.

Moléculas como enantiômeros ao interagir seletivamente com enzimas ou com um receptor biológico estereoespecífico (macromoléculas quirais), podem provocar respostas diferentes no corpo de um ser vivo. Elas interagem se ligando por forças intermoleculares: eletrostáticas, de dispersão, hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e ligações covalentes e provocam um ou mais efeitos biológicos. Outras interagem no lugar de substâncias fisiológicas provocando o bloqueio de respostas biológicas.

Os grupos farmacofóricos ligantes de um fármaco devem estar na posição correta para se ligarem ao receptor de forma efetiva, por isso, na maior parte das vezes o par de enantiômeros terá uma resposta diferente ao tentar interagir com o sítio. Figura 12.

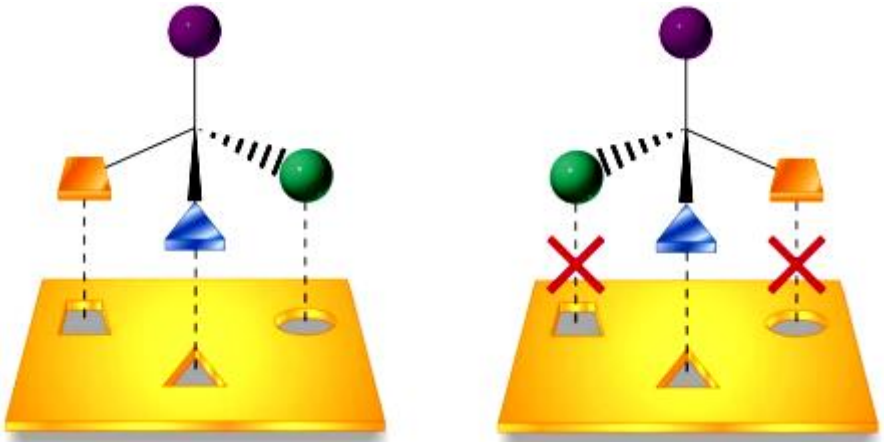


Figura 12 Modelo chave/fechadura, interação de enantiômeros e sítios ativos de enzimas.

A identificação de sabores, aromas, toxicidade e atividades biológicas dos enantiômeros se deve pela enantiodiferenciação biológica.

Um exemplo de enantiômeros que apresentam propriedades organolépticas diferentes são os isômeros do aminoácido não essencial asparagina. Foi o primeiro aminoácido isolado, enquanto a *L*-asparagina não apresenta sabor a *D*-asparagina tem sabor adocicado (Figura 13). A asparagina ao reagir com açúcares redutores como os encontrados em pães, batatas e outros, durante aquecimento ou fritura em altas temperaturas podem produzir acrilamida que é potencialmente mutagênica e carcinogênica para o ser humano[14].

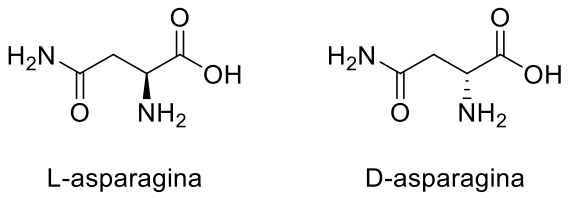


Figura 13 Isômeros da asparagina.

Existem medicamentos em que o fármaco é uma mistura racêmica dos enantiômeros, outros são um desses enantiômeros puros ou com alta pureza. A síntese orgânica assimétrica, que é o uso de reações stereoseletivas onde uma nova unidade estereogênica quiral é criada, visa justamente à preparação de substâncias enantiomericamente puras ou com pureza elevada de um dos

enantiômeros. Tal modo de reação orgânica enantiosseletiva pode produzir compostos que mimetizam enzimas e outras substâncias biológicas.

Quando se tenta realizar uma síntese assimétrica e esta não é direcionada, tende-se a formar uma mistura racêmica. Caso o objetivo seja de fato um dos enantiômeros apenas, deve-se buscar métodos que auxilie no direcionamento do composto pretendido.

A síntese e uso de fármacos enantiomericamente puros pode ter uma barreira quando se trata de valores econômicos. Dependendo da rota sintética pode haver várias etapas de síntese, ou ainda alta quantidade de substâncias utilizadas para se alcançar o produto, seja na reação ou nos processos de purificação. Por outro lado, não se pode mensurar o impacto ambiental de compostos que fazem parte de medicamentos cujo fármaco é uma mistura racêmica ou mistura desigual de enantiômeros. Quando excretados ou descartados podem formar subprodutos mais tóxicos ao reagirem com substâncias do meio.

A escolha de como serão administrados os enantiômeros e quais serão, necessita de análise cuidadosa e testes eficazes para que não se repita tragédias como a causada pela talidomida.

Talidomida é um fármaco que foi usado por grávidas como sedativo e no alívio de náuseas no final da década de 50 e na década de 60. Mostrou-se perigoso por ser uma mistura racêmica de dois enantiômeros com efeitos completamente diferentes. Enquanto um era um eutômero e apresentava o efeito desejado, o outro, um distômero, apresentava efeito adicional de teratogênico. Milhares de pessoas morreram ou nasceram com deficiências congênitas. Em muitos casos a atividade farmacológica de um fármaco está ligada a um dos enatiômeros[15].

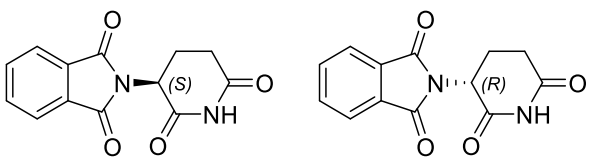
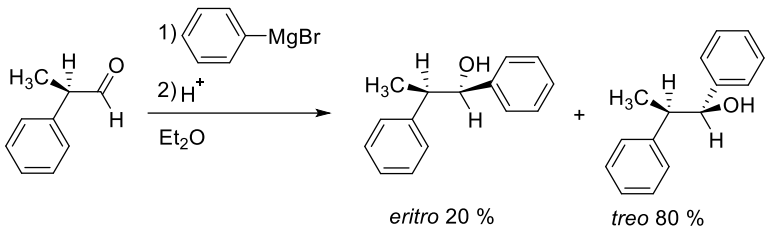


Figura 14 Isômeros da Talidomida.

No Brasil as vítimas da "síndrome da talidomida" recebem pensão e são avaliadas e classificadas conforme a herança deixada pelos efeitos do fármaco. O valor total da pensão é medido multiplicando-se um valor referência pelo grau de dependência, que é medido entre 1 e 8 pontos, levando-se em consideração quatro itens de dificuldade: alimentação, higiene, locomoção e incapacidade para o trabalho. Em 2019 entrou em vigor a lei sancionada no governo Temer, que altera o valor base de R$ 426,53 para R$ 1.000[16].

Existem duas formas de se obter produtos enantiomericamente puros: realizar uma síntese assimétrica ou síntese aquiral seguida de purificação enantiomérica. Estereosseletividade pode ser alcançada por uso de: substrato, auxiliar quiral, reagente e catalisadores.

Substrato (intramolecular): grupo quiral na vizinhança auxilia a formação do centro assimétrico (Esquema 1).



Esquema 1 Reação de Grignard.

Auxiliar quiral (intramolecular): molécula que se liga de forma não muito intensa ao substrato, que auxilia no estado transicional para a etapa assimétrica da síntese e logo é abstraída. Reagente (intermolecular): são utilizados reagentes quirais para converter um substrato pró-quiral em produto quiral. Catalisadores: usa-se moléculas quirais e material pró-quiral.

1.2.1 CATÁLISE ASSIMÉTRICA

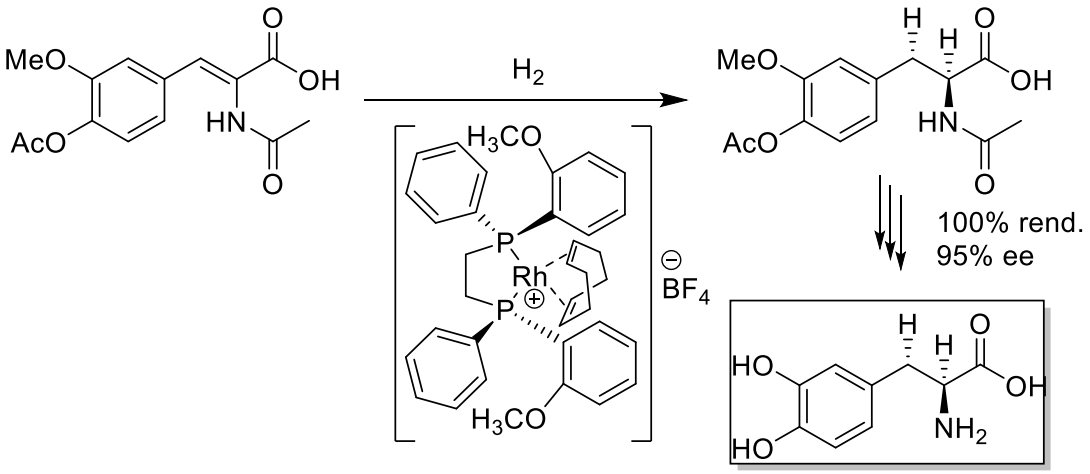
Uma forma de diminuir custos, impactos ambientais e tempo na síntese assimétrica é o emprego da catálise. Consiste em transferência de quiralidade através da interação do substrato com um catalisador quiral. Essa é uma maneira de obtenção do produto com alto excesso enantiomérico (*ee*), utilizando quantidades reduzidas de materiais.

A catálise assimétrica proporcionou um aumento na disponibilidade de insumos quirais para uso industrial, especialmente na área farmacêutica.

Pode ser homogênea, heterogênea ou mista, conforme a fase que a reação ocorre e que o catalisador se encontra, é dividida em três métodos: catálise organometálica, biocatálise e organocatálise[17].

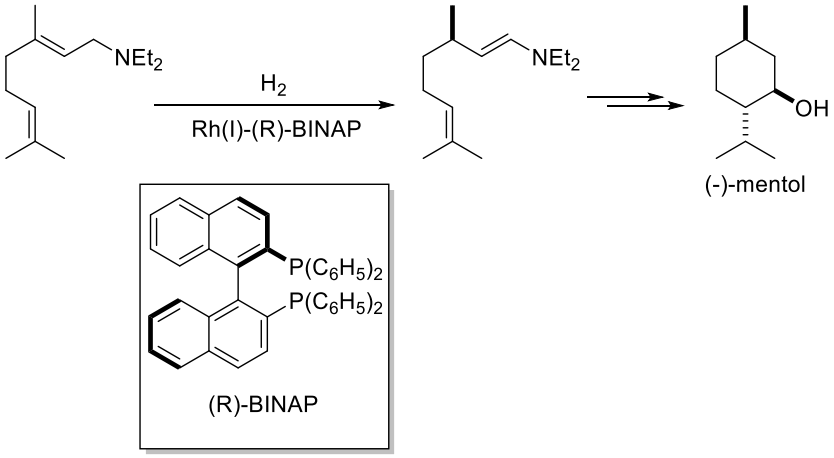
Em 2001 receberam o Prêmio Nobel de Química: William Standish Knowles, Karl Barry Sharpless e Ryoji Noyori. Foram laureados por seus trabalhos na área de catálise assimétrica. Trabalhavam com métodos de hidrogenação catalítica assimétrica (Knowles e Noyori) e de epoxidação e di-hidroxilação assimétricas (Sharpless).

Knowles usou o composto Rh-DIPAMP (DIPAMP = (*R,R*)-1,2-bis[(*orto*-metoxifenil)-fenilfosfino]etano), classificado como organometálico, para sintetizar a molécula usada como fármaco no tratamento da doença de Parkinson, L-Dopa (Esquema 2).



Esquema 2 Síntese de Knowles empregando o Rh-DIPAMP.

Após sintetizar o composto ligante BINAP (2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'binaftil) nos anos 1980[18], Noyori provocou um avanço nas reações de hidrogenações assimétricas, vários ramos industriais se beneficiaram do uso. Um exemplo é a produção de mentol, que está presente em indústrias diversas como farmacêutica e alimentícia (Esquema 3).



Esquema 3 Síntese de Noyori usando o composto BINAP.

Uma das melhores e mais comuns formas de transferência de quiralidade é a capacidade que um catalisador tem de interagir, seletivamente, com uma das faces do substrato para que um nucleófilo possa ser introduzido a uma dessas faces, da qual é denominada de enantiotópica[19].

Compostos contendo grupos funcionais pró-quirais como carbonilas e dupla ligação são exemplos de compostos com duas faces possíveis de interação. A denominação de cada uma depende da configuração espacial dos átomos. Assim como ocorre em reações de substituição nucleofílica de segunda ordem (S_N2), após o ataque a uma das faces que é definida a estereoquímica resultante.

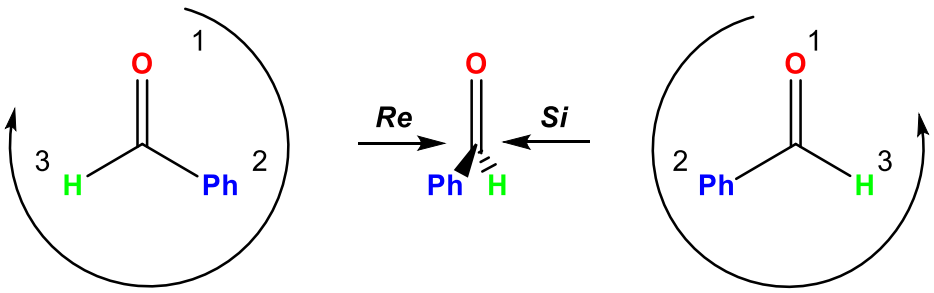
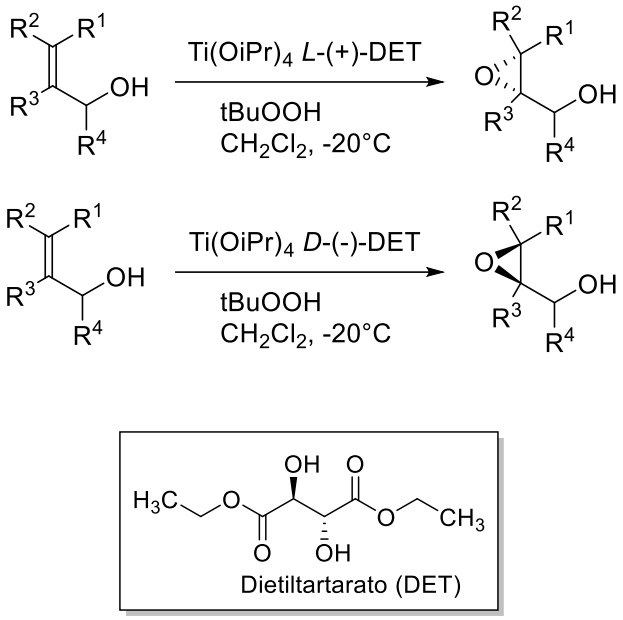


Figura 15 Representação das faces *Re* e *Si*.

Configuração movimento horário *Re* (*rectus*) e configuração movimento anti-horário *Si* (*sinister*).

O trabalho de Sharpless baseava-se em reações de epoxidação assimétrica. Ele utilizou o composto DET (dietiltartarato) como catalisador

(Esquema 4). O ataque durante o estado transicional nas faces *Re* ou *Si* determinam o estereoisômero a ser formado com alto *ee*, (-)-DET ataca pela face *Si* e (+)-DET pela *Re*[20].



Esquema 4 Reação de Sharpless catalisada por DET.

1.2.1.1 ORGANOMETÁLICOS

O uso de Organometálicos quirais é um dos métodos mais eficientes para obtenção de compostos com elevada enantiosseletividade, por muito tempo foram vistos como o principal método de catálise assimétrica.

Técnicas como vaso único, do inglês "*one-pot"*, que significa realizar todas as etapas da reação em apenas um sistema, combinado com uso de catálise heterogênea têm contribuído para tornar mais eficiente e sustentável as reações assimétricas, reduzindo e otimizando o uso de materiais de partida, solventes e inclusive catalisadores[21].

Organometálicos normalmente deixam resíduos que devem ser controlados, uma vez que a legislação está cada vez mais estrita com relação ao descarte de materiais, especialmente metais pesados. Traços de metais potencialmente tóxicos em fármacos também requer atenção[22].

Metais de transição, em especial nobres, tem alto valor comercial, isso pode inviabilizar algumas sínteses.

Por serem mais sensíveis ao meio reacional, o solvente, outros catalisadores e outros reagentes são um obstáculo no planejamento da síntese e utilização dos compostos organometálicos, seja na catálise homogênea ou na heterogênea e principalmente reações *one-pot*.

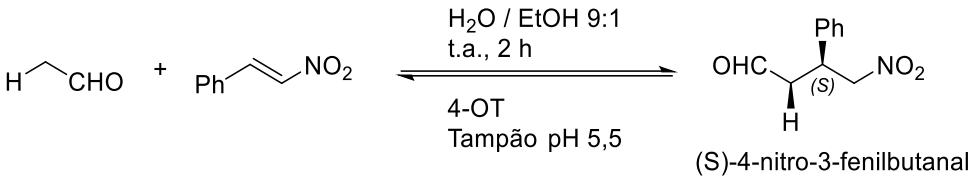
1.2.1.2 BIOCATÁLISE

O meio biológico é muito seletivo, as enzimas catalisam processos de síntese que geram compostos com 100% de *ee*. Como já discutido, por diversos fatores busca-se com a catálise assimétrica mimetizar enzimas e outros compostos a fim de se obter também excelentes resultados. Biocatálise é uma metodologia elegante[23], é considerada uma "ferramenta verde"[24], isso porque utiliza moléculas biológicas como as próprias enzimas que são biodegradáveis e atóxicas. O meio reacional geralmente é ameno, aquoso e temperatura ambiente (igual ao meio biológico), e ambientalmente correto.

Buscando-se alternativas para o uso de organometálicos ou organocatalisadores, biocatalisadores (principalmente enzimas) estão sendo modificados ou utilizados em conjunto com outras técnicas, especialmente aquelas que são favoráveis ao meio ambiente. Tais modificações favorecem adaptação a diferentes condições de reações, como uso de solventes orgânicos ou não, pH diversos, temperaturas extremas e aceitação de substratos não naturais[25].

Yufeng e colaboradores[26], demonstraram a eficácia da reação de adição assimétrica de Michael de aldeídos lineares a β-nitroestirenos, catalisada pela enzima promíscua 4-oxalocrotonato tautomerase (4-OT) contendo resíduo de aminoácido do tipo prolina terminal (Pro-1) (Esquema 5).

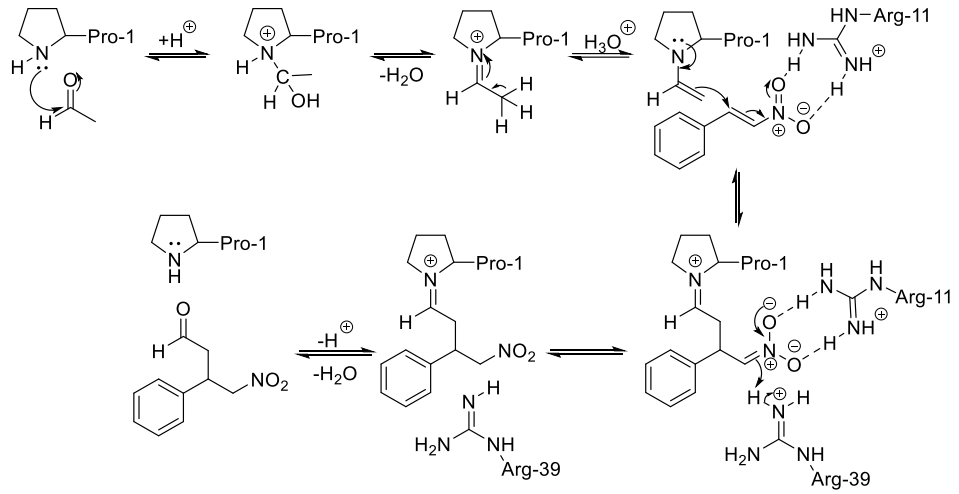
Promiscuidade enzimática é a habilidade de uma enzima em catalisar uma reação secundária que não seja a padrão natural esperada. A promiscuidade de hidrolases e lipases tem sido extensivamente estudadas[27].



Esquema 5 Adição assimétrica de Michael de aldeídos lineares a β-nitroestirenos, catalisada pela enzima promíscua 4-oxalocrotonato tautomerase (4-OT).

A amina secundária da prolina participou efetivamente da ativação do substrato benzaldeído devido sua possibilidade de gerar um íon imínio desprotonado e um intermediário posterior do tipo enamina. A formação de enamina pode ser possibilitada pelo ambiente hidrofóbico no sítio ativo, que reduz o pKa da amina secundária da prolina para 6,47 em comparação com 10,58 do aminoácido livre[28].

Esse intermediário nucleofílico ataca a ligação dupla do trans-nitroestireno (eletrófilo) provocando a adição. Os resíduos Arg-11 e Arg-39 também foram fundamentais na etapa decisiva da reação (Esquema 6). O rendimento da reação foi de 70% e o *ee* 81% do enantiômero *S*.

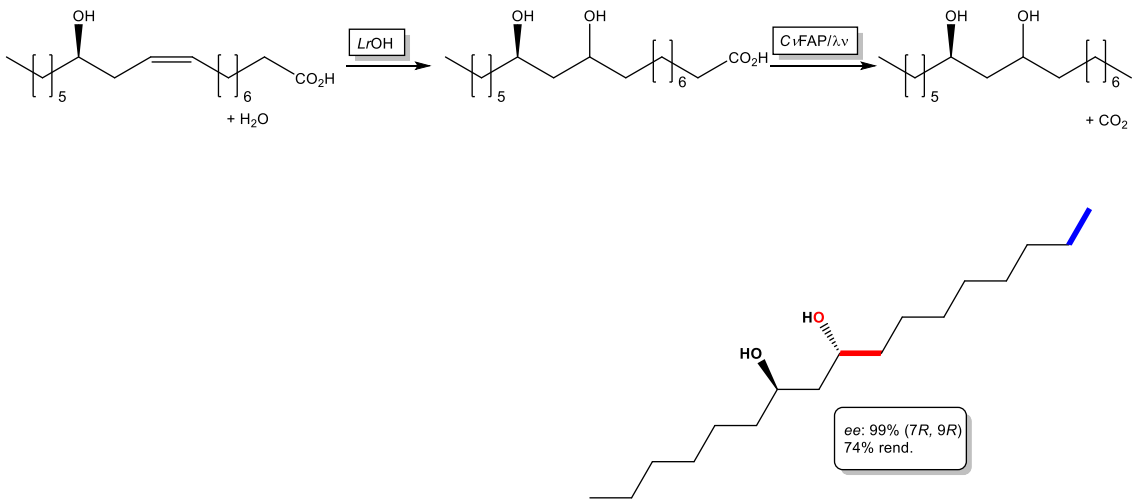


Esquema 6 Mecanismo proposto pelos autores da reação biocatalisada de Michael de aldeídos lineares a β-nitroestirenos, catalisada pela enzima promíscua 4-oxalocrotonato tautomerase (4-OT).

A indústria química busca constantemente renovar técnicas tradicionais a fim de dotar os processos de eficiência, produtividade e sustentabilidade. A reutilização dos resíduos industriais, especialmente da matéria orgânica oriunda das indústrias química, farmacêutica e agrícola está em evidência.

Fotobiocatálise é um método inovador e recente que combina a biocatálise com fotocatálise ou fotoquímica. Existem compostos que suas atividades catalíticas só se iniciam quando há luz incidente para ativá-los, como a descarboxilase de ácido carboxílico fotoativada (CvFAP), uma fotoenzima.

Os trabalhos de Zhang e colaboradores[29] usando CvFAP se nortearam pela possibilidade de promover a síntese de blocos de construção, moléculas que são usadas como base estrutural na produção de certos compostos, a partir de derivados de ácidos graxos insaturados renováveis. Foram produzidos, através de reações em cascata e *one-pot*, alcoóis graxos enantiomericamente puros. O processo simples consiste na adição de uma enzima do tipo oleato hidratase (*Lactobacillus reuteri*-LrOH) promotora da hidratação da insaturação da cadeia do ácido, e logo em seguida da adição da enzima CvFAP que promove a descarboxilação (Esquema 7).



Esquema 7 Síntese de alcoóis graxos enantiomericamente puros usando a fotoenzima CvFAP.

Enzimas do tipo oxidorredutase promovem a oxirredução de substratos orgânicos diversos, como alcoóis, aminas e cetonas[27].

Nos últimos anos tem-se usado com frequência em fotobiocatálise enzimas do tipo NAD(P)H-oxidorredutase dependente (cofator nicotinamida), tais compostos são ativados por luz azul (460 nm) devido a presença em sua estrutura de um anel de nicotinamida[25].

Depois de ativada a enzima pode catalisar reações redox que por via enzimática natural não eram possíveis. Para vencer a limitação a certos

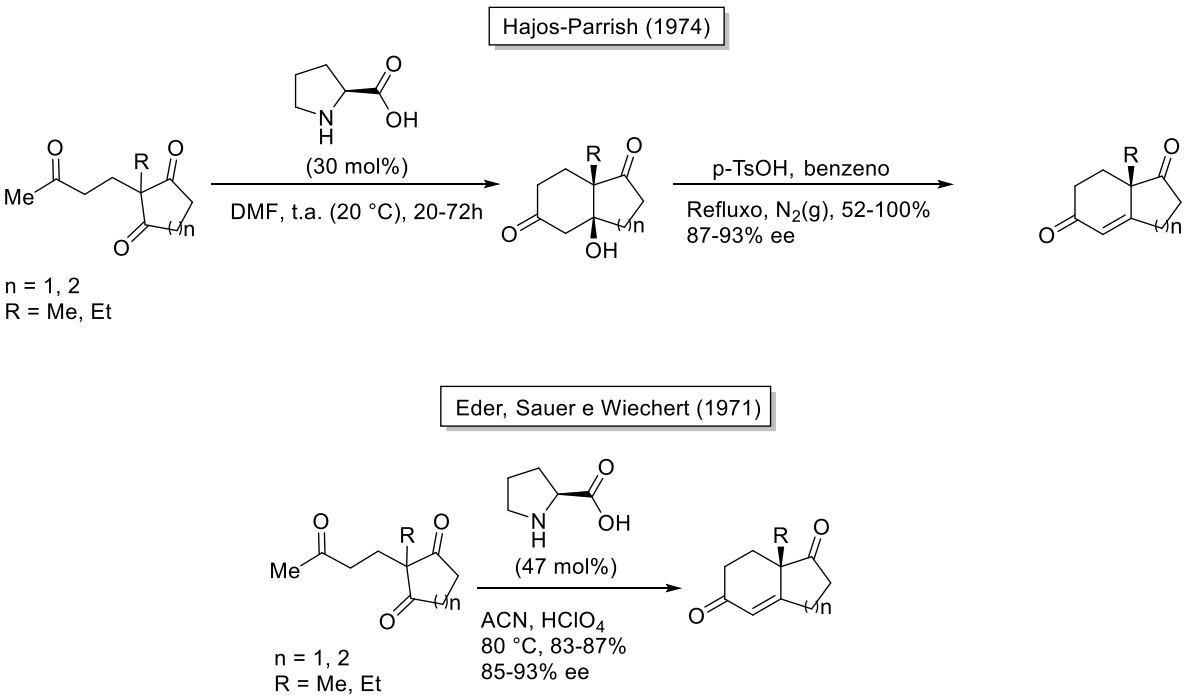
substratos, e o fato de uma reação que requer luz não ocorrer no ambiente de uma proteína, utiliza-se um fotossensibilizador/fotocatalisador, que é uma espécie que auxilia o estado intermediário de ativação da enzima (cofator) e possibilita a reação redox. O ciclo catalítico depende desses fotosensibilizadores.

1.2.1.3 ORGANOCATÁLISE ASSIMÉTRICA

Entre o final das décadas de 1960 e 1990, poucos trabalhos se referiram à catálise assimétrica no qual o catalisador era uma molécula orgânica sem a presença de um metal e diferente de uma enzima.

Em 1970 em trabalhos independentes descritos por Hajos e Parrish e por Eder, Sauer e Wiechert, foi publicado pela primeira vez uma transformação enantiosseletiva utilizando-se um organocatalisador (Esquema 8)[30, 31].

.



Esquema 8 Síntese de cetonas bicíclicas quirais, por meio de reações aldólicas intramoleculares[32, 33]

Recentemente o mecanismo para tal reação foi elucidado utilizando um método da mecânica quântica chamado: "Teoria do Funcional da Densidade (do inglês, *Density Functional Theory, DFT*)" [34]. Tal estudo sugere que primeiro haja

formação de íon imínio, depois de enamina e ligação C–C, logo após de intermediário cetol e por último ocorre uma desidratação formando o produto.

Após ficar anos desacreditada ou esquecida a organocatálise no início dos anos 2000 entrou em ascensão no ramo da síntese orgânica.

Trata-se de uma metodologia de catálise que trabalha com compostos orgânicos isentos de metais na sua estrutura (organocatalisadores), geralmente não muito complexos, que são capazes de catalisar reações dos mais variados tipos. Busca não só um bom rendimento e velocidade, mas principalmente enantiosseletividade, uma vez que as substâncias assimétricas são alvo de interesse.

Organocatalisadores são moléculas simples ou derivados delas, por exemplo, aminoácidos, que em uma reação atuam ativando o nucleófilo ou o eletrófilo ou ambos.

Outro papel dos organocatalisadores é a criação de um ambiente reacional assimétrico[35].

Geralmente apresentam uma fórmula estrutural contendo carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, enxofre ou fósforo. Apresentam nenhuma ou pouca toxicidade, são: ambientalmente favoráveis e fáceis de serem degradados, passíveis de reciclagem catalítica, estáveis à presença de oxigênio atmosférico e diferentes solventes, baratos e estereosseletivos[32].

O número de substâncias naturais ou sintéticas e seus derivados desenvolvidos nos últimos anos para atuarem como organocatalisadores tem crescido, dentre essas destacam-se: compostos fosforados, derivados de guanididina, sulfonamidas, uréias/tiouréias, alcalóides e aminoácidos[30].

No esquema 9 o aminoácido *L*-prolina foi usado para catalisar as reações. A figura 16 apresenta alguns organocatalisadores.

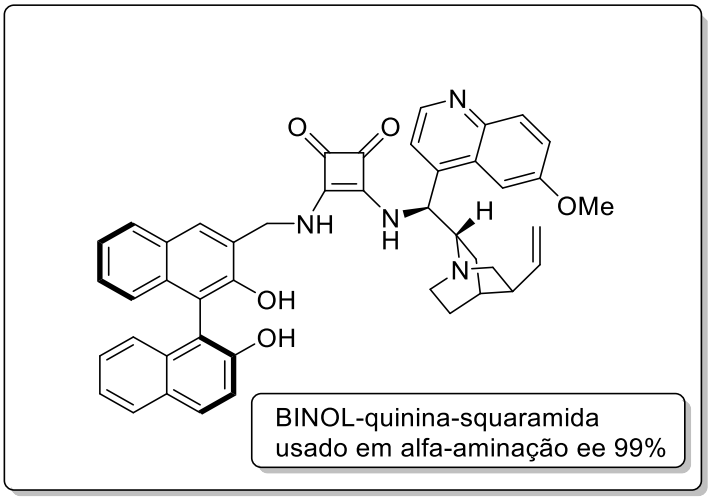
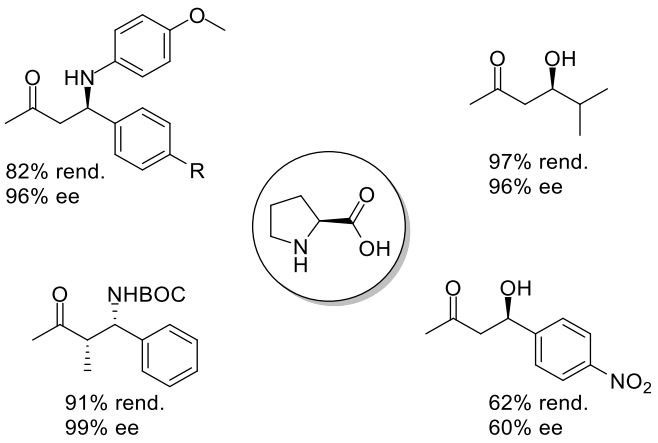


Figura 16 Exemplos de organocatalisadores. Adaptado[36].

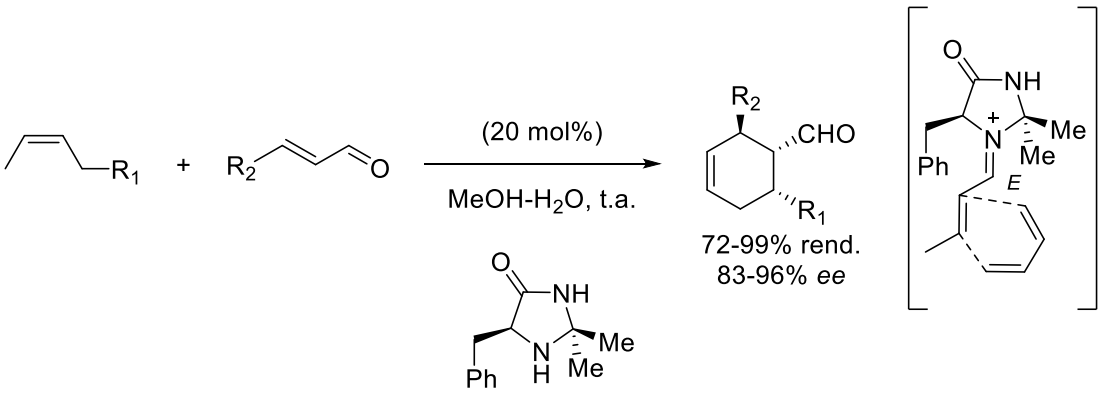
O marco da organocatálise se tornou o início dos anos 2000 devido às contribuições paralelas e independentes de Benjamin List, David W.C. MacMillan, que cunhou o termo organocatálise, e ainda de Carlos F. Barbas III, chefe do grupo em que List participava como PHD[17]. Com suas contribuições abriram uma possibilidade de catálise assimétrica mais "verde" do que a catálise organometálica e mais simples e viável financeiramente do que a biocatálise.

List iniciou seus trabalhos com anticorpos catalíticos, porém, ao tentar entender o funcionamento de enzimas na catálise percebeu que nem todas apresentavam metais em suas estruturas. Imaginou então que os aminoácidos das enzimas, que eram os responsáveis pela catálise, poderiam ser usados isoladamente delas. A partir dessa ideia iniciou sua incursão pelo campo da organocatálise testando a *L*-prolina como possível catalisador de uma reação aldólica (Esquema 9) e para sua surpresa ela não só era um ótimo catalisador, mas também levava à assimetria do produto.



Esquema 9 Exemplos de reações organocatalisadas por prolina. Adaptado[19].

MacMillan trabalhou testando como catalisadores moléculas simples contendo o elemento nitrogênio (imidazolidinona) em reações de Diels-Alder entre aldeídos α,β-insaturados e diferentes dienos (Esquema 10)[32].



Esquema 10 Reação organocatálitica de MacMillan.

Em 2021 Benjamin List e David W.C. MacMillan foram laureados com o Prêmio Nobel de química devido suas contribuições ao longo dos anos, em especial no início desse milênio, na área de organocatálise assimétrica[37, 38].

Organocatálise não exclui as demais formas, mas agrega e complementa, possibilita inclusive a combinação. Estabelece-se como o 3º pilar da catálise assimétrica[17].

A evidência da organocatálise diante da comunidade científica pode ser comprovada pela constância no número de publicações mesmo durante o período da pandemia da Covid-19, conforme figura 17.

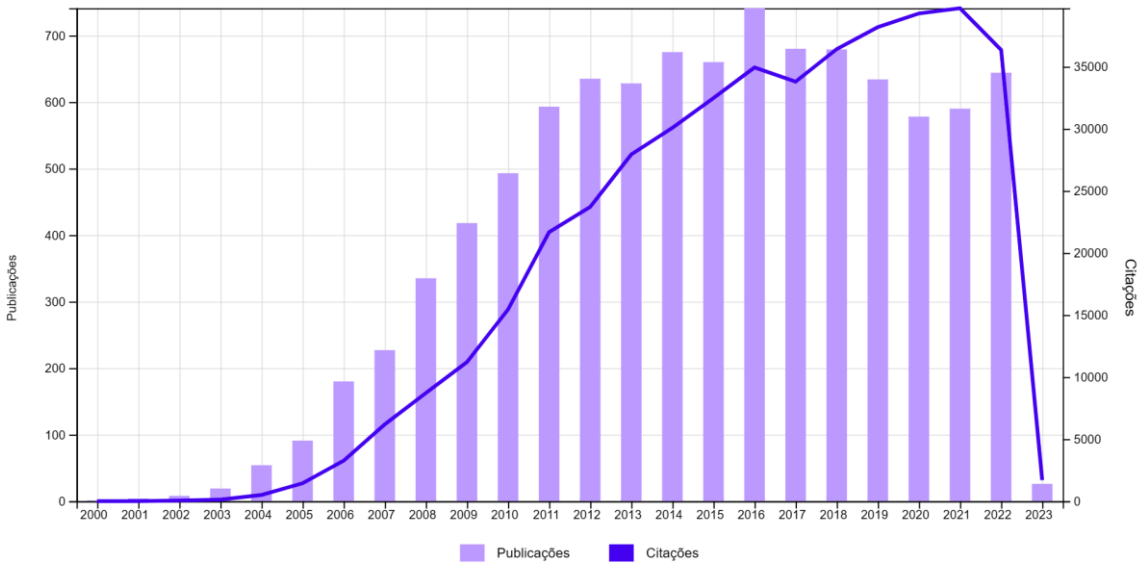


Figura 17 Gráfico de número de publicações/citações contendo o termo "organocatalysis" dos últimos 22 anos, encontradas na base de dados Web of Science. Acesso em: 09/02/23.

Para ilustrar a capacidade da organocatálise e se ter ideia da importância real para a indústria e sociedade, pode-se citar a síntese da estricnina (Figura 18), alcaloide muito tóxico usado no passado como veneno para ratos e proibida no Brasil desde os anos 1980.

Foi isolado da natureza na sua forma pura pela primeira vez em 1818[39], a primeira rota sintética (1952) possuía cerca de 29 etapas e baixíssima taxa de conversão. Com o auxílio da organocatálise em 2011, baixou para apenas 12 e aumentou a eficiência em 7000%[37].

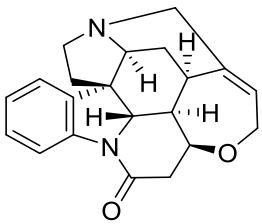


Figura 18 Estricnina.

Nos últimos anos a organocatálise passou por uma racionalização com base nos diversos modos de ativação de seus organocatalisadores[32]. Tal feito possibilita o emprego do mesmo composto em diversas reações pelo modo como este ativa as espécies reacionais. A ativação geralmente ocorre por: via enamina,

íon imínio, ligação de hidrogênio, contra-íon, SOMO, fotorredox, carbeno e transferência de fase[32].

1.2.1.3.1 ATIVAÇÃO DOS ORGANOCATALISADORES

Organocatalisadores tem duas funções principais; eles podem ativar o eletrófilo ou o nucleófilo ou ainda ambos (caso seja bifuncional), ou eles criam um ambiente assimétrico que é responsável pela definição da quiralidade dos produtos[31].

A elevada enantiosseletividade geralmente alcançada, é explicada pela organização dos substratos devido o ambiente quiral gerado no estado de transição.

O modo de ativação dos organocatalisadores é dependente do tipo de interação dos mesmos com os substratos, podendo essa ser covalente ou não covalente.

A catálise covalente ocorre quando há formação de ligação covalente entre o organocatalisador e o substrato. Usa-se para tal um carbeno (base de Lewis) ou um aminocatalisador.

A catálise não covalente acontece quando a interação é intermolecular do tipo ligação de hidrogênio (ácidos de Brønsted-Lowry) ou iônica (formação de pares iônicos/transferência de fase).

Atualmente são variados os métodos de ativação, abaixo são descritos brevemente alguns e mais adiante aqueles que estão diretamente correlacionados com esse trabalho são detalhados.

Uma enamina pode ser formada através de uma condensação entre uma amina secundária e um aldeído ou cetona, após desprotonação do íon imínio. Enamina similar ao enolato atua como nucleófilo. A ligação do organocatalisador, através do grupo amina, com o substrato torna esse mais nucleofílico. Esse modo de catálise é poderoso e possibilita a formação de ligações C-C e C-X com alta indução assimétrica e em variados sistemas[40].

List e Michrowska publicaram a síntese da (+)-ricciocarpin A (Figura 19) e análogos, que apresenta atividade antiparasitária, em especial moluscicida contra

o caramujo Biomphalaria glabrata, um vetor da esquistossomose. Tal síntese passa pela formação de enamina durante a catálise[31, 41].

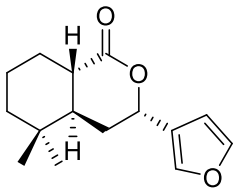


Figura 19 Estrutura da (+)-ricciocarpin A.

Os carbenos consistem em compostos neutros contendo um átomo de carbono divalente com seis elétrons na camada de valência. A catálise via formação de carbenos geralmente ocorre com essa espécie e um aldeído, por exemplo, formando uma espécie mais nucleofílica que favorece a adição a um eletrófilo. Há variações na técnica que produzem excelentes resultados como o emprego de Carbenos N-Heterocíclicos[42].

Organocatálise via SOMO (do inglês, *"Singly Occupied Molecular Orbital"*), que significa: Orbital Molecular Ocupado Individualmente. Ocorre quando certas espécies, como enaminas, após passar por reações, principalmente redox, se transformam em radicais. Tais compostos são reativos e podem participar de diversas reações radicalares sendo capazes de formar ligações do tipo C-C, C-O, C-N, C-S e C-X[32].

Transferência de fase é uma via da organocatálise, usa-se para esse método espécies como sais quaternários de nitrogênio e fósforo quirais associados a um contra-íon para promover a reação entre duas substâncias em diferentes fases imiscíveis. A interação do catalisador com o nucleófilo aumenta a solubilidade desse em fase orgânica.

1.2.1.3.1.1 INTERAÇÕES DE HIDROGÊNIO

Organocatalisadores que apresentam estruturas com grupos passíveis de estabelecerem interações de hidrogênio podem catalisar reações estereosseletivas. Alguns compostos apresentam a possibilidade de ativar o substrato através de uma interação e outros duas ou mais, dependendo do

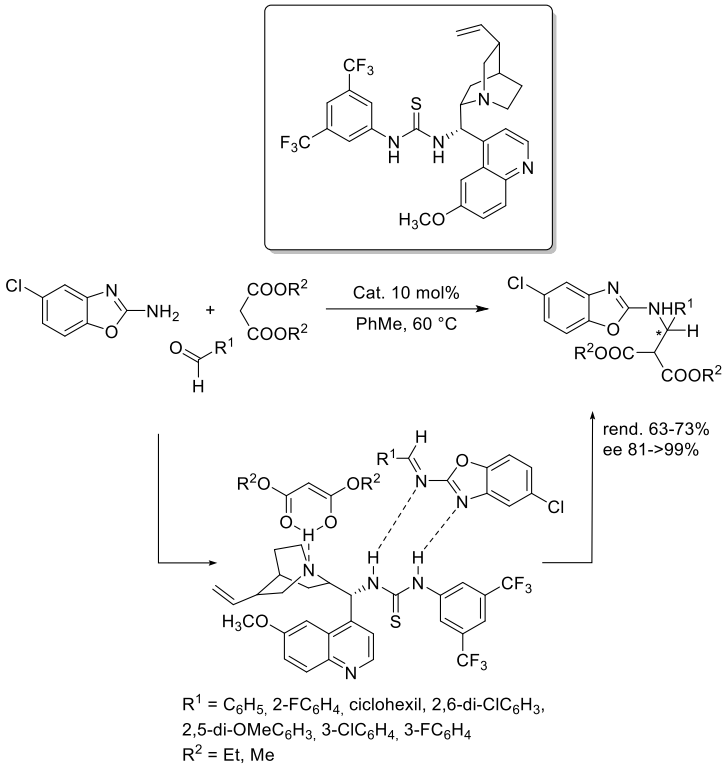
número de sítios. Organocatalisadores baseados em tioureia geralmente apresentam dupla ligação de hidrogênio.

O número de reações em que esse método de ativação tem sido utilizado tem crescido desde os anos 1980, como por exemplo em: reações aldólicas, de Diels-Alder, de Henry, de adição de Friedel-Crafts, diferentes reações de adição conjugada, epoxidações, reações de Mannich, reações de Biginelli, reações de Pictet-Spengler, reações de redução, amidação e alilação, entre outras[32].

Catalisadores bifuncionais geralmente apresentam em adição a outro esse modo de ativação, é o caso por exemplo da *L*-prolina. Enquanto um sítio usando um dos modos de ativação interage com o substrato e forma um intermediário, o outro através de interação de hidrogênio orienta o nucleófilo para o ataque.

O estudo revisional de Tasneem Parvin e colaboradores[35] refere-se ao uso de organocatalisadores à base de tioureias.

Um dos estudos citados é sobre reações multicomponentes de Mannich, usando bis-tioureia quiral como organocatalisador. Nesse, empregou-se 2-amino-5-cloro-benzoxazol, aldeído e malonato de dialquila em tolueno a 60 °C, na presença de alcaloide de cinchona tioureia para produção de derivados de β-amino éster. O mecanismo representado no esquema 11, propõe a formação de imina in situ por 2-amino-5-clorobenzoxazol e aldeído, e a ativação dessa pelo organocatalisador que também ativa a forma enol do malonato de dialquila através de sua porção básica.



Esquema 11 Reação multicomponente de Mannich, usando bis-tioureia quiral como organocatalisador.

1.2.1.3.1.2 ÍON IMÍNIO

O íon imínio (Figura 20) se forma logo após a reação reversível de um aminocatalisador e um substrato carbonílico[43]. Sua reatividade geralmente é maior que de compostos carbonílicos.

Imínio catálise é muito usada para ativar compostos carbonílicos α,β-insaturados[44]. Sua reatividade frente à nucleófilos é devido à maior eletrofilicidade alcançada pela menor energia de seu orbital LUMO.

Durante a fase de planejamento sintético é primordial escolher/produzir um catalisador que o par de elétrons, no caso de aminas, esteja desimpedido. A face do substrato que estará disponível para aproximação do catalisador também deve estar desimpedida para melhor seletividade, aliado a isso o controle da geometria do íon é primordial[32].

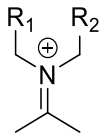
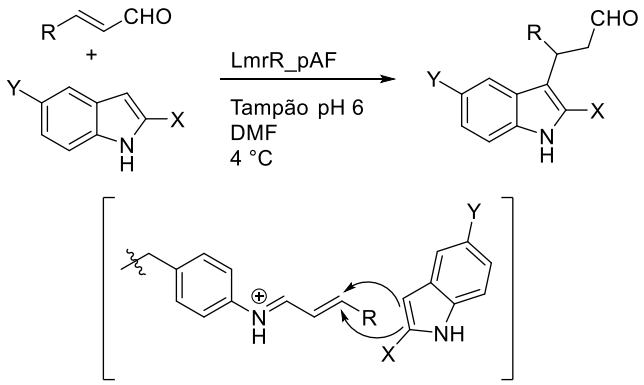


Figura 20 Íon Imínio.

Um método sintético proposto por Gerard Roelfes e colaboradores[45], utilizando enzimas artificiais através de uma proteína não enzimática: "reguladora de resistência a múltiplas drogas lactocócica homodimérica - LmrR" (do inglês, "*homodimeric Lactococcal multi-drug resistance regulatory protein*"), se mostrou eficaz na alquilação de Friedel-Crafts de indóis com substratos enal alifáticos.

O substrato é ativado para ataque nucleofílico na posição β pela formação de íons imínio no resíduo catalítico do aminoácido não canônico pAF (para-aminofenilalanina), ligado à LmrR na posição 15. O resultado foram excessos enantioméricos acima de 80%.

O controle do pH se mostrou importante devido a abundância de prótons em solução e a correlação com o pKa do íon imínio, cuja protonação é crucial para catálise.



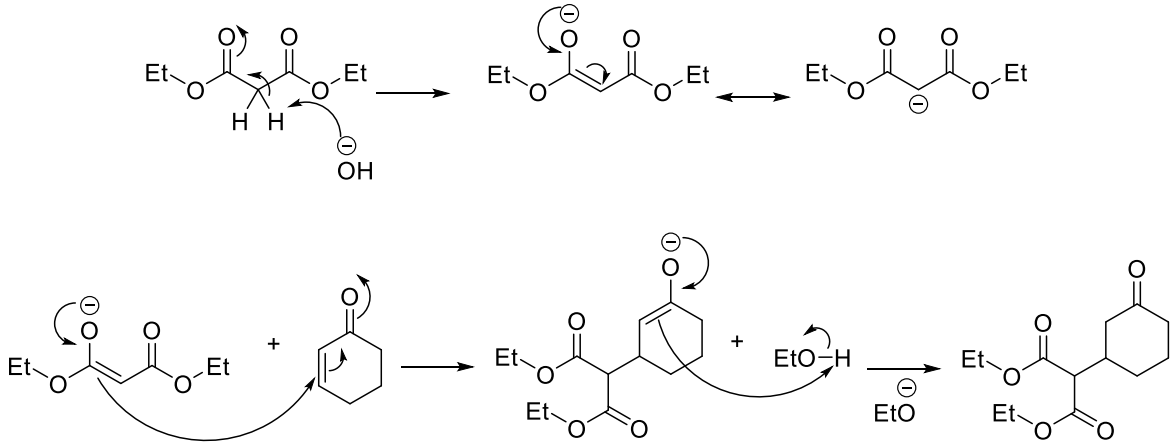
Esquema 12 Reação de alquilação de Friedel-Crafts de indóis com substratos enal alifáticos na presença de LmrR.

1.3 REAÇÕES DE MICHAEL, ALDÓLICAS E EM CASCATA OXA-MICHAEL/ALDOL

Adição de Michael é uma versátil ferramenta em síntese orgânica quando se deseja estabelecer uma ligação carbono-carbono e C-X (X = N, O, S)[46].

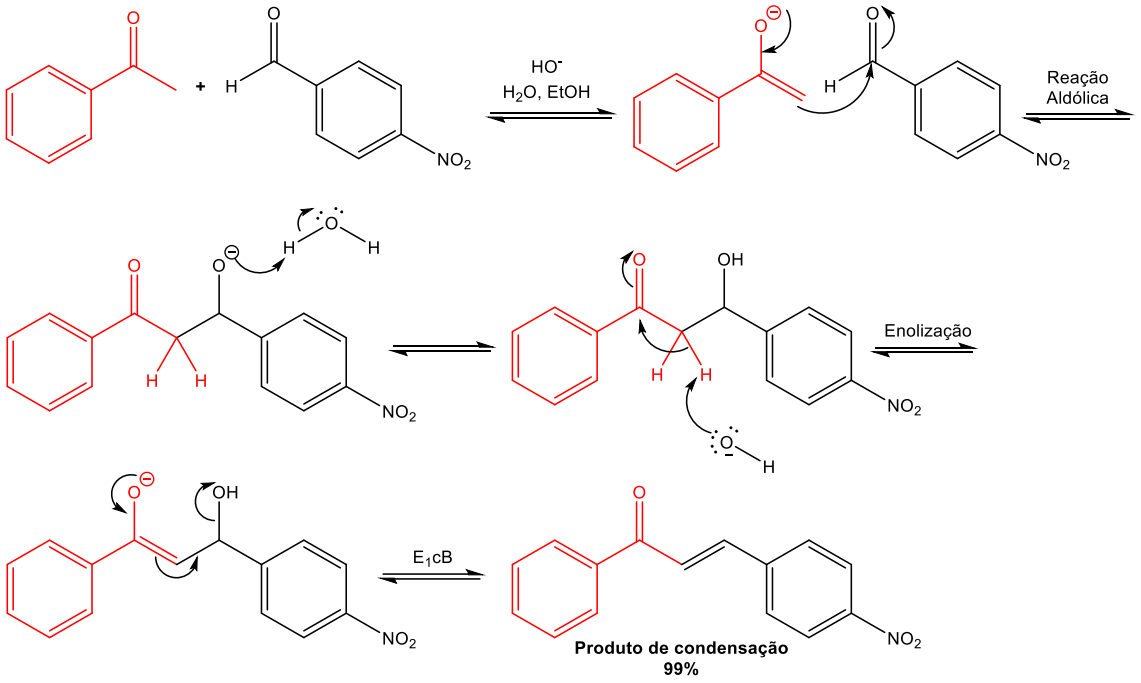
Reação amplamente usada, em especial em síntese assimétrica. Ocorre pelo ataque de um nucleófilo (doador de Michael) a um aceptor de Michael ativado, por exemplo, uma cetona ou aldeído (doadores) a uma nitroolefina (aceptor) resultando em um aduto de Michael.

Comumente conhecida como uma adição direta 1,2 (rápida e irreversível) ou conjugada 1,4 (lenta e reversível) de um nucleófilo do tipo enolato a um composto dieno conjugado ou carbonílico α,β-insaturado (Esquema 13).



Esquema 13 Exemplo reação de adição 1,4 de Michael.

Reações aldólicas ocorrem entre dois compostos carbonílicos iguais ou diferentes, um enolato, enol ou derivado com aldeídos ou cetonas (adição nucleofílica à carbonila) conduzidos por uma base ou ácido geralmente em quantidade catalítica, geram um composto carbonílico substituído na posição beta (β) por grupo hidróxido. As condições podem levar a formação posterior de um composto α,β-insatutados através de uma desidratação/eliminação, caso assim se proceda tem-se uma reação de condensação aldólica (Esquema 14).

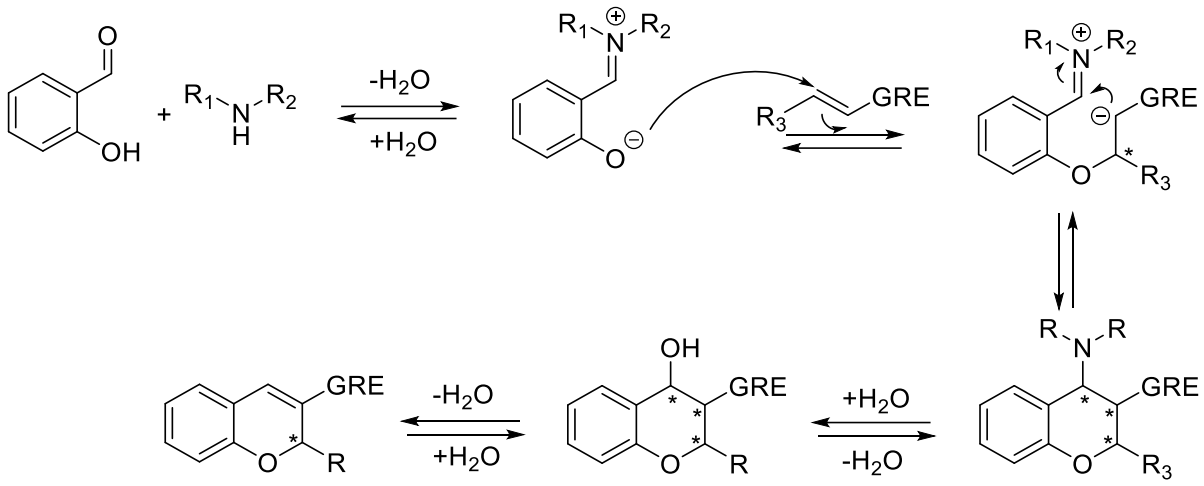


Esquema 14 Reação de condensação aldólica.

Se há no meio reacional mais de um composto enolizável pode haver mistura de vários produtos, porém, o planejamento sintético geralmente prevê tal situação e é usado apenas um composto enolizável.

Reações aldólicas intramoleculares também são comuns e formam compostos cíclicos.

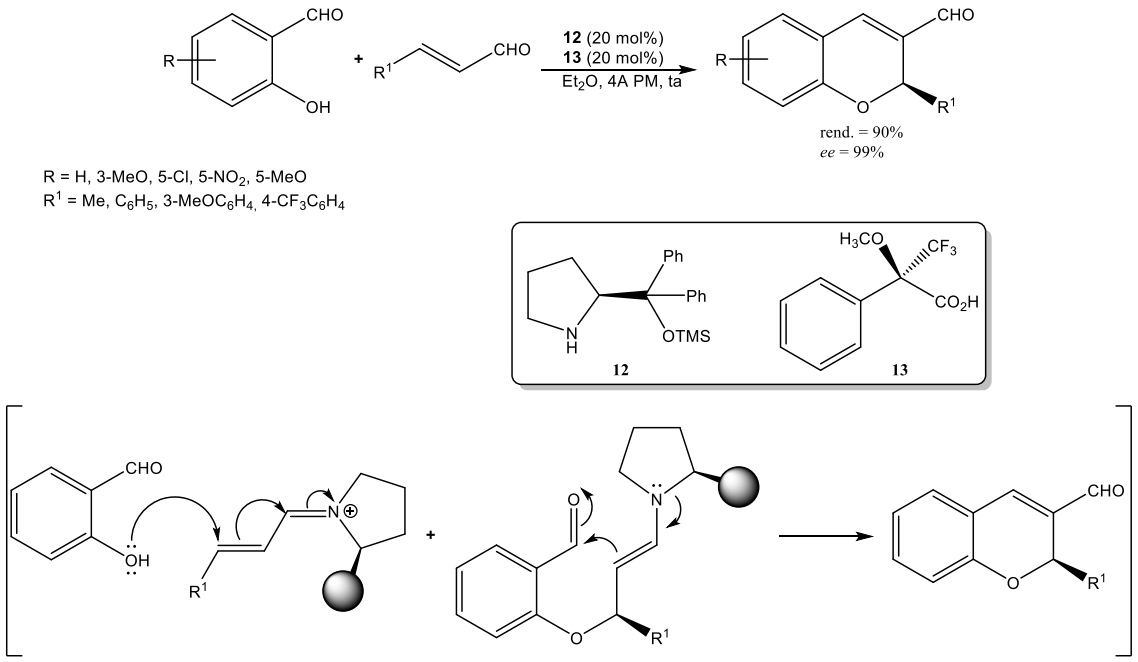
Reações em cascata oxa-Michael são reações intramoleculares que ocorrem com a adição de um oxigênio a um sistema α,β-insaturado na primeira etapa, levando à formação de um íon intermediário enolato, nitro-enolato ou outro grupo retirador de elétrons (GRE) dependendo do aceptor de Michael, que, por sua vez, realiza uma adição aldólica ao grupo carbonila presente na molécula inicial.



Esquema 15 Exemplo de reação em cascata oxa-Michael/aldol.

A aplicação de organocatalisadores em reações em cascata oxa-Michael para sintetizar estruturas contendo oxigênio como heterociclos, biciclos, espiros e policiclos tem se diversificado. Ultimamente vários tipos têm sido empregados, como: prolina e derivados, tiúreias, esquaramidas, dentre outros.

Yu Wang e Da-Ming Du em seus estudos revisionais apresenta um exemplo de síntese de 2*H*-cromenos através de uma reação em cascata do tipo oxa-Michael/aldol, realizada pelo grupo de Xu em 2009[46]. Esquema 16.



Esquema 16 Reação em cascata oxa-Michael/aldol para a síntese de 2*H*-cromenos quirais catalisados. Adaptado[46].

Nas reações oxa-Michael-Henry, o aminoácido *L*-prolina e seus derivados são utilizados para gerar o sal de imínio, promovendo um ambiente assimétrico para o segundo ataque do nucleófilo.

1.4 CROMENOS

Os cromenos são importantes compostos de versátil perfil biológico. São heterobicíclicos com anel pirano (oxaciclo) e ligação dupla nas posições 3 e 4 ou 2 e 3 (Figura 21).

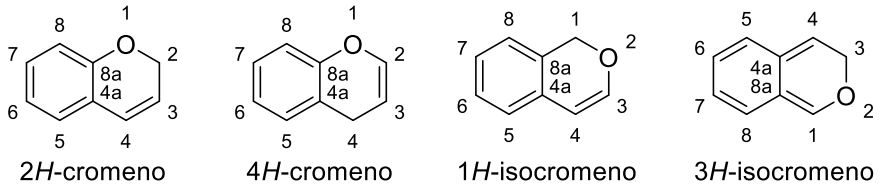


Figura 21 Estruturas de cromenos.

Derivados cromenos estão presentes em plantas, icluindo vegetais e frutas, produtos farmacêuticos e compostos bioativos.

São amplamente encontrados em alcaloides naturais, tocoferóis, flavonoides e antocianinas[47].

Desempenham importantes atividades biológicas, portanto são usados como anticâncer, anticonvulsionante, antimicrobial, antiturbeculose, antidiabetes, dentre outros. São moléculas que apresentam nenhuma ou baixa toxicidade.

Abaixo são representados dois compostos, o primeiro com atividade antiproliferativa contra diferentes linhagens celulares de câncer humano e o segundo um agente antirreumático[47].

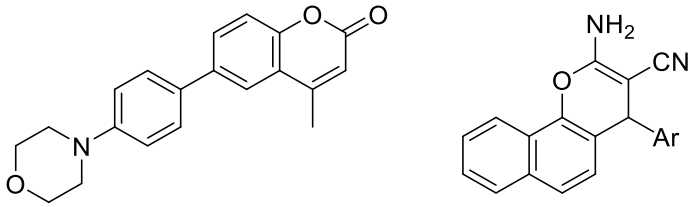


Figura 22 Exemplos de cromenos que apresentam atividade biológica.

Estudos demonstraram que derivados cromenos podem apresentar ação antibacteriana, sendo o composto abaixo representado o que apresentou melhores resultados[48].

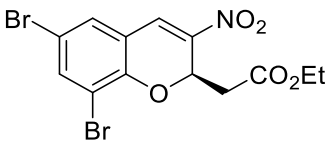


Figura 23 Derivado cromeno com potencial atividade antibacteriana.

3-Nitro-2*H*-cromenos são uma subclasse importante dos 2*H*-cromenos devido suas atividades biológicas e o seus potenciais para serem usados como percussores na síntese de moléculas importantes[49].

2 OBJETIVOS

2.1 GERAIS

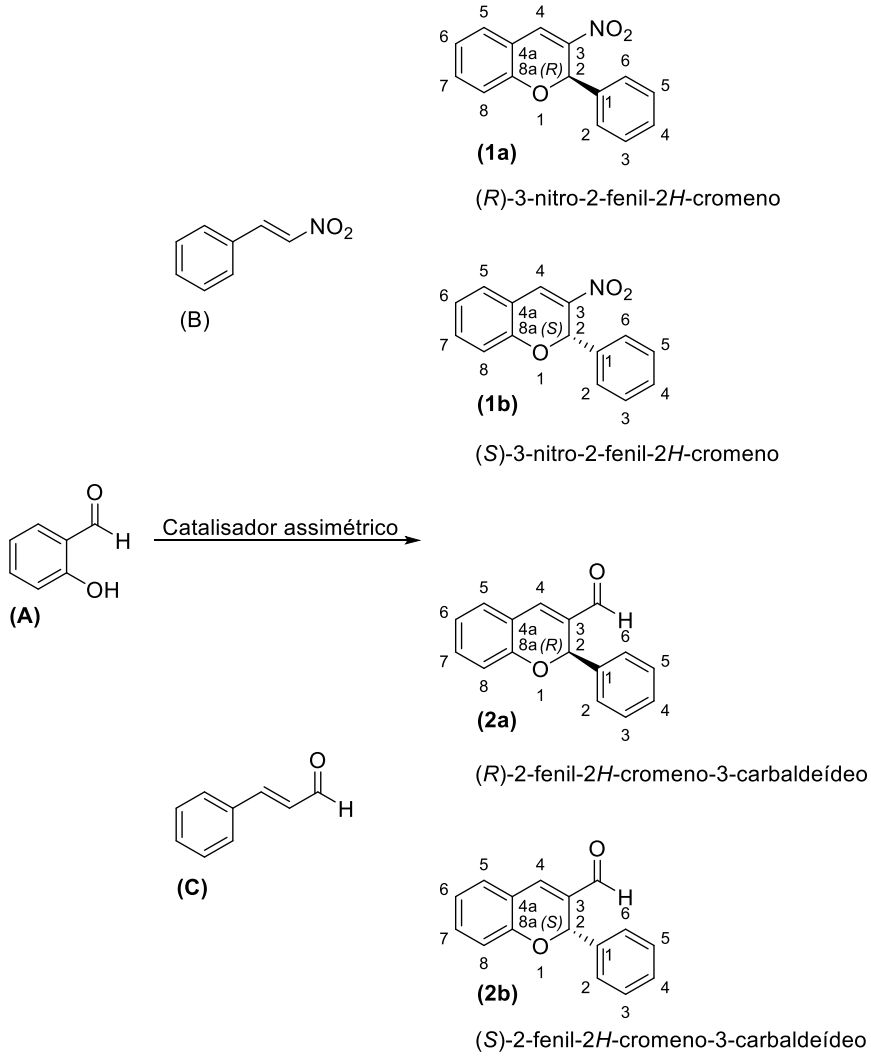
Estudar a utilização de derivados de *L*-amino ácidos naturais e enzimas em diferentes meios reacionais em reações organocatalíticas do tipo *O*-Michael-Aldol e aldólicas assimétricas.

2.2 ESPECÍFICOS

- Sintetizar derivados de *L*-aminoácidos e emprega-los na catálise de cromenos;
- Avaliar condições reacionais favoráveis ao excesso enantiomérico utilizando derivados de *L*-amino ácidos como organocatalisadores ou enzimas como biocatalisadores;
- Testar a catálise assimétrica em meio aquoso principalmente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

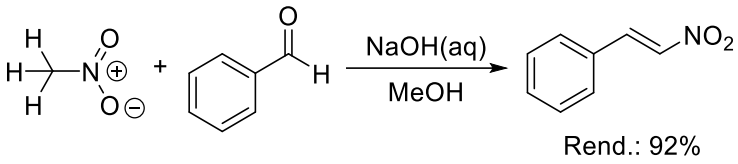
Este estudo focou em testar diferentes moléculas na catálise assimétrica da reação entre salicilaldeído (2-hidroxibenzaldeído) **(A)** e dois aceptores de Michael diferentes: nitroestireno [(*E*)-2-nitroetenil]benzeno **(B)** e cinamaldeído ((*E*)-3-fenilprop-2-enal) **(C)**, que produzem **1a/1b** e **2a/2b** respectivamente (Esquema 17).



Esquema 17 Síntese de diferentes cromenos.

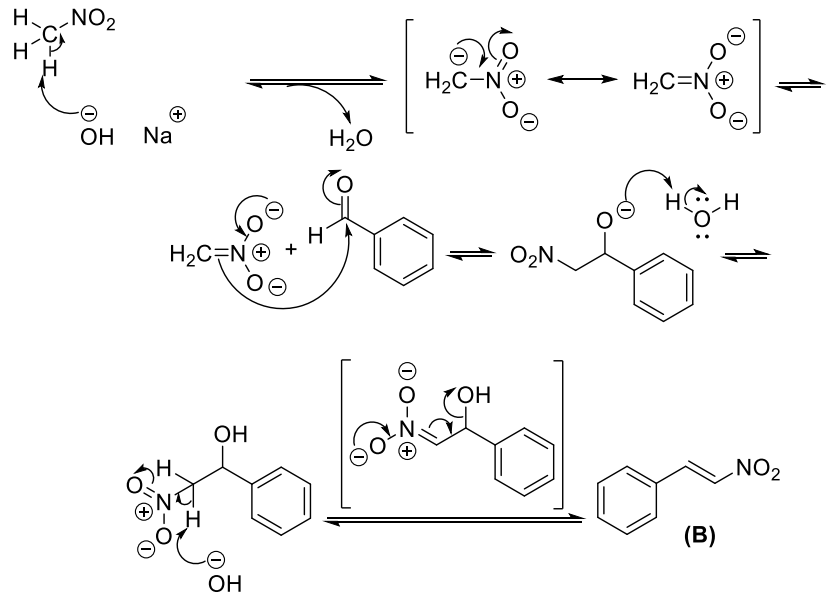
Os reagentes utilizados são comerciais, menos o nitroestireno (**B**) que foi produzido através de uma síntese rotineira do nosso laboratório (Esquema 18), sua pureza foi atestada por Cromatografia em Camada Delgada - CCD,

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE e Ressonância Magnética Nuclear - RMN.



Esquema 18 Síntese do nitroestireno.

Tal síntese do nitroestireno trata-se de uma reação de Henry, entre o nitrometano e benzaldeído em presença de hidróxido de sódio. A reação inicia-se com a abstração do hidrogênio ácido do nitroalcano, gerando, assim, um carbânion estabilizado por ressonância (nitroenolato). Na etapa seguinte, esse nitroenolato age como nucleófilo, que ataca a carbonila do aldeído, formando o nitroálcool, que, nesse mesmo meio, é facilmente eliminado via um mecanismo E1cB (reação de eliminação de base conjugada), o que forma o nitroestireno (Esquema 19).



Esquema 19 Síntese do nitroestireno através de uma reação de Henry seguida por uma desidratação de um intermediário β-nitroálcool.

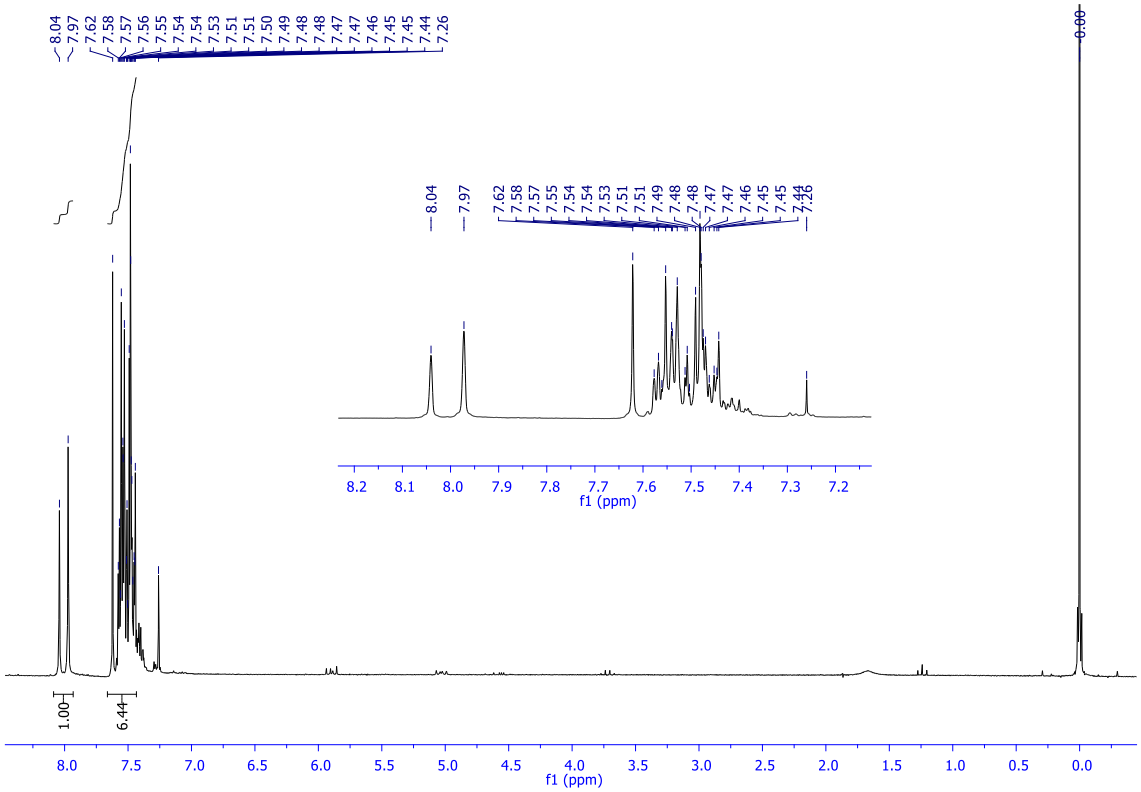
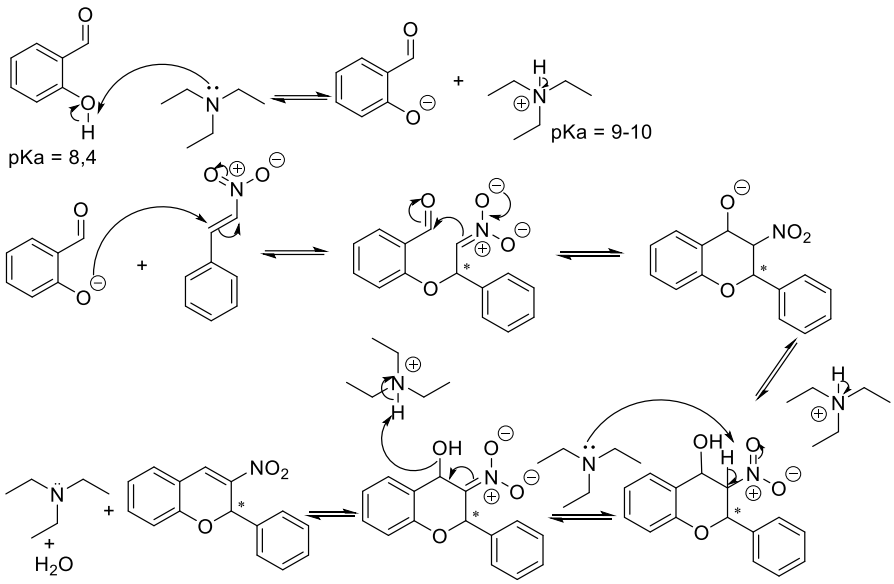


Figura 24 Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$).

O espectro de RMN de ^{1}H do nitroestireno (Figura 24) apresenta sinais característicos de hidrogênios aromáticos na região entre 7,0 e 7,5 ppm na forma de um multipleto sobreposta a um dos hidrogênios da ligação dupla. Um pouco mais deslocado em 8,0 ppm aparece um dupleto (d) característico de hidrogênio de ligação dupla com constante de acoplamento *J* = 13,5 Hz, característico de geometria *E.*

Para se ter um padrão racêmico, a síntese dos nitrocromenos (**1a/1b)** via oxa-Michael-Henry (OMH) foi realizada através da reação entre o salicialdeído (**A**) e o nitroestireno (**B**) (Esquema 20) em presença de trietilamina como base e THF (tetraidrofurano) como solvente.



Esquema 20 Proposta do mecanismo da reação em cascata oxa-Michael-Henry (OMH).

Trietilamina é uma base empregada na reação em cascata oxa-Michael entre o saliciladeído e nitroestireno desde 1978[50], sendo nesse caso formado o racemato.

O esquema 20 é uma proposta para o mecanismo da reação. O ácido conjugado da trietilamina possui um pKa entre 9 e 10, já o hidrogênio fenólico do saliciladeído tem pKa próximo de 8,4, isso favorece a reação ácido-base entre a trietilamina e o salicilaldeído e é assim que a reação se inicia. O íon fenolato ataca na sequência a ligação dupla da olefina, isso desloca o par de elétrons da dupla para o carbono α-NO_2, que é estabilizado (íon nitroenolato). Então uma adição desse íon intermediário à carbonila do saliciladeído ocorre e, após receber um próton do meio, o nitroálcool é gerado. Este nitroálcool é facilmente desidratado em condições básicas, pois gera um sistema π-conjugado, o que favorece a formação racêmica do cromeno α,β-insaturado.

Após o consumo dos materiais de partida, o produto foi purificado e caracterizado por RMN de ^{1}H e ^{13}C.

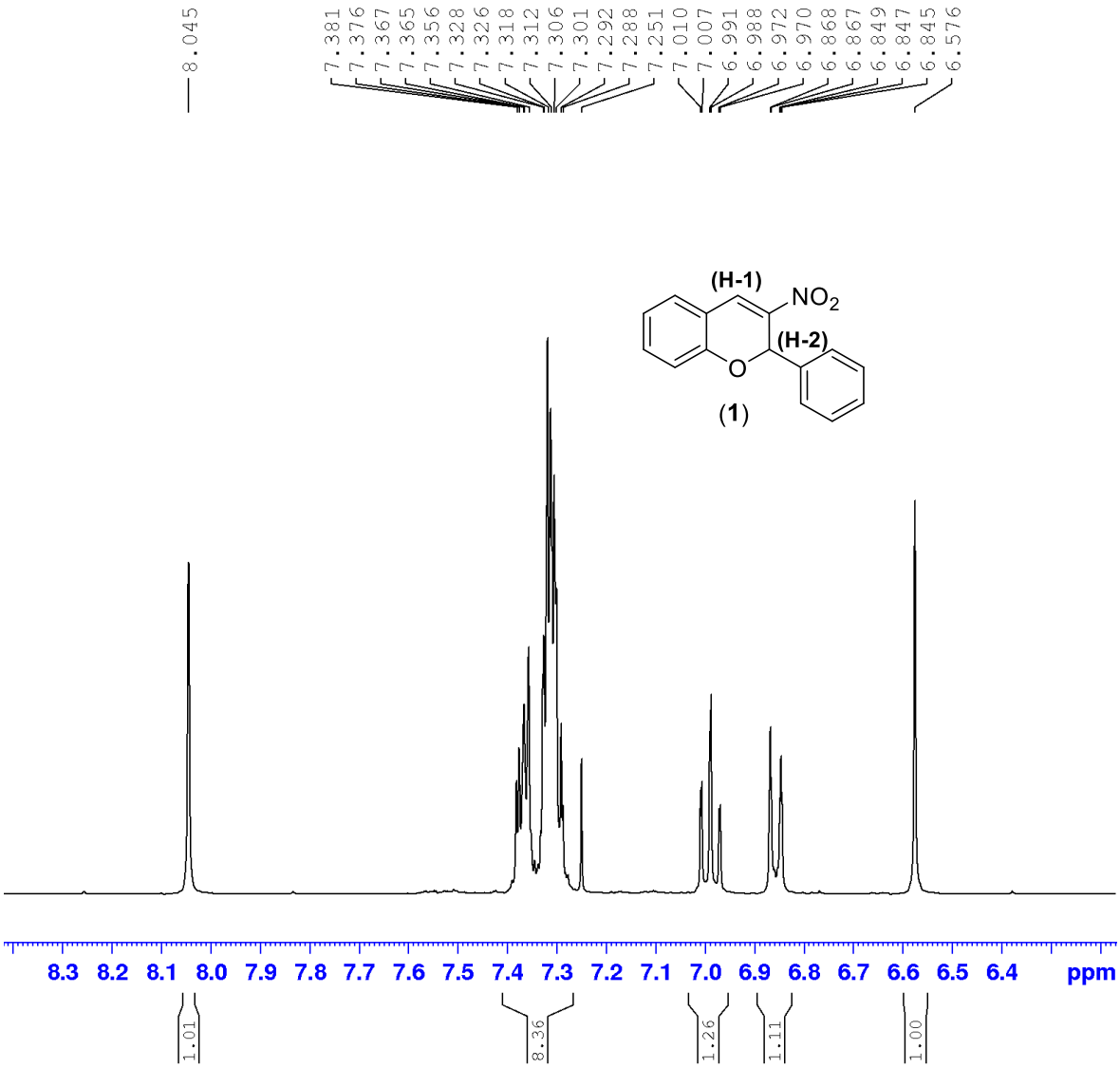


Figura 25 Ampliação do espectro de RMN ^{1}H (400 MHz em $CDCl_3$) do cromeno.

O espectro de RMN de ^{1}H (Figura 25) apresenta um simpleto (s) característico do hidrogênio olefínico β-NO_2 em 8,04 ppm referente a H-1. Em 6,57 ppm, há sinal de simpleto correspondente ao hidrogênio do carbono assimétrico H-2.

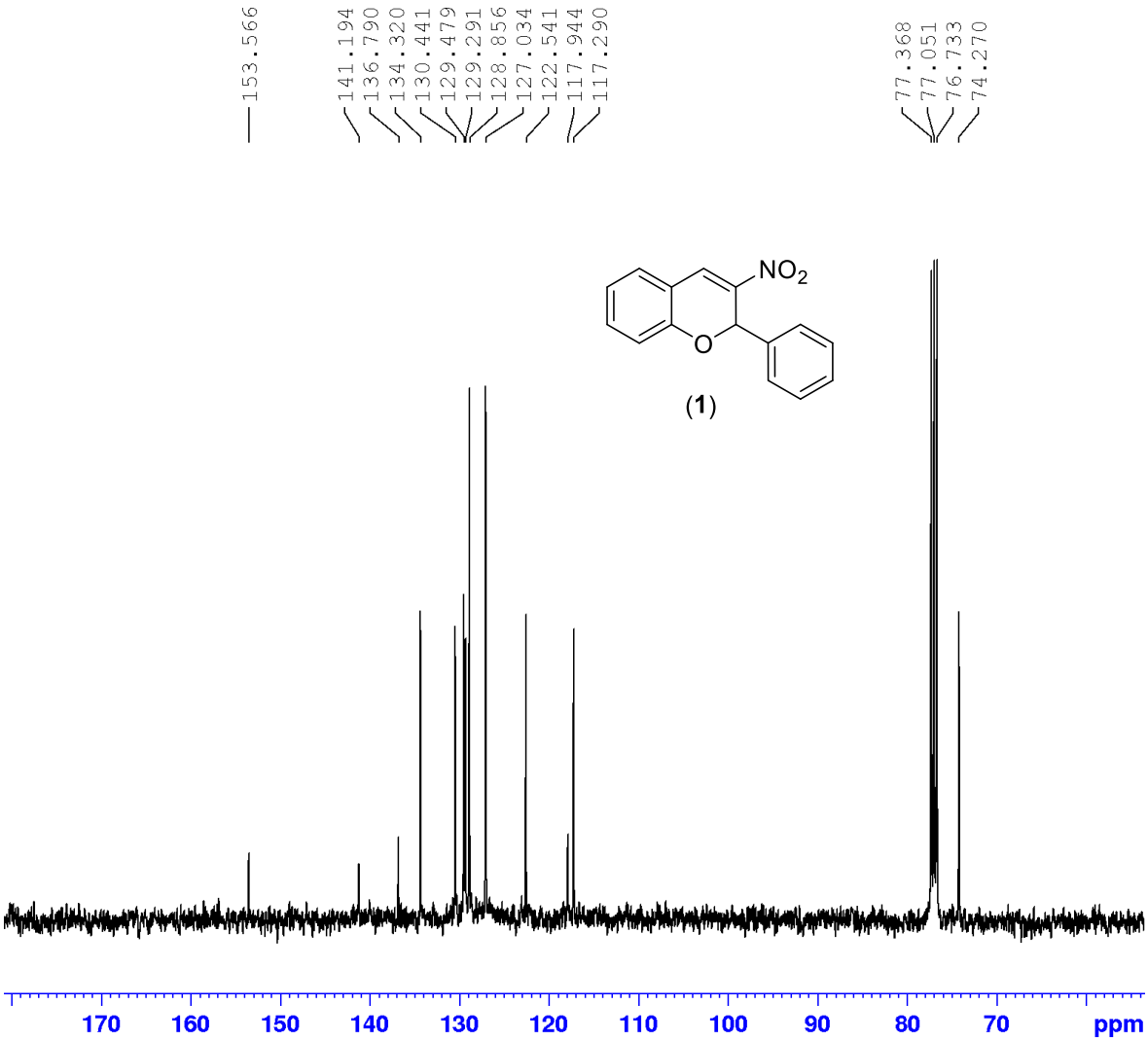


Figura 26 Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$).

A análise por CLAE gerou o padrão de comparação para as demais reações de síntese dos cromenos.

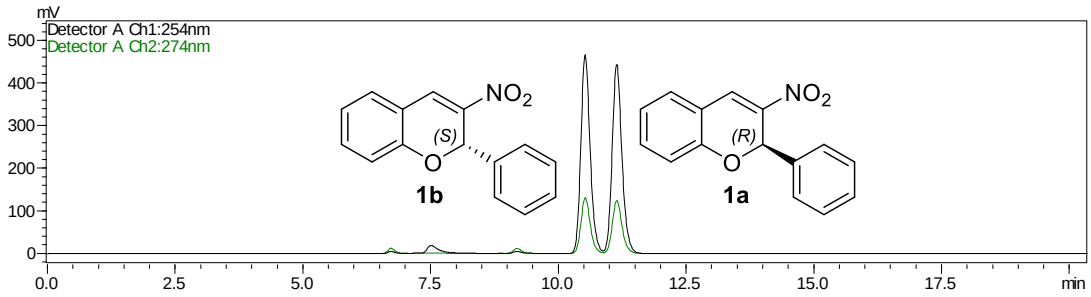


Figura 27 Cromatograma de CLAE para a mistura racêmica do cromeno.

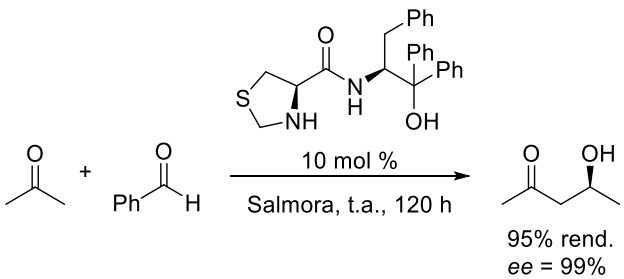
Em todas as tentativas de síntese dos cromenos descritas a seguir, indiferente do catalisador, a atenção voltou-se a produção ou não dos isômeros e ao *ee* (calculado com base na área dos picos dos cromatogramas). Rendimento, conversão e outros fatores não foram norteadores principais neste estudo investigativo.

3.1 SÍNTESE *ONE-POT* (ÚNICO VASO) DE (*R*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1a) E (*S*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1b) UTILIZANDO TIAZOLIDINA (3a) DERIVADA DE (*L*)-CISTEÍNA PRODUZIDA EM SITU.

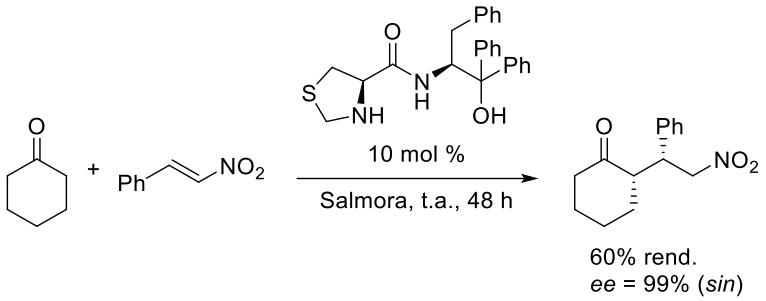
A (*L*)-cisteína é um aminoácido não essencial, apresenta em sua estrutura uma cadeia lateral tiol que atua em reações enzimáticas como nucleófilo. Em reações de condensação com aldeídos ou cetonas a cisteína origina tiazolidinas.

Com anéis saturados de cinco membros e dois heteroátomos, enxofre (função tioéter) e nitrogênio (função amina), nas posições 1 e 3, as tiazolidinas são um heterociclo. Devido à presença de um centro quiral no anel a molécula é assimétrica, logo é interessante para síntese enantiosseletiva por contribuir para um ambiente quiral.

Durante a última década Schneider e colaboradores, tem explorado a preparação e uso de catalisadores quirais em sínteses assimétricas. Alguns de seus trabalhos pioneiros trataram da síntese de tiazolidinas e seus derivados a partir de cisteína, e a aplicação desses organocatalisadores em reações aldólicas e de Michael. Neste trabalho conseguiram obter elevados *ee* e bons rendimentos (Esquemas 21 e 22)[51].



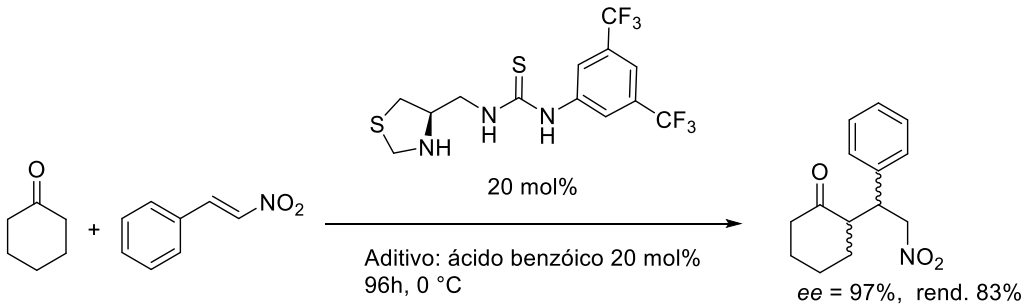
Esquema 21 Reação aldol assimétrica organocatalítica de acetona e fenilmetanal.



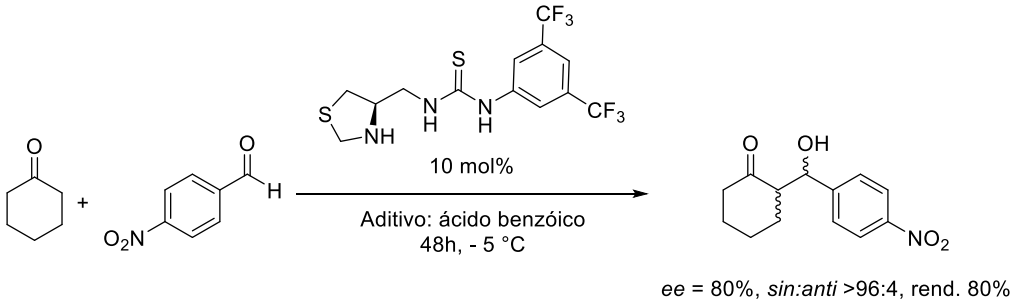
Esquema 22 Reação de Michael assimétrica usando organocatalisador quiral.

A atividade organocatalítica aumenta com a presença de grupos formadores de ligações de hidrogênio. Tiazolidinas podem ser derivatizadas através de reações simples e o resultado são compostos funcionalizados.

Trabalhos recentes produziram alguns organocatalisadores contendo porções tioúreia e tiazolidina. Tais compostos foram empregados em reações de adição de Michael e reações aldólicas assimétricas (Esquemas 23 e 24)[52].



Esquema 23 Reação de adição de Michael.

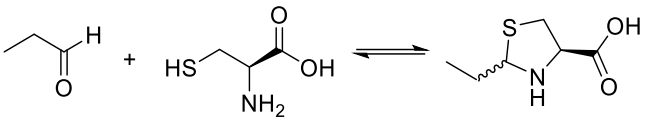


Esquema 24 Reação aldol assimétrica.

Os altores chegaram à conclusão de que os grupos retiradores de elétrons no grupo fenil promovem a acidificação dos hidrogênios ligados aos nitrogênios

da porção tioúreia, o que melhora a catálise por ligação de hidrogênio. Solventes passíveis de estabelecerem ligações de hidrogênio podem interagir com a porção tioureia e desativá-la. Também observaram que o grupo ligante metileno entre as porções tioureia e o anel de cinco membros possibilitou melhores conformações do que uma carbonila, também testado e natural da tiazolidina não derivatizada, proporcionando melhores interações com os substratos e por isso resultados mais otimistas.

Recentemente foi demonstrado o estudo cinético de formação de tiazolidinas em pH fisiológico através da reação de condensação entre 1,2-aminotióis ((*L*)-cisteína) e aldeídos, tal processo é considerado uma bioconjugação[53].



Esquema 25 Reação de formação de tiazolidina.

Neste trabalho fica evidente a dependência do pH na formação dos produtos e na formação do sal de amônio. O estudo foi conduzido em solvente deuterado (tampão fosfato-salino) e acompanhado por RMN de ^{1}H e mostrou a formação muita rápida da tiazolidinas, após 5 minutos, quando utilizando pD = 5 ou pD = 7,4. É interessante observar que no espectro de RMN de ^{1}H as espécies em solução são diferentes. No caso de pD = 5 as espécies moleculares são os diastereoisômeros da reação entre (*L*)-cisteína e propionaldeído e se encontram protonadas. No caso de pD = 7,4 o hidrogênio ligado ao nitrogênio pode estar em posição *anti/sin* em relação aos centros assimétricos mudando os deslocamentos químicos dos produtos. A suposição dos autores é que o produto *anti* seja o mais favorecido devido a interação entre o grupo carboxila (zwitterion) e o hidrogênio do grupo NH.

Uma informação importante que os experimentos do grupo alcançaram é que ao contrário do que é comumente relatado na literatura, as tiazolidinas sintetizadas permaneceram estáveis em pD = 3, 5, 7,4 e 9, não revelando nenhum sinal de degradação em sete dias (RMN de ^{1}H).

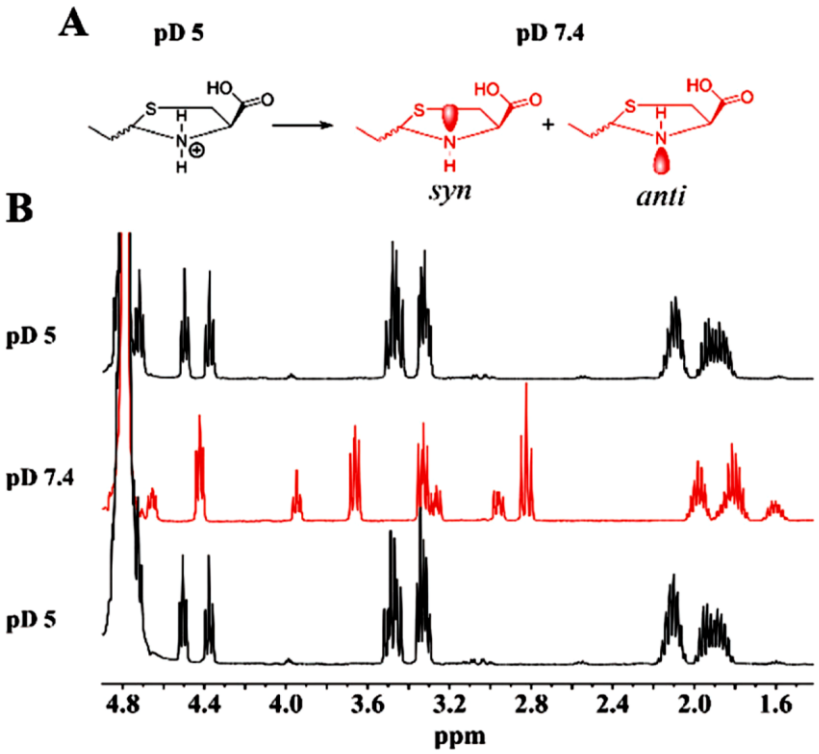
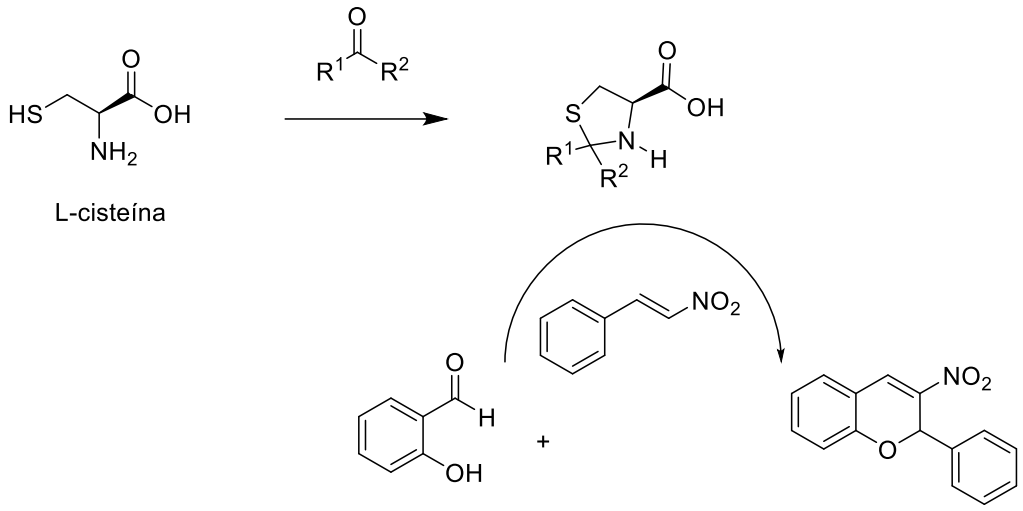


Figura 28 RMN de ^{1}H de tiazolidinas formadas pela reação entre propionaldeído e (*L*)-cisteína.

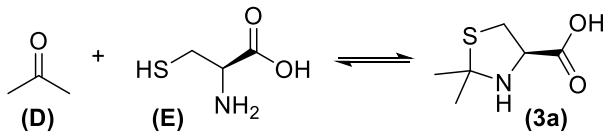
Considerando a literatura, e motivados pelas possibilidades de organocatalisadores baseados em aminoácidos, que são particularmente interessantes por apresentarem baixo custo, baixa toxicidade e alta pureza enantiomérica, nosso grupo buscou a formação de espécies "*in situ*" (tiazolidina) em meio aquoso principalmente, capazes de transferir quiralidade na reação entre saliciladeído e nitroestireno, conforme esquema geral da síntese abaixo representado.



Esquema 26 Esquema geral da reação de síntese de nitro-fenilcromeno (NFC) catalisada por tiazolidina.

Tiazolidinas tem comportamento em catálise assimétrica similar a pirrolidinas, que também apresentam um heterociclo de cinco membros, desses se destaca o aminoácido (*L*)-prolina, isso porque podem formar intermediários enamina/imínio e catalisar adições aldólicas.

O organocatalisador (tiazolidina) utilizado na reação de síntese dos compostos **1a** e **1b**, em uma primeira tentativa, foi sintetizado a partir de propanona **(D)** e (*L*)-cisteína **(E)** em diferentes condições. As reações ocorreram em temperatura ambiente, com exceção de duas delas (7 e 13), sob agitação e em diferentes solventes e quantidades de materiais de partida, por 24 h, conforme a tabela 1.



Esquema 27 Reação de formação de tiazolidina a partir de propanona e (*L*)-cisteína.

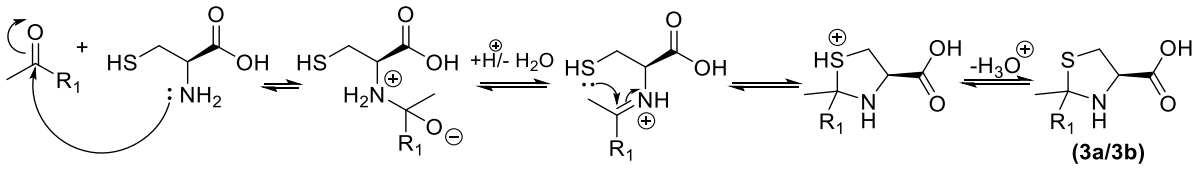
Tabela 1 Parâmetros da síntese do catalisador de tiazolidina **3a**.

Reação	Propanona (D) (mmol)	Cisteína (E) (mol%)[a]	Solvente[b] (1 mL)	Temperatura (°C)
1	1	20	Água	Ta
2	10	20	Água	Ta
3	100	20	Água	Ta
4	1	20	PBS	Ta
5	10	20	PBS	Ta
6	100	20	PBS	Ta
7	100	20	PBS	40
8	100	20	S/solv.	Ta
9	5	20	PBS	Ta
10	50	20	PBS	Ta
11	5	20	Água	Ta
12	50	20	Água	Ta
13	-	20	PBS	40

[a]Em relação a quantidade de nitroestireno adicionado em solução na segunda etapa.

[b]PBS - "*Phosphate buffered saline"* (Tampão fosfato-salino).

Tal reação trata-se de uma condensação da L-cisteína com a cetona e posterior ciclização intramolecular, que leva à síntese do (R)-ácido 1,3-tiazolidina-4-carboxílico. O mecanismo proposto e esperado para a reação de síntese do **3a** está esquematizado abaixo.



Esquema 28 Mecanismo proposto para síntese de **3a** ($R_1 = CH_3$) e **3b** ($R_1 = H$).

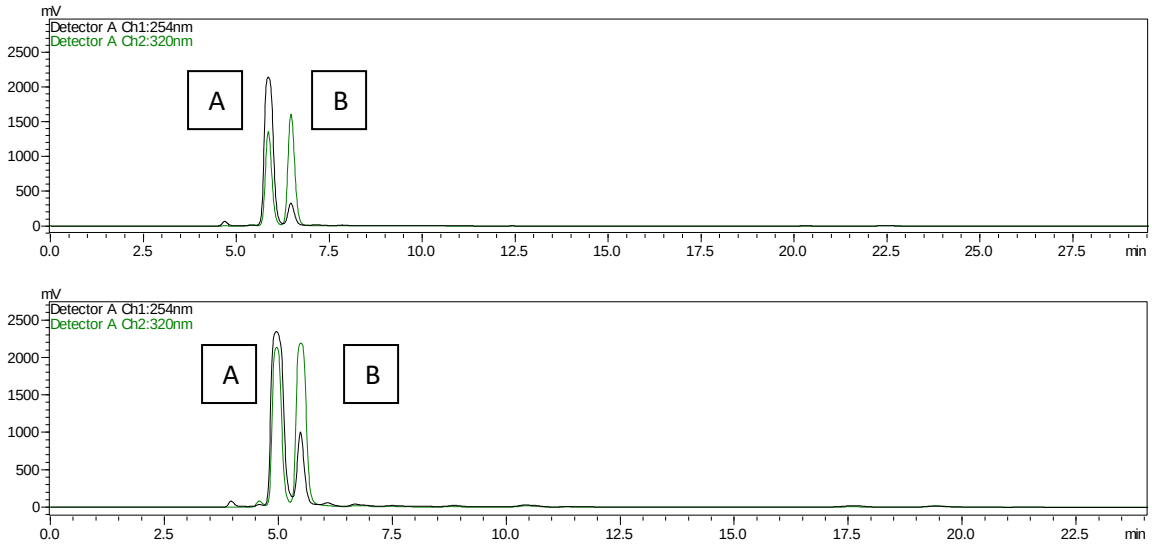
Após as 24 h de tempo de reação foram adicionados em cada um dos balões das reações os reagentes da síntese dos cromenos. A tabela 2 sumariza

as quantidades de materiais de partida e a formação ou não de produtos. Estas reações foram acompanhadas por CLAE por cinco dias, figura 29.

Tabela 2 Síntese *"one-pot"* cromenos.

Reação	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	Produto (1a e/ou 1b)
1	7,5	2,5	Nd
2	7,5	2,5	Nd
3	7,5	2,5	Nd
4	7,5	2,5	Nd
5	7,5	2,5	Nd
6	7,5	2,5	Nd
7	7,5	2,5	Nd
8	7,5	2,5	Nd
9	7,5	2,5	Nd
10	7,5	2,5	Nd
11	7,5	2,5	Nd
12	7,5	2,5	Nd
13	7,5	2,5	Nd

nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.



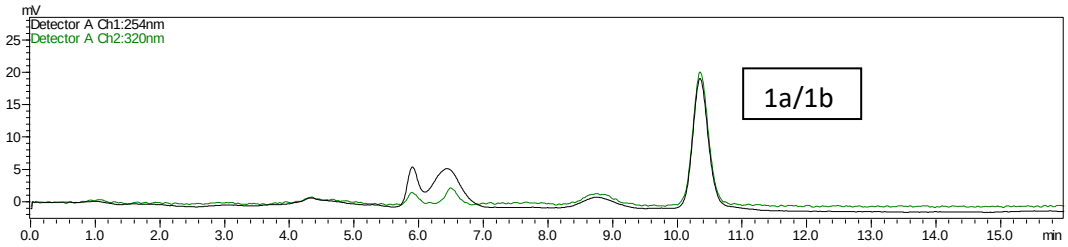
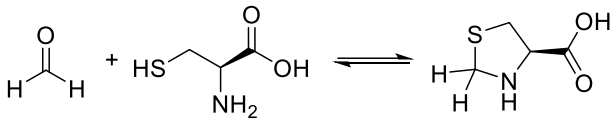


Figura 29 Cromatogramas das reações nº 7 e 11, e do padrão da mistura racêmica dos NFC. Coluna C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$. (A) – Salicialdeído; (B) – Nitroestireno; (1a,1b) – Padrão Cromenos (expandido).

Foi usada uma coluna cromatográfica com fase estacionária não quiral, pois o objetivo não era separar ou quantificar os isômeros, mas sim identificar se havia ou não formação destes.

Conforme resultados apresentados das reações nº 7 e 11 é perceptível que não houve formação do produto. As demais reações apresentaram cromatograma idêntico quanto à formação dos produtos.

Não havendo êxito na catálise com o derivado sintetizado, partiu-se para um novo derivado a partir de metanal **(F)** e (*L*)-cisteína **(E)** em diferentes condições.



(F) **(E)** **(3b)**

Esquema 29 Reação de formação de tiazolidina a partir de metanal e (*L*)-cisteína.

As reações ocorreram em temperatura ambiente, PBS foi escolhido como solvente, porém foram adicionados 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) nas reações 13, 14 e 15. As reações foram mantidas em agitação por 24 h, às reações 10, 11 e 12 foram adicionados trietilamina (Et_3N).

O mecanismo proposto e esperado para a reação de síntese do **3b** está demonstrada no esquema 28.

Após as 24 h de tempo de reação foram adicionados em cada um dos balões das reações os reagentes da síntese dos cromenos. As reações foram acompanhadas por CLAE por cinco dias, figura 30.

Tabela 3 Síntese *"one-pot"* cromenos

Reação	Metanal (F) (mmol)	Cisteína (E) (mol%)[a]	Solvente (1 mL)	Et_3N (mol%)[b]	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	Produto (1a e/ou 1b)
1	5	20	PBS	-	7,5	2,5	Nd
2	5	60	PBS	-	7,5	2,5	Nd
3	5	100	PBS	-	7,5	2,5	Nd
4	50	20	PBS	-	7,5	2,5	Nd
5	50	60	PBS	-	7,5	2,5	Nd
6	50	100	PBS	-	7,5	2,5	Nd
7	100	20	PBS	-	7,5	2,5	Nd
8	100	60	PBS	-	7,5	2,5	Nd
9	100	100	PBS	-	7,5	2,5	Nd
10	100	20	PBS	1	7,5	2,5	Sim
11	100	60	PBS	1	7,5	2,5	Sim
12	100	100	PBS	1	7,5	2,5	Sim
13	100	20	PBS + DMSO	-	7,5	2,5	Nd
14	100	60	PBS + DMSO	-	7,5	2,5	Nd
15	100	100	PBS + DMSO	-	7,5	2,5	Nd

[a]Em relação a quantidade de nitroestireno adicionado em solução na segunda etapa.

[b]Em relação a quantidade de metanal.

nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

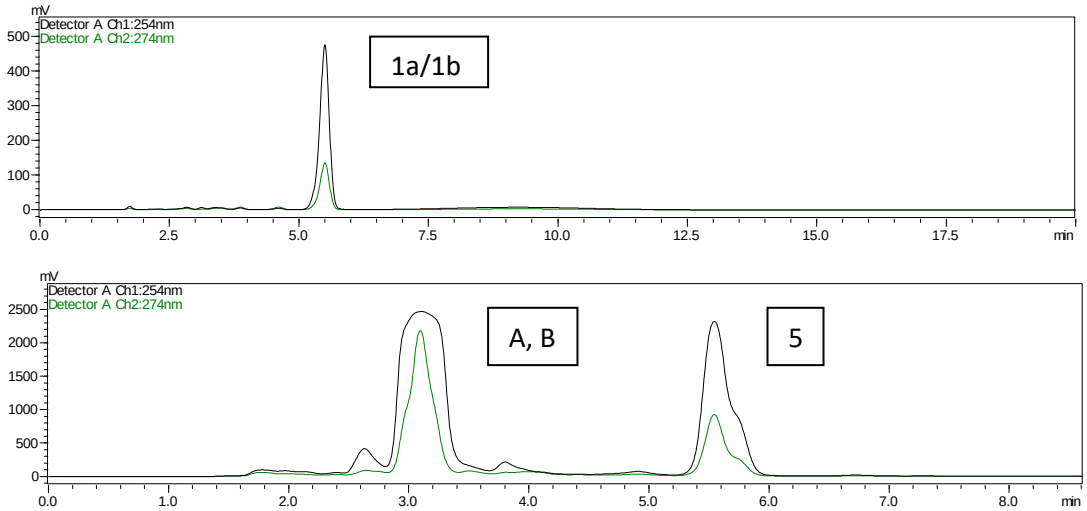


Figura 30 Cromatogramas da reação nº 10 e padrão da mistura racêmica dos NFC. Coluna C18, MeOH:H2O 80:20, fluxo 0,8 mL $min.^{-1}$. (A) – Salicialdeído; (B) – Nitroestireno; (1a/1b) – Padrão Cromenos.

A injeção dos padrões mostrou que o tempo de retenção (TR) do nitroestireno, salicilaldeído e trietilamina são todos entre 3 e 4 min., por isso houve sobreposição no cromatograma da reação 10.

A utilização de trietilamina favoreceu de alguma forma a formação dos produtos, porém até esta etapa do trabalho só foi possível correlacionar com a mistura racêmica, pois não houve injeção em coluna quiral. O intuito até esta etapa era buscar as melhores condições para síntese dos produtos.

O pH das reações permaneceu entre 5 e 6,5 aproximadamente, sendo que as reações com trietilamina o pH iniciou próximo de 8 e 9 e das demais próximo de 6 e 7. As reações cuja formação do produto foi observada não demonstraram grande diferença no rendimento, por isso, as reações subsequentes embasadas nesses resultados foram lançadas com menor quantidade de catalisador.

O modelo apresentado no esquema 20 (trietilamina pág. 48) pode explicar a possível formação de produto nas reações. A base abstraí o próton do grupo fenol do salicilaldeído e o ativa, na sequência sem interagir com a tiazolidina esse ataca o nitroestireno sem preferência de face (*Re/Si*), caso tenha procedido dessa forma houve formação de mistura racêmica e sem influência do organocatalisador. Outra hipótese é que a trietilamina auxíliou a tiazolidina na organocatálise ou até mesmo catalisou interagindo com o salicilaldeído, possibilitando a reação enantiosseletiva. Para avaliar tais proposições e para buscar as melhores condições de reação foram realizados novos experimentos com condições variadas (Tabela 4).

Tabela 4 Síntese *"one-pot"* cromenos.

Reação	Metanal (F) (mmol)	Cisteína (E) (mol%)[a]	Solvente (1 mL)	Et_3N (mol%)[b]	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	Produto (1a e/ou 1b)	*%ee*
1	100	5	PBS	1	7,5	2,5	SIM	0
2	100	20	PBS	1	7,5	2,5	SIM	0
3	100	60	PBS	1	7,5	2,5	SIM	0
4	100	20	Água	1	7,5	2,5	SIM	0
5	100	20	DMSO	1	7,5	2,5	Nd	-
6	50	20	PBS	1	7,5	2,5	SIM	0
7	5	20	PBS	1	7,5	2,5	SIM	0
8	100	20	PBS	5	7,5	2,5	Nd	-

[a]Em relação a quantidade de nitroestireno adicionado em solução na segunda etapa.

[b]Em relação a quantidade de metanal.

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

Os pH das reações iniciaram entre 8 e 9, após aproximadamente 36 horas já adicionados os reagentes da segunda etapa, o pH baixou para 5 ou 6. O acompanhamento das reações foi diário por CLAE, coluna C18 nas primeiras 96 horas e coluna quiral após esse tempo até aproximadamente 10 dias.

Os resultados das análises demonstraram que o rendimento das reações foi o mesmo para as condições que variaram apenas o solvente, água e PBS (Figuras 31, 32 - reações 2,4), já para o DMSO pode-se perceber a não formação de produto. Ao se usar metanal em concentrações inferiores ou iguais a 50 mmol obtiveram-se melhores resultados (Figuras 34, 35 - reações 2 e 7). A concentração de catalisador igual a 20 mol% apresentou melhores resultados e a quantidade ideal de Et_3N foi 1 mol%. O padrão da mistura racêmica de **1a e 1b** também está representado a seguir pela figura 33.

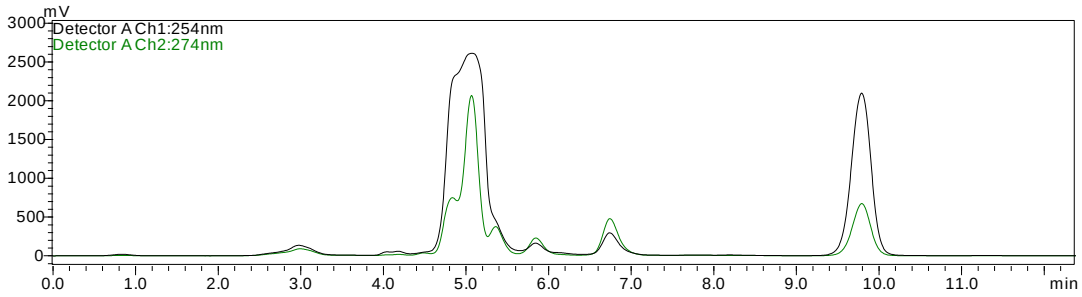


Figura 31 Cromatograma da reação nº 2. Coluna C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

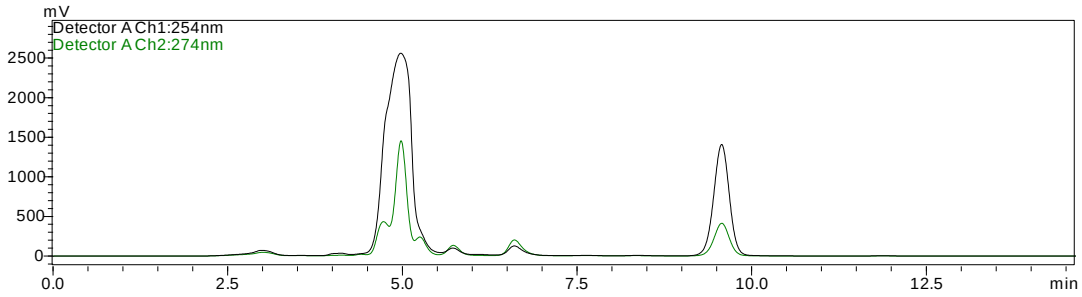


Figura 32 Cromatograma da reação nº 4. Coluna C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

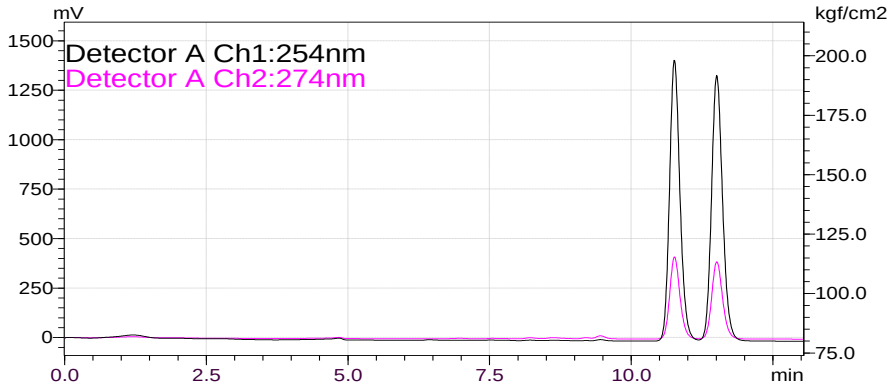


Figura 33 Cromatograma da amostra padrão da mistura racêmica de **1a e 1b**. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

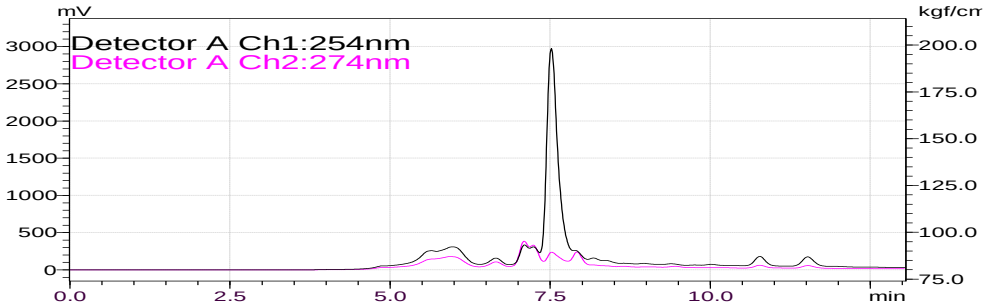


Figura 34 Cromatograma da reação nº 2. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

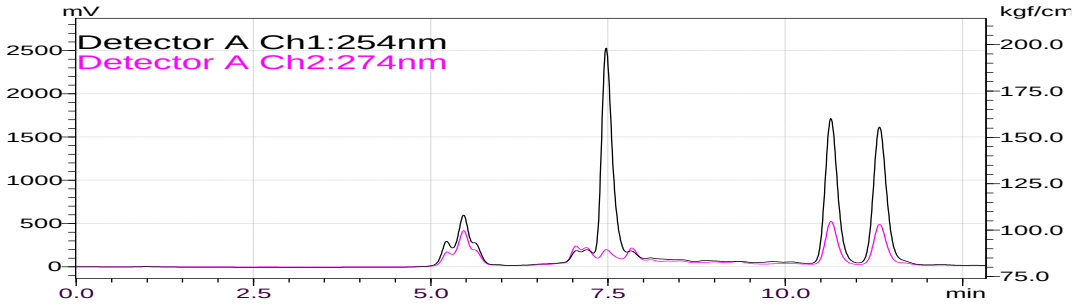


Figura 35 Cromatograma da reação nº 7. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

Baseado nos resultados acima uma nova rodada de reações foi realizada a fim de buscar a otimização dos parâmetros reacionais, resultados na tabela 5.

Buscou-se com essa tentativa comparar: o solvente (reações 1 a 6 e 7 a 8 com 60 mol% de cisteína); diferentes concentrações de metanal (reações 1 a 3 e 4 a 6); a variação de salicilaldeído (amostra 9 com 7 das reações anteriores);

variação de Et_3N (reações 10 e 9); e por último a fase orgânica (reação 11) frente a aquosa (reações 1 a 10).

Tabela 5 Síntese one-pot cromenos.

Reação	Metanal (F) (mmol)	Cisteína (E) (mol%)[a]	Solvente (1 mL)	Et_3N (mol%)[b]	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	Produto (1a e/ou 1b)	*%ee*
1	5	20	Água	1	7,5	2,5	SIM	0
2	20	20	Água	1	7,5	2,5	SIM	0
3	50	20	Água	1	7,5	2,5	SIM	0
4	5	20	Água	1	7,5	2,5	SIM	0
5	20	20	PBS	1	7,5	2,5	SIM	0
6	50	20	PBS	1	7,5	2,5	SIM	0
7	50	60	PBS	1	7,5	2,5	SIM	0
8	50	60	Água	1	7,5	2,5	SIM	0
9	5	20	PBS	1	3,25	2,5	SIM	0
10	5	20	PBS	0,5	7,5	2,5	SIM	0
11	50	20[c]	DMSO	1	7,5	2,5	Nd	-

[a]Em relação a quantidade de nitroestireno adicionado em solução na segunda etapa.

[b]Em relação a quantidade de metanal.

[c]Sólida.

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

As reações foram acompanhadas por 45 dias usando CLAE/Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$. O pH foi monitorado durante todo tempo de reação.

As reações 1 a 6 evoluíram iguais, portanto o solvente não influenciou neste caso, 7 e 8 também não divergiram.

A menor concentração de produto nas reações 3 e 6 quando comparadas com 1 e 2 no primeiro caso e 4 e 5 no segundo, demonstram que 50 mmol de metanal não é o ideal.

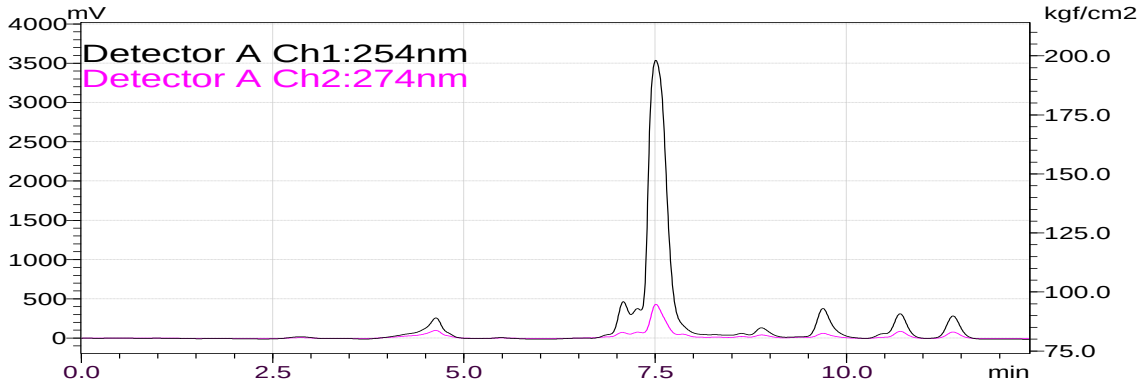


Figura 36 Cromatograma da reação nº 6. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

As reações 7 e 8 demoraram mais do que as reações de 1 a 6, talvez isso deva ter ocorrido pelo fato de a solução de cisteína utilizada (60 mol%) tenha maior quantidade de água e então o meio reacional ter sofrido com tal acréscimo.

A reação 9 forneceu os produtos sem grande diferença, portanto a concentração de salicilaldeído utilizada foi satisfatória.

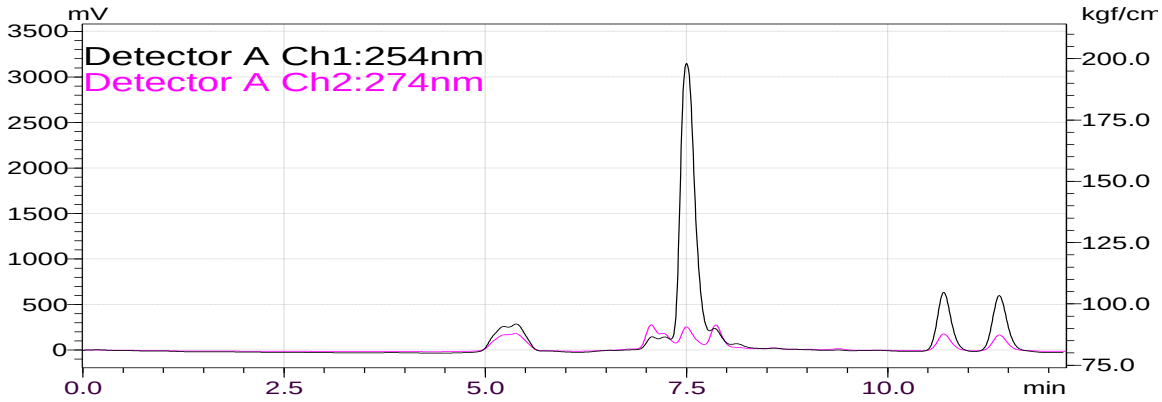


Figura 37 Cromatograma da reação nº 9. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

A metade de trietilamina utilizada na reação 10 obteve um resultado melhor ou igual as demais em termos de rendimento.

O uso do solvente DMSO demonstrou que a reação não procede bem em fase orgânica apenas, isso pode se dá pelo fato de que nas reações que ocorreram em meio aquoso pode ter havido uma transferência de fase.

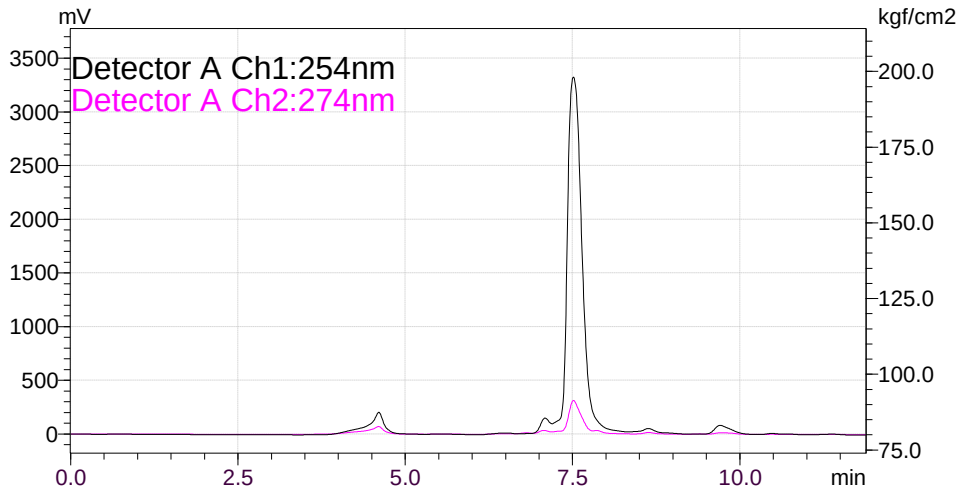


Figura 38 Cromatograma da reação nº 11. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

Com tais resultados 4 novas reações foram lançadas a fim de tentar produzir um dos enantiômeros em *ee* (Tabela 6). As reações foram acompanhadas por CLAE/coluna quiral de hora em hora após adição dos reagentes da 2ª etapa. O pH foi acompanhado desde o início da primeira etapa (Tabela 7).

Tabela 6 Síntese one-pot cromenos.

Reação	Metanal (F) (mmol)	Cisteína (E) (mol%)[a]	Solvente (1 mL)	Et_3N (mol%)[b]	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	Produto (1a e/ou 1b)	*%ee*
1	5	20	Água	-	3,25	2,5	Nd	0
2	5	20	Água	0,5[c]	3,25	2,5	SIM	0
3	5	20	Água	0,5[d]	3,25	2,5	SIM	0
4	-	-	Água	0,5	3,25	2,5	SIM	0

[a]Em relação a quantidade de nitroestireno adicionado em solução na segunda etapa.

[b]Em relação a quantidade de metanal.

[c]Adicionada na 1ª etapa.

[d]Adicionada na 2ª etapa.

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

Tabela 7 Acompanhamento do pH das reações.

Reação	1	2	3	4	Quando foi medido?
pH	3	10	3	-	Início
pH	3	10	3	-	24 h após o início da 1ª etapa
pH	3	6	6	9	Início da 2ª etapa após adição dos reagentes

Os resultados demonstraram que a adição de trietilamina pode ser tanto no início da primeira quanto da segunda etapa. Nas reações 1 e 4 a trietilamina foi decisiva na formação dos produtos, uma vez que, na reação 4 não foi adicionado organocatalisador e houve formação dos produtos (Figura - 39) e em 1 não foi adicionado trietilamina e conforme a tabela 6 percebe-se a não formação de produto.

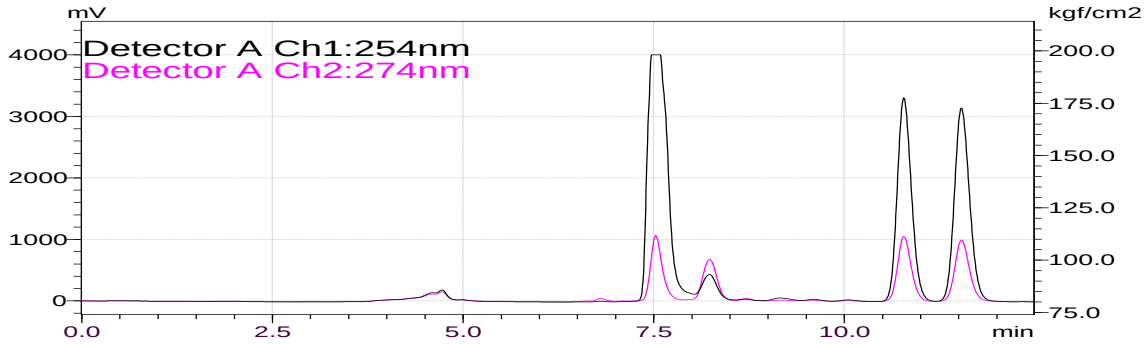
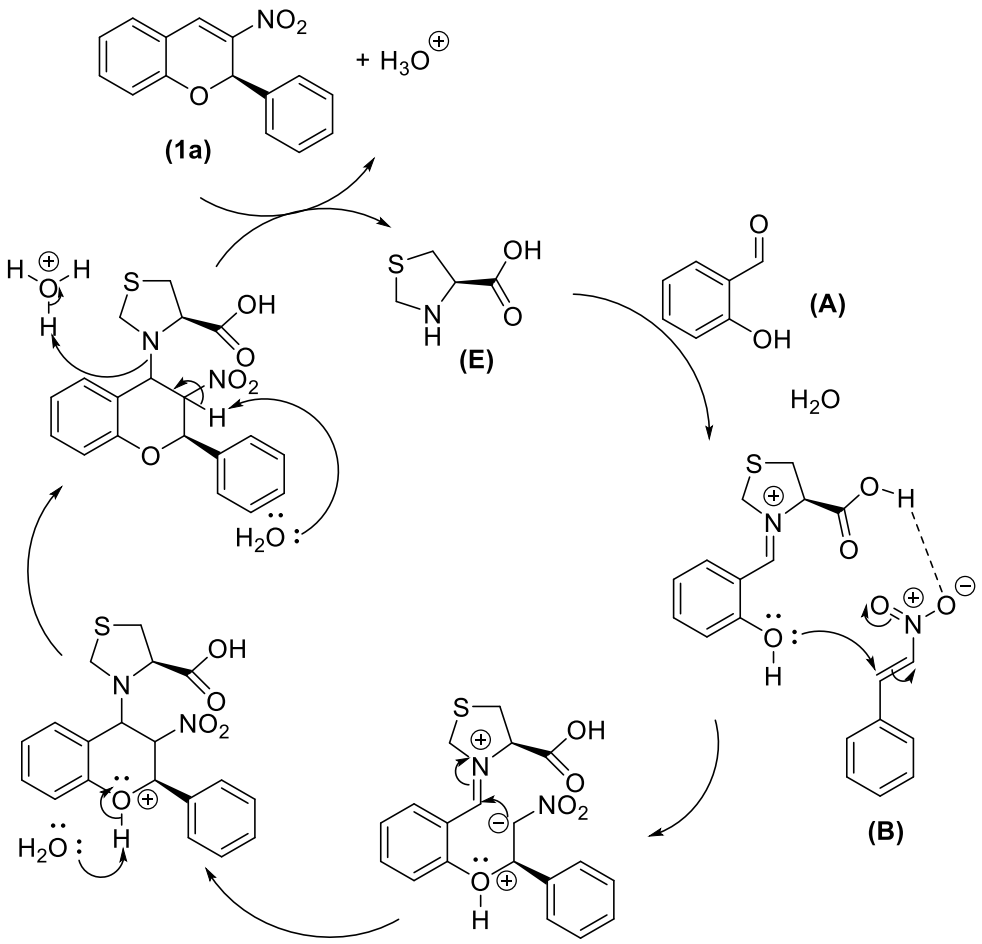


Figura 39 Cromatograma da reação nº 4. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

A base quando empregada possivelmente abstrai o hidrogênio fenólico e o íon fenolato interage com o nitroestireno na sequência sem critérios assimétricos, formando a mistura racêmica dos cromenos, assim como no esquema 30.

Esperava-se que conforme esquema 30 as tiazolidinas sintetizadas (**3a** e **3b**) ao interagirem com o aldeído formando um imínio produzissem um ambiente quiral, e assim favorecessem a síntese enantiosseletiva do cromeno por realizar o ataque em uma das faces pró-quirais do nitroestireno.



Esquema 30 Proposta de possível mecanismo para síntese assimétrica discutida.

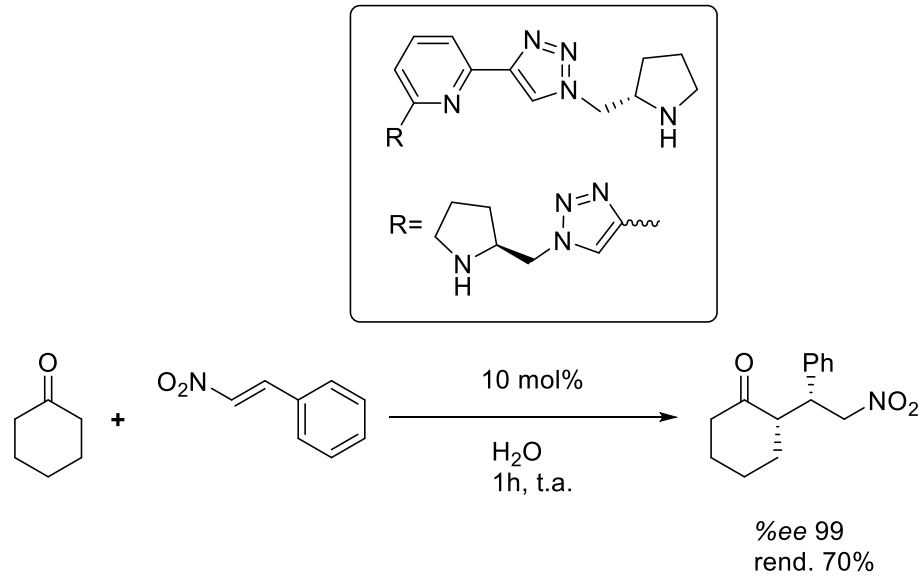
O mecanismo proposto para a possível síntese do cromeno, se inicia com a condensação do catalisador com o salicilaldeído **(A)** gerando o íon imínio. Em seguida ocorre o ataque nucleofílico pelo oxigênio fenólico ao nitroestireno **(B),** de maneira seletiva a uma das suas faces, orientado pela interação intermolecular deste com o hidrogênio carboxílico, gerando o nitro-enolato, que promove o segundo ataque ao sal de imínio quiral. A etapa final consiste na abstração do hidrogênio α-NO_2 seguido de hidrólise, obtendo-se o produto cromeno desejado (Esquema 30).

Vale ressaltar que ainda na literatura não há muitos estudos mecanísticos detalhados de reações de adição assimétricas de Michael de aldeídos a nitroolefinas α, β-insaturadas[54].

Os resultados provaram a ineficácia das tiazolidinas sintetizadas, que podem ser consideradas pseudo prolinas (tioprolinas[55]), como organocatalisadores da reação de síntese dos cromenos derivados de

salicilaldeído e nitroestireno para as condições testadas. Possivelmente por serem incapazes de estabelecer interações de hidrogênio eficazes e ou suficientes com o aceptor de Michael (nitroestireno). Por isso, a reação enantiosseletiva de síntese dos compostos **1a** e **1b**, nas condições que testamos, não ocorreu ou ocorreu com baixíssimo *ee*. A pouca nucleofilicidade do salicilaldeído, mesmo após formar o íon imínio, também pode ter contríbuido para o insucesso da síntese.

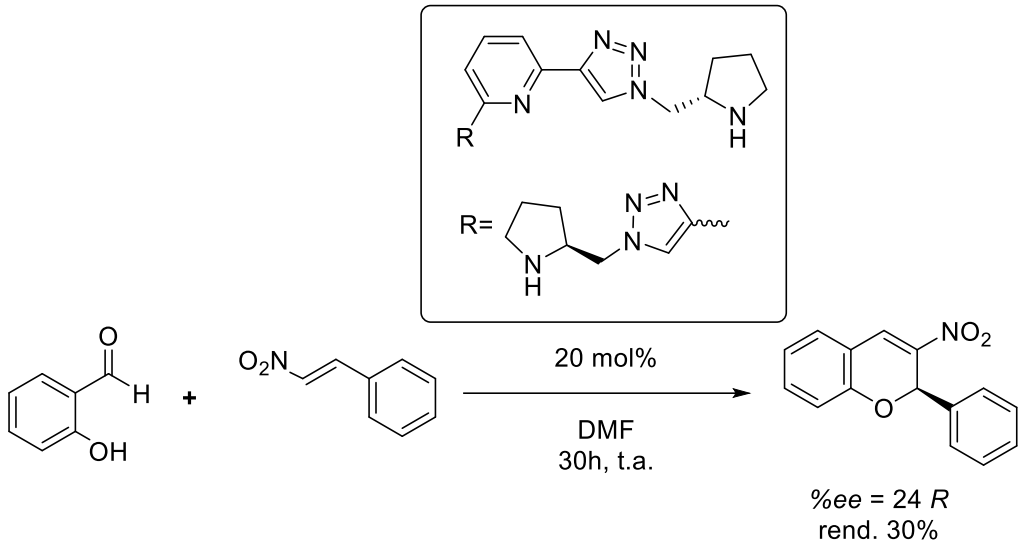
Alguns trabalhos já relatavam baixos *ee* em reações catalisadas por derivados de tiazolidinas, como um trabalho publicado[56] ainda na primeira década de ascensão da organocatálise que relata a tentativa de catálise assimétrica nas reações entre cicloexanona e nitroestireno, e entre salicilaldeído e nitroestireno, utilizando organocatalisador à base de pirrolidina-triazol. Inicialmente o organocatalisador foi usado na reação de nitroestireno e cicloexanona (Esquema 31), sendo obtido um composto com alto *ee*. Não foram necessários nenhum outro composto como aditivo na síntese, inclusive sem solvente obteve-se bons resultados. O sucesso da síntese aparentemente foi graças as interações de hidrogênio, em especial do anel piridínico, que melhoraram a atividade catalítica.



Esquema 31 Adição de Michael de cicloexanona e nitroestireno. Adaptado[56].

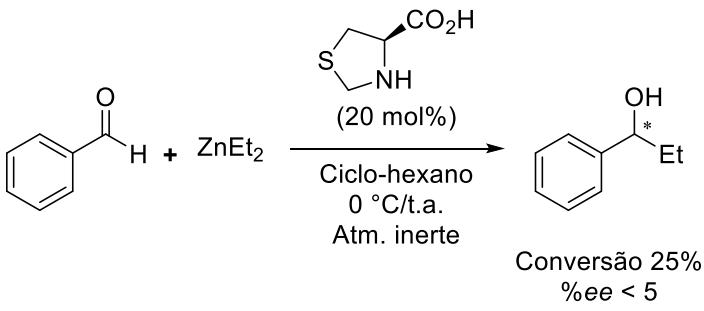
Após os resultados promissores os autores resolveram testar o organocatalisador na reação de adição de Michael do oxigênio fenólico do

salicilaldeído ao nitroestireno, seguido de uma reação intermolecular de Henry e reação de desidratação (Esquema 32). Os resultados para tal síntese não foram conforme desejados, fornecendo um produto com pobre *ee*.



Esquema 32 Síntese assimétrica de nitrocromenos. Adaptado[56].

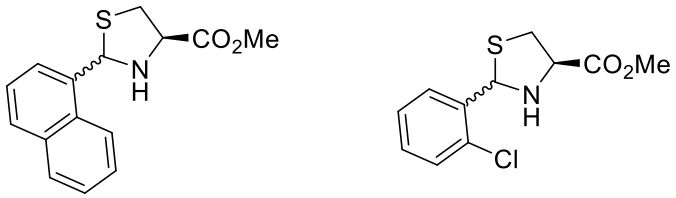
Trabalhos utilizando organocatalisadores à base de tiazolidinas, em especial a sintetizada à partir de cisteína e metanal, relatam baixos excessos enantioméricos e formação considerável de subprodutos (álcool benzílico) em reações de alquilação enantiosseletiva do benzaldeído com $ZnEt_2$ (adicionado a 0 °C), em ciclo-hexano à temperatura ambiente e em atmosfera inerte durante 24 horas (Esquema 33)[57].



Esquema 33 Reação de alquilação enantiosseletiva do benzaldeído com dietilzinco. Adaptado[57].

Tais reações produzem álcoois quirais secundários, importantes blocos de construção de muitos fármacos. A mesma reação utilizando os compostos da

figura 40 apresentaram conversões iguais a 98 e 97 e *ee* iguais a 77% e 76% respectivamente para **X** e **Z**.

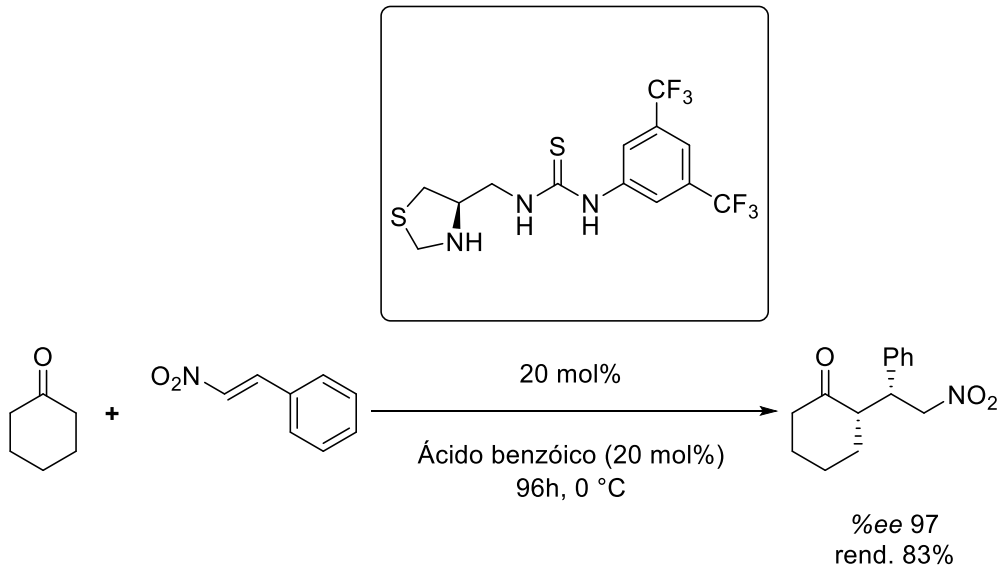


X **Z**

Figura 40 Tiazolidinas derivatizadas para reação de alquilação.

Ainda assim, mesmo diante de tais resultados alcançados pela nossa equipe, notamos que o relato do uso de tiazolidinas na organocatálise é modesto na literatura, logo, mostra-se como um campo que a ser mais explorado. Somente com o aperfeiçoamento das sínteses poderemos alcançar melhores resultados.

Um exemplo de tiazolidinas aperfeiçoadas é a síntese promovida por Schneider e colaboradores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Recentemente promoveram também uma reação assimétrica de Michael, só que entre a cicloexanona e nitroestireno, catalisada por um organocatalisador bifuncional do tipo tiazolidina-tioureia[52]. Obtiveram ótimos rendimentos e excelentes *ee* (Esquema 34).



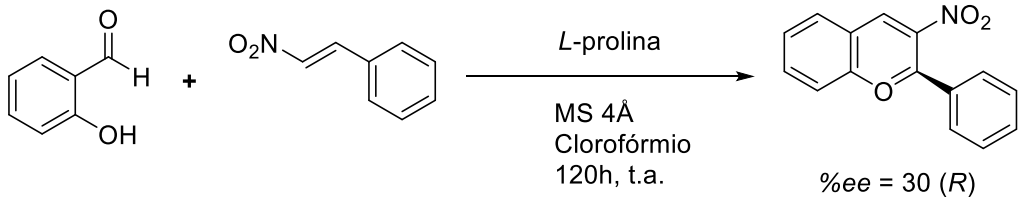
Esquema 34 Reação assimétrica de Michael entre a cicloexanona e nitroestireno.

A catálise baseada em amina (tiazolidina) e interação de hidrogênio (tioureia) é uma potente ferramenta na síntese enantiosseletiva, porém o efeito do solvente tem de ser levado em consideração. Quando água, salmora e solventes diferentes de apolares foram usados houve interação de hidrogênio com a porção tioúreia e houve desativação da mesma.

3.2 SÍNTESE *ONE-POT* (ÚNICO VASO) DE (*R*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1a) E (*S*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1b) UTILIZANDO DERIVADO DE (*L*)-PROLINA

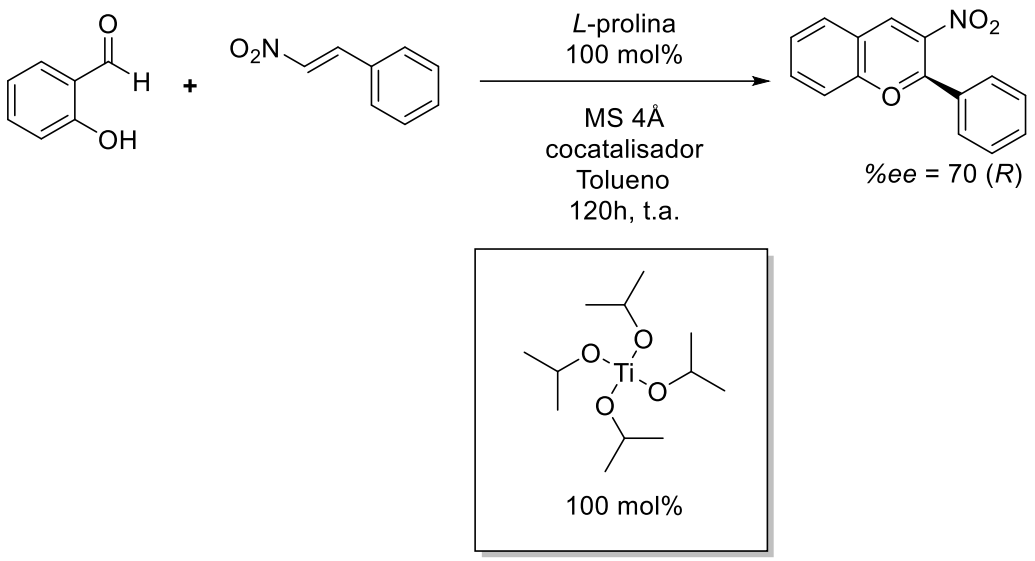
Nosso grupo nos últimos anos, se debruçou na tentativa de síntese assimétrica da reação tandem intramolecular *O*-Michael-Henry entre saliciladeído **(A)** e o nitroestireno **(B).** Como organocatalisador foram testados *L*-prolina e seus derivados em quantidades estequiométricas, e também aditivos[58].

Ao se utilizar apenas (*L*)-prolina ou derivados sem cocatalisadores (aditivos do tipo ácidos de Lewis ou aminoácidos) não obteve-se sucesso quando se tratou de excesso enantiomérico (Esquema 35).



Esquema 35 Síntese do cromeno utilizando *L*-prolina como organocatalisador. Adaptado[19].

Porém com o ácido de Lewis tetraisopropóxido de titânio ($Ti(OiPr)_4$) sendo utilizado como cocatalisador obteve-se 70% de *ee* de *R*. Esquema 36.



Esquema 36 Síntese do cromeno utilizando *L*-prolina e aditivo. Adaptado[19].

A explicação mais plausível para tal resultado (Figura 41) trata-se da hipótese da adição do *E*-imínio desejado (EI) à face si do β-nitroestireno, orientado pelo cocatalisador durante o estado de transição, levando ao produto cromeno com estereoquímica *R*[19].

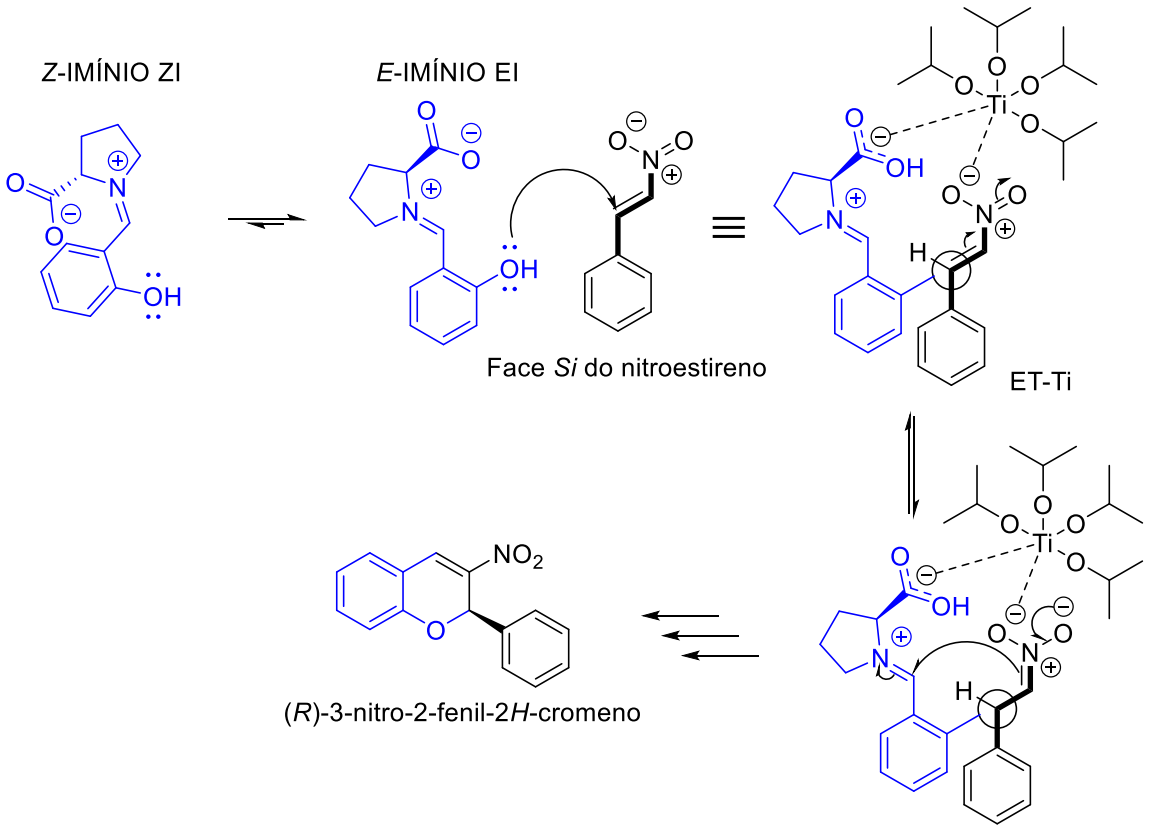
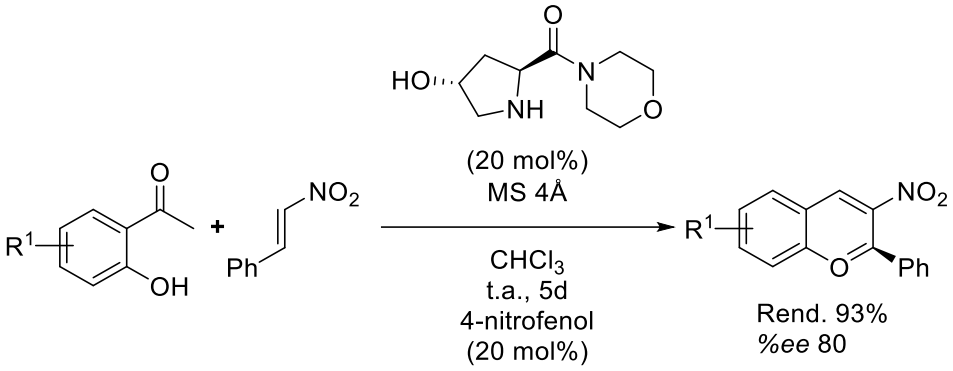


Figura 41 Representação do ataque de E-imínio à face *Si* de nitroestireno[19].

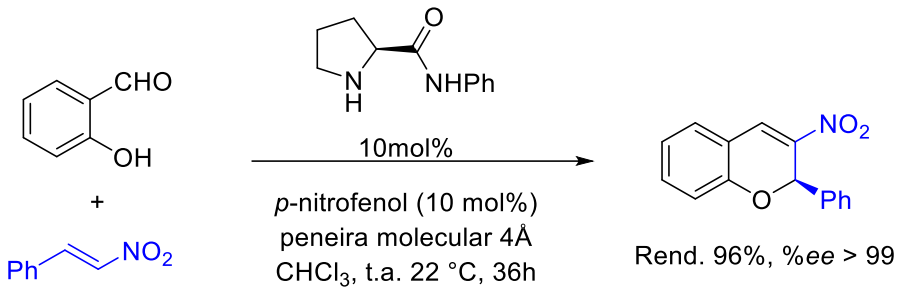
O efeito do solvente, o tipo de organocatalisador, a presença ou não de um cocatalisador e sua constituição, dentre outros foram objetos de estudo do grupo de Chen[49] em sínteses enantiosseletivas *"one-pot"* de 3-nitro-2*H*-cromenos organocatalisada por uma 4-hidroxiprolinamida simples e 4-nitrofenol como cocatalisador. Conforme esquema 37 foi produzido o cromeno com ótimos rendimento e *ee*.



Esquema 37 Síntese de de 3-nitro-2*H*-cromenos catalisada por uma 4-hidroxiprolinamida simples com 4-nitrofenol como cocatalisador. Adaptado[49].

Chen conclui que o organocatalisador, o solvente e o cocatalisador tiveram papel importante no sucesso da síntese. O solvente, que é um doador de ligação de hidrogênio, não estabiliza o íon intermediário imínio formado como DMSO e THF, que são receptores de ligações de hidrogênio, mas também não dificulta a aproximação facial do nitroestireno para a espécie intermediária como os outros. Quanto ao cocatalisador, acredita-se que ele tenha auxiliado a formação do imínio e a base conjugada desse tenha aumentado a nucleofilicidade do grupo hidroxila do fenol do salicilaldeído através de interações de hidrogênio ou desprotonação. O organocatalisador possui uma hidroxila que pode ter direcionado o íon intermediário e ativado o grupo nitro durante a condensação.

Estudos recentes de Rahul Mohanta e Ghanashyam Bez[59], relatam excelentes resultados na síntese de **1a** utilizando-se derivados de (*L*)-prolina como organocatalisadores e alguns aditivos. Os melhores resultados se deram pelo emprego do organocatalisador *N*-fenil-*L*-prolinamida e 4-nitrofenol como cocatalisador nas condições abaixo representadas no Esquema 38.



Esquema 38 Reação tandem *o*-Michael-Henry catalisada por *N*-fenil-*L*-prolinamida.

O artigo, enfatiza as dificuldades de síntese de cromenos a partir de salicilaldeído e nitroalcenos, como a baixa reatividade/seletividade e longo tempo de reação. Isso devido principalmente a baixa nucleofilicidade do salicilaldeído devido a deslocalização do par de elétrons e a própria reação de oxa-Michael que é considerada difícil devido a baixa nucleofilicidade do oxigênio e reversibilidade da reação.

Segundo os autores, ao promover a mistura do catalisador (*N*-fenil-*L*-prolinamida) e do nitroestireno, e acompanhá-la por RMN de ^{1}H, ficou sugestiva a interação de hidrogênio da amida com o nitroalceno (Figura 42). Tal interação pode ter favorecido a síntese enantiosseletiva através da orientação apenas da face *Si* do nitroestireno para adição do íon formado (Figura 43).

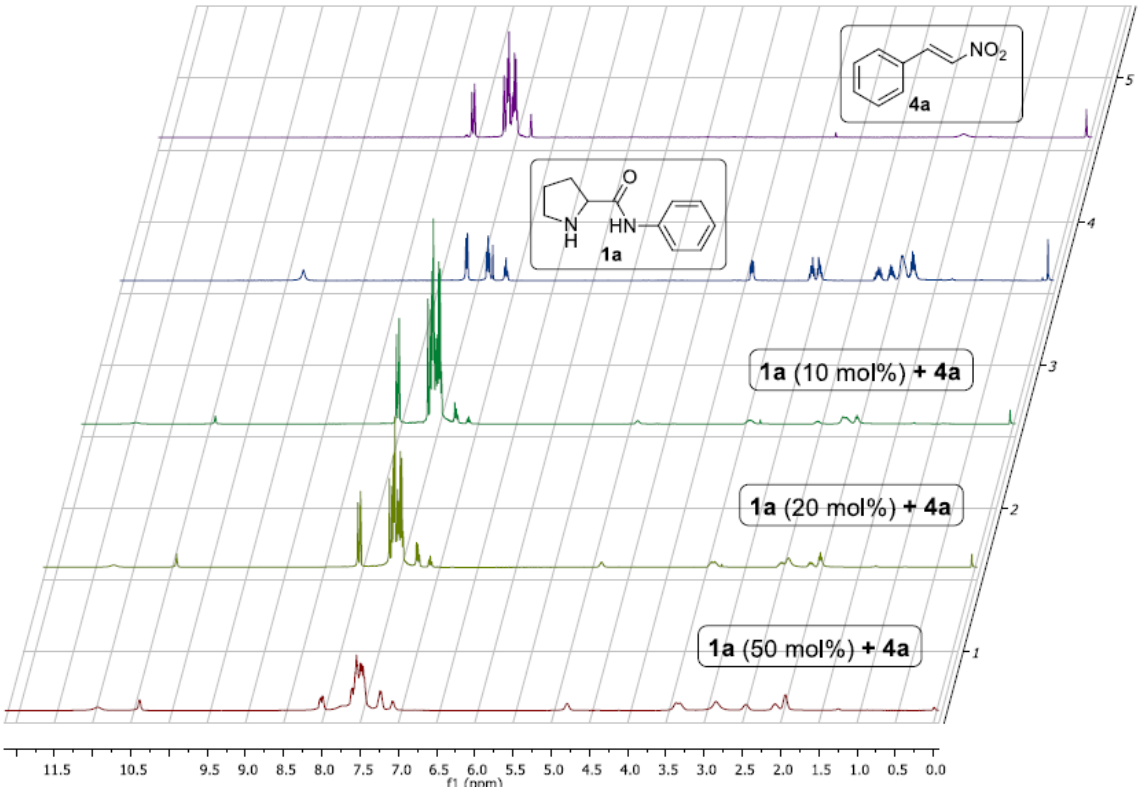


Figura 42 Interação do nitroestireno e o organocatalisador, denotada pela variação no deslocamento do sinal do hidrogênio da amida no RMN de ^{1}H.

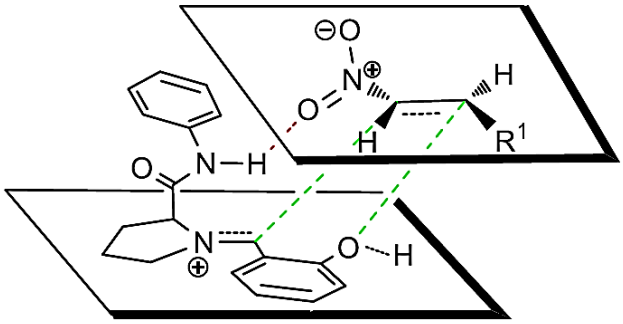
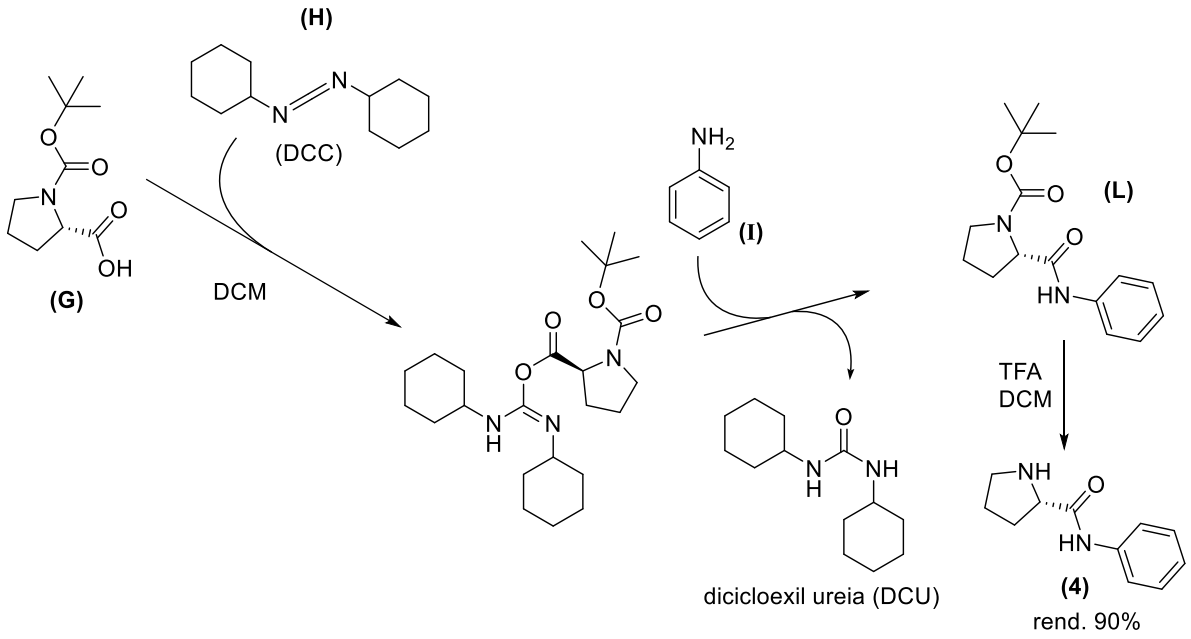


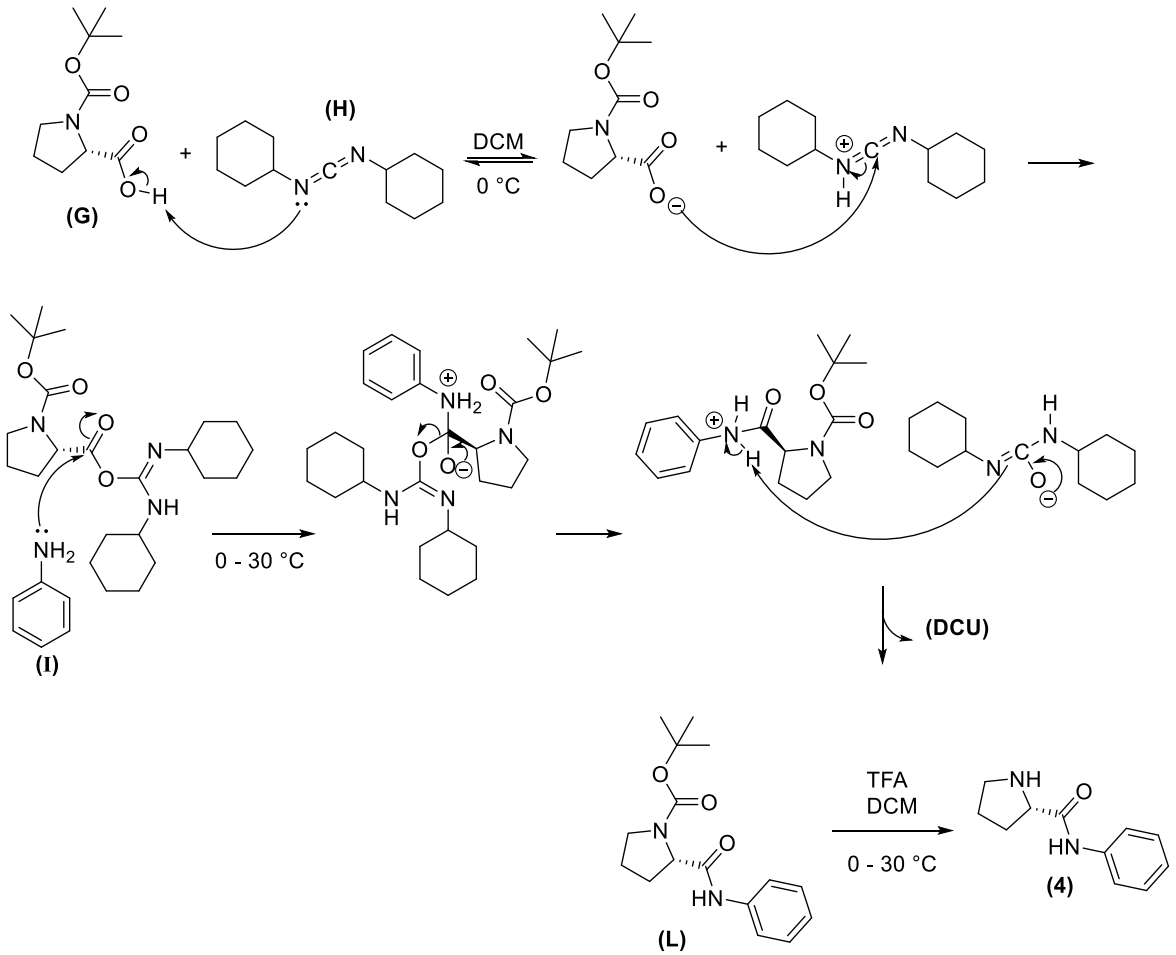
Figura 43 Perspectiva mecanística na adição de oxa-Michael dirigida por ligação de H.

Como um dos interesses do nosso grupo é a síntese enantiosseletiva do cromeno para posterior utilização do mesmo, os trabalhos chamaram nossa atenção e buscou-se reproduzir o método utilizado no artigo de Mohanta e Bez.

Primeiro sintetizamos o catalisador *N*-fenil-*L*-prolinamida **(4)** à partir da *N*-Boc-*L*-prolina **(G)**, anilina **(I),** e DCC (*N,N'*-diciclohexilcarbodiimida) **(H)**, seguindo a metodologia da literatura[60], conforme esquemas 39 e 40**.**



Esquema 39 Síntese da prolinamida (**4**).



Esquema 40 Mecanismo da reação de síntese do organocatalisador **4**.

Nesta reação, inicialmente ocorre uma reação ácido-base, através da abstração do próton da boc-prolina (**G**) pelo par de elétrons de um dos átomos de nitrogênio do DCC (**H**). O ânion carboxilato então é gerado e ocorre uma adição nucleofílica do mesmo ao carbono eletrofílico do DDC protonado. A amina primária, da anilina (**I**), ataca a carbonila do éster, provocando uma eliminação de um derivado oxigenado do DCC. Por fim tal derivado do DCC abstrai um próton da molécula levando ao produto protegido. A desproteção foi feita utilizando-se ácido trifluoracético (TFA) em diclorometano (DCM) seco.

A prolinamida da anilina protegida (**L**) com grupamento BOC (terc-butoxicarbonil) foi caracterizada por RMN de ^{1}H e ^{13}C. É interessante ressaltar que apesar de existir várias sínteses na literatura para a prolinamida passando por este intermediário em nenhuma é discutida a caracterização. Talvez, isso seja observado devido ao alargamento dos sinais devido aos possíveis rotâmeros do

grupamento BOC. Apesar disso, e em colaboração com o grupo de RMN da Universidade Federal do Paraná, realizamos um estudo para tentar entender esse resultado.

Primeiramente foi realizado os experimentos de RMN de ^{1}H e ^{13}C à temperatura ambiente. Nesse experimento os sinais aparecem alargados tanto os do espectro de RMN de ^{1}H quanto os de ^{13}C. Diante desse resultado resolvemos realizar experimentos à baixas temperaturas e após a diminuição gradativa da temperatura observamos uma grande resolução dos sinais, como mostrado na figura 44 abaixo.

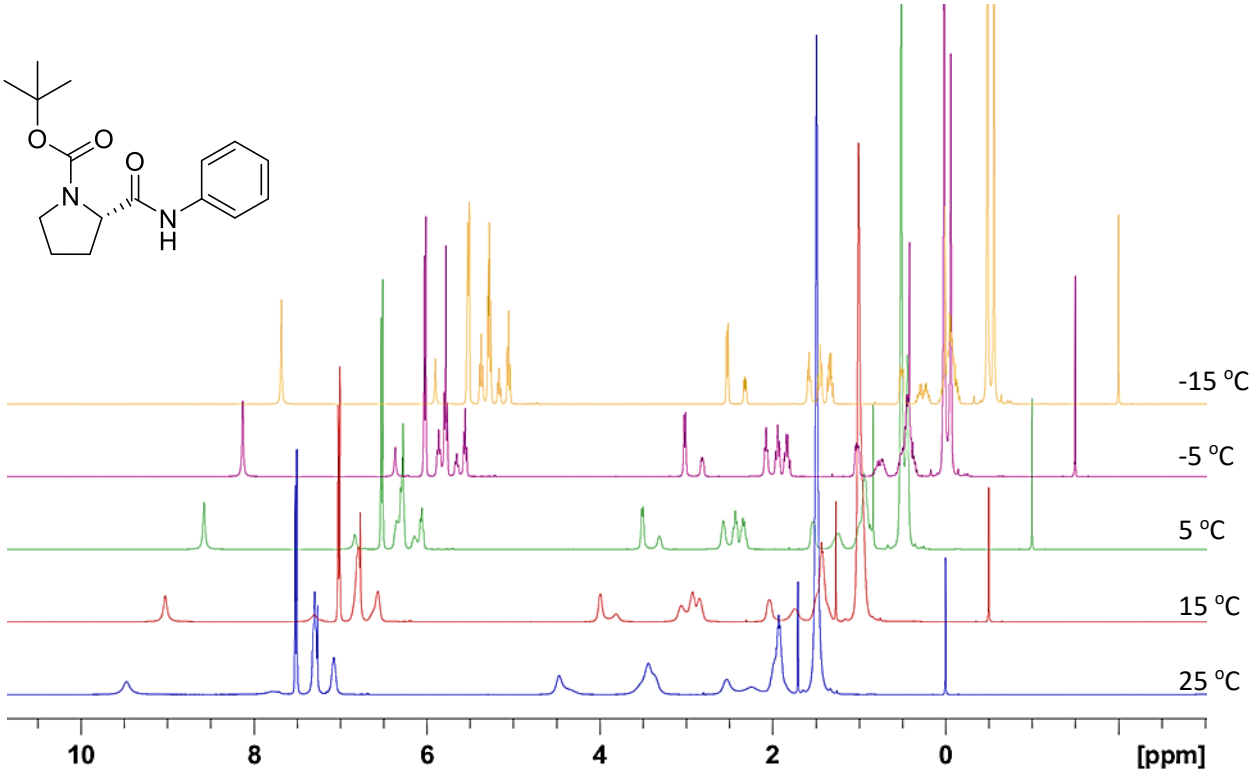


Figura 44 Espectros de RMN de ^{1}H variando a temperatura de 25 °C até -15 °C.

Após a realização dos experimentos a -15 °C podemos realizar a caracterização completa da molécula que mostrou possuir 2 confôrmeros mais estáveis. No espectro de RMN de ^{1}H na região de 10 ppm aparece um simpleto do hidrogênio ligado a nitrogênio, sinal pouco alargado característico de amida. Já na região de aromáticos aparecem os sinais do grupo fenil da porção amida. Nesta parte do espectro fica evidente que possivelmente 2 confôrmeros estão

presentes pois todos os sinais estão duplicados e exibem uma proporção aproximada de 1:0,44.

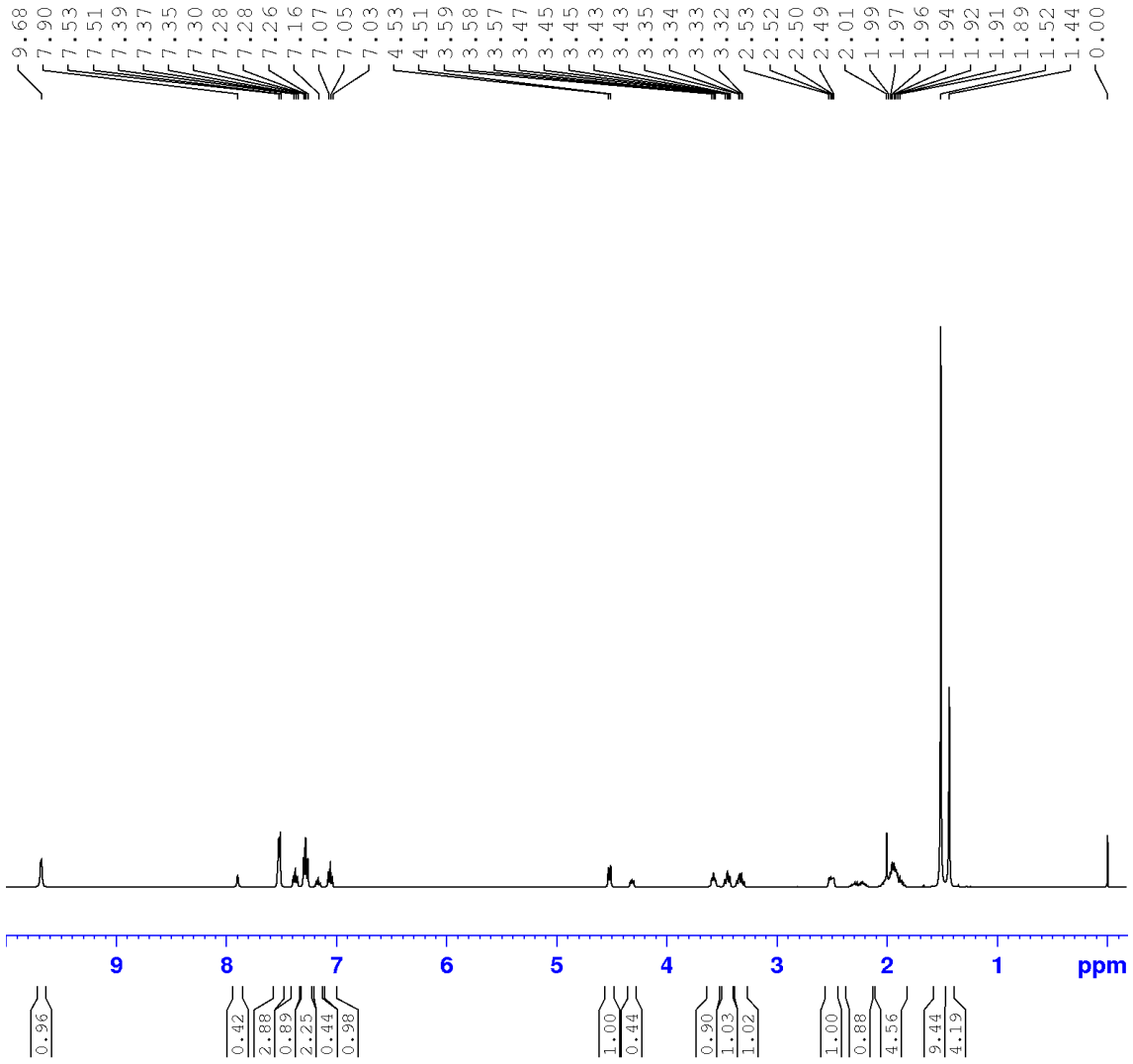


Figura 45 Espectro de RMN de ^{1}H do composto *N*-Boc-*N'*-fenil-(*L*)-prolinamida (**L**).

Podemos observar na ampliação do espectro da BOC prolinamida que na região de aromático existem 3 conjuntos de sinais mais intensos e integrando para 2:2:1, observando que o sinal em aproximadamente 7,5 ppm possui uma integração um pouco maior devido a sobreposição com sinais do outro confôrmero. Corroborando com a informação temos 2 sinais alargados possivelmente dos hidrogênios do grupo NH da amida em 9,68 e 7,9 ppm respectivamente (Figura 46).

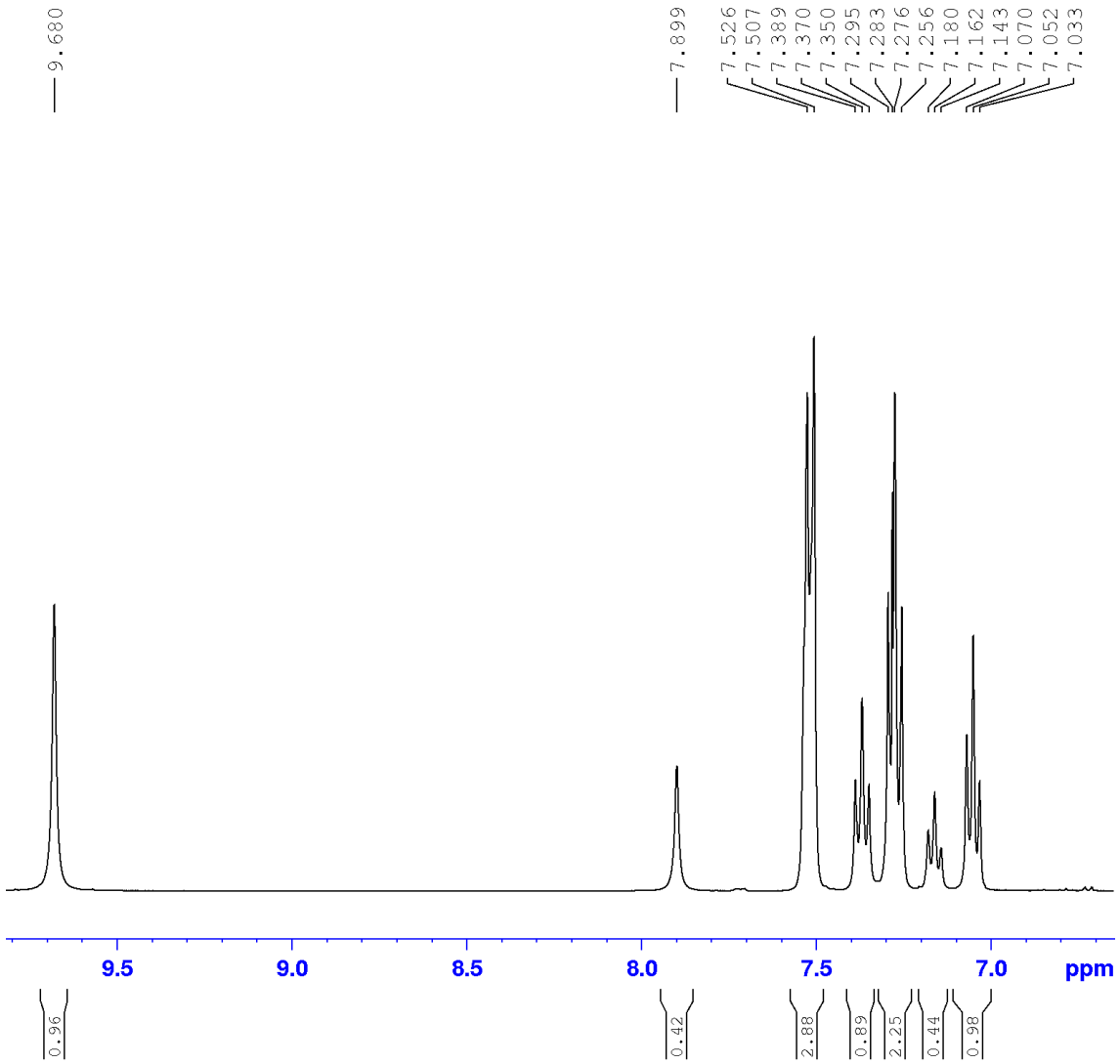


Figura 46 Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H do composto (**L**).

Analisando outra porção importante do espectro é possível observar 2 sinais muito característicos para essa classe de moléculas, que é o sinal do hidrogênio do carbono quiral. Esse sinal está mais deslocado devido a influência dos grupos vizinhos, tanto o efeito retirador de elétrons do átomo de nitrogênio, quanto do grupo carbonila da amida. Neste caso aparecem como um dupleto (quase desdobrando para um duplo dupleto - dd) e um duplo dupleto clássico para o outro confôrmero (Figura 47).

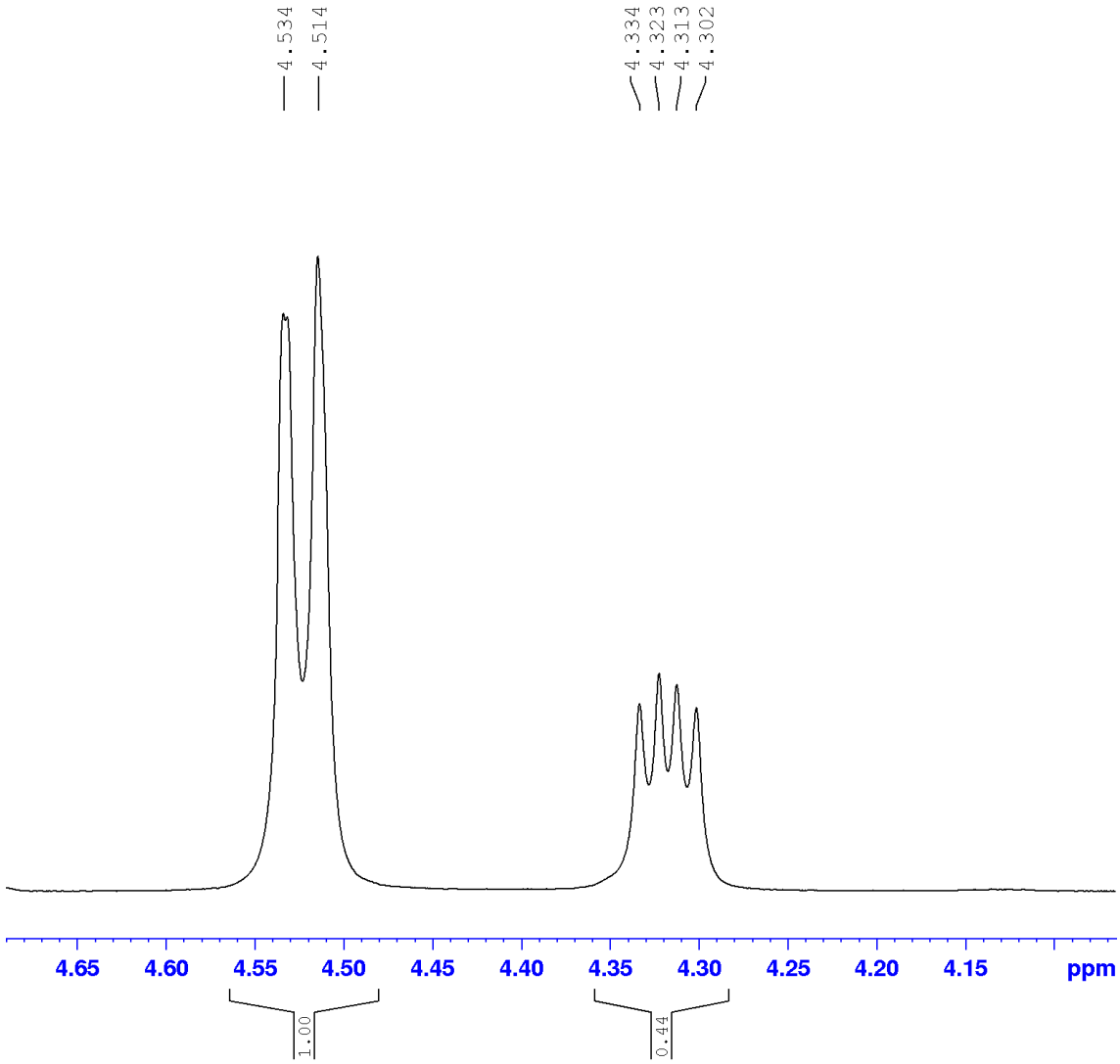


Figura 47 Ampliação do espectro de RMN do composto (**L**).

Os sinais relativos demais hidrogênios do anel pirrolidínico estão de acordo com o esperado tanto em suas proporções quanto nos seus deslocamentos e como mencionado anteriormente estão duplicados. Por último, observamos na mesma proporção os sinais dos hidrogênios do grupo tert-butil, que se aparecem na forma de um simpleto, no caso um simpleto para cada confórmoro (Figura 48).

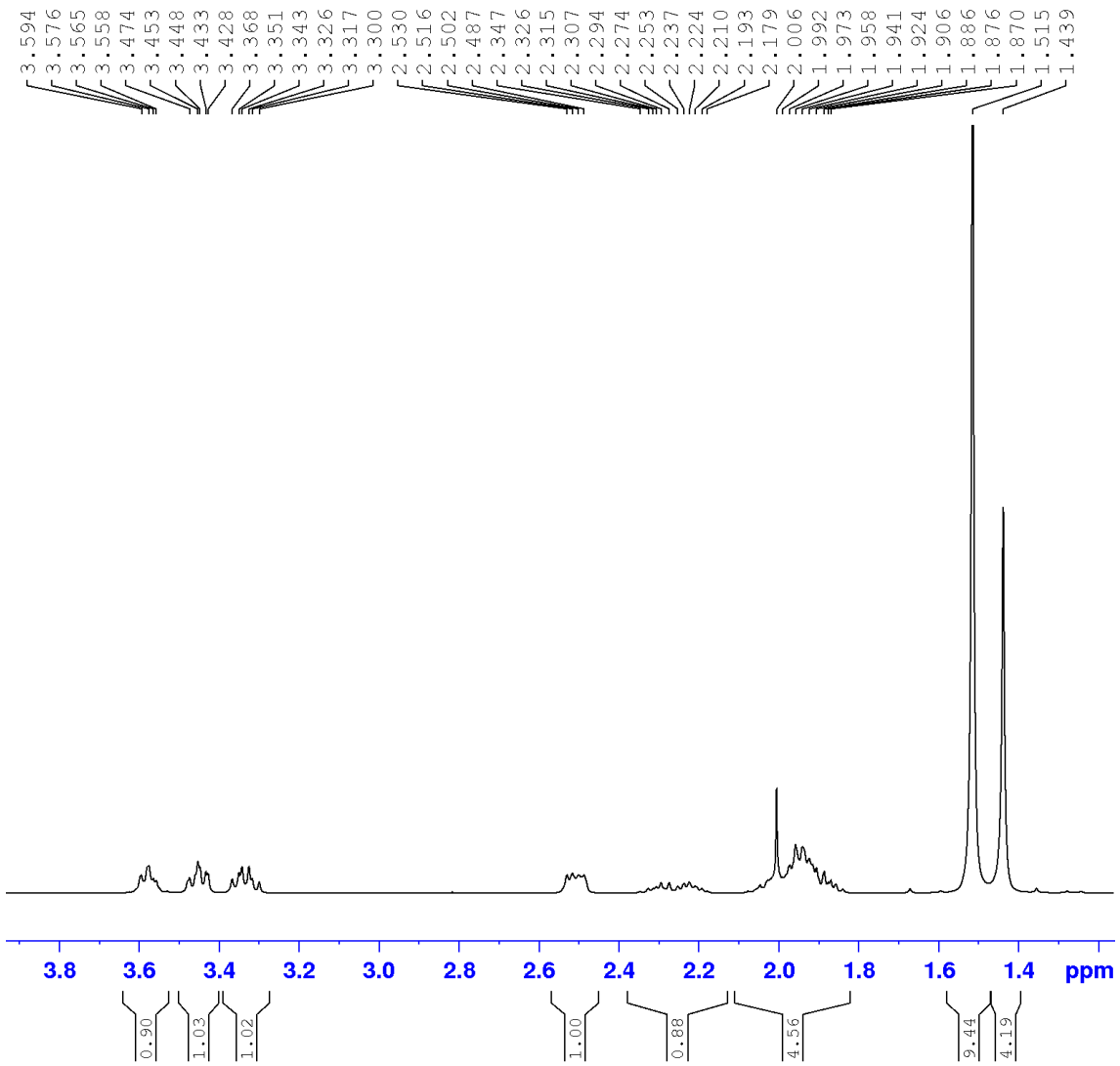


Figura 48 Ampliação do espectro de RMN do composto (**L**).

Para o espectro de RMN de ^{13}C o espectro apresenta os sinais duplicados como esperado. Na região de “carbonilas” dois conjuntos de sinais devido a presença das carbonilas tanto do grupo amida como do grupo BOC. Outros sinais importantes e que demonstram que o produto foi obtido de forma satisfatória é a presença dos sinais dos carbonos aromáticos, neste caso são esperados 4 sinais para cada confôrmero devido a equivalência de sinais de alguns carbonos. Os demais sinais estão de acordo com o restante da molécula.

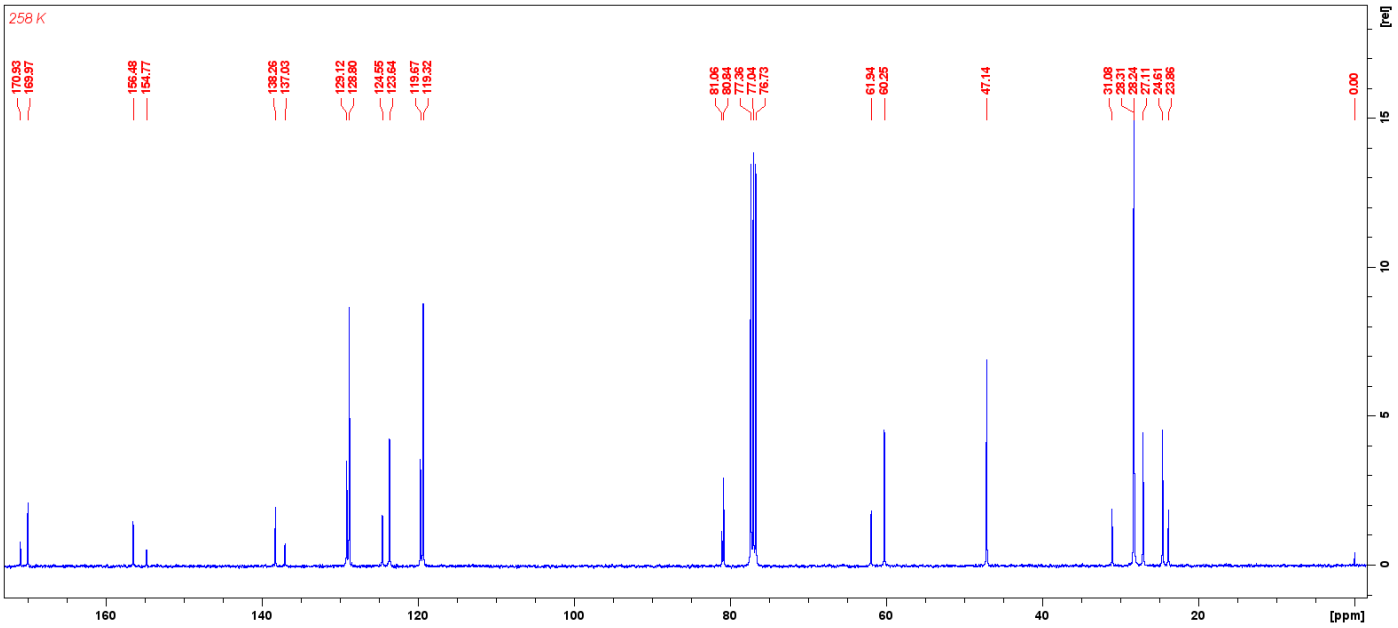


Figura 49 Espectro de RMN de ^{13}C do composto (**L**).

Uma hipótese, que é bem comum para essa classe de moléculas é a formação de confôrmeros dependentes, quanto a predominância de cada um, de fatores como interações de curto alcance e efeito do ambiente (isolado ou em solventes)[61]. Estudos revelaram as principais conformações de prolinamidas simples que servem como exemplo base de um peptídeo[61]. Devido a existência de mais de um ângulo diedro na molécula de *N*-acetil-*N'*-metilprolinamida estudada, espera-se conforme os estudos teóricos/computacionais que haja pelo menos 16 geometrias diferentes para esta molécula.

Os confôrmeros analisados para a molécula contribuíram ou não para o equilíbrio conformacional, isso baseado especialmente na energia de estado de cada um. Usando cálculos da mecânica quântica chegaram a oito confôrmeros plausíveis, sendo que conforme o meio há a predominância de um ou de outro devido a estabilidade.

Dados experimentais de RMN de ^{1}H demonstraram a presença de dois confôrmeros distintos devido a rotação livre em torno da ligação –NC(O)Me, gerando as geometrias *cis* e *trans*, sendo o *trans* em todos os meios o mais estável (Figura 50).

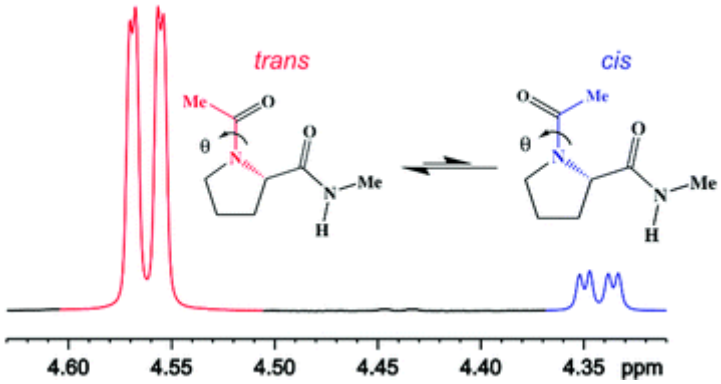


Figura 50 Sinais de RMN ^{1}H dos confôrmeros *cis* e *trans.*

A caracterização do composto desprotegido, prolinamida (**4**), foi mais fácil devido a remoção do grupamento BOC, justamente o grupo que gerava as duas possibilidades. Foi caracterizada por RMN de ^{1}H e de ^{13}C e estão de acordo com os dados da literatura. Os sinais mais característicos são a presença dos sinais dos hidrogênios aromáticos na região entre δ 7 e 8 ppm e um simpleto referente ao hidrogênio ligado a nitrogênio do grupo amida. Em δ 3,86 o espectro apresenta um duplo dupleto com constantes de acoplamento de *J* = 9,2 Hz e 5,2 Hz referente ao sinal do hidrogênio do carbono quiral que possui acoplamento com os seus 2 hidrogênios vizinhos.

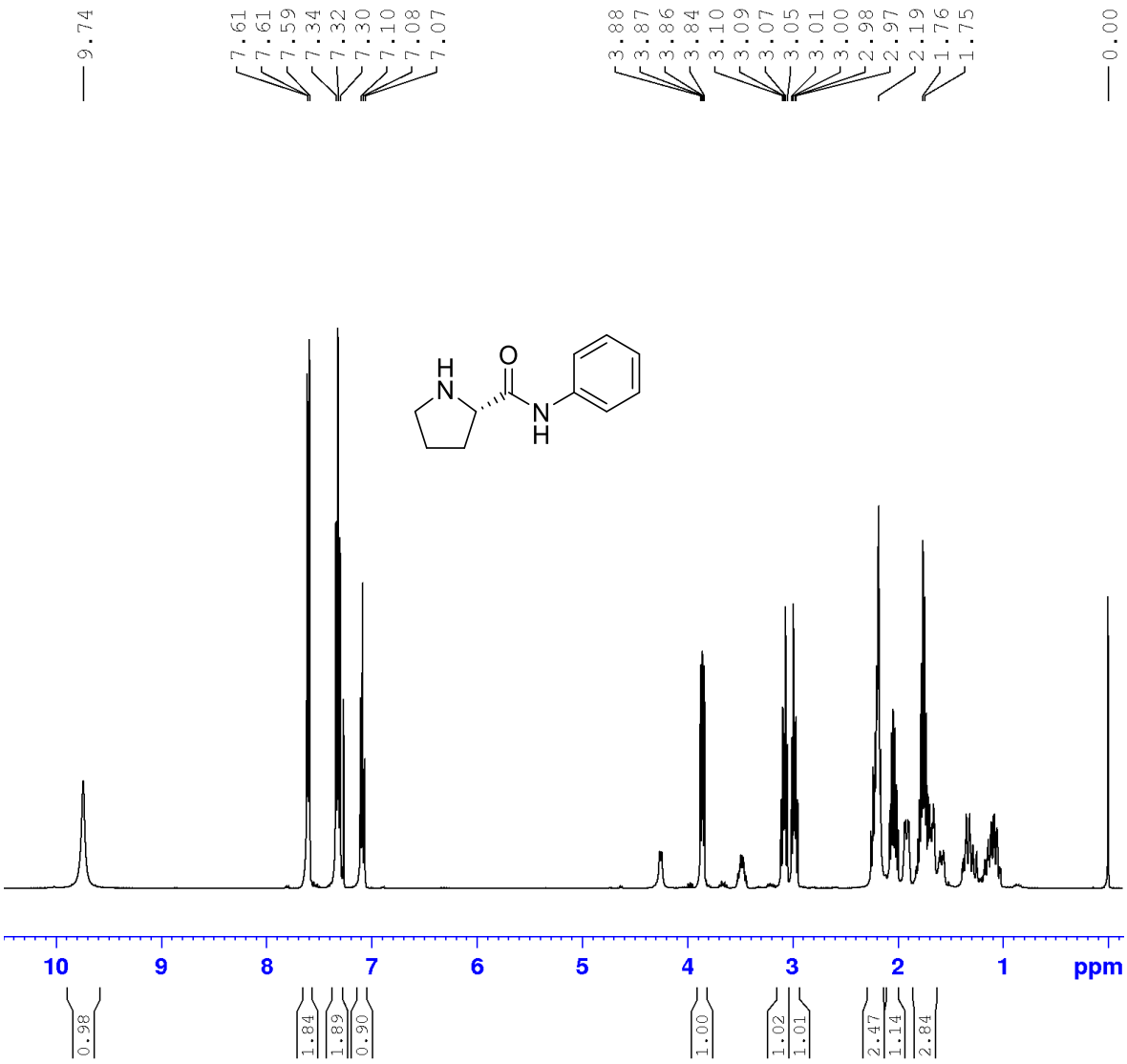


Figura 51 Espectro de RMN de ^{1}H da prolinamida (**4**).

Analisando ainda o espectro de RMN de ^{1}H é possível verificar 2 sinais que foram atribuídos aos hidrogênios na posição vizinha ao grupo amino. É possível atribuir a cada sinal a multiplicidade de um triplo dupleto devido ao acoplamento geminal entre eles devido a serem estereotópicos e ao acoplamento com os 2 outros hidrogênios vizinhos. As constantes de acoplamento encontradas foram de *J* = 10,2; 6,8 e 6,8 Hz respectivamente, porém não é possível atribuir quais seriam as constantes vicinais e a geminal. O sinal ainda apresenta uma característica de "telhado" devido a ser um sistema de acoplamento de segunda ordem (Figura 52).

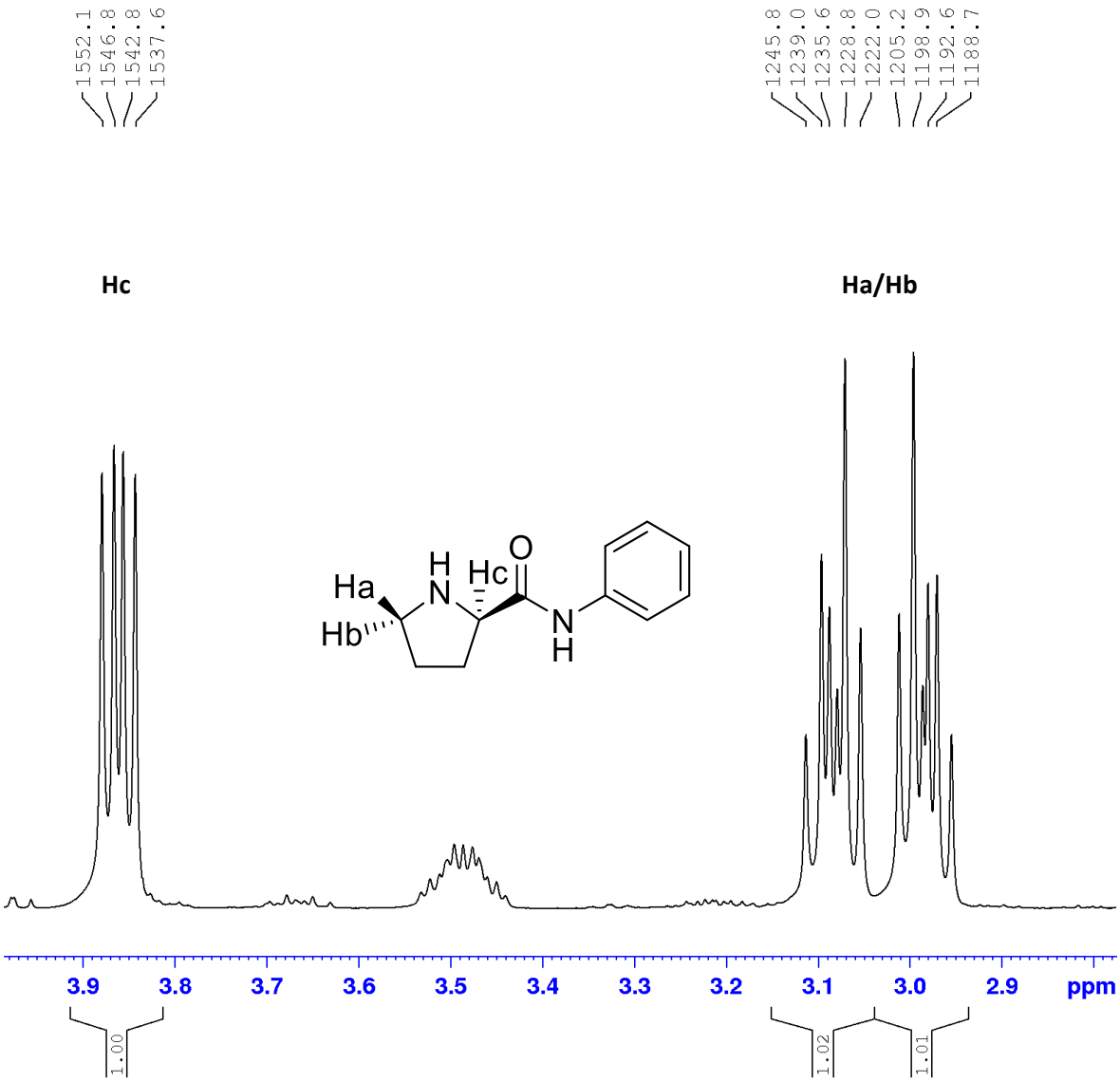


Figura 52 Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H da prolinamida (**4**).

Os sinais para o espectro de RMN de ^{13}C estão de acordo com os da literatura e estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 Comparação dos sinais de RMN de ^{13}C da prolinamida sintética com a literatura.

Carbono	δ (ppm) Prolinamida	δ (ppm) Prolinamida literatura
C=O	173.40	173.0
Aromático	137.86	137.6
Aromático	128.95	128.7
Aromático	123.92	123.7
Aromático	119.28	119.0
CH	61.05	60.7
CH_2	47.36	47.1
CH_2	30.76	30.5
CH_2	26.31	26.0

Após a obtenção do catalisador partiu-se para a tentativa de síntese do cromeno **1a** (Esquema 38, pág. 74). A tabela 9 resume, além do método de Mohanta e Bez, as condições das reações.

Tabela 9 Síntese organocatalítica do composto **1a**.

Reação	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	Catalisador (4) (mol%)	Cocatalisador (10 mol%)	Solv. $CHCl_3$	Produto (1a e/ou 1b) (2a e/ou 2b)	%ee
1	0,5	0,5	10	p-nitrofenol	0,5 mL	Nd	-
2	5	0,5	10	p-nitrofenol	0,5 mL	Nd	-
3	0,5	0,5	10	$Ti(OiPr)_4$ *p*-nitrofenol	0,5 mL	Nd	-
4	0,5	0,5	100	p-nitrofenol (100%)	0,5 mL	Nd	-
5	0,5	1,5	10	p-nitrofenol	0,5 mL	Nd	-
6	0,2	0,2	30	AcOH (30 mol%)	2,5 mL + 50 µL H_2O	Nd	-
7	0,5	0,5	10	p-nitrofenol	fase sólida, sílica 1 g	SIM	-
8	0,5	0,5	-	-	fase sólida, sílica 1 g	SIM	-

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.
As reações de 1 a 5 também tiveram adição de 50 mg de peneira molecular 4 Å e foram mantidas a 22 °C. A reação 6 foi mantida a 30 °C.

Abaixo na figura 53, o cromatograma da reação **1** é apresentado junto ao padrão do cromeno (TR = 10,0 – 12,0 min.). Pode-se perceber que não houve formação do produto desejado. Os cromatogramas das demais reações, de **2** a **6,** apresentaram o mesmo comportamento.

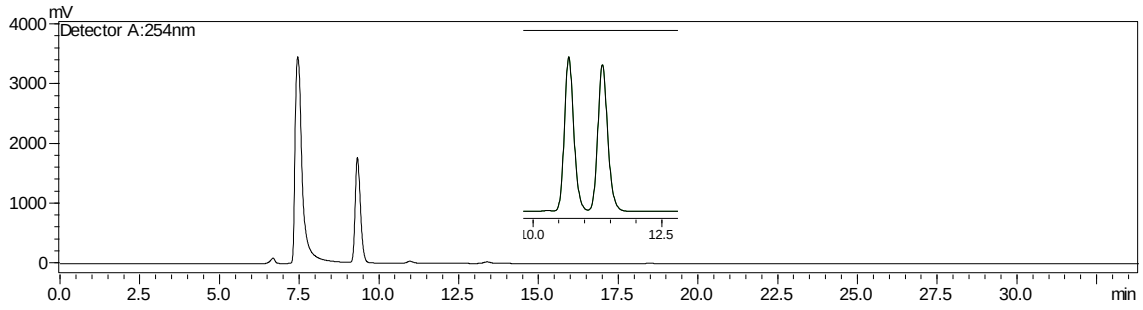


Figura 53 Cromatograma da reação nº **1** e padrão cromenos **1b;1a**. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

Já as reações **7** e **8** apreesentaram formação do produto, porém apenas a mistura racêmica de **1a** e **1b** (Figura 54).

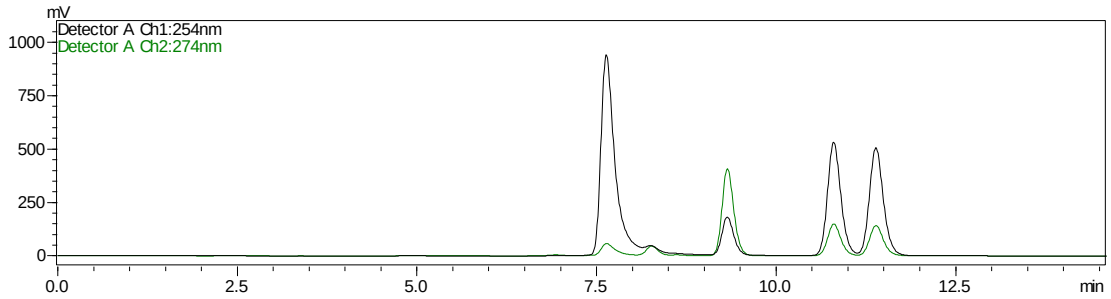


Figura 54 Cromatograma da reação nº **7**. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

A reação **1** ocorreu exatamente nos mesmos parâmetros do artigo, por alguma razão chegamos a resultados distintos dos apresentados no mesmo. Esperava-se que após a formação do íon imínio a reação ocorresse com controle enantiomérico devido orientação do nitroestireno, guiada pela interação de hidrogênio com a amida secundária. Neste processo empregou-se também o cocatalisador *p*-nitrofenol com o intuito de auxiliar tanto na orientação do nitroestireno, quanto no ambiente quiral gerado pela formação do intermediário imínio, sob uma acidez apropriada oriunda da presença do cocatalisador[59]. Existem hipóteses também da base conjugada do cocatalisador aumentar a nucleofilicidade do grupo hidróxido do fenol[49].

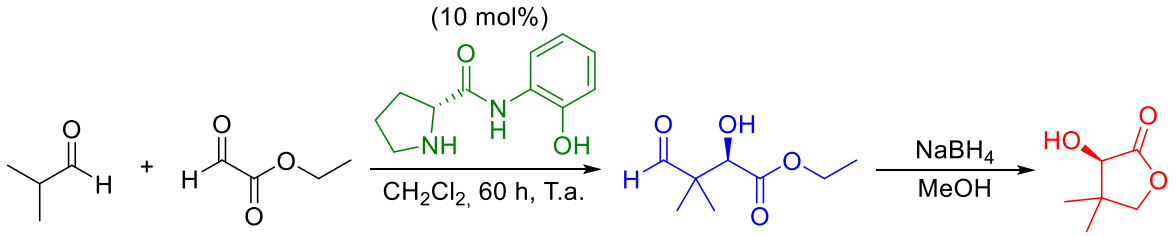
Os resultados obtidos estão muito distantes dos relatados pelo grupo do artigo, para as mesmas condições reacionais e métodos relataram 99% de *ee*. Em nossas tentativas o produto não foi formado, seja racêmico ou com alguma pureza enantiomérica. Cabe a partir de tal fato observar o melhor caminho para recorrer aos autores e ou revista científica para que garantam a reprodutibilidade de seus resultados.

As reações **2** e **5** nós reproduzimos as condições do artigo com exceção da proporção entre o aldeído e a olefina, já que o método usual (reação **1**) não funcionou. Nestas reações a variação tanto do aceptor, quanto do doador de Michael não interferiram no resultado final.

Na reação **4** buscou-se reproduzir a reação com quantidade igual de reagentes e catalisador e cocatalisador. Não foi observado a formação do(s) produto(s) para tal condição também.

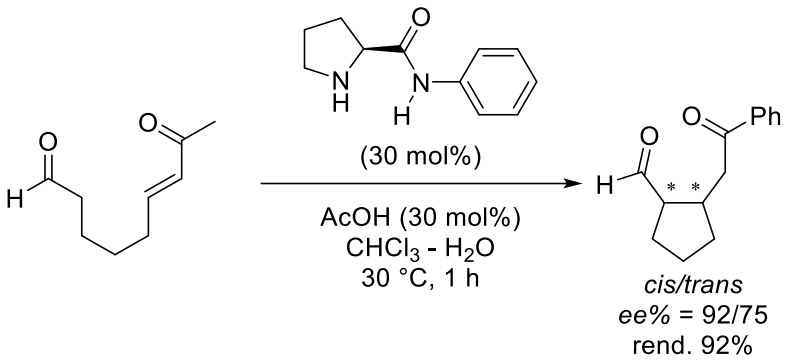
A reação **3** tentamos através do cocatalisador adicional ($Ti(OiPr)_4$), criar um ambiente em que a orientação da olefina pudesse propiciar a síntese enantiomérica (similar Figura 41, pág. 72), porém, não houve formação do produto, o que pressupõe que por algum motivo a reação não prosseguiu após formação do intermediário imínio, ou seja, mesmo que ainda na orientação correta do eletrófilo o nucleófilo não reagiu.

Hong Du e colaboradores, citam a ineficácia de um catalisador similar ao que utilizamos nesse trabalho em reações aldólicas enantiosseletivas de aldeídos para síntese de (*R*)-pantolactonas em DCM (Esquema 41), a ponto de não haver formação do produto, inclusive faz citação ao artigo de Mohanta e Bez. Cabe mencionar que para outros aldeídos e solventes pôde-se obter altos rendimentos e *ee*, porém baixas diastereoseletividades[62].



Esquema 41 Reação aldólica enantiosseletiva de aldeídos para síntese de (R)-pantolactonas.

Reação **6** baseou-se no sucesso da reação intramolecular de Michael na síntese de ceto-aldeídos ciclicos quirais, de M.Kikuchi e colaboradores[63] (Figura 47), porém, não se obteve sucesso para a síntese dos cromenos.



Esquema 42 Reação intramolecular de Michael na síntese de ceto-aldeídos ciclicos quirais.

Reações **7** e **8** foram conduzidas em fase sólida (sílica gel 60 Å, 40-63 µm (Sigma-Aldrich®)). A reação **7** com prolinamida e nitrofenol e a **8** apenas com salicilaldeído e nitroestireno. Em ambos os casos obteve-se a mistura racêmica dos produtos, logo, entende-se que a reação em fase sólida não pôde ser catalisada e não teve *ee*. Foi uma surpresa para o grupo a síntese dos compostos **1a** e **1b** sem a necessidade de uma base, por exemplo, trietilamina que já foi citada. Na literatura não há registros dessa modalidade sintética para essa reação.

3.3 SÍNTESE ONE-POT DE (*R*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1a)/(*S*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1b) E (*R*)-2-FENIL-2*H*-CHROMENO-3-CARBALDEÍDO (2a)/(*S*)-2-FENIL-2*H*-CHROMENO-3-CARBALDEÍDO (2b) UTILIZANDO A ENZIMA CAL-B

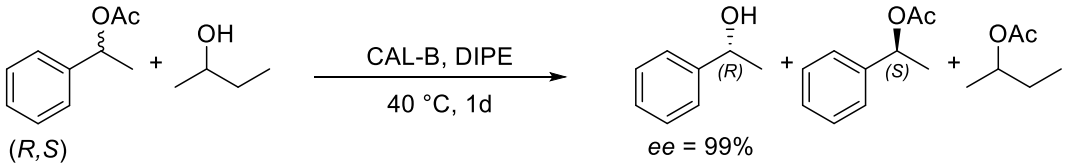
A biocatálise sendo uma técnica atrativa tanto por sua eficácia quanto por sua elegância enquanto metodologia sintética verde. Optou-se nesse trabalho por empregar a enzima CAL-B suportada em fase sólida na síntese dos compostos **1a**, **1b**, **2a** e **2b**. O intuito maior era explorar a possibilidade de promiscuidade da enzima e investigar a sua eficácia para a síntese.

A lipase B de *Candida antarctica* (CAL-B) é uma serina hidrolase, tem um resíduo de serina em seu sítio ativo (além de histidina e aspartato) envolvido na hidrólise de substratos, pertencente à família das hidrolases α/β, apresenta massa molecular de 33 kDa e contêm 317 aminoácidos. É um dos biocatalisadores mais utilizados pela indústria, em especial a farmacêutica[23].

CAL-B normalmente catalisa a hidrólise de ésteres em meio aquoso, promove esterificações e transesterificações[64], mas também apresenta alta atividade para catalisar a formação ou clivagem de ligações C-C, C-N e C-S, se mostra eficaz para adições de Michael[23].

A fase sólida à qual a CAL-B estava imobilizada promove a estabilidade térmica, favorece reutilização e com isso diminui custos, é melhor para manusear, é compatível com condições brandas, evita interações com o solvente, dentre outras características.

Zaïdi e colaboradores, desenvolveram estudos sobre alcoólise enzimática (CAL-B) de etil-1-fenilacetato, um acetato benzílico, do qual este e seus derivados podem ser usados como blocos construtores de vários fármacos. Tal estudo revela que a eficácia da desacetilação enzimática promovida por CAL-B é dependente da hidrofobicidade do solvente e da estrutura/natureza do nucleófilo[65].



Esquema 43 Desacetilação enzimática promovida por CAL-B

Como a CAL B já foi usada em reações de Michael, decidimos utilizá-la na tentativa de síntese dos cromenos. Inicialmente cinco reações foram realizadas para avaliar a capacidade de biocatálise da CAL B em diferentes condições para a reação de formação dos produtos **1a** e **1b** (Tabela 10). As reações foram conduzidas em temperatura ambiente e acompanhadas diariamente por 30 dias através de CLAE/coluna quiral.

Tabela 10 Síntese biocatalítica dos cromenos.

Reação	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	CAL B (mg)	Solv. (3 mL)	Produto (1a e/ou 1b)	*%ee*
1	1	1	10	MeOH	SIM	0
2	1	1	10	EtOH	Nd	0
3	1	1	10	H_2O	Nd	0
4	1	1	30	MeOH	Nd	0
5	1	1	10	-	SIM	0

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

Os cromatogramas abaixo são da reação 1 e representam a evolução da mesma. O primeiro corresponde as primeiras 24h de reação, o segundo a 17 dias e o último 30 dias. Percebe-se que não houve alteração significativa na formação dos produtos e que o rendimento foi baixo.

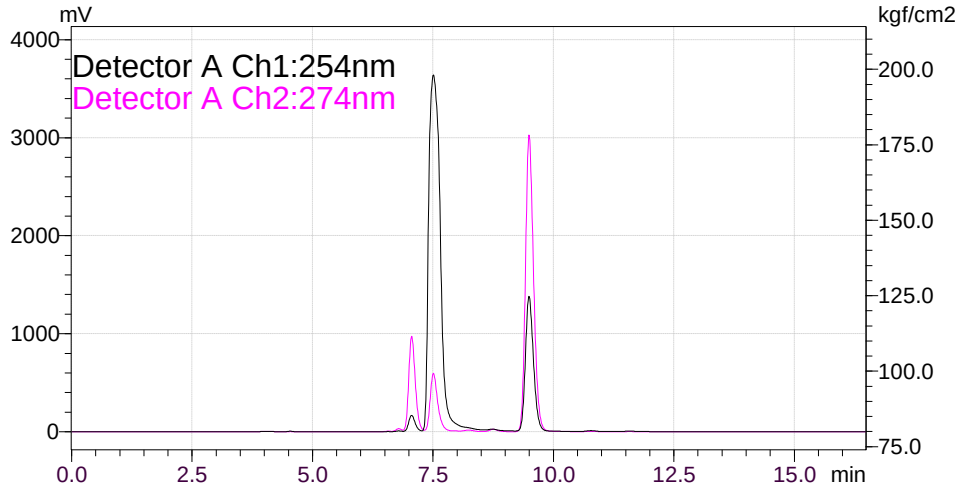


Figura 55 Cromatograma/acompanhamento da evolução da reação nº 1, 24h de reação. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

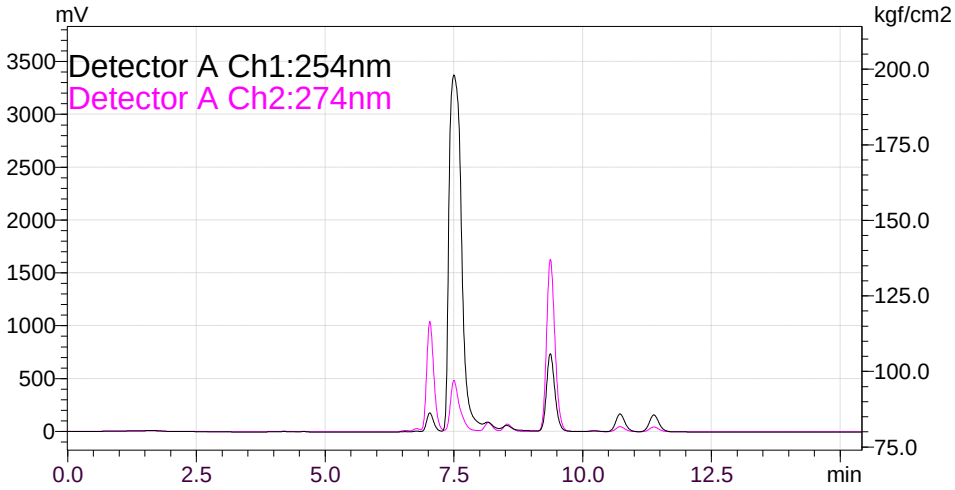


Figura 56 Cromatograma/acompanhamento da evolução da reação nº 1, 17d de reação. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.-1.

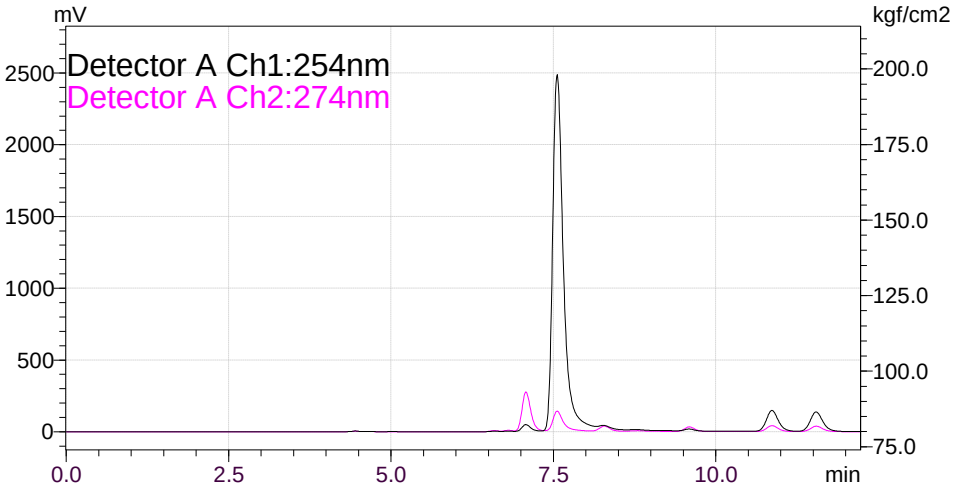


Figura 57 Cromatograma/acompanhamento da evolução da reação nº 1, 30d de reação. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.$^{-1}$.

As reações 2 e 3 não formaram produtos e por isso os solventes etanol (EtOH) e água não são os ideais para a biocatálise/síntese a temperatura ambiente. A reação 4 limitou a quantidade de biocatalisador ideal a valores abaixo de 30 mg.

Após a primeira tentativa foram lançadas mais dez reações (tabela 11) seguindo os resultados da primeira como norteadores.

Tabela 11 Síntese biocatalítica dos cromenos.

Reação	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	Cinamaldeído (C) (mmol)	CAL B (mg)	Solv. (3 mL)	Produto (1a e/ou 1b) (2a e/ou 2b)	*%ee*
1	3	1	-	10	-	SIM	
2	1	3	-	10	-	SIM	
3	3	-	1	10	-	Nd	
4	1	-	3	10	-	SIM	
5	3	1	-	10	MeOH	SIM	
6	3	-	1	10	MeOH	SIM	
7	3	1	-	10	Tolueno*	Nd*	
8	1	3	-	10	Tolueno	Nd	
9	3	-	1	10	Tolueno	Nd	
10	1	-	3	10	Tolueno*	Nd*	

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

*após um mês foi adicionado água em ambas as reações, e então a 7 formou produto em 24 h.

As temperaturas das reações foram mantidas em 40 °C por 72h, não sendo observada formação de produto ou quantidade significativa, após foram aumentadas para 80 °C. Por um período de 30 dias acompanhou-se as reações por CLAE/coluna quiral.

As reações em que houve formação de produto apresentaram picos muito próximos da base (figura 58), logo não houve bons rendimentos nem taxa de conversão.

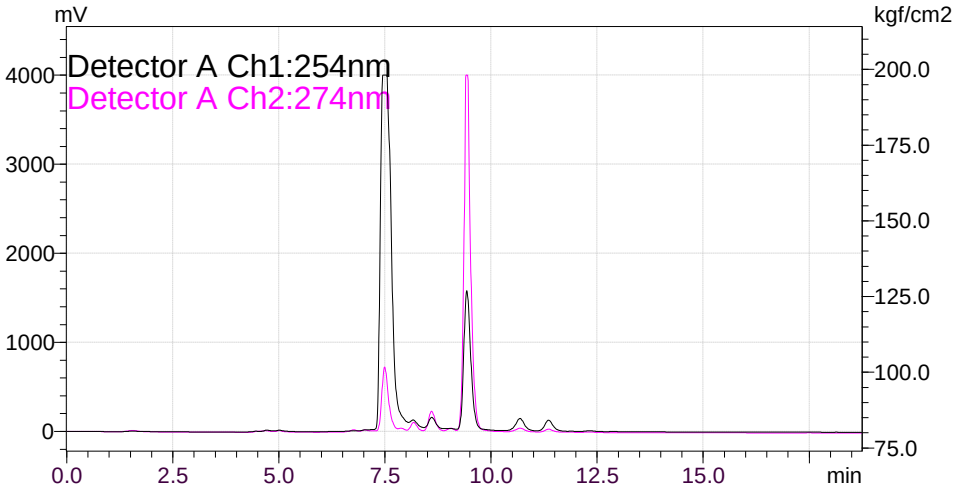


Figura 58 Cromatograma da reação nº 5. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$..

Em seguida mais quatro reações foram realizadas a 40 °C com exceção da nº 4 que foi mantida a temperatura ambiente.

Tabela 12 Síntese biocatalítica dos cromenos.

Reação	Salicilaldeído (A) (mmol)	Nitroestireno (B) (mmol)	Cinamaldeído (C) (mmol)	CAL B (mg)	Solv. (3 mL)	Produto (1a e/ou 1b) (2a e/ou 2b)	*%ee*
1	1	-	10	10	DMSO	Nd	
2	1	-	10	10	Tolueno	SIM	
3	3	1	3	10	Tolueno	Nd	
4	1	-	10	10	Tolueno	SIM	

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

Novamente os picos estavam próximos a base indicando baixíssimo rendimento.

Uma última tentativa consistiu em 19 reações variando a quantidade de salicilaldeído (reação 18), o solvente, adição ou não de trietilamina e a quantidade de enzima (Tabela 13).

Tabela 13 Síntese biocatalítica dos cromenos.

Reação	Salicilaldeído (A) (mmol)	Cinamaldeído (C) (mmol)	CAL B (mg)	Et_3N (mol%)[a]	Solv. (1 mL)	T (°C)	Produto (1a e/ou 1b) (2a e/ou 2b)	*%ee*
1	1	10	10	-	Tolueno	27	Nd	-
2	1	10	20	-	Tolueno	27	Nd	-
3	1	10	30	-	Tolueno	27	Nd	-
4	1	10	10	-	Dioxano	27	Nd	-
5	1	10	20	-	Dioxano	27	Nd	-
6	1	10	30	-	Dioxano	27	Nd	-
7	1	10	10	-	Benzeno	27	Nd	-
8	1	10	20	-	Benzeno	27	Nd	-
9	1	10	30	-	Benzeno	27	Nd	-
10	1	10	10	-	Heptano	27	Nd	-
11	1	10	20	-	Heptano	27	Nd	-
12	1	10	30	-	Heptano	27	Nd	-
13	1	10	20	1	Tolueno[b]	40	Nd	-
14	1	10	20	-	Tolueno[b]	40	Nd	-
15	1	10	20	1	-	40	Nd	-
16	1	10	50	1	MeOH[b]	40	Nd	-
17	1	10	10	-	Tolueno[b]	40	Nd	-
18	5	10	10	-	Tolueno[b]	40	Nd	-
19	1	10	-	-	Tolueno[b]	40	Nd	-

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

[a] em relação ao C.

[b] Volume do solvente usado foi 3 mL.

Em nenhuma das reações o produto foi observado, o cromatograma abaixo representado é um exemplo do resultado obtido para todas.

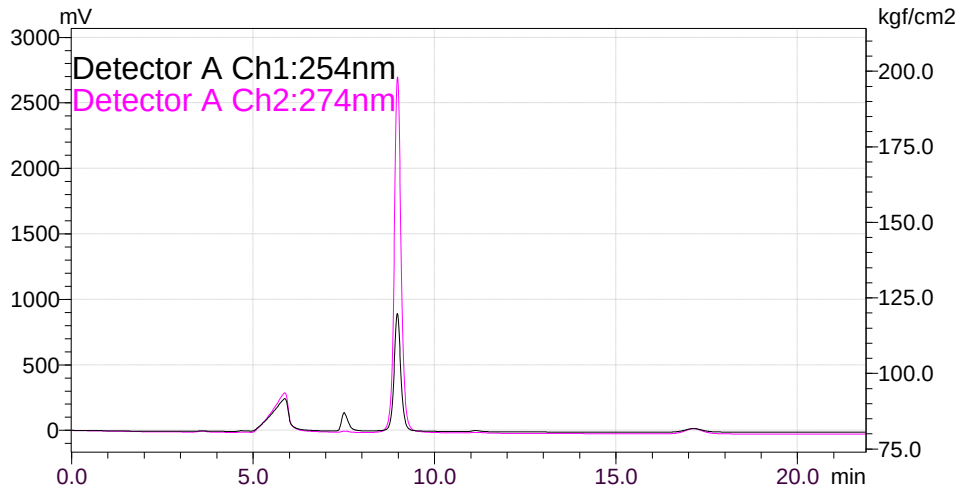


Figura 59 Cromatograma da reação nº 10. Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL min.-1.

Solvente, temperatura, tempo de reação, quantidade de enzima empregada, influenciam diretamente na estabilidade e atividade da enzima[23]. A estrutura do substrato é de fundamental importância quanto a reatividade com a enzima, isso porque tanto as interações com os resíduos de aminoácidos quanto com a cavidade da enzima podem favorecer ou não a conversão.

A enzima CAL-B se mostrou ineficaz na biocatálise da reação de síntese dos cromenos.

Provavelmente não houve eficácia na interação entre o nitroestireno/cinamaldeído e os resíduos de aminoácidos da enzima CAL-B, essa suposição se baseia nos resultados obtidos com os aminoácidos (*L*)-cisteína, neste trabalho, e (*L*)-prolina do grupo.

3.4 SÍNTESE ONE-POT DE (*R*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1a)/(*S*)-3-NITRO-2-FENIL-2*H*-CROMENO (1b) E (*R*)-2-FENIL-2*H*-CHROMENO-3-CARBALDEÍDO (2ª)/(*S*)-2-FENIL-2*H*-CHROMENO-3-CARBALDEÍDO (2b) UTILIZANDO α-AMILASE

A α-amilase é do tipo amilolítica, ou seja, promove a hidrolise do amido. Trabalha junto às outras duas na degradação do amido, sendo a responsável por romper as ligações no interior do substrato (endoamilase). É a enzima amilolítica mais utilizada em diferentes indústrias como alimentícia, de detergentes, têxteis,

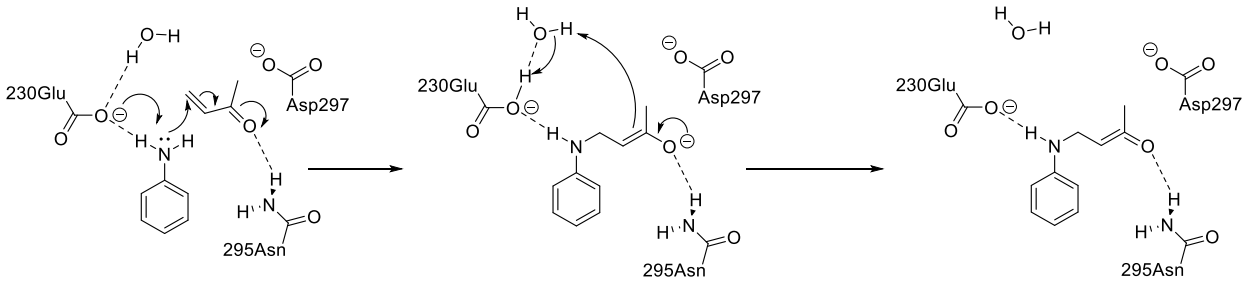
farmacêutica, de couro e papel[66]. É também a amilase mais importante produzida por animais, vegetais e microorganismos[67].

Enzima termoestável, suporta temperaturas acima de 90 °C, porém, sua faixa de trabalho ideal é de 55 a 70 °C para a atividade máxima. O peso molecular está na faixa de 40–70 kDa.

A imobilização de enzimas em fase sólida torna possível a reutilização e gera estabilidade em diversas temperaturas e pH[68], isso faz com que estudos contemporâneos[66] sejam conduzidos a fim de testar novos compostos, como nanomateriais, para imobilização.

Estudos realizados recentemente (2020)[69], demonstram a capacidade de biocatálise de α-amilase em reações de adição do tipo aza-Michael de aminas cíclicas a enonas em meio aquoso. O produto da reação são β-amino carbonilas, blocos construtores de diversas moléculas biologicamente ativas, além de serem versáteis intermediários da síntese de β-lactamas, amioálcoois e β-aminoácidos.

O sítio ativo da α-amilase é constituído basicamente de Asp297-Glu230-Asp206. Outros resíduos como Asn295 também pode ser encontrado. Para a reação mencionada acima os autores atribuem, através de estudos computacionais, que os autos rendimentos são por causa dos resíduos Glu230 que interage com o próton do nucleófilo e aumenta sua nucleofilicidade, e Asn295 que estabelece forte interação de hidrogênio com o grupo carbonila da enona o estabilizando (Esquema 44).



Esquema 44 Mecanismo proposto para adição aza-Michael de anilina a 2-butenona usando α-amilase.

Neste trabalho utilizou-se a α-amilase comercial extraída do pâncreas do porco. PPL (lipase from porcine pancreas, 6.8 U/mg). Esperava-se que, por

promiscuidade da enzima, houvesse interação entre o seu sítio ativo e o salicilaldeído e nitroestireno ou cinamaldeído através de catálise ácido/base, ativando o nucleófilo, e de interação de hidrogênio ativando o nitroestireno/cinamaldeído.

Foram realizadas seis reações a 50 °C e sob agitação. A enzima α-amilase se mostrou ineficiente na síntese de cromenos a partir de salicilaldeído e nitroestireno ou cinamaldeído, conforme resultados da tabela 14.

Não foi encontrado na literatura exemplos de reações enantiosseletivas de síntese de cromenos através da biocatálise envolvendo a α-amilase e as espécies utilizadas neste trabalho ou parececidas.

Wang e colaboradores[70] relatam a síntese de derivados 2*H*-cromenos substituídos na posição 3, utilizando diferentes condições e reagentes, sendo os resultados obtidos com rendimentos moderados a baixo. O salicilaldeído e alguns derivados substituídos por grupos retiradores ou doadores de elétrons foram utilizados junto a aldeídos ou cetonas α,β-insturados.

Tabela 14 Síntese biocatalítica dos cromenos utilizando **α**-amilase.

Reação	**Salic. (A) (mmol)**	**Nitroest. (B) (mmol)**	**Cinamald. (C) (mmol)**	**α-amilase (mg)**	**Et_3N (μL)**	**Solv. (μL)**	**Produto (1a e/ou 1b) (2a e/ou 2b)**	***%ee***
1	1	-	3	50	-	300 H_2O/ 2700 DMSO	Nd	-
2	1	-	10	50	-	300 H_2O/ 2700 DMSO	Nd	-
3	3	1	-	50	-	300 H_2O/ 2700 DMSO	SIM	-
4	3	1	-	50	14	300 H_2O/ 2700 DMSO	SIM	-
5	1	-	3	50	14	300 H_2O/ 2700 DMSO	SIM	-
6	1	-	10	50	-	-	Nd	-

Nd = (não detectado) concentrações abaixo do limite de quantificação.

Todos os resultados sugerem que a biocatálise enantiosseletiva promovida pela α-amilase é dependente da interação específica do substrato com o sítio ativo e da conformação da enzima, o que leva a entender que para a reação *o*-Michael/Aldol não se alcançou tal condição.

4 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram testados diferentes catalisadores assimétricos na síntese de importantes compostos percussores de moléculas interessantes do ponto de vista farmacológico e biológico. Houve grande aprendizado do grupo com relação à organocatálise e biocatálise empregadas na produção de cromenos. As sínteses e design de organocatalisadores aumentaram a biblioteca do nosso grupo de pesquisa proporcionando possibilidades de catálise assimétrica de outros tantos compostos orgânicos diferentes dos trabalhados neste.

As possibilidades para uma reação orgânica são diversas, reagentes, solventes, temperatura, catalisadores, cocatalisadores (aditivos), agitação, dentre outros compõe o meio reacional e influenciam no destino da reação. Os desafios encontrados durante este trabalho foram muitos, nos levaram a construir um conhecimento que até então ainda estava focado em um segmento. Diante do que temos em mãos hoje surge oportunidades para trabalhos futuros para aperfeiçoamento das reações discutidas aqui e de tantas outras.

Para nossa surpresa ao tentar reproduzir o método do artigo que relata a síntese do composto **1a** com altíssimo *ee* através da organocatálise assimétrica, não houve formação detectável do produto, sendo assim, os resultados divergiram. O insucesso da síntese pode estar relacionado ao procedimento, que por algum motivo, na prática pode ser diferente do relatado no texto. O próximo passo é avaliar a possibilidade de buscar informações com os autores e ou revista para maiores esclarecimentos.

Neste trabalho desenvolvemos um método inédito de síntese da mistura racêmica dos compostos **1a** e **1b**. Ao usar fase sólida (sílica) garantimos um processo menos agressivo ao meio ambiente, mais econômico e simples. A partir de tal feito há de se pensar em otimizar o processo e investigar melhor para uso não só nessa, mas em outras reações similares.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 MÉTODOS GERAIS

As análises por CLAE foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu Prominence (UFSJ-CCO), equipado com uma coluna quiral modelo ASTEC CELLULOSE DMP com 4,6 mm x 25 cm e diâmetro de partícula de 5 µm, uma coluna C18 modelo Shim-Pack® com 4,6 mm x 25 cm e diâmetro de partícula de 5 µm, bomba de alta pressão modelo LC-20AT, detector espectrofotométrico "UV-vis" modelo SPD-10A e um injetor manual.

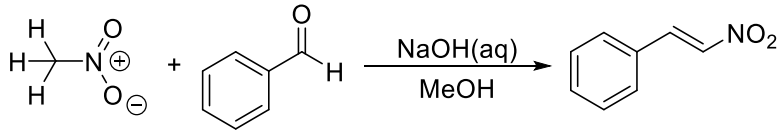
As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada, utilizando-se sílica gel 60 G (Macherey-Nagel®) com espessura de camada de 0,25 mm sob laminas de vidro (2 cm x 5 cm). As laminas foram reveladas em câmara de luz ultravioleta (comprimento de onda 254 nm), e também pelo vapor de iodo.

As purificações por cromatografia em coluna de sílica foram realizadas com sílica gel 60 Å, 40-63 µm (Sigma-Aldrich®).

Os solventes foram removidos das reações através de um rota-evaporador, sob pressão reduzida (20 - 30 mmHg). Os solventes e reagentes foram tratados e descartados de acordo com a toxidade dos mesmos.

5.2 METÓDOS PARA A OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS PROPOSTOS

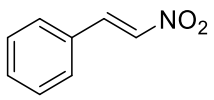
5.2.1 Procedimento para síntese de [(*E*)-2-nitroetenil]benzeno (B) (nitroestireno)



Esquema 45 Reação de síntese do nitroestireno.

Em um balão de fundo redondo de 250 mL e sob agitação magnética foram adicionados 5 g (4,81 mL) (47,12 mmol) de benzaldeído, 3 g (2,7 mL) (50 mmol) de nitrometano e 50 mL de metanol. A solução foi resfriada até -10 °C, e então foi

adicionado lentamente 6,25 mL de uma solução 8 mol L^{-1} de NaOH resfriada. Após a adição do NaOH a temperatura foi aumentada até a ambiente. Após um período de 15 minutos, foram adicionados 35 mL de água gelada e imediatamente transferido para um erlenmeyer de 250 mL, contendo 25 mL de solução de HCl 4 mol L^{-1}. Um precipitado cristalino foi formado e este foi filtrado e lavado com água gelada. O resíduo foi recristalizado, utilizando etanol como solvente.



(B)

Figura 60 [(E)-2-nitroetenil]benzeno

Sólido amarelo (92% de rendimento).

Dados espectroscópicos:

FM: $C_8H_7NO_2$

MM: 149,15 g mol^{-1}

RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 200 MHz) δ (ppm): 7,4 – 7,55 (m, 4 H), 7,6 (d, *J* = 13,5 Hz, 1 H), 7,8 (d, *J* = 13,5Hz, 1 H).

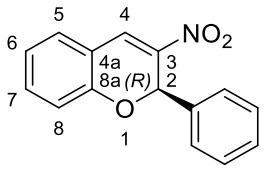
RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50 MHz) δ (ppm): 129,19, 129,45, 130,13, 132,19, 137,19, 139,15.

5.2.2 MÉTODO GERAL PARA A SÍNTESE DOS CROMENOS

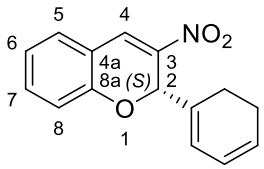
5.2.2.1 SÍNTESE DA MISTURA RACÊMICA ((*S*)-3-nitro-2-fenil-2H-cromeno e (*R*)-3-nitro-2-fenil-2H-cromeno):

Em um balão de fundo redondo de 250 mL e sob agitação magnética, foram adicionados 1,1 mmol de salicilaldeído, 1,0 mmol de nitroestireno, 2 mL de THF e 20 mol% de trietilamina. Deixou-se a reação em agitação por 120 horas à

temperatura ambiente acompanhando a formação do cromeno por CCD (Hx:CH_2Cl_2:Éter 5:1:1) e CLAE (C18 MeOH:H_2O 80:20). Após esse período adicionou-se 10 mL de água e o produto foi extraído com acetato de etila (3X10mL). Então a solução foi seca com Sulfato de sódio anidro e evaporou-se o filtrado. O produto foi submetido à purificação em coluna cromatográfica em sílica gel, com o eluente: Éter etílico:Hexano:Diclorometano (1:5:1).



(1a)



(1b)

Figura 61 Isômeros *R* e *S* do NFC.

Sólido amarelo (80% rendimento)

Dados espectroscópicos:

F.M.: $C_{15}H_{11}NO_3$

M.M.: 253,25 g mol^{-1}

TF: 89,5-90,5 °C

$[\alpha]_D^{58}$ = + 16,3 (*c*=0,05 g mL^{-1} em $CHCl_3$)

RMN de ^{1}H (400 MHz, CDCl3) δ (ppm): 8,05 (s, 1H); 7,28-7,39 (m, 7H); 6,99 (td, *J* = 0.8 Hz 7,9 Hz, 1H); 6,85 (dt, *J* = 0.8 Hz 7,9 Hz, 1H); 6,58 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 153,68; 141,30; 136,90; 134,43; 130,55; 129,59; 129,40; 128,97; 127,14; 122,65; 118,05; 117,40; 74,38 ppm.

IV (υmax, KBr, cm^{-1}): 3074 (C-H), 1649 (C=C), 1508 e 1340 (NO_2), 1493 (C=C) aromático, 1223 e 1121 (C-O-C).

EM (*m/z*): $[M + H]^+$ = 254,08117 calculado ($C_{15}H_{12}NO_3$); 254,08113 encontrado.

CLAE (ASTEC CELLULOSE - Metanol 100%): maior enantiômero: t_R= 11.4 min., menor enantiômero: t_R = 10.5 min.

5.2.3 SÍNTESE CATALISADA POR TIAZOLIDINAS 3a E 3b

5.2.3.1 TIAZOLIDINA 3a

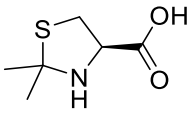


Figura 62 Ácido (*R*)-2,2-dimetil-1,3-tiazolidina-4-carboxílico.

F.M.: $C_6H_{11}NO_2S$

M.M.: 161,22 g mol^{-1}

Em 13 balões de fundo redondo de 125,0 mL e sob agitação magnética, foram adicionados em cada 1, 10, 5, 50 ou 100 mmol (73 µL, 734 µL, 3,67 mL, 7,34 mL) de propanona, 20 mol% (0,06058 g) (em relação ao nitroestireno da segunda etapa) de cisteína e 1 mL de solvente (água ou PBS) quando este estava presente. Após 24h, foram adicionados 7,5 mmol de salicilaldeído e 2,5 mmol de nitroestireno. Deixou-se a reação em agitação por 5 dias à temperatura ambiente, exceto duas delas que foram mantidas a 40 °C, acompanhando a formação do(s) cromeno(s) por CLAE (C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$). Ao passar do tempo a mistura reacional passou de amarelo claro a amarelo escuro quase negro.

5.2.3.2 TIAZOLIDINA 3b

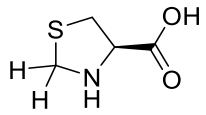


Figura 63 ácido (R)-1,3-tiazolidina-4-carboxílico.

F.M.: $C_4H_7NO_2S$

M.M.: 133,17 g mol^{-1}

Em uma primeira tentativa (tabela 3 dos resultados) usou-se 15 balões de fundo redondo de 125,0 mL e todos foram colocados sob agitação magnética. Em três deles (frascos 1, 2 e 3) foi adicionado 5 mmol (372 µL) de metanal (37%) e 20 mol% (0,5 mmol) (em relação ao nitroestireno da segunda etapa) de cisteína no primeiro, 60 mol% (1,5 mmol) no segundo e 100 mol% (2,5 mmol) no terceiro. Nos frascos 4 a 6 adicionou-se 50 mmol de metanal (3,72 mL) e repetiu-se a quantidade de cisteína conforme anteriores. Já nos frascos de 7 a 15 adicionou-se 100 mmol de metanal e alternadamente 0,5, 1,5 e 2,5 mmol de cisteína. Em todos os frascos foram adicionados 1 mL de PBS, sendo que nos frascos 13, 14 e 15 também foram adicionados 1 mL de DMSO. Nos balões 10, 11 e 12 foi adicionado 1 mol% (em relação ao metanal) de trietilamina - Et_3N (1 mmol/0,14 mL).

Após 24h, foram adicionados 7,5 mmol de salicilaldeído e 2,5 mmol de nitroestireno em todos os balões. Deixou-se as reações em agitação por 5 dias à temperatura ambiente, acompanhando a formação do(s) cromeno(s) por CLAE (C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$). O pH das reações foi monitorado.

Outra tentativa, tabela 4 dos resultados, contou com oito reações. Em 8 balões de fundo redondo de 125,0 mL foram adicionados metanal (balão 1 ao 5 e 8 = 100 mmol, 6 = 50 mmol e 7 = 5 mmol) e colocados sob agitação magnética. Em seguida foi adicionado cisteína em todos (2 e 4 a 8 = 20 mmol%, 1 = 5 mmol% e 3 = 60 mmol%). Os solventes (1 mL) foram: 4 = H_2O, 5 = DMSO, os

demais PBS. Em todos os frascos foram adicionados Et_3N, sendo 5 mmol% no oito e 1 mmol% nos outros.

Após 24h foram adicionados 7,5 mmol de salicilaldeído e 2,5 mmol de nitroestireno em todos os balões. Deixou-se as reações sob agitação por 10 dias à temperatura ambiente, acompanhando a formação do(s) cromeno(s) por CLAE/C18, MeOH:H_2O 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$ durante as primeiras 96 h e por CLAE/ Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$. O pH das reações foi monitorado.

A terceira tentativa (tabela 5 dos resultados) contou com 11 reações, realizadas em balões de fundo redondo de 125,0 mL. Primeiro adicionou-se metanal em cada um dos frascos da seguinte maneira: 1, 4, 9, 10 = 5 mmol, no 2 e 5 = 20 mmol, 3, 6 a 8 e 11 = 50 mmol. Em seguida adicionou-se a cisteína: 7 e 8 60 mmol%, os demais 20 mmol%. O solvente também foi adicionado nesta etapa (1 mL), sendo H_2O 1 a 3 e 8, PBS 4 ao 7, 9 e 10, DMSO foi adicionado somente ao balão número 11. A Et_3N foi adicionada em todos os frascos (1 mmol%, exceto em 10 = 0,5 mmol%).

Após 24h foram adicionados 7,5 mmol de salicilaldeído (exceto em 9 = 3,75 mmol) e 2,5 mmol de nitroestireno. As reações foram acompanhadas por 45 dias usando CLAE/Coluna Celulose (quiral), MeOH:álcool isopropílico 80:20, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$. O pH foi monitorado durante todo tempo de reação.

Por último 4 novas reações foram lançadas a fim de tentar produzir um dos enantiômeros em *ee* (Tabela 6). As reações foram acompanhadas por CLAE/coluna quiral de hora em hora após adição dos reagentes da 2ª etapa por 18 horas e após 12 de intervalo por mais 18 horas. O pH foi acompanhado desde o início da primeira etapa. Em 3 balões foram adicionados 5 mmol de cisteína e 20 mmol% de metanal, além de 1 mL de água. Nos balões 2 (na 1ª etapa) e 3 (na 2ª etapa) adicionou-se 0,5 mmol% de trietilamina, essa quantidade também foi adicionada em um quarto balão. Nos quatro balões foram adicionados 3,25 mmol de salicilaldeído e 5 mmol de nitroestireno.

5.2.4 SÍNTESE CATALISADA POR PROLINAMIDA (4)

5.2.4.1 SÍNTESE DA *N*-FENIL-*L*-PROLINAMIDA (4)

Em uma solução de *N*-Boc-*L*-Prolina, (5,1 mmol), *N,N'*-Diciclohexilcarbodiimida (DCC) (6 mmol) foi suspenso em CH_2Cl_2 seco (50 mL) e agitado a 0 °C durante 1 hora. Em seguida, 5,5 mmol de anilina foram adicionadas lentamente e a mistura de reação foi gradualmente agitada de 0 °C a 30 °C até a conclusão da reação. Depois que a reação foi concluída, conforme monitorado por TLC, o subproduto insolúvel *N*,*N*'-diciclo-hexiluréia (DCU) foi removido por filtração e o filtrado foi evaporado à secura. O resíduo oleoso obtido foi dissolvido em $CHCl_3$ e lavado consecutivamente com solução aquosa saturada de $NaHCO_3$, HCl aquoso (1,0 $mol.L^{-1}$) e salmoura. A fase orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro, filtrada e concentrada sob baixa pressão para fornecer o produto bruto obtido que foi usado na próxima etapa sem purificação adicional. Para a solução do produto bruto em CH_2Cl_2 seco, TFA foi adicionado gota a gota durante um período de tempo (7,5 mL, 9,82 mmol) a 0 °C e mantido sob agitação à temperatura ambiente temperatura (t.a.) por 4 h. Após a conclusão da reação, DCM e TFA foram removidos sob pressão reduzida, o resíduo foi basificado por adição gota a gota de solução saturada de $NaHCO_3$ a 0 °C e agitado durante 1 hora à temperatura ambiente. O produto bruto foi extraído com $CHCl_3$, seco sobre Na_2SO_4 e concentrado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna flash (SiO_2) (eluente: $CHCl_3$:MeOH = 99:1 a 95:5) para fornecer a correspondente fenil-*L*-prolinamida **(4)**.

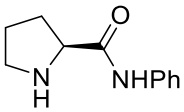


Figura 64 (*S*)-*N*-fenilpirrolidina-2-carboxamida (Prolinamida).

Sólido branco (90% de rendimento).

Dados espectroscópicos:

FM: $C_{11}H_{14}N_2O$

MM: 190,25 g mol^{-1}

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm): 1,54-1,87 (m, 2H), 1,98-2,12 (m, 1H), 2,12-2,32 (m, 2H), 2,93-3,15 (m, *J* = 6,8, 6,8, 10,2 Hz, 2H), 3,86 (dd, *J* = 5,2, 9,2 Hz, 1H), 7,13-7,04 (m, 1H), 7,24-7,58 (m, 2H), 7,6 (m, 2H), 9,74 (s, 1H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm): 173,4, 137,86, 128,95, 123,92, 119,28, 61,05, 47,36, 30,76, 26,31.

5.2.4.2 SÍNTESE DOS CROMENOS

Em geral, em oito balões de 100 mL foram adicionados (com algumas exceções) salicilaldeído, prolinamida, peneira molecular 4 Å (50 mg), nitrofenol, nitroestireno e solvente clorofórmio. Todos os balões foram mantidos sob agitação. As reações de 1 a 5 foram mantidas a 22 °C, a reação 6 foi mantida a 30 °C, 7 e 8 em temperatura ambiente. As características e quantidades de cada reação estão descritas na tabela que segue.

Tabela 15 Condições das reações.

Reação	Salicilaldeído	Nitroestireno	Prolinamida	Nitrofenol	$CHCl_3$	$Ti(OiPr)_4$	AcOH
1	54 µL	0,0746 g	0,0145 g	0,007 g	0,5 mL	-	-
2	0,54 mL	0,0746 g	0,0145 g	0,007 g	0,5 mL	-	-
3	54 µL	0,0746 g	0,0145 g	0,007 g	0,5 mL	148 µL	-
4	54 µL	0,0746 g	0,145 g	0,07 g	0,5 mL	-	-
5	54 µL	0,2238 g	0,0145 g	0,007 g	0,5 mL	-	-
6	22 µL	0,0298 g	0,0174 g	-	2,5 mL + 50 µL H_2O	-	3,4 µL
7	54 µL	0,0746 g	0,0145 g	0,007 g	fase sólida, sílica 1 g	-	-
8	54 µL	0,0746 g	-	-	fase sólida, sílica 1 g	-	-

5.2.5 SÍNTESE CATALISADA POR ENZIMAS

5.2.5.1 CAL B

Em cinco balões de 100 mL, sob agitação e temperatura ambiente, foram adicionados 1 mmol de salicilaldeído, 1 mmol de nitroestireno e 10 mg de CAL B (1 a 3 e 5) ou 30 mg (4). Também foram adicionados 3 mL de solvente, balões 1,4 MeOH, 2 EtOH e 3 H_2O. No balão número 5 não foi adicionado solvente.

As reações foram acompanhadas por 60 dias usando CLAE/Coluna Celulose (quiral), MeOH:isopropanol 90:10, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

Em uma segunda tentativa, dez reações foram realizadas. Inicialmente em 10 balões de 100 mL sob agitação magnética e temperatura de 40 °C foram adicionados os reagentes e solventes conforme tabela abaixo. Após 3 dias a temperatura foi aumentada para 80 °C.

Tabela 16 Síntese one-pot de cromenos biocatalisada por CAL B.

Reação	Salicilaldeído (mmol)	Nitroestireno (mmol)	Cinamaldeído (mmol)	CAL B (mg)	Solv. (3 mL)
1	3	1	-	10	-
2	1	3	-	10	-
3	3	-	1	10	-
4	1	-	3	10	-
5	3	1	-	10	MeOH
6	3	-	1	10	MeOH
7	3	1	-	10	Tolueno*
8	1	3	-	10	Tolueno
9	3	-	1	10	Tolueno
10	1	-	3	10	Tolueno*

*após um mês foi adicionado água em ambas as reações.

As reações foram acompanhadas por 30 dias usando CLAE/Coluna Celulose (quiral), MeOH:isopropanol 90:10, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

Em uma terceira tentativa, quatro reações foram realizadas. Inicialmente em 4 balões de 100 mL sob agitação magnética e temperatura de 40 °C, exceto 4 que foi mantido à temperatura ambiente, foram adicionados os reagentes e solventes conforme tabela abaixo.

Tabela 17 Síntese one-pot de cromenos biocatalisada por CAL B.

Reação	Salicilaldeído (mmol)	Nitroestireno (mmol)	Cinamaldeído (mmol)	CAL B (mg)	Solv. (3 mL)
1	1	-	10	10	DMSO
2	1	-	10	10	Tolueno
3	3	1	3	10	Tolueno
4	1	-	10	10	Tolueno

As reações foram acompanhadas por 30 dias usando CLAE/Coluna Celulose (quiral), MeOH:isopropanol 90:10, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

Em uma última tentativa, em 19 balões de 100 mL sob agitação foram adicionados salicilaldeído, cinamaldeído, CAL B, Et_3N e solvente, conforme

quantidades listadas na tabela abaixo. A temperatura das reações de 1 a 12 foram mantidas a 27 °C e as demais a 40 °C.

Tabela 18 Síntese one-pot de cromenos biocatalisada por CAL B.

Reação	Salicilaldeído (mmol)	Cinamaldeído (mmol)	CAL B (mg)	Et_3N (mol%)[a]	Solv. (1 mL)	T (°C)
1	1	10	10	-	Tolueno	27
2	1	10	20	-	Tolueno	27
3	1	10	30	-	Tolueno	27
4	1	10	10	-	Dioxano	27
5	1	10	20	-	Dioxano	27
6	1	10	30	-	Dioxano	27
7	1	10	10	-	Benzeno	27
8	1	10	20	-	Benzeno	27
9	1	10	30	-	Benzeno	27
10	1	10	10	-	Heptano	27
11	1	10	20	-	Heptano	27
12	1	10	30	-	Heptano	27
13	1	10	20	1	Tolueno[b]	40
14	1	10	20	-	Tolueno[b]	40
15	1	10	20	1	-	40
16	1	10	50	1	MeOH[b]	40
17	1	10	10	-	Tolueno[b]	40
18	5	10	10	-	Tolueno[b]	40
19	1	10	-	-	Tolueno[b]	40

[a] em relação ao C.

[b]Volume do solvente usado foi 3 mL.

As reações foram acompanhadas por 30 dias usando CLAE/Coluna Celulose (quiral), MeOH:isopropanol 90:10, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

5.2.5.2 α-AMILASE

Em 6 balões de 50 mL mantidos sob agitação e a 50 °C foram adicionados: em todos 50 mg de enzima; 1 mmol de salicilaldeído em 1, 2, 5, 6; 3 mmol em 3 e 4; 1 mmol de nitroestireno em 3 e 4; 3 mmol de cinamaldeído em 1 e 5; 10 mmol de cinamaldeído em 2 e 6. Também se adicionou 3 mL de solventes, sendo 0,3

mL de água e 2,7 mL de DMSO, exceto no balão 6 que não foi adicionado solvente.nos frascos 4 e 5 foram adicionados 14 µL de Et_3N.

As reações foram acompanhadas por 30 dias usando CLAE/Coluna Celulose (quiral), MeOH:isopropanol 90:10, fluxo 0,5 mL $min.^{-1}$.

6 Referências

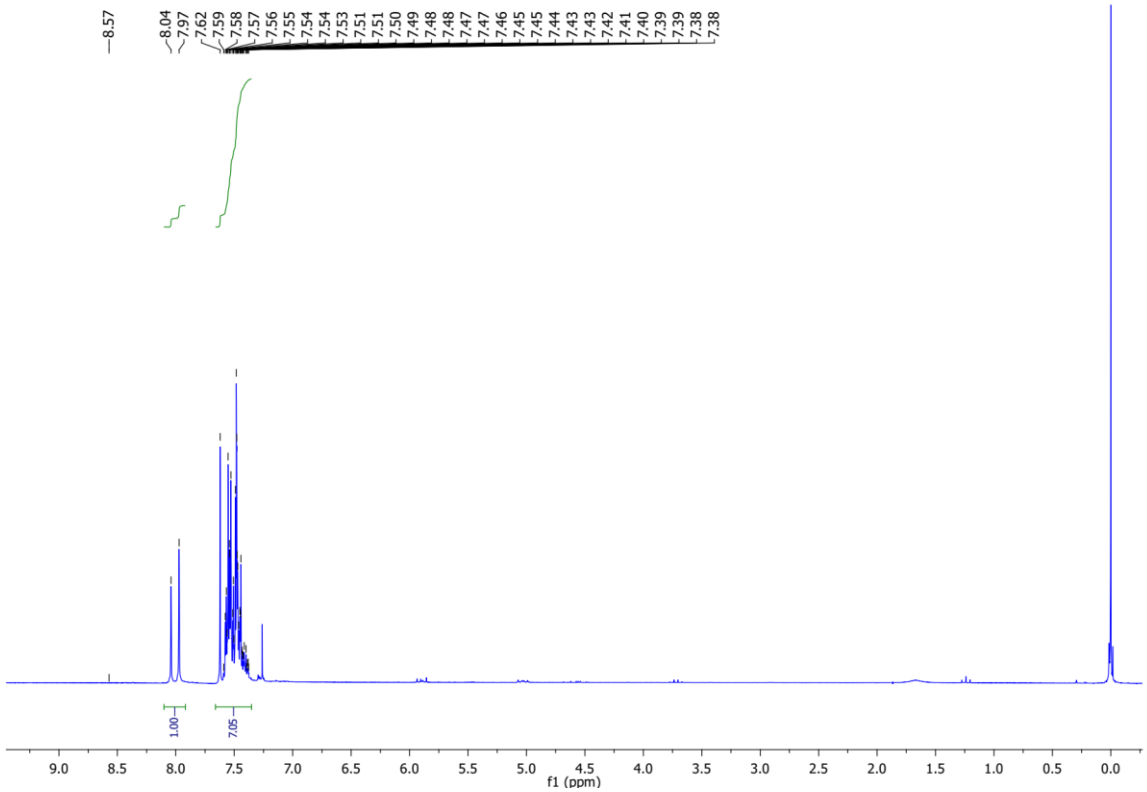
1. Matthews, D. E., Review of Lysine Metabolism with a Focus on Humans. *J Nutr* **2020,** *150* (Suppl 1), 2548s-2555s.
2. Castro, V. B. d.; Pires, M. E.; Gusmão, P. R. d.; Filippo, A. d. A.; Silva, M. d., Uso do cloridrato de lisina na profilaxia do herpes simples nos procedimentos faciais com tecnologias. *Surgical & Cosmetic Dermatology* **2019,** *11* (1), 55-58.
3. Gal, J., Louis Pasteur, Chemical Linguist: Founding the Language of Stereochemistry. **2019,** *102* (8), e1900098.
4. Caldwell, J.; Wainer, I. W., Stereochemistry: definitions and a note on nomenclature. *Hum Psychopharmacol* **2001,** *16* (S2), S105-s107.
5. Fogaça, J. R. V. Isomeria geométrica cis-trans. https://mundoeducacao.uol.com.br/quimica/isomeria-geometrica-cistrans.htm (accessed 28/02/2022).
6. Editors, B. c. Louis Pasteur Biography. https://www.biography.com/scientist/louis-pasteur (accessed 28 de fevereiro de 2022).
7. Eifler-lima, V., Os Fármacos e a qualidade: uma breve abordagem. *Quimica Nova - QUIM NOVA* **1997,** *20*.
8. Aguilera, V. Simetrias. http://www.valdiraguilera.net/simetrias.html (accessed 06/07/2022).
9. Morrison, J. D.; Mosher, H. S., *Asymmetric organic reactions*. Prentice-Hall: Englewood Cliffs, New Jersey, 1971.
10. Solomons, T. W. G.; Fryhle, C. B.; Snyder, S. A., *Organic Chemistry, 12th Edition*. Wiley: 2016.
11. Cervellati, R. J. L. C. n. S., Friedrich Wöhler e Hermann Kolbe: dal primo composto organico sintetizzato da materiali. 67.
12. Verzì, A. E.; Musumeci, M. L.; Lacarrubba, F.; Micali, G., History of urea as a dermatological agent in clinical practice. **2020,** *74* (S187), e13621.
13. Wipf, P.; Mo, T.; Geib, S. J.; Caridha, D.; Dow, G. S.; Gerena, L.; Roncal, N.; Milner, E. E., Synthesis and biological evaluation of the first pentafluorosulfanyl analogs of mefloquine. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2009,** *7* (20), 4163-4165.
14. Klaunig, J. E., Acrylamide carcinogenicity. *J Agric Food Chem* **2008,** *56* (15), 5984-8.
15. Brocksom, T. J.; Donatoni, M. C.; Uliana, M. P.; Vieira, Y. W., A reação de Diels-Alder no início do século vinte um %J Química Nova. **2010,** *33*, 2211-2218.
16. Senado, A. Lei aumenta pensão para portadores da Síndrome da Talidomida. https://www12.senado.leg.br/noticias/materias/2018/03/23/lei-aumenta-pensao-para-portadores-da-sindrome-da-talidomida (accessed 10/07/2022).
17. Braga, A. L.; Lüdtke, D. S.; Schneider, P. H.; Andrade, L. H.; Paixão, M. W., Catálise assimétrica no Brasil: desenvolvimento e potencialidades para o avanço da indústria química brasileira %J Química Nova. **2013,** *36*, 1591-1599.
18. Pilli, R. A., Catálise assimétrica e o Prêmio Nobel de Química de 2001. Novos paradigmas e aplicações práticas. 01/11/2001 ed.; Química Nova na Escola: 2001; Vol. 14, p 9.
19. Carmo, L. F. d. C. Estudo visando a síntese assimétrica de cromenos via reações oxa-Michael-Henry utilizando L-Prolina e análogos como organocatalisadores. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ, 2018.
20. Smith, M. B., Chapter 6 - Functional Group Exchange Reactions: Oxidations. In *Organic Synthesis (Fourth Edition)*, Smith, M. B., Ed. Academic Press: Boston, 2017; pp 215-307.
21. Szőllősi, G., Asymmetric one-pot reactions using heterogeneous chemical catalysis: recent steps towards sustainable processes. *Catalysis Science & Technology* **2018,** *8* (2), 389-422.

22. Majumdar, N.; Paul, N.; Mandal, S.; Bruin, B.; Wulff, W., Catalytic Synthesis of 2 H -Chromenes. *ACS Catalysis* **2015,** *5*, 2329-2366.
23. Gu, B.; E Hu, Z.; Yang, Z.-J.; Li, J.; Zhou, Z.-W.; Wang, N.; Yu, X.-Q., Probing the Mechanism of CAL-B-Catalyzed aza-Michael Addition of Aniline Compounds with Acrylates Using Mutation and Molecular Docking Simulations. **2019,** *4* (13), 3848-3854.
24. Feng, X.-W.; Li, C.; Wang, N.; Li, K.; Zhang, W.-W.; Wang, Z.; Yu, X.-Q., Lipase-catalysed decarboxylative aldol reaction and decarboxylative Knoevenagel reaction. *Green Chemistry* **2009,** *11* (12), 1933-1936.
25. Schmermund, L.; Jurkaš, V.; Özgen, F. F.; Barone, G. D.; Büchsenschütz, H. C.; Winkler, C. K.; Schmidt, S.; Kourist, R.; Kroutil, W., Photo-Biocatalysis: Biotransformations in the Presence of Light. *ACS Catalysis* **2019,** *9* (5), 4115-4144.
26. Miao, Y.; Geertsema, E. M.; Tepper, P. G.; Zandvoort, E.; Poelarends, G. J., Promiscuous Catalysis of Asymmetric Michael-Type Additions of Linear Aldehydes to β-Nitrostyrene by the Proline-Based Enzyme 4-Oxalocrotonate Tautomerase. **2013,** *14* (2), 191-194.
27. Sellés Vidal, L.; Kelly, C. L.; Mordaka, P. M.; Heap, J. T., Review of NAD(P)H-dependent oxidoreductases: Properties, engineering and application. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* **2018,** *1866* (2), 327-347.
28. Lukesch, M. S.; Pavkov-Keller, T.; Gruber, K.; Zangger, K.; Wiltschi, B., Substituting the catalytic proline of 4-oxalocrotonate tautomerase with non-canonical analogues reveals a finely tuned catalytic system. *Scientific Reports* **2019,** *9* (1).
29. Zhang, W.; Lee, J.-H.; Younes, S. H. H.; Tonin, F.; Hagedoorn, P.-L.; Pichler, H.; Baeg, Y.; Park, J.-B.; Kourist, R.; Hollmann, F., Photobiocatalytic synthesis of chiral secondary fatty alcohols from renewable unsaturated fatty acids. *Nature Communications* **2020,** *11* (1), 2258.
30. Amarante, G. W.; Coelho, F., Reações de organocatálise com aminas quirais: aspectos mecanísticos e aplicações em síntese orgânica %J Química Nova. **2009,** *32*, 469-481.
31. Alemán, J.; Cabrera, S., Applications of asymmetric organocatalysis in medicinal chemistry. *Chemical Society Reviews* **2013,** *42* (2), 774-793.
32. Finelli, F.; Santos, B.; Frota, L., OrganocatÁlise Enantiosseletiva: EvoluÇÃo E Aspectos Recentes. *Química Nova* **2019**.
33. Lessa, R., L-Proline and HPESW Reaction: A Brief Fifty-Year Journey through Asymmetric Synthesis. *Revista Virtual de Química* **2021,** *13*.
34. Mattioli, E. J.; Calvaresi, M.; Bottoni, A.; Marforio, T. D., Hajos-Parrish-Eder-Sauer-Wiechert reaction: The definitive reaction mechanism deciphered by DFT calculations. *Molecular Catalysis* **2022,** *522*, 112245.
35. Parvin, T.; Yadav, R.; Choudhury, L. H., Recent applications of thiourea-based organocatalysts in asymmetric multicomponent reactions (AMCRs). *Organic & Biomolecular Chemistry* **2020,** *18* (29), 5513-5532.
36. Gao, Y.; Liu, B.; Zhou, H.-B.; Wang, W.; Dong, C., Recyclable BINOL–quinine–squaramide as a highly efficient organocatalyst for α-amination of 1,3-dicarbonyl compounds and α-cyanoacetates. *RSC Advances* **2015,** *5* (31), 24392-24398.
37. The Nobel Prize Their tools revolutionised the construction of molecules. https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2021/popular-information/ (accessed 29/03/2022).
38. Iribarren, I.; Garcia, M. R.; Trujillo, C., Catalyst design within asymmetric organocatalysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science*.
39. Cannon, J. S.; Overman, L. E., Is there no end to the total syntheses of strychnine? Lessons learned in strategy and tactics in total synthesis. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2012,** *51* (18), 4288-4311.
40. Hansen, J. H.; Zeeshan, M., Recent Advances in Asymmetric Enamine Catalysis. *Mini-Reviews in Organic Chemistry* **2014,** *11* (4), 432-444.

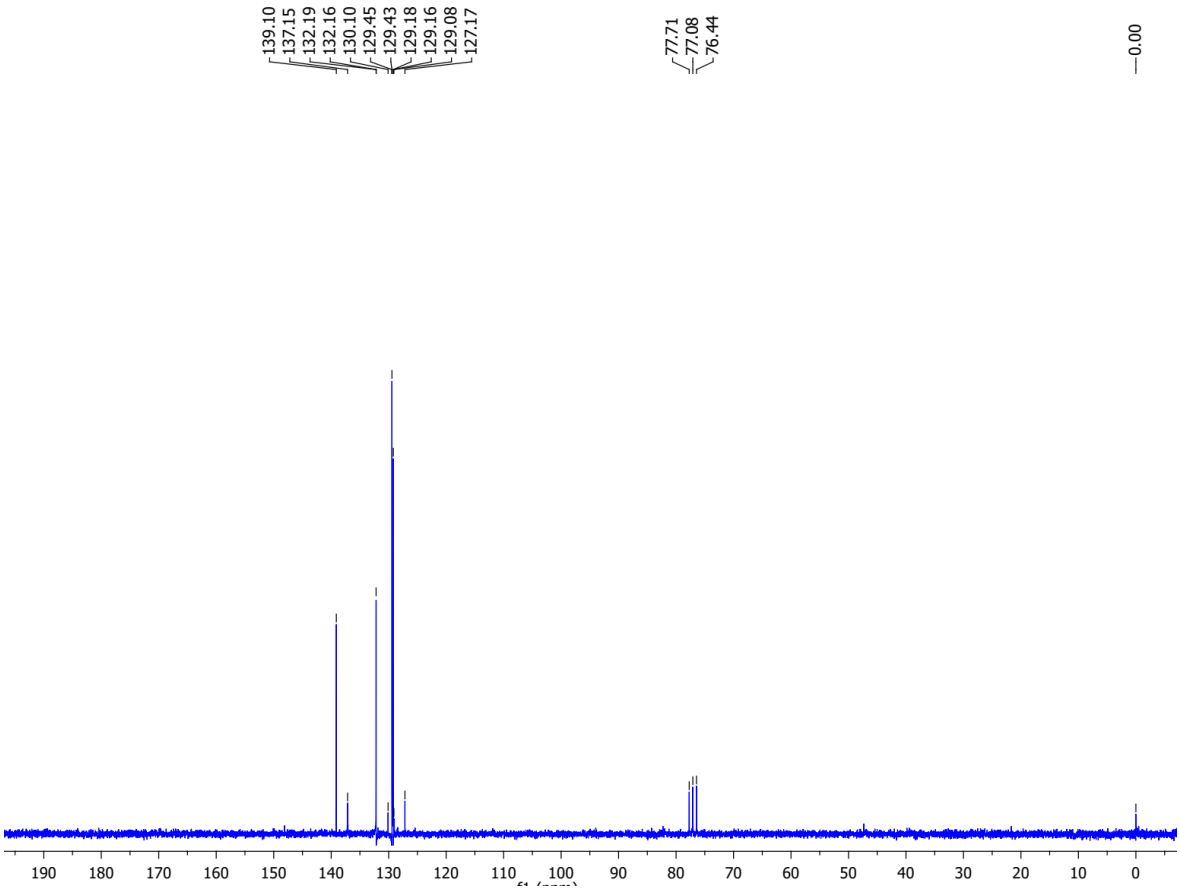
41. Michrowska, A.; List, B., Concise synthesis of ricciocarpin A and discovery of a more potent analogue. *Nature chemistry* **2009,** *1* (3), 225-228.
42. Li, Z.; Li, X.; Cheng, J.-P., Recent Progress in Equilibrium Acidity Studies of Organocatalysts. *Synlett* **2019,** *30* (17), 1940-1949.
43. Seayad, J.; List, B., Asymmetric organocatalysis. *Org Biomol Chem* **2005,** *3* (5), 719-24.
44. Zou, Y.-Q.; Hörmann, F. M.; Bach, T., Iminium and enamine catalysis in enantioselective photochemical reactions. *Chemical Society Reviews* **2018,** *47* (2), 278-290.
45. Leveson-Gower, R. B.; de Boer, R. M.; Roelfes, G., Tandem Friedel-Crafts-Alkylation-Enantioselective-Protonation by Artificial Enzyme Iminium Catalysis. *n/a* (n/a), e202101875.
46. Wang, Y.; Du, D.-M., Recent advances in organocatalytic asymmetric oxa-Michael addition triggered cascade reactions. *Organic Chemistry Frontiers* **2020,** *7* (20), 3266-3283.
47. Gandhi, D.; Kalal, P.; Gupta, S., Synthetic aspects and Biological Studies of some Heterocycles. **2017**.
48. Li, M.; Zhao, X.; Yang, W.; Zhong, F.; Yuan, L.; Ren, Q., Asymmetric synthesis and biological evaluation of 3-nitro-2H-chromenes as potential antibacterial agents. *Tetrahedron Letters* **2018,** *59* (39), 3511-3515.
49. Yin, G.; Zhang, R.; Li, L.; Tian, J.; Chen, L., One-Pot Enantioselective Synthesis of 3-Nitro-2H-chromenes Catalyzed by a Simple 4-Hydroxyprolinamide with 4-Nitrophenol as Cocatalyst. **2013,** *2013* (24), 5431-5438.
50. Tohru, S.; Masaru, K.; Rokuro, S., A Convenient Synthesis of 2-Substituted 3-Nitro-2H-chromene Derivatives. **1978,** *51* (10), 3095-3096.
51. Rambo, R. S.; Schneider, P. H., Thiazolidine-based organocatalysts for a highly enantioselective direct aldol reaction. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010,** *21* (18), 2254-2257.
52. da Silva, T. L.; Rambo, R. S.; Jacoby, C. G.; Schneider, P. H., Asymmetric Michael reaction promoted by chiral thiazolidine-thiourea catalyst. *Tetrahedron* **2020,** *76* (5), 130874.
53. Bermejo-Velasco, D.; Nawale, G. N.; Oommen, O. P.; Hilborn, J.; Varghese, O. P., Thiazolidine chemistry revisited: a fast, efficient and stable click-type reaction at physiological pH. *Chem Commun (Camb)* **2018,** *54* (88), 12507-12510.
54. Das, T.; Mohapatra, S.; Mishra, N. P.; Nayak, S.; Raiguru, B. P., Recent Advances in Organocatalytic Asymmetric Michael Addition Reactions to α, β-Unsaturated Nitroolefins. **2021,** *6* (15), 3745-3781.
55. Ham, Y.-H.; Jason Chan, K. K.; Chan, W., Thioproline Serves as an Efficient Antioxidant Protecting Human Cells from Oxidative Stress and Improves Cell Viability. *Chemical Research in Toxicology* **2020,** *33* (7), 1815-1821.
56. Karthikeyan, T.; Sankararaman, S., New pyrrolidine-triazole-based C2 symmetric organocatalysts and their utility in the asymmetric Michael reaction of β-nitrostyrenes and the synthesis of nitrochromenes. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008,** *19* (23), 2741-2745.
57. Neves, C. T. Síntese de ligandos tiazolidínicos para catálise enantiosselectiva. Universidade de Coimbra, 2016.
58. do Carmo, L.; C. Silva, S.; V. Machado, M.; Santana Prata, P.; Wisniewski Jr, A.; Vidal, D.; Villar, J., The Role of L-Proline and Co-Catalysts in the Enantioselectivity of OXA-Michael-Henry Reactions. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2018,** *30*.
59. Mohanta, R.; Bez, G., Augmentation of Enantioselectivity by Spatial Tuning of Aminocatalyst: Synthesis of 2-Alkyl/aryl-3-nitro-2H-chromenes by Tandem Oxa-Michael–Henry Reaction. *The Journal of Organic Chemistry* **2020,** *85* (7), 4627-4636.
60. Thiyagarajan, R.; Begum, Z.; Seki, C.; Okuyama, Y.; Kwon, E.; Uwai, K.; Tokiwa, M.; Tokiwa, S.; Takeshita, M.; Nakano, H., New small γ-turn type N-primary amino terminal tripeptide organocatalyst for solvent-free asymmetric aldol reaction of various ketones with aldehydes. *RSC Advances* **2021,** *11* (61), 38925-38932.

61. Braga, C. B.; Silva, W. G. D. P.; Rittner, R., Conformational preferences of N-acetyl-N′-methylprolineamide in different media: a 1H NMR and theoretical investigation. *New Journal of Chemistry* **2019,** *43* (4), 1757-1763.
62. Du, Z.-H.; Yuan, M.; Tao, B.-X.; Qin, W.-J.; Liang, X.-M.; Li, Y.-Y.; Lin, H.; Zhang, L.-C.; Da, C.-S., Organocatalyzed Highly Enantioselective Aldol Reaction of Aldehydes for Synthesis of (R)-Pantolactone. **2021,** *10* (5), 1167-1172.
63. Kikuchi, M.; Inagaki, T.; Nishiyama, H., Asymmetric Intramolecular Michael Reaction Catalyzed by Proline-Derived Small Anilides. *Synlett* **2007,** *2007* (07), 1075-1078.
64. A. Modenez, I.; Sastre, D. E.; C. Moraes, F.; Marques Netto, C. G. C., Influence of Glutaraldehyde Cross-Linking Modes on the Recyclability of Immobilized Lipase B from Candida antarctica for Transesterification of Soy Bean Oil. **2018,** *23* (9), 2230.
65. Zaidi, A.; Merabet-Khelassi, M.; Aribi-Zouioueche, L., CAL-B-Catalyzed Enantioselective Deacetylation of Some Benzylic Acetate Derivatives Via Alcoholysis in Non-aqueous Media. *Catalysis Letters* **2015,** *145* (4), 1054-1061.
66. Gupta, N.; Beliya, E.; Paul, J. S.; Jadhav, S. K., Nanoarmoured α-amylase: A route leading to exceptional stability, catalysis and reusability for industrial applications. *Coordination Chemistry Reviews* **2022,** *464*, 214557.
67. Movahedpour, A.; Asadi, M.; Khatami, S. H.; Taheri-Anganeh, M.; Adelipour, M.; Shabaninejad, Z.; Ahmadi, N.; Irajie, C.; Mousavi, P., A brief overview on the application and sources of α-amylase and expression hosts properties in order to production of recombinant α-amylase. **2022,** *69* (2), 650-659.
68. Li, X.; Yu, Z.; Bian, Z.; Xu, J.; Zhang, L.; Qiao, M., Physiochemical Characterization of α-Amylase as Crosslinked Enzyme Aggregates. **2018,** *8* (8), 299.
69. Dutt, S.; Goel, V.; Garg, N.; Choudhury, D.; Mallick, D.; Tyagi, V., Biocatalytic Aza-Michael Addition of Aromatic Amines to Enone Using α-Amylase in Water. *Advanced Synthesis and Catalysis* **2020,** *362* (4), 858-866.
70. Zhou, L.-H.; Wang, N.; Zhang, W.; Xie, Z.-B.; Yu, X.-Q., Catalytical promiscuity of α-amylase: Synthesis of 3-substituted 2H-chromene derivatives via biocatalytic domino oxa-Michael/aldol condensations. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2013,** *91*, 37-43.

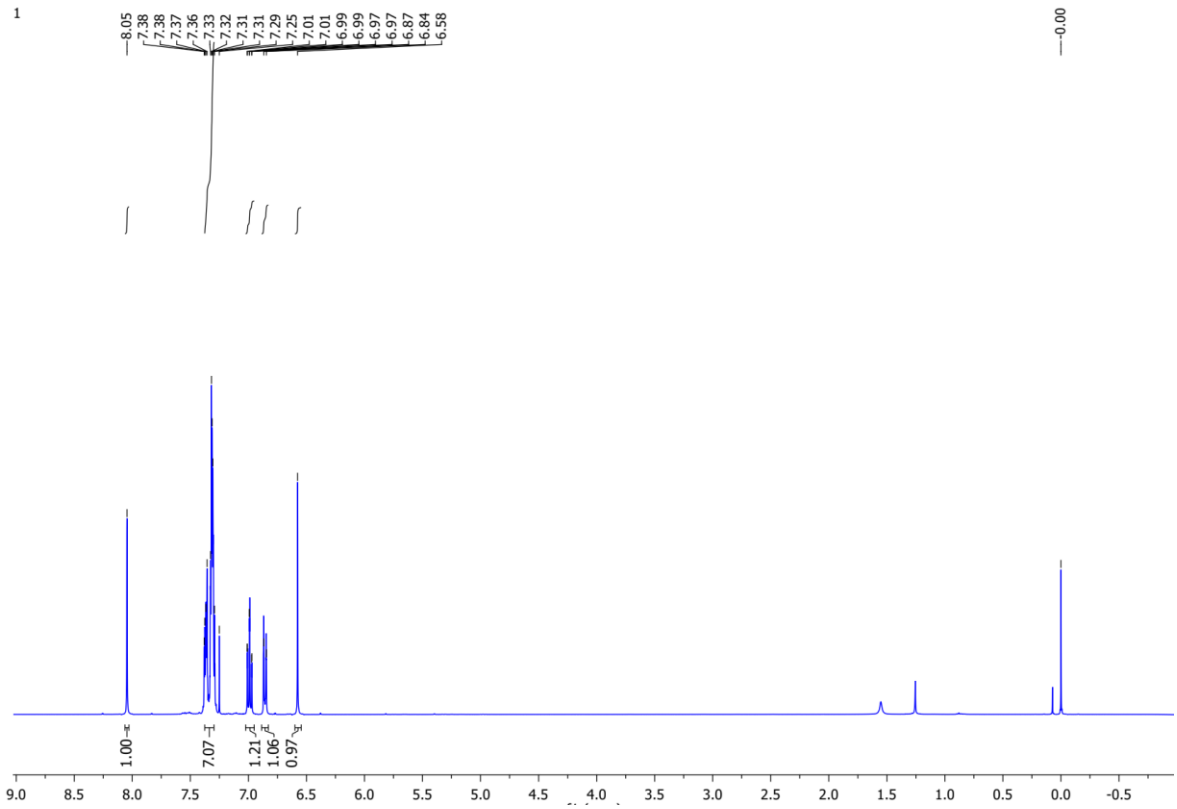
7 APÊNDICE



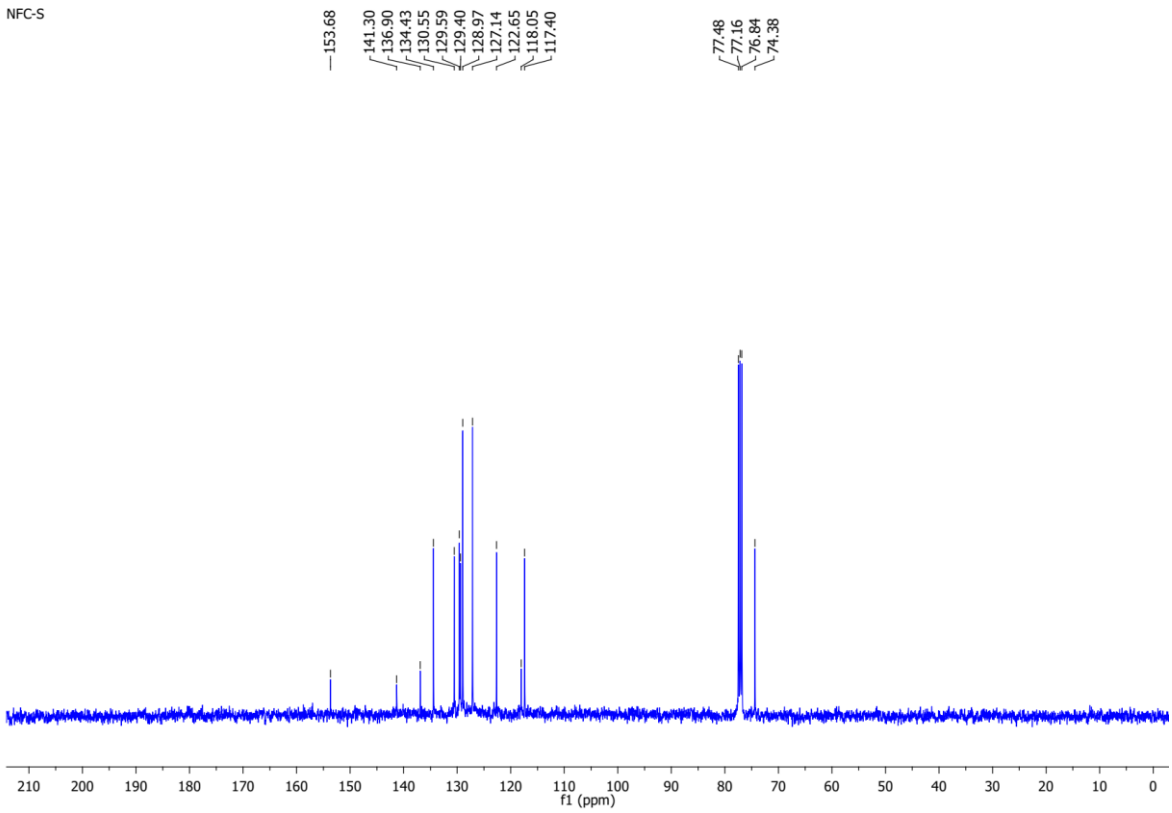
Apêndice 1 Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **B**.



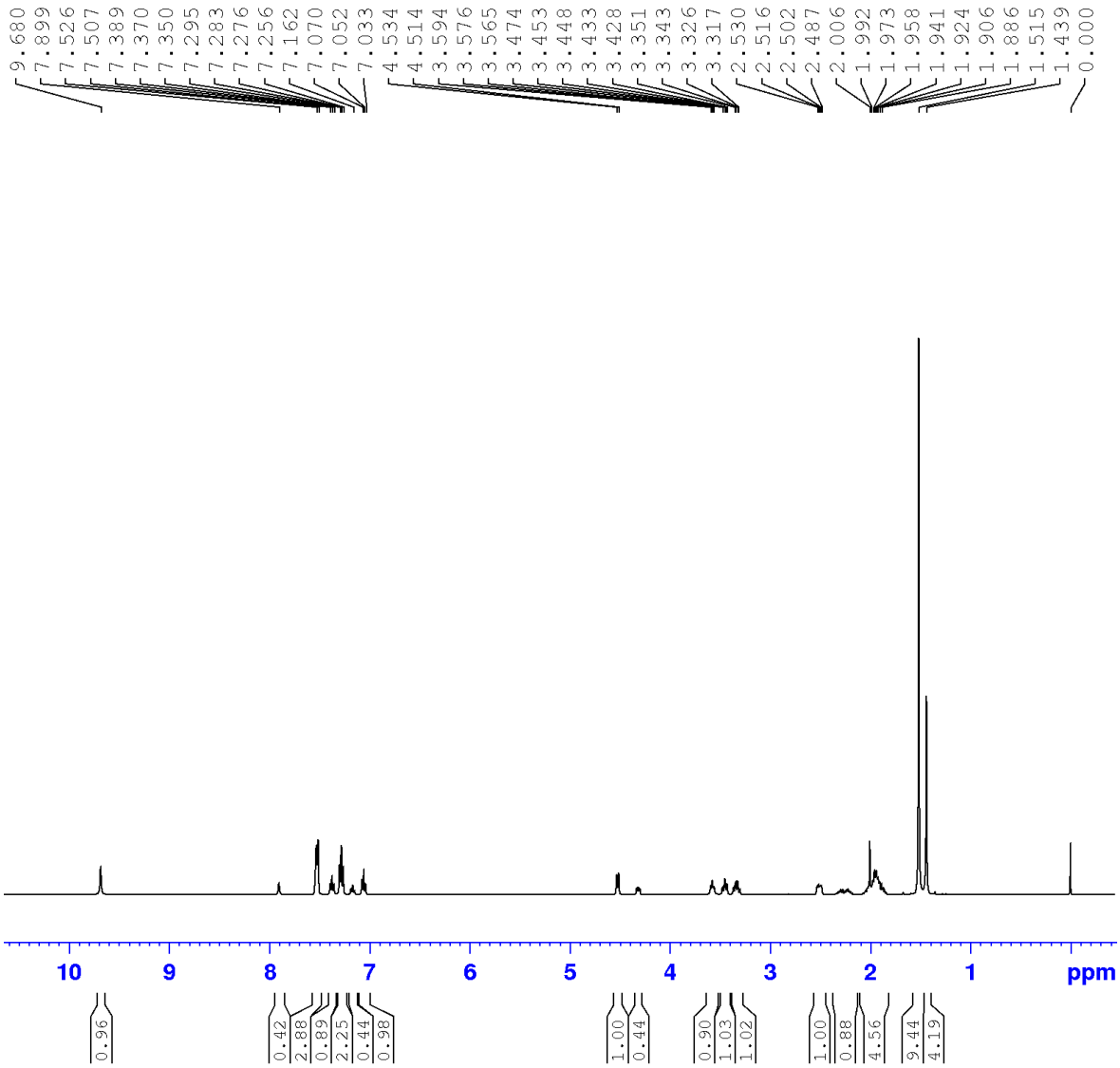
Apêndice 2 Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **B**.



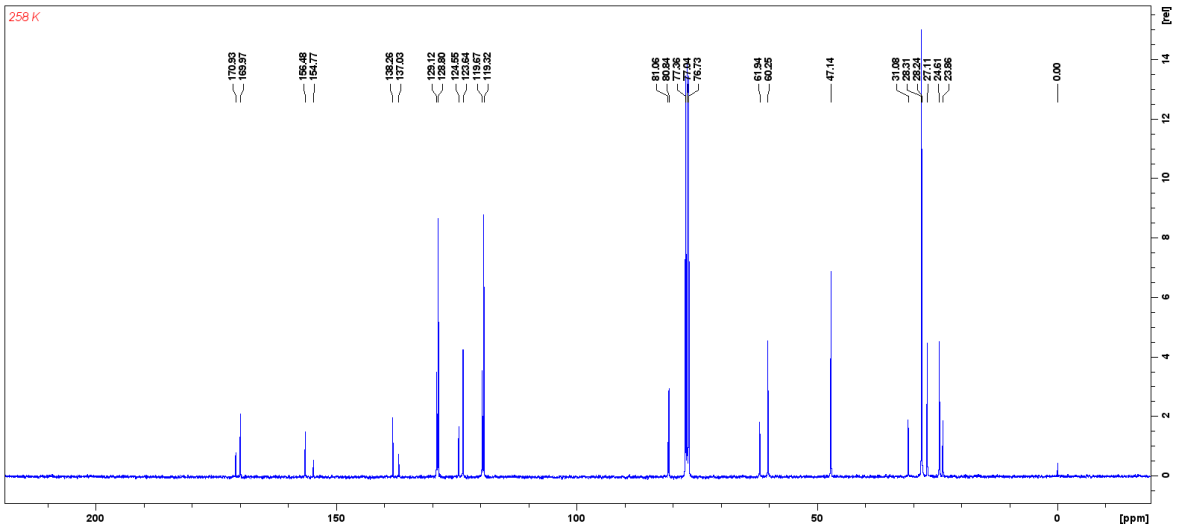
Apêndice 3 Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **1**.



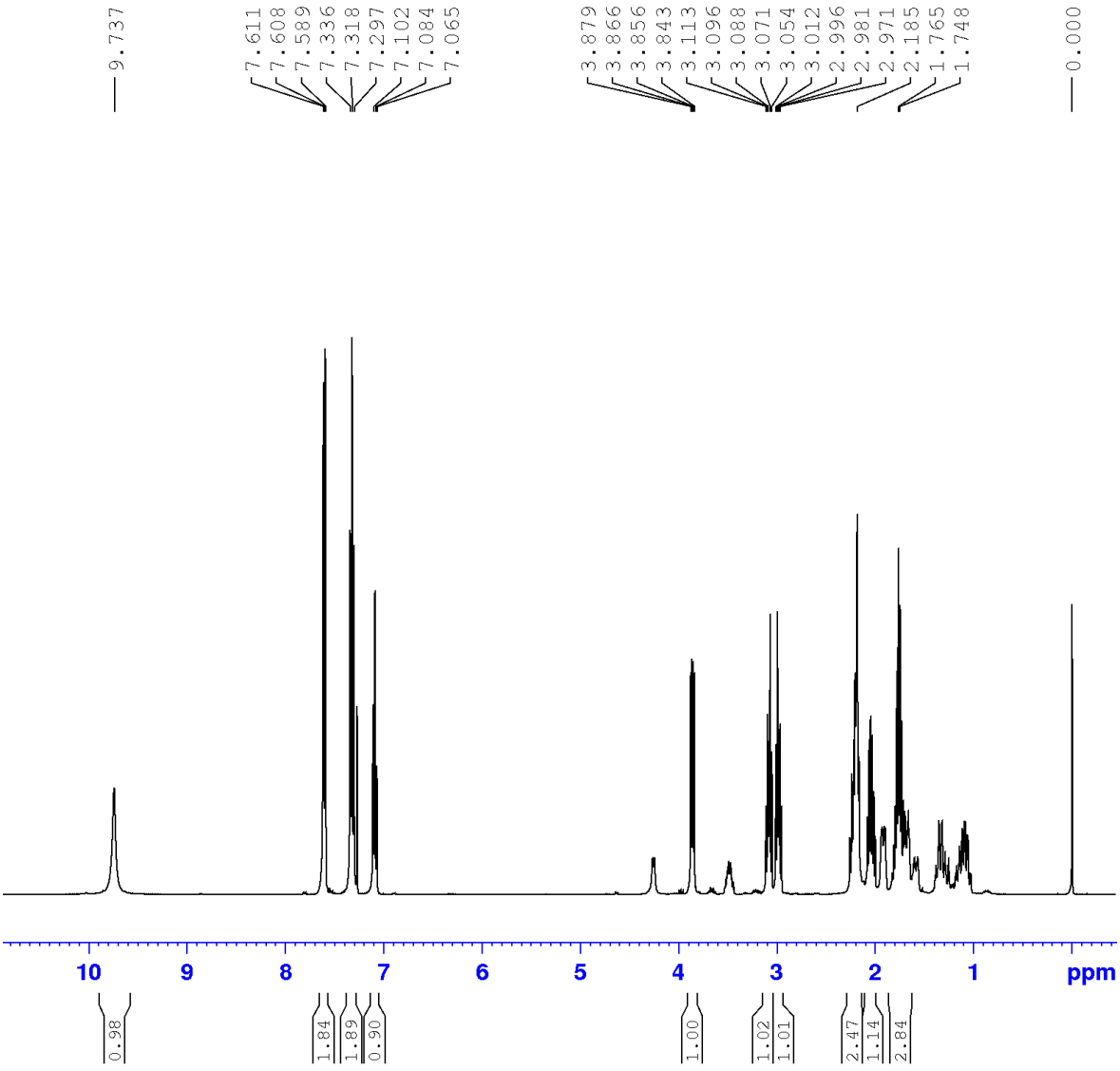
Apêndice 4 Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **1**.



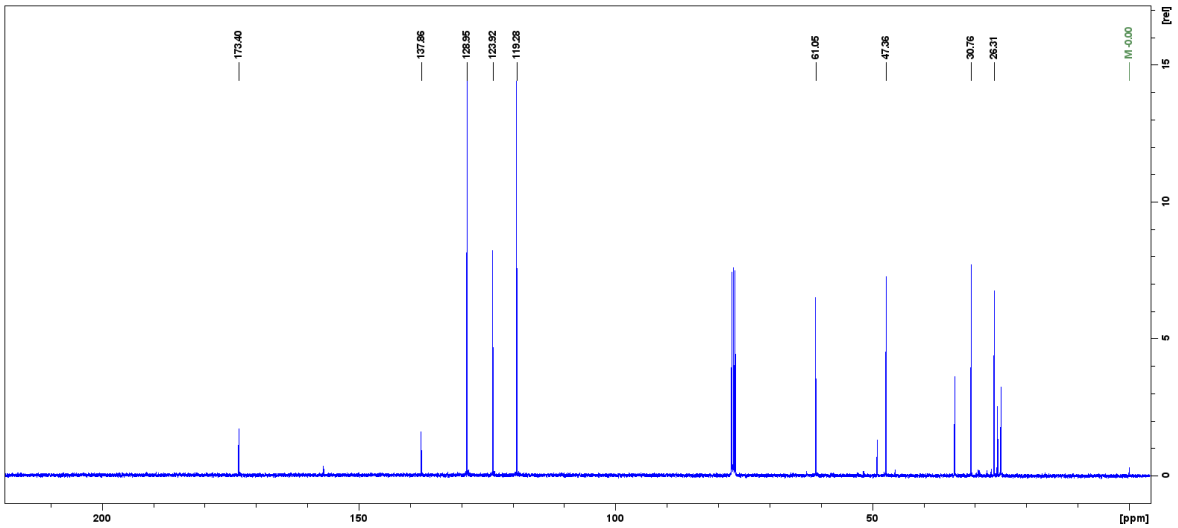
Apêndice 5 Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **L**.



Apêndice 6 Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **L**.



Apêndice 7 Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **4**.



Apêndice 8 Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **4**.