UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

**Síntese de adutos de Knoevenagel para a obtenção de compostos
tetrazólicos, produtos de acoplamento de Suzuki-Miyaura e cromenos por
radiação micro-ondas e para a bio-hidrogenação pelo fungo marinho
*Penicillium citrinum***

DAVID ESTEBAN QUINTERO JIMENEZ

São Carlos
2017

DAVID ESTEBAN QUINTERO JIMENEZ

**Síntese de adutos de Knoevenagel para a obtenção de compostos
tetrazólicos, produtos de acoplamento de Suzuki-Miyaura e cromenos por
radiação micro-ondas e para a bio-hidrogenação pelo fungo marinho
*Penicillium citrinum***

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da
Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Química Orgânica e Biológica

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Meleiro Porto

São Carlos
2017

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO, POR**

**QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E
PESQUISA,**

DESDE QUE CITADA A FONTE.

A Deus pela sabedoria e meus pais Juvenal e Miriam pelo incentivo, confiança e amor incondicionais.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu o dom da vida, saúde e força para vencer mais esta etapa, que sempre me guiou e esteve ao meu lado nos momentos difíceis e que colocou em meu caminho pessoas maravilhosas que fizeram parte em tudo que conquistei.

Aos meus pais Juvenal Quintero e Miriam Jimenez Martinez, pelo apoio, incentivo, dedicação, carinho e amor durante toda a minha vida.

A Prof. Dr. André Luiz Meleiro Porto, pela orientação, colaboração, amizade, pela confiança e paciência sem as quais não seria possível realizar este trabalho.

A minha querida Raquel, pela compreensão, companheirismo e colaboração durante todos estes anos.

Ao Instituto de Química de São Carlos e a Universidade de São Paulo pelo oferecimento da estrutura na realização do doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A Juan Carlos, Julian, Natalia e Paulo pela colaboração e amizade.

Aos grandes colegas de laboratório de Química Orgânica e Biocatálise: Willian, Rafaely, Charlene, Lucas, Juliana, Erika, Aline, Paulo, Samuel, Darlison, Sandra (*in memoriam*) e em especial ao Irlon e Lucas pela ajuda que sempre me prestaram, pela amizade e companheirismo que neles encontrei.

Os amigos e colegas dos outros laboratórios em especial: Lucas, Rodrigo, Rafael, Alexander, João e Cristiano pela ajuda recebida.

A todos os técnicos do IQSC.

Aos secretários da Pós-graduação pelas orientações burocráticas.

A todos os professores do IQSC que de alguma maneira ajudaram na minha formação.

A todos os que não constam nesta nota, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A minha avó Maria Pacífica (*in memoriam*) pelo apoio e confiança.

“Renunciar a la idea de ganar antes de empezar, equivale a perder sin pelear”

Derteriom

RESUMO

Jimenez, D.E. Q. **Síntese de adutos de Knoevenagel para a obtenção de compostos tetrazólicos, produtos de acoplamento de Suzuki-Miyaura e cromenos por radiação micro-ondas e para a bio-hidrogenação pelo fungo marinho *Penicillium citrinum*.** 2017. 500p. Tese (Doutorado) -Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

Neste trabalho foi desenvolvido uma metodologia sintética para a obtenção de adutos de Knoevenagel empregando a radiação de micro-ondas. Os adutos foram usados como precursores sintéticos para a obtenção de compostos tetrazólicos, reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura, adutos cromenos e em bio-hidrogenação. A primeira etapa realizada foi a reação e a otimização da condensação de Knoevenagel usando derivados de aldeído aromático, malononitrila e água em um reator de micro-ondas por 30 min, 20 W fornecendo rendimentos de 80-99 %. Também foi observado que para o *trans*-metil-cinamaldeído ocorreu a formação do produto de condensação de Knoevenagel e posteriormente a formação de um produto dimérico com rendimento de 96 % por uma reação de ciclo adição [2+2] via fotoquímica. Adicionalmente foi realizada a síntese de adutos de Knoevenagel com aldeídos aromáticos e cianoacetamida fornecendo produtos diaestereoisoméricos com configuração *E* e rendimentos entre 90-99 %. Na segunda etapa foi realizada a obtenção de compostos tetrazólicos via *one-pot* entre aldeídos aromáticos, malononitrila e azida de sódio empregando água como solvente em um reator de micro-ondas por 4 h, 60 W fornecendo rendimentos de 85-99 %. Foi realizado o uso de aditivos de caráter ácido-básico na síntese do tetrazóis, observando que para o sistema N(Et)₃-CuSO₄ forneceu um rendimento de 90 % em um tempo de 2 h para (*E*)-3-fenil-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila. Na terceira parte foram desenvolvidas reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura a partir dos adutos de Knoevenagel com grupos halogênios (F, Cl e Br) em um reator de micro-ondas por 30 min, 60W fornecendo rendimentos de 80-97 %. Também foi realizada a reação de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura *one-pot* empregando a radiação de micro-ondas fornecendo rendimentos de 82-98 %. Na quarta parte do trabalho foram sintetizados cromenos a partir de adutos de Knoevenagel com 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexanodiona em um reator de micro-ondas por 25 min, 60 W fornecendo rendimentos de 94-99 %. Também foram obtidos cromenos com os compostos tetrazólicos derivados de adutos de Knoevenagel por radiação micro-ondas fornecendo rendimentos de 85-98 %. Por último os adutos de Knoevenagel foram bio-hidrogenados pelo fungo marinho *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 obtendo rendimentos de reação entre 12-99 %. Observou-se para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila uma reação de retro-Knoevenagel causada por efeitos eletrônicos eletroatratores. Também observou-se a presença de várias enzimas no meio de cultura de fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 como: enoato redutase, nitro redutase, ceto redutase e nitrila hidratase. Também realizaram-se estudos dos tempos de reação da síntese de Knoevenagel por micro-ondas, para o qual foram empregados aditivos como: SiO₄, CuSO₄, imidazol, fibroína, fibra da paina e fibroína-CuSO₄. Este último aditivo forneceu um rendimento de 74 % em 10 min para a 2-benzilidenomalononitrila. Em geral o estudo desenvolvido na otimização da reação de condensação de Knoevenagel e o desenvolvimento da metodologia para a obtenção de compostos tetrazólicos, adutos de acoplamento de Suzuki-Miyaura, cromenos foram bastante satisfatórios, assim como, as reações de bio-hidrogenação de sistemas α,β -insaturados.

Palavras-chave: Condensação de Knoevenagel, Tetrazóis, Reações de Acoplamento Suzuki-Miyaura, Cromenos, Biocatálise, Radiação de Micro-ondas.

Resumo gráfico

ABSTRACT

Jimenez, D.E.Q. **Synthesis of Knoevenagel adducts to obtain tetrazolic compounds, Suzuki-Miyaura coupling products and chromenes by microwave radiation and for biohydrogenation by the marine fungi *Penicillium citrinum*.** 2017. 221p. Thesis (Doctorate) -Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

The present work describes a synthetic methodology to obtain Knoevenagel adducts by microwave radiation. The adducts were used as synthetic precursors to obtain tetrazole compounds, Suzuki-Miyaura coupling reactions, chromene adducts and biohydrogenation. The first step was the reaction and optimization of Knoevenagel condensation using aromatic derivatives aldehyde, malononitrile and water in a microwave reactor for 30 min to obtain 80-99 % yield. Was observed that for *trans*-methyl cinnamaldehyde the Knoevenagel condensation product and subsequently the dimeric product with 96 % yield by [2 + 2] cycloaddition reaction photochemistry. Additionally, the synthesis of Knoevenagel adducts with aromatic aldehydes and cyanoacetamide was performed providing diastereoisomeric products with *E*-configuration in 90-99% yield. In the second step, tetrazole compounds were obtained via one-pot reactions between aromatic aldehydes, malononitrile and sodium azide using water as the solvent in a microwave reactor for 4 h, 60 W to obtain 85-99% yields. The use acid-base additives in the synthesis of (*E*)-3-phenyl-2-(1*H*-tetrazol-5-yl)acrylonitrile was development with N(Et)₃-CuSO₄ system, to give 90 % yields in 2 h, 60 W. In the third part, Suzuki-Miyaura coupling reactions were developed from the Knoevenagel adducts with halogen groups (F, Cl and Br) in a microwave reactor for 30 min, 60W providing yields of 80-97 %. The Knoevenagel-Suzuki-Miyaura one-pot reaction was also employed by employing microwave radiation with yields of 82-98 %. In the fourth part of this work, chromene products were synthesized from Knoevenagel adducts with 5,5-dimethyl-1,3-cyclohexanedione in a microwave reactor for 25 min, 60 W with yields 94-99 %. Chromenes adducts were also obtained with the tetrazole compounds by microwave radiation with yields of 85-98%. Finally, the Knoevenagel adducts were biohydrogenated by the marine fungi *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 and was obtained 12-99 % yields. The reaction of retro-Knoevenagel was observed to 2-(4-nitrobenzylidene)malononitrile cause by highly electro-electronic electronic effects. The presence of several enzymes in the fungi culture medium *P. citrinum* CBMAI 1186 was also observed as enoate reductase, nitro reductase, keto reductase and nitrile hydratase. Other studies were carried out to improve the Knoevenagel synthesis by microwave using additives such as SiO₄, CuSO₄, imidazole, fibroin and fibroin-CuSO₄. For fibroin-CuSO₄ the yield was 74% in 10 min to 2-benzylidenemalononitrile. In general, the optimization of the Knoevenagel condensation reaction and the development of the synthetic methodology to obtain tetrazole compounds, Suzuku-Miyaura coupling adducts, chromene adducts was very satisfactory as well as the biohydrogenation reactions of α , β systems unsaturated.

Keywords: Knoevenagel Condensation, Tetrazole, Suzuki-Miyaura Coupling Reactions, Chromene, Biocatalysis, Microwave Radiation.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1. Estruturas químicas do DDT e do Spinosad.	35
Figura 1.2. Estruturas químicas de detergentes biodegradáveis e não biodegradáveis.	38
Figura 1.3. Representação do espectro electromagnético (adaptado da referência 19).	39
Figura 1.4. Ilustração para os tipos de aquecimentos (a) convencional e (b) radiação micro-ondas.	40
Figura 1.5. Ilustração do comportamento molecular na presença de um campo eletromagnético (A) moléculas de água polarizadas com o campo eletromagnético aplicado e (B) moléculas de água quando o campo eletromagnético é retirado. E= campo eletromagnético.	41
Figura 1.6. Ilustração da condução iônica em presença de um campo eletromagnético.	41
Figura 1.7. Propriedades de materiais com características em refletir, ser transparente ou absorver a energia de micro-ondas.	42

CAPÍTULO 2

Figura 2.1. Síntese de Ferensimicina B.	
Figura 2.2. Representação geral de síntese e aplicação de adutos de Knoevenagel desenvolvidas na proposta do trabalho.	53
Figura 2.3. Espectro ORTEP da difração de raios-X do cristal do composto 2a .	66
Figura 2.4. Compostos obtidos na reação de condensação de Knoevenagel a partir do <i>trans</i> -metil-cinamaldeído via MO.	87
Figura 2.5. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do aduto de Knoevenagel 2w e para o aduto dimérico 2w' .	89
Figura 2.6. Espectro ORTEP da difração de raios-X do cristal do dímero do aduto de Knoevenagel 2w' .	90
Figura 2.7. Análise de orbitais de fronteira para uma reação pericíclica de ciclo adição [2+2].	91
Figura 2.8. Proposta de orbitais de fronteira para o composto 2wa' .	92
Figura 2.9 Proposta de orbitais de fronteira para o composto 2w' .	92
Figura 2.10. Representação estrutural dos diastereoisômeros <i>E</i> e <i>Z</i> do 2-ciano-3-(4-metoxifenil) acrilamida.	93
Figura 2.11. Proposta de formação de íons enolatos baseado nos modelos de estados de transição pericíclicos de Ireland usando trietilamina.	95
Figura 2.12. Espectro ORTEP da difração de raios-X do cristal do composto <i>E</i> - 3h e <i>E</i> - 3k .	95

CAPÍTULO 3

Figura 3.1. Representação estrutural do benzimidazol e cloroimidazol.	107
Figura 3.2. Estabilização de carga negativa no tetrazol.	108
Figura 3.3. Tautômeros dos tetrazóis: 1 <i>H</i> -5-substituído e 2 <i>H</i> -5-substituído.	108
Figura 3.4. Exemplos de isosterismo clássico [14-17].	109
Figura 3.5. Exemplos de isosterismo não-clássico [14-17].	109
Figura 3.6. Exemplos de tetrazóis com propriedades biológicas que apresentam isosterismo não clássico [17].	110
Figura 3.7. Rota proposta para a formação do composto tetrazólico (<i>E</i>)-fenil-2-(1 <i>H</i> -tetrazol-5-il) acrilonitrila a partir do aduto de Knoevenagel e NaN ₃ .	127
Figura 3.8. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) para (A) produto de condensação de Knoevenagel 2a . (B) RMN de ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) para o produto tetrazólico 3a . Nota: Não há sinais na região de 0-7,40 ppm.	130
Figura 3.9. Modelo ORTEP para a estrutura cristalina do (<i>E</i>)-3-(4-hidroxifenil)-2-(1 <i>H</i> -tetrazol-5-il) acrilonitrila 3g (com permissão da editora Elsevier [33]).	131
Figura 3.10. Estruturas dos diastereoisômeros <i>E</i> - 4f-OCH₃ e <i>Z</i> - 4f-OCH₃ .	136
Figura 3.11. Espectro NOESY para o composto tetrazólico <i>E</i> - 4f-OCH₃ .	137

CAPÍTULO 5

Figura 5.1. Isômeros estruturais do benzopirano.	175
Figura 5.2. Núcleos contendo derivados de cromenos.	175
Figura 5.3. Exemplos de produtos naturais contendo núcleos cromenos com atividades biológicas.	176
Figura 5.4. Exemplos de compostos biologicamente ativos contendo cromenos com o núcleo aromático 4 <i>H</i> -pirano.	177
Figura 5.5. Estruturas do 17-Desoxiflamicoína e Forboxazol.	177
Figura 5.6. Mecanismo proposto para a síntese de cromenos 4 <i>H</i> -pirano.	184
Figura 5.7. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) para o 4 <i>H</i> -cromeno 4a .	200
Figura 5.8. Espectro de RMN de ¹³ C (126 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) para o 4 <i>H</i> -cromeno 4a .	200

Figura 5.9. Cromatogramas por análises de HPLC-Uv do 4 <i>H</i> -cromeno 4a obtido por MO na presença de aminoácidos em água.	208
Figura 5.10. Cromatogramas por análises de HPLC-Uv do 4 <i>H</i> -cromeno 4a obtido por MO na presença de aminoácidos em etanol.	209
CAPÍTULO 6	
Figura 6.1. Formação da ligação peptídica entre dois grupos adjacentes de α -amino ácidos.	220
Figura 6.2. Representação parcial da estrutura da quitosana.	224
Figura 6.3. Mecanismo para a condensação de Knoevenagel.	243
Figura 6.4. Ativação do grupo carbonila por ácidos de Lewis.	243
Figura 6.5. Reutilização da fibroína com sulfato de cobre (Fibroína-CuSO ₄) na reação de condensação de Knoevenagel entre malononitrila e benzaldeído por quatro ciclos.	245
Figura 6.6. (A) Análises de DRX de fibroína com sulfato de cobre no primeiro ciclo. (B) fibroína com sulfato de cobre no quarto ciclo de reação.	246
Figura 6.7. (A) Análises de MEV da fibroína livre, (B) fibroína aderida com sulfato de cobre, (C) Fibroína-CuSO ₄ no primeiro ciclo, (D) Fibroína-CuSO ₄ no quarto ciclo de reação.	247
Figura 6.8. Foto do material de Fibroína-CuSO ₄ .	248
Figura 6.9. Adição de íons hidreto por enoato redutase de <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	251
Figura 6.10. Efeito eletrônico (indutivo e ressonância) causado pelos grupos eletroatratores.	252
Figura 6.11. Efeito eletrônico para grupos eletrodoadores.	253
Figura 6.12. Biotransformação do aduto 2e pelo fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	254
Figura 6.13. Mecanismo para a reação de retro-Knoevenagel para o composto 2e .	254
Figura 6.14. Biotransformação do 2-(4-nitrobenzilideno) malononitrila 2e pelo fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186. Cromatograma obtido por GC-EM da reação de biotransformação após 6 dias; (a) Espectro de massas do composto 4 (IE 70 eV) obtido na Biblioteca NIST 5.0; (b) Espectro de massas do composto 6 (IE, 70 eV) obtido na Biblioteca NIST 5.0; (c) Espectro de massas do composto 3e (IE, 70 eV) obtido na Biblioteca NIST 5.0.	256
Figura 6.15. Cromatograma obtido por CG-EM da reação de biotransformação do 4-nitrobenzalaldeído 1e pelo fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	257

Figura 6.16. Biotransformação do aduto 2k para os compostos 3k e 4k pelo o fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	259
Figura 6.17. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-(furan-2-ilmetil) malononitrila 3k .	260
Figura 6.18. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida 4k .	261
Figura 6.19. Cromatogramas obtidos por HPLC quiral do produto 4k obtido da bio-hidrogenação de 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida 2k' por fungos marinhos e terrestres.	263
Figura 6.20. Cromatogramas obtidos por HPLC quiral do produto racêmico 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida 4k em diferentes tempos de análise (15, 30, 45, 60, 75 e 90 minutos).	264
Figura 6.21. Representação de tautomeria ketenimina de 4k em metanol.	264
Figura 6.22. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida 4k .	267
Figura 6.23. RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida 4k .	267
Figura 6.24. RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida (4k).	268
Figura 6.25. RMN de ^{13}C (126 MHz, MeOD) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida (4k).	268

LISTA DE ESQUEMAS

CAPÍTULO 1

Esquema 1.1 Exemplo de aplicação do 1º princípio da QV na síntese da Sertralina.	33
Esquema 1.2. Exemplo de aplicação do 2º princípio da QV – A economia atômica.	34
Esquema 1.3. Exemplo de aplicação do 3º princípio da QV na síntese do policarbonato.	34
Esquema 1.4. Exemplo de reação do 5º princípio de QV na ausência de solvente.	36
Esquema 1.5. Exemplo de aplicação do 6º princípio de QV na síntese do aduto de Diels-Alder.	36
Esquema 1.6. Exemplo de 7º princípio de QV aplicada na síntese do ácido adípico.	37
Esquema 1.7. Exemplo do 8º princípio de QV.	37
Esquema 1.8. Exemplo do 9º princípio de QV aplicada na síntese de derivados da mandelonitrila enantiomericamente puros ou enriquecidos.	38
Esquema 1.9. Reações em reator de micro-ondas doméstico desenvolvidas por Gedye e Guigere.	44
Esquema 1.10. RCE da (±)-mandelonitrila por MO.	45
Esquema 1.11. RCE do (±)-2-octanol por MO catalisada por CALB.	45
Esquema 1.12. RCE do (±)-1-(1-naftalen-1-il) etan-1-ol por MO catalisada por Novozyme 435®.	46
Esquema 1.13. Esterificação do MCPA por MO catalisada por Novozyme 435®.	46
Esquema 1.14. Isomerização enzimática de xilose para xilulose por MO.	47
Esquema 1.15. Polimerização da ε-caprolactona por MO e AC catalisada por Novozyme 435®.	47

CAPÍTULO 2

Esquema 2.1. Mecanismo para a reação de condensação aldólica em meio ácido e básico (Adaptado da referência 1).	54
Esquema 2.2. Reação da condensação aldólica (adaptado das referências 1 e 3).	54
Esquema 2.3. Primeira condensação de Knoevenagel para a formação do bis-aduto de malonato de dietila.	55
Esquema 2.4. Condensação de Knoevenagel entre o benzaldeído e o acetoacetato de etila.	55
Esquema 2.5. Condensação de Knoevenagel entre derivados de benzaldeído e malononitrila empregando sílica gel por MO.	60
Esquema 2.6. Condensação de Knoevenagel entre derivados de benzaldeído ou furfural e malononitrila usando MgC_2O_4/SiO_2 como catalisador por MO.	61
Esquema 2.7. Condensação de Knoevenagel usando LiCl como catalisador em condições livres de solvente por MO.	61
Esquema 2.8. Condensação de Knoevenagel em condições livres de solventes usado acetato de amônia como catalisador por MO.	62
Esquema 2.9. Condensação de Knoevenagel usando água como solvente por MO.	62
Esquema 2.10. Condensação de Knoevenagel usando aldeídos aromáticos, malononitrila usando Urotropina por MO.	63
Esquema 2.11. Síntese de adutos de Knoevenagel com malononitrila a partir de derivados de aldeídos aromáticos por MO.	70
Esquema 2.12. Síntese de adutos de Knoevenagel com cianoacetamida a partir de derivados de aldeídos aromáticos por MO.	79
Esquema 2.13. Reação de condensação de Knoevenagel do composto 1w para a formação dos produtos 2w e 2w' .	91
Esquema 2.14. Síntese do aduto 3h por radiação MO.	93

CAPÍTULO 3

Esquema 3.1. Síntese de peptídeos contendo núcleo tetrazólico [18].	110
Esquema 3.2. Síntese de aduto tetrazólico de Morita-Baylis-Hillman.	111
Esquema 3.3. Síntese do 5-feniltetrazol a partir de benzonitrila e azida de amônio.	111
Esquema 3.4. Preparação de tetrazol a partir de benzonitrila e azida de sódio.	111
Esquema 3.5. Obtenção de 5-feniltetrazol com azida de trietilamônio.	112
Esquema 3.6. Sínteses de 5-feniltetrazol pela metodologia de Sharpless.	112
Esquema 3.7. Síntese de tetrazóis usando azida de trimetil-estanho.	112
Esquema 3.8. Síntese de tetrazol com TMSN_3 na presença de TBAF.	113
Esquema 3.9. Síntese de tetrazol na presença de Me_3Al .	113
Esquema 3.10. Síntese de núcleo tetrazólico 2,5-substituído catalisada por complexo de paládio.	113
Esquema 3.11. Hidrocalcita de Zn/Al usada na síntese de tetrazol.	113
Esquema 3.12. Síntese de tetrazol a partir de benzaldeído e sal de oxima.	114
Esquema 3.13. Síntese de 5-feniltetrazol usando <i>N</i> -formil-hidrazina.	114
Esquema 3.14. Síntese de composto tetrazólico catalisada por complexos de platina por MO.	114
Esquema 3.15. Síntese de 5-fenil-1 <i>H</i> -tetrazol em nitrobenzeno como solvente em MO.	115
Esquema 3.16. Síntese de composto tetrazólico usando AlCl_3 como catalisador em MO.	115
Esquema 3.17. Síntese de tetrazol na presença do 5-azido-1-metil-3,4-diidro-2 <i>H</i> -pirrolidina de azida por MO.	115
Esquema 3.18. Síntese de compostos tetrazólicos a partir de álcool primário em reação Tandem por MO.	116
Esquema 3.19. Síntese de compostos tetrazólicos a partir de derivados de aldeídos aromáticos e malononitrila via <i>one pot</i> por MO.	119
Esquema 3.20. Síntese de compostos tetrazólicos a partir de derivados de aldeídos aromáticos e cianoacetamida via <i>one pot</i> por MO.	123
Esquema 3.21. Síntese tricomponente para a obtenção de tetrazol desenvolvida no trabalho por MO ou AC.	127

CAPÍTULO 4

Esquema 4.1. Esquema geral de uma reação de acoplamento C-C.	147
Esquema 4.2. Reação de acoplamento alquil-alkil usando Li_2CuCl_4 .	148
Esquema 4.3. Reação de acoplamento de Kumada <i>et al.</i> [9].	149
Esquema 4.4. Reação de acoplamento de Sonogahira catalisada por Pd(II) [11].	149
Esquema 4.5. Síntese de <i>trans</i> -estilbenos por reação de acoplamento de Negishi [12].	149
Esquema 4.6. Reação de acoplamento de Stille com organoestanho [13].	149
Esquema 4.7. Acoplamento de Suzuki para obtenção do composto biarila.	150
Esquema 4.8. Acoplamentos de Hiyama para formação de bifenila.	150
Esquema 4.9. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura com derivado de uracila.	151
Esquema 4.10. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura com pirimidinas.	151
Esquema 4.11. Reação de acoplamento de Suzuki com nucleosídeo.	152
Esquema 4.12. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura na síntese de derivados de 3-bromo-4-arylumarina.	152
Esquema 4.13. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura para a síntese de bifenila quiral.	153
Esquema 4.14. Reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura via radiação micro-ondas.	156
Esquema 4.15. Reação de acoplamento de tetrazol-Suzuki-Miyaura via radiação micro-ondas.	158
Esquema 4.16. Reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura <i>one-pot</i> via radiação micro-ondas.	160
Esquema 4.17. Síntese multicomponente Suzuki-Miyaura-Knoevenagel em meio aquoso por AC.	161

CAPÍTULO 5

Esquema 5.1. Síntese tricomponente de cromenos em meio aquoso e DBU.	178
Esquema 5.2. Síntese tricomponente <i>one pot</i> de cromeno em etanol e DBU.	178

Esquema 5.3. Síntese de cromenos a partir de 2-benzilidenociclopentanonas e malononitrila.	179
Esquema 5.4. Síntese tricomponente de anéis cromenos por MO.	179
Esquema 5.5. Síntese tricomponente de cromenos derivados de indol por MO.	180
Esquema 5.6. Síntese tricomponente de derivados de cromenos à temperatura ambiente.	180
Esquema 5.7. Síntese tricomponente de cromenos 4 <i>H</i> -piranos na ausência de solvente.	180
Esquema 5.8. Síntese tricomponente de cromenos derivados de diidropiranos em líquido iônico.	181
Esquema 5.9. Síntese tricomponente de benzocromenos em líquido iônico.	181
Esquema 5.10. Síntese tricomponente de 4 <i>H</i> -cromenos.	182
Esquema 5.11. Síntese tricomponente de cromenos na presença de metassilicato de cobre.	182
Esquema 5.12. Síntese tricomponente de derivados de cromenos por FeNi ₃ -SiO ₂ .	183
Esquema 5.13. Síntese tricomponente de derivados de cromenos na presença de Amberlist A21.	183
Esquema 5.14. Síntese de derivados de cromenos na presença de KF-Al ₂ O ₃ .	184
Esquema 5.15. Síntese de 4 <i>H</i> -cromenos a partir de adutos de Knoevenagel de malononitrila e 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona por MO.	188
Esquema 5.16. Síntese de 4 <i>H</i> -cromenos a partir de adutos de Knoevenagel de cianoacetamida e 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona por MO.	192
Esquema 5.17. Síntese de 4 <i>H</i> -cromeno-tetrazólicos a partir de compostos tetrazólicos e 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona por MO.	194
Esquema 5.18. Síntese de 4 <i>H</i> -cromenos a partir de 2-ciano-3-(4-metoxifenil)acrilamida por MO.	202
Esquema 5.19. Síntese de 4 <i>H</i> -cromeno-tetrazólico 8a por MO.	204
Esquema 5.20. Síntese de 4 <i>H</i> -cromeno presença do indutor quiral 1q .	205
Esquema 5.21. Síntese de 4 <i>H</i> -cromeno na presença do indutor quiral 1z .	206
Esquema 5.22. Síntese do 4 <i>H</i> -pirano-cromeno na presença do indutor quiral 16 .	206
Esquema 5.23. Reação de Michael usando <i>L</i> -prolina.	207

CAPÍTULO 6

Esquema 6.1 (A) Reação de Biotransformação [3]. (B) Reação de Biocatálise [4].	220
Esquema 6.2. Redução do ácido 2-oxo-4-fenilbutírico através de um processo de regeneração do cofator empregando enzimas acopladas.	222
Esquema 6.3. Biotransformação de 1-(4-metoxifenil)etanona pelo fungo <i>P.citrinum</i> CBMAI 1186.	224
Esquema 6.4. Bio-hidrogenação da (<i>E</i>)-3-fenil-1-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona com o fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	225
Esquema 6.5. Bio-hidrogenação de 1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona pelo fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	226
Esquema 6.6. Reação de condensação de Knoevenagel por radiação MO.	228
Esquema 6.7. Reação de bio-hidrogenação de adutos de Knoevenagel por <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	232
Esquema 6.8. Reação de condensação de Knoevenagel do 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida 2k' por MO.	236
Esquema 6.9. Reação de hidrogenação do 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida 2k' com NaBH ₄ .	237
Esquema 6.10. Equação química da reação de condensação de Knoevenagel.	239
Esquema 6.11. Biotransformação do composto 1e pelas enzimas ceto-redutase e a nitro-redutase.	257
Esquema 6.12. Biotransformação do aduto 2k pelo fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	258
Esquema 6.13. Biotransformação do composto 2k pelas enzimas enoato redutase e nitrila hidratase do fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	258
Esquema 6.14. Síntese e bio-hidrogenação do 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida 2k' para a obtenção da α -ciano-acetamida 4k .	262

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1. <i>Fator E</i> em processos químicos industriais.	31
Tabela 1.2 Propriedades físicas de solventes comumente usados em MO [22-23].	43

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1. Exemplos de adutos de Knoevenagel com potencial aplicação em química fina e farmacêutica.	57
Tabela 2.2. Condensação de Knoevenagel entre aldeídos aromáticos e cianoacetato de etila ou malononitrila catalisada por TPP em aquecimento convencional (AC) e micro-ondas (MO).	59
Tabela 2.3. Condensação de Knoevenagel entre aldeídos aromáticos e cianoacetamida na ausência de catalisador por aquecimento convencional (AC) e micro-ondas (MO).	59
Tabela 2.4. Condensação de Knoevenagel utilizando aldeídos aromáticos e cianoacetato de etila catalisada por $\text{alum-Cs}_2\text{CO}_3$ por aquecimento convencional (AC) ou micro-ondas (MO).	60
Tabela 2.5. Condensação de Knoevenagel usando $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{AcOH}$ por MO.	63
Tabela 2.6. Condensação de Knoevenagel de aldeídos aromáticos com cianoacetamida ou cianoacetato de etila por MO.	64
Tabela 2.7. Condensação de Knoevenagel de diferentes compostos com metilenos ativados por MO.	65
Tabela 2.8. Exemplos de metodologias desenvolvidas com processos sustentáveis para obtenção do aduto de Knoevenagel.	83
Tabela 2.9. Metodologias para condensação de Knoevenagel a partir de benzaldeído e malononitrila por MO [28-34].	84
Tabela 2.10. Efeito dos solventes na condensação de Knoevenagel para a síntese do aduto 2a .	85
Tabela 2.11. Otimização do tempo de reação da condensação de Knoevenagel para a síntese do aduto 2a via radiação micro-ondas em presença de água.	86
Tabela 2.12. Síntese de adutos de Knoevenagel por radiação micro-ondas.	88
Tabela 2.13. Trabalhos da literatura para a obtenção de adutos de Knoevenagel com cianoacetamida.	94
Tabela 2.14. Condensação de Knoevenagel entre anisalaldeído e ciano acetamida pelo uso de aditivos por MO.	94

Tabela 2.15. Síntese de adutos de Knoevenagel por MO a partir de aldeídos aromáticos e cianoacetamida.	98
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1. Síntese de compostos tetrazólicos via <i>one-pot</i> descritos na literatura.	126
Tabela 3.2. Otimização da reação de obtenção do composto tetrazólico 3a por AC e MO.	128
Tabela 3.3. Deslocamento químico do RMN protônico do composto tetrazólico 3a por Tisseh e por Jimenez.	131
Tabela 3.4. Síntese de compostos tetrazólicos via reação tricomponente <i>one-pot</i> por radiação micro-ondas.	132
Tabela 3.5. Otimização para a síntese tricomponente <i>one-pot</i> de compostos tetrazólicos empregando sistemas ácido-base por MO.	133
Tabela 3.6. Síntese tricomponente <i>one-pot</i> de compostos tetrazólicos 3a-3p empregando sistemas ácido-base por MO.	134
Tabela 3.7. Síntese tricomponente de compostos tetrazólicos <i>E-4a-j one-pot</i> utilizando cianoacetamida 1a'' via radiação micro-ondas.	138

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1. Reações de acoplamento de Suzuki usando a radiação de micro-ondas descritos na literatura.	162
Tabela 4.2. Estudo dos solventes utilizados na reação de acoplamento Knoevenagel-Suzuki-Miyaura.	163
Tabela 4.3. Reação de acoplamento Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas utilizando derivados de benzilideno malononitrila com grupos halo e ácido fenilborônico.	164
Tabela 4.4. Reação de acoplamento Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas utilizando derivados do 2-ciano-3-(4-haloaril) acrilamida com grupos halogênios e ácido fenilborônico..	164
Tabela 4.5. Estudo da variação do tempo de reação <i>one-pot</i> Knoevenagel-Suzuki-Miyaura para o aduto 4c por MO.	165
Tabela 4.6. Reação muticomponente <i>one-pot</i> de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas utilizando malononitrila.	166
Tabela 4.7. Reação muticomponente <i>one-pot</i> de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas utilizando cianoacetamida.	167
Tabela 4.8. Reação de acoplamento do tetrazol-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas.	168

CAPÍTULO 5

Tabela 5.1. Síntese de 4 <i>H</i> -cromenos usando radiação micro-ondas descritos na literatura.	197
Tabela 5.2. Estudo das condições de reação para a síntese de 4 <i>H</i> -cromeno 4a na presença de MO e AC.	198
Tabela 5.3. Síntese de 4 <i>H</i> -cromenos a partir de adutos de Knoevenagel por radiação micro-ondas.	201
Tabela 5.4. Síntese de 4 <i>H</i> -cromenos via radiação micro-ondas utilizando derivados de 2-ciano-3-arilacrilamida.	203
Tabela 5.5. Síntese de compostos 4 <i>H</i> -cromeno-tetrazólicos <i>one-pot</i> via radiação micro-ondas.	204
Tabela 5.6. Síntese do 4 <i>H</i> -cromeno 4a com o uso de <i>L</i> -aminoácidos por MO.	208

CAPÍTULO 6

Tabela 6.1. Classificação das enzimas segundo IUMMB.	221
Tabela 6.2. Aditivos usados na condensação de Knoevengael para a síntese do composto 2a em condições de micro-ondas.	242
Tabela 6.3. Sínteses de adutos de Knoevenagel aromáticos e hetero-aromáticos por radiação micro-ondas.	249
Tabela 6.4. Bio-hidrogenação dos adutos de Knoevenagel por micélios do fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186.	250
Tabela 6.5. Bio-hidrogenação de 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida 2k' por fungos marinhos e terrestres.	262

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

QV	Química verde
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
Pd	Paládio
THF	Tetraidrofurano
AcOEt	Acetato de etila
ta	Temperatura ambiente
°C	Grau Celcius
rend	Rendimento
h	Horas
min	minutos
g	Gramas
AC	aquecimento convencional
MO	micro-ondas
<i>p</i>	Posição para do anel aromático
<i>e.e.</i>	excesso enantiomérico
REC	resolução cinética enzimática
CALB	<i>Candida antarctica</i>
c	Conversão
MCPA	ácido 4-cloro-2-metoxifenoxiacético
[EMIM][Cl]	cloreto de 1-etil-3-metilimidazol
CBMAI	Coleção Brasileira de Micro-organismos de Ambiente e Indústria
TEA	Trietilamina
TBAI	Iodeto de tetrabutylamônio
DMA	Dimetilacetamida

TPP	Trifenilfosfanato
s	singleto
DMSO	Dimetilsulfoxido
CG-EM	Cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas
IV	Espectroscopia no infravermelho-transformada de Fourier
CAQI	Central de Análises Químicas Instrumentais
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TMS	Tetrametilsilano
ppm	Partes por milhão
CLAE-UV	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector ultra-violeta
IE	Impacto eletrônico
m/z	Relação massa/carga
rpm	Rotações por minuto
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
t	Tripleto
m	Multiplete
μ	micro
λ	comprimento de onda
t.r.	tempo de retenção
UV	Ultra-violeta
W	watts

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL	32
1.1 Química verde	32
1.2 Fundamentos básicos sobre a radiação micro-ondas	39
1.3 Uso da radiação micro-ondas na síntese orgânica	43
1.4 Exemplos de aplicação da radiação de micro-ondas em síntese orgânica e biocatálise	45
1.5 REFERÊNCIAS	48

CAPÍTULO 2

2.1 INTRODUÇÃO	53
2.1.1 Reação de adição-condensação aldólica	53
2.1.2 Reação de condensação de Knoevenagel	55
2.1.2.1 Aplicação da radiação micro-ondas na condensação de Knoevenagel	58
2.1.2.2 Aplicação da radiação micro-ondas na condensação de Knoevenagel usando malononitrila por radiação micro-ondas	60
2.1.2.3 Aplicação da radiação micro-ondas na condensação de Knoevenagel usando cianoacetamida	63
2.1.2.4 Aplicação da radiação micro-ondas na condensação de Knoevenagel usando outros compostos contendo metilenos ativos	64
2.2. OBJETIVOS	67
2.2.1 Objetivo geral	67
2.2 Metas	67
2.3. MATERIAIS E MÉTODOS	68
2.3.1 Reagentes	68
2.3.2 Equipamentos	68
2.3.2.1 Cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM)	68
2.3.2.2 Espectroscopia no infravermelho-transformada de Fourier (IV)	68
2.3.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	69
2.3.2.4 Difração de raios-X em monocristal	69

2.3.2.5 Reator de micro-ondas	69
2.3.2.6 Outros equipamentos empregados	70
2.3.2.7 Software	70
2.3.3 Síntese de adutos de Knoevenagel com malononitrila a partir de derivados do aldeídos aromáticos por radiação micro-ondas	70
2.3.4 Síntese de adutos de Knoevenagel com cianoacetamida a partir de derivados de aldeídos aromáticos por radiação micro-ondas	78
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
2.4.1 Síntese de adutos de Knoevenagel via radiação micro-ondas utilizando aldeídos e malonitrila	83
2.4.2 Síntese de adutos de Knoevenagel via radiação micro-ondas utilizando aldeídos e cianoacetamida	93
2.5 CONCLUSÃO	99
2.6 REFERÊNCIAS	100
CAPÍTULO 3	
3.1 INTRODUÇÃO	107
3.2 OBJETIVOS	117
3.2.1 Objetivo geral	117
3.2.2 Metas	117
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS	118
3.3.1 Reagentes	118
3.3.2 Equipamentos	118
3.3.3 Síntese de compostos tetrazólicos a partir de derivados de aldeídos aromáticos com malononitrila <i>via one-pot</i> por radiação micro-ondas	119
3.3.4 Síntese de compostos tetrazólicos a partir de derivados de aldeídos aromáticos com cianoacetamida <i>via one-pot</i> por radiação micro-ondas	123
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	126
3.4.1 Otimização da síntese de tetrazóis <i>via one-pot</i>	126
3.4.2 Estudo de uso de aditivos básicos e ácidos para a síntese tricomponente <i>one-pot</i> de compostos tetrazólicos utilizando malononitrila	133
3.4.3 Síntese de compostos tetrazólicos <i>one-pot</i> via radiação por micro-ondas utilizando cianoacetamida	135
3.5 CONCLUSÃO	139
3.6 REFERÊNCIAS	

CAPÍTULO 4

4.1 INTRODUÇÃO	147
4.1.1 Reações de acoplamento para a formação de ligação carbono-carbono	147
4.1.2 Acoplamento de Suzuki-Miyaura	150
4.1.2.2 Exemplos de reações de acoplamento Suzuki-Miyaura	151
4.2. OBJETIVOS	154
4.2.1 Objetivo geral	154
4.2.2 Metas	154
4.3. MATERIAIS E MÉTODOS	155
4.3.1 Reagentes	155
4.3.2 Equipamentos	155
4.3.3 Síntese de compostos bifenílicos via reações de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas	155
4.3.4 Síntese de compostos bifenílicos via reações de acoplamento de tetrazol-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas	158
4.3.5 Síntese de compostos bifenílicos via reações de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura <i>one-pot</i> por radiação micro-ondas	159
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	161
4.4.1 Reação de acoplamento de Suzuki via radiação micro-ondas	161
4.4.2 Reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura <i>one-pot</i> via radiação micro-ondas	165
4.4.3 Reação de acoplamento de tetrazol-Suzuki-Miyaura via radiação micro-ondas	168
4.5 CONCLUSÃO	170
4.6 REFERÊNCIAS	171

CAPÍTULO 5

5.1. INTRODUÇÃO	175
5.1.1 Anéis cromenos 4<i>H</i>-piranos	176
5.1.2 Mecanismo de reação para a síntese de anéis 4<i>H</i>-piranos	184
5.2 OBJETIVOS	186
5.2.1 Objetivo geral	186
5.2.2 Metas	186

5.3 MATERIAIS E MÉTODOS	187
5.3.1 Reagentes	187
5.3.2 Equipamentos	187
5.3.3 Preparação de 4 <i>H</i> -cromenos a partir de adutos de Knoevenagel e malononitrila por MO	187
5.3.4 Preparação de 4 <i>H</i> -cromenos a partir de adutos de Knoevenagel e cianoacetamida por MO	191
5.3.4 Preparação de cromeno-tetrazólicos por MO	194
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	196
5.4.1 Síntese de compostos 4 <i>H</i> -cromenos a partir de derivados de arilbenzilideno malononitrilas	198
5.4.2 Síntese de 4 <i>H</i> -cromenos a partir de derivados de 2-ciano-3-fenilacrilamida por MO	202
5.4.3 Síntese de 4 <i>H</i> -cromenos a partir de compostos tetrazólicos por MO	204
5.4.4 Estudo de resolução enantiomérica de 4 <i>H</i> -cromenos	205
5.5 CONCLUSÃO	210
5.6 REFERÊNCIAS	211
CAPÍTULO 6	
6.1. INTRODUÇÃO	219
6.1.1 Biocatálise	219
6.1.2 Uso de biopolímeros	223
6.1.2.1 Quitosana	223
6.1.2.2 Fibroína de seda	224
6.1.3 Bio-hidrogenação com microrganismos marinhos	225
6.2. OBJETIVOS	227
6.2.1 Objetivo geral	227
6.2.2 Metas	227
6.3. MATERIAIS E MÉTODOS	228
6.3.1 Síntese e biotransformação de adutos de condensação de Knoevenagel	228
6.3.1.1 Preparação de produtos de condensação de Knoevenagel (2a-k) por radiação micro-ondas	228
6.3.1.2 Isolamento e cultivo do fungo marinho <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186	231

6.3.1.3 Biotransformação de adutos de Knoevenagel 2a-2k pelo o fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186	232
6.3.1.4 Isolamento dos produtos de biotransformação pelo fungo marinho <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186	235
6.3.1.5 Preparação de 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida por radiação micro-ondas	235
6.3.1.6 Biotransformação de 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida por fungos marinhos e terrestres	236
6.3.1.7 Síntese do padrão racêmico 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida 4k	236
6.3.2 Uso da fibroína da seda como aditivo e suporte na reação de condensação de Knoevenagel	237
6.3.2.1 Preparação da fibroína solúvel extraída a partir do casulo do bicho da seda	237
6.3.2.2 Preparação de Fibroína-CuSO ₄	238
6.3.2.3 Preparação de Fibroína-Imidazol	238
6.3.2.4 Preparação de Fibroína-SiO ₂	238
6.3.2.5 Procedimento geral para a condensação de Knoevenagel usando aditivos em condições de micro-ondas	238
6.3.3 Equipamentos	239
6.3.3.1 Agitador orbital rotativo termostatizado	239
6.3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	240
6.3.3.3 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)	240
6.3.3.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	240
6.3.3.5 Outros equipamentos	241
6.3.4 Reagentes	241
6.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	242
6.4.1 Reação de condensação de Knoevenagel usando aditivos	242
6.4.2 Bio-hidrogenação dos adutos Knoevenagel pelo fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186	248
6.4.3 Caracterização de adutos de Knoevenagel reduzidos pelo fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186	252
6.4.4 Bio-hidrogenação do 2-ciano-3-(furan-2-il)acrilamida 2k' pelo fungo <i>P. citrinum</i> CBMAI 1186	262
6.5 CONCLUSÃO	269
6.6 REFERÊNCIAS	270
CAPÍTULO 7	

Conclusão geral	275
APÊNDICE	277

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1.0 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Química verde

O termo de Química Verde (QV) ou “Green Chemistry” foi usado pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) em 1998 e é associado como a *invenção, o desenvolvimento e o emprego de produtos e processos químicos com o objetivo de fornecer metodologias de baixos custos, pouca contaminação e ser autossustentável* [1].

A QV pode também ser definida como *o desenvolvimento e a implementação de processos químicos para a redução ou eliminação do uso ou geração de produtos contaminantes tanto para o meio ambiente como para o homem* [2-3]. É aplicado nos processos de tecnologia limpa, que é de interesse especialmente no setor industrial e em países onde o controle ambiental é rigoroso.

Os princípios fundamentais da QV foram descritos em doze tópicos que são recomendados para a implementação de um processo eficiente durante seu desenvolvimento seja na pesquisa ou na indústria [3].

1-Prevenção: Impedir a geração de produtos indesejados e que sejam contaminantes ambientais.

Sheldon *et al.* [4] propuseram uma ferramenta para verificar a eficiência de um processo químico em escala industrial quanto ao teor de resíduo produzido. Esta ferramenta é conhecida como *Fator E* (*Enviromental Factor*), (Equação 1.1).

$$E = \frac{\text{Massa de resíduos}}{\text{Massa do produto desejado}} \quad (\text{Equação 1.1})$$

Assim, quanto maior for o valor do *Fator E* menos eficiente será o processo químico (Tabela 1.1).

Tabela 1.1. *Fator E* em processos químicos industriais.

Aplicação industrial	Produção anual (toneladas)	<i>Fator E</i> (Kg/Kg)
Refinarias de petróleo	10 ⁶ -10 ⁸	<0,1
Química pesada	10 ⁴ -10 ⁶	<1-5
Química fina	10 ² -10 ⁴	5-50
Indústria farmacêutica	10 ¹ -10 ²	>25-100

Muitos processos químicos da indústria farmacêutica apresentam um elevado *Fator E*, uma vez que para produzir em média 10-100 toneladas de produto é gerado um *Fator E* >25-100 Kg de resíduo por quilo de produto obtido.

Um outro exemplo de aplicação do primeiro princípio da QV foi na síntese da Sertralina, medicamento empregado para o tratamento da depressão (Esquema 1.1) [5]. A metodologia tradicional foi realizada em três etapas fornecendo rendimento global de 50 %. Enquanto a metodologia por QV a reação foi realizada *one-pot* fornecendo rendimento total de 40 %.

Esquema 1.1 Exemplo de aplicação do 1º princípio da QV na síntese da Sertralina.

2-Economia atômica: Desenvolver protocolos sintéticos que maximizem a geração do produto final. Este conceito foi descrito por Trost *et al.* [6] para medir o parâmetro de eficiência de uma reação quanto à incorporação dos átomos dos reagentes no produto (Esquema 1.2).

Esquema 1.2. Exemplo de aplicação do 2º princípio da QV – A economia atômica.

Metodologia por QV: Reação de Diels-Alder

Metodologia clássica: Reação de Wittig

3-Síntese de produtos poucos perigosos: Desenvolver metodologias para as sínteses de compostos com pouca ou nenhuma toxicidade.

Um exemplo foi a síntese de policarbonato que pela metodologia de QV substituiu o gás fosgênio, altamente tóxico, pelo bicarbonato de difenila (Esquema 1.3) [7].

Esquema 1.3. Exemplo de aplicação do 3º princípio da QV na síntese do policarbonato.

Obtenção de Policarbonato por Reação Tradicional

Obtenção de Policarbonato por QV (sem fosgênio)

4-Desenho de produtos seguros: Planejar rotas de síntese direcionadas na obtenção de produtos os quais não apresentem toxicidade ou que seja minimizada.

Um exemplo deste princípio é a produção de inseticidas para o controle de pragas. Tradicionalmente foi empregado o DicloroDifenilTricloroetano (DDT). Mas, este composto apresentou altos níveis de toxicidade e além de ser um potencial agente carcinogênico. Uma alternativa foi utilizar o inseticida natural Spinosad de origem bacteriana, o qual apresentou baixo risco à saúde segundo a EPA (*Environmental Protection Agency*) (Figura 1.1) [8].

Figura 1.1. Estruturas químicas do Spinosad e do DDT.

5-Solventes e auxiliares seguros: O uso de solventes ou aditivos deve ser evitado e se for possível minimizado.

Um exemplo são as reações livres de solventes como transesterificações, condensações e rearranjos (Esquema 1.4) [9].

Li *et al.* [9] realizaram uma condensação de Krohnke em condição livre de solvente, numa reação multicomponente para fornecer derivados de piridina funcionalizadas.

Esquema 1.4. Exemplo de reação do 5º princípio de QV na ausência de solvente.

6-Eficiência de energia: O uso de energia para os processos de síntese química deve ser minimizado. No caso de usar energia externa para o processo químico devem ser conduzidos à temperatura e pressão ambiente.

Um exemplo muito empregado na síntese orgânica é a tecnologia da radiação micro-ondas devido à redução do tempo de reação e o aumento no rendimento em comparação com processo por aquecimento convencional (Esquema 1.5) [10-11].

Geyde *et al.* [10] desenvolveram a síntese do aduto de Diels-Alder entre o antraceno e o anidrido maléico aplicando as condições por micro-ondas (MO), cujo produto foi obtido com 92% em apenas 3 minutos. Enquanto a reação por aquecimento convencional (AC) forneceu rendimento similar, contudo com 4 horas.

Esquema 1.5. Exemplo de aplicação do 6º princípio de QV na síntese do aduto de Diels-Alder.

7-Use de fontes renováveis de matéria prima: Procurar sempre utilizar materiais de partida de origem renovável. Um exemplo é o emprego de D-glicose para a obtenção do ácido adípico (Esquema 1.6) [12-14].

A síntese do ácido adípico por metodologia tradicional forneceu 60 % do produto em condições drásticas como o uso de KMnO_4 e NaOH . Enquanto, o mesmo produto foi obtido por processo biotecnológico a partir da D-glicose utilizando *Escherichia coli* [12-14].

Esquema 1.6. Exemplo de 7º princípio de QV aplicada na síntese do ácido adípico.

8-Evitar a formação de derivados: Reações como derivatização, proteção/desproteção de grupos reativos ou modificações físico-químicas devem ser evitadas sempre que possível.

Um exemplo é na preparação de açúcares com maior número de carbonos. O produto (2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-oct-7-eno-1,2,3,4,5-pentaol foi sintetizado por reação de alilação direta em etanol, titânio e água sem precisar de proteger as hidroxilas (Esquema 1.7) [15].

Esquema 1.7. Exemplo do 8º princípio de QV.

9-Catálise: Implementar o uso de reagentes catalíticos predominantemente seletivos e de origem orgânica-biológica (Esquema 1.8) [16].

Por exemplo, a reação de resolução cinética dinâmica de derivados racêmicos da mandelonitrila catalisada por nitrilase I expressada em *Escherichia coli* fornecendo excessos enantioméricos de 95-99 % para derivados da (*R*)-mandelonitrila.

Esquema 1.8. Exemplo do 9º princípio de QV aplicada na síntese de derivados da mandelonitrila enantiomericamente puros ou enriquecidos.

10-Planejamento de degradação: As rotas sintéticas devem ser desenvolvidas para que o produto final obtido, após sofrer degradação ou eliminação, seja seguro ou não prejudicial ao meio ambiente.

Um exemplo são os detergentes biodegradáveis que tem cadeias lineares de hidrocarbonetos sem ramificações na sua estrutura frente aos detergentes não biodegradáveis que apresentam ramificações na sua estrutura (Figura 1.2) [17].

Figura 1.2. Estruturas químicas de detergentes biodegradáveis e não biodegradáveis.

11-Prevenção da poluição: Ter um planejamento sobre as metodologias analíticas que serão usadas no monitoramento e controle durante o processo sintético em tempo real prevenindo a formação de subprodutos tóxicos.

A principal razão de aplicação deste tipo de abordagem analítica frente as técnicas analíticas tradicionais que requerem a coleta de amostra e transporte que estão fora do lugar de análise. Entretanto, com sensores eletroquímicos automatizados pode se estabelecer parâmetros analíticos desejados como limites de detecção ou quantificação *in situ* proporcionando uma maior rapidez para as análises e por conseguinte ajuste no processo de produção em tempo real [18].

12-Química segura para prevenção de acidentes: As substâncias que serão manipuladas no processo de reação química devem ter baixa toxicidade, alta estabilidade térmica, não explosivas e não inflamáveis.

Exemplos de produtos de origem natural, como açúcares, aminoácidos, água, polissacarídeos.

Uma técnica que converge vários princípios da Química Verde é a radiação micro-ondas (MO) aplicada em química orgânica. Na última década, a radiação de micro-ondas foi usada para simplificar e melhorar o desempenho de muitas reações clássicas.

1.2 Fundamentos básicos sobre a radiação micro-ondas

Por definição as micro-ondas são ondas electromagnéticas portadoras de energia que se encontram em uma frequência de 300-300.000 MHz do espectro electromagnético (entre o infravermelho e as ondas de rádio) (Figura 1.3) [19].

Figura 1.3. Representação do espectro electromagnético (adaptado da referência 19).

A radiação micro-ondas são consideradas não ionizantes com capacidade de originar movimentos moleculares por condução iônica e polarização dipolar, mas não fazem modificações na estrutura molecular [20-21]. A energia de um fóton por radiação micro-ondas está entorno de 0,037 Kcal/mol, energia insuficiente para promover a quebra de uma ligação química covalente (80-120 Kcal/mol).

No processo de aquecimento convencional uma fonte de energia externa fornece energia em forma de calor ao recipiente (ex. balão) e esta é transferida gradualmente desde a superfície do recipiente até a amostra (solvente ou reagente) (Figura 1.4a). No aquecimento por radiação micro-ondas a energia é transferida diretamente para a amostra sem a ocorrência de uma transferência gradual de energia (Figura 1.4b) [22]. Este tipo de aquecimento por MO dependerá da capacidade de cada componente (solvente, reagente, tipo de material do frasco) para a absorção de energia das micro-ondas e convertê-la em calor [22].

Figura 1.4. Ilustração para os tipos de aquecimentos (a) convencional e (b) radiação micro-ondas.

O aquecimento por radiação micro-ondas é conhecido como aquecimento dielétrico que transforma a energia eletromagnética em calor por dois mecanismos principais. O primeiro é a *rotação de dipolo* que pode ser associado com o efeito de alinhamento das moléculas (com dipolos permanentes ou induzidos) ao campo elétrico aplicado (Figura 1.5A). Assim que for retirado o campo elétrico as moléculas retornam ao estado desordenado, e a energia absorvida pela orientação dos dipolos é liberada em forma de calor (Figura 1.5B) [23].

Figura 1.5. Ilustração do comportamento molecular na presença de um campo eletromagnético (A) moléculas de água polarizadas com o campo eletromagnético aplicado e (B) moléculas de água quando o campo eletromagnético é retirado. E= campo eletromagnético [23].

O segundo mecanismo é chamado de *condução iônica* que consiste na transferência do calor gerado através de perdas por fricção, que ocorrem por migração de íons dissolvidos no solvente frente à ação de um campo eletromagnético (Figura 1.6) [24].

Figura 1.6. Ilustração da condução iônica em presença de um campo eletromagnético [24].

A energia das micro-ondas ao interagir com o material ou substância apresenta três possibilidades de interação: *reflexão*, *transparência* ou *absorção* (Figura 1.7). São denominados de *materiais refletivos* à radiação micro-ondas aqueles que ao se incidirem às ondas eletromagnéticas não sofrem nenhuma modificação ou interação relacionado ao fator de perda dielétrica fazendo que o material não apresente absorção da energia, por exemplo, alumínio, silicone, aço.

Uma substância é transparente à radiação micro-ondas quando a energia atravessa o material sem provocar nenhum efeito. Quando o material tem absorção da energia da radiação micro-ondas ocorre interações entre a radiação eletromagnética com o dipolo elétrico da molécula [24]. Algumas propriedades físico-químicas como a capacidade

calorífica, estrutura molecular, concentração e constante dielétrica influenciam na absorção da energia de micro-ondas (Figura 1.7) [24].

Figura 1.7. Propriedades de materiais com características em refletir, ser transparente ou absorver a energia de micro-ondas [24].

O aquecimento por radiação micro-ondas está relacionado às propriedades dielétricas do material que dependerá da sua habilidade para a conversão de energia eletromagnética em forma de calor. Este valor é determinado pelo fator de dissipação ($\tan \delta$) que pode ser obtido pela razão do fator de perda dielétrica (ϵ'') e a constante dielétrica (ϵ') do material. O fator de perda dielétrica de um material está relacionado com a eficiência de conversão de energia eletromagnética em energia calorífica [24].

A constante dielétrica de uma substância está relacionada com a polaridade das moléculas. Portanto, um maior valor do fator de dissipação a molécula apresentará ou será melhor aquecida nas micro-ondas [24]. Soluções iônicas e moléculas polares absorvem fortemente a radiação de micro-ondas devido possuírem momentos de dipolos permanentes. Em contraste, solvente apolares como o hexano, não apresentam aquecimento nas micro-ondas. A Tabela 1.2 estão os parâmetros físicos de alguns dos solventes empregados usando a radiação micro-ondas [23].

Tabela 1.2 Propriedades físicas de solventes comumente usados em MO [22-23].

Solvente	Constante dielétrica (ϵ')	Perda dielétrica (ϵ'')	$\tan \delta$	Ponto de ebulição (°C)
Hexano	1,89	0,038	0,020	69
Tolueno	2,4	0,096	0,040	111
Diclorometano	9,1	0,382	0,042	40
THF	7,4	0,348	0,047	66
Acetona	20,7	1,118	0,054	56
Acetato de etila	6,0	0,354	0,054	77
Acetonitrila	37,5	2,325	0,062	82
Nitrometano	36,0	2,034	0,064	101
Clorofórmio	4,8	0,437	0,091	61
Clorobenzeno	2,6	0,263	0,101	132
Água	78,3	9,889	0,123	100
1,2-Dicloroetano	10,4	1,321	0,127	83
Metanol	32,6	21,483	0,659	65
2-Propanol	19,9	14,622	0,799	82
Etanol	24,3	22,866	0,941	78

ϵ' = constante dielétrica; ϵ'' = perda dielétrica.

A partir do século XXI a técnica por radiação de micro-ondas tem aumentado sua aplicação em reações orgânicas devido às vantagens que apresenta em comparação ao aquecimento convencional e tem sido desenvolvidas muitas metodologias sintéticas, como por exemplo, na síntese de compostos heterocíclicos [25-26], organometálicos [27], biocatálise [28], catálise homogênea e heterogênea [29].

1.3 Uso da radiação micro-ondas na síntese orgânica

As primeiras reações orgânicas feitas em reatores de micro-ondas domésticos datam de 1986 em trabalhos independentes de Gedye [10] e Guigere [11]. Estas reações foram efetuadas em um recipiente selado comparando o desempenho da reação com o aquecimento convencional e com as micro-ondas. Observou-se uma forte redução do tempo de reação apesar de não ter sido controlada a pressão do sistema [11]. Uma das vantagens do uso das micro-ondas para uma reação química é que a energia fornecida pelo reator irá interagir diretamente com a amostra (Esquema 1.9).

Esquema 1.9. Reações em reator de micro-ondas doméstico desenvolvidas por Gedye e Guigere.

Atualmente os reatores de micro-ondas são seguros e permitem o controle de muitos parâmetros reacionais, por exemplo, a temperatura, a pressão e a potência fornecendo uma maior reprodutibilidade das reações [30]. Estes tipos de reatores nos últimos 15 anos têm sido implementados em pesquisas de síntese orgânica para simplificar e melhorar as condições reacionais. Em geral, tem sido observado que protocolos sintéticos aplicando radiação de micro-ondas têm apresentado reações mais limpas, rápidas e com maiores rendimentos em comparação às reações efetuadas em condições convencionais de aquecimento em chapa térmica e sistemas de refluxo [31].

1.4 Exemplos de aplicação da radiação de micro-ondas em síntese orgânica e biocatálise

A tecnologia de radiação de micro-ondas está em concordância com os princípios da QV e tem sido empregada em reações orgânicas e em reações catalisadas por enzimas.

Ribeiro *et al.* [32] desenvolveram a resolução cinética enzimática (RCE) da ($\pm$)-mandelonitrila com a lipase de *Candida antarctica* (CALB) por aquecimento convencional e por radiação de micro-ondas em tolueno. O acetato de (*S*)-ciano(fenil)metila foi obtido com um excesso enantiomérico de 92 % e com rendimento de 35 % em 8 horas de reação por MO. A transesterificação da ($\pm$)-mandelonitrila foi realizada por aquecimento convencional fornecendo a (*R*)-mandelonitrila com excesso enantiomérico de 51 % e o acetato de (*S*)-mandelonitrila com *e.e.* = 98 % após 184 h de reação (Esquema 1.10) [32].

Esquema 1.10. RCE da ($\pm$)-mandelonitrila por MO.

Yu *et al.* [33] estudaram a resolução cinética do ($\pm$)-2-octanol por radiação de micro-ondas catalisada pela CALB empregando acetato de vinila a 60 °C por 2 h de reação. Foi obtido o (*S*)-2-octanol com uma conversão de 50,5 % e excesso enantiomérico de 99 %. A reação também forneceu o produto *R*-acetilado com uma conversão de 50 % em 2 horas de reação (Esquema 1.11) [33].

Esquema 1.11. RCE do ($\pm$)-2-octanol por MO catalisada por CALB.

Yadav *et al.* [34] estudaram a resolução enzimática do ($\pm$)-1-(1-naftil)etanol por radiação micro-ondas e aquecimento convencional. Foram avaliadas três lipases: Novozyme 435[®] (*Candida antarctica*), lipozyme RMIM (*Rhizomucor miehei*) e lipozyme TLIM (*Thermomyces lanuginosus*). A melhor enzima foi a Novozyme 435[®] fornecendo uma conversão de 48 % e um excesso enantiomérico de 90 % para o (*R*)-1-(naftalen-1-il)etan-1-ol. Por aquecimento convencional foi obtido o mesmo produto após 5 h de reação com conversão de 40 % e excesso enantiomérico de 64 % (Esquema 1.12) [34].

Esquema 1.12. RCE do ($\pm$)-1-(1-naftalen-1-il) etan-1-ol por MO catalisada por Novozyme 435[®].

Yadav *et al.* [35] investigaram a esterificação quimioenzimática do ácido 4-cloro-2-metoxifenoxiacético (MCPA) usando enzimas imobilizadas (Novozyme 435[®], lipozyme TLIM, lipozyme RMIM) por radiação de micro-ondas. A enzima Novozyme 435[®] apresentou os melhores resultados fornecendo uma conversão de 83 % (60 °C, 300 W) em 6 h de reação na presença de *n*-butanol (Esquema 1.13) [35].

Esquema 1.13. Esterificação do MCPA por MO catalisada por Novozyme 435[®].

Yu *et al.* [36] aplicaram a radiação micro-ondas na isomerização da xilose para xilulose pela enzima imobilizada xilose isomerase. A reação forneceu a xilulose com um rendimento de 68 % (320 W, 3 h) empregando como líquido iônico o cloreto de 1-etil-3-metilimidazol ([EMIM][Cl]) (Esquema 1.14) [36].

Esquema 1.14. Isomerização enzimática de xilose para xilulose por MO.

Kerep *et al.* [37] desenvolveram uma síntese quimioenzimática de polímeros por radiação micro-ondas. A ϵ -caprolactona foi polimerizada com 2-mercaptoetanol (iniciador) por aquecimento convencional e por radiação micro-ondas. A polimerização foi realizada em condições similares (MO = refluxo, 90 min, 200 W; AC = banho de óleo, refluxo, 90 min) e forneceram rendimentos elevados (MO = M_n : 3600 g/mol, 29 % rend; AC = M_n : 3400 g/mol, 18 % rend) (Esquema 1.15) [37].

Esquema 1.15. Polimerização da ϵ -caprolactona por MO e AC catalisada por Novozyme 435[®].

Neste trabalho foram feitas reações de condensação de Knoevenagel (**Capítulo 2**), síntese de compostos tetrazólicos (**Capítulo 3**), reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura (**Capítulo 4**) e a obtenção de cromenos (**Capítulo 5**) implementando o uso da radiação micro-ondas nas metodologias sintéticas e comparando com os resultados com aquecimento convencional.

Além disso, os produtos de condensação de Knoevenagel obtidos no **Capítulo 2** foram empregados para desenvolver reações de bio-hidrogenação empregando o fungo de ambiente marinho *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 na forma livre.

1.5 REFERÊNCIAS

- [1] ANASTAS, P.T.; WARNER, J. **Green chemistry**: theory and practice. Oxford: Oxford University, 1998. 152 p.
- [2] ANASTAS, P.T.; NIES, J. D.; DEVITO, S. C. Computer-assisted alternative synthetic design for pollution prevention at the U.S. environmental protection agency. **ACS Symposium Series**, v. 577, p. 166-184, 1994.
- [3] GRAEDEL, T.E. Green chemistry as systems science. **Pure and Applied Chemistry**, v. 73, p. 1365-3075, 2001.
- [4] SHELDON, R. A. Organic synthesis; past, present and future. **Chemistry & Industry**, v. 23, p. 903-906, 1992.
- [5] TABER, G. P.; PFISTER, D. M.; COLBERG, C. A New and simplified process for preparing N-[4-(3,4-dichlorophenyl)-3,4-dihydro-1(2*H*)-naphthalenyldene]methanamine and a telescoped process for the synthesis of (1*S-cis*)-4-(3,4-dichlorophenyl)-1,2,3,4-tetrahydro-*N*-methyl-1-naphthalenamine mandelate: Key intermediates in the synthesis of sertraline hydrochloride. **Organic Process Research & Development**, v. 8, p. 385-388, 2004.
- [6] TROST, B. M. The atom economy-a search for synthetic efficiency. **Science**, v. 254, p. 1471-1477, 1991.
- [7] ARESTA, M.; QUARANTA, E. Carbon dioxide: a substitute for phosgene. **Chemtechnology**, v. 27, p. 32-40, 1997.
- [8] MERTZ, F. P.; YAO, R. C. *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. Isolated from soil collected in a sugar mill rum still. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 1, p. 34-39, 1990.
- [9] LI, L.; ZHANG, Y. Z.; YANG, C.; LIU, E.; GOLEN, J. A.; ZHANG, G. One-dimensional copper(II) coordination polymers built on 40-substituted 4,20:60,400- and 3,20:60,300-terpyridines: Syntheses, structures and catalytic properties. **Polyhedron**, v. 105, p. 115-122, 2016.

-
- [10] GEDYE, R.; SMITH, F.; WESTAWAY, K.; ALI, H.; BALDISERA, L.; LABERGE, L.; ROUSELL, J. The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. **Tetrahedron Letters**, v. 27, p. 279-281, 1986.
- [11] GIGUERE, R. J.; BRAY, T. L.; DUNCAN, S. M.; MAJETICH, G. Application of commercial microwave ovens to organic synthesis. **Tetrahedron Letters**, v. 27, p. 4945-4947, 1986.
- [12] ANASTAS, P. T.; WARNER, J. C.; **Green chemistry: theory and practice**. Oxford: Oxford University, 2000. P. 94-95.
- [13] DRATHS, K. M.; FROST, J. W. Synthesis using plasmid-based biocatalysis: Plasmid assembly and 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate production. **Journal of American Chemical Society**, v. 112, p. 1657-1659, 1990.
- [14] DRATHS, K. M.; FROST, J. W. Conversion of D-glucose into catechol: The not-so-common pathway of aromatic biosynthesis. **Journal of American Chemical Society**, v. 113, p. 9361-9363, 1991.
- [15] SCHMID, W.; WHITESIDES, G. M. Carbon-carbon bond formation in aqueous ethanol: Diastereoselective transformation of unprotected carbohydrates to higher carbon sugars using allyl bromide and tin metal. **Journal of American Chemical Society**, v. 113, p. 6674-6675, 1991.
- [16] DESANTIS, G.; ZHU, Z.; GREENBERG, W. A.; WONG, K.; CHAPLIN, J.; HANSON, S. R.; FARWELL, B.; NICHOLSON, L. W.; RAND, C. L.; WEINER, D. P.; ROBERSON, D. E.; BURK, M. J. An enzyme library approach to biocatalysis: Development of nitrilases for enantioselective production of carboxylic acid derivatives. **Journal of American Chemical Society**, v. 124, p. 9024-9025, 2002.
- [17] DA CUNHA, B. R. **O papel da química verde no desenvolvimento sustentável e a aplicação dos seus princípios na indústria química**. 2010. 32 f. Monografia (Bacharelado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.
- [18] ANASTAS, P.T. Green chemistry and the role of analytical methodology development. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**. v. 29, p. 167-175, 1999.
- [19] SOUZA, R. O. M. A.; MIRANDA, L. S. M. E. Irradiação de micro-ondas aplicada à síntese orgânica: Uma história de sucesso no Brasil. **Química Nova**, v. 34, p.497-506, 2011.

-
- [20] BASSYOUNI, F. A.; ABU-BAKR, S. M.; REHIM, M. A. Evolution of microwave irradiation and its application in green chemistry and biosciences. **Research on Chemical Intermediates**, v. 38, 283–322, 2012.
- [21] RISSO, M.; MAZZINI, M.; KRÖGER, S.; SAENZ-MÉNDEZ, P.; SEOANE, G.; GAMENARA, D. Microwave-assisted solvent-free lipase catalyzed transesterification of beta-ketoesters. **Green Chemistry Letters Review**, 2012, 5, 539-543.
- [22] FATMA, A.; BASSYOUNI, S.; ABU-BAKR, M.; REHIM, M. A. Evolution of microwave radiation and its application in green chemistry and bio- sciences. **Research on Chemical Intermediates**, v.38, p. 283–322, 2012.
- [23] KINGSTON, H. M.; JASSIE, L. B. **Introduction to microwave sample preparation: theory and practice**. Washington: American Chemical Society, 1988. 288 p.
- [24] THOSTENSON, E.T.; CHOU, T.W. Microwave processing: Fundamentals and applications. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 30, p. 1055–1071, 1999.
- [25] KAPPE, C.O.; STADLER, A. **Microwave theory, in microwaves in organic and medicinal chemistry**. Weinheim: Wiley, 2006. 409 p.
- [26] SANSEVERINO, A. M. Micro-ondas em síntese orgânica. **Química Nova**, v. 25, p. 660–667, 2002.
- [27] KURZ, T., WIDYAN, K. Conventional and microwave-assisted conversion of substituted 3-amino-oxazolidin-2,4-diones into *N*′, *N*′-disubstituted α -hydroxyhydrazides. **Journal of Organic Chemistry**, v. 70, p. 3108-3112, 2005.
- [28] KURZ, T.; WIDYAN, K. Microwave-assisted conversion of *N*-substituted oxazolidin-2,4-diones into α -hydroxyamides. **Tetrahedron**, v. 61, p. 7247-7251, 2005.
- [29] ARVELA, R.; LEADBEATER, N. Suzuki coupling of aryl chlorides with phenylboronic acid in water, using microwave heating with simultaneous cooling. **Organic Letters**, v. 7, p. 2101-2104, 2005.
- [30] BACHU, P.; GIBSON, J.; SPERRY, J.; BRIMBLE, M. The influence of microwave irradiation on lipase-catalyzed kinetic resolution of racemic secondary alcohols. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 18, p. 1618-1624, 2007.

-
- [31] DE SOUZA, R. O. M. A.; MIRANDA, L. S. M. Recent advances in the Morita-Baylis-Hillman reaction under microwave irradiation. **Mini-Reviews Organic Chemistry**, v. 7, p. 212-220, 2010.
- [32] RIBEIRO, S.S.; DE OLIVEIRA, J.R.; PORTO, A.L.M. Lipase-catalyzed kinetic resolution of ($\pm$)-mandelonitrile under conventional condition and microwave radiation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 1395–1399, 2012.
- [33] YU, D.; DONGXIAO, M.; WANG, S.; WANG, Y.; PAN, Y.; FANG, X. Microwave-assisted enzymatic resolution of (*R*, *S*)-2-octanol in ionic liquid. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 479–484, 2012.
- [34] YADAV, G.D.; DEVENDRAN, S. Lipase catalyzed kinetic resolution of ($\pm$)-1-(1-naphthyl) ethanol under microwave radiation. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 81, p. 58–65, 2012.
- [35] SHINDE, S.D.; YADAV, G.D. Process intensification of immobilized lipase catalysis by microwave radiation in the synthesis of 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA) esters. **Biochemical Engineering Journal**, v. 90, p. 96–102, 2014.
- [36] YU, D.; WANG, Y.; WANG, C.; MA, D.; FANG, X. Combination use of microwave radiation and ionic liquid in enzymatic isomerization of xylose to xylulose. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 79, p. 8–14, 2012.
- [37] KEREPI, P.; RITTER, H. Chemoenzymatic synthesis of polycaprolactone-block-polystyrene via macromolecular chain transfer reagents. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 28, p. 759–766, 2007.

CAPÍTULO 2
REAÇÃO DE CONDENSAÇÃO DE
KNOEVENAGEL

2.1 INTRODUÇÃO

2.1.1 Reação de adição-condensação aldólica

Existem numerosos processos bioquímicos na natureza que estão relacionados com as reações de condensação aldólica que fazem parte fundamental em etapas biossintéticas para a obtenção de produtos naturais. A condensação à carbonila ocorre em compostos como os aldeídos, as cetonas, os ésteres, as amidas, os anidridos, as nitrilas [1-2].

Por exemplo, na síntese assimétrica da Ferensimicina B, um produto da classe de ionóforo derivado de antibióticos de poliéter presentes em culturas de *Streptomyces cacaoi*, tem como etapa chave a conexão de duas subunidades via reação de adição aldólica (Figura 2.1)

Figura 2.1. Síntese de Ferensimicina B via adição aldólica.

Para o desenvolvimento de uma adição aldólica é necessário a presença de um α -hidrogênio ácido adjacente ao composto carbonilado [3]. Este tipo de condensação tem como etapa chave o ataque nucleofílico do ânion (enol ou enolato) ao centro eletrofílico (grupo carbonílico) que define o desenvolvimento da reação [4-5].

Mecanicamente a adição aldólica favorece a formação do intermediário reacional que pode ser um β -hidróxi-aldeído ou uma β -hidróxi-cetona, o qual passa por uma reação de condensação para fornecer os produtos insaturados ou conjugados ao grupo carbonila (aldeídos ou cetonas α,β -insaturadas) seguida da eliminação de uma molécula de água [6]. A etapa da desidratação pode proceder via catálise ácida ou básica em temperaturas elevadas ($>60\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Esquema 2.1) [1].

Esquema 2.1. Mecanismo para a reação de condensação aldólica em meio ácido e básico (Adaptado da referência 1).

A condensação aldólica é classificada em simétrica onde os compostos carbonílicos são iguais ou condensação mista onde os compostos carbonílicos são diferentes (Esquema 2.2) [1,3].

Esquema 2.2. Reação da condensação aldólica (adaptado das referências 1 e 3).

A adição aldólica mista tem possibilidade de formação de vários produtos devido ao uso de dois compostos carbonílicos distintos como foi no caso da reação entre o acetaldeído e o propanal fornecendo quatro adutos aldólicos (condensação mista e simétrica). Assim, há possibilidade de obtenção de vários produtos o que é inviável sinteticamente [3].

Contudo, devido a importância da condensação aldólica mista para obtenção de moléculas complexas desenvolveram-se protocolos possibilitando a sua aplicação na formação de um produto principal [6]. Uma alternativa foi o uso de um composto

carbonílico que não contenha α -hidrogênio ácido. Outra condição foi o uso de um composto carbonílico que possua um caráter mais ácido que o outro, sendo facilmente favorecido a formação do seu respectivo íon enolato. Com estas estratégias estabelecidas há formação seletiva de produtos aldólicos em bons rendimentos [6].

Existem muitas reações de condensação mista que cumprem com este requisito, por exemplo, a síntese do éster malônico, a reação de Michael, anelação de Robinson, reação de Mukaiyama, bem como, a condensação de Knoevenagel [3,6-9].

2.1.2 Reação de condensação de Knoevenagel

A condensação de Knoevenagel consiste na reação entre um composto carbonílico e um composto contendo um grupo metileno ativo, resultando na formação do aduto com uma ligação dupla carbono-carbono [10]. O primeiro estudo (1894) deste tipo de reação foi realizado por Emil Knoevenagel [11] quem desenvolveu a condensação aldólica entre o formaldeído e o malonato de dietila usando dietilamina para fornecer o bis-aduto malonato de dietila como produto (Esquema 2.3).

Esquema 2.3. Primeira condensação de Knoevenagel para a formação do bis-aduto de malonato de dietila.

Knoevenagel visando desenvolver uma metodologia para a obtenção de olefinas substituídas (1896) utilizou benzaldeído, acetoacetato de etila e piperidina a 0 °C [12]. A reação forneceu o aduto de Knoevenagel após 2 h de reação com rendimento de 68 % (Esquema 2.4).

Esquema 2.4. Condensação de Knoevenagel entre o benzaldeído e o acetoacetato de etila.

Um fator importante da condensação de Knoevenagel é a reatividade dos compostos contendo metilenos ativos os quais estão diretamente ligados a grupos eletroatratores, por exemplo, CN, COOR, COR (R= alifáticos, aromáticos, amidas, ésteres, nitrilas). Estes grupos podem deslocalizar e estabilizar a carga do ânion correspondente e tornar os α -hidrogênios metilênicos mais acídicos [2,3].

A condensação de Knoevenagel é uma ferramenta sintética eficaz para o aumento da cadeia carbônica, como também, a sua funcionalização [13] sendo aplicada em síntese de compostos orgânicos bioativos [14], polímeros [15], intermediários sintéticos [16] (Tabela 2.1).

Tabela 2.1. Exemplos de adutos de Knoevenagel com potencial aplicação em química fina e farmacêutica.

Reação	Aplicação/Referência
<p>(rend = 75 %)</p>	Atividade antibacteriana Kumar <i>et al.</i> [17]
<p>(rend = 85 %)</p>	Atividade antimicrobiana Behbehani <i>et al.</i> [18]
<p>(rend = 77 %)</p>	Atividade antimicrobiana Al-Mousawi <i>et al.</i> [19]
<p>(rend = 72 %)</p>	Inibidor da enzima α -glucosidase Kashtoh <i>et al.</i> [20]
<p>(rend = 72 %)</p>	Antidepressivo Mishra <i>et al.</i> [21]
<p>(rend = 95 %)</p>	Terapias de câncer Ramesh <i>et al.</i> [22]
<p>(rend = 67 %)</p>	Propriedades vasodilatadores Girgis <i>et al.</i> [23]

MgO = Óxido de manganésio. TEA = Trietilamina. DMF = Dimetilformamida. TBAI = Iodeto de tetrabutilamônio. DMA = Dimetilacetamida.

2.1.2.1 Aplicação da radiação micro-ondas na condensação de Knoevenagel

Neste trabalho a técnica da radiação micro-ondas foi utilizada com o objetivo de auxiliar as reações de condensação de Knoevenagel visando diminuir o tempo de reação. A radiação de micro-ondas permite acelerar as reações aldólicas especialmente quando são usados aldeídos como compostos de partida devido suas altas reatividades. Muitos estudos na literatura empregaram a radiação micro-ondas em diferentes metodologias e estratégias sintéticas e comprovaram a eficiência que apresenta em comparação com os métodos convencionais [24-41].

A seguir serão apresentados alguns exemplos de condensação de Knoevenagel utilizando diferentes metodologias sintéticas partindo-se de aldeídos e derivados de metilenos acídicos ativos empregando a radiação micro-ondas.

Yadav *et al.* [24] realizaram um estudo comparativo da condensação de Knoevenagel entre os métodos convencionais de agitação aquecimento e a radiação micro-ondas. Neste estudo foi utilizado o trifenilfosfanato (TPP), vários aldeídos aromáticos, assim como, cianoacetato de etila e a malononitrila (grupos com metilenos ativos). Em geral, foram obtidos bons rendimentos para ambas as metodologias. Contudo, observou-se uma diferença significativa no tempo de reação de uma faixa de 4 horas em condição convencional para apenas 2-5 min por radiação micro-ondas (Tabela 2.2).

Tabela 2.2. Condensação de Knoevenagel entre aldeídos aromáticos e cianoacetato de etila ou malononitrila catalisada por TPP em aquecimento convencional (AC) e micro-ondas (MO).

R ₁	R ₂	Tempo (h) ^a	Rend (%) ^a	Tempo (min) ^b	Rend (%) ^b
H	COOEt	4,0	85	3	90
4-Cl	COOEt	3,0	87	3	92
4-NO ₂	COOEt	2,5	90	2	95
4-OCH ₃	COOEt	4,5	82	4	85
4-CH ₃	COOEt	3,5	85	3	91
4-OH	COOEt	5,0	78	4	82
3- OCH ₃ , 4 OCH ₃ -	COOEt	5,0	79	4	82
5-OCH ₃	COOEt	5,5	85	5	89
2-OH	COOEt	5,5	85	5	89
4-OCH ₃	CN	4,0	83	4	86

^aAquecimento convencional (80 °C, 2,5-4 h)^bMicro-ondas (80 °C, 2-5 min)

TPP = trifenilfosfanato

Rend = rendimento

Rai *et al.* [25] desenvolveram a síntese de piridonas utilizando os adutos de Knoevenagel obtidos a partir de derivados de benzaldeído e cianoacetamida. Observou-se que foram obtidos melhores rendimentos e tempos significativamente inferiores (minutos) quando utilizaram a radiação micro-ondas para a obtenção do aduto de Knoevenagel (Tabela 2.3).

Tabela 2.3. Condensação de Knoevenagel entre aldeídos aromáticos e cianoacetamida na ausência de catalisador por aquecimento convencional (AC) e micro-ondas (MO).

R	Tempo (h) ^a	Rend (%) ^a	Tempo (s) ^b	Rend (%) ^b
H	4	98	20	99
4-Cl	6	92	30	98
3-OCH ₃ , 4-OCH ₃	7,5	91	50	98
4-OCH ₃	7	93	40	97
4-CH ₃	5	94	25	99
3-NO ₂	8	85	60	96
2-NO ₂	9	75	70	92
4-NO ₂	8,5	80	65	95

^aAquecimento convencional (refluxo, 4-9 h)^bMicro-ondas (refluxo, 20-70 s, 60 W)

Rend = rendimento

Taduri *et al.* [26] desenvolveram uma estratégia para as reações de condensação de Knoevenagel entre aldeídos e cianoacetato de etila empregando Alum- Cs_2CO_3 (sólido com propriedades básicas) por radiação micro-ondas e por aquecimento convencional. Rendimentos elevados (>90 %) foram obtidos entre 3-5 minutos por radiação micro-ondas (450 W) em relação a 120-180 minutos por aquecimento convencional. A vantagem dessa metodologia foi o reuso do catalisador por 6 ciclos sem promover perdas significativas dos rendimentos (Tabela 2.4).

Tabela 2.4. Condensação de Knoevenagel utilizando aldeídos aromáticos e cianoacetato de etila catalisada por alum- Cs_2CO_3 por aquecimento convencional (AC) ou micro-ondas (MO).

$$\text{Ar}-\text{CHO} + \text{NC}-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{Et} \xrightarrow[\text{H}_2\text{O, refluxo AC ou MO}]{\text{Alum-}\text{Cs}_2\text{CO}_3} \text{Ar}-\text{CH}=\text{C}(\text{CN})-\text{CO}_2\text{Et}$$

Ar	Tempo (min) ^a	Rend (%) ^a	Tempo (min) ^b	Rend (%) ^b
C ₆ H ₅	180	94	5	94
4-ClC ₆ H ₄	180	94	5	90
4-OHC ₆ H ₄	150	92	4	90
3-NO ₂ C ₆ H ₄	150	90	4	94
4-CH ₃ C ₆ H ₄	120	86	4	90
2-furano	120	88	5	92

^aAquecimento convencional (100 °C, 120-180 min)

^bMicro-ondas (100 °C, 4-5 min)

Rend = rendimento

2.1.2.2 Aplicação da radiação micro-ondas na condensação de Knoevenagel usando malononitrila por radiação micro-ondas

O primeiro estudo via condensação de Knoevenagel usando a malononitrila por radiação micro-ondas foi descrito por De la Cruz *et al.* [27] os quais realizaram a reação em um reator de micro-ondas doméstico (Esquema 2.5).

Esquema 2.5. Condensação de Knoevenagel entre derivados de benzaldeído e malononitrila empregando sílica gel por MO.

Yuan *et al.* [28] também desenvolveram um protocolo sintético para a reação de condensação de Knoevenagel usando $\text{MgC}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ sem o uso de solvente por radiação micro-ondas. Os adutos de Knoevenagel foram obtidos com rendimentos de 91-96 % para os derivados os benzaldeído e 81 % para o furfural (Esquema 2.6).

Esquema 2.6. Condensação de Knoevenagel entre derivados de benzaldeído ou furfural e malononitrila usando $\text{MgC}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ por MO.

Sabitha *et al.* [29] estudaram a síntese de Knoevenagel entre aldeídos aromáticos com a malononitrila empregando LiCl na ausência de solvente à temperatura de 110 °C por radiação micro-ondas (600 W). A vantagem deste protocolo foi a obtenção de altos rendimentos em um período de 2-5 minutos (Esquema 2.7).

Esquema 2.7. Condensação de Knoevenagel usando LiCl em condições livres de solvente por MO.

Balalaie *et al.* [30] descreveram o uso de acetato de amônia com alumina para a reação aldólica entre aldeídos aromáticos e malononitrila sem solvente por radiação micro-ondas (850 W). As reações apresentaram rendimentos elevados em tempos entre 3-8 minutos (Esquema 2.8).

Esquema 2.8. Condensação de Knoevenagel em condições livres de solventes usado acetato de amônia por MO.

R = H	(6 min, rend = 80 %)
4-CH ₃	(3 min, rend = 87 %)
3-NO ₂	(3 min, rend = 64 %)
4-NO ₂	(6 min, rend = 85 %)
4-OCH ₃	(8 min, rend = 83 %)

El-Rahman *et al.* [31] utilizaram aldeídos aromáticos, malononitrila e água como solvente por radiação micro-ondas (800 W) em tempos de 1-2 min fornecendo rendimentos de até 95 % para os adutos de Knoevenagel (Esquema 2.9).

Esquema 2.9. Condensação de Knoevenagel usando água como solvente por MO.

R = H	(2 min, rend = 89 %)
2-Br	(1 min, rend = 90 %)
4-Br	(1 min, rend = 92 %)
2-Cl	(1 min, rend = 93 %)
4-Cl	(1 min, rend = 92 %)
4-F	(2 min, rend = 90 %)
4-CH ₃	(1,5 min, rend = 90 %)
4-OCH ₃	(0,5 min, rend = 90 %)
2-OH	(1,5 min, rend = 90 %)
4-OH	(1 min, rend = 93 %)
2-Cl, 5-NO ₂	(1 min, rend = 95 %)
4-OH, 3-OCH ₃	(0,5 min, rend = 95 %)

Peng *et al.* [32] desenvolveram uma nova estratégia para a obtenção de adutos de Knoevenagel usando aldeídos aromáticos, malononitrila em condições de Química Verde usando etanol como solvente e como catalisador a Urotropina (Esquema 2.10). Foram obtidos rendimentos de até 94 % à temperatura ambiente por radiação micro-ondas (300 W) em períodos de 1-3 min para os derivados de benzilideno malononitrila.

Esquema 2.10. Condensação de Knoevenagel usando aldeídos aromáticos, malononitrila e Urotropina por MO.

2.1.2.3 Aplicação da radiação micro-ondas na condensação de Knoevenagel usando cianoacetamida

Chaitanya *et al.* [33] mostraram a síntese de Knoevenagel empregando uma mistura de NH₄OAc e AcOH, aldeídos aromáticos e derivados de metilenos ativos (malononitrila, cianoacetamida e cianoacetato de etila) por radiação micro-ondas (280 W). Foram obtidos rendimentos de até 98 % em menos de 2 minutos para os adutos de Knoevenagel (Tabela 2.5).

Tabela 2.5. Condensação de Knoevenagel usando NH₄OAc/AcOH por MO.

$\text{R}_1\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CHO} + \text{NC-CH}_2\text{-R}_2 \xrightarrow[130\text{ }^\circ\text{C, 280 W}]{\text{NH}_4\text{OAc/AcOH}} \text{R}_1\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CH=C(R}_2\text{)-CN}$		
R ₁	R ₂	Rend (%)
H	CN	98
4-Cl	CN	99
4-OCH ₃	CN	95
4-NO ₂	COOEt	94
4-CH ₃	CONH ₂	94
4-Cl	CONH ₂	98

Rend = rendimento

Mogilaiah *et al.* [34] desenvolveram as reações de condensação de Knoevenagel entre aldeídos aromáticos, cianoacetamida ou cianoacetato de etila empregando radiação micro-ondas (450 W) na presença de NaF ou LiCl e na ausência de solvente (Tabela 2.6). Rendimentos elevados de 92 % em aproximadamente 2 minutos foram obtidos para os adutos de Knoevenagel.

Tabela 2.6. Condensação de Knoevenagel de aldeídos aromáticos com cianoacetamida ou cianoacetato de etila por MO.

$\text{Ar}-\text{CHO} + \text{R}-\text{CH}_2-\text{CN} \xrightarrow[450 \text{ W}]{\text{NaF ou LiCl}} \text{Ar}-\text{CH}=\text{C}(\text{CN})-\text{R}$			
Ar	R	Tempo (min)	Rend (%)
C ₆ H ₅	CONH ₂	1,5	92
<i>p</i> -CH ₃ C ₆ H ₄	CONH ₂	2,0	94
<i>p</i> -CH ₃ OC ₆ H ₄	CONH ₂	2,0	95
<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	CONH ₂	2,0	97
<i>p</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	CONH ₂	2,0	96
C ₆ H ₅	COOC ₂ H ₅	1,5	94
<i>p</i> -CH ₃ C ₆ H ₄	COOC ₂ H ₅	0,75	97
<i>p</i> -CH ₃ OC ₆ H ₄	COOC ₂ H ₅	1,5	93
<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	COOC ₂ H ₅	0,5	98
<i>p</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	COOC ₂ H ₅	1,5	92

Rend = rendimento

2.1.2.4 Aplicação da radiação micro-ondas na condensação de Knoevenagel usando outros compostos contendo metilenos ativos

A condensação de Knoevenagel tem sido uma ferramenta chave para a preparação de muitos intermediários sintéticos aplicados na obtenção de compostos com atividade biológica. Na Tabela 2.7 tem-se alguns exemplos da reação de condensação de Knoevenagel usando diferentes grupos metilenos ativos por radiação micro-ondas demonstrando seu escopo na química orgânica sintética para a obtenção de moléculas funcionalizadas.

Tabela 2.7. Condensação de Knoevenagel de diferentes compostos com metilenos ativados por MO.

Reação	Referência
Guillot <i>et al.</i> [35]
Kwon <i>et al.</i> [36]
Bourahla <i>et al.</i> [37]
Lingham <i>et al.</i> [38]
Trilleras <i>et al.</i> [39]
Kumar <i>et al.</i> [40]
Fozooni <i>et al.</i> [41]

Através destes exemplos pode-se demonstrar a versatilidade da condensação de Knoevenagel para a obtenção de compostos mais complexos com diversas aplicações. Assim, neste trabalho decidiu-se usar os adutos de Knoevenagel como intermediários para a obtenção de derivados tetrazólicos, reações de acoplamento de Suzuki, síntese de cromenos e também em reações de bio-hidrogenação com fungo de ambiente marinho *P. citrinum* CBMAI 1186 (Figura 2.2).

Figura 2.2. Representação geral de síntese e aplicação de adutos de Knoevenagel desenvolvidas na proposta do trabalho.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

Estudar a síntese de condensação de Knoevenagel usando aldeídos aromáticos, malononitrila ou cianoacetamida por radiação micro-ondas.

2.2 Metas

- ✓ Selecionar o(s) solvente(s) mais adequado(s) para a reação de condensação de Knoevenagel;
- ✓ Avaliar a reação de condensação de Knoevenagel por aquecimento convencional e por radiação micro-ondas;
- ✓ Avaliar aditivos de caráter básico para melhorar o desempenho da condensação de Knoevenagel.

2.3. MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Reagentes

Benzaldeído (99 %), 2-bromobenzaldeído (99 %), 3-bromobenzaldeído (95 %), 4-bromobenzaldeído (99 %), 2-clorobenzaldeído (99 %), 3-clorobenzaldeído (99 %), 4-clorobenzaldeído (99 %), 2-flúor-benzaldeído (99 %), 3-flúor-benzaldeído (99 %), 4-flúor-benzaldeído (99 %), 4-hidroxibenzaldeído (99 %), 4-metilbenzalaldeído (99 %), 3-metoxibenzaldeído (99 %), 4-metoxibenzaldeído (99 %), 3,4,5-trimetoxibenzaldeído (99 %), 3-nitrobenzalaldeído (99 %), 4-nitrobenzalaldeído (99 %), 4-aminobenzaldeído (99 %), vanilina (99 %), furfural (99 %), cinamalaldeído (99 %), α -metil-*trans*-cinamalaldeído (99 %), malononitrila (99 %), cianoacetamida (99 %) e trietilamina (95 %), hidróxido de sódio (98 %); e solventes (hexano, acetato de etila, metanol, THF, DMF, DMSO, acetona, dioxano, etanol, DMSO-*d*₆, MeOD, CDCl₃) foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação (Aldrich, Fluka, Synth, Merck e Vertec).

2.3.2 Equipamentos

2.3.2.1 Cromatografia a gás acoplada ao espectrometro de massas (CG-EM)

As análises por cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) foram realizadas em um aparelho de marca Shimadzu/GC 2010 com um auto-injetor Shimadzu/AOC-500 e um detector de massas MS2010 plus com impacto eletrônico (IE, 70 eV), equipado com uma coluna de sílica fundida DB-5MS (Agilent J&W Advances 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). O gás de arrastre foi hélio a 65 kPa. As análises foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica e Biocatálise (IQSC).

2.3.2.2 Espectroscopia no infravermelho-transformada de Fourier (IV)

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro (Shimadzu, modelo IRAffinity-1) de infravermelho com transformada de Fourier com calibração interna. As amostras líquidas foram preparadas na forma de filmes e as amostras sólidas em pastilhas de KBr. As frequências de absorção foram expressas em cm^{-1} na faixa de 400-4000 cm^{-1} . As análises foram realizadas na Central de Análises Químicas Instrumentais (CAQI-IQSC).

2.3.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN foram obtidos no espectrômetro Agilent 400/54 premium shielded ou agilent 500/54 premium shielded e foram operados na frequência de 500 e 400 MHz (RMN de ^1H) e 125 e 100 MHz (RMN de ^{13}C), respectivamente. Os solventes deuterados utilizados foram acetona ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}-d_6$), clorofórmio (CDCl_3), dimetilsulfóxido ($\text{DMSO}-d_6$) e metanol (MeOD). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados em relação ao sinal do padrão interno tetrametilsilano (TMS) e aos solventes deuterados utilizados (CDCl_3 , δ_{H} 7,26; CDCl_3 , δ_{C} 77,16; $\text{DMSO}-d_6$, δ_{H} 2,50, δ_{C} 39,52; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}-d_6$, δ_{H} 2,84 e 2,05, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}-d_6$, δ_{C} 206,26 e 29,8; MeOD δ_{H} 4,87, 3,31; MeOD , δ_{C} 49,00. Os espectros de RMN foram analisados pelo software Mestre Nova versão 9.0. As análises foram realizadas na Central de Análises Químicas Instrumentais (CAQI-IQSC).

2.3.2.4 Difração de raios-X em monocristal

Os dados de difração de raios X foram coletados em um difratrômetro Bruker Apex II Duo, equipado com duas micros fontes (cobre e molibdênio) utilizando a radiação $\text{Mo-K}\alpha$ ($\lambda = 0,71073$) e sistema OXFORD de baixa temperatura. A solução e refinamento das estruturas foram realizadas através dos programas Shelx. As medidas e análises dos dados de difração de raios-X foram realizadas pelo Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon (CAQI-IQSC).

2.3.2.5 Reator de micro-ondas

As reações foram realizadas em um reator de micro-ondas CEM Discover reflux open vessel de 300 W, contendo sensor de infravermelho para monitoramento da temperatura de até 300 °C. O reator possui uma cavidade monomodo com capacidade de uso de balões de 10-125 mL, sistema de agitação com barra magnética, entrada de ar comprimido para acelerar o resfriamento do sistema, porta com interloque de segurança, software interno para calibração de temperatura do sensor tipo IR. O software usado foi o Sinergy para o desenvolvimento dos métodos. As reações foram realizadas em diferentes potências (20 e 60 W). As análises foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica e Biocatálise (IQSC).

2.3.2.6 Outros equipamentos empregados

Balança analítica modelo AY-220 da marca Shimadzu, pHmetro modelo 8010 da marca Qualxtron, rotaevaporadores Fisaton e Tecnal T-210 equipados com bomba de vácuo TE-058 e refrigeração Tecnal modelo TE 2005.

Os pontos de fusão foram lidos em um aparelho de ponto de fusão Fisatom modelo 431 (Laboratório do Prof. Antonio C. B. Burtoloso, IQSC).

2.3.2.7 Software

As nomenclaturas dos compostos foram atribuídas segundo a regra da IUPAC adaptada à Língua Portuguesa utilizando o software ChemBioDraw Ultra, versão 11.0.

2.3.3 Síntese de adutos de Knoevenagel com malononitrila a partir de derivados do aldeídos aromáticos por radiação micro-ondas

Em um balão reacional de 25 mL foi adicionado os derivados de aldeídos aromáticos (1,0 mmol), malononitrila (1,0 mmol) e H₂O (4 mL). A reação foi realizada em um reator micro-ondas e com agitação magnética por 30 min a 85 °C com uma potência de 20 W. O progresso da reação foi monitorado por cromatografia em camada delgada (CCD). Posteriormente a reação foi filtrada e extraída com AcOEt (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄ anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel *flash* e em outros casos por recristalização. Os adutos de Knoevenagel foram identificados e caracterizados por IV, EM e RMN. O Esquema 2.11 ilustra a equação química da reação de síntese de Knoevenagel.

Esquema 2.11. Síntese de adutos de Knoevenagel com malononitrila a partir de derivados de aldeídos aromáticos por MO.

Ar = C₆H₅ (**1a**), 2-BrC₆H₄ (**1b**), 3-BrC₆H₄ (**1c**), 4-BrC₆H₄ (**1d**), 4-CH₃C₆H₄ (**1e**), 2-ClC₆H₄ (**1f**), 3-ClC₆H₄ (**1g**), 4-ClC₆H₄ (**1h**), 4-CNC₆H₄ (**1i**), 2-FC₆H₄ (**1j**), 3-FC₆H₄ (**1k**), 4-FC₆H₄ (**1l**), 4-NH₂C₆H₄ (**1m**), 4-N(CH₃)₂C₆H₄ (**1n**), 3-NO₂C₆H₄ (**1o**), 4-NO₂C₆H₄ (**1p**), 4-OHC₆H₄ (**1q**), 3-OCH₃C₆H₄ (**1r**), 4-OCH₃C₆H₄ (**1s**), 5-OCH₃, 4-OCH₃, 3-OCH₃C₆H₂ (**1t**), furano (**1u**), tiofeno (**1v**), α -metil-*trans*-cinamaldeído (**1w**), vanilina (**1x**), nicotinaldeído (**1y**), *m*-fenoxibenzaldeído (**1z**).

2-benzilidenomalononitrila (2a)

$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2$, 154,17 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 82-84 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3032, 2223, 1591, 1566, 1541, 1450, 1217, 956, 756, 678, 617; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,90 (m, 2H), 7,76 (s, 1H), 7,64 (m, 1H), 7,54 (m, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 159,9, 134,6, 130,7, 129,6, 113,7, 112,5, 82,9; MS (70 eV) m/z = 154 (M⁺, 100%), 127 (88%), 103 (60 %).

2-(2-bromobenzilideno)malononitrila (2b)

$\text{C}_{10}\text{H}_5\text{N}_2\text{Br}$, 232,07 g.mol⁻¹; (90 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 177-178 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3091, 3032, 2225, 1577, 1552, 1489, 1408, 1288, 1213, 1072, 1006, 937, 823, 615, 516; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,31-8,28 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,67-7,63 (m, 1H), 7,36-7,34 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,25-7,22 (m, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 162,30, 160,27, 151,19, 136,67, 128,54, 125,25, 119,35, 116,37, 113,31, 112,29, 84,53; MS (70 eV) m/z = 232 (M⁺, 31 %), 234 (M⁺, 30 %), 153 (100%).

2-(3-bromobenzilideno)malononitrila (2c)

$\text{C}_{10}\text{H}_5\text{N}_2\text{Br}$, 232,07 g.mol⁻¹; (96 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 170-173 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3032, 2227, 1597, 1589, 1579, 1411, 1263, 1234, 1024, 974, 802, 692, 619; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,98 (t, J = 1,9 Hz, 1H), 7,92-7,90 (m, 1H), 7,77-7,75 (m, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,46-7,43 (t, J = 8,0 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 158,03, 137,24, 133,44, 132,55, 131,06, 128,59, 123,65, 113,15, 112,, 84,7; MS (70 eV) m/z 232 = (M⁺, 31 %), 234 (M⁺, 30 %), 153 (100%).

2-(4-bromobenzilideno)malononitrila (2d)

$\text{C}_{10}\text{H}_5\text{N}_2\text{Br}$, 232,07 g.mol⁻¹; (97 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 165-166 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3091, 3032, 2225, 1577, 1552, 1489, 1408, 1288, 1213, 1072, 1006, 937, 823, 615, 516; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,76-7,74 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,69-7,65 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,70 (s, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 158,4, 133, 131,8, 129,9, 129,6, 83,5; MS (70 eV) m/z = 232 (M⁺, 31 %), 234 (M⁺, 30 %), 153 (100%).

2-(4-metil-benzilideno)malononitrila (2e)

$C_{11}H_8N_2$, 168,20 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal marrom, p.f. = 134-136 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3115, 3039, 2231, 1604, 1579, 1521, 1490, 1371, 1354, 1344, 1321, 1303, 1213, 935, 850, 833, 746, 682, 619; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,82-7,80 (m, 2H), 7,72 (s, 1H), 7,35-7,33 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 2,46 (s, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 159,77, 146,38, 130,91, 130,90, 130,37, 128,47, 114,01, 112,85, 81,22, 22,02; MS (70 eV), m/z = 168 (M⁺, 100%).

2-(2-cloro-benzilideno)malononitrila (2f)

$C_{10}H_5N_2Cl$, 188,61 g.mol⁻¹; (91 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 131-132 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3084, 3047, 2225, 1612, 1595, 1527, 1479, 1382, 1355, 1340, 1215, 1153, 1111, 1097, 952, 929, 827, 817, 738, 673, 619; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,28 (1H), 8,20-8,19 (ddt, J = 8,0, 1,3, 0,7 Hz, 1H), 7,57-7,55 (m, 2H), 7,49-7,45 (m, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156,03, 136,33, 135,02, 130,70, 129,49, 129,05, 127,78, 113,20, 111,89, 85,80; MS (70 eV) m/z = 188 (M⁺, 57 %), 161 (23 %), 153 (100%).

2-(3-cloro-benzilideno)malononitrila (2g)

$C_{10}H_5N_2Cl$, 188,61 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 122-124 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3084, 3047, 2225, 1612, 1595, 1527, 1479, 1382, 1355, 1340, 1215, 1153, 1111, 1097, 952, 929, 827, 817, 738, 673, 619; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,86-7,84 (m, 2H), 7,74 (1H), 7,62-7,60 (ddd, J = 8,1, 1,9, 1,2 Hz, 1H), 7,52-7,49 (m, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 158,17, 135,81, 134,34, 132,31, 130,89, 130,43, 128,31, 113,18, 112,01, 84,72; MS (70 eV) m/z = (188 (M⁺, 57 %), 161 (23 %), 153 (100%).

2-(4-clorobenzilideno)malononitrila (2h)

$C_{10}H_5N_2Cl$, 188,61 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 90-91 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3084, 3047, 2225, 1612, 1595, 1527, 1479, 1382, 1355, 1340, 1215, 1153, 1111, 1097, 952, 929, 827, 817, 738, 673, 619; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = δ 7,78-7,76 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,72 (s, 1H), 7,70-7,69 (d, J = 8,5 Hz, 2H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 158,5, 133,2, 131,9, 130,1, 129,8, 113,6, 112,5, 83,5; MS (70 eV) m/z = 188 (M⁺, 57 %), 161 (23 %), 153 (100%).

2-(4-ciano-benzilideno)malononitrila (2i)

$C_{11}H_5N_3$, 179,18 g.mol⁻¹; (92 % de rendimento); cristal branco; p.f. = 121-124 °C; IV (puro) $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ = 2920, 2850, 2222, 1604, 1571, 1512, 1369, 1319, 1278, 1236, 1184, 1153, 1022, 833, 609, 570, 528; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,88-7,85 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,74 (s, 1H), 7,55-7,52 (J = 8,5 Hz, 2H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 158,26, 141,15, 131,83, 130,07, 129,27, 113,42, 112,32, 83,37; MS (70 eV), m/z = 179 (M^+ , 100%).

2-(2-flúor-benzilideno)malononitrila (2j)

$C_{10}H_5N_2F$, 172,16 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 139-140 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3078, 3035, 2939, 2229, 1597, 1575, 1506, 1415, 1379, 1305, 1244, 1163, 1107, 943, 839, 804, 617, 563, 530, 410; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,20 (s, 1H), 8,11-8,09 (m, 1H), 7,74-7,72 (m, 1H), 7,50-7,42 (m, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 158,7, 134,9, 134,0, 130,8, 129,8, 128,3, 126,4, 113,1, 111,7, 86,0; MS (70 eV) m/z = 172 (M^+ , 100%), 145 (89 %), 121 (54 %).

2-(3-flúor-benzilideno)malononitrila (2k)

$C_{10}H_5N_2F$, 172,16 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 132-134 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3078, 3035, 2939, 2229, 1597, 1575, 1506, 1415, 1379, 1305, 1244, 1163, 1107, 943, 839, 804, 617, 563, 530, 410; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,74 (s, 1H), 7,67-7,65 (dt, J = 7,5, 0,7 Hz, 1H), 7,63-7,60 (dt, J = 9,2, 2,2 Hz, 1H), 7,55-7,49 (dt, J = 8,1, 5,6 Hz, 1H), 7,35-7,30 (dd, J = 8,3, 2,5, 0,9 Hz, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 163,96, 161,47, 158,28, 158,25, 132,57, 132,50, 131,37, 131,29, 126,69, 126,66, 121,69, 121,48, 116,95, 116,72, 113,16, 112,00, 84,63; MS (70 eV) m/z = 172 (M^+ , 100%), 145 (89 %), 121 (54 %).

2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila (2l)

$C_{10}H_5N_2F$, 172,16 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 125-126 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3078, 3035, 2939, 2229, 1597, 1575, 1506, 1415, 1379, 1305, 1244, 1163, 1107, 943, 839, 804, 617, 563, 530, 410; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7,98-7,96 (m, 2H), 7,75 (s, H), 7,27-7,23 (m, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 166,11 (d, $^1J_{\text{C-F}}=207$ Hz), 158,24, 133,44, 133,37, 127,36, 117,18, 113,53, 112,46, 82,49; MS (70 eV), m/z = 172 (M^+ , 100%), 145 (89 %), 121 (54 %).

2-(4-amino-benzilideno)malononitrila (2m)

$C_{10}H_7N_3$, 169,19 g.mol⁻¹; (88 % de rendimento); cristal laranja, p.f. = 115-117 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3346, 2950, 2206, 1664, 1503, 1306; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7,77-7,75 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,49 (s, 1H), 6,68-6,66 (d, J = 8,8 Hz, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 158,57, 133,98, 114,47; MS (70 eV), m/z 169 = (M^+ , 100%).

2-(4-(dimetilamino)-benzilideno)malononitrila (2n)

$C_{11}H_{15}N_3$, 197,24 g.mol⁻¹; (91 % de rendimento); cristal laranja, p.f. = 113-115 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3084, 3047, 2225, 1612, 1595, 1527, 1479, 1382, 1355, 1340, 1313, 1215, 1153, 1111, 1097, 952, 929, 827, 817, 738, 673, 619; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7,80-7,77 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,43 (s, 1H), 6,68-6,66 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 3,12 (s, 6H); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 190,26, 158,0, 154,20, 133,7, 119,3, 115,9, 114,9, 111,6, 71,19, 40,0; MS (70 eV), m/z = 197 (M^+ , ausente), 188 (52 %), 153 (100 %).

2-(3-nitro-benzilideno)malononitrila (2o)

$C_{10}H_5N_3O_2$, 199,17 g.mol⁻¹; (91 % de rendimento), sólido laranja; p.f. = 119-121 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ = (puro): 3091, 3021, 2225, 1577, 1552, 1489, 1408, 1288, 1213, 1072, 1006, 937, 823, 615, 518; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,68-8,67 (t, J = 2,0 Hz, 1H), 8,49-8,47 (dd, J = 7,8, 1,7 Hz, 1H), 8,34-8,33 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,82-7,79 (t, J = 8.1 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156,92, 148,67, 134,77, 131,99, 130,98, 128,22, 125,57, 112,6, 86,83; MS (70 eV), m/z = 199 (M⁺, 84 %), 169 (51 %), 141 (68 %), 133 (72 %), 126 (100 %).

2-(4-nitro-benzilideno)malononitrila (2p)

$C_{10}H_5N_3O_2$, 199,17 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal laranja, p.f. = 149-151 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3021, 2227, 1597, 1589, 1579, 1411, 1263, 1234, 1024, 974, 802, 692, 619; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,38-8,36 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 8,07-8,04 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7,87 (s, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156,82, 150,33, 135,76, 131,27, 124,60, 112,58, 111,55, 87,52; MS (70 eV) m/z = 199 (M⁺, 84 %), 169 (51 %), 141 (68 %), 133 (72 %), 126 (100 %).

2-(4-hidróxi-benzilideno)malononitrila (2q)

$C_{10}H_6N_2O$, 170,17 g.mol⁻¹; (90 % de rendimento); sólido amarelo, p.f = 187-190 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3352, 2225, 1610, 1579, 1566, 1519, 1444, 1436, 1300, 1220, 1174, 939, 839, 636, 607, 524; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,89-7,88 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,87 (s, 1H), 6,92 (d, J = 9,0 Hz, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 164,0, 159,8, 133,7, 123,1, 116,3, 114,6, 113,6, 76,0; MS (70 eV) m/z = 170 (M⁺, 100 %), 142 (44 %), 142 (21 %), 119 (38 %).

2-(3-metoxibenzilideno)malononitrila (2r)

$C_{11}H_8N_2O$, 184,20 g.mol⁻¹; (96 % de rendimento); cristal amarelo, p.f. = 119-121 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 2920, 2850, 2222, 1604, 1571, 1512, 1369, 1319, 1278, 1236, 1184, 1153, 1022, 833, 609, 570, 528; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,75 (s, 1H), 7,49-7,41 (m, 3H), 7,19-7,16 (ddd, J = 7,5, 2,5, 1,9 Hz, 1H), 3,87 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 160,11, 159,88, 132,02, 130,56, 123,88, 121,32, 114,08, 113,64, 112,58, 82,92, 55,51; MS (70 eV) m/z = 184 (M^+ , 100%), 141 (30%), 114 (49%).

2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila (2s)

$C_{11}H_8N_2O$, 184,20 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal amarelo, p.f. = 113-114 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 2920, 2850, 2222, 1604, 1571, 1512, 1369, 1319, 1278, 1236, 1184, 1153, 1022, 833, 609, 570, 528; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,90-7,88 (dd, J = 8,0 Hz, 2H), 7,63 (s, 1H), 7,00-6,98 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 164,8, 158,8, 133,4, 124, 115,1, 114,4, 113,3, 78,5, 55,8; MS (70 eV) m/z = 184 (M^+ , 100%), 141 (30%), 114 (49%).

2-(3,4,5-trimetoxibenzilideno)malononitrila (2t)

$C_{13}H_{12}N_2O_3$, 244,25 g.mol⁻¹; (92 % de rendimento); cristal amarelo; p.f = 136-137 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3091, 3021, 2225, 1577, 1552, 1489, 1408, 1288, 1213, 1072, 1006, 937, 823, 615, 518; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,63 (s, 2H), 7,17 (s, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,89 (s, 6H).; RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 159,32, 153,35, 144,03, 125,89, 113,94, 113,15, 108,31, 80,59, 61,21, 56,34, 29,66; MS (70 eV), m/z = 244 (M^+ , 100).

2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila (2u)

$C_8H_4N_2O$, 144,13 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); cristal marron, p.f. = 70-73 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3124, 3041, 2922, 2231, 1745, 1606, 1529, 1456, 1394, 1296; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,79-7,78 (dt, J = 1,8, 0,5 Hz, 1H), 7,50-7,49 (d, J = 0,5 Hz, 1H), 7,35-7,34 (d, J = 4 Hz, 1H), 6,70-6,69 (ddd, J = 4, 1,7, 0,4 Hz, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 149,48, 149,46, 148,05, 148,04, 143,01, 123,35, 114,44, 114,39, 113,74, 112,54; MS (70 eV) m/z = 144 (M⁺, 100 %), 115 (44 %), 115 (31 %), 89 (30 %), 117 (21 %).

2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila (2v)

$C_8H_4N_2S$, 160,19 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); sólido marrom, p.f. = 93-95 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3421, 2935, 2274, 2185, 2052, 1645, 1408; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,87-7,85 (m, 1H), 7,80-7,78 (dq, J = 4,3, 0,8 Hz, 1H), 7,26-7,23 (m, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 151,03, 138,09, 136,84, 135,37, 130,21, 130,05, 129,52, 129,40, 129,00, 128,99, 128,74, 113,74, 112,90; MS (70 eV) m/z = 160 (M⁺, 100 %), 133 (56 %), 109 (41 %), 45 (21 %).

2-(2-metil-3-fenilalilideno)malononitrila (2w)

$C_{13}H_{10}N_2$, 194,24 g.mol⁻¹; (96 % de rendimento); cristal laranja; p.f. = 141-143 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3340, 3193, 2925, 2231, 1681, 1588, 1456, 1368; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,48-7,42 (m, 6H), 7,16-7,15 (m, 1H), 2,43 (d, J = 1,2 Hz, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 164,38, 149,64, 134,49, 133,42, 130,32, 130,17, 128,83, 114,47, 112,78, 81,03, 14,93; MS (70 eV), m/z : 194 (M⁺, 75%), 193 (100 %).

2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila (2x)

$C_{11}H_8N_2O_2$, 200,20 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 134-135 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3394, 2227, 1618, 1564, 1514, 1282, 1138; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 7,94 (s, 1H), 7,57-7,56 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,44-7,42 (m, 1H), 7,08-7,06 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 159,83, 153,67, 146,02, 126,14, 124,72, 115,25, 114,34, 111,14, 77,12, 55,22; MS (70 eV) m/z = 200 (M⁺, ausente), 170 (100 %), 142 (47 %), 119 (42 %).

2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila (2y)

$C_9H_5N_3$, 155,16 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); sólido marrom, p.f. =

113-114 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3115, 3039, 2231, 1579, 1521, 1344;

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,89 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 8,84-8,82 (dd, J = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 8,48-8,47 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,54-7,51 (dd, J = 8,2, 4,8 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156,44, 154,62, 152,4, 135,61, 127, 124,3, 112,91, 111,94, 85,7; MS (70 eV) m/z = 155 (M⁺, 100 %), 104 (76 %), 128 (53 %), 101 (43 %).

2-(3-fenoxibenzilideno)malononitrila (2z)

$C_{16}H_{10}N_2O$, 246,27 g.mol⁻¹; (80 % de rendimento); sólido

amarelo, p.f. = 234-236 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3328, 3187,

2934, 2214, 1672, 1598, 1503, 1503, 1274; RMN de ¹H (500

MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,18 (s, 1H), 7,70-7,67 (dd, J = 7,8, 3,2 Hz, 2H), 7,60-7,54 (m, 2H), 7,45-7,41 (m, 1H), 7,30-7,27 (dd, J = 8,3, 2,5 Hz, 1H), 7,23-7,19 (m, 2H), 7,10-7,06 (m, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, MeOD) δ (ppm) = 159,02, 157,55, 155,12, 132,08, 129,77, 129,01, 124,20, 123,25, 122,67, 118,38, 117,93, 112,59, 111,50, 82,06; MS (70 eV) m/z = 246 (M⁺, 100 %), 217 (35 %).

2.3.4 Síntese de adutos de Knoevenagel com cianoacetamida a partir de derivados de aldeídos aromáticos por radiação micro-ondas

Em um balão reacional de 25 mL foram adicionados os derivados de aldeídos aromáticos (1,0 mmol), cianoacetamida (1,0 mmol), NaCl (4 mL, 5 M), N(CH₂CH₃)₃ (15 μ L) ou NaOH (3 gotas, 5 M). A reação foi realizada em um reator micro-ondas e com agitação magnética por 30 min a 85 °C com uma potência de 60 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Posteriormente, a reação foi filtrada e extraída com AcOEt (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄ anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel *flash* e em outros casos por recristalização. Todos os adutos de Knoevenagel obtidos foram identificados e caracterizados por IV, EM e RMN. O Esquema 2.12 ilustra a equação química da síntese de adutos de Knoevenagel.

Esquema 2.12. Síntese de adutos de Knoevenagel com cianoacetamida a partir de derivados de aldeídos aromáticos por MO.

Ar = 4-BrC₆H₄ (**3a**), 4-ClC₆H₄ (**3b**), 4-FC₆H₄ (**3c**), 4-N(CH₃)₂C₆H₄ (**3d**), 4-NO₂C₆H₄ (**3e**), 4-OHC₆H₄ (**3f**), 5-OCH₃, 4-OCH₃, 3-OCH₃C₆H₂ (**3g**), 4-OCH₃C₆H₄ (**3h**), furfano (**3i**), seringaldeído (**3j**), tiofeno (**3k**), vanilina (**3l**), isovanilina (**3m**).

(E)-3-(4-bromo-fenil)-2-cianoacriamida (**3a**)

C₁₀H₇N₂OBr, 249,08 g.mol⁻¹; (91 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 95-97 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3331, 3196, 2214, 1681, 1596, 1385; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = δ 8,17 (s, 1H), 7,88-7,86 (m, 2H), 7,81-7,79 (m, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 162,94, 149,80, 132,77, 132,20, 131,59, 126,36, 116,67, 107,86.; MS (70 eV) m/z = 252 (100 %), 251 (M⁺², 62 %), 249 (M⁺, 62 %).

(E)-3-(4-cloro-fenil)-2-cianoacriamida (**3b**)

C₁₀H₇N₂OCl, 206,63 g.mol⁻¹; (92 % de rendimento); sólido amarelo pálido, p.f. = 91-93 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3331, 3196, 2206, 1689, 1586, 1376; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,19 (s, 1H), 7,97-7,94 (m, 3H), 7,80 (s, 1H), 7,67-7,64 (m, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 166,52, 162,92, 149,66, 137,31, 132,10, 131,61, 131,34, 131,25, 129,81, 128,80, 116,66, 107,75; MS (70 eV) m/z = 206 (M⁺, 65 %), 205 (100 %).

(E)-3-(4-flúor-fenil)-2-cianoacriamida (**3c**)

C₁₀H₇N₂OF, 190,18 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 89-91 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3340, 3187, 2916, 2206, 1672, 1621; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,20 (s, 1H), 8,05-8,01 (m, 2H), 7,92-7,78 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,46-7,41 (m, 2H).; RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 165,47, 163,46, 163,06, 149,82, 133,21, 133,14, 129,07, 129,05, 117,01, 116,84, 106,79; MS (70 eV) m/z = 190 (M⁺, 67%), 189 (100 %).

(E)-2-ciano-3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilamida (**3d**)

$C_{12}H_{13}N_3O$, 215,26 g.mol⁻¹; (92 % de rendimento); sólido laranja, p.f. = 115-117 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3346, 3187, 2916, 2197, 1681, 1554, 1512, 1360; RMN de ¹H (500 MHz,

DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 7,97 (s, 1H), 7,87-7,84 (m, 2H), 7,52 (dd, *J* = 8,0 Hz, 2H), 6,84-6,80 (m, 2H), 3,05 (s, 6H).; RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 164,40, 153,38, 150,92, 133,08, 119,15, 118,71, 112,08, 97,68, 40,01; MS (70 eV) *m/z* = 215 (*M*⁺, 100%).

(E)-2-ciano-3-(4-nitro-fenil)acrilamida (**3e**)

$C_{12}H_7N_3O_3$, 217,18 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); sólido vermelho, p.f. = 110-112 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3424, 3340, 2222, 1689, 1512, 1342; RMN de ¹H (500 MHz,

DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,39-8,37 (m, 2H), 8,33 (s, 1H), 8,13-8,12 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 8,08 (s, 1H), 7,90 (s, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 162,54, 149,21, 148,68, 138,52, 131,40, 130,90, 124,61, 123,94, 116,15, 111,08.; MS (70 eV) *m/z* = 217 (*M*⁺, 65 %), 216 (100 %).

(E)-2-ciano-3-(4-hidróxi-fenil)acrilamida (**3f**)

$C_{10}H_8N_2O_2$, 188,19 g.mol⁻¹; (90 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 112-113 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3340, 3196,

2916, 2214, 1664, 1580; RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,10 (s, 1H), 7,91-7,89 (m, 2H), 7,78-7,75 (m, 2H), 6,89-6,87 (m, 2H); RMN de ¹³C (126 MHz, MeOD) δ (ppm) = 165,10, 164,10, 152,00, 133,24, 122,51, 116,96, 116,31, 115,84, 98,68.; MS (70 eV) *m/z* = 188 (*M*⁺, 95 %), 187 (100 %).

(E)-2-ciano-3-(3,4,5-trimetoxi-fenil)acrilamida (**3g**)

$C_{13}H_{14}N_2O_4$, 262,27 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); cristal amarelo, p.f. = 125-127 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3348, 3205, 2967, 2214, 1664, 1512, 1312; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-

*d*₆) δ (ppm) = 8,14 (s, 1H), 7,85-7,73 (m, 2H), 7,36 (s, 2H), 3,83 (s, 6H), 3,77 (s, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 163,17, 153,34, 151,22, 141,49, 127,55, 117,32, 108,36, 105,44, 60,73, 56,45; MS (70 eV) *m/z* = 262 (*M*⁺, 100%).

(E)-2-ciano-3-(4-metoxi-fenil)acrilamida (**3h**)

$C_{11}H_{10}N_2O_2$, 202,21 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 117-118 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3450, 3154, 2213, 1689, 1580, 1512; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,26 (s, 1H), 7,97-7,95 (m, 2H), 7,01-6,99 (m, 2H), 3,90 (s, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 163,63, 162,62, 153,46, 133,34, 124,43, 114,77, 99,33, 55,61; MS (70 eV) m/z = 202 (M⁺, 100%).

(E)-2-ciano-3-(furan-2-il)acrilamida (**3i**)

$C_8H_6N_2O_2$, 162,15 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal castanho, p.f. = 118-120 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3408, 3213, 2212, 1681, 1596, 1385; RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,00 (s, 1H), 7,90 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,75-6,74 (dd, J = 3,6, 1,8 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, MeOD) δ (ppm) = 163,79, 148,90, 148,06, 136,81, 120,87, 115,62, 113,31, 100,15; MS (70 eV) m/z = 162 (M⁺, 100%).

(E)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxi-fenil)acrilamida (**3j**)

$C_{12}H_{12}N_2O_4$, 248,24 g.mol⁻¹; (93 % de rendimento); solido amarelo, p.f. = 123-124 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3348, 3196, 2934, 2206, 1681, 1503, 1325; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,10 (s, 1H), 7,39 (s, 2H), 3,90 (s, 6H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 164,63, 152,52, 147,98, 140,96, 122,49, 116,94, 108,35, 105,78, 100,29, 55,52, 55,43; MS (70 eV) m/z = 248 (M⁺, 100%).

(E)-2-ciano-3-(tiofen-2-il)acrilamida (**3k**)

$C_8H_6N_2OS$, 178,21 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); cristal castanho, p.f. = 115-117 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3187, 2214, 1681, 1571; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8,38 (s, 1H), 8,07-8,06 (dt, J = 5,0, 0,9 Hz, 1H), 7,85-7,84 (dd, J = 3,7, 0,7 Hz, 1H), 7,78-6,67 (d, J = 59,0 Hz, 2H), 7,30-7,29 (dd, J = 5,0, 3,7 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 163,04, 143,99, 138,18, 136,26, 135,36, 129,00, 117,11, 102,51; MS (70 eV) m/z = 178 (M⁺, 100%).

(E)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)acrilamida (**3l**)

$C_{11}H_{10}N_2O_3$, 218,21 g.mol⁻¹; (96 % de rendimento); sólido escuro, p.f. = 134-135 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3357, 3213, 2934, 2853, 2214, 1672, 1520; RMN de ¹H (500 MHz, MeOD)

δ (ppm) = 8,12 (s, 1H), 7,79-7,78 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,46 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,45-7,44 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 6,94-6,92 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, MeOD) δ (ppm) = 164,81, 152,20, 151,86, 147,94, 137,21, 127,07, 123,71, 116,91, 115,34, 114,91, 112,09, 99,95, 55,04; MS (70 eV) m/z = 218 (M^+ , 100%).

(E)-2-ciano-3-(3-hidróxi-4-metoxifenil)acrilamida (**3m**)

$C_{11}H_{10}N_2O_3$, 218,21 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 127-129 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3338, 3187, 2934, 2214, 1672, 1503, 1274; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD)

δ (ppm) = 8,05 (s, 1H), 7,60 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,46-7,1 (m, 2H), 7,10-7,05 (m, 2H), 3,94 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 164,81, 152,20, 151,86, 147,94, 137,21, 127,07, 123,71, 116,91, 115,34, 114,91, 112,09, 99,95, 55,04.; MS (70 eV) m/z = 218 (M^+ , 100%).

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Síntese de adutos de Knoevenagel via radiação micro-ondas utilizando aldeídos e malonitrila

A condensação de Knoevenagel tem sido bem estudada. Há várias metodologias para melhorar as condições de reação (tempo, rendimento, pureza) como foi descrito na introdução do **Capítulo 2**. Nos últimos 20 anos foram desenvolvidas metodologias direcionadas em processos amigáveis ao meio ambiente, por exemplo, uso de aminoácidos, fibras naturais, polímeros, nanopartículas, líquidos iônicos frente à condensação de Knoevenagel (Tabela 2.8).

Tabela 2.8. Exemplos de metodologias desenvolvidas com processos sustentáveis para obtenção do aduto de Knoevenagel.

Referência	Aditivo	Condição de reação	Rendimento (%)
Ying <i>et al.</i> [42]	L-Arginina (34,8 mg)	Etilsulfato de 1-etil-3-metilimidazol (320 mg), ta, 4 min	83
Shahbazi <i>et al.</i> [43]	Nanopartículas de polioxometalato de magnetita depositada em sílica modificada com diaminas Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH-NH ₂ -PW (0,030 g)	H ₂ O (4 mL), refluxo, 12 min	93
Lai <i>et al.</i> [44]	Cloreto de 1-metil-3-(3-trietoxisililpropil)imidazol funcionalizado em sílica gel (80 mg)	Sem solvente, 100 °C, 4 h	93,1
Panicker <i>et al.</i> [45]	Dendrímero de poli(propileno imina) (25 mg)	EtOH (5 mL), ta, 5 min	100

Na Tabela 2.8 é mostrada a efetividade destas metodologias que aplicaram os protocolos da QV na obtenção do aduto de Knoevenagel. Porém, em alguns casos é necessário o desenvolvimento de catalisadores. Em nosso trabalho foi estudada uma outra metodologia alternativa visando a melhoria das condições de reação, por exemplo, o uso de radiação micro-ondas.

Na literatura existem estudos do uso de radiação micro-ondas na reação de condensação de Knoevenagel (Tabela 2.9).

Tabela 2.9. Metodologias para condensação de Knoevenagel a partir de benzaldeído e malononitrila por MO [28-34].

Referência	Aditivos		Condição de reação	Rendimento (%)
Yuan <i>et al.</i> [28]	MgC ₂ O ₄ /SiO ₂	(0,10 g/0,02 g)	Sem solvente, 80 °C, 1,2 min, 400 W	93
Balalaie <i>et al.</i> [29]	Acetato de amônia (231 mg), Alumina básica (3 g)		Sem solvente, ta, 6 min, 850 W	80
El-Rahman <i>et al.</i> [30]			H ₂ O (2 mL), ta, 2 min, 800 W	89
Peng <i>et al.</i> [31]	Urotropina (CH ₂) ₆ N ₄	(0,28 g)	EtOH (5 mL), ta, 2 min, 300 W	83
Sabitha <i>et al.</i> [32]	LiCl	(0,001 g)	Sem solvente, ta, 3 min, 600 W	88
De la Cruz <i>et al.</i> [33]	Sílica gel	(5 g)	<i>n</i> -BuOH(5 mL), 110 °C, 150 W	83
Chaitanya <i>et al.</i> [34]	NH ₄ OAc-AcOH	(0,0770 g/0,12 g)	Sem solvente 130 °C, 2 min, 280 W	98

Como observado na Tabela 2.9 a maioria dos casos os tempos de reação foram relativamente curtos e com rendimentos moderados a excelentes. Contudo, na maioria das reações por radiação micro-ondas foi necessário o uso de aditivos (ácidos e bases de Lewis). Em alguns exemplos também aplicou-se potências elevadas (300 a 850 W). Observando a vantagem do uso da tecnologia de radiação micro-ondas, neste trabalho decidiu-se empregar esta técnica para desenvolver uma metodologia mais sustentável.

Assim, em nossos estudos foi selecionada a reação de condensação de Knoevenagel partindo-se do benzaldeído e da malononitrila em condições de micro-ondas usando diferentes solventes (Tabela 2.10).

Tabela 2.10. Efeito dos solventes na condensação de Knoevenagel para a síntese do aduto **2a**.

Solvente	Constante dielétrica (ϵ)	Rendimento (%)
DMSO	46,7	93
THF	7,5	59
DMF	38	91
Dioxano	2,3	45
Etanol	30	95
Acetona	21	70
Água	80	99
Metanol	33	97

Observou-se que para solventes polares próticos (MeOH, EtOH) e para os solventes polares apróticos (DMSO, DMF, THF, Acetona) com elevada constante dielétrica a reação de condensação de Knoevenagel foi bem-sucedida, fornecendo rendimento quantitativo na presença de água, > 99 % (Tabela 2.10).

Contudo, para solventes com baixa constante dielétrica como o dioxano e o THF, o rendimento foi insatisfatório. Este fato pode estar relacionado com a natureza da reação que ocorre no reator de micro-ondas. É conhecido que o maior momento dipolar do solvente empregado as interações moleculares tornam-se mais efetivas na presença das micro-ondas, pois este tipo de energia aumenta a cinética da reação. Neste caso observou-se que na condensação de Knoevenagel o tempo foi reduzido de 240 minutos na ausência de MO para 30 minutos na presença de MO (Tabela 2.11).

Assim, a água foi selecionada como solvente ideal para promover a reação de Knoevenagel e a partir disto otimizou-se as condições reacionais variando-se o tempo (10 a 30 min). O melhor resultado ocorreu com a reação em 30 minutos fornecendo um rendimento de 99 % na presença da radiação micro-ondas na temperatura de 85 °C (Tabela 2.11).

Enquanto a reação realizada na presença de MO à temperatura ambiente forneceu 40 % de rendimento isolado em 30 min de reação. E, a reação na ausência das micro-ondas forneceu 94 % após 240 minutos.

Tabela 2.11. Otimização do tempo de reação da condensação de Knoevenagel para a síntese do aduto **2a** via radiação micro-ondas em presença de água^a.

Tempo (minutos)	Rendimento (%)
10	62
20	81
30	99
240	94 ^b
30	40 ^c

^a1,0 mmol de aldeído, 1,0 malononitrila, 3 mL de água a 85 °C em reator de micro-ondas (20 W). Constante dielétrica (ϵ) da água: 80

^breação realizada na ausência da radiação micro-ondas

^creação efetuada com radiação micro-ondas à temperatura ambiente

O aduto **2a** foi caracterizado por técnicas espectroscópicas de IV, RMN (^1H , e ^{13}C), espectrometria de massas e difração de raios-X de monocristal.

No espectro de IV observou-se uma banda em 2224 cm^{-1} característica do grupo CN, também uma banda intensa em 1605 cm^{-1} característica de uma ligação dupla conjugada, sendo estas duas relevantes, mas existem outras bandas que também foram observadas (3011 , 2945 , 1597 , 1581 , 1446 , 1210 , 944 cm^{-1}).

Na análise de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) observou-se em 7,92 ppm (m, 2H) um sinal para hidrogênios aromáticos na posição *orto*; em 7,79 ppm (s, 1H) foi observado um singlete ligado a hidrogênio vinílico; em 7,64 ppm (m, 1H) um sinal de hidrogênio aromático na posição *para*; em 7,54 ppm (m, 2H) para hidrogênios aromáticos na posição *meta*.

No espectro de RMN de ^{13}C (100MHz, CDCl_3) foi observado uma linha espectral em 159,9 ppm característico do carbono vinílico; em 134,6 ppm um sinal de carbono *ipso* aromático; em 131,0 ppm foi observado um sinal de carbono aromático na posição *meta*; em 130,8 ppm foi observado um sinal que corresponde ao carbono aromático na posição *orto*; em 129,6 ppm sinal do carbono aromático na posição *para*. Sinais em 113,6 e 112,5 ppm característicos dos carbonos do grupo CN e em 82,7 ppm para carbono geminal ligado ao grupo ciano.

O espectro de massas apresentou o pico de íon molecular que correspondeu também ao pico base m/z 154 (M^+ , 100%).

Análise por difração de raios-X mostrou o modelo ORTEP para o aduto **2a** observando o comprimento de ligação de C₁-N₁ (1,1469 Å), C₁-C₃ (1,4370 Å), C₂-N₂ (1,1431 Å), C₂-C₃ (1,4359 Å) e C₃-C₄ (1,3521 Å) (Figura 2.3).

Figura 2.3. Espectro ORTEP da difração de raios-X do cristal do composto **2a**.

Otimizadas as melhores condições de reação para a condensação de Knoevenagel na preparação do composto **2a**, foi ampliado o escopo da reação nas mesmas condições descritas utilizando-se de vários aldeídos aromáticos **1a-1z** e a malononitrila **1a'** (Tabela 2.12).

Como pode ser observado na Tabela 2.12 independentemente do tipo de grupo substituinte (eletrodoador ou eletrorretirador), do número de grupos substituintes, bem como, da posição em que se encontram ligados no anel aromático (*orto*, *meta* ou *para*) os rendimentos dos adutos obtidos foram elevados. Também observou-se que não houve influência significativa quanto à natureza do núcleo aromático (benzenóide, tiofeno, furano, sistemas α,β -insaturados) os rendimentos também foram elevados.

Posterioremente, os adutos **2a-2z** sintetizados foram utilizados como material de partida para a obtenção de compostos tetrazólicos (**Capítulo 3**), compostos bifenílicos via reação de acoplamento de Suzuki (**Capítulo 4**), cromenos (**Capítulo 5**) em condições de micro-ondas. Ainda os adutos de Knoevenagel **2a-2k** foram usados em reações de bio-hidrogenação com o fungo de ambiente marinho *Penicillium citinum* CBMAI 1186 (**Capítulo 6**).

Tabela 2.12. Síntese de autos de Knoevenagel por radiação micro-ondas.

$\text{Ar}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H} + \text{NC}-\text{CH}_2-\text{CN} \xrightarrow[20 \text{ W}]{\text{H}_2\text{O (3 mL), 85 }^\circ\text{C, 30 min}} \text{Ar}-\text{CH}=\text{C}(\text{CN})_2$	
1a-1z	1a'
Substituinte	Rendimento (%)
C ₆ H ₅ (1a)	99
<i>o</i> -BrC ₆ H ₄ (1b)	90
<i>m</i> -BrC ₆ H ₄ (1c)	96
<i>p</i> -BrC ₆ H ₄ (1d)	97
<i>p</i> -CH ₃ C ₆ H ₄ (1e)	98
<i>o</i> -ClC ₆ H ₄ (1f)	91
<i>m</i> -ClC ₆ H ₄ (1g)	95
<i>p</i> -ClC ₆ H ₄ (1h)	98
<i>p</i> -CNC ₆ H ₄ (1i)	92
<i>o</i> -FC ₆ H ₄ (1j)	95
<i>m</i> -FC ₆ H ₄ (1k)	85
<i>p</i> -FC ₆ H ₄ (1l)	98
<i>p</i> -NH ₂ C ₆ H ₄ (1m)	88 ^a
<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄ (1n)	91
<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄ (1o)	91
<i>p</i> -NO ₂ C ₆ H ₄ (1p)	99
<i>p</i> -OHC ₆ H ₄ (1q)	90
<i>m</i> -OMeC ₆ H ₄ (1r)	96
<i>p</i> -OMeC ₆ H ₄ (1s)	98
3-OMe,4-OMe,5-OMeC ₆ H ₂ (1t)	92 ^a
furfural (1u)	95
tiofeno (1v)	85
<i>trans</i> -metil-cinamaldeído* (1w)	96
vanilina (1x)	94
nicotinaldeído (1y)	85
3-fenoxibenzaldeído (1z)	80 ^a

*Formação de dímeros

^aProdutos inéditos

Um fenômeno interessante foi observado para o *trans*-metil-cinamaldeído (**1w**), por radiação micro-ondas durante a síntese de condensação de Knoevenagel. Inicialmente esperava-se a formação do aduto **2w**, contudo, quando foram feitas as análises espectroscópicas de RMN de ¹H e ¹³C, raios X de monocristal observou-se a formação do aduto dimérico **2w'** (Figura 2.4).

Figura 2.4. Compostos obtidos na reação de condensação de Knoevenagel a partir do *trans*-metil-cinamaldeído via MO.

Nas análises de RMN de ^1H para o composto **2w** foi observado na região aromática 15 hidrogênios, o que não seria condizente para este aduto de Knoevenagel. Uma análise mais detalhada do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), apresentou um singleto em 8,25 ppm (s, 2H) característico de dois hidrogênios vinílicos do dímero **2w'**, mas também foi observado um singleto em 8,12 ppm (s, 1H) próprio de hidrogênio vinílico do composto **2w**. Assim, concluiu-se que a amostra estava como uma mistura de compostos (**2w** e **2w'**) (Figura 2.5).

Este fato foi confirmado também nas análises por RMN de ^1H , onde apresentou na região entre 7,51-7,44 ppm (m, 10H) os hidrogênios aromáticos do dímero **2w'** e na região entre 7,43-7,35 ppm (m, 6H), os 5 hidrogênios aromáticos do aduto **2w**; e ainda a presença de um hidrogênio vinílico, adjacente ao anel aromático, o qual encontra-se em *overlap* aos hidrogênios do aduto **2w** (Figura 2.5).

Figura 2.5. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do aduto de Knoevenagel **2w** e para o aduto dimérico **2w'**.

Também foi observado um singlete em 4,37 ppm (s, 2H), que corresponde aos hidrogênios presentes no anel ciclo butano do dímero **2w'** e foi observado um outro sinal singlete em 1,46 ppm (s, 6H) para os 6 hidrogênios de dois grupos CH_3 presentes, no anel ciclobutano do dímero **2w'**. Por outro lado, foi observado um sinal singlete em 2,31 ppm (s, 3H) para os hidrogênios do grupo CH_3 do composto **2w**.

Por meio das análises de RMN de ^1H foi possível concluir que a reação de condensação de Knoevenagel para o *trans*-metil-cinamaldeído **1w** com a malononitrila foi bem-sucedida, uma vez que o aduto **2w** quando exposto à luz ($h\nu$) promoveu a formação do aduto dimérico **2w'** via uma reação de ciclo adição [2+2]. Este tipo de ciclização já foi observada na literatura [47] para a obtenção do dímero **2w'**, pois este sistema favorece a obtenção de dímeros via reação fotoquímica (Esquema 2.13).

No espectro de RMN ^{13}C também confirmou a presença da mistura dos adutos **2w** e **2w'**. Na região de aromáticos foram observados 16 linhas espectrais correspondentes aos carbonos benzenóides. Em 14,9 ppm foi observado um sinal correspondente ao carbono CH_3 do aduto **2w**. Em 88,22 ppm foi observado um sinal próprio do carbono quaternário ligado os grupos CN; em 61,20 e 46,98 ppm sinais característicos dos carbonos do anel ciclobutano e um sinal em 23,24 ppm de carbonos de grupos CH_3 ligados ao ciclobutano.

Esquema 2.13. Reação de condensação de Knoevenagel do composto **1w** para a formação dos adutos **2w** e **2w'**.

Após deixar o aduto **2w** exposto à luz ambiente por um período de 24 horas foi obtido o aduto dimérico **2w'**. A confirmação da estrutura **2w'** foi corroborada com uma análise de difração de raios-X de monocristal, onde por meio do modelo ORTEP confirmou a estrutura do dímero **2w'** na sua conformação mais estável (Figura 2.6). Contudo, não foi possível isolar quantitativamente o aduto dimérico **2w'** puro seja por recristalização ou por cromatografia em coluna para realizar as análises de RMN. Assim, as análises dos adutos **2w** e **2w'** foram realizadas em mistura.

Figura 2.6. Espectro ORTEP da difração de raios-X do cristal do dímero do aduto de Knoevenagel **2w'**.

Uma evidência teórica para a obtenção do composto **2w'** pode ser constatada via reação pericíclica do tipo ciclo adição [2+2] fotoquimicamente. Como é descrito na literatura [46] as reações de ciclo adição têm estados permitidos e proibidos. Neste caso, tem-se uma reação [2+2] que por análise de orbitais de fronteira concluiu-se que a formação do produto **2w** ocorreu por via fotoquímica. Não seria possível ocorrer via processo térmico devido a interação dos orbitais de fronteira não ser permitida.

A Figura 2.7 ilustra os orbitais de fronteira para uma reação pericíclica de cicloadição [2 + 2] térmica e fotoquímica.

Figura 2.7. Análise de orbitais de fronteira para uma reação pericíclica de ciclo adição [2+2].

O aduto **2w** obtido da reação de condensação de Knoevenagel possibilita teoricamente a formação de dois adutos diméricos **2wa'** e **2w'** por processo fotoquímico (Figuras 2.8 e 2.9). Assim, foram propostas as possíveis estruturas a partir das análises dos orbitais de fronteira. No primeiro caso a formação do aduto **2wa'** foi favorecida pela interação de movimento disrotatório (supra-suprafacial). Contudo, experimentalmente concluiu-se que para a obtenção do aduto **2wa'** não foi favorecida devido a impedimentos estéricos durante a formação do estado de transição (Figura 2.8).

Figura 2.8. Proposta de orbitais de fronteira para a obtenção do aduto **2wa'**.

O aduto dimérico **2w'** foi o produto favorecido devido a que apresenta menor impedimento estérico no estado de transição via reação de ciclo adição [2+2] fotoquimicamente por movimento disrotatório e supra-antarafacial (Figura 2.9).

Figura 2.9. Proposta de orbitais de fronteira para a obtenção do aduto **2w'**.

2.4.2 Síntese de adutos de Knoevenagel via radiação micro-ondas utilizando aldeídos e cianoacetamida

Inicialmente foi feita uma reação de condensação de Knoevenagel partindo-se do 4-metoxibenzaldeído (anisaldeído) e cianoacetamida usando a radiação micro-ondas (Esquema 2.14). Foi empregado o 4-metoxibenzaldeído devido a facilidade de formação de cristais. Neste tipo de aduto partindo-se da cianoacetamida há possibilidade de formar os diastereoisômeros *E/Z*. Portanto, a obtenção de cristais poderia facilitar a caracterização do produto por análise de raios-X.

Esquema 2.14. Síntese do aduto **3h** por radiação MO.

A reação inicialmente foi realizada nas mesmas condições em que se utilizou o benzaldeído e a malononitrila. Contudo, o rendimento isolado para o aduto **3h** foi de 45 %, requerendo o uso de aditivos para a melhorar o desempenho da reação. Assim, após realizar uma consulta na literatura científica sobre este tipo de reação alguns resultados interessantes foram encontrados (Tabela 2.13).

Tabela 2.13. Trabalhos da literatura para a obtenção de adutos de Knoevenagel com cianoacetamida.

Referência	Aditivos	Condição de reação	Rendimento (%) / isômero
Zhong <i>et al.</i> [48]	Piperidina (1 gota)	EtOH (15 mL), rt, 24 h	83/E
Ghafoor <i>et al.</i> [49]	N(CH ₃) ₃ (2 gotas)	EtOH, ta, overnigth	70/Z
Rai <i>et al.</i> [50]		H ₂ O (1 mL), refluxo, 4 h	98/E/Z
Schneider <i>et al.</i> [51]	Cu (pó, 20 mg)	EtOH, 56 °C, 16 h	85/E
Gunasekar <i>et al.</i> [52]	NaOH (5 mol %)	MeOH, 40 °C, 2 h	92/E/Z
Xu <i>et al.</i> [53]	Acetato de N-metil morfina (10 mol %)	H ₂ O (1 mL), ta, 10 h	93/E
Jing <i>et al.</i> [54]	2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina (TCT) ()	EtOH (2 mL), 80 °C, 12 h	89/E/Z

Pelos resultados observados na literatura para o melhoramento da reação de Knoevenagel decidiu-se também fazer o uso de aditivos com caráter básico como, por exemplo, NaOH, piridina e trietilamina (Tabela 2.14). Ainda, para um melhor desempenho da reação por MO utilizou-se também uma solução de NaCl 5 M com o propósito de favorecer o aproveitamento da absorção da energia da radiação de micro-ondas para ser transferida à reação de condensação de Knoevenagel.

Tabela 2.14. Condensação de Knoevenagel entre anisaldeído e cianoacetamida pelo uso de aditivos por MO.

Base	Rendimento (%)		
NaOH (3 gotas, 5 M)	99		
(Et) ₃ N (15 µL)	99		
Piridina (15 µL)	78		

Com o emprego dos aditivos básicos foram observados 2 fenômenos interessantes na reação aldólica. O primeiro foi um melhor rendimento da reação que atingiu 99 % (Tabela 2.14) na presença de trietilamina ou NaOH. Para a piridina o rendimento foi moderado (78 %) devido seu menor caráter básico, cujo valor de *pKa* é de 5,25 em água em comparação ao da cianoacetamida (*pKa* 8,53 em água).

O segundo fenômeno foi a obtenção de produtos com cores diferentes como foi no caso para o NaOH (produto cristalino branco) e para a trietilamina (produto cristalino amarelo). Isto pode ser devido à formação de diastereoisômeros *Z* e/ou *E* para o aduto de Knoevenagel **3h** (Figura 2.10).

Figura 2.10. Representação estrutural dos diastereoisômeros *E* e *Z* do 2-ciano-3-(4-metoxifenil) acrilamida.

A formação dos isômeros *E* e *Z* pode ser devido ao estado de transição frente à participação do íon enolato (Figura 2.11). Assim, dependendo do tipo de base pode favorecer a formação de preferencial de um estado de transição e por consequência a formação de um aduto diastereoisomérico *E* ou *Z* em detrimento do outro.

Figura 2.11. Proposta de formação de íons enolatos baseado nos modelos de estados de transição pericíclicos de Ireland usando trietilamina [55].

Analisando a proposta na Figura 2.9 há possibilidade de formação de dois estados de transição. Neste caso, a trietilamina determina a formação do isômero *E* como produto majoritário devido há poucos efeitos espaciais e eletrônicos entre a trietilamina, o hidrogênio ácido e o grupo carbonila da amida (esquerda). Neste estado de transição só há uma interação desestabilizadora entre os grupos CN e NH₂ (direita).

Em contraste o estado de transição do isômero *Z* apesar que não apresenta a interação desestabilizadora entre os grupos CN e NH₂, este estado de transição apresenta duas interações de desestabilização: Interações entre a trietilamina com o grupo CN e do grupo CN com a carbonila da amida. Assim o enolato *E* é formado preferencialmente, pois as interações de desestabilizações são menos significativas frente as interações do enolato *Z*.

Os diastereoisômeros *E-3h* da condensação de Knoevenagel foi caracterizado por técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ¹H e ¹³C, CG-EM. Para o isômero *E-3h* no IV observou-se uma banda em 2224 cm⁻¹ característica do grupo CN, também uma banda intensa em 1605 cm⁻¹ característica de uma ligação dupla de alceno, bem como, outras bandas (3011, 2945, 1597, 1581, 1446, 1210, 944 cm⁻¹).

No espectro de RMN de ¹H Para o isômero *E-3h* obteve-se um sinal de singletto em δ 8,26 (s, 1H) do hidrogênio vinílico, na região entre 7,98-7,95 ppm observou-se um sinal multipletto para os hidrogênios aromáticos na posição *meta*. Em 7,01-6,99 ppm sinal de multipletto para os hidrogênios aromáticos na posição *orto* e em 3,90 ppm um sinal singletto característico dos hidrogênios do grupo metoxila.

No espectro de RMN de ¹³C Para o isômero *E-3h* obteve-se em δ 163,63 o sinal de carbono carbonílico do grupo amida. Em 162,62 ppm um sinal de carbono quaternário adjacente ao grupo metoxila, em 153,46 ppm um sinal característico do carbono vinílico, em 133,34 ppm sinal característico de carbono aromático na posição *orto*. Em 124,43 ppm sinal característico de carbonos aromáticos na posição *meta*, em 114,77 ppm sinal do carbono do grupamento CN, em 99,33 ppm sinal do carbono geminal ligado ao grupo ciano e amida e em 55,61 ppm sinal característico de carbono do grupo metoxila.

As análises de RMN foram feitas para os isômeros *E-3h* e *Z-3h*, mas não foi observado diferenças significativas nos sinais dos espectros que possibilitasse diferenciar os respectivos diastereoisômeros.

O espectro de massas para os isômeros *E-3h* e *Z-3h* apresentou o pico de íon molecular que também correspondeu ao pico base [$M^+ \cdot 202$].

Devido não ser possível diferenciar os isômeros *E-3h* e *Z-3h* por RMN, decidiu-se realizar uma análise por difração de raios-X de monocristal, uma vez que foram obtidos monocristais de *E-3h* e ou *Z-3h* para a determinação estrutural e da configuração dos diastereoisômeros obtidos (Figura 2.12).

Figura 2.12. Espectro ORTEP da difração de raios-X do cristal do composto *E-3h* e *E-3k*.

Os adutos de Knoevenagel que forneceram monocristais foram o **3a**, **3b**, **3h**, **3i**, **3k**. Porém, a difração de raios-X só foi realizada para os compostos **3h** e **3k**. Pelas análises de difração de raios-X foi determinada que a configuração dos isômeros obtidos empregando NaOH e trietilamina fornecendo os diastereoisômeros com configuração *E* para ambos casos.

Otimizadas as melhores condições de reação para a condensação de Knoevenagel na preparação do composto **3h**, foi ampliado o escopo da reação nas mesmas condições descritas utilizando-se de vários aldeídos aromáticos **1a-1m** e a cianoacetamida **1a''** (Tabela 2.15).

Tabela 2.15. Síntese de adutos de Knoevenagel por MO a partir de aldeídos aromáticos e cianoacetamida.

$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{H} \quad + \quad \text{NC}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2 \\ \text{1a-1m} \quad \quad \quad \text{1a''} \end{array} \xrightarrow[60 \text{ W}]{\begin{array}{c} \text{N(Et)}_3 \text{ ou} \\ \text{NaOH} \\ \text{NaCl (3 mL)} \\ 85 \text{ }^\circ\text{C, 35 min} \end{array}} \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O}) \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}=\text{C}-\text{CN} \\ \text{E-3a-E-3m} \end{array} $		
Substituinte*	Rendimento (%) ^a	Rendimento (%) ^b
4-BrC ₆ H ₄ 3a	95	91
4-ClC ₆ H ₄ 3b	94	92
4-FC ₆ H ₄ 3c	97	94
4-N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄ 3d	95 ^c	92
4-NO ₂ C ₆ H ₄ 3e	97	95
4-OHC ₆ H ₄ 3f	90	90
3,4,5-OCH ₃ C ₆ H ₂ 3g	96 ^c	95
4-OCH ₃ C ₆ H ₄ (3h)	99	99
furfural 3i	99	99
seringaldeído 3j	93 ^c	93
tiofeno 3k	95 ^c	94
vanilina 3l	98	96
isovanilina 3m	91 ^c	95

^a base : trietilamina

^b base: NaOH

^cProdutos inéditos

*Em todos os casos inferiu-se a geométrica *E*

Como pode ser observado na Tabela 2.15 independentemente do tipo de grupo substituinte (eletrodoador ou eletrorretirador), do número de grupos substituintes, bem como, da posição em que se encontram ligados ao anel aromático (*meta* e *para*) os rendimentos dos adutos obtidos foram elevados. Também observou-se que não houve influência significativa quanto à natureza do núcleo aromático (benzenóide, tiofeno, furano).

2.5 CONCLUSÃO

Pode-se observar o desenvolvimento de uma metodologia sintética eficiente para a reação de Knoevenagel empregando a radiação de micro-ondas, com altos rendimentos aplicando protocolos de Química Verde o que faz desta metodologia interessante para aplicações em química fina.

Foi determinado experimentalmente que o melhor solvente para a reação de condensação de Knoevenagel por radiação micro-ondas foi a água em comparação com outros solventes como DMSO, DMF, THF, acetona, dioxano, MeOH e EtOH.

Foi determinado também que a radiação de micro-ondas aumentou a velocidade de reação de condensação de Knoevenagel diminuindo o tempo de 4 horas para 30 min de reação com rendimentos >90 %.

Foi avaliado o emprego de aditivos básicos para a síntese de compostos de Knoevenagel com cianoacetamida determinando que as bases NaOH e trietilamina favorecem o incremento do rendimento de reação até 99 %. Inclusive possibilitando a obtenção preferencial do diastereoisômero *E*.

Foram sintetizadas 40 moléculas das quais 9 foram inéditas.

2.6 REFERÊNCIAS

- [1] MCMURRY, J.; SIMANEK, E. **Fundamentals of organic chemistry**. Miami: Thomson-Brooks/cole, 2003. 640 p.
- [2] ROBERTS, J. D.; CASEIRO, M. C. **Basic principles of organic chemistry**. Menlo Park: W. A. Benjamin, 1997. 1528 p.
- [3] CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic chemistry**. Oxford: Oxford University Press, 2001. 1512 p.
- [4] BRUCKNER, R. **Advances organic chemistry: reactions mechanisms**. San Diego: Academic Press, 2001. 636 p.
- [5] BRUICE, P Y. **Essential organic chemistry**. Santa Barbara: Pearson Education, 2006. 1440 p.
- [6] MONSON, R. **Advanced organic synthesis: methods and techinques**. Hayward: Elsevier, 2012. 209 p.
- [7] GROSSMAN, R. B. **The art of writing reasonable organic reaction mechanism**. New York: Springer-verlag, 2002. 360 p.
- [8] MUKAIYAMA, T. NARASAKA, K. BANNO, K. New aldol type reaction. **Chemistry Letters**, v. 2, p. 1011-1014, 1973.
- [9] MICHAEL, A. Zur isomerie in der fettreihe. **Chemische Berichte**, v. 19, p. 1381-1386, 1886.
- [10] MARCH, J. **Advanced organic chemistry: reactions, mechanims and structure**. New Jersey: Wiley-Interscience, 1992. 2374 p.
- [11] KNOEVENAGEL, E. Ueber eine darstellungsweise der glutarsaure. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 27, p. 2345-2346, 1894.
- [12] KNOEVENAGEL, E. Ueber eine darstellungsweise des benzylidenacetessigesters. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 29, p. 172-174, 1896.

- [13] NOKAMI, J. Convenient formation of 4-hydroxyalk-2-en-1-one functionality via a Knoevenagel-type carbon chain elongation reaction of aldehyde with 1-arylsulfinylalken-2-one. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 66, p. 1228-1232, 2001.
- [14] COULIBALY, W. K. Prospective study directed to the synthesis of unsymmetrical linked bis-5-arylidene rhodanine derivatives via “one-pot two steps” reactions under microwave irradiation with their antitumor activity. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, p. 1653-1661, 2015.
- [15] KWAK, G.; FUJIKI, M. Colored and luminous aliphatic polyester via one-pot intra and intermolecular Knoevenagel reactions. **Macromolecules**, v. 37, p. 2021-2025, 2004.
- [16] ZHANG, H. A novel polybenzoxazine containing styrylpyridine structure via the Knoevenagel reaction. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 1, p. 131-135, 2014.
- [17] KUMAR, D.; REDDY, V.B.; SHARAD, S.; DUBE, U.; KAPUR, S. A facile one-pot green synthesis and antibacterial activity of 2-amino-4*H*-pyrans and 2-amino-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4*H*-chromenes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 3805-3809, 2009.
- [18] BEHBEHANI, H.; IBRAHIM, H.M.; MAKHSEED, S.; ELNAGDI, M.H.; MAHMOUD, H. 2-Aminothiophenes as building blocks in heterocyclic synthesis: Synthesis and antimicrobial evaluation of a new class of pyrido[1,2-*a*]thieno[3,2-*e*]pyrimidine, quinoline and pyridin-2-one derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 51-65, 2012.
- [19] AL-MOUSAWI, S.M.; MOUSTAFA, M.S.; AL-SALEH, E. Antimicrobial activities of some novel thiazoles. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 42, p. 428-433, 2016.
- [20] KASHTOH, H.; MUHAMMAD, M.T.; KHAN, J.J.A.; RASHEED, S.; KHAN, A.; PERVEEN, S.; JAVAID, K.; TUL-WAHAB, A.; KHAN, K.M. Dihydropyrano [2,3-*c*] pyrazole: Novel in vitro inhibitors of yeast α -glucosidase. **Bioorganic Chemistry**, v. 65, p. 61-72, 2016.
- [21] MISHRA, S.; HAJRA, A. Copper-catalyzed oxidative annulation between 2-aminopyridine and arylidenemalononitrile leading to 4-oxo-pyrido[1,2-*a*]pyrimidine-3-carbonitrile. **Tetrahedron Letters**, v. 56, p. 5651-5655, 2015.

- [22] RAMESH, R.; LALITHA, A. Synthesis of pyran annulated heterocyclic scaffolds: a highly convenient protocol using dimethylamine. **Research on Chemical Intermediates**, v. 51, p. 8009-8017, 2015.
- [23] GIRGIS, A.S.; ISMAIL, N.S.M.; FARAG, H. Facile synthesis, vasorelaxant properties and molecular modeling studies of 2-amino-8a-methoxy-4*H*-pyrano[3,2-*c*]pyridine-3-carbonitriles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 2397-2407, 2011.
- [24] YADAV, J.S.; REDDY, B.S.S.; BASAK, A.K.; VISALI, B.; NARSAIAH, A.V.; NAGAIAH, K. Phosphane-catalyzed Knoevenagel condensation: A facile synthesis of α -cyanoacrylates and α -cyanoacrylonitriles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 1, p. 546-551, 2004.
- [25] RAI, S. K.; KHANAM, S.; KHANNA R. S.; TEWARI A. K. Cascade synthesis of 2-pyridones using acrylamides and ketones. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 4, p. 44141-44145, 2014.
- [26] TADURI, A. K.; DEVI, B. R. Alum- Cs_2CO_3 as a new recyclable solid base catalyst for the efficient syntheses of arylidenemalononitriles, esters and arylcinnamic acids in water. **Asian Journal of Chemistry**, v. 26, p. 1938-1942, 2014.
- [27] DE LA CRUZ, P.; DIEZ-BARRA, E.; LOUPY, A.; LANGA, F. Silica gel catalysed Knoevenagel condensation in dry media under microwave irradiation. **Tetrahedron Letters**, v. 37, p. 1113-1116, 1996.
- [28] YUAN, S.; LI, Z.; XU, L. Knoevenagel condensation of aldehydes with active methylene compounds catalyzed by $\text{MgC}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ under microwave irradiation and solvent-free conditions. **Chemical Intermediates**, v. 38, p. 393-402, 2012.
- [29] SABITHA, G.; REDDY, B. V.; BADU, R. S.; YADAV, J. S. LiCl catalyzed Knoevenagel condensation: comparative study of conventional method vs microwave irradiation. **Chemical Letters**, v. 1, p. 773-774, 1998.
- [30] BALALAIIE S.; NEMATI N. Ammonium acetate-basic alumina catalyzed Knoevenagel condensation under microwave irradiation under solvent-free condition. **Synthetic Communications**, v. 30, p. 869-875, 2000.

- [31] EL-RAHMAN, N. M. A.; EL-KATEB, A. A.; MADY, M. F. Simplified approach to the uncatalyzed Knoevenagel condensation and Michael addition reactions in water using microwave irradiation. **Synthetic Communactions**, v. 37, p. 3961-3970, 2007.
- [32] PENG, Y.; SONG, G.; QIAN, X. Urotropine: An efficient catalyst precursor for the microwave-assisted Knoevenagel reaction. **Journal of Chemical Research**, v. 5, p. 118-189, 2001.
- [33] DAVE, C. G.; AUGUSTINE, C. Microwave assisted Knoevenagel condensation using NaCl and NH₄OAc-AcOH system as catalyst under solvent-free conditions. **Indian Journal Chemistry**, v. 38B, p. 403-405, 2000.
- [34] MOGILIAIAH, K.; PRASHANTHI, M.; REDDY, G. R.; REDDY, C. S.; REDDY, N. V. Microwave assisted Knoevenagel condensation using sodium fluoride and lithium chloride as catalyst under solvent-free conditions. **Synthetic Communactions**, v. 33, p. 2309-2312.
- [35] GUILLOT, R. LOUPY, A. MEDDOUR, A. PELLET, M. PETIT, A. Solvent-free condensation of arylacetonitrile with aldehydes. **Tetrahedron**, v. 61, p. 10129-10137, 2005.
- [36] P. KWON, Y. KIM, C. KANG, T. KWON. Microwave enhanced Knoevenagel condensation of malonic acid on basic alumina. **Synthetic Communactions**, v. 27, p. 4091-4100, 1997.
- [37] BOURAHLA, K.; DERDOUR, A.; RAHMOUNI, M.; CARREAUX, F.; BAZUREAU, J.P. A practical access to novel 2-amino-5-arylidene-1,3-thiazol-4(5*H*)-ones via sulfur/nitrogen displacement under solvent-free microwave irradiation. **Tetrahedron Letters**, v. 48, p. 5785-5789, 2007.
- [38] LINGHAM, A.R.; HAWLEY, J.A.; GREAVES, T.; JACKSON, N.; ANTOLASIC, F.; HUGEL, H.M. Revisiting the three component synthesis of isoxazolo[5,4-*b*]pyridines, 4-aryl-3,7,7-trimethyl-isoxazolo[5,4-*b*]quinolin-5(6*H*)-ones and related heterocycles. **Polyhedron**, v. 120, p. 175-179, 2016.
- [39] TRILLERAS, J.E.; VELASQUEZ, K.J.; PACHECO, D.J.; QUIROGA, J.; ORTIZ, A. Microwave-assisted synthesis under solvent-free conditions of (*E*)-2-(benzo[d]thiazol-2-yl)-3-arylacrylonitriles. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 2396-2402, 2011.

- [40] KUMAR, S.D.; SANDHU, J.D. Bismuth(III) chloride-mediated, efficient, solvent-free, MWI-enhanced Doebner condensation for the synthesis of (*E*)-cinnamic acids. **Synthetic Communications**, v. 40, p. 1915-1919, 2010.
- [41] FOZOONI, S.; HOSSEINZADEH, N.G.; HAMIDIAN, H.; AKHGAR, M.R. Nano Fe₂O₃, clinoptilolite and H₃PW₁₂O₄₀ as efficient catalysts for solvent-free synthesis of 5(4*H*)-isoxazolone under microwave irradiation conditions. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 1649-1655, 2013.
- [42] HU, Y.; GUAN, Z.; HE, Y.; LOUWAGIE, N.; YAO, M. *L*-Arginine as a cost-effective and recyclable catalyst for the synthesis of α,β -unsaturated nitriles and ketones in an ionic liquid. **Journal of Chemical Research**, v. 1, p. 22-24, 2000.
- [43] SHAHBAZI, F.; AMANI, K. Synthesis, characterization and heterogeneous catalytic activity of diamine-modified silica-coated magnetite-polyoxometalate nanoparticles as a novel magnetically-recoverable nanocatalyst. **Catalysis Communications**, v. 55, p. 57-64, 2014.
- [44] LAI, G.; PENG, J.; LI, J.; QIU, H.; JIANG, J.; JIANG, K.; SHEN, Y. Ionic liquid functionalized silica gel: novel catalyst and fixed solvent. **Tetrahedron Letters**, v. 47, p. 6951-6953, 2006.
- [45] PANICKER, R. K. G.; KRISHNAPILLAI, S. Synthesis of on resin poly(propylene imine) dendrimer and its use as organocatalyst. **Tetrahedron Letters**, v. 55, p. 2352-2354, 2014.
- [46] PADWA, A.; KENNEDY, G. D.; WANNAMAKER, M. W. Cycloaddition reactions of strained ring systems. Photosensitized [2 + 2] cycloadditions of 2-(acyloxy)-substituted cyclopropenes. **Journal of Organic Chemistry**, v. 25, p. 5334-5341, 1985.
- [47] MARTELLI, J.; CARRIÉ, R. Reactions avec le diazomethane d'esters cinnamylid'ene maloniques ou cyanacetiques methyles ou phenyles en y des groupements fonctionnels et des malononitriles correspondants. Thermolyse des pyrazolines obtenues. **Canadian of Journal Chemistry**, v. 55, p. 3942-3950, 1977.
- [48] ZHONG, Y.; XU, Y.; ANSLYN, E. V. Studies of reversible conjugate additions. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2013, p. 5017-2021, 2013.

- [49] GHAFOOR, A.; ASLAM, N.; ELLIOTT, M. C.; SAJID, N.; NASRULLAH, M.; ASHRAF, M.; AIN, Q.; KHAN, M. I. Synthesis, characterization and biological evaluation of some new oxino bis-pyrazole derivatives. **Asian Journal of Chemistry**, v. 28, p. 1648-1652, 2016.
- [50] RAI, S. K.; KHANAM, S.; KHANNA, R. S.; TEWARI, A. K. Cascade synthesis of 2-pyridones using acrylamides and ketones. **RSC Advances**, v. 4, p. 44141-44145, 2014.
- [51] SCHNEIDER, E. M.; ZELTNER, M.; KRANZLIN, N.; GRASS, R. N.; STARK, W. J. Base-free Knoevenagel condensation catalyzed by copper metal surfaces. **Chemical Communications**, v. 51, p. 10695-10698, 2015.
- [52] GUNASEKAR, R.; THAMARAISELVI, P.; RATHORE, R. S.; SATHIYANARAYANAN, K. L.; EASWARAMOORTHY, S. Tuning the electronic properties of 2-cyano-3-phenylacrylamide derivatives. **Journal of Organic Chemistry**, v. 80, p. 12351-12358, 2015.
- [53] XU, H.; PAN, L.; FANG, X.; LIU, B.; ZHANG, W.; LU, M.; XU, Y.; DING, T.; CHANG, H. Knoevenagel condensation catalyzed by novel Nmm-based ionic liquids in water. **Tetrahedron Letters**, v. 58, p. 2360-2365, 2017.
- [54] JING, Y.; MENG, J.; LIU, Y.; WAN, J. P. Direct three-component synthesis of α -cyano acrylates involving cascade Knoevenagel reaction and esterification. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 33, p. 1194-1198, 2015.
- [55] XIE, L.; ISENBERGER, K. M.; GARY, H.; DAHL, L. M. Highly stereoselective kinetic enolate formation: Steric vs electronic effects. **Journal of Organic Chemistry**, v. 62, p. 7516-7519, 1997.

CAPÍTULO 3

SÍNTESE DE COMPOSTOS TETRAZÓLICOS A PARTIR DE ADUTOS DE KNOEVENAGEL

3.1 INTRODUÇÃO

Os compostos heterocíclicos fazem parte dos mais importantes núcleos na química orgânica devido a enorme contribuição que essas moléculas têm, especialmente na área farmacêutica devido às atividades biológicas [1].

Dentre estes destacam-se os compostos aromáticos heterocíclicos nitrogenados com cinco átomos que são classificados como azóis. O grupo azol tem sido estudado devido a que têm muitas aplicações, por exemplo, ciência dos materiais, fármacos, explosivos, agricultura [2].

Derivados de compostos azólicos são um dos principais agentes antifúngicos usados clinicamente, pois interagem com a enzima P450 responsável pela síntese do ergosterol, um esteroide presente na membrana plasmática dos fungos [3]. Wooley *et al.* [4] descreveram a ação antifúngica do benzimidazol. Contudo, foi o cloroimidazol [5-6] que despertou o interesse pelos compostos azóis devido sua potente ação antifúngica (Figura 3.1) [7].

Figura 3.1. Representação estrutural do benzimidazol e cloroimidazol.

Os tetrazóis são compostos heterocíclicos constituídos por quatro átomos de nitrogênio e um átomo de carbono (6 π -azapirrólico). O primeiro trabalho de síntese de tetrazóis foi reportado por Bladin *et al.* [8] quando desenvolvia metodologias sobre a reatividade da dicianofenil-hidrazina.

Os compostos tetrazólicos apresentam muitas aplicações em síntese orgânica como intermediários que podem ser usados em reações envolvendo diversos reagentes, na síntese de fungicidas, de explosivos e na área de materiais [9].

Os compostos tetrazólicos 5-substituídos são planares e têm duas formas tautoméricas em equilíbrio os quais são conhecidos como bioisósteros não-clássicos dos ácidos carboxílicos [10] (Figura 3.2).

Os tetrazóis 5-substituídos apresentam acidez ($1H$ -tetrazol, $pK_a = 4,9$) comparável com os ácidos carboxílicos ($pK_a = 4,7$). A acidez do tetrazol pode ser atribuída à estabilização da carga negativa por ressonância quando ocorre a abstração do hidrogênio ácido do anel tetrazólico (Figura 3.2) [11].

Figura 3.2. Estabilização de carga negativa no tetrazol.

Um fato interessante é que suas formas tautoméricas podem ser comparadas com o grupo carboxilato, mas existem estudos que relevam que os compostos tetrazólicos possuem 10 vezes mais lipofílicidade (Figura 3.3) [12]. Outro fato interessante observado foi que compostos tetrazólicos são resistentes aos processos de degradação metabólica [13].

Figura 3.3. Tautômeros dos tetrazóis: $1H$ -5-substituído e $2H$ -5-substituído.

O conceito de isosterismo consiste em uma modificação molecular onde um grupo funcional é substituído por outro, mas este novo grupo apresenta propriedades físico-químicas parecidas, além de não modificar ou mesmo potencializar a atividade biológica. Este conceito foi reportado por Moir [14] e modificado por Grimm [15]. O primeiro estudo sobre isosterismo foi desenvolvido por Langmuir [16].

Existem dois tipos de isosterismo: o *isosterismo clássico* definido por grupos de átomos em compostos que possuem o mesmo número e arranjo de elétrons (Figura 3.4).

Figura 3.4. Exemplos de isosterismo clássico [14-17].

O *isosterismo não-clássico* consiste em grupos que não obedecem às definições de distribuição eletrônica, forma ou volume, portanto não necessariamente possuem o mesmo número de átomos e de arranjo de elétrons do grupo funcional original (Figura 3.5).

Figura 3.5. Exemplos de isosterismo não-clássico [14-17].

As características do *isosterismo não clássico* tornam-se importantes para a modificação de compostos para estudos biológicos. Esse tipo de isosterismo possibilita melhorar a atividade biológica, farmacológica, a seletividade e até a farmacocinética no caso a partir de um composto com atividade já conhecida (Figura 3.6) [17].

Figura 3.6. Exemplos de tetrazóis com propriedades biológicas que apresentam isosterismo não clássico [17].

Existem na literatura diferentes metodologias para a síntese de compostos tetrazólicos.

Batey *et al.* [18] reportaram a síntese de compostos tetrazólicos em várias etapas utilizando a prolina protegida e ligada em uma resina de cloreto de 2-clorotrilito (Esquema 3.1). Posteriormente foi removido o grupo Fmoc e realizou uma ligação peptídica com a glicina também protegida com Fmoc. Em seguida removeu o grupo Fmoc e inseriu o fenilisotiocianato. Por último, a síntese foi concluída pela desidrotiolação da tiouréia seguida da adição de azida de sódio e trietilamina para a formação do anel tetrazólico (Esquema 3.1).

Esquema 3.1. Síntese de peptídeos contendo núcleo tetrazólico [18].

Kumar *et al.* [19] desenvolveram uma rota de síntese de compostos tetrazólicos em 5 etapas a partir de acrilonitrila e benzaldeído para a obtenção do aduto de Morita-Baylis-Hillman (Esquema 3.2).

Esquema 3.2. Síntese de aduto tetrazólico de Morita-Baylis-Hillman.

Lofquist *et al.* [20] apresentaram uma metodologia de síntese direta de compostos tetrazólicos a partir de nitrilas e NH_4N_3 . A reação envolve o ataque nucleofílico da azida ao carbono do grupo nitrila seguido do fechamento do anel para a formação do núcleo tetrazólico (Esquema 3.3).

Esquema 3.3. Síntese do 5-feniltetrazol a partir de benzonitrila e azida de amônio.

Bernstein *et al.* [21] mostraram o uso de azida de sódio com cloreto de trietilamônia em DMF como solvente e metilpirrolidona (base), a 150°C por um intervalo de 3-4 horas para a síntese do núcleo tetrazólico (Esquema 3.4).

Esquema 3.4. Preparação de tetrazol a partir de benzonitrila e azida de sódio.

Koguro *et al.* [22] estudaram uma metodologia preparando um complexo intermediário de $[\text{Et}_3\text{N}.\text{HN}_3]$ em tolueno para posteriormente sintetizar tetrazóis a partir de nitrilas. A principal dificuldade foi a obtenção do complexo de azida-nitrila que ocorreu em um intervalo de 1-30 horas (Esquema 3.5).

Esquema 3.5. Obtenção de 5-feniltetrazol com azida de trietilamônio.

Sharpless *et al.* [23] reportaram um protocolo sintético para obtenção de anéis tetrazólicos a partir nitrilas e azida de sódio em presença de sais de Zn(II) em meio aquoso. Esta metodologia forneceu bons rendimentos, mas exigiu temperaturas elevadas entre 140-170 °C (Esquema 3.6).

Esquema 3.6. Sínteses de 5-feniltetrazol pela metodologia de Sharpless.

Duncia *et al.* [24] desenvolveram uma metodologia para obtenção de tetrazóis usando bifenilnitrilas e complexos de azida de trimetil-estanho. Porém, o resíduo organo-estanho apresenta toxicidade. Assim esta metodologia não é adequada de acordo com os protocolos da QV (Esquema 3.7).

Esquema 3.7. Síntese de tetrazóis usando azida de trimetil-estanho.

Uma alternativa para evitar o uso de substâncias tóxicas foi descrita por Pizzo *et al.* [25] frente ao uso de TMSN_3 em reações livres de solventes e fluoreto de tetrabutilamônio (TBAF). Este sistema foi realizado entre 1 a 48 horas em temperaturas de 85-120 °C (Esquema 3.8).

Esquema 3.8. Síntese de tetrazol com TMSN_3 na presença de TBAF.

Outro estudo de síntese de anéis tetrazólicos foi descrito por Huff *et al.* [26], no qual usou uma mistura equimolar de trimetilalumínio e azida de trimetilsilano em tolueno (80 °C) (Esquema 3.9).

Esquema 3.9. Síntese de tetrazol na presença de Me_3Al e TMSN_3 .

Yamamoto *et al.* [27] desenvolveram uma metodologia para a obtenção de tetrazóis a partir de compostos diciano via reação tricomponente na presença de paládio. Como fonte de azida foi empregado o TMSN_3 . Esta reação tricomponente forneceu um anel tetrazólico *N*-alil-substituído (Esquema 3.10).

Esquema 3.10. Síntese de núcleo tetrazólico 2,5-substituído catalisada por complexo de paládio.

Katam *et al.* [28] reportaram metodologias alternativas para preparação de anéis tetrazólicos usando hidrotalcita de Zn/Al. Contudo, esta metodologia requereu altas temperaturas, DMF e tempos prolongados de reação de 12 h (Esquema 3.11).

Esquema 3.11. Hidrotalcita de Zn/Al usada na síntese de tetrazol.

Outra alternativa na síntese de compostos tetrazólicos foi desenvolvida por Antonowa *et al.* [29]. Nesse protocolo utilizou-se o benzaldeído como reagente de partida o qual foi transformado em seu respectivo ariltetrazol-oxima seguida de azida de sódio (Esquema 3.12).

Esquema 3.12. Síntese de tetrazol a partir de benzaldeído e sal de oxima.

Zard *et al.* [30] desenvolveram uma metodologia de síntese de tetrazóis a partir de *N*-formil-hidrazina na ausência de azida. A reação de imidato com *N*-formil-hidrazina forneceu o núcleo triazólico a baixa temperatura 0 °C, 1 h com 95 % de rendimento (Esquema 3.13).

Esquema 3.13. Síntese de 5-feniltetrazol usando *N*-formil-hidrazina.

Harusawa *et al.* [31] estudaram um protocolo para a síntese de núcleos tetrazólicos usando a radiação de micro-ondas. A reação por radiação micro-ondas apresentou uma diminuição do tempo de 8 h (AC) para 2 h por MO empregando catalisadores de complexos de Pt(II) (Esquema 3.14).

Esquema 3.14. Síntese de composto tetrazólico catalisada por complexos de platina por MO.

Roh *et al.* [32] apresentaram a síntese de compostos tetrazólicos na ausência de complexos metálicos aplicando a radiação de micro-ondas. A reação em nitrobenzeno como solvente forneceu o composto tetrazólico com elevado rendimento a 100 °C por 2 h (Esquema 3.15).

Esquema 3.15. Síntese de 5-fenil-1H-tetrazol em nitrobenzeno como solvente por MO.

Cantillo *et al.* [33] desenvolveram um protocolo sintético para obtenção de tetrazóis usando AlCl_3 , *N*-metilpirrolidina (NMP) como solvente à temperatura de 200 °C em reator de micro-ondas. Estas condições mostrou tempo relativamente curto de reação (10 min) com rendimento moderado (85 %) (Esquema 3.16).

Esquema 3.16. Síntese de composto tetrazólico usando AlCl_3 por MO.

Em outro trabalho Cantillo *et al.* [34] estudaram uma metodologia para a síntese de compostos tetrazólicos mediante o uso de um organocatalisador (5-azido-1-metil-3,4-diidro-2H-pirrolidina de azida) o qual foi gerado *in situ* pela mistura de TMSCl com NaN_3 em NMP como solvente (Esquema 3.17).

Esquema 3.17. Síntese de tetrazol na presença do 5-azido-1-metil-3,4-diidro-2H-pirrolidina de azida por MO.

Shie *et al.* [35] desenvolveram uma metodologia de síntese de compostos tetrazólicos em reações Tandem a partir de álcoois primários em meio aquoso. Nessa metodologia inicialmente realizou a reação entre o álcool primário, iodo e água de amônia em THF como solvente em um reator de micro-ondas por 30 min. Após esse tempo foram adicionados a azida de sódio e ZnBr_2 empregando a radiação micro-ondas por 30 min fornecendo assim, o composto tetrazólico (Esquema 3.18).

Esquema 3.18. Síntese de composto tetrazólico a partir de um álcool primário em reação Tandem por MO.

Portanto, existe uma diversidade de metodologias sintéticas na obtenção de núcleos tetrazólicos. Assim, neste trabalho aplicou a metodologia de micro-ondas *one-pot* a partir de benzaldeídos aromáticos, manolonitrila ou cianoacetamida e azida de sódio para obter núcleos tetrazólicos.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo geral

Realizar a síntese de compostos tetrazólicos *one-pot* usando aldeídos aromáticos, malononitrila ou cianoacetamida, azida de sódio e empregando a radiação micro-ondas.

3.2.2 Metas

- ✓ Definir as melhores condições de reação para a obtenção de tetrazóis;
- ✓ Avaliar as sínteses de tetrazóis por aquecimento convencional e por radiação micro-ondas;
- ✓ Realizar estudos de melhoramento das condições de reação empregando aditivos ácido-base.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1 Reagentes

Benzaldeído (99 %), 2-bromobenzaldeído (99 %), 3-bromobenzaldeído (95 %), 4-bromobenzaldeído (99 %), 4-clorobenzaldeído (99 %), 4-flúor-benzaldeído (99 %), 4-hidroxibenzaldeído (99 %), 4-metilbenzaldeído (99 %), 4-metoxibenzaldeído (99 %), seringaldeído (99 %), 3,4,5-trimetoxibenzaldeído (99 %), 3-nitrobenzaldeído (99 %), 4-nitrobenzaldeído (99 %), 4-dimetilaminobenzaldeído (99 %), vanilina (99 %), furfural (99 %), malononitrila (99 %), cianoacetamida (99 %), azida de sódio (99 %), trimetilamina (95 %), CuSO₄ (99 %), SiO₂ (60 %), Al₂O₃ (10 %), TiO₂ (30 %), etilenodiamina (98 %), tirosina (99 %) ; e solventes (hexano, acetato de etila, metanol, THF, DMF, DMSO, acetona, dioxano, etanol, DMSO-*d*₆, MeOD, CDCl₃). Todos os reagentes e solventes foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação (Aldrich, Fluka, Synth, Merck e Vertec).

3.3.2 Equipamentos

A descrição dos equipamentos por Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), por Espectroscopia de Infravermelho-Transformada de Fourier (IV-FTIR), por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), o reator de micro-ondas, bem como outros equipamentos e o software ChemDraw (Versão 11.0) foram descritos no **Capítulo 2** (Seção 2.3.2).

3.3.3 Síntese de compostos tetrazólicos a partir de derivados de aldeídos aromáticos com malononitrila via *one-pot* por radiação micro-ondas

Em um balão reacional de 25 mL foram adicionados os derivados de aldeídos aromáticos (1,0 mmol), malononitrila (1,0 mmol), NaN_3 (1,5 mmol), CuSO_4 (10 % mol) e uma mistura de $\text{H}_2\text{O}/(\text{Et})_3\text{N}$ (4 mL/15 μL). A reação foi realizada em um reator micro-ondas e com agitação magnética por 120 min a 85 °C com uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Posteriormente, a reação foi filtrada e extraída com AcOEt (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na_2SO_4 anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por lavagem com solvente (CH_2Cl_2). Os derivados tetrazólicos obtidos foram identificados e caracterizados por IV e RMN. O Esquema 3.19 ilustra a equação química da reação de síntese de compostos tetrazólicos via *one-pot*.

Esquema 3.19. Síntese de compostos tetrazólicos a partir de derivados de aldeídos aromáticos e malononitrila via *one-pot* por MO.

Ar = C_6H_5 (**3a**), 2- BrC_6H_4 (**3b**), 3- BrC_6H_4 (**3c**), 4- BrC_6H_4 (**3d**), 4- ClC_6H_4 (**3e**), 4- FC_6H_4 (**3f**), 4- OHC_6H_4 (**3g**), 3- OCH_3 , 4- OCH_3 , 5- $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_2$ (**3h**), 4- $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (**3i**), 4- $\text{OCH}_3\text{COC}_6\text{H}_4$ (**3j**), 4- $\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4$ (**3k**), 3- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (**3l**), 4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (**3m**), tiofeno (**3n**), seringaldeído (**3o**), vanilina (**3p**).

(*E*)-3-fenil-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3a**)

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_5$, 197,20 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; (94 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 168-170 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3340, 2950, 2197, 1707, 1588, 1376; RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm) = 8,39 (s, 1H), 8,03-8,01 (m, 2H), 7,61-7,60 (m, 3H); RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm) = 148,88, 132,78, 132,64, 130,30, 130,29, 129,77, 115,97, 97,46.

(E)-3-(2-bromofenil)-2-(1H-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3b**)

$C_{10}H_6N_5Br$, 275,10 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 162-164 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3196, 2214, 1681, 1596, 1510, 1385; RMN de 1H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,46 (s, 1H), 8,06-8,04 (dd, J = 7,8, 1,6 Hz, 1H), 7,84-7,82 (dd, J = 8,0, 1,3 Hz, 1H), 7,61-7,58 (td, J = 7,7, 1,2 Hz, 1H), 7,51-7,47 (td, J = 7,7, 1,7 Hz, 1H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 160,89, 147,04, 133,74, 133,70, 132,85, 130,39, 128,78, 124,82, 115,04, 101,96.

(E)-3-(3-bromofenil)-2-(1H-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3c**)

$C_{10}H_5N_6Br$, 275,10 g.mol⁻¹; (96 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 170-173 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3322, 3196, 2959, 2874, 1664, 1360; RMN de 1H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,28 (s, 1H), 8,18-8,17 (q, J = 1,9 Hz, 1H), 7,99-7,97 (m, 1H), 7,76-7,74 (dd, J = 8,0, 2,1 Hz, 1H), 7,55-7,51 (td, J = 8,0, 2,0 Hz, 1H); RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 166,41, 156,70, 144,16, 136,04, 135,51, 134,38, 132,23, 131,67, 128,82, 122,67, 116,34, 101,30.

(E)-3-(4-bromofenil)-2-(1H-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3d**)

$C_{10}H_6N_5Br$, 275,10 g.mol⁻¹; (97 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 165-167 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3340, 3187, 2934, 2206, 1707, 1576, 1249; RMN de 1H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,25 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,69 (s, 1H); RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 167,51, 156,87, 145,75, 132,09, 131,64, 131,40, 130,83, 125,96, 115,00, 98,69.

(E)-3-(4-clorofenil)-2-(1H-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3e**)

$C_{10}H_6N_5Cl$, 231,64 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 170-172 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3346, 2934, 2214, 1631, 1469; RMN de 1H (500 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,20 (s, 1H), 7,97-7,95 (m, 2H), 7,61-7,58 (dd, J = 8,7, 2,1 Hz, 2H); RMN de ^{13}C (126 MHz, MeOD) δ (ppm) = 159,08, 146,13, 140,03, 131,78, 131,15, 129,40, 129,10, 113,44, 112,42, 98,21.

(E)-3-(4-flúor-fenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3f**)

$C_{10}H_6N_5F$, 215,19 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); sólido amarelo,

p.f. = 160-162 °C; IV $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) (puro) = 3367, 3186, 2222, 1681,

1605, 1520; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,28 (s,

1H), 8,10-8,05 (m, 4H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm)

= 166,79, 165,64, 163,13, 161,39, 147,27, 133,02, 132,93, 129,39, 129,36, 117,07, 116,85, 97,41.

(E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3h**)

$C_{13}H_{13}N_5O$, 287,28 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); sólido

amarelo, p.f. = 175-177 °C; IV $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) (puro) = 3331, 3187,

2958, 2197, 1696, 1512; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ

(ppm) = δ 8,20 (s, 1H), 7,39 (s, 2H), 3,84 (s, 6H), 3,75 (s, 3H);

RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 153,37, 145,01, 140,64, 128,72, 117,36,

107,69, 60,71, 56,46.

(E)-3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il) (**3i**)

$C_{11}H_9N_5O$, 227,23 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); sólido

amarelo; p.f. = 163-165 °C; IV (puro) $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) = 3390, 2984,

2781, 2222, 1707, 1580, 1503, 1266; RMN de ¹H (500 MHz,

DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,17 (s, 1H), 7,99-7,96 (m, 2H), 7,14-7,12 (m, 2H), 3,85 (s, 3H);

RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 162,32, 145,39, 132,13, 125,85, 117,32,

115,20, 114,37, 96,28, 56,02.

Benzoato de (E)-4-(2-ciano-2-(1*H*-tetrazol-5-il)vinil) metila (**3j**)

$C_{12}H_9N_5O_2$, 255,24 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); sólido

amarelo, p.f. = 167-169 °C; IV $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) (puro) = 3331,

3187, 2214, 1681, 1571; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ

(ppm) = 8,41 (s, 1H), 8,18-8,14 (m, 2H), 8,12-8,09 (m, 2H),

3,95 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 166,01, 146,40, 136,50, 132,59,

129,88, 129,66, 128,59, 126,47, 114,52, 99,80, 51,55.

(E)-3-(4-dimetilamino)fenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3k**)

$C_{12}H_{12}N_6$, 240,27 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); sólido laranja, p.f. = 132-134 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 2908, 2189, 1605, 1554, 1520, 1376, 1182; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = δ 8,03 (s, 1H), 7,84-7,82 (m, 2H), 6,85-6,84 (m, 2H), 3,10 (s, 6H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 159,31, 154,79, 134,05, 119,19, 116,72, 115,98, 112,26, 69,10.

(E)-3-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3m**)

$C_{10}H_6N_6O_2$, 242,06 g.mol⁻¹; (97 % de rendimento); sólido laranja, p.f. = 139-142 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3364, 2922, 2202, 1603, 1476; RMN de ¹H (500 MHz, Acetona-*d*₆) δ 8,59 (s, 1H), 8,45 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,68-7,65 (m, 2H); RMN de ¹³C (126 MHz, Acetona-*d*₆) δ 165,04, 145,21, 130,94, 130,18, 124,08, 123,42, 115,64, 102,04.

(E)-3-(tiofen-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3n**)

$C_8H_5N_5S$, 203,22 g.mol⁻¹; (86 % de rendimento); sólido marrom; p.f. = 158-160 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3103, 32916, 2214, 1647, 1596; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,57 (s, 1H), 8,11-8,09 (dt, *J* = 5,0, 1,0 Hz, 1H), 7,93-7,92 (ddd, *J* = 3,8, 1,3, 0,6 Hz, 1H), 7,33-7,31 (dd, *J* = 5,0, 3,8 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 143,99, 141,58, 138,10, 136,51, 135,23, 129,02, 116,19, 92,80.

(E)-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3o**)

$C_{12}H_{11}N_5O_3$, 273,25 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 172-174 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3348, 3145, 2925, 2214, 1707, 1621; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,16 (s, 1H), 7,41 (s, 2H), 3,92 (s, 6H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 148,64, 147,98, 140,52, 123,04, 115,94, 107,83, 92,11, 55,44.

(E)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**3p**)

$C_{10}H_5N_3O_2$, 243,23 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento), sólido amarelo; p.f. = 170-172 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ = (puro): 3348, 3187, 2934, 2214, 1588, 1512, 1274; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,24 (s, 1H), 7,50 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,42-7,39 (m, 1H), 7,13-7,11 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 161,12, 154,28, 147,39, 126,78, 124,76, 115,72, 115,40, 114,34, 112,63, 56,41.

3.3.4 Síntese de compostos tetrazólicos a partir de derivados de aldeídos aromáticos com cianoacetamida *via one-pot* por radiação micro-ondas

Em um balão reacional de 25 mL foram adicionados os derivados de aldeídos aromáticos (1,0 mmol), cianoacetamida (1,0 mmol), NaN₃ (1,5 mmol), CuSO₄ (10 % mol) e uma mistura de H₂O/ (Et)₃N (4 mL/15 μ L). A reação foi realizada em um reator micro-ondas e com agitação magnética por 120 min a 85 °C com uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Posteriormente, a reação foi filtrada e extraída com AcOEt (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄ anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por recristalização. Os derivados tetrazólicos obtidos foram identificados e caracterizados por IV e RMN. O Esquema 3.20 ilustra a equação química da reação de síntese de compostos tetrazólicos.

Esquema 3.20. Síntese de compostos tetrazólicos a partir de derivados de aldeídos aromáticos e cianoacetamida *via one-pot* por MO.

Ar = 4-BrC₆H₄ (**1a-Br**), 4-CH₃C₆H₄ (**1b-CH₃**), 4-NO₂C₆H₄ (**1c-NO₂**), 4-OHC₆H₄ (**1d-OH**), 3-OCH₃, 4-OCH₃, 5-OCH₃C₆H₂ (**1e-TriOCH₃**), 4-OCH₃C₆H₄ (**1f-OCH₃**), furano (**1g-Fur**), seringaldeído (**1h-Ser**), 5-Br-vanilina (**1i-5-BrVan**).

(E)-3-(4-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida (**4a**)

$C_{10}H_8N_5BrO$, 293,11 g.mol⁻¹; (91 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 171-173 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3322, 3196, 2959, 2874, 2197, 1664, 1360; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = δ 8,14 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,86-7,83 (m, 2H), 7,78-7,75 (m, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 162,94, 149,81, 132,77, 132,21, 131,58, 126,37, 116,67, 107,84.

(E)-3-(*p*-toluyl)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida (**4b**)

$C_{11}H_{11}N_5O$, 229,24 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); sólido laranja, p.f. = 168-170 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3179, 2197, 1689, 1631; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,13 (s, 1H), 7,82 (dd, *J* = 8,1, 6,5 Hz, 4H), 2,36 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 167,75, 163,34, 150,93, 143,45, 130,74, 130,28, 129,76, 129,76, 129,54, 128,21, 117,10, 105,76, 25,76.

(E)-3-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida (**4c**)

$C_{10}H_8N_6O_3$, 260,21 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); sólido vermelho, p.f. = 165-167 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3179, 2214, 1669, 1588, 1385, 1097; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,37-8,34 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 8,28 (s, 1H), 8,11-8,09 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 8,04-7,88 (d, *J* = 63,0 Hz, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 162,51, 149,19, 148,68, 138,47, 131,38, 124,58, 116,12, 111,03.

(E)-3-(4-hidroxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida (**4d**)

$C_{10}H_9N_5O_2$, 231,22 g.mol⁻¹; (87 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 172-173 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3357, 3196, 2222, 1681, 1605, 1520; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,03 (s, 1H), 7,86-7,84 (m, 2H), 7,75-7,72 (m, 1H), 7,61 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H), 6,91 (dd, *J* = 8,7, 1,9 Hz, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 164,33, 160,94, 148,12, 134,30, 132,30, 123,23, 117,06, 116,72, 116,27, 92,61, 75,56.

(E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida (**4e**)

$C_{13}H_{15}N_5O_4$, 305,29 g.mol⁻¹; (97 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 180-182 °C; IV $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) (puro) = 3340, 2934, 1689, 1596, 1376; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,12 (s, 1H), 7,84-7,71 (d, *J* = 50,9 Hz, 2H), 7,34 (s, 2H), 3,81 (s, 6H), 3,75 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 163,17, 153,32, 151,21, 141,45, 127,54, 117,31, 108,33, 105,41, 60,71, 56,42.

(E)-3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida (**4f**)

$C_{11}H_{11}N_5O_2$, 245,24 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); sólido violeta, p.f. = 173-175 °C; IV $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) (puro) = 3450, 3154, 1689, 1580, 1512; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,10 (s, 1H), 7,97-7,94 (m, 2H), 7,79-7,65 (d, *J* = 67,4 Hz, 2H), 7,13-7,11 (m, 2H), 3,85 (s, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 163,55, 163,02, 150,58, 132,89, 124,85, 117,50, 115,26, 103,38, 56,06.

(E)-3-(furan-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida (**4g**)

$C_8H_7N_5O_2$, 205,18 g.mol⁻¹; (92 % de rendimento); sólido marrom, p.f. = 165-166 °C; IV $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) (puro) = 3357, 3186, 2222, 1681, 1605, 1520; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,09 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,77-7,67 (m, 2H), 7,34-7,33 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 6,80-6,78 (dd, *J* = 3,6, 1,8 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 162,99, 149,00, 148,75, 136,31, 121,77, 116,72, 114,24, 101,70.

(E)-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida (**4h**)

$C_{12}H_{13}N_5O_4$, 291,27 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 177-178 °C; IV $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) (puro) = 3348, 3205, 2967, 2214, 1664, 1512, 1312; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 8,12 (s, 1H), 7,36 (s, 2H), 3,79 (s, 6H);

RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 163,74, 151,58, 148,55, 148,31, 141,00, 122,45, 117,95, 108,90, 102,28, 56,48.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Otimização da síntese de tetrazóis via *one-pot*

Inicialmente foi pesquisado na literatura científica metodologias sobre a síntese de compostos tetrazólicos mediante o uso de reações multicomponentes. Contudo, encontrou-se poucas metodologias tricomponentes para sistemas tetrazólicos (Tabela 3.1).

Tabela 3.1. Síntese de compostos tetrazólicos via *one-pot* descritos na literatura.

Referência	Aditivos	Condição de reação	Rendimento (%)
Tisseh <i>et al.</i> [36]		H ₂ O (5 mL), 50 °C, 24 h	81
Khaghaninejad <i>et al.</i> [37]	<i>O</i> -ftalimida- <i>N</i> -ácido sulfônico (20 mol%)	Sem solvente, 100 °C, 10 h	80
Ghomi <i>et al.</i> [38]	Nanopartículas-NiO (0,06 mmol)	DMF (5 mL), 70 °C, 6 h	90
Ghoghamarani <i>et al.</i> [39]	Ni-SMTU@boehmita (25 mg)	PEG-400, 120 °C, 18 h	80
Ghomi <i>et al.</i> [40]	Nanopartículas ZrP ₂ O ₇ (6 mol%)	DMF (5 mL), 70 °C, 6 h	91

PEG = Polietilenoglicol

A maioria das metodologias sintéticas reportadas para as reações tricomponentes de compostos tetrazólicos exigem condições especiais, por exemplo, o uso de catalisadores, temperaturas elevadas e tempos de reação prolongados.

Um mecanismo interessante para a síntese de 1*H*-tetrazol 5-substituídos partindo de arilbenzil malononitrila com azida de sódio está descrito na Figura 3.7. Neste mecanismo é possível por duas rotas sintéticas a obtenção de diastereoisômeros *E* e *Z*-tetrazólico.

Inicialmente, na reação tricomponente ocorre a condensação de Knoevenagel para a formação da arilidenomalononitrila. Posteriormente há formação de um intermediário via uma reação de cicloadição [2+3] com a azida de sódio. Em seguida o intermediário

1,3-dipolar é ciclizado via reação de cicloadição [2+3], o qual posteriormente ao ser tratado com ácido forte (HCl) favorece a precipitação no produto tetrazólico.

Figura 3.7. Rota proposta para a formação do composto tetrazólico (*E*)-e (*Z*)-fenil-2-(1*H*-tetrazol-5-il) acrilonitrila a partir do aduto de Knoevenagel e NaN_3 .

A formação do isômero *E* é mais favorecida que a do isômero *Z*. A principal razão pela qual não é favorecida a formação do isômero *Z* é devido ao fator estérico do grupo tetrazol que se encontra adjacente ao anel aromático [33].

Assim, neste trabalho foi desenvolvido uma metodologia com a finalidade de produzir os compostos tetrazólicos via *one-pot* por radiação micro-ondas e aplicando os princípios da QV (Esquema 3.21).

Esquema 3.21. Síntese tricomponente para a obtenção do tetrazol **3a** por MO ou AC.

Na primeira fase do estudo foram realizadas as reações para obtenção do composto tetrazólico **3a** via aquecimento em chapa (convencional) e por radiação micro-ondas. As reações foram realizadas utilizando o benzaldeído, a azida de sódio e a malononitrila em água com objetivo de determinar as condições ideais (Tabela 3.2).

Tabela 3.2. Otimização da reação de obtenção do composto tetrazólico **3a** por AC e MO.

Entrada	Metodologia	Condições de reação	Rendimento (%)
1	AC	H ₂ O (4 mL), 85 °C, 4 h	18
2	AC	H ₂ O (4 mL), 85 °C, 24 h	94
3	MO	H ₂ O (4 mL), 85 °C, 1 h	22
4	MO	H ₂ O (4 mL), 85 °C, 2 h	51
5	MO	H ₂ O (4 mL), 85 °C, 3 h	75
6	MO	H ₂ O (4 mL), 85 °C, 4 h	95

AC = aquecimento convencional; MO = micro-ondas (55 W)

Assim, otimizou-se as condições reacionais variando-se o tempo (1 a 24 h). O melhor resultado ocorreu após 4 horas de reação fornecendo um rendimento de 95 % na presença da radiação micro-ondas (Entrada 6, Tabela 3.2). Enquanto a reação realizada em aquecimento convencional requereu um tempo de 24 horas para fornecer um rendimento de 94 % do aduto **3a**. Assim, foi demonstrando a efetividade da radiação micro-ondas para a síntese do núcleo tetrazólico **3a** de maneira relativamente rápida e em alto rendimento (Tabela 3.2).

O produto tetrazólico (*E*)-3-fenil-2-(1*H*-tetrazol-5-il) acrilonitrila **3a** foi purificado por recristalização e caracterizado por técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H e ¹³C confirmando a estrutura do composto.

Na Figura 3.8 (A e B) têm-se os espectros de RMN de ^1H do produto de condensação de Knoevenagel **2a** e o composto tetrazólico **3a**. No caso do produto **2a** o espectro mostra sinais multipletos em 7,91-7,88 ppm para os hidrogênios aromáticos na posição *orto*, um sinal singlete em 7,76 ppm para o hidrogênio vinílico, em 7,65-7,59 ppm um multiplete para o hidrogênio aromático na posição *para* e em 7,56-7,50 ppm um multiplete dos hidrogênios aromáticos na posição *meta*.

Para o composto tetrazólico **3a** observou-se um deslocamento químico dos sinais no espectro RMN de ^1H que está relacionado à inserção do núcleo tetrazólico na olefina, fazendo com que os hidrogênios fiquem mais desblindados e apresentam sinais para campo mais baixo no espectro.

Foi observado um sinal singlete em 8,39 ppm para o hidrogênio vinílico ligado adjacente ao anel tetrazólico. Este efeito de deslocamento também foi observado nos hidrogênios aromáticos com sinais multipletos entre 7,64-7,57 ppm característicos dos hidrogênios aromáticos na posição *para* e *meta* e sinais multipletos em 8,05-7,99 ppm para os hidrogênios aromáticos na posição *orto*. Com essas análises confirmou-se a estrutura do composto tetrazólico **3a** que foram corroboradas com a literatura [36].

Figura 3.8. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (A) produto de condensação de Knoevenagel **2a**. (B) RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para o produto tetrazólico **3a**.
Nota: Não há sinais na região de 0-7,40 ppm.

Pelo mecanismo proposto (Figura 3.7) há uma evidência teórica para a formação do diastereoisômero *E*-tetrazol **3a** o qual foi mais favorecido em relação ao *Z*-tetrazol **3a** devido a impedimentos estéricos. Para constatar a síntese do diastereoisômero *E*-tetrazol **3a** foi feita uma análise comparativa entre os dados de RMN de ^1H com os dados obtidos por Tisseh *et al.* (Tabela 3.3) [36].

Tabela 3.3. Deslocamento químico do RMN protônico do composto tetrazólico **3a** por Tisseh e por Jimenez.

Deslocamento químico (ppm) ^a	Deslocamento químico (ppm) ^b
8,39 (s, 1H)	8,39 (s, 1H)
8,00 (s, 2H)	8,05-7,99 (m, 2H)
7,59 (s, 3H)	7,64-7,57 (m, 3H)

^aRMN feito em DMSO-*d*₆, 300 MHz realizado por Tisseh [36]

^bRMN feito em DMSO-*d*₆, 500 MHz realizado por Jimenez

Tisseh e colaboradores obtiveram o monocristal do sal sódico do tetrazol e por meio de difração de raios-X confirmaram a formação do diastereoisômero *E*-tetrazol **3g**(Figura 3.9). Destaca-se que na análise por difração de raios-X foi obtido uma rede cristalina de 3 moléculas de **3g**.

Figura 3.9. Modelo ORTEP para a estrutura cristalina do (*E*)-3-(4-hidroxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il) acrilonitrila **3g** (com permissão da editora Elsevier [33]).

Como pode-se observar na Figura 3.9 na estrutura cristalina do *E*-tetrazol **3g** ocorreu a inserção do anel tetrazólico em posição oposta ao anel aromático. Além, disso no ORTEP observou-se que a grupo CN está no mesmo plano que o grupo aromático. Essa organização espacial dos grupos favoreceu a formação do diastereoisômero *E*.

Em nosso trabalho não foi possível a obtenção do monocristal puro ou na forma de sal de tetrazol para a determinação da configuração do diastereoisômero *E*-**3a** via análise por raios-X. Otimizadas as melhores condições de reação para a síntese do núcleo tetrazólico **3a** foi ampliado o escopo da reação nas mesmas condições descritas utilizando-se de vários aldeídos aromáticos **1a-1p** e a malononitrila **1a'** e azida de sódio aplicando uma metodologia tricomponente *one-pot* por radiação micro-ondas (Tabela 3.4).

Tabela 3.4. Síntese de compostos tetrazólicos via reação tricomponente *one-pot* por radiação micro-ondas.

$$\text{Ar-CHO} + \text{NC-CH}_2\text{-CN} \xrightarrow[55 \text{ W}]{\text{NaN}_3, \text{H}_2\text{O}, 85^\circ\text{C}, 4 \text{ h}} \text{Ar-CH=CH-C(=N)-N=N-NH} + \text{CN}$$

1a-1p **1a'** **3a-3p**

Substituinte	Rendimento (%) ^a	Rendimento (%) ^b
C ₆ H ₅ (1a)	95	94
2-BrC ₆ H ₄ (1b)	95 ^c	84
3-BrC ₆ H ₄ (1c)	94 ^c	86
4-BrC ₆ H ₄ (1d)	97	89
4-ClC ₆ H ₄ (1e)	94	85
4-FC ₆ H ₄ (1f)	95	87
4-OHC ₆ H ₄ (1g)	85	73
3-OCH ₃ ,4-OCH ₃ ,5-OCH ₃ C ₆ H ₄ (1h)	98 ^c	87
4-OCH ₃ C ₆ H ₄ (1i)	99	88
4-OCH ₃ COC ₆ H ₄ (1j)	98 ^c	86
4-N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄ (1k)	85 ^c	78
3-NO ₂ C ₆ H ₄ (1l)	85*	86
4-NO ₂ C ₆ H ₄ (1m)	97	92
tiofeno (1n)	86 ^c	71
Seringaldeído (1o)	95 ^c	92
vanilina (1p)	94 ^c	91

^aMicro-ondas (85 °C, 4 h, 55 W)
^bAquecimento convencional (85 °C, 24 h)
^cProdutos inéditos
*O composto não foi caracterizado por RMN e IV

Na Tabela 3.4 observou-se que apesar de apresentar diferentes grupos substituintes (eletrodoador ou eletrorretirador) no anel aromático, bem como, o número de grupos substituintes na posição em que se encontram ligados no anel aromático (*orto*, *meta* ou *para*) os rendimentos dos compostos tetrazólicos **3a-3p** foram elevados quando realizados por MO. Também observou-se uma influência significativa quanto à natureza do núcleo aromático (benzenóide, tiofeno, furano) no rendimento da reação em comparação ao aquecimento convencional. Concluiu-se que a radiação micro-ondas favoreceu síntese de compostos tetrazólicos.

3.4.2 Estudo de uso de aditivos básicos e ácidos para a síntese tricomponente *one-pot* de compostos tetrazólicos utilizando malononitrila

Inicialmente foi realizada a síntese de núcleos tetrazólicos via reações *one-pot* sem o uso de aditivos. Quando se utilizou o benzaldeído, malononitrila e azida de sódio obteve-se 95% de rendimento do aduto **3a** por MO (Tabela 3.2).

Com o objetivo de reduzir o tempo de reação utilizou-se aditivos com caráter básico (triethylamina, tirosina e etilenodiamina). O uso desses aditivos básicos está fundamentado na abstração do hidrogênio ácido da malononitrila e posterior ataque do ânion à carbonila para a formação da olefina.

Também foram empregados ácidos de Lewis (SiO_4 , Al_2O_3 , TiO_2 e CuSO_4) para favorecer a ativação da carbonila do grupo aldeído facilitando o ataque nucleofílico e a posterior formação do aduto de Knoevenagel (Tabela 3.5).

Tabela 3.5. Otimização para a síntese tricomponente *one-pot* de compostos tetrazólicos empregando sistemas ácido-base por MO.

Ácido de Lewis	Base	Solvente	Rendimento (%)
CuSO_4	Trietilamina	Água	90
60% SiO_2 +10% Al_2O_3 +30% TiO_2	Etilenodiamina	DMF	70
SiO_2 (10% NaHCO_3)	Tirosina	Tetraflúoroborato de 1-butil-3-metilimidazol-água	68
CuSO_4	Etilenodiamina	Tetraflúoroborato de 1-butil-3-metilimidazol - água	77
60% SiO_2 +10% Al_2O_3 +30% TiO_2	Tirosina	DMF	78
SiO_2 (10% NaHCO_3)	Trietilamina	Água	85
CuSO_4	Tirosina	Água	85
60% SiO_2 +10% Al_2O_3 +30% TiO_2	Trietilamina	Tetraflúoroborato de 1-butil-3-metilimidazol - água	83
SiO_2 (10% NaHCO_3)	Etilenodiamina	DMF	82

Os rendimentos obtidos para os sistemas ácido-base foram de 68-90 % para duas horas de reação por MO (Tabela 3.5). Enquanto que a reação sem o uso aditivo formou o aduto **3a** com 95% de rendimento por MO em 4 horas (Tabela 3.2). Os resultados com aditivos ácidos-base mostraram-se promissores frente ao tempo reacional por MO.

O melhor sistema ácido-base foi com o uso de $\text{CuSO}_4\text{-(Et)}_3\text{N}$ em água, pois forneceu 90% de rendimento do aduto **3a** por MO (Tabela 3.5). Este sistema também foi vantajoso, pois tem baixo custo.

Otimizadas as melhores condições para a síntese do composto tetrazólico **3a** empregando o uso do sistema ácido-base $\text{CuSO}_4\text{-(Et)}_3\text{N}$ foi realizado um escopo utilizando-se vários aldeídos aromáticos **1a-1p**, a malononitrila **1a'** e a azida de sódio com objetivo de melhorar o tempo de reação em 2 h (Tabela 3.6).

Tabela 3.6. Síntese tricomponente *one-pot* de compostos tetrazólicos **3a-3p** empregando sistemas ácido-base por MO.

$ \begin{array}{ccc} \text{Ar-CHO} & + & \text{NC-CH}_2\text{-CN} \\ \textbf{1a-1p} & & \textbf{1a'} \end{array} \xrightarrow[55 \text{ W}]{ \begin{array}{c} \text{NaN}_3 \text{ (1.5 mmol)} \\ \text{H}_2\text{O (4 mL)} \\ \text{CuSO}_4 \text{ (10 \%)} \\ \text{(Et)}_3\text{N (15 } \mu\text{L)} \\ 85 \text{ }^\circ\text{C, 2 h} \end{array} } \begin{array}{c} \text{Ar-CH=CH-C(=N)-N=N-NH} \\ \text{CN} \\ \textbf{3a-3p} \end{array} $		
Substituinte	Rendimento (%) ^a	Rendimento (%) ^b
C_6H_5 (1a)	90	95
2- BrC_6H_4 (1b)	95	95
3- BrC_6H_4 (1c)	94	94
4- BrC_6H_4 (1d)	97	95
4- ClC_6H_4 (1e)	94	97
4- FC_6H_4 (1f)	95	95
4- OHC_6H_4 (1g)	85	99
3- OCH_3 ,4- OCH_3 ,5- $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (1h)	98	98
4- $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (1i)	99	99
4- $\text{OCH}_3\text{COC}_6\text{H}_4$ (1j)	95	98
4- $\text{N(CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4$ (1k)	85	91
3- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (1l)	85	85
4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (1m)	94	97
tiofeno (1l)	86	94
Seringaldeído (1m)	95	97
vanilina (1n)	94	97

^aReação em 2 h em MO

^bReação em 4 h em MO

Assim, observou-se a efetividade do sistema $\text{CuSO}_4\text{-N}(\text{Et})_3$ para a síntese de compostos tetrazólicos **3a-3p** via reação tricomponente *one-pot* fornecendo rendimentos elevados (2 h, 85-97 %) frente aos rendimentos da reação na ausência de aditivos (4 h, 85- 99 %).

3.4.3 Síntese de compostos tetrazólicos *one-pot* via radiação por micro-ondas utilizando cianoacetamida

Uma vez estabelecidas as melhores condições para a obtenção de compostos tetrazólicos **3a-3p** foi proposto a síntese de novos derivados tetrazólicos. Neste caso utilizou-se a cianoacetamida aplicando as condições de reação já desenvolvidas na Seção 4.2. A síntese *one-pot* do composto tetrazólico 3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il) acrilamida **4f** foi feita partindo-se de 4-metoxibenzaldeído, cianoacetamida e azida de sódio em condições de micro-ondas usando como solvente a água.

A reação otimizada forneceu um rendimento de 95 % em 2 h de para o tetrazol **4f** o qual foi caracterizado por técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C . Foi observado um sinal singlete em 8,39 ppm para o hidrogênio vinílico ligado adjacente ao anel tetrazólico. Este efeito também foi observado nos hidrogênios aromáticos como, por exemplo, sinais multipletos entre 7,64-7,57 ppm característicos dos hidrogênios em posição *meta*, sinais multipletos em 8,05-7,99 ppm para os hidrogênios em posição *orto* e um sinal singlete em 3,89 ppm dos hidrogênios do grupo metoxila (3H, s). Porém, com estas análises confirmou a estrutura do composto tetrazólico **4f-OCH₃**, mas não foi possível determinar a configuração espacial do diastereoisômero *E* ou *Z*.

Para a determinação da geometria do diastereoisômero do tetrazol **4f-OCH₃** optou-se por realizar um experimento bidimensional NOESY. Nossa proposta consistiu em fazer esta análise devido a possibilidade de obtenção de dois possíveis diastereoisômeros (Figura 3.10).

Figura 3.10. Estruturas dos diastereoisômeros *E*-**4f-OCH₃** e *Z*-**4f-OCH₃**.

Analisando as estruturas para os diastereoisômeros *E*-**4f-OCH₃** e *Z*-**4f-OCH₃** no experimento bidimensional de NOESY o isômero *E*-**4f-OCH₃** deveria apresentar acoplamentos espaciais entre os hidrogênios do grupo amida e o hidrogênio benzílico, enquanto para o isômero *Z*-**4f-OCH₃** estes acoplamentos espaciais não deveriam ser observados.

No espectro NOESY para o composto tetrazólico **4f-OCH₃** foi observado acoplamentos espaciais entre os hidrogênios do grupo amida e o hidrogênio benzílico. Desta forma ficou demonstrando que a síntese na presença de trietilamina favoreceu o diastereoisômero *E*-**4f-OCH₃** (Figura 3.11).

Apesar de apresentar algum impedimento estérico entre o anel aromático e o anel tetrazólico, a formação de *E*-**4f-OCH₃** está relacionada com o respectivo precursor, o aduto de Knoevenagel *E*-**3g-OCH₃** uma vez que já apresentava a formação do diastereoisômero *E* confirmada por difração de raios-X (Capítulo 2, Seção 2.4).

Figura 3.11. Espectro NOESY para o composto tetrazólico *E*-**4f-OCH₃**.

Posteriormente foram aplicadas as melhores condições de reação da síntese de núcleo tetrazólico **4f-OCH₃** utilizando-se de vários aldeídos aromáticos **1a-1i**, cianoacetamida **1a''** e azida de sódio. A reação tricomponente *one-pot* foi realizada por radiação micro-ondas (Tabela 3.7).

Tabela 3.7. Síntese tricomponente de compostos tetrazólicos *E-4a-i* *one-pot* utilizando cianoacetamida **1a''** via radiação micro-ondas.

$ \begin{array}{ccc} \text{Ar}-\text{CHO} & + & \text{NC}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2 \\ \textbf{1b-1j} & & \textbf{1a''} \end{array} \xrightarrow[\text{55 W}]{\begin{array}{c} \text{NaN}_3 \text{ (1,5 mmol)} \\ \text{CuSO}_4 \text{ (10 mg)} \\ \text{N(Et}_3\text{)} \text{ (15 } \mu\text{L)} \\ \text{H}_2\text{O} \\ 90^\circ\text{C, 2 h} \end{array}} \begin{array}{c} \text{Ar}-\text{CH}=\text{C}(\text{NH}_2)-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2 \\ \text{HN} \\ \text{N}=\text{N} \\ \textbf{E-4a-4j} \end{array} $	
Substituinte	Rendimento (%)
4-BrC ₆ H ₄ (1a-Br)	91 ^a
4-CH ₃ C ₆ H ₄ (1b-CH₃)	94 ^a
4-NO ₂ C ₆ H ₄ (1c-NO₂)	94 ^a
4-OHC ₆ H ₄ (1d-OH)	87 ^a
3-OCH ₃ ,4-OCH ₃ ,5-OCH ₃ C ₆ H ₂ (1e-TriOCH₃)	97 ^a
4-OCH ₃ C ₆ H ₄ (1f-OCH₃)	95 ^a
furfural (1g-Fur)	92 ^a
seringaldeído (1h-Ser)	95 ^a
5-Br-vanilina (1i-5-Br-Van)	90 ^{a*}

^aProduto inédito

*O composto não foi caracterizado por RMN e IV

Na Tabela 3.7 foram estudados o efeito do uso de diferentes tipos de grupos substituintes (eletrodoador ou eletrorretirador) no anel aromático como também da posição em que se encontram ligados no anel aromático (*orto*, *meta* ou *para*). Em todos os casos os rendimentos dos compostos tetrazólicos *E-4a-i* foram elevados. Também observou-se que não houve influência significativa quanto à natureza do tipo de núcleo aromático (benzenóide, furano), mostrando, assim, a eficiência da reação da síntese tricomponente por radiação de micro-ondas nas condições estabelecidas.

3.5 CONCLUSÃO

Foi desenvolvida uma metodologia para a síntese de compostos tetrazólicos **3a-3p** *one-pot* com o uso de aldeídos aromáticos, malononitrila e azida de sódio aplicando a radiação de micro-ondas que forneceu reações rápidas no intervalo de 2 horas em relação ao aquecimento convencional de 24 h. Este protocolo sintético forneceu também a obtenção de compostos tetrazólicos **3a-3p** com configuração *E*.

Por meio de estudos do uso de aditivos ácido-base foi determinado que o melhor sistema $\text{CuSO}_4\text{-(Et)}_3\text{N}$ para a síntese de compostos tetrazólicos **3a-3p** até 90 % de rendimento em 2 horas de reação. Este sistema catalítico foi empregado para realizar uma série de compostos tetrazólicos **3a-3p** via *one-pot* mostrando rendimentos similares aos obtidos sem o uso de aditivos, mas com uma diminuição no tempo de reação de 4 horas para 2 horas por MO.

Também foi realizado uma série compostos tetrazólicos **4a-4i** *one-pot* com o uso de aldeídos aromáticos, cianoacetamida e azida de sódio aplicando a radiação de micro-ondas em intervalo de 2 horas fornecendo rendimentos de 87-97 %. Este protocolo sintético forneceu também a obtenção de compostos tetrazólicos **4a-4i** com configuração *E*.

Foram sintetizadas 25 moléculas das quais 20 foram inéditas.

3.6 REFERÊNCIAS

- [1] KATRITZKY, A.R. Introduction: Heterocycles. **Chemical Reviews**, v. 104, p. 2125-2126, 2004.
- [2] KOLDOBSKII, G.I.; OSTROVSKII, V.A. Tetrazoles. **Russian Chemical Reviews**, v. 63, p. 797-814, 1994.
- [3] SHEEHAN, D.J.; HITCHCOCK, C.A.; SIBLEY, C.M. Current and emerging azole antifungal agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, p. 40-79, 1999.
- [4] WOOLLEY, D.W. Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 152, p. 225-232, 1944.
- [5] HERLING, S.; SOUS, H.; KRUPPE, W.; OSTERLOG, G.; MUCKTER, H. Studies, synthesis of 1,5-benzoxathiepinines. **Arnheim Forsch**, v. 9, p. 489-492, 1959.
- [6] SEELIGER, H.P.R. Inhibitory effect on fungi of a new benzimidazole derivative. **Mykosen**, v.1, p. 162-171, 1958.
- [7] MAERTENS, J.A. History of the development of azole derivatives. **Clinical Microbiology and Infection**, v.1, p. 1-10, 2004.
- [8] BLADIN, J.A. Ueber von dicyanphenylhydrazin abgeleitete verbindungen. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 18, p. 1544-1551, 1885.
- [9] KATRITZKY, A R.; REES, C. W.; SCRIVEN, E. F. V. **Comprehensive heterocyclic chemistry III**. New York: Elsevier, 2008. 423 p.
- [10] HERR, R.J. 5-Substituted-1*H*-tetrazoles as carboxylic acid isosteres: Medicinal chemistry and synthetic methods. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 3379-3393, 2002.
- [11] MOLIN, Fernando. **Síntese e caracterização de ligantes contendo a unidade piridiltetrazol e estudo de coordenação com Cu (II)**. 2003. 89 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica)-Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- [12] DOMLING, A.; BECK, B.; LACHAUX, M. M. 1-Isocyanomethylbenzotriazole and 2,2,4,4-tetramethylbutylisocyanide-cleavable isocyanides useful for the preparation of α -aminomethyl tetrazoles. **Tetrahedron Letters**, v. 47, p. 4289-4291, 2006.
- [13] HOLLAND, G.F.; PEREIRA, J.N. Heterocyclic tetrazoles, a new class of lipolysis inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 149-154, 1967.
- [14] MEANWELL, N.A. Synopsis of some recent tactical application of bioisosteres in drug design. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 2529-2591, 2011.

- [15] GRIMM, H.G. Structure and size of the non-metallic hydrides Z. **Electrochemistry**, v. 31, p. 474-480, 1925.
- [16] LANGMUIR, I. Isomorphism, isosterism and covalence. **Journal of the American Chemical Society**, v. 41, p. 1543-1559, 1919.
- [17] PATANI, G.A.; LAVOIE, E.J. Bioisosterism: A rational approach in drug design. **Chemical Reviews**, v. 96, p. 3147-3176, 1996.
- [18] GAVRILYUL, J. I.; EVINDAR, G.; CHEN, J. Y.; BATEY, R. A. Peptide-heterocycle hybrid molecules: Solid-phase-supported synthesis of substituted *N*-terminal 5-aminotetrazole peptides via electrocyclization of peptidic imidoylazides. **Journal Combinatorial Chemistry**, v. 9, p. 644-651, 2007.
- [19] KUMAR, C. N. S. S. P.; PARIDA, D. K.; SANTHOSHI, A.; KOTA, A. K. SRINDHAR, B.; RAO, V. Synthesis and biological evaluation of tetrazole containing compounds as possible anticancer agents. **Journal of Medicinal Chemistry Communications**, v. 2, p. 486-492, 2011.
- [20] FINNEGAN, W. G.; HENRY, R. A.; LOFQUIST, R. An improved synthesis of 5-substituted tetrazoles. **Journal of American Chemical Society**, v. 80, p. 3908-3911, 1958.
- [21] BERNSTEIN, P. R.; VACEK, E. Improved conditions for the formation of tetrazoles. **Synthesis**, v. 12, p. 1133-1134, 1987.
- [22] KOGURO, K.; OGA, T.; MITSUI, S.; ORITA, R. Novel synthesis of 5-substituted tetrazoles from nitriles. **Synthesis**, v. 6, p. 910-914, 1997.
- [23] HIMO, F.; DEMKO, Z. P.; NOODLEMAN, L.; SHARPLESS, K. B. Why is tetrazole formation by addition of azide to organic nitriles catalyzed by Zinc(II) salts?. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, p. 9983-9987, 2003.
- [24] DUNCIA, J. V.; PIERCE, M. E.; SANTELLA, J. B. Three synthetic routes to a sterically hindered tetrazole. A new one-step mild conversion of an amide into a tetrazole. **Journal of Organic Chemistry**, v. 56, p. 2395-2400, 1991.
- [25] AMANTINI, D.; BELEGGIA, R.; FRINGUELLI, F.; PIZZO, F.; VACCARO, L. TBAF-Catalyzed synthesis of 5-substituted 1*H*-tetrazoles under solventless conditions. **Journal of Organic Chemistry**, v. 69, p. 2896-2898, 2004.
- [26] HUFF, B. E.; STASZAK, M. A. A new method for the preparation of tetrazoles from nitriles using trimethylsilylazide/trimethylaluminum. **Tetrahedron Letters**, v. 34, p. 8011-8014, 1993.

- [27] GYOUNG, Y. S.; SHIM, G.; YAMAMOTO, Y. Regiospecific synthesis of 2-allylated-5-substituted tetrazoles via palladium-catalyzed reaction of nitriles, trimethylsilyl azide, and allyl acetates. **Tetrahedron Letters**, v. 41, p. 4193-4196, 2000.
- [28] KATAM, M. L.; KUMAR, K. B. S.; RAJA, K. P. An efficient synthesis of 5-substituted 1*H*-tetrazoles using Zn/Al hydrotalcite catalyst. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 247, p. 186-188, 2006.
- [29] ANTONOWA, A.; HAUPTMANN, S. *p*-Toluensulfonic acid salts of oximes and their conversion into nitriles and tetrazoles. **Zeitschrift fur Chemire**, v. 16, p. 17-21, 1976.
- [30] BOIVIN, J.; HUSINEC, S.; ZARD, S. Z. A practical synthesis of 5-substituted tetrazoles. **Tetrahedron**, v. 51, p. 11737-11742, 1995.
- [31] YONOHAMA, H.; USAMI, Y.; KOMEDA, S.; HARUSAWA, S. Efficient transformation of inactive nitriles into 5-substituted 1*H*-tetrazoles using microwave irradiation and their applications. **Synthesis**, v. 45, p. 1051-1059, 2013.
- [32] ROH, J.; ARTAMONOVA, T. V.; VAVROVA, K.; KOLDOBSKII, G. I.; HRABALEK, A. Practical synthesis of 5-substituted tetrazoles under microwave irradiation. **Synthesis**, v. 1, p. 2175-2178, 2009.
- [33] CANTILLO, D.; GUTMANN, B.; KAPPE, C. O. An experimental and computational assessment of acid-catalyzed azide-nitrile cycloadditions. **Journal of Organic Chemistry**, v. 77, p. 10882-10890, 2012.
- [34] CANTILLO, D.; GUTMANN, B.; KAPPE, C. O. Mechanistic insights on azide-nitrile cycloadditions: On the dialkyltin oxide-trimethylsilyl azide route and a new Vilsmeier-Haack-type organocatalyst. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, p. 4465-4475, 2011.
- [35] SHIE, J. J.; FANG, J. M. Microwave-assisted one-pot tandem reactions for direct conversion of primary alcohols and aldehydes to triazines and tetrazoles in aqueous media. **Journal of Organic Chemistry**, v. 72, p. 3141-3144, 2007.
- [36] TISSEH, Z. N.; DABIRI, M.; NOBAHAR, M.; KHAVASI, H. R.; BAZGIR, A. Catalyst-free, aqueous and highly diastereoselective synthesis of new 5-substituted 1*H*-tetrazoles via a multi-component domino Knoevenagel condensation/1,3 dipolar cycloaddition reaction. **Tetrahedron**, v. 68, p. 1769-1773, 2012.

- [37] KHAGHANINEJAD, S.; HERAVI, M M.; HOSSEINNEJAD, T.; OSKOOIE, H. A.; BAKAVOLI, M. Regio-selective synthesis of 5-substituted 1*H*-tetrazoles using ionic liquid [BMIM]N₃ in solvent-free conditions: a click reaction. **Research on Chemical Intermediates**, v. 42, p. 1593-1610, 2016.
- [38] GHOMI, J. S.; SAMANI, S. P. Facile and rapid synthesis of 5-substituted 1*H*-tetrazoles via a multicomponent domino reaction using Nickel(II) oxide nanoparticles as catalyst. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 50, p. 1567-1574, 2015.
- [39] CHOGHAMARANI, A. G.; MORADI, P.; TAHMASBI, B. Ni-S-methylisothiourea complex supported on boehmite nanoparticles and its application in the synthesis of 5-substituted tetrazoles. **RSC Advances**, v. 6, p. 56638-56646, 2016.
- [40] GHOMI, J. S.; SAMANI, S. P.; ZAHEDI, S.; ALAVI, S. H. Sonochemical synthesis of 5-substituted 1*H*-tetrazoles catalyzed by ZrP₂O₇ nanoparticles and regioselective conversion into new 2,5-disubstituted tetrazoles. **Naturforsch fur Naturforschung B**, v. 70, p. 1-11, 2015.

CAPÍTULO 4

REAÇÕES DE ACOPLAMENTO DE KNOEVENAGEL-SUZUKI-MIYAURA

4.1 INTRODUÇÃO

4.1.1 Reações de acoplamento para a formação de ligação carbono-carbono

A concepção de formação de ligação carbono-carbono se encontra entre os processos químicos mais importantes. A reação para a formação da ligação carbono-carbono expandiu de maneira notória por uma variedade de metodologias sintéticas na obtenção de compostos orgânicos a partir de precursores simples [1-4]. Até a década de 70 existiam poucas metodologias para as reações de formação de ligações C-C entre materiais de partida apresentando sistemas insaturados (Csp^2 e Csp).

Dentre as metodologias na formação da ligação C-C, o acoplamento-cruzado ou “cross-coupling”, está relacionado com processos catalíticos utilizando metais de transição. Este tipo de acoplamento possibilitou um grande desenvolvimento e melhoria para a formação de ligações C-C (Esquema 4.1).

No Esquema 4.1 tem-se os grupos R_1 e R_2 (carbono), onde X representa um átomo de halogênio e M representa um metal de transição compreendido entre os grupos 3 e 12 da Tabela Periódica [4-5].

Esquema 4.1. Esquema geral de uma reação de acoplamento C-C.

Antes da descoberta das reações de acoplamento C-C catalisadas por metais a grande maioria das reações estavam limitadas ao uso de Mg e Li empregando especialmente haletos de alquila não impedidos. Porém, estas reações tinham poucas aplicações sintéticas e quando eram usados haletos de alquila era comum a formação de reações paralelas e com poucas seletividades. Por exemplo, as reações de homoacoplamentos associados as eliminações α e β , estereoisomerização, regioisomerização, entre outras [5].

Uma primeira alternativa foi reportada por Kochi *et al.* [5] que desenvolveram reações de acoplamento C-C mediante o uso de compostos organocupratos como Li_2CuCl_4 (catalisador de Kochi) onde os haletos de alquilmagnésio (reagentes de

Grignard) reagem com R_2X para fornecer produto de acoplamento alquil-álcool (Esquema 4.2) [6].

Esquema 4.2. Reação de acoplamento alquil-álcool usando Li_2CuCl_4 .

As reações de acoplamento-cruzado por metais de transição só apareceram a partir de 1972 quando Kumada *et al.* [7] reportaram o uso de catalisadores à base de Ni(II). Desde então foram desenvolvidas muitas metodologias seletivas e com altos rendimentos para os produtos de acoplamento. Diferentes metais de transição foram usados, contudo o Pd(II) foi o mais promissor tanto na área acadêmica como na indústria [7-8].

As primeiras reações de acoplamentos-cruzados com paládio não tinham diferenças frente aos catalisadores de Ni. Mas, os catalisadores de níquel promoviam a formação de reações indesejadas diminuindo sua eficiência. Assim os catalisadores de Ni foram menos utilizados e as pesquisas foram sendo focadas intensamente no desenvolvimento de catalisadores de Pd com novos reagentes e ligantes [1-8].

A primeira geração de catalisadores usando paládio tinha a participação de metais eletropositivos nos acoplamentos, tais como, Mg, Zn, Al e Zr. No final dos anos 70 surgiu a segunda geração dos catalisadores de paládio, mas aplicando elementos mais eletronegativos, por exemplo, B, Sn e Si [5-8].

A seguir são apresentadas algumas metodologias de acoplamento utilizados na formação de ligação carbono-carbono.

Kumada *et al.* [8] reportaram reações de acoplamentos C-C usando reagentes de Grignard com haletos de alquila (Esquema 4.3). Esta metodologia se limitava à presença dos grupos funcionais que reagem com os reagentes de Grignard. Também esses acoplamentos apresentaram bons resultados usando catalisadores de Ni.

Esquema 4.3. Reação de acoplamento de Kumada *et al.* [9].

Sonogahira *et al.* [10] desenvolveram reações de acoplamento entre alcinos terminais e haletos de arila e Pd(II) para a formação de alcinos substituídos (Esquema 4.4).

Esquema 4.4. Reação de acoplamento de Sonogahira catalisada por Pd(II) [10-11].

Negishe *et al.* [12] também relataram um acoplamento cruzado envolvendo complexos de organozinco catalisado por Ni(II) ou Pd(II) (Esquema 4.5). Estas reações apresentam boa reatividade, alta estereo, regio e quimiosseletividade.

Esquema 4.5. Síntese de *trans*-estilbeno por reação de acoplamento de Negishi [12].

Stille *et al.* [13] mostraram um acoplamento-cruzado entre complexos de paládio e reagentes de organoestanho, haletos, acetatos ou sulfonatos orgânicos (Esquema 4.6). Estas reações requerem condições brandas, são termo-estáveis, inertes a umidade e não necessitam de base.

Esquema 4.6. Reação de acoplamento de Stille com organoestanho [13].

Suzuki *et al.* [14] desenvolveram uma reação de acoplamento-cruzado entre compostos organoboro e haletos ou triflatos empregando catalisadores de Pd (Esquema 4.7). Estas reações têm alta estereo e regioseletividade, ocorrem em condições brandas e são amplamente usadas na área acadêmica como na indústria para a formação de ligação carbono-carbono.

Esquema 4.7. Acoplamento de Suzuki para obtenção do composto biarila.

Hiyama *et al.* [15] estudaram as reações de acoplamento entre organosilanos e haletos orgânicos catalisados por paládio (Esquema 4.8). A reação é favorecida devido à baixa polaridade da ligação C-Si.

Esquema 4.8. Acoplamento de Hiyama para a formação de bifenila.

4.1.2 Acoplamento de Suzuki-Miyaura

O acoplamento entre haletos de arila e ácidos borônicos são conhecidas como a reação de Suzuki-Miyaura sendo uma das mais importantes reações de acoplamento cruzado, sobretudo, para a síntese de biarilas, compostos importantes para agroquímica, farmacêutica e química fina [16-18]. Os ácidos borônicos apresentam pouca toxicidade em comparação com os outros complexos organometálicos usados em reações de acoplamento. Também os organoboranos aceitam diversos grupos funcionais e são estáveis na presença de umidade [19].

4.1.2.2 Exemplos de reações de acoplamento Suzuki-Miyaura

Existem muitos exemplos sobre o uso da metodologia desenvolvida por Suzuki-Miyaura na síntese de compostos orgânicos via formação de ligação carbono-carbono. A seguir são apresentados alguns exemplos da reação de acoplamento de Suzuki.

Roh *et al.* [20] desenvolveram a síntese do derivado de 1,3-dimetil-5-[vinil-(2-fenil)]-uracila através de uma reação de acoplamento de Suzuki entre *p*-(5-iodônio triflato)-uracila e o ácido vinil-borônico (Esquema 4.9).

Esquema 4.9. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura com derivado de uracila.

Hannah *et al.* [21] realizaram acoplamentos entre halo-metóxi-pirimidinas e ácido fenilborônico para a obtenção de 5-aryl-pirimidinona com rendimento de 75 % e um tempo de 16 h de reação (Esquema 4.10).

Esquema 4.10. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura com pirimidinas.

Um trabalho interessante descrito por Okamoto *et al.* [22] envolveu a síntese de nucleosídeos via a reação de Suzuki-Miyaura entre o 5-iodo-2'-desoxiuridina e o ácido formil fenil borônico usando como catalisador tetraquis(trifenilfosfina)paládio(0) para obter o 5[(4-formil)-fenil]-2'-desoxi-uridina em bom rendimento (Esquema 4.11).

Esquema 4.11. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura com nucleosídeo.

Wu *et al.* [23] descreveram a síntese de derivados de 3-bromo-arilcumarina empregando a reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura com altos rendimentos e em condições brandas (Esquema 4.12).

Esquema 4.12. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura na síntese de derivados de 3-bromo-4-arilcumarina.

Buchwald *et al.* [24] descreveram a síntese de acoplamento assimétrico de bromonaftil com ácidos arilborônicos. Foram utilizados bromonaftalenos funcionalizados e quantidades catalíticas de paládio fornecendo rendimento elevado do produto de acoplamento (Esquema 4.13).

Esquema 4.13. Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura para a síntese de bifenila quiral.

4.2. OBJETIVOS

4.2.1 Objetivo geral

Realizar a síntese de compostos orgânicos via reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura usando adutos de Knoevenagel e compostos tetrazólicos halogenados via radiação micro-ondas.

4.2.2 Metas

- ✓ Definir as melhores condições de reação para a obtenção dos produtos de acoplamento Suzuki-Miyaura;
- ✓ Comparar as sínteses de acoplamento de Suzuki-Miyaura por aquecimento convencional e por radiação micro-ondas;
- ✓ Realizar estudos das reações *one-pot* de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura.

4.3. MATERIAIS E MÉTODOS

4.3.1 Reagentes

2-Bromobenzaldeído (99 %), 3-bromobenzaldeído (95 %), 4-bromobenzaldeído (99 %), 2-clorobenzaldeído (99 %), 3-clorobenzaldeído (99 %), 4-clorobenzaldeído (99 %), 2-flúor-benzaldeído (99 %), 3-flúor-benzaldeído (99 %), 4-flúor-benzaldeído (99 %), malononitrila (99 %), cianoacetamida (99 %), ácido fenilborônico (99 %) e trietilamina (95 %) e solventes (hexano, acetato de etila, metanol, THF, acetona, etanol, DMSO- d_6 , MeOD, Acetona- d_6 , $CDCl_3$) foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação (Aldrich, Fluka, Synth, Merck e Vertec).

4.3.2 Equipamentos

A descrição dos equipamentos por Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), por Espectroscopia de Infravermelho-Transformada de Fourier (IV-FTIR), por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), o reator de micro-ondas, bem como outros equipamentos e o software ChemDraw (Versão 11.0) foram descritos no **Capítulo 2** (Seção 2.3.2).

4.3.3 Síntese de compostos bifenílicos via reações de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas

Em um balão reacional de 25 mL foram adicionados a mistura dos adutos de Knoevenagel contendo substituinte halogênicos **2a-2i** e **5a-5i** (1,0 mmol), K_2CO_3 (2 equiv.), Pd/C (10 % em relação ao haleto de arila), ácido fenilborônico (1,0 mmol) e água (4 mL). Em seguida a mistura reacional foi colocada em um reator de micro-ondas por 30 min a 80 °C com uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Finalizada a reação, esta foi filtrada em coluna de celite. A solução remanescente foi extraída com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na_2SO_4 anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por lavagem com solvente (CH_2Cl_2). Os derivados da reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura obtidos foram identificados e caracterizados por IV e RMN. O Esquema 4.14 ilustra a equação química da reação de síntese de compostos de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura.

Esquema 4.14. Reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura via radiação micro-ondas. **2-([1,1'-bifenil]-2-ilmetileno)malononitrila (**4a**)**

$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2$, 230,27 g.mol⁻¹; (83, 94 e 95 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 200-203 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3352, 3048, 2215, 1603, 1344; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 7,80-7,77 (m, 4H), 7,42-7,36 (m, 2H), 7,35-7,31 (m, 4H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 157,70, 135,92, 134,50, 130,99, 130,44, 130,09, 129,95, 128,02, 127,83, 127,78, 118,96, 118,38, 118,12, 116,16, 88,49.

2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetileno)malononitrila (4b**)**

$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2$, 230,27 g.mol⁻¹; (80, 91 e 91 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 202-205 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3356, 2922, 2209, 1609, 1350; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 7,79-7,77 (m, 4H), 7,41-7,38 (m, 2H), 7,34-7,31 (m, 4H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 162,00, 158,21, 138,99, 134,50, 133,28, 131,12, 130,42, 127,78, 121,80, 116,35, 87,82.

2-([1,1'-bifenil]-4-ilmetileno)malononitrila (4c)

$C_{16}H_{10}N_2$, 230,27 g.mol⁻¹; (84, 94 e 97 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 203-206 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3345, 3207, 2928, 2202, 1603, 1350; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 7,80-7,77 (m, 4H), 7,41-7,38 (m, 2H), 7,33 (ddt, *J* = 8,1, 6,6, 1,1 Hz, 4H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 161,66, 157,67, 134,50, 132,66, 130,99, 130,44, 127,79, 118,56, 116,13, 88,81.

(E)-3-([1,1'-bifenil]-2-il)-2-cianoacrilamida (6a)

$C_{16}H_{12}N_2O$, 248,29 g.mol⁻¹; (80, 91 e 90 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 206-208 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3352, 3046, 221, 1603, 1344; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 7,76-7,73 (m, 2H), 7,50-7,48 (m, 2H), 7,47-7,42 (m, 2H), 7,35-7,28 (m, 6H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 163,67, 160,75, 142,09, 138,86, 134,47, 133,26, 130,73, 130,40, 129,19, 127,74, 127,07, 126,76, 121,57, 118,92, 82,10.

(E)-3-([1,1'-bifenil]-3-il)-2-cianoacrilamida (6b)

$C_{16}H_{12}N_2O$, 248,29 g.mol⁻¹; (82, 95 e 94 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 204-206 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3339, 2922, 2215, 1603, 1350; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 7,80-7,78 (m, 4H), 7,39-7,37 (m, 2H), 7,34-7,30 (m, 4H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 170,88, 163,69, 134,96, 134,51, 133,86, 130,43, 127,84, 127,78, 127,49, 118,96.

(E)-3-([1,1'-bifenil]-4-il)-2-cianoacrilamida (6c)

$C_{16}H_{10}N_2$, 248,29 g.mol⁻¹; (85, 98 e 97 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 203-206 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3067, 2928, 2215, 1597, 1445, 1350; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 7,80-7,78 (m, 4H), 7,40-7,36 (m, 2H), 7,33-7,30 (m, 4H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 171,08, 166,65, 163,79, 134,71, 134,51, 130,67, 130,41, 127,78, 116,56, 115,29.

4.3.4 Síntese de compostos bifenílicos via reações de acoplamento de tetrazol-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas

Em um balão reacional de 25 mL foram adicionados uma mistura de compostos tetrazólicos contendo substituinte halogênicos **7a-7c** e **9a-9c** (1,0 mmol), K₂CO₃ (2 equiv.), Pd/C (10 % em relação ao haleto de arila), ácido fenilborônico (1,0 mmol) e água (4 mL). Em seguida a mistura reacional foi colocada em um reator de micro-ondas por 30 min a 80 °C com uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Finalizada a reação, esta foi filtrada em coluna de celite. A solução remanescente foi extraída com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄ anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por lavagem com solvente (CH₂Cl₂). Os derivados da reação de acoplamento de tetrazol-Suzuki-Miyaura obtidos foram identificados e caracterizados por IV e RMN. O Esquema 4.15 ilustra a equação química da reação de síntese de compostos de acoplamento de tetrazol-Suzuki-Miyaura.

Esquema 4.15. Reação de acoplamento de tetrazol-Suzuki-Miyaura via radiação micro-ondas.

(*E*)-3-([1,1'-bifenil]-3-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (**8b**)

C₁₆H₁₁N₅, 273,30 g.mol⁻¹; (81, 91 e 93 % de rendimento); sólido marrom, p.f. = 222-224 °C; IV ν_{max} (cm⁻¹) (puro) = 3345, 3194, 2922, 2847, 2209, 1621, 1540; RMN de ¹H (400

MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 7,67-7,64 (ddt, J = 7,3, 2,4, 1,2 Hz, 2H), 7,58-7,57 (t, J = 1,8 Hz, 1H), 7,47-7,37 (m, 5H), 7,28-7,23 (m, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 161,51, 158,55, 142,39, 138,78, 132,50, 132,05, 131,05, 130,73, 129,67, 128,56, 127,75, 121,81, 119,16, 118,33.

(E)-3-([1,1'-bifenil]-2-il)-2-(1H-tetrazol-5-il)acrilamida (**10a**)

$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$, 291,31 g.mol $^{-1}$; (76, 89 e 90 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 235-236 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3345, 3194, 2922, 2847, 2209, 1621, 1540; RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = δ 8,06 (s, 1H), 7,81-7,78 (m, 4H), 7,41-7,37 (m, 2H), 7,35-7,31 (m, 5H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 170,86, 163,60, 134,97, 134,52, 133,86, 130,44, 129,19, 127,85, 127,79, 127,75, 118,64, 116,68.

(E)-3-([1,1'-biphenyl]-3-il)-2-(1H-tetrazol-5-il)acrilamida (**10b**)

$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$, 291,31 g.mol $^{-1}$; (81, 91 e 93 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 234-237 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3364, 2922, 2202, 1603, 1476; RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 7,55-7,44 (m, 2H), 7,33-7,29 (m, 3H), 7,25-7,21 (m, 2H), 7,17-7,10 (m, 5H), 7,04-6,98 (m, 2H).; RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) = 163,71, 142,57, 142,50, 134,48, 130,45, 127,74, 125,55, 125,53, 121,71, 118,94, 115,94, 113,44.

4.3.5 Síntese de compostos bifenílicos via reações de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura *one-pot* por radiação micro-ondas

Em um balão reacional de 25 mL foram adicionados uma mistura de aldeídos aromáticos contendo substituinte halogênio **1a-li** (1,0 mmol), malononitrila **1a'** ou cianoacetamida **1a''** (1,0 mmol), K_2CO_3 (2 equiv.), $(\text{Et})_3\text{N}$ (15 μL , somente no caso da cianoacetamida **1a''**), Pd/C (10 % em relação ao haleto de arila), ácido fenilborônico (1,0 mmol) e água (4 mL). Em seguida a mistura reacional foi colocada em um reator de micro-ondas por 60 min a 80 °C com uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Finalizada a reação, esta foi filtrada em coluna de celite. A solução remanescente foi extraída com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na_2SO_4 anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por recristalização. Os derivados da reação de

acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura obtidos foram identificados e caracterizados por IV e RMN. O Esquema 4.16 ilustra a equação química da reação de síntese *one-pot* de compostos de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura.

Esquema 4.16. Reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura *one-pot* via radiação micro-ondas.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Reação de acoplamento de Suzuki via radiação micro-ondas

As reações de acoplamento de Suzuki têm sido estudadas e há muitos exemplos de metodologias experimentais como foi descrito Introdução do **Capítulo 4**. Nos últimos 20 anos foram desenvolvidas diferentes metodologias focadas em processos amigáveis ao meio ambiente em particular, o uso da tecnologia da radiação micro-ondas (Tabela 4.1.).

Em nosso trabalho realizou-se a reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura na presença de radiação micro-ondas. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da radiação micro-ondas na formação dos adutos de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura. Para nosso conhecimento, na literatura tem-se apenas um único estudo da reação de Suzuki-Miyaura-Knoevenagel por Gruttadauria *et al.* [31] por aquecimento convencional (Esquema 4.17).

Esquema 4.17. Síntese multicomponente Suzuki-Miyaura-Knoevenagel em meio aquoso por AC.

Primeiramente Gruttadauria *et al.* [31] realizaram a reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura entre derivados do ácido 4-formilfenilborônico com haletos de arila. Uma vez sintetizado o produto de acoplamento foi realizado a reação de condensação de Knoevenagel com a malononitrila.

Tabela 4.1. Reações de acoplamento de Suzuki usando a radiação de micro-ondas descritos na literatura.

Reação		Referência
Sharma <i>et al.</i> [25]
Buszek <i>et al.</i> [26]
Nun <i>et al.</i> [27]
Dawood <i>et al.</i> [28]
Qu <i>et al.</i> [29]
Shah <i>et al.</i> [30]	

Em nosso estudo realizou-se primeiramente uma estratégia de síntese onde foi realizada a reação de Knoevenagel com derivados de benzaldeído **2a-2i** contendo átomos de halogênios no anel aromático (F, Cl e Br). Os adutos de Knoevenagel **2a-2i** foram purificados e posteriormente empregados para realizar as reações de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura com ácido fenilborônico **3**, carbonato de potássio, Pd/C. Também neste estudo variou-se o solvente no meio reacional (metanol, etanol, água, THF, acetona e propanol) para determinar as melhores condições para a síntese de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Estudo dos solventes utilizados na reação de acoplamento Knoevenagel-Suzuki-Miyaura.

Solvente	Constante dielétrica (ε)	Rendimento (%)
THF	7,5	59
Propanol	20	84
Etanol	30	90
Acetona	21	70
Água	80	97
Metanol	33	90

Observou-se que para os solventes polares próticos (MeOH, EtOH e Propanol) e para os solventes polares apróticos (THF, Acetona) com elevada constante dielétrica a reação de condensação de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura foi bem-sucedida, pois apresentou elevados rendimentos para o aduto **4c** (Tabela 4.2).

Em contraste, para o solvente THF com baixa constante dielétrica, o rendimento foi baixo o qual forneceu 59 % do composto **4c**. Este fato pode estar relacionado com a natureza da reação que ocorre em reator de micro-ondas, pois o maior momento dipolar do solvente as interações moleculares são mais favorecidas pelas micro-ondas. Este tipo de energia fornecida ao sistema aumenta a cinética da reação como foi observado com o uso dos solventes próticos (Tabela 4.2).

A partir destes resultados foram aplicadas as melhores condições de reação para o acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura. Assim, empregou-se os adutos de Knoevenagel **2a-2i** contendo substituintes halogênio (F, Cl, Br) no anel aromático e ácido fenilborônico **3** na presença da radiação micro-ondas (Tabelas 4.3 e 4.4).

Tabela 4.3. Reação de acoplamento Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas utilizando derivados de benzilideno malononitrila com grupos halogênio e ácido fenilborônico.

2-Ph (4a), 3-Ph (4b), 4-Ph (4c)	
Substituinte	Rendimento (%)
<i>o</i> -F (2a)	83 (4a)
<i>o</i> -Br (2b)	94 (4a)
<i>o</i> -Cl (2c)	95 (4a)
<i>m</i> -F (2d)	80 (4b)
<i>m</i> -Cl (2e)	91 (4b)
<i>m</i> -Br (2f)	91 (4b)
<i>p</i> -F (2g)	84 (4c)
<i>p</i> -Cl (2h)	97 (4c)
<i>p</i> -Br (2i)	94 (4c)

Tabela 4.4. Reação de acoplamento Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas utilizando derivados do 2-ciano-3-(4-haloaril) acrilamida com grupos halogênios e ácido fenilborônico.

2-Ph (6a), 3-Ph (6b), 4-Ph (6c)	
Substituinte	Rendimento (%)
<i>o</i> -F (2a)	80 (6a)
<i>o</i> -Cl (2b)	91 (6a)
<i>o</i> -Br (2c)	90 (6a)
<i>m</i> -F (2d)	82 (6b)
<i>m</i> -Cl (2e)	95 (6b)
<i>m</i> -Br (2f)	94 (6b)
<i>p</i> -F (2g)	85 (6c)
<i>p</i> -Cl (2h)	98 (6c)
<i>p</i> -Br (2i)	97 (6c)

Nas Tabelas 4.3 e 4.4 observou-se uma tendência para os compostos de acoplamento Knoevenagel-Suzuki-Miyaura contendo átomos de Cloro e Bromo, os quais forneceram rendimentos elevados e similares, independentemente da posição em que se encontram ligados no anel aromático (*orto*, *meta*, *para*; Cl = 91, 95, 98 %; Br = 90, 94, 97 %), respectivamente.

Para compostos Knoevenagel-Suzuki-Miyaura contendo o átomo de Flúor apresentaram rendimentos moderados entre 80-85 %, fato que pode ser devido a força da ligação C-F que é muito mais forte em comparação com as ligações carbono-halogênio (cloro e bromo) fazendo que seja mais difícil a reação de acoplamento carbono-carbono.

Outra tendência observada foi que independentemente do tipo de grupo halogênio presente no reagente os produtos de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura apresentaram rendimentos distintos. Os grupos substituintes na posição *orto* do anel aromático apresentaram rendimentos mais baixos em todos os casos e os rendimentos mais elevados ocorram quando os substituintes encontravam-se ligados na posição *para* do anel aromático.

4.4.2 Reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura *one-pot* via radiação micro-ondas

Neste estudo foi modificada a estratégia sintética e decidiu-se realizar uma reação *one-pot* entre o derivado de benzaldeído **1i** contendo átomo de cloro no anel aromático, malononitrila **1a'**, ácido fenilborônico **3**, carbonato de potássio, Pd/C e água como solvente variando-se o tempo de reação (Tabela 4.5).

Tabela 4 5. Estudo da variação do tempo de reação *one-pot* Knoevenagel-Suzuki-Miyaura para o aduto **4c** por MO.

Tempo de reação (min)	Rendimento (%)	
30	52	
40	74	
50	91	
60	98	

A partir deste estudo foi observado que para o intervalo de tempo de 50-60 min obteve-se rendimentos $\geq 90\%$, fornecendo assim um protocolo sintético simples, eficiente e rápido para a obtenção do produto **4c** através de uma reação tricomponente *one-pot* por MO. Esta reação tricomponente foi vantajosa em relação à reação em duas etapas como foi descrito na Seção 4.4.1. Devido a metodologia *one-pot* para a obtenção do composto de Knoevenagel-Suzuki-Miyura **4c** ter sido eficiente decidiu-se aplicar para uma série derivados de benzaldeído aromáticos **1a-1i** contendo substituintes halogênicos (F, Cl, Br) no anel aromático na presença da radiação micro-ondas (Tabelas 4.6 e 4.7).

Tabela 4.6. Reação multicomponente *one-pot* de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas utilizando malononitrila.

1a-1i R = 2-F(1a), 2-Br (1b), 2-Cl (1c) 3-F(1d), 3-Br (1e), 3-Cl (1f) 4-F(1g), 4-Br (1h), 4-Cl (1i)	4a-4c 2-Ph (4a), 3-Ph (4b), 4-Ph (4c)
Substituinte	Rendimento (%)
<i>o</i> -F (2a)	82 (4a)
<i>o</i> -Br (2b)	90 (4a)
<i>o</i> -Cl (2c)	92 (4a)
<i>m</i> -F (2d)	84 (4b)
<i>m</i> -Cl (2e)	95 (4b)
<i>m</i> -Br (2f)	93 (4b)
<i>p</i> -F (2g)	88 (4c)
<i>p</i> -Br (2h)	96 (4c)
<i>p</i> -Cl (2i)	98 (4c)

Tabela 4.7. Reação multicomponente *one-pot* de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas utilizando cianoacetamida.

1a-1i R= 2-F(1a), 2-Br (1b), 2-Cl (1c) 3-F(1d), 3-Br (1e), 3-Cl (1f) 4-F(1g), 4-Br (1h), 4-Cl (1i)	6a-6c 2-Ph (6a), 3-Ph (6b), 4-Ph (6c)
Substituinte	Rendimento (%)
<i>o</i> -F (2a)	81 (6a) ^a
<i>o</i> -Br (2b)	90 (6a)
<i>o</i> -Cl (2c)	91 (6a)
<i>m</i> -F (2d)	86 (6b) ^a
<i>m</i> -Br (2e)	92 (6b)
<i>m</i> -Cl (2f)	94 (6b)
<i>p</i> -F (2g)	86 (6c) ^a
<i>p</i> -Br (2h)	95 (6c)
<i>p</i> -Cl (2i)	97 (6c)

^aProdutos inéditos.

Ao analisar os dados das Tabelas 4.6 e 4.7 foi observado que para os compostos Knoevenagel-Suzuki-Miyaura via *one-pot* realizados com os grupos halogênio (Cloro e Bromo) obtiveram-se rendimentos similares em todos os casos, inclusive, independentemente da posição em que se encontram ligados no anel aromático (*orto*, *meta*, *para*; Cl = 91, 94, 97 %; Br = 90, 92, 95 %), respectivamente.

Para compostos Knoevenagel-Suzuki-Miyaura obtidos com o grupo flúor apresentaram rendimentos moderados entre 81-86 %. Este fato pode ter ocorrido devido a ligação C-F ser mais forte em comparação com as ligações carbono-cloro e carbono-bromo.

Outro fato observado foi que dependendo do tipo de grupo substituinte halogênio no anel aromático os produtos **2a-2c** e **6a-6c** apresentaram rendimentos distintos. Em todos os casos os rendimentos menores foram obtidos quando o substituinte halogênio se encontrava ligado na posição *orto* do anel aromático.

4.4.3 Reação de acoplamento de tetrazol-Suzuki-Miyaura via radiação micro-ondas

Neste caso realizou-se uma reação entre os compostos tetrazólicos **7a-7i** (Capítulo 3) oriundos dos adutos de Knoevenagel contendo átomos de halogênios no anel aromático (F, Cl e Br), ácido fenilborônico **3**, carbonato de potássio, Pd/C e água. Foram aplicadas as melhores condições já encontradas nos estabelecidas na Seção 4.1 (Tabela 4.8).

Tabela 4.8. Reação de acoplamento do tetrazol-Suzuki-Miyaura por radiação micro-ondas.

$R_1 = 2\text{-F}, 2\text{-Br}, 2\text{-Cl}$ $3\text{-F}, 3\text{-Br}, 3\text{-Cl}$ $4\text{-F}, 4\text{-Br}, 4\text{-Cl}$ $R_2 = \text{CN}(\mathbf{7a-7i}), \text{CONH}_2(\mathbf{9a-9i})$	$2\text{-Ph} (\mathbf{8a} \text{ e } \mathbf{10a})$ $3\text{-Ph} (\mathbf{8b} \text{ e } \mathbf{10b})$ $4\text{-Ph} (\mathbf{8c} \text{ e } \mathbf{10c})$
Substituinte	Rendimento (%)
<i>o</i> -F (7a)	79 (8a) ^{a*}
<i>o</i> -Br (7b)	90 (8a) [*]
<i>o</i> -Cl (7c)	91 (8a) [*]
<i>m</i> -F (7d)	81 (8b) ^a
<i>m</i> -Br (7e)	91 (8b)
<i>m</i> -Cl (7f)	93 (8b)
<i>p</i> -F (7g)	84 (8c) ^{a*}
<i>p</i> -Br (7h)	95 (8c) [*]
<i>p</i> -Cl (7i)	96 (8c) [*]
<i>o</i> -F (9a)	76 (10a) ^a
<i>o</i> -Br (9b)	89 (10a)
<i>o</i> -Cl (9c)	90 (10a)
<i>m</i> -F (9d)	80 (10b) ^a
<i>m</i> -Br (9e)	90 (10b)
<i>m</i> -Cl (9f)	91 (10b)
<i>p</i> -F (9g)	87 (10c) ^{a*}
<i>p</i> -Br (9h)	97 (10c) [*]
<i>p</i> -Cl (9i)	96 (10c) [*]

^aProdutos inéditos

*Os compostos não foram caracterizados por RMN e IV

Ao analisar os resultados obtidos das reações tetrazol-Suzuki-Miyaura mostrados na Tabela 4.8 observou-se que para os compostos contendo grupos halogênio (Cloro e Bromo) rendimentos similares em todos os casos foram obtidos (*orto*, *meta*, *para*; Cl = 91, 93, 96 %; Br = 90, 91, 95 %), respectivamente.

Para os compostos tetrazol-Suzuki-Miyaura foi também observado que a reação com o grupo flúor forneceram rendimentos moderados entre 79-84 %. Também se observou o efeito dos grupos substituintes na posição em que se encontram ligados no anel aromático (*orto*, *meta* ou *para*); mostrando que os rendimentos mais baixos em todos os casos foram para o produto Knoevenagel-Suzuki-Miyaura ocorreu na posição *orto* e os rendimentos maiores para os produtos na posição *para*.

4.5 CONCLUSÃO

Foi desenvolvida a reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura e tetrazol-Suzuki-Miyaura aplicando a radiação micro-ondas em tempos curtos (30 min) fornecendo rendimentos elevados (81-97 %) para a maioria dos casos estudados. Foi observado também que os rendimentos foram similares para os adutos Knoevenagel-Suzuki-Miyaura **2a-2i** quando se empregaram os substituintes halogenados (bromo e cloro) (91-97 %) e rendimentos moderados para o substituinte flúor (80-84 %).

Foram também realizados estudos do melhor solvente para a reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura. Em água foi obtido o melhor rendimento de reação por MO. Também foi feito o estudo de reação tricomponente *one-pot* para os adutos **4a-4c** Knoevenagel-Suzuki-Miyaura obtendo rendimentos elevados (82-98 %). Desta forma, desenvolveu-se um protocolo sintético em uma etapa de reação em comparação com a metodologia tradicional de duas etapas.

Foram sintetizadas 36 moléculas das quais 9 foram inéditas.

4.6 REFERÊNCIAS

- [1] SUZUKI, A. New synthetic transformations via organoboron compounds. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, p. 213-222, 1994.
- [2] MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. **Chemical Reviews**, v. 95, p. 2457-2483, 1995.
- [3] STANFORTH, S. P. Catalytic cross-coupling reactions in biaryl synthesis. **Tetrahedron**, v. 54, p. 263-303, 1998.
- [4] SUZUKI, A. Cross-coupling reactions via organoboranes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 83, p. 83-90, 2002.
- [5] NEGISHI, E. A genealogy of Pd-catalyzed cross-coupling. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 653, p. 34-40, 2002.
- [6] NUNOMOTO, S. KAWAKAMI, Y.; YAMASHITA, Y. Cross-coupling reaction of 2-(1,3-butadienyl)magnesium chloride with alkyl or aryl halides by lithium chloride-cupric chloride (Li_2CuCl_4), a superior catalyst. **Journal of Organic Chemistry**, v. 48, p. 1912-1914, 1983.
- [7] TAMAO, K.; SUMITANI, K.; KUMADA, M. Selective carbon-carbon bond formation by cross-coupling of Grignard reagents with organic halides. Catalysis by nickel-phosphine complexes. **Journal of American Chemical Society**, v. 94, p. 4374-4376, 1972.
- [8] KUMADA, M. Nickel and palladium complex catalyzed cross-coupling reactions of organometallic reagents with organic halides. **Pure and Applied Chemistry**, v. 52, p. 669-679, 1980.
- [9] ACKERMANN, L.; POTUKUCHI, H. K.; KAPDI, A. R.; SCHULZKE, C. Kumada-Corriu cross-couplings with 2-pyridyl Grignard reagents. **Chemistry- A European Journal**, v. 16, p. 3300-3303, 2010.
- [10] SONOGASHIRA, K; TOHDA, Y.; HAGIHARA, N. A convenient synthesis of acetylenes: Catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines. **Tetrahedron Letters**, v. 16, p. 4467-4470, 1975.
- [11] SUZUKA, T.; OKADA, Y.; OOSHIRO, K.; UOZUMI, Y. Copper-free Sonogashira coupling in water with an amphiphilic resin-supported palladium complex. **Tetrahedron**, v. 66, p. 1064-1069, 2010.

- [12] KABIR, M. S.; MONTE, A.; COOK, J. M. An efficient palladium-catalyzed Negishi cross-coupling reaction with arylvinyl iodides: Facile regioselective synthesis of *E*-stilbenes and their analogues. **Tetrahedron Letters**, v. 48, p. 7269-7273, 2007.
- [13] SCOOT, W. J.; CRISP, G. T.; STILLE, J. K. Palladium-catalyzed coupling of vinyl triflates with organostannanes: 4-tert-butyl-1-vinylcyclohexene and 1-(4-tert-butylcyclohexen-1-yl)-2-propen-1-one. **Organic Syntheses**, v. 68, p. 116-122, 1990.
- [14] WATANABE, T.; MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Synthesis of sterically hindered biaryls via the palladium-catalyzed cross-coupling reaction of arylboronic acids or their esters with haloarenes. **Synlett**, v. 3, p. 207-210, 1992.
- [15] LEE, D.; JUNG, J.; JIN, M. General and highly active catalyst for mono and double Hiyama coupling reactions of unreactive aryl chlorides in water. **Chemical Communications**, v. 46, p. 9046-9048, 2010.
- [16] SUSUKI, A. Cross-coupling reactions of organoboranes: an easy way to construct C-C bonds. **Angewandte Chemie**, v. 50, p. 6722-9737, 2011.
- [17] MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. **Chemical Reviews**, v. 95, p. 2457-2483, 1995.
- [18] LIU, N.; LIU, C.; JIN, Z.; J. Green synthesis of fluorinated biaryl derivatives via thermoregulated ligand/palladium-catalyzed Suzuki reaction. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 696, p. 2641-2647, 2011.
- [19] NAVE, S.; SOAWAN, R. P.; ELFord, T. G.; AGGARWAL, V. K. Protodeboronation of tertiary boronic esters: asymmetric synthesis of tertiary alkyl stereogenic centers. **Journal of American Chemical Society**, v. 132, p. 17096-17098, 2010.
- [20] ROH, K. R.; KIM, J. Y.; KIM, Y. H. Palladium catalyzed alkenylation or alkynylation at C-5 of uracil nucleosides using phenyliodonium triflate. **Tetrahedron Letters**, v. 40, p. 1903-1906, 1999.
- [21] HANNAH, D. R.; SHERER, E. C.; DAVIES, R. V.; TITMAN, R. B.; LAUGHTON, C. A.; STEVENS, M. F. G. Structural studies on bioactive compounds. Part 29: Palladium catalysed arylations and alkynylations of sterically hindered immunomodulatory 2-amino-5-halo-4,6-(disubstituted)pyrimidines. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 739-750, 2000.
- [22] OKAMOTO, A.; INASAKI, T.; SAITO, I. Synthesis and ESR studies of nitronyl nitroxide-tethered oligodeoxynucleotides. **Tetrahedron Letters**, v. 46, p. 791-795, 2005.

- [23] WU, J.; ZHANG, L.; MENG, T.; FAN, R. General and efficient route for the synthesis of 3,4-disubstituted coumarins via Pd-catalyzed site-selective cross-coupling reactions. **Journal of Organic Chemistry**, v. 72, p. 7279-7286, 2007.
- [24] YIN, J.; BUCHWALD, S. L. A catalytic asymmetric Suzuki coupling for the synthesis of axially chiral biaryl compounds. **Journal of American Chemical Society**, v. 122, p. 12051-12052, 2000.
- [25] SHARMA, A. K.; KRISHNEGOWDA, G.; KRZEMINSKI, J.; AMIN, S. Microwave-assisted Suzuki cross-coupling reaction, a key step in the synthesis of polycyclic aromatic hydrocarbons and their metabolites. **Journal of Organic Chemistry**, v. 72, p. 8987-8989, 2007.
- [26] BUSZEK, K. R.; BROWN, N. *N*-vinylpyridinium and ammonium tetrafluoroborate salts: New electrophilic coupling partners for Pd(0)-catalyzed Suzuki cross-coupling reactions. **Organic Letters**, v. 7, p. 707-710, 2007.
- [27] NUN, P.; MARTINEZ, J.; LAMATY, F. Solvent-free microwave-assisted Suzuki–Miyaura coupling catalyzed by PEPPSI-*i*Pr. **Synlett**, v. 11, p. 1761-1764, 2009.
- [28] DAWOOD, K. M. Microwave-assisted Suzuki–Miyaura and Heck–Mizoroki cross-coupling reactions of aryl chlorides and bromides in water using stable benzothiazole-based palladium(II) precatalysts. **Tetrahedron**, v. 63, p. 9642-9651, 2007.
- [29] QU, G.R.; XIN, P.Y.; NIU, H. Y.; JIN, X.; GUO, X.T.; YANG, X.N.; GUO, H.M. Microwave promoted palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions of 6-chloropurines with sodium tetraarylborate in water. **Tetrahedron**, v. 67, p. 9099-9103, 2011.
- [30] SHAH, D.; KAUR, H. Macroporous resin impregnated palladium nanoparticles: Catalyst for a microwave-assisted green Hiyama reaction. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 359, p. 69-73, 2012.
- [31] GRUTTADAURIA, M.; BIVONA, L. A.; MEO, P. L.; RIELA, S.; NOTO, R. Sequential Suzuki/asymmetric aldol and Suzuki/Knoevenagel reactions under aqueous conditions. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 1, p. 2635-2642, 2012.

CAPÍTULO 5

SÍNTESE DE CROMENOS A PARTIR DE

ADUTOS DE KNOEVENAGEL

5.1. INTRODUÇÃO

O núcleo benzopirano é encontrado em uma diversidade de produtos naturais e derivados sintéticos com aplicações biológicas [1]. O benzopirano é um composto policíclico resultante da fusão de um anel benzênico e um anel pirânico. De acordo com a IUPAC este núcleo é denominado de cromeno. Existem dois isômeros do benzopirano que variam segundo a orientação da insaturação e da posição do átomo de oxigênio no anel pirânico, resultando em 1-benzopirano (cromeno) e 2-benzopirano (isocromeno) (Figura 5.1) [1].

Figura 5.1. Isômeros estruturais do benzopirano.

Existem várias metodologias para a síntese de núcleos de cromeno que fazem parte de inúmeros produtos naturais, tais como, cumarinas, cromonas, flavononas e flavonas [2-4]. Todos estes compostos contêm um anel pirânico e também podem conter núcleos heterocíclicos derivados de cromenos, tais como, benzo-cromenos, cromeno-pirróis (Figura 5.2) [2-4].

Figura 5.2. Núcleos contendo derivados de cromenos.

A importância biológica dos cromenos pode ser devido à presença deste núcleo presente em muitos produtos naturais obtidos a partir de microrganismos, fungos e plantas [4]. Assim, os cromenos são compostos interessantes para aplicações anticâncer [5], antibacteriana [6], anti-HIV [7], anti-depressiva [8] e anti-inflamatória [9]. E, também podem ser usados em estudos para tratamentos de doenças como Parkinson, Alzheimer, dentre outras (Figura 5.3) [10-11].

Figura 5.3. Exemplos de produtos naturais contendo núcleos cromenos com atividades biológicas.

Produtos naturais com núcleos cromenos e seus derivados têm sido muito estudados na literatura. Há um interesse na síntese destes precursores devido apresentarem atividades biológicas e são fontes para o desenvolvimento de novos fármacos [12]. Entre os sistemas de cromenos mais estudados se encontram os anéis de tipo 4*H*-pirano substituídos [12].

5.1.1 Anéis cromenos 4*H*-piranos

Os núcleos derivados de 4*H*-piranos têm sido de interesse devido estarem presentes em muitos produtos naturais [12]. Também este tipo de núcleo está presente em muitas moléculas que apresentam atividades biológicas [13], por exemplo, antiespasmódica [14], anticoagulante [15] e anti-anafilática [16]. Estes anéis 4*H*-piranos

também têm mostrado propriedades interessantes no tratamento de doenças neurodegenerativas, como as doenças de Huntington, Alzheimer e esclerose amiotrófica [16].

Alguns compostos 4*H*-piranos biologicamente ativos também são inibidores de transporte de aminoácidos excitatórios (EAAT) [17], indutores de apoptose [18] e utilizado no tratamento do câncer [19] (Figura 5.4).

Figura 5.4. Exemplos de compostos biologicamente ativos contendo cromenos com o núcleo aromático 4*H*-pirano.

Na literatura tem sido desenvolvida várias metodologias para a síntese de núcleos cromenos usando o Amberlist [20], organocatalisadores [21], $\text{KF-Al}_2\text{O}_3$ [22], $\text{SnCl}_2/\text{Nano-SiO}_2$ [23], nanopartículas de Fe_3O_4 [24], ZnO [25] e ultrassom [26].

A vantagem dos anéis de 2-amino-4*H*-piranos é que estes apresentam aplicação em várias áreas, como pigmentos para tecidos [27], para a produção de agroquímicos [28] e princípios fotoativos [29].

Entre as diversas aplicações e reações que podem realizar-se com os anéis de 2-amino-3-ciano-4*H* piranos, incluem a hidrogenação da ligação dupla para a obtenção de teraidropiranos que estão presentes em antibióticos como a 17-Desoxiroflamicóina e Forboxazola (Figura 5.5) [30-31].

Figura 5.5. Estruturas do 17-Desoxiflamicoína e Forboxazol.

Assim tem se o interesse no desenvolvimento de metodologias para a síntese deste tipo de núcleos cromenos de forma rápida e eficiente para a obtenção de moléculas bioativas. Desta forma, muitas metodologias têm sido desenvolvidas para a síntese de *4H*-piranos.

Khuarana *et al.* [32] relataram uma síntese multicomponente de tetraidro-*4H*-cromenos, tetraidropiranos e *4H*-piranos através de uma reação entre aldeídos aromáticos, cianoacetato de etila ou malononitrila e compostos 1,3-dicarbonílicos (dimedona, 1,3-ciclo-hexanona e 1,3-dimetil barbitúrico) em água usando DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno) (Esquema 5.1).

Esquema 5.1. Síntese tricomponente de cromenos em meio aquoso e DBU.

Wang *et al.* [33] descreveram a obtenção de uma série de derivados de 2-amino-*4H*-piranos através de uma reação *one-pot* entre derivados de cetona α,β -insaturadas, malononitrila e aldeídos aromáticos e DBU em etanol (Esquema 5.2) [33].

Esquema 5.2. Síntese tricomponente *one-pot* de cromenos em etanol e DBU.

Samir *et al.* [34] desenvolveram uma série de piranos derivados de *4H*-cromenos. Neste caso partiu-se de 2-benzilidenociclopentanona com malononitrila usando $\text{N}(\text{Et})_3$ em etanol (Esquema 5.3). Estes cromenos foram testados em ensaios antitumorais e mostraram alta citotoxicidade [34].

Esquema 5.3. Síntese de cromenos a partir de 2-benzilidenociclopentanonas e malononitrila.

Fouda *et al.* [35] estudaram a síntese de *4H*-cromenos a partir de aldeídos aromáticos, malononitrila e derivados de fenol usando piperidina em etanol na presença da radiação micro-ondas (Esquema 5.4). Estes cromenos foram testados em atividade citotóxica e alguns deles apresentaram boa atividade inibidora do crescimento celular [35].

Esquema 5.4. Síntese tricomponente de anéis cromenos por MO.

Patel *et al.* [36] reportaram a síntese de uma série de novos derivados de cromo com anéis indólicos por meio de uma reação multicomponente entre 2-fenil-1*H*-indol-3-carbaldeído, malononitrila e 1,3-ciclo-hexadiona e DMAP (dimetilaminopiridina) na presença de radiação micro-ondas (Esquema 5.5). Os derivados cromenos apresentaram atividade antibacteriana e antifúngica [36].

Esquema 5.5. Síntese tricomponente de cromenos derivados de indol por MO.

Brahmachari *et al.* [37] realizaram também uma reação multicomponente de 2-amino-3-ciano-4*H*-piranos a partir de aldeídos, malononitrila, compostos acídicos ativados em presença de uréia e etanol (Esquema 5.6).

Esquema 5.6. Síntese tricomponente de derivados de cromenos à temperatura ambiente.

Amirnejad *et al.* [38] realizaram uma metodologia livre de solvente para a síntese de anéis cromenos através de uma reação *one-pot* entre aldeídos aromáticos, malononitrila e 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexadiona usando piperazina (Esquema 5.7).

Esquema 5.7. Síntese tricomponente de cromenos 4*H*-piranos na ausência de solvente.

Patel *et al.* [39] desenvolveram uma reação de obtenção de 3,4-diidropirano-cromenos entre aldeídos aromáticos, malononitrila e 4-hidroxycumarina em meio de líquido iônico [DBU][Ac] (Esquema 5.8) mostrando altos rendimentos em tempos curtos de reação.

Esquema 5.8. Síntese tricomponente de cromenos derivados de diidropiranos em líquido iônico.

Moosavi *et al.* [40] desenvolveram uma síntese livre de solvente de 2-amino-benzocromenos a partir da reação multicomponente entre malononitrila, 2-naftol e aldeídos aromáticos em presença de sal de imidazólio funcionalizado com ácido acético (Esquema 5.9).

Esquema 5.9. Síntese tricomponente de benzocromenos em líquido iônico.

Joshi *et al.* [41] mostraram uma síntese tricomponente de 4*H*-cromenos através de aldeídos aromáticos, malononitrila, 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexadiona usando sílica gel funcionalizada com aminopropil em água (Esquema 5.10).

Esquema 5.10. Síntese tricomponente de 4*H*-cromenos.

Heravi *et al.* [42] apresentaram a síntese de 4*H*-piranos por meio de uma reação multicomponente entre benzaldeído, malononitrila, acetoacetato de etila e oxi-metassilicato de cobre (II) (Esquema 5.11). O aditio de cobre foi reutilizado por três vezes mantendo rendimentos elevados dos produtos.

Esquema 5.11. Síntese tricomponente de cromenos na presença de metassilicato de cobre.

Nasseri *et al.* [43] reportaram uma síntese de cromenos aplicando um método verde através de uma reação entre aldeídos aromáticos, malononitrila e derivados de pentano-2,4-diona em presença de nanocompósito de FeNi₃-SiO₂ em água (Esquema 5.12). O sistema foi altamente efetivo, a recuperação do aditivo foi efetuada com um ímã e pode ser usado em outras reações sem perda significativa de sua eficiência.

Esquema 5.12. Síntese tricomponente de derivados de cromenos por FeNi₃-SiO₂.

Bihani *et al.* [44] apresentaram o uso de uma resina de troca iônica (Amberlist A21) na síntese de uma série de 6-amino-4-alkil/aril-3-metil-2,4-diidropirano-pirazol-carbonitrilas desenvolvida por meio de uma reação multicomponente entre hidrato de hidrazina, acetoacetato de etila, aldeídos aromáticos e malononitrila em etanol (Esquema 5.13).

Esquema 5.13. Síntese tricomponente de derivados de cromenos na presença de Amberlist A21.

Kharbanger *et al.* [45] mostraram o uso de $\text{KF-Al}_2\text{O}_3$ na síntese multicomponente de anéis 4*H*-piranos por meio da reação de aldeídos aromáticos, malononitrila e compostos metilenos carbonílicos ativos em etanol (Esquema 5.14).

Esquema 5.14. Síntese de derivados de cromenos na presença de $\text{KF-Al}_2\text{O}_3$.

5.1.2 Mecanismo de reação para a síntese de anéis 4*H*-piranos

O mecanismo proposto para uma reação *one-pot* entre aldeído, malononitrila e dimedona em presença de CaHPO_4 pode ser observada na Figura 5.6.

Figura 5.6. Mecanismo proposto para a síntese de cromenos 4*H*-pirano [46].

O CaHPO_4 promove a abstração do hidrogênio ácido da malononitrila para formar o ânion malonociano, promovendo a adição de Knoevenagel entre o aldeído gerando um intermediário tetraédrico, que após uma fase de condensação fornece o produto insaturado. Posteriormente o HPO_4^- abstrai o hidrogênio ácido da dimedona formando o íon enolato. Este íon enolato é adicionado ao aduto de Knoevenagel, gerando um estado intermediário tetraédrico que posteriormente sofre uma ciclização intramolecular de transferência de prótons e tautomerização para fornecer o cromeno [46].

Com mostrado na literatura diferentes metodologias sintéticas foram descritas para a obtenção de anéis *4H*-piranos. Foi possível observar a versatilidade que apresenta este tipo de reação para a síntese de compostos funcionalizados com atividade biológica de maneira rápida, em altos rendimentos e com o uso de solventes verdes como a água e etanol.

5.2 OBJETIVOS

5.2.1 Objetivo geral

Realizar a síntese de anéis *4H*-piranos derivados de cromenos a partir de adutos de Knoevengael e compostos tetrazólicos via radiação micro-ondas.

5.2.2 Metas

- ✓ Fazer um estudo das melhores condições de reação na síntese de anéis *4H*-piranos (solvente, temperatura, tempo);
- ✓ Fazer um estudo do uso de aminoácidos como base e/ou indutor de quiralidade na formação de cromenos.

5.3 MATERIAIS E MÉTODOS

5.3.1 Reagentes

Foram usados os derivados de benzilideno malononitrila, derivados de *E*-2-ciano-3-arilacrilamida (**Capítulo 2**) e derivados de *E*-3-aril-2-(1*H*-tetrazol-5-il) acrilonitrila (**Capítulo 3**) após serem purificados, 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona (99 %), trietilamina (95 %), ácido aspártico (99 %), *L*-prolina (98 %), *L*-tirosina (98 %), *L*-alanina (98 %) e solventes (hexano, acetato de etila, metanol, acetona, etanol, DMSO-*d*₆, MeOD, Acetona-*d*₆, CDCl₃) foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação (Aldrich, Fluka, Synth, Merck e Vertec).

5.3.2 Equipamentos

A descrição dos equipamentos por Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), por Espectroscopia de Infravermelho-Transformada de Fourier (IV-FTIR), por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), o reator de micro-ondas, bem como outros equipamentos e o software ChemDraw (Versão 11.0) foram descritos no **Capítulo 2** (Seção 2.3.2).

5.3.3 Preparação de 4*H*-cromenos a partir de adutos de Knoevenagel e malononitrila por MO

Em um balão reacional de 25 mL foi adicionado os derivados de benzilideno-malononitrila (1,0 mmol), 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona (1,0 mmol), trietilamina/H₂O (15 µL/4 mL). Em seguida a mistura reacional foi transferida para um reator de micro-ondas e com agitação magnética por 25 min a 85 °C e uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Posteriormente a reação foi filtrada e extraída com AcOEt (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄ anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel *flash* ou por recristalização e o rendimento foi determinado. Os derivados de 4*H*-cromeno obtidos foram identificados e caracterizados por IV, EM e RMN. O Esquema 5.15 ilustra a equação química da reação de síntese de 4*H*-cromenos. Obs: Não foram adicionados os EM dos cromenos devido a decomposição no auto injetor.

Esquema 5.15. Síntese de 4*H*-cromenos a partir de adutos de Knoevenagel de malononitrila e 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona por MO.

R = C₆H₅ (**4a**), 4-BrC₆H₄ (**4b**), 4-CH₃C₆H₄ (**4c**), 4-ClC₆H₄ (**4d**), 4-FC₆H₄ (**4e**), 4-NH₂C₆H₄ (**4f**), 4-NO₂C₆H₄ (**4g**), 4-OHC₆H₄ (**4h**), 3-OCH₃, 4-OCH₃, 5-OCH₃C₆H₂ (**4i**), 4-OCH₃C₆H₄ (**4j**)

2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-fenil-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4a)

C₁₈H₁₈N₂O₂, 294,35 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 230-232 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3348, 3179, 2945, 2224, 1596, 1520, 1360; RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 7,29-7,26 (m, 2H), 7,19-7,16 (m, 1H), 7,14-7,12 (m, 2H), 6,98 (s, 2H), 4,16 (s, 1H), 2,50-2,49 (m, 2H), 2,26-2,23 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H), 2,11-2,08 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,95 (s, 3H); RMN de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 196,10, 162,94, 158,94, 145,18, 128,77, 127,59, 127,01, 120,16, 113,19, 58,78, 50,44, 36,03, 32,26, 28,85, 27,26.

(2-amino-4-(4-bromofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4b)

C₁₈H₁₇BrN₂O₂, 372,25 g.mol⁻¹; (97 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 200-202 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3322, 3196, 2959, 2874, 2197, 1664, 1360; RMN de ¹H (400 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 7,49-7,46 (m, 2H), 7,23-7,20 (m, 2H), 4,30 (s, 1H), 2,57 (d, *J* = 1,3 Hz, 2H), 2,26 (s, 1H), 2,18 (s, 1H), 2,10 (s, 2H), 1,12 (s, 3H), 1,03 (s, 3H).; RMN de ¹³C (100 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 195,05, 162,18, 158,62, 158,59, 144,13, 131,22, 129,75, 119,92, 113,05, 99,04, 50,14, 40,02, 35,65, 32,17, 31,88, 31,77, 27,99, 26,66.

2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(*p*-toulil)-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4c)

$C_{18}H_{18}N_2O_2$, 294,35 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 168-170 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3179, 2197, 1689, 1631; RMN de 1H (400 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 7,12-7,10 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,08-7,07 (m, 2H), 4,24 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 2,55 (q, J = 1,1 Hz, 2H), 2,26 (d, J = 0,8 Hz, 4H), 2,15 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 2,09-2,08 (m, 1H), 1,10 (s, 3H), 1,02 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 195,01, 161,79, 141,77, 135,98, 128,83, 128,81, 127,46, 127,45, 118,61, 118,59, 113,68, 50,21, 40,03, 35,59, 35,58, 31,75, 28,10, 26,60, 20,11.

2-amino-4-(4-clorofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4d)

$C_{18}H_{17}N_2O_2Cl$, 328,80 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal amarelo, p.f. = 175-178 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3187, 2942, 2189, 1682, 1350; RMN de 1H (400 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 7,32-7,30 (m, 2H), 7,27-7,24 (m, 2H), 4,30 (s, 1H), 2,56 (s, 2H), 2,25 (s, 1H), 2,17 (s, 1H), 2,09 (s, 2H), 1,11 (s, 3H), 1,02 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 195,02, 165,77, 162,13, 158,61, 143,63, 138,58, 131,82, 131,25, 128,66, 128,21, 113,11, 60,18, 50,14, 40,01, 35,56, 31,75, 27,98, 26,64.

2-amino-4-(4-flúor-fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4e)

$C_{18}H_{17}N_2O_2$, 294,35 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 180-182 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3187, 2934, 2206, 1689, 1503; RMN de 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm) = 7,18-7,16 (m, 2H), 7,12-7,08 (m, 2H), 7,01 (s, 2H), 4,19 (s, 1H), 2,50 (s, 2H), 2,26-2,22 (m, 1H), 2,12-2,08 (s, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,94 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm) = 196,13, 170,78, 162,93, 160,38, 158,93, 141,39, 129,56, 128,73, 120,06, 115,55, 113,05, 60,21, 58,56, 50,42, 35,37, 32,25, 28,77, 27,30, 21,21.

2-amino-4-(4-aminofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4f)

$C_{18}H_{19}N_3O_2$, 309,37 g.mol⁻¹; (96 % de rendimento); sólido laranja, p.f. = 192-194 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3348, 2950, 2206, 1664, 1503, 1306; RMN de 1H (400 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 7,18-7,16 (m, 2H), 6,94-6,93 (m, 2H), 6,60-6,57 (m, 2H), 4,27 (s, 1H), 2,56 (s, 2H), 2,26 (s, 1H), 2,19 (s, 1H), 1,12 (s, 3H), 1,03 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 195,04, 161,75, 150,52, 147,02, 138,95, 132,91, 129,48, 128,6, 127,64, 119,24, 113,82, 50,28, 40,03, 35,34, 31,79, 28,12, 26,58, 26,57.

2-amino-4-(4-nitrofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4g)

$C_{18}H_{17}N_3O_4$, 339,35 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); sólido laranja, p.f. = 200-203 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3196, 2950, 2197, 1672, 1529, 1342; RMN de 1H (400 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 8,20 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,19-8,18 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,56-7,55 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 4,47 (s, 1H), 2,61 (s, 2H), 2,28 (s, 1H), 2,20 (s, 1H), 1,13 (s, 3H), 1,05 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 195,17, 162,77, 158,77, 152,11, 146,87, 130,20, 128,83, 123,45, 112,46, 103,47, 50,07, 40,04, 36,14, 36,13, 31,81, 27,95, 26,73, 25,27.

2-amino-4-(4-hidróxifenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4h)

$C_{18}H_{18}N_2O_3$, 310,35 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); cristal marrom, p.f. = 185-187 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 2959, 2197, 1647, 1503; RMN de 1H (400 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 7,08-7,06 (m, 2H), 6,76-6,73 (m, 2H), 4,22 (s, 1H), 2,54 (s, 2H), 2,24 (s, 1H), 2,17 (s, 1H), 1,11 (s, 3H), 1,03 (s, 3H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $CO(CD_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 195,02, 161,51, 158,49, 156,14, 135,60, 133,82, 128,57, 118,68, 116,56, 114,93, 113,96, 61,20, 50,23, 40,03, 35,13, 31,73, 28,08, 26,58.

2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila **(4i)**

$C_{21}H_{24}N_2O_5$, 384,43 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 235-238 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3365, 2942, 2181, 1672, 1588; RMN de ¹H (400 MHz, CO(CD₃)₂-d₆) δ (ppm) = 6,53 (s, 2H), 4,25 (s, 1H), 3,79 (s, 6H), 3,69 (s, 3H), 2,39 (s, 2H), 2,36 (s, 2H), 1,13 (s, 3H), 1,11 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CO(CD₃)₂-d₆) δ (ppm) = 195,07, 173,64, 162,13, 153,38, 140,25, 118,59, 113,32, 107,01, 106,65, 104,88, 66,15, 65,56, 59,51, 55,51, 50,20, 40,06, 36,06, 32,04, 30,11, 25,07, 23,21.

2-amino-4-(4-metoxifenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila (4j)

$C_{19}H_{20}N_2O_3$, 324,38 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal marrom, p.f. = 197-199 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3331, 3187, 2958, 2197, 1656, 1512; RMN de ¹H (400 MHz, CO(CD₃)₂-d₆) δ (ppm) = 7,17 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 4,25 (s, 1H), 3,76 (s, 3H), 2,55 (s, 2H), 2,25 (s, 1H), 2,17 (s, 1H), 1,12 (s, 3H), 1,03 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CO(CD₃)₂-d₆) δ (ppm) = δ 195,03, 161,63, 158,58, 158,51, 158,48, 136,77, 128,58, 118,66, 118,64, 113,54, 61,05, 54,54, 50,23, 40,03, 35,19, 31,75, 28,10, 26,61.

5.3.4 Preparação de 4H-cromenos a partir de adutos de Knoevenagel e cianoacetamida por MO

Em um balão reacional de 25 mL foi adicionado os derivados de 2-ciano-3-arilacrilamida (1,0 mmol), 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona (1,0 mmol), trietilamina/H₂O (15 μ L/4 mL). Em seguida a mistura reacional foi transferida a um reator micro-ondas e com agitação magnética por 25 min a 85 °C e uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Posteriormente, a reação foi filtrada e extraída com AcOEt (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄ anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel *flash* ou por recristalização e o rendimento foi determinado. Os 4H-cromenos obtidos foram identificados e caracterizados por IV, EM e RMN. O Esquema 5.16 ilustra a equação química da reação de síntese de cromenos. Obs: Não foram adicionados os EM dos cromenos devido a decomposição no auto injetor.

Esquema 5.16. Síntese de 4*H*-cromenos a partir de adutos de Knoevenagel de cianoacetamida e 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona por MO.

R = 4-BrC₆H₄ (**6a**), 4-ClC₆H₄ (**6b**), 4-FC₆H₄ (**6c**), 4-N(CH₃)₂C₆H₄ (**6d**), 4-NO₂C₆H₄ (**6e**), 3-OCH₃, 4-OCH₃, 5-OCH₃C₆H₂ (**6f**), 4-OCH₃C₆H₄ (**6g**), furfural (**6h**), tiofeno (**6i**), seringaldeído (**6j**), isovanilina (**6k**)

2-amino-4-(4-bromofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida

(**6a**)

C₁₈H₁₉BrN₂O₃, 390,06 g.mol⁻¹; (91 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 230-232 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3331, 3196, 2934, 1681, 1596, 1469, 1376; RMN de ¹H (500 MHz, Acetona-*d*₆) δ (ppm) = 7,98- 7,95 (m, 2H), 7,80-7,78 (m, 1H), 7,54-7,51 (m, 1H), 7,34-7,31 (m, 2H), 3,32 (s, 1H), 2,39 (s, 4H), 1,13 (s, 6H); RMN de ¹³C (126 MHz, Acetona-*d*₆) δ (ppm) = 150,15, 132,40, 131,93, 131,48, 131,29, 126,30, 120,65, 114,74, 50,19, 46,71, 46,33, 34,93, 31,34, 27,54, 26,13.

2-amino-4-(4-(dimetilamino)fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida (**6d**)

(**6d**)

C₂₀H₂₅N₃O₃, 355,44 g.mol⁻¹; (90 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 168-170 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3340, 3196 2925, 1681, 1588, 1368; RMN de ¹H (400 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 6,96-6,95 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 6,85-6,84 (m, 1H), 6,82-6,81 (q, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,65-6,64 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 6,63 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 5,44 (s, 1H), 2,87 (s, 6H), 2,38 (s, 4), 1,15 (s, 6H); RMN de ¹³C (100 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 189,22, 153,43, 151,52, 148,83, 132,97, 127,39, 115,45, 112,41, 111,55, 46,33, 39,85, 39,13, 31,62, 31,22, 27,51.

2-amino-4-(4-nitrofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida (6e)

$C_{18}H_{19}N_3O_5$, 357,13 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); cristal amarelo, p.f. = 175-178 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3348, 3179, 2925, 2945, 1596, 1520, 1360; RMN de ¹H (500 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 8,09-8,07 (dd, J = 8,8, 3,1 Hz, 2H), 7,59-7,57 (m, 2H), 4,89 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 2,27-2,26 (d, J = 4,8 Hz, 5H), 1,03 (s, 6H.); RMN de ¹³C (126 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 195,23, 175,52, 153,24, 145,77, 130,50, 128,73, 123,46, 122,60, 47,31, 45,93, 37,54, 35,43, 31,33, 27,62.

2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida (6f)

$C_{21}H_{26}N_2O_6$, 402,18 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 180-182 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3365, 2942, 1672, 1588; RMN de ¹H (400 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 6,66 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 6,42 (s, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,67-3,66 (d, J = 4,8 Hz, 4H), 2,36 (s, 4H), 1,16 (s, 6H); RMN de ¹³C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm) = 195,32, 175,38, 166,17, 152,91, 152,73, 115,06, 106,52, 105,43, 104,51, 59,55, 55,50, 55,33, 46,88, 32,16, 31,05, 27,57.

2-amino-4-(furan-2-il)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida (6h)

$C_{16}H_{18}N_2O_4$, 302,13 g.mol⁻¹; (92 % de rendimento); sólido laranja, p.f. = 200-203 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3348, 3145, 2945, 1707, 1621; RMN de ¹H (400 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 7,28-7,27 (m, 1H), 6,23 (dd, J = 3,2, 1,9 Hz, 1H), 5,98-5,97 (m, 1H), 4,74 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 2,96 (dd, J = 7,0, 4,6 Hz, 2H), 2,28 (s, 3H), 1,04 (s, 6H); RMN de ¹³C (100 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2-d_6$) δ (ppm) = 195,34, 175,04, 157,23, 142,22, 140,04, 110,41, 109,89, 107,54, 104,34, 47,16, 36,78, 31,26, 27,53.

5.3.4 Preparação de cromeno-tetrazólicos por MO

Em um balão reacional de 25 mL foi adicionado os derivados 3-*aril*-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila (1,0 mmol), 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona (1,0 mmol), trietilamina/H₂O (15 µL/4 mL). Em seguida a mistura reacional foi transferida a um reator micro-ondas e com agitação magnética por 25 min a 85 °C e uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Posteriormente, a reação foi filtrada e extraída com AcOEt (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄ anidro, filtrou, concentrou a vácuo até a evaporação do solvente. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel *flash* ou por recristalização e o rendimento foi determinado. Os derivados de 4*H*-cromeno-tetrazólico obtidos foram identificados e caracterizados por IV e RMN. O Esquema 5.17 ilustra a equação química da reação de síntese de 4*H*-cromenos.

Esquema 5.17. Síntese de 4*H*-cromeno-tetrazólicos a partir de compostos tetrazólicos e 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona por MO.

2-amino-4-(4-bromofenil)-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona (**8b**)

C₁₈H₁₈BrN₅O₂, 415,06 g.mol⁻¹; (92 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 200-202 °C; IV $\nu_{\max}$ (cm⁻¹) (puro) = 3340, 3187, 2206, 1707, 1576, 1249; RMN de ¹H (500 MHz, CO(CD₃)₂-d₆) δ (ppm) = 7,90-7,89 (d, *J* = 1,8 Hz, 2H), 7,31-7,30 (d, *J* = 3,6 Hz, 2H), 6,76-6,75 (dd, *J* = 3,6, 1,8 Hz, 2H), 5,35 (s, 1H), 2,21 (d, *J* = 1,0 Hz, 4H), 1,07 (s, 6H); RMN de ¹³C (126 MHz, CO(CD₃)₂-d₆) δ (ppm) = 146,14, 137,37, 129,50, 119,53, 116,97, 113,04, 102,91, 59,65, 46,23, 32,04, 30,81, 27,59, 24,35, 19,93, 13,60.

2-amino-4-(4-clorofenil)-7,7-dimetil-3-(1H-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5H-cromen-5-ona **(8c)**C₁₈H₁₈ClN₅O₂, 371,11 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); sólidobranco, p.f. = 168-170 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3331, 3196,2950, 2214, 1707, 1605, 1393; RMN de ¹H (400 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 8,04-8,02 (dd, *J* = 8,7, 2,0 Hz, 1H), 7,64 (s, 2H),7,60-7,57 (dd, *J* = 6,6, 2,0 Hz, 1H), 7,55-7,53 (m, 1H), 2,43 (s,2H), 2,30 (s, 2H), 1,29 (s, 4H), 1,04 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 188,93, 131,25, 130,23, 128,83, 128,78, 128,64, 46,08, 45,42, 31,53, 26,93,

15,58.

2-amino-4-(4-metoxifenil)-7,7-dimetil-3-(1H-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5H-cromen-5-ona **(8g)**C₁₉H₂₁N₅O₃, 367,16 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); sólidolaranja, p.f. = 200-203 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3357, 2959,2206, 1596; RMN de ¹H (400 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 8,09-8,07 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,15-7,13 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,93(s, 3H), 2,45 (s, 1H), 2,30 (d, *J* = 6,1 Hz, 2H), 1,31 (d, *J* = 4,5 Hz,4H), 1,21 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).; RMN de ¹³C (100 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 170,04, 145,10, 131,86, 131,72, 131,59, 131,51, 131,49, 130,03, 114,55, 113,88, 78,39, 78,36,

59,64, 55,08, 46,12, 19,92, 13,58.

2-amino-4-(furan-2-il)-7,7-dimetil-3-(1H-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5H-cromen-5-ona (8h) C₁₆H₁₇N₅O₃, 327,13 g.mol⁻¹; (92 % de rendimento); sólidomarrom, p.f. = 185-187 °C; IV $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3408, 3213,2212, 1681, 1596, 1385; RMN de ¹H (500 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 7,90 (s, 1H), 7,30 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,76 (dd, *J* = 3,6,1,8 Hz, 1H), 5,35 (s, 1H), 2,21 (d, *J* = 1,0 Hz, 4H), 1,07 (d, *J* = 2,8 Hz, 6H); RMN de ¹³C(126 MHz, CO(CD₃)₂-*d*₆) δ (ppm) = 146,14, 137,37, 129,50, 119,53, 116,97, 113,04, 102,91, 59,65, 46,23, 32,04, 30,81, 27,59, 24,35, 19,93.

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese de compostos cromenos tem sido investigada e há estudos científicos sobre metodologias para o melhoramento das condições de reação (Introdução). Muitas metodologias foram reportadas na literatura que abarcam reações multicomponentes *one-pot* com resultados de rendimentos e tempos semelhantes às reações em várias etapas. Muitas das reações apresentadas foram desenvolvidas por aquecimento convencional e utilizaram de tempos de reação entre 1-24 horas [37-44].

Nosso objetivo foi adaptar diferentes metodologias já realizadas na literatura para a síntese de cromenos empregando a tecnologia da radiação micro-ondas direcionadas em processos amigáveis ao meio ambiente. Existem poucos trabalhos descritos onde o uso da radiação micro-ondas foi aplicado para a síntese de *4H*-cromenos e seus derivados tetrazólicos (Tabela 5.1).

Tabela 5.1. Síntese de 4*H*-cromenos usando radiação micro-ondas descritos na literatura.

Reação	Referência
<p> <chem>c1ccccc1C=O</chem> + <chem>NC#CC#N</chem> + <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O</chem> $\xrightarrow[60\text{ W}]{70\text{ }^{\circ}\text{C}, 10\text{ min}}$ <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O2C(=C(C#N)N)C(=C3C=CC=CC=C3)O2</chem> (rend = 95 %) </p>	Devi <i>et al.</i> [47]
<p> <chem>c1ccccc1C=O</chem> + <chem>NC#CC#N</chem> + <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O</chem> $\xrightarrow[100\text{ W}]{80\text{ }^{\circ}\text{C}, 10\text{ min}}$ <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O2C(=C(C#N)N)C(=C3C=CC=CC=C3)O2</chem> (rend = 99 %) </p>	Hagiwara <i>et al.</i> [48]
<p> <chem>c1ccccc1C=O</chem> + <chem>NC#CC#N</chem> + <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O</chem> $\xrightarrow[500\text{ W}]{90\text{ }^{\circ}\text{C}, 8\text{ min}}$ <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O2C(=C(C#N)N)C(=C3C=CC=CC=C3)O2</chem> (rend = 84 %) </p>	Saini <i>et al.</i> [49]
<p> <chem>c1ccccc1C=O</chem> + <chem>NC#CC#N</chem> + <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O</chem> $\xrightarrow[500\text{ W}]{\text{refluxo}, 2\text{ min}}$ <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O2C(=C(C#N)N)C(=C3C=CC=CC=C3)O2</chem> (rend = 91 %) </p>	Tu <i>et al.</i> [50]
<p> <chem>c1ccccc1C=O</chem> + <chem>NC#CC#N</chem> + <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O</chem> $\xrightarrow[4\text{ min}, 800\text{ W}]{\text{H}_2\text{O}}$ <chem>CC1(C)CCCC(=O)C1=O2C(=C(C#N)N)C(=C3C=CC=CC=C3)O2</chem> (rend = 92 %) </p>	El-rahman <i>et al.</i> [51]

NDEAP = sílica de 3-*N,N*-dietilaminopropilato

Na Tabela 5.1 a maioria dos estudos realizaram o uso da radiação micro-ondas com potencias elevadas, em períodos curtos de reação fornecendo excelentes rendimentos. A proposta deste trabalho foi utilizar os derivados sintetizados nos **Capítulos 2 e 3** e aplicar a radiação micro-ondas para melhorar as condições de reação em comparação com as condições promovidas por aquecimento convencional.

5.4.1 Síntese de compostos 4*H*-cromenos a partir de derivados de arilbenzilideno malononitrilas

Iniciou-se com a síntese do 4*H*-cromeno **4a** a partir do aduto de Knoevenagel **2a** e 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexadiona **3**. Foi feito um estudo para estabelecer as melhores condições de reação (Tabela 5.2).

Tabela 5.2. Estudo das condições de reação para a síntese de 4*H*-cromeno **4a** na presença de MO e AC.

Metodologia/tempo (min)	Rendimento (%)
AC/60 min	88
AC/30 min	50
AC/15 min	31
MO/5 min	26
MO/15 min	57
MO/25 min	99

AC = aquecimento convencional [(Condições de reação = benzilideno malononitrila (1,0 mmol), 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexadiona (1,0 mmol), H₂O (4 mL), N(Et)₃ (15 µL)]

MO = radiação micro-ondas [(Condições de reação = benzilideno malononitrila (1,0 mmol), 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexadiona (1,0 mmol), H₂O (4 mL), N(Et)₃ (15 µL), 55 W]

Pelos dados fornecidos da Tabela 5.2 concluiu-se que o melhor rendimento (99 %) ocorreu em um tempo de 25 min mostrando a efetividade do uso da radiação de micro-ondas. Enquanto a reação realizada em condições de aquecimento convencional por chapa forneceu 88 % de rendimento em 60 min.

Por análise de RMN de ^1H do cromeno **4a** observou-se um sinal multipletto entre 7,30-7,26 ppm característico dos hidrogênios aromáticos na posição *meta*, em 7,20-7,16 ppm um multipletto de hidrogênio aromático na posição *para*, um sinal em 7,15-7,12 ppm multipletto para os hidrogênios aromáticos na posição *orto*. Em 6,98 ppm um singleto para os hidrogênios do grupo amino, em 4,16 ppm (s, 1H) um singleto do hidrogênio ligado ao centro estereogênico, um sinal em 2,49 ppm (dd, $J = 3,7, 1,8$ Hz, 2H) dos hidrogênios ligados adjacentes ao grupo carbonila. Em 2,25 ppm (d, $J = 16,1$ Hz, 1H) e 2,10 ppm (d, $J = 16,1$ Hz, 1H) sinais característicos dos hidrogênios metilênicos ligados próximo ao anel furano, e sinais singletos em 1,03 ppm (s, 3H) e 0,95 ppm dos hidrogênios dos grupos metilas.

Para o RMN de ^{13}C do cromeno **4a** apresentou um sinal em 196,10 ppm característico do carbono da carbonila, um sinal em 162,94 ppm do carbono do anel pirano ligado ao grupo amino, um sinal em 158,94 ppm do carbono do anel pirano ligado adjacente ao oxigênio. Em 145,18 ppm sinal de carbono aromático quaternário *ipso*, um sinal em 128,77 ppm de carbono aromático na posição *meta*, em 127,59 ppm carbono aromático da posição *orto* e em 127,01 ppm carbono aromático da posição *para*. Em 120,16 ppm carbono do grupo CN, um sinal em 113,19 ppm do carbono sp^2 ligado adjacente à carbonila, em 58,78 ppm do carbono sp^3 adjacente ao grupo CN. Em 50,44 ppm carbono CH_2 α -cetônico, em 36,03 ppm sinal de carbono CH_2 α -núcleo 4*H*-pirano, 32,26 ppm sinal do carbono quaternário ligado ao grupo dimetil no anel cetônico, e sinais em 28,85 e 27,26 ppm característicos dos grupos CH_3 (Figuras 5.7 e 5.8).

Figura 5.7. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para o 4*H*-cromeno **4a**. **Figura 5.8.** Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para o 4*H*-cromeno **4a**.

Otimizadas as melhores condições de reação para a adição-ciclização na preparação do 4*H*-cromeno **4a** foi ampliado o escopo da reação nas mesmas condições descritas utilizando-se de vários adutos de Knoevenagel **2a-2j** e 5,5-dimetil-1,3-ciclohexadiona **3** (Tabela 5.3).

Tabela 5.3. Síntese de 4*H*-cromenos a partir de adutos de Knoevenagel por radiação micro-ondas.

Substituinte	Rendimento (%)
C ₆ H ₅ (2a)	99
4-BrC ₆ H ₄ (2b)	97
4-CH ₃ C ₆ H ₄ (2c)	95 ^a
4-ClC ₆ H ₄ (2d)	98
4-FC ₆ H ₄ (2e)	98
4-NH ₂ C ₆ H ₄ (2f)	96 ^a
4-NO ₂ C ₆ H ₄ (2g)	99
4-OHC ₆ H ₄ (2h)	94 ^a
3-OCH ₃ ,4-OCH ₃ ,5-OCH ₃ C ₆ H ₂ (2i)	98 ^a
4-OMeC ₆ H ₄ (2j)	98

^aProdutos inéditos

Como pode ser observado na Tabela 5.3 independentemente do tipo de grupo substituinte no anel aromático ser eletrodoador ou eletrorretirador, ou da posição em que se encontram ligados no anel aromático (*meta* ou *para*) os rendimentos dos 4*H*-cromenos obtidos foram elevados.

5.4.2 Síntese de 4*H*-cromenos a partir de derivados de 2-ciano-3-fenilacrilamida por MO

Uma vez estabelecidas as melhores condições para a obtenção dos 4*H*-cromenos **4a-4j** foi proposto a síntese de novos derivados de 4*H*-cromenos, e neste caso, foram usados os adutos de Knoevenagel com grupo cianoacetamida **5a-5k** aplicando as condições de reação já desenvolvidas.

A síntese de cromeno (2-amino-4-(4-metoxifenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carboxamida **6g** foi feita partindo-se de 2-ciano-3-(4-metoxifenil)acrilamida **5g** e 5,5-dimetil-1,3-ciclohexadiona **3** em condições de micro-ondas usando como solvente água fornecendo um rendimento de 95 % (Esquema 5.18).

Esquema 5.18. Síntese de 4*H*-cromenos a partir de 2-ciano-3-(4-metoxifenil)acrilamida por MO.

Devido o alto rendimento fornecido pelo 4*H*-cromeno **6f** foi ampliado o escopo da reação nas mesmas condições descritas utilizando-se de vários adutos de Knoevenagel **5a-5k** e 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexadiona **3** (Tabela 5.4).

Tabela 5.4. Síntese de 4*H*-cromenos via radiação micro-ondas utilizando derivados de 2-ciano-3-arilacrilamida.

5a-5k	6a-6k
Substituinte	Rendimento (%)
4-BrC ₆ H ₄ (5a)	91 ^a
4-ClC ₆ H ₄ (5b)	93 [*]
4-FIC ₆ H ₄ (5c)	95 ^{a*}
4-N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄ (5d)	90 ^a
4-NO ₂ C ₆ H ₄ (5e)	94 ^a
3-OCH ₃ ,4-OCH ₃ ,5-OCH ₃ C ₆ H ₂ (5f)	98 ^a
4-OCH ₃ C ₆ H ₄ (5g)	95 ^{a*}
furano (5h)	92 ^a
tiofeno (5i)	92 ^{a*}
seringaldeído (5j)	94 ^{a*}
isovanilna (5k)	85 ^{a*}

^aProduto inédito

^{*}Os compostos não foram caracterizados por RMN e IV

Os 4*H*-cromenos **6a-6k** mostraram que apesar de apresentarem grupos substituintes no anel aromático eletrodoadores ou eletrorretiradores os rendimentos foram elevados ao aplicar as condições de radiação de micro-ondas (Tabela 5.4).

5.4.3 Síntese de 4H-cromenos a partir de compostos tetrazólicos por MO

Nesta parte do trabalho foi proposta a síntese de novos derivados 4H-cromenos a partir dos compostos tetrazólicos sintetizados no **Capítulo 3** aplicando as condições de reação desenvolvidas para obtenção de 4H-cromenos (**Seção 5.4.1**). A síntese do 4H-cromeno-tetrazólico **8a** foi feita a partir de 3-fenil-2-(1H-tetrazol-5-il)acrilonitrila **7a** e 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexadiona **3** em condições de micro-ondas usando como solvente água e fornecendo 96 % de rendimento (Esquema 5.19).

Esquema 5.19. Síntese de 4H-cromeno-tetrazólico **8a** por MO.

Assim, observado o alto rendimento fornecido pelo 4H-cromeno **8a** foi ampliado o escopo da reação nas mesmas condições descritas utilizando-se de vários os compostos tetrazólicos **7a-7i** e 5,5-dimetil-1,3-ciclo-hexadiona **3** (Tabela 5.5).

Tabela 5.5. Síntese de compostos 4H-cromeno-tetrazólicos *one-pot* via radiação micro-ondas.

Substituinte	Rendimento isolado (%)
C ₆ H ₅ (7a)	96 ^{a*}
4-BrC ₆ H ₄ (7b)	92 ^a
4-ClC ₆ H ₄ (7c)	85 ^a
4-FC ₆ H ₄ (7d)	91 ^{a*}
4-NO ₂ C ₆ H ₄ (7e)	94 ^{a*}
3-OMe,4-OMe,5-OMeC ₆ H ₂ (7f)	98 ^{a*}
4-OCH ₃ C ₆ H ₄ (7g)	95 ^a
furfural (7h)	92 ^{a*}
seringaldeído (7i)	94 ^{a*}

^aProdutos inéditos

*Os compostos não foram caracterizados por RMN e IV

A Tabela 5.5 mostra a favorável síntese de 4*H*-cromenos-tetrazólicos **8a-8i** em tempos curtos de reação e fornecendo rendimentos elevados. Cabe destacar que não houve um efeito da natureza dos grupos electrodadores ou electroretiradores no anel aromático no progresso da reação. Em todos os casos obteve-se rendimentos elevados.

Com isto concluiu-se que a adaptação e o desenvolvimento de uma metodologia baseada no uso da radiação micro-ondas para a obtenção de 4*H*-cromenos a partir de adutos de Knoevenganel e tetrazóis foi exitosa fornecendo produtos puros, em alguns casos inéditos, em períodos relativamente curtos (25 min em MO) em comparação com as metodologias da literatura (Introdução).

5.4.4 Estudo de resolução enantiomérica de 4*H*-cromenos

Na síntese dos compostos 4*H*-cromenos foram obtidos em misturas racêmicas. Isto faz destes compostos interessantes devido a possibilidade de desenvolver metodologias para a obtenção de 4*H*-cromenos enantiomericamente puros ou enriquecidos.

Na literatura existem exemplos da obtenção de compostos 4*H*-cromenos enantiomericamente puros ou enriquecidos.

Gao *et al.* [52] desenvolveram a síntese enantiosseletiva de anéis 4*H*-piranos usando como indutor quiral um derivado bifuncional de Squaramida (Figura 5.9). Esta reação forneceu altos rendimentos (80-99 %) e moderados excessos enantioméricos (*e.e.* = 42-83 %) do correspondente 4*H*-cromeno (Esquema 5.20).

Esquema 5.20. Síntese de 4*H*-cromeno presença do indutor quiral **lq**.

Suh *et al.* [53] relataram a síntese enantiomérica de anéis *4H*-piranos promovidas por um indutor quiral de Squaramida modificado com binaftil fornecendo o produto *4H*-cromeno com rendimento de 77 % e excesso enantiomérico de 90 % (Esquema 5.21).

Esquema 5.21. Síntese de *4H*-cromeno na presença do indutor quiral **1z**.

Zhang *et al.* [54] desenvolveram a síntese de anéis *4H*-pirano-cromenos com o uso do indutor quiral **16** fornecendo rendimentos entre 71-94 % e excessos enantioméricos entre 68-96 % (Esquema 5.22).

Esquema 5.22. Síntese do *4H*-pirano-cromeno na presença do indutor quiral **16**.

As metodologias descritas mostram a obtenção de cromenos enantiomericamente puros ou enriquecidos, mas foi necessário o uso de catalisadores quirais muito específicos e não disponíveis comercialmente.

Assim, nossa proposta foi realizar o estudo do uso de aminoácidos como aditivos quirais para desenvolver um protocolo sintético na obtenção de 4*H*-cromeno enantiomericamente puros ou enriquecidos.

Barbs *et al.* [55] realizaram a reação de adição de Michael entre derivados de butan-2-ona e (*E*)-(2-nitrovinil)benzeno na presença de *L*-prolina. Nesse estudo a prolina pode interagir com o íon enolato gerando assim um estado de transição quiral e induzindo para que a adição de Michael ocorra apenas pela face não bloqueada pelo indutor de quiralidade (Esquema 5.23).

Esquema 5.23. Reação de Michael usando *L*-prolina.

A proposta no nosso estudo foi o uso de aminoácidos como a *L*-prolina, *L*-ácido aspártico, *L*-tirosina e *L*-alanina para a obtenção do 4*H*-cromeno **4a**.

Foram feitas as sínteses de 4*H*-cromenos aplicando os protocolos da Seção 5.4.1. As reações na presença dos aminoácidos por MO forneceram rendimentos elevados (93-98 %) do 4*H*-cromeno **4a**, mas sem apresentar valores de excessos enantioméricos fato corroborado pelas análises de HPLC (Tabela 5.6, Figuras 5.9-10).

Assim, analisando os dados fornecidos pela Tabela 5.6 uma possibilidade do composto 4*H*-cromeno **4a** não tem sido obtido com algum valor de excesso enantiomérico pode ser atribuída a não formação de um estado de transição quiral.

Tabela 5.6. Síntese do 4*H*-cromeno **4a** com o uso de *L*-aminoácidos por MO.

Aminoácidos	Solvente	Rendimento (%)	Excesso enantiomérico (%)
Ácido aspártico	H ₂ O	98	0
<i>L</i> -prolina	H ₂ O	94	0
<i>L</i> -tirosina	H ₂ O	96	0
<i>L</i> -alanina	H ₂ O	97	0
<i>L</i> -ácido aspártico	EtOH	97	0
<i>L</i> -prolina	EtOH	96	0
<i>L</i> -tirosina	EtOH	93	0
<i>L</i> -alanina	EtOH	95	0

Figura 5.9. Cromatogramas por análises de HPLC-Uv do 4*H*-cromeno **4a** obtido por MO na presença de aminoácidos em água.

Condições do cromatograma: CHIRALPAK AD-H coluna quiral (0,46 × 25 cm), fase móvel: hexano/etanol (60:40), fluxo: 0,5 mL min⁻¹, λ=215 nm).

Figura 5.10. Cromatogramas por análises de HPLC-Uv do 4*H*-cromeno **4a** obtido por MO na presença de aminoácidos em etanol.

Condições do cromatograma: CHIRALPAK AD-H coluna quirál ($0,46 \times 25$ cm), fase móvel: hexano/etanol (60:40), fluxo: $0,5 \text{ mL min}^{-1}$, $\lambda=215 \text{ nm}$).

5.5 CONCLUSÃO

Foi desenvolvido um protocolo de síntese para a obtenção de anéis *4H*-pirano-cromenos a partir de adutos de Knoevengael e compostos tetrazólicos empregando a radiação micro-ondas em tempos de reação curtos (25 min) e com rendimentos elevados (94-99 %).

Foi feito o estudo de comparação da síntese de cromenos via AC e MO em água. Os dados fornecidos mostraram uma efetividade da reação na presença de MO (rend = 99 %, 25 min, **4a**) frente ao AC (rend = 88 %, 60 min, **4a**).

Também foi realizado um estudo do uso de aminoácidos para induzir uma possível quiralidade na síntese de cromenos, mas não se observou experimentalmente produto enantiomérico para o *4H*-cromeno **4a**.

Foram sintetizadas 32 moléculas das quais 25 foram inéditas.

5.6 REFERÊNCIAS

- [1] FAVRE, H. A.; POWELL, W. H. **Nomenclature of organic chemistry: IUPAC recommendations and preferred names 2013**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2014. 1568 p.
- [2] LI, N.G.; SHI, Z.H.; TANG, Y.P.; MA, H.Y.; YANG, J.P.; LI, B.Q.; WANG, Z.J.; SONG, S.L.; DUAN, J.A. Synthetic strategies in the construction of chromones. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 47, p. 785-799, 2010.
- [3] MINAMI, T.; MATSUMOTO, Y.; NAKAMURA, S.; KOYANAGI, S.; YAMAGUCHI, M. 3-Vinylcoumarins and 3-vinylchromenes as dienes. Application to the synthesis of 3,4-fused coumarins and chromenes. **Journal of Organic Chemistry**, v. 47, p. 167-173, 1992.
- [4] NICOLAOU, K. C.; PFEFFERKORN, J. A.; ROECKER, A. J.; CAO, G. Q.; BARLUENGA, S.; MITCHELL, H. J. Natural product-like combinatorial libraries based on privileged structures. 1. General principles and solid-phase synthesis of benzopyrans. **Journal of American Chemical Society**, v. 122, p. 9939-9953, 2000.
- [5] QUESADA, A. R.; GRAVALOS, M. D. G.; PUENTES, J. L. F. Polyaromatic alkaloids from marine invertebrates as cytotoxic compounds and inhibitors of multidrug resistance caused by P-glycoprotein. **British Journal of Cancer**, v. 74, p. 677-682, 1996.
- [6] TANAKA, H.; ATSUMI, I.; SHIROTA, O.; SEKITA, S.; SAKAI, E.; SATO, M.; MURATA, J.; MURATA, H.; DARNAEDI, D.; CHEN, I.S. Three new constituents from the roots of *Erythrina variegata* and their antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, p. 476-482, 2011.
- [7] KASHMAN, Y.; GUSTAFSON, K. R.; FULLER, R. W.; CARDELLINA, J. H.; MCMAHON, J. B.; CURRENS, M. J.; BUCKHEIT, R. W.; HUGHES, S. H.; CRAGG, G. M.; BOYD, M. R. HIV inhibitory natural products. Part 7. The calanolides, a novel HIV-inhibitory class of coumarin derivatives from the tropical rainforest tree, *Calophyllum lanigerum*. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 2735-2743, 1992.

- [8] PAN, Z.-X.; HE, X.; CHEN, Y.-Y.; TANG, W.-J.; SHI, J.-B.; TANG, Y.-L.; SONG, B.-A.; LI, J.; LIU, X.-H. New 2*H*-chromene-3-carboxamide derivatives: Design, synthesis and use as inhibitors of hMAO. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 80, p. 278-284, 2014.
- [9] ILINA, I.; MIKHALCHENKO, O.; PAVLOVA, A.; KORCHAGINA, D.; TOLSTIKOVA, T.; VOLCHO, K.; SALAKHUTDINOV, N.; POKUSHALOV, E. Highly potent analgesic activity of monoterpene-derived (2*S*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-aryl-4,7-dimethyl-3,4,4*a*,5,8,8*a*-hexahydro-2*H*-chromene-4,8-diols. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, p. 5063-5073, 2014.
- [10] RAO, J. M.; BHIMAPAKA, C. R.; PULLELA, V. S.; KATRAGADDA, S. B.; YADAV, J. S.; KONDAPURAN, V. R.; SINGH, H. K.; NATH, C. **A pharmaceutical composition useful as acetyl cholinesterase inhibitors**. US 8188143 B2, 29 maio 2012.
- [11] TROST, B. M.; TOSTE, F. D. A catalytic enantioselective approach to chromans and chromanols. A total synthesis of (-)-valanolides A and B and the vitamin E nucleus. **Journal of American Chemical Society**, v. 120, p. 9074-9075, 1998.
- [12] PERRELLA, F. Q.; CHEN, S. F.; BEHRENS, D. L.; KALTENBACH, R. F.; SEITZ, S. P. Phospholipase C inhibitors: A new class of agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 37, p. 2232-2237, 1994.
- [13] NASSERI, M. A.; SADEGHZADEH, S. M. Magnetic nanoparticle supported hyperbranched polyglycerol catalysts for synthesis of 4*H*-benzo[b]pyran. **Monatshefte für Chemie**, v. 144, p. 1551-1558, 2013.
- [14] BONSIGNORE, L.; LOY, G.; SECCI, D.; CALIGNANO, A. Synthesis and pharmacological activity of 2-oxo-(2*H*)-1-benzopyran-3-carboxamide derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 28, p. 517-520, 1993.
- [15] MARTINEZ, G. A.; MARCO, J. L. Friedländer reaction on 2-amino-3-cyano-4*H*-pyrans: Synthesis of derivatives of 4*H*-pyran [2,3-*b*] quinoline, new tacrine analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 7, p. 3165-3170, 1997.
- [16] PATIL, D.; FREYER, J.; EGGLESTON, D. S.; HALTIWANGER, R. C.; BEAN, M. F.; TAYLOR, P. B.; CARANFA, M. J.; BREEN, L.; BARTUS, H. R.; JOHNSON, R. K. The

- inophyllums, novel inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase isolated from the Malaysian tree, *Calophyllum inophyllum* Linn. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, p. 4131-4138, 1993.
- [17] JENSEN, A. A.; ERICHSEN, M. N.; NIELSEN, C. W.; STENSBOL, T. B.; KEHLER, J.; BUNCH, L. Discovery of the first selective inhibitor of excitatory amino acid transporter subtype 1. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 912-915, 2009.
- [18] KEMNITZER, W.; DREWE, J.; ZHANG, H.; ZHANO, J.; CROGAN, G. X.; XU, L.; LAMOTHE, S.; GOURDEAU, H.; DENIS, R.; TSENG, B.; KASIBHATLA, S.; SUI, X. C. Discovery of 4-aryl-4*H*-chromenes as a new series of apoptosis inducers using a cell- and caspase-based high-throughput screening assay. 3. Structure-activity relationships of fused rings at the 7,8-positions. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, p. 2858-2864, 2007.
- [19] PALIWAL, P. K.; JETTI, S. R.; JAIN, S. Green approach towards the facile synthesis of dihydropyrano(c)chromene and pyrano[2,3-*d*]pyrimidine derivatives and their biological evaluation. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, p. 2984-2990, 2013.
- [20] BIHANI, M.; BORA, P. P.; BEZ, G. Amberlyst A21 catalyzed chromatography-free method for multicomponent synthesis of dihydropyrano[2,3-*c*]pyrazoles in ethanol. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 1, p. 440-447, 2013.
- [21] BRAHMACHARI, G.; BANERJEE, B. Facile and one-pot access of 3,3-bis(indol-3-yl)indolin-2-ones and 2,2-bis(indol-3-yl)acenaphthylen-1(2*H*)-one derivatives via an eco-friendly pseudo-multicomponent reaction at room temperature using sulfamic acid as an organo-catalyst. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 2, p. 2802-2812, 2014.
- [22] KHARBANGAR, I.; ROHMAN, R.; MECADON, H.; MYRBOH, B. *One-pot* synthesis of unsymmetrical benzils by oxidative coupling using selenium dioxide and *p*-toluenesulfonic acid monohydrate. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2, p. 320-328, 2012.
- [23] SAFAEI-GHOMI, J.; TEYMURI, R.; SHAHBAZI-ALAVI, H.; ZIARATI, A. SnCl₂/nano SiO₂: A green and reusable heterogeneous catalyst for the synthesis of polyfunctionalized 4*H*-pyrans. **Chinese Chemical Letters**, v. 24, p. 1-5, 2013.

- [24] WANG, H.; LIU, Y.; LI, M.; HUANG, H.; XU, H. M.; HONG, R. J.; SHEN, H. Optoelectron. Multifunctional TiO₂ nanowires-modified nanoparticles bilayer film for 3D dye-sensitized solar cells. **Advanced Materials- Rapid Communications**, v. 4, p. 1166-1169, 2010.
- [25] BHATTACHARYYA, P.; PRADHAN, K.; PAUL, S.; DAS, A. R. Nano crystalline ZnO catalyzed one pot multicomponent reaction for an easy access of fully decorated 4*H*-pyran scaffolds and its rearrangement to 2-pyridone nucleus in aqueous media. **Tetrahedron Letters**, v. 53, p. 4687-4691, 2012.
- [26] MOSADDEGH, E. Ultrasonic-assisted preparation of nano eggshell powder: A novel catalyst in green and high efficient synthesis of 2-aminochromenes. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 1436-1441, 2013.
- [27] EL-MAGHRABY, A. M. Green chemistry: New synthesis of substituted chromenes and benzochromenes via three-component reaction utilizing Rochelle salt as novel green catalyst. **Organic Chemistry International**, v. 1, p. 1-6, 2014.
- [28] SHEHAB, W. S.; GHONEIM, A. A. Synthesis and biological activities of some fused pyran derivatives. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. 966-970, 2011.
- [29] ARMESTO, D.; HORSPOOL, W. M.; MARTIN, N.; RAMOS, A.; SEOANE, C. Synthesis of cyclobutenes by the novel photochemical ring contraction of 4-substituted 2-amino-3,5-dicyano-6-phenyl-4*H*-pyrans. **Journal of Organic Chemistry**, v. 54, p. 3069-3072, 1989.
- [30] ZHAO, X. L.; LIU, L.; CHEN, Y. J.; WANG, D. Direct synthesis of tetrahydropyrans via *one-pot* Babier–Prins cyclization of allylbromide with carbonyl compounds promoted by RTILs BPyX/SnX₂ or BBIMBr/SnBr₂. **Tetrahedron**, v. 62, p. 7113-7120, 2006.
- [31] VASCONCELLOS, M. L. A. A.; MIRANDA, L. S. M. A reação de ciclização de Prins: Uma estratégia eficiente para síntese estereosseletiva de anéis tetraidropirânicos substituídos. **Química Nova**, v. 29, p. 834-839, 2006.
- [32] KHURANA, J. M.; NAND, B.; SALUJA, P. 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene: A highly efficient catalyst for *one-pot* synthesis of substituted tetrahydro-4*H*-chromenes, tetrahydro[b]pyrans, pyrano[d]pyrimidines, and 4*H*-pyrans in aqueous medium. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 51, p. 618-624, 2014.

- [33] WANG, D. C.; XIE, Y. M.; FAN, C.; YAO, S.; SONG, H. Efficient and mild cyclization procedures for the synthesis of novel 2-amino-4*H*-pyran derivatives with potential antitumor activity. **Chinese Chemical Letters**, v. 25, p. 1011-1013, 2014.
- [34] SAMIR, E. M. The uses of cyclopentanone for the synthesis of biologically active pyran, pyridine and thiophene derivatives. **Open Access Library Journal**. v. 3, p. 1-11, 2016.
- [35] FOUDA, A. M. Synthesis of several 4*H*-chromene derivatives of expected antitumor activity. **Medicinal Chemistry Research**, v. 25, p. 1229-1238, 2016.
- [36] KATHROTIYA, H. G.; PATEL, M. P. Microwave-assisted synthesis of 3'-indolyl substituted 4*H*-chromenes catalyzed by DMAP and their antimicrobial activity. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, p. 3406-3416, 2012.
- [37] BRAHMACHARI, G.; BANERJEE, B. Facile and one-pot access of 3,3-bis(indol-3-yl)indolin-2-ones and 2,2-bis(indol-3-yl)acenaphthylen-1(2*H*)-one derivatives via an eco-friendly pseudo-multicomponent reaction at room temperature using sulfamic acid as an organo-catalyst. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 2, p. 2802-2812, 2014.
- [38] AMIRNEJAD, M.; NAIMI-JAMAL, M. R.; TOURANI, H.; GHAFURI, H. A facile solvent-free *one-pot* three-component method for the synthesis of 2-amino-4*H*-pyrans and tetrahydro-4*H*-chromenes at ambient temperature. **Monatshefte für Chemie**, v. 144, p. 1219-1225, 2013.
- [39] PATEL, D. S.; AVALANI, J. R.; RAVAL, D. K. *One-pot* solvent-free rapid and green synthesis of 3,4-dihydropyrano[c]chromenes using grindstone chemistry. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 20, p. S401-S405, 2016.
- [40] MOOSAVI-ZARE, A. R.; ZOLFIGOL, M. A.; KHALEDIAN, O.; KHAKYZADEH, V.; FARAHANI, M. D.; BEYZAVI, M. H.; KRUGER, H. G. Tandem Knoevenagel–Michael–cyclocondensation reaction of malononitrile, various aldehydes and 2-naphthol over acetic acid functionalized ionic liquid. **Chemical Engineering Journal**, v. 248, p. 122-127, 2014.
- [41] JOSHI, V. M.; MAGAR, R. L.; THROAT, P. B.; TEKALE, S. U.; PATIL, B. R.; KALE, M. P.; PAWAR, R. P. Novel one-pot synthesis of 4*H*-chromene derivatives using amino functionalized silica gel catalyst. **Chinese Chemical Letters**, v. 25, p. 455-458, 2014.

- [42] HERAVI, M. M.; BEHESHTIHA, Y. S.; PIRNIA, Z.; SADJADI, S.; ADIBI, M. *One-pot*, three-component synthesis of 4*H*-pyrans using Cu(II) oxymetasilicate. **Synthetic Communication**, v. 39, p. 3663-3667, 2009.
- [43] NASSERI, M. A.; SADEGHZADEH, S. M. A highly active FeNi₃-SiO₂ magnetic nanoparticles catalyst for the preparation of 4*H*-benzo[*b*]pyrans and spirooxindoles under mild conditions. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 10, p. 1047-1056, 2013.
- [44] BIHANI, M.; BORA, P. P.; BEZ, G. A practical catalyst-free synthesis of 6-amino-4 alkyl/aryl-3-methyl-2,4-dihydropyrano[2,3-*c*]pyrazole-carbonitrile in aqueous medium **Journal of Chemistry**, v. 1, p. 1-8, 2013.
- [45] KHARBANGAR, I.; ROHMAN, R.; MECADON, H.; MYRBOH, B. KF-Al₂O₃ as an efficient and recyclable basic catalyst for the synthesis of 4*H*-pyran-3-carboxylates and 5-acetyl-4*H*-pyrans. **International Journal of Organic Chemistry**, v. 2, p. 282-285, 2012.
- [46] BODAGHIFARD, M. A.; SOLIMANNEJAD, M.; ASADBEGI, S.; DOLATABADIFARAHANI, S. Mild and green synthesis of tetrahydrobenzopyran, pyranopyrimidinone and polyhydroquinoline derivatives and DFT study on product structures. **Research on Chemical Intermediates**, v. 2, p. 1165-1179, 2016.
- [47] DEVI, I.; BHUYAN, P. J. Sodium bromide catalysed one-pot synthesis of tetrahydrobenzo[*b*]pyrans via a three-component cyclocondensation under microwave irradiation and solvent free conditions. **Tetrahedron Letters**, v. 45, p. 8625-8627, 2004.
- [48] HAGIWARA, H.; NUMAMAE, A.; ISOBE, K.; HOSHI, T.; SUZUKI, T. Microwave-promoted sequential three component synthesis of tetrahydrobenzo[*b*] in water catalysed by heterogeneous amine grafted on silica. **Heterocycles**, v. 68, p. 889-895, 2006.
- [49] SAINI, A.; KUMAR, S.; SANDHU, S. J. A new LiBr-catalyzed, facile and efficient method for the synthesis of 14-alkyl or aryl-14*H*-dibenzo[*a,j*]xanthenes and tetrahydrobenzo[*b*]pyrans under solvent-free conventional and microwave heating. **Synlett**, v. 12, p. 1928-1932, 2006.

- [50] TU, S. J.; GAO, Y.; GUO, C.; SHI, D.; LU, Z. A convenient synthesis of 2-amino-5,6,7,8-tetrahydro-5-oxo- 4-aryl-7,7-dimethyl-4hbenzo-[b]-pyran-3-carbonitrile under microwave irradiation. **Synthetic Communications**, v. 32, p. 2137-2141, 2002.
- [51] EL-RAHMAN, N. M. A.; EL-KATEB, A. A.; MADY, M. F. Simplified approach to the uncatalyzed Knoevenagel condensation and Michael addition reactions in water using microwave irradiation. **Synthetic Communications**, v. 37, p. 3961-3970, 2007.
- [52] GAO, Y.; DU, D.M. Enantioselective synthesis of 2-amino-5,6,7,8-tetrahydro-5-oxo-4*H*-chromene-3-carbonitriles using squaramide as the catalyst. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 23, p. 1343-1349, 2012.
- [53] SUH, C. W.; KIM, D. Y. Organocatalytic asymmetric Michael addition of 1,3-cyclohexanedione to benzylidenemalonitriles. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 35, p. 98-102, 2014.
- [54] ZHANG, G.; ZHANG, Y.; YAN, J.; CHEN, R.; WANG, S; MA, Y.; WANG, R. One-pot enantioselective synthesis of functionalized pyranocoumarins and 2-amino-4*H*-chromenes: Discovery of a type of potent antibacterial agent. **Journal of Organic Chemistry**, v. 77, p. 878-888, 2012.
- [55] BETANCORT, J. M.; BARBAS, C. F. Catalytic direct asymmetric Michael reactions: Taming naked aldehyde donors. **Organic Letters**, v. 3, p. 3737-3740, 2001.

CAPÍTULO 6

**USO DE FIBROÍNA FUNCIONALIZADA PARA A
REAÇÃO DE KNOEVENAGEL E BIO-HIDROGENAÇÃO
DE ADUTOS DE KNOEVENAGEL PELO FUNGO DE
AMBIENTE MARINHO *Penicillium citrinum* CBMAI 1186**

6.1. INTRODUÇÃO

6.1.1 Biocatálise

A Biocatálise é um campo de pesquisa importante sobretudo aplicado à síntese de moléculas assimétricas e pode ser definida como:

“A conexão entre distintas áreas das Ciências Naturais e as Ciências da Engenharia, com o objetivo de conseguir aproveitamentos dos organismos, células ou equivalentes moleculares para a obtenção de produtos de interesse acadêmico e industrial” [1].

A biocatálise está ligada à Biotecnologia a qual pode ser definida como:

“Área interdisciplinar fortemente ligada à pesquisa científica e tecnológica que tem como principal objetivo desenvolver processos e produtos utilizando agentes biológicos”. Para aplicação de processos biotecnológicos é necessário o conhecimento de várias áreas, como a Química (Orgânica), Física, Bioinformática, Engenharia Mecânica, Catálise, Matemática, Ciência dos Materiais e Biologia (Microbiologia, Biologia Molecular, Bioquímica) [2-3].

As definições de *Biotransformação* e *Biocatálise* também envolvem processos em que os catalisadores biológicos (enzimas isoladas ou enzimas) são empregados para transformar um substrato xenobiótico em produto via reações metabólicas [2].

A Biotransformação envolve o uso de enzimas que estão contidas nas células vivas (processos fermentativos), enquanto a Biocatálise utiliza as enzimas que estão na forma isoladas, imobilizadas e que não fazem parte de uma célula viva e que catalisam reações em substratos xenobióticos (Esquema 6.1).

Esquema 6.1 (A) Reação de Biotransformação [3]. (B) Reação de Biocatálise [4].

Enzimas são macromoléculas proteicas formadas por aminoácidos. Os aminoácidos são ligados entre si por um átomo de carbono do grupo carboxila de um aminoácido e por um átomo de nitrogênio do grupo amino de um outro aminoácido, formando a ligação amídica ou peptídica. De acordo com o grupo da cadeia lateral (R_1 ou R_2) o aminoácido poderá ter um caráter apolar ou polar que influenciará na conformação da enzima (Figura 6.1) [5].

Figura 6.1. Formação da ligação peptídica entre dois grupos adjacentes de α -amino ácidos.

Cada proteína possui uma sequência específica de aminoácidos conhecida como *estrutura primária*, sendo esta importante, pois dela deriva-se as acomodações espaciais da molécula. A *estrutura secundária* é regida pelas interações intermoleculares dos resíduos de aminoácidos oriundos da estrutura primária gerando a formação das estruturas α -hélice e β -pregueada. Por sua vez, a *estrutura terciária* está determinada espacialmente pelas interações entre os resíduos de aminoácidos da estrutura primária e pelas interações intermoleculares da estrutura secundária que causa uma orientação conformacional [6].

Ainda muitas enzimas precisam do uso de pequenas moléculas para catalisarem determinadas reações. Essas moléculas são denominadas de coenzimas ou cofatores. *Coenzimas* são moléculas com baixa massa molecular, em comparação à enzima e está associada de maneira reversível à enzima, entretanto não participa da estrutura enzimática. As coenzimas comumente otram como intermediários no processo de reações de transferência de elétrons como, por exemplo, o cofator $\text{NAD}^+ / \text{FAD}^+$, $\text{NaDH} / \text{FADH}$ [7].

As enzimas também estão classificadas em várias classes de acordo com as reações que catalisam no sistema bioquímico (Tabela 6,1). A classificação das enzimas é definida pelo Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (*IUBMB – International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) [8] (www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme).

Tabela 6.1. Classificação das enzimas segundo IUMMB ⁸.

Classes	Subclasses		Reações
1. Oxidorredutases	Redutases,	Oxidases,	Reação de oxidação e redução, formação de ligação dupla por eliminação de hidrogênio.
	Desidrogenases		
2. Transferases	Quinases,		Transferência de grupo aldeído, cetônico, acila, fosforila, amino.
	Transaminases		
3. Hidrolases	Lipases, Nucleases,		Hidrólise-formação de ésteres, amidas, lactonas, epóxidos, nitrilas, anidridos, glicosídeos.
	Proteases, Esterases		
4. Liasas	Descarboxilases,		Adição-eliminação de pequenas moléculas nas ligações C=C, C=N e C=O.
	Desidratases		
5. Isomerases	Epimerases		Isomerização de centro estereogênico, epimerização, racemização.
6. Ligases	Acetona carboxilase,		Formação ou clivagem das ligações C-C, C-O, C-N com concomitante participação de ATP.
	Piruvato carboxilase		

ATP = Trifosfato de adenosina

As enzimas mais empregadas em química orgânica em escala industrial e na área acadêmica visando o desenvolvimento de novas metodologias sintéticas e na produção de compostos quirais são as hidrolases e as oxidorreduções [9].

As hidrolases são responsáveis por aproximadamente 40 % das aplicações industriais. Nos laboratórios de pesquisa de química orgânica o emprego das hidrolases como biocatalisadores corresponde aproximadamente 65 % das reações biocatalíticas [10]. A preferência para o uso dessas enzimas pode ser atribuída aos seguintes fatores:

- Reações termodinamicamente favorecidas em meio aquoso;
- Grande enantioespecificidade pelo substrato permitindo a resolução cinética de racematos e fornecendo produtos com elevados excessos enantioméricos;
- Não requer o uso de coenzimas, tornando as reações mais acessíveis;
- Possibilidade do uso de solventes orgânicos;
- Disponíveis comercialmente na forma livre e imobilizada.

O uso de enzimas em síntese orgânica tem sido uma alternativa aos métodos químicos não enzimáticos devido a que apresentam alta quimio, regio e estereosseletividade. As condições reacionais com o uso de enzimas são brandas podendo assim ser implementadas em diferentes metodologias de reações químicas [11].

Um exemplo da aplicação da biocatálise na minimização de resíduos foi descrito por Schmidt *et al.* [12] que empregaram as enzimas (*R*)-lactato-NAD⁺ oxidorredução de *Staphylococcus epidermidis* (LDH, desidrogenase láctica) e formato desidrogenase de *Candida boidinii* (FDH) para a produção do ácido (2*R*)-hidróxi-4-fenilbutírico em agitação magnética, fornecendo excesso enantiomérico de 99,9 % e rendimento de 93 % (Esquema 6.2).

Esquema 6.2. Redução do ácido 2-oxo-4-fenilbutírico através de um processo de regeneração do cofator empregando enzimas acopladas.

6.1.2 Uso de biopolímeros

Um biopolímero pode ser definido como sendo uma macromolécula formada por longas cadeias de compostos orgânicos em geral com sequência de grupos repetitivos. Os compostos “menores” que compõem as unidades repetitivas na cadeia química são conhecidos como monômeros [13].

Os biopolímeros são produzidos por meio de um organismo vivo, assim estes compostos apresentam propriedades de biodegradação, poucos contaminantes e oriundos de uma fonte renovável. Existem vários tipos de biopolímeros provenientes de proteínas (colágeno, seda, gelatina, fibroína da seda) ou polissacarídeos (celulose, alginato e quitosana). Esses biopolímeros são muito empregados em processos de biotecnologia devido apresentarem biocompatibilidade, biodegradação e estabilidade a pressão e temperatura ambiente [13]. Outra vantagem destes materiais é a possibilidade de fabricação de nanopartículas, filmes, fibras e hidrogéis [14].

Ye *et al.* [15] reportaram a imobilização da lipase de *Candida rugosa* empregando poliacrilonitrila previamente modificada com gelatina e quitosana. A atividade da enzima imobilizada em quitosana foi de 55 %, e a atividade da enzima imobilizada em gelatina foi de 60 %. Os resultados das atividades após de 10 ciclos mantiveram-se iguais.

As enzimas estão sendo imobilizadas em biomateriais (biopolímeros) para serem aplicadas em diversas áreas. Por exemplo, Liu *et al.* [16] empregaram a *trans*-glutaminase de *Streptomyces hygroscopicus* (promove a transaminação da glutamina e da lisina). Foi utilizado uma solução contendo gelatina em tampão fosfato (pH 6, 30 °C, 5 h). O hidrogel apresentou propriedades selantes e está sendo empregado para impedir hemorragias na forma hemostática [16].

6.1.2.1 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo que tem subunidades de glucosamina, a qual pode ser adquirida por via química ou enzimática a partir da desacetilação da quitina. A quitina é encontrada em carapaças de crustáceos e é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza [17]. O processo de desacetilação pelo qual é obtida a quitosana pode ser afetado por fatores como temperatura, tempo de reação, tamanho das partículas de quitina, concentração da solução básica utilizada [18].

A quitosana apresenta uma grande quantidade de grupos amino (NH_2) e grupos hidroxila (OH) e devido a isso é apropriada para ser aplicada como suporte para a imobilização, por exemplo, de enzimas e células microbianas (Figura 6.2) [19].

Figura 6.2. Representação parcial da estrutura da quitosana.

Rocha *et al.* [20] empregaram a quitosana para a imobilizar o fungo *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 e aplicaram este material para a conversão quantitativa da 1-(4-metoxifenil)etanona para o (*S*)-1-(4-metoxifenil)etanol com alta enantiosseletividade (*e.e.* >99 %). Essa reação com as células não imobilizadas do fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 apresentaram uma conversão de 69 % para o (*R*)-1-(4-metoxifenil)etanol e baixa enantiosseletividade (*e.e.* 35 %) (Esquema 6.3).

Esquema 6.3. Biotransformação de 1-(4-metoxifenil)etanona pelo fungo *P.citrinum* CBMAI 1186.

6.1.2.2 Fibroína de seda

A fibra de seda é obtida principalmente pelo bicho da seda *Bombyx mori* [21]. O comprimento da fibra de seda varia entre 600-1500 m. Este material está composto predominantemente de fibroína (200 a 350 kDa) e sericina (20 a 310 kDa). A fibroína está composta majoritariamente por aminoácidos de glicina e alanina em uma configuração de uma estrutura de folha- β -antiparalelas, que permanecem ligadas por interações fortes de ligações de hidrogênio.

Kuzuhara *et al.* [22] reportaram o uso da fibroína para imobilizar a glicose-oxidase mostrando uma atividade de 98,7 % sem perdas de atividade após 36 dias de estocagem, permanecendo mais estável à variação de temperatura e pH frente a enzima livre que apresentou perda de atividade até 45 %.

6.1.3 Bio-hidrogenação com microrganismos marinhos

Os oceanos cobrem mais de 70 % da superfície da Terra e contribuem significativamente para todos os ciclos mundiais de matéria e energia [23].

A enorme abundância microbiana também propicia um número desconhecido de dados genéticos a partir de microrganismos, compostos bioativos e biomateriais, que podem proporcionar importantes benefícios para a sociedade e ao meio ambiente. Contudo, a importância dos microrganismos marinhos ainda é pouco conhecida em relação a variedade microbiana existente. Nas últimas décadas foi iniciada pesquisas na área de química e biologia com microrganismos marinhos, contudo em biocatálise ainda têm poucos estudos nesse campo [24].

Dentre os microrganismos marinhos, os fungos podem ser encontrados associados a distintos organismos, tais como, poríferos, peixes, cnidários, tunicados, algas, etc.

Reações enzimáticas por fungos provenientes de ambiente marinho podem ser realizadas em laboratório, uma vez que estes possibilitam de serem cultivados em água do mar artificial. Um exemplo foi o fungo filamentoso *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 que em água do mar artificial catalisou a reação de bio-hidrogenação quimiosseletiva da cetona α,β - insaturada (*E*)-3-fenil-1-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (Esquema 6.4) [25].

Esquema 6.4. Bio-hidrogenação da (*E*)-3-fenil-1-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona com o fungo *P. citrinum* CBMAI 1186.

Outro trabalho desenvolvido em nosso grupo de pesquisa mostrou o uso de células livres de várias linhagens de fungos derivados de ambiente marinho (*Aspergillus sclerotiorum* CBMAI 849, *P. citrinum* CBMAI 1186, *Trichoderma* sp. CBMAI 932) e linhagens de fungos terrestres (*Aspergillus* sp. FPZSP 146 e *Aspergillus* sp. FZPSP 152). Estes fungos foram utilizados na reação de bio-hidrogenação de cetonas bis α,β -insaturadas (Esquema 6.5). A bio-hidrogenação apresentou rendimentos satisfatórios com os fungos *P. citrinum* CBMAI 1186 (60 %), *Trichoderma* sp. CBMAI 932 (65%), *Aspergillus* sp. FPZSP 146 (50 %) e *Aspergillus* sp. FZPSP 152 (40%) [25].

Esquema 6.5. Bio-hidrogenação de 1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186.

Assim, pode-se observar as reações de bio-hidrogenação com fungos marinhos e terrestres apresentam potencial para reduzir sistemas α,β -insaturados. Neste trabalho nosso objetivo foi utilizar estes fungos para a hidrogenação dos adutos de Knoevenagel obtidos no **Capítulo 2**.

6.2. OBJETIVOS

6.2.1 Objetivo geral

Uso de fibroína funcionalizada para a síntese de adutos de Knoevenagel e posterior reação bio-hidrogenação com fungos de ambiente marinho *P. citrinum* CBMAI 1186.

6.2.2 Metas

- ✓ Utilizar a fibroína da seda como aditivo em reações de condensação de Knoevenagel;
- ✓ Funcionalização da fibroína da seda com CuSO₄;
- ✓ Bio-hidrogenação de derivados de arilideno malononitrila com o fungo marinho *P. citrinum* CBMAI 1186;
- ✓ Bio-hidrogenação do 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida com fungos de ambiente marinho e terrestre.

6.3. MATERIAIS E MÉTODOS

6.3.1 Síntese e biotransformação de adutos de condensação de Knoevenagel

6.3.1.1 Preparação de produtos de condensação de Knoevenagel (2a-k) por radiação micro-ondas

Em um balão reacional de 25 mL foi adicionado uma mistura de aldeído (1,0 mmol), malononitrila (1,0 mmol) em metanol (3 mL) em seguida foram colocados em um reator de micro-ondas (30 min, 60 °C, 20 W). O progresso da reação foi monitorado por CCD. Finalizada a reação esta foi filtrada e extraída com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄, filtrou e concentrou a vácuo até a total evaporação do solvente. Os produtos sólidos foram recristalizados em uma mistura de hexano-diclorometano (1:1). Todos os compostos foram caracterizados por análises espectroscópicas (RMN, IV) e espectrométricas (GC-EM), (Esquema 6.6)

Esquema 6.6. Reação de condensação de Knoevenagel por radiação MO.

2-benzilidenomalononitrila (2a)

C₁₀H₆N₂, 154,17 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 82-84 °C; IV ν_{max} (cm⁻¹) (puro) = 3011, 2945, 2224, 1605; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,92 (m, 2H), 7,79 (s, 1H), 7,64 (m, 1H), 7,54 (m, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 159,9, 134,6, 130,8, 129,6, 113,6, 112,5, 82,7; EM (70 eV) m/z = 154 (M⁺, 100%), 127 (88%), 103 (60 %).

2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila (2b)

C₁₀H₅N₂F, 172,16 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 125-126 °C; IV ν_{max} (cm⁻¹) (puro) = 3040, 2940, 2235, 1598, 1574, 1503, 1243, 834; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,98-7,96 (m, 2H), 7,75 (s, H), 7,27-7,23 (m, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 166,11 (d, ¹J_{C-F}=207 Hz), 157,98, 133,37, 127,18, 117,18, 113,40, 112,22, 82,05; EM (70 eV), m/z = 172 (M⁺, 100%), 145 (89 %), 121 (54 %).

2-(4-clorobenzilideno)malononitrila (2c)

 $\text{C}_{10}\text{H}_5\text{N}_2\text{Cl}$, 188,61 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 90-91 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3084, 3047, 2225, 1595, 1527, 1355, 1215, 952; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = δ 7,88-7,85 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,74 (s, 1H), 7,55-7,52 (d, J = 8,5 Hz, 2H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 158,26, 141,15, 131,83, 130,07, 129,27, 113,42, 112,32, 83,37; EM (70 eV) m/z = 188 (M^+ , 57 %), 161 (23 %), 153 (100%).

2-(4-bromobenzilideno)malononitrila (2d)

 $\text{C}_{10}\text{H}_5\text{N}_2\text{Br}$, 233,07 g.mol⁻¹; (97 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 165-166 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3014, 2230, 1600, 1570, 1510, 1250, 838; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,76-7,74 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,68-7,66 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,70 (s, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 193,3, 134,5, 134,2, 129,1, 128,0, 55,0; EM (70 eV) m/z = 232 (M^+ , 31 %), 234 (M^{+2} , 30 %), 153 (100%).

2-(4-nitro-benzilideno)malononitrila (2e)

 $\text{C}_{10}\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_2$, 199,17 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal laranja, p.f. = 149-151 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3032, 2227, 1597, 1589, 1579, 1411, 1263, 1024, 692; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,38-8,36 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 8,07-8,04 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,87 (s, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156,82, 150,33, 135,76, 131,27, 124,60, 112,58, 111,55, 87,52; EM (70 eV) m/z = 199 (M^+ , 84 %), 169 (51 %), 141 (68 %), 133 (72 %), 126 (100 %).

2-(4-hidroxi-benzilideno)malononitrila (2f)

 $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$, 170,17 g.mol⁻¹; (90 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 187-190 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3352, 3041, 2235, 1610, 1579, 1566, 1444, 1300, 1220, 1174; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,93-7,83 (m, 3H), 6,92 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 4,78 (s, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 164,0, 159,8, 133,7, 123,1, 116,3, 114,6, 113,6, 76,0; EM (70 eV) m/z = 170 (M^+ , 100 %), 142 (44 %), 119 (38 %), 143 (21 %).

2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila (2g)

$C_{11}H_8N_2O$, 184,20 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); cristal amarelo, p.f. = 113-114 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3352, 3041, 2235, 1610, 1579, 1566, 1444, 1300, 1220, 1174; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,91-7,87 (dd, J = 8,0 Hz, 2H), 7,63 (s, 1H), 7,01-6,97 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 164,72, 158,75, 133,14, 123,24, 114,80, 114,05, 112,84, 78,69, 55,69; EM (70 eV) m/z = 184 (M⁺, 100%), 141 (30%), 114 (49%).

2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila (2h)

$C_{11}H_8N_2O_2$, 200,20 g.mol⁻¹; (94 % de rendimento); sólido amarelo, p.f. = 134-135 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3400, 3022, 2986, 2226, 1621, 1562, 1507, 1284, 1139; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 7,94 (s, 1H), 7,57-7,56 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,43 (m, 1H), 7,07 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 159,76, 153,71, 146,92, 126,05, 124,67, 115,22, 114,45, 113,38, 111,19, 76,87, 55,05; EM (70 eV) m/z = 200 (M⁺, ausente), 170 (100%), 142 (47%), 119 (42%).

2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila (2i)

$C_9H_5N_3$, 155,16 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); sólido marrom, p.f. = 113-114 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3115, 3039, 2231, 1579, 1521, 1344; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,89 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 8,84-8,82 (dd, J = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 8,48-8,47 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,54-7,51 (dd, J = 8,2, 4,8 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 156,44, 154,62, 152,37, 135,61, 126,99, 124,29, 112,91, 111,94, 85,65, 77,28, 77,03, 76,7; EM (70 eV) m/z = 155 (M⁺, 100 %), 104 (76 %), 128 (53 %), 101 (43 %).

2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila (2j)

$C_8H_4N_2S$, 160,19 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); sólido marrom, p.f. = 93-95 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3352, 3041, 2235, 1610, 1579, 1566, 1444, 1300, 1220, 1174; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,87-7,85 (m, 1H), 7,80-7,78 (dq, J = 4,3, 0,8 Hz, 1H), 7,26-7,23 (m, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 151,03, 138,09, 136,84, 135,37, 130,21, 130,05, 129,52, 129,40, 129,00, 128,99, 128,74, 113,74, 112,90, 78,37; EM (70 eV) m/z = 160 (M⁺, 100 %), 133 (56 %), 109 (41 %), 45 (21 %).

2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila (2k)

$\text{C}_8\text{H}_4\text{N}_2\text{O}$, 144,13 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); cristal marron, p.f. = 70-73 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3124, 3041, 2922, 2231, 1606, 1529, 1456, 1394, 1296; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,79-7,78 (dt, J = 1,8, 0,5 Hz, 1H), 7,50-7,49 (d, J = 0,5 Hz, 1H), 7,35-7,34 (d, J = 4 Hz, 1H), 6,70-6,69 (ddd, J = 4, 1,7, 0,4 Hz, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 149,48, 149,46, 148,05, 148,04, 143,01, 123,35, 114,44, 114,39, 113,74, 112,54; EM (70 eV) m/z = 144 (M⁺, 100 %), 115 (44 %), 116 (31 %), 89 (30 %), 117 (21 %).

6.3.1.2 Isolamento e cultivo do fungo marinho *P. citrinum* CBMAI 1186

O fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 foi isolado da alga marinha *Caulerpa* sp. na cidade de São Sebastião, São Paulo, Brasil pelo grupo de Química Orgânica de Sistemas Biológicos (QOSBio) coordenado pelo Prof. Dr. Roberto G. S. Berlinck (IQSC). O fungo foi identificado no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Universidade de Campinas [26]. O fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 foi depositado na Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria –CBMAI (<http://webdrm.cpqba.unicamp.br/cbmai/>) [27].

A cultura do fungo de ambiente marinho *P. citrinum* CBMAI 1186 em meio líquido foi realizada pela transferência de fragmentos do meio sólido (0,5 cm × 0,5 cm) contendo os micélios da cultura estoque para inocular em 600 mL de meio de cultura em extrato de malte 2% (Acumedia) em água do mar artificial contidos em um frasco Erlenmeyer (2 L). O micélio foi incubado por 7 dias à temperatura de 32 °C em agitador orbital (130 rpm).

A composição da água do mar artificial foi constituída por uma mistura de sais: CaCl₂·2H₂O (1,36 g.L⁻¹), MgCl₂·6H₂O (9,68 g.L⁻¹), KCl (0,6g.L⁻¹), NaCl (30,0 g.L⁻¹), Na₂HPO₄ (0,014 mg.L⁻¹), Na₂SO₄ (3,47 g.L⁻¹), NaHCO₃ (0,17 g.L⁻¹), KBr (0,1 g.L⁻¹), SrCl₂·6H₂O (0,040 g.L⁻¹), H₃BO₃ (0,030 g.L⁻¹) em pH 8.

6.3.1.3 Biotransformação de adutos de Knoevenagel 2a-2k pelo o fungo *P. citrinum* CBMAI 1186

Após o crescimento os micélios do fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 foram recolhidos via filtração em funil Buchner. Em seguida foram adicionados 5 g (massa úmida) dos micélios e suspensos em 100 mL de solução tampão fosfato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH = 7, 0,1 mol.L⁻¹) em frasco Erlenmeyer (250 mL). Os adutos de Knoevenagel **2a-2k** foram previamente dissolvidos em dimetilsulfóxido (400 µL) e em seguida foram adicionados ao meio de cultura. A mistura foi mantida por 6 dias em um agitador orbital (32 °C, 130 rpm). As reações foram monitoradas usando CCD a cada 24 h. Os produtos presentes no meio de cultura foram isolados por extração com acetato de etila e após serem purificados foram caracterizados por análises espectroscópicas (RMN, IV) e espectrometria de massas (GC-EM) (Esquema 6.7).

Esquema 6.7. Reação de bio-hidrogenação de adutos de Knoevenagel **2a-2k** por *P. citrinum* CBMAI 1186.

Ar = C₆H₅ (**3a**), 4-FC₆H₄ (**3b**), 4-ClC₆H₄ (**3c**), 4-BrC₆H₄ (**3d**), 4-NO₂C₆H₄ (**3e**), 4-OHC₆H₄ (**3f**), 4-OMeC₆H₄ (**3g**), 4-OH,3-OMeC₆H₃ (**3h**), piridina (**3i**), tiofeno (**3j**), furfural (**3k**)

2-benzimalononitrila (**3a**)

C₁₀H₈N₂, 156,17 g.mol⁻¹; (97 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 167-169 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3030, 2914, 2256, 1494, 1452, 1074; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,34 (m, 5H), 3,28 (s, 2H); RMN de ¹³C (125 MHz, MeOD) δ (ppm) = 135,65, 130,42, 130,17, 129,90, 129,71, 129,26, 114,50, 36,96; EM (70 eV) m/z = 156 (M⁺, 13%), 91 (100%), 65 (88%),.

2-(4-flúor-benzil)malononitrila (**3b**)

C₁₀H₇N₂F, 174,16 g.mol⁻¹; (98 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 107-110 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 2937, 2854, 2256, 1600, 1512, 1222; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 7,47-7,37 (m, 2H), 7,25-7,14 (m, 2H), 3,39 (s, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 163,52, 161,57, 132,80, 132,76, 131,65, 131,58, 125,79, 125,76, 122,62, 122,50, 116,73, 116,55, 114,26, 114,24, 30,41, 30,39; EM (70 eV), m/z = 174 (M⁺, 9%), 109 (100%), 83 (15%).

2-(4-clorobenzil)malononitrila (3c)

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_2\text{Cl}$, 190,61 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); cristal branco, p.f. = 71-73 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 2921, 2854, 2256, 1492, 1382; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = δ 7,42-7,39 (m, 2H), 7,29 (d, J = 8 Hz, 2H), 3,92 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 3,28 (d, J = 6,8 Hz, 2H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 131,2, 130,5, 130,0, 129,7, 129,6, 111,8, 36,1, 22,6; EM (70 eV) m/z = 190 (M^+ , 12%), 127 (33%), 125 (100%), 89 (18%).

2-(4-bromobenzil)malononitrila (3d)

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_2\text{Br}$, 233,98 g.mol⁻¹; (95 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 165-166 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3348, 3224, 2974, 2200, 1712, 1363; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,56 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,22 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 3,93 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 3,26 (d, J = 6,8 Hz, 2H); RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 132,52, 131,75, 130,83, 130,02, 111,86, 36,10, 24,76; EM (70 eV) m/z = 235 (M^{2+} , 18%), 233 (M^+ , 18%), 171 (91%), 169 (100%), 90 (33%).

2-(4-nitro-benzil)malononitrila (3e)

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$, 201,17 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); sólido laranja, p.f. = 149-151 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3104, 2929, 2256, 1602, 1517, 1346; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8,30 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,55 (d, J = 8 Hz, 2H), 4,04 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 3,41 (d, J = 6,8 Hz, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 148,49, 139,75, 130,54, 124,65, 111,59, 36,25, 24,56; EM (70 eV) m/z = 201 (M^+ , 21%), 136 (100%), 106 (70%), 89 (41%), 78 (48%), 89 (36%),

2-(4-hidróxi-benzil)malononitrila (3f)

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$, 172,17 g.mol⁻¹; (12 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 173-176 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3414, 2920, 2530, 2270, 1608, 1516, 1259; RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ (ppm) = 7,19 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 6,81-6,78 (d, J = 8 Hz, 2H), 3,18 (s, 1H); RMN de ¹³C (125 MHz, MeOD) δ (ppm) = 158,54, 131,58, 131,21, 126,25, 116,59, 116,41, 114,62, 36,35; EM (70 eV) m/z = 172 (M^+ , ausente), 122 (90%), 121 (100%), 93 (47%), 65 (41%).

2-(4-metoxibenzil)malononitrila (3g)

$C_{11}H_{10}N_2O$, 186,20 g.mol⁻¹; (84 % de rendimento); sólido branco, p.f. = 80-81 °C; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 2933, 2918, 2837, 2256, 1610, 1508, 1249; RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ (ppm) = 7,30-7,28 (d, J = 8 Hz, 2H), 6,94-6,92 (d, J = 8 Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,23 (s, 2H); RMN de ¹³C (125 MHz, MeOD) δ (ppm) = 161,11, 131,60, 127,51, 115,25, 114,59, 55,73, 36,28; EM (70 eV) m/z = 186 (M^+ , 9%), 121 (100%), 77 (11%).

2-(4-hidróxi-3-metoxibenzil)malononitrila (3h)

$C_{11}H_{10}N_2O_2$, 202,20 g.mol⁻¹; (66 % de rendimento); óleo incolor; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 3394, 2229, 1585, 1564, 1514, 1280; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 6,89 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,81 (dd, J = 2,2, 0,4 Hz, 1H), 6,78 (ddt, J = 8,1, 2,2, 0,5 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,14 (s, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 147,66, 146,40, 126,88, 120,33, 115,79, 113,19, 111,43, 54,97, 35,14; EM (70 eV) m/z = 202 (M^+ , 19%), 137 (100%), 122 (17%), 94 (11%).

2-(piridin-3-ilmetil)malononitrila (3i)

$C_9H_5N_3$, 157,16 g.mol⁻¹; (85 % de rendimento); óleo vermelho; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 2264, 2931, 2272, 1712, 1394; RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,58 (dd, J = 2,3, 0,8 Hz, 1H), 8,53 (dd, J = 4,9, 1,6 Hz, 1H), 7,89 (dt, J = 7,9, 1,9 Hz, 1H), 7,46 (ddd, J = 7,9, 4,9, 0,9 Hz, 1H), 3,38 (s, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ (ppm) = 150,97, 150,95, 149,94, 139,30, 132,28, 125,43, 125,37, 114,18, 111,96, 33,88; EM (70 eV) m/z = 157 (M^+ , 26%), 92 (100%), 65 (27%).

2-(tiofen-2-ilmetil)malononitrila (3j)

$C_8H_6N_2S$, 162,19 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); óleo incolor; IV $\nu_{max}(cm^{-1})$ (puro) = 2954, 2924, 2882, 1735, 1465; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,31 (dd, J = 5,1, 1,1 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 7,02 (dd, J = 5,1, 3,5 Hz, 1H), 3,93 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 3,53 (d, J = 6,8 Hz, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 128,4, 127,7, 126,5, 114,0, 111,8, 25,5, 22,7; EM (70 eV) m/z = 162 (M^+ , 17%), 97 (100%), 45 (14%), 53 (11%).

2-(furan-2-ilmetil)malononitrila (3k)

 $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$, 146,13 g.mol⁻¹; (70 % de rendimento); óleo amarelo; IV
 $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3124, 3041, 2231, 1606, 1456, 1394; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,41 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 6,37 (dd, J = 4,8, 2,5 Hz, 1H), 4,02 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 3,36 (d, J = 7,1 Hz, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 146,2, 143,5, 111,8, 110,9, 109,9, 29,8, 22,6; EM (70 eV) m/z = 146 (M⁺, 12%), 81 (100%), 65 (12%), 53 (21%).

6.3.1.4 Isolamento dos produtos de biotransformação pelo fungo marinho *P. citrinum* CBMAI 1186

Após 6 dias de reação com o fungo a massa micelial foi filtrada e transferida para um frasco Erlenmeyer de 250 mL e mantida em agitação magnética por 30 min com adição de 50 mL de uma mistura de acetato de etila e água (1:1). Após este tempo foi novamente filtrada e extraída com AcOEt (3 × 50 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada em baixa pressão. O extrato obtido foi purificado por CC utilizando sílica gel *flash*. Os dados espectroscópicos e espectrométricos dos produtos de biotransformação foram confirmados por análises de RMN de ¹H e ¹³C e GC-EM os quais foram concordantes com os da literatura [28].

6.3.1.5 Preparação de 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida por radiação micro-ondas

Em um balão de 25 mL foram adicionados uma mistura de furfural (1,0 mmol), cianoacetamida (1,0 mmol), trietilamina (15 μ L) em solução saturada de NaCl (4 mL) e foram colocados em um reator de micro-ondas por 35 min a 85 °C com uma potência de 55 W. O progresso da reação foi monitorado por CCD. Finalizada a reação, esta foi filtrada, extraída com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na₂SO₄, filtrou e concentrou a vácuo até a total evaporação do solvente. O composto foi purificado por recristalização e caracterizado por análises espectroscópicas (RMN, IV) e espectrométrica (GC-EM) (Esquema 6.8).

Esquema 6.8. Reação de condensação de Knoevenagel do 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida **2k'** por MO.

(*E*)-2-ciano-3-(furan-2-il)acrilamida (**2k'**)

$\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$, 162,15 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); cristal castanho, p.f. = 118-120 °C; IV $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (puro) = 3011, 2945, 2224, 1605; RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ (ppm) = 8,00 (s, 1H), 7,90 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,74 (dd, J = 3,6, 1,8 Hz, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, MeOD) δ (ppm) = 163,79, 148,90, 148,06, 136,81, 120,87, 115,62, 113,31, 100,15; EM (70 eV) m/z = 162 (M^+ , 100%).

6.3.1.6 Biotransformação de 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida por fungos marinhos e terrestres

O processo de biotransformação do 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida **2k'** foi o mesmo aplicada para os adutos de Knoevenagel **2a-k** (Seção 6.3.1.3) usando os fungos de ambiente marinho: *P. citrinum* CBMAI 1186, *A. sydowii* CBMAI 935, *Trichoderma* sp. 932 e os fungos terrestres: *Aspergillus* sp. FPZSP 152 e *Aspergillus* sp. 146.

6.3.1.7 Síntese do padrão racêmico 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k**

A 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida **2k'** (50 mg) foi colocada em um balão de reação de 25 mL e foi dissolvido com 4 mL de metanol. Em seguida foi adicionado NaBH_4 (80 mg) a 0 °C. A reação foi monitorada por CCD. Finalizada a reação, esta foi filtrada, extraída com acetato de etila (3x10 mL). As fases orgânicas foram combinadas, adicionou Na_2SO_4 , filtrou e concentrou a vácuo até a total evaporação do solvente. O produto foi caracterizado por análises espectroscópica (RMN, IV) e espectrométricas GC-EM e HPLC (Esquema 6.9).

Esquema 6.9. Reação de hidrogenação do 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida **2k'** com NaBH₄. **(E)-2-ciano-3-(furan-2-il)acrilamida (**4k**)**

N#CC(=O)CCc1ccoc1 C₈H₈N₂O₂, 164,15 g.mol⁻¹; (99 % de rendimento); sólido castanho, p.f. = 129-131 °C; IV ν_{max} (cm⁻¹) (puro) = 3454, 3361, 3240, 2216, 1647, 1546, 1517, 1352, 1174; RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7,38-7,35 (m, 1H), 6,32 (dd, J = 3,1, 1,9 Hz, 1H), 6,25 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 3,70 (dd, J = 8,0, 5,4 Hz, 1H), 3,40-3,23 (m, 1H); RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 165,29, 149,13, 142,57, 117,32, 110,61, 108,47, 37,51, 28,41; EM (70 eV) m/z = 164 (M⁺, 15%), 120 (8%), 81 (100%), 65 (11%), 53 (18%).

6.3.2 Uso da fibroína da seda como aditivo e suporte na reação de condensação de Knoevenagel

6.3.2.1 Preparação da fibroína solúvel extraída a partir do casulo do bicho da seda

A fibroína foi extraída a partir de 3 g do casulo do bicho da seda o qual foi fornecido pelo sericultor Hélio Hatshugai (Bastos, SP). Transferiu-se os 3 g de casulo para uma solução previamente aquecida à temperatura de 100 °C contendo Na₂CO₃ 2% (500 mL) por 30 min em agitação magnética. Em seguida lavou com água destilada (3 x 1000 mL). Por fim, a fibra foi seca em estufa (70 °C) por 24 h. Posteriormente a fibroína foi desfiada e picotada em moinho de facas (SOLAB, modelo SL31 - Embrapa). A metodologia de preparação da fibra foi realizada em colaboração com o Prof. Dr. Sergio A. Yoshika e com o doutorando Irlon Maciel Ferreira [28].

6.3.2.2 Preparação de Fibroína-CuSO₄

A fibroína seca (1,00 g), CuSO₄ (40% w/w) e água deionizada (50 mL) foram transferidas para um balão de 250 mL. A mistura foi mantida em agitação constante e refluxo por 24 h. Após este período a fibra foi filtrada e lavada repetidamente com água destilada (50-55 °C). A fibra funcionalizada com CuSO₄ foi seca *overnight* em baixo vácuo a 50 °C obtendo uma fibra de cor azul forte (Fibroína-CuSO₄). O material foi caracterizado por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e difração de raios-X (DRX).

6.3.2.3 Preparação de Fibroína-Imidazol

A fibroína seca (1,00 g), imidazol (40% w/w) e água deionizada (50 mL) foram transferidas para um balão de 250 mL. A mistura foi mantida em agitação constante e refluxo por 24 h. Após este período a fibra foi filtrada e lavada repetidamente com água destilada (50-55 °C). A fibra funcionalizada com Imidazol foi seca *overnight* em baixo vácuo a 50 °C obtendo uma fibra de cor branco (Fibroína-Imidazol). A caracterização do material não foi realizada por MEV.

6.3.2.4 Preparação de Fibroína-SiO₂

A fibroína seca (1,00 g), SiO₂ (52 mg) e água deionizada (50 mL) foram transferidas para um balão de 250 mL. A mistura foi mantida em agitação constante e refluxo por 24 h. Após este período a fibra foi filtrada e lavada repetidamente com água destilada (50-55 °C). A fibra funcionalizada com SiO₂ foi seca *overnight* em baixo vácuo a 50 °C obtendo uma fibra de cor branca (Fibroína-SiO₂). A caracterização do material não foi realizada por MEV.

6.3.2.5 Procedimento geral para a condensação de Knoevenagel usando aditivos em condições de micro-ondas

Em um balão de reação de 25 mL adicionou uma mistura de aldeído (1,0 mmol), malononitrila (1,0 mmol) e o aditivo (40 % em relação ao aldeído) em metanol (3 mL). A mistura foi transferida para um reator de micro-ondas (20 W, 10 min, 60 °C). O progresso da reação foi monitorado por CCD. Após a reação ser finalizada o produto foi filtrado e lavado com acetato de etila (3 x 15 mL) para efetuar a extração. Em seguida foi adicionado Na₂SO₄ na fase orgânica e foi feita uma filtração. Posteriormente a fase orgânica foi concentrada e o produto sólido foi recristalizado em uma mistura hexano-

diclorometano (1:1). Este procedimento foi aplicado para todos os aditivos mencionados a seguir:

- (a) CuSO_4 e imidazol (40 mol % em relação ao aldeído);
- (b) Sílica (SiO_4), 52 mg/ 3 mL MeOH;
- (c) Fibroína e Fibras da Pina, 52 mg/ 3 mL MeOH;
- (d) Aditivos funcionalizados com CuSO_4 e imidazol, 52 mg/ 3 mL MeOH.

O Esquema 6.10 ilustra a reação química da reação de condensação de Knoevenagel por micro-ondas utilizando metanol como solvente na presença de aditivos.

Esquema 6.10. Equação química da reação de condensação de Knoevenagel.

6.3.3 Equipamentos

A descrição dos equipamentos por Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), por Espectroscopia de Infravermelho-Transformada de Fourier (IV-FTIR), por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), o reator de micro-ondas, bem como outros equipamentos e o software ChemDraw (Versão 11.0) foram descritos no **Capítulo 2** (Seção 2.3.2).

6.3.3.1 Agitador orbital rotativo termostaticado

O crescimento dos fungos e as reações de bio-hidrogenação foram realizadas em agitadores rotativos de marca Nov Analítica SI 600R. Tecnal TE-421 ou Superohn.

6.3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As fotomicrografias de MEV foram obtidas em um equipamento ZEISS LEO 440 (Cambridge, England) com detector OXFORD (model 7060), operando com feixe de elétrons de 15 kV, corrente de 2,82 A e I probe de 200 pA. As amostras foram recobertas com 6 nm de ouro em um metalizador Coating System BAL-TEC MED 020 (BAL-TEC, Liechtenstein) e mantidas em dessecador até o momento de análise. Condições de metalização: pressão na câmara = $2,00 \times 10^{-2}$ mbar; corrente = 60 mA; taxa de deposição 0,60 nm/s) na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI-IQSC).

6.3.3.3 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

As análises espectroscópicas de Energia Dispersiva (EDS) foram realizadas em um equipamento EDX LINK ANALYTICAL, (Isis System Series 300), com detector de SiLi Pentafet, janela ultrafina ATW II (Atmosphere Thin Window), de resolução de 133 eV à 5,9 keV e área de 10 mm² quadrado, acoplado a um Microscópio Eletrônico ZEISS LEO 440 (Cambridge, England). Utilizou-se padrão de Cobalto para calibração, feixe de elétrons de 20 kV, distância focal de 25 mm, tempo morto de 30 %, corrente de 2,82 A e I probe de 2,5 nA na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI-IQSC).

6.3.3.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada em um cromatógrafo Shimadzu modelo LC-10AD equipado com detector de UV (190-254 nm) e uma coluna quiral Chiralpak AD-H (0,46 cm x 25 cm) como fase estacionária. Uma mistura de hexano e etanol (60:40) foi utilizada como fase móvel, a razão de fluxo foi 0,5 mL.min⁻¹. O tempo total de análise foi de 15 min. O tempo de retenção do composto racêmico foi 7,5 e 8,5 min.

6.3.3.5 Outros equipamentos

Câmara de fluxo laminar de marca Veco. Autoclave vertical modelo Phoenix. Medidor de pH modelo 8010 de marca Qualxtron.

6.3.4 Reagentes

Benzaldeído (99 %), 4-bromobenzaldeído (99 %), 4-clorobenzaldeído (99 %), 4-flúor-benzaldeído (99 %), 4-hidróxibenzaldeído (99 %), 4-metoxibenzaldeído (99 %), 4-hidróxibenzaldeído (99 %), 4-nitrobenzaldeído (99 %), vanilina (99 %), furfural (99 %), tiofeno (99 %), borohidreto de sódio (99 %), malononitrila (99 %), cianoacetamida (99 %) trietilamina (95 %) e hidróxido de sódio (98 %); e solventes (hexano, acetato de etila, metanol, THF, DMF, DMSO, acetona, dioxano, etanol, DMSO-*d*₆, MeOD, CDCl₃) foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação (Aldrich, Fluka, Synth, Merck e Vertec). A fibroína foi doada por o Professor Dr. Sergio A. Yoshika e a Paina foi recolhida no campus 1 do IQSC-USP.

6.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.4.1 Reação de condensação de Knoevenagel usando aditivos

Neste estudo realizou-se a condensação de Knoevenagel na presença de aditivos, como a fibroína, CuSO_4 , imidazol e fibra de paina. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos aditivos na formação dos adutos de Knoevenagel e em especial frente a acidez e basicidade dos aditivos. Partindo-se do benzaldeído, malononitrila e respectivos aditivos em condições de micro-ondas usando metanol como solvente (Tabela 6.2).

Tabela 6.2. Aditivos usados na condensação de Knoevenagel para a síntese do composto **2a** em condições de micro-ondas.

Reação	Aditivos	Rendimento (%)
1	Sem aditivo	43
2	Fibroína	65
3	Fibroína com CuSO_4	74
4	CuSO_4	59
5	Imidazol	70
6	SiO_4	74
7	Paina	66
8	Fibroína com imidazol	71

Inicialmente foi realizada a reação de condensação de Knoevenagel sem o uso de aditivos apresentando um rendimento baixo (43%). Este fato levou-nos a propor alternativas para melhorar o rendimento da reação. A primeira proposta foi o emprego de materiais que apresentassem grupos funcionais com caráter básico ou neutro como a fibroína (sequência de aminoácidos Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala), o imidazol e a fibra de paina (α -celulose, hemicelulose e lignina). A função destes materiais e do imidazol foi favorecer a abstração do hidrogênio ácido (malononitrila), para a geração do carbânion que efetua o ataque nucleofílico sobre a carbonila e posterior formação da olefina (Figura 6.3).

Figura 6.3. Mecanismo para a condensação de Knoevenagel.

Cabe ressaltar que a abstração do hidrogênio ácido foi favorecida pela presença de grupos amino do imidazol (pK_a 6,95, pK_b 9,17) suficientemente básico para efetuar a abstração do hidrogênio ácido (pK_a 11). Dentre as bases usadas o melhor rendimento foi para o imidazol (pK_a 6,95), mas no processo de purificação foi bem mais dificultoso na recuperação do imidazol. Quando foi empregado fibroína observou-se que foi possível recuperar o aditivo. Assim foi decidido usar a fibroína como aditivo para a reação de condensação de Knoevenagel.

Posteriormente foram empregados ácidos de Lewis como a SiO_4 e CuSO_4 com o objetivo de ativar a carbonila do grupo aldeído e facilitar o ataque nucleofílico e a posterior formação do aduto de Knoevenagel (Figura 6.4).

Figura 6.4. Ativação do grupo carbonila por ácidos de Lewis.

Os resultados para SiO_4 (74 %) e CuSO_4 (59 %) foram satisfatórios em comparação sem o uso de ácido de Lewis (43 %). Contudo, durante a purificação do produto não foi possível recuperar os aditivos (SiO_4 e CuSO_4). Uma alternativa para solucionar esse problema foi a aderência dos aditivos (imidazol, SiO_4 e CuSO_4) na fibroína, a qual apresentou uma boa facilidade de recuperação e consequentemente reutilização material.

Primeiramente foi avaliada o uso da fibroína com imidazol na reação de condensação aldólica. Para este sistema não foi observado nenhuma melhoria significativa no rendimento da reação em comparação com o imidazol livre (Tabela 6.2). Além disso, a fibroína-imidazol mostrou complicações no processo de purificação do aduto de Knoevenagel, levando a concluir que este sistema de fibroína-imidazol não foi adequado.

Em seguida foi planejado realizar uma adsorção de SiO_4 em fibroína com objetivo de melhorar os rendimentos. Contudo foi observado que a SiO_4 não aderiu à fibra devido que no processo de filtração ficou retida no papel de filtro e, portanto, não foi possível obter o aditivo de fibroína- SiO_4 .

Por último empregou-se o CuSO_4 com fibroína e foi feita a reação de condensação de Knoevenagel. Observou-se um aumento no rendimento da reação de 74 % em comparação com fibroína pura (65 %) e CuSO_4 (59 %), quando foram utilizados separadamente. Portanto, constatou-se que o material polifuncionalizado de fibroína- CuSO_4 foi mais efetivo no rendimento do aduto de Knoevenagel **2a** (Tabela 6.2, reações 2-4).

Em seguida, avaliou-se o número de ciclos de reação no qual poderia ser utilizado este aditivo de fibroína- CuSO_4 na reação de Knoevenagel para a formação do aduto **2a**. No primeiro ciclo foi obtido um rendimento de 74 %, no segundo ciclo um rendimento de 54 %, para o terceiro ciclo o rendimento foi de 36 % e no quarto ciclo o rendimento da reação foi de 35 % (Figura 6.5). Através destes resultados observou-se um decréscimo no rendimento a cada ciclo de reação e a quantidade de cobre aderido na fibroína foi reduzida conforme análises por DRX.

Figura 6.5. Reutilização da fibroína com sulfato de cobre (Fibroína-CuSO₄) na reação de condensação de Knoevenagel entre malononitrila e benzaldeído por quatro ciclos.

Para comprovar o comportamento do decréscimo no rendimento da reação frente à perda de íon cobre do suporte foram usadas as técnicas de MEV e DRX. Primeiro foi realizado a análise de DRX com o objetivo de determinar a concentração de cobre impregnado na fibra de fibroína-CuSO₄, no primeiro ciclo e para o último ciclo da reação.

Na Figura 6.6 foram analisados os resultados por DRX para a fibroína no primeiro ciclo (Figura 6.6A). Pode ser observado os padrões de difração característico do cobre, que permitiu estimar uma concentração qualitativa de 36 % na fibra. Na Figura 6.6B observou-se quase uma total ausência dos sinais dos padrões de difração do cobre cuja concentração na fibra após do quarto ciclo foi de apenas 2 %. Portanto, por esta técnica confirmou-se a remoção do cobre suportado na fibroína durante o processo de reação do suporte fibroína-CuSO₄.

Figura 6.6. (A) Análises de DRX de fibroína com sulfato de cobre no primeiro ciclo. (B) fibroína com sulfato de cobre no quarto ciclo de reação.

Pela técnica de DRX pode-se confirmar que efetivamente ocorreu uma perda de cobre aderido à fibroína após quatro ciclos de reação comprometendo, assim o seu rendimento. Fato que pode ter ocorrido devido a temperatura e a agitação mecânica no transcurso dos ciclos de reação, bem como, a solubilidade do CuSO_4 no meio reacional (água).

Para confirmar o material fibroína- CuSO_4 também foi analisado por MEV no primeiro ciclo e no último ciclo. Na Figura 6.7A tem-se o MEV para a fibroína aderida com sulfato de cobre. É possível observar aglomerados de sólidos cristalinos que estão impregnados na fibroína que correspondem ao sulfato de cobre já confirmado por DRX. Também realizou-se o MEV para a fibra após do quarto ciclo de reação mostrado na Figura 6.7B.

Figura 6.7. (A) Análises de MEV da fibroína livre, (B) fibroína aderida com sulfato de cobre, (C) Fibroína-CuSO₄ no primeiro ciclo, (D) Fibroína-CuSO₄ no quarto ciclo de reação.

Notou-se claramente que pelas análises de MEV existe efetivamente uma diferença na morfologia e na parte superficial da fibra devido ao seu desgaste e ausência dos aglomerados cristalinos característicos do sulfato de cobre (Figura 6.7B). Isto possibilitou constatar que por efeitos térmicos e mecânicos a fibroína-CuSO₄ foi perdendo suas propriedades a cada ciclo de reação causando uma diminuição no rendimento da reação de condensação de Knoevenagel (Figuras 6.7A e 6.7B).

Ainda foi observado experimentalmente que durante o processo de formação da fibroína-CuSO₄ foi obtido um material de coloração azul intensa (Figura 6.8).

Figura 6.8. Foto do material de Fibroína-CuSO₄.

Fonte: autoria própria.

6.4.2 Bio-hidrogenação dos adutos Knoevenagel pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186

Inicialmente, selecionou-se o fungo *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 para iniciar os estudos de bio-hidrogenação, uma vez que dados anteriores desenvolvidos em nosso laboratório mostraram resultados promissores nas reações de biotransformação empregando este microrganismo [29-30].

Baseados nessas informações aperfeiçoou-se o uso deste fungo em novas reações de biotransformação. Portanto, selecionou-se uma classe de substâncias que ainda não foram estudadas em reações de bio-hidrogenação com fungo de ambiente marinho. Assim, optou-se em sintetizar derivados de benzilideno-malononitrila, compostos precursores para a síntese de núcleos tetrazólicos, via reação de condensação de Knoevenagel.

Inicialmente foi feita a condensação mediante o uso de reator de micro-ondas em metanol. Os rendimentos dos produtos estão na Tabela 6.3, cujos adutos foram identificados e caracterizados por RMN, IV, GC-EM.

Tabela 6.3. Sínteses de adutos de Knoevenagel aromáticos e hetero-aromáticos por radiação micro-ondas.

$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{H} + \text{NC-CH}_2\text{-CN} \xrightarrow[\text{20 W}]{\text{MeOH, 30 min, 60 }^\circ\text{C}} \text{R}-\text{CH}=\text{C}(\text{CN})_2 \\ \text{1a-k} \qquad \qquad \qquad \text{2a-k} \end{array} $			
Entrada	Aldeído (1)	Aduto de Knoevenagel ^a (2)	Rendimento (%) ^b
1	1a	2a	98
2	1b	2b	98
3	1c	2c	95
4	1d	2d	93
5	1e	2e	95
6	1f	2f	93
7	1g	2g	99
8	1h	2h	98
9	1i	2i	90
10	1j	2j	85

^a Condições de reação: benzaldeído (1 mmol), malononitrila (1 mmol), micro-ondas (20 W, 60 °C, 30 min). Os sólidos foram filtrados e lavados com água (3 x 5 mL) e recristalizados numa mistura de hexano e diclorometano (1:1). Os solventes foram removidos a baixa pressão e vácuo. ^b Rendimento isolado após a purificação.

Posteriormente, os compostos obtidos foram submetidos às reações de bio-hidrogenação com o fungo do ambiente marinho *P. citrinum* CBMAI 1186. Os resultados estão na Tabela 6.4.

Tabela 6.4. Bio-hidrogenação dos adutos de Knoevenagel por micélios do fungo *P. citrinum* CBMAI 1186.

<div style="text-align: center;"> <p>2a-k $\xrightarrow[6 \text{ dias, 130 rpm, } 32^\circ\text{C}]{P. citrinum \text{ CBMAI 1186}}$ 3a-k</p> </div>			
Entrada	Aduto de Knoevenagel (2)	Produto bio-hidrogenado (3)	Rendimento (%)
1	2a	3a	97
2	2b	3b	98
3	2c	3c	95
4	2d	3d	93
5	2f	3f	12
6	2g	3g	84
7	2h	3h	66

8	2i	3i	93
9	2j	3j	99

A reação de biotransformação do 2-benzilideno malononitrila **2a** pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 forneceu exclusivamente o produto 2-benzil malononitrila **3a** com rendimento de 97 % (Entrada 1, Tabela 6.4), resultante da ação da enzima enoato redutase (ER) na ligação dupla C=C ativada do substrato **2a**.

O mecanismo da redução catalítica catalisada por enoato-redutases tem sido elucidado, onde um íon hidreto, derivado de FADH₂, é estereosseletivamente transferido para o carbono- α , enquanto que um resíduo de tirosina transfere um próton, para o carbono- β a partir do lado oposto do íon hidreto que foi transferido para o carbono α (Figura 6.9). Como consequência a estereoquímica global deste mecanismo ocorre via adição *trans*-[H₂] [31].

Figura 6.9. Adição de íons hidreto por enoato redutase de *P. citrinum* CBMAI 1186.

6.4.3 Caracterização de adutos de Knoevenagel reduzidos pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186

A elucidação estrutural dos adutos de Knoevenagel reduzidos pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 após purificação, comprovou que ocorreu uma reação de bio-hidrogenação na ligação dupla α,β -insaturada em 6 dias, rendendo 97% do produto **2a**. Os produtos formados (**2a-2k**) são conhecidos como derivados de 2-benzilmalononitrila e apresentam como principal característica nos espectros de RMN de ^1H , um tripleto em 3,8 ppm e um dubleto em uma região próxima a 3,2 ppm com constante de acoplamento (J) de aproximadamente 7 Hz.

Baseados nos resultados obtidos para o composto **2a** avaliou-se a efetividade catalítica da enzima ER provenientes da ação do fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 na redução da ligação dupla $\text{C}=\text{C}$ nos diferentes adutos de Knoevenagel com substituintes eletroatratores e eletrodoadores.

A biorredução dos adutos de Knoevenagel contendo substituintes eletroatratores, tais como, o 2-(4-flúor-benzilideno) malononitrila **2b**, 2-(4-clorobenzilideno) malononitrila **2c** e 2-(4-bromobenzilideno) malononitrila **2d** gerou os correspondentes produtos de bio-hidrogenação, com excelentes rendimentos (98, 95, e 93%), respectivamente. As reações foram realizadas durante 6 dias após a inoculação do fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 (Entradas 2-4, Tabela 4).

Destaca-se que independente da eletronegatividade do átomo de halogênio foram obtidos excelentes rendimentos fato explicado ao efeito eletrônico dos halogênios que abstraem densidade de carga permitindo assim que a posição benzílica fique mais eletrofílica e facilite a entrada do nucleófilo (Figura 6.10).

Figura 6.10. Efeito eletrônico (indutivo e ressonância) causado pelos grupos eletroatratores.

O fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 também foi empregado para a biorredução dos adutos de Knoevenagel contendo substituintes eletrodoadores, tais como, 2-(4-hidroxibenzilideno) malononitrila **2f**, 2-(4-metoxibenzilideno) malononitrila **2g** e 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno) malononitrila **2h**. Observou-se que os rendimentos das reações de bio-hidrogenação foram muito baixos em comparação com os compostos com grupos eletrorretiradores.

Para a bio-hidrogenação do composto **2f** o produto **3f** forneceu um rendimento de 12 % (entrada 5, Tabela 6.4). A reação do **2h** forneceu o produto **3h** com um rendimento moderado de 66 % (entrada 6, Tabela 6.4) e para o composto **2g** foi obtido o produto **3g** com um rendimento de 84 %.

O baixo valor no rendimento das reações nos produtos **3f-3h** foram devido a efeitos eletrônicos causados pela presença dos grupos eletrodoadores de elétrons no anel aromático (OH, OMe). Estes grupos fornecem densidade de carga permitindo assim que a posição benzílica fique menos eletrofílica e com isto dificulte a entrada do íon hidreto no carbono benzílico do substrato (Figura 6.11).

Figura 6.11. Efeito eletrônico para grupos eletrodoadores.

Cabe ressaltar que o composto **2f** tem um grupo OH que é um forte doador de densidade eletrônica e, portanto, tornando a posição benzílica bem menos eletrofílica em comparação com o grupo OMe que é um doador de densidade eletrônica mais moderado em relação ao grupo hidroxila. Com isto foi possível constatar a diferença no valor de rendimento para o composto **3f** (12 %), **3h** (66 %) e **3g** (84 %).

O composto 2-(4-nitrobenzilideno) malononitrila **2e** apresentou resultados diferentes em comparação com produtos analisados anteriormente. Para o composto **2e** foi observado a formação de vários produtos de reação, como o 2-(4-nitrobenzil) malononitrila **3e** com 22 % de rendimento, (4-nitrofenil) metanol **4** com rendimento de 60 %, 2-(4-aminobenzil) malononitrila com 2 % de rendimento **5** e (4-aminofenil) metanol com 12 % de rendimento **6** (Figura 6.12).

Figura 6.12. Biotransformação do aduto **2e** pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186.

O composto **2e** tem um grupo nitro que apresenta propriedades eletroatratoras significativas assim, como os compostos **2b**, **2c** e **2d** que também tem grupos eletroatratores que favorecem a reação de bio-hidrogenação. Contudo, o composto **2e** tem o grupo NO₂ que possui um caráter fortemente eletroatrator de densidade de carga em relação aos substituintes halogênicos, fazendo com que a posição benzílica fique ainda mais eletrofílica favorecendo o ataque de uma molécula de água e formando um intermediário hidroxilado (Figura 6.13). Após isso, ocorre um rearranjo eletrônico fornecendo os produtos de reação retro-Knoevenagel, o *p*-nitrobenzaldeído e malononitrila.

Figura 6.13. Mecanismo para a reação de retro-Knoevenagel para o composto **2e**.

Assim, como foi observada a ação da enoato-redutase que promoveu a formação do produto **3e** e também observou-se a redução do grupo $-\text{NO}_2$ para $-\text{NH}_2$, sugerindo que foi reduzido pela ação de uma nitro-redutase.

A atividade de duas enzimas em um único substrato não é comum em reações por biotransformação. Foi observado uma conversão quantitativa da biotransformação, como a 2-(4-nitrobenzil) malononitrila **3e** que forneceu 22 % de conversão, (4-nitrofenil) metanol **4** com conversão de 60 %, 2-(4-aminobenzil) malononitrila **5** com conversão de 2 % e o (4-aminofenil) metanol com 12 % de conversão **6** (Figura 6.14). Os produtos de biotransformação majoritários foram isolados e analisados por técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C e espectrometria de massas (CG-EM).

Figura 6.14. Biotransformação do 2-(4-nitrobenzilideno) malononitrila **2e** pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186. Cromatograma obtido por GC-EM da reação de biotransformação após 6 dias; (a) Espectro de massas do composto **4** (IE 70 eV) obtido na Biblioteca NIST 5.0; (b) Espectro de massas do composto **6** (IE, 70 eV) obtido na Biblioteca NIST 5.0; (c) Espectro de massas do composto **3e** (IE, 70 eV) obtido na Biblioteca NIST 5.0.

Por último, como observado no Figura 6.12, a biotransformação do composto **2e** levou a formação dos álcoois benzílicos **4** e **6** pela ação ceto-redutases, que catalisam a redução de grupos carbonílicos. Comumente essas enzimas promovem a redução de aldeídos a álcoois primários e de cetonas a álcoois secundários.

Para comprovar a ação das ceto-redutase foi adicionado o *p*-nitrobenzaldeído **1e** o qual foi reduzido pelo o fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 para fornecer o (4-nitrofenil) metanol **4** e posteriormente, no mesmo meio de reação, o composto **4** foi biotransformado no (4-aminofenil)metanol **6** pela enzima nitro-redutase. Devido ao uso de células totais o composto **1e** foi biotransformado pela ação de várias enzimas (Esquema 6.11 e Figura 6.15). O composto **4** foi confirmado com o padrão comercial. Ainda, para os compostos **4** e **6** seus espectros de massas foram comparados com a biblioteca NIST 5.0 os quais apresentaram 90-95 % de similaridade respectivamente.

Esquema 6.11. Biotransformação do composto **1e** pelas enzimas ceto-redutase e a nitro-redutase.

Figura 6.15. Cromatograma obtido por CG-EM da reação de biotransformação do 4-nitrobenzaldeído **1e** pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186.

Com o objetivo de investigar as potencialidades e limitações dessa metodologia de bio-hidrogenação realizou-se a biorredução de derivados de malononitrila heteroaromáticas: 2-(piridin-3-ilmetileno) malononitrila **2i**, 2-(tiofen-2-ilmetileno) malononitrila **2j** e 2-(furan-2-ilmetileno) malononitrila **2k**.

Como observado na Tabela 6.4 o fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 promoveu a bio-hidrogenação da ligação dupla do aduto de Knoevenagel com 93 % de rendimento para o 2-(piridina-3-ilmetil) malononitrila **3j** (Entrada 8, Tabela 6.4). Como também foi observado uma ótima biotransformação do 2-(tiofen-2-ilmetil) malononitrila **3j** fornecendo um rendimento de 99% (entrada 9, Tabela 6.4).

Um resultado interessante foi observado na bio-hidrogenação do 2-(furan-2-ilmetileno) malononitrila **2k** devido à formação de dois produtos, a 2-(furan-2-ilmetil) malononitrila **3k** e a 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k** (Esquema 6.12).

Esquema 6.12. Biotransformação do aduto **2k** pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186.

Inicialmente foi observada a formação do 2-(furan-2-ilmetil) malononitrila **3k**, produto obtido pela ação da enzima enoato redutase fornecendo um rendimento 70 %. Também observou-se a obtenção da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k**, composto gerado pela ação da enzima nitrila hidratase presente no fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 fornecendo um rendimento de 30 % (Esquema 6.13). Os compostos **3k** e **4k** foram isolados, analisados e identificados por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C e espectrometria de massas (GC-EM).

Esquema 6.13. Biotransformação do composto **2k** pelas enzimas enoato redutase e nitrila hidratase do fungo *P. citrinum* CBMAI 1186.

Ainda foi realizado um estudo da reação de biotransformação da 2-(furan-2-ilmetileno) malononitrila **2k** pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 com o objetivo de determinar o tempo de ação das enzimas no substrato **2k** para a posterior formação dos produtos **3k** e **4k**.

A reação foi monitorada a cada 24 h, retirando-se alíquotas de 1 mL de amostra, extraíndo com acetato de etila e analisando por GC-EM. Foi observado que o produto de bio-hidrogenação **3k** foi obtido majoritariamente no período de 24 h de reação (rend = 99 %). À medida que o tempo de reação aumentou o composto **3k** em incubação na célula do fungo foi biotransformado no produto **4k** a partir de 96 h até 240 h de reação (Figura 6.16). Os compostos foram isolados e caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C .

Figura 6.16. Biotransformação do aduto **2k** para os compostos **3k** e **4k** pelo o fungo *P. citrinum* CBMAI 1186.

Inicialmente foi caracterizado o composto 2-(furan-2-ilmetileno) malononitrila **2k** por RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) apresentando os seguintes sinais: δ 7,79-7,78 ppm (dt, $J = 1,8, 0,5$ Hz, 1H vinílico), 7,50-7,49 ppm (d, $J = 0,5$ Hz, 1H aromático), 7,35-7,34 ppm (d, $J = 4$ Hz, 1H aromático), 6,70-6,69 ppm (ddd, $J = 4, 1,7, 0,4$ Hz, 1H aromático).

Posteriormente foi analisado o espectro de RMN de ^1H do composto 2-(furan-2-ilmetil) malononitrila **3k** observando os seguintes sinais: δ 7,43-7,42 ppm (d, $J = 0,9$ Hz, 1H aromático), 6,43-6,77 ppm (m, 2H aromático), 4,02 ppm (t, $J = 7,1$ Hz, 2H metilênico), 3,36 ppm (d, $J = 7,1$ Hz, 1H metínico).

Através destas análises dois fatores importantes foram observados: a primeira foi a ausência do sinal do hidrogênio vinílico em 7,79 ppm em **2k** e observou-se um sinal em 4,02 ppm (t, $J = 7,1$ Hz, 1H) correspondente a um tripleto para o hidrogênio metínico ligado adjacentemente aos dois grupos ciano e outro sinal em 3,36 ppm (d, $J = 7,1$ Hz, 2H) correspondente a um dubleto para os hidrogênios metilênicos que se encontraram adjacentes ao anel furânico. Portanto, as análises confirmaram a bio-hidrogenação do composto 2-(furan-2-ilmetil) malononitrila **3k** (Figura 6.17).

Figura 6.17. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-(furan-2-ilmetil) malononitrila **3k**.

Foi também realizada a análise do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para o composto 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k**. Foi observado um sinal em 3,70 ppm (dd, $J = 8,0$ e $5,4$ Hz, 1H) que correspondeu a um duplo dubleto para o hidrogênio metínico ligado adjacente ao centro estereogênico; também observou-se um deslocamento do sinal para campo mais alto, isto foi devido ao efeito do grupo amida menos “blindante” em comparação com o produto **3k** (4,02 ppm, onde tem a presença de dois grupos ciano).

Também foi observado na região de 3,39-3,33 (dd, $J = 8,0$ e $5,4$ Hz, 1H) e em 3,30-3,25 ppm (dd, $J = 8,0$ e $5,4$ Hz, 1H) para dois duplos-dubletos próprios de hidrogênios metilênicos ligados adjacente ao anel furânico. Nas análises do espectro de RMN de ^{13}C , observou-se 3 sinais importantes em: 165,7 ppm característico de carbono do grupo amida, um sinal em 37,5 ppm de carbono CH_2 e um sinal em 28,4 ppm do carbono CH estereogênico. Portanto, pelas análises de RMN confirmou a obtenção dos compostos 2-(furan-2-ilmetil) malononitrila **3k** e 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k** (Figura 6.18).

Figura 6.18. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k**.

6.4.4 Bio-hidrogenação do 2-ciano-3-(furan-2-il)acrilamida **2k'** pelo fungo *P. citrinum* CBMAI 1186

Devido aos resultados interessantes apresentados na Seção 6.4.3 onde se observou um sistema fúngico multi-enzimático, bem como, a possibilidade da biotransformação fornecer um produto enantiomericamente puro foi feita uma proposta para desenvolver a síntese direta da 2-ciano-3-(aril-2-il)acrilamida **2k'** e depois aplicar o fungo marinho *P. citrinum* CBMAI 1186 para realizar a bio-hidrogenação estereosseletiva (Esquema 6.15).

Esquema 6.14. Síntese e bio-hidrogenação do 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida **2k'** para a obtenção da α -ciano-acetamida **4k**.

Empregando a metodologia sintética descrita no **Capítulo 2** (Seção 3) foi obtido a 2-ciano-3-(aril-2-il) acrilamida **2k'**. Em seguida foram utilizados vários fungos para fazer um *screening* da reação de bio-hidrogenação para determinar quais microrganismos poderiam fornecer melhores valores de excessos enantioméricos na obtenção do composto **4k**.

A biorredução foi bem-sucedida fornecendo o produto de bio-hidrogenação com rendimentos entre 86-98 % (Tabela 6.5). O produto **4k** foi identificado por espectrometria de massas e com o padrão sintetizado. Análises por HPLC quiral foram utilizadas para obter os valores dos excessos enantioméricos.

Tabela 6.5. Bio-hidrogenação de 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida **2k'** por fungos marinhos e terrestres.

Fungo	Rendimento (%)
<i>P. citrinum</i> CBMAI 1186	98
<i>A. sydowii</i> CBMAI 935	92
<i>Aspergillus</i> sp. FPZSP 152	86
<i>Aspergillus</i> sp. FPZSP 146	90
<i>Trichoderma</i> sp. 932	94

Pelas análises de espectrometria de massas foi confirmado a obtenção do produto hidrogenado **4k** em todos os casos e também o resultado foi comparado com o padrão racêmico.

Pelas análises dos cromatogramas por HPLC quiral foi observado uma banda de absorção que foi correspondente ao produto **4k** (Figura 6.19).

Figura 6.19. Cromatogramas obtidos por HPLC quiral do produto **4k** obtido da bio-hidrogenação de 2-ciano-3-(furan-2-il) acrilamida **2k'** por fungos marinhos e terrestres.

Condições do cromatograma: CHIRALPAK AD-H coluna quiral (0,46 × 25 cm), fase móvel: hexano/etanol (60:40), fluxo: 0,5 mL min⁻¹, λ=215 nm).

Assim, foi realizada a síntese do padrão racêmico do 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k** com a finalidade de determinar o excesso enantiomérico das reações obtidas pelos fungos. Mas, durante a análise do próprio padrão racêmico por HPLC quiral foi observado um fenômeno muito interessante, que ocorreu devido à perda na separação dos enantiômeros para o padrão racêmico **4k** (Figura 6.20).

Inicialmente ($t = 0$ min) foi observado dois sinais com tempos de retenção de 7,5 e 8,5 minutos (Figura 6.20). Após 30 minutos observou-se a perda de resolução dos sinais dos respectivos enantiômeros de **4k**. Ao término de 90 minutos, obteve-se uma banda com tempo de retenção entre 7,5-8,5 minutos.

Este tipo de comportamento pode ser atribuído a um tautomerismo, especificamente a tautomeria ketenimina. A tautomeria ketenimina ocorre entre grupos nitrilas e sua forma ketenimina prototrópica (Figura 6.21) [30].

Figura 6.20. Cromatogramas obtidos por HPLC quiral do produto racêmico 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k** em diferentes tempos de análises (15, 30, 45, 60, 75 e 90 minutos).

Condições dos cromatogramas: CHIRALPAK AD-H coluna quiral ($0,46 \times 25$ cm), fase móvel: hexano/etanol (60:40), fluxo: $0,5 \text{ mL min}^{-1}$, $\lambda=215 \text{ nm}$.

Figura 6.21. Representação de tautomeria ketenimina de **4k** em metanol.

Este tipo de tautomeria é favorecida quando o grupo nitrila possui um ou mais hidrogênios acídicos na posição alfa-carbono. A tautomeria ketenimina foi descrita por Kasturi *et al.* [32] onde desenvolveram um estudo na presença de solventes polares como água e metanol por UV-vis mostrando a presença de duas bandas em 240 nm (malononitrila) e 355 nm (Efeito hiperacrômico) atribuído à presença da ketenimina.

Mas, quando foram realizadas as análises com solventes apolares (hexano) não foi possível observar banda de absorção no UV-vis em 355 nm. Assim, concluiu-se este tipo de tautomeria ketenimina é favorecida na presença de solventes polares próticos como o MeOH, EtOH, H₂O, entre outros. Mas, na presença de solventes apolares a tautomeria não é favorecida.

A tautomeria ketenimina também foi estudada por Cisneros *et al.* [33] onde empregaram o 2-ciano-3-metil-2-pentenodiato de dietila e 4,4-diciano-3-metil-3-butenato de etila. Os estudos da tautomeria foram realizados por espectrometria de massas que permitiu confirmar a presença do tautômero.

Essa tautomeria ketenimina foi importante para nosso estudo devido estar relacionada ao centro estereogênico, com isso modificando a configuração do carbono sp³ tetraédrico para sp² trigonal planar. O principal problema foi a formação de uma ligação dupla, perdendo temporariamente o centro esterogênico. Mas, assim que foi removido o solvente polar prótico foi restabelecido o composto quiral 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k**, porém na forma racêmica. Assim o fenômeno da tautomeria ketenimina gerou uma mistura racêmica do produto de bio-hidrogenação proveniente do fungo *P. citrinum* CBMAI 1186. Fianlmente, a tautomeria ketenimina foi favorecida em função da presença de um hidrogênio α -acídico lábil.

Este fenômeno foi observado também pelas análises de RMN de ¹H e ¹³C. Quando as análises foram realizadas em CDCl₃ (solvente aprótico), o composto 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k** apresentou um sinal em 3,70 ppm (dd, *J* = 8,0 e 5,4 Hz, 1H) correspondente a um duplo dubleto do hidrogênio acídico ligado ao centro esterogênico. Outros sinais importantes foram observados na região de 3,39-3,33 (dd, *J* = 8,0 e 5,4 Hz, 1H) e em 3,30-3,25 ppm (dd, *J* = 8,0 e 5,4 Hz, 1H) para dois duplos-dubletos característico dos hidrogênios (CH₂) ligados adjacente ao anel furânico.

Na análise de RMN de ^{13}C foi observado um sinal em 165,7 ppm característico para carbono do grupo amida, em 37,5 ppm para carbono metínico (C-H) correspondente ao carbono do centro estereogênico e um sinal em 28,4 ppm correspondente ao grupo CH_2 .

Contudo, quando o composto de hidrogenação foi analisado em MeOD (solvente polar) não foi possível observar o sinal em 3,70 ppm característico do hidrogênio ligado ao centro estereogênico. Só foi observado o sinal em 3,36 ppm (s, 2H) um singlete para os dois hidrogênios (CH_2) ligados adjacientemente ao anel furânico.

Na análise de RMN de ^{13}C foram observados o sinal em 165,7 ppm do carbono do grupo amida e o sinal em 28,3 do carbono (CH_2). O sinal correspondente ao carbono do centro estereogênico em 37,5 ppm não foi observado no espectro de RMN de ^{13}C . Com isto pode-se concluir que o uso de solventes polares, como, metanol favoreceu a tautomeria ketenimina devido à ausência dos sinais do centro estereogênico. Mas, quando foi usado um solvente aprótico deuterado CDCl_3 os sinais do centro estereogênico foram observadas nas análises de RMN de ^1H e ^{13}C (Figuras 6.22-6.25).

Figura 6.22. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k**.

Figura 6.23. RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida **4k**.

Figura 6.24. RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida (**4k**).

Figura 6.25. RMN de ^{13}C (126 MHz, MeOD) da 2-ciano-3-(furan-2-il) propanamida (**4k**).

6.5 CONCLUSÃO

Os adutos de Knoevenagel **2a-2k** sintetizados por micro-ondas foram bio-hidrogenados pelo fungo marinho *P. citrinum* CBMAI 1186 apresentando rendimentos de 12-99 % (**3a-3k**). A explicação dos baixos rendimentos foi atribuída a efeitos eletrônicos dos grupos eletrodoadores que desativaram a ligação dupla da olefina, deixando está menos eletrofílica e impedindo a bio-hidrogenação. Para os produtos com grupos eletrorretiradores e heteroátomos foram observados rendimentos elevados de até 99 %. Foi também observado no meio reacional com o do fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 a presença de várias enzimas: enoato redutase, nitro redutase, ceto redutase e nitrila hidratase.

Observou-se que o emprego de aditivos ácidos e básicos na reação de condensação de Knoevenagel influenciou de maneira notória no decréscimo do tempo de reação. Foram testados aditivos: SiO₄, CuSO₄, imidazol, fibroína, fibra da paina e fibroína-CuSO₄. Este último um aditivo polifuncionalizado possuindo um ácido de Lewis CuSO₄ e uma base como a fibroína que forneceu um rendimento de 74 % após 10 min de reação.

Observou-se o efeito da tautomeria ketenimina para o aduto **4k** que foi uma etapa importante no estudo devido a favorecer a modificação do centro estereogênico de uma configuração do carbono sp³ para sp², com isto perdendo temporalmente o centro estereogênico e favorecendo a formação de misturas racêmicas em presença de solventes próticos efeito observado por HPLC quiral.

6.6 REFERÊNCIAS

- [1] GRUNWALD, P. **Biocatalysis-biochemical fundamentals and applications**. London: Imperial College, 2009. 1052 p.
- [2] FABER, K. **Biotransformations in organic synthesis**. 5. ed. Berlin; Springer-Verlag, 2004. 454 p.
- [3] SEMPLE, K.T.; CAIN, R. B. Biodegradation of phenols by the alga *Ochromonas danica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 4, p. 1265-1273, 1996.
- [4] KE, T.; KLIBNOV, A. M. Markedly. Enhancing enzymatic enantioselectivity in organic solvents by forming substrate salts. **Journal of the American Chemical Society**, v. 121, p. 3334-3340, 1999.
- [5] NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 4. ed. New York: W. H. Freeman, 2004. 1100 p.
- [6] ILLANES, A. **Enzyme biocatalysis-principles and applications**. Berlin: Springer (Ed), 2008. 392 p.
- [7] KULA, M. R. **Cofactors and coenzymes. Enzyme catalysis in organic synthesis**. Weinheim: Wiley, 2002. 290 p.
- [8] INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY (IUBMB). **Enzyme Nomenclature**. London, 1992. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme>>. Acesso em: 1 de out. 2017.
- [9] HASSAN, F.; SHAH, A.; HAMMED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p. 235-251, 2006.
- [10] GONZALES. S. J.; GOTOR, V.; REBOLLEDO, F. CAL-B-catalyzed resolution of some pharmacologically interesting β -substituted isopropylamines. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 13, p. 1316-1320, 2002.
- [11] SCHMIDT, D.M. The C-terminus of the succinate dehydrogenase IP peptide of *Saccharomyces cerevisiae* is significant for assembly of complex II. **Biochemistry**, v. 31, p. 8442-8448, 1992.

- [12] GLÖCKNER, F. O.; JOINT, I. Marine microbial genomics in Europe: Current status and perspectives. **Microbial Biotechnology**, v. 3, p. 523-530, 2010.
- [13] PUPO, M. T.; GUIMARÃES, D. O.; FURTADO, A. J. C.; BORGES, W. S. Microbial natural products: A promising source of bioactive compounds. **Modern Biotechnology in Medicinal Chemistry and Industry**, v. 1, p. 51-78, 2006.
- [14] FERREIRA, I.M.; MEIRA, E.B.; ROSSET, I.G.; PORTO, A.L.M. Chemoselective biohydrogenation of α,β - and $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -unsaturated ketones by the marine-derived fungus *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 in a biphasic system. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 115, p. 59-65, 2015.
- [15] FERREIRA, I.M.; DE VASCONCELLOS, S.P.; DA CRUZ, J.B.; COMASSETO, J.V.; PORTO, A.L.M.; ROCHA, L.C. Hydrogenation of bis- α,β -unsaturated enones mediated by filamentous fungi. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, p. 144-149, 2015.
- [16] REDDY, N. A review on completely biodegradable composites developed using soy-based matrices. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, v. 34, p. 1457-1475, 2015.
- [17] REDDY, N.; REDDY, R.; JIANG, Q. Crosslinking biopolymers for biomedical applications. **Trends in Biotechnology**, v. 33, p. 262-369, 2015.
- [18] YE, P; XU, Z. K.; WU, J. INNOCENT, C.; SETA, P. Nanofibrous poly(acrylonitrile-co-maleic acid) membranes functionalized with gelatin and chitosan for lipase immobilization. **Biomaterials**, v. 27, p. 4169-4176, 2006.
- [19] LIU, S.; ZHANG, D. X.; LIU, L.; WANG, M.; DU, G. C.; CHEN, J. Enhanced water absorption of wheat gluten by hydrothermal treatment followed by microbial transglutaminase reaction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 658-663, 2010.
- [20] ALJAWISH, A.; CHEVALOT, I.; JASNIEWSKI, J.; SCHER, J.; MUNIGLIA, L. Enzymatic synthesis of chitosan derivatives and their potential applications. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v. 112, p. 25-39, 2015.

- [21] KOH, L.; CHENG, Y.; TENG, C. P.; KHIN, Y.; LOH, X. J.; TEE, S.; LOW, M.; YE, E. Y.; YU, H. D.; ZHANG, Y. W.; HAN, M. Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials. **Progress in Polymer Science**, v. 46, p. 86-110, 2015.
- [22] KUZUHARA, A.; ASAKURA, T.; TOMODA, R.; MATSUNAGA, T. Use of silk fibroin for enzyme membrane. **Journal of Biotechnology**, v. 5, p. 199-207, 1987.
- [23] BATTISTI, M.; CAMPANA, S. P. Preparation and characterization of alpha-chitin and chitosan from the shells of *Macrobrachium rosenbergii*. **Quimica nova**, v. 31, p. 204-209, 2008.
- [24] BIRO, E.; NEMETH, A. S.; SISAK, C.; FECZKO, T.; GYNEIS, J. Preparation of chitosan particules suitable for enzyme immobilization. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, p. 124-126, 2008.
- [25] ROCHA, L.; DE SOUZA, A. L.; RODRIGUES, U. P.; CAMPANA, S. P.; SETTE, L. D.; PORTO, A.L.M. Immobilization of marine fungi on silica gel, silica xerogel and chitosan for biocatalytic reduction of ketones. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v. 84, p. 160-165, 2012.
- [26] ROCHA, L. C.; FERREIRA, H. V.; PIMENTA, E. F.; BERLINCK, R. G. S.; SELEGHIM, M. H. R.; JAVAROTI, D. C. D.; SETTE, L. D.; BONUGLI, R. C.; PORTO, A. L. M. Bioreduction of α -chloroacetophenone by whole cells of marine fungi. **Biotechnology Letters**, v. 31, p. 1559-1563, 2009.
- [27] UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria (CBMAI)**. Campinas, 2005. Disponível em: <http://webdrm.cpqba.unicamp.br/cbmai/>>. Acesso em 15 de agosto de 2017.
- [28] FERREIRA, Irlon Maciel. **Imobilização do fungo *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 e lipase de *Pseudomonas fluorescens* em biopolímeros para aplicações em biocatálise**. 2016. 369 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2016.

- CHE, J.; LAM, Y. Polymer-supported hantzsch 1,4-dihydropyridine ester: An efficient biomimetic hydrogen source for the reduction of ketimines and electron-withdrawing group conjugated olefins. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 352, p. 1752-1758, 2010.
- [29] FERREIRA, I. M.; MEIRA, E. B.; ROSSET, I. G; PORTO, A. L. M. Chemoselective biohydrogenation of α,β - and $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -unsaturated ketones by the marine-derived fungus *Penicillium citrinum* CBMAI 1186 in a biphasic system. **Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic**, v. 115, p. 59-65, 2015.
- [30] FERREIRA, I. M.; DE VASCONCELLOS, S. P.; DA CRUZ, J. B.; COMASSETO, J. V.; PORTO, A. L. M.; ROCHA, L. Hydrogenation of bis- α,β -unsaturated enones mediated by filamentous fungi. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, p. 144-149, 2015.
- [31] TOOGOOD, H.; FRYSZKOWSKA, A.; HARE, V.; FISHER, K.; ROUJEINIKOVA, A.; LEYS, D.; GARDINER, J.; STEPHENS, G.; SCRUTTON. N. Structure-based insight into the asymmetric bioreduction of the C double bond; length as m-dash C double bond of alpha, beta-unsaturated nitroalkenes by pentaerythritol tetranitrate reductase. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 350, p. 2789–2803, 2008.
- [32] KASTURI, T. R.; SHARMA, V. K.; SRINIVASAN, A. Nitrile-ketenimine tautomerism in substituted alkylidene malononitriles and alkylidene cyanoacetates: A characteristic UV absorption band. **Tetrahedron**, v. 29, p. 4103-4109, 1973.
- [33] CISNEROS, H. S.; LAURELLA, S.; RUIZ, D. L.; PONZINIBBIO, A.; ALLEGRETTI, P. E.; FURLONG, J. P. Spectrometric study of the nitrile-ketenimine tautomerism. **International Journal of Spectroscopy**, v. 1, p. 1-18, 2009.

CAPÍTULO 7

CONCLUSÃO FINAL

Conclusão geral

Neste trabalho pode-se observar o desenvolvimento de uma metodologia sintética eficiente para a reação de Knoevenagel empregando a radiação de micro-ondas, com altos rendimentos aplicando protocolos de Química Verde o que faz desta metodologia interessante para aplicações em química fina.

Foi determinado que a radiação de micro-ondas aumentou a velocidade de reação de condensação de Knoevenagel reduzindo o tempo de 4 horas (AC) para 30 min (MO) fornecendo rendimentos >90 % para os adutos de Knoevenagel.

Também, avaliou-se o emprego de aditivos básicos para a síntese de compostos de Knoevenagel com cianoacetamida e foi observado que as bases NaOH e trietilamina favorecem o incremento do rendimento de até 99 %. Inclusive possibilitando a obtenção preferencial do diastereoisômero *E*.

Foram sintetizados compostos tetrazólicos *one-pot* via MO com o uso de aldeídos aromáticos, malononitrila e azida de sódio aplicando a radiação de micro-ondas que forneceu produtos em altos rendimentos no intervalo de 2 horas em relação ao aquecimento convencional de 24 h.

Este protocolo sintético forneceu também a obtenção de compostos tetrazólicos com configuração *E*. Por meio de estudos do uso de aditivos ácido-base foi determinado que o melhor sistema foi CuSO₄-(Et)₃N para a síntese de compostos tetrazólicos com rendimentos de 90-98 % em 2 horas de reação por MO. Também foi realizado uma série de compostos tetrazólicos *one-pot* com o uso de aldeídos aromáticos, cianoacetamida e azida de sódio aplicando a radiação de micro-ondas em de 2 horas fornecendo rendimentos de 87-97 %. Este protocolo sintético forneceu também a obtenção de compostos tetrazólicos com configuração *E*.

Além disso foi desenvolvida a reação de acoplamento de Knoevenagel-Suzuki-Miyaura e tetrazol-Suzuki-Miyaura aplicando a radiação micro-ondas em tempos de 30 min fornecendo rendimentos elevados (81-97 %). Foi observado também que os rendimentos foram similares para os adutos Knoevenagel-Suzuki-Miyaura quando se empregaram os substituintes halogenados (bromo e cloro) (91-97 %) e rendimentos moderados para o substituinte flúor (80-84 %). Foram também realizados estudos do melhor solvente para a reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura. Em água foi obtido o

melhor rendimento de reação por MO. Também foi feito o estudo de reação tricomponente *one-pot* para os adutos Knoevenagel-Suzuki-Miyaura obtendo rendimentos elevados (82-98 %). Desta forma, desenvolveu-se um protocolo sintético em uma etapa de reação em comparação com a metodologia tradicional de duas etapas.

Foi também desenvolvido um protocolo de síntese para a obtenção de 4*H*-piranocromenos a partir de adutos de Knoevenagel e compostos tetrazólicos empregando a radiação micro-ondas em tempos de reação de 25 min e com rendimentos elevados (94-99 %). Foi feito o estudo de comparação da síntese de cromenos via AC e MO. Os dados fornecidos mostraram uma efetividade da reação na presença de MO (25 min) frente ao AC (60 min).

Por último foram empregados os adutos de Knoevenagel sintetizados por micro-ondas os quais foram bio-hidrogenados pelo fungo marinho *P. citrinum* CBMAI 1186 apresentando rendimentos de 12-99 %. Foi também observado no meio reacional com o fungo *P. citrinum* CBMAI 1186 a presença de várias enzimas: enoato redutase, nitro redutase, ceto redutase e nitrila hidratase.

Observou-se que o emprego de aditivos ácidos e básicos na reação de condensação de Knoevenagel influenciou de maneira notória no decréscimo do tempo de reação. Foram testados diversos aditivos: SiO₄, CuSO₄, imidazol, fibroína, fibra da paina e fibroína-CuSO₄. Este último aditivo polifuncionalizado mostrou um tempo de reação de 10 min com rendimento de 74 % para o 2-benzilideno malononitrila. Por último observou-se o efeito da tautomeria ketenimina para o (*E*)-2-ciano-3-(furan-2-il)acrilamida que foi uma etapa importante em nosso estudo devido a favorecer a modificação do centro estereogênico de uma configuração do carbono sp³ para sp², com isto perdendo temporalmente o centro estereogênico e favorecendo a formação de misturas racêmicas em presença de solventes próticos o qual foi observado por HPLC quiral.

APÊNDICE

Análises - Capítulo 2

APÊNDICE

Análises - Capítulo 2

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-benzilidenomalononitrila **2a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-benzilidenomalononitrila **2a**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-benzilidenomalononitrila **2a**.

Modelo ORTEP para a 2-benzilidenomalononitrila **2a**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(2-bromobenzilideno)malononitrila **2b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(2-bromobenzilideno)malononitrila **2b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(2-bromobenzilideno)malononitrila **2b**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(2-bromobenzilideno)malononitrila **2b**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(3-bromobenzilideno)malononitrila **2c**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(3-bromobenzilideno)malononitrila **2c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(3-bromobenzilideno)malononitrila **2c**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(3-bromobenzilideno)malononitrila **2c**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Modelo ORTEP para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-metilbenzilideno)malononitrila **2e**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-metilbenzilideno)malononitrila **2e**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-metilbenzilideno)malononitrila **2e**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-metilbenzilideno)malononitrila **2e**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(2-clorobenzilideno)malononitrila **2f**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(2-clorobenzilideno)malononitrila **2f**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(2-clorobenzilideno)malononitrila **2f**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(2-clorobenzilideno)malononitrila **2f**.

Chemical structure of **2g** is shown: N#CC(=C/c1ccc(Cl)cc1)C#N.

¹³C NMR spectrum (CDCl₃) data:

Chemical Shift (ppm)
158.17
135.81
134.97
132.31
130.89
130.43
128.31
113.18
112.01
84.72
77.28
77.03
76.77

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(3-clorobenzilideno)malononitrila **2g**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(3-clorobenzilideno)malononitrila **2g**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2h**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2h**.

Modelo ORTEP para 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2h**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-cianobenzilideno)malononitrila **2i**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-cianobenzilideno)malononitrila **2i**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-cianobenzilideno)malononitrila **2i**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-cianobenzilideno)malononitrila **2i**.

Modelo ORTEP para a 2-(4-cianobenzilideno)malononitrila **2i**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(2-flúor-benzilideno)malononitrila **2j**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(2-flúor-benzilideno)malononitrila **2j**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(2-flúor-benzilideno)malononitrila **2j**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(2-flúor-benzilideno)malononitrila **2j**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(3-flúor-benzilideno)malononitrila **2k**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(3-flúor-benzilideno)malononitrila **2k**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(3-flúor-benzilideno)malononitrila **2k**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(3-flúor-benzilideno)malononitrila **2k**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **21**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **21**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **21**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **21**.

Modelo ORTEP para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **21**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-aminobenzilideno)malononitrila **2m**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-aminobenzilideno)malononitrila **2m**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-aminobenzilideno)malononitrila **2m**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-aminobenzilideno)malononitrila **2m**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-(dimetilamino)benzilideno)malononitrila **2n**.

Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-(dimetilamino)benzilideno)malononitrila **2n**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-(dimetilamino)benzilideno)malononitrila **2n**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-(dimetilamino)benzilideno)malononitrila **2n**.

Chemical structure of **2o** is shown as an inset. The ¹H NMR spectrum (CDCl₃) displays the following peaks and integrations:

- Aromatic protons: 8.68 (d), 8.67 (d), 8.66 (d) ppm, integration 0.92.
- Aromatic protons: 8.49 (d), 8.48 (d), 8.47 (d) ppm, integration 0.95.
- Nitrile proton: 7.90 (s) ppm, integration 0.90.
- Methine proton: 7.82 (s) ppm, integration 1.03.
- Methyl group: 8.34 (d), 8.33 (d) ppm, integration 0.98.
- TMS reference: 0.01 (s) ppm.

Chemical structure of **2o** is shown. The ^{13}C NMR spectrum (CDCl₃) shows peaks at the following chemical shifts (ppm): 156.9, 148.7, 134.8, 133.0, 131.0, 128.2, 125.6, 112.6, 86.8, 77.3 (CDCl₃), 77.0 (CDCl₃), 76.8 (CDCl₃), and 0.0.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(3-nitrobenzilideno)malononitrila **2o**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(3-nitrobenzilideno)malononitrila **2o**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila **2p**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila **2p**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila **2p**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila **2p**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-hidroxibenzilideno)malononitrila **2q**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-hidroxibenzilideno)malononitrila **2q**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-hidroxibenzilideno)malononitrila **2q**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-hidroxibenzilideno)malononitrila **2q**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(3-metoxibenzilideno)malononitrila **2r**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(3-metoxibenzilideno)malononitrila **2r**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(3-metoxibenzilideno)malononitrila **2r**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(3-metoxibenzilideno)malononitrila **2r**.

Modelo ORTEP para a 2-(3-metoxibenzilideno)malononitrila **2r**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2s**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2s**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2s**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2s**.

Modelo ORTEP para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2s**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(3,4,5-trimetoxibenzilideno)malononitrila **2t**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) para a 2-(3,4,5-trimetoxibenzilideno)malononitrila **2t**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(3,4,5-trimetoxibenzilideno)malononitrila **2t**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(3,4,5-trimetoxibenzilideno)malononitrila **2t**.

Modelo ORTEP para a 2-(3,4,5-trimetoxibenzilideno)malononitrila **2t**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila **2u**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila **2u**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila **2u**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila **2u**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila **2v**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila **2v**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila **2v**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila **2v**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do aduto de Knoevenagel **2w** e para o aduto dimérico **2w'**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do aduto de Knoevenagel **2w** e para o aduto dimérico **2w'**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para o aduto de Knoevenagel **2w** e para o aduto dimérico **2w'**.

Espectro de massas (70 eV) para o aduto dimérico de Knoevenagel **2w'**.

Modelo ORTEP para o aduto dimérico **2w'**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila **2x**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila **2x**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila **2x**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila **2x**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2y**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2y**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2y**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2y**.

Modelo ORTEP para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2y**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a 2-(3-fenoxibenzilideno)malononitrila **2z**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) para a 2-(3-fenoxibenzilideno)malononitrila **2z**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(3-fenoxibenzilideno)malononitrila **2z**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(3-fenoxibenzilideno)malononitrila **2z**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-bromo-fenil)-2-cianoacrilamida **3a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-bromo-fenil)-2-cianoacrilamida **3a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-bromo-fenil)-2-cianoacrilamida **3a**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(4-bromo-fenil)-2-cianoacrilamida **3a**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-cloro-fenil)-2-cianoacrilamida **3b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-cloro-fenil)-2-cianoacrilamida **3b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-cloro-fenil)-2-cianoacrilamida **3b**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(4-cloro-fenil)-2-cianoacrilamida **3b**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-flúor-fenil)-2-cianoacrilamida **3c**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-flúor-fenil)-2-cianoacrilamida **3c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-flúor-fenil)-2-cianoacrilamida **3c**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(4-flúor-fenil)-2-cianoacrilamida **3c**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilamida **3d**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilamida **3d**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilamida **3d**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilamida **3d**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-nitro-fenil)acrilamida **3e**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-nitro-fenil)acrilamida **3e**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-nitro-fenil)acrilamida **3e**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(4-nitro-fenil)acrilamida **3e**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-fenil)acrilamida **3f**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-fenil)acrilamida **3f**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-fenil)acrilamida **3f**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-fenil)acrilamida **3f**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida **3g**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida **3g**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida **3g**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida **3g**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilamida **3h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilamida **3h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilamida **3h**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilamida **3h**.

Modelo ORTEP para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrilamida **3h**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(furan-2-il)acrilamida **3i**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(furan-2-il)acrilamida **3i**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(furan-2-il)acrilamida **3i**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-3-(furan-2-il)acrilamida **3i**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para a (*E*)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)acrilamida **3j**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para a (*E*)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)acrilamida **3j**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)acrilamida **3j**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)acrilamida **3j**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-2-ciano-3-(tiofen-2-il)acrilamida **3k**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-2-ciano-3-(tiofen-2-il)acrilamida **3k**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-2-ciano-3-(tiofen-2-il)acrilamida **3k**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-2-ciano-3-(tiofen-2-il)acrilamida **3k**.

Modelo ORTEP para (*E*)-2-ciano-3-(tiofen-2-il)acrilamida **3k**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a (*E*)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)acrilamida **31**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, MeOD) para a (*E*)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)acrilamida **31**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)acrilamida **31**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-2-ciano-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)acrilamida **31**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para a (*E*)-2-ciano-3-(3-hidróxi-4-metoxifenil)acrilamida **3m**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para a (*E*)-2-ciano-3-(3-hidróxi-4-metoxifenil)acrilamida **3m**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-2-ciano-3-(3-hidróxi-4-metoxifenil)acrilamida **3m**.

Espectro de massas (70 eV) para a (*E*)-2-ciano-3-(3-hidróxi-4-metoxifenil)acrilamida **3m**.

APÊNDICE

Análises – Capítulo 3

Análises - Capítulo 3

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-fenil-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-fenil-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-fenil-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3a**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(2-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(2-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(2-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3b**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(3-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3c**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(3-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(3-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3c**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3d**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3d**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-clorofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3d**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-clorofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3e**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-clorofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3e**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-clorofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3e**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-flúor-fenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3f**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-clorofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3f**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-clorofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3f**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3h**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3i**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3i**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3i**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para o benzoato de (*E*)-4-(2-ciano-2-(1*H*-tetrazol-5-il)vinil) metila **3j**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para o benzoato de (*E*)-4-(2-ciano-2-(1*H*-tetrazol-5-il)vinil) metila **3j**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para o benzoato de (*E*)-4-(2-ciano-2-(1*H*-tetrazol-5-il)vinil) metila **3j**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(4-dimetilamino)fenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3k**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(4-dimetilamino)fenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3k**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-dimetilamino)fenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3k**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Acetona- d_6) para a (*E*)-3-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3m**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, Acetona- d_6) para a (*E*)-3-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3m**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3m**.

3n.

3n.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(tiofen-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il) acrilonitrila **3n**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3o**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3o**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **30**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3p**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3p**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **3p**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(4-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(4-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-bromofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4a**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para (*E*)-3-(*p*-toluil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a (*E*)-3-(*p*-toluil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(*p*-toluil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4b**).

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4c**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4c**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-hidróxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4d**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-fenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4d**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-fenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4d**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4e**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4e**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4e**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4f**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4f**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-metoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4f**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(furan-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4g**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(furan-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4g**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(furan-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4g**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-(4-hidróxi-3,5-dimetoxifenil)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **4h**.

APÊNDICE
Análises – Capítulo 4

Análises - Capítulo 4

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a 2-([1,1'-bifenil]-2-ilmetileno)malononitrila **4a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a 2-([1,1'-bifenil]-2-ilmetileno)malononitrila **4a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-([1,1'-bifenil]-2-ilmetileno)malononitrila **4a**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a 2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetileno)malononitrila **4b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para a 2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetileno)malononitrila **4b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetileno)malononitrila **4b**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a 2-([1,1'-bifenil]-4-ilmetileno)malononitrila **4c**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a 2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetileno)malononitrila **4c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-([1,1'-bifenil]-4-ilmetileno)malononitrila **4c**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-2-il)-2-cianoacrilamida **6a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-2-il)-2-cianoacrilamida **6a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-2-il)-2-cianoacrilamida **6a**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-3-il)-2-cianoacrilamida **6b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-3-il)-2-cianoacrilamida **6b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-3-il)-2-cianoacrilamida **6b**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-4-il)-2-cianoacrilamida **6c**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-4-il)-2-cianoacrilamida **6c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-4-il)-2-cianoacrilamida **6c**.

Figure S1 displays the ^1H NMR spectra of compound **8b**. The spectra are recorded in CDCl_3 at 400 MHz. The chemical structure of **8b** is shown on the right.

The top spectrum shows the full ^1H NMR spectrum from 0 to 14 ppm. The peaks are labeled as follows:

- A (t, 7.58)
- B (ddt, 7.66)
- C (m, 7.26)
- D (m, 7.41)
- E (m, 7.23)

The middle spectrum is a zoomed-in view of the aromatic region (7.23 to 7.67 ppm). The peaks are labeled as follows:

- B (ddt, 7.66)
- D (m, 7.41)
- A (t, 7.58)
- C (m, 7.26)

The bottom spectrum is a zoomed-in view of the aliphatic region (7.23 to 7.48 ppm). The peaks are labeled as follows:

- D (m, 7.41)
- E (m, 7.23)

The integrations for the peaks are provided in the figure:

- Integration for A: 2.07
- Integration for B: 1.75
- Integration for C: 2.00
- Integration for D: 2.51
- Integration for E: 2.51

Chemical structure of **8b**: N#Nc1nn[nH]c1C#N/C=C/c2ccc(cc2)-c3ccccc3

13C NMR spectrum (CDCl₃) of compound 8b:

Chemical Shifts (ppm):

- 161.51, 158.55
- 142.39, 138.78, 138.05, 137.05, 131.05, 130.73, 130.73, 129.67, 128.56, 128.56, 128.16, 121.81, 119.16, 118.33
- 132.50, 132.05, 131.05, 130.73, 129.67, 128.56, 128.16, 127.75
- 161.51, 158.55
- 121.86, 121.81, 119.16, 118.33

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-3-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilonitrila **8b**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **10a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **10a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-2-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **10a**.

[illegible]

13C NMR spectrum of compound 10b in CDCl₃.

Chemical structure of 10b: N#Nc1cc(C#N)ccc1-c2ccccc2

Peak list (ppm):

Peak (ppm)
171.71
163.71
158.94
142.57
142.50
134.48
130.45
130.38
127.74
127.73
125.53
121.71
118.94
115.94
113.44
113.44

Inset 1 (Aromatic region): 163.75 to 163.60 ppm. Peaks at 163.71 and 163.70 ppm.

Inset 2 (Alkyne region): 142 to 130 ppm. Peaks at 142.57, 142.50, 134.48, 130.45, and 130.38 ppm.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (*E*)-3-([1,1'-bifenil]-3-il)-2-(1*H*-tetrazol-5-il)acrilamida **10b**.

APÊNDICE

Análises – Capítulo 5

Análises - Capítulo 5

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-fenil-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila **4a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-fenil-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila **4a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-fenil-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4a**.

4b

CC1(C)CCCC(=O)C2=C(C#N)C(=O)C3=CC=C(C=C3)C21Br

1H NMR (400 MHz, CDCl₃)

- A (m) 7.48
- B (m) 7.22
- C (d) 4.30
- D (d) 2.57
- E (s) 2.26
- F (s) 2.18
- G (s) 2.10
- H (s) 1.12
- I (s) 1.03

13C NMR (100 MHz, CDCl₃)

- A (m) 13.86
- B (m) 13.93
- C (d) 1.03
- D (d) 2.57
- E (s) 2.26
- F (s) 2.18
- G (s) 2.10
- H (s) 1.12
- I (s) 1.03

Chemical structure of **4b** is shown: 2-amino-3-cyano-6-(4-bromophenyl)-4,4-dimethyl-2H-chromene.

¹³C NMR spectrum (CDCl₃) peaks (ppm):

- 196.05
- 162.18
- 158.59
- 144.13
- 131.22
- 129.75
- 119.92
- 113.05
- 99.04
- 50.14
- 40.02
- 35.65
- 34.64
- 32.17
- 32.02
- 31.88
- 31.77
- 27.99
- 26.66
- 131.22
- 129.75

Inset 1 (Aromatic region): 112-122 ppm.

Inset 2 (Carbonyl region): 98.8-99.4 ppm.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a (2-amino-4-bromofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila **4b**.

Chemical structure of **4c** is shown in the center of the figure. The structure is a substituted coumarin derivative with a cyano group (CN) and an amino group (NH₂).

The figure displays four NMR spectra:

- Top Spectrum:** ¹³C NMR spectrum (f1 (ppm) vs intensity). Key peaks are labeled: 195.01, 186.32, 118.61, 116.99, 115.01, 113.68, 161.79, 141.77, 135.98, 128.83, 128.81, 127.46, 127.45, 118.61, 118.59, 113.68, 50.21, 40.03, 35.59, 35.58, 31.75, 50.21, 40.03, 35.58, 31.75, 28.10, 26.60, 20.11, 161.79.
- Middle Spectrum:** ¹H NMR spectrum (f1 (ppm) vs intensity). Key peaks are labeled: 10.00, 9.99, 9.98, 9.97, 9.96, 9.95, 9.94, 9.93, 9.92, 9.91, 9.90, 9.89, 9.88, 9.87, 9.86, 9.85, 9.84, 9.83, 9.82, 9.81, 9.80, 9.79, 9.78, 9.77, 9.76, 9.75, 9.74, 9.73, 9.72, 9.71, 9.70, 9.69, 9.68, 9.67, 9.66, 9.65, 9.64, 9.63, 9.62, 9.61, 9.60, 9.59, 9.58, 9.57, 9.56, 9.55, 9.54, 9.53, 9.52, 9.51, 9.50, 9.49, 9.48, 9.47, 9.46, 9.45, 9.44, 9.43, 9.42, 9.41, 9.40, 9.39, 9.38, 9.37, 9.36, 9.35, 9.34, 9.33, 9.32, 9.31, 9.30, 9.29, 9.28, 9.27, 9.26, 9.25, 9.24, 9.23, 9.22, 9.21, 9.20, 9.19, 9.18, 9.17, 9.16, 9.15, 9.14, 9.13, 9.12, 9.11, 9.10, 9.09, 9.08, 9.07, 9.06, 9.05, 9.04, 9.03, 9.02, 9.01, 9.00, 8.99, 8.98, 8.97, 8.96, 8.95, 8.94, 8.93, 8.92, 8.91, 8.90, 8.89, 8.88, 8.87, 8.86, 8.85, 8.84, 8.83, 8.82, 8.81, 8.80, 8.79, 8.78, 8.77, 8.76, 8.75, 8.74, 8.73, 8.72, 8.71, 8.70, 8.69, 8.68, 8.67, 8.66, 8.65, 8.64, 8.63, 8.62, 8.61, 8.60, 8.59, 8.58, 8.57, 8.56, 8.55, 8.54, 8.53, 8.52, 8.51, 8.50, 8.49, 8.48, 8.47, 8.46, 8.45, 8.44, 8.43, 8.42, 8.41, 8.40, 8.39, 8.38, 8.37, 8.36, 8.35, 8.34, 8.33, 8.32, 8.31, 8.30, 8.29, 8.28, 8.27, 8.26, 8.25, 8.24, 8.23, 8.22, 8.21, 8.20, 8.19, 8.18, 8.17, 8.16, 8.15, 8.14, 8.13, 8.12, 8.11, 8.10, 8.09, 8.08, 8.07, 8.06, 8.05, 8.04, 8.03, 8.02, 8.01, 8.00, 7.99, 7.98, 7.97, 7.96, 7.95, 7.94, 7.93, 7.92, 7.91, 7.90, 7.89, 7.88, 7.87, 7.86, 7.85, 7.84, 7.83, 7.82, 7.81, 7.80, 7.79, 7.78, 7.77, 7.76, 7.75, 7.74, 7.73, 7.72, 7.71, 7.70, 7.69, 7.68, 7.67, 7.66, 7.65, 7.64, 7.63, 7.62, 7.61, 7.60, 7.59, 7.58, 7.57, 7.56, 7.55, 7.54, 7.53, 7.52, 7.51, 7.50, 7.49, 7.48, 7.47, 7.46, 7.45, 7.44, 7.43, 7.42, 7.41, 7.40, 7.39, 7.38, 7.37, 7.36, 7.35, 7.34, 7.33, 7.32, 7.31, 7.30, 7.29, 7.28, 7.27, 7.26, 7.25, 7.24, 7.23, 7.22, 7.21, 7.20, 7.19, 7.18, 7.17, 7.16, 7.15, 7.14, 7.13, 7.12, 7.11, 7.10, 7.09, 7.08, 7.07, 7.06, 7.05, 7.04, 7.03, 7.02, 7.01, 7.00, 6.99, 6.98, 6.97, 6.96, 6.95, 6.94, 6.93, 6.92, 6.91, 6.90, 6.89, 6.88, 6.87, 6.86, 6.85, 6.84, 6.83, 6.82, 6.81, 6.80, 6.79, 6.78, 6.77, 6.76, 6.75, 6.74, 6.73, 6.72, 6.71, 6.70, 6.69, 6.68, 6.67, 6.66, 6.65, 6.64, 6.63, 6.62, 6.61, 6.60, 6.59, 6.58, 6.57, 6.56, 6.55, 6.54, 6.53, 6.52, 6.51, 6.50, 6.49, 6.48, 6.47, 6.46, 6.45, 6.44, 6.43, 6.42, 6.41, 6.40, 6.39, 6.38, 6.37, 6.36, 6.35, 6.34, 6.33, 6.32, 6.31, 6.30, 6.29, 6.28, 6.27, 6.26, 6.25, 6.24, 6.23, 6.22, 6.21, 6.20, 6.19, 6.18, 6.17, 6.16, 6.15, 6.14, 6.13, 6.12, 6.11, 6.10, 6.09, 6.08, 6.07, 6.06, 6.05, 6.04, 6.03, 6.02, 6.01, 6.00, 5.99, 5.98, 5.97, 5.96, 5.95, 5.94, 5.93, 5.92, 5.91, 5.90, 5.89, 5.88, 5.87, 5.86, 5.85, 5.84, 5.83, 5.82, 5.81, 5.80, 5.79, 5.78, 5.77, 5.76, 5.75, 5.74, 5.73, 5.72, 5.71, 5.70, 5.69, 5.68, 5.67, 5.66, 5.65, 5.64, 5.63, 5.62, 5.61, 5.60, 5.59, 5.58, 5.57, 5.56, 5.55, 5.54, 5.53, 5.52, 5.51, 5.50, 5.49, 5.48, 5.47, 5.46, 5.45, 5.44, 5.43, 5.42, 5.41, 5.40, 5.39, 5.38, 5.37, 5.36, 5.35, 5.34, 5.33, 5.32, 5.31, 5.30, 5.29, 5.28, 5.27, 5.26, 5.25, 5.24, 5.23, 5.22, 5.21, 5.20, 5.19, 5.18, 5.17, 5.16, 5.15, 5.14, 5.13, 5.12, 5.11, 5.10, 5.09, 5.08, 5.07, 5.06, 5.05, 5.04, 5.03, 5.02, 5.01, 5.00, 4.99, 4.98, 4.97, 4.96, 4.95, 4.94, 4.93, 4.92, 4.91, 4.90, 4.89, 4.88, 4.87, 4.86, 4.85, 4.84, 4.83, 4.82, 4.81, 4.80, 4.79, 4.78, 4.77, 4.76, 4.75, 4.74, 4.73, 4.72, 4.71, 4.70, 4.69, 4.68, 4.67, 4.66, 4.65, 4.64, 4.63, 4.62, 4.61, 4.60, 4.59, 4.58, 4.57, 4.56, 4.55, 4.54, 4.53, 4.52, 4.51, 4.50, 4.49, 4.48, 4.47, 4.46, 4.45, 4.44, 4.43, 4.42, 4.41, 4.40, 4.39, 4.38, 4.37, 4.36, 4.35, 4.34, 4.33, 4.32, 4.31, 4.30, 4.29, 4.28, 4.27, 4.26, 4.25, 4.24, 4.23, 4.22, 4.21, 4.20, 4.19, 4.18, 4.17, 4.16, 4.15, 4.14, 4.13, 4.12, 4.11, 4

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(*p*-toulil)-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4c**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(4-clorofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4d**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(4-clorofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4d**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-clorofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4d**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a 2-amino-4-(4-flúor-fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila **4e**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) para a 2-amino-4-(4-flúor-fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila **4e**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-flúor-fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4e**.

Figure 1 shows the ^1H NMR spectra of compound **4f** in three different solvents: (a) CDCl_3 , (b) $\text{DMSO}-d_6$, and (c) $\text{DMSO}-d_6$ with TMS. The chemical structure of **4f** is displayed in the center. The spectra are annotated with peak assignments (A through J), integration values, and chemical shift ranges. The x-axis for all spectra is chemical shift in ppm, ranging from 14 to -2.

Chemical structure of **4f** is shown in the center of the figure. The structure is a substituted benzofuran derivative with an amino group (NH_2) and a cyano group (CN) on the benzene ring, and a quaternary carbon atom attached to the furan ring.

The figure displays four NMR spectra for compound **4f**:

- ^1H NMR (top):** Shows peaks in the aromatic region (6.5–8.5 ppm) and aliphatic region (1.0–2.5 ppm). Key peaks are labeled with chemical shifts: 195.04, 195.01, 161.75, 161.22, 150.52, 150.57, 147.02, 147.04, 138.95, 138.96, 129.48, 128.36, 128.36, 128.16, 127.94, 119.24, 118.79, 118.65, 114.22, 114.20, 114.11, 113.91, 113.82, 50.28, 50.25, 50.22, 50.18, 26.58, 26.57, 31.76, 31.79, 35.04, 35.06, 35.34, 35.39, 129.48, 128.34, 128.58, 129.48, 119.24, 118.79, 118.65, 114.22, 127.64, 113.91, 113.82.
- ^{13}C NMR (middle):** Shows peaks from 113 to 196 ppm. Key peaks are labeled: 195.04, 195.01, 161.75, 161.22, 150.52, 150.57, 147.02, 147.04, 138.95, 138.96, 129.48, 128.36, 128.36, 128.16, 127.94, 119.24, 118.79, 118.65, 114.22, 114.20, 114.11, 113.91, 113.82, 50.28, 50.25, 50.22, 50.18, 26.58, 26.57, 31.76, 31.79, 35.04, 35.06, 35.34, 35.39, 129.48, 128.34, 128.58, 129.48, 119.24, 118.79, 118.65, 114.22, 127.64, 113.91, 113.82.
- ^{15}N NMR (bottom left):** Shows peaks at 113.82, 113.91, 114.11, 114.22, 118.65, 118.79, 119.24, 127.64, 128.12, 128.34, 128.58, 129.48, 131.76, 131.79, 135.04, 135.06, 135.34, 135.39, 137.29, 140.03, 150.18, 150.25, 150.28, 150.52, 150.57, 161.22, 161.75, 170.02, 170.04, 195.01, and 195.04 ppm.
- ^{19}F NMR (bottom right):** Shows peaks at 113.82, 113.91, 114.11, 114.22, 118.65, 118.79, 119.24, 127.64, 128.12, 128.34, 128.58, 129.48, 131.76, 131.79, 135.04, 135.06, 135.34, 135.39, 137.29, 140.03, 150.18, 150.25, 150.28, 150.52, 150.57, 161.22, 161.75, 170.02, 170.04, 195.01, and 195.04 ppm.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-aminofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4f**.

Figure S1 displays the ^1H NMR spectrum of compound **4g** in CDCl_3 . The chemical structure of **4g** is shown, with atoms labeled A through J. The spectrum features several peaks, with their chemical shifts (f1 (ppm)) and integrations (f2) provided.

Peak Data:

Label	Chemical Shift (ppm)	Integration
A (d)	8.20	1.00
B (d)	8.18	1.13
F (s)	2.28	0.91
D (d)	2.61	2.61
I (s)	1.13	4.10
K (d)	7.56	1.18
L (d)	7.54	1.13
C (d)	4.47	1.27
G (s)	2.20	0.87
H (s)	2.10	0.67
F (s)	2.28	2.28
D (d)	2.61	2.61
G (s)	2.20	2.20
H (s)	2.10	2.10
J (s)	1.05	4.04

Chemical Structure of 4g:

N#Cc1cc(NC(=O)C2C(C)C(C)C2)c(O)c1-c1ccc([N+](=O)[O-])cc1

The structure shows a central benzene ring with a cyano group (CN), an amino group (NH₂), and a nitro group (NO₂). The amino group is attached to a side chain containing a carbonyl group (C=O) and a quaternary carbon (C2) with two methyl groups (C3 and C4).

Chemical structure of **4g** is shown. The structure is a substituted chromone derivative with a nitro group (NO_2), a cyano group (CN), and an amino group (NH_2).

The figure displays three NMR spectra for compound **4g**:

- ^{13}C NMR (Top):** Shows peaks at 195.17, 162.77, 158.77, 152.11, 146.87, 136.20, 132.45, 123.42, 112.46, 103.47, 130.20, 128.83, 123.45, 123.42, 90.07, 40.04, 36.14, 36.13, 31.81, 27.95, 26.73, 25.27, and 26.73 ppm.
- ^{15}N NMR (Middle):** Shows peaks at 162.77, 158.77, 152.11, and 146.87 ppm.
- ^1H NMR (Bottom):** Shows peaks at 10.07, 9.07, 8.07, 7.07, 6.07, 5.07, 4.07, 3.07, 2.527, and 2.527 ppm.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-nitrofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4g**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(4-hidróxi-fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila **4h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(4-hidróxi-fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carbonitrila **4h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-hidróxi-fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4h**.

Figure 1 displays the ^1H and ^{13}C NMR spectra of compound **4i**. The chemical structure of **4i** is shown in the center. The ^1H NMR spectrum (top) shows peaks assigned to various protons: A (s, 6.53), C (t, 4.25), D (s, 2.39), F (m, 2.10), H (s, 1.11), J (s, 3.69), and G (s, 1.13). The ^{13}C NMR spectrum (bottom) shows peaks assigned to various carbons: A (s, 6.53), C (t, 4.25), D (s, 2.39), E (s, 2.35), F (s, 2.36), G (s, 1.13), H (s, 1.11), I (s, 3.79), and J (s, 3.69). The spectra are recorded in CDCl_3 at 25 $^\circ\text{C}$.

Chemical structure of **4i** is shown on the right. The structure is a substituted benzene ring with a methoxy group (OCH₃), a cyano group (CN), an amino group (NH₂), and a fused ring system containing a carbonyl group (C=O) and a methoxy group (OCH₃).

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4i**.

Chemical structure of **4j** is shown. The ¹³C NMR spectrum (f1 (ppm)) displays peaks corresponding to the structure, with labeled chemical shifts (ppm): 195.03, 161.63, 158.58, 158.51, 138.48, 136.77, 125.58, 118.66, 118.64, 113.54, 61.05, 54.54, 50.23, 40.03, 35.19, 31.75, 28.10, and 20.01.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(4-metoxifenil)-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carbonitrila **4j**.

Figure S1 displays the ^1H NMR spectrum of compound **6a** in CDCl_3 . The chemical structure of **6a** is shown with proton assignments A through G. The spectrum shows peaks from 1.13 to 7.98 ppm. Integration values are provided for several peaks: 1.04, 0.97, 1.25, 2.56, 5.16, and 6.00. The x-axis is labeled f1 (ppm) and ranges from 14 to -2.

Chemical structure of **6a** is shown above the spectra. The structure is a benzodioxine derivative with a bromine atom at the 4-position, an amide group at the 2-position, and a methyl group at the 3-position.

The spectra are labeled with their respective chemical shifts (ppm):

- ^{13}C NMR (top): 150.15, 126.30, 120.65, 114.74, 106.53
- ^{15}N NMR (middle): 126.30, 120.65, 114.74, 106.53
- ^1H NMR (bottom): 150.15, 126.30, 120.65, 114.74, 106.53
- ^{15}N NMR (bottom): 132.40, 131.93, 131.48, 131.29

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-bromofenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carboxamida **6a**.

Figure 1 displays the ^1H NMR spectra of compound **6d** in three different solvents: (a) CDCl_3 , (b) $\text{DMSO}-d_6$, and (c) $\text{DMSO}-d_6$ with TMS. The chemical structure of **6d** is shown in the center. The spectra are labeled with peak assignments (A-L) and their corresponding chemical shifts (ppm). Integration values are provided for each peak.

Chemical structure of 6d: CC1(C)C(=O)c2cc(NC(=O)c3cc(N)cc(NC4=CC=CC=C4)c3)c2O1

Peak assignments and chemical shifts (ppm):

- (a) CDCl_3 :** A (d) 6.96, B (d) 6.93, C (m) 6.84, D (q) 6.82, E (d) 6.65, F (d) 6.63, G (s) 2.87, H (s) 2.87, I (s) 1.15, J (s) 1.15.
- (b) $\text{DMSO}-d_6$:** A (d) 6.96, B (d) 6.93, C (m) 6.84, D (q) 6.82, E (d) 6.65, F (d) 6.63, G (s) 2.87, H (s) 2.87, I (s) 1.15, J (s) 1.15.
- (c) $\text{DMSO}-d_6$ with TMS:** A (d) 6.96, B (d) 6.93, C (m) 6.84, D (q) 6.82, E (d) 6.65, F (d) 6.63, G (s) 2.87, H (s) 2.87, I (s) 1.15, J (s) 1.15.

Integration values:

- (a) CDCl_3 :** A (d) 1.00, B (d) 1.05, C (m) 1.00, D (q) 1.27, E (d) 1.00, F (d) 1.00, G (s) 1.00, H (s) 1.00, I (s) 1.00, J (s) 1.00.
- (b) $\text{DMSO}-d_6$:** A (d) 1.38, B (d) 1.18, C (m) 1.00, D (q) 1.00, E (d) 1.00, F (d) 1.00, G (s) 1.00, H (s) 1.00, I (s) 1.00, J (s) 1.00.
- (c) $\text{DMSO}-d_6$ with TMS:** A (d) 1.00, B (d) 1.00, C (m) 1.00, D (q) 1.00, E (d) 1.00, F (d) 1.00, G (s) 1.00, H (s) 1.00, I (s) 1.00, J (s) 1.00.

Chemical structure of compound **6d** is shown. The structure is a substituted coumarin derivative with a dimethylamino group, a carboxamide group, and a carboxylic acid group.

The ^1H NMR spectrum (top) shows peaks at 189.22, 189.22, 132.97, 127.39, 115.45, 112.41, 111.55, 46.33, 39.85, 39.13, 31.62, 31.22, 153.43, 151.52, 148.83, 46.33, 39.85, 39.13, 31.62, 27.51 ppm.

The ^{13}C NMR spectrum (bottom) shows peaks at 189.6, 188.8, 130, 120, 110, 45, 40, 35, 154, 152, 150, 27.60, 27.55, 27.50, 27.45 ppm.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-(dimetilamino)fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carboxamida **6d**.

Chemical structure of **6e** is shown. The ^1H NMR spectrum (CDCl₃) displays peaks corresponding to the structure, with assignments and integration values provided.

Key assignments and integration values:

- Aromatic protons: 7.57-8.09 ppm (multiplets, integration 2.22, 2.00, 2.00).
- NH₂ protons: 4.88-4.91 ppm (multiplets, integration 1.10).
- Methine protons: 2.26-2.27 ppm (multiplets, integration 4.82).
- Methyl protons (tert-butyl): 1.01-1.05 ppm (multiplets, integration 5.83, 1.03).

[illegible]

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-(dimetilamino)fenil)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carboxamida **6e**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida **6f**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida **6f**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-(3,4,5-trimetoxifenil)-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carboxamida **6f**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(furan-2-il)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida **6h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(furan-2-il)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4H-cromeno-3-carboxamida **6h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(furan-2-il)-7,7-dimetil-5-oxo-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-cromeno-3-carboxamida **6h**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(4-bromofenil)-7,7-dimetil-3-(1H-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5H-cromen-5-ona **8b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(4-bromofenil)-7,7-dimetil-3-(1H-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5H-cromen-5-ona **8b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-bromofenil)-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona **8b**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(4-clorofenil)-7,7-dimetil-3-(1H-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5H-cromen-5-ona **8c**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(4-clorofenil)-7,7-dimetil-3-(1H-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5H-cromen-5-ona **8c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(4-clorofenil)-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona **8c**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4-(4-metoxifenil)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona **8g**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4-(4-metoxifenil)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona **8g**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4-(4-metoxifenil)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona **8g**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(furan-2-il)-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona **8h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, Acetona- d_6) para a 2-amino-4-(furan-2-il)-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona **8h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-amino-4-(furan-2-il)-7,7-dimetil-3-(1*H*-tetrazol-5-il)-4,6,7,8-tetraidro-5*H*-cromen-5-ona **8h**.

APÊNDICE

Análises – Capítulo 6

Análises - Capítulo 6

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-benzilidenomalononitrila **2a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-benzilidenomalononitrila **2a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-benzilidenomalononitrila **2a**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-benzilidenomalononitrila **2a**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **2b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **2b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **2b**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-flúor-benzilideno)malononitrila **2b**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2c**.

Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2c**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-clorobenzilideno)malononitrila **2c**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-bromobenzilideno)malononitrila **2d**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila **2e**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila **2e**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila **2e**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-nitrobenzilideno)malononitrila **2e**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-hidróxibenzilideno)malononitrila **2f**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-hidróxibenzilideno)malononitrila **2f**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-hidróxibenzilideno)malononitrila **2f**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-hidróxibenzilideno)malononitrila **2f**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2g**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2g**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2g**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-metoxibenzilideno)malononitrila **2g**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila **2h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila **2h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila

2h.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzilideno)malononitrila **2h.**

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2i**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2i**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2i**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(piridin-3-ilmetileno)malononitrila **2i**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(tiofen-2-il-metileno)malononitrila **2j**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila **2j**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila **2j**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(tiofen-2-ilmetileno)malononitrila **2j**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila **2k**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila **2k**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila **2k**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(furan-2-ilmetileno)malononitrila **2k**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a 2-benzilmalononitrila **3a**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) para a 2-benzilmalononitrila **3a**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-benzilmalononitrila **3a**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-benzilmalononitrila **3a**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a 2-(4-flúor-benzil)malononitrila **3b**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) para a 2-(4-flúor-benzil)malononitrila **3b**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-flúor-benzil)malononitrila **3b**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-flúor-benzil)malononitrila **3b**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-clorobenzil)malononitrila **3c**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-clorobenzil)malononitrila **3c**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-clorobenzil)malononitrila **3c**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-clorobenzil)malononitrila **3c**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-bromobenzil)malononitrila **3d**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-bromobenzil)malononitrila **3d**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-bromobenzil)malononitrila **3d**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-bromobenzil)malononitrila **3d**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-nitrobenzil)malononitrila **3e**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para a 2-(4-nitrobenzil)malononitrila **3e**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-nitrobenzil)malononitrila **3e**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-nitrobenzil)malononitrila **3e**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a 2-(4-hidróxi-benzil)malononitrila **3f**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) para a 2-(4-hidróxi-benzil)malononitrila **3f**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-hidróxi-benzil)malononitrila **3f**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-hidróxi-benzil)malononitrila **3f**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) para a 2-(4-metoxibenzil)malononitrila **3g**.

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) para a 2-(4-metoxibenzil)malononitrila **3g**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-metoxibenzil)malononitrila **3g**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-metoxibenzil)malononitrila **3g**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzil)malononitrila **3h**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzil)malononitrila **3h**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzil)malononitrila **3h**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(4-hidróxi-3-metoxibenzil)malononitrila **3h**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) para 2-(piridin-3-ilmetil)malononitrila **3i**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) para 2-(piridin-3-ilmetil)malononitrila **3i**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(piridin-3-ilmetil)malononitrila **3i**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(piridin-3-ilmetil)malononitrila **3i**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(tiofen-2-ilmetil)malononitrila **3j**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(tiofen-2-ilmetil)malononitrila **3j**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(tiofen-2-ilmetil)malononitrila **3j**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(tiofen-2-ilmetil)malononitrila **3j**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para a 2-(furan-2-ilmetil)malononitrila **3k**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-(furan-2-ilmetil)malononitrila **3k**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-(furan-2-ilmetil)malononitrila **3k**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-(furan-2-ilmetil)malononitrila **3k**.

Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para o (4-nitrofenil)metanol **3e1**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para o (4-nitrofenil)metanol **3e1**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para o (4-nitrofenil)metanol **3e1**.

Espectro de massas (70 eV) para o (4-nitrofenil)metanol **3e1**.

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) para a 2-ciano-3-(furan-2-il)propanamida **4k**.

Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para a 2-ciano-3-(furan-2-il)propanamida **4k**.

Espectro de absorção no infravermelho (puro, cm^{-1}) para a 2-ciano-3-(furan-2-il)propanamida **4k**.

Espectro de massas (70 eV) para a 2-ciano-3-(furan-2-il)propanamida **4k**.