UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

CAMILA DE MENEZES KISUKURI

**Nanopartículas bimetálicas e biocatalisadores:
um estudo sobre sua interação e atividade
catalítica**

Versão corrigida da Tese

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

02/02/2018

CAMILA DE MENEZES KISUKURI

**Nanopartículas bimetálicas e biocatalisadores:
um estudo sobre sua interação e atividade
catalítica**

*Tese apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo
para obtenção do Título de Doutora em
Química.*

Orientador: Prof. Dr. Leandro Helgueira de Andrade

São Paulo

2018

**Dedico este trabalho a meu pai e às minhas irmãs, que
tornaram este possível.**

AGRADECIMENTOS

Quatro anos passam muito rápido, tão quanto o número de pessoas que passaram por minha vida, sendo que cada uma delas foi essencial para que este processo se concretizasse. Gostaria de agradecer a cada uma delas, cada uma teve significado e grande importância.

Ao Professor Dr. Leandro Helgueira de Andrade pela orientação e pelas oportunidades. Foram anos de muitos aprendizados que serão aproveitados na minha futura carreira, acadêmica, científica e na vida.

Ao Professor Dr. Pedro H. C. Camargo pela total colaboração neste projeto. Obrigada por acreditar na minha capacidade e obrigada por suas orientações, esteja certo que cada aprendizado está sendo e será utilizado.

Ao pessoal do GrAND (Grupo para o avanço no design de nanomateriais), principalmente Thenner, Anderson e Rafael, que atuaram diretamente como colaboradores para a realização deste projeto.

Ao meu querido IC João, que acabou com a maldição dos ICs e me aguentou por mais de um ano. Obrigada, João, com certeza há muito de você nesta tese.

Aos amigos que fiz no laboratório, Bruno, Caio, Dayvson, Edna, Juliana, Joel, Lidiane, Márcio, Thalita. Obrigada por cada conversa, cada cerveja, cada gesto de amizade. Aos amigos que a vida me deu, Laís, Manuela, Maria Helena, Roberta, Valéria e Valquíria. Aos amigos do Laboratório LOCSín, Antônio, Gisele, Mônica e Wellington. Obrigada pelo acolhimento, amizade, conversas e o cafezinho no meio da tarde.

À minha família bostoniana, Daniel e Alex, obrigada pelo acolhimento e amizade incondicional. À minha família e ao meu namorado Murilo, pelo amor incondicional e por terem me ajudado nesta caminhada!

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

Kisukuri, C. M. **Nanopartículas bimetálicas e biocatalisadores: um estudo sobre sua interação e atividade catalítica**. 2018. 285p. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Apostando na versatilidade de nanopartículas bimetálicas como catalisadores em reações orgânicas, nós desenvolvemos um estudo onde nanopartículas bimetálicas de AgAu, AgPd e AgPt, foram utilizadas como catalisadores em reações de oxidação de compostos de silício (**1a-j**) ao respectivo silanol (**2a-j**). Empregando a água como agente oxidante, para estas reações, conversões de 43->99% foram alcançadas.

Visando formar catalisadores metalo-enzimáticos (CME), nanopartículas bimetálicas de AgAu, AgPd e AgPt foram utilizadas como suporte da CAL-B (CMEs: CALB-AgAu; CALB-AgPd; CALB-AdPt). Esses catalisadores apresentaram dupla atividade catalítica. Foram alcançadas a oxidação do dimetil(fenil)silano (**1a**), com uma conversão de até 85% e acetilação enantiosseletiva do (*R,S*)-1-(fenil)etanol (**4a**) com acetato de vinila, com uma conversão de até 26% e seletividade >99% para formação do (*R*)-1-fenil(etil)acetato.

Nanopartículas bimetálicas de AgPd (NSsAgPd), também foram aplicadas como catalisadores para a hidrogenação de compostos orgânicos utilizando como fonte de hidrogênio compostos de silício. Neste caso treze diferentes substratos foram empregados (**5a-5o**) (cetona α,β -insaturadas, acrilatos, azidas, compostos nitro e iminas) e conversões >99% foram alcançadas para alguns dos produtos reduzidos. Utilizando este mesmo sistema, a incorporação de átomos de deutério em compostos orgânicos foi realizada pela substituição da água por D₂O, o que levou à formação de HD/D₂. Com esta metodologia conseguimos incorporar o átomo de deutério numa taxa >60% nos compostos **5a** e **5m**. As NSsAgPd também foram imobilizadas em partículas de sílica para a formação de SiO₂-AgPd. Estes catalisadores foram confinados em um reator e utilizados em reações de hidrogenação, sob

condições de fluxo contínuo, de compostos orgânicos utilizando como fonte de hidrogênio compostos de silício. Sob estas condições conversões de até 92% foram alcançadas para o produto reduzido.

Palavras-chave: Nanopartículas bimetálicas, oxidação, hidrosilanos, redução, marcação com deutério, reações em fluxo contínuo.

ABSTRACT

Kisukuri, C. M. **Bimetallic nanoparticles and biocatalysts: a study about your interaction and catalytic activity**. 2018. 285p. PhD Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

We have developed a study where bimetallic nanoparticles of AgAu, AgPd and AgPt were used as catalysts in the oxidation reactions of silicon compounds (**1a-j**) to the respective silanol (**2a-j**). Using the water as the oxidizing agent, for these reactions, conversions of 43-> 99% were achieved.

In order to form metallo-enzymatic catalysts (MEC), bimetallic nanoparticles of AgAu, AgPd and AgPt were used as support of CALB (CMEs: CALB-AgAu; CALB-AgPd; CALB-AdPt). These catalysts had dual catalytic activity. Oxidation of dimethyl (phenyl) silane (**1a**) with a conversion of up to 85% and enantioselective acetylation of (*R,S*)-1-(phenyl)ethanol (**4a**) with vinyl acetate was achieved with a conversion of up to 26% and selectivity >99% for (*R*)-1-phenyl (ethyl) acetate formation.

AgPd bimetallic nanoparticles (NSsAgPd) were also applied as catalysts for the hydrogenation of organic compounds using silicon compounds as the Hydrogen source. In this case thirteen different substrates (**5a-5o**) were employed (α , β -unsaturated ketones, acrylates, azides, nitro compounds and imines) and conversions >99% were achieved for several reduced products. Using this same system, the incorporation of deuterium atoms into organic compounds was performed by replacing the water with D₂O, which led to the formation of HD/D₂. With this methodology we were able to incorporate the deuterium atom in a rate >60% in compounds **5a** and **5m**. NSsAgPd were also immobilized on silica particles to form SiO₂-AgPd. These catalysts were confined in a reactor and used in the hydrogenation reactions under continuous flow conditions of organic compounds using silicon compounds as the hydrogen source. Under these conditions conversions of up to 92% were achieved for the reduced product.

Keywords: Bimetallic nanoparticles, oxidation, hydrosilanes, reduction, deuterium labeling, flow conditions reactions.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AuNPore: nanoporos de ouro.

BCL: Lipase de *Burkholderia cepacia* (*Burkholderia cepacia* lipase).

BPR: Regulador de pressão (*back pressure regulator*).

CALB-AgAu: Nanopartículas bimetálicas de Ag/Au ou Nanocascas bimetálicas de Ag/Au contendo CAL-B imobilizada.

CALB-AgPd: Nanopartículas bimetálicas de Ag/Pd ou Nanocascas bimetálicas de Ag/Pd contendo CAL-B imobilizada.

CALB-AgPt: Nanopartículas bimetálicas de Ag/Pt ou Nanocascas bimetálicas de Ag/Pt contendo CAL-B imobilizada.

CCD: Cromatografia em camada delgada.

CME: Catalisador metalo-enzimático.

Conv.: Conversão.

CG-EM: Cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massas.

CG-DIC: Cromatógrafo gasoso acoplado à detector de ionização de chama.

DRX: Difração de raios-X.

e.e.: Excesso enantiomérico.

E: Razão enantiomérica.

IES: Ionização por elétron-spray.

FDTD: Método de simulação FDTD (*finite-difference time-domain*).

IVTF: Infravermelho com transformada de Fourier.

CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência.

ICP-OES: Espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado (*Inductively coupled plasma optical emission spectrometry*).

MET: Microscopia eletrônica de transmissão.

MEV: Microscopia eletrônica de varredura.

MEC: Microscopia de campo escuro.

M⁺: Íon molecular.

m/z: Relação massa/carga.

NB(s): Nanopartículas bimetálica(s).

NSsAgAu: Nanopartículas bimetálicas de Ag/Au ou Nanocascas bimetálicas de Ag/Au.

NSsAgPd: Nanopartículas bimetálicas de Ag/Pd ou Nanocascas bimetálicas de Ag/Pd.

NSsAgPt: Nanopartículas bimetálicas de Ag/Pt ou Nanocascas bimetálicas de Ag/Pt.

PBR: Reator (*packed bed reactor*).

ppm: Partes por milhão.

RC: Resolução cinética.

Rend.: Rendimento reacional.

RMN: Ressonância magnética nuclear.

rpm: Rotações por minuto.

RPSL: Ressonância de plasma de superfície localizada.

Sel.: Seletividade.

t.a.: Temperatura ambiente.

TMBE: Éter *terc*-butil metílico.

t_R: Tempo de retenção.

T: Temperatura.

THF: Tetrahydrofurano.

TMS: Tetrametilsilano.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	15
1.1. Nanopartículas Bimetálicas.....	16
1.2. Nanopartículas bimetálicas como catalisadores	19
1.3. Biocatalisadores: uma breve introdução	31
1.4. Nanopartículas bimetálicas como suporte de biocatalisadores: metodologia e aplicação	32
2. Objetivos.....	39
3. Resultados e Discussão.....	40
3.1. Síntese de nanopartículas bimetálicas (NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt).....	41
3.2. Nanopartículas bimetálicas de NSsAgAu NSsAgPd e NSsAgPt como catalisadores para oxidação de hidrosilanos e formação de silanóis	50
3.3. Estudo do Mecanismo reacional para oxidação de silanos catalisador por NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt.....	74
3.4. Formação de Catalisadores Metalo-enzimáticos.....	76
3.5. Hidrogenação de compostos orgânicos utilizando NSsAgPd como catalisador e como doador de hidrogênio compostos de silício, em reações <i>one-pot</i>	89
3.6. Marcação de compostos orgânicos com deutério.....	107
3.7. Hidrogenação de compostos orgânicos em fluxo contínuo catalisado por NSsAgPd imobilizadas em sílica	114
4. Conclusões e desafios futuros.....	130
5. Parte Experimental	134
5.1. Materiais	135
5.2. Síntese das nanopartículas bimetálicas de AgAu, AgPd e AgPt (NSsAgAu, NssAgPd e NSsAgPt)	137
5.3. Preparação das amostras para MEV	138
5.4. Preparação das amostras para MET	138
5.5. Procedimento para preparação da 4-(dimetilsilil)benzonitrila 1b	138
5.6. Procedimento para preparação do dimetil(naftalen-2-il)silano 1c ¹⁶⁰	139
5.7. Procedimento para preparação da 1-(4-(dimetilsilil)fenil)etanona 1d.....	140
5.8. Procedimento para a preparação dos silanos 1e-1g.....	141
5.8.1. Procedimento geral para a preparação dos cloretos precursores dos silanos 1e-1g.....	141
5.8.2. Procedimento geral para a preparação do cloreto 1h ¹⁶⁰	142
5.8.3. Procedimento geral para a preparação dos hidrosilanos quirais 1e-1h ¹⁶¹	143
5.9. Procedimento geral para a preparação das cetonas α,β -insaturadas 5a-5c	145
5.10. Procedimento geral para a preparação dos precursores imínicos 5m-5o	146
5.11. Procedimento geral para a oxidação de hidrosilanos 1a-1j catalisado por NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt	148
5.12. Procedimento para o teste do envenenamento do catalisador, NSsAgAu e NSsAgPt	151
5.13. Procedimento para reuso do catalisador nanometálico NSsAgPd	152
5.14. Imobilização da CAL-B sobre nanopartículas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt, formação do catalisador bio-metálico	152
5.15. Quantificação de proteínas através do método de Bradford ¹⁶⁵	153

5.15.1.	Montagem da curva de calibração para quantificação da proteína	153
5.15.2.	Método de preparação das amostras para medida da quantidade de enzima imobilizada 153	
5.16.	Resolução cinética utilizando os catalisadores bio-metálicos (CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt)	154
5.17.	Oxidação do dimetil(fenil)silano (1a) utilizando os catalisadores bio-metálicos (CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt).....	154
5.18.	Procedimento geral para redução dos compostos orgânicos 5a-5o utilizando como fonte de hidrogênio o dimetil(fenil)silano (1a), reações catalisadas por NSsAgPd realizadas em <i>batch</i>	155
5.19.	Procedimento geral para marcação de compostos orgânicos com deutério	158
5.20.	Imobilização das NSsAgPd em sílica gel (SiO ₂ -AgPd).....	159
5.21.	Procedimento geral para oxidação de hidrosilanos 1a, 1i e 1l utilizando como catalisador NSsAgPd, reações sob condição de fluxo contínuo	159
5.22.	Procedimento geral para redução dos compostos orgânicos 5a, 5d e 5l utilizando como doador de hidrogênio o dimetil(fenil)silano (1a) , como catalisador a NSsAgPd, reações sob condição de fluxo contínuo	160
6.	Referências Bibliográficas.....	162
7.	Anexos.....	170
7.1.	Imagens de microscopia eletrônica das NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt	171
7.2.	Imagens de microscopia eletrônica do SiO ₂ -AgPd	176
7.3.	Espectros de FT-IR das nanopartículas bimetálicas antes e depois do seu uso como catalisador 178	
7.4.	Cromatogramas e Espectros de CG-EM e CG-DIC selecionados.....	179
7.4.1.	Cromatogramas de CG-EM do estudo cinético para oxidação do dimetil(fenil)silano 1a 179	
7.4.2.	Cromatogramas de CG-DIC para o teste do envenenamento do catalisador.....	182
7.4.3.	Outros cromatogramas de CG-EM da redução dos compostos orgânicos utilizando dimetil(fenil)silano como fonte de hidrogênio.....	183
7.5.	Espectros selecionados.....	188
7.6.	Currículo Lattes	215
7.7.	Artigos publicados.....	223

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1. Nanopartículas Bimetálicas

Em geral, nanopartículas possuem tamanho entre 1-100 nm. Nanopartículas metálicas (NM) possuem diferentes propriedades físicas e químicas quando comparadas a uma grande massa do metal (*bulk*), como por exemplo, pontos de fusão mais baixos, maiores áreas superficiais, diferentes propriedades magnéticas e mecânicas. Essas características fazem destes materiais excelentes ferramentas para diversas aplicações.¹

Recentemente, nanopartículas bimetálicas (NBs) compostas de dois diferentes metais têm atraído considerável atenção devido a características únicas que estes materiais apresentam em campos como eletrônica, óptica e catálise. Isso acontece porque as NBs podem demonstrar propriedades dos dois metais, que as constituem, mas também demonstrar novas propriedades devido à sinergia entre os dois metais (**Figura 1**).^{2,3,4,5}

Figura 1. Representação das prováveis características da NB.

¹ Horikoshi, S. and Serpone, N. Introduction to Nanoparticles, in *Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications* (eds S. Horikoshi and N. Serpone), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2013**.

² Zaleska-Medynska, A.; Marchelek, M.; Diak, M.; Grabowska, E. *Advances in Colloid and Interface Science*, **2016**, 229, 80-107.

³ Xia, B.; He, F.; Li, L.; *Langmuir*, **2013**, 29, 4901–4907.

⁴ Toshima, N.; Yonezawa, T. *New Journal of Chemistry*, **1998**, 10, 1179-1201.

⁵ Tan, R. L. S.; Song, X.; Chen, B.; Chong, W. H.; Fang, Y.; Zhang, H.; Wei, J.; Chen, H. *Nanoscale*, **2016**, 8, 3447-3453.

A forma, tamanho e estrutura das NBs são dependentes dos métodos e condições de preparo, que afetam as propriedades físico-químicas do nanomaterial resultante.^{2,6}

A estrutura das NBs pode ser definida de acordo com os modos de distribuição dos dois elementos no material e, dependendo da distribuição dos átomos, elas podem ser classificadas em ligas randômicas (*random alloy*) ou ligas com um componente intermetálico, sendo que estas podem ser sub-classificadas em grupo-por-grupo (*cluster-in-cluster*) ou concha (*core-shell*), **Figura 2**.²

Figura 2. Estrutura das nanopartículas bimetálicas: (a) liga mista; (b) liga randômica; (c) *subclusters* com duas interfaces (d) *subclusters* com três interfaces; (e) *subclusters* com um pequeno número de ligações; (f) *core-shell*; (g) multi *core-shell*; (h) múltiplas *small-core-shells*, (i) *core* livre no interior de uma *shell*.²

A forma das nanopartículas é extremamente importante para o uso a que se quer destinar o nanomaterial, pois, dependendo, pode-se ter uma maior área superficial ou maior disponibilidade de faces ativas do metal, uma vez que a forma do material

⁶ You, H.; Yang, S.; Ding, B.; Yang, H. *Chemical Society Reviews*, **2013**, 42, 2880-2904.

influência na quantidade de sítios expostos.^{7,8,9,10} Assim muitos trabalhos focam seus objetivos na forma, tamanho e estrutura do material versus a atividade catalítica.

Abaixo seguem alguns exemplos de nanopartículas bimetálicas de diferentes formas, descritos na literatura, **Figura 3**.

Figura 3. a) Nanoestrelas de Au/Ag¹¹; b) Nanocubos de PdPt¹²; c) Nanoesferas de AgAu;¹¹ d) Nanodiscos de AgAu¹³

Devido ao grande interesse nas propriedades e potenciais de aplicação das NBs, os estudos envolvendo o seu uso em campos como sensores magnéticos, óptica, aplicações biomédicas, biocatálise e catálise vem crescendo.¹⁴ Esse tipo de material teve grande ascensão nas últimas duas décadas devido, principalmente, ao aperfeiçoamento da síntese das NBs.¹⁵

⁷ King, M. E.; Personick, M. L. *Particle and Particle Systems Characterization*, **2017**, 8, 1600422-1600422.

⁸ Wu, D.; Kusada, K.; Kitagawa, H. *Science and Technology of Advanced Materials*, **2016**, 17, 583–596.

⁹ Shape-controlled synthesis of goldenickel bimetallic nanoparticles and their electrocatalytic properties

¹⁰ PdPt bimetallic nanoparticles enabled by shape control with halide ions and their enhanced catalytic activities

¹¹ Cheng, L.; Huang, J.; Chen, H. M.; Lai, T.; Uang, K.; Liu, R.; Hsiao, M.; Chen, C.; Her, L.; Tsai, D. P. *Journal of Material Chemistry*, **2012**, 22, 2244–2253.

¹² Banadaki, A. D.; Kajbafvala, A. *Journal of Nanomaterials*, **2014**, 14, 1-28.

¹³ Zhang, Q.; Xie, J.; Lee, J. Y.; Zhang, J.; Boothroyd, C. *Small*, **2008**, 4, 1067–1071.

¹⁴ Duan, S.; Wang, R. *Progress in Natural Science: Materials International*, **2013**, 23, 113–126.

¹⁵ Gurunathan, S.; Saha, S.; Sekar, G. *Tetrahedron Letters*, **2016**, 57, 5168–5178.

1.2. Nanopartículas bimetálicas como catalisadores

Nanopartículas bimetálicas começaram a ser utilizadas como catalisadores em reações orgânicas visando aprimorar processos reacionais. Quando elas começaram a ser empregadas como catalisadores visava-se o aumento da performance reacional,^{16,17,18} o barateio do custo reacional^{19,20} e a busca de processos catalíticos mais “verdes”.^{21,22}

Por exemplo, nanopartículas de Au/Pt foram utilizados como catalisadores para oxidação da glucose em peróxido de hidrogênio e ácido glucônico. Esse material apresentou atividade 10 vezes superior do que quando nanopartículas de Au foram utilizadas como catalisadores (**Esquema 1**).²³ A glucose também pode ser oxidada utilizando nanopartículas de Ag-Au como catalisador. Neste caso, vale destacar que a vida útil desse catalisador durou cerca de dois meses em condições ambientes, mostrando-se altamente resistente às condições reacionais.²⁴

Esquema 1. Oxidação da glucose catalisada por nanopartículas bimetálicas.

¹⁶ Holewinski, A.; Idrobo, J.; Linic, S. *Nature Chemistry*, **2014**, 6, 828–834.

¹⁷ Qiu, H.; Shen, X.; Wang, J.; Hirata, A.; Fujita, T.; Wang, Y.; Chen, M. *ACS Catalysis*, **2015**, 5, 3779–3785.

¹⁸ Priya, S. S.; Bhanuchander, P.; Kumar, V. O. Bhargava, S. K. Chary, K. V. R. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, **2016**, 55, 4461–4472.

¹⁹ Sarfraz, S.; Garcia-Esparza, A. T.; Jedidi, A.; Cavallo, L.; Takanabe, K. *ACS Catalysis*, **2016**, 6, 2842–2851.

²⁰ Vetere, V.; Merlo, A. B.; Ruggera, J. F.; Casella, M. L. *Journal of Brazilian Chemical Society*, **2010**, 21, 914–920.

²¹ Villa, A.; Wang, D.; Su, D. S.; Prati, L. *Catalysis Science and Technology*, **2015**, 5, 55–68.

²² Sankar, M.; Dimitratos, N.; Miedziak, P. J.; Wells, P. P.; Kiely, C. J.; Hutchings, G. J. *Chemical Society Reviews*, **2012**, 41, 8099–8139.

²³ Zhang, H.; Toshima, N. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2013**, 394, 166–176.

²⁴ Zhang, H.; Okuni, J.; Toshima, N. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2011**, 354, 131–138.

Outro exemplo da melhora da atividade catalítica quando NBs foram utilizados como catalisadores foi citado por He *et al.* Neste caso, nanopartículas de Ag-Pd foram utilizadas como catalisadores para hidrogenação de acrilato de metila. A eficiência desta reação foi aumentada em 367 vezes quando comparada ao uso de Pd comercial e 1,6 vezes maior quando comparada com o uso de nanopartículas de Pd, como catalisadores

Esquema 2.²⁵

Esquema 2. Hidrogenação do acrilato de metila catalisada por nanopartículas bimetálicas de Ag/Pd.

Mizukoshi *et al.* também utilizaram NBs de Au/Pd para hidrogenação do ácido 4-pentenóico. Neste caso, as NBs mostraram atividade catalítica superior para hidrogenação do substrato quando comparadas a uma mistura de nanopartículas de Au e Pd equivalente de metais à apresentada pela NB. A atividade da partícula bimetálica foi três vezes maior do que as nanopartículas monometálicas sob as mesmas condições reacionais, **Esquema 3.**²⁶

Esquema 3. Hidrogenação do ácido 4- pentenóico catalisada por nanopartículas bimetálicas de Au/Pd.

²⁵ He, J.; Ichinose, I.; Kanitake, T.; Nakao, A.; Shiraishi, Y.; Toshima, N. *Journal of America Chemical Society*, **2003**, 125, 11034-11040.

²⁶ Mizukoshi, Y.; Fujimoto, T.; Nagata, Y.; Oshima, R.; Maeda, Y. *The Journal of Physical Chemistry B*, **2000**, 104, 6028–6032.

NBs de Pd/Au também se mostraram boa alternativa para oxidação de álcoois.²⁷ Hou *et al.* testaram a atividade catalítica destas nanopartículas para oxidação do álcool benzílico, 1-butanol, 2-butanol, 2-buten-1-ol e 1,4-butanediol. Os resultados indicaram que as NBs de Pd/Au apresentaram atividade superior (25-85% conv.) aos seus análogos monometálicos e ainda indicaram que a seletividade para produtos específicos esta diretamente ligada ao uso de Pd/Au como catalisador, **Esquema 4**.²⁸

Esquema 4. Oxidação de álcoois catalisada por nanopartículas bimetálicas de Pd/Au.

O ácido láctico é de grande importância para indústria química, alimentícia, farmacêutica e cosmética. A síntese deste composto normalmente é feita através do processo de fermentação de carboidratos, que possui alto custo, utiliza grandes

²⁷ Enache, D. I.; Edwards, J. K.; Landin, P.; Solsona-Espriu, B.; Carley, A. F.; Herzing, A. A.; Watanabe, M.; Kiely, C. J.; Knight, D. W.; Hutchings, G. J. *Science*, **2006**, 311, 362-365.

²⁸ Hou, W.; Dehm, N. A.; Scott, R. W. J. *Journal of Catalysis*, **2008**, 253, 22-27.

quantidades de água e possui baixa taxa de conversão. Como uma alternativa para síntese do ácido láctico Xue *et al.* propuseram o uso de nanopartículas de Cu/Au como catalisadores para oxidação do 1,2-propanodiol e formação do produto desejado, alcançando uma conversão de até 76% (**Esquema 5**). Neste caso, NBs se mostraram uma excelente alternativa catalítica provocando a redução de custos para produção do ácido láctico..²⁹

Esquema 5. Oxidação do 1,2-propanodiol catalisada por nanopartículas bimetálicas de Cu/Au.

Visando baterear custos reacionais, nanopartículas de Ag/Pd foram utilizadas como catalisadores para redução de oxigênio. Seu processo de redução é um combustível para produção de energia em eletrocatalisadores. Normamente, este tipo de reação envolve o uso de Pt como catalisador, mas o alto custo deste material dificulta o processo. Quando *core-shell* bimetálicas de Ag/Pd foram utilizadas como catalisadores não só a eficiência da reação aumentou como o catalisador apresentou grande durabilidade.³⁰

Outros estudos citados na literatura indicam que NBs como Pd/Co^{31,32}, Pd/Pt^{33,34}, Pt/Sn³⁵, Pt/Cu³⁶, Ag/Cu³⁷ são excelentes catalisadores para redução de oxigênio,

²⁹ Xue, W.; Yin, H.; Lu, Z.; Feng, Y.; Wang, A.; Liu, S.; Shen, L.; Jia, X. *Catalysis Letters*, **2016**, *146*, 1139-1152.

³⁰ Chen, D.; Li, C.; Liu, H.; Ye, F.; Yang, J. *Scientific Reports*, **2015**, *5*, 1-9.

³¹ Wang, W.; Zheng, D.; Du, C.; Zou, Z.; Zhang, X.; Xia, B.; Yang, H.; Akins, D. L. *Journal of Power Sources*, **2007**, *167*, 243-249.

³² Xue, H.; Tang, J.; Gong, H.; Guo, H.; Fan, X.; Wang, T.; He, J.; Yamauchi, Y. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **2016**, *8*, 20766-20771.

mostrando-se uma alternativa para aumentar a eficiência do processo e baratear custos reacionais.

Como nanopartículas bimetálicas são compostas de dois diferentes metais, a quantidade de cada metal, no material pode influenciar na sua atividade catalítica. Como mostrado por Park *et al.* NBs de Rh/Pt foram hábeis a catalisar a oxidação de CO à CO₂ e dependendo da quantidade de cada metal na nanopartícula a atividade catalítica é alterada. De forma geral, o nanomaterial bimetálico de Rh/Pt foi 20 vezes mais ativo frente à oxidação do CO quando comparado ao uso de Pt puro como catalisador.³⁸

Visando resolver o problema de desativação de nanopartículas de Au, como catalisadores, frente à oxidação de CO, Bang *et al.* desenvolveram nanopartículas bimetálicas de Au/Ti como uma alternativa para substituição de Au puro. Neste estudo, ficou comprovado que as nanopartículas de Au/Ti sofrem uma maior adsorção do O₂ e um menor envenenamento por CO₂ quando comparadas com nanopartículas de Au, mostrando-se um catalisador mais durável pra este tipo de reação.³⁹

Outros nanomateriais bimetálicos como Au/Pd⁴⁰, Au/Ag^{41,42}, Pt/M (M = Au, Cu, Ni)⁴³, também foram utilizados como catalisadores para oxidação de CO a CO₂

---

³³ He, W.; Chen, M.; Zou, Z.; Li, Z.; Zhang, X.; Jin, S.; You, D. J.; Pak, C.; Yang, H. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2010**, 97, 347–353.

³⁴ Lim, B.; Jiang, M.; Camargo, P. H. C.; Cho, E. C.; Tao, J.; Lu, X.; Zhu, Y.; Xia, Y. *Science*, **2009**, 324, 1302–1305.

³⁵ Jeyabharathi, C.; Venkateshkumar, P. Mathiyarasu, J.; Phani, K. L. N. *Electrochimica Acta*, **2008**, 54, 448–454.

³⁶ Gumeci, C.; Cearnaigh, D. U.; Casadonte, D. J.; Korzeniewski, C. *Journal of Materials Chemistry A*, **2013**, 1, 2322–2330.

³⁷ Zhang, N.; Chen, F.; Wu, X.; Wang, Q.; Qaseem, A.; Xia, Z. *Journal of Materials Chemistry A*, **2017**, in press.

³⁸ Park, J. Y.; Zhang, Y.; Grass, M.; Zhang, T.; Samorjai, G. A. *Nano Letters*, **2008**, 8, 673–677.

³⁹ Bang, K.; Shin, K.; Shin, M.; Kwon, S.; Lee, H. M. *Catalysis Today*, **2016**, 265, 14–18.

⁴⁰ Olmos, C. M.; Chinchilla, L. E.; Delgado, J. J.; Hungria, A. B.; Blanci, G.; Calvino, J. J.; Chen, X. *Catalysis Letters*, **2016**, 146, 144–156.

⁴¹ Wang, A.; Chang, C.; Mou, C. *The Journal of Physical Chemistry B*, **2005**, 109, 18860–18867.

⁴² Yen, C.; Lin, M.; Wang, A.; Chen, S.; Chen, J.; Mou, C. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2009**, 113, 17831–17839.

(**Esquema 6**). Os resultados demonstrados revelaram que, de forma geral, as NBs apresentam melhores atividades na incorporação de O₂ e CO bem como uma maior formação do CO₂ e sendo além de tudo mais duráveis que os análogos monometálicos.

Esquema 6. Oxidação de CO catalisada por nanopartículas bimetálicas.

Outro exemplo do uso de nanomateriais bimetálicos como catalisadores é a redução de nitrocompostos à aminas. Normalmente, este tipo de transformação pode ser realizada por hidrogenação catalítica com Pd/C, óxido de platina (IV) ou níquel esponjoso, ferro em meio ácido, hidrosulfito de sódio, sulfito de sódio, cloreto de estanho (II), cloreto de titânio (III), zinco ou samário.⁴⁴ A maioria destes métodos envolve catalisadores de alto custo ou produção de resíduos tóxicos. É nesse ponto que o uso de nanopartículas bimetálicas entra como uma alternativa catalítica para uma possível metodologia em que se pode obter a amina correspondente com 100% de conversão e seletividade, em pouco tempo reacional em uma reação mais limpa e branda. Existem vários relatos na literatura sobre o uso de NBs como catalisadores para redução de nitrocompostos, abaixo são citados alguns dos exemplos mais recentes.

⁴³ Yamamoto, T. A.; Nakagawa, T.; Seino, S.; Nitani, H. *Applied Catalysis A: General*, **2010**, 387, 195–202.

⁴⁴ a) Bavin, P. M. G. *Organic Synthesis*, **1960**, 40, 5-7. b) Allen, C. F. H.; Van Allan, J.; *Organic Synthesis*, **1955**, 3, 587-589. c) Hartman, W. W. and H. L. Silloway, *Organic Synthesis Collection*, v3, New York, NY, John Wiley, **1955**. d) Faul, Margaret M.; Thiel, Oliver R. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, **2005**. e) Basu, M. K. *Tetrahedron Letters*, **2000**, 41, 5603-5610.

Ghosh *et al.* sintetizaram nanopartículas de Pt/Ni e as utilizaram como catalisadores para redução de nitrocompostos. Neste estudo, três diferentes nitrocompostos foram reduzidos às respectivas anilinas com conversões >99% em 30 minutos de reação, **Esquema 7**.⁴⁵

Esquema 7. Redução de nitro compostos utilizando nanopartículas bimetálicas de Pt/Ni como catalisadores.

Pozun *et al.* demonstraram que a redução do *p*-nitrofenol, utilizando NaBH₄ pode ser catalisada por NBs de Pt/Cu, Pd/Cu, Pd/Au, Pt/Au e Au/Cu. Sua proposta era uma reação livre de solventes orgânicos, com a adição à reação de NaOH para que o substrato fosse solúvel em água (**Esquema 8**). Nesta metodologia, todas as nanopartículas bimetálicas apresentaram taxas de conversão parecidas, sendo superiores a 90%.⁴⁶

Esquema 8. Redução do *p*-nitrofenol utilizando nanopartículas bimetálicas como catalisadores.

⁴⁵ Ghosh, S. K.; Mandal, M.; Kundu, S.; Nath, S.; Pal, T. *Applied Catalysis A: General*, **2004**, 268, 61–66.

⁴⁶ Pozun, Z. D.; Rodenbush, S. E.; Keller, E.; Tran, K.; Tang, W.; Stevenson, K. J.; Henkelman, G. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2013**, 117, 7598–7604.

Uma alternativa para baratear custos reacionais envolvendo o uso de nanopartículas bimetálicas como catalisador pode ser a reciclagem do catalisador. Com este objetivo, Gupta *et al.* desenvolveram nanopartículas de Fe/Ag para serem utilizadas como um catalisador reciclável para redução do 4-nitrofenol e do 2-nitrofenol (**Esquema 9**). O catalisador foi capaz de promover a redução dos substratos com conversões >99% em 30 minutos de reação. Neste caso, o catalisador pode ser reutilizado 11 vezes, para ambos os substratos, tendo um decréscimo de apenas 3% da atividade catalítica.⁴⁷

Esquema 9. Redução do *p*-nitrofenol catalisado por nanopartículas de Fe/Ag.

Assim como Pozun e Ghosh, outros autores também sintetizaram nanopartículas bimetálicas para utilizá-las como catalisadores na redução de compostos nitrocompostos, como, por exemplo, Rana *et al.* (Cu-Ni)⁴⁸, König *et al.* (PtBi)⁴⁹, Serpell *et al.* (AuPd)⁵⁰, Rezazadeh *et al.* (Fe/Ni)⁵¹, Petkar *et al.* (Fe-Ni)⁵², Kim *et al.* (Pd-Pt)⁵³,

⁴⁷ Gupta, V. K.; Yola, M. L.; Eren, T.; Kartal, F.; Caglayan, M. O.; Atar, N. *Journal of Molecular Liquids*, **2014**, 190, 133–138.

⁴⁸ Rana, S.; Jonnalagadda, S. B. *RSC Advanced*, **2017**, 7, 2869-2879.

⁴⁹ König, R. Y. G.; Schwarze, M.; Schomacker, R.; Stubenrauch, C. *Catalysts*, **2014**, 4, 256-275.

⁵⁰ Serpell, C. J.; Cookson, J.; Ozkaya, D.; Beer, P. D. *Nature Chemistry*, **2011**, 3, 478–483.

⁵¹ Rezazadeh, S.; Akhlaghinia, B.; Goharshadi, E. K.; Sarvari, H. *Journal of the Chinese Chemical Society*, **2014**, 61, 1108-1114.

⁵² Petkar, D. R.; Kadu, B. S.; Chikate, R. C. *RSC Advances*, **2014**, 4, 8004-8010.

⁵³ Kim, E.; Jeong, H. S.; Kim, B. M. *Catalysis Communications*, **2014**, 45, 25–29.

Gupta, *et al.* (Fe@Au)⁵⁴, Pergolese *et al.* (Ag/Pd)⁵⁵, An *et al.* (Ag-Au)⁵⁶, Liu *et al.* (Pt/Ru)⁵⁷ e Cai *et al.* (RhNi)⁵⁸.

Uma reação de grande importância na síntese de compostos orgânicos é a formação de ligações carbono-carbono. Reações de acoplamento cruzado combinam dois fragmentos moleculares e conduzem à formação de novas ligações C-C, reações de acoplamento de Suzuki–Miyaura, Heck e Sonogashira são grandes exemplos deste tipo de reação. Normalmente, este tipo de reação é catalisada por metais de transição, com grande predominância de derivados do paládio.⁵⁹

Com o sucesso das NBs como catalisadores em diversas reações orgânicas, elas surgiram como uma possível alternativa de catalisadores para formação de ligações C-C. Dentro desse contexto, Son *et al.* desenvolveram nanopartículas de Pd/Ni para atuar como catalisadores em reações de acoplamento de Sonogashira visando catalisadores mais baratos e que pudessem ser reutilizados. Neste caso, dois haletos de arila (clorobenzeno e bromobenzeno) diferentes foram colocados para reagir com dois alcinos diferentes (etnilbenzeno e etniltrimetilsilano). Conversões de até 95% foram alcançadas e o catalisador pode ser reutilizado 5 vezes sem perda da atividade catalítica (**Esquema 10**).⁶⁰

⁵⁴ Gupta, V. K.; Atar, N.; Yola, M. L.; Ustundag, Z.; Uzun, L. *Water Research*, **2014**, *48*, 210–217.

⁵⁵ Pergolese, B.; Muniz-Miranda, M.; Bigotto, A. *Chemical Physics Letters*, **2007**, *438*, 290–293.

⁵⁶ An, Q.; Yu, M. Zhang, Y.; Ma, W.; Guo, J.; Wang, C. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2012**, *116*, 22432–22440.

⁵⁷ Liu, M.; Zhang, J.; Liu, J.; Yu, W. W. *Journal of Catalysis*, **2011**, *278*, 1–7.

⁵⁸ Cai, S.; Duan, H.; Rong, H.; Wang, D.; Li, L.; He, W.; Li, Y. *ACS Catalysis*, **2013**, *3*, 608–612.

⁵⁹ Bolm, C.; *Journal of Organic Chemistry*, **2012**, *77*, 5221–5223.

⁶⁰ Son, S. U.; Jang, Y.; Park, J.; Na, H. B.; Park, H. M.; Yun, H. J.; Lee, J.; Hyeon, T. *Journal of America Chemical Society*, **2004**, *126*, 5026–5027.

Esquema 10. Reação de acoplamento de Sonogashira utilizando nanopartículas bimetálicas de Pd/Ni como catalisadores.

Demonstrando a mesma versatilidade de recuperação e processos mais verdes, nanopartículas de Pd/Co foram utilizadas como catalisadores em reações de Sonogashira por Shaabani *et al.*⁶¹

Vantagens como menor custo do catalisador, capacidade de reciclagem e rendimentos elevados foram alcançadas quando nanopartículas de Pd/Cu⁶² e Pd/Co⁶³, Cu/Pd⁶⁴ foram utilizadas como catalisadores em reações de acoplamento de Sonogashira.

Reações de acoplamento cruzado de Suzuki-Miyaura utilizando NBs foram propostas por Wu *et al.* (Pd/Ni)⁶⁵, Metin, *et al.* (Ni/Pd)⁶⁶, Chen *et al.* (Ag/Pd)⁶⁷ e Feng *et al.* (Pd/Co)⁶⁸. Em todos estes estudos foram relatados altos rendimentos, condições mais brandas de reação, metodologia simples e reuso do catalisador.

⁶¹ Shaabani, A.; Mojtaba, M. *Journal of Materials Chemistry A*, **2013**, 1, 9303–9311.

⁶² Sengupta, D.; Saha, J.; De, G.; Basu, B. *Journal of Materials Chemistry A*, **2014**, 2, 3986–3992.

⁶³ Li, Y.; Zhou, P.; Dai, Z.; Hu, Z.; Sun, P.; Bao, J. *New Journal of Chemistry*, **2006**, 30, 832–837.

⁶⁴ Diyarbakir, S.; Can, H.; Metin, O. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **2015**, 7, 3199–3206.

⁶⁵ Wu, Y.; Wang, D.; Zhao, P.; Niu, Z.; Peng, Q.; Li, Y. *Inorganic Chemistry*, **2011**, 50, 2046–2048.

⁶⁶ Metin, O.; Ho, S. F.; Alp, C.; Can, H.; Mankin, M. N.; Gultekin, M. S.; Chi, M.; Sun, S. *Nano Research*, **2013**, 6, 10–18.

⁶⁷ Chen, M.; Zhang, Z.; Li, L.; Liu, Y.; Wang, W.; Gao, J. *RSC Advances*, **2014**, 4, 30914–30922.

⁶⁸ Feng, Y.; Lin, X.; Hao, J.; Xu, H. *Tetrahedron*, **2014**, 70, 5249–5253.

Dentre o uso de NBs como catalisadores para reações de acoplamento cruzado de Suzuki- Miyaura podemos destacar o estudo realizado por Nasrollahzadeh *et al.*, em que nanopartículas de Au/Pd foram utilizadas como catalisadores. Diferentes iodetos de arila e ácidos fenilborônicos foram utilizados como substratos e, ao final, conversões de até 91% foram alcançadas (**Esquema 11**).⁶⁹

Esquema 11. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura utilizando nanopartículas bimetálicas de Au/Pd como catalisadores.

O último exemplo do uso de NBs como catalisadores para reações de acoplamento engloba reações de Miyaura-Heck. Neste contexto, nanopartículas de Pd/Ni^{70,71} e Pd/Cu⁷² foram utilizadas como catalisadores. Como mencionado por Feng *et al.*, as nanopartículas de Pd/Ni mostraram melhor atividade catalítica, seletividade e estabilidade que o paládio puro (**Esquema 12**).⁷¹

⁶⁹ Nasrollahzadeh, M.; Azarian, A.; Mahan, M.; Ehsani, A. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **2015**, 21, 746–748.

⁷⁰ Ohtaka, A.; Sansano, J. M.; Najera, C.; Miguel-García, I.; Berenguer-Murcia, A.; Cazorla-Amoros, D. *ChemCatChem*, **2015**, 7, 1841 – 1847.

⁷¹ Feng, L.; Chong, H.; Li, P.; Xiang, J.; Fu, F.; Yang, S.; Yu, H.; Sheng, H.; Zhu, M. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2015**, 119, pp 11511–11515

⁷² Heshmatpour, F.; Abazari, R.; Balalaie, S. *Tetrahedron*, **2012**, 68, 3001-3011.

Esquema 12. Reação de acoplamento de Miyaura-Heck utilizando nanopartículas bimetálicas de Pd/Ni como catalisadores.

Por fim, existem ainda outros exemplos em que nanomateriais bimetálicos já foram utilizados como catalisadores, como por exemplo, na oxidação de metanol⁷³, hidrogenação de cinamaldeído⁴⁸, acoplamento cruzado de Hiyama⁷⁴ e oxidação do ácido fórmico⁷⁵.

O material ilustrado neste tópico mostra a enorme diversidade do uso de NBs como catalisadores em reações orgânicas. Além disso, eles são catalisadores versáteis e de grande durabilidade. Em muitos casos o uso deste material possibilitou um incremento da atividade catalítica quando comparado com os análogos monometálicos. Devido à possibilidade de recuperação deste material do meio reacional e o fato de se evitar catalisadores mais tóxicos ou reações que levam à formação de resíduos tóxicos, este tipo de nanomaterial se mostrou uma boa alternativa, para ser empregado como catalisador, em reações orgânicas (**Figura 4**).

⁷³ Yin, Z.; Zhou, W.; Gao, Y.; Ma, D.; Kiely, C. J.; Bao, X. *Chemistry - A European Journal*, **2012**, 18, 4887 – 4893.

⁷⁴ Pachon, L. D.; Thathagar, M. B.; Hartl, F.; Rothenberg, G. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2006**, 8, 151–157.

⁷⁵ Mazumber, V.; Chi, M.; Mankin, M. N.; Liu, Y.; Metin, O.; Sun, D.; More, K. L. Sun, S. *Nano Letters*, **2012**, 12, 1102–1106.

Figura 4. Versatilidade das BNs em síntese orgânica.

1.3. Biocatalisadores: uma breve introdução

Os Biocatalisadores, de forma geral, são catalisadores responsáveis por catalisar as reações químicas nos seres vivos. Dentre as formas de biocatalisadores mais utilizados temos enzimas na sua forma livre ou células inteiras.⁷⁶

Os biocatalisadores são utilizados pelos seres humanos desde a antiguidade para acelerar processos, principalmente na fermentação para produzir alimentos como queijo, cerveja, vinagre e vinho. Com o avanço da ciência, os biocatalisadores começaram a ser considerados como possíveis ferramentas sintéticas. A grande descoberta desta aplicação deve-se principalmente aos experimentos realizados por Louis Pasteur (1858), que tratou uma solução aquosa de ácido tartárico racêmico com uma cultura do fungo *Penicillium glaucum*, o que levou ao consumo do (+) ácido tartárico e enriquecimento do (-) ácido tartárico. Isso demonstrou que, além de acelerar processos, as enzimas poderiam possuir características que levariam ao diferenciamento enantiomérico.⁷⁶

Nos últimos anos, os químicos têm utilizado extensivamente biocatalisadores. O grande interesse nesses biomateriais deve-se principalmente às características que eles

⁷⁶ Reetz, M. T. *Journal of the American Chemical Society*, **2013**, 135, 12480–12496.

apresentam, como alta taxa do ciclo catalítico, promiscuidade catalítica e seletividade (estéreo-, regio- e quimiosseletividade).⁷⁷

Mesmo assim, a utilização de enzimas ou células livres como biocatalisadores é limitada. Enquanto enzimas apresentam atividade catalítica eficaz sob condições suaves (temperaturas amenas e meios aquosos), isso pode variar quando estas condições são modificadas alterando a estabilidade e atividade catalítica.⁷⁸ Assim, a imobilização enzima/suporte surge como uma alternativa para manter a estabilidade estrutural e catalítica do biocatalisador num ambiente não natural.

1.4. Nanopartículas bimetálicas como suporte de biocatalisadores: metodologia e aplicação

A imobilização de uma enzima (biocatalisador) é uma técnica bastante utilizada nos dias atuais como uma alternativa para aprimorar a performance do biocatalisador.⁷⁹ O processo de imobilização consiste no confinamento do biocatalisador em um suporte ou matriz. Polímeros e materiais inorgânicos são normalmente utilizados como suporte/matriz. Além de ser acessível, uma matriz/suporte deve englobar características como ser inerte, estável, durável, e se possível ser capaz de aumentar a especificidade/atividade da enzima.⁸⁰

Vários métodos são descritos para a imobilização de enzimas a um suporte, dentre os mais conhecidos temos o método de imobilização por adsorção, por ligação covalente, imobilização por *cross-linking* e imobilização por aprisionamento, **Figura**

---

⁷⁷ Turner, N. J. *Nature. Chemical. Biology*, **2009**, 5, 567-572.

⁷⁸ Tran, D. N.; Balkus, K. J. *Journal of American Chemical Society*, **2011**, 1, 956-968.

⁷⁹ Nisha, S.; Arun, K. S.; Goboi, N. *Chemical Science Review and Letters*, **2012**, 1, 148-155.

⁸⁰ Tischer, W.; Wedekind, F. *Topics in Current Chemistry*, **1999**, 200, 95-126.

5.⁸¹

Figura 5. Métodos de imobilização enzimática: a) Imobilização por adsorção; b) Imobilização por ligação covalente; c) Imobilização por *cross-linking*; d) Imobilização por aprisionamento.

O método de imobilização por adsorção consiste na ligação da enzima ao suporte/matriz por meio de forças denominadas mais fracas, como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, ligações iônicas e forças de Van der Waals. A imobilização por adsorção é considerado um método fácil/versátil e barato, já que não necessita de um preparado prévio do suporte e do biocatalisador.^{82,83}

A imobilização por ligação covalente consiste na ligação de grupos funcionais

⁸¹ Sheldon, R. A. *Advanced Synthesis and Catalysis*, **2007**, 349, 1289 – 1307

⁸² Brady, D.; Jordan, A. *Biotechnology Letters*, **2009**, 31, 1639- 1650.

⁸³ Tanyolac, D.; Yuruksoy, B. I.; Ozdural, A. R. *Biochemical Engineering Journal*, **1998**, 2, 179-186.

presentes nas cadeias laterais dos aminoácidos da enzima (arginina, ácido aspártico, histidina, lisina entre outros) com grupos funcionais presentes na superfície do suporte, via ligação covalente. A ligação covalente da enzima ao suporte é uma ligação forte e estável.^{80,84}

A imobilização por *cross-linking* ocorre pela formação de ligações cruzadas intermoleculares entre as enzimas por meio de reagentes bi- ou multifuncionais. O reagente mais utilizado neste caso é o glutaraldeído, uma vez que ele possui alta reatividade com os grupos aminas presente na estrutura lateral das enzimas e é de baixo custo.^{85,86}

O método de imobilização por aprisionamento consiste no encarceramento de enzimas por ligação covalente ou não covalente dentro de géis, cápsulas ou fibras. Estes suportes que contêm a enzima normalmente são permeáveis, o que permite que os substratos e os produtos passem sobre ele, mantendo a enzima aprisionada.⁸⁷

Devido à grande comercialização das enzimas, o fator econômico vem se tornando muito importante, assim como a reutilização do biocatalisador. A manutenção da estabilidade estrutural da enzima durante qualquer reação é algo altamente desafiador. Consequentemente, enzimas imobilizadas com eficiência funcional e reprodutibilidade melhorada são desejadas em um processo de imobilização.⁸⁸

Como mencionado anteriormente, um processo de imobilização necessita manter/aumentar a atividade catalítica do biomaterial. Nesta circunstância, materiais

---

⁸⁴ B.N. Brena, F. Batista-Viera, Immobilization of enzymes: a literature survey, in: J.M. Guisan (Ed.), *Methods in Biotechnology: Immobilization of Enzymes and Cells*, 2nd. ed., Humana Press Inc., New Jersey, **2006**.

⁸⁵ Sardar, M.; Gupta, M. N. *Enzyme Microbiology Technology*, **2005**, 37, 355–359.

⁸⁶ Mohamad, N. R.; Marzuki, N. H. C.; Buang, N. A.; Huyop, F.; Wahab, A. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, **2015**, 209, 205-220.

⁸⁷ Bernfeld, P.; Wan, J. *Science*, **1963**, 142, 678-679.

⁸⁸ Li, P.; Modica, J. A.; Howarth, A. J.; Vargas, E. L.; Moghadam, P. Z.; Snurr, R. Q.; Mrksich, M.; Hupp, J. T.; Farha, O. K. *Chem*, **2016**, 1, 154-169.

que provoquem a desnaturação da enzima e perda da atividade devem ser evitados.

Assim, nanopartículas metálicas se inserem como possíveis suportes para enzimas, já que são materiais inertes frente ao biocatalisador, além de serem suportes altamente rígidos e resistentes.⁸⁹

O uso destes nanomateriais bimetálicos como suporte de enzimas é algo bastante novo, não possuindo muitas referências na literatura, mas o uso de nanopartículas metálicas já foi bastante explorado como suporte de enzimas. Existem na literatura algumas revisões que mostram o uso de nanomateriais monometálicos como suporte de enzimas para diversos fins como, por exemplo, os estudos de Ahmad *et al.* (*Enzyme Immobilization: An Overview on Nanoparticles as Immobilization Matrix*)⁹⁰, Xu *et al.* (*Application of Iron Magnetic Nanoparticles in Protein Immobilization*)⁹¹, Hyeon *et al.* (*Design of nanoscale enzyme complexes based on various scaffolding materials for biomass conversion and immobilization*)⁹², Mohamad *et al.* (*An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes*)⁹³ e Kisukuri *et al.* (*Production of chiral compounds using immobilized cells as a source of biocatalysts*)⁹⁴.

Dentre os relatos incluindo NBs como suporte de enzimas podemos citar o exemplo onde nanopartículas bimetálicas de Fe/Au foram utilizadas como suporte de α -amilase para transformação de amido à maltose. O sistema bimetálico Fe/Au foi escolhido como suporte, porque o ferro é passível de recuperação via atração magnética e o ouro reveste a nanopartícula dando estabilidade e durabilidade ao suporte. Com as

---

⁸⁹ Luo, X.; Morrin, A.; Killard, A. J.; Smyth, M. R. *Electroanalysis*, **2006**, 18, 319 – 326.

⁹⁰ Ahmad, R.; Sadar, M. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, **2015**, 4, 1-8.

⁹¹ Xu, J.; Sun, J.; Wang, Y.; Sheng, J.; Wang, F.; Sun, M. *Molecules*, **2014**, 19, 11465-11486.

⁹² Hyeon, J. E.; Kyu, S.; Han, S. O. *Biotechnology Journal*, **2016**, 11, 1386–1396.

⁹³ Mohamad, N. R.; Marzuki, N. H. C.; Buang, N. B.; Huyop, F. Wahab, A. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **2015**, 29, 205220.

⁹⁴ Kisukuri, C. M.; Andrade, L. H. *Orgânic and Biomolecular Chemistry*, **2015**, 13, 10086-10107.

condições reacionais otimizadas o sistema contendo a α -amilase imobilizada pode ser reutilizado dez vezes mantendo 60% da atividade catalítica inicial.⁹⁵

Figura 6. Utilização de nanopartículas de Fe/Au como suporte de α -amilase.

Alguns estudos mostram que NBs podem ser utilizados como suporte de enzima para formação de eletrodos de detecção. Upadhyay *et al.* utilizaram NBs de Au/Pt contendo *Cholesterol Oxidase* e *Acetylcholinesterase* para montar um eletrodo para detecção organofosfatos. Estes compostos puderam ser identificados em escalas μM . A grande área superficial das nanopartículas possibilitou a imobilização de uma grande quantidade de enzima, o que viabilizou esta detecção tão sensível. Além disso, o eletrodo se mostrou altamente durável por ter sido fabricado utilizando metais nobres.⁹⁶

A determinação dos níveis de glicose é de grande interesse em muitas áreas como diagnósticos clínicos, pesquisas bio- e fisiológicas e indústrias alimentícias. Assim, métodos de detecção de glicose são extremamente importantes. Pensando nisto, Hossain *et al.* desenvolveram um eletrodo composto de óxido de grafeno contendo nanopartículas bimetálicas de Pt/Au com glucose oxidase (GOx) imobilizada. Neste eletrodo, a glucose oxidase promove a catálise da reação da glucose com O_2 levando à

⁹⁵ Singh, V.; Rakshit, K.; Rathee, S.; Angmo, S.; Kaushal, S.; Garg, P.; Chung, J. H.; Sandhir, R.; Sangwan, R. S.; Singhal, N. *Bioresource Technology*, **2016**, 214, 528–533.

⁹⁶ Upadhyay, S.; Sharma, M. K.; Rao, G. R.; Bhattacharya, B. K.; Rao, V. K.; Vijayaraghavan, R. *Analytical Methods*, **2011**, 3, 2246-2253.

formação do ácido glucônico e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é então detectado pelo eletrodo de grafeno levando à produção de água. As NBs de Pt/Au foram essenciais como suporte da GOx, uma vez que não houve a degradação desta parte do eletrodo pelo peróxido formado. Ao final, os autores apresentaram um eletrodo que funcionou eficientemente para detecção níveis baixos de glucose (0.01–8 mM).⁹⁷

Uma grande inovação de se imobilizar enzimas em nanopartículas metálicas ou nanopartículas bimetálicas é a formação de multi-catalisadores ou catalisadores híbridos. Visando esta característica, Filice *et al.* sintetizaram nanopartículas biohíbridas (enzima-metal). Neste estudo a CAL-B foi imobilizada em nanopartículas de AgPd via *cross-linking* para formar o bio-catalisador híbrido. Este catalisador foi utilizado para diversas reações, mas vale ressaltar que o exemplo mais interessante foi o seu uso como catalisador múltiplo em duas reações diferentes, hidrólise do 4-nitrofenil butirato catalisado pela enzima e redução da porção nitro catalisado pelas nanopartículas (**Esquema 13**).⁹⁸

Esquema 13. Utilização de catalisador composto por nanopartículas biohíbridas (enzima-metal) para hidrólise de ésteres e redução de nitro-compostos.

⁹⁷ Hossain, M. F.; Park, J. Y. *PLoS One*, **2017**, 12, 1-16.

⁹⁸ Filice, M.; Marciello, M.; Morales, M. P.; Palomo, J. M. *Chemical Communications*, **2013**, 49, 6876—6878.

Em estudos passados do nosso grupo de pesquisa, desenvolvemos um dos primeiros experimentos para imobilização de lipase de *Burkholderia cepacia* (BCL) e lipase de pâncreas de porco (PPL) em nanopartículas de Au/Ag via imobilização por ligação covalente. As lipases imobilizadas tiveram sua atividade testada frente à resolução cinética do (*R,S*)-1-(fenil)etanol com resultados de até 50% de conversão e excessos enantioméricos >99% (**Esquema 14**).⁹⁹

Esquema 14. AuAg-BCL como catalisador para resolução cinética do (*R,S*)-1-(fenil)etanol.

⁹⁹ Kisukuri, C. M.; Macedo, A.; Oliveira, C. C. S.; Camargo, P. H. C.; Andrade, L. H. *Langmuir*, **2013**, 29, 15974–15980.

2. OBJETIVOS

Utilizar nanopartículas bimetálicas (nanocascas bimetálicas) de AgAu, AgPd e AgPt como novos catalisadores em reações orgânicas e como suporte de enzimas para formação de um catalisador com dupla atividade.

2.1. Objetivos específicos:

2.1.1) Utilizar nanopartículas bimetálicas como catalisadores para oxidação de compostos de silício e produção de hidrogênio;

2.1.2) Utilizar nanopartículas bimetálicas como suporte de enzimas e formação de um catalisador metalo-enzimático com dupla atividade catalítica. Atividade metálica e enzimática;

2.1.3) Utilizar compostos de silício como fonte de hidrogênio para hidrogenação de compostos orgânicos, múltiplas reações em um sistema sequencial, catalisado por nanopartículas bimetálicas (*batch* e fluxo contínuo).

Resultados e Discussão

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Síntese de nanopartículas bimetálicas (NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt)

Na literatura, os métodos mais comuns aplicados na preparação de nanopartículas bimetálicas (NBs) são microemulsão, método de fotodeposição, radiólise, síntese verde, redução química entre outros.²

A redução química em meio aquoso é o método mais comum para preparação de nanopartículas bimetálicas e pode ser dividida em redução química simultânea ou redução química subsequente (**Figura 7**). O processo é baseado na transferência de elétrons (doador de elétrons) de um agente redutor aos íons metálicos (receptor de elétrons), seguido da/ou com a adição de um agente para estabilizar as nanopartículas. Neste método, o controle das nanopartículas pode ser feito principalmente via concentração dos reagentes e/ou dos agentes estabilizantes. Já o controle da estruturas das nanopartículas bimetálicas pode ser feito pela razão entre os precursores metálicos. Em geral, o método de redução química é fácil, barato e não requer equipamentos avançados.²

Figura 7. Possibilidade de métodos de redução química: 1a) Redução química Simultânea; 1b) Redução química subsequente.

A reação substituição galvânica (RSG) é um método de redução químico subsequente simples para preparar NBs com interiores ocos. A principal vantagem desse método é que o tamanho e composição da liga metálica são ajustáveis e que as partículas podem ser formadas em altas concentrações.¹⁰⁰

A RSG é basicamente um processo redox entre dois metais com potenciais de redução distintos. Neste processo ocorre oxidação do metal com baixo potencial de redução, modelo sacrifício, (que também é chamado de *template* ou *seed*) e a redução e deposição concomitante do outro metal com elevado potencial de redução na superfície

¹⁰⁰ Nasrabadi, H. T.; Abbasi, E.; Davaran, S.; Kouhi, M.; Akbarzadeh, A. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, **2016**, 44, 37 6–380.

do material oxidado.¹⁰¹

Em estudo recente, Park *et al.* investigaram a formação e o mecanismo de uma redução de substituição galvânica para formação de nanopartículas de Ag/Au. Estas nanopartículas foram analisadas em várias fases do seu processo de formação por técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de transmissão eletrônica (MET), microscopia de campo escuro (MCE), ressonância de plasma de superfície localizada (RPSL) e pelo método de simulação FDTD (*finite-difference time-domain*). O mecanismo da reação seguiu uma mudança típica na sua morfologia, em que o ouro (que está sendo reduzido) é inicialmente depositado na superfície do modelo sacrifício (nanopartícula de Ag), e com o passar do tempo começa a ocorrer a formação e crescimento de cavidades dentro da estrutura de prata com a deposição contínua dos átomos Au. A figura a seguir ilustra o processo e mecanismo para formação de Ag/Au (Figura 8).⁹⁷

Figura 8. Mecanismo e evolução para formação de nanopartículas bimetálicas de Ag/Au via reação de substituição galvânica: A) Mecanismo e evolução para formação de nanopartículas bimetálicas de Ag-Au; B) Imagens de MEV mostrando a evolução das etapas para formação de nanopartículas bimetálicas de Ag/Au .

¹⁰¹ Park, Y.; Lee, C.; Ryu, S.; Song, H. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2015**, 119,20125–2013.

Nanopartículas de Ag com formas e tamanhos definidos são comumente utilizadas como modelo de sacrifício para substituição galvânica devido ao seu baixo custo e facilidade de preparação.¹⁰²

Em nosso estudo, nanopartículas bimetálicas ocas de AgAu, AgPd e AgPt foram sintetizadas por meio do método de redução química subsequente via reação de substituição galvânica. Esses nanomateriais foram preparados por meio de um estudo em colaboração com o Prof. Dr. Pedro H. C. Camargo, do Instituto de Química da USP, responsável pelo laboratório GrAND (Grupo para o avanço no design de nanomateriais).

Nanopartículas esféricas de prata foram utilizadas como modelo de sacrifício. Elas foram preparadas por meio da redução do AgNO₃ pelo citrato de sódio (**Esquema 15**).

Esquema 15. Formação das nanopartículas bimetálicas de prata (modelo de sacrifício).

Para constatar a formação das nanopartículas de prata, foram feitas imagens de microscópio eletrônico de varredura (MEV) do material formado (**Figura 9**). Pelas imagens, constatamos a forma e o tamanho das nanopartículas (forma esférica e tamanho aproximado de ~40 nm).

---

¹⁰² Jing, H.; Wang, H. *Chemistry Materials*, **2015**, 27, 2172–2180.

Figura 9. Imagem de MEV das nanopartículas de Prata (modelo de sacrifício).

Depois de sintetizadas, as nanopartículas de Ag foram submetidas ao processo de substituição galvânica com os sais de AuCl_4^- (aq), PdCl_4^{2-} (aq) ou PtCl_6^{2-} (aq) em um processo de alta temperatura para formação das nanopartículas bimetálicas de AgAu, AgPd e AgPt. Essas NBs foram denominadas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt respectivamente, em que NSs representa nanocascas (do inglês *NanoShells*) seguido pela sigla do metal que a compõe. O esquema a seguir ilustra o mecanismo geral para formação destas nanopartículas bimetálicas, **Esquema 16**.

Esquema 16. Reação geral para substituição galvânica para formação de NSsAgAu,

NSsAgPd e NSsAgPt.

A caracterização desse material foi feita por meio de imagens de microscopia

eletrônica de varredura (MET) (Anexos: **A1-A6**) e microscopia eletrônica de transmissão (MET), além de análises de ICP-OES, UV-VIS e DRX.

Por meio das imagens de microscopia foram determinadas as características estruturais das nanopartículas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt. Todas as nanocascas bimetálicas apresentaram morfologia esférica e interior oco, evidenciado pela diferença de contraste apresentado pelas imagens de MET (**Figura 10**), assim como mostrado por Parl *et al.* na **Figura 8**. Além disso, foi possível demarcar os diâmetros das nanopartículas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt, 38 ± 2 , 39 ± 3 nm e 39 ± 3 nm respectivamente. O tamanho médio das nanopartículas está ilustrado nos histogramas da **Figura 10**. A espessura da parede das NBs também foi medida e corresponderam a 7 ± 1 , 6 ± 1 e 4 ± 1 nm para NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt, respectivamente.

Figura 10. Imagens de MET e histogramas para NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt. A barra na imagem ampliada equivale à escala de 10 nm.

O interior oco é uma excelente característica para um nanomaterial utilizado em catálise. Essa característica faz com que as nanopartículas apresentem grandes áreas superficiais, aumentando a área de catálise. Sun *et al.*, por exemplo, sintetizaram nanofios ocos de Au, Pd e Pt e, quando comparados com os análogos maciços, o material apresentou área superficial indiscutivelmente maior. Os nanofios ocos de Pd ainda foram utilizados como catalisadores em reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura, na qual apresentaram resultados superiores ao análogo maciço, com taxa de conversão maior por um determinado tempo de reação.¹⁰³

A porcentagem de Au, Pd e Pt presente nas nossas nanopartículas bimetálicas foi determinada por meio de análise de ICP-OES. Os valores apresentados foram de 18, 29 e 36% para NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt, respectivamente.

Nanopartículas têm propriedades ópticas que são sensíveis ao tamanho, forma, concentração, estado de aglomeração e índice de refração próximo à superfície das nanopartículas. Essas características tornam a análise por UV-VIS uma ferramenta valiosa para identificar e caracterizar estes materiais.¹⁰⁴

Nanopartículas de Ag, Au, Pd e Pt apresentam bandas de absorção UV-VIS em 410, 520, 280 e 260 nm, respectivamente.¹⁰⁵ Esses dados podem ter algumas variações de acordo com tamanho, forma e concentração do nanomaterial.

Em nossas análises, as NSsAgAu apresentaram uma absorção máxima no espectro de UV-VIS em 690 nm mostrando um deslocamento quando comparada às bandas de absorção tanto das nanopartículas de Ag quanto de Au. Essa mudança pode estar ligada às mudanças ópticas do material bimetalico, o que pode levar a

¹⁰³ Sun, Y.; Mayers, B.; Xia, Y. *Advanced Materials*, **2003**, 15, 641-646.

¹⁰⁴ <http://50.87.149.212/sites/default/files/nanoComposix%20Guidelines%20for%20UV-vis%20Analysis.pdf>, pesquisado em 27/04/2017.

¹⁰⁵ Datta, K. K. R.; Eswaramoorthy, M.; Rao, C. N. R. *Journal of Materials Chemistry*, **2007**, 17, 613-615.

características diferentes quando comparadas aos análogos monometálicos. Já as NBs de NSsAgPd e NSsAgPt apresentaram uma banda de absorção máxima similar aos análogos monometálicos de Pd e Pt, tendo a prata interferido pouco nas propriedades ópticas frente às análises de UV-VIS destas nanopartículas (**Figura 11**).

Figura 11. Análise de UV-VIS das nanopartículas das nanopartículas de Ag e as nanocascas NSsAgAu, NSsAgPd e NssAgPt.

Por meio da técnica de difração de raios X (DRX) pode-se obter informações sobre a estrutura cristalina do material. O DRX possibilita determinar o tamanho médio dos cristais em um material e, quando estes cristais têm tamanho na escala de nanômetros, o tamanho médio das partículas pode ser determinado pela equação de Scherrer.¹⁰⁶

¹⁰⁶ www.eq.ufrj.br/docentes/donato_web/arquivos/drx.ppt pesquisado em 28/04/2017.

Figura 12: Análise de DRX de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt.

A nossa análise dos espectros de DRX composta por picos estreitos confirmou a cristalinidade das nanopartículas bimetálicas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt. A **Figura 12** ilustra ainda um DRX padrão das nanopartículas de Ag com picos de difração (111), (200) e (220) e confirma a presença de Au, Pd e Pt nas nanopartículas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt mostrando os picos de difração (111), (200) e (220) das faces cúbicas centradas (FCC) do retículo de ouro, paládio e platina. Nossa análise, utilizando esta técnica, se restringiu apenas a estas informações, não se aprofundando em outras análises, uma vez que estávamos interessados em testar a atividade catalítica do nanomaterial.

3.2. Nanopartículas bimetálicas de NSsAgAu NSsAgPd e NSsAgPt como catalisadores para oxidação de hidrosilanos e formação de silanóis

A oxidação de hidrosilanos leva a formação de silanóis. Silanóis são compostos contendo o grupo Si-OH e estes são de grande importância para a síntese de materiais poliméricos a base de silício e para química orgânica em geral. Na síntese orgânica, silanóis podem ser utilizados como parceiros nucleofílicos junto com metais de transição para realizar reações catalisadas de acoplamento C-C, com organocatalisadores para ativação de compostos carbonílicos, como guia intramolecular para reações de ativação da ligação C-H, inibidores de enzimas e isómeros de feromônios.¹⁰⁷

Silanóis, de modo mais comum, podem ser preparados a partir de clorosilanos, hidrólise de hidrosilanos, substituição nucleofílica e oxidação, **Esquema 17**.¹⁰⁷ Mas a síntese desses compostos não é tão trivial, uma vez que outros compostos de silano são extensivamente formados durante o processo reacional (principalmente dímeros como disiloxanos) e resíduos ambientalmente prejudiciais.

Esquema 17. Métodos sintéticos para formação de silanóis.

¹⁰⁷ Jeon, M.; Han, J.; Park, J. *ACS Catalysis*, **2012**, 2, 1539–1549.

Nas últimas duas décadas, alguns estudos têm focado sua atenção para obtenção de silanóis baseados em diferentes metodologias, visando transformações mais limpas do ponto de vista sintético e ambiental.

Na literatura podemos encontrar casos em que é utilizado o potencial de catalisadores metálicos formados a partir de complexos de metais de transição, como Ni, Pd, Cr, Rh, Re, e Cu, para formação de silanóis a partir da oxidação do hidrosilano.¹⁰⁸

Por exemplo, em 1997 Schubert *et al.* utilizaram um catalisador à base de cobre ($[\text{Ph}_3\text{PCuH}]_6$) para oxidação de silanos a silanóis em solvente orgânico utilizando H_2O como oxidante (**Esquema 18**).¹⁰⁹ Apesar da reação ser limpa do ponto de vista sintético, comparando estes resultados com os que podem ser obtidos hoje, ela não apresentou bons rendimentos, além de ser necessário considerar seu alto tempo reacional e a formação de disiloxano.

Esquema 18. Oxidação de compostos de silano catalisado por $[\text{Ph}_3\text{PCuH}]_6$.

¹⁰⁸ (a) Sommer, L. H.; Lyons, J. E. *Journal of America Chemistry Society*, **1969**, 91, 7061; (b) Matarasso-Tchiroukhine, E. *Chemical Communication*, **1990**, 681, 1689-1695.; (c) Schubert, U.; Lorenz, C. *Inorganic Chemistry*, **1997**, 36, 1258-1267.

¹⁰⁹ Schubert, U.; Lorenz, C. *Inorganic Chemistry*, **1997**, 36, 1258-1259.

Já em 2002 Mori *et al.*, baseados na catálise homogênea de oxidação de silanos por rutênio, desenvolveram um catalisador de rutênio imobilizado em hidroxiapatita, que foi chamado de RuHAP, para oxidação de compostos de silano utilizando oxigênio molecular e água como oxidantes. O catalisador foi extremamente eficiente levando a conversão de diversos compostos de silano a silanol com conversões de até >99%, de uma forma ambientalmente segura (**Esquema 19**). Mas, como ponto negativo, temos o alto preço do catalisador. Ainda que ele possa ser reutilizado, seu alto custo pode inviabilizar o processo.¹¹⁰

Esquema 19. Oxidação de compostos de silano a silanóis utilizando como catalisador RuHAP.

Catalisador de irídio também foi utilizado para oxidação de hidrosilanos a silanóis. Lee *et al.* elucidaram a oxidação de compostos de hidrosilanos em condições

¹¹⁰ Mori, K.; Tano, M.; Mizugaki, T.; Ebitani, K.; Kaneda K. *New Journal of Chemistry*, **2002**, 26, 1536–1538.

suaves e neutras com $[\text{IrCl}(\text{C}_8\text{H}_{12})]_2$ como catalisador. Dezoito diferentes substratos de silano foram testados e rendimentos isolados de 42->99% foram alcançados, para formação do silanol.¹¹¹

Catalisadores à base de tungstênio também foram utilizados para oxidação seletiva e limpa de hidrosilanos a silanóis (**Esquema 20**). Entre as diferentes condições reacionais testadas (tempo reacional e solvente), o melhor resultado foi quando um rendimento de 94% foi alcançado com 86% de seletividade para formação do silanol.¹¹²

Esquema 20. Oxidação de compostos de silano a silanóis utilizando catalisador à base de tungstênio.

Outros exemplos mais recentes utilizando nitrato de prata¹¹³, Ródio¹¹⁴, Ouro e Platina¹¹⁵ foram encontrados. Na maioria dos exemplos citados acima esbarramos no problema do alto custo dos catalisadores, o que impede que estes processos sejam empregados em larga escala, por exemplo. Assim, fica claro que um obstáculo que ainda temos é a busca de um catalisador que possibilitem a produção limpa, rápida, barata, seletiva e em alta escala de silanóis.

¹¹¹ Lee, Y.; Seomoon, D.; Kim, S.; Han, H.; Chang, S.; Lee, P. H. *Journal Organic Chemistry*, **2004**, 69, 1741-1743.

¹¹² Ishimoto, R.; Kamata, K.; Mizuno, N. *Angewandte Chemie International Edition*, **2009**, 48, 8900–8904.

¹¹³ Teo, A. K. L.; Fan, W. Y. *RSC Advances*, **2014**, 4, 37645–37648.

¹¹⁴ Yu, M. Jing, H.; Liu, X.; Fu, X. *Organometallics*, **2015**, 34, 5754–5758.

¹¹⁵ Sawama, Y.; Masuda, M.; Yasukawa, N.; Nakatani, R.; Nishimura, S.; Shibata, K.; Yamada, T.; Monguchi, Y.; Suzuka, H.; Takagi, Y.; Sajiki, H. *Journal of Organic Chemistry*, **2016**, 81, 4190–4195.

A utilização de nanomateriais metálicos como catalisadores para oxidação de compostos de silano é algo mais recente e se desenvolveu com o emprego desses materiais como possíveis catalisadores e com o avanço no desenvolvimento de sua síntese. Além destes pontos, nanomateriais metálicos possuem a vantagem de serem extremamente duráveis e não produzirem resíduos tóxicos.

Em relatos na literatura, vimos que nanopartículas de prata já foram utilizados como catalisadores para esse tipo de reação de oxidação¹¹⁶. Foi demonstrado por Mitsudome *et al.* que nanopartículas de prata imobilizadas em hidroxiapatita apresentaram-se como bons catalisadores para conversão de silanos a silanóis em água (agente oxidante e solvente) (**Esquema 21**). Neste caso, tivemos o emprego de um catalisador barato e que pode ser reutilizado por até 4 vezes mantendo a atividade catalítica inicial e bons rendimentos. O único problema apresentado neste estudo foi, que com o passar do tempo, a alta eficiência do catalisador levou à formação dos dímeros (disiloxanos).¹¹⁷

---

¹¹⁶ Dong, X.; Gao, Z.; Yang, K.; Zhang, W.; Xu, L. *Catalysis Science and Technology*, **2015**, 5, 2554-2574.

¹¹⁷ Mitsudome, T.; Arita, S.; Mori, H.; Mizugaki, T.; Jitsukawa, K.; Kaneda, K. *Angewandte Chemie International Edition*, **2008**, 47, 7938 –7940.

Esquema 21. Oxidação de hidrosilanos utilizando nanopartículas de prata imobilizadas em hidroxiapatitas como catalisador.

Mitsudome *et al.* relataram ainda outros estudos em que utilizam nanopartículas de Au como catalisadores para formação de silanóis.^{118,119,120}

Já Gitis *et al.*, utilizaram nanopartículas de ouro de diâmetro entre 6-18 nm como catalisadores em meio aquoso para oxidação de compostos de silano. A formação do dímero foi evidenciada, mas eles conseguiram bons resultados frente à oxidação de 5 hidrosilanos em duas horas de reação à temperatura ambiente, 80-90% conv. Um dos pontos importantes levantados nesse estudo é o mecanismo reacional. Nele, é proposto

¹¹⁸ Urayama, T.; Mitsudome, T.; Maeno, Z.; Mizugaki, T.; Jitsukawa, K.; Kaneda, K. *The Chemical Society of Japan*, **2015**, *44*, 1062–1064.

¹¹⁹ Mitsudome, T.; Noujima, A.; Mizugaki, T.; Jitsukawa, K.; Kaneda, K. *Chemical Communication*, **2009**, *10*, 5302–5304.

¹²⁰ Mitsudome, T.; Urayama, T.; Maeno, Z.; Mizugaki, T.; Jitsukawa, K.; Kaneda, K. *Chemistry A European Journal Communication*, **2015**, *21*, 3202 – 3205.

que a reação comece com a inserção da ligação Si-H na nanopartícula de Au para gerar o hidreto de sililo-metal. O intermediário de hidreto de sililo-metal é posteriormente atacado por um nucleófilo derivado da água para gerar o silanol.

Com intuito de criar um catalisador que pudesse ser reutilizado diversas vezes durante o processo de oxidação de silanos a silanóis, John *et al.* criaram um nanohíbrido compostos por nanotubos de carbono contendo nanopartículas de ouro imobilizadas (AuCNT).¹²² Dez diferentes hidrosilanos foram testados e conversões entre 93 - >99% foram alcançadas. As reações foram realizadas em diferentes tempos (15-240 min.) monitoradas pela formação máxima do silanol e começo da formação do disiloxano. Sobre o estudo do reciclo do catalisador, ele foi reutilizado 5 vezes apresentando pequenas variações de conversão quando comparado com o valor de conversão da primeira reação (**Figura 13**). Estes resultados de reuso do catalisador reforçam a ideia de durabilidade das nanopartículas metálicas no meio reacional e sua capacidade em manter o seu poder catalítico.

---

¹²² John, J.; Gravel, E.; Hagège, A.; Li, H.; Gacoin, T.; Doris, E. *Angewandte Chemie International Edition*, **2011**, **50**, 7533–7536.

Figura 13. Reciclo de AuCNT para oxidação de silanos a silanóis.

Quando falamos dos grandes inovadores do uso de nanomateriais metálicos como catalisadores para oxidação de compostos de silano a silanol não podemos deixar de citar os trabalhos desenvolvidos e coordenados por Yamamoto *et al.* Em seu grupo de pesquisa no Japão, Yamamoto desenvolveu entre 2010 e 2015 diversos trabalhos utilizando nanoporos de Au como catalisadores para oxidação de compostos de silano (**Figura 14**).^{123,124,125}

¹²³ Asao, N.; Ishikawa, Y.; Hatakeyama, N.; Menggenbateer, Yamamoto, Y.; Chen, M.; Zhang, W.; Inoue, A. *Angewandte Chemie International Edition*, **2010**, 49, 10093–10095.

¹²⁴ Takale, B. S.; Bao, M.; Yamamoto, Y. *Organic and Biomolecular Chemistry*, **2014**, 12, 2005–2027.

¹²⁵ Takeshi, F.; Pengfei, P.; McKenna, K.; Xingyou, L.; Hirata, A.; Zhang, L.; Tokunaga, T.; Arai, S.; Yamamoto, Y.; Tanaka, N.; Ishikawa, Y.; Asao, N.; Yamamoto, Y.; Erlebacher, J.; Chen, M. *Nature Materials*, **2012**, 11, 775–780.

Figura 14. Utilização de nanoporos de ouro para oxidação de compostos de silano.

Yamamoto demonstrou em seus experimentos o que Gitis suspeitava, o H_2O possui um grande papel na oxidação de silanos catalisada por nanomateriais metálicos. Em reações realizadas com o isotópico H_2O^{18} o silanol, contendo o isótopo ^{18}O , ($-SiO^{18}H$) foi formado com 99% de seletividade. Estes experimentos sugerem que o oxigênio incorporado no silanol é derivado da água, **Esquema 22**.¹¹⁹

Esquema 22. Oxidação de silano utilizando H_2O^{18} catalisado por nanoporos de ouro.

Como uma alternativa não tão barata quando ouro, nanopartículas de paládio foram utilizadas como catalisadores para oxidação de silanos a silanóis por Shimizu *et al.*^{126,127} Apesar deste material possuir alto custo, os resultados adquiridos foram

¹²⁶ Kamachi, T.; Shimizu K.; Yoshihiro, D.; Igawa, K.; Tomooka, K.; Yoshizawa, K. *The journal Physical Chemistry C*, **2013**, 117, 22967–22973.

bastante promissores, mostrando-se o paládio um ótimo catalisador para este tipo de reação.

Buscando ser inovadores como os autores citados anteriormente, nós então, propusemos em nossos estudos o uso de nanopartículas bimetálicas (NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt) como catalisadores para oxidação de diversos compostos de silano (**Esquema 23**).

Esquema 23. Oxidação de compostos de silano utilizando NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt como catalisadores.

Nos relatos da literatura não há citações do uso de materiais bimetálicos como catalisadores para tal reação, além dos análogos nanometálicos citados anteriormente. Além disso, procurávamos ainda explorar o potencial do sinergismo desses materiais para tal reação.

Assim, inicialmente o dimetil(fenil)silano (**1a**) foi escolhido como substrato modelo para testar a atividade catalítica das nossas NBs para formação do silanol. Baseados nos trabalhos de Yamamoto, a acetona foi escolhida como solvente para o teste inicial e uma solução de acetona/água (10:1, 1 mL) foi então feita, foram ainda utilizados 5 mol% do catalisador e 0,025 mmol do dimetil(fenil)silano (**1a**) (**Esquema 24**).

¹²⁷ Shimizu, K.; Kubo, T.; Satsuma, A. *Chemistry A European Journal*, **2012**, 18, 2226 – 2229.

Esquema 24. Oxidação do dimetil(fenil)silano **1a** utilizando NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt como catalisadores.

Uma análise rápida de CG-EM permitiu concluir que tivemos >99% de conversão do substrato **1a**, com >99% de seletividade para formação do silanol **2a**, quando as nanopartículas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt foram utilizadas como catalisadores, além da formação de H₂ que foi liberado durante o processo, em uma reação de 1h.

Animados com estes primeiros resultados, outros parâmetros reacionais, como quantidade do catalisador e solvente reacional, foram testados. Cinco diferentes solventes, além da acetona, foram testados (tolueno, TMBE, glicerol, água, THF), utilizando 5 mol% dos catalisadores, em reações realizadas a temperatura e atmosfera ambiente, em acetona/água (10:1). A quantidade do catalisador também foi alternada de 5 para 1 mol% e 10 mol% (**Tabela 1**).

Sobre a quantidade de catalisador, quando 1 mol% do catalisador foi utilizado (**Tabela 1**, **Entrada 10**) tivemos um decréscimo da conversão para 64%. Já o aumento da quantidade para 10 mol% foi irrelevante, já que 5 mol% foram suficientes para conversão total da mesma quantidade de dimetil(fenil)silano (**1a**) utilizada nas reações demonstradas nas **Entradas 2, 9 e 16** da **Tabela 1**.

Tabela 1. Oxidação de compostos do dimetil(fenil)silano **1a** utilizando NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt como catalisadores.^[a]

C[Si](C)(c1ccccc1)O + H₂O $\xrightarrow[\text{Solvente, t.a., 1h}]{\text{Nanopartículas Bimetálicas}}$ C[Si](C)(c1ccccc1)O + H₂↑

1a 2a

Entrada	Nanopartículas Bimetálicas ^[b]	Solvente	Conv. de 2a (%) ^[c]
1		Acetona	>99%
2		Acetona	>99% ^[d]
3		MTBE	- ^[e]
4	NSsAgAu	Tolueno	- ^[e]
5		H ₂ O	91
6		Glicerol	73
7		THF	11
8		Acetona	>99%
9		Acetona	>99% ^[d]
10		Acetona	64% ^[f]
11	NSsAgPd	MTBE	29
12		Tolueno	2
13		H ₂ O	97
14		Glicerol	57
15		THF	95
16		Acetona	>99%
17		Acetona	>99% ^[d]
18		MTBE	27
19	NSsAgPt	Tolueno	25
20		H ₂ O	98
21		Glicerol	85
22		THF	>99%

^[a] Condições Reacionais: Dimetil(fenil)silano **1a** (0,025 mmol), H₂O (100 µL), solvente (1 mL), t.a. em 1 h. ^[b] 5 mol % do catalisador (para o calculo da quantidade do catalisador foi levado em consideração a porcentagem de Au, Pt e Pd presente nas nanopartículas). ^[c] As conversões foram calculadas com base nos dados de CG-EM e CG-DIC. ^[d] 10 mol% do catalisador (para o cálculo da quantidade do catalisador foi levada em consideração a porcentagem de Au, Pt e Pd presente nas nanopartículas). ^[e] O reagente foi totalmente recuperado ao final da reação. ^[f] 1 mol% do catalisador (para o cálculo da quantidade do catalisador foi levada em consideração a porcentagem de Au, Pt e Pd presente nas nanopartículas).

O solvente é importante quando se realizam reações contendo nanopartículas metálicas. Dependendo do solvente utilizado, a estabilidade e aglomeração do nanomaterial podem ser influenciadas. Isto ocorre pois se influencia na estabilização hidrofóbica das nanopartículas bimetálicas.¹²⁸

Pelo resultado apresentado anteriormente (**Tabela 1**), vimos que os melhores solventes reacionais para oxidação do silano **1a** foram H₂O e Acetona, que quando utilizados como solvente reacional apresentaram conversões entre 91-97% e >99% respectivamente (**Tabela 1, Entradas 1, 5, 8, 12, 15 e 19**), quando NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt foram utilizadas como catalisadores. O H₂O seria um ótimo solvente, o que evitaria o uso de solventes orgânicos na reação, mas a utilização de H₂O como solvente confronta com a solubilidade de certos silanos em água. O próprio dimetil(fenil)silano (**1a**) não é miscível em água, e, como já pretendíamos testar outros silanos nesta reação de oxidação, a água foi descartada como principal solvente reacional.

Vale relembrar que, como mencionado nos estudos citados por Yamamoto, a água possui um papel bastante importante nesta reação, atuando como agente oxidante. Assim a acetona, entra como excelente solvente reacional já que apresenta miscibilidade com água.

Nos experimentos realizados utilizando tolueno e MTBE, conversões de 0-25% e 0-29% foram alcançadas respectivamente (**Tabela 1, Entradas 3, 4, 10, 11, 17 e 18**). Neles, tivemos a formação de duas fases, já que estes solventes não são miscíveis em água. Com a formação destas duas fases (orgânica e aquosa), não tivemos a dispersão dos componentes reacionais homogeneamente na reação. As nanopartículas metálicas

---

¹²⁸ Nath, S.; Jana, S.; Pradhan, M.; Pal, T. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2010**, *341*, 333–352.

¹²⁹ Nath, S.; Jana, S.; Pradhan, M.; Pal, T. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2010**, *341*, 333–352.

ficaram contidas no meio aquoso, enquanto os reagentes ficaram contidos no meio orgânico. Este fato pode explicar a queda na conversão para a formação do silanol (**2a**), quando comparado com o resultado obtido utilizando acetona como solvente. Portanto, pelos argumentos e resultados dos experimentos obtidos, a acetona foi mantida como solvente reacional para oxidação de hidrosilanos.

Quando utilizamos nanomateriais compostos de dois diferentes metais, como catalisadores, em reações orgânicas, também temos o apelo sobre o custo do catalisador. Foi com este intuito que adotamos nanopartículas de prata como metal de sacrifício para formação das NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt. Além disso, nosso apelo para escolha destes nanomateriais foi a durabilidade que eles possuem, podendo ser reutilizados diversas vezes, pois apresentam alta resistência. Assim, nosso próximo passo foi realizar o estudo de reciclagem dos catalisadores para a reação de oxidação do silanol **1a**.

Realizamos o reuso dos nanocatalisadores (NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt) por dez ciclos utilizando as mesmas condições reacionais citadas no **Esquema 24 (Figura 15)**. No primeiro ciclo de reuso, a conversão de **1a** para formação de **2a** foi de >99, 65 e 63% para quando os catalisadores de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt foram utilizados, respectivamente. Quando as nanopartículas de NSsAgAu foram reutilizadas por mais 9 ciclos, observamos a queda brusca da atividade catalítica até o último ciclo, apresentando uma média de conversão de 10%. O mesmo comportamento foi observado quando as nanopartículas de NSsAgPt foram utilizadas como catalisadores por mais nove ciclos, apresentando uma média de conversão de aproximadamente 50%. Apesar da primeira reação de reuso utilizando nanopartículas de NSsAgPd ter apresentada um decréscimo de conversão de >99% para 65% nos ciclos de reuso seguintes, observamos resultados diferentes daqueles observados para quando NSsAgAu e NSsAgPt foram

reutilizados como catalisadores. Vimos que com o passar dos ciclos houve a recuperação da atividade catalítica, sendo que no quinto ciclo a atividade catalítica foi quase que completamente recuperada, apresentando 98% de conversão para formação do silanol (**2a**).

Figura15. Estudo do Reciclo dos catalisadores: Oxidação do dimetil(fenil)silanol **1a** em acetone, 1h, t.a.: A- NssAgAu; B- NSsAgPd; C- NSsAgPt.

Intrigados com os resultados apresentados, os experimentos foram repetidos por mais 3 vezes e os mesmos resultados foram observados: variações bruscas de conversão. Assim, para decréscimo e variações tão bruscas da conversão, passamos a cogitar outro argumento que não erro experimental, como por exemplo, o envenenamento do catalisador pelo produto **2a** formado.

Tipicamente, catalisadores heterogêneos, assim como nanopartículas bimetalicas, são compostos de partículas menores ativas dispersas no nanomaterial. Em muitos casos, presume-se que as reatividades únicas de tais superfícies surgem da presença simultânea de diferentes locais ativos.¹³⁰ Assim, a perda ou desativação destes sítios leva à perda da atividade catalítica.

Problemas assim foram enfrentados por König *et al.* quando nanopartículas bimetalicas de Pt/Bi e Pt/Pb foram utilizadas como catalisadores para oxidação eletroquímica do ácido fórmico. Um dos produtos formados nesta reação, CO, liga-se fortemente a estes catalisadores envenenando-os e assim diminuindo sua capacidade catalítica e a taxa de conversão da reação (**Esquema 25**).¹³¹

---

¹³⁰ Schuermann, S.; Hoffmann, J.; Johánek, V.; Hartmann, J.; Libuda, J.; Freund, H. *Angewandte Chemie International Edition*, **2002**, *41*, 2532-2535.

¹³¹ König, R. Y. G.; Schwarze, M.; Schomacker, R.; Stubenrauch, C. *Catalysts*, **2014**, *4*, 256-275.

Esquema 25. Oxidação do ácido fórmico catalisado por nanopartículas bimetálicas e envenenamento do catalisador bimetálico.

Para comprovar o possível envenenamento dos nossos catalisadores pelo silanol **2^a**, nós realizamos o seguinte experimento (**Esquema 25**). As nanopartículas de NSsAgAu e NSsAgPt foram adicionadas a uma solução do silanol (**2a**) e agitadas a temperatura ambiente por uma hora. Depois de transcorrido esse tempo, essas nanopartículas foram lavadas e utilizadas como catalisadores pra oxidação do silano **1a**, como demonstrado no **Esquema 26**.

Esquema 26. Teste do envenenamento dos catalisadores bimetálicos de NSsAgAu e NSsAgPt.

Utilizando as nanopartículas bimetálicas “envenenadas”, como catalisadores, apenas traços do silanol (**1a**) foram obtidos, o que comprova o envenenamento da nanopartícula pelo silanol **2a** formado (os cromatogramas destas reações estão anexados **A24** e **A25**). A variação da conversão e recuperação da atividade catalítica evidenciada no estudo do reciclo (**Figura 15**) pode ser explicada pelo desprendimento dos silanóis presentes na superfície dos nanocatalisadores durante os processos de lavagem e reuso, o que pode levar a maior/menor disponibilidade de sítios catalíticos na superfície da nanopartícula.

É importante destacar que a integridade dos catalisadores foi estudada ao final do processo de oxidação. Depois do décimo ciclo de reuso, as nanopartículas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt foram separadas, lavadas e analisadas por imagens de

MEV (Anexos: **A15-A17**). Pelas imagens, constatamos a durabilidade do nosso material, tendo as nanopartículas bimetálicas se mantido intactas.

Como as nanopartículas de NSsAgPd sofrem menor influência do envenenamento pelo silanol **2a**, em nossas próximas etapas de estudo, em que o estudo cinético para conversão de **1a** e a ampliação do escopo reacional (adição de mais 9 diferentes hidrosilanos frente reação de oxidação), somente elas foram utilizadas como catalisadores.

No estudo cinético a taxa de conversão do silano **1a** ao silanol **2a** foi monitorada por um determinado tempo, a cada 10 minutos (**Figura 16**), e os cromatogramas obtidos neste estudo encontram-se anexados (**Anexos: A18-A23**). Observando os resultados presentes na **Figura 16**, vimos que com 10 minutos de reação o substrato **1a** apresentou 36% de conversão, sendo que com 20 minutos de reação este valor quase dobra (64% conv.). Já com 40 minutos de reação, quase todo silano foi convertido ao respectivo silanol **2a** com 98% de conversão e seletividade >99%. Aos 50 minutos a reação se completa com total conversão do substrato **1a** e seletividade >99%.

O estudo cinético é de grande importância para obter a informação correta do tempo de conversão do silano ao silanol, e isso é imprescindível para a seletividade da reação. Se, terminada a reação de oxidação do silano ao silanol, a reação continuar contendo o catalisador e os produtos formados em um mesmo meio reacional, pode-se ter a formação do dímero disiloxano, levando conseqüentemente à perda de seletividade.

Figura 16. Estudo cinético para conversão do dimetil(fenil)silano **1a** catalisado por NSsAgPd.

Com os dados obtidos no estudo cinético foi possível fazer o cálculo do TOF para oxidação do silano **1a** (**Tabela 2**). O TOF (*turnover frequency*) é definido como o número de moléculas que reagem em cada sítio ativo do metal por tempo.¹³² O valor encontrado para nossos experimentos (**Tabela 2, Entradas 1 e 2**) foi comparado com outros experimentos utilizando nanopartículas de Ag e Pd sólidas para oxidação do silano **1a**. Nossos resultados de TOF se mostraram superiores aos reportados na literatura, demonstrando que NSsAgPd são excelentes catalisadores quando comparados aos análogos monometálicos já reportados.

¹³² Stowell C. A.; Korgel A., *Nano Letters*, **2005**, 5, 1203-1211.

Tabela 2. Oxidação do dimetil(fenil)silano **1a** utilizando NSsAgPd e outros catalisadores reportados na literatura.^[a]

Catalisador	Pd (mol %)	Ag (mol %)	Solvente	Tempo (h)	Conv. 1a (%)	TOF (h ⁻¹)	Ref.
NSsAgPd	5	-	Acetona	1	>99	20,00	Este trabalho
NSsAgPd	-	5	Acetona	1	>99	20,00	Este trabalho
Np-Ag	-	10	DMSO	1	>99	10.78	Ref. ¹³³
Np-Pd	28,3	-	THF	1	>99	1,17	Ref. ¹³⁴

^[a] Condições reacionais: Dimetil(fenil)silano (0,025 mmol), acetona/água (10:1, 1 mL), t.a., 800 rpm. Por 1 h. ^[b] TOF: Mols do substrato/mols do metal x tempo (h).

Para o estudo do aumento do escopo reacional, foram selecionamos os hidrosilanos **1a-j**, para serem oxidados, sendo que 7 deles (**1b-h**) foram previamente sintetizados e caracterizados.

Utilizando 5 mol% de NSsAgPd, 0,025 mmol do substrato (**1a-j**) em uma mistura acetona/água (10:1, 1 mL) à temperatura ambiente, os hidrosilanos **1a-j** foram oxidados aos respectivos silanóis (**2a-j**) (**Esquema 27**).

¹³³ Li, Z.; Zhang, C.; Tian, J.; Chang, Z.; Zhang, X.; Ding, Y. *Catalysis Communication*, **2014**, 53, 53-56.

¹³⁴ Li, Z.; Lin, S.; Ji, L.; Zhang, Z.; Zhang, X.; Ding, Y. *Catalysis Science and Technology*. **2014**, 4, 1734-1737.

Esquema 27. Oxidação de hidrosilanos catalisado por nanopartículas bimetálicas de NSsAgPd.

Silanos arílicos (**1a-d**) mostraram-se os substratos mais reativos frente à reação de oxidação utilizando NSsAgPd como catalisador. Em uma hora de reação esses silanos foram totalmente convertidos a silanóis (**2a-d**). Por outro lado, quando silanos benzílicos (**1e-j**) foram utilizados como substratos, observou-se a diminuição da conversão (43-76%). A conversão dos compostos **1h** e **1i** aos compostos **2h** e **2i** foi

alcançada com 72% e >99%, respectivamente, depois de 24 horas de reação. Já o silano acíclico (**1j**) em 24h de reação foi totalmente convertido ao produto oxidado (**2j**). Assim, baseados nestes resultados, nós sugerimos que fatores estéricos e eletrônicos (como efeito indutivo) influenciam na reatividade do átomo de silício frente a reações de oxidação. Também concluímos que independente do substrato de silano empregado, as nanopátículas NSsAgPd mostraram-se excelentes catalisadores frente à reação de oxidação destes silanos (**1a-j**).

Todos os silanóis (**2a-j**) formados foram caracterizados por dados de RMN de ^1H e ^{13}C (Anexos: **A42-A61**).

Há relatos na literatura de que ao se trocar o H_2O presente na reação de oxidação de silanos por um álcool pode-se ter a formação de um alcóxi-silanos.^{135,136,137} Foi o que demonstrou Dhakshinamoorthy *et al.* ao substituir a água por álcoois como *n*-butanol, metanol, etanol e 2-propanol. Dhakshinamoorthy conseguiu conversões entre 88->99% para formação de alcóxi-silanos, **Esquema 28**.¹³⁸

Esquema 28. Oxidação do dimetil(fenil)silano utilizando álcoois, uma reação catalisada por $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$.

¹³⁵ Blackwell, J. M.; Sonmor, E. R.; Scoccitti, T.; Piers, W. E. *Organic Letters*, **2000**, 2, 3921-3923.

¹³⁶ Li, Z.; Lin, S.; Ji, L.; Zhang, Z.; Zhang, X.; Ding, Y. *Catalysis Science and Technology*, **2014**, 4, 1734 – 1737.

¹³⁷ Hara, K.; Akiyama, R.; Takakusagi, S.; Uosaki, K.; Yoshino, T.; Kagi, H.; Sawamura, M. *Angewandte Chemie - International Edition*, **2008**, 47, 5627 – 5630.

¹³⁸ Dhakshinamoorthy, A.; Concepcion, P.; Garcia, H. *Chemical Communications*, **2016**, 52, 2725-2728.

No nosso caso, decidimos substituir o H₂O por alcóois secos como metanol, etanol, *n*-propanol e *n*-butano, e testar a formação de alcóxi-silanos catalisados pelas nanopartículas bimetálicas (**Tabela 3**).

Tabela 3. Oxidação do dimetil(fenil)silano **1a** com alcóois utilizando NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt como catalisadores.^[a]

Entradas	Álcool (H-OR)	NBs ^[b]	Tempo (h)	Conv. 2a(%) ^[c]
1		NSsAgAu	1	72
2	Metanol	NSsAgPd	1	42
3		NSsAgPt	1	40
4	Etanol		1	71
5	<i>n</i> -Propanol		1	71
6	<i>n</i> -Butanol		1	15
7	Metanol	NSsAgAu	4	71
8	Etanol		4	70
9	<i>n</i> -Propanol		4	71
10	<i>n</i> -Butanol		4	20

^[a] Condições Reacionais: **1a** (0,025 mmol), Alcool correspondente (1 mL), t.a., 1 h em 800 rpm.

^[b] 5 mol % do catalisador (para o cálculo da quantidade do catalisador foi levado em consideração a porcentagem de Au, Pt e Pd presente nas nanopartículas). ^[c] As conversões foram calculadas com base nos dados de CG-EM e CG-DIC. ^[d]

Os resultados mostram que a formação de alcóxi-silanos é possível quando nossas NBs são utilizadas como catalisadores. Com uma hora de reação 40-72% de conv. foram obtidos para a oxidação do silano **1a** utilizando o metanol como agente oxidante e os três diferentes tipos de nanopartículas bimetálicas como catalisadores (**Tabela 3, Entradas 1-3**). Nestes resultados, a NSsAgAu se mostrou o melhor

catalisador para esta oxidação, alcançando 72% de conv. para produto oxidado (**Tabela 3, Entrada 1**). Assim, para o teste de outros alcóois como agente oxidante, somente ela foi utilizada como catalisador (**Tabela 3, Entradas 4-6**), para uma reação de uma hora. Nestes casos, conversões entre 15-71% foram alcançadas. Tentando melhorar a taxa de conversão, o tempo reacional destas reações foram estendido para 4 horas (**Tabela 3, Entradas 7-9**), mas resultados semelhantes aos da reação com tempo reacional de 1h foram alcançados, 20-71% conv. Os resultados desta última parte mostram que nossas NBs podem também ser utilizadas como catalisadores para formação de alcóxi-silanos.

3.3. Estudo do Mecanismo reacional para oxidação de silanos catalisador por NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt

Um estudo mecanístico envolvendo a oxidação do silano catalisada pelas nanopartículas bimetálicas foi desenvolvido com intuito de esclarecer o processo de funcionamento das reações de oxidação. Todos os nossos catalisadores (NSsAgAu, NSsAgPt e NSsAgPd) foram colocados para reagir com o silano **1a** na presença e/ou ausência de O₂ e os resultados podem ser vistos na **Tabela 4**. Quando a água não foi empregada na reação de oxidação (**Tabela 4, Entradas 7-12**) nenhuma conversão ou apenas traços da formação do produto oxidado foram observados. Quando os experimentos com NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt foram realizados na ausência de O₂ e presença de água, foram observadas conversões de >99%, 64% e 42% para oxidação do silano **1a**, respectivamente (**Tabela 4, Entradas 4-6**). Contudo, em ambas as reações catalisadas por NSsAgPt e NSsAgPd na presença O₂ e água, obtivemos rendimentos qualitativos superiores a 99% conversão (**Tabela 4, Entradas 2 e 3**), assim como quando o NSsAgAu foi utilizado como catalisador (**Tabela 4, Entrada 1**). Quando

essas reações foram realizadas sem a presença de O₂ e água, nenhuma conversão foi observada (**Tabela 4, Entradas 10-11**). Estes resultados sugerem que a água é o principal agente oxidante, mas também podemos sugerir que O₂ contribui para a reação de oxidação, pelo menos nos casos em que NSsAgPt e NSsAgPd são utilizados como catalisadores. O oxigênio (O₂), por exemplo, pode reagir com um hidrogênio formado na superfície das nanocascas levando à formação de H₂O₂, que pode auxiliar na reação de oxidação. Ou o H₂O₂ formado na superfície pode-se decompor levando a “limpeza” do sítio catalítico.

Tabela 4. Oxidação do dimetil(fenil)silano **1a** catalisado por NSsAgPd na presença ou ausência de H₂O e O₂ ^[a]

Entrada	Catalisador ^[b]	H ₂ O	O ₂	Conv. 2a (%) ^[c]
1	AgAu NSs	100 µL	1 atm	>99%
2	AgPd NSs	100 µL	1 atm	>99%
3	AgPt NSs	100 µL	1 atm	>99%
4	AgAu NSs	100 µL	-	>99%
5	AgPd NSs	100 µL	-	64
6	AgPt NSs	100 µL	-	42
7	AgAu NSs	-	1 atm	.. ^[d]
8	AgPd NSs	-	1 atm	traços
9	AgPt NSs	-	1 atm	15
10	AgAu NSs	-	-	.. ^[d]
11	AgPd NSs	-	-	.. ^[d]
12	AgPt NSs	-	-	.. ^[d]

^[a] Condições reacionais: Dimetil(fenil)silano **1a** (0,025 mmol), NSs (5 mol%) em acetona/água (10:1, 1 mL), atmosfera de nitrogênio, temperatura ambiente por 1h. ^[b] 5 mol % do catalisador (para o cálculo da quantidade do catalisador foi levado em consideração a porcentagem de Au, Pt e Pd presente nas nanopartículas). ^[c] As conversões foram calculadas com base nos dados de CGMS. ^[d] O reagente foi totalmente recuperado ao final da reação.

Com base nos resultados obtidos e levando em conta algumas informações da literatura, uma proposta mecanística pode ser sugerida, **Figura 17**. De acordo com a

figura abaixo, sugerimos que a reação comece pela absorção do silano na superfície da nanopartícula para gerar o intermediário hidreto de sililo-metal, bem como sugerido por Gitis *et al.*¹¹⁷ O intermediário 1 sofre então um ataque nucleofílico do H_2O levando à formação do (dimetil(fenyl)silil)oxônio. Em seguida, o (dimetil(fenyl)silil)oxônio perde um próton para o hidreto contido na nanopartícula, o que leva à formação do silanol, gás hidrogênio e recomposição do catalisador.

Figura 17. Proposta mecanística para oxidação do silano e produção de hidrogênio catalisada pelas nanocascas bimetálicas.

3.4. Formação de Catalisadores Metalo-enzimáticos

Enzimas ou biocatalisadores são compostos de cadeias laterais de aminoácidos que possuem em sua estrutura superficial grupos funcionais, tais como $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ e $-\text{SH}$.

SH, que podem ligar-se a metais via adsorção.¹³⁹ Esta característica faz com que esse tipo de material possa ser utilizado como suporte de enzimas e têm sido utilizadas para obter biocatalisadores mais estáveis e rígidos e que podem ser utilizados e reutilizados em reações orgânicas.

Propusemos formar, nesta parte do trabalho, um catalisador metalo-enzimático (CME) que apresentasse dupla atividade catalítica (atividade enzimática e atividade catalítica dos metais das NBs), **Esquema 29**.

a) Atividade catalítica do metal:

b) Atividade enzimática: **catalisador metalo-enzimático**

Esquema 29: Aplicação das NBs na preparação de catalisadores metalo-enzimáticos.

Nosso primeiro objetivo foi desenvolver um sistema em que o silano fosse oxidado a silanol, catalisado pelo CME e depois, com adição de um agente acilante o silanol produzido fosse acetilado em um processo de reação sequencial, **Esquema 30**.

¹³⁹ Filice, M.; Marciello, M.; Morales, M. P.; Palomo, J. M. *Chemical Communications*, **2013**, 49, 6876—6878.

Esquema 30. Utilização do CME para oxidação de silanos e acetilação de silanol em uma reação sequencial.

Reações sequências são conduzidas no mesmo balão, é um dos métodos que podem ser utilizados para conduzir a síntese de uma forma mais limpa ou verde. Este tipo de sistema reacional esta ligado ao conceito de química verde devido à redução de operações e passos de purificação, quando comparado a uma abordagem tradicional. Nas reações que requerem um catalisador é possível combinar vários processos catalíticos no mesmo recipiente de reação, por exemplo, e assim economizar solvente e tempo reacional.¹⁴⁰

Levando em considerações as abordagens citadas acima nós, então, partimos para a síntese do catalisador metalo enzimático. Primeiramente foi realizada a escolha do biocatalisador que seria imobilizado na superfície das nanopartículas. Foram selecionadas 4 diferentes lipases imobilizadas (Novozyme 435, Amano type VII, Amano PS-C II e Amano PS-D I). Estas juntamente com acetato de vinila (doador acila) foram colocadas para reagir com os silanóis (**1a** e **1e**) a 50°C em tolueno por 24h

Tabela 5.

¹⁴⁰ Sydnes, M. One-Pot Reactions: A Step Towards Greener Chemistry. Current Green Chemistry, v. 1, n. 3, p. 216-226, **2014**.

Tabela 5. Acetilação de silanóis (**1a** e **1e**) catalisada por lipases.^[a]

$$\text{R-Si(OH)(Me)}_2 \xrightarrow[\text{Acetato de vinila, tolueno, 24h}]{\text{Enzima}} \text{R-Si(OAc)(Me)}_2 + \text{CH}_3\text{COOH}$$

1a e 1e **3a e 3e**

Entrada	Substrato	Enzima	T (°C)	Conv. 3a e 3e (%) ^[b]
1	1a	<i>Candida antarctica</i> (CAL-B, Novozyme 435)	50	75
2		<i>Candida rugosa</i> (Amano, type VII)	50	16
3		<i>Pseudomonas cepacia</i> (Amano PS-C II)	50	16
4		<i>Pseudomonas cepacia</i> (Amano PS-D I)	50	17
5	1e	<i>Candida antarctica</i> (CAL-B, Novozyme 435)	50	30 ^[c]
6		<i>Candida rugosa</i> (Amano, type VII)	50	-
7		<i>Pseudomonas cepacia</i> (Amano PS-C II)	50	15 ^[c]
8		<i>Pseudomonas cepacia</i> (Amano PS-D I)	50	-

^[a] As Reações foram realizadas utilizando **1a** e **1e** (0,025mmol), acetato de vinila (30 eq.) enzima (20 mg) em 1,0 mL de tolueno por 24h. ^[b] Rendimentos foram calculados com base nos dados de CG-EM. ^[c] Estes derivados foram isolados e analisados por CG-DIC utilizando coluna quiral, e a acetilação preferência do enantiomero *R* foi constatada para os dos casos.

Pelos resultados da **Tabela 5**, vimos que o dimetil(fenil)silanol **1a** (16-75% conv.) sofre uma maior acetilação do que o dimetil(1-feniletil)silanol **1e** (0-30% conv.) quando as quatro diferentes lipases foram utilizadas como biocatalisadores. Por outro lado para a acetilação do dimetil(fenil)silanol **2a**, a Novozyme 435 foi a que apresentou melhor resultado, 75% de conversão para produto acetilado **3a** (**Tabela 5, Entrada 1**).

Assim, o dimetil(fenil)silanol **1a**, por ter apresentado melhores taxas de acetilação, bem como a CAL-B, que compõe a Novozyme 435, foram escolhidos para o estudo de imobilização enzimática nas nanopartículas bimetálicas de NSsAgAu, NSsAgPt e NSsAgPd.

Esteres de silício também são compostos importantes para a produção de materiais poliméricos à base de silicone. Na literatura, a síntese destes compostos pode

ser realizada por meio do silano e cloreto de silano (**Esquema 31**).^{141,142} O problema destas alternativas sintéticas é o alto custo dos reagentes, como emprego de catalisadores de Ru, ou o emprego de solventes tóxicos, como benzeno.

Esquema 31. Exemplo da síntese de esteres de silício.

Com a CAL-B selecionada, como biocatalisador, que seria imobilizado nas NBs, partimos para processo de imobilização por adsorção (**Esquema 32**). Neste experimento, uma solução de lipase (0,145 mg/mL) foi adicionada a 1-1,5 mg das NBs e a solução resultante foi então agitada por 2h em 800 rpm a 25°C. A quantidade de enzima imobilizada foi quantificada através do método de Bradford.¹⁴³ A quantidade aproximada de enzima imobilizada na superfície das diferentes NBs foi de 0,039-0,043 mg. Os valores parecidos podem estar associados à semelhança de tamanho e estrutura dos nanomateriais, o que pode proporcionar áreas superficiais parecidas, levando à imobilização de quantidades semelhantes de enzima.

¹⁴¹ Scheim, U.; Grosse-Ruyken, G.; Ruehlmann, K.; Porzel, A. *Journal of Organometallic Chemistry*, **1985**, 293, 29 – 36.

¹⁴² Ojima, Y.; Kazuya, Y.; Noritaka, M. *Advanced Synthesis and Catalysis*, **2009**, 351, 1405 – 1411.

¹⁴³ Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976, 72, 248-254.

Esquema 32. Imobilização de lipases sobre a superfície das nanocascas bimetálicas.

As nanopartículas bimetálicas NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt contendo a CAL-B imobilizada foram denominadas de CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt, respectivamente.

Imagens de MET das CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt foram coletadas (**Figura 18**). Pelas imagens, constatamos que depois do processo de imobilização as partículas permanecem intactas (**Figura 19, A, C e E**). Pelas imagens ampliadas da borda das nanopartículas (**Figura 19, B, D e F**), vimos uma pequena aglomeração na superfície dos nanomateriais, o que pode ser relacionado à adsorção da CAL-B sobre a superfície das NBs.

Figura 18. Imagens de MET da CAL-B imobilizada na superfície das NBs: **A**-CALB-AgAu; **B**-Imagens ampliada de CALB-AgAu; **C**-CALB-AgPd; **D**-Imagens ampliada de CALB-AgPd; **E**-CALB-AgPt; **F**-Imagens ampliada de CALB-AgPt.

Com CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt devidamente identificadas, partimos para processo de teste da atividade catalítica do CME, catalisador metalo enzimático.

O nosso primeiro passo foi testar a atividade catalítica de CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt para oxidação de hidrosilanos. Para isso o dimetil(fenil)silano **1a** foi escolhido como substrato (0,025 mmol) e foram utilizados 1-1,5 mg do catalisador em uma reação contendo acetona/água (10:1, 1 mL) à temperatura ambiente. Os resultados para oxidação do silano (**1a**) catalisado pelo catalisador metalo-enzimático estão ilustrados na **Tabela 6**.

Tabela 6: Uso do catalisador metalo-enzimático para oxidação de compostos de silano **1a**.^[a]

Cc1ccccc1Si(C)H (**1a**) + H₂O $\xrightarrow[\text{Acetona t.a.}]{\text{CME (5 mol\%) CAL-B}}$ Cc1ccccc1Si(C)O (**2a**) + H₂ ↑

Entrada	CME	Tempo (h)	Conv. 2a (%) ^[b]
1	CALB-AgAu	1	<2 %
2	CALB-AgPt	1	25%
3	CALB-AgPd	1	85%
4	CALB-AgAu	16	10%
5	CALB-AgPt	16	70%
6	CALB-AgPd	16	85% ^[c]
7	CALB-AgAu	24	15%
8	CALB-AgPt	24	74%
9	CALB-AgPd	24	81% ^[c]

^[a] Condições reacionais: dimetil(fenil)silano **1a** (0,025 mmol), CME (CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt) (1-1,5 mg), acetona/H₂O (10:1, 1 mL), temperatura ambiente e 800 rpm. ^[b] A conversão foi calculada baseada em dados de CG-EM. ^[c] O silano **1a** foi totalmente convertido em silanol **2a** e disiloxano.

Quando os CMEs foram utilizados como catalisadores para oxidação do silano **1a** (**Tabela 6**), o catalisador CALB-AgPd apresentou os melhores resultados de conversão quando comparado a CALB-AgAu e CALB-AgPt em reações de 1, 16 e 24 horas (**Tabela 6, Entradas 3, 6 e 9**), apresentando conversões de 85%, 85% e 81%, respectivamente. Para reações com tempos reacionais maiores que uma hora foi evidência a formação do disiloxano, quando CALB-AgPd foi utilizado como catalisador (**Tabela 6, Entradas 6 e 9**).

O teste da atividade enzimática das CMEs foi feito por meio da resolução cinética do (*R,S*)-1-(fenil)etanol e acetato de vinila (**Tabela 7**) em tolueno via reação de

transesterificação. A atividade da lipase de CAL-B livre também foi testada e comparada com as das lipases imobilizadas nas nanocascas.

Pelos dados apresentados na **Tabela 7**, observamos que depois de 3 horas de reação a CAL-B livre foi capaz de catalisar a reação de transesterificação do (*R,S*)-1-(fenil)etanol (**4a**) com uma conversão >4% e um excesso enantiomérico >99% para o éster **4b** (**Tabela 7, Entrada 4**). Mas, comparando este resultado com a RC de quando as CMEs (CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt) foram utilizadas como biocatalisadores, vimos que estes apresentaram melhores resultados para o mesmo tempo reacional, quando comparado com a enzima livre, (conversões 25-26% e excessos enantioméricos para formação do (*R*) acetato de 1 feniletila (**4b**), >99%) (**Tabela 7, Entradas 1-3**). Por outro lado, quando o tempo reacional foi aumentado para 6 e 24h (**Tabela 7, Entradas 5-12**), tivemos o aumento da conversão de 30-36% e 46-48%, respectivamente, para quando os CMEs foram utilizados como catalisadores. Entretanto, com esse aumento veio a perda da seletividade para formação do (*R*) acetato de 1-feniletila (**4b**). Mesmo com a perda da seletividade, os resultados de conversão para RC apresentados para as reações utilizando CMEs como catalisadores foram superiores aos resultados apresentados pela CAL-B livre no mesmo tempo reacional.

Tabela 7. Atividade enzimática para os CMEs: Acetilação enantiosseletiva do (*RS*)-1-(fenil)etanol (**4a**).

Entrada	Catalisador metalo-enzimático (CME)	e.e. (%) ^[b]		Conv. 4b (%) ^[c]	Tempo (h)	<i>E</i> ^[d]
		(<i>S</i>)- 4	(<i>R</i>)- 5			
1	CALB-AgAu	33	>99	25	3	>200
2	CALB-AgPt	33	>99	25	3	>200
3	CALB-AgPd	35	>99	26	3	>200
4	CAL-B ^[e]	4	>99	4	3	>200
5	CALB-AgAu	39	90	30	6	>200
6	CALB-AgPt	47	94	33	6	>200
7	CALB-AgPd	49	87	36	6	>200
8	CAL-B ^[e]	8	94	8	6	>200
9	CALB-AgAu	82	95	46	24	>200
10	CALB-AgPt	93	93	50	24	>200
11	CALB-AgPd	85	92	48	24	>200
12	CAL-B ^[e]	24	85	22	24	>200

^[a] Condições reacionais: (*RS*)-1-(fenil)etanol **4a** (0,002 mmol), acetato de vinila (0,07 mmol), tolueno (1 mL), 32 °C, 800 rpm por 3h. ^[b] e.e.: O excesso enantiomérico foi determinado por análise de CG-DIC usando coluna quiral. ^[c] conv. = conversão = e.e.s./(e.e.s. + e.e.p.). ^[d] *E* = {ln[e.e.p.(1 – e.e.s.)]/(e.e.p. + e.e.s.)}/{ln[e.e.p.(1 + e.e.s.)]/(e.e.p. + e.e.s.)}. ^[e] CAL-B: 0,050 mg.

A diferente composição das nanocascas utilizadas como suporte não influenciou na atividade da enzima imobilizada, uma vez que a atividade da CAL-B imobilizada na superfície das nanopartículas foi quase a mesma para todos os casos (**Tabela 7**). A razão enantiomérica (*E*) para a CAL-B imobilizada nas NBs foram >200. A razão

enantiomérica (*E*) e o e.e. são parâmetros bastante importantes na RC. O e.e. mede a pureza enantiomérica de substâncias quirais, ou seja, a pureza de um dos enantiômeros em relação ao outro. Um valor elevado de *E* para um dado par enzima-substrato é essencial para o sucesso de uma resolução cinética, já que isso assegura não apenas um excesso enantiomérico elevado, mas também um rendimento proporcionalmente alto.¹⁴⁴ Pelos testes de atividade das CMEs, oxidação do silano **1a** (**Tabela 6**) e RC do (*R,S*)-1-(fenil)etanol (**4a**) (**Tabela 7**), confirmamos que o catalisador sintetizado (CME) apresenta ambas atividades catalíticas. Todos os CMEs foram ativos para oxidação do silano **1a**, alcançando conversões de até 85% (CALB-AgPd) em 1 hora de reação (**Tabela 6, Entrada 3**). A oxidação dos silanos mostrou-se mais lenta do que quando NSsAgPd foi utilizada como catalisadore, isso pode estar ligado ao fato de que a enzima imobilizada na superfície das nanocascas dificulta o processo de catálise para oxidação do silano **1a**. O processo de oxidação deve ocorrer nos “espaços livres” encontrados na superfície das nanocascas ou seu interior que é oco. Estes “espaços livres” possibilitam que o substrato entre em contato com a superfície da nanopartícula, o que permite que a catálise ocorra na sua superfície ou no seu interior. Agora, em relação à RC, todas CMEs mostraram valores semelhantes de conversão e e.e. para acetilação do (*R,S*)-1-(fenil)etanol e, além do mais, estes resultados foram superiores ao apresentado pela enzima livre.

Para tentar provar que a característica oca das nanocascas auxilia na oxidação de compostos de silano quando a enzima está imobilizada em sua superfície, nós resolvemos imobilizar a lipase na superfície de nanopartículas maciças de AgPd e testar a atividade para oxidação do silano **1a** (**Esquema 33**).

---

¹⁴⁴ Costa, V. E. U.; Amorin, H. L. N. *Química Nova*, **1999**, 22, 863-873.

Esquema 33. Aplicação de nanopartículas sólidas de AgPd para preparação de catalisador metalo-enzimático e teste de oxidação de silanos.

Neste teste, foram utilizadas nanopartículas sólidas de AgPd de tamanhos parecidos (~40nm) com as nanocascas de AgPd (Imagem de MEV desta nanopartícula está anexada: **A10**). Depois de imobilizar a CAL-B na superfície da nanopartícula maciça (utilizando a mesma metodologia empregada para as nanocascas, **Tabela 6**), estas foram submetidas ao teste de oxidação do silano **1a**. Mas, neste caso, em uma hora de reação nenhuma conversão foi evidenciada, este fato comprova que a característica oca das nanocascas auxilia na oxidação dos compostos de silano quando lipases encontram-se imobilizadas em sua superfície.

Por fim, foi realizado o teste para oxidação do silano **1a** e acetilação do silanol **2a** em uma reação sequencial, **Esquema 34**. Para realização deste experimento somente CALB-AgPd foi utilizada, já que ela apresentou ótimos resultados para oxidação do silano **1a** (**Tabela 6**). Dessa maneira, o dimetil(fenil)silano **1a**, CALB-AgPd foi colocado para reagir com uma mistura acetona/água (10:1, 1 mL) à temperatura ambiente por 2h. Ao final deste tempo, uma alíquota da reação foi analisada por CG-

EM e uma conversão >99% foi evidenciada para formação do respectivo silanol **2a**. Comprovada a conversão total do silano **1a** ao silanol **2a**, nós partimos para a reação de acetilação. Neste caso, o solvente reacional que continha uma pequena quantidade de água, da primeira reação, foi retirada com auxílio de uma bomba de pressão reduzida. Isso foi realizado para remover a água do meio reacional, a água pode causar a hidrólise do produto de acetilação formado, quando estiver na presença de lipase.

Depois de evaporada a mistura de acetona/água da reação, o tolueno seco foi adicionado ao meio (solvente reacional da próxima etapa) juntamente com o acetato de vinila (agente acilante) e essa mistura foi deixada reagir por mais 22 h a 50°C sob agitação. Transcorrido esse tempo, a reação foi analisada por CG-EM e somente traços do produto acetilado foi observado (2% conv.), **Esquema 34**.

Esquema 34. Aplicação de nanopartículas sólidas de AgPd para preparação de catalisador metalo-enzimático e teste de oxidação de silanos.

Os CMEs funcionaram bem em reações de oxidação do silano e resolução cinética de álcoois secundários, separadamente. Mas quando este catalisador foi empregado para oxidação de silano **1a** e acetilação do silanol **2a** em reações sequenciais o catalisador não funcionou como esperado. Acreditamos que isso ocorra devido à rápida hidrólise do composto acetilado ao silanol, o que acontece com uma mínima

quantidade de água presente no meio reacional. A água, neste caso, poder ter advindo da reação anterior, da umidade do ar ou da própria enzima que possui moléculas de água adsorvidas em sua estrutura.

3.5. Hidrogenação de compostos orgânicos utilizando NSsAgPd como catalisador e como doador de hidrogênio compostos de silício, em reações *one-pot*

Em uma reação de hidrogenação, átomos de hidrogênio são adicionados a uma molécula orgânica. Na maioria dos casos, a hidrogenação é uma reação favorável porque é formado um produto mais estável (de mais baixa energia). Em outras palavras, a energia do produto é menor do que do reagente, resultando em uma reação exotérmica com liberação de calor. Embora a hidrogenação seja uma reação termodinamicamente favorável, ela não acontece sem a adição de um catalisador. Os catalisadores mais comuns utilizados em um processo de hidrogenação são metais inorgânicos insolúveis, tais como paládio (Pd/C), platina (PtO₂) e níquel (Ra-Ni). Esses catalisadores são extensivamente utilizados para hidrogenação de alcenos, por exemplo.¹⁴⁵

Nanopartículas metálicas já estão sendo utilizadas como catalisadores para hidrogenação. Um dos pioneiros da utilização de nanopartículas metálicas para hidrogenação de compostos orgânicos via transferência de hidrogênio foi Yamamoto *et al.* Em alguns dos seus trabalhos, alcinos foram hidrogenados a alcenos¹⁴⁶, iminas foram reduzidas a aminas¹⁴⁷ e bem como a redução de aldeídos α,β -insaturados a seus

¹⁴⁵ Vollhardt, K. Peter C., and Neil E. Schore. Organic Chemistry: Structure and Function. New York: W.H. Freeman and Company, **2007**.

¹⁴⁶ Yan, M.; Jin, T.; Ishikawa, Y.; Minato, T.; Fujita, T.; Chen, L.; Bao, M.; Asao, N.; Chen, M.; Yamamoto, Y. *Journal of American Chemical Society*, **2012**, 134, 17536–17542.

¹⁴⁷ Takale, B. S.; Tao, S.; Yu, X.; Feng, X.; Jin, T.; Bao, M.; Yamamoto, Y. *Tetrahedron*, **2015**, 71, 7154–7158.

respectivos álcoois¹⁴⁸, foram realizados **Esquema 35**. A hidrogenação de alcinos foi o primeiro relato de uma semi-hidrogenação altamente seletiva utilizando o ouro nanoporoso não suportado (AuNPore) como catalisador e organosilanos com água como fonte de hidrogênio. Para todos os exemplos citados abaixo, altos rendimentos do produto hidrogenado foram alcançados para maioria dos substratos testados (até 99% rend.). Além disso, o catalisador AuNPore pode ser facilmente recuperado e reutilizado sem qualquer perda de atividade catalítica.

Esquema 35. Hidrogenação de compostos orgânicos utilizando como fonte de hidrogênio compostos de silício, ambas as reações catalisadas por nanoporos de ouro.

A transferência de hidrogênios, utilizando uma fonte doadora de hidrogênio, tem sido utilizada como uma alternativa para a hidrogenação de compostos orgânicos uma vez que hidrogênio molecular tem sido associado a problemas de manuseio devido a sua natureza inflamável e explosiva. Já transferir um hidrogênio para realizar uma reação de redução tem como vantagens um manuseio tranquilo e a possibilidade de reuso do nanocatalisador metálico utilizado. Além de compostos de silano, outros

¹⁴⁸ Takale, B. S.; Wang, S.; Zhang, X.; Feng, X.; Yu, X.; Jin, T.; Bao, M.; Yamamoto, Y. *Chemical Communications*, **2014**, 50, 14401-14404.

compostos como hidrazina, álcool isopropílico, ácido fórmico e $\text{CO} + \text{H}_2\text{O}$ podem ser utilizados como fonte de hidrogênio.¹²⁰

Motivados pelos resultados obtidos por Yamamoto *et al.* e pelos nossos resultados para oxidação de hidrosilanos aos respectivos silanóis e produção de hidrogênio, decidimos testar nosso nanocatalisador bimetálico (NSsAgPd), como catalisador para hidrogenação de compostos orgânicos utilizando como fonte de hidrogênio um composto de silano. Os compostos selecionados para esse estudo foram alcenos, alcinos, azidas, iminas e nitrocompostos, **Esquema 36**.

Esquema 36. Oxidação de compostos orgânicos utilizando como fonte de hidrogênio compostos de silano, reações catalisadas por NSsAgPd.

Iniciamos nosso estudo pela escolha do silano que seria utilizado como fonte de hidrogênio. A escolha do silano é bastante importante, pois, o silano reage com a água, catalisado pela nanopartícula, para a formação de hidrogênio na superfície da nanopartícula e consequentemente formação de H_2 .

Alguns estudos mostram que silanos podem ser utilizados para produção de hidrogênio a partir de hidrólise catalítica, como, por exemplo, o estudo desenvolvido por Abu-Omar *et al.* Neste caso o organosilano, trisililmetano, foi oxidado em meio aquoso via hidrólise catalítica (catalisado por complexo de rênio) para produção de hidrogênio à temperatura ambiente e sem emprego de solventes. Neste estudo, a quantidade de hidrogênio produzido é proporcional estequiometricamente à quantidade de H₂O presente na reação (**Esquema 37**).¹⁴⁹

Esquema 37. Produção de hidrogênio catalisador por complexo de rênio.

Outros silanos e outros catalisadores metálicos também foram utilizados para produção de hidrogênio em solventes orgânicos como THF, utilizando a água para hidrólise (**Esquema 38**), vimos que dependendo do silano utilizado a produção de hidrogênio pode variar.^{150,151,152,153} Nestes estudos, observamos que o silano pode ser uma fonte para produção limpa, segura e rápida de hidrogênio. Através destas referências vimos que o uso de nanopartículas, como NSsAgPd, para produção de hidrogênio por meio de silanos também é algo inédito, já que nestes estudos apenas sais metálicos foram utilizados. Por isso, também, estamos propondo o uso destas

¹⁴⁹ Abu-Omar, M. M.; Du, G.; Corbin, R.; Smith, E. Patent Application Serial No. 11/462,760, date of filing: August 7, **2006**.

¹⁵⁰ Tan, S. T.; Kee, J. W.; Fan, W. Y. *Organometallics*, **2011**, 30, 4008–4013.

¹⁵¹ Yu, M.; Jing, H.; Liu, X.; Fu, X. *Organometallics*, **2015**, 34, 5754–5758.

¹⁵² Yap, C. P.; Poh, H. T.; Fan, W. Y. *RSC Advances*, **2016**, 6, 5903–5906.

¹⁵³ Yu, M.; Jing, H.; Fu, X. *Inorganic Chemistry*, **2013**, 52, 10741–10743.

nanopartículas metálicas como catalisadores para produção de hidrogênio a partir de compostos de silano e redução de compostos orgânicos.

Esquema 38. Produção de hidrogênio a partir de compostos de silano utilizando catalisadores metálicos de metais de transição.

Para o estudo de produção de hidrogênio a partir de compostos de silano catalisado por NSsAgPd foram selecionados 3 diferentes silanos, dimetil(fenil)silano **1a**, dimetil(fenetil)silano **1i**, e o trietilsilano **1l**. Estes foram submetidos à reação de hidrólise catalisado pelas NSsAgPd.

Tabela 8. Hidrólise catalítica de compostos de silano catalisado por NSsAgPd.^[a]

$$\begin{array}{ccc}
 \begin{array}{c} \text{R} \\ | \\ \text{R}-\text{Si}-\text{H} \\ | \\ \text{R} \end{array} & \xrightarrow[\text{Acetona}]{\text{NSsAgPd (5 mol \%)} \\ \text{H}_2\text{O, t.a.}} & \begin{array}{c} \text{R} \\ | \\ \text{R}-\text{Si}-\text{OH} \\ | \\ \text{R} \end{array} + \text{H}-\text{H} \uparrow \\
 \text{1a, 1i ou 1l} & & \text{2a, 2i ou 2l}
 \end{array}$$

Entrada	Organosilano	t (h)	conv. 2a, 2i ou 2l (%) ^[b]
1		1	>99
2	1a	0.5	>99
3		1	>99
4	1i	0.5	>99
5		1	>99
	1l		

^[a] Condições reacionais: silanos **1a**, **1i** ou **1l** (0,05 mmol), NSsAgPd (5 mol%), acetona/H₂O (10:1, 1 mL), as reações foram realizadas a temperatura ambiente por um determinado tempo sob agitação (800 rpm). A quantidade do catalisador foi calculada baseado sobre a porcentagem em mols de páladio. ^[b] As conversões foram calculadas baseados em dados do CG-EM.

A quantidade de catalisador foi a mesma utilizada nos testes de oxidação de silanos (5 mol%). As reações tiveram tempos de 30 e 60 minutos, em que 0,05 mmol dos silanos **1a**, **1i** ou **1l**, foram submetidos à reação de oxidação e produção de H₂ à temperatura ambiente em uma mistura acetona/água (10:1, 1 mL). Os substratos **1a** e **1i** foram os que em 30 minutos apresentaram conversão total para os respectivos silanóis (**2a** e **2i**) (Tabels 8, Entradas 2 e 4). O substrato **1l**, trietilsilano, em 60 minutos de reação apresentou conversão de 44% ao silanol **2l** (Tabels 8, Entrada 5). Levando em consideração os melhores resultados obtidos, e também o fator custo, o dimetil(fenil)silano **1a** foi mantido como o composto para doação/geração do hidrôgênio *in situ*. Aparentemente, o trimetilsilano **1l** seria o silano menos impedido e melhor para a formação de hidrogênio, mas experimentalmente isso não aconteceu,

houve apenas 44% de conversão para o respectivo silanol. Acreditamos que isso aconteça devido ao envenenamento do catalisador pelo trietilsilanol formado que pode ficar adsorvido à superfície da nanopartícula.

Depois de selecionado o silano que seria utilizado para geração de hidrogênio, partimos para o teste de hidrogenação dos compostos orgânicos, (**Tabela 9**). O (*E*)-3-(4-clorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**5a**) foi utilizado como substrato modelo para hidrogenação. Para estes testes foi utilizado 0,1 mmol do dimetil(fenil)silano (**1a**) e as quantidades de catalisador e da acetona α,β -insaturada **5a** foram variadas bem como o tempo reacional.

Tabela 9. Hidrogenação da (*E*)-3-(4-clorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona **5a** utilizando como fonte de hidrogênio o dimetil(fenil)silano **1a**, reações catalisadas por NSsAgPd.^[a]

Entrada	NSsAgPd ^[c]	1a:5a	t (h)	25 (%) ^[b]	6a (%) ^[b]	Sel. (%)
1	5 mol%	1:1	5	>99	41	>99
2	5 mol%	2:1	5	>99	60	>99
3	5 mol%	4:1	5	>99	66	>99
4	5 mol%	8:1	5	>99	94	>99
5	5 mol%	8:1	1	>99	63	>99
6	10 mol%	8:1	5	>99	93	>99
7	15 mol%	8:1	5	>99	96	>99

^[a] Condições Reacionais: dimetil(fenil)silano **1a** (0,1 mmol), H₂O (50 μ L), (*E*)-3-(4-clorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona **5a** (0,1, 0,05, 0,025, 0,0125 mmol), acetona (1 mL), NSsAgPd (5, 10, 15 mol%), 25°C e 800 rpm. ^[b] As conversões foram calculadas baseadas em dados de CG-EM. ^[c] A quantidade do catalisador foi determinada baseada nos cálculos da quantidade de páládio presente nas NBS.

Pelos dados da **Tabela 9**, vimos que utilizando 5 mol% do catalisador e variando as quantidades da acetona α,β -insaturada **5a** em reações de 5h, conversões entre 41-94% foram alcançadas (**Tabela 9, Entradas 1-4**). O melhor resultado alcançado para este tempo reacional e esta quantidade de catalisador foi quando uma proporção de 8:1 do silano **1a** para a acetona α,β -insaturada **5a** foi utilizada, 94% conv. (**Tabela 9, Entrada 4**). Quando diminuímos o tempo reacional, mantendo uma proporção de 8:1 do silano (**1a**) para a acetona α,β -insaturada **5a** uma menor conversão para o produto hidrogenado foi alcançada, 63% conv. (**Tabela 9, Entrada 5**). Quando as quantidades do catalisador foram aumentadas para 10 e 15%, mantendo a proporção de 8:1 do silano (**1a**) para a acetona α,β -insaturada **5a**, conversões de 93 a 96% foram alcançadas, para reações de 5 horas (**Tabela 9, Entradas 6 e 7**).

Analizando os resultados anteriores, resolvemos manter a quantidade do catalisador em 5 mol% já que a duplicação e triplicação deste valor não resultaram em grandes acréscimos de conversão. Resolvemos também manter a proporção de 8:1 entre os substratos e o tempo reacional de 5h, já que os melhores resultados foram alcançados utilizando estes parâmetros.

Utilizando as condições reacionais selecionadas acima, fizemos um estudo cinético para a hidrogenação da (*E*)-3-(4-clorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**5a**) utilizando o dimetil(fenil)silano (**1a**) como doador de hidrogênio e a NSsAgPd como catalisador (**Figura 19**). A reação foi analisada de hora em hora até se completar 7 horas de reação. Na primeira hora reacional 62% de conv. para o produto hidrogenado foi obtida, sendo que na segunda hora de reação este número subiu para 72% de conv. Com 5 horas de reação foram obtivos 92% de conv. e este valor se manteve estável até se completaram as 7 horas de reação. A estabilização do valor de conversão depois de transcorridas 5 horas de reação mostra que este é o tempo máximo para alcançar uma

máxima conversão para a hidrogenação deste substrato, nas condições utilizadas. Depois deste tempo não deve-se ter mais hidrogênio na superfície da nanopartícula e o H_2 formado já deve ter sido liberado para a mistura reacional.

Figura 19. Estudo cinético para a hidrogenação do (*E*)-3-(4-clorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona **5a** utilizando a dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio e as NSsAgPd como catalisador.

Depois de descobertas as melhores condições reacionais para a redução do (*E*)-3-(4-clorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**5a**) utilizando a dimetil(fenil)silano (**1a**) como doador de hidrogênio (5 mol% do catalisador, 0,1 mmol do silano, H_2O (10%) e 0,0125 mmol do substrato a ser reduzido), ainda testamos outro solvente reacional para a reação de redução, o THF (**Esquema 39**).

Esquema 39. Uso de THF nas reações de redução catalisado por NSsAgPd utilizando dimetil(fenil)silano **1a** como fonte de hidrogênio.

Quando THF foi utilizado como solvente, uma conversão total foi alcançada para o silanol (**1a**) e 87% de conversão foi alcançada para o produto reduzido **6a**. Apesar do bom resultado obtido quando o THF foi utilizado como solvente, tivemos um melhor resultado quando a acetona foi utilizada como reagente para esta reação, por isso ela foi mantida como solvente reacional.

Para este processo de hidrogenação propusemos os seguintes mecanismos reacionais, **Figura 20**.

Figura 20. Sugestão de mecanismo reacional para redução dos compostos orgânicos.

Pela **Figura 20** sugerimos que o dimetil(fenil)silano (**1a**) pode ser adsorvido na superfície da nanopartícula formando o intermediário II, depois o silano sofre um ataque nucleofílico da água formando dimetil((fenil)silil)oxônio (intermediário IV). O dimetil((fenil)silil)oxônio, por sua vez, perde o hidrogênio que fica adsorvido na superfície da nanopartícula formando o intermediário V, liberando o silanol. Depois, o alceno sofre um ataque dos hidrogênios aderidos à superfície da nanopartícula formando o composto reduzido e o catalisador é regenerado à estrutura I. Pressupomos que também pode haver a liberação de H_2 das nanopartículas antes da reação com o alceno, mas como este é um meio reacional fechado, acreditamos que o H_2 formado pode aderir

novamente à superfície da nanopartícula levando novamente à formação do intermediário V e consequente redução dos alcenos, **Figura 21**.

Figura 21. Sugestão de mecanismo reacional para redução dos compostos orgânicos.

Com a presença de um catalisador metálico, a ligação H-H em H_2 cliva e cada hidrogênio liga-se à superfície metálica do catalisador, formando ligações metal-hidrogênio. O catalisador de metal também absorve o alceno sobre a sua superfície. Um átomo de hidrogênio é então transferido para o alceno, formando uma nova ligação C-H. Um segundo átomo de hidrogênio é transferido formando outra ligação C-H. Neste ponto, adicionaram-se dois hidrogênios aos carbonos através da ligação dupla. Devido à disposição física do alceno e dos hidrogênios numa superfície de metal catalisador plana, os dois hidrogênios devem adicionar à mesma face da ligação dupla, exibindo a adição de *syn*.

Com o objetivo de aumentar o escopo reacional outros substratos foram testados para reação de hidrogenação (**Esquema 40**). Sendo que as cetonas α,β -insaturadas **5a-5c** e as iminas **5m-5o** foram previamente sintetizadas. A confirmação e caracterização destes substratos foram feitas através de RMN de ^1H e ^{13}C (**Anexos: A62-69**)

Esquema 40. Redução de compostos orgânicos utilizando como fonte de hidrogênio o silano

1a, catalisadas NSsAgPd “one-pot”.

Nesse procedimento “one pot” foram adicionados as NSsAgPd, um dos compostos que seriam hidrogenados (**5a-o**, 0,0125 mmol), acetona/água (10:1, 1 mL) e por último o dimetil(fenil)silano (**1a**, 0,1 mmol). A reação foi realizada a 25°C, por 5 horas a 800 rpm. O silano (doador de hidrogênio) é essencialmente adicionado por

último, pois é o reagente iniciador da reação de hidrogenação. Depois da adição do silano o frasco reacional deve ser bem fechado para evitar a perda de H₂ para o meio.

Inicialmente, duas cetonas α,β insaturadas foram testadas frente à reação de hidrogenação, a (*E*)-1-(4-(dimetilamino)fenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**5b**) e (*E*)-1-(4-methoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**5c**). Estas mostraram uma conversão para os produtos reduzidos **6b** e **6c** de 73 e 32%, respectivamente. Outros compostos foram testados frente a reação de redução, como a cinamonitrila (**5d**), fenilpropanoato de etila (**5e**), butenoato de etila (**5f**), estireno (**5g**), (1-azidoetil)benzeno (**5h**), nitrobenzeno (**5i**), (*E*)-estilbeno (**5j**) e o difenilacetileno (**5l**). Estes compostos mostraram conversões para os produtos reduzidos **6d-6l** entre 17->99% conv. Como destaque, temos os resultados apresentados para a redução da cinamonitrila (**5d**), que alcançou uma conversão para a formação do produto reduzido (fenilpropanonitrila (**6d**)) >99% e redução do difenilacetileno (**5l**) que alcançou uma conversão para formação do produto **6l** de 92% conv.

Por último, algumas iminas foram testadas como substratos para a reação de redução. Foram escolhidas as iminas (*E*)-N-(4-clorobenzilideno)anilina (**5m**), (*E*)-N-benzilidenoanilina (**5n**) e (*E*)-N-(4-bromobenzilideno)anilina (**5o**). Dentre as iminas **5m-5o**, somente a **5m** apresentou conversão para o produto reduzido, com uma conversão >99%. As outras iminas demonstraram se degradar durante o processo de redução, tendo obtido, ao final, produtos como aldeído e anilinas substituídas.

De modo geral tivemos como destaque para esta reação a cinamonitrila, (*E*)-N-(4-clorobenzilideno)anilina e (*E*)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona, que apresentaram conversões <99% para os produtos reduzidos.

Podemos ainda fazer uma comparação entre estrutura e reatividade entre os substratos submetidos ao processo de hidrogenação. Por exemplo, quando as cetonas α,β -insaturadas (**5a-5c**), foram submetidas ao processo de hidrogenação a cetona contendo um grupo desativador fraco (**5a**) foi o que apresentou melhor conversão para produto (>99% conv.). Quando os ésteres α,β -insaturados **5e** e **5f**, foram hidrogenados, uma maior conversão foi observada para o substrato **5e** (85% conv.), que contém um grupo aril ligado a sua dupla. Quando alcenos como cinamonitrila (**5d**) e estireno (**5g**) foram submetidos a reação de hidrogenação, uma maior conversão foi alcançada para a cinamonitrila (>99% conv.), e este fato pode estar ligado a presença do grupo nitrila ao substrato. Essas diferenças de reatividade, levam a crer que a presença de certos grupos no substrato podem influenciar positiva ou negativamente na reatividade da dupla ligação.

A conversão destes produtos foi obtida por meio da análise de dados do CG-EM (**Anexos A26-A37**) e ainda todos os produtos de redução foram identificados por dados espectroscópicos de RMN de H^1 e C^{13} (**Anexos: A68-89**).

Os resultados obtidos com a redução dos compostos **5a-5o** indicam que as nanocascas de NSsAgPd possuem grande potencial catalítico para os dois tipos de reação, oxidação de compostos de silano e redução de compostos orgânicos, mostrando-se um versátil catalisador para estes tipos de reações em processos *one-pot*. Além do mais, este catalisador é uma excelente alternativa aos catalisadores já utilizados e indicados na literatura.

Por fim, dois estudos adicionais foram realizados, a avaliação diferentes silanos como doador de hidrogênio e reuso do catalisador para as reações de oxidação/hidrogenação.

Apesar de já termos testado alguns silanos para formação de hidrogênio (**Tabela 8**), decidimos testar mais uma vez os silanos **1a**, **1i** e **1l**, como doadores de hidrogênio, só que desta vez já incorporando o substrato que seria reduzido. Nosso objetivo seria então testar diferentes silanos e monitorar a conversão, agora, do produto hidrogenado e não do silanol.

Foram testados como doador de hidrogênio além do dimetil(fenil)silano (**1a**) o dimetil(fenetil)silano (**1i**) e o trietilsilano (**1l**). Estes compostos de silício foram colocados para reagir com a cinamonitrila (**5d**) (que seria o substrato que receberia os hidrogênios), NSsAgPd (5 mol%) em acetona/água (10:1, 1 mL) a temperatura ambiente por 5 horas (**Tabela 10**). A cinamonitrila foi escolhida como substrato porque apresentou excelentes resultados para a redução de compostos orgânicos (resultados mostrados no **Esquema 40**).

Tabela 10. Avaliação de diferentes silanos para a hidrogenação de compostos orgânicos catalisada por NSsAgPd.^[a]

$R_1=R_2=H; R_3=Ph$ $R_1=R_2=H; R_3=(CH_2)_2Ph$ $R_1=R_2=R_3=Et$			
Entrada	Hidrosilano	Silanol 2a, 2i e 2l ^[b]	Conv. 6d ^[b]
1		>99%	>99%
2		>99%	58%
3		50%	2,5%

^[a]Condições reacionais: Silano **2a**, **2i** e **2l** (0.1 mmol), cinamonitrila **5d** (0.0125 mmol), 5 mol% de nanopartículas calculadas baseada na quantidade de Pd (a porcentagem foi calculada a partir da quantidade de silano adicionado na reação), solvente (0.95 mL), acetona/água (10:1, 1mL) a t.a. em 800 rpm. ^[b] A conversão dos substratos foi calculada a partir de dados do CG-EM

Os resultados da **Tabela 10** reforçam os resultados obtidos na **Tabela 8**, que o dimetil(fenil)silano (**1a**) é mesmo o melhor substrato de silano para atuar como doador de hidrogênio para estas reações de redução catalisadas por NSsAgPd. Quando este foi utilizado como doador de hidrogênio uma conversão >99% foi alcançada para o produto reduzido **6d**.

Depois a tentativa de reciclo do catalisador nanometálico durante à redução de compostos orgânicos, foi realizada **Figura 22**. As NSsAgPd foram reutilizadas por até cinco vezes para a redução da cinamonitrila **5d** utilizando as condições demonstradas na

Figura 22. Neste teste, a conversão do silano **1a** ao silanol **2a** e produção de hidrogênio se mantanve quase que constante, apresentando uma pequena variação para os cinco ciclos. Já a redução da cinamonitrila (**5d**) à fenilpropanonitrila (**6d**) apresentou uma queda de conversão e variações no decorrer dos ciclos. No primeiro ciclo tivemos uma conversão ao produto reduzido >99%, no segundo ciclo este valor caiu bruscamente para 10% conv. e nos próximos ciclos quase se manteve constante, apresentando uma média de conversão de aproximadamente 50%. O que podemos propor é que estamos tendo novamente o envenenamento do catalisador pelo silanol formado, assim como já demonstrado anteriormente, e este processo de envenenamento atrapalha no processo de catálise para a redução da cinamonitrila (**5d**).

Figura 22. Estudo de reciclo da NSsAgPd visando a hidrogenação da cinamonitrila (**5d**).

3.6. Marcação de compostos orgânicos com deutério.

Isótopos como hidrogênio e deutério possuem as mesmas propriedades químicas, mas diferem em massa atômica, e isso faz com que compostos que contenham estes isótopos possam, por exemplo, ser facilmente identificados e diferenciados através da espectroscopia de massa. A possibilidade de marcar compostos com átomos de deutério pode ajudar na elucidação de estruturas moleculares, rastreamento, estudos mecanísticos ou até mesmo aumentar a estabilidade metabólica de medicamentos.^{154,155,156}

A introdução de deutério em moléculas orgânicas pode ser feita através da reação dos compostos de interesse que se deseja marcar com o gás HD (deutério de hidrogênio). O HD pode ser produzido a partir da reação de D₂O com LiAlH₄ ou a partir da adição de metanol a uma solução de LiAlD₄.¹⁵⁷ O principal inconveniente destas reações é a alta reatividade de LiAlH₄/LiAlD₄ com água/umidade, o que faz que o grau de pureza do HD possa ser comprometido e uma pequena quantidade de H₂ seja produzido como subproduto. Compostos orgânicos também podem ser deuterados pela liberação térmica de H⁺ e D⁺ a partir de grafite.¹⁵⁸

Em nossos resultados mostramos que a oxidação de hidrosilanos com água na presença de catalisadores metálicos, tais como NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt, permitem a produção do gás H₂. Assim, ao se substituir H₂O por D₂O o HD/D₂ podem ser formados. Em vista disso, decidimos estudar a aplicação da oxidação de organosilanos para gerar o HD/D₂, bem como utilizá-lo para marcar isotopicamente

---

¹⁵⁴ Loaiza, A.; Zaera, F. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **2004**, 15, 1366-1373.

¹⁵⁵ Katsnelson, A. *Nature*, **2013**, 19, 613-656.

¹⁵⁶ Gant, T. G. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2014**, 57, 3595-3611.

¹⁵⁷ Fookson, A.; Pomerantz, P.; Richl, H. *Science*, **1948**, 7, 748-753.

¹⁵⁸ a) M. B. Smith, J. Wolinsky, *Journal of Chemistry. Society, Perkin Trans. 2*, **1993**, 2, 1425-1431; b) S. Chiu, A. A. Haasz, *Journal of Nuclear Materials*, **1994**, 210, 34-42.

compostos orgânicos. A utilização de catalisadores metálicos para geração de HD/D₂ é marcação de compostos orgânicos também é algo inétido.

Para este estudo, primeiramente, a cetona α,β -insaturada **5a** e a imina **5m** foram escolhidos como substratos para redução e formação dos produtos marcados com deutério, **Esquema 41**. A ausência da água (H₂O) no meio reacional é extremamente importante para evitar a troca dos seus hidrogênios com os átomos de deutério. Essa troca levaria a perda do rendimento na reação de deuteração. Novamente, somente as NSsAgPd foram utilizadas como catalisadores pois foram os catalisadores que apresentaram os melhores resultados para oxidação dos silanos. A cetona α,β -insaturada **5a** e a imina **5m** foram selecionadas propositalmente neste estudo, pois buscávamos uma diferenciação de adição do HD/D₂ na dupla ligação, já que os carbonos da dupla ligação, destes compostos, possuem reatividades diferentes. Além do mais, estes substratos apresentaram excelentes resultados no estudo de redução utilizando como doador de hidrogênio o silano **1a**.

Esquema 41. Marcação de compostos orgânicos com deutério via oxidação do silano **1a** por D₂O, catalisada por NSsAgPd.

Em um primeiro momento, foram selecionados 5 mol% do catalisador e as NSsAgPd foram secas utilizando uma bomba de vácuo para remoção da água. Depois

de seco, o catalisador foi adicionado em um microtubo (2 mL) juntamente com a água deuterada (50 μ L), THF (1 mL), o substrato que seria marcado marcado (**5m** ou **5a**) e, por último foi adicionado o dimetil(fenil)silano (**1a**). O tubo foi selado e deixado reagir por 5 horas à temperatura ambiente. Ao término das reações, as conversões foram obtidas por análise de CG-EM e os resultados obtidos encontram-se na **Tabela 11**. As reações também foram analisadas por massas de alta (*Mass Spectrum* (MICROTOF – Bruker Daltonics, ESI+)).

Tabela 11. Marcação de compostos orgânicos **5a** e **5m** com deutério via HD produzido da oxidação do silano **1a** por D₂O, reações catalisada por NSsAgPd.^[a]

5a e 5m X: N; R₁: Cl R₂: Ph X: C; R₁: H; R₂: COβ-ClPh 1a + D₂O → 2b + HD/D₂ THF, t.a., 5h NSsAgPd 7a e 7m			
Entradas	Produto	Conv. (%) ^[b]	Porcentagem de deuteração (%) ^[c]
1	7m	96	64
2	7a	92	86

^[a]Condições reacionais: dimetil(fenil)silano **1a** (0,1 mmol), D₂O (50 μ L), Imina **5m** ou acetona α,β -insaturada **5a** (0,0125 mmol), THF (1 mL), t.a., 5h à 800 rpm. ^[b] A conversão foi calculada através de dados de CG-EM. ^[c] A porcentagem de deuteração foi calculada através de dados de massas de alta obtidos em um *Mass Spectrum* (MICROTOF – Bruker Daltonics, ESI+).

Utilizando as condições mencionadas acima, conseguimos a redução dos substratos **5a** e **5m** em 92 e 96% de conv. respectivamente (**Tabela 9, Entradas 1 e 2**). Os

espectros de CG-EM dos produtos reduzidos utilizando H₂O como agente oxidante (**Figura 23**) e dos produtos reduzidos utilizando D₂O (**Figura 24**) estão ilustrados a seguir.

Figura 23. Espectro de CG-EM dos compostos **6m** e **6a** hydrogenados utilizando dimetil(fenilsilano) como doador de hidrogênio e NSsAgPd como catalisador: A) Espectro de massas de **6m**; B) Espectro de massas de **6a**.

Figura 24. Espectro de CG-EM dos compostos deuterados: A) Espectro de massas de **7m**; B) Espectro de massas de **7a**.

Pelos espectros de massas apresentados nas **Figuras 23 e 24**, conseguimos evidenciar a deuteração destes compostos, por meio da diferenciação isotópica que aparece nos espectros. Entretanto, como essa não é uma análise tão precisa para este tipo de determinação, resolvemos fazer a análise destas amostras utilizando um cromatógrafo de massas de maior resolução (MICROTOF – Bruker Daltonics, ESI+). Assim, através desta análise, conseguimos chegar aos dados da taxa de deuteração apresentados na **Tabela 9 (Entradas 1 e 2)**.

Espectros de RMN de ^1H foram coletados para as amostras. Em uma análise de RMN de ^1H , poderíamos ver a taxa de deuteração dos compostos por meio da área e da distinção do deslocamento sinais dos deutérios adicionados, e pela multiplicidade dos sinais, mas esta distinção não foi possível, pois os sinais ficaram muitos próximos e bem parecidos com os dos compostos não deuterados (**Anexos: A92 e A93**).

Estes novos espectros de massas obtidos evidenciam claramente o aumento da presença de átomos de deutério nas moléculas. Nas **Figuras 25 e 26** são ilustrados os espectros dos compostos **7m** e **7a**.

Figura 25. Espectro de massas (MICROTOF – Bruker Daltonics, ESI⁺): A) *N*-(4-clorobenzil)anilina (**6m**); B) *N*-(4-clorobenzil)anilina (**7m**) submetida ao processo de deuteração.

Figura 26. Espectro de massas (MICROTOF – Bruker Daltonics, ESI+): A) 3-(4-clorofenil)-1-fenilpropan-1-ona (**6a**); B) 3-(4-clorofenil)-1-fenilpropan-1-ona (**7a**) submetida ao processo de deuteração.

Através das áreas dos sinais no espectro de massas foi possível determinar que os compostos **7m** e **7a** apresentam uma porcentagem do átomo de deutério em sua estrutura em aproximadamente 86% e 64%, respectivamente (**Tabela 11, Entradas 1 e 2**).

O estireno **5g** e o estilbeno **5j** também foram submetidos ao processo de marcação de deutério, mas eles apresentaram baixas taxas de conversão para o produto reduzido 4% e 25%, respectivamente. Devido a essas baixas conversões, não foram feitas outras análises com os produtos destas reações (**Anexo A39**).

3.7. Hidrogenação de compostos orgânicos em fluxo contínuo catalisado por NSsAgPd imobilizadas em sílica

Há alguns anos processos em fluxo contínuo eram somente utilizados em processos industriais na petroquímica e produção de produtos químicos a granel, onde processos contínuos complexos levavam a obtenção do produto desejado de um modo mais econômico e rápido.¹⁵⁹

Recentemente, metodologias de fluxo contínuo ganharam muita atenção dos químicos sintéticos. Razões para esse interesse podem ser encontradas nas características dos reatores de fluxo. Normalmente, um processo de fluxo contínuo é executado, em uma escala chamada de "microrreator", um dispositivo de pequeno diâmetro no qual a reação ocorre sob condições rigorosamente controladas em um espaço confinado. A grande peculiaridade de um sistema de fluxo é uma taxa de transferência de calor e massa, que permite acelerar a taxa de reação para que a produtividade seja geralmente melhorada em relação ao sistema em *batch*. Não só a transferência de calor é favorecida, mas também a troca de calor pode ser precisamente monitorada: devido às pequenas dimensões, é muito fácil aplicar e remover uma fonte

---

¹⁵⁹ Darvas, F.; Hessel, V.; Dorman, G. Flow Chemistry; De Gruyter: Berlin, **2014**.

de aquecimento, permitindo assim um controlo de temperatura muito precisa do microrreator e assim evitar processos exotérmicos perigosos não controlados.^{160,161,162}

Por causa das excelentes vantagens do uso de um processo em fluxo contínuo, decidimos adotar este sistema, para redução de compostos orgânicos utilizando silanos como fonte de hidrogênio.

Para o sistema em fluxo contínuo, foi necessário confinar o nosso catalisador NSsAgPd dentro de um reator (PBR, *packed bed reactor*). Para isso, o catalisador teve que ser suportado em partículas de SiO₂ (tamanho do poro 22 Å, 800 m²/g; CAS: 112926-00-8, Sigma–Aldrich: 214396). O tamanho e porosidade da partícula de SiO₂ são essenciais, principalmente a porosidade, pois foram neste poros que as nanopartículas ficaram adsorvidas.

A incorporação da NSsAgPd sobre a sílica foi realizada utilizando o método de impregnação por adsorção em uma solução aquosa.¹⁶³ Nesta abordagem, as nanopartículas foram lavadas e concentradas e esta suspensão foi adicionada à sílica comercial. Esta solução foi agitada à temperatura ambiente por 24h. Depois, a sílica contendo as nanopartículas foi lavada com água e etanol e seca a 120°C por 2h (Esquema 42).

Esquema 42. Imobilização das NSsAgPd em SiO₂.

¹⁶⁰ Porta, R.; Benaglia, M.; Puglisi, A. *Organic Process Research and Development*, **2016**, 20, 2–25.

¹⁶¹ Reizman, B. J.; Jesen, K, F. *Accounts of Chemical Research*, **2016**, 49, 1786–1796.

¹⁶² Britton, J.; Raston, C. *Chemical Society Reviews*, **2017**, 46, 1250-1271 .

¹⁶³ Rodrigues, T. S.; da Silva, A. G. M.; Gonçalves, M. C.; Fajardo, H. V.; Balzer, R.; Probst, L. F. D.; Camargo, P. H. C. *ChemNanoMat*, **2015**, 1, 46-51.

A imobilização ocorreu via adsorção das nanopartículas com a sílica. Isso acontece devido às interações que acontecem entre os grupos de óxido de silício presente na sílica com os metais da nanopartícula.

A caracterização deste material foi feita através de imagens de um microscópio eletrônico de varredura (MEV), **Figura 27**. Outras imagens desta caracterização podem ser encontradas no **Anexo (A11-A14)**.

Figura 27. Imagem de MEV das nanopartículas de AgPd imobilizadas em SiO₂.

Além de comprovar a imobilização pelas imagens de MEV, vimos que as NSsAgPd são adsorvidas na superfície da sílica de maneira uniforme.

Depois do processo de imobilização partimos então para o confinamento das nanopartículas, agora denominadas de SiO₂-AgPd, no interior do reator.

O Reator consiste num tubo de aço inox (1 /4 in. × 4.6 mm × 5 cm). Dentro do reator foram aprisionadas aproximadamente cerca de 515 mg de sílica contendo as nanopartículas imobilizadas (SiO₂-AgPd) (**Figura 28**). A quantidade de paládio

presente na sílica foi determinada por ICP-OES. Foi determinado que em 1g de sílica continham aproximadamente 1% de paládio.

Figura 28. Reator (PBR) contendo SiO₂-AgPd.

Depois de confinado as SiO₂-AgPd dentro do PBR, partimos então para a montagem do nosso sistema em fluxo contínuo. O sistema era inicialmente composto de uma bomba de fluxo (PHD ULTRA, Harvard Apparatus), uma seringa de aço inox de 8 mL de infusão (em que eram confinados as soluções contendo os substratos), reator preenchido com SiO₂-AgPd, uma coluna de celite (640 mg) e o regulador de pressão (BPR, 75 psi). A **Figura 29** ilustra o sistema montado e uma foto do sistema real montado encontra-se abaixo, **Figura 30**.

Figura 29. Esquema do sistema de fluxo contínuo composto por: 1) PHD ULTRA, Havard Apparatus; 2) Seringa de aço inox de 8 mL 3) PBR preenchido com $\text{SiO}_2\text{-AgPd}$; 4) Coluna de celite; 5) BPR.

Figura 30. Sistema de fluxo contínuo composto por: 1) PHD ULTRA, Havard Apparatus; 2) Seringa de aço inox de 8 mL 3) PBR preenchido com $\text{SiO}_2\text{-AgPd}$; 4) Coluna de celite; 5) BPR.

A coluna de celite tinha a função de impedir que possíveis nanopartículas provindas do desprendimento da sílica viessem a entupir o regulador de pressão. O regulador de pressão foi adicionado para equalizar a pressão no sistema de fluxo contínuo, ele se fez necessário pois, uma vez que temos a formação de gás dentro do sistema, este pode “empurrar” o substrato para fora do reator mais rapidamente, assim o regulador equaliza a pressão dentro do sistema.

Depois de montado o sistema em fluxo contínuo, determinamos então o volume do reator. Com este dado (volume do solvente/solução dos substratos que cabe dentro do reator), e utilizando uma determinada taxa de infusão é possível determinar o tempo de residência do substrato dentro do reator.

Para determinar o volume do reator, a seringa foi preenchida com acetona. A bomba foi então ajustada para uma determinada taxa de infusão (100 µL/min). Pelo visor da bomba, pudemos acompanhar a quantidade de solvente eluído. Para determinar o volume do reator, foi tirada a diferença entre os volumes de entrada e saída do solvente. Para este reator, determinamos um volume aproximado de 578 µL.

Tendo em mãos o volume de líquido que é possível confinar no reator, nós conseguimos determinar a taxa de infusão desejada para um determinado tempo de residência dos substratos:

$$\text{Taxa de infusão} : \frac{\text{volume do reator}}{\text{tempo de retenção}} \mu\text{L/min.}$$

Inicialmente testamos as melhores condições para oxidação do silano e produção do H₂ sob condições de fluxo contínuo. Para isso, uma solução de dimetil(fenil)silano (**1a**) (10 mmol/L) foi preparada em um balão volumétrico (10 mL) contendo acetona/água (10:1). Esta solução foi então adicionada à seringa e a taxa de infusão da bomba foi ajustada para apresentar os tempos de residência (t_R) desejáveis (10, 30 e 60 min). Esta reação foi realizada a temperatura ambiente.

Foi necessário deixar a mistura reacional fluindo por um determinado tempo para estabilizar o sistema, bem como preencher todo o sistema com a solução reacional. Neste caso, deixamos o sistema eluindo por três vezes o tempo de retenção. Este tempo

de estabilização foi adotado para todos os experimentos utilizando o equipamento de fluxo contínuo. Depois do tempo de estabilização, três alíquotas adotando os seguintes t_R foram feitas (10, 30 e 60 min). Estas três coletas foram então analisadas por CG-EM e a conversão do silano **1a** a silanol **2a** foi analisada adotando a média (**Tabela 12**).

Tabela 12. Oxidação do dimetil(fenil)silano **1a** utilizando condições de fluxo contínuo, reações com t_R de 10, 20 e 30 min.^[a]

Entrada	$t_R(\text{min.})$	2a (%) ^[b]
1	10	61
2	30	>99%
3	60	>99%

^[a]Condições reacionais de operação em fluxo contínuo: dimetil(fenil)silano **1a** (10mmol/L), acetona/água (10:1) em t.a. e t_R pré determinado, Reator (PBR) é composto por uma tubulação de aço inoxidável (1 /4 polegadas. x 4.6 mm x 5 cm; volume do reator preenchido: 578 μL), este foi preenchido com $\text{SiO}_2\text{-AgPd}$ (515 mg), a coluna de celite continha 640mg, o BPR utilizado era de 75psi. ^[b] As conversões foram determinadas através da análise de dados de CG-EM.

Utilizando um $t_R = 10$ min, uma conversão de 61% para formação do silanol **2a** foi alcançada (**Tabela 12, Entrada 1**). Como não tivemos conversão total do silano decidimos aumentar o tempo de residência para 30 minutos. Com este novo t_R foi alcançada uma conversão >99% para a formação do silanol **2a** (**Tabela 12, Entrada 2**). Um $t_R = 60$ min também foi adotado e uma conversão >99% foi encontrada com uma seletividade >99% (**Tabela 12, Entrada 3**).

Nestas reações de oxidação foi possível observar a formação do hidrogênio gasoso logo após a saída do reator (**Figura 31**).

Figura 31. Hidrogênio formado na saída do reator preenchido com $\text{SiO}_2\text{-AgPd}$, reação de oxidação do dimetil(fenil)silano **1a**.

Vimos pelos resultados apresentados na **Tabela 12** que t_R de 30 e 60 minutos são suficientes para a oxidação total do silano **1a** ao silanol **2a**. Determinada esta condição, partimos para a segunda parte do processo: introdução de um composto orgânico nesta reação visando a hidrogenação do mesmo. Como já dito, foi pensado em desenvolver este sistema em fluxo tentando aprimorar as conversões para a hidrogenação de compostos orgânicos utilizando como fonte de hidrogênio silanos. Acreditávamos que utilizando um sistema em fluxo contínuo haveria uma maior interação entre o hidrogênio formado, catalisador e o substrato. Além disso, o sistema em fluxo permite o reaproveitamento constante do catalisador imobilizado o que leva a uma diminuição do custo reacional.

Iniciamos os testes pela tentativa de redução da cinamonitrila (**5d**) utilizando sistema em fluxo (**Tabela 13**). A cinamonitrila (**5d**) foi escolhida como substrato para hidrogenação pois apresentou um excelente resultado para as reações de hidrogenação em *batch*. Os dados de conversões (analisadas por CG-EM), concentração do substrato, solvente e tempo de residência estão ilustrados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Hidrogenação da cinamonitrila **5d** utilizando como doador de hidrogênio o dimetil(fenil)silano **1a** em condições de fluxo contínuo.^[a]

Entrada	t_R (min)	T (°C)	[1a] (mmol/L)	[5d] (mmol/L)	Conv. 2a (%) ^[b]	Conv. 6d (%) ^[b]
1	30	25	10	1,25	>99	36
2	60	25	10	1,25	>99	35
3	60	35	10	1,25	>99	29
4	30	25	25	5	>99	14
5	30	80	25	5	>99	16

^[a] Condições reacionais de operação em fluxo contínuo: dimetil(fenil)silano **1a** (10 ou 25 mmol/L), cinnamonitrila **5d** (5 ou 1,25 mmol/L), acetone/H₂O (10:1), a uma temperatura pré-estabelecida e um t_R pré-determinado, o Reator (PBR) é composto por uma tubulação de aço inoxidável (1 /4 polegadas. x 4.6 mm x 5 cm; volume do reator preenchido: 578 μ L) este foi preenchido com SiO₂-AgPd (515 mg), a coluna de celite continha 640mg, o BPR utilizado era de 75psi. ^[b] As conversões foram determinadas por análise de CG-EM.

Analizando os dados da **Tabela 13**, vimos que a melhor condição reacional para o sistema de fluxo contínuo visando a redução da cinamonitrila **5d** possui um t_R = 30 minutos, 25°C, concentrações do silano **1a** de 10 mmol/L e da cinamonitrila (**5d**) de 1,25 mmol/L, alcançando 36% de conversão para a produção da fenilpropanonitrila (**6d**) (**Tabela 13, Entrada 1**). Comparando este resultado com o encontrado quando esta mesma reação foi realizada em *batch*, vimos que os resultados em *batch* mostram-se superiores.

Tentando aumentar a taxa de conversão do produto reduzido, fizemos mudanças no t_R , temperatura e concentração dos substratos. Mantendo a temperatura do reator em 25°C e as concentrações dos reagentes em 10 mmol/L do silano **1a** e 1,25 mmol/L da

cinamonitrila (**5d**), aumentamos o t_R da reação de 30 para 60 minutos e assim foram alcançados conversões bastante parecidas com a da **Entrada 1, Tabela 13**, de 35% (**Tabela 13, Entrada 2**). Aumentando a temperatura do reator de 25°C para 35°C e mantendo as concentrações dos reagentes em 10 mmol/L do silano **1a** e 1,25 mmol/L da cinamonitrila (**5d**) e um $t_R = 60$ minutos, alcançamos uma conversão de 29% para produto reduzido **6d** (**Tabela 13, Entrada 3**). Depois, mantendo um $t_R = 30$ minutos e temperatura do reator em 25°C, aumentamos a concentração dos substratos para 25 mmol/L do silano **1a** e diminuimos a quantidade da cinamonitrila (**5d**) para 5 mmol/L e assim alcançamos uma conversão de 14% (**Tabela 13, Entrada 4**) para produto reduzido **6d**, obtendo quase que uma queda de 50% de conversão. Por fim, resolvemos aumentar a temperatura do reator, para 80°C, e mantivemos a concentração dos reagentes em 25 mmol/L do silano **1a** e 5 mmol/L da cinamonitrila (**5d**) com um $t_R = 30$ minutos. Com estas condições, foi obtido um valor de conversão de 16% (**Tabela 13, Entrada 5**). Neste último experimento, a elevação da temperatura fez com que o hidrogênio fosse produzido de uma maneira tão vigorosa que isso pode ter atrapalhado no andamento da reação de redução.

Como o nosso melhor resultado para a redução da cinamonitrila **5d** foi de 36%, decidimos fazer mudanças no sistema de fluxo adicionando um novo reator (PBR2) no processo, ligado em sequência com o reator anterior, **Esquema 43**. Pretendíamos com isso aumentar a conversão para a reação de redução, já que, teoricamente, no segundo reator teríamos novamente o contato direto do hidrogênio formado no primeiro reator com a nanopartícula e o substrato.

Esquema 43. Sistema em fluxo contínuo para redução da cinamonitrila (**5d**) utilizando como fonte de hidrogênio o dimetil(fenil)silano (**1a**) com reatores preenchidos com $\text{SiO}_2\text{-AgPd}$.

Utilizando um sistema em fluxo contínuo com dois reatores como demonstrado do **Esquema 42**, um $t_R = 30$ minutos, a t.a. conseguiu-se >99% de conversão do silano **1a** ao silanol **2a**, mas apenas 33% de conversão do produto hidrogenado, a fenilpropanonitrila **6d**. O cromatograma da reação encontra-se abaixo, **Figura 32**.

Figura 32. Cromatograma para redução da cinamonitrila **5d** utilizando como fonte de hidrogênio o dimetil(fenil)silano **1a** em condições de fluxo contínuo utilizando dois reatores.

Ainda buscando melhorar a conversão do produto de redução, fizemos mais modificações no sistema de fluxo contínuo. Montamos um sistema com duas seringas de infusão e dois reatores. Uma das seringas continha somente a solução do dimetil(fenil)silano (**1a**) (10 mmol/L) em acetona/água (10:1) e a outra continha a cinnamonitrila (**5d**) (1,25 mmol/L) em acetona/água (10:1). Além disso, o segundo reator teve a temperatura elevada para 35°C, **Esquema 44**. A separação dos substratos em duas seringas foi feita para que em uma delas tivéssemos a produção isolada do gás hidrogênio. O gás hidrogênio entraria, assim, em contato com o substrato dentro do reator 2 contendo o catalisador e o substrato de redução.

Esquema 44. Sistema de fluxo contínuo com duas seringas e dois reatores.

Com um $t_R = 30$ minutos apenas 20% de conversão para o produto reduzido **6d** foi alcançada. Como esse sistema em fluxo contínuo apresentou uma menor conversão para o produto reduzido comparado ao que mostramos anteriormente, voltamos a trabalhar com o sistema contendo uma seringa e dois reatores ligados sequencialmente.

Utilizando este sistema em fluxo contínuo, outros substratos além da cinnamonitrila (**5d**) foram testados. Dentre os substratos escolhidos temos o bifenilacetileno (**5l**) e a (*E*)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**5a**), **Tabela 14**.

Estes substratos foram escolhidos pois apresentaram bons resultados para a reação de hidrogenação em *batch*.

Tabela 14. Redução dos compostos orgânicos **5a**, **5d** e **5l** utilizando como fonte de hidrogênio o dimetil(fenil)silano **1a** em um sistema de fluxo contínuo.^[a]

C[Si](C)c1ccccc1 (**1a**, 10 mmol/L) + Substratos **5a**, **5d** e **5l** $\xrightarrow{\text{Acetona/H}_2\text{O (10:1)}}$ C[Si](C)(O)c1ccccc1 (**2a**) + Produtos **6a**, **5d** e **5l**

Entrada	Substratos	t_R (min)	PBR 2 T(°C)	Produtos conv. (%) ^d
1	 5d	30	25	40
2	 5l	30	25	44
3		30	25	27
4		30	35	67
5	 5a	60	50	92

^[a] Condições reacionais de operação em fluxo contínuo: dimetil(fenil)silano **1a** (10 mmol/L), substratos **5a**, **5d** e **5l** (1,25 mmol/L), acetone/H₂O (10:1), 25°C para BPR 1 e a uma temperatura pré-estabelecida para PBR 2 e um t_R pré-determinado, os reatores (PBR) são compostos por uma tubulação de aço inoxidável (1/4 polegadas. x 4.6 mm x 5 cm; volume do reator preenchido: 578 μ L) estes foram preenchido com SiO₂-AgPd (~500 mg), a coluna de celite continha 640mg, o BPR utilizado era de 75psi. ^[b] As conversões foram determinadas por análise de CG-EM.

Com um t_R = 30 minutos e a temperatura dos reatores em 25°C, obtivemos a hidrogenação da cinamonitrila (**5d**), bifenilacetileno (**5l**) e (*E*)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**5a**) com 40, 44 e 27% de conversão, respectivamente (**Tabela 14**, Entradas 1-3).

Um resultado interessante foi observado na redução do bifenilacetileno (**5l**) utilizando sistema em fluxo contínuo. Ao invés do substrato **5l** ser reduzido para o difeniletano, como foi observado nas reações em *batch*, tivemos a formação do (Z)-1,2-difeniletano. Resultado este comprovado por CG-EM (**Anexo A38**) e RMN ^1H (**Anexo A90-91**). Este resultado ajuda a comprovar que nosso mecanismo de hidrogenação acontece mesmo via adição *syn*.

Tentando melhorar a taxa de redução da (E)-1-(4-clorofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**5a**), o segundo reator (PBR 2) teve a temperatura elevada para 35°C e assim foi alcançada uma conversão de 67% (**Tabela 14, Entrada 4**). A temperatura do segundo reator (PBR 2) também foi elevada para 50°C, utilizando um $t_R = 60$ min e uma conversão de 92% foi alcançada (**Tabela 14, Entrada 5**). Essa condição forneceu nosso melhor resultado para as reações de hidrogenação utilizando como fonte de hidrogênio compostos de silício, sob condições de fluxo contínuo.

A baixa conversão neste estudo, pode estar ligada ao envenenamento do catalisador, ocasionado pela formação do silanol. O catalisador imobilizado pode estar sendo funcionalizado pelo silanol produzido, o que diminuiria assim a área de superfície catalítica.

Por isso, ao final de um experimento sob condição de fluxo, uma pequena alíquota das $\text{SiO}_2\text{-AgPd}$ foi retirada de dentro de reator e submetida à análise de infravermelho (FTIR). Uma alíquota das $\text{SiO}_2\text{-AgPd}$ que nunca tinha sido utilizada em reações de oxidação e redução também foi avaliada por análise de infravermelho. Assim, estes resultados foram comparados, **Figura 33**.

Figura 33. Espectros de IV: A) SiO₂-AgPd novas; B) SiO₂-AgPd utilizados no sistema de fluxo contínuo.

Se houvesse envenenamento do catalisador poderíamos ver as bandas referentes ao silanol (Si-OH, 960 cm⁻¹) nas SiO₂-AgPd utilizadas nas reações em fluxo, mas, comparando os experimentos, vimos que os espectros de FTIR são exatamente iguais,

assim a hipótese de envenenamento foi descartada. Como não há envenenamento, uma hipótese para uma menor reatividade das reações em fluxo pode estar ligada à imobilização das NSsAgPd em sílica gel. Quando imobilizamos as nanopartículas em sílica, temos a perda da área superficial da partícula, diminuindo assim a área superficial do catalisador.

Conclusões e desafios futuros

4. CONCLUSÕES E DESAFIOS FUTUROS

De modo geral, os avanços e desafios apresentados no desenvolvimento desta tese podem ser resumidos da seguinte maneira (**Esquema 45**).

Esquema 45. Resumos dos avanços e desafios encontrados nos trabalhos desenvolvidos nesta tese.

A oxidação de compostos de silano é de extrema importância uma vez que estes são essenciais na síntese orgânica e como precursores de materiais poliméricos. A busca de metodologias que produzam esses compostos de forma catalítica e seletiva é de extrema importância.

Tão importante quanto a formação de silanóis é o desenvolvimento de novas metodologias para a redução de compostos orgânicos, pois as metodologias existentes, de certa forma, apresentam desafios metodológicos como periculosidade e produção de resíduos.

De modo geral, mostramos que nanopartículas bimetálicas de AgAu, AgPd e AgPt são excelentes catalisadores para a oxidação de compostos de silano. Esta metodologia mostrou ser seletiva, utilizou condições reacionais mais verdes e limpas, uma vez que a água foi utilizada como agente oxidante e que o nosso catalisador não gera resíduos tóxicos, além deles poderem ser reaproveitados.

As nanopartículas bimetálicas de AgAu, AgPd e AgPt também foram utilizadas como suporte de lipase e com isso catalisadores metálico-enzimáticos (CMEs) foram formados. Estes catalisadores ainda apresentaram uma dupla atividade catalítica, atividade catalítica para oxidação de compostos de silano e acetilação enantiosseletiva de álcoois secundários, como o (*R,S*)-1-(fenil)etanol, sendo que a atividade da enzima imobilizada foi superior à da enzima livre.

Nanopartículas bimetálicas de AgPd foram testadas como catalisadores em reações orgânicas de redução de compostos orgânicos utilizando como fonte de hidrogênio compostos de silano e em reações de deuteração de compostos orgânicos.

Um grande escopo de compostos foi reduzido utilizando NSsAgPd como catalisador, sendo que conversões >99% foram alcançadas. Sobre a marcação de compostos orgânicos com deutério, nós substituímos o H₂O das reações de hidrogenação por D₂O levando à formação de HD/D₂ e estes foram então utilizados para a deuteração dos compostos. Nestes experimentos, uma taxa de deuteração maior que 60% foi alcançada para os compostos escolhidos.

Por último, as NSsAgPd foram imobilizadas em sílica comercial, confinadas em um reator e este foi utilizado em reações, utilizando sistema de fluxo contínuo para a oxidação e redução de silanos e compostos orgânicos, respectivamente. Este sistema sob fluxo contínuo era algo totalmente inédito para as reações selecionadas. Os resultados obtidos foram bem promissores, uma vez que os produtos puderam ser obtidos com boas taxas de conversão com baixíssimos tempos reacionais e, além disso, os catalisadores bimetálicos de AgPd (SiO_2 -AgPd) puderam ser reutilizados em todas as reações de fluxo realizadas.

Parte Experimental

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Materiais

As enzimas imobilizadas e livres foram adquiridas da Sigma-Aldrich e preservadas a 4°C. Todos os solventes utilizados eram de grau ACS ou HPLC. O THF utilizado foi tratado com sódio como agente secante e benzofenona como indicador sob atmosfera de nitrogênio. O tolueno seco foi obtido por meio de uma destilação com CaH₂ sob atmosfera de nitrogênio. Os silanos **1a**, **1h**, **1i** e **1l** e os demais reagentes utilizados foram comprados da Sigma-Aldrich e utilizados sem mais purificações.

As análises cromatográficas em camada delgada (CCD) foram realizadas com cromatofolhas de sílica gel F₂₅₄ da marca Merk®, que foram reveladas sob luz ultravioleta ($\lambda = 254$ nm) e solução de vanilina acidificada seguido de aquecimento.

As purificações foram feitas por meio de colunas cromatográficas utilizando como fase estacionária sílica gel de grande pureza da Sigma-Aldrich, 60Å.

As análises de cromatografia gasosa (CG) para determinação da conversão dos substratos ou análise do excesso enantiomérico foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu 17-A, equipado com um detector de ionização de chama. As colunas utilizadas foram: coluna com fase estacionária quiral e não quiral (Coluna quiral: Varian CP-Chiralsil-DEX CB β -ciclodextrina (25 m x 0,32 mm x 0,25 μ m; Coluna não quiral: RTX®-5MS, 5% difenil/95% dimetil polisiloxane, 60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m).

As análises de massas foram feitas utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massas (CG-EM), GCM-QP2010SE (Shimadzu) por impacto de elétrons (EI, *Eletrons Impact*, 70eV) equipado com uma coluna capilar RTX®-5MS, 5% difenil/95% dimetil polisiloxane, 60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m).

As análises de massas de alta resolução foram feitas utilizando um aparelho Bruker Daltonics MicroTOF, com detector (*eletron spray ionization – time of fly*) operando em modo positivo.

As imagens de microscopia foram adquiridas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV), JEOL com Microscópio eletrônico equipado com uma pistola de emissão de elétrons JSM 6330F operando em 5 kV ou adquiridas através de um microscópio eletrônico de transmissão (MET), utilizando os aparelhos JEOL 1010 operando em 80 kV ou JEOL JEM 2100 operando em 200 kV.

Os espectros de infravermelho foram realizados utilizando um espectrômetro FTIR BOMEM MB-100 (Hartman–Braun) equipado com um detector padrão DTGS/KBr. O intervalo dos espectros foi ajustado para 4000–400 cm^{-1} com uma resolução de 4 cm^{-1} , por Win-Bomem Easy software.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C foram obtidos em um Bruker DPX 300, operando a 300 MHz (RMN ^1H) ou 75 MHz (RMN ^{13}C). Os deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^1H são descritos em ppm, em relação ao tetrametilsilano (TMS utilizado como padrão interno para espectros de RMN ^1H) e CDCl_3 (para os espectros de RMN ^{13}C). Os dados são reportados da seguinte maneira: deslocamento químico (δ), multiplicidade (s = singleto, d = dubleto, dd = duplo-dubleto, t = tripleto, q = quadrupeto, qui = quinteto...), constante de acoplamento (J) em Hertz (Hz) e intensidade integrada.

5.2. Síntese das nanopartículas bimetálicas de AgAu, AgPd e AgPt (NSsAgAu, NssAgPd e NSsAgPt)

A síntese dos nanomateriais foi realizada por meio de estudo em colaboração com o Prof. Dr. Pedro H. C. Camargo do Instituto de química da USP.

As nanopartículas bimetálicas de AgAu, AgPd e AgPt foram obtidas através de uma reação de substituição galvânica entre nanopartículas de prata (chamadas *seeds*) e os sais metálicos AuCl_4^- (aq), PdCl_4^{2-} (aq) e PtCl_6^{2-} (aq). As nanopartículas de prata foram preparadas através de redução química entre o nitrato de prata com citrato de sódio. Em um experimento padrão foram preparadas soluções de 50 mL de citrato de sódio 0,31M, 50 mL de nitrato de prata 0,25 M e borohidreto de sódio 0,25 M. As soluções de citrato de sódio e nitrato de prata foram adicionadas em um erlenmeyer e agitadas por 30 min. Depois, 5mL da solução de borohidreto de sódio foi adicionado lentamente e a agitação foi mantida por mais 10 minutos. A solução foi aquecida até levantar fervura, permaneceu aquecida por mais 90 minutos e foi resfriada em temperatura ambiente, resultando em uma solução de coloração amarela-esverdeada (Nanopartículas de prata). Para a síntese da nanopartícula bimetálica de AgAu, AgPd e AgPt, 27,8 mL da solução de nanopartículas de prata foram misturadas a uma solução de PVP (1 mg/mL, MM 55,000 g/mol), esta solução foi então adicionada a um balão de 1000 mL. Este sistema foi aquecido a 100°C por 10 min. Depois, 200 mL de uma solução aquosa de AuCl_4^- (aq), PdCl_4^{2-} (aq) ou PtCl_6^{2-} (aq) (2 mM) foi adicionado gota a gota na reação, seguido de aquecimento a 100°C por 10 min. Depois de esfriada a temperatura ambiente, a solução foi lavada 3 vezes com água via centrifugação (7000 rpm), pela retirada do sobrenadante. As soluções resultantes tiveram suas concentrações metálicas mensuradas: AgAu (Ag: 25,5 mg/L Au: 10,1 mg/L), AgPd (Ag: 47,7 mg/L Pd: 18,8 mg/L) e AgPt (Ag: 14,9 mg/L Pt: 20,1 mg/L).

5.3. Preparação das amostras para MEV

As amostras de MEV foram preparadas via gotejamento de uma suspensão aquosa contendo as nanopartículas sobre uma barra de silicone, seguido de sua secagem à temperatura ambiente.

5.4. Preparação das amostras para MET

As amostras de MET foram preparadas via gotejamento de uma suspensão aquosa contendo as nanopartículas sobre um gride de cobre coberto por carbono, seguido de sua secagem à temperatura ambiente.

5.5. Procedimento para preparação da 4-(dimetilsilil)benzonitrila **1b**¹⁶⁴

A uma solução de 4-bromo-benzonitrila (5 mmol, 0,91 g) em THF seco (11 mL) sob atmosfera inerte a -20 °C, uma solução de *i*PrMgCl em THF (6,5 mmol, 0,70 mol/L, 9,3 mL) foi adicionada gota a gota. Deixou-se reagir por 30 min a -20 °C e então a mistura foi transferida através de uma canula para outro balão contendo o clorodimetilsilano (7,5 mmol, 0,91 mL) solubilizado em THF seco (11 mL) a -20 °C. Então, deixou-se o sistema atingir a temperatura ambiente e reagir por mais 16h. Em seguida, porções de H₂O (5 mL) e Et₂O (10 mL) foram adicionadas e a fase orgânica foi então separada. A fase aquosa foi extraída com Et₂O (2 x 20 mL), e as fases orgânicas foram combinadas e lavadas com solução saturada de NaCl (2 x 10 mL), secas com Na₂SO₄ e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O composto foi purificado por

¹⁶⁴ Rayment, E. J.; Summerhill, N.; Anderson, E. A. *Journal of Organic Chemistry*, **2012**, *77*, 7052-7060.

coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária sílica gel e como fase móvel hexano/acetato de etila (9:1). O produto puro foi obtido com 62% de rendimento. Os dados espectroscópios estão de acordo com a literatura.

4-(dimetilsilil)benzonitrila (1b)

Rendimento: 0,17 g (62%). Óleo incolor. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,36 (d, J = 3,8 Hz, 6H), 7,64 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,90 (d, J = 8,2 Hz, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) -3,39, 114,52, 119,45, 137,73, 144,38, 144,55. CG-EM [m/z (%)] = 161 [M] $^+$, 146 (92), 130 (16), 119 (10), 103 (13), 91 (9), 75 (7), 58 (100), 43 (82), 39 (5).

5.6. Procedimento para preparação do *dimetil(naftalen-2-il)silano 1c*¹⁶⁰

A um balão de duas bocas de 25 mL sob atmosfera inerte, magnésio (6 mmol, 0,143 g) e um cristal de I_2 foram adicionados em THF seco (1 mL). Então o 2-bromonaftaleno (5 mmol, 1,03 g) solubilizado em 2 mL de THF seco foi adicionado à mistura. Deixou-se reagir por 1h à temperatura ambiente. Então, a mistura foi resfriada até 0 °C e o cloro-dimetilsilano (6 mmol, 0,56 g, 0,67 mL) foi adicionado gota a gota. Em seguida, deixou-se o sistema atingir a temperatura ambiente e reagir por 16h. Porções de H_2O (5 mL) e Et_2O (10 mL) foram adicionadas e a fase orgânica foi então separada. A fase aquosa foi extraída com Et_2O (2 x 20 mL), e as fases orgânicas foram combinadas e lavadas com solução saturada de NaCl (2 x 10 mL), secas utilizando Na_2SO_4 e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O composto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária sílica gel e como fase móvel

hexano e o produto puro foi obtido com 60% de rendimento. Os dados espectroscópicos estão de acordo com a literatura.

Dimetil(naftalen-2-il)silano (1c)

Rendimento: 0,55 g (60 %). Óleo incolor. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,41 (s, 3H), 0,43 (s, 3H), 4,55 (m, 1H), 7,47-7,86 (m, 7H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -3,71, 125,94, 126,37, 127,04, 127,71, 127,97, 130,16, 132,93, 133,78, 134,66, 134,88. CG-EM [m/z (%)] = 186 (59) [$\text{M}]^+$, 171 (100), 155 (16), 128 (12), 115 (5), 77 (3), 58 (18).

5.7. Procedimento para preparação da 1-(4-(dimetilsilil)fenil)etanona 1d¹⁶⁵

A uma solução de 2-(4-bromofenil)-2-metil-1,3-dioxolano (4 mmol, 0,97 g) em THF seco (14 mL), a -70°C sob atmosfera inerte, adicionou-se gota a gota o *n*-butil lítio (4,8 mmol, 1,6 mol/L, 3 mL). Deixou-se reagir a -70°C durante 2h. Em seguida, foi adicionado o cloro-dimetilsilano (4,8 mmol, 0,45 g, 0,52 mL) gota a gota e deixou-se reagir por mais 1h a -70°C e só então permitiu-se que o sistema atingisse a temperatura ambiente, esta reação foi deixada reagir *over night*. Ao sistema, adicionou-se H_2O (10 mL) e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com AcOEt (2 x 30 mL) e as fases orgânicas foram combinadas e lavadas com solução saturada de NaCl (2 x 30 mL). A fase orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo orgânico bruto foi tratado com uma mistura de HCl (1 mol/L, 10 mL) e acetona (20 mL). Deixou-se o sistema reagir sob refluxo durante 1h. Em seguida, evaporou-se o solvente orgânico e adicionou-se CH_2Cl_2 (5 mL). Separou-se a fase

¹⁶⁵ Souza, D. J. P. Avanços e desafios na biocatálise dos compostos orgânicos de silício. 2014. 308 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2014.

orgânica e a fase aquosa foi extraída com CH_2Cl_2 (2 x 7,5 mL), lavada com solução saturada de NaHCO_3 (2 x 7,5 mL) e uma solução saturada de NaCl (2 x 7,5 mL), e seca com Na_2SO_4 . A fase orgânica foi evaporada à pressão reduzida e o composto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária sílica gel e como fase móvel hexano/acetato de etila (9:1) e o produto puro foi obtido com 55% de rendimento. Os dados espectroscópios estão de acordo com a literatura.

1-(4-(dimetilsilil)fenil)etanona (1d)

Rendimento: 0,39 g (55%). Óleo incolor. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,36 (d, J = 3,8 Hz, 6H), 2,61 (s, 3H), 4,45 (sep, J = 3,8, 1H), 7,62 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,90 (d, J = 8,2 Hz, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -3,79, 26,86, 127,52, 134,45, 137,73, 144,38, 198,55.

CG-EM [m/z (%)] = 178 (16) $[\text{M}]^+$, 177 (100), 163 (88), 145 (10), 135 (23), 119 (10), 105 (12), 91 (5), 77 (6), 59 (6), 43 (21).

5.8. Procedimento para a preparação dos silanos 1e-1g

5.8.1. Procedimento geral para a preparação dos cloretos precursores dos silanos

1e-1g¹⁶⁶

A um balão de 250 mL contendo uma barra magnética, adicionou-se o álcool benzílico apropriado (42 mmol) e o HCl concentrado (12 mL). Deixou-se reagir durante 30 minutos à temperatura ambiente. A reação foi interrompida e esperou-se separar as fases. A fase aquosa foi removida utilizando uma pipeta de Pasteur e à fase orgânica adicionou-se mais uma porção de HCl concentrado (2 mL). Deixou-se reagir durante 30

¹⁶⁶ Robinson, J. M.; Daniel, G. T.; Hale, S. J. *Journal of Organic Chemistry*, **1986**, 51, 109-115.

minutos à temperatura ambiente e em seguida a solução resultante foi transferida para um funil de separação. A fase aquosa foi removida e a fase orgânica foi reservada. As fases aquosas reunidas foram extraídas com Et₂O (2 x 25 mL) e as fases orgânicas reunidas foram lavadas com H₂O (4 x 2 mL) e uma solução de NaHCO₃ 5% (1 x 2 mL). As fases orgânicas foram secas com Na₂SO₄ e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto obtido ao final deste processo foi utilizado nas demais reações sem demais purificações. Os produtos foram obtidos com rendimentos que variaram de 75-82%.

5.8.2. Procedimento geral para a preparação do cloreto 1h¹⁶⁰

A um balão de duas bocas de 25 mL contendo uma barra magnética e acoplado a um condensador de refluxo adicionou-se o 1-fenilpropan-2-ol (10 mmol, 1,36 g, 1,37 mL) e a piridina (1,35 mL). A esta mistura, adicionou-se gota a gota o SOCl₂ (10,05 mmol, 1,30 g, 0,80 mL) a -5°C. Deixou-se reagir a temperatura por 5 minutos e então o sistema foi mantido sobre refluxo por 16h. Após este período, adicionou-se outra porção de SOCl₂ (5,42 mmol, 0,65 g, 0,40 mL) e deixou-se reagir por mais 4h. Em seguida, adicionou-se H₂O (2 mL) ao sistema e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com Et₂O (3 x 2 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com H₂O (2 mL), solução de HCl 1 mol/L (2 mL), solução saturada de NaHCO₃ (1 mL), H₂O (2 mL) e por fim uma solução saturada de NaCl (2 mL). A fase orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O composto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária sílica gel e como fase móvel hexano/acetato de etila (9:1) e o produto puro foi obtido com 45% de rendimento.

5.8.3. Procedimento geral para a preparação dos hidrosilanos quirais **1e-1h**¹⁶¹

A um balão de 125 mL de duas bocas acoplado a um condensador de refluxo e sob atmosfera inerte, adicionou-se o magnésio (3,55 equivalentes), um cristal de I₂, o THF seco (3,6 mL/g do cloreto) e o cloro-dimetilsilano (3,5 equivalentes). A este sistema, adicionou-se o cloreto apropriado **1e-h** (1 mmol) gota a gota durante 1h à temperatura ambiente. Em seguida, o sistema foi mantido sob refluxo durante 16h. Depois, o sistema foi tratado com uma solução saturada de NH₄Cl (até cessar a evolução do gás) e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com AcOEt (3 x 20 mL) e as fases orgânicas foram reunidas e lavadas com uma solução saturada de NaCl (2 x 20 mL) e secas sobre Na₂SO₄. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo orgânico foi purificado por coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária sílica gel e como fase móvel hexano. Os produtos puros foram obtidos com 45-75% de rendimento.

Dimetil(1-feniletil)silano (1e)

Rendimento: 2,56 g (75 %). Óleo incolor. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

δ = -0,03 (d, J = 3,6 Hz, 3H), 0,02 (d, J = 3,6 Hz, 3H), 1,41 (d, J = 7,3 Hz, 3H), 2,28 (dq, J = 7,3 Hz, J = 2,8 Hz, 1H), 3,83 (sep, J = 3,6 Hz,

1H), 7,05-7,29 (m, 5H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ = -5,78, -5,69, 15,57, 27,91,

124,71, 127,15, 128,40, 145,75. CG-EM [m/z (%)] = 164 (35) [M]⁺, 149 (15), 135 (11),

145 (8), 135 (15), 121 (18), 105 (57), 104 (100), 77 (13), 59 (93), 43 (13).

Dimetil(1-(p-toluil)etil)silano (1f)

Rendimento: 1,98 g (70 %). Óleo incolor. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = -0,03 (d, J = 3,6 Hz, 3H), 0,01 (d, J = 3,6 Hz, 3H), 1,38 (d, J = 7,5 Hz, 3H), 2,16-2,27 (dq, J = 7,5 Hz, J = 2,8 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 3,82 (m, J = 3,6 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,09 (d, J = 8,1 Hz, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -5,76, -5,68, 15,70, 21,12, 27,37, 127,04, 129,12, 134,04, 142,58. CG-EM [m/z (%)] = 178 (27) [$\text{M}]^+$, 163 (8), 149 (7), 135 (9), 119 (100), 118 (87), 91 (16), 77 (6), 59 (31), 43 (7).

(1-(4-fluorofenil)etil)dimetilsilano (1g)

Rendimento: 0,58 g (47 %). Óleo incolor. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,03 (s, 3H), 0,04 (s, 3H), 7,26 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 2,37 (d, J = 8,8 Hz, 2H). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ = -3,04, -3,79, 126,34, 132,90, 134,11, 135,10, 165,23. CG-EM [m/z (%)] = 182 [$\text{M}]^+$, 163 (18), 145 (5), 135 (52), 118 (94), 100 (65), 91 (52), 85 (16), 59 (100), 43 (12).

Dimetil(1-fenilpropan-2-il)silano (1h)

Rendimento: 0,56 g (45 %). Óleo incolor. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,04 (d, J = 3,7 Hz, 3H), 0,06 (d, J = 3,7 Hz, 3H), 0,91 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,05-1,12 (m, 1H), 2,37 (dd, J = 10,3 Hz, J = 13,7 Hz, 1H), 2,85 (dd, J = 4,9 Hz, J = 13,7 Hz, 1H), 3,78 (sep, J = 3,7 Hz, 1H), 7,14-7,32 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -6,04, -5,79, 14,65, 20,63, 39,04, 125,86, 128,33, 129,08, 142,45. CG-EM [m/z (%)] = 178 (17) [$\text{M}]^+$, 163 (18), 145 (5), 135 (54), 118 (94), 100 (65), 91 (51), 85 (16), 59 (100), 43 (17).

5.9. Procedimento geral para a preparação das cetonas α,β -insaturadas 5a-5c

A um balão de 250 mL foram adicionados a acetofenona (10 mmol), o respectivo aldeído (10 mmol, benzaldeído; *p*-clorobenzaldeído; *p*-Metóxi-benzaldeído ou *p*-*N*-dimetilaminobenzaldeído), KOH (5 mmol) e o MeOH (100 mL). Essa mistura foi refluxada por 5 horas sob agitação. Ao término da reação, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. Depois, foi adicionado a esta mistura um porção de água (50 mL). A fase aquosa foi extraída com AcOEt (3 x 50 mL). As fases orgânicas foram reunidas e secas com Na₂SO₄, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária sílica gel e fase móvel uma mistura de hexano/acetato de etila (9:1). O rendimento dos produtos variou entre 90-94%.

(E)-3-(4-clorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (5a)

Rendimento: 2,36 g (90%). Sólido amarelo. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ = 7,41 (dd, *J* = 6,4, 4,4 Hz, 2H),

7,64-7,48 (m, 6H), 7,77 (d, *J* = 15,7 Hz, 1H), 8,10-7,98 (m, 2H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ = 122,43, 128,49, 128,67, 129,24, 129,58, 132,94, 133,36, 136,43, 143,32, 190,26. CG-EM [*m/z* (%)] = 242 [M]⁺, 241 (93), 240 (60), 206 (72), 178 (46), 164 (47), 129 (30), 77(100), 51(36).

(E)-3-(4-(dimetilamino)fenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona

(5b)

Rendimento: 2,53 g (94%). Sólido amarelo. RMN ¹H

(300 MHz, CDCl₃) δ = 3,05 (s, 6H), 6,70 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 7,34 (d, *J* = 15,5 Hz, 1H),

), 7,62-7,45 (m, 5H), 7,80 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 8,05-7,92 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 40,13, 111,81, 116,93, 122,62, 128,43, 130,41, 132,13, 139,06, 145,88, 152,03, 190,75$. CG-EM [m/z (%)] = 251 [$\text{M}]^+$, 250 (42), 234 (10), 222 (13), 206 (12), 174 (44), 121 (40), 77 (33).

(*E*)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (5c)

Rendimento: 2.10 g (90%). Sólido branco. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 3,86$ (s, 3H), 6,94 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,37- 7,66 (m, 6H), 7,77 (d, $J = 13$ Hz, 1H), 8,01 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 119,76, 127,39, 128,41, 128,56, 139,23, 132,56, 138,48, 144,72, 154,41, 161,67, 190,62$. CG-EM [m/z (%)] = 238 [$\text{M}]^+$, 237 (64), 214 (65), 161 (36), 133 (24), 110 (100), 77 (55).

5.10. Procedimento geral para a preparação dos precursores imínicos 5m-5o

A um balão de 250 mL foram adicionados a anilina (10 mmol), o respectivo benzaldeído substituído (8 mmol; benzaldeído; 4-clorobenzaldeído; 4-bromobenzaldeído) e 150 mL de tolueno. A mistura foi mantida sob refluxo por 24h a 120°C sob agitação magnética utilizando um *aparatus* Dean Stark. Ao término da reação, o tolueno foi evaporado sob pressão reduzida e o produto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária sílica gel e fase móvel uma mistura de hexano/acetato de etila (9:1). O rendimento dos produtos variou entre 90-94%.

(E)-N-(4-chlorobenzylidene)aniline (5m)

Rendimento: 1,62 g (92%). Sólido amarelo. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 7,23-7,20 (m, 3H), 7,47-7,38 (m, 4H),

7,87-7,84 (m, 2H), 8,43 (s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 115,10, 118,56, 120,83, 126,18, 129,06, 129,19, 129,27, 129,45, 129,94, 130,89, 134,70, 137,36, 151,67, 158,80. CG-EM [m/z (%)] = 215 (42) [$\text{M}]^+$, 213 (97), 152 (6), 104 (21), 77 (100), 51 (28).

(E)-N-Benzilidenoanilina (5n)

Rendimento: 1,30 g, (90%). Sólido amarelado: RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 7,25-7,22 (m, 3H), 7,50-7,40 (m, 5H), 7,93-

7,91 (m, 2H), 8,47 (s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 120,86, 125,92, 128,76, 128,80, 129,14, 131,37, 136,22, 152,09, 160,39, 166,19. CG-EM [m/z (%)] = 181 (87) [$\text{M}]^+$, 180 (100), 104 (15), 77 (70), 51 (22).

(E)-N-(4-bromobenzilideno)anilina (5o)

Rendimento: 1,95 g (94%), Sólido branco. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 7,28-7,20 (m, 3H), 7,43-7,30 (m, 2H),

7,61 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,78 (d, J = 9 Hz, 2H), 8,41 (s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 120,82, 125,86, 126,21, 129,19, 130,13, 132,02, 135,11, 151,64, 158,89. CG-EM [m/z (%)] = 260 (53) [$\text{M}]^+$, 258 (50), 104 (20), 90 (23), 77 (100), 51 (26).

5.11. Procedimento geral para a oxidação de hidrosilanos **1a-1j** catalisado por NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt

A um microtubo de 1,5 mL (*eppendorf*®) foram adicionados os silanos (**1a-j**) (0,25 mmol), nanopartículas bimetálicas, NSsAgAu, NSsAgPd ou NSsAgPt (5 mol% calculado com base da porcentagem de Au, Pd e Pt) e uma mistura de acetona/H₂O (10:1, 1 mL). O microtubo contendo a reação foi então agitado por um determinado tempo à temperatura ambiente utilizando um agitador orbital de microtubos (*thermomixer*®) a 800 rpm. Ao término da reação, o catalisador foi removido da reação via centrifugação e a reação analisada via CG-EM.

Dimetil(fenil)silanol (2a)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ = 0,42 (s, 6H), 7,41-7,39 (m, 3H), 7,62-7,60 (m, 2H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ = 0,87, 127,70, 129,24, 133,00, 139,82. CG-EM [*m/z* (%)] = 152 [M]⁺, 137 (100), 119 (3), 91 (7), 75 (5), 69 (4), 45 (13).

4-(hidroxidimetilsilil)benzonitrila (2b)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ = 0,36 (s, 3H), 0,38 (s, 3H), 7,63-7,62 (m, 4H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ = -4,16, 112,79, 118,91, 131,03, 134,46, 144,30. CG-EM [*m/z* (%)] = 177 [M]⁺, 162 (100), 146 (1), 130 (1), 117 (3), 103 (4), 91 (10), 75 (12), 59 (6), 45(24).

Dimetil(naftalen-2-il)silanol (2c)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,43 (s, 6H), 7,47-7,45 (m, 2H), 7,64-7,61 (m, 1H), 7,81-7,76 (m, 3H), 8,04-8,03 (m, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 0,93, 125,83, 126,36, 126,94, 127,68, 128,20, 129,36, 132,82, 133,77, 133,87, 137,20. CG-EM [m/z (%)] = 202 [$\text{M}]^+$, 187 (100), 169 (23), 141 (9), 128 (15), 115 (9), 101 (3), 93 (15), 75 (7), 45(14).

1-(4-(hidroxidimetilsilil)fenil)etanona (2d)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,37 (s, 3 H), 0,43 (s, 3 H), 2,60 (s; 3H), 7,66 (dd, J = 21.6, J = 8.2 Hz, 2H), 7.92 (dd, J = 8,2, J = 5,2 Hz, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -0,01, 0,70, 26,64, 127,35, 129,97, 133,28, 137,67, 145,63, 176,80. CG-EM [m/z (%)] = 194 [$\text{M}]^+$, 179 (100), 161 (3), 151 (4), 136 (7), 121 (6), 105 (2), 91 (6), 75 (18), 45(12).

Dimetil(1-feniletil)silanol (2e)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,08 (s, 3H), 0,10 (s, 3H), 1,40 (d, J = 7,5 Hz, 3H), 2,26 (q, J = 7,5 Hz, 1H), 7,30-7,10 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -2,54, -2,23, 14,14, 30,93, 124,63, 127,06, 128,29, 144,62. CG-EM [m/z (%)] = 180 [$\text{M}]^+$, 165 (1), 149 (1), 137 (7), 104 (12), 91 (1), 75 (100), 75 (100), 45 (6).

Dimetil(1-(4-tolil)etil)silanol (2f)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,01 (s, 3H), 0,05 (s, 3H), 1,40 (d, J = 7,5 Hz, 3H), 2,33 (s, 3H), 3,84 (q, J = 7,4, 1H), 7,05 (dd, J = 29,5, 8,0 Hz, 4H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -5,97, -5,89, 15,49, 20,90, 27,16, 126,82, 128,89, 133,80, 142,35. CG-EM [m/z (%)] = 194 [$\text{M}]^+$, 179 (1), 151 (6), 118 (17), 91 (6), 75 (100), 47 (4), 38 (1).

(1-(4-fluorofenil)etil)dimetilsilanol (2g)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,08 (s, 3H), 0,09 (s, 3H), 1,37 (d, J = 7,5 Hz, 3H), 2,23 (q, J = 7,4 Hz, 1H), 7,05-6,96 (m, 4H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -2,51, -2,29, 14,43, 30,11, 114,84, 115,12, 128,13, 128,23, 140,20. CG-EM [m/z (%)] = 198 [$\text{M}]^+$, 183 (2), 155 (10), 122 (32), 104 (100), 96 (13), 75 (99), 61 (4), 47 (12), 39(2).

Dimetil(1-fenilpropan-2-il)silanol (2h)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,14 (s, 6H), 0,91 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 1,13-1,06 (m, 1H), 2,40 (dd, J = 6,0 Hz; J = 13 Hz, 1H), 2,88 (dd, J = 3,0, 13,0 Hz, 1H), 7,34-7,16 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = -6,26, -6,01, 14,43, 20,42, 38,42, 125,61, 123,10, 128,84, 142,21. CG-EM [m/z (%)] = 194 [$\text{M}]^+$, 176 (7), 161 (4), 152 (4), 137 (18), 118 (32), 91 (10), 75 (100), 61 (8), 47(8).

Dimetil(fenetil)silanol (2i)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,14 (s, 6H), 0,97 (t, J = 9 Hz, 2H),

2,68 (t, $J = 9$ Hz, 2H), 7,28-7,13 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $\delta = -4,52$, 16,18, 30,53, 125,56, 127,81, 128,28, 144,77. CG-EM [m/z (%)] = 180 $[\text{M}]^+$, 165 (25), 147 (24), 137 (34), 104 (11), 91 (7), 75 (100), 61 (23), 45 (12).

Ciclohexildimetilsilanol (2j)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 0,10$ (s, 6H), 1,40-1,14 (m, 5H), 1,76-1,72 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $\delta = -2,27$, 26,87, 26,66, 27,80, 27,41. CG-EM [m/z (%)] = 158 $[\text{M}]^+$, 143 (5), 115 (2), 101 (2), 75 (100), 61 (16), 45 (7), 41 (4).

5.12. Procedimento para o teste do envenenamento do catalisador, NSsAgAu e NSsAgPt

A um microtubo de 1,5 mL (*eppendorf*®) foram adicionados o dimetil(fenil)silanol (**2a**) (0,25 mmol), NSsAuAg ou NSsAgPt (5 mol% calculado com base da porcentagem de Au e Pt) e uma solução de acetona/ H_2O (10:1, 1 mL). O microtubo contendo a reação foi então agitado por 1h à temperatura ambiente utilizando um agitador orbital de microtubos (*thermomixer*®) a 800 rpm. Ao término deste tempo, as nanopartículas foram lavadas via centrifugação com H_2O (3 x 1,5 mL) e utilizadas como catalisador para oxidação do dimetil(fenil)silano **1a** como mostrado na sessão 4.12.

5.13. Procedimento para reuso do catalisador nanometálico NSsAgPd

A um microtubo de 1,5 mL (*eppendorf*®) foram adicionados o dimetil(fenil)silano (**1a**) (0.25 mmol), as nanopartículas bimetálicas NSsAgPd (5 mol% calculado com base da porcentagem de Au, Pd e Pt) e uma mistura de acetona/H₂O (10:1, 1 mL). O microtubo contendo a reação foi então agitado por 1h à temperatura ambiente utilizando um agitador orbital de microtubos (*thermomixer*®) a 800 rpm. Ao término da reação, o catalisador foi removido via centrifugação. As NSsAgPd removidas foram então lavadas via centrifugação (3 x 1 mL de acetona) a 8000 rpm. Depois de lavado o catalisador foi então submetido a uma nova reação. O sobrenadante das reações ao final de cada ciclo foi analisado via CG-EM.

5.14. Imobilização da CAL-B sobre nanopartículas de NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt, formação do catalisador bio-metálico

A um microtubo de 2 mL foram adicionados uma solução de *Candida Antarctica B* (CAL-B) (0,145 mg/mL) e 1-1,5 mg das NSsAgPd (1-1,5 mg equivale a aproximadamente 5 mol% do catalisador referente a 0,25 mmol do dimetil(fenil)silano) (**1a**). O microtubo contendo a reação foi então agitado por 2h à temperatura ambiente utilizando um agitador orbital de microtubos (*thermomixer*®) a 800 rpm. A quantidade de enzima imobilizada foi quantificada através do método de Bradford¹⁶⁷. A quantidade aproximada de enzima imobilizada na superfície das nanocascas variou de 0,039-0,043 mg.

---

¹⁶⁷ Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* **1976**, 72, 248-254.

5.15. Quantificação de proteínas através do método de Bradford¹⁶⁵

5.15.1. Montagem da curva de calibração para quantificação da proteína

Para montagem da curva de calibração foram utilizados 14 microtubos, (*ependorf*®, 2 mL). Em cada microtubo foram adicionados 1,5 mL do reagente de Bradford. Em 13 diferentes microtubos contendo o reagente de Bradford foram adicionados 50 µL de uma solução de albumina de soro bovino (BSA) em tampão fosfato pH 7: 0,01 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,3 mg/mL, 0,4 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,6 mg/mL, 0,7 mg/mL, 0,8 mg/mL, 0,9 mg/mL, 1,0 mg/mL, 1,1 mg/mL e 1,2 mg/mL. Depois da adição do BSA esperou-se cerca de 1 minuto e a absorbância foi medida utilizando a região de 595 nm. O branco para esta curva de calibração foi medido a partir da mistura de 50 µL da solução tampão fosfato pH 7 e 1,5 mL do reagente de Bradford (em um *ependorf*®) em um microtubo. A partir dos dados de absorbância obtidos foi montado, com auxílio do Software OringinPro 7.0, a curva de calibração de absorbância versus concentração de proteína (mg/mL). Com esta curva foi possível então obter a equação da reta que auxiliou na quantificação de proteínas.

5.15.2. Método de preparação das amostras para medida da quantidade de enzima imobilizada

Como a imobilização da lipase nas nanopartículas bimetálicas envolve o contato de uma solução de lipase com nanocascas funcionalizadas ou “puras”, a quantificação da proteína imobilizada foi feita pelo cálculo da diferença de concentração de lipases antes e depois do processo de imobilização. A medida da concentração da lipase foi feita pela retirada de certa quantidade da solução de lipase antes do processo de imobilização (50 µL) e esta quantidade foi analisada pelo método de Bradford (50 µL da solução de lipase + 1,5 mL do reagente de Bradford e medida da absorbância). Para medida da

concentração da lipase depois do processo de imobilização, primeiramente o microtubo (*eppendorf*®), contendo a lipase imobilizada nas nanocascas e a lipase livre remanescente, foi centrifugado e certa quantidade da solução do sobrenadante (50 µL) foi analisada pelo método de Bradford (50 µL da solução de lipase + 1,5 mL do reagente de Bradford e medida da absorbância).

5.16. Resolução cinética utilizando os catalisadores bio-metálicos (CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt)

A um microtubo de 2 mL foi adicionado o (*R,S*)-1-(fenil)etanol (**4a**) (0,002 mmol), o catalisar bio-metálico (1-1,5 mg; CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt) acetato de vinila (0,07 mmol) e o tolueno (1 mL). O microtubo contendo a mistura reacional foi então agitado por um tempo apropriado a 32°C utilizando um agitador orbital de microtubos (*thermomixer*®) a 800 rpm. O excesso enantiomérico foi determinado por análise de CG-DIC usando coluna quiral.

5.17. Oxidação do dimetil(fenil)silano (1a**) utilizando os catalisadores bio-metálicos (CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt)**

A um microtubo de 2 mL foi adicionado o catalisador bio-metálico (1-1,5 mg; CALB-AgAu, CALB-AgPd e CALB-AgPt) o dimetil(fenil)silano (**1a**) (0,25 mmol) e uma mistura de acetona/H₂O (1 mL, 10:1). O microtubo contendo a mistura reacional foi então agitado por um tempo apropriado à temperatura ambiente utilizando um agitador orbital de microtubos (*thermomixer*®) a 800 rpm. A conversão do produto de foi determinada por análise de CG-EM.

5.18. Procedimento geral para redução dos compostos orgânicos 5a-5o utilizando como fonte de hidrogênio o dimetil(fenil)silano (1a), reações catalisadas por NSsAgPd realizadas em *batch*

A um microtudo de 1,5 mL (*eppendorf*®) foram adicionados um dos substratos (5a-5o) (0,0125 mmol), NSsAgPd (5 mol% calculado com base da porcentagem de Pd) em uma mistura acetona/H₂O (1 mL, 10:1) e o dimetil(fenil)silano (1a). O microtubo contendo a mistura reacional foi então agitado por um tempo apropriado à temperatura ambiente utilizando um agitador orbital de microtubos (*thermomixer*®) a 800 rpm. A conversão do produto de redução foi determinada por análise de CG-EM.

3-(4-clorofenil)-1-fenilpropan-1-ona (6a)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ = 3,05 (t, J = 9Hz; 2H), 3,39 (t, J = 9Hz; 2H), 7,80-7,42 (m, 7H), 8,04-7,95 (m, 2H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ = 34,71, 35,28, 125,72, 128,28, 128,37, 128,43, 129,76, 131,42, 140,67, 142,27, 161,12. CG-EM [m/z (%)] = 244 [M]⁺, 243 (19), 105 (100), 1103 (7), 77 (44), 51 (11).

3-(4-(dimetilamino)fenil)-1-fenilpropan-1-ona (6b)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ = 2,13-2,00 (m, 4H), 2,92 (s, 6H), 7,21-7,07 (m, 6H), 7,31-7,28 (m, 1H), 7,37-7,35 (d, J = 6Hz; 2H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ = 22,80, 29,60, 40,94, 113,07, 126,12, 127,75, 128,45, 129,42, 130,97, 191,12. CG-EM [m/z (%)] = 253 [M]⁺, 250 (42), 234 (10), 222 (13), 206 (12), 174 (44), 121 (40), 77 (33).

3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (6c)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 2,00-1,93 (m, 2H), 2,69-2,59 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 6,85 (d, J = 9 Hz; 2H), 7,33-7,19 (m, 7H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 33,21, 34,51, 35,38, 55,26, 113,71, 125,70, 128,29, 129,30, 134, 36, 142,36, 157,69, 193,24. CG-EM [m/z (%)] = 240 $[\text{M}]^+$, 237 (64), 214 (65), 161 (36), 133 (24), 110 (100), 77 (55),

Fenilpropanonitrila (6d)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 2,63 (t, J = 9 Hz, 2H), 2,97 (t, J = 9 Hz, 2H), 7,40-7,18 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 19,34, 31,57, 119,13, 127,23, 128,25, 128,87, 138,05. CG-EM [m/z (%)] = 131 $[\text{M}]^+$, 91 (100), 77 (5), 65 (15).

Etil 3-fenilpropanoato (6e)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 1,24 (t, J = 9 Hz 3H), 2,63 (t, J = 9 Hz, 2H), 2,96 (t, J = 9 Hz, 2H), 4,14 (q, J = 12 Hz, 2H), 7,32-7,20 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 14,20, 30,98, 35,95, 60,40, 126,20, 128,28, 128,45, 140,56, 172,90. CG-EM [m/z (%)] = 178 $[\text{M}]^+$, 107 (38), 104 (100), 65 (12), 51 (16), 39 (9).

Etil butirato (6f)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 0,96 (t, J = 6 Hz, 3H), 1,27 (t, J

= 6 Hz, 3H), 1,66 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 2,29 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 4,14 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 13,63, 14,23, 36,25, 60,11, 173,71$. CG-EM [m/z (%)] = 116 [$\text{M}]^+$, 89 (15), 71 (100), 60 (20).

Etilbenzeno (6g)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 1,26$ (t, $J = 6$ Hz, 3H), 2,66 (q, $J = 6$ Hz, 2H), 7,32-7,18 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 15,60, 21,45, 28,87, 125,55, 128,21, 129,02, 137,86, 144,23$. CG-EM [m/z (%)] = 106 [$\text{M}]^+$, 106 (32), 91 (100), 65 (9), 52 (10).

1-feniletanoamina (6h)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 1,40$ (d, $J = 6$ Hz, 3H), 4,12 (q, $J = 12$ Hz, 1H), 7,35-7,23 (m, 5H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 25,65, 51,32, 125,65, 126,78, 128,46, 147,75$. CG-EM [m/z (%)] = 121 [$\text{M}]^+$, 120 (31), 105 (100), 77 (82), 51 (29), 50 (10), 43 (13).

Anilina (6i)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 3,65$ (s, 2H), 6,80-6,68 (m, 3H), 7,26-7,14 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) $\delta = 115,20, 118,58, 129,37, 146,53$. CG-EM [m/z (%)] = 93 [$\text{M}]^+$, 66 (42), 65 (18), 77 (82), 54 (3), 46 (7), 39 (11).

1,2-difeniletano (6je 6l)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 2,98 (s, 4H), 7,37-7,23 (m, 10H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 37,98, 125,94, 128,36, 128,48, 141,81. CG-EM [m/z (%)] = 182 [$\text{M}]^+$, 92 (10), 91 (100), 91 (7), 65 (14), 51 (3), 39 (4).

N-(4-clorobenzil)anilina x

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 4,03 (s, 1H), 4,32 (s, 2H), 6,63-6,60 (m, 2H), 6,75-6,70 (m, 1H), 7,20-7,15 (m, 2H), 7,27 (s, 2H), 7,31 (s, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 40,31, 125,87, 127,75, 128,45, 128,57, 129,79, 131, 53, 140,20, 144,38. CG-EM [m/z (%)] = 217 [$\text{M}]^+$, 216 (41), 126 (33), 124 (100), 89 (14), 77 (15), 62 (4).

5.19. Procedimento geral para marcação de compostos orgânicos com deutério

A um microtudo de 1,5 mL (*eppendorf*®) contendo os substratos (**5a** e **5m**) (0,0125 mmol), D_2O (50 μL), NSsAgPd (5 mol% calculado com base da porcentagem de Pd) e THF seco (1 mL) foi adicionado o dimetil(fenil)silano (**1a**) (0,025 mmol). Antes de adicionar as NSsAgPd na reação elas foram lavadas 2 vezes com acetona via centrifugação (2 x 1 mL) e 2 vezes com THF também via centrifugação (2x 1 mL). O microtubo contendo a mistura reacional foi então agitado por 5h à temperatura ambiente utilizando um agitador orbital de tubos (*thermomixer*®) a 800 rpm. Ao término da reação, o catalisador foi removido da reação via centrifugação e a reação analisada via CG-EM, e CG-MicroTOF.

5.20. Imobilização das NSsAgPd em sílica gel (SiO₂-AgPd)

Para preparar SiO₂-AgPd inicialmente a síntese da NSsAgPd precisou ser feitas em uma escala 100 vezes maior, como descrito na sessão 4.2. Essa síntese foi realizada em um balão de fundo redondo de 2000 mL equipado com agitação magnética com o tempo de crescimento do nanomaterial de 30 min. A imobilização foi feita através do método de impregnação.¹⁶⁸ As NSsAgPd sintetizadas são então concentradas para 50 mL e lavadas com água (2 x 50 mL). Ao final da lavagem a suspensão contendo as nanopartículas foi adicionado a um balão de 100 mL contendo 1g de sílica comercial (tamanho de poro 22 Å, 800 m²g⁻¹, número CAS: 112926-00-8, número Sigma-Aldrich: 214396), esta mistura foi então agitada à temperatura ambiente por 24h. A mistura resultante foi lavada com água e etanol e sequencialmente seca a 120 °C durante 2h sob ar. A composição do metal no material foi medida através de experimento de ICP-OES (1% de paládio em 1g de sílica).

5.21. Procedimento geral para oxidação de hidrosilanos 1a, 1i e 1l utilizando como catalisador NSsAgPd, reações sob condição de fluxo contínuo

Para este procedimento foram utilizados uma bomba de fluxo contínuo *PHD Ultra Syringe Pump* (703007, HARVARD APPARATUS), uma seringa de aço (*High Pressure Stainless Steel Syringe* SWAGELOCK®, 702267, HARVARD APPARATUS), 8 mL com 1/16 de polegada. O reator composto de um tubo de aço (1/4 in x 4.6 mm x 5 cm; volume do reator: 550 µL) foi preenchido com SiO₂-AgPd (515 mg). O sistema em fluxo também era composto de uma coluna de celite (640 mg)

¹⁶⁸ Rodrigues, T. S.; da Silva, A. G. M.; Gonçalves, M. C.; Fajardo, H. V.; Balzer, R.; Probst, L. F. D.; Camargo, P. H. C. *ChemNanoMat*, **2015**, 1, 46-51.

seguido de um regulador de pressão (75 psi). Os reagentes foram preparados em um balão volumétrico de 10 mL, soluções dos silanos **1a**, **1i** ou **1l** (10 mmol/l). As reações foram realizadas em taxas apropriadas de infusão (para obtenção do tempo de residência desejado) e temperatura. Os eluentes foram coletados em tubos de 2 mL e analisados via CG-EM.

5.22. Procedimento geral para redução dos compostos orgânicos 5a, 5d e 5l utilizando como doador de hidrogênio o dimetil(fenil)silano (1a) , como catalisador a NSsAgPd, reações sob condição de fluxo contínuo

Para este procedimento foram utilizados uma bomba de fluxo contínuo *PHD Ultra Syringe Pump* (703007, HARVARD APPARATUS), uma seringa de aço (*High Pressure Stainless Steel Syringe* SWAGELOCK®, 702267, HARVARD APPARATUS), 8 mL com 1/16 de polegada. O reator composto de um tubo de aço (1/4 in x 4.6 mm x 5 cm; volume do reator: 550 μ L) foi preenchido com SiO₂-AgPd (650 mg). O sistema em fluxo também era composto de uma coluna de celite (640 mg) seguido de um regulador de pressão (75 psi). Os reagentes foram preparados em um balão volumétrico de 10 mL, solução dimetil(fenil)silano (**1a**) (10 mmol/l) e solução dos substratos **5a**, **5d** e **5l** (1,25 mmol/L) solubilizado em uma solução de acetona/H₂O (10:1). As reações foram realizadas em taxas apropriadas de infusão (para obtenção do tempo de residência desejado) e temperatura. Os eluentes foram coletados em tubos de 2 mL e analisados via CG-EM.

(Z)-1,2-difenileteno (8l)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 6,61 (s, 2H), 7,57-7,36 (m, 10H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ = 126, 127,63, 128,69, 137,32. CG-

EM [m/z (%)] = 121 $[\text{M}]^+$, 120 (31), 105 (100), 77 (82), 51 (29), 50 (10), 43 (13).

Referências Bibliográficas

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Horikoshi, S. and Serpone, N. Introduction to Nanoparticles, in *Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications* (eds S. Horikoshi and N. Serpone), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2013**.
2. Zaleska-Medynska, A.; Marchelek, M.; Diak, M.; Grabowska, E. *Advances in Colloid and Interface Science*, **2016**, 229, 80-107.
3. Xia, B.; He, F.; Li, L.; *Langmuir*, **2013**, 29, 4901–4907.
4. Toshima, N.; Yonezawa, T. *New Journal of Chemistry*, **1998**, 10, 1179-1201.
5. Tan, R. L. S.; Song, X.; Chen, B.; Chong, W. H.; Fang, Y.; Zhang, H.; Wei, J.; Chen, H. *Nanoscale*, **2016**, 8, 3447-3453.
6. You, H.; Yang, S.; Ding, B.; Yang, H. *Chemical Society Reviews*, **2013**, 42, 2880-2904.
7. King, M. E.; Personick, M. L. *Particle and Particle Systems Characterization*, **2017**, 8, 1600422-1600422.
8. Wu, D.; Kusada, K.; Kitagawa, H. *Science and Technology of Advanced Materials*, **2016**, 17, 583–596.
9. Shape-controlled synthesis of goldenickel bimetallic nanoparticles and their electrocatalytic properties
10. PdPt bimetallic nanoparticles enabled by shape control with halide ions and their enhanced catalytic activities
11. Cheng, L.; Huang, J.; Chen, H. M.; Lai, T.; Uang, K.; Liu, R.; Hsiao, M.; Chen, C.; Her, L.; Tsai, D. P. *Journal of Material Chemistry*, **2012**, 22, 2244–2253.
12. Banadaki, A. D.; Kajbafvala, A. *Journal of Nanomaterials*, **2014**, 14, 1-28.
13. Zhang, Q.; Xie, J.; Lee, J. Y.; Zhang, J.; Boothroyd, C. *Small*, **2008**, 4, 1067–1071.
14. Duan, S.; Wang, R. *Progress in Natural Science: Materials International*, **2013**, 23, 113–126.
15. Gurunathan, S.; Saha, S.; Sekar, G. *Tetrahedron Letters*, **2016**, 57, 5168–5178.
16. Holewinski, A.; Idrobo, J.; Linic, S. *Nature Chemistry*, **2014**, 6, 828–834.
17. Qiu, H.; Shen, X.; Wang, J.; Hirata, A.; Fujita, T.; Wang, Y.; Chen, M. *ACS Catalysis*, **2015**, 5, 3779–3785.
18. Priya, S. S.; Bhanuchander, P.; Kumar, V. O. Bhargava, S. K. Chary, K. V. R. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, **2016**, 55, 4461–4472.
19. Sarfraz, S.; Garcia-Esparza, A. T.; Jedidi, A.; Cavallo, L.; Takanabe, K. *ACS Catalysis*, **2016**, 6, 2842–2851.
20. Vetere, V.; Merlo, A. B.; Ruggera, J. F.; Casella, M. L. *Journal of Brazilian Chemical Society*, **2010**, 21, 914-920.
21. Villa, A.; Wang, D.; Su, D. S.; Prati, L. *Catalysis Science and Technology*, **2015**, 5, 55–68.
22. Sankar, M.; Dimitratos, N.; Miedziak, P. J.; Wells, P. P.; Kiely, C. J.; Hutchings, G. J. *Chemical Society Reviews*, **2012**, 41, 8099–8139.
23. Zhang, H.; Toshima, N. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2013**, 394, 166–176.

24. Zhang, H.; Okuni, J.; Toshima, N. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2011**, *354*, 131–138.
25. He, J.; Ichinose, I.; Kanitake, T.; Nakao, A.; Shiraishi, Y.; Toshima, N. *Journal of America Chemical Society*, **2003**, *125*, 11034-11040.
26. Mizukoshi, Y.; Fujimoto, T.; Nagata, Y.; Oshima, R.; Maeda, Y. *The Journal of Physical Chemistry B*, **2000**, *104*, 6028–6032.
27. Enache, D. I.; Edwards, J. K.; Landin, P.; Solsona-Espriu, B.; Carley, A. F.; Herzing, A. A.; Watanabe, M.; Kiely, C. J.; Knight, D. W.; Hutchings, G. J. *Science*, **2006**, *311*, 362-365.
28. Hou, W.; Dehm, N. A.; Scott, R. W. J. *Journal of Catalysis*, **2008**, *253*, 22-27.
29. Xue, W.; Yin, H.; Lu, Z.; Feng, Y.; Wang, A.; Liu, S.; Shen, L.; Jia, X. *Catalysis Letters*, **2016**, *146*, 1139-1152.
30. Chen, D.; Li, C.; Liu, H.; Ye, F.; Yang, J. *Scientific Reports*, **2015**, *5*, 1-9.
31. Wang, W.; Zheng, D.; Du, C.; Zou, Z.; Zhang, X.; Xia, B.; Yang, H.; Akins, D. L. *Journal of Power Sources*, **2007**, *167*, 243–249.
32. Xue, H.; Tang, J.; Gong, H.; Guo, H.; Fan, X.; Wang, T.; He, J.; Yamauchi, Y. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **2016**, *8*, 20766–20771.
33. He, W.; Chen, M.; Zou, Z.; Li, Z.; Zhang, X.; Jin, S.; You, D. J.; Pak, C.; Yang, H. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2010**, *97*, 347–353.
34. Lim, B.; Jiang, M.; Camargo, P. H. C.; Cho, E. C.; Tao, J.; Lu, X.; Zhu, Y.; Xia, Y. *Science*, **2009**, *324*, 1302-1305.
35. Jeyabharathi, C.; Venkateshkumar, P. Mathiyarasu, J.; Phani, K. L. N. *Electrochimica Acta*, **2008**, *54*, 448–454.
36. Gumeci, C.; Cearnaigh, D. U.; Casadonte, D. J.; Korzeniewski, C. *Journal of Materials Chemistry A*, **2013**, *1*, 2322–2330.
37. Zhang, N.; Chen, F.; Wu, X.; Wang, Q.; Qaseem, A.; Xia, Z. *Journal of Materials Chemistry A*, **2017**, *in press*.
38. Park, J. Y.; Zhang, Y.; Grass, M.; Zhang, T.; Samorjai, G. A. *Nano Letters*, **2008**, *8*, 673-677.
39. Bang, K.; Shin, K.; Shin, M.; Kwon, S.; Lee, H. M. *Catalysis Today*, **2016**, *265*, 14–18.
40. Olmos, C. M.; Chinchilla, L. E.; Delgado, J. J.; Hungria, A. B.; Blanci, G.; Calvino, J. J.; Chen, X. *Catalysis Letters*, **2016**, *146*, 144–156.
41. Wang, A.; Chang, C.; Mou, C. *The Journal of Physical Chemistry B*, **2005**, *109*, 18860-18867.
42. Yen, C.; Lin, M.; Wang, A.; Chen, S.; Chen, J.; Mou, C. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2009**, *113*, 17831-17839.
43. Yamamoto, T. A.; Nakagawa, T.; Seino, S.; Nitani, H. *Applied Catalysis A: General*, **2010**, *387*, 195–202.
44. a) Bavin, P. M. G. *Organic Synthesis*, **1960**, *40*, 5-7. b) Allen, C. F. H.; Van Allan, J.; *Organic Synthesis*, **1955**, *3*, 587-589. c) Hartman, W. W. and H. L. Silloway, *Organic Synthesis Collection*, v3, New York, NY, John Wiley, **1955**. d) Faul, Margaret M.; Thiel, Oliver R. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, **2005**. e) Basu, M. K. *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*, 5603-5610.

45. Ghosh, S. K.; Mandal, M.; Kundu, S.; Nath, S.; Pal, T. *Applied Catalysis A: General*, **2004**, 268, 61–66.
46. Pozun, Z. D.; Rodenbush, S. E.; Keller, E.; Tran, K.; Tang, W.; Stevenson, K. J.; Henkelman, G. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2013**, 117, 7598–7604.
47. Gupta, V. K.; Yola, M. L.; Eren, T.; Kartal, F.; Caglayan, M. O.; Atar, N. *Journal of Molecular Liquids*, **2014**, 190, 133–138.
48. Rana, S.; Jonnalagadda, S. B. *RSC Advanced*, **2017**, 7, 2869–2879.
49. Konig, R. Y. G.; Schawarze, M.; Schomacker, R.; Stubenrauch, C. *Catalysts*, **2014**, 4, 256–275.
50. Serpell, C. J.; Cookson, J.; Ozkaya, D.; Beer, P. D. *Nature Chemistry*, **2011**, 3, 478–483.
51. Rezazadeh, S.; Akhlaghinia, B.; Goharshadi, E. K.; Sarvari, H. *Journal of the Chinese Chemical Society*, **2014**, 61, 1108–1114.
52. Petkar, D. R.; Kadu, B. S.; Chikate, R. C. *RSC Advances*, **2014**, 4, 8004–8010.
53. Kim, E.; Jeong, H. S.; Kim, B. M. *Catalysis Communications*, **2014**, 45, 25–29.
54. Gupta, V. K.; Atar, N.; Yola, M. L.; Ustundag, Z.; Uzun, L. *Water Research*, **2014**, 48, 210–217.
55. Pergolese, B.; Muniz-Miranda, M.; Bigotto, A. *Chemical Physics Letters*, **2007**, 438, 290–293.
56. An, Q.; Yu, M. Zhang, Y.; Ma, W.; Guo, J.; Wang, C. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2012**, 116, 22432–22440.
57. Liu, M.; Zhang, J.; Liu, J.; Yu, W. W. *Journal of Catalysis*, **2011**, 278, 1–7.
58. Cai, S.; Duan, H.; Rong, H.; Wang, D.; Li, L.; He, W.; Li, Y. *ACS Catalysis*, **2013**, 3, 608–612.
59. Bolm, C.; *Journal of Organic Chemistry*, **2012**, 77, 5221–5223.
60. Son, S. U.; Jang, Y.; Park, J.; Na, H. B.; Park, H. M.; Yun, H. J.; Lee, J.; Hyeon, T. *Journal of America Chemical Society*, **2004**, 126, 5026–5027.
61. Shaabani, A.; Mojtaba, M. *Journal of Materials Chemistry A*, **2013**, 1, 9303–9311.
62. Sengupta, D.; Saha, J.; De, G.; Basu, B. *Journal of Materials Chemistry A*, **2014**, 2, 3986–3992.
63. Li, Y.; Zhou, P.; Dai, Z.; Hu, Z.; Sun, P.; Bao, J. *New Journal of Chemistry*, **2006**, 30, 832–837.
64. Diyarbakir, S.; Can, H.; Metin, O. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **2015**, 7, 3199–3206.
65. Wu, Y.; Wang, D.; Zhao, P.; Niu, Z.; Peng, Q.; Li, Y. *Inorganic Chemistry*, **2011**, 50, 2046–2048.
66. Metin, O.; Ho, S. F.; Alp, C.; Can, H.; Mankin, M. N.; Gultekin, M. S.; Chi, M.; Sun, S. *Nano Research*, **2013**, 6, 10–18.
67. Chen, M.; Zhang, Z.; Li, L.; Liu, Y.; Wang, W.; Gao, J. *RSC Advances*, **2014**, 4, 30914–30922.
68. Feng, Y.; Lin, X.; Hao, J.; Xu, H. *Tetrahedron*, **2014**, 70, 5249–5253.
69. Nasrollahzadeh, M.; Azarian, A.; Mahan, M.; Ehsani, A. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **2015**, 21, 746–748.
70. Ohtaka, A.; Sansano, J. M.; Najera, C.; Miguel-García, I.; Berenguer-Murcia, A.; Cazorla-Amoros, D. *ChemCatChem*, **2015**, 7, 1841–1847.
71. Feng, L.; Chong, H.; Li, P.; Xiang, J.; Fu, F.; Yang, S.; Yu, H.; Sheng, H.; Zhu, M. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2015**, 119, pp 11511–11515.
72. Heshmatpour, F.; Abazari, R.; Balalaie, S. *Tetrahedron*, **2012**, 68, 3001–3011.

73. Yin, Z.; Zhou, W.; Gao, Y.; Ma, D.; Kiely, C. J.; Bao, X. *Chemistry - A European Journal*, **2012**, *18*, 4887 – 4893.
74. Pachon, L. D.; Thathagar, M. B.; Hartl, F.; Rothenberg, G. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2006**, *8*, 151–157.
75. Mazumber, V.; Chi, M.; Mankin, M. N.; Liu, Y.; Metin, O.; Sun, D.; More, K. L. Sun, S. *Nano Letters*, **2012**, *12*, 1102–1106.
76. Reetz, M. T. *Journal of the American Chemical Society*, **2013**, *135*, 12480–12496.
77. Turner, N. J. *Nature. Chemical. Biology*, **2009**, *5*, 567-572.
78. Tran, D. N.; Balkus, K. J. *Journal of American Chemical Society*, **2011**, *1*, 956-968.
79. Nisha, S.; Arun, K. S.; Goboi, N. *Chemical Science Review and Letters*, **2012**, *1*, 148-155.
80. Tischer, W.; Wedekind, F. *Topics in Current Chemistry*, **1999**, *200*, 95–126.
81. Sheldon, R. A. *Advanced Synthesis and Catalysis*, **2007**, *349*, 1289 – 1307
82. Brady, D.; Jordan, A. *Biotechnology Letters*, **2009**, *31*, 1639- 1650.
83. Tanyolac, D.; Yuruksoy, B. I.; Ozdural, A. R. *Biochemical Engineering Journal*, **1998**, *2*, 179-186.
84. B.N. Brena, F. Batista-Viera, Immobilization of enzymes: a literature survey, in: J.M. Guisan (Ed.), *Methods in Biotechnology: Immobilization of Enzymes and Cells*, 2nd. ed., Humana Press Inc., New Jersey, **2006**.
85. Sardar, M.; Gupta, M. N. *Enzyme Microbiology Technology*, **2005**, *37*, 355–359.
86. Mohamad, N. R.; Marzuki, N. H. C.; Buang, N. A.; Huyop, F.; Wahab, A. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, **2015**, *209*, 205-220.
87. Bernfeld, P.; Wan, J. *Science*, **1963**, *142*, 678-679.
88. Li, P.; Modica, J. A.; Howarth, A. J.; Vargas, E. L.; Moghadam, P. Z.; Snurr, R. Q.; Mrksich, M.; Hupp, J. T.; Farha, O. K. *Chem*, **2016**, *1*, 154-169.
89. Luo, X.; Morrin, A.; Killard, A. J.; Smyth, M. R. *Electroanalysis*, **2006**, *18*, 319 – 326.
90. Ahmad, R.; Sadar, M. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, **2015**, *4*, 1-8.
91. Xu, J.; Sun, J.; Wang, Y.; Sheng, J.; Wang, F.; Sun, M. *Molecules*, **2014**, *19*, 11465-11486.
92. Hyeon, J. E.; Kyu, S.; Han, S. O. *Biotechnology Journal*, **2016**, *11*, 1386–1396.
93. Mohamad, N. R.; Marzuki, N. H. C.; Buang, N. B.; Huyop, F. Wahab, A. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **2015**, *29*, 205220.
94. Kisukuri, C. M.; Andrade, L. H. *Orgânico and Biomolecular Chemistry*, **2015**, *13*, 10086-10107.
95. Singh, V.; Rakshit, K.; Rathee, S.; Angmo, S.; Kaushal, S.; Garg, P.; Chung, J. H.; Sandhir, R.; Sangwan, R. S.; Singhal, N. *Bioresource Technology*, **2016**, *214*, 528–533.
96. Upadhyay, S.; Sharma, M. K.; Rao, G. R.; Bhattacharya, B. K.; Rao, V. K.; Vijayaraghavan, R. *Analytical Methods*, **2011**, *3*, 2246-2253.
97. Hossain, M. F.; Park, J. Y. *PLoS One*, **2017**, *12*, 1-16.
98. Filice, M.; Marciello, M.; Morales, M. P.; Palomo, J. M. *Chemical Communications*, **2013**, *49*, 6876—6878.
99. Kisukuri, C. M.; Macedo, A.; Oliveira, C. C. S.; Camargo, P. H. C.; Andrade, L. H. *Langmuir*, **2013**, *29*, 15974–15980.

100. Nasrabadi, H. T.; Abbasi, E.; Davaran, S.; Kouhi, M.; Akbarzadeh, A. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, **2016**, 44, 376–380.
101. Park, Y.; Lee, C.; Ryu, S.; Song, H. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2015**, 119, 20125–2013.
102. Jing, H.; Wang, H. *Chemistry Materials*, **2015**, 27, 2172–2180.
103. Sun, Y.; Mayers, B.; Xia, Y. *Advanced Materials*, **2003**, 15, 641–646.
104. <http://50.87.149.212/sites/default/files/nanoComposix%20Guidelines%20for%20UV-vis%20Analysis.pdf>, pesquisado em 27/04/2017.
105. Datta, K. K. R.; Eswaramoorthy, M.; Rao, C. N. R. *Journal of Materials Chemistry*, **2007**, 17, 613–615.
106. www.eq.ufrj.br/docentes/donato_web/arquivos/drx.ppt pesquisado em 28/04/2017.
107. Jeon, M.; Han, J.; Park, J. *ACS Catalysis*, **2012**, 2, 1539–1549.
108. (a) Sommer, L. H.; Lyons, J. E. *Journal of American Chemistry Society*, **1969**, 91, 7061; (b) Matarasso-Tchiroukhine, E. *Chemical Communication*, **1990**, 681, 1689–1695.; (c) Schubert, U.; Lorenz, C. *Inorganic Chemistry*, **1997**, 36, 1258–1267.
109. Schubert, U.; Lorenz, C. *Inorganic Chemistry*, **1997**, 36, 1258–1259.
110. Mori, K.; Tano, M.; Mizugaki, T.; Ebitani, K.; Kaneda, K. *New Journal of Chemistry*, **2002**, 26, 1536–1538.
111. Lee, Y.; Seomoon, D.; Kim, S.; Han, H.; Chang, S.; Lee, P. H. *The Journal of Organic Chemistry*, **2004**, 69, 1741–1743.
112. Ishimoto, R.; Kamata, K.; Mizuno, N. *Angewandte Chemie International Edition*, **2009**, 48, 8900–8904.
113. Teo, A. K. L.; Fan, W. Y. *RSC Advances*, **2014**, 4, 37645–37648.
114. Yu, M.; Jing, H.; Liu, X.; Fu, X. *Organometallics*, **2015**, 34, 5754–5758.
115. Sawama, Y.; Masuda, M.; Yasukawa, N.; Nakatani, R.; Nishimura, S.; Shibata, K.; Yamada, T.; Monguchi, Y.; Suzuka, H.; Takagi, Y.; Sajiki, H. *Journal of Organic Chemistry*, **2016**, 81, 4190–4195.
116. Dong, X.; Gao, Z.; Yang, K.; Zhang, W.; Xu, L. *Catalysis Science and Technology*, **2015**, 5, 2554–2574.
117. Mitsudome, T.; Arita, S.; Mori, H.; Mizugaki, T.; Jitsukawa, K.; Kaneda, K. *Angewandte Chemie International Edition*, **2008**, 47, 7938–7940.
118. Urayama, T.; Mitsudome, T.; Maeno, Z.; Mizugaki, T.; Jitsukawa, K.; Kaneda, K. *The Chemical Society of Japan*, **2015**, 44, 1062–1064.
119. Mitsudome, T.; Noujima, A.; Mizugaki, T.; Jitsukawa, K.; Kaneda, K. *Chemical Communication*, **2009**, 10, 5302–5304.
120. Mitsudome, T.; Urayama, T.; Maeno, Z.; Mizugaki, T.; Jitsukawa, K.; Kaneda, K. *Chemistry A European Journal Communication*, **2015**, 21, 3202–3205.
121. Gitis, V.; Beerthuis, R.; Shiju, N. R.; Rothenberg, G. *Catalysis Science and Technology*, **2014**, 4, 2156–2160.

122. John, J.; Gravel, E.; Hagège, A.; Li, H.; Gacoin, T.; Doris, E. *Angewandte Chemie International Edition*, **2011**, *50*, 7533–7536.
123. Asao, N.; Ishikawa, Y.; Hatakeyama, N.; Menggenbateer, Yamamoto, Y.; Chen, M.; Zhang, W.; Inoue, A. *Angewandte Chemie International Edition*, **2010**, *49*, 10093–10095.
124. Takale, B. S.; Bao, M.; Yamamoto, Y. *Organic and Biomolecular Chemistry*, **2014**, *12*, 2005–2027.
125. Takeshi, F.; Pengfei, P.; McKenna, K.; Xingyou, L.; Hirata, A.; Zhang, L.; Tokunaga, T.; Arai, S.; Yamamoto, Y.; Tanaka, N.; Ishikawa, Y.; Asao, N.; Yamamoto, Y.; Erlebacher, J.; Chen, M. *Nature Materials*, **2012**, *11*, 775–780.
126. Kamachi, T.; Shimizu K.; Yoshihiro, D.; Igawa, K.; Tomooka, K.; Yoshizawa, K. *The journal Physical Chemistry C*, **2013**, *117*, 22967–22973.
127. Shimizu, K.; Kubo, T.; Satsuma, A. *Chemistry A European Journal*, **2012**, *18*, 2226–2229.
128. Nath, S.; Jana, S.; Pradhan, M.; Pal, T. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2010**, *341*, 333–352.
129. Nath, S.; Jana, S.; Pradhan, M.; Pal, T. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2010**, *341*, 333–352.
130. Schuermann, S.; Hoffmann, J.; Johánek, V.; Hartmann, J.; Libuda, J.; Freund, H. *Angewandte Chemie International Edition*, **2002**, *41*, 2532–2535.
131. Konig, R. Y. G.; Schwarze, M.; Schomacker, R.; Stubenrauch, C. *Catalysts*, **2014**, *4*, 256–275.
132. C. A. Stowell and B. A. Korgel, *Nano Letters*, **2005**, *5*, 1203–1211.
133. Li, Z.; Zhang, C.; Tian, J.; Chang, Z.; Zhang, X.; Ding, Y. *Catalysis Communication*, **2014**, *53*, 53–56.
134. Li, Z.; Lin, S.; Ji, L.; Zhang, Z.; Zhang, X.; Ding, Y. *Catalysis Science and Technology*, **2014**, *4*, 1734–1737.
135. Blackwell, J. M.; Sonmor, E. R.; Scoccitti, T.; Piers, W. E. *Organic Letters*, **2000**, *2*, 3921–3923.
136. Li, Z.; Lin, S.; Ji, L.; Zhang, Z.; Zhang, X.; Ding, Y. *Catalysis Science and Technology*, **2014**, *4*, 1734–1737.
137. Hara, K.; Akiyama, R.; Takakusagi, S.; Uosaki, K.; Yoshino, T.; Kagi, H.; Sawamura, M. *Angewandte Chemie - International Edition*, **2008**, *47*, 5627–5630.
138. Dhakshinamoorthy, A.; Concepcion, P.; Garcia, H. *Chemical Communications*, **2016**, *52*, 2725–2728.
139. Filice, M.; Marciello, M.; Morales, M. P.; Palomo, J. M. *Chemical Communications*, **2013**, *49*, 6876–6878.
140. Sydnés, M. One-Pot Reactions: A Step Towards Greener Chemistry. *Current Green Chemistry*, v. 1, n. 3, p. 216–226, **2014**.
141. Scheim, U.; Grosse-Ruyken, G.; Ruehlmann, K.; Porzel, A. *Journal of Organometallic Chemistry*, **1985**, *293*, 29–36.
142. Ojima, Y.; Kazuya, Y.; Noritaka, M. *Advanced Synthesis and Catalysis*, **2009**, *351*, 1405–1411.
143. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976, *72*, 248–254.

144. Costa, V. E. U.; Amorin, H. L. N. *Química Nova*, **1999**, 22, 863-873.
145. Vollhardt, K. Peter C., and Neil E. Schore. Organic Chemistry: Structure and Function. New York: W.H. Freeman and Company, **2007**.
146. Yan, M.; Jin, T.; Ishikawa, Y.; Minato, T.; Fujita, T.; Chen, L.; Bao, M.; Asao, N.; Chen, M.; Yamamoto, Y. *Journal of American Chemical Society*, **2012**, 134, 17536–17542.
147. Takale, B. S.; Tao, S.; Yu, X.; Feng, X.; Jin, T.; Bao, M.; Yamamoto, Y. *Tetrahedron*, **2015**, 71, 7154–7158.
148. Takale, B. S.; Wang, S.; Zhang, X.; Feng, X.; Yu, X.; Jin, T.; Bao, M.; Yamamoto, Y. *Chemical Communications*, **2014**, 50, 14401-14404.
149. Abu-Omar, M. M.; Du, G.; Corbin, R.; Smith, E. Patent Application Serial No. 11/462,760, date of filing: August 7, **2006**.
150. Tan, S. T.; Kee, J. W.; Fan, W. Y. *Organometallics*, **2011**, 30, 4008–4013.
151. Yu, M.; Jing, H.; Liu, X.; Fu, X. *Organometallics*, **2015**, 34, 5754–5758.
152. Yap, C. P.; Poh, H. T.; Fan, W. Y. *RSC Advances*, **2016**, 6, 5903-5906.
153. Yu, M.; Jing, H.; Fu, X. *Inorganic Chemistry*, **2013**, 52, 10741–10743.
154. Loaiza, A.; Zaera, F. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **2004**, 15, 1366-1373.
155. Katsnelson, A. *Nature*, **2013**, 19, 613-656.
156. Gant, T. G. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2014**, 57, 3595–3611.
157. Fookson, A.; Pomerantz, P.; Richl, H. *Science*, **1948**, 7, 748-753.
158. a) M. B. Smith, J. Wolinsky, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1993**, 2, 1425-1431; b) S. Chiu, A. A. Haasz, *J. Nucl. Mater.* **1994**, 210, 34-42.
159. Darvas, F.; Hessel, V.; Dorman, G. *Flow Chemistry*; De Gruyter: Berlin, **2014**.
160. Porta, R.; Benaglia, M.; Puglisi, A. *Organic Process Research and Development*, **2016**, 20, 2–25.
161. Reizman, B. J.; Jesen, K. F. *Accounts of Chemical Research*, **2016**, 49, 1786–1796.
162. Britton, J.; Raston, C. *Chemical Society Reviews*, **2017**, 46, 1250-1271.
163. Rodrigues, T. S.; da Silva, A. G. M.; Gonçalves, M. C.; Fajardo, H. V.; Balzer, R.; Probst, L. F. D.; Camargo, P. H. C. *ChemNanoMat*, **2015**, 1, 46-51.
164. Rayment, E. J.; Summerhill, N.; Anderson, E. A. *Journal of Organic Chemistry*, **2012**, 77, 7052-7060.
165. Souza, D. J. P. Avanços e desafios na biocatálise dos compostos orgânicos de silício. 2014. 308 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo. **2014**.
166. Robinson, J. M.; Daniel, G. T.; Hale, S. J. *Journal of Organic Chemistry*, **1986**, 51, 109-115.
167. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* **1976**, 72, 248-254.
168. Rodrigues, T. S.; da Silva, A. G. M.; Gonçalves, M. C.; Fajardo, H. V.; Balzer, R.; Probst, L. F. D.; Camargo, P. H. C. *ChemNanoMat*, **2015**, 1, 46-51.

Anexos

7. ANEXOS

7.1. Imagens de microscopia eletrônica das NSsAgAu, NSsAgPd e NSsAgPt

Figura A1. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgAu.

Figura A2. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgAu.

Figura A3. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgPd.

Figura A4. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgPd.

Figura A5. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgPt.

Figura A6. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgPt.

Figura A7. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgAu depois de 10 ciclos.

Figura A8. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgPd depois de 10 ciclos.

Figura A9. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das NSsAgPt depois de 10 ciclos.

Figura A10. Imagem de microscopia eletrônica de transmissão das nanopartículas sólidas de AgPd.

7.2. Imagens de microscopia eletrônica do SiO₂-AgPd

Figura A11. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das SiO₂-AgPd.

Figura A12. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das SiO₂-AgPd: A-) zoom em X10.000; WD 8.0mm; LEI; 5.0kV).

Figura A13. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das SiO₂-AgPd: zoom em X10.000; WD 8.3mm; LEI; 5.0kV).

Figura A14. Imagem de microscopia eletrônica de Varredura das SiO₂-AgPd usadas para redução do (*E*)-1-(4-clorfenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (x) nas reações em fluxo contínuo: zoom em X20.000; WD 8.0mm; LEI; 20.0kV).

7.3. Espectros de FT-IR das nanopartículas bimetálicas antes e depois do seu uso como catalisador

Figura A15. Espectro de FTIR das NSsAgAu bimetálicas antes e depois do seu uso como catalisador.

Figura A16. Espectro de FTIR das NSsAgPd bimetálicas antes e depois do seu uso como catalisador.

Figura A17. Espectro de FTIR das NSsAgPt bimetálicas antes e depois do seu uso como catalisador.

7.4. Cromatogramas e Espectros de CG-EM e CG-DIC selecionados

7.4.1. Cromatogramas de CG-EM do estudo cinético para oxidação do dimetil(fenil)silano **1a**

Figura A18. Cromatograma de CG-EM para oxidação do dimetil(fenil)etanol **1a** (10 minutos).

Figura A19. Cromatograma de CG-EM para oxidação do dimetil(fenil)etanol **1a** (20 minutos).

Figura A20. Cromatograma de CG-EM para oxidação do dimetil(fenil)etanol **1a** (30 minutos).

Figura A21. Cromatograma de CG-EM para oxidação do dimetil(fenil)etanol **1a** (40 minutos).

Figura A22. Cromatograma de CG-EM para oxidação do dimetil(fenil)etanol **1a** (50 minutos).

Figura A23. Cromatograma de CG-EM para oxidação do dimetil(fenil)etanol **1a** (60 minutos).

7.4.2. Cromatogramas de CG-DIC para o teste do envenenamento do catalisador

Figura A24. Cromatograma de CG-EM para oxidação do dimetil(fenil)etanol **1a** utilizando as NSsAgAu “envenenadas”.

Figura A25. Cromatograma de CG-EM para oxidação do dimetil(fenil)etanol **1a** utilizando as NSsAgPd “envenenadas”.

7.4.3. Outros cromatogramas de CG-EM da redução dos compostos orgânicos utilizando dimetil(fenil)silano como fonte de hidrogênio

Figura A26. Cromatograma de CG-EM para redução de **5a** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A27. Cromatograma de CG-EM para redução de **5b** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A28. Cromatograma de CG-EM para redução de **5c** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A29. Cromatograma de CG-EM para redução de **5d** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A30. Cromatograma de CG-EM para redução de **5e** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A31. Cromatograma de CG-DIC para redução de **5f** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A32. Cromatograma de CG-EM para redução de **5g** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A33. Cromatograma de CG-EM para redução de **5h** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A34. Cromatograma de CG-EM para redução de **5i** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A35. Cromatograma de CG-EM para redução de **5j** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A36. Cromatograma de CG-EM para redução de **5l** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A37. Cromatograma de CG-EM para redução de **5m** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio.

Figura A38. Cromatograma de CG-EM para redução de **8l** utilizando NSsAgPd como catalisador e dimetil(fenil)silano **1a** como doador de hidrogênio, reações em fluxo contínuo.

Figura A39. Espectro de CG-EM para redução do estireno utilizando NSsAgPd como catalisador, D₂O e dimetil(fenil)silano como doador de hidrogênio.

7.5. Espectros seleccionados

Figura A40. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do **2a**.

Figura A41. RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do **2a**.

A42. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **2b**.

Figura A43. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **2b**.

A44. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **2c**.

Figura A45. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **2c**.

A46. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **2d**.

Figura A47. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **2d**.

A48. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do **2e**.

Figura A49. RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do **2e**.

A50. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do **2f**.

Figura A51. RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do **2f**.

A52. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **2g**.

Figura A53. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **2f**.

A56. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **2i**.

Figura A57. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **2i**.

ck0652dj1h

A58. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do **2j**.

Figura A59. RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do **2j**.

A60. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **5a**.

Figura A61. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **5a**.

A62. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **5b**.

Figura A63. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **5b**.

A64. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **5c**.

Figura A65. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **5c**.

A66. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **5m**.

Figura A67. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **5m**.

A68. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6a**.

Figura A69. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6a**.

A70. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6b**.

Figura A71. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6b**.

A72. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6c**.

Figura A73. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6c**.

A74. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6d**.

Figura A75. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6d**.

A76. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6e**.

Figura A77. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6e**.

A78. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do **6f**.

Figura A79. RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do **6f**.

A80. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6g**.

Figura A81. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6g**.

A82. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6h**.

Figura A83. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6h**.

A84. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6i**.

Figura A85. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6i**.

A86. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6j** e **6l**.

Figura A87. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6j** e **6l**.

A88. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **6m**.

Figura A89. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **6m**.

A90. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **8I**.

Figura A91. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **8I**.

A92. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do **7m**.

Figura A93. RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do **7m**.

7.6. Currículo Lattes

Camila de Menezes Kisukuri
Curriculum Vitae

Março/2018

Camila de Menezes Kisukuri

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Camila de Menezes Kisukuri
Filiação Claudio Kisukuri e Luzia de Menezes Kisukuri
Nascimento 01/03/1988 - assis/SP - Brasil
Carteira de Identidade 446598148 ssp - SP - 11/12/1997
CPF 368.671.638-07

Endereço residencial Rua João Passalacqua, 140
Bela Vista - São Paulo
01326020, SP - Brasil
Telefone: 18 33246247
Celular 11 942670103

Endereço eletrônico

E-mail para contato : cmkisukuri@gmail.com
E-mail alternativo kisukuri@usp.br

Formação acadêmica/titulação

- 2014 - 2018** Doutorado em Química.
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
Título: Nanopartículas bimetálicas e biocatalisadores: um estudo sobre sua interação e atividade catalítica, Ano de obtenção: 2018
Orientador: Leandro Helgueira de Andrade
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2012 - 2014** Mestrado em Química Orgânica.
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
Título: Mudanças na interface de nanopartículas de Au/Ag e lipases: seus efeitos na atividade enzimática, Ano de obtenção: 2014
Orientador: Leandro Helgueira de Andrade
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
- 2007 - 2011** Graduação em Química.
Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá, Brasil
Orientador: Maria Helena Sarragiotto
-

Formação complementar

- 2017 - 2017** Extensão universitária em Doutorado Sanduiche.
Massachusetts Institute of Technology, MIT, Cambridge, Estados Unidos
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
-

Atuação profissional

1. Universidade Estadual de Maringá - UEM

Vínculo institucional

2009 - Atual Vínculo: Outro (especifique) , Enquadramento funcional: pesquisa

2. Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2012 - 2014

3. universidade sem fronteiras - USF

Vínculo institucional

2008 - 2008 Vínculo: Bolsista extensão , Enquadramento funcional: extensão universitária , Carga horária: 20

Projetos

Projetos de pesquisaProjetos de pesquisa**2012 - 2014** Mudanças na Interface de Nanopartículas de Au/Ag e Lipases: Seus efeitos na atividade enzimática

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri; CAMARGO, PEDRO H. C.; ANDRADE, LEANDRO H. (Responsável)

Financiador(es): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP

Número de produções C,T & A: 2/

2011 - 2012 Síntese de novos derivados potencialmente ativos contendo o núcleo benzimidazólico com diferentes heterociclos na posição-2

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri (Responsável); ;

2010 - 2010 Síntese e caracterização de novas 3-(-4-oxo-tiazolinil)-beta-carbolinas contendo o grupo 1-fenilssubstituído na posição-1

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri (Responsável); ;

2010 - 2011 Síntese e caracterização de novos derivados b-carbolínicos contendo o grupo 2-imino-4-tiazolidinona na posição-3

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri (Responsável); ;

2009 - 2010 Síntese e caracterização de derivados 3-[-2-ona-1,3,4-oxadiazol-5-il]-beta-carbonílicos-1-1fenilssubstituídos

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Doutorado (1);

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri; maria helen sarragiotto (Responsável)

Projeto de extensãoProjeto de extensão**2008 - 2008** Apoio aos Professores de Química:
Parceria entre escola e a Universidade

Situação: Concluído Natureza: Projeto de extensão

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri (Responsável); ;

2008 - 2008 O Ensino de Química Integrando a Universidade Estadual de Maringá com
Escolas Públicas da Periferia com vistas a uma formação cidadã.

Situação: Concluído Natureza: Projeto de extensão

Alunos envolvidos: Graduação (4); Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri; maria aparecida rodrigues (Responsável)

Outros tipos de projetosOutros tipos de projetos**2013 - 2013** Programa de Aperfeiçoamento
de ensino

Situação: Concluído Natureza: Outros tipos de projetos

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri (Responsável); ;

2009 - 2009 Monitoria na Disciplina de Química Orgânica

Situação: Concluído Natureza: Outros tipos de projetos

Integrantes: Camila de Menezes Kisukuri (Responsável); ;

Áreas de atuação

1. Química

Idiomas

Inglês Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem

Prêmios e títulos

2011 Prêmio de Química", maior média global entre os alunos matriculados no
curso de Química Licenciatura , Universidade Estadual de Maringá

2010 "Prêmio de Química", maior média entre os alunos matriculados na terceira
série do curso de Química Licenciatura, Universidade Estadual de Maringá

2009 "Prêmio de Química", maior média entre os alunos matriculados na terceira
série do curso de Química Licenciatura, Universidade Estadual de Maringá

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. ANDRADE, LEANDRO; SANTOS, WAGNER; DIAS, KEVIN; SANTOS, LEIDAIANY; **KISUKURI, CAMILA**; RODRIGUES, THENNER; GEONMONOND, RAFAEL; CAMARGO, PEDRO

Evaluating Gold and Selenium Chemistry for Selective Transformations of Lignin Model Compounds. *ADVANCED SYNTHESIS & CATALYSIS*. , v.360, p.1-8 - , 2018.

2. **KISUKURI, CAMILA M.**; REIS, JOÃO L. M. S.; RODRIGUES, THENNER S.; CAMARGO, PEDRO H. C.; ANDRADE, LEANDRO H.

Evaluation of AgPd Nanoshells in Dual Catalysis: One-Pot Silane Oxidation and Reduction of Organic Compounds. *ChemCatChem*. , v.8, p.3657 - 3662, 2016.

3. DA SILVA, ANDERSON G.M.; **KISUKURI, CAMILA M.**; RODRIGUES, THENNER S.; CANDIDO, EDUARDO G.; DE FREITAS, ISABEL C.; DA SILVA, ALISSON H.M.; ASSAF, JOSE M.; OLIVEIRA, DANIELA C.; ANDRADE, LEANDRO H.; CAMARGO, PEDRO H.C.

MnO₂ nanowires decorated with Au ultrasmall nanoparticles for the green oxidation of silanes and hydrogen production under ultralow loadings. *Applied Catalysis. B, Environmental (Print)*. , v.184, p.35 - 43, 2016.

4. **KISUKURI, CAMILA M.**; PALMEIRA, DAYVSON J.; RODRIGUES, THENNER S.; CAMARGO, PEDRO H. C.; ANDRADE, LEANDRO H.

Bimetallic Nanoshells as Platforms for Metallo- and Biometallo-Catalytic Applications. *ChemCatChem*. , v.x, p.n/a - n/a, 2015.

5. **KISUKURI, CAMILA M.**; ANDRADE, LEANDRO H.

Production of chiral compounds using immobilized cells as source of biocatalysts. *Organic & Biomolecular Chemistry*. , v.13, p.10086 - , 2015.

6. **KISUKURI, CAMILA M.**; MACEDO, ALEXANDRA; OLIVEIRA, CAIO C. S.; CAMARGO, PEDRO H. C.; ANDRADE, LEANDRO H.

Investigating the Influence of the Interface in Thiol-Functionalized Silver-Gold Nanoshells over Lipase Activity. *Langmuir*. , v.29, p.15974 - 15980, 2013.

Artigos aceitos para publicação

1. SAVARIZ, F. C.; BARBOSA, V. A.; KISUKURI, C. M.; RUIZ, A. L.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; MEYER, E.; SARRAGIOTTO, M. H.

Synthesis and Antitumor Activity of Novel 1-Substituted phenyl-3-(2- alkylamino-1,3,4-oxadiazol-5-yl)-carboline Derivatives. *Medicinal Chemistry (Hilversum)*. , 2011.

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **Brazilian Meeting on Organic Synthesis**, 2015. (Encontro)

AgPd nanoshells as multi-catalysts: silane oxidation and organic compounds hydrogenation.

2. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **37ª Reunião Anual da SBQ**, 2014. (Congresso)

Oxidação de silanos catalisada por nanopartículas metálicas.

3. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **VII Workshop on Biocatalysis and**

Biotransformations, 2014. (Congresso)
Exploring the use of bifunctional-catalysts.

4. Apresentação de Poster / Painel no(a) **36 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2013. (Congresso)

Nanopartículas bimetálicas de Au/Ag como suporte de enzimas: um estudo sobre atividade enzimática da lipase de Burkholderia cepacia.

5. **Zing Conference Biocata**, 2012. (Congresso)

Immobilization of Burkholderia cepacia lipase on Au-Ag nanoparticles.

6. Apresentação de Poster / Painel no(a) **34 Reunião Anual, Sociedade Brasileira de Química**, 2011. (Encontro)

Síntese e avaliação da atividade antitumoral de β -carbólinas contendo o grupo carboidrazida-(3-etil-4-oxo-tiazolidin-2-ilideno) na posição-3.

7. Apresentação Oral no(a) **XX Encontro Anual de Iniciação Científica**, 2011. (Encontro)

Síntese e Caracterização de Novos Derivados β -Carbonílicos contendo o grupo 2-lmino-4-Tiazolidonona na posição-3.

8. Apresentação de Poster / Painel no(a) **33 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2010. (Encontro)

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE β -CARBOLINAS CONTENDO O GRUPO 2-ONA-1,3,4-OXADIAZOLIL NA POSIÇÃO-3.

9. Conferencista no(a) **Semana de Integração nas Ciências Exatas**, 2010. (Outra)

Tópicos Básicos de Química.

10. Apresentação Oral no(a) **XIX Encontro Anual de Iniciação Científica**, 2010. (Encontro)

Síntese e Caracterização de novas 3-(4-oxo-tiazolinil)- β -carbólinas contendo grupo 1-fenilsubstituído na posição-1.

11. **XV Encontro Nacional de Ensino de Química**, 2010. (Encontro)

.

12. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XVII Encontro de Química da Região Sul**, 2010. (Encontro)

Síntese e atividade Antitumoral de derivados de 3-(2-alquiloamino-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbonílicos.

13. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XVIII Encontro de Química da Região Sul**, 2010. (Encontro)

Síntese e caracterização de novas N2-(2-fenilsubstituído-4-tiazolidinona)-triptamiinas.

14. **XXVI Semana de Química**, 2010. (Outra)

.

15. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XVII SBQSUL**, 2009. (Congresso)

Síntese e avaliação da atividade antitumoral de 9-metil-9-carbólinas-3-benzilidenocarboidrazidas.

16. **XXV Semana de química**, 2009. (Outra)

.

17. **XXIV Semana de química**, 2008. (Outra)

.

18. **XXIII Semana de química**, 2007. (Outra)

.

Totais de produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódico.....	6
Artigos aceitos para publicação.....	1

Eventos

Participações em eventos (congresso).....	5
Participações em eventos (encontro).....	8
Participações em eventos (outra).....	5

1.1.Artigos publicados

Cite this: DOI: 10.1039/c5ob01677k

Production of chiral compounds using immobilized cells as a source of biocatalysts

Camila M. Kisukuri and Leandro H. Andrade*

The importance of chiral compounds in all fields of technology and life sciences is shown. Small chiral molecules are mainly used as building blocks in the synthesis of more complex and functionalized compounds. Nature creates and imposes stereoselectivity by means of enzymes, which are highly efficient biocatalysts. The use of whole cells as a biocatalyst source is a promising strategy for avoiding some drawbacks associated with the use of pure enzymes, especially their high cost. The use of free cells is also challenging, since cell lysis can also occur under the reaction conditions. However, cell immobilization has been employed to increase the catalytic potential of enzymes by extending their lifetimes in organic solvents and non-natural environments. Besides, immobilized cells maintain their biocatalytic performance for several reaction cycles. Considering the above-mentioned arguments, several authors have synthesized different classes of chiral compounds such as alcohols, amines, carboxylic acids, amides, sulfides and lactones by means of immobilized cells. Our aim was to discuss the main aspects of the production of chiral compounds using immobilized cells as a source of biocatalysts, except under fermentation conditions.

Received 9th August 2015,
Accepted 1st September 2015

DOI: 10.1039/c5ob01677k

www.rsc.org/obc

Universidade de São Paulo, Instituto de Química, Av. Prof. Lineu Prestes 748,
SP 05508-900 São Paulo, Brazil. E-mail: leandroh@iq.usp.br

Camila M. Kisukuri

Camila M. Kisukuri was born in Assis, Brazil. She received her BSc degree in Chemistry at the State University of Maringá in 2011. In São Paulo, she received a M.S. degree in Chemistry from São Paulo University (2014) working under the direction of Professor Leandro H. Andrade. She is currently a PhD student in Andrade's group and her research interests include biocatalysis and the development of bio-metal nanomaterials as catalysts for organic reactions.

Leandro H. Andrade

Leandro H. Andrade was born in Santo Antônio das Missões, Brazil. He received his M.S. degree in Chemistry (1998) and his Ph.D. degree in Chemistry (2002) from the Federal University of Santa Maria (RS, Brazil), working under the direction of Professor A. L. Braga. After obtaining his Ph.D. degree in 2002, he received a FAPESP Post-doctoral Fellowship to work with Professor J. V. Comasseto at São Paulo University. In 2003, he received a fellowship from FAPESP to work on biocatalysis as a Research Associate at São Paulo University. In 2005 he joined the Institute of Chemistry at São Paulo University as Professor of Chemistry (Associate Professor, 03/08/2013). He served as the Chair of the Brazilian Chemical Society, Organic Chemistry Division (2011–2004). In 2013–14, he spent a sabbatical year in the Department of Chemistry at Massachusetts Institute of Technology working with Professor Timothy F. Jamison. His current research interests include enzyme prospecting and catalysis (metals and enzymes) applied to organic chemistry.

1. Introduction

Chiral compounds have great importance in organic synthesis, especially in the pharmaceutical industry, since they are mainly used as the building blocks for more complex and functionalized compounds.¹ In nature, most molecules having stereogenic centers are found in the single enantiomer form (such as amino acids, proteins, enzymes, carbohydrates, nucleosides, alkaloids and hormones). This feature is attributed to the chirality of enzymes, which are the main natural catalysts for organic reactions in nature. Stereoisomers, especially enantiomers, usually have distinct biological activities.² Nowadays, the development of new technologies to achieve chiral compounds has an important role in the discovery of new drugs, agrochemicals, and food additives.

There are several enantioselective reactions in which biocatalysts (enzymes) can be employed for the production of chiral fine chemicals. These enzyme-catalyzed reactions can be performed either by pure enzymes, cell extracts, whole permeabilized cells or whole cells, which contain intracellular enzymes.

Cells have been explored since ancient times for the production of food and beverages, specifically by the fermentation technique. Although the use of biocatalysts has been documented for thousands of years, only in the 20th century cell extracts and whole cells were used as the source of biocatalysts in organic chemistry.³ A very important contribution using cells as biocatalysts was described by Louis C. Pasteur, who carried out the enantiomeric enrichment of (–)-tartaric acid by reacting its racemate with a fungal culture (*Penicillium glaucum*).⁴

After the inspiring application of cells to produce chiral compounds, several contributions on this topic have arisen in the literature. Cells contain a wide variety of enzymes (biocatalysts), and consequently many chemical reactions can take place inside the cell. Among these reactions, oxidation–reduction reactions, which can be catalyzed mainly by cofactor-dependent enzymes, have attracted the attention of the synthetic community due to their wide substrate scope. Considering technical protocols for synthetic applications, reactions mediated by cells can be carried out without any external addition of cofactor, since cells have their own cofactor recycling systems. Besides, maintaining the enzyme inside the cell an increase in enzyme stability can be expected since enzymes would be in their natural environment.

1.1. Cell immobilization

Despite their synthetic potential, some problems are associated with the use of whole cells or their enzymes in a non-natural environment. For instance, when long reaction times or organic solvents are employed for systems with free cells a loss of enzyme activity is commonly observed. In the case of recycle application, removing the cells from the reaction media can also be an issue. An alternative approach to improve the biocatalytic efficiency of cells is their immobilization. Studies on cell immobilization have been steadily growing in recent

years mainly due to the wide application of biocatalysts in organic reactions. In general, cell immobilization can enhance biocatalytic stability making them less prone to enzyme denaturation. Some intrinsic properties and advantages concerning cell immobilization are described below.^{5,7}

- Process simplification. The immobilized cells can be easily removed from the reaction media. The immobilization also overcomes cells lost in the reaction medium, which can yield higher purity products.
- Immobilized cells are more resistant towards physical stress (chafing), and since the cell membrane can be preserved, the catalytic activity is consequently extended.
- Cell immobilization reduces the overall cost of the process since the biocatalyst can be easily re-used more than once.
- Cell immobilization can increase the enzyme catalytic performance. Immobilized cells can have high thermal stability (cells can tolerate higher temperature fluctuations), tolerance to pH variations and organic solvents. All these features can ensure that the enzymes can be used for unnatural substrates and environments.

A variety of supporting materials can be used for cell immobilization (organic, inorganic or hybrid materials). In fact, the choice of the appropriate material will be dependent of the desired synthetic application, since we should consider the most important features for every application. For instance, supporting material cannot decrease the activity of enzymes, which are inside the cells or strongly interact with the substrates/products. Furthermore, the materials must maintain their integrity throughout the process. Accordingly, significant improvements in catalytic activity can be achieved by fulfilling these criteria.

Until the end of the 1980s more than 100 protocols for cell immobilization were reported. Most of them could be divided into five large classes: adsorption, ionic binding, covalent attachment, entrapment and cross-linking (Fig. 1).^{6,7}

(i) *Cell immobilization by adsorption*: it is a technique in which cells are immobilized on the surface of a matrix *via* physical interactions (electrostatic interactions, such as van der Waals and hydrophobic interactions) between cells and supporting material.

(ii) *Cell immobilization by ionic binding*: it is an immobilization technique based on the electrostatic attraction between the matrix and cells, which should have opposite charges.

(iii) *Cell immobilization by covalent attachment*: it consists of the reaction of functional groups on the cell surface (such as NH₂–, –OH, –SH) with groups present on the inorganic or organic matrix surface. Usually, it is important to perform surface functionalization prior to cell immobilization.

(iv) *Cell immobilization by cross-linking*: it occurs when cells are attached to each other by using organic molecules as cross-linkers (usually aldehydes, mainly glutaraldehyde).

(v) *Cell immobilization by entrapment*: it occurs when cells are confined in fibers or membranes or encapsulated in semi-permeable materials (polymer matrices). Matrix entrapment is extremely popular for the immobilization of whole cells and active cells.

Fig. 1 Immobilization techniques for cells: (a) immobilization *via* adsorption; (b) immobilization *via* binding; (c) immobilization *via* covalent attachment; (d) immobilization *via* cross-linking; (e) immobilization *via* entrapment.

In this review, we will discuss the main aspects of the production of chiral compounds using immobilized cells as a source of biocatalysts, except under fermentation conditions. Therefore, this paper will attempt to summarize efforts made in cell immobilization for creating stable biocatalysts to be used for chiral compound production.

2. Synthesis of chiral compounds by immobilized cells

2.1. Chiral alcohols

Chiral alcohols are widely used in organic synthesis, especially as building blocks in the preparation of chiral pharmaceutical compounds, such as L-chlorprenaline, (S)-fluoxetine and (R)-denopamine.^{8–10} Therefore, cells can be used as a source of enzymes for the production of chiral alcohols, mainly *via* ketone reduction. The enzymes responsible for catalyzing the reaction are cofactor-dependent keto-reductases or alcohol dehydrogenases. Cells have internal cofactor regeneration systems, which enable their application without the need for external addition of cofactor. These features make ketone reductions or alcohol oxidations mediated by whole cells very useful in the preparation of chiral compounds.¹¹

However, there are other reactions in which enzymes can be used to produce chiral alcohols, which include hydrolysis,

esterification, transesterification (catalyzed by lipases and esterase) and hydroxylation (catalyzed by hydroxylases) reactions. All these reactions will be discussed in this review.

2.1.1. Ketone reduction. Immobilization of cells for the production of chiral alcohols *via* ketone reduction has emerged in the 1980s. Mironowicz *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Rhodotorula mucilaginosa* on polyacrylamide gel and applied them for the stereoselective reduction of monoterpene ketones using continuous transformation (Scheme 1). The authors set up a continuous process with a flow rate of 0.5–1 L per 6–24 h to produce chiral alcohols, such as neomenthanol, methyl- α -campholenol, neo-isodihydrocarveol and eucarveol. In all cases, the same preference for (S)-isomer was observed. In the case of eucarvone, the double bond reduction was also observed. The column filled with immobilized cells of *Rhodotorula mucilaginosa* can be used for several substrates. For example, the same column used in the carvone reduction of (–)-neoisocarveol was washed, stored and then used for acetophenone reduction to (–)-1-(phenyl)ethanol for nine days with 100% yield.¹²

Later, free *Nicotiana tabacum* cells were used to reduce α -dicarvelones into enantiomerically enriched alcohols.¹³ Aiming to improve biocatalyst efficiency, Naoshima *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Nicotiana tabacum* by entrapping with calcium alginate beads to produce different enantiomerically enriched hydroxyesters (Scheme 2).¹⁴ The

Scheme 1 Bioreduction of ketones by immobilized cells of *Rhodotorula mucilaginosa*.

Scheme 2 Reduction of β -keto ester using immobilized cells of *Nicotiana tabacum*.

immobilized cells showed high enantioselectivity in the ketone reduction for most substrates (67–99% ee). The reusability study revealed that enzyme activity remained after 7 cycles (about 3 weeks), considering conversion and enantioselectivity. Naoshima *et al.* consider that conversion increases in reaction rates may be related to the multiplication of *N. tabacum* cells in the immobilized beads. Moreover, the reduction of hydroxyesters using immobilized cells demonstrated that unnatural substrates can be used to produce enantiomerically enriched alcohols.

Saito *et al.* explored the biocatalytic ability of *Hansenula anomala* cells, immobilized on hydrophobic polymers, to reduce 3,8-dioxo-4-methoxycarbonyl-9-methyl- δ 4(10)-octalin (Scheme 3). Polymers such as acrylamide/methylenebisacrylamide (NMAAm/AAM), cross-linked polyacryloylpyrrolidine (APr) and poly-*N*-methylacrylamide (NMAAm) were used as the matrix for cells. The immobilization was carried out by bulk copolymerization in the presence of *Hansenula anomala* cells. The enzyme activity was dependent on the

Scheme 3 Enantioselective reduction catalyzed by immobilized cells of *Hansenula anomala*.

matrix type (23–52% conversion). However, the enantioselectivity was the same for all immobilized cells (>99% enantiomeric excess). Another interesting result is that the immobilized cells on the matrices NMAAm, NMAAm/AAM and acrylamide (AAM) showed higher substrate conversion than free cells. The immobilized cells had conversion between 23 and 52% while free cells showed 36% conversion.¹⁵

In 1991, Naoshima *et al.* developed the immobilization of whole plant cells (*Daucus carota*, *Tobacco* and *Gardenia*) in calcium alginate beads (size 4–5 mm). These immobilized cells were used in the enantioselective reduction of several ketones. For instance, reactions with immobilized *Carrot* cells showed excellent biocatalytic performance to produce (*S*)-1-phenylethanol, (*S*)-1-phenylpropan-1-ol, (*S*)-1-(naphthalen-1-yl)ethanol and (*S*)-1-(naphthalen-2-yl)ethanol in high yields (54–70%) and enantiomeric excess (89–99%). Immobilized cells of *Tobacco* were able to promote the production of (*S*)-1-phenylethanol, (*S*)-1-phenylpropan-1-ol, (*S*)-1-(naphthalen-1-yl)ethanol and (*S*)-1-(naphthalen-2-yl)ethanol in 7–21% yield with 61–99% ee. In the case of immobilized cells of *Gardenia*, (*R*)-1-phenylethanol, (*R*)-1-phenylpropan-1-ol and (*S*)-1-(naphthalen-1-yl)ethanol were prepared in 13–25% yield with 63–99% ee (Scheme 4). These results were compared with free cells. After this comparison, it was evidenced that free cells required longer reaction times to achieve the same yields, which proves that the immobilization of the cells increased the catalytic activity of the biocatalysts.¹⁶

Scheme 4 Use of immobilized plant cells for enantioselective reduction of ketones.

Later, Naoshima *et al.* also applied immobilized whole cells of *Daucus carota* entrapped in calcium alginate beads for bio-reduction of several ketones. This methodology was very efficient, since chiral alcohols with high enantioselectivity (52–99% ee) and conversion (57–100%) were obtained (Scheme 5). The aliphatic beta-ketoesters showed conversion close to 100%. In the case of aromatic beta-ketoesters, high conversions (57–100%) were obtained with substrates containing the electron-withdrawing group at the aromatic ring.¹⁷

In 1993 and 1994, Akakabe *et al.* described the application of immobilized whole cells of *Carrot*, *Tobacco* and *Gardenia jasminoides* entrapped in calcium alginate beads to transform acetophenone to (*R*)-1-phenylethanol. A detailed study with immobilized cells of *Gardenia jasminoides* has shown that (*R*)-1-phenylethanol can be produced *via* 2 reactions in a one-pot procedure. Initially, the ketone reduction gave a mixture of (*R*)- and (*S*)-1-phenylethanol and then probably another enzyme was able to stereoselectively oxidize the (*S*)-alcohol to the starting material, acetophenone. By the end of this process, enantioenriched (*R*)-1-phenylethanol was obtained. Also, immobilized cells of *Carrot* promoted the direct enantioselective reduction to (*S*)-1-phenylethanol (99% ee and 100% conv.) (Scheme 6). Immobilized cells of *Nicotiana tabacum* can also promote a reduction reaction leading to (*S*)-1-phenylethanol with 88% ee and 21% conv.^{18,19}

In 1995, Takemoto *et al.* prepared immobilized whole cells of *Nicotiana tabacum* in calcium alginate. For comparison purposes, the authors also used free cells of *N. tabacum* as biocatalysts for the bioreduction of benzoylpyridines. The high efficiency of immobilized cells to obtain α -phenylpyridylmethanols, except for 2-(α -acetoxybenzyl)pyridine which was not reduced even by free cells, was clearly

Scheme 5 Reduction of β -keto ester using immobilized cells of *Daucus carota*.

Scheme 6 Bioreduction of acetophenone using immobilized cells of *Carrot*, *Tobacco* and *Gardenia*.

evidenced (Scheme 7). This study illustrated the great importance of cells to produce enantioselectively pharmacological intermediaries.²⁰

In 1998, Griffin *et al.* immobilized whole cells of baker's yeast in alginate beads to be employed for bioreductions using hexane as the solvent. Acetophenone was used as the substrate and 2-hexanol as the co-substrate for cofactor regeneration (Scheme 8). Although cells have their own cofactor regeneration system, an additional cofactor regeneration system dramatically increased the reaction initial rate about 20 times and also enantiomeric excess from 50% to 96%. Other factors were also studied such as the pH and size of beads used as the matrix. When the reaction pH was increased from 3 to 9 a

Scheme 7 Immobilized cells of *Nicotiana tabacum* for enantioselective production of α -phenylpyridylmethanols.

Scheme 8 Use of immobilized cells of baker's yeast for bioreduction with the cofactor regeneration system in an organic solvent.

decrease in enantiomeric excess was observed. Different diameters of alginate beads were studied (1.4 and 3.8 mm). The authors expected that the smallest beads would have good substrate and product diffusion and increase the initial reaction rate. Both reaction components must diffuse through the alginate beads to reach the entrapped cells. However, after evaluating the initial reaction rate, a plateau was observed for diameters between 2 and 1.5 mm, indicating that diffusional limitations are relatively unimportant.²¹

Gervais *et al.* immobilized baker's yeast in calcium alginate and these immobilized cells were used to convert 2-hexanone and 2-octanone to the corresponding alcohols. 2-Propanol was used as the substrate for cofactor regeneration, which increased the reaction initial rate. In both cases, (*S*)-2-hexanol and (*S*)-2-octanol were prepared with >99% ee (Scheme 9).²² These authors also used a new yeast strain and its immobilized form for enantioselective reduction of ketones and oxidation of chiral alcohols using hexane as the solvent. Other more polar solvents were used, but the substrate conversion dropped with increasing solvent polarity.²³

Lou *et al.* promoted the immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* in calcium alginate beads. These immobilized cells were used for bioreduction of acetyltrimethylsilane to (–)-1-trimethylsilyl-ethanol in Tris-HCl buffer. The immobilized cells gave better yield than free cells after 10 h reaction (84.1% immobilized cells; 67.6% free cells) and better ee (82.7% versus 65.8%). The temperature effect in enzyme activity was evaluated, and by changing from 30 to 45 °C immobilized cells have maintained activity. Different solvents, including Tris-HCl buffer, *n*-hexane, *n*-heptane, cyclohexane, di-isopropyl ether, ethyl acetate, 3-methylimidazolium hexafluorophosphate (BMIM-PF₆) and 3-methylimidazolium tetrafluoroborate (BMIM-BF₄), were used for this reaction in a biphasic system.^{24,25} The use of organic solvents in biphasic systems increased enzyme activity (Tris-HCl buffer and *n*-hexane, *n*-heptane, *n*-hexane, cyclohexane, di-isopropyl ether, ethyl acetate showed 91–92% yield and 93–96% ee), especially ionic liquids which gave the highest conversions and enantiomeric

excesses (>99% and >99%, respectively) (Scheme 10). A biphasic system can efficiently avoid enzyme inhibition caused by the presence of substrate and product in the aqueous medium, since they can be preferentially soluble in the organic solvent. The authors also used glucose for regeneration of NAD(P)H from NAD(P)⁺.

Padhi *et al.* studied the immobilization of integrate cells *Candida parapsilosis* ATCC 7330 in calcium alginate. These immobilized cells were used for deracemization of substituted-aryl β-hydroxy esters (Scheme 11). For several substrates, (*S*)-enantiomer with high enantiomeric excess (>99%) and great yield (up to 68%) were observed.²⁶ Another study using immobilized cells of *Candida parapsilosis* ATCC 7330 was carried out to deracemise a wide range of β-hydroxy esters, achieving up to >99% ee and 28–68% conversion for several substrates. Different substituents on the aromatic ring affected the deracemization process and the enantiomeric excesses were dependent on the substituent. For instance, a substituent at the *ortho*-position (MeO–; 9% ee) can cause a negative effect in the deracemisation while the substrate with the methyl group at the *para*-position was poorly affected (98% ee).²⁷

Milagre *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Saccharomyces cerevisiae* in different matrices (calcium alginate, k-carrageenan and Lenticats). All matrices showed efficient performance regarding the use of immobilized cells in the bioreduction of ethyl 3-halo-2-oxo-4-phenylbutanoate. In all cases,

Scheme 10 Use of immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* type II to conversion of acetyltrimethylsilane in (–)-1-trimethylsilyl-ethanol.

Scheme 9 Use of immobilized cells of baker's yeast for bioreduction and oxidation.

Scheme 11 Deracemization of aryl and substituted aryl β -hydroxy esters using immobilized cells of *Candida parapsilosis* ATCC 7330.

syn products were obtained (*syn*:*anti*, 75:25) (Scheme 12). All results with immobilized cells were better than those for free cells which showed a ratio of *syn*:*anti* (69:31), 83% *syn* ee, 95% *anti* ee and 87% yield. The addition of glucose for co-factor regeneration has also increased the product ee.²⁸

Cell suspensions of *Candida viswanathii* were immobilized in five different matrices (calcium alginate, agarose, k-carrageenan and polyacrylamide).²⁹ The immobilized cells in calcium alginate (1.5%, w/v) showed the best immobilization efficiency. For instance, reduction of 1-acetonaphthone mediated by immobilized cells in calcium alginate under aqueous solution gave (*S*)-(-)-1-(1-naphthyl)ethanol in high enantiomeric excess (>99%) (Scheme 13). Cells of *C. viswanathii* were also applied for the bioreduction of other substrates, such as aceto-pyridine, thiophene, furan, and acetophenone (64–84% yield, up to >99% ee). The authors also studied the bioreduction in the presence of different organic solvents (10%, v/v; benzene, dioxane, hexane, iso-propanol, tetrahydrofuran, pyridine, DMF, DMSO and ethanol). However, in all reactions both conversion and enantioselectivity considerably decreased, but iso-propanol gave the best enantioselectivity (90% ee, 39% conv.). Furthermore, immobilized

Scheme 13 Bioreduction of 1-acetonaphthone catalyzed by immobilized cells of *Candida viswanathii*.

cells can be reused for twelve cycles without high loss of activity.

Li *et al.*³⁰ and Xiao *et al.*³¹ have prepared (*R*)-mandelic acid from enantioselective reduction of phenylglyoxylic acid using immobilized permeabilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* (Scheme 14). The authors described that immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* in globular chitosan led to an increase of enzyme activity. For instance, immobilized cells in globular chitosan–glutaraldehyde complex were used in the bioreduction of phenylglyoxylic acid and (*R*)-mandelic acid (98% ee; 68% conversion) was obtained after a 24 h reaction. Xiao *et al.* also achieved good results for the conversion of phenylglyoxylic acid to (*R*)-mandelic acid, since they were able to minimize the effect of substrate diffusion through the alginate polymers to achieve the enzyme by increasing the reaction agitation.

In 2008, Ni *et al.* prepared immobilized whole cells of baker's yeast in calcium alginate beads. These immobilized cells were used to reduce methyl acetoacetate steadily for at least 16 days under continuous operation. For this process, the authors combined ketone reduction and cell regeneration with two fixed bed-reactors. One reactor was used for reduction and another to cultivate the immobilized cells. High yield (about

Scheme 14 Use of immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* for the production of (*R*)-mandelic.

Matrix	yield (%)	<i>syn</i> (ee, %)	<i>anti</i> (ee, %)
Ca-alginate	92	96	>99
k-carrageenan	87	90	>99
Lenticats	79	90	>99

Scheme 12 Bioreduction of ethyl 3-bromo-2-oxo-4-phenylbutanoate using immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae*.

80%) and high enantiomeric excess (>95%) were maintained after 12 batches (time for each batch: 20 h) (Scheme 15). The lifetime of immobilized cells was higher than reactions conducted in batch. The immobilized cells are a great biocatalyst source for continuous flow operations. The immobilization process makes possible the confinement of cells in a reactor with minimum loss of enzyme activity.³²

Matsuda *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Geotrichum candidum* NBRC 5767 in an ion exchange resin (matrix: styrene divinylbenzene copolymer; functional group: tertiary amine) and polyallylamine. This immobilization methodology improved the low diffusion barrier of the substrate and the product inside the gel layer around the cells. These immobilized cells were used as biocatalysts in continuous flow reactions under aqueous conditions and under supercritical carbon dioxide. Enzyme activity for the immobilized cells was evaluated in the reduction of several ketones (Scheme 16). As the *Geotrichum candidum* NBRC 5767 showed better stability after the immobilization protocol, they were used in a continuous flow reaction. For instance, bioreduction of acetophenone in MES buffer under flow conditions gave about 60% conversion and >99% ee for the production of (*S*)-1-phenylethanol. The immobilized cells were also used for the bioreduction of acetophenone under supercritical carbon dioxide, and the same enantioselectivity was observed (>99% ee) with 20% yield after 5 h.³³

In 2008, Kumbhar *et al.* studied the bioreduction of ethyl acetoacetate by immobilized whole yeast cells in calcium algi-

nate. In this reaction, sucrose was used to ensure cofactor regeneration. The chiral alcohol was prepared with 98% yield and >99% ee (Scheme 17). Immobilized cells were prepared at different temperatures. The immobilization process at low temperatures (15 °C) proved to be more efficient, resulting in high enzyme activity (99.3% conversion) for the immobilized cells.³⁴

Fei-Ng *et al.* have immobilized recombinant *Escherichia coli* whole cells in calcium alginate. This bacterium has an over-expressing LbADH gene, which encodes an alcohol dehydrogenase from *Lactobacillus brevis*. The systems were tested against different ketones to obtain enantiomerically pure alcohols (Scheme 18).³⁵ The authors also prepared a plug-flow reactor containing immobilized cells in calcium alginate. After the optimization study, the bioreduction of ethyl acetoacetate at 0.7 M under flow conditions was very efficient, giving only the (*R*)-ethyl hydroxybutyrate (EHB) with 1.4 g_{EHB} g_{wcw}⁻¹ h⁻¹ productivity. The immobilized cells were reused and again they were more stable retaining 80% of the activity; on the other hand free cells showed less than 10% of the initial activity.

Ramos *et al.* and Ribeiro *et al.* have performed the immobilization of several microorganisms in calcium alginate. Immobilized whole cells of *S. cerevisiae* 40, *Pichia* sp., *Candida* sp., *K. marxianus* and *R. rubra* were efficiently used in the bioreduction of ethyl benzoylacetate and ethyl 4-chloroacetoacetate (Scheme 19). For instance, the enantioselective reduction of ethyl benzoylacetate with immobilized cells of *R. rubra* in calcium alginate (different diameters, 2.4–3.8 mm) provided the corresponding alcohol with >99% ee.^{36,37}

Scheme 15 Reduction of methyl acetoacetate by immobilized cells of baker's yeast.

Scheme 17 Bioreduction of ethyl acetoacetate using immobilized whole yeast cells.

Scheme 16 Reduction of ketones by immobilized cells of *Geotrichum candidum*.

Scheme 18 Use of immobilized recombinant *Escherichia coli* cells to prepare chiral alcohols.

Scheme 19 Reduction of ethyl benzoylacetate and ethyl 4-chloroacetoacetate by immobilized cells.

Milagre *et al.* have prepared immobilized whole cells of *S. cerevisiae* in calcium alginate and used them for the bioreduction of benzoylacetates. The reactions with immobilized cells showed higher enantioselectivities (99% ee) and significant yield improvement than reactions with free cells (Scheme 20). Others microorganisms were immobilized and evaluated as a biocatalyst source for the bioreduction of benzoylacetates, which include *P. kluyveri* (CCT 3365), *P. stipitis* (CCT 2617), *P. canadensis* (CCT 2636), *R. minuta* (CCT 1751), *R. glutinis* (CCT 2182) and *C. utilis* (CCT 3469). In general, immobilized cells showed higher enzymatic activity than free cells.³⁸

Yang *et al.* have obtained enantioenriched (*S*)-3-chloro-1-phenylpropanol from the enantioselective reduction of 3-chloropropiophenone using immobilized whole cells of *Saccharomyces cerevisiae* CGMCC 2266 in calcium alginate, cross-linked with glutaraldehyde–gelatin and agar (Scheme 21).³⁹ Several parameters were studied such as temperature of the immobilization process, sodium alginate concentration, diameter of the matrix and temperature of ketone reduction. These complementary studies allowed the identification of the best reaction conditions. Reuse of the immobilized cells was also studied, and after reusing three times, the immobilized cells showed 60% of the initial enzyme activity, but the enantioselectivity was intact (99% ee). In general, cell immobilization resulted in good ketone reduction conversion and low cell toxicity.

By using immobilized whole cells of *Rhodotorula glutinis* in calcium alginate, Kurbanoglu *et al.* promoted the reduction of several substituted acetophenones (Scheme 22). The authors studied different reaction parameters such as pH, temperature and reaction time to achieve high conversion and enantioselectivity. Acetophenone was fully converted to (*S*)-1-phenylethanol (>99%) by immobilized cells of *R. glutinis* in Tris-buffer solution with glucose as the cofactor regeneration sub-

Scheme 21 Bioreduction of 3-chloropropiophenone by immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* CGMCC 2266.

Scheme 22 Reduction of substituted-acetophenones by immobilized cells of *Rhodotorula glutinis*.

strate, after 24 h. Immobilized cells were able to reduce additional substituted acetophenones. In all cases, high conversions (100%) and ee (>99%) were observed.⁴⁰ Also, Kurbanoglu *et al.* have prepared immobilized cells of *Cryptococcus laurentii* in calcium alginate for application in the reduction of several substituted acetophenones with high conversion (55–100%) and enantiomeric excess (>99%).⁴¹

Scheme 20 Bioreduction of ethyl substituted-benzoylacetates by immobilized cells of *S. cerevisiae* on calcium alginate.

Aiming a simple continuous extractive protocol, Kurbanoglu *et al.* have applied immobilized whole cells of *Rhodotorula glutinis* in calcium alginate for enantioselective reduction of acetophenone to (*S*)-1-phenylethanol. The system is composed of a reactor (specially prepared flask, 1 L) containing immobilized cells, which was maintained under a horizontal shaker. By using a peristaltic pump two solutions were injected into the reactor, one solution containing glucose (4%) and another solution containing acetophenone and 2-propanol. After intervals of 24 h, the effluent (reaction mixture) containing the product was collected in a flask with ethyl acetate. This reactor was used for 15 days and high enzyme activity (full conversion and enantiomeric excess higher than 99%) was observed. For example, under optimized conditions, the continuous production was performed for 30 days and 10.8 mL of (*S*)-1-phenylethanol with enantiomeric excess >99% was prepared (Scheme 23). Furthermore, this method was considered more efficient and cheaper than the traditional method for the synthesis of this compound.⁴²

The use of brewer's yeast cells to prepare immobilized biocatalysts was proposed by Gong *et al.* The cells were immobilized on montmorillonite and used for the reduction of ethyl 4-chloro-3-oxobutanoate to the respective alcohol (Scheme 24). After 8 h, (*R*)-alcohol with 99% ee was observed. The immobilized cells of brewer's yeast showed an increase in pH stability. Moreover, this system was reused for up to 20 cycles, and 88% of the initial enzyme activity was maintained after these cycles.⁴³

Chen *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Acetobacter* sp. CCTCC M209061 on various matrices such as agar, k-carrageenan, calcium alginate, barium alginate, zinc alginate and copper alginate. The catalytic performance of the immobilized cells was evaluated in the reduction of 4'-chloroacetophenone. Among the different materials used as the support, the immobilized cells on calcium and zinc alginate showed the highest ketone conversion and enantiomeric excess for

Scheme 23 Reduction of acetophenone using immobilized cells of *R. glutinis* cells under continuous extractive protocol.

Scheme 24 Reduction of ethyl 4-chloro-3-oxobutanoate catalyzed by immobilized cells of brewer's yeast.

1-(4-chlorophenyl)ethanol (97% yield and >99% ee, 98.5% yield and >99% ee, respectively) (Scheme 25).⁴⁴ Aiming at the preparation of a recyclable biocatalyst, the authors prepared a Ca-alginate/chitosan hybrid with *Acetobacter* sp. cells. After the optimization protocol, immobilized cells were reused for twenty-five cycles maintaining 51% of the initial enzyme activity. The immobilized cells also had better thermal stability, pH stability, and tolerance to organic solvents than the free cells.

Rocha *et al.* have immobilized two different marine fungi (*Aspergillus sclerotiorum* CBMAI 849 and *Penicillium citrinum* CBMAI 1186) on silica (silica gel or silica xerogel) and chitosan. The immobilized whole living cell fungi were used to reduce substituted acetophenones showing interesting results (Scheme 26). The reduction of 1-(4-methoxyphenyl)-ethanone to the (*S*)-1-(4-methoxyphenyl)-ethanol was achieved with high enantioselectivity and yield (>99% and 97%, respectively) when *Aspergillus sclerotiorum* was immobilized on silica gel. When *P. citrinum* was immobilized on chitosan, 95% yield and >99% ee were achieved. The reaction with immobilized cells on chitosan led to a total inversion of the product configuration when compared to results with free cells. For the reduction of 2-chloro-1-phenylethanone, once again, immobilized cells of *P. citrinum* showed inversion of configuration giving predominantly (*S*)-enantiomer (25% ee; 62% yield) with immobilized cells on silica gel while free cells gave (*R*)-enantiomer (31% ee; 66% yield).⁴⁵

Singh *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Metschnikowia koreensis* by entrapment in different matrices

Scheme 25 Reduction of 4'-chloroacetophenone by immobilized cells of *Acetobacter* sp. CCTCC M209061.

	R = H, X = Cl	R = OMe, X = H
Imm. cells of <i>A. sclerotiorum</i> on silica gel:	>99% ee (<i>S</i>), 97% yield	65% ee (<i>R</i>), 97% yield
Imm. cells of <i>A. sclerotiorum</i> on xerogel:	-	-
Imm. cells of <i>P. citrinum</i> on silica gel:	-	25% ee (<i>S</i>), 62% yield
Imm. cells of <i>P. citrinum</i> on silica gel:	-	racemic, 98% yield
Imm. cells of <i>P. citrinum</i> on chitosan:	>99% ee (<i>S</i>), 95% yield	-

Scheme 26 Reduction of ketones using immobilized cells of marine fungi.

(calcium alginate, k-carrageenan, agarose, polyacrylamide and polyvinyl alcohol). The immobilized cells were used to reduce 4'-fluoroacetophenone under aqueous conditions (Tris-buffer, pH 9) and in the presence of glucose to ensure cofactor recycling. After the optimization protocol, the cells showed the best results when immobilized in calcium alginate, in which the full ketone conversion (30 mM) to the (*S*)-1-(4-methoxyphenyl)-ethanol with high enantiomeric excess (>99% ee) was achieved (Scheme 27).⁴⁶

Also, in the year 2012, Zhimin *et al.* synthesized (*S*)-3-chloro-1-(2-thienyl)-1-propanol by asymmetric reduction of 3-chloro-1-(2-thienyl)propanone using immobilized resting cells of *Candida pseudotropicalis* 104 on chitosan. This reaction was carried out under continuous conditions without any additional cofactor. The ketone was fully transformed to (*S*)-3-chloro-1-(2-thienyl)-1-propanol in high enantiomeric excess (>99%) for 10 days (Scheme 28). *Candida pseudotropicalis* 104 immobilized on chitosan can be reused for 10 reaction cycles.⁴⁷

Ramos *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Hansenula sp.*, *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces marxianus* and *Rhodotorula rubra* in calcium alginate. The immobilized cells were used to reduce *tert*-butyl acetoacetate to *tert*-butyl (*S*)-3-hydroxybutanoate (Scheme 29). All immobilized micro-

Scheme 27 Ketone reduction by immobilized cells of *Metschnikowia koreensis*.

Scheme 28 Reduction of 3-chloro-1-(2-thienyl)propanone using immobilized cells of *Candida pseudotropicalis*.

Scheme 29 Bioreduction of *tert*-butyl acetoacetate using immobilized cells.

organisms were able to perform the enantioselective reduction. High conversions (97–99%) and high enantiomeric excess (51–96%) were observed for the first reaction cycle. In the second cycle, the immobilized cells remained with a high activity and selectivity (77–>99% conv. and 79–95% ee).⁴⁸

Cells of *Acetobacter sp.* CCTCC M209061 were immobilized in calcium alginate and then coated with chitosan by Wang *et al.* They evaluated the enzyme activity for the immobilized cells in the enantioselective reduction of ethyl acetoacetate (EAA). After the optimization study, (*R*)-3-hydroxybutyrate was obtained in 73% yield and >99% ee where cofactor regeneration was used to increase the conversion (Scheme 30).⁴⁹ The recyclability study was investigated and the immobilized cells maintained more than 88% of their initial enzyme activity. After successive re-use for more than 5 batches, the free cells showed no significant catalytic activity toward EAA (less than 4% of the enzyme activity). The enzyme activity for the immobilized cells was still as high as 62.5% even after 10 batches (2 h per batch).

Xingyuan *et al.* have used immobilized resting cells of *Saccharomyces cerevisiae* CGMCC 2233 for the reduction of *tert*-butyl (*S*)-6-chloro-5-hydroxy-3-oxo-hexanoate. The authors prepared liquid-core immobilized cells and solid-core immobilized cells using guar gum, alginate and chitosan. The enzyme activity was evaluated in the reduction of *tert*-butyl (*S*)-6-chloro-5-hydroxy-3-oxo-hexanoate to *tert*-butyl (3*R*,5*S*)-6-chloro-3,5-dihydroxyhexanoate. After the optimization study, the ketone (50 g L⁻¹) was fully converted into the chiral alcohol in 99% ee (Scheme 31).⁵⁰ The reuse of the liquid-core immobilized cells was very efficient, and after 15 cycles, the activity dropped to 56% conversion. Another important feature was the excellent diastereomeric excess of *tert*-butyl (3*R*,5*S*)-6-chloro-3,5-dihydroxyhexanoate (de 99%), showing excellent selectivity.

Kato *et al.* have prepared immobilized whole cells of baker's yeast in sol-gel silica for the asymmetric reduction of

Scheme 30 Reduction of β -ketoester using immobilized cells of *Acetobacter sp.* CCTCC M209061.

Scheme 31 Reduction of *tert*-butyl (3*R*,5*S*)-6-chloro-3,5-dihydroxyhexanoate catalyzed by immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* CGMCC 2233.

acetophenones in organic solvents.⁵¹ The authors reached a ratio of cells in the silica gel of 75 wt% (Scheme 32). Glucose was used to ensure cofactor NAD(P)H generation. Baker's yeast in sol-gel silica showed high stability in organic solvents. Methanol was added to the buffer as a co-solvent and the conversion and enantioselectivity were improved.

More recently, permeabilized cells of *Arxula adeninivorans* were immobilized in calcium alginate by Rauter *et al.* These cells were used in the bioreduction of acetophenone to (*S*)-1-phenylethanol. All reactions were nearly complete after 60 min, except for free cells, which needed two hours of reaction to provide 95% conversion to 1-(*S*)-phenylethanol. The immobilized cells can be reused for many cycles with a small decrease in enzyme activity (20%) (Scheme 33). The free cells lost activity after 10 cycles but immobilized cells maintained 80% of their activity after 25 cycles.⁵²

2.1.2. Kinetic resolution via hydrolysis and esterification reactions. Enantioselective ester hydrolysis using cells (as a source of hydrolases: especially lipases and esterases) can also provide enantiopure alcohols. In this process, one ester enantiomer is hydrolyzed to the alcohol while the other enantiomer remains unreacted. Based on this approach, Chen *et al.* promoted kinetic resolution of 4-hydroxy-3-methyl-2-(2-propenyl)-2-cyclopentenone (HPMC) by a hydrolysis reaction catalyzed by immobilized lyophilized cells of *Acinetobacter* sp. in calcium alginate (Scheme 34). This compound is an important intermediate for the synthesis of insecticides. The use of a co-solvent was investigated (20% v/v; methanol, ethanol, i-propanol, *t*-butanol, acetone, DMSO, MeCN, THF and DMF). Moderate conversions (40–20%) and enantiomeric ratios (*E* 40–120) were observed. The optimized conditions revealed that i-propanol (10% v/v) was the best co-solvent, in which the enzyme activity (conversion and enantioselectivity) was increased to >98% ee and 54% conversion. This system was used for 10 reaction cycles (24 h for each cycle) without any significant loss of enzyme activity.⁵³

Scheme 32 Reduction catalyzed by immobilized cells of baker's yeast on sol-gel silica.

Scheme 33 Production of (*S*)-1-phenylethanol catalyzed by immobilized cells of *Arxula adeninivorans*.

Scheme 34 Kinetic resolution by hydrolysis reaction using immobilized cells of *Acinetobacter* sp.

ate conversions (40–20%) and enantiomeric ratios (*E* 40–120) were observed. The optimized conditions revealed that i-propanol (10% v/v) was the best co-solvent, in which the enzyme activity (conversion and enantioselectivity) was increased to >98% ee and 54% conversion. This system was used for 10 reaction cycles (24 h for each cycle) without any significant loss of enzyme activity.⁵³

Zheng *et al.* have prepared cross-linked enzyme aggregates (CLEA) of *Bacillus subtilis* using glutaraldehyde as a cross-linking agent. The immobilized whole cells or CLEAs were used for the selective hydrolysis of 2-iso-propyl-5-methyl-cyclohexyl acetate (Scheme 35). The immobilized cells were more thermodynamically stable than the free cells and could be reused for several cycles. After 10 cycles, 92% of the initial activity was maintained. The immobilized cells showed higher K_M than free cells, which suggests a reduction of affinity for its substrate. The authors suggested that conformational changes of the enzyme due to the immobilization process could result in an unfavorable position of the substrate at the active site.⁵⁴

Tamalapudi *et al.* have prepared immobilized recombinant fungal whole cells (*Aspergillus oryzae* expressing lipase-encoding gene from *Candida antarctica*) on reticulated polyurethane aiming to explore the ability of biocatalysts for kinetic resolution. For this purpose, the authors carried out enantioselective transesterification reaction of (*RS*)-1-phenylethanol and vinyl acetate (Scheme 36). After the optimization protocol, reactions with immobilized cells in hexane revealed high enzyme activity for the production of (*R*)-1-phenylethyl acetate (88% yield, >99% ee) in various hydrophobic solvents, even after 15 reaction cycles (3.5 h for each cycle).⁵⁵

2.1.3 Kinetic resolution via oxidation reactions. Oxidation of alcohols to ketones, aldehydes or carboxylic acids can be catalyzed by oxido-reductases. These enzymes are mainly cofactor-dependent. The use of cells as a biocatalyst source also makes it a natural source of cofactor.

Scheme 35 Formation of L-menthol using immobilized cells of *Bacillus subtilis* via cross-linking.

Scheme 36 Kinetic resolution of secondary alcohol catalyzed by immobilized *Aspergillus oryzae*.

In order to increase the enzyme activity, Gandolfi *et al.* have promoted the immobilization of whole cells of *Acetobacter aceti* in calcium and barium alginate. *A. aceti* is an acetic acid bacterium, which can also be used to oxidize alcohols to carboxylic acids. The enzyme activity was evaluated in the enantioselective oxidation of 2-phenyl-1-propanol (Scheme 37). The production of (*S*)-2-phenylpropionic acid (94–97% ee) by oxidation of (*RS*)-2-phenyl-1-propanol with immobilized cells was efficient, considering a kinetic resolution process, which showed 32–35% conversion and 50–66 *E*-value. In the recycle study, after 5 reaction cycles, a loss of enzyme activity was observed (35%).⁵⁶

A deracemization process for secondary alcohols with immobilized whole cells of *Catharanthus roseus* in calcium alginate was described by Takemoto *et al.*⁵⁷ The best substrate for enzymes from *C. roseus* was (*RS*)-4-pyridyl-1-ethanol. Using a racemic mixture, (*S*)-4-pyridyl-1-ethanol was oxidized by (*S*)-selective alcohol dehydrogenase to the corresponding ketone leaving the (*R*)-enantiomer intact, and then, the ketone was reduced to (*R*)-alcohol by (*R*)-selective alcohol dehydrogenase (Scheme 38). The reaction was performed in 9 days yielding (*R*)-alcohol in 100% yield and 80% ee.

2.1.4. Hydroxylation reaction of alkanes. Asymmetric hydroxylation reaction of alkanes can also produce chiral alcohols. In the hydroxylation reaction, the conversion of a carbon–hydrogen to a carbon–hydroxyl bond can be catalyzed by hydroxylases. These transformations are very attractive, since the same reaction in organic synthesis is not a simple task, especially in a selective way.⁵⁸

Adam *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Bacillus megaterium* in alginate gel (by gel entrapment) to be used in the hydroxylation of hydrocarbons. The immobilization increased the enzyme stability when compared with free cell-mediated reactions. The enantioselective hydroxylation of isobutylbenzene was efficiently achieved (90% ee) (Scheme 39). Moreover, the immobilized cells of *Bacillus megaterium* were

Scheme 37 Reduction of alcohols to form chiral carboxylic acids.

Scheme 38 Deracemization performed by immobilized cells of *Catharanthus roseus*.

Scheme 39 Hydroxylation of aromatic compounds using immobilized cells of *B. megaterium*.

reused for five reaction cycles. In all cycles, the enantiomeric excess remained at 90% in favor of the *R* enantiomer.⁵⁹

2.1.5. Hydrolysis of epoxides. Enantioselective hydrolysis of epoxides can produce chiral diols. Epoxide hydrolases are enzymes responsible for this reaction. These enzymes are non-cofactor dependent and catalyze mainly reactions of S_N2 -type in which the epoxide ring is opened by a base-activated water molecule to produce enantioselective diols.⁶⁰

Bucko *et al.* have prepared capsules containing whole cells of *Nocardia tartaricans*, which have *cis*-epoxysuccinate hydrolase activity. These capsules (SA-CS/PMCG) were produced by polyelectrolyte complexation of sodium alginate and cellulose sulfate as polyanions and poly(methylene-*co*-guanidine) as polycation.⁶¹ The authors also prepared calcium pectate gelled beads (CPG) containing *N. tartaricans* cells. Enzyme activities of the SA-CS/PMCG capsules and CPG beads were evaluated in the hydrolysis of disodium *cis*-epoxysuccinate (CES) to disodium L-(+)-tartrate. The enzyme activity observed for SA-CS/PMCG capsules was 208.2 U mg^{−1} (3 h for full conversion, 96% ee), while for cells entrapped in CPG beads, the highest CES hydrolase activity was 91.5 U mg^{−1} (5.5 h for full conversion, 94% ee) (Scheme 40).

2.2. Chiral amines

Chiral amines such as amino acids and secondary and tertiary amines are widely present in nature. Amines are valuable chiral building blocks for the synthesis of a broad range of biologically active compounds, such as food additives, agro-

Scheme 40 Hydrolysis of epoxide using immobilized cells of *Nocardia tartaricans*.

chemicals or pharmaceuticals. Transaminases can be used to synthesize enantiomerically pure amines from ketones.^{62–64}

In nature, transaminases are enzymes responsible for catalyzing the transfer of an amino group to a carbonyl compound as the acceptor.⁶⁵ Transaminases have been used in some studies as versatile biocatalysts for the synthesis of enantiomerically pure amines.^{66,67}

Immobilized whole cells of *Escherichia coli* overexpressing ω -transaminase were used in the preparation of (*S*)-4-cyano-methylbenzylamine by asymmetric amination of the appropriate ketone and propan-2-amine as the amine donor (Scheme 41).⁶⁸ These cells were immobilized in hydrous titanium oxide by cell entrapment in calcium alginate beads, by cell entrapment in carrageenan beads and by cell flocculation with chitosan. The use of flocculation with chitosan proved to be the method of choice for cell immobilization. The synthesis of (*S*)-4-cyano- α -methylbenzylamine was performed by using immobilized cells, which were reused for 3 reaction cycles (every 20–24 h). The residual activity after the third cycle was 43% conv. Since chiral amines are very important as building blocks in synthesis, this study has shown that immobilization of *Escherichia coli* (overexpressing ω -transaminase) on chitosan would also be advantageous for a larger scale production.

Rehn *et al.* also prepared a system with a supported liquid membrane (SLM) contactor and a packed bed reactor containing the immobilized whole cells of *E. coli* (ω -transaminase from *Arthrobacter citreus*). This system was used to continuously produce and extract the chiral (*S*)-1-methylbenzylamine (98% conv.) from the reaction mixture. The selectivity of the extraction between the amine donor and the chiral amine product is based on the difference in pK_a values and hydrophobicity. This system allowed separating the product easily. The activity in the fifth batch was 43% relative to the initial batch. Thus the batch time was extended from the initial 12 h to 24 h

in the last two batches in order to obtain a similar conversion. Despite the very high concentration of cells in the immobilized preparation, diffusion limitations were minimal (Scheme 42).⁶⁹

Andrade *et al.* have prepared immobilized whole cells of *E. coli* (containing overexpressed (*R*)-selective ω -transaminase) and cofactor PLP on methacrylate beads for continuous flow synthesis of chiral amines in organic solvents (Scheme 43).⁷⁰ The immobilized cells were used in the asymmetric amination

Scheme 42 Flow system for chiral amine production using a SLM contactor and a packed bed reactor (PBR).

Scheme 43 Continuous flow synthesis of chiral amines from ketone amination.

Scheme 41 Asymmetric ketone amination catalyzed by immobilized cells of *E. coli* overexpressing ω -transaminase.

Scheme 44 Kinetic resolution of racemic amines mediated by immobilized cells of *Vibrio fluvialis* JS17 using a packed-bed reactor (PBR) and a membrane contactor (MC).

of different ketones, using isopropylamine as the amino donor. Chiral amines were prepared in high enantiomeric excess (>99%) with 30 min of residence time (t_R). This system was also used for continuous production of (*R*)-1-methoxypropan-2-amine (96% conv. and >99% ee) at 30 °C and 50 °C. Moreover, immobilized cells were used for several days (the packed-bed reactor can be continuously operated for 1–10 days), with only a small decrease in enzyme activity. In order to isolate/purify the free chiral amine from the reaction product stream, the authors used a catch-and-release system, which consists of a silica gel cartridge attached to the packed-bed reactor.

2.2.1. Kinetic resolution of racemic amines. *Vibrio fluvialis* JS17 whole cells (containing ω -transaminases) were immobilized in calcium alginate by Shin *et al.* and used for kinetic resolution of chiral amines using a packed-bed reactor.⁷¹ The enzyme activity was tested in the kinetic resolution of racemic amines (α -methylbenzylamine, 1-aminotetralin and 1-aminoindan). The authors employed a packed-bed reactor containing the immobilized cells and a hydrophobic membrane contactor to continuously remove the produced ketone (Scheme 44). The substrate reservoir contains the racemic amine and pyruvate and the extracting reservoir contains isooctane to mostly extract the undesired reaction product, acetophenone. For instance, after 70 h of operation, the enantiomeric excess of (*R*)- α -methylbenzylamine in the substrate reservoir was 96%.

2.3. Chiral carboxylic acid and amides

2.3.1. Nitrile, amide and ester hydrolysis. The hydrolysis of nitrile can produce amides and/or carboxylic acids enantio-

Scheme 45 Hydrolysis reactions catalyzed by immobilized cells of *Rhodococcus* sp.: (a) hydrolysis of nitriles; (b) hydrolysis of amides.

merically enriched using immobilized cells of *Rhodococcus* sp. (commercially available). Amidase and hydratase enzymes present in cells can catalyze the hydrolysis reaction. Cohen *et al.* employed immobilized whole cells of *Rhodococcus* sp. for the hydrolysis of substituted aromatic nitriles and amides (Scheme 45). The enantioselective hydrolysis of racemic nitriles afforded a mixture of amides-(*R*) (up to 90% ee) and carboxylic acids-(*S*) (up to >98% ee) with yields between 20 and 66%. In the case of hydrolysis of racemic amides, only one example showed high enantioselectivity in which the carboxylic acid and the remaining amide were obtained in high enantiomeric excess (86% ee and >98% ee, respectively). These results are consistent since the use of cells can have benefits because one cell can contain many enzymes that catalyzed many different reactions leading to the desired product.⁷²

Effenberg *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Rhodococcus erythropolis* MP50 on polyetherurethane (PU3 polymer) for enantioselective hydrolysis of racemic naproxen amide.⁷³ These cells, which contain amidase, can catalyze amide hydrolysis to carboxylic acids. The authors evaluated the hydrolysis reaction using organic solvents, such as benzene, butyl acetate, *tert*-butyl methyl ether, cyclohexanone, dichloromethane, ethyl acetate, ethyl methyl ketone and methyl acetate. The best solvents for the hydrolysis reaction were alkyl acetates. After the optimization study, (*S*)-carboxylic acid was obtained in 84% yield and >99% ee (Scheme 46). These higher conversions were achieved when DMSO (3%) was

Scheme 46 Amide hydrolysis catalyzed by immobilized cells of *Rhodococcus erythropolis* MP50.

added to organic solvents. DMSO was important to increase substrate and product solubility in aqueous medium.

Whole cells of *Microbacterium hydrocarbonoxydans* L29-9 were immobilized in polyvinyl alcohol polymers and used in the kinetic resolution of racemic γ -lactam (Scheme 47). Under optimized conditions, the enantiomeric excess and the yield for (–)- γ -lactam were >99% and 34%, respectively. The immobilized cells showed a slight decrease in the enzyme enantioselectivity, when re-used in up to 14 cycles, which can certainly make the process more acceptable for large-scale production.⁷⁴

Pawar *et al.* have prepared immobilized whole cells of *Rhodococcus rhodochrous* (ATCC BAA-870) on poly(vinyl)alcohol/chitosan–glutaraldehyde *via* crosslinking. These immobilized cells were used in the hydrolysis of (RS)-mandelonitrile. A dynamic kinetic resolution process was observed, since the corresponding amide with conversion higher than 50% (81%

Scheme 47 Lactam hydrolysis catalyzed by immobilized cells of *Microbacterium hydrocarbonoxydans* L29-9.

Scheme 48 Hydrolysis of (RS)-mandelonitrile catalyzed by *Rhodococcus rhodochrous* (ATCC BAA-870).

Scheme 49 Hydrolysis of nitrile catalyzed by immobilized cells of *Pseudomonas aeruginosa* 10145.

ee) was obtained (Scheme 48). The temperature of 40 °C and pH 8 were found to be optimum for the enantioselective nitrile hydrolysis. In the presence of various cosolvents, immobilized NHase showed higher retention of activity in methanol compared to other cosolvents. The kinetic constants for free and immobilized enzyme were obtained from the Lineweaver–Burk plot. The immobilized NHase was found to be reusable in up to nine successive batch reactions.⁷⁵

Alonso *et al.* have entrapped whole cells of *Pseudomonas aeruginosa* 10145 in calcium alginate and used them for the transformation of 2-phenyl-2-aminoacetonitrile to D-phenylglycine (20% conversion, 3 h, enantiomeric excess >98%). Recycling study was performed in four repeated batches, and the enzyme activity was maintained almost the same (Scheme 49).⁷⁶

Scheme 51 Formation of chiral sulfoxides catalyzed by immobilized cells of *Aspergillus terreus* CCT 3320.

Scheme 52 Baeyer–Villiger oxidation using immobilized cells of *E. coli* containing CPMO.

Scheme 53 Enzymatic kinetic resolution of DL-pantoyl lactone using immobilized mycelia of *Fusarium oxysporum*.

Scheme 50 Synthesis of S-acetyl-2-methylpropionic acid catalyzed by immobilized cells of *Pseudomonas fluorescens* IFO 12055.

Table 1 Overview of chiral compounds prepared by immobilized cells

Chiral product	Immobilized cells	ee	Ref.
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> on polyacrylamide gel	40	12
		70	
		60	
		55	
	<i>Nicotiana tabacum</i> by entrapping with calcium alginate beads	67–>99	14
R: CH ₃ ; C ₂ H ₅ ; C ₄ H ₉ ; C ₅ H ₁₁ ; C(CH ₃) ₃			
	<i>Acetobacter</i> sp. CCTCC M209061 in sodium alginate	80	49
	<i>Escherichia coli</i> in calcium alginate	>99	35
	Baker's yeast in calcium alginate	95–>99%	32, 34
	<i>Geotrichum candidum</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> and <i>Rhodotorula rubra</i> in calcium alginate	79–>99	48
	<i>Hansenula anomala</i> on hydrophobic polymers	>99	15
	<i>Daucus carota</i> , Tobacco and <i>Gardenia</i> in calcium alginate beads	63–91	16
R ¹ : α-naphthol; β-naphthol; Ph- ; C ₄ H ₉ ; C ₆ H ₁₃ ; Ph; <i>o</i> -FPh; <i>m</i> -FPh-; <i>o</i> -MePh; PhEt-; <i>o</i> -ClPh-; <i>o</i> -BrPh-; <i>m</i> -FPh-; <i>m</i> -ClPh-; <i>m</i> -BrPh-; <i>p</i> -FPh- ; <i>p</i> -ClPh-; <i>p</i> -BrPh-; <i>p</i> -MePh-; <i>p</i> - NO ₂ Ph-; <i>p</i> -MeOPh-; <i>p</i> -PhPh- R ² : CH ₃ ; C ₂ H ₅ ; CF ₃ ; CH ₂ COCH ₂ C(CH ₃) ₃ ; (CH ₂) ₂ Cl; CH ₂ Cl; CH(CH ₃) ₂			
	<i>Gardenia jasminoides</i> in calcium alginate	>99	18, 19
	<i>Nicotiana tabacum</i> in sodium alginate	0–72	21
	Baker's yeast in calcium alginate	93–97	22, 23
	<i>Candida viswanathii</i> in calcium alginate	>99	29
	<i>Geotrichum candidum</i> NBRC 5767 in an ion exchange resin	>99	33
	<i>Escherichia coli</i> in calcium alginate	>99	35
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CGMCC 2266 on alginate, agar and glutaraldehyde-gelatin	50–60	39
	<i>Rhodotorula glutinis</i> in calcium alginate	>99	40–42
	<i>Acetobacter</i> sp. CCTCC M209061 in agar, k-carrageenan, Ca, Ba, Zn or Cu-alginate	>99	44
	<i>Aspergillus sclerotiorum</i> or <i>Penicillium citrinum</i> on silica or chitosan	25–>99	45
	<i>Metschnikowia koreensis</i> in calcium alginate, polyacrylamide and polyvinyl alcohol	>99	46
	Baker's yeast on sol-gel silica	55–>99	51

Table 1 (Contd.)

Chiral product	Immobilized cells	ee	Ref.
	<i>Arxula adenivorans</i> in calcium alginate	>99	52
	<i>Aspergillus oryzae</i> expressing lipase-encoding gene from <i>Candida antarctica</i> on reticulated polyurethane	>99	55
	<i>Bacillus megaterium</i> in alginate gel	90	59
	<i>Daucus carota</i> entrapped immobilized in calcium alginate	52–>99	17
R: CH ₃ ; C ₂ H ₅ ; CH ₂ Cl; Ph-; <i>p</i> -NO ₂ Ph-; <i>p</i> -ClPh-; <i>p</i> -BrPh; <i>p</i> -MePh; <i>p</i> -MeOPh-; <i>p</i> -Py-; <i>o</i> -Py-; <i>m</i> -Py-			
	Brewer's yeast on PVA	>99	43
	<i>Nicotiana tabacum</i> in calcium alginate	0–72	20
<i>o</i> Py-; <i>m</i> Py; <i>p</i> Py			
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> immobilized in calcium alginate beads	>99	24, 25
	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 7330 in sodium alginate	9–>99	26, 27
R: Ph-; <i>o</i> -MePh-; <i>p</i> -MePh-; <i>p</i> -ClPh-; <i>p</i> -NO ₂ Ph; <i>o,p</i> -ClPh; Bz-; ClCH ₂ -; CH ₃			
	<i>Escherichia coli</i> in calcium alginate	>99%	35
	<i>S. cerevisiae</i> 40, <i>Pichia</i> sp., <i>Candida</i> sp., <i>K. marxianus</i> , <i>R. rubra</i> in calcium alginate	31–86%	36, 37
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> in different matrices (calcium alginate, k-carrageenan and Lenticats)	90–>99	28
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> in globular chitosan	98	30, 31
	<i>S. cerevisiae</i> 40, <i>Pichia</i> sp., <i>Candida</i> sp., <i>K. marxianus</i> , <i>R. rubra</i> in calcium alginate	0–>99	36–38
R ₁ : H, NO ₂ ; OCH ₃			
R ₂ : COOCH ₂ CH ₃ ; COOCH ₂ CH ₃			
	<i>Candida pseudotropicalis</i> 104 on chitosan	>99	47
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CGMCC 2233 in guar gum, calcium alginate and chitosan	>99	50
	<i>Acinetobacter</i> sp. in calcium alginate	90	53
	<i>Bacillus subtilis</i> in CLEAs	94	54

Table 1 (Contd.)

Chiral product	Immobilized cells	ee	Ref.
	<i>Acetobacter aceti</i> in Ca or Ba alginate	94–97	56
	<i>Catharanthus roseus</i> in sodium alginate	80	57
	<i>B. megaterium</i> in alginate gel	90	59
	<i>Nocardia tartaricans</i> on sodium alginate and cellulose	94–96	61
 R: H; CN	<i>Escherichia coli</i> (containing ω-transaminase) via flocculation with chitosan	61	68
 R: CH ₃ ; 2,6-(CH ₃) ₂ Ph; Ph; Bz.	<i>E. coli</i> (ω-transaminase from <i>Arthrobacter citreus</i>)	>99	69
	<i>Vibrio fluvialis</i> JS17 cells (containing ω-transaminases) in calcium alginate	96	70
	<i>Vibrio fluvialis</i> JS17 cells (containing ω-transaminases) in calcium alginate	>99	70
 R: H; Bu R ₂ : Me, Et	<i>Rhodococcus</i> sp. on ion-exchange resin	0–98%	72
	<i>Rhodococcus erythropolis</i> MP50 on PU3 prepolymer	>99	73
	<i>Microbacterium hydrocarbonoxydans</i> L29-9 on PVA-alginate	>99	74
	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> (ATCC BAA-870) on poly(vinyl)alcohol/chitosan–glutaraldehyde via crosslinking	98	75
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 10145 in calcium alginate	>99	76
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> cells IFO 12055 in calcium alginate	90	77
	<i>Aspergillus terreus</i> CCT 3320 on chrysotile or cellulose/TiO ₂	98–99	79
	<i>E. coli</i> containing CPMO on PVA gel	>99	82
	<i>Fusarium oxysporum</i> in cellulose-foam	91	84

Ko *et al.* have immobilized whole cells of *Pseudomonas fluorescens* IFO 12055 in calcium alginate for the synthesis of *S*-acetyl-2-methylpropionic acid from the enantioselective hydrolysis of methyl- β -acetylthioisobutyrate. The reason for selecting this strain was based on the presence of highly specific lipases in *Pseudomonas fluorescens* cells (Scheme 50).⁷⁷

2.4. Chiral sulfide

Sulfoxide can be produced by enzymatic reactions, catalyzed mainly by monooxygenase. Several flavin-containing Baeyer–Villiger monooxygenases have been used as biocatalysts for sulfoxidation reactions.⁷⁸ Porto *et al.* reported the immobilization of whole cells of *Aspergillus terreus* CCT3320 on chrysotile or cellulose/TiO₂ for selective oxidation of sulfides. By performing the reactions with immobilized cells on chrysotile, after 72 h, a conversion of 71% was achieved for the production of the sulfoxide with high enantiomeric excess (>99% ee). However, when the reaction was carried out with immobilized cells in cellulose/TiO₂ after 24 h, 68% conversion and 68% enantiomeric excess were obtained (Scheme 51).⁷⁹

2.5. Lactones

2.5.1. Baeyer–Villiger oxidation. The transformation of carbonyl compounds to chiral lactones can be achieved by Baeyer–Villiger monooxygenase and ketones.⁸⁰ Monooxygenases can introduce one oxygen from molecular oxygen into organic substrates.⁸¹

In order to increase enzyme activity, immobilization of whole cell *E. coli* cells (containing Baeyer–Villiger monooxygenase: cyclopentanone monooxygenase – CPMO) in polyvinyl alcohol gel was described by Rebros *et al.* The enzyme activity was evaluated in the oxidation of *rac*-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-one to regioisomeric lactones (Scheme 52).⁸²

Schenkmayerová *et al.* also studied the immobilization of recombinant whole cell *Escherichia coli* cells overexpressing the enzyme cyclopentanone monooxygenase. In this case, the authors prepared immobilized cells in polyelectrolyte complex microcapsules and LentiKats®. The operational stability was evaluated in the Baeyer–Villiger oxidation of ($\pm$)-*cis*-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-one to the regioisomeric corresponding lactones. Both immobilization matrices showed high operational stability for cells with no decrease in the biooxidation rate over 18 repeated reaction cycles.⁸³

2.5.2. Hydrolysis of lactones. Sakamoto *et al.* developed another approach to obtain enantioenriched lactones using enzymatic resolution of *D,L*-pantoyl lactone *via* a hydrolysis reaction catalyzed by lactonase. Mycelium of *Fusarium oxysporum*, which contains lactonase, was immobilized on cellulose-foam (Scheme 53). The immobilized cells were able to convert *D,L*-lactone to *D*-pantoic acid up to 40% conv. and >91% ee. The immobilized cells were used for 180 reactions and the residual lactonase activity was up to 70% of the initial activity.⁸⁴ The authors also employed a fixed bed reactor, containing the immobilized cells, and after 21 h, 102 g L⁻¹ (45% conversion) and 91% ee were obtained.

3. Conclusion and outlook

The use of enzymes as biocatalysts in the synthesis of chiral compounds is constantly increasing due to their special features such as chemo-, regio- and enantioselectivity. In view of some inherent difficulties in enzyme purification and their high cost (*i.e.* processes mediated by pure enzymes), immobilized cells are emerging as a robust alternative for biocatalyzed organic reactions. Moreover, cells have several enzymes and can be used in several different enantioselective processes involving chiral alcohols, amines, carboxylic acids, sulfoxides and lactones (Table 1). As described in several cases, the immobilization of cells can result in valuable improvements for biocatalysis, such as the increase in catalytic activity and catalyst recyclability.

After showing several successful examples of biocatalytic applications of immobilized cells in this review, we can expect that immobilized cells will be considered by the community not only as a reliable methodology for the preparation of chiral compounds, but also as a growing field of opportunities in science. In addition, the chiral compound diversity described in this review will make this technological approach worthy to be considered for building block synthesis by industries, especially in cases where stereogenic centers are essential.

Acknowledgements

The authors are grateful to FAPESP and CNPq for financial support.

References

- (a) D. Lednicher, *Strategies For Organic Drug Synthesis And Design*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 2nd edn, 2009; (b) H. Federsel, *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2005, **4**, 685.
- (a) B. K. Patel and A. J. Hutt, in *Chirality in Drug Design and Development*, ed. I. K. Reddy and R. Mehvar, M. Dekker, New York, 2004, p. 127; (b) W. H. Brooks, W. Guida and G. K. Daniel, *Curr. Top. Med. Chem.*, 2011, **11**, 760.
- (a) M. T. Reetz, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 12480; (b) B. M. Nestl, S. C. Hammer, B. A. Nebel and B. Hauer, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2014, **53**, 3070; (c) J. M. Palomo and M. Filice, *Biotechnol. Adv.*, 2015, **33**, 605; (d) R. Wohlgemuth, *Curr. Opin. Microbiol.*, 2010, **13**, 283.
- L. Pasteur 1860. The Asymmetry of Natural Occurring Compounds (two lectures given to The Chemical Society of Paris), translated by G. M. Richardson, in *The Foundations of Stereochemistry*, American Book Company, New York, 1901.
- C. Bucke, *Philos. Trans. R. Soc. London*, 1993, **300**, 369.
- (a) W. Hartmeier, *Immobilized Biocatalysts: An Introduction*, Springer-Verlag, Berlin, 1988; (b) A. M. Klivanov, *Science*, 1983, **219**, 722.

- 7 (a) C. Akin, *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, 1987, **5**, 319; (b) J. M. Guisan, *Immobilization of Enzymes and Springer Science Business Media*, New York, 3rd edn, 2013.
- 8 C. Xu, Y. Zhonghua, Z. Rong, Y. Gai and Y. Jiabao, *Chin. J. Chem. Eng.*, 2010, **18**, 1029.
- 9 L. Wang, C. Li, Y. Ni, J. Zhang, X. Liu and J. Xu, *Bioresour. Technol.*, 2011, **102**, 7023.
- 10 X. Meng, L. Guo, G. Xu, J. Wu and L. Yang, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2014, **109**, 109.
- 11 (a) K. Faber, *Biotransformations in organic chemistry*, Springer, Berlin, 5th edn, 2004; (b) K. Goldberg, K. Schroer, S. Lutz and A. Liese, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, **76**, 249; (c) W. Kroutil, H. Mang, K. Edegger and K. Faber, *Adv. Synth. Catal.*, 2004, **346**, 125; (d) D. Monti, G. Ottolina, G. Carrea and S. Riva, *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 4111.
- 12 A. Mironowicz and A. Siewinski, *Acta Biotechnol.*, 1986, **2**, 141.
- 13 H. Hamada, N. Nakamura, S. Ito, K. Kawabe and T. Funamoto, *Phytochemistry*, 1988, **27**, 3807.
- 14 Y. Naoshima and Y. Akakabe, *J. Org. Chem.*, 1989, **54**, 4237.
- 15 N. Saito, H. Kawaguchi, Y. Ohtsuka, N. Shimizu and S. Inayama, *Chem. Pharm. Bull.*, 1991, **39**, 3085.
- 16 Y. Naoshima and Y. Akakabe, *Phytochemistry*, 1991, **30**, 3595.
- 17 Y. Akakabe, M. Takahashi, M. Kamezawa, K. Kikuchi, H. Tachibana, T. Ohtani and Y. Naoshima, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1995, 1295.
- 18 Y. Akakabe and Y. Naoshima, *Phytochemistry*, 1993, **32**, 1189.
- 19 Y. Akakabe and Y. Naoshima, *Phytochemistry*, 1994, **35**, 661.
- 20 M. Takemoto, Y. Moriyasu and K. Achiwa, *Chem. Pharm. Bull.*, 1995, **43**, 1458.
- 21 D. R. Griffin, F. Yang, G. Carta and J. L. Gainer, *Biotechnol. Prog.*, 1998, **14**, 588.
- 22 T. R. Gervais, G. Carta and J. L. Gainer, *Biotechnol. Prog.*, 2000, **16**, 208.
- 23 T. R. Gervais, G. Carta and J. L. Gainer, *Biotechnol. Prog.*, 2003, **19**, 389.
- 24 W. Lou, M. Zong, Y. Zhang and H. Wu, *Enzyme Microb. Technol.*, 2004, **35**, 190.
- 25 W. Lou, M. Zong and T. J. Smith, *Green Chem.*, 2006, **8**, 147.
- 26 S. K. Padhi and A. Chadha, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **16**, 2790.
- 27 S. K. Padhi, D. Titu, N. G. Pandian and A. Chadha, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 5133.
- 28 M. H. S. Milagre, C. D. F. Milagre, P. J. S. Moran, M. H. A. Santana and J. A. R. Rodrigues, *Org. Process Res. Dev.*, 2006, **10**, 611.
- 29 Y. Fatima, H. Kansal, P. Soni and U. C. Banerjee, *Process Biochem.*, 2007, **42**, 1412.
- 30 G. Li, K. Huang, Y. Jiang and P. Ding, *Process Biochem.*, 2007, **42**, 1465.
- 31 M. Xiao, Y. Huang, J. Ye and Y. Guo, *Biochem. Eng. J.*, 2008, **39**, 311.
- 32 H. Ni, Y. Guan and S. A. Yao, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2008, **84**, 186.
- 33 T. Matsuda, R. Marukado, M. Mukouyama, T. Harada and K. Nakamura, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 2272.
- 34 A. R. Kumbhar, V. V. Kulkarni, M. B. Pande and S. S. Laddha, *Nat. Proc.*, 2008, **1**, 1.
- 35 J. Fei-Ng and S. Jaenicke, *Aust. J. Chem.*, 2009, **62**, 1034.
- 36 A. S. Ramos, J. B. Ribeiro, L. Vazquez, S. B. Fiaux, S. G. F. Leite, M. C. K. Ramos, F. R. A. Neto and O. A. C. Antunes, *Tetrahedron Lett.*, 2009, **50**, 7362.
- 37 J. B. Ribeiro, A. S. Ramos, S. B. Fiaux, S. G. F. Leite, M. C. K. Klaus, F. R. A. Neto and A. C. Antunes, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, **20**, 2263.
- 38 C. D. F. Milagre, H. M. S. Milagre, P. J. S. Moran and J. A. R. Rodrigues, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2009, **56**, 55.
- 39 G. Yang, Z. Ou, S. Yao and J. Xu, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2009, **57**, 83.
- 40 E. B. Kurbanoglu, K. Zilbeyas, M. Ozdal, M. Taskin and N. Kurbanoglu, *Bioresour. Technol.*, 2010, **101**, 3825.
- 41 E. B. Kurbanoglu, K. Zilbeyaz and N. I. Kurbanoglu, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2011, **22**, 345.
- 42 E. B. Kurbanoglu, K. Zilbeyaz, N. I. Kurbanoglu, M. Ozdal, M. Taskin and O. Algur, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2010, **21**, 461.
- 43 G. Gong, Y. Hou, Q. Zhao, M. Yu, F. Liao, L. Jiang and X. Yang, *Process Biochem.*, 2010, **45**, 1445.
- 44 X. Chen, X. Wang, W. Lou, Y. Li, H. Wu, M. Zong and T. J. Smith, *Microb. Cell Fact.*, 2012, **11**, 119.
- 45 L. C. Rocha, A. L. Souza, U. P. R. Filho, S. P. C. Filho, L. D. Sette and A. L. M. Porto, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2012, **84**, 160.
- 46 A. Singh, Y. Chisti and U. C. Banerjee, *Process Biochem.*, 2012, **47**, 2398.
- 47 O. Zhimin, S. Xingyuan, S. Hanbing and B. Hongxia, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2012, **168**, 2297.
- 48 A. S. Ramos, J. B. Ribeiro, R. O. Lopes and R. O. M. A. Souza, *Synth. Commun.*, 2013, **43**, 1611.
- 49 X. Wang, X. Chen, Y. Xu, W. Lou and H. Wu, *J. Biotechnol.*, 2013, **163**, 292.
- 50 S. Xingyuan, S. Hanbing, B. Hongxia and O. Zhimin, *Korean J. Chem. Eng.*, 2013, **30**, 166.
- 51 K. Kato, H. Nakamura and K. Nakanishi, *Appl. Surf. Sci.*, 2014, **293**, 312.
- 52 M. Rauter, J. Kasprzak, S. Denter, K. Becker, K. Baronian, R. Bode, G. Kunze and H. Vorbrodt, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2014, **108**, 72.
- 53 Y. Chen, J. Xu, J. Pan, Y. Xu and J. Shi, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2004, **30**, 203.
- 54 G. Zheng, H. Yu, C. Li, J. Pan and J. Xu, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2011, **163**, 138.
- 55 S. Tamalampudi, T. Hama, M. R. Tanino, A. Talukder, A. Kondo and H. Fukuda, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2007, **48**, 33.
- 56 R. Gandolfi, A. Borrometi, A. Romano, J. V. S. Gago and F. Molinari, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2002, **13**, 2345.
- 57 M. Takemoto and K. Achiwa, *Phytochemistry*, 1998, **49**, 1627.
- 58 H. Holland and H. K. Weber, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2000, **11**, 547.

- 59 W. Adam, Z. Lukacs, C. Kahle, C. R. Saha-Moller and P. Schreier, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2001, **11**, 377.
- 60 A. J. Carlsson, P. Bauer, H. Ma and M. Widersten, *Biochemistry*, 2012, **51**, 7627.
- 61 M. Bucko, A. Vikartovska, I. Lacik, G. Kollarikova, P. Gemeiner, V. Patoprsty and M. Brygin, *Enzyme Microb. Technol.*, 2005, **36**, 118.
- 62 D. Ghislieri and N. J. Tunner, *Top. Catal.*, 2014, **57**, 284.
- 63 T. C. Nugent and M. El-Shazly, *Adv. Synth. Catal.*, 2010, **352**, 753.
- 64 S. Schatzle, F. Steffen-Munsberg, A. Thontowi, M. Hohne, K. Robins and U. T. Bornscheur, *Adv. Synth. Catal.*, 2011, **353**, 2439.
- 65 S. Mathew and H. Yun, *ACS Catal.*, 2012, **2**, 993.
- 66 C. E. Paul, M. Rodriguez-Mata, E. Busto, I. Laavandera, V. Gotor-Fernandez, V. Gotor, S. Garcia-Cerrada, J. Mendiola, O. de Frutos and I. Collado, *Org. Process Res. Dev.*, 2014, **18**, 788.
- 67 D. Koszelewski, K. Tauber, K. Faber and W. Kroutil, *Trends Biotechnol.*, 2010, **28**, 324.
- 68 (a) G. Rehn, C. Grey, C. Branneby, L. Lindberg and P. Adlercreutz, *Process Biochem.*, 2012, **47**, 1129; (b) G. Rehn, C. Grey and P. Adlercreutz, *J. Biotechnol.*, 2013, **165**, 138.
- 69 G. Rehn, P. Adlercreutz and C. Grey, *J. Biotechnol.*, 2014, **179**, 50.
- 70 L. H. Andrade, W. Kroutil and T. F. Jamison, *Org. Lett.*, 2014, **16**, 6092.
- 71 J. Shin, B. Kim and D. Shin, *Enzyme Microb. Technol.*, 2001, **29**, 232.
- 72 M. A. Cohen, J. S. Parratt and N. J. Tuner, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1992, **3**, 1543.
- 73 F. Effenberger, B. W. Graef and S. Obwald, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1997, **8**, 2749.
- 74 X. Qin, J. Wang and G. Zheng, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2010, **162**, 2345.
- 75 S. V. Pawar and G. D. Yadav, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2014, **53**, 7986.
- 76 F. O. M. Alonso, O. A. C. Antunes and E. G. Oestreicher, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2007, **18**, 566.
- 77 C. Ko and I. Chu, *Enzyme Microb. Technol.*, 2004, **35**, 619.
- 78 R. Feingersch, J. Shainsky, T. K. Wood and A. Fishman, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, **74**, 155.
- 79 A. L. M. Porto, F. Cassiola, S. L. P. Dias, I. Joekes, Y. Gushikem, J. A. R. Rodrigues, P. J. S. Moran, G. P. Manfio and A. J. Marsaioli, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2002, **19**, 327.
- 80 R. Kuriata-Adamusiak, D. Strub and S. Lochynski, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, **95**, 1427.
- 81 H. Leisch, K. Morley and P. C. K. Lau, *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 4165.
- 82 M. Rebros, M. Rosenberg, M. Bucko and P. Gemeiner, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2014, **58**, 556.
- 83 A. Schenk Mayerová, M. Bučko, P. Gemeiner, D. Treľová, I. Lacík, D. Chorvát Jr, P. Ačai, M. Polakovič, L. Lipták, M. Rebros, M. Rosenberg, V. Štefuca, V. Neděla and E. Tihlaříková, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2014, **174**, 1834.
- 84 K. Sakamoto, K. Honda, K. Wada, S. Kita, K. Tsuzaki, H. Nose, M. Kataoka and S. Shimizu, *J. Biotechnol.*, 2005, **118**, 99.

MnO₂ nanowires decorated with Au ultrasmall nanoparticles for the green oxidation of silanes and hydrogen production under ultralow loadings

Anderson G.M. da Silva^a, Camila M. Kisukuri^a, Thenner S. Rodrigues^a,
Eduardo G. Candido^a, Isabel C. de Freitas^a, Alisson H.M. da Silva^b, Jose M. Assaf^b,
Daniela C. Oliveira^c, Leandro H. Andrade^{a,*}, Pedro H.C. Camargo^{a,*}

^a Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, 05508-000 São Paulo, SP, Brazil

^b Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, 13565-905 São Carlos, SP, Brazil

^c Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, 13083-970, Campinas, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 October 2015

Received in revised form 8 November 2015

Accepted 17 November 2015

Keywords:

Gold nanoparticles

Ultrasmall

MnO₂

Controlled-synthesis

Silane oxidation

ABSTRACT

Although green catalytic transformations are very attractive, they often remain limited by low conversion percentages and selectivity. Here, we demonstrate that high catalytic performances (TOF = 590,000 h⁻¹) could be achieved towards the green oxidation of silanes and H₂ production under ultralow Au loadings (0.001–0.0002 mol% in terms of Au) employing H₂O as the oxidant, 25 °C as the reaction temperature, and MnO₂ nanowires decorated with ultrasmall Au NPs (3 nm) as catalysts. In addition to these high activities towards a variety of substrates, the MnO₂–Au NPs displayed good stability/recyclability, in which no morphological changes or loss of activity were observed even after 10 reaction cycles. The improved catalytic activities observed for the MnO₂–Au NPs can be assigned to: (i) the metal–support interactions, in which the presence of Au NPs could facilitate oxidative processes and thus yield high performances towards the oxidation of hydrosilanes; (ii) the significant concentration of Au^{δ+} species and oxygen vacancies at the catalyst surface that represent highly catalytically active sites towards oxidation reactions, and (iii) the Au NPs ultrasmall sizes at the MnO₂ surface that enable the exposure of high energy Au surface/facets, high surface-to-volume ratios, and their uniform dispersion. The MnO₂–Au NPs could be synthesized by a facile approach based on the utilization of MnO₂ nanowires as physical templates for Au deposition without any prior surface modification/functionalization steps. The utilization of supported ultrasmall Au NPs having controlled sizes and dispersion may inspire the design of novel catalysts capable of enabling high catalytic performances towards green transformations at ultralow metal loadings.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Gold nanoparticles (Au NPs) have attracted increased interest in the field of heterogeneous catalysis due to their high catalytic activity and selectivity, being employed in a variety of organic reactions that include oxidation, reduction, and C–C coupling [1–4]. Among these transformations, the oxidation of hydrosilanes has attracted particular attention. Silanols are a key element in the production of silicon-containing materials (i.e., polymers) [5–7]. Generally, hydrosilanes are classically converted into silanols using

strong and toxic oxidizing agents such as permanganate, dichromate, and peracids that lead to significant amounts of siloxanes and toxic byproducts [7,8]. On the other hand, Au supported materials have been reported as promising catalysts for the oxidation of hydrosilanes using mild and non-toxic oxidants such as water and oxygen [5,6,8–10].

The green oxidation of organic compounds [2,11–13] has emerged as a new frontier in heterogeneous catalysis as this transformation represents an eco-friendly approach based on the use of dioxygen (O₂), water, or hydrogen peroxide as the oxidant, non-toxic solvents such as water, low catalyst loadings, and mild temperature and pressure conditions [14–17]. Despite these very attractive features, green oxidations remain challenging owing to the low conversion percentages, selectivities, and substrate versatility [12]. Therefore, the development of novel catalysts displaying

* Corresponding authors.

E-mail addresses: leandroh@iq.usp.br (L.H. Andrade), camargo.bme@gmail.com, camargo@iq.usp.br (P.H.C. Camargo).

high activities towards green transformations, such as oxidation, becomes highly desirable.

In this paper, we describe the catalytic activity of MnO_2 nanowires decorated with ultrasmall Au NPs (NPs having diameters of 3 nm or less) [18] towards the green oxidation of hydrosilanes, which produces silanols and hydrogen gas (H_2). Owing to their morphology comprised of ultrasmall Au NPs (3 nm), we found that the MnO_2 -Au NPs displayed high catalytic performances under ultralow Au loadings (0.001–0.0002 mol%). Interestingly, the MnO_2 -Au NPs were synthesized by a facile approach, which was based on the utilization of MnO_2 nanowires as physical templates for Au deposition without the need of any prior surface modification/functionalization steps. This method enabled the uniform deposition of monodisperse Au NPs over the entire surface of the support (MnO_2). MnO_2 was chosen as a model support material due to their low cost, stability, and low toxicity [19,20]. Moreover, various methodologies have been reported for the synthesis of MnO_2 displaying controlled shapes [21–24]. Although approaches to the synthesis of hybrids between MnO_2 and metal NPs have been reported, most of them generally do not lead a precise control over particle size, monodispersity, particle distribution, and composition, which is crucial to optimize activities [25–29].

2. Experimental

2.1. Materials and instrumentation

Analytical grade chemicals chloroauric acid trihydrate ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 99.9%, Sigma–Aldrich), manganese sulfate monohydrate ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 99%, Sigma–Aldrich), potassium permanganate (KMnO_4 , 99%, Sigma–Aldrich), ethylene glycol (EG, 99.8%, Sigma–Aldrich), sodium borohydride (NaBH_4 , 98%, Sigma–Aldrich), polyvinylpyrrolidone (PVP, Sigma–Aldrich, M.W. 55,000 g/mol), dimethyl(phenyl) silane ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{Si}$, 98%, Sigma–Aldrich), dimethyl(phenethyl) silane ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{Si}$, 98%, Sigma–Aldrich), cyclohexyldimethylsilane ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{Si}$, 98%, Sigma–Aldrich) were used without further purification. Dimethyl(1-phenylethyl) silane ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{Si}$) and dimethyl(1-(naphthalen-2-yl) ethyl) silane ($\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{Si}$) were synthesized according to previously reported protocols [30]. All solutions were prepared using deionized water (18.2 M Ω).

The scanning electron microscopy (SEM) images were obtained using a JEOL field emission gun microscope JSM 6330F operated at 5 kV. The samples were prepared by drop-casting an aqueous suspension containing the nanostructures over a silicon wafer, followed by drying under ambient conditions. The high-resolution transmission electron microscopy (HRTEM) images were obtained with a JEOL JEM2100 microscope operated at 200 kV. Samples for HRTEM were prepared by drop-casting an aqueous suspension of the nanostructures over a carbon-coated copper grid, followed by drying under ambient conditions. UV–vis spectra were obtained from aqueous suspensions containing the nanostructures with a Shimadzu UV-1700 spectrophotometer. The Au atomic percentage was measured by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) with a Shimadzu spectrophotometer, model AA-6300, equipped with an air-acetylene flame.

2.2. Synthesis of MnO_2 nanowires

The MnO_2 nanowires were obtained by a hydrothermal approach [23]. In a typical procedure, 0.4 g of $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and 1.0 g of KMnO_4 were dissolved in 30 mL of deionized water. This solution was transferred to an 100 mL Teflon-lined stainless steel autoclave. The autoclave was heated and stirred at 140 °C for 19 h and then allowed to cooled down to room temperature. The nanowires were

washed three times with ethanol (15 mL) and three times with water (15 mL) by successive rounds of centrifugation and removal of the supernatant, and finally dried at 80 °C for 6 h in air.

2.3. Synthesis of MnO_2 nanowires decorated with Au NPs (MnO_2 -Au NPs)

Typically, 40 mg of MnO_2 nanowires and 13 mg of PVP were added to 10 mL of EG. The obtained suspension was transferred to a 25 mL round-bottom flask and kept under vigorous stirring at 90 °C for 20 min. Then, 1 mL of an 120 mM $\text{NaBH}_4(\text{aq})$ and 1 mL of a 24 mM $\text{AuCl}_4^-(\text{aq})$ solutions were sequentially added to the reaction flask. This mixture was kept under vigorous stirring for another 1 h to produce MnO_2 -Au NPs, which were washed three times with ethanol (15 mL) and water (15 mL) by successive rounds of centrifugation at 6000 rpm for 5 min and removal of the supernatant. After washing, the MnO_2 -Au NPs were suspended in 40 mL of water.

2.4. Oxidation of hydrosilanes catalyzed by MnO_2 -Au NPs

In a typical experiment, a mixture of the hydrosilane (0.025 mmol), H_2O (0.5 mL), and 50 μL of the suspension containing MnO_2 -Au NPs (0.001 mol% in terms of Au) were transferred to a 2 mL microtube (Eppendorf®). This system was kept under stirring at room temperature for 1 h, in a Thermomixer®. Then, the MnO_2 -Au NPs was recovered from the reaction mixture by centrifugation and the supernatant was analyzed by GC–MS. GCM-QP2010SE Shimadzu instrument with low-resolution electron impact (EI, 70 eV) equipped with a RTX®-5MS capillary column. GC/MS conditions: injector 260 °C; detector: 110 °C pressure: 100 kPa. Column temperature: 80 °C, 1 °C/min up to 280 °C. The reaction products, when needed, were purified by a column chromatography (silica gel). The recovered catalyst was washed with water (3 $\times$ 1 mL) and re-used for the recycling studies.

3. Results and discussion

Our studies started with the synthesis of MnO_2 nanowires by a hydrothermal approach. The nanowires displayed well-defined shapes and uniform sizes, being 34 ± 5 nm in width and >1 μm in length (Fig. S1). The MnO_2 nanowires could be directly employed as physical templates for the nucleation and growth of Au NPs over their surface without the need of any surface modification/functionalization steps as depicted in Fig. 1A. Our approach employed $\text{AuCl}_4^-(\text{aq})$ as the Au precursor, PVP as the stabilizer, $\text{BH}_4^-(\text{aq})$ as the reducing agent, EG (ethylene glycol) as the solvent, and 90 °C as the reaction temperature. Fig. 1B–E shows HRTEM images of the MnO_2 nanowires decorated with Au NPs (MnO_2 -Au NPs) obtained by this procedure. The uniform deposition (without agglomeration) of monodisperse, spherical, and ultrasmall (3 ± 1 nm) Au NPs over the entire surface of the MnO_2 nanowires could be clearly detected. Fig. 1D and E suggest that the Au NPs were directly deposited over the surface of the MnO_2 nanowires, and no morphology changes at the surface of the MnO_2 upon the formation of Au NPs could be observed. The MnO_2 were crystallized as β - MnO_2 and were single-crystalline, with its growing direction corresponding to {110} [23,31]. The characteristic lattice fringes from fcc Au can also be observed in Fig. 1E, and indicate that the Au NPs were single-crystalline. The Au content in the MnO_2 -Au NPs suspension as determined by FAAS analysis corresponded to 0.17 mg/L. The XRD pattern for the MnO_2 -Au NPs (Fig. S2) showed four peaks corresponding to the (110), (101), (211) and (200) reflections of the β - MnO_2 phase (JCPDS 24-0735). Only a small and broad peak assigned to the (111) reflection of fcc Au can be detected, in agreement with their ultrasmall sizes and low loading on the MnO_2 nanowires.

Fig. 1. (A) Strategy for the synthesis of MnO₂ nanowires decorated with ultrasmall Au NPs, which was based on the reduction of AuCl₄⁻(aq) to Au by BH₄⁻ in presence of PVP, EG as the solvent, and 90 °C as the reaction temperature. (B–E) HRTEM images of MnO₂-Au NPs depicting the ultrasmall and monodisperse Au NPs size as well as their uniform distribution over the MnO₂ surface. The lattice fringe orientations in the phase-contrast HRTEM images (D and E) show that both the MnO₂ nanowires and Au NPs were single crystalline.

Fig. 2. Green oxidation of dimethyl(phenyl) silane catalyzed by MnO₂-Au NPs (black trace) and pure MnO₂ nanowires (red trace). Reaction profile was expressed as the conversion percentages (%) as a function of time. The reaction was carried out at 25 °C, employing water as the solvent, and the Au loading corresponded to 0.001 mol%. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article).

Owing to the well-defined morphology comprised of micrometer long MnO₂ nanowires and ultrasmall Au NPs sizes, the MnO₂-Au NPs are very attractive for catalytic applications. We were particularly interested in investigating the catalytic activities of the MnO₂-Au NPs under ultralow Au loading conditions towards the green oxidation of hydrosilanes to silanol and gaseous hydrogen (H₂), using water as the solvent and under room temperature. Fig. 2

and Table 1 (entry 1) depict the conversion percentages (%) for the oxidation of dimethyl(phenyl) silane, employed as a model substrate, catalyzed by MnO₂-Au NPs. The catalyst loading in terms of Au corresponded to 0.001 mol%. While no significant conversion was detected for the MnO₂ nanowires after 10 min of reaction (control experiment), the MnO₂-Au NPs catalyst displayed high catalytic activities, achieving 97% of conversion after only 2 min,

Fig. 3. Recycling/stability studies employing MnO_2 -Au NPs as catalysts in the green oxidation of dimethylphenylsilane under the same conditions as described in Fig. 2. No significant loss of activity was observed even after 10 reaction cycles.

Table 1
Green oxidation of silanes catalyzed by MnO_2 -Au NPs.^a

Entry	R^1	Au loading (mol%)	Time (min)	Conversion ^b (%)	Selectivity to silanol ^b (%)
1		0.0002	60	90	100
2		0.001	10	100	100
3		0.001	60	100	100
4		0.001	60	100	100
5		0.001	60	100	100
6		0.001	60	99	100

^a Reactions conditions: silane (0.025 mmol), H_2O (0.5 mL), 25°C , 800 rpm. All reactions were performed in duplicate. The percentage of catalyst was calculated based on the Au loading.

^b The conversion and selectivity % were calculated using GC-MS analysis.

and 100% after 10 min. When the catalyst loading in terms of Au was further reduced to 0.0002 mol% (entry 2, Table 1), the MnO_2 -Au NPs were still exceptionally active under our employed conditions, in which 90% conversion could be achieved after 60 min.

In order to demonstrate the versatility of the MnO_2 -Au NPs as catalysts for the oxidation of hydrosilanes, we varied the nature of the groups attached to the Si atom, from aryl to benzylic

groups (entry 3, Table 1). In this case, 100% conversion could be achieved after 60 min. This slightly difference in the silane structure possibly increases the steric hindrance at silicon atom, which could decrease the catalytic activity, since benzyldimethylsilanol was obtained in 100% after 10 min. The same behavior was observed for dimethyl(1-phenylethyl) silane (entry 4, Table 1). The dimethyl(naphthalen-2-yl) silane and cyclohexyldimethylsi-

Fig. 4. SEM images of MnO_2 -Au NPs catalysts before (A) and after (B) the recycling/stability studies described in Fig. 3, suggesting no significant morphological changes and indicating the robustness of the catalysts.

lane were also investigated as substrates (entries 5 and 6, Table 1, respectively). Both compounds were also successfully oxidized to silanol after 1 h (100% yield), suggesting that the MnO_2 -Au NPs were efficient and versatile as catalysts in the oxidation of a variety of hydrosilanes under ultralow Au loading conditions. Ultralow can be defined as reactions catalyzed employing less than 0.1 mol% in terms of metal loadings [32,33].

One of the main advantages of heterogeneous as compared to homogeneous catalysis is the easy separation of the catalysts from the reaction mixture and its subsequent reusability. Here, the stability and recycling of the MnO_2 -Au NPs catalysts towards the oxidation of dimethyl(phenyl) silane were investigated as depicted in Fig. 3. After each reaction cycle, the MnO_2 -Au NPs catalysts were removed from the reaction mixture by centrifugation and washed before being reused in the next reaction cycle. In this case, the catalytic reactions were scaled-up by 20 folds. It can be observed that almost 100% conversion was achieved even after the 10th cycle, suggesting that the catalytic activities remained unaffected and the successive reaction cycles did not lead to any detrimental structural modifications on the MnO_2 -Au NPs catalysts. The SEM images of the MnO_2 -Au NPs before and after the catalytic tests (Fig. 4A and B, respectively) are in agreement with this observation, showing no change on the morphological features after the

Fig. 5. Temperature programmed reduction profiles (A), Raman (B), and UV-vis (C) spectra for MnO_2 nanowires and MnO_2 -Au NPs.

stability studies. We also evaluated the absence of Au leaching from the MnO_2 -Au NPs under our experimental conditions by a series of control experiments. In this case, MnO_2 -Au NPs were rapidly isolated during the course of the reaction (after 1 min of reaction) to avoid re-deposition of potentially leached metal ions onto the solid. Then, the supernatant was allowed to react even further. As expected for a heterogeneous mechanism, no further conversion of dimethyl(phenyl) silane was observed after removing the

Scheme 1. Proposed mechanism for silane oxidation and hydrogen production reactions catalyzed by MnO_2 -Au NPs.

MnO_2 -Au NPs catalyst from the reaction mixture (Fig. S3). Moreover, the supernatant obtained from these leaching tests and also from the recycling experiments were quantified by FAAS analyses and Au was not detected.

No silane conversion was observed in the absence of H_2O , indicating that H_2O may act as the main oxidant in agreement with previous results [34]. In absence of O_2 , a significant decrease in the reaction rate was observed ($\sim 50\%$ in the dimethyl(phenyl) silane oxidation). This result suggests that O_2 molecules could react with the hydride species adsorbed at the catalyst surface, making them reactive for the next silane insertion according to the proposed mechanism depicted in Scheme 1 [34,35].

The deposition of noble metals over MnO_2 enabled improved electrocatalytic and surface-enhanced Raman scattering performances due to metal-support interactions [36,37]. Moreover, Au NPs can interact with metal oxides to facilitate oxidative processes, in which the reducibility of the support material can play an important role over the observed performances [25]. Therefore, in order to gain further insights into the role played by the metal-support interactions over the high catalytic activities observed herein, the MnO_2 nanowires and MnO_2 -Au NPs were investigated by temperature programmed reduction (TPR) and Raman and UV-vis spectroscopies (Fig. 5A–C, respectively). The TPR profile for the MnO_2 nanowires exhibited only a single and narrow reduction peak centered at 373°C . Interestingly, the TPR profile was dramatically different for the MnO_2 -Au NPs. In this case, reduction of MnO_2 support was facilitated and three main reduction steps corresponding to the reduction of MnO_2 to Mn_2O_3 (233°C), Mn_2O_3 to Mn_3O_4 (305°C), and then Mn_3O_4 to MnO (362°C) could be observed [25]. This result clearly suggests that strong metal-support interactions take place in the MnO_2 -Au NPs, in which the presence of ultra-small Au NPs facilitated/promoted the MnO_2 reduction [25,38]. Raman and UV-vis spectroscopies (Fig. 5B and C, respectively) are in agreement with these observations. The Raman spectra for MnO_2 (Fig. 5B) displayed 522 and 646 nm signals assigned to the characteristic MnO_2 vibration modes. On the other hand, only a broad band centered at 592 nm was observed for the MnO_2 -Au NPs, which can be explained by the distortion of the Mn–O–Mn chain in the octahedral manganese oxide lattice by the presence of Au, leading to loss of translational symmetry that activates otherwise Raman-forbidden oxygen vibrations [36]. Therefore, this

broad band in the Raman spectra due to the presence Au reflect the phonon density of states rather than the Raman-allowed zone center phonons in MnO_2 [36]. The UV-vis spectra for MnO_2 nanowires displayed a broad band at 448 nm assigned to the d - d transitions (Fig. 5C) [39]. This signal was suppressed for MnO_2 -Au NPs, while a broad and peak centered at 538 nm which is assigned to the dipole mode of the localized surface plasmon resonance excitation SPR in Au [40], in agreement with the Au NPs deposition over MnO_2 nanowires.

In order to gain further insights into the surface composition, oxidation state and the charge transfer tendencies between Au and MnO_2 , both MnO_2 nanowires and MnO_2 -Au NPs were investigated by XPS as depicted in Fig. 6A–C (XPS spectra) and Table 2 (XPS parameters and assignments). Mn 2p and Au 4f core levels presented well-separated spin-orbit components at $\Delta \sim 11.5$ and 3.7 eV, respectively. The binding energies (BE) of Au 4f_{7/2} and Mn 2p_{3/2} regions indicated slight shifts relative to bulk Au (84.0 ± 0.2 eV) and Mn (462.4 ± 0.2 eV) which can be explained due to the formation of nanosized particles that generally modify surface properties. In order to probe the surface structural and compositional changes that may occur during the Au deposition onto the MnO_2 surface, the Mn 2p, and O 1s XPS spectra were included for MnO_2 nanowires and MnO_2 -Au NPs. The XPS spectrum for the MnO_2 nanowires (Fig. 6A) displays its main peak at the Mn 2p_{3/2} region centered at 642.9 eV, which can be to the presence of Mn^{4+} species in good agreement with XRD analysis [38,41]. Interestingly, a variation in the oxidation states of Mn species was observed after the Au NPs deposition at MnO_2 surface. In this case, the main peak at the Mn 2p_{3/2} region was shifted and broadened to 641.8 eV, which indicates the presence of Mn species in lower oxidation states, and thus the partial reduction of Mn^{4+} to $\text{Mn}^{\delta+}$ ($\delta < 4$) at the surface [42]. One plausible explanation for the observed reduction of Mn^{4+} species at the surface is the utilization of sodium borohydride (a reducing agent) during the Au NPs deposition step. However, this detected shift to lower binding energy region is also expected due to the charge transfer at the metal-support interface as a result of metal-support interactions [42,43].

The O 1s XPS spectra obtained from MnO_2 and MnO_2 -Au NPs catalysts are shown in Fig. 6B. Three surface oxygen species could be observed in the O 1s XPS spectra. The binding energy between 529.9–529.5 eV was characteristic of the lattice oxygen (denoted as O_L), the binding energies between 532.0–531.4 eV were assigned to oxygen vacancies or the surface oxygen ions (denoted as O_s), and the binding energies around 533.9 eV were characteristic of adsorbed water (O_w) [41]. As expected, the analyses of O 1s XPS spectra are in agreement with the Mn 2p_{3/2} XPS results. The Au NPs deposition led to a decrease in the $\text{O}_\text{L}/\text{O}_\text{s}$ ratio, demonstrating the enrichment of oxygen vacancies or the surface oxygen ions probably induced by the partial reduction of MnO_2 in presence of sodium borohydride during the Au NPs deposition step and/or charge transfer from Au to MnO_2 due to metal-support interactions [37,42,43]. Although manganese oxide is very stable, sodium borohydride is a strong reducing agent. Therefore, it is plausible that it can also partially reduce MnO_2 at the surface to lower oxidation states during the Au NPs deposition step, which is in agreement with XPS, HRTEM (demonstrating that the nanowire structure remained unaffected), and XRD (indicating that the main crystalline phase in the catalyst is β - MnO_2 phase) results.

In addition to partial MnO_2 reduction that led to an increase concentration of oxygen ions at their surface, the Au 4f XPS spectra (Fig. 6C) for the MnO_2 -Au NPs displayed broad peaks in the Au 4f region, suggesting the presence of different oxidation states (Au^0 and $\text{Au}^{\delta+}$ species) [44]. In order to quantify these differences, the Au 4f_{7/2} region was de-convoluted into 2 peaks: one at 83.7 eV assigned to Au^0 species and other at 85.2 eV related to $\text{Au}^{\delta+}$ species.

Fig. 6. XPS spectra of Mn 2p (A), O 1s (B) and Au 4f core levels for MnO₂ nanowires and MnO₂-Au NPs.

Table 2

Binding energies, surface composition, and Au:Mn ratio for MnO₂ nanowires and MnO₂-Au NPs measured by XPS analyses.

Catalyst	BE of Au 4f _{7/2} (eV)		BE of Mn 2p _{3/2} (eV)	BE of O 1s (eV)			Au:Mn
	Au ⁰	Au ^{δ+}		O _L	O _S	O _W	
MnO ₂	no signal	no signal	642.9	529.9 (59) ^a	532.0 (28) ^a	533.9 (13) ^a	N/A
MnO ₂ -Au	83.7 (80) ^a	85.2 (20) ^a	641.8	529.5 (51) ^a	531.4 (35) ^a	533.6 (14) ^a	0.30

^a Percent of Au or O species.

As depicted in Table 2, the Au NPs deposition at the MnO₂ surface led to the formation of a significant concentration of Au^{δ+} species. For instance, the Au^{δ+}/Au⁰ ratio was ~20% in the MnO₂-Au NPs. Experimental and theoretical studies on Au-based catalysts have demonstrated that the most catalytically active sites in oxidation reactions correspond to Au^{δ+} surface species [44,45]. Remarkably, our catalyst displayed a higher number of Au^{δ+} surface species relative to other reported Au-based catalysts displaying high activities towards oxidation reactions [4,38,46,47].

Therefore, we believe that the improved catalytic activities observed for the MnO₂-Au NPs can be assigned to: (i) the metal-support interactions, in which the presence of Au NPs could facilitate oxidative processes and thus yield high performances towards the oxidation of hydrosilanes; (ii) the significant concentration of Au^{δ+} species and oxygen vacancies at the catalyst surface that represent highly catalytically active sites towards oxidation reactions, and (iii) the Au NPs ultrasmall sizes at the MnO₂ surface that enable the exposure of high energy Au surface/facets (Fig. S4),

high surface-to-volume ratios, and their uniform dispersion. The catalytic activity, reusability, and low Au loadings described herein for the MnO₂-Au catalysts agree with the principles of Green Chemistry applied to nanoscience, which encompasses the design of safer nanomaterials that can both meet performance specifications and may pose minimal health/environmental impacts [48]. Although Au NPs supported on different substrates can also catalyze this transformation, the MnO₂-Au NPs catalysts described in this paper displayed significantly improved catalytic performances relative to a conventional Au-SiO₂ material prepared by wet impregnation [49] and other systems containing Au NPs described in the literature as depicted in Table 3 [5,7–10,34]. For instance, MnO₂-Au NPs displayed significantly higher catalytic activities (TOF = 590,000 h⁻¹) relative to conventional Au-SiO₂ catalysts (TOF = 1534 h⁻¹) under lower metal loadings (0.001 mol Au% and 0.1 mol% for MnO₂-Au NPs and Au-SiO₂, respectively) [49]. Moreover, Au loading and the TOF value obtained for the MnO₂-Au NPs catalysts were much higher relative to Au NPs supported on carbon nanotubes,

Table 3
Oxidation of dimethyl(phenyl) silane in different solvents over MnO₂–Au NPs^a and other catalysts reported in literature.

Catalysts	Au loading (mol%)	Solvent	Time (min)	Conversion (%)	TOF (h ^{−1})	Refs.
MnO ₂ –Au	0.001	Water	10	>99	590000 ^b	This work
Au–SiO ₂	0.1	Water	10	23	1534	This work
Au–SiO ₂	0.1	Water	60	>99	983	This work
AuHPA	0.83	Water	180	>99	40 ^b	Ref. [5]
SBA–PIL–Au	0.4	Water	180	>99	83 ^b	Ref. [7]
AuCNT	0.1	THF	45	98	72000	Ref. [8]
Au/SiO ₂	0.4	THF	10	>99	14850 ^b	Ref. [9]
AuNPore	1.0	Acetone	60	>99	10800 ^b	Ref. [10]
Au–2	0.1	Water	40	>99	10167 ^b	Ref. [34]

^a Reactions conditions: silane (0.025 mmol), H₂O (0.5 mL), 25 °C, 800 rpm. All reactions were performed in duplicate.
^b TOF based on the gold loading.

SiO₂, SBA-15, AlO(OH), and hydroxyapatite [5,7–10,34]. While the synthetic routes to produce these systems were relatively complicated and presented several steps, our approach to MnO₂–Au NPs was straightforward and enabled the synthesis of a relatively large amount of nanomaterial (40 mg per batch; reaction volume: 12 mL). In addition, the synthesis and catalytic TOF for the described MnO₂–Au NPs were reproducible and checked several times during our studies.

4. Conclusions

We have demonstrated that MnO₂ nanowires decorated with ultrasmall Au NPs (NPs having diameters of 3 nm or less) can be employed as heterogeneous catalysts towards the green oxidation of hydrosilanes and H₂ production. Surprisingly, we observed that high catalytic performances (TOF = 590,000 h^{−1}) could be achieved towards hydrosilane oxidation employing ultralow Au loadings (0.001–0.0002 mol% in terms of Au), water as solvent and oxidant, and at room temperature. Moreover, the MnO₂–Au NPs displayed good stability/recyclability, and no morphological changes or loss of activity were observed even after 10 reaction cycles. The MnO₂–Au NPs catalysts were comprised of MnO₂ nanowires 34 ± 5 nm in width and >1 μm in length, which could be directly employed as templates for the deposition of ultrasmall Au NPs over their surface employing AuCl₄[−](aq) as the Au precursor, BH₄[−](aq) as the reducing agent, PVP as the stabilizer, and ethylene glycol as the solvent. The Au NPs were uniformly deposited over the entire surface of the MnO₂ nanowires, displayed spherical shape, and were monodisperse. Moreover, their coverage/loading could be controlled by adjusting the amount of AuCl₄[−](aq) and BH₄[−](aq) added during the synthesis. Our results show that the utilization of supported ultrasmall Au NPs having controlled sizes and dispersion may inspire the design of novel catalysts capable of pushing the limits of Au heterogeneous catalysis, in which high catalytic performances towards green transformations can be achieved even at ultralow metal loadings.

Acknowledgments

This work was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (grant numbers 2013/19861 and 2014/22457-5) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant numbers 471245/2012-7 and 140956/2014-0). P.H.C.C. and L.H.A. thank the CNPq for research fellowships. A.G.M.S. and C.M.K. thank the CNPq and T.S.R. thanks CAPES for the fellowships. A.H.M.S. thanks Agência Nacional do Petróleo for the fellowships. We thank the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS) for the access to the XPS facility.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.11.023>.

References

- [1] Y. Zhang, X. Cui, F. Shi, Y. Deng, Nano-gold catalysis in fine chemical synthesis, *Chem. Rev.* 112 (2011) 2467–2505.
- [2] B.K. Min, C.M. Friend, Heterogeneous gold-based catalysis for green chemistry: low-temperature CO oxidation and propene oxidation, *Chem. Rev.* 107 (2007) 2709–2724.
- [3] G. Zhang, Y. Peng, L. Cui, L. Zhang, Gold-catalyzed homogeneous oxidative cross-coupling reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 3112–3115.
- [4] A.G.M. da Silva, H.V. Fajardo, R. Balzer, L.F.D. Probst, A.S.P. Lovón, J.J. Lovón-Quintana, et al., Versatile and efficient catalysts for energy and environmental processes: mesoporous silica containing Au, Pd and Au–Pd, *J. Power Sources* 285 (2015) 460–468.
- [5] T. Mitsudome, A. Noujima, T. Mizugaki, K. Jitsukawa, K. Kaneda, Supported gold nanoparticlecatalyst for the selective oxidation of silanes to silanols in water, *Chem. Commun.* (2009) 5302–5304.
- [6] M. Jeon, J. Han, J. Park, Transformation of silanes into silanols using water and recyclable metal nanoparticle catalysts, *ChemCatChem* 4 (2012) 521–524.
- [7] L. Ma, W. Leng, Y. Zhao, Y. Gao, H. Duan, Gold nanoparticles supported on the periodic mesoporous organosilica SBA-15 as an efficient and reusable catalyst for selective oxidation of silanes to silanols, *RSC Adv.* 4 (2014) 6807–6810.
- [8] J. John, E. Gravel, A. Hagège, H. Li, T. Gacoin, E. Doris, Catalytic oxidation of silanes by carbon nanotube–gold nanohybrids, *Angew. Chem. Int. Ed.* 50 (2011) 7533–7536.
- [9] W. Li, A. Wang, X. Yang, Y. Huang, T. Zhang, Au/SiO₂ as a highly active catalyst for the selective oxidation of silanes to silanols, *Chem. Commun.* 48 (2012) 9183–9185.
- [10] N. Asao, Y. Ishikawa, N. Hatakeyama, Menggenbateer, Y. Yamamoto, M. Chen, et al., Nanostructured materials as catalysts: nanoporous-gold-catalyzed oxidation of organosilanes with water, *Angew. Chem. Int. Ed.* 49 (2010) 10093–10095.
- [11] C.L. Hill, Homogeneous catalysis: controlled green oxidation, *Nature* 401 (1999) 436–437.
- [12] R.A. Sheldon, Fundamentals of green chemistry: efficiency in reaction design, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 1437–1451.
- [13] C. Parmeggiani, F. Cardona, Transition metal based catalysts in the aerobic oxidation of alcohols, *Green Chem.* 14 (2012) 547–564.
- [14] C. Wen, A. Yin, W.-L. Dai, Recent advances in silver-based heterogeneous catalysts for green chemistry processes, *Appl. Catal. B Environ.* 160–161 (2014) 730–741.
- [15] V. Polshettiwar, R.S. Varma, Green chemistry by nano-catalysis, *Green Chem.* 12 (2010) 743–754.
- [16] R.A. Sheldon, I.W.C.E. Arends, G.-J. ten Brink, A. Dijkman, Green, catalytic oxidations of alcohols, *Acc. Chem. Res.* 35 (2002) 774–781.
- [17] T.S. Rodrigues, A.G.M. da Silva, M.C. Gonçalves, H.V. Fajardo, R. Balzer, L.F.D. Probst, et al., AgPt hollow nanodendrites: synthesis and uniform dispersion over SiO₂ support for catalytic applications, *ChemNanoMat* 1 (2015) 46–51.
- [18] B.H. Kim, M.J. Hackett, J. Park, T. Hyeon, Synthesis, characterization, and application of ultrasmall nanoparticles, *Chem. Mater.* 26 (2014) 59–71.
- [19] P. Yang, Y. Ding, Z. Lin, Z. Chen, Y. Li, P. Qiang, et al., Low-cost high-performance solid-state asymmetric supercapacitors based on MnO₂ nanowires and Fe₂O₃ nanotubes, *Nano Lett.* 14 (2014) 731–736.
- [20] X. Lu, T. Zhai, X. Zhang, Y. Shen, L. Yuan, B. Hu, et al., WO₃–x@Au/MnO₂ core–shell nanowires on carbon fabric for high-performance flexible supercapacitors, *Adv. Mater.* 24 (2012) 938–944.
- [21] W. Xiao, D. Wang, X.W. Lou, Shape-controlled synthesis of MnO₂ nanostructures with enhanced electrocatalytic activity for oxygen reduction, *J. Phys. Chem. C* 114 (2010) 1694–1700.

- [22] T.T. Truong, Y. Liu, Y. Ren, L. Trahey, Y. Sun, Morphological and crystalline evolution of nanostructured MnO_2 and its application in lithium-air batteries, *ACS Nano* 6 (2012) 8067–8077.
- [23] X. Wang, Y. Li, Selected-control hydrothermal synthesis of α - and β - MnO_2 single crystal nanowires, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 2880–2881.
- [24] W.-M. Chen, L. Qie, Q.-G. Shao, L.-X. Yuan, W.-X. Zhang, Y.-H. Huang, Controllable synthesis of hollow bipyramid β - MnO_2 and its high electrochemical performance for lithium storage, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 4 (2012) 3047–3053.
- [25] M. Alhumaimess, Z. Lin, Q. He, L. Lu, N. Dimitratos, N.F. Dummer, et al., Oxidation of benzyl alcohol and carbon monoxide using gold nanoparticles supported on MnO_2 nanowire microspheres, *Chem. Eur. J.* 20 (2014) 1701–1710.
- [26] A.K. Thapa, T.H. Shin, S. Ida, G.U. Sumanasekera, M.K. Sunkara, T. Ishihara, Gold–palladium nanoparticles supported by mesoporous β - MnO_2 air electrode for rechargeable Li-air battery, *J. Power Sources* 220 (2012) 211–216.
- [27] K.-N. Jung, A. Riaz, S.-B. Lee, T.-H. Lim, S.-J. Park, R.-H. Song, et al., Urchin-like α - MnO_2 decorated with Au and Pd as a bi-functional catalyst for rechargeable lithium–oxygen batteries, *J. Power Sources* 244 (2013) 328–335.
- [28] S.-Y. Liu, G. Wang, J. Xie, F. Tu, H. Yang, S. Zhang, et al., Au-nanocrystals-decorated [small delta]- MnO_2 as efficient catalytic cathode for high-performance Li– O_2 batteries, *Nanoscale* (2015), <http://dx.doi.org/10.1039/C5NR01344E>.
- [29] T. Qiu, B. Luo, M. Giersig, E.M. Akinoglu, L. Hao, X. Wang, et al., Au@ MnO_2 core–shell nanomesh electrodes for transparent flexible supercapacitors, *Small* 10 (2014) 4136–4141.
- [30] A.R. Bassindale, J.C.-Y. Lau, P.G. Taylor, Nucleophile-assisted racemisation of halosilanes; an alternative pathway involving halide exchange, *J. Organomet. Chem.* 341 (1988) 213–224.
- [31] A. Débart, A.J. Paterson, J. Bao, P.G. Bruce, α - MnO_2 nanowires: a catalyst for the O_2 electrode in rechargeable lithium batteries, *Angew. Chem.* 120 (2008) 4597–4600.
- [32] Y. Jin, J. Xi, Z. Zhang, J. Xiao, F. Xiao, L. Qian, et al., An ultra-low Pd loading nanocatalyst with efficient catalytic activity, *Nanoscale* 7 (2015) 5510–5515.
- [33] J.-C. Hierso, M. Beaupérin, P. Meunier, Ultra-low catalyst loading as a concept in economical and sustainable modern chemistry: the contribution of ferrocenylpolyphosphane ligands, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2007 (2007) 3767–3780.
- [34] T. Liu, F. Yang, Y. Li, L. Ren, L. Zhang, K. Xu, et al., Plasma synthesis of carbon nanotube-gold nanohybrids: efficient catalysts for green oxidation of silanes in water, *J. Mater. Chem. A* 2 (2014) 245–250.
- [35] C. Shang, Z.-P. Liu, Origin and activity of gold nanoparticles as aerobic oxidation catalysts in aqueous solution, *J. Am. Chem. Soc.* 133 (2011) 9938–9947.
- [36] S. Jana, S. Pande, A.K. Sinha, S. Sarkar, M. Pradhan, M. Basu, et al., A green chemistry approach for the synthesis of flower-like Ag-doped MnO_2 nanostructures probed by surface-enhanced Raman spectroscopy, *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 1386–1392.
- [37] Y. Gorlin, C.-J. Chung, J.D. Benck, D. Nordlund, L. Seitz, T.-C. Weng, et al., Understanding interactions between manganese oxide and gold that lead to enhanced activity for electrocatalytic water oxidation, *J. Am. Chem. Soc.* 136 (2014) 4920–4926.
- [38] L.-C. Wang, Y.-M. Liu, M. Chen, Y. Cao, H.-Yong, K.-N. Fan, MnO_2 nanorod supported gold nanoparticles with enhanced activity for solvent-free aerobic alcohol oxidation, *J. Phys. Chem. C* 112 (2008) 6981–6987.
- [39] W. Li, X. Cui, R. Zeng, G. Du, Z. Sun, R. Zheng, et al., Performance modulation of α - MnO_2 nanowires by crystal facet engineering, *Sci. Rep.* 5 (2015), <http://dx.doi.org/10.1038/srep08987>.
- [40] A.G.M. da Silva, T.S. Rodrigues, A. Macedo, R.T.P. da Silva, P.H.C. Camargo, An undergraduate level experiment on the synthesis of Au nanoparticles and their size-dependent optical and catalytic properties, *Quim. Nova* 37 (2014) 1716–1720.
- [41] S. Liang, F. Teng, G. Bulgan, R. Zong, Y. Zhu, Effect of Phase structure of MnO_2 nanorod catalyst on the activity for CO oxidation, *J. Phys. Chem. C* 112 (2008) 5307–5315.
- [42] L.-H. Chang, N. Sasirekha, Y.-W. Chen, W.-J. Wang, Preferential oxidation of CO in H_2 stream over Au/ MnO_2 - CeO_2 catalysts, *Ind. Eng. Chem. Res.* 45 (2006) 4927–4935.
- [43] H. Zhang, C. Lin, F. Du, Y. Zhao, P. Gao, H. Chen, et al., Enhanced interactions between gold and MnO_2 nanowires for water oxidation: a comparison of different chemical and physical preparation methods, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 3 (2015) 2049–2057.
- [44] M.P. Casaleto, A. Longo, A. Martorana, A. Prestianni, A.M. Venezia, XPS study of supported gold catalysts: the role of Au^0 and Au^{+6} species as active sites, *Surf. Interface Anal.* 38 (2006) 215–218.
- [45] L. Chen, J.M. Chabu, Y. Liu, Bimetallic AgM (M = Pt, Pd, Au) nanostructures: synthesis and applications for surface-enhanced Raman scattering, *RSC Adv.* 3 (2013) 4391–4399.
- [46] T.J.A. Slater, A. Macedo, S.L.M. Schroeder, M.G. Burke, P. O'Brien, P.H.C. Camargo, et al., Correlating catalytic activity of Ag–Au nanoparticles with 3D compositional variations, *Nano Lett.* 14 (2014) 1921–1926.
- [47] P. Sudarsanam, B. Mallesham, P.S. Reddy, D. Großmann, W. Grünert, B.M. Reddy, Nano-Au/ CeO_2 catalysts for CO oxidation: influence of dopants (Fe, La and Zr) on the physicochemical properties and catalytic activity, *Appl. Catal. B Environ.* 144 (2014) 900–908.
- [48] L.M. Gilbertson, J.B. Zimmerman, D.L. Plata, J.E. Hutchison, P.T. Anastas, Designing nanomaterials to maximize performance and minimize undesirable implications guided by the Principles of Green Chemistry, *Chem. Soc. Rev.* (2015), <http://dx.doi.org/10.1039/c4cs00445k>.
- [49] A.G.M. da Silva, T.S. Rodrigues, T.J.A. Slater, E.A. Lewis, R.S. Alves, H.V. Fajardo, et al., Controlling size, morphology, and surface composition of AgAu nanodendrites in 15 s for improved environmental catalysis under low metal loadings, *ACS Appl. Mater. Interfaces* (2015), <http://dx.doi.org/10.1021/acsami.5b08725>.

Bimetallic Nanoshells as Platforms for Metallo- and Biometallo-Catalytic Applications

Camila M. Kisukuri, Dayvson J. Palmeira, Thenner S. Rodrigues, Pedro H. C. Camargo,* and Leandro H. Andrade*[a]

The use of gold, silver, platinum and palladium for preparation of bimetallic nanoshells (AgAu, AgPt, and AgPdNSs, respectively) and their use for metallo- and bio-metallo catalytic applications have been described. Bimetallic nanoshells (metallo-catalysts) were employed for silane oxidation to silanols and hydrogen (H_2) production. Fast and efficient oxidation of several si-

lanes was observed after only 1 h at room temperature, by employing AgPd NSs as catalyst, acetone as solvent, and water as oxidant. Interestingly, bio-metallo-catalysts (NSs-CALB) prepared from lipase attachment to the bimetallic nanoshells, displayed promising bi-catalytic activities (enzymatic: transesterification; metallic: silane oxidation).

Introduction

Noble metal nanoparticles have been widely employed as catalysts for a myriad of transformations, including hydrogenation, oxidation, and coupling reactions.^[1–4] In this context, strategies that enable one to maximize their performance become very important as noble metals are usually expensive and low in reserves. For instance, nanostructures displaying bimetallic compositions, as well as hollow interiors are very attractive for catalytic applications. While their bimetallic compositions enable the combination/synergism of properties between the metal components, hollow interiors provide higher surface-to-volume ratios relative to their solid counterparts.^[5,6]

The importance of bimetallic nanoparticles has emerged due to their selectivities and catalytic activities being superior to the monometallic nanoparticles, in several cases.^[7,8] Furthermore, bimetallic nanoparticles have proved to be novel materials with excellent catalytic properties, which can be used for different reactions, such as hydrogenation and oxidation.^[9,10] Despite these attractive features, investigations on the use of bimetallic nanoshells (NSs) as catalysts or supporting materials for enzymes remain limited and poorly understood.^[11–13]

In this paper, we envisioned the use of bimetallic nanoshells to design catalysts having dual activities, i.e., metallo- and bio-metallo-catalysts. We focused on nanoshells based on silver-gold (AgAu NSs), silver-palladium (AgPd NSs), and silver-platinum (AgPt NSs). These bimetallic nanoshells could be employed to produce bio-metallo-catalysts via enzyme attach-

ment. Indeed, metal nanoparticles have also been used as support for enzymes. The enzyme attachment to a solid material can improve enzyme stability and activity, especially under non-conventional environments, such as organic solvents.^[14–18]

We have selected lipase to prepare bio-metallo-catalysts, since they are very important biocatalysts for acylation, transesterification, and hydrolysis reactions.^[19–22] Lipases do not require cofactors and have gained attention, owing to their stability, selectivity, and even catalytic promiscuity. These enzymes can catalyze reactions under mild conditions, in the presence of organic solvents, different temperatures and pH.

In case of evaluating metal catalytic activity, silane oxidation was selected due to the importance of silicon-containing material. In addition, silane oxidation can produce silanol and hydrogen gas (H_2). Strong oxidizing agents such as permanganate, peroxides, ozone, and peracids can mediate this reaction.^[23–26] However, these protocols usually lead to significant amounts of byproducts, such as siloxanes that are produced from silanol condensation. More recently, gold, silver, and palladium nanoparticles have been used as catalyst for the oxidation of hydrosilanes in the presence of water as oxidant to produce silanol.^[27–29] Despite the interesting results, the development of novel catalysts displaying high activities remains challenging, especially with dual activities.

Results and Discussion

Metallo-catalysts: Bimetallic NSs as catalysts for the oxidation of silanes (1 a–j) to silanols (2 a–j)

Bimetallic nanoshells (AgAu, AgPd, and AgPt NSs) were obtained by galvanic replacement approach between Ag and $AuCl_4^-$ (aq), $PdCl_4^{2-}$ (aq), or $PtCl_6^{2-}$ (aq), respectively.^[30–31] It can be observed from the TEM images (Figure 1 A–C, respectively) that all NSs displayed spherical shapes, relatively monodisperse sizes,

[a] C. M. Kisukuri, D. J. Palmeira, T. S. Rodrigues, Prof. Dr. P. H. C. Camargo, Prof. Dr. L. H. Andrade
Institute of Chemistry
University of São Paulo
Av. Prof. Lineu Prestes 748, SP 05508-900, São Paulo (Brazil)
E-mail: camargo@iq.usp.br
leandroh@iq.usp.br

Supporting Information for this article is available on the WWW under <http://dx.doi.org/10.1002/cctc.201500812>.

Figure 1. TEM images and histograms for NSs: A—AgAu, B—AgPd, and C—AgPt. The scale bar in the insets corresponds to 10 nm.

and hollow interiors as illustrated by the brighter mass-thickness contrast at the center of each nanoshell. The AgAu, AgPt, and AgPd NSs were 38 ± 2 , 39 ± 3 , and 39 ± 3 nm in size (outer diameter), respectively. Their wall thickness corresponded to 7 ± 1 , 4 ± 1 , and 6 ± 1 nm, respectively. The Au, Pt, and Pd content (%) in the nanoshells were determined by ICP-OES analyses and corresponded to 18, 36, and 29%, respectively. Therefore, other than their different compositions, all NSs displayed similar sizes and morphologies. The UV-VIS spectra and XRD diffractograms (Figure S9) are in agreement with the dissolution of the Ag from the cores as well as the deposition of Au, Pt, or Pd at the surface as a result of the galvanic replacement reaction and thus the formation of the NSs.

The investigation of catalytic activities of AgAu, AgPd, and AgPt NSs towards hydrogen production from silane oxidation was performed with dimethylphenylsilane **1a** as model substrate. Interestingly, all NSs compositions were highly efficient catalysts, enabling 100% conversions for the selective oxidation of silane **1a** to silanol **2a** producing gaseous hydrogen (H_2) as depicted in Scheme 1. Silanol **2a** and H_2 were not produced in control experiments without the presence of the bimetallic NSs as catalysts (blank reaction), in which the starting material **1a** was completely recovered.

Despite the excellent results using acetone as solvent, we also tested the conversion employing different solvents such as THF, toluene, and MTBE as well as environmentally friendly solvents including water and glycerol as shown in Table 1. The recyclability of all NSs compositions was investigated employ-

Scheme 1. Oxidation of silane **1a** catalyzed by AgAu, AgPt, and AgPd NSs.

Table 1. Effect of solvent on silane oxidation catalyzed by bimetallic nanoshells.^[a]

Entry	Nanoshells ^[b]	Solvent	Yield 2a ^[c]
1	AgAu	acetone	100
2	AgAu	MTBE	— ^[d]
3	AgAu	toluene	— ^[d]
4	AgAu	water	91
5	AgAu	glycerol	73
6	AgPt	THF	11
7	AgPt	acetone	100
8	AgPt	MTBE	27
9	AgPt	toluene	25
10	AgPt	water	98
11	AgPt	glycerol	85
12	AgPt	THF	100
13	AgPd	acetone	100
14	AgPd	MTBE	29
15	AgPd	toluene	2
16	AgPd	water	97
17	AgPd	glycerol	57
18	AgPd	THF	95

[a] Reaction condition: **1a** (0.025 mmol), H_2O (100 μL), solvent (1 mL), RT, 1 h. [b] 5 Mol % (It was considered only Au, Pt, or Pd content from NSs). The available metal surface area of the bimetallic nanoshells for catalysis is less than 5 mol %, since we could consider the total number of exposed surface atoms.^[32] [c] Yield was calculated based in GCMS analysis. [d] Silane **1a** was fully recovered after the reaction.

ing silane **1a** as substrate (Figure 2). The results are depicted in Figure 2 and demonstrated that the AgPd NSs were the most stable catalysts, maintaining its catalysis activity even after 10 cycles of reuse. On the other hand, a decrease in catalytic activity was detected for both AgAu and AgPt NSs after the first cycle (90% and 50%, respectively). We believe that these results can be attributed to catalyst poisoning caused by silanol.

To have more evidences for this purpose, AgAu NSs and AgPt NSs were placed in contact with silanol **2a** under the same reactions conditions for silane oxidation, but no adding silane **1a**. After 1 h, the nanoshells (AgAu NSs and AgPt NSs) were used as catalysts for oxidation of dimethylphenylsilane **1a**. However, only silanol traces were observed (<5%). In fact, the presence of silanol can significantly decrease the catalytic activity of these metallic nanoshells (Figure S36–S37). This compound might be binding to the metal surface (AgAu and AgPt NSs), and then avoiding the interaction between the

Figure 2. Recycling studies: oxidation of dimethylphenylsilane **1a** in acetone; 1 h, 25 °C: a) AgAu NSs; b) AgPd NSs; c) AgPt NSs.

silane and catalyst during other cycles. Besides, the catalytic activity fluctuation during the cycles might be the silanol detachment from metal surface. The TONs for each nanoshells in all cycles was calculate (Supporting Information).

The AgPd NSs showed the best promising results in the recycle study. As full conversion was observed after only 1 h reaction, the silane oxidation catalyzed by AgPd NSs was monitored until reach this result. Figure 3 depicts the conversion

Figure 3. Kinetic studies for oxidation of dimethylphenylsilane **1a** catalyzed by AgPd NSs.

percentages (%) for the oxidation of dimethylphenylsilane, employed as a model substrate.

By analyzing this reaction profile it is possible to understand that the oxidation reaction catalyzed by AgPd NSs is a very fast process, achieving in 34% conversion after 10 min and a maximum conversion (100%) after 50 min. Owing to the results with silver-palladium nanoshells, we employed them as catalysts to increase the scope of silanols produced from the silane oxidation, Scheme 2. The aryl-silanes (**1a–d**) were the

Scheme 2. Preparation of silanols **2a–j** using AgPd nanoshells.

most reactive substrates for the oxidation catalyzed by AgPd NSs. These silanes were fully oxidized to their corresponding silanols (**2a–d**) after 1 h. On the other hand, a simple modification at the silicon atom, from aryl- to benzylic-silanes (**1e–g**) leads to a decrease in yield. However, a 24 h reaction time was necessary to achieve higher silane oxidation **1e–g** to silanols **2e–g** (43–76% yields). Compounds **1h** and **1i** are structurally similar and differ only by the presence of a methyl group at benzylic carbon. This slightly difference in silane structure possibly decreases steric hindrance at silicon atom, which exerts a good influence in reactivity, since silanol **2h** and **2i** were obtained in 72% and 100% yields after 24 h. A silane bearing a cyclic (compound **1j**) aliphatic chain attached to silicon atom was also investigated as substrate, and the corresponding silanol **2j** was successfully produced after 24 h (85% yield). Based on these results, it is evident that electronic and steric hindrance at silicon atom play important role in oxidation reaction.

Mechanistic investigations for AgAu, AgPd, and AgPt NSs were performed with silane **1a** in the presence or absence of H_2O and O_2 (Table 2). No oxidation occurred in the absence of H_2O . In the absence of O_2 , complete silane oxidation was only

Table 2. Oxidation of silane **1a** catalyzed by NSs in the presence or absence of H₂O and O₂.^[a]

Entry	Nanoshells ^[b]	H ₂ O [μL]	O ₂ [atm]	Yield 2a ^[c] [%]
1	AgAu NSs	100	1	100
2	AgPd NSs	100	1	100
3	AgPt NSs	100	1	100
4	AgAu NSs	100	–	100
5	AgPd NSs	100	–	64
6	AgPt NSs	100	–	42
7	AgAu NSs	–	1	– ^[d]
8	AgPd NSs	–	1	traces
9	AgPt NSs	–	1	15
10	AgAu NSs	–	–	– ^[d]
11	AgPd NSs	–	–	– ^[d]
12	AgPt NSs	–	–	– ^[d]

[a] Reactions were performed using **1a** (0.025 mmol) and NSs (5 mol %) in 1.0 mL of acetone under nitrogen atmosphere at RT for 1 h. [b] 5 Mol % (It was considered only Au, Pt, or Pd content from NSs). [c] Yield was calculated based in GCMS analysis. [d] Silane **1a** was fully recovered after the reaction.

observed with AgAu NSs, whereas AgPd and AgPt NSs showed lower activities (64% and 42%, respectively). In the cases that we have only H₂O as oxidant, the catalytic performance can also be explained by the different reactivities of AgAu, AgPd, and AgPt NSs for activation or even dissociation of water. Our results show that Au (from AgAu NSs) is the best metal to perform the water dissociation/activation for silane oxidation. There are theoretical and experimental evidences in the literature that water dissociation can occur on gold and palladium surfaces.^[33]

In all reactions catalyzed by NSs in the presence of O₂ and H₂O, the yields were quantitative. These results suggest that H₂O is the main oxidizing agent, which have been described for gold.^[34,35] It is plausible that O₂ can react with the hydride species at the bimetallic nanoshells surface and then make them reactive for the next silane insertion. These results can be rationalized in a mechanistic proposal for NSs-catalyzed reactions as shown in Scheme 3.

Bio-metallo-catalysts: Use of AgAu, AgPt, and AgPd NSs for preparation of biocatalytic nanomaterials

We also employed the bimetallic NSs to prepare bio-metallo-catalysts having two different catalytic activities (metal catalytic activity and enzymatic activity, Scheme 4).

Scheme 3. Proposed mechanism for silane oxidation and hydrogen production.

Scheme 4. Application of NSs for preparation of bio-metallo-catalysts.

This idea was motivated by the well-established interaction/reactivity of groups such $-\text{SH}$, $-\text{NH}_2$, and $-\text{OH}$, with metallic surfaces (Ag, Au, Pd, and Pt), which can facilitate the lipase attachment to the bimetallic NSs.^[36,37] To evaluate this concept with nanoshells, *Candida antarctica* lipase B was selected as biocatalyst (Scheme 5). CALB has been employed as a biocatalyst towards a variety of reactions, and widely used to prepare chiral compounds.^[38] For the enzyme immobilization protocol, a lipase aqueous solution (0.145 mg mL^{-1}) was added to the bimetallic NSs (1–1.5 mg) and stirred for 2 h at 32°C (Scheme 5). The enzyme loading was quantified by Bradford method. It was observed that similar amounts of CALB were immobilized in each NSs (0.039–0.043 mg), which may be assigned to their

Scheme 5. Lipase attachment onto bimetallic nanoshells.

Figure 4. HRTEM images for: A) AgAu NSs-CALB; B) AgPd NSs-CALB; C) AgPt NSs-CALB.

similar size, morphology and consequently similar available surface area for lipase attachment.

HRTEM images of nanoshells containing immobilized CALB were obtained (Figure 4A, B, and C). The HRTEM images showed that the nanoshells morphology remained intact after CALB immobilization. Moreover, the presence of a thin organic layer over the surface could be detected, which is in agreement with the lipase immobilization over the surface (Figure S9).

The enzyme activity for the bio-metallo-catalysts (NSs-CALB) was evaluated in the transesterification reaction between (*RS*)-1-(phenyl)ethanol (**5**) and vinyl acetate (Table 3). The enzyme

Table 3. Enzyme activity for bio-metallo-catalysts (NSs-CALB): Transesterification reaction of (*RS*)-**4** with vinyl acetate.^[a]

Entry	Bio-metallo-catalyst	ee [%] ^[b] (<i>S</i>)- 5	ee [%] ^[b] (<i>R</i>)- 6	Conv. ^[c] [%]
1	AgAu NSs-CALB ^[e]	33	> 99	25
2	AgPt NSs-CALB ^[e]	33	> 99	25
3	AgPd NSs-CALB ^[e]	35	> 99	26
4	Free CALB ^[f]	4	> 99	4

[a] Reaction conditions: (*RS*)-1-(Phenyl)ethanol **4** (0.002 mmol), vinyl acetate (0.07 mmol), toluene (1 mL), 3 h, 32 °C and 800 rpm. [b] ee: enantiomeric excesses were determined by chiral GC analysis. [c] conv.: conversion = $\frac{ees}{(ees + eep)}$. [d] $E = \frac{\ln[ee(1 - ees)]}{(eep + ees)} / \frac{\ln[ee(1 + ees)]}{(eep + ees)}$. [e] Amount of lipase used in this study is shown in Scheme 5 (0.039–0.043 mg). [f] CALB: 0.050 mg. $ees = ee$ of the substrate; $eep = ee$ of the product.

activity for free CALB was also evaluated to have a comparison with the immobilized form. After 3 h reaction, free CALB was able to catalyze the formation of (*R*)-1-(phenyl)ethyl acetate (**6**), but only with < 4% conversion. All NS-CALB displayed significantly higher activities than free lipase (25–26% conversion; since the maximum for this reaction is 50%). Interestingly, the activity was similar for all NSs compositions, in agreement with the similar amounts of immobilized enzyme in these systems. The *E*-value was excellent for all bio-metallo-catalysts, which indicated that the immobilization process has no negative influence on enzyme enantioselectivity.

After evaluating the enzyme activity for all bio-metallo-catalysts, the next step was to evaluate if this system could also display catalytic activity (metallic) towards silane oxidation. The oxidation of the silane **1a** catalyzed by NS-CALB systems is shown in Table 4. In all cases, the bio-metallo-catalysts showed

Table 4. Metal catalytic activity for bio-metallo-catalysts (NS-CALB): Oxidation of silane to silanol and H₂.^[a]

Entry	Bio-metallo-catalyst	T [h]	Yield 2a ^[b] [%]
1	AgAu NSs-CALB	1	< 2
2	AgPt NSs-CALB	1	25
3	AgPd NSs-CALB	1	85
4	AgAu NSs-CALB	16	10
5	AgPt NSs-CALB	16	70
6	AgPd NSs-CALB	16	85 ^[c]
7	AgAu NSs-CALB	24	15
8	AgPt NSs-CALB	24	74
9	AgPd NSs-CALB	24	81 ^[c]

[a] Reaction conditions: Dimethyl(phenyl)silane **1a** (0.025 mmol), immobilized CALB on NSs, acetone (1 mL), H₂O (50 μL), 25 °C and 800 rpm. [b] Yield was calculated based in GCMS analysis. [c] Silane **1a** was fully converted into the silanol **2a** and a disiloxane derivative.

high activity for silane oxidation (up to 85%, 1 h). The most active one was AgPd NSs-CALB. By increasing the reaction time, the silane oxidation was quantitative (Table 4, Entries 3, 6, and 9). On the other hand, even after 24 h, the AgAu NSs-CALB catalyst displayed only a 15% increase in catalytic activity (Table 4, Entry 7).

Those results indicate that the bimetallic nanoshells have metal catalytic activity even in the presence of enzyme on the nanoshells surface. However, naked nanoshells had higher metal catalytic activity than functionalized ones. In fact, the surface of AgAu NSs-CALB, AgPt NSs-CALB and AgPd NSs-CALB, which are covered by lipase, will have less free metal active sites for silane oxidation. In addition, we also can expect that the high dimensions of lipase from *Candida antarctica*, CAL-B (3 nm × 4 nm × 5 nm) enable it to fit inside the nano-

shells, and then the hollow interior is free to act as metallic catalyst.

To gain further insights into the catalytic activity of the nanoshells (presence of hollow interiors), we prepared solid AgPd nanoparticles having similar size and composition as the AgPd NSs (which displayed the highest activities). The AgPd solid spheres (Figure S7) were treated with an enzyme aqueous solution (CALB, 0.145 mg mL⁻¹) to give Np-AgPd-CALB (with 0.032 mg of immobilized enzyme). Interestingly, the Np-AgPd-CALB did not display any catalytic activity towards the oxidation of dimethylphenylsilane **1a** (1 h). On the other hand, after 1 h reaction, nanoshells containing the immobilized CALB (AgPd NSs-CALB) showed 85% conversion of silane **1a** to silanol **2a**. These results show that the unique morphology of the nanoshells enabled the occurrence of both reactions. It is plausible, for instance, that although the outer surface enables lipase attachment, the inner surfaces contribute to the oxidation of silanes. Finally, the bio-metallo-catalysts were applied in a tandem catalysis involving silane oxidation and silanol acetylation (Scheme 6).

Scheme 6. Application of bio-metallo-catalyst in tandem catalysis (A) and in enantioselective transesterification (B).

This process was performed in a one-pot protocol, but with a two steps sequence using AgPd NSs-CALB as bio-metallo-catalyst. After 2 h, the silane was completely oxidized to silanol. The solvent (acetone) was replaced to toluene, after removing under vacuum, and vinyl acetate (acyl donor) was added to the reaction mixture. As we expected, silanol is a hindered substrate, which can make difficult to get the enzymatic acetylation. In fact, the desired acetoxysilane was produced in a small amount, 2%, proving this issue. However, we need to point out that lipase from AgPd NSs-CALB was effective as biocatalyst in the transesterification reaction of phenylethanol and vinyl acetate (Scheme 6b), a well-known substrate for CALB.

Conclusions

In summary, bimetallic nanoshells were efficiently employed as platform for the preparation of catalysts displaying both metal and enzymatic activities. We focused on 3 nanoshell compositions: AgAu, AgPt, and AgPd. They could be successfully employed as catalysts for oxidation of organosilanes to silanols

and hydrogen gas as co-product. Bio-metallo-catalysts displaying bi-catalytic activities (enzymatic: lipase activity; metallic: silane oxidation activity) were prepared. We believe that our results may have important implications for the development of new materials with multi-catalytic activities, especially for new bio-metallo-catalysts.

Experimental Section

Materials

Lipase from *Candida antarctica* (free form: cat number: 65986–100 mg) was purchased from Sigma–Aldrich. Solvents were purified by standard procedures. The chemicals, including silanes **1a**, **1i**, and **1j** are commercially available and were used without further purification. GC analyses were performed in a Shimadzu GC-17A instrument with a FID detector, using hydrogen as a carrier gas (100 kPa). The chiral column Chirasil-Dex CB β -cyclodextrin (25 m $\times$ 0.25 mm) was used for determination of enantiomeric excesses. The scanning electron microscopy (SEM) images were obtained by using a JEOL field emission gun electron microscope JSM 6330F operated at 5 kV. The samples were prepared by drop-casting an aqueous suspension containing the nanostructures over a silicon wafer, followed by drying under ambient conditions. Transmission electron microscopy (TEM and HRTEM) images were obtained with a JEOL 1010 microscope operating at 80 kV or a JEOL JEM 2100 microscope operated at 200 kV. Samples for TEM were prepared by drop-casting an aqueous suspension of the nanostructures over a carbon-coated copper grid, followed by drying under ambient conditions. The IR spectra were recorded at room temperature by using a FTIR spectrometer BOMEM MB-100 (Hartman–Braun) equipped with a standard DTGS/KBr detector, in the range of 4000–400 cm⁻¹ with the resolution of 4 cm⁻¹, by WinBomem Easy software.

Synthesis of AgAu, AgPt, and AgPd nanoshells

The bimetallic AgAu, AgPt, and AgPd nanoshells were obtained by a galvanic replacement reaction between Ag nanoparticles (employed as seeds) and AuCl₄⁻(aq), PtCl₆²⁻(aq), or PdCl₄²⁻(aq), respectively.^[8,9] Ag seeds were prepared by the polyol process. In a typical experiment, polyvinylpyrrolidone (PVP, 5 g) was dissolved in ethylene glycol (37.5 mL). Then, AgNO₃ (200 mg, 1.2 mmol) was added and mixed until complete dissolution. The resulting solution was heated up to 125 °C for 2.5 h, leading to the appearance of a greenish-yellow color. After that, at room temperature, 125 mL of water was added. For the synthesis of the AgAu, AgPt, and AgPd nanoshells, 27.8 mL of these Ag seeds suspension and 500 mL of a PVP solution (1 mg mL⁻¹, MW 55000 g mol⁻¹) were added into a 1000 mL round bottom flask. This system was heated up to 100 °C for 10 min. Then, 200 mL of an aqueous solution of the respective metal precursor (0.2 mM, AuCl₄⁻(aq), PtCl₆²⁻(aq), or PdCl₄²⁻(aq)) was added dropwise and the reaction allowed to proceed at 100 °C for another 10 min. After cooling down to room temperature, each suspension containing the bimetallic nanoshells was washed three times with water by successive rounds of centrifugation at 7000 rpm and removal of the supernatant. After washing, the nanostructures were suspended in 10 mL of water and stored until catalytic tests. The resulting nanoshells were denoted as AgAu, AgPt, and AgPd NSs and the concentration of metal moles of each solution was measured. Ag: 25.5 mg L⁻¹ Au: 10.1 mg L⁻¹ to

AgAu NSs solution, Ag: 19.9 mg L⁻¹ Pt: 20.1 mg L⁻¹ to AgPt NSs solution and Ag: 47.7 mg L⁻¹ Pd: 18.8 mg L⁻¹ to AgPd NSs solution.

General procedures for synthesis of silanes

Synthesis of 4-(dimethylsilyl)benzonitrile (1 b)

To a solution of 4-bromo-benzonitrile (5 mmol, 0.91 g) in dry THF (11 mL) under N₂ atmosphere at -20 °C, a solution of *i*PrMgCl in THF (6.5 mmol, 0.70 mol/L, 9.3 mL) was added dropwise. The system reacted during 30 min at -20 °C and then the mixture was transferred by cannula to another round-bottom flask with chlorodimethylsilane (7.5 mmol, 0.91 mL) in dry THF (11 mL) at -20 °C. Then the system was allowed to reach room temperature and stirred overnight. Afterwards, H₂O (5 mL) and Et₂O (10 mL) were added and the organic layer was separated. The aqueous layer was washed with Et₂O (2×20 mL). The combined organic layers were washed with brine (2×10 mL), dried over MgSO₄ and the solvent was evaporated under reduced pressure. The product was purified by column chromatography using *n*-hexane/ethyl acetate (9:1) as eluent. Yield: 0.17 g (22%); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 0.36 (d, *J* = 3.8 Hz, 6H), 2.61 (s, 3H), 4.45 (s, 1H; OH), 7.62 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.90 ppm (d, *J* = 8.2 Hz, 2H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = -3.39, 127.52, 134.45, 137.73, 144.38, 198.55 ppm; GC-MS [*m/z* (%)] = 178 [*M*]⁺, 177 (100), 163 (88), 145 (10), 135 (23), 119 (10), 105 (12), 91 (5), 77 (6), 59 (6), 43 (21).

Synthesis of dimethyl(naphthalen-2-yl)silane (1 c)

To a 25 mL two-necked round-bottom flask under N₂ atmosphere, magnesium (6 mmol, 0.143 g), a crystal of I₂ and dry THF (1 mL) were added. Then, 2-bromonaphthalene (5 mmol, 1.03 g) solubilized in dry THF (2 mL) was added to the mixture. The system was stirred for 1 h at room temperature. Then the mixture was cooled down to 0 °C and chlorodimethylsilane (6 mmol, 0.56 g, 0.67 mL) was added dropwise. The system was allowed to reach room temperature and stirred overnight. Afterwards, H₂O (5 mL) and Et₂O (10 mL) were added and the organic layer was separated. The aqueous layer was washed with Et₂O (2×20 mL). The combined organic layers were washed with brine (2×10 mL), dried over MgSO₄ and the solvent was evaporated under reduced pressure. The product was purified by column chromatography using *n*-hexane as eluent. Yield: 0.54 g (58%); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 0.41 (s, 3H), 0.43 (s, 3H), 4.55 (m, 1H), 7.47–7.86 ppm (m, 7H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = -3.71, 125.94, 126.37, 127.04, 127.71, 127.97, 130.16, 132.93, 133.78, 134.66, 134.88 ppm; GC-MS [*m/z* (%)] = 186 [*M*]⁺, 171 (100), 155 (16), 128 (12), 115 (5), 77 (3), 58 (18).

Synthesis of 1-(4-(dimethylsilyl)phenyl)ethanone (1 d)

To a solution of the appropriate ketal (4 mmol, 0.97 g) in dry THF (14 mL), at -70 °C under N₂ atmosphere, *n*-butyl lithium (4.8 mmol, 1.6 mol L⁻¹, 3 mL) was added dropwise. The mixture was allowed to react at -70 °C during 2 h. Then chlorodimethylsilane (4.8 mmol, 0.45 g, 0.52 mL) was added dropwise and the reaction proceeded during 1 hour at -70 °C. The system was allowed to reach room temperature and stirred overnight. Afterwards, H₂O (10 mL) was added and the organic layer was separated. The aqueous layer was washed with ethyl acetate (2×30 mL). The combined organic layers were washed with brine (2×30 mL), dried over MgSO₄ and the solvent was evaporated under reduced pressure.

To the crude organic residue a solution of HCl (1 mol L⁻¹, 10 mL) and acetone (20 mL) was added. The system was allowed to react under reflux during 1 h. Then acetone was evaporated under reduced pressure and CH₂Cl₂ (5 mL) was added. The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (2×8 mL). The combined organic layers were washed with saturated solution of NaHCO₃ (2×8 mL) and brine (2×8 mL). The organic layer was dried over MgSO₄ and the solvent was evaporated under reduced pressure. The product was purified by column chromatography using *n*-hexane/ethyl acetate (9:1) as eluent. Yield: 0.39 g (55%); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 0.36 (d, *J* = 3.8 Hz, 6H), 2.61 (s, 3H), 4.45 (sep, *J* = 3.8, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.90 ppm (d, *J* = 8.2 Hz, 2H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = -3.79, 26.86, 127.52, 134.45, 137.73, 144.38, 198.55 ppm; GC-MS [*m/z* (%)] = 178 [*M*]⁺, 177 (100), 163 (88), 145 (10), 135 (23), 119 (10), 105 (12), 91 (5), 77 (6), 59 (6), 43 (21).

General procedure for the preparation of benzylic silanes (1 e–h)^[39]

To a two-necked round-bottom flask with a reflux condenser and under N₂ atmosphere, magnesium (3.55 equiv), a crystal of I₂, dry THF (3.6 mL g⁻¹ of the corresponding organochloride) and dimethylchlorosilane (3.5 equiv) were added. To this system the appropriate benzylchloride (1 equiv) was added dropwise during 1 h at room temperature. Then the system was refluxed for 16 h. Afterwards, a saturated solution of NH₄Cl (until gas evolution has completely stopped) and the organic layer was separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3×20 mL), the organic layers were combined, washed with brine (2×20 mL) and dried over MgSO₄. Solvent was evaporated under reduced pressure and the product was purified by column chromatography with *n*-hexane.

Dimethyl(1-phenylethyl)silane (1 e): Yield: 2.64 g (80%); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = -0.03 (d, *J* = 3.6 Hz, 3H), 0.02 (d, *J* = 3.6 Hz, 3H), 1.41 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 2.28 (dq, *J* = 7.3 Hz, *J* = 2.8 Hz, 1H), 3.83 (sep, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.05–7.29 ppm (m, 5H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = -5.78, -5.69, 15.57, 27.91, 124.71, 127.15, 128.40, 145.75 ppm; GC-MS [*m/z* (%)] = 164 [*M*]⁺, 149 (15), 135 (11), 145 (8), 135 (15), 121 (18), 105 (57), 104 (100), 77 (13), 59 (93), 43 (13).

Dimethyl(1-(*p*-tolyl)ethyl)silane (1 f): Yield: 2.06 g (60%); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = -0.03 (d, *J* = 3.6 Hz, 3H), 0.01 (d, *J* = 3.6 Hz, 3H), 1.38 (d, *J* = 7.5 Hz, 3H), 2.16–2.27 (dq, *J* = 7.5 Hz, *J* = 2.8 Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 3.82 (m, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.09 ppm (d, *J* = 8.1 Hz, 2H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = -5.76, -5.68, 15.70, 21.12, 27.37, 127.04, 129.12, 134.04, 142.58 ppm; GC-MS [*m/z* (%)] = 178 [*M*]⁺, 163 (8), 149 (7), 135 (9), 119 (100), 118 (87), 91 (16), 77 (6), 59 (31), 43 (7).

1-(4-fluorophenyl)ethyl)dimethylsilane (1 g): Yield: 0.58 g (47%); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 0.04 (d, *J* = 3.7 Hz, 3H), 0.06 (d, *J* = 3.7 Hz, 3H), 0.91 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.05–1.12 (m, 1H), 2.37 (dd, *J* = 10.3 Hz, *J* = 13.7 Hz, 1H), 2.85 (dd, *J* = 4.9 Hz, *J* = 13.7 Hz, 1H), 3.78 (sep, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.14–7.32 ppm (m, 5H); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = -6.04, -5.79, 14.65, 20.63, 39.04, 125.86, 128.33, 129.08, 142.45 ppm; GC-MS [*m/z* (%)] = 178 [*M*]⁺, 163 (18), 145 (5), 135 (52), 118 (94), 100 (65), 91 (52), 85 (16), 59 (100), 43 (12).

Dimethyl(1-phenylpropan-2-yl)silane (1 h): Yield: 0.58 g (47%); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 0.04 (d, *J* = 3.7 Hz, 3H), 0.06 (d, *J* = 3.7 Hz, 3H), 0.91 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.05–1.12 (m, 1H), 2.37 (dd, *J* = 10.3 Hz, *J* = 13.7 Hz, 1H), 2.85 (dd, *J* = 4.9 Hz, *J* = 13.7 Hz, 1H), 3.78 (sep, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.14–7.32 ppm (m, 5H); ¹³C NMR (50 MHz,

CDCl_3): $\delta = -6.04, -5.79, 14.65, 20.63, 39.04, 125.86, 128.33, 129.08, 142.45$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 178 [M]⁺, 163 (19), 145 (7), 135 (54), 118 (90), 100 (65), 91 (51), 85 (16), 59 (100), 43 (17).

General procedure for the preparation of silanols (2a–j)

In a 2 mL microtube (Eppendorf) containing organosilanes (1a–j) (0.025 mmol), H_2O (50 μL), NSs (5 mol% calculated with respect to Au, Pt or Pd) and acetone (1 mL) were added. The mixture was stirred for 1 h at room temperature. After the catalyst was removed via centrifugation and the reaction content was analyzed via GC-MS. The reaction, when necessary, was purified by column chromatography (silica gel) using hexane/acetate as eluent.

General procedure for the recycling studies

In a 2 mL microtube (Eppendorf) containing dimethyl(phenyl)silane (1a) (0.025 mmol), H_2O (50 μL), NSs (5 mol% calculated with respect to Au, Pt or Pd) and acetone (1 mL) were added. The mixture was stirred for 1 h at room temperature. After this period, the reaction mixture was centrifuged for 5 min at 8500 rpm to facilitate the removal of the reaction content and catalyst recycling. The catalyst was washed with acetone (1 mL), sonicated for 10 min and then the mixture was centrifuged for 5 min at 8500 rpm. This protocol was repeated for more two times. The reaction content was analyzed via GC-MS. The nanoparticles were used for a new reaction cycle as described above.

Dimethyl(1-phenyl)silanol (2a): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.62\text{--}7.60$ (m, 2H), $7.41\text{--}7.39$ (m, 3H), 0.42 ppm (s, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.87, 127.70, 129.24, 133.00, 139.82$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 152 [M]⁺, 137 (100), 119 (3), 91 (7), 75 (5), 69 (4), 45 (13).

4-(hydroxydimethylsilyl)benzonitrile (2b): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.63\text{--}7.62$ (m, 4H), 0.38 (s, 3H), 0.36 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.16, 112.79, 118.91, 131.03, 134.46, 144.30$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 177 [M]⁺, 162 (100), 146 (1), 130 (1), 117 (3), 103 (4), 91 (10), 75 (12), 59 (6), 45(24).

Dimethyl(naphthalen-2-yl)silanol (2c): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.04\text{--}8.03$ (m, 1H), $7.81\text{--}7.76$ (m, 3H), $7.64\text{--}7.61$ (m, 1H), $7.47\text{--}7.45$ (m, 2H), 0.43 (s, 6H), 0.38 ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.93, 125.83, 126.36, 126.94, 127.68, 128.20, 129.36, 132.82, 133.77, 133.87, 137.20$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 202 [M]⁺, 187 (100), 169 (23), 141 (9), 128 (15), 115 (9), 101 (3), 93 (15), 75 (7), 45(14).

1-(4-(hydroxydimethylsilyl)phenyl)ethanone (2d): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.92$ (dd, $J = 8.2, 5.2$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J = 21.6, 8.2$ Hz, 1H), $2.93\text{--}2.84$ (s; 1H), 0.90 (s, 3H), 0.13 (s, 3H), 0.12 ppm (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = -0.01, 0.70, 26.64, 127.35, 129.97, 133.28, 137.67, 145.63, 176.80$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 194 [M]⁺, 179 (100), 161 (3), 151 (4), 136 (7), 121 (6), 105 (2), 91 (6), 75 (18), 45(12). $176.80, 145.63, 137.67, 133.28, 129.97, 127.35, 26.64, 0.70, -0.01$.

Dimethyl(1-phenylethyl)silanol (2e): ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.30\text{--}7.10$ (m, 5H), $2.30\text{--}2.22$ (q, $J = 7.5$ Hz, 1H), $1.41\text{--}1.39$ (d, $J = 7.5$ Hz, 3H), 0.10 (s, 3H), 0.08 ppm (s, 3H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): $\delta = -2.54, -2.23, 14.14, 30.93, 124.63, 127.06, 128.29, 144.62$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 180 [M]⁺, 165 (1), 149 (1), 137 (7), 104 (12), 91 (1), 75 (100), 75 (100), 45 (6).

Dimethyl(1-(p-tolyl)ethyl)silanol (2f): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.11\text{--}6.98$ (dd, $J = 29.5, 8.0$ Hz, 4H), $3.86\text{--}3.83$ (q, $J = 7.4, 1$ H), 2.33 (s, 3H), $1.41\text{--}1.38$ (d, $J = 7.5$ Hz, 3H), 0.05 (s, 3H), 0.01 ppm (s,

3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = -5.97, -5.89, 15.49, 20.90, 27.16, 126.82, 128.89, 133.80, 142.35$. GC-MS [m/z (%)] = 194 [M]⁺, 179 (1), 151 (6), 118 (17), 91 (6), 75 (100), 47 (4), 38 (1).

(1-(4-fluorophenyl)ethyl)dimethylsilanol (2g): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.05\text{--}7.96$ (m, 4H), $2.27\text{--}2.19$ (q, $J = 7.4$ Hz, 1H), $1.39\text{--}1.36$ (d, $J = 7.5$ Hz, 3H), 0.09 (s, 3H), 0.08 ppm (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = -2.51, -2.29, 14.43, 30.11, 114.84, 115.12, 128.13, 128.23, 140.20$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 198 [M]⁺, 183 (2), 155 (10), 122 (32), 104 (100), 96 (13), 75 (99), 61 (4), 47 (12), 39(2).

Dimethyl(1-phenylpropan-2-yl)silanol(2h): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.34\text{--}7.16$ (m, 5H), $2.91\text{--}2.85$ (dd, $J = 3.0, 13.0$ Hz, 1H), $2.45\text{--}2.36$ (dd, $J = 6.0$ Hz; $J = 13$ Hz, 1H), $1.13\text{--}1.06$ (m, 1H), $0.92\text{--}0.90$ ppm (d, $J = 6.0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = -6.26, -6.01, 14.43, 20.42, 38.42, 125.61, 123.10, 128.84, 142.21$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 194 [M]⁺, 176 (7), 161 (4), 152 (4), 137 (18), 118 (32), 91 (10), 75 (100), 61 (8), 47(8).

Dimethyl(2-phenylethyl)silanol (2i): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.28\text{--}7.13$ (m, 5H), $2.73\text{--}2.66$ (t, $J = 9$ Hz, 2H), $1.00\text{--}0.95$ (t, $J = 9$ Hz, 2H), 0.14 ppm (s, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = -4.52, 16.18, 30.53, 125.56, 127.81, 128.28, 144.77$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 180 [M]⁺, 165 (25), 147 (24), 137 (34), 104 (11), 91 (7), 75 (100), 61 (23), 45 (12).

Cyclohexyldimethylsilanol (2j): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.76\text{--}1.72$ (m, 5H), $1.40\text{--}1.14$ (m, 5H), 0.10 ppm (s, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = -2.27, 26.87, 26.66, 27.80, 27.41$ ppm; GC-MS [m/z (%)] = 158 [M]⁺, 143 (5), 115 (2), 101 (2), 75 (100), 61 (16), 45 (7), 41 (4).

General procedure for CALB attachment onto NSs (NSs-CALB)

In a 2 mL microtube (Eppendorf) containing nanoshells (AgAu NSs, AgPt NSs, and AgPd NSs, 5 mol% calculated with respect to Au, Pt, or Pd) was added 1 mL of lipase solution (solution of *Candida antarctica* lipase: 0.145 mg mL^{-1}) in 20 mM phosphate buffer (pH 7). The resulting mixture was stirred at 32°C for 2 h under 800 rpm (Thermomixer® apparatus). The functionalized NSs with lipases were removed from the reaction mixture by centrifugation, and then washed with water ($3 \times 2\text{ mL}$). The resulting aqueous solution was used to evaluate the residual amount of protein. The NSs-CALB systems (AgAu NSs-CALB, AgPt NSs-CALB, and AgPd NSs-CALB) were stored in phosphate buffer (pH 7.0, 1 mL) for further studies.

Quantification of proteins immobilized onto the bimetallic NSs

The protein content was determined by Bradford method.^[40] A calibration curve was obtained at 595 nm in spectrophotometer (Bio-spectro, sp-220), by the use of bovine serum albumin (BSA) as standard protein solution in different concentrations.

Enzyme activity: transesterification reaction of (R5)-1-(phenyl)ethanol(4) with vinyl acetate

In a 2 mL microtube (Eppendorf) containing the NSs-CALB systems (AgAu NSs-CALB, AgPt NSs-CALB, and AgPd NSs-CALB, 62.5 mol% calculated with respect to Au, Pt, or Pd), (R5)-1-(phenyl)ethanol (0.002 mmol) and vinyl acetate (0.07 mmol) were dispersed in tolu-

ene (1 mL) and stirred at 32 °C, 800 rpm (Thermomixer) for the appropriate time as indicated in Tables.

General procedure for silane oxidation catalyzed by NSs-CALB

In a 2 mL microtube (Eppendorf) containing dimethyl(phenyl)silane (**1a**) (0.025 mmol), H₂O (50 µL), NSs-CALB (AgAu NSs-CALB, AgPt NSs-CALB, and AgPd NSs-CALB, 5 mol% calculated to Au, Pt, or Pd; 1–1.5 mg), and acetone (1 mL) were added. The mixture was stirred at room temperature according to the reaction time indicated in tables. The catalyst was removed via centrifugation and the reaction content was analyzed via GC-MS. The results are shown in Table 4.

GC analysis for determination of enantiomeric excess

The enantiomeric excesses for 1-(phenyl)ethanol and 1-(phenyl)ethyl acetate were analyzed by GC/FID in a chiral capillary column (Chirasil-Dex CB-Varian). GC conditions: injector 220 °C; detector: 110 °C pressure: 100 kPa. Column temperature: 120 °C, 1 °C min⁻¹ up to 200 °C. Retention times for (R,S)-1-(phenyl)ethanol: (R) = 5.8 min, (S) = 6.0 min. (R,S)-1-(phenyl)ethyl acetate: (R) = 4.3 min, (S) = 3.7 min.

GC/MS analysis for determination of conversion

The conversion of silane to silanol were analyzed by GCM-QP2010SE (Shimadzu) with low-resolution electron impact (EI, 70 eV) equipped with aRTx-5 MS capillary column. GC/MS conditions: injector 260 °C; detector: 110 °C pressure: 100 kPa. Column temperature: 80 °C, 1 °C min⁻¹ up to 280 °C.

Acknowledgements

The authors are grateful for FAPESP and CNPq for financial support.

Keywords: bimetallic • biocatalysis • enzymes • hydrogen production • nanocatalysis • silane

- [1] R. V. Jagadeesh, A. Surkus, H. Junge, M. Pohl, J. Radnik, J. Rabeah, H. Huan, V. Schunemann, A. Bruckner, M. Beller, *Science* **2013**, *342*, 1073–1076.
- [2] M. Takato, N. Akifumi, M. Tomoo, J. Koichiro, K. Kiyotomi, *Green Chem.* **2009**, *11*, 793–797.
- [3] W. Yan, R. Wang, Z. Xu, J. Xu, L. Lin, Z. Shen, Y. Zhou, *Polym. Chem.* **2012**, *3*, 1267–1275.
- [4] L. Wei, Z. Baoliang, L. Xiangjie, Z. Hepeng, Z. Qiuyu, *Appl. Catal. A* **2013**, *459*, 65–72.
- [5] D. Wang, Y. Li, *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 1044–1060.
- [6] R. Ferrando, J. Jellinek, R. L. Johnston, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 845–910.
- [7] W. Wang, J. Stover, V. Zielasek, L. Altmann, K. Thiel, K. Al-Shamery, M. Baumer, H. Borchert, J. Parisi, J. Kolny-Olesiak, *Langmuir* **2011**, *27*, 11052–11061.
- [8] J. S. Bradley, E. W. Hill, C. Klein, B. Chaudret, A. Duteil, *Chem. Mater.* **1993**, *5*, 254–256.
- [9] J. M. E. Pusch, D. Brondani, L. Luza, J. Dupont, I. C. Vieira, *Analyst* **2013**, *138*, 4898–4906.
- [10] M. Sankar, N. Dimitratos, P. J. Miedzian, P. P. Wells, C. J. Kiely, G. J. Hutchings, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 8099–8139.
- [11] F. Wang, C. Li, L. Sun, H. Wu, T. Ming, J. Wang, J. C. Yu, C. Yan, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1106–1111.
- [12] Y. Hu, Y. Liu, Z. Li, Y. Sun, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 2828–2836.
- [13] H. Wu, P. Wang, H. He, Y. Jin, *Nano Res.* **2012**, *5*, 135–144.
- [14] C. M. Kisukuri, A. Macedo, C. C. S. Oliveira, P. H. C. Camargo, L. H. Andrade, *Langmuir* **2013**, *29*, 15974–15980.
- [15] C. G. C. M. Netto, H. E. Toma, L. H. Andrade, *J. Mol. Catal. B* **2013**, *85*–86, 71–92.
- [16] P. Zucca, E. Sanjust, *Molecules* **2014**, *19*, 14139–14194.
- [17] K. Min, Y. J. Yoo, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2014**, *19*, 553–567.
- [18] R. A. Sheldon, S. van Pelt, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6223–6235.
- [19] H. Treichel, D. Oliveira, M. A. Mazutti, M. Di Luccio, J. V. Oliveira, *Food Bioprocess Technol.* **2010**, *3*, 182–196.
- [20] C. E. Humphrey, M. Ahmed, A. Ghanem, N. J. Turner in *Separation Of Enantiomers: Synthetic Methods*, (Ed.: M. Todd), Wiley-VCH, Weinheim, Germany, **1998**.
- [21] R. J. Kazlauskas, U. T. Bornscheuer, *Biotransformations with lipases*, in *Biotechnology vol. 8a, 2nd ed.* (Eds.: H.-J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. J. Stadler), Wiley-VCH, Weinheim, Germany, **1998**.
- [22] M. T. Reetz, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 145–150.
- [23] P. D. Lickiss, R. Lucas, *J. Organomet. Chem.* **1996**, *521*, 229–234.
- [24] L. Spialter, J. D. Austin, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4406.
- [25] L. H. Sommer, L. A. Ulland, G. A. Parker, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3469–3471.
- [26] W. Adam, C. M. Mitchell, C. R. Saha-Mollera, O. Weichold, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2097–2103.
- [27] M. Yan, T. Jin, Y. Ishikawa, T. Minato, T. Fujita, L. Chen, M. Bao, N. Asao, M. Chen, Y. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 17536–17542.
- [28] T. Mitsudome, S. Arita, H. Mori, T. Mizugaki, K. Jitsukawa, K. Kaneda, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7938–7940; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8056–8058.
- [29] T. Kamachi, K. Shimizu, D. Yoshihiro, K. Igawa, K. Tomooka, K. Yoshizawa, *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 22967–22973.
- [30] T. J. Slater, A. Macedo, A. L. M. Schoroder, M. G. Burke, P. O'Brien, P. H. C. Camargo, S. Haigh, *Nano Lett.* **2014**, *14*, 1921–1926.
- [31] M. V. Petri, R. A. Ando, P. H. C. Camargo, *Chem. Phys. Lett.* **2012**, *531*, 188–192.
- [32] A. P. Umpierre, E. de Jesús, J. Dupont, *ChemCatChem* **2011**, *3*, 1413–1418.
- [33] a) M. A. Henderson, *Surf. Sci. Rep.* **2002**, *46*, 1–308; b) G. S. Karlberg, *Phys. Rev. B* **2006**, *74*, 153414; c) G.-C. Wang, S.-X. Tao, X.-H. Bu, *J. Catal.* **2006**, *244*, 10–16; d) A. Michaelides, A. Alavi, D. A. King, *Phys. Rev. B* **2004**, *69*, 113404; e) M. Pan, Z. D. Pozun, W.-Y. Yu, G. Henkelman, C. B. Mullins, *J. Phys. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 1894–1899; f) N. K. Jena, K. R. S. Chandrakumar, S. K. Ghosh, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 10262–10267.
- [34] B. S. Takale, M. Bao, Y. Yamamoto, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 2005–2027.
- [35] a) T. Mitsudome, A. Noujima, T. Mizugaki, K. Jitsukawa, K. Kaneda, *Chem. Commun.* **2009**, 5302–5304; b) V. Gitis, R. Beerthuis, N. R. Shiju, G. Rothenberg, *Catal. Sci. Technol.* **2014**, *4*, 2156–2160.
- [36] I. Willner, R. Baron, B. Wilner, *Biosens. Bioelectron.* **2007**, *22*, 1841–1852.
- [37] M. Filice, M. Marciello, M. P. Morales, J. M. Palomo, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 6876–6878.
- [38] a) V. Gotor-Fernández, E. Busto, V. Gotor, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 797–812; b) A. Idris, A. Bukhari, *Biotechnol. Adv.* **2012**, *30*, 550–563; c) Z. Guan, L.-Y. Li, Y.-H. He, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 16801–16814.
- [39] A. R. Bassindale, J. C.-Y. Lau, P. G. Taylor, *J. Organomet. Chem.* **1988**, *341*, 213.
- [40] M. M. Bradford, *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254.

Received: July 22, 2015

Published online on November 20, 2015

Evaluation of AgPd Nanoshells in Dual Catalysis: One-Pot Silane Oxidation and Reduction of Organic Compounds

Camila M. Kisukuri, João L. M. S. Reis, Thenner S. Rodrigues, Pedro H. C. Camargo,* and Leandro H. Andrade^[a]

AgPd nanoshells (AgPd NSs) were used as dual catalysts for hydrogen production and reduction of organic compounds in a one-pot protocol. AgPd NSs were very efficient catalysts for the reduction of several functional groups, including alkenes, alkynes, imines, nitro compounds, and azides. Excellent chemo-selectivities were observed for α,β -unsaturated ketones, esters, and cinnamionitrile. Also, deuterium-labeled compounds were

prepared by using D₂O instead of H₂O. A packed-bed reactor containing the immobilized AgPd NSs in silica (AgPd/SiO₂) was designed to be used in continuous-flow conditions. An optimized flow system with AgPd NSs was able to give the desired compounds in high conversions with 30–60 min residence time (t_R).

Introduction

Bimetallic nanomaterials can have improved catalytic performances as compared to their monometallic analogues owing to synergism effects between the two metals. Therefore, a new set of catalysts prepared by combining two different metal components can enable, at least in principle, unique catalytic properties, better selectivity, durability, and activity compared to their monometallic counterparts.^[1–7] For example, galvanic replacement reactions can produce bimetallic nanoshells (NSs) displaying hollow interiors. This reaction is driven by the difference in reduction potentials between two metals, which occurs if a metal (sacrificial template) reacts with metal ions having a higher reduction potential.^[8] This leads to the oxidation and dissolution of the template with concurrent reduction and deposition of the more noble metal at its surface.^[8,9] Notably, nanomaterials came into prominence in the field of catalysis because of the variations in the electronic band structure and surface-to-volume ratios as a function of size.^[10–14]

A large number of bimetallic catalysts have been reported for a range of transformations, including hydrogenolysis, coupling reaction, reforming reactions, and silane oxidation.^[15–27] For example, Wang et al. used Pt/Co bimetallic nanoparticles for the hydrogenolysis of 5-hydroxymethylfurfural,^[28] and Gawande et al. used Ag/Ni nanoparticles for hydrogen transfer from isopropanol oxidation to acetophenone.^[29] Son et al. employed Pd/Ni nanoparticles as catalysts for Sonogashira

coupling reaction.^[30] Rh/Pd and Pt/Pd nanoparticles were also used as catalysts for alcohol oxidation and catalytic reforming.^[31]

In addition to catalytic applications, we have recently shown the potential of bimetallic nanomaterials as a supporting material for enzyme immobilization to prepare biometallocalcatalysts with both metallic and enzymatic activities.^[32] Motivated by the very interesting results with bimetallic nanoshells, we developed a study focused on the utilization of AgPd NSs as dual catalysts for the reduction of several organic compounds (alkenes, alkyne, imines, nitro compounds, and azides) with hydrogen (H₂), hydrogen deuteride (HD), or deuterium (D₂) produced from silane oxidation. For this purpose, a one-pot protocol under batch and continuous-flow conditions was demonstrated. Notably, silanes are easily available as a source for hydrogen production and can be safely handled in open air, resulting in an environmentally friendly protocol.^[33–35] Besides, to the best of our knowledge, reports on the use of bimetallic nanoparticles as catalysts for HD/D₂ production and reduction of organic compounds to deuterium-labeled compounds are scarce.

Results and Discussion

AgPd NSs were prepared by using galvanic replacement reaction between Ag nanospheres and PdCl₄^{2–} ions (Supporting Information, Figure S1). This protocol afforded nanoparticles with controlled sizes and compositions (39 ± 3 nm in outer diameters and 6 ± 1 nm in wall thickness determined by SEM and TEM, Figure S1 and S2; 28 wt% in terms of Pd as determined by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy, ICP-OES).^[32]

With the AgPd NSs in hands, we investigated different organosilane compounds as substrates for hydrogen production at room temperature. Dimethyl(phenyl)silane (**1a**),

[a] C. M. Kisukuri, J. L. M. S. Reis, T. S. Rodrigues, Prof. P. H. C. Camargo, Prof. L. H. Andrade
Department of Fundamental Chemistry, Institute of Chemistry
University of São Paulo
Av. Prof. Lineu Prestes, 748
05508-000, São Paulo, SP (Brazil)
E-mail: camargo@iq.usp.br
leandroh@iq.usp.br

Supporting information for this article can be found under:
<http://dx.doi.org/10.1002/cctc.201600977>.

Table 1. Production of hydrogen from organosilane oxidation catalyzed by AgPd NSs.^[a]

Entry	Organosilane 1	<i>t</i> [h]	Silanol 2 ^[b] [conv. %]
1		1	100
2		0.5	100
3		1	100
4		0.5	100
5		1	44

[a] Reaction conditions: Organosilanes **1a-c** (50 μmol), H₂O (50 μL), acetone (1.0 mL), AgPd NSs (5 mol%); it was calculated based on the percentage in moles of palladium, 25 °C and 800 rpm. [b] Conversions were calculated based on GC-MS analysis.

dimethyl(phenethyl)silane (**1b**) and triethylsilane (**1c**) were selected for this purpose, as depicted in Table 1.

Dimethyl(phenyl)silane (**1a**) and dimethyl(phenethyl)silane (**1b**) were fully converted to the corresponding silanols and hydrogen (entry 1 and 3, Table 1), while triethylsilane (**1c**) showed 44% conversion after 1 h (entry 5, Table 1). When the reactions were performed with substrates **1a** and **1b** in 30 minutes, they were also fully converted (entry 2 and, Table 1). Although the two silanes (**1a** and **1b**) are good sources for hydrogen production, dimethyl(phenyl)silane (**1a**) was chosen as the substrate for further studies owing to its low cost if compared to dimethyl(phenethyl)silane (**1b**).

After choosing the silane, AgPd NSs were evaluated as catalysts for alkene reduction with hydrogen produced from silane oxidation in a one-pot protocol. We also explored the chemoselectivity of AgPd nanoshells using an α,β-unsaturated ketone, (*E*)-1-(4-chlorophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one (**3a**), Table 2.

Initially, the catalyst loading and the ratio between silane (**1a**) and α,β-unsaturated ketone (**3a**) over catalytic activity were evaluated. A reaction with 5 mol% of AgPd NSs and an 1:1 ratio between silane (**1a**) and ketone (**3a**) was performed at room temperature. A full conversion of silane to silanol (**2a**) was observed, but the second reaction, C=C double bond reduction, occurred with 41% conversion (Table 2, entry 1). If we increased the amount of silane, the α,β-unsaturated ketone (**3a**) was efficiently reduced up to 94% (entries 1–4). Notably, the reaction with AgPd nanoshells was highly chemoselective, because no ketone reduction was observed, even after C=C double bond reduction.

A second set of reactions was performed to evaluate the effect of catalyst loading over the C=C bond reduction (Table 3, entries 4, 6, and 7). The results revealed a minor influence, even if the catalyst loading was increased to

Table 2. Evaluation of AgPd NSs as catalysts for alkene reduction with hydrogen from silane oxidation.^[a]

Entry	[AgPd] ^[c] [mol %]	1a:3a	<i>t</i> [h]	2b ^[b] [%]	4a ^[b] [%]	Sel. [%]
1	5	1:1	5	100	41	100
2	5	2:1	5	100	60	100
3	5	4:1	5	100	66	100
4	5	8:1	5	100	94	100
5	5	8:1	1	100	63	100
6	10	8:1	5	100	93	100
7	15	8:1	5	100	96	100

[a] Reaction conditions: Organosilane **1a** (100 μmol), H₂O (50 μL), substrate **3a** (100, 50, 25, 12.5 μmol), acetone (1.0 mL), AgPd NSs (5 mol%); it was calculated based on the percentage in moles of palladium, 25 °C, and 800 rpm. [b] Conversions were calculated based on their corresponding starting material consumption, using GC-MS analysis. Sel. = Selectivity.

15 mol%, showing only a slight improvement in alkene reduction.

Considering 5 mol% as the ideal catalyst concentration, a kinetic study was performed with substrate **3a** to produce **4a**, Figure 1. After only 1 h, 63% conversion was obtained and it remained steady after 5 h (93% for **3a**).

After optimizing the reactions conditions, we investigated the versatility of AgPd nanoshells in catalyzing the reduction of several organic functional groups (alkenes, alkynes, imines, nitro-compounds and azides, **3a-l**), Table 3. Two additional α,β-unsaturated ketones, [(*E*)-3-(4-(dimethylamino)phenyl)-1-phenylprop-2-en-1-one (**3b**) and (*E*)-3-(4-methoxyphenyl)-1-phenylprop-2-en-1-one (**3c**)], were used as the substrates for the chemoselective evaluation of AgPd NSs. The C=C bond

Figure 1. Kinetic study for the reduction of **3a**. Reaction conditions: Organosilane **1a** (100 μmol), H₂O (50 μL), substrate **3a** (12.5 μmol), acetone (1.0 mL), AgPd NSs (5 mol%), 25 °C, and 800 rpm.

Table 3. Application of AgPd nanoshells in catalyzing the reduction of several organic functional groups by using H₂ from silane oxidation.

Entry	Substrate (3a–l)	Product 4 -conv. ^[b]	Sel. [%]
1		4a -93%	100
2		4b -32% (62%) ^[c]	100
3		4c -54%	100
4		4d -> 99%	100
5		4e -95%	100
6		4f -62%	100
7		4g -45%	NA
8		4h -46%	NA
9		4i -46%	100
10		4j -68%	NA
11		4k -17% (9%) ^[d]	NA
12		4l -> 99%	NA

[a] Reaction conditions: Dimethyl(phenyl)silane **1a** (100 μmol), H₂O (50 μL), substrates (**3a–l**) (12.5 μmol), acetone (1.0 mL), AgPd NSs (5 mol%; it was calculated based on the percentage in moles of palladium), 25 °C, and 800 rpm. [b] Conversions were calculated based on GC-MS analysis. [c] This conversion was determined based on a reaction at 50 °C. [d] This conversion was determined based on a reaction at 50 °C (the formation of byproducts was also observed). Sel. = Selectivity. NA = not applicable.

was exclusively reduced in both cases (Table 3, entries 2 and 3). Additional compounds were used for the chemoselectivity

study, including cinnamitrile (**3d**), ethyl cinnamate (**3e**), and ethyl crotonate (**3f**), showing better results for the C=C bond reduction (62–99% conv., entries 4–6) than stilbene (**3g**) and styrene (**3h**, 46% and 45%, respectively, entries 7 and 8). A very interesting result was observed if diphenylacetylene (**3i**) was employed as the substrate. Despite the high H₂ concentration, only alkyne reduction to the alkene was observed. This process was highly selective, leading to the exclusive (*Z*)-alkene formation (46% conv.; Table 3, entry 9). The reduction of nitrobenzene (**3j**) gave 68% conversion (Table 3, entry 10). However, the (1-azidoethyl)benzene (**3k**) was reduced to 1-phenylethanamine with 17% conversion. Aiming to improve the azido reduction, the reaction temperature was increased to 50 °C, but by-products were obtained with only 9% of the desired product (entry 11). On the other hand, the imine ((*E*)-*N*-(4-chlorobenzylidene)aniline, **3l**) was efficiently reduced with >99% conversion (entry 12). These results indicate the high catalytic potential of AgPd NSs for both reactions, silane oxidation and chemoselective reduction of several organic compounds.

Considering that H₂ can be produced by using silane and H₂O, we could expect the replacement of H₂O for D₂O would also give HD/D₂. In the literature, there are few methodologies to generate HD/D₂, which are laborious and employ very reactive chemicals (for example, LiAlD₄ or the thermal release of H⁺ and D⁺ from graphite).^[36–37] Inspired by these issues, we decided to perform the reaction of dimethyl(phenyl)silane (**1a**) with (*E*)-1-(4-chlorophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one (**3a**) or ((*E*)-*N*-(4-chlorobenzylidene)aniline) (**3l**) in anhydrous acetone and D₂O (Scheme 1). Both reactions, silane oxidation and C=C double bond reduction, were very efficient and the products **5a** and **5l** were obtained in 92% and 96%, respectively (> 64% for deuterium-labeled products).

Scheme 1. One-pot protocol for the production of deuterium-labeled compounds.

Setup of a flow system for AgPd NSs

Hydrogen is rapidly produced from silane oxidation and gas evolution is observed. Based on this feature, we decided to design a flow system in which the AgPd NSs could be confined in a packed-bed reactor under controlled pressure. Besides, this system can increase productivity and catalyst recycling, because it can be used in continuous-flow mode (Scheme 2).

For this purpose, we had to perform the immobilization of AgPd NSs in silica by impregnation, which is a very simple and

efficient protocol (Scheme 3). By applying this approach, the immobilized NSs (AgPd/SiO₂) led to one weight percent palladium per gram of silica (ICP-OES experiment). The SEM image for AgPd/SiO₂ can be seen in Figure S2 and S3. These images show that AgPd NSs were immobilized uniformly on the silica surface, with no agglomeration.

After evaluating the catalytic activity of AgPd/SiO₂ for silane oxidation in batch conditions (for details, see the Supporting Information), a packed-bed reactor (1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with particles: 0.5 mL) containing these particles was prepared. Initially, we performed only the silane oxidation to identify the best conditions to produce hydrogen in a continuous-flow system, Table 4. For the flow system, one syringe was filled with a mixture of dimethyl(phenyl)silane (**1a**) and acetone/water (10:1). It was connected to the packed-bed reactor (PBR)

Scheme 2. Flow system using a packed-bed reactor with AgPd/SiO₂.

Scheme 3. Immobilization of AgPd NSs in silica.

containing AgPd/SiO₂ (450 mg). The residence time (t_R) for the flow system was established as 10, 30, and 60 min at room temperature. The silanol was obtained with 100% conversion with 30 min and 60 min as t_R (Table 4, entry 2 and 3). Besides, a leaching study was performed by passing solvent through the reactor and then it was examined by ICP-OES. We did not find any presence of nanoparticles.

We selected the optimized conditions for silanol oxidation under flow conditions (t_R = 30 and 60 min) to evaluate the chemoselective reduction of cinnamitrile (**3d**) (Table 5). A mixture of cinnamitrile (**3d**), dimethyl(phenyl)silane (**1a**) and acetone/water (10:1) were applied in the packed-bed reactor (PBR) containing AgPd/SiO₂ under different temperatures and t_R . By increasing reaction temperature, the product formation was also increased (Table 5, entries 1 and 2). A higher

Table 4. Oxidation of dimethyl(phenyl)silane (**1a**) catalyzed by AgPd/SiO₂ under flow conditions.^[a]

Entry	t_R [min]	2a [%] ^[b]
1	10	61
2	30	100
3	60	100

[a] Continuous-flow operation: **1a** (10 mmol L⁻¹), acetone/water (10:1), 25 °C. AgPd/SiO₂ (450 mg) were packed into a stainless-steel tubing (1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with beads: 0.5 mL). [b] Conversions were determined by GC-MS analysis.

conversion (entry 3) was also achieved with higher residence time, 60 min. Each reaction condition was evaluated continuously along 3-fold the residence time, and the catalytic activity of the AgPd/SiO₂ remained intact, showing excellent performance.

Table 5. Reduction of cinnamitrile under flow conditions.^[a]

Entry	t_R [min]	T [°C]	2b [%] ^[b]	4b [%] ^[b]
1	30	25	100	14
2	30	35	100	36
3	60	25	100	35

[a] Continuous-flow operation: **1a** (10 mmol L⁻¹), cinnamitrile **3d** (1.25 mmol L⁻¹), acetone/water (10:1), 25 °C. AgPd/SiO₂ (450 mg) were packed into two stainless-steel tubes (1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with beads: 0.5 mL). [b] Conversions were determined by GC-MS.

Aiming at higher product formation, we connected two reactors (PBR1 and PBR2) in series. This system is depicted in Table 6. In the system with two reactors (both at 25 °C), the cinnamitrile (**3d**) was reduced with 40% conversion (Table 6, entry 1). This result is similar to that for the previous experiment with one reactor (Table 5, entry 2). Diphenylacetylene (**3i**) was submitted to the reduction using two reactors also at 25 °C, and 44% conversion was observed (Table 6, entry 2). For the reduction of (*E*)-1-(4-chlorophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one (**3a**), if both reactors were maintained at 25 °C, 27% conversion was achieved (entry 3). However, if the temperature for second reactor (PBR2) was set up to 35 °C, an increase in conversion to 67% was observed (entry 4). Finally, if the second reactor had its temperature increased to 50 °C, with t_R 60 min, an excellent conversion of 92% was achieved (entry 5).

Table 6. Reduction of organic compounds under flow conditions using two reactors.^[a]

Entry	Substrate (3)	t_R [min]	PBR 2 T [°C]	Product (4) ^[d]	
1		30	25	40	
2		30	25	44	
3		30	25	27	
4		30	35	67	
5		60	50	92	

[a] Continuous flow operation: **1a** (10 mmol L⁻¹), substrates **3a**, **3d**, and **3i** (1.25 mmol L⁻¹), acetone/water (10:1), 25 °C. [b] PBR1 temperature 25 °C. [c] In all cases, the dimethyl(phenyl)silane **1a** was fully oxidized. AgPd/SiO₂ (450 mg) were packed into two stainless steel tubing (1/4 in. x 4.6 mm x 5 cm; reactor volume with beads: 0.583 mL). [d] Conversions were determined by GC-MS.

Once again, these conditions were evaluated continuously along 3-fold the residence time, and the catalytic activity of AgPd/NSs remained intact.

Notably, after performing the reactions shown in Table 2 and Table 6 (entry 3), SEM image for both free nanoparticles (AgPd NSs) and immobilized nanoparticles (AgPd/SiO₂) were taken and no structural change was noted for both materials (Figure S4).

Conclusions

We demonstrated that the AgPd NSs can act as a dual catalyst. AgPd NSs can catalyze silane oxidation leading to silanol and hydrogen, which can be used to reduce several organic compounds in a one-pot protocol. Both reactions were performed under batch and flow conditions. For the flow system, the AgPd NSs were immobilized in silica to be confined in a packed-bed reactor. This system was very efficient for both reactions and it was easily recycled for several reactions without loss of catalytic activity and catalyst leaching.

Experimental Section

Material

Reagents were purchased from Sigma-Aldrich. Solvents were purified by standard procedures. The scanning electron microscopy (SEM) images were obtained using a JEOL field-emission gun electron microscope JSM 6330F operated at 5 kV. The samples were prepared by drop-casting an aqueous suspension containing the

nanostructures over a silicon wafer, followed by drying under ambient conditions. Transmission electron microscopy (TEM) images were obtained with a JEOL 1010 microscope operating at 80 kV. Samples for TEM were prepared by drop-casting an aqueous suspension of the nanostructures over a carbon-coated copper grid, followed by drying under ambient conditions. The conversion of silane to silanol and reduction products were analyzed by GCM-QP2010SE (Shimadzu) with low-resolution electron impact (EI, 70 eV) equipped with a RTX-5MS capillary column. GC-MS conditions: injector 260 °C; detector: 110 °C pressure: 100 kPa. Column temperature: 80 °C, 1 °C min⁻¹ up to 280 °C.

Synthesis of AgPd NSs

The bimetallic AgPd NSs were obtained by a galvanic replacement reaction between Ag nanoparticles (employed as seeds) and PdCl₄²⁻ (aq).^[32] The resulting nanoshells were denoted as AgPd NSs and the metal composition was measured by ICP-OES, Ag 72% and Pd 28%.

General procedure to silane oxidation and organic compounds (3a–3l) reduction (batch reaction)

In a 1.5 mL microtube (Eppendorf) containing substrates (**3a–3l**, 0.0125 mmol), H₂O (50 µL), AgPd NSs (5 mol% calculated with respect to Pd) and acetone (1.0 mL) were added, dimethyl(phenyl)silane **1a** (0.1 mmol). The mixture was stirred for 5 h at room temperature. Then, the catalyst was removed by centrifugation and the reaction content was analyzed by GC-MS.

Immobilization of AgPd nanoshells on silica

AgPd NSs (50 mL) was added to a beaker containing 1 g of commercial silica (pore size 22 Å, 800 m² g⁻¹; CAS number: 112926-00-8, Sigma-Aldrich number: 214396) and stirred at room temperature for 24 h. Then, the resulting mixture was washed with water (3 x 50 mL) and ethanol (50 mL), dried at 120 °C for 2 h under air. The immobilized AgPd NSs on silica were denoted as AgPd/SiO₂. The Pd content was measured by ICP-OES, 1% Pd by 1 g SiO₂.

General procedure for one-pot silane oxidation and reduction of organic compounds under continuous-flow conditions

Equipment: 1 PHD Ultra Syringe Pump (703007, Harvard Apparatus) and 1 syringe (High Pressure 8 mL Stainless Steel Syringe with 1/16 inch Swagelok, 702267, Harvard Apparatus). In acetone/water (10:1; 10 mL), (dimethyl(phenyl)silane **1a** and substrate **3a**, **3d**, and **3i** (1.25 mmol L⁻¹) were loaded into a syringe pump. Packed-bed reactor: Immobilized NSs on silica (AgPd/SiO₂; 450 mg) were packed into a stainless-steel tube (1/4 in x 4.6 mm x 5 cm; reactor volume with beads: 583 µL). Reactions were performed at appropriate flow rates to obtain the desired residence time. The effluent was collected in a 2 mL vial.

Acknowledgements

The authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq: 140956/2014-0) and

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo for financial support (FAPESP: 2014/22457-5).

Keywords: chemoselectivity • deuterium • nanostructures • palladium • silver

- [1] P. Dauthal, M. Mukhopadhyay, *J. Ind. Eng. Chem.* **2016**, *35*, 45–53.
- [2] H. Liu, Q. Yang, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 11961–11967.
- [3] G. Zhan, J. Huang, M. Du, I. Abdul-Rauf, Y. Ma, Q. Li, *Mater. Lett.* **2011**, *65*, 2989–2991.
- [4] R. Lee Siew Tan, X. Song, B. Chen, W. H. Chong, Y. Fang, H. Zhang, J. Wei, H. Chen, *Nanoscale* **2016**, *8*, 3447–3453.
- [5] M. Sankar, N. Dimitratos, P. J. Miedziak, P. P. Wells, C. J. Kiely, G. J. Hutchings, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 8099–8139.
- [6] P. Dauthal, M. Mukhopadhyay, *J. Ind. Eng. Chem.* **2015**, *22*, 185–191.
- [7] D. Chen, C. Chen, *J. Mater. Chem.* **2002**, *12*, 1557–1562.
- [8] X. Xia, Y. Wang, A. Ruditskiy, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 6313–6333.
- [9] D. Anderson, J. B. Tracey, *Nanoscale* **2014**, *6*, 12195–12216.
- [10] C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, M. A. El-Sayed, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1025–1102.
- [11] R. Ferrando, J. Jellinekand, R. L. Johnston, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 845–910.
- [12] J. A. Rodriguez, D. W. Goodman, *Science* **1992**, *257*, 897–903.
- [13] R. J. Isaifan, S. Ntais, E. A. Baranova, *Appl. Catal. A* **2013**, *464*, 87–94.
- [14] R. L. S. Tan, X. Song, B. Chen, W. H. Chong, Y. Fang, H. Zhang, J. Wei, H. Chen, *Nanoscale* **2016**, *8*, 3447–3453.
- [15] P. Dash, N. A. Dehm, R. W. J. Scott, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2008**, *286*, 114–119.
- [16] R. W. J. Scott, A. K. Datye, R. M. Crooks, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3708–3709.
- [17] R. J. Isaifan, S. Ntais, M. Couillard, E. A. Baranova, *J. Catal.* **2015**, *324*, 32–40.
- [18] Z. Li, X. Xu, X. Jiang, Y. Li, Z. Yuc, X. Zhang, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 30062–30066.
- [19] A. Louka, C. Gryparis, M. Stratakis, *ARKIVOC* **2015**, *iii*, 38–51.
- [20] B. S. Takale, S. Tao, X. Yu, X. Feng, T. Jin, M. Bao, Y. Yamamoto, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 7154–7158.
- [21] M. Yan, T. Jin, Y. Ishikawa, T. Minato, T. Fujita, L. Chen, M. Bao, N. Asao, M. Chen, Y. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 17536–17542.
- [22] M. Yan, T. Jin, Q. Chen, H. E. Ho, T. Fujita, L. Chen, M. Bao, M. Chen, N. Asao, Y. Yamamoto, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 1484–1487.
- [23] S. C. Tsang, N. Cailuo, W. Oduro, A. T. S. Kong, L. Clifton, K. M. K. Yu, B. Thiebaut, J. Cookson, P. Bishop, *ACS Nano* **2008**, *2*, 2547–2553.
- [24] S. Jansat, J. Durand, I. Favier, F. Malbosc, C. Pradel, E. Teuma, M. Gomez, *ChemCatChem* **2009**, *1*, 244–246.
- [25] M. Al-Amin, K. E. Roth, S. A. Blum, *ACS Catal.* **2014**, *4*, 622–629.
- [26] Y. Ito, H. Ohta, Y. M. A. Yamada, T. Enokita, Y. Uozumi, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 12123–12126.
- [27] V. Gitis, R. Beerthuis, N. R. Shiju, G. Rothenberg, *Catal. Sci. Technol.* **2014**, *4*, 2156–2160.
- [28] G. Wang, J. Hilgert, F. H. Richter, F. Wang, H. Bongard, B. Spliethoff, C. Weidenthaler, F. Schüth, *Nat. Mater.* **2014**, *13*, 293–300.
- [29] M. B. Gawande, A. Goswami, T. Asefa, H. Guo, A. V. Biradar, D. Peng, R. Zboril, R. S. Varma, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 7540–7590.
- [30] S. U. Son, Y. Jang, J. Park, H. B. Na, H. M. Park, H. J. Yun, J. Lee, T. Hyeon, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5026–5027.
- [31] F. Tao, M. E. Grass, Y. Zhang, D. R. Butcher, J. R. Renzas, Z. Liu, J. Y. Chung, B. S. Mun, M. Salmeron, G. A. Somorjai, *Science* **2008**, *322*, 932.
- [32] C. M. Kisukuri, D. J. Palmeira, T. S. Rodrigues, P. H. C. Camargo, L. H. Andrade, *ChemCatChem* **2016**, *8*, 171–179.
- [33] F. Alonso, P. Riente, M. Yus, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1939–1942.
- [34] J. T. Hynes, J. P. Klinman, H. H. Limbach, R. L. Schowen, *Hydrogen Transfer Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [35] J. E. Bäckvall, *J. Organomet. Chem.* **2002**, *652*, 105–113.
- [36] M. B. Smith, J. Wolinsky, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**, 1431–1433.
- [37] S. Chiu, A. A. Haasz, *J. Nucl. Mater.* **1994**, *210*, 34–42.

Received: August 5, 2016

Published online on ■■■■■, 0000

One protocol, two uses: Nanoshells made of silver and palladium (AgPd NSs) can act as dual catalysts. Under both batch and flow conditions, they

catalyze silane oxidation with water to silanol and hydrogen, which can be used to reduce several organic compounds in a one-pot protocol.

C. M. Kisukuri, J. L. M. S. Reis,
T. S. Rodrigues, P. H. C. Camargo,*
L. H. Andrade*

■■ - ■■

Evaluation of AgPd Nanoshells in Dual Catalysis: One-Pot Silane Oxidation and Reduction of Organic Compounds

Synthesis & Catalysis

Accepted Article

Title: Evaluating Gold and Selenium Chemistry for Selective Transformations of Lignin Model Compounds

Authors: Leandro Andrade, Wagner Santos, Kevin Dias, Leidaiany Santos, Camila Kisukuri, Thenner Rodrigues, Rafael Geonmonond, and Pedro Camargo

This manuscript has been accepted after peer review and appears as an Accepted Article online prior to editing, proofing, and formal publication of the final Version of Record (VoR). This work is currently citable by using the Digital Object Identifier (DOI) given below. The VoR will be published online in Early View as soon as possible and may be different to this Accepted Article as a result of editing. Readers should obtain the VoR from the journal website shown below when it is published to ensure accuracy of information. The authors are responsible for the content of this Accepted Article.

To be cited as: *Adv. Synth. Catal.* 10.1002/adsc.201701207

Link to VoR: <http://dx.doi.org/10.1002/adsc.201701207>

DOI: 10.1002/adsc.201701207((will be filled in by the editorial staff))

Evaluating Gold and Selenium Chemistry for Selective Transformations of Lignin Model Compounds

Wagner C. C. Santos,^a Kevin A. Dias,^a Leidaiany P. Santos,^a Camila M. Kisukuri,^a Thenner S. Rodrigues,^a Rafael S. Geonmonond,^a Pedro H. C. Camargo,^a Leandro H. Andrade^{a*}

^a Institute of Chemistry, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, 05508-000, São Paulo, SP, Brazil. Tel.Fax: +55(11)30912287; e-mail: leandroh@iq.usp.br

Received: ((will be filled in by the editorial staff))

Supporting information for this article is available on the WWW under <http://dx.doi.org/10.1002/adsc.201701207>. ((Please delete if not appropriate))

Abstract. Applications of gold and selenium chemistry are reported as novel approaches to promote lignin depolymerization into more valuable chemicals via selective oxidation reactions (alcohol oxidations and Baeyer-Villiger reactions). In this study, we proposed two different oxidative methodologies using Au/SiO₂ and phenylseleninic acid resin (PAR) as stable and reusable catalysts to promote selective transformations of the β-O-4 linkage of lignin model compounds. After evaluating the catalytic systems under batch conditions, they were both applied in a packed-bed reactor for continuous flow operations. By using Au/SiO₂ as a catalyst under flow conditions, ketones were efficiently obtained (up to 86% conversion) from the oxidation of alcohols with a residence time (*t_R*) of 30 min. In the case of Baeyer-Villiger oxidations catalyzed by phenylseleninic acid resin, the corresponding esters were obtained in up to 91% conversion (*t_R* = 30 min). Both systems efficiently catalyzed the conversion of the lignin model compounds.

Keywords: Lignin; Selectivity; Gold; Selenium.

In recent years, scientists as well as governmental and non-governmental organizations noted the urgency for the development of new strategies to reduce the impact of using nonrenewable carbon resources.^[1] From this perspective, biomass, which is mainly from lignocellulosic softwood, gained attention as a feedstock for biofuels and fine chemicals based on lignin valorization.^[2] Lignin is a biopolymer present in the cell walls of plant that is composed of interconnected aromatic monomers.^[3] The most common interconnections are the β-O-4 (β-aryl ethers) bonds between benzylic and aliphatic alcohols, and C_α-C_β or C₁-C_α bonds, present in *p*-coumaryl, coniferyl and sinapyl alcohols.^[4] Various processes have been developed to extract lignin from the biomass feedstock, including kraft and organosolv processes.^[5,6] Several strategies have been reported for the cracking of the β-O-4 (β-aryl ethers), C_α-C_β

and C₁-C_α(α-1) linkages in lignin.^[7] Some of these methods involve environmentally friendly approaches, including mild conditions, photocatalysis, metal-free catalysis, and biocatalysis.^[8-12]

Among the chemical transformations employed for lignin depolymerization, oxidation reactions have become common methods for producing a wide range of aromatic compounds.^[13] Lignin transformations can lead to phenols, carboxylic acids, aldehydes, ethers, esters and ketones.^[14] Esters can be produced by esterification reactions or oxidation of C_β-C_γ and β-1 linkages.^[15]

Considering the chemical structure of lignin, we decided to focus on the reactivity of the β-O-4 linkage, specifically the benzylic alcohol moiety. A 3-step approach to break the lignin up into shorter fragments was proposed (Scheme 1).

Scheme 1. β-O-4-type lignin structure^[4] and strategies proposed herein.

According to our approach, an alcohol oxidation catalyzed by gold can produce ketones, which go on

to serve as substrates for Baeyer-Villiger oxidations catalyzed by selenium compounds. Finally, after hydrolysis of the corresponding esters, we would be able to produce lignin fragments containing alcohols and carboxylic acids.

Despite the known applications of gold nanoparticles in the synthesis of carbonyl compounds via alcohol oxidations,^[16] different molecular targets, including lignin, could be challenging for gold chemistry.

After the seminal study by Prati and Rossi^[16] involving gold nanoparticles supported on carbon for the oxidation of alcohols, several advances have been described in the literature. In recent years, gold nanoparticles have also been used for C–C cross-coupling reactions, cycloadditions, hydrosilylation, etc.^[16j]

Our approach to lignin transformations also requires a Baeyer-Villiger oxidation, and a literature survey revealed that Grieco *et al.*^[17] described the use of benzeneperoxyseleonic acid as oxidizing agent for this reaction. Hydrogen peroxide can be used to regenerate the active selenium species for the Baeyer-Villiger reaction.

Inspired by the very interesting results with gold and selenium chemistry, we developed a study focused on the transformations of lignin in which both methodologies could be applied either under batch or continuous flow conditions.^[18]

Initially, we synthesized Au nanoparticles from the reduction of AuCl₄[−] (aq) with ascorbic acid.^[19] SEM images (Figure S1) of the Au nanoparticles revealed that they were monodisperse, 20 nm in diameter, and spherical in shape. Since our approach involves the use of gold nanoparticles in a packed-bed reactor for a continuous flow application, we decided to immobilize these nanoparticles in an inert and inexpensive material, SiO₂. Au/SiO₂ particles were prepared via the immobilization of Au nanoparticles onto SiO₂ (pore size 22 Å, 800 m² g^{−1}). The loading of Au on Au/SiO₂ was determined by ICP-OES and was found to be 0.252% (% w/w). The Au/SiO₂ particles were also characterized by SEM (Figure S2) and XRD (Figure S3) analyses. The SEM results showed a uniform dispersion of Au NPs over SiO₂ support.

After the preparation of Au/SiO₂ materials, the next step was the evaluation of their catalytic activity towards the oxidation of 1-(4-methoxyphenyl)ethanol (**1a**) to the corresponding ketone (**2a**). For the optimization study, alcohol **1a** was subjected to different oxidants and organic solvents (THF, MTBE, dioxane, acetone, DMF and MeOH) for appropriate times (2, 4, 8 and 24 h) (Table 1).

The reaction using THF as the solvent and O₂ as the oxidant (Table 1, Entry 1) afforded 1-(4-methoxyphenyl)ethanone (**2a**) in 26% after 2 h. By extending the reaction time to 4, 8 and 24 h, increases in the conversion were observed (to 42, 87 and 92% conversion, respectively; Table 1, Entries 2-4). However, instead of using a gaseous oxidant (O₂) we decided to evaluate an aqueous solution of H₂O₂. Fortunately, the alcohol oxidation with peroxide gave

the ketone in >99% conversion (Table 1, Entry 5). According to the proposed reaction mechanism, the oxidant participates in the regeneration of the catalytic gold surface once the gold-hydride species (Au-H) is formed (Scheme 2).

Table 1. Oxidation of 1-(4-methoxyphenyl)ethanol (**1a**) using Au/SiO₂ as catalyst under batch conditions.

Entry ^{a)}	Solvent	Oxidant	t (h)	Conv (%) ^{b)}
1	THF	O ₂	2	26
2	THF	O ₂	4	42
3	THF	O ₂	8	87
4	THF	O ₂	24	92
5	THF	H ₂ O ₂	2	>99
6	MTBE	H ₂ O ₂	2	97
7	Dioxane	H ₂ O ₂	2	63
8	Acetone	H ₂ O ₂	2	35
9	DMF	H ₂ O ₂	2	35
10	DMSO	H ₂ O ₂	2	10
11	MeOH	H ₂ O ₂	2	36
12 ^{c)}	THF	-	2	10
13 ^{d)}	THF	-	2	n.r.
14 ^{e)}	THF	H ₂ O ₂	2	n.r.

^{a)} Reaction conditions: **1a** (1 mmol), solvent (2 mL), oxidant [O₂ (atmospheric pressure) or H₂O₂ (aq.) (aq. 30%, 40 mmol)], KOH (1 mmol), Au/SiO₂ (80 mg/ 4 mol %) and room temperature. ^{b)} Conversions were calculated based on GC-MS analysis (none byproduct was observed). ^{c)} Without H₂O₂. ^{d)} Without H₂O₂ and Au/SiO₂. ^{e)} Without Au/SiO₂. n.r. = no reaction was observed.

A solvent screen was also performed, and MTBE, dioxane, acetone, DMF, DMSO and MeOH were tested (Table 1, Entries 6-11). Despite the good results with all these solvents, the best results were achieved with MTBE and THF (97-99% conv, Table 1, Entries 5 and 6). Additional reactions were carried out in the absence of catalyst and H₂O₂ (aq.) (Table 1, Entries 12-14), and the results indicated that both components are essential to the oxidation of the alcohol.

The mechanism of this reaction likely involves three main steps (Scheme 2). Initially, alkoxide is generated from the base, and then it is adsorbed on the gold surface to afford species **B**. In the second step, β-hydride elimination affords the corresponding ketone and gold-hydride species (Au-H, species **C**). Finally, Au-H is oxidized by the presence of an oxidant (by H₂O₂ or O₂) to regenerate the catalytic gold surface (species **A**).^[20]

Scheme 2. Proposed mechanism for alcohol oxidation catalyzed by Au/SiO₂.^[20]

Table 2. Oxidation of 1-(4-methoxyphenyl)ethanol (**1a**) using Au/SiO₂ as the catalyst and H₂O₂ (aq.) under continuous flow conditions.

Entry ^{a)}	Solvent	T (°C)	H ₂ O ₂ (equiv)	Conv (%) ^{b)}
1	THF	rt	400	n.p.
2	THF	40	400	n.p.
3	MeOH	rt	400	n.p.
4	MeOH	40	400	n.p.
5	MeOH	40	40	57
6 ^{c)}	MeOH	40	60	75
7 ^{d)}	MeOH	40	40	77
8 ^{d)}	MeOH	60	40	74
9 ^{c)}	MeOH	60	40	82
10	MeOH	rt	4	-
11	MeOH	40	4	-

^{a)} Reaction conditions: **1a** (12 mmol L⁻¹); H₂O₂ (aq.) (30% aq., 4-400 equiv); KOH (12 mmol L⁻¹); t_R 30 min; Au/SiO₂ particles (460 mg) were packed into stainless-steel tube (PBR: 1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with Au/SiO₂: 0.5 mL); Continuous flow operation for 1.5 h, 3 h (Entries 6 and 9) or 8 h (Entry 7). ^{b)} Conversions were determined by GC-MS at the end of each t_R (no byproduct was observed). ^{c)} t_R 60 min. ^{d)} A Celite pad (380 mg) and a BPR (back pressure regulator: 100 psi) were attached to the system. n.p. = Not performed (The injection pump shut off due to clogging).

Aiming to enhance the Au catalyst recycling, we designed a packed-bed reactor that can be used in continuous flow mode (Table 2). The Au/SiO₂ particles were confined into a packed-bed reactor

(PBR) (1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with particles: 0.5 mL). The oxidation of 1-(4-methoxyphenyl)ethanol (**1a**) was chosen as model reaction for the optimization of the continuous flow conditions (Table 2).

As shown in Table 2, Entry 1-4, various attempts to run the reaction using different conditions were not successful, since the injection pump shut off due to clogging. We used silica (SiO₂) as the support material, and a high pressure was generated due to the large amount of water in the reaction mixture. Fortunately, the fluidic system worked very well when methanol was employed as the solvent. In addition, the amount of H₂O₂ (aq.) was decreased along with the concomitant decrease in the amount of water (Table 2, Entry 5). The reaction was carried out at 40 °C with 30 min of residence time, and the ketone was prepared in 57% conversion. When the residence time was increased to 60 min, higher product formation was observed (75% conv; Table 2, Entry 6). When a back pressure regulator (100 psi) was attached to the system, higher ketone formation was obtained (77% conv) in a shorter residence time (Table 2, Entry 7). When the continuous production of **2a** was maintained for 8 h, no decrease in catalytic activity was observed. Finally, another attempt to further decrease the amount of H₂O₂ (aq.) (4 equiv) was not effective (Table 2, Entry 10 and 11).

From this set of experiments, we were able to identify suitable reaction conditions for other substrates, namely, benzylic alcohols **1b-d** (Table 3).

Table 3. Substrates for alcohol oxidation catalyzed by Au/SiO₂ particles under continuous flow conditions.

Entry ^{a)}	Substrate	Conv (%) ^{b)}
1		2b (86%)
2		2c (51%)
3		2d (74%)

^{a)} Reaction conditions: Substrates **1b-d** (12 mmol L⁻¹ in MeOH); H₂O₂ (aq.) (30% aq., 40 equiv); KOH (12 mmol L⁻¹); t_R = 30 min; 40 °C; Continuous flow operation for 8 h; Au/SiO₂ (460 mg) was packed into stainless-steel tube (1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with beads: 0.5 mL); Celite pad (380 mg); and BPR (100 psi). ^{b)} Conversions were determined by GC-MS and ¹H NMR analysis, and at the end of the t_R no byproduct was observed.

By running the reactions with a $t_R = 30$ min at 40 °C, the mono-alcohols 1-(4-(benzyloxy)phenyl)ethanol (**1b**) and 1-(4-(benzyloxy)phenyl)-2-phenylethanol (**1c**) were oxidized to the corresponding ketone in 80 and 51% conv, respectively (Entries 1 and 2, Table 3). In addition, when substrate 1-(4-(benzyloxy)phenyl)-2-phenyl-propane-1,3-diol (**1d**) was submitted to continuous flow oxidation, ketone **2d** was prepared in 68% conv. Notably, only the benzylic alcohol moiety was oxidized, which indicates the oxidation is highly selective.

Due to concerns about gold leaching during continuous flow operation, we analyzed the reaction effluent by ICP-OES. The results are illustrated in Table S1, and showed that there is no significant loss of Au from the Au/SiO₂ during the continuous flow operation.

After preparing the ketones by the Au-catalyzed alcohol oxidations, we turned our attention to the Baeyer-Villiger oxidation using selenium species as oxidizing agents.^[17] We also envisioned a packed-bed reactor loaded with solid catalyst for the oxidation reaction, i.e., phenylselenenic acid resin (PAR) (Scheme 3).

Scheme 3. Proposed mechanism/system for the Baeyer-Villiger oxidation of lignin model ketones with PAR.

Phenylselenenic acid resin (PAR) was prepared from poly(styrene-co-divinylbenzene) (**4**) and *n*-dibutyl diselenide (Scheme 4). Commercially available resin **4** was treated with *n*-BuLi, and *n*-dibutyl diselenide [(*n*-Bu)Se₂] was added, resulting in the *n*-butylselenide resin (**5**). Then, **5** was oxidized to phenylselenenic acid by H₂O₂ (aq.).^[20] The loading of selenium was evaluated by acid-base titration with NaOH, and was found to be 1.42 ± 0.05 mmol g⁻¹ [21,22].

Scheme 4. Preparation of the PAR catalyst.

With the phenylselenenic acid resin in hand, we then used it as a catalyst for the Baeyer-Villiger oxidation under batch conditions (Table 4). Considering the presence of phenylselenenyl moieties on the PAR, we also decided to test

diphenyl diselenide, which is a commercially available selenium compound.

Table 4. Baeyer-Villiger oxidation of 4-methoxyacetophenone employing (PhSe)₂^{a)} and PAR^{b)} as catalysts.

Entry	Solvent	Oxidant	Se Catalyst	Conv (%) ^{c)}	
				3a	6a
1	CH ₂ Cl ₂	TBHP	(PhSe) ₂	-	-
2	CH ₂ Cl ₂	UHP	(PhSe) ₂	2	-
3	CH ₂ Cl ₂	H ₂ O ₂ (aq.)	(PhSe) ₂	4	-
4	THF	TBHP	(PhSe) ₂	-	-
5	THF	UHP	(PhSe) ₂	5	-
6	THF	H ₂ O ₂ (aq.)	(PhSe) ₂	89	-
7	MeOH	TBHP	(PhSe) ₂	-	-
8	MeOH	UHP	(PhSe) ₂	-	-
9	MeOH	H ₂ O ₂ (aq.)	(PhSe) ₂	94	-
10 ^{c)}	MeOH	H ₂ O ₂ (aq.)	PAR	35	23
11 ^{c),d)}	MeOH	H ₂ O ₂ (aq.)	PAR	38	24

^{a)} Reaction conditions: **2a** (0.5 mmol); oxidant (2 mmol); (PhSe)₂ (0.025 mmol); solvent (3 mL). ^{b)} Reaction conditions: **2a** (0.5 mmol); H₂O₂ (30% aq., 5 mmol); PAR (50 mg); MeOH (3 mL). ^{c)} PAR was recycled three times. ^{d)} 30 °C. ^{e)} Conversions were determined based on GC-MS analysis (no byproduct was observed).

As shown in Entries 1-3 of Table 4, the use of diphenyl diselenide as a pre-catalyst for the Baeyer-Villiger oxidation in CH₂Cl₂ was not efficient even when using different oxidants, including *t*-butyl hydroperoxide (TBHP), urea-hydrogen peroxide (UHP) or H₂O₂ (aq.). However, the reactions in THF and MeOH with H₂O₂ (aq.) as the oxidant showed good conversions (89 and 94%, respectively) (Entries 6 and 9, Table 4). In fact, the water solubility of these solvents (THF and MeOH) had a positive effect on the oxidation reaction since that facilitates the interactions of all chemicals, which was not observed in the reaction with dichloromethane, a highly hydrophobic solvent.

Based on these results, we evaluated the activity of the phenylselenenic acid resin in the oxidation of **2a** using H₂O₂ (aq.) with methanol as the solvent. The Baeyer-Villiger oxidation was efficient (58% conv, Table 4, entry 10); however, 4-methoxyphenol (**6a**) was also produced from the hydrolysis of ester **3a**. Considering our lignin transformation approach (Scheme 1), the ester hydrolysis under the Baeyer-Villiger oxidation conditions is not an issue since the alcohol is our desired fragment. In addition, by treating this crude mixture (Table 4, entry 10) with a K₂CO₃/methanolic solution for 30 min, the ester was completely hydrolyzed into the corresponding phenol (**6a**).

Furthermore, a slight increase in the temperature did not provide a significant increase in the conversion (Entry 11, Table 4). A recycling study was performed with the phenylseleninic acid resin, which revealed the PAR maintained excellent activity even after reuse (Entries 10 and 11, Table 4).

The apparatus for the Baeyer-Villiger oxidation under continuous flow operation was very similar to what was used in the oxidation study (previous section). A packed-bed reactor (stainless steel tubing: 1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with PAR: 0.5 mL) was loaded with PAR (570 mg).

The Baeyer-Villiger oxidation of 4-methoxyacetophenone (**2a**) was chosen for evaluating some parameters under continuous flow operation (Table 5).

Different ratios between **2a** and H₂O₂ (aq.) were studied, including 1:2 (Entry 3, Table 5), 1:5 (Entry 4, Table 5) and 1:10 (Entries 1 and 2, Table 5). The residence time (*t_R*) was also evaluated (15 min (Entries 2-4, Table 5) and 30 min (Entry 1, Table 5)).

Table 5. Baeyer-Villiger oxidation of 4-methoxyacetophenone (**2a**) using PAR under continuous flow conditions.

Entry ^{a)}	<i>t_R</i> (min)	H ₂ O ₂ : 2a	Conv (%) ^{e)}
1	30	0.2:0.02 ^{b)}	34% 3a , 30% 6a , 27% ^{f)}
2	15	0.2:0.02 ^{b)}	24% 3a , 43% 6a , 10% ^{f)}
3	15	0.04:0.02 ^{c)}	4% 3a , 22% 6a
4	15	0.1:0.02 ^{d)}	11% 3a , 26% 6a

^{a)} Reaction conditions: **2a** (20 mmol L⁻¹) and H₂O₂ aq. (30% aq.; ^{b)} 200 mmol L⁻¹; ^{c)} 40 mmol L⁻¹; ^{d)} 100 mmol L⁻¹) in MeOH; Continuous flow operation for 1.5 h or 12 h (Entry 2); PAR (570 mg) was packed into stainless-steel tube (1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with PAR: 0.5 mL); BPR (100 psi). ^{e)} Conversions were determined based on GC-MS analysis at the end of each *t_R*. ^{f)} Byproducts were identified as quinones.

As shown in Table 5, a reaction with a *t_R* = 30 min afforded the desired products (**3a** and **6a**) in high conversion (91%, Entry 1, Table 5). However, we also observed the formation of quinones, which are from the over-oxidation of the phenolic products.^[23] Fortunately, the formation of these by-products was suppressed by using a lower concentration of the oxidant and a shorter residence time. By decreasing the *t_R* (15 min), the conversions to **3a** and **6a** were not affected, but the conversions to the undesired

products were decreased (Entries 1 and 2, Table 5). The oxidation of **2a** with H₂O₂ (aq.) (1:10) with a *t_R* = 15 min showed good product formation with low over-oxidation (Entry 2, Table 5, conv = 77%).

These reaction conditions were applied in the Baeyer-Villiger oxidation of the ketonic lignin analogues (**2b-d**) (Table 6).

Table 6. Baeyer-Villiger oxidation of lignin model ketones employing phenylseleninic acid resin in a flow system.

Entry ^{a)}	Substrate	Conv (%) ^{b)}
Ester (3)		6b
1	2b → 3b (13%)	58%
2	2c → 3c (40%)	46%
3	2d → 3d (n.d.)	90% ^{c)}
4	9 → 10 + 11 (25%) ^{d)}	n.d.

^{a)} Reaction conditions: **2b-d** (20 mmol L⁻¹) and H₂O₂ (aq. 30%; 200 mmol L⁻¹) in MeOH; Continuous flow operation for 8 h with a *t_R* = 15 min; PAR (570 mg) was packed into stainless-steel tube (1/4 in. × 4.6 mm × 5 cm; reactor volume with PAR: 0.5 mL); and BPR (100 psi). ^{b)} Conversions were determined by GC-MS and ¹H NMR analysis at the end of *t_R* (no byproduct was observed). ^{c)} 1-(4-(benzyloxy)phenyl)-2-phenoxyprop-2-en-1-one (**9**) was obtained as the sole product. ^{d)} This reaction was performed under batch condition. n.d.: Not detected.

The oxidation reaction of 4-benzyloxyacetophenone (**2b**) at rt with a *t_R* = 15 min afforded the corresponding ester (**3b**) and 4-benzyloxyphenol (**6b**), which is from the hydrolysis of the ester (71% conv, Table 6, entry 1). Notably, no undesired over-oxidation products were observed.

A similar reaction profile was also observed for the Baeyer-Villiger oxidation of 1-(4-(benzyloxy)phenyl)-2-phenoxyethanone (**2c**), which gave the ester 4-(benzyloxy)phenyl-2-phenoxyacetate (**3c**) and 4-benzyloxyphenol (**6b**) (86% conv, Entry 2, Table 6).

On the other hand, when 1-(4-(benzyloxy)phenyl)-3-hydroxy-2-phenoxy-propan-1-one (**2d**) was used as the substrate, the desired product was not observed (Entry 3, Table 6); the dehydration product, 1-(4-(benzyloxy)phenyl)-2-phenoxyprop-2-en-1-one (**9**) was identified as the sole product. We proposed that the substrate (**2d**), which is a β -hydroxy ketone, undergoes an elimination reaction to afford corresponding unsaturated ketone **9**.

Despite the unexpected formation of α,β -unsaturated ketone **9**, we decided to submit ketone **9** to Baeyer-Villiger oxidation under batch conditions (Entry 10, Table 4), and the corresponding esters (25% conv, as a mixture of regioisomers) were observed. Considering our lignin depolymerization approach, the α,β -unsaturated ketones can be further oxidized to the corresponding esters and then hydrolyzed to alcohols and carboxylic acids as initially proposed.

In summary, two selective oxidation processes for lignin model molecules were developed using supported catalysts (Au/SiO₂ and phenylseleninic acid resin) and an inexpensive oxidant, H₂O₂. The Au/SiO₂ catalyst showed high efficiency for the oxidation of alcohols (up to >99% conv). The PAR catalyst also showed high efficiency for Baeyer-Villiger oxidation (up to 91% conv). Both reactions were carried out under batch and continuous flow conditions using different forms of the catalysts (different gold and selenium species). In the case of the immobilized catalysts, Au/SiO₂ and PAR could be reused several times with high efficiency under continuous flow conditions. We believe that the effective catalysts from the developed methodologies will aid in the understanding of the reactivities and properties of the lignin β -O-4 linkages.

Experimental Section

General procedure for the oxidation of alcohols under continuous flow conditions

A packed-bed reactor, a stainless-steel tube (1/4 in x 4.6 mm x 5 cm), was loaded with Au/SiO₂ (460 mg). The reactor volume with beads was 583 μ L. The alcohols (**1b-d**) (12 mmol L⁻¹), H₂O₂ (40 equiv) and KOH (12 mmol L⁻¹) in MeOH were loaded into a syringe. The reactions were carried out at appropriate flow rates to obtain the desired residence time (See tables). Then, the reaction effluent was collected in a 10-mL vial.

General procedure for the Baeyer-Villiger oxidation under continuous flow conditions

A packed-bed reactor, a stainless-steel tube (1/4 in x 4.6 mm x 5 cm), was loaded with PAR (570 mg). The reactor volume with beads was 573 μ L. The ketones (**2b-d**) (12 mmol L⁻¹) and H₂O₂ (aq. 30%, see tables) in MeOH were loaded into a syringe. The reactions were carried out at appropriate flow rates to obtain the desired residence time (See tables). Then, the reaction effluent was collected in a 10-mL vial.

The remaining procedures, flow equipment, and analytical data for all compounds are given in the Supporting Information.

Acknowledgements

The authors are grateful to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq: 140956/2014-0, 140828/2016-8) and the São Paulo Research Foundation (FAPESP) for financial support (FAPESP: 2014/22457-5; 15/26308-7, and 15/21366-9).

References

- [1] a) D. Carpenter, T. L. Westover, S. Czernik, W. Jablonski, *Green Chem.* **2014**, *16*, 384-406; b) A. J. Ragauskas, C. K. Williams, B. H. Davison, G. Britovsek, J. Cairney, C. A. Eckert, W. J. Frederick, J. P. Hallett, D. J. Leak, C. L. Liotta, J. R. Mielenz, R. Murphy, R. Templer, T. Tschaplinski, *Science* **2006**, *311*, 484-489.
- [2] a) W. Wu, T. Dutta, A. M. Varman, A. Eudes; B. Manalansan, D. Loqué, S. Singh, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 8420; b) G. T. Beckham, C. W. Johnson, E. M. Karp, D. Salvachúa, D. R. Vardon, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2016**, *42*, 40-53; c) A. J. Ragauskas, G. T. Beckham, M. J. Biddy, R. Chandra, F. Chen, M. F. Davis, B. H. Davison, R. A. Dixon, P. Gilna, M. Keller, P. Langan, A. K. Naskar, J. N. Saddler, T. J. Tschaplinski, G. A. Tuskan, C. E. Wyman, *Science* **2014**, *344*, 709; d) R. A. Sheldon, *Green Chem.* **2014**, *16*, 950-963; e) J. Zakzeski, P. C. Bruijninx, A. L. Jongerius, B. M. Weckhuysen, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3552-3599.
- [3] W. Boerjan, J. Ralph, M. Baucher, *Ann. Rev. Plant Biol.* **2003**, *54*, 519-546.
- [4] a) C. Z. Li, X. C. Zhao, A. Q. Wang, G. W. Huber, T. Zhang, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 11559-11624; b) C. O. Tuck, E. Perez, I. T. Horvath, R. A. Sheldon, M. Poliakov, *Science* **2012**, *337*, 695-699.
- [5] a) C. P. Xu, R. A. D. Arancon, J. Labidi, R. Luque, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 7485-7500; b) J. Jönsson, K. Pettersson, T. Berntsson, S. Harvey, *Int. J. Energy Res.* **2013**, *37*, 1017-1035; c) D. Dimmel, G. Gellerstedt, *Chemistry of Alkaline Pulping in Lignin and Lignans: Advances in Chemistry* (Eds.: C. Heitner, D. Dimmel, J. A. Schmidt), CRC Press, Boca Raton, **2010**, pp. 350-393; d) G. Gellerstedt, *Chemistry of Bleaching of Chemical Pulp in Pulp and Paper Chemistry and Technology, Vol. 5* (Eds.: M. Ek, G. Gellerstedt, G. Henriksson), Walter de Gruyter, Berlin, **2009**, pp. 201-237; e) A. T. W. M. Hendriks, G. Zeeman, *Bioresour. Technol.* **2009**, *100*, 10-18; f) F. S. Chakar, A. J. Ragauskas, *Ind. Crops Prod.* **2004**, *20*, 131-141.
- [6] a) H. Kawamoto, *J. Wood Sci.* **2017**, *63*, 117-132; b) S. K. Hanson, R. T. Baker, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2037-2048; c) Z. Strassberger, S. Tanase, G. Rothenberg, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 25310-25318; d) S. Kang, X. Li, J. Fan, J. Chang, *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2013**, *27*, 546-558; e) J. H. Grabber, *Crop Sci.* **2005**, *45*, 820-831; f) O. Bobleter, *Prog. Polym. Sci.* **1994**, *19*, 797-841.
- [7] a) X. Huang, O. M. Morales Gonzalez, J. Zhu, T. I. Koranyi, M. D. Boot, E. J. M. Hensen, *Green Chem.*

- 2017**, *19*, 175-187; b) R. Rinaldi, R. Jastrzebski, M. T. Clough, J. Ralph, M. Kennema, P. C. A. Bruijninx, B. M. Weckhuysen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 8164-8215; c) S. Dabral, J. Mottweiler, T. Rinesch, C. Bolm, *Green Chem.* **2015**, *17*, 4908-4912; d) S. Jia, B. J. Cox, X. Guo, Z. C. Zhang, J. G. Ekerdt, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2011**, *50*, 849-855.
- [8] a) Y. Gao, J. Zhang, X. Chen, D. Ma, N. Yan, *ChemPlusChem* **2014**, *79*, 825-834; b) A. Rahimi, A. Ulbrich, J. J. Coon, S. S. Stahl, *Nature* **2014**, *515*, 249-252. c) C. S. Lancefield, O. S. Ojo, F. Tran, N. J. Westwood, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 258-262. d) C. Zhang, H. Li, J. Lu, X. Zhang, K. E. MacArthur, M. Heggen, F. Wang, *ACS Catal.* **2017**, *7*, 3419-3429.
- [9] a) I. Bosque, G. Magallanes, M. Rigoulet, M. D. Kärkäs, C. R. J. Stephenson, *ACS Cent. Sci.* **2017**, *3*, 621-628; b) J. D. Nguyen, B. S. Matsuura, C. R. J. Stephenson, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 1218-1221.
- [10] M. V. Galkin, S. Sawadjoon, V. Rohde, M. Dawange, J. S. M. Samec, *ChemCatChem* **2014**, *6*, 179-184.
- [11] C. Crestini, M. Crucianelli, M. Orlandi, R. Saladino, *Catal. Today* **2010**, *156*, 8-22.
- [12] a) N. D. Patil, N. Yan, *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3024-3028; b) M. Scott, P. J. Deuss, J. G. de Vries, M. H. G. Precht, K. Barta, *Catal. Sci. Technol.* **2016**, *6*, 1882-1891.
- [13] R. Behling, S. Valange, G. Chatel, *Green Chem.* **2016**, *18*, 1839-1854.
- [14] a) N. D. Patil, S. G. Yao, M. S. Meier, J. K. Mobley, M. Crocker, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 3243-3254; b) G. Zhu, X. Ouyang, Y. Yang, T. Ruan, X. Qiu, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 17880-17887; c) B. Sedai, R. T. Baker, *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 3563-3574; d) S. K. Hanson, R. Wu, L. A. P. Silks, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 3410-3413.
- [15] a) M. Wang, L. H. Li, J. M. Lu, H. J. Li, X. C. Zhang, H. F. Liu, N. C. Luo, F. Wang, *Green Chem.* **2017**, *19*, 702-706; b) W. Deng, H. Zhang, X. Wu, R. Li, Q. Zhang, Y. Wang, *Green Chem.* **2015**, *17*, 5009-5018.
- [16] a) A. S. Sharma, H. Kaur, D. Shah, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 28688-28727; b) D. Wang, A. Villa, D. Su, L. Prati, R. Schlögl, *ChemCatChem* **2013**, *5*, 2717-2723; c) A. Buonerba, C. Cuomo, S. Ortega Sánchez, P. Canton, A. Grassi, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 709-715; d) R. L. Oliveira, P. K. Kiyohara, L. M. Rossi, *Green Chem.* **2010**, *12*, 144-149; e) M. Kidwai, S. Bhardwaj, *Appl. Catal. A* **2010**, *387*, 1-4; f) J. Ni, W. J. Yu, L. He, H. Sun, Y. Cao, H. Y. He, K. N. Fan, *Green Chem.* **2009**, *11*, 756-759; g) A. Abad, C. Almela, A. Corma, H. García, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *62*, 6666-6672; h) H. Tsunoyama, H. Sakurai, Y. Negishi, T. Tsukuda *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9374-9375; i) L. Prati, M. Rossi, *J. Catal.* **1998**, *176*, 552-560; j) M. Stratakis, H. García, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4469-4506.
- [17] a) X. Zhang, J. Ye, L. Yu, X. Shi, M. Zhang, Q. Xu, M. Lautens, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 955-960; b) H. Ichikawa, Y. Usami, M. Arimoto, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8665-8668; c) J. Młochowski, M. Brząszcz, M. Giurg, J. Palus, H. Wójtowicz, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4329-4339; d) G. J. ten Brink, J. M. Vis, I. W. C. E. Arends, R. A. Sheldon, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3977-3983; e) G. J. ten Brink, J. M. Vis, I. W. C. E. Arends, R. A. Sheldon, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2429-2433; f) L. Syper, *Synthesis* **1989**, 167-172; g) P. A. Grieco, Y. Yokoyama, S. Gilman, Y. Ohfun, *JCS Chem. Comm.* **1977**, 870-871.
- [18] P. C. A. Bruijninx, B. M. Weckhuysen, *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 1035-1036.
- [19] a) J. Wang, F. J. Trindade, C. B. Aquino, J. C. Pieretti, S. H. Domingues, R. A. Ando, P. H. C. Camargo, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 9889-9894. b) T. S. Rodrigues, A. G. M. Silva, M. C. Gonçalves, H. V. Fajardo, R. Balzer, L. F. D. Probst, P. H. C. Camargo, *ChemNanoMat* **2015**, *1*, 46-51.
- [20] M. Conte, H. Miyamura, S. Kobayashi, V. Chechik, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7189-7196.
- [21] H. Qian, L. X. Shao, X. Huang, *J. Chem. Res.* **2002**, 514-515.
- [22] Y. Wang, L. Yu, B. Zhu, L. Yu, *J. Mater. Chem. A* **2016**, *4*, 10828-10833.
- [23] a) M. P. Uliana, Y. W. Vieira, M. C. Donatoni, A. G. Corrêa, U. Brocksom, T. J. Brocksom, *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, *19*, 1484-1489; b) D. H. R. Barton, J. P. Finet, M. Thomas, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 6397-6406; c) S. L. Friess, A. H. Soloway, B. K. Morse, W. C. Ingorsoll, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1305-1309.

COMMUNICATION

Evaluating Gold and Selenium Chemistry for Selective Transformations of Lignin Model Compounds

Adv. Synth. Catal. **Year**, *Volume*, Page – Page

Wagner C. C. Santos, Kevin A. Dias, Leidaiany P. Santos, Camila M. Kisukuri, Thenner S. Rodrigues, Rafael S. Geonmonond, Pedro H. C. Camargo, Leandro H. Andrade *