

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Programa de Pós-Graduação em química**

**ERIC LOBATO GRAEF**

**Avaliação Mecanística por Espectrometria de Massas e  
Modelagem Computacional da Reação Entre 2ABP e Tiourea  
Para Formação da 4-fenilquiazolina**

Versão Corrigida da Dissertação

São Paulo

Data de Depósito na SPG:

**29/06/2022**

ERIC LOBATO GRAEF

**Avaliação Mecânica por Espectrometria de Massas e  
Modelagem Computacional da Reação Entre 2ABP e Tiourea  
Para Formação da 4-fenilquiazolina**

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Química da Universidade de São Paulo para  
obtenção do Título de Mestre em Química.

Orientador:

Prof. Doutor Thiago Carita Correra

São Paulo

2022

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.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:  
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

G734a	Graef, Eric Lobato Avaliação mecanística por espectrometria de massas e modelagem computacional da reação entre 2ABP e tioureia para formação da 4-fenilquiazolina / Eric Lobato Graef. - São Paulo, 2022. 146 p.
	Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental. Orientador: Correra, Thiago Carita
	1. Mecanismos de Reação. 2. Espectrometria de Massas. 3. Espectroscopia IRMPD. 4. Química Computacional. I. T. II. Correra, Thiago Carita, orientador.



Universidade de São Paulo  
**Instituto de Química**

"Avaliação mecanística por espectrometria de massas e modelagem computacional da reação entre 2ABP e tiourea para formação da 4-fenilquiazolina"

**ERIC LOBATO GRAEF**

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências - no Programa de Química.

**APROVADO(A) POR:**

---

**Prof. Dr. Thiago Carita Correra**  
(Orientador e Presidente)

---

**Prof. Dr. Célio Fernando Figueiredo Angolini** (por videoconferência)  
UFABC

---

**Prof. Dr. Daví Aleksandro Cardoso Ferreira** (por videoconferência)  
UnB

**SÃO PAULO**  
12 de agosto de 2022

*Aos meus pais*

## **Agradecimentos**

Agradeço à minha família por todo o carinho. Aos meus pais, por terem sempre me apoiado e me encorajado a perseguir meus objetivos e à minha irmã, por ser um exemplo para mim.

Aos meus amigos, pelo companheirismo e por todos os momentos que compartilhamos.

Ao meu orientador, Thiago Carita Correra, pela confiança, por tudo que me ensinou e por ter sido sempre muito atencioso e compreensivo. Aos meus colegas do laboratório MCPL, por terem me acolhido de forma tão amigável e pela disposição que tiveram para me auxiliar em tantas ocasiões.

Aos professores João Batista Lopes Martins e Daví Alexandro Cardoso Ferreira, do Instituto de Química da UnB. A experiência e o conhecimento que obtive com eles durante a graduação foram aplicados diretamente no desenvolvimento deste projeto, além de terem sido muito importantes para o meu desenvolvimento como cientista.

Por fim, agradeço às agências de fomento pelas duas bolsas de mestrado que recebi para o desenvolvimento deste projeto em específico: FAPESP (processo n° 2019/22047-5); CNPq (processo n° 147967/2019-8). Agradeço também pelo apoio financeiro oferecido à pesquisa desenvolvida no laboratório MCPL: FAPESP (2014/15962-5, 2015/08539-1, 2019/25634-9, 2021/06726-0, 2022/00498-8); CNPq (305858/2020-3); CAPES (001 23038.006960/2014-65).

*“As to the claims of the alchemists, it must be clearly understood that it is not in their power to bring about any true change of species. They can, however, produce excellent imitations. [...] Those properties which are perceived by the senses are probably not the differences which separate the metals into species, but rather accidents or consequences, the specific differences being unknown. And if a thing is unknown, how is it possible for anyone to endeavor to produce it or to destroy it?”<sup>1,2</sup>*

Ibn Sīnā – Book of the Remedy – XI century

## Resumo

Graef, E. L. **Avaliação Mecânica por Espectrometria de Massas e Modelagem Computacional da Reação Entre 2ABP e Tiourea Para Formação da 4-fenilquinazolina.** 2022. 146 páginas. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Este trabalho consiste em um estudo do sistema reacional desenvolvido por Wang *et. al.* (formação da 4-fenilquinazolina a partir de reação entre 2-aminobenzofenona e tiourea em dimetilsulfóxido) com foco no mecanismo reacional e na identificação estrutural das espécies envolvidas.

A reação original e algumas variações foram reproduzidas e uma combinação de técnicas foi empregada para a análise de alíquotas dos meios reacionais e para a identificação estrutural de algumas das espécies presentes. Essas técnicas incluem: ESI-MS (espectrometria de massas com ionização por eletrospray); CID (dissociação induzida por colisões); HRMS (espectrometria de massas de alta resolução); espectroscopia IRMPD (dissociação com múltiplos fótons no infravermelho).

As principais espécies identificadas por Wang *et. al.* ( $m/z$ : 198; 207; 222; 223; respectivamente: 2-aminobenzofenona, 4-fenilquinazolina, um intermediário e um subproduto) puderam ser observadas em espectros de massas e seus padrões de fragmentação foram obtidos por CID e analisados. Além das mesmas, foi possível estudar alguns subprodutos não reportados previamente.

Também foi realizada uma modelagem computacional (com cálculos estáticos de estrutura eletrônica) do mecanismo proposto por Wang *et. al.* para a reação original. Ela incluiu a construção de curvas de energia livre de Gibbs, bem como avaliações dos estados de transição envolvidos e dos efeitos da catálise ácida de Bronsted (em algumas etapas) e da solvatação implícita no sistema. Os cálculos foram realizados usando DFT (teoria do funcional de densidade).

Por fim, foram feitas tentativas de aceleração dessa reação através do aumento da distância percorrida pelas gotículas de ESI (ionização por eletrospray) entre a fonte de ESI e o interior do espectrômetro, como já observado para outras reações. Apesar de não ter sido observada a aceleração da reação de Wang, foi possível obter espectros com boa intensidade mesmo com as gotículas tendo que viajar um metro de distância sob pressão atmosférica. Portanto, foi possível montar um arranjo experimental capaz, em princípio, de promover esse tipo de fenômeno.

**Palavras-chave: Mecanismos de Reação; Espectrometria de Massas; Química Computacional; Espectroscopia IRMPD; Eletrospray; CID; Carbodiimida; 4-fenilquinazolina.**



## Abstract

Graef, E. L. **Mechanistic Evaluation by Mass Spectrometry and Computational Modeling of the Reaction Between 2ABP and Thiourea for Formation of 4-phenilquinazoline.** 2022. 146 pages. Master's Dissertation – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

This work consists of a study of the reactional system developed by Wang *et al.* (formation of 4-phenilquinazoline from the reaction between 2-aminobenzophenone and thiourea in dimethyl sulfoxide) with focus on the reaction mechanism and in the structural identification of the species involved.

The original reaction and a few variations were reproduced and a combination of techniques was employed for the analysis of aliquots from the reaction medium and for the structural identification of some of the species present. These techniques include: ESI-MS (electrospray ionization – mass spectrometry); CID (collision induced dissociation); HRMS (high resolution mass spectrometry); IRMPD spectroscopy (infrared multiple photon dissociation).

The main species identified by Wang *et al.* ( $m/z$ : 198; 207; 222; 223; respectively: 2-aminobenzophenone, 4-phenilquinazoline, an intermediary and a subproduct) were observed in mass spectra and their fragmentation patterns were obtained by CID and analyzed. Besides these species, it was also possible to study subproducts not previously reported.

A computational modeling (with static electronic structure calculations) of the mechanism proposed by Wang *et al.* for the original reaction was done as well. It included the construction of Gibbs free energy curves, as well as evaluations of the transition states involved and of the effects of Bronsted acid catalysis (for some of the steps) and of implicit solvation on the system. The calculations were performed using DFT (density functional theory).

At last, attempts were made to accelerate this reaction by increasing the distance travelled by the ESI (electrospray ionization) droplets between the ESI source and the interior of the spectrometer, as previously observed for other reactions. The acceleration wasn't observed, however, it was possible to record good intensity spectra even with the droplets having to travel one meter under atmospheric pressure. Therefore, it was possible to assemble an experimental system capable of, in principle, promoting this kind of phenomena.

**Keywords: Reaction Mechanisms; Mass Spectrometry; Computational Chemistry; IRMPD Spectroscopy; Electrospray; CID; Carbodiimide; 4-phenilquinazoline.**

## Lista de Esquemas

<i>Esquema 1. Representação esquemática das duas principais etapas envolvidas na reação de acoplamento de aminoácidos mediada pela EDC .....</i>	<i>20</i>
<i>Esquema 2. Dois possíveis casos da reação de Wang. A reação de cima leva à formação da 4-fenilquinazolina e a de baixo leva à formação de um derivado da perimidina .....</i>	<i>21</i>
<i>Esquema 3. Em cima: Resultado esperado por Wang et. al. para a reação entre tioureia e 2ABP; Em baixo, resultado obtido para a reação entre tioureia e 2ABP em DMSO<sup>7</sup> .....</i>	<i>22</i>
<i>Esquema 4. Representação esquemática do mecanismo proposto por Wang et. al. para a reação de formação de 4-fenilquinazolina a partir de 2ABP e tioureia em DMSO<sup>7</sup> .....</i>	<i>22</i>
<i>Esquema 5. Representação esquemática das tentativas falhas de reprodução da reação de Wang em DMF, etilenoglicol e na ausência de solvente<sup>7</sup> .....</i>	<i>23</i>
<i>Esquema 6. Resultados dos testes realizados por Wang et. al. para as reações entre (de cima pra baixo) 2ABP e DCC; 2ABP e BTMSC; 2ABP e BTMSC + 2-mercaptoetanol<sup>7</sup> .....</i>	<i>23</i>
<i>Esquema 7. Representação esquemática das etapas envolvidas na espectrometria de massas tandem (MS<sup>n</sup>) .....</i>	<i>40</i>
<i>Esquema 8. Representação esquemática dos dois caminhos possíveis para a reação de Wang não catalisada (mecanismo dado no Esquema 4) .....</i>	<i>54</i>
<i>Esquema 9. Proposta de reação paralela que leva à formação do subproduto de massa 222 u a partir do intermediário de massa 221 u .....</i>	<i>60</i>
<i>Esquema 10. Estruturas e principais fragmentações do íons em 207, 222 e 223 Th .....</i>	<i>60</i>
<i>Esquema 11. Mecanismo de fragmentação proposto para a perda de um neutro com massa 78 u a partir do íon de razão m/z 207 Th .....</i>	<i>60</i>
<i>Esquema 12. Mecanismos de fragmentação propostos para a perda de neutros com massa 17 e 18 u a partir dos íons de razão m/z 222 e 223 Th .....</i>	<i>61</i>
<i>Esquema 13. Mecanismos de fragmentação propostos para a perda de neutros com massa 103 u a partir dos íons de razão m/z 207 e 222 Th .....</i>	<i>61</i>
<i>Esquema 14. Estrutura do íon em Th 264 e principais fragmentações a partir dele .....</i>	<i>62</i>
<i>Esquema 15. Mecanismo de fragmentação proposto para a formação do íon filho de razão m/z 247 a partir do pai m/z 264 e da formação do neto m/z 223 a partir do m/z 247 .....</i>	<i>63</i>
<i>Esquema 16. Mecanismo de fragmentação proposto para a perda de neutros de massa 42 u a partir dos íons de razão m/z 264 e 247 .....</i>	<i>63</i>
<i>Esquema 17. Um dos mecanismos de fragmentação propostos para a perda de 24 u a partir da adenina e da guanina protonadas (respectivamente m/z 136 e 152) .....</i>	<i>64</i>

<i>Esquema 18. Mecanismo de fragmentação propostos para as duas estruturas isoméricas possíveis imaginadas para o íon de razão m/z 282 .....</i>	<i>72</i>
<i>Esquema 19. Principais fragmentações observadas para o íon de razão m/z 444 .....</i>	<i>80</i>
<i>Esquema 20. Curva de energia livre de Gibbs montada para o mecanismo da reação de Wang (representado no Esquema 4 e no Esquema 8).....</i>	<i>87</i>
<i>Esquema 21. Curva de energia livre de Gibbs montada para o mecanismo da reação de Wang (representado no Esquema 4 e no Esquema 8) na presença de solvatação implícita .....</i>	<i>90</i>
<i>Esquema 22. Curva de energia livre de Gibbs montada para as três primeiras etapas reacionais do mecanismo da reação de Wang catalisada .....</i>	<i>107</i>
<i>Esquema 23. Curva de energia livre de Gibbs montada para as três primeiras etapas reacionais do mecanismo da reação de Wang catalisada e com solvatação implícita.....</i>	<i>111</i>
<i>Esquema 24. Recorte da curva de energia livre de Gibbs do mecanismo da reação de Wang catalisada e com solvatação implícita (dada no Esquema 23), contendo apenas a etapa de desidratação.....</i>	<i>114</i>
<i>Esquema 25. Recorte da curva de energia livre de Gibbs do mecanismo da reação de Wang catalisada e com solvatação implícita (dada no Esquema 23), contendo apenas as estruturas onde o substrato interage com o DMSO (além dos reagentes) .....</i>	<i>115</i>
<i>Esquema 26. Formação do subproduto HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH a partir da atuação do 2-mercaptoetanol como agente redutor em teste realizado por Wang et. al.<sup>7</sup> .....</i>	<i>122</i>
<i>Esquema 27. Proposta de mecanismo iônico simplificado para a etapa de redução, com atuação do metanotiol tanto como ácido quanto como agente redutor .....</i>	<i>122</i>
<i>Esquema 28. Ilustração das possíveis interações entre várias moléculas sulfuradas presentes no sistema .....</i>	<i>123</i>
<i>Esquema 29. Reações do tipo S<sub>n</sub>2 que podem contribuir para a formação das espécies mostradas no Esquema 28 e detectadas por Wang et. al. ....</i>	<i>123</i>
<i>Esquema 30. Proposta de mecanismos concertados simples para a etapa de redução tendo o metanotiol como agente redutor .....</i>	<i>124</i>
<i>Esquema 31. Proposta mecanística adicional para a etapa de redução .....</i>	<i>124</i>
<i>Esquema 32. Ilustração de como os intermediários 221a e 221b podem levar à formação do mesmo íon a partir da protonação nos sítios certos .....</i>	<i>125</i>
<i>Esquema 33. Mecanismos de fragmentação propostos para a perda de 24 u a partir da adenina e da guanina protonadas (respectivamente m/z 136 e 152) .....</i>	<i>133</i>

## Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura molecular de quatro carbodiimidas: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC); dicitlohexilcarbodiimida (DCC); EDC metilada (MeEDC); bis(trimetilsilil)carbodiimida (BTMSC).....	20
Figura 2. Estruturas dos três derivados da 2-aminobezofenona. Da esquerda para a direita: 2-amino-5-cloro-2'-fluorobenzofenona (2ABPF), 5-cloro-2-(metilamino)benzofenona (2ABPMe), 2-amino-2',5-diclorobenzofenona (2ABPCl2) .....	50
Figura 3. Fotos dos arranjos experimentais usados para testes de ESI-MS com distancias variadas .....	52
Figura 4. Em cima, tubo de cobre enrolado na forma de uma bobina e coberto pela fita de aquecimento. Em baixo, o tubo de cobre e a fita de aquecimento cobertos por papel alumínio e posicionados para o experimento .....	53
Figura 5. Espectros de massa obtidos por ESI-MS a partir das alíquotas retiradas da reação de Wang .....	58
Figura 6. Recorte de espectro de massa obtido por ESI-MS a partir de alíquota retirada da reação de Wang (entre 198 e 282 Thomson).....	59
Figura 7. Recorte de espectro de massa obtido por ESI-MS a partir de alíquota retirada da reação de Wang (entre 349 e 486 Thomson). A alíquota foi retirada com tempo corrido de reação de 6h .....	59
Figura 8. Estruturas otimizadas dos isômeros usados na modelagem de espectros vibracionais para comparação com o espectro IRMPD do íon de razão m/z 264 (Gráfico 3).....	66
Figura 9. Geometrias otimizadas dos quatro isômeros utilizados na modelagem teórica do espectro vibracional do íon de raiz m/z 247 (filho do m/z 264).....	69
Figura 10. Estruturas propostas para o íon de razão m/z 282.....	72
Figura 11. Estruturas otimizadas dos diferentes isômeros possíveis correspondendo à estrutura "a" mostrada na Figura 10. Elas foram usadas para a modelagem de espectros vibracionais para comparação com o espectro IRMPD do íon de razão m/z 282 (espectros mostrados no Gráfico 8) .....	74
Figura 12. Estruturas otimizadas dos diferentes isômeros possíveis correspondendo à estrutura "b" mostrada na Figura 10. Elas foram usadas para a modelagem de espectros vibracionais para comparação com o espectro IRMPD do íon de razão m/z 282 (espectros mostrados no Gráfico 9 e no Gráfico 10) .....	76
Figura 13. Uma das duas propostas iniciais imaginadas para a estrutura do íon de razão m/z 444 .....	80

<i>Figura 14. Espectros obtidos para os meios reacionais das reações entre a tiourea e cada um dos três derivados da 2-aminobezofenona, após 3h de reação</i> .....	83
<i>Figura 15. Recortes dos espectros obtidos para os meios reacionais das reações entre a tiourea e cada um dos três derivados da 2-aminobezofenona, após 3h de reação</i> .....	83
<i>Figura 16. Espectros obtidos com a mistura reacional de Wang pré-ativada e variando a distancia entre fonte de ESI e íon trap (sem tubos)</i> .....	85
<i>Figura 17. Espectros obtidos com a mistura reacional de Wang pré-ativada e variando a distancia entre fonte de ESI e íon trap (usando tubos de cobre de 20, 30 e 60 cm, de cima para baixo)</i> .....	86
<i>Figura 18. Estruturas dos 4 possíveis estados de transição encontrados para o ataque 1</i> .....	93
<i>Figura 19. Geometrias referentes aos 4 pontos marcados em vermelho no Gráfico 12</i> .....	93
<i>Figura 20. Geometria encontrada para o TS do ataque 1 – caminho 2 – lado 1, contendo a numeração dos átomos que é empregada no Gráfico 13 para a identificação de distancias e ângulos</i> .....	94
<i>Figura 21. Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 14</i> .....	96
<i>Figura 22. Estrutura obtida a partir da otimização da geometria referente a um dos pontos do Gráfico 14, com IRC de aproximadamente -1,96</i> .....	97
<i>Figura 23. Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 15</i> .....	97
<i>Figura 24. Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 16</i> .....	98
<i>Figura 25. Intermediário encontrado a partir da otimização da geometria mostrada no lado esquerdo da Figura 23, referente a um dos extremos do Gráfico 15, ambos associados ao ataque 1 – caminho 1 – lado 1</i> .....	99
<i>Figura 26. Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 17</i> .....	99
<i>Figura 27. Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 18</i> .....	101
<i>Figura 28. Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 19</i> .....	102
<i>Figura 29. Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 20</i> .....	103
<i>Figura 30. Geometria encontrada para o TS da isomerização 221, contendo a numeração dos átomos que é usada no texto</i> .....	104
<i>Figura 31. Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 21</i> .....	104
<i>Figura 32. Intermediário encontrado a partir da otimização da geometria mostrada no lado direito da Figura 31, referente a um dos extremos do Gráfico 21, ambos associados à eliminação de amônia</i> . .....	105
<i>Figura 33. Estruturas otimizadas para o TS do ataque 1 catalisado para os casos não solvatado (em cima) e solvatado (embaixo)</i> .....	116

<i>Figura 34. Em cima: geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 22. Em baixo: geometrias obtidas a partir da otimização das duas estruturas correspondentes às extremidades do mesmo gráfico .....</i>	<i>117</i>
<i>Figura 35. Em cima: geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 23. Em baixo: geometrias obtidas a partir da otimização das duas estruturas correspondentes às extremidades do mesmo gráfico .....</i>	<i>119</i>
<i>Figura 36. Em cima: geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 24. Em baixo: geometrias obtidas a partir da otimização das duas estruturas correspondentes às extremidades do mesmo gráfico .....</i>	<i>120</i>
<i>Figura 37. m/z 207 CID; MS<sup>2</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>134</i>
<i>Figura 38. m/z 222 CID; MS<sup>2</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>135</i>
<i>Figura 39. m/z 222→144 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.....</i>	<i>135</i>
<i>Figura 40. m/z 222→205 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.....</i>	<i>136</i>
<i>Figura 41. m/z 222→205 CID; MS<sup>3</sup>; modo enhanced resolution.....</i>	<i>136</i>
<i>Figura 42. m/z 223 CID; MS<sup>2</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>137</i>
<i>Figura 43. m/z 223→145 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.....</i>	<i>137</i>
<i>Figura 44. m/z 223→205 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.....</i>	<i>138</i>
<i>Figura 45. m/z 223→205 CID; MS<sup>3</sup>; modo enhanced resolution.....</i>	<i>138</i>
<i>Figura 46. m/z 264 CID; MS<sup>2</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>139</i>
<i>Figura 47. m/z 264→222 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.....</i>	<i>139</i>
<i>Figura 48. m/z 264→222→144 CID; MS<sup>4</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>140</i>
<i>Figura 49. m/z 264→222→205 CID; MS<sup>4</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>140</i>
<i>Figura 50. m/z 264→247 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.....</i>	<i>141</i>
<i>Figura 51. m/z 264→247→205 CID; MS<sup>4</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>141</i>
<i>Figura 52. m/z 264→247→223 CID; MS<sup>4</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>142</i>
<i>Figura 53. m/z 264→247→223→145 CID; MS<sup>5</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>142</i>
<i>Figura 54. m/z 264→247→223→205 CID; MS<sup>5</sup>; modo ultra scan .....</i>	<i>143</i>
<i>Figura 55. m/z 282 CID; MS<sup>2</sup>; modo enhanced resolution.....</i>	<i>143</i>
<i>Figura 56. m/z 282 CID; MS<sup>2</sup>; modo enhanced resolution.....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 57. m/z 282→223 CID; MS<sup>3</sup>; modo enhanced resolution.....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 58. m/z 444 CID; MS<sup>2</sup>; modo enhanced resolution.....</i>	<i>145</i>
<i>Figura 59. m/z 444→222 CID; MS<sup>3</sup>; modo enhanced resolution.....</i>	<i>145</i>
<i>Figura 60. m/z 444→223 CID; MS<sup>3</sup>; modo enhanced resolution.....</i>	<i>146</i>

## Lista de Tabelas

<i>Tabela 1. Massas detectadas por análise de ESI-MS de alta resolução para os íons de razão m/z 359, 376, 402, 426 e 444, comparadas às massas teóricas (aproximadas à quarta casa decimal) obtidas com base nas fórmulas químicas propostas .....</i>	82
<i>Tabela 2. Razões m/z de alguns dos principais íons detectados na reação de Wang original comparadas às razões m/z dos íons análogos detectados nas reações com derivados da 2ABP .....</i>	84
<i>Tabela 3. H, S e G relativos dos componentes do mecanismo da reação de Wang não catalisada e não solvatada .....</i>	88
<i>Tabela 4. <math>\Delta S</math>, <math>T\Delta S</math>, <math>\Delta H</math>, <math>\Delta G</math>, <math>\Delta S^\ddagger</math>, <math>T\Delta S^\ddagger</math>, <math>\Delta H^\ddagger</math>, <math>\Delta G^\ddagger</math> e <math>E_a</math> (energias de ativação) obtidos para as etapas reacionais modeladas e para a reação global, todos correspondendo à reação não catalisada e não solvatada .....</i>	88
<i>Tabela 5. H, S e G relativos dos componentes do mecanismo da reação de Wang não catalisada com solvatação implícita.....</i>	91
<i>Tabela 6. <math>T\Delta S</math>, <math>\Delta H</math>, <math>\Delta G</math>, <math>T\Delta S^\ddagger</math>, <math>\Delta H^\ddagger</math> e <math>\Delta G^\ddagger</math> obtidos para as etapas reacionais modeladas e para a reação global, todos correspondendo à reação não catalisada e com solvatação implícita. Também é dada a diferença entre os <math>\Delta G^\ddagger</math> com solvente e sem solvente.....</i>	91
<i>Tabela 7. H, S e G relativos dos componentes do mecanismo da reação de Wang catalisada e sem solvatação.....</i>	108
<i>Tabela 8. <math>\Delta S</math>, <math>T\Delta S</math>, <math>\Delta H</math>, <math>\Delta G</math>, <math>\Delta S^\ddagger</math>, <math>T\Delta S^\ddagger</math>, <math>\Delta H^\ddagger</math>, <math>\Delta G^\ddagger</math> e <math>E_a</math> (energias de ativação) obtidos para as etapas reacionais do mecanismo catalisado e não solvatado.....</i>	109
<i>Tabela 9. Valores de <math>\Delta G</math> de protonação e desprotonações de intermediários sem interações com o DMSO, todos referentes ao mecanismo catalisado e não solvatado.....</i>	110
<i>Tabela 10. H, S e G relativos dos componentes do mecanismo da reação de Wang catalisada e com solvatação implícita.....</i>	112
<i>Tabela 11. <math>T\Delta S</math>, <math>\Delta H</math>, <math>\Delta G</math>, <math>T\Delta S^\ddagger</math>, <math>\Delta H^\ddagger</math> e <math>\Delta G^\ddagger</math> das etapas reacionais modeladas e da reação global, todos correspondendo à reação catalisada e com solvatação implícita. Também é dada a diferença entre os <math>\Delta G^\ddagger</math> com solvente e sem solvente implícito .....</i>	112
<i>Tabela 12. Valores de <math>\Delta G</math> de protonação e desprotonação de intermediários sem interações com o DMSO, todos referentes ao mecanismo catalisado com solvatação implícita e obtidos a partir dos valores de G mostrados na Tabela 10.....</i>	113

## Lista de Gráficos

Gráfico 1. Representação da distância $\delta$ em um gráfico que retrata a energia potencial em função da coordenada de reação nas proximidades do máximo da barreira de potencial .....	32
Gráfico 2. Espectros IRMPD dos íons de razão $m/z$ 264 e 247 (obtido a partir da fragmentação do $m/z$ 264) .....	65
Gráfico 3. Comparação entre o espectro IRMPD do íon de $m/z$ 264 e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis .....	67
Gráfico 4. Comparação entre o espectro IRMPD do íon de $m/z$ 264, os espectros obtidos computacionalmente para os dois isômeros analisados de maior energia (Gráfico 3) e a soma dos espectros desse dois isômeros .....	68
Gráfico 5. Comparação entre o espectro IRMPD do íon de $m/z$ 247 (filho do $m/z$ 264) e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis (Figura 9) .....	70
Gráfico 6. Comparação entre o espectro IRMPD do íon de $m/z$ 247 (filho do $m/z$ 264) e somas de pares dos espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis (Gráfico 5) .....	71
Gráfico 7. Espectro IRMPD obtido para o íon de razão $m/z$ 282 .....	73
Gráfico 8. Comparação entre o espectro IRMPD do íon de $m/z$ 282 e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis, todos correspondendo à estrutura “a” da Figura 10 .....	75
Gráfico 9. Comparação entre o espectro IRMPD do íon de $m/z$ 282 e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis, todos correspondendo à estrutura “b” da Figura 10 .....	77
Gráfico 10. Comparação entre o espectro IRMPD do íon de $m/z$ 282 e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis, todos correspondendo à estrutura “b” da Figura 10 .....	78
Gráfico 11. Espectro IRMPD obtido para o íon de razão $m/z$ 444.....	81
Gráfico 12. Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 1 – caminho 2 – lado 1 .....	94
Gráfico 13. Algumas distâncias interatômicas dadas em angstrom e o ângulo NCN dado em grau, ambos em função da IRC (referente ao Gráfico 12, obtido para o TS do ataque 1 – caminho 2 – lado 1) .....	95
Gráfico 14. Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 1 – caminho 2 – lado 2 .....	96
Gráfico 15. Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 1 – caminho 1 – lado 1 .....	97
Gráfico 16. Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 1 – caminho 1 – lado 2 .....	98
Gráfico 17. Gráfico de IRC obtido para o TS pré-ataque 1 .....	100



<i>Gráfico 18. Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 2 – caminho 1 .....</i>	<i>101</i>
<i>Gráfico 19. Gráfico de IRC obtido para o TS da desidratação – caminho 1 .....</i>	<i>102</i>
<i>Gráfico 20. Gráfico de IRC obtido para o TS da isomerização 221 .....</i>	<i>103</i>
<i>Gráfico 21. Gráfico de IRC obtido para o TS da eliminação de amônia .....</i>	<i>105</i>
<i>Gráfico 22. Gráfico de IRC obtido para o TS ataque 1 – caminho 2 catalisado .....</i>	<i>118</i>
<i>Gráfico 23. Gráfico de IRC obtido para o TS ataque 2 – caminho 1 catalisado .....</i>	<i>119</i>
<i>Gráfico 24. Gráfico de IRC obtido para o TS desidratação – caminho 2 catalisado .....</i>	<i>120</i>

## Sumário

1	Introdução.....	19
1.1	As Carbodiimidas e a Reação de Wang.....	20
1.2	Aceleração de Reações Químicas em Gotículas de Eletrospray.....	24
1.3	Objetivos.....	25
2	Fundamentação Teórica.....	26
2.1	Catálise Ácida de Bronsted.....	26
2.1.1	Catálise Ácida Específica.....	26
2.1.2	Catálise Ácida Geral.....	27
2.2	A Química da Reação de Wang.....	28
2.3	Teoria do Estado de Transição.....	29
2.3.1	Superfícies de Energia Potencial e o Conceito do Estado de Transição.....	30
2.3.2	Derivação da Teoria do Estado de Transição.....	30
2.3.3	Observações Sobre a Teoria do Estado de Transição.....	33
2.4	Espectrometria de Massas.....	34
2.4.1	Ionização por Eletrospray.....	35
2.4.2	Formação de Íons a Partir das Gotículas de Eletrospray.....	37
2.4.3	<i>Ion Trap</i> 3D e Espectrometria de Massas Tandem.....	39
2.4.4	Aplicação da ESI-MS ao Estudo de Reações Químicas.....	41
2.4.5	CID.....	42
2.4.6	Espectroscopia IRMPD.....	44
3	Metodologia.....	47
3.1	Reação de Wang Tradicional.....	49
3.2	Reação de Wang com Derivados da 2-ABP.....	50
3.3	Aceleração da Reação de Wang em Gotículas de ESI.....	51
3.4	Modelagem Computacional do Mecanismo de Wang.....	53
4	Resultados.....	58
4.1	Estudos Experimentais da Reação de Wang Tradicional.....	58
4.2	Estudos Experimentais da Reação de Wang com Derivados da 2-ABP.....	82
4.3	Tentativas de Aceleração da Reação de Wang em Gotículas de ESI.....	84
4.4	Modelagem Computacional do Mecanismo de Wang Não Catalisado.....	87
4.4.1	Resultados Gerais (Vácuo).....	87
4.4.2	Efeito da Solvatação Implícita.....	90

4.4.3	Análise Estrutural dos Estados de Transição e IRC (Vácuo) .....	92
4.5	Modelagem Computacional do Mecanismo de Wang Catalisado .....	106
4.5.1	Resultados Gerais (Vácuo).....	106
4.5.2	Efeito da Solvatação Implícita .....	110
4.5.3	A Estrutura do TS do Ataque 1 Catalisado e Solvatado.....	116
4.5.4	Análise Estrutural dos Estados de Transição Encontrados e IRC (Vácuo) .....	117
5	Considerações Sobre a Etapa de Redução .....	122
6	Conclusões.....	126
7	Referências Bibliográficas .....	128
8	Apêndices .....	133
8.1	Mecanismos de fragmentação.....	133
8.2	Espectros obtidos por ESI-CID .....	134

## 1 Introdução

O interesse pelo estudo da natureza da matéria, seja ele motivado pela curiosidade, por motivos espirituais ou por fatores econômicos, acompanha a humanidade há milhares de anos e compreende não somente o desejo de entender como a matéria é estruturada fundamentalmente, mas também o desejo de entender como ela se transforma e como essas transformações podem ser manipuladas.

Por muito tempo tais assuntos foram foco de filósofos e alquimistas, que não possuíam o paradigma epistemológico fornecido pelo método científico e nem uma base de conhecimento sobre a natureza dos átomos e sobre a física quântica, de modo que não tinham condições de compreender fundamentalmente os fenômenos que permeiam as transformações químicas.

Foi com o desenvolvimento dos modelos atômicos modernos, bem como da teoria quântica, que eventualmente se tornou possível o estudo de aspectos fundamentais relacionados à reatividade química. Desde então, enormes avanços foram alcançados no que diz respeito ao desenvolvimento das bases teóricas da química moderna, de técnicas experimentais sofisticadas e da química computacional.

Hoje, existem abordagens variadas para estudar a reatividade química, que permitem a obtenção de informações muito valiosas. O conhecimento aprofundado a nível molecular sobre a reatividade em determinado sistema químico confere ao cientista muito mais liberdade (pelo menos em princípio) para fazer previsões a respeito do comportamento do sistema em situações variadas ou para imaginar possíveis modificações ou aplicações para ele. Isso é devido ao fato de que o comportamento químico estatístico que se manifesta a nível macroscópico é determinado ultimamente pelos processos que ocorrem a nível molecular, de forma que é muito difícil compreender, ainda que superficialmente, o comportamento de um sistema químico sem que se leve em consideração esses processos.

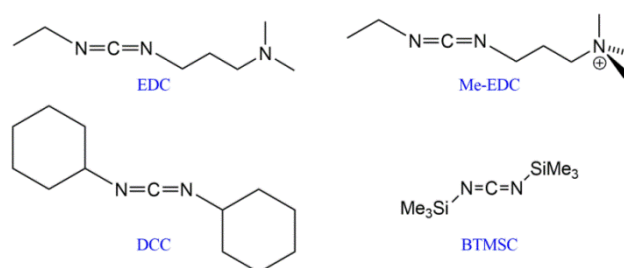
Portanto, não como em eras passadas, temos hoje a incrível possibilidade de obtenção desse tipo de conhecimento, que em muitos casos acaba por ser útil em aplicações práticas, tais como: o desenvolvimento de catalisadores; a avaliação ou mesmo predição de propriedades farmacológicas de moléculas; a promoção ou inibição de reações desejáveis ou indesejáveis em sistemas variados; a adequação de uma mesma reação às aplicações em diferentes contextos.

Naturalmente, diferentes informações são obtidas a partir de diferentes abordagens de estudo: muito do que sabemos hoje sobre os fundamentos da reatividade orgânica foi descoberto através de estudos cinéticos com alta carga de trabalho de bancada, empregando, por exemplo, efeitos isotópicos cinéticos ou relações lineares de energia livre para sondar propriedades estruturais de estados de transição; técnicas instrumentais avançadas, tais como a espectrometria de massas acoplada à cromatografia ou a espectroscopia, permitem a detecção e caracterização estrutural de intermediários por vezes existentes em baixíssimas concentrações nos meios reacionais; a química computacional, cada vez mais relevante, permite a modelagem da estrutura eletrônica de moléculas, a obtenção de curvas de energia potencial de reações, a simulação da dinâmica de reações, entre outros.

Neste projeto foi adotada uma abordagem que combina técnicas experimentais avançadas em espectrometria de massas para a detecção e caracterização de espécies e cálculos computacionais para a modelagem de estruturas e para a obtenção de dados espectroscópicos, termodinâmicos e cinéticos. Essa abordagem foi empregada na busca de informações a respeito de um sistema orgânico muito interessante do ponto de vista da reatividade química, no qual a formação dos produtos se dá através da interação entre espécies geradas em diferentes reações simultâneas.

### 1.1 As Carbodiimidas e a Reação de Wang

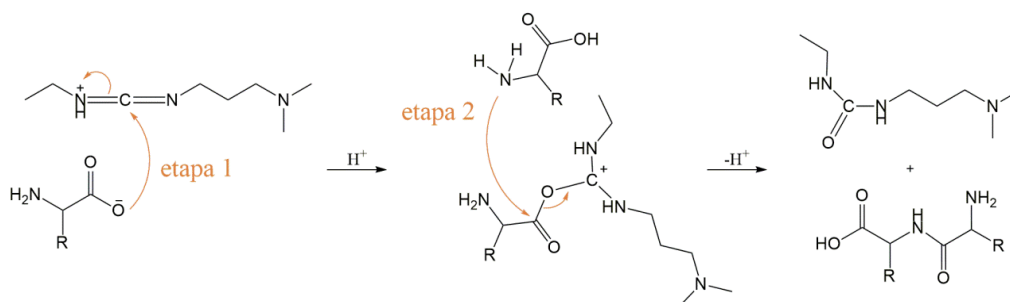
As carbodiimidas são espécies orgânicas caracterizadas pela presença de um carbono ligado a dois nitrogênios por ligações duplas (*Figura 1*). Naturalmente, a principal característica desses compostos em termos de reatividade é a alta eletrofilicidade de tal carbono.



**Figura 1.** Estrutura molecular de quatro carbodiimidas: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC); dicitlohexilcarbodiimida (DCC); EDC metilada (MeEDC); bis(trimetilsilil)carbodiimida (BTMSC).

Uma de suas principais aplicações, onde se observa a ação como eletrófilo, é no acoplamento de aminoácidos: as carbodiimidas são capazes de induzir a formação de ligações peptídicas entre grupos carboxila e amina sem introduzir partes de sua estrutura no produto. Isso costuma ser feito em meio aquoso com o emprego da EDC ou em meio orgânico com emprego da DCC (*Figura 1*)<sup>3-6</sup>.

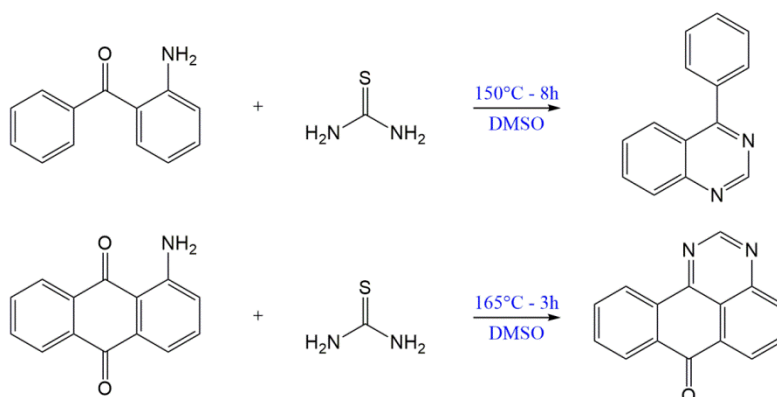
Essa reação ocorre em pelo menos duas etapas principais (*Esquema 1*). Na primeira delas a carbodiimida sofre um ataque do grupo carboxila e é formada uma ligação CO. Na segunda etapa, a carbonila que fazia parte do grupo carboxila original sofre um ataque da amina, levando à formação da ligação peptídica e à liberação de um subproduto com estrutura derivada da ureia e que contém toda a cadeia que originalmente compunha a carbodiimida<sup>3-6</sup>.



**Esquema 1.** Representação esquemática das duas principais etapas envolvidas na reação de acoplamento de aminoácidos mediada pela EDC. R representa uma cadeia lateral de aminoácido (a protonação da carbodiimida na primeira etapa não necessariamente ocorre no nitrogênio indicado).

Outra reação interessante envolvendo carbodiimidas é a síntese da 4-fenilquinazolina a partir da 2ABP (2-aminobenzofenona) e da tioureia em DMSO (dimetilsulfóxido) a 150°C, que foi estudada por Wang *et. al.* e, portanto, será referida como reação de Wang ao longo desta dissertação<sup>7,8</sup>. Neste caso, a carbodiimida é gerada *in situ* a partir da tioureia e então reage com a 2ABP, como será mostrado adiante.

Wang *et. al.* mostraram que essa reação pode ser realizada com diferentes reagentes, levando à formação de diferentes derivados da 4-fenilquinazolina ou de perimidinas. O *Esquema 2* retrata a reação de Wang em duas versões possíveis, levando à formação da 4-fenilquinazolina (em cima) ou de um derivado da perimidina (em baixo).



**Esquema 2.** Dois possíveis casos da reação de Wang. A reação de cima leva à formação da 4-fenilquinazolina e a de baixo leva à formação de um derivado da perimidina.

A importância prática dessas reações é que elas representam um método relativamente simples para o preparo de derivados da 4-fenilquinazolina e da perimidina: em apenas uma etapa experimental, sem necessidade da adição de catalisadores e de fácil *workup*.

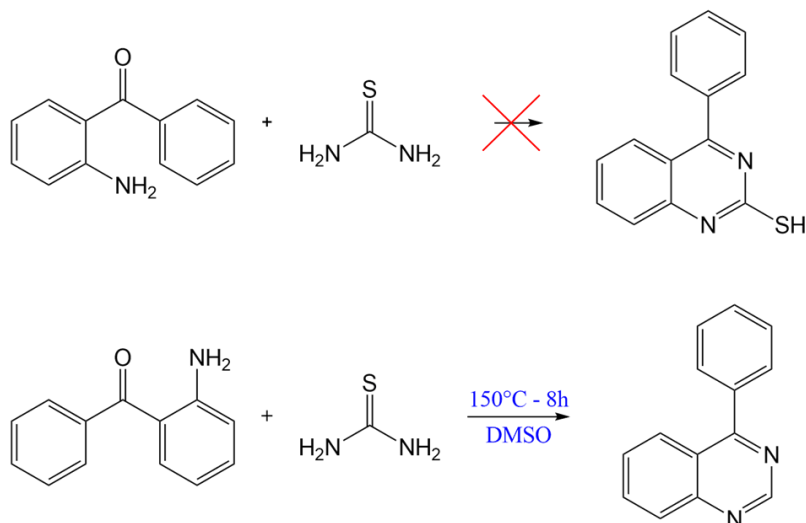
Derivados da quinazolina possuem vasta aplicação farmacológica<sup>9,10</sup>. O mesmo pode ser dito dos derivados da perimidina, que além disso também são de interesse para a engenharia de materiais<sup>11,12</sup>. Portanto, o desenvolvimento de métodos de síntese desses compostos é relevante, bem como o estudo de seus mecanismos.

O mecanismo da reação de Wang é o objeto de estudo do presente trabalho. Por ser o caso mais simples, a reação específica entre 2ABP e tioureia levando à formação da 4-fenilquinazolina (parte de cima do *Esquema 2*) foi tomada como sistema modelo e é o foco da grande maioria dos resultados aqui relatados.

O estudo do mecanismo não é interessante apenas do ponto de vista da físico-química orgânica envolvida, mas pode fornecer informações que serão úteis para futuros trabalhos caso procurem desenvolver reações parecidas ou mesmo adaptar ou aprimorar esse sistema reacional.

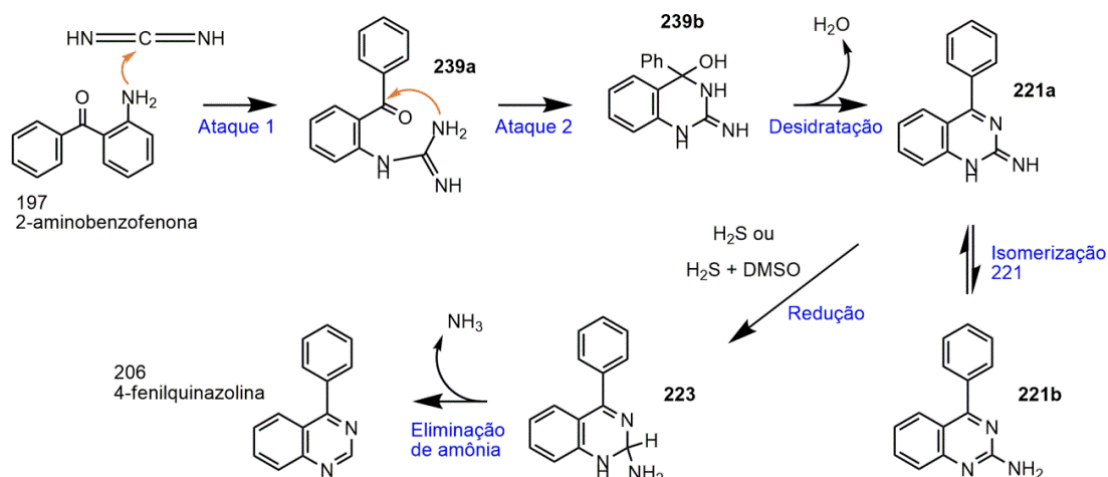
Inicialmente a reação de Wang foi desenvolvida por acidente. Após estudarem reações entre a tioureia e diferentes aminoácidos, Wang *et. al.* procuraram testar a reação entre a 2ABP e a tioureia esperando obter resultados similares. No entanto, quando essa reação foi

testada em DMSO, o produto obtido foi a 4-fenilquinazolina, subvertendo as expectativas dos pesquisadores, como mostrado no *Esquema 3*<sup>7</sup>.



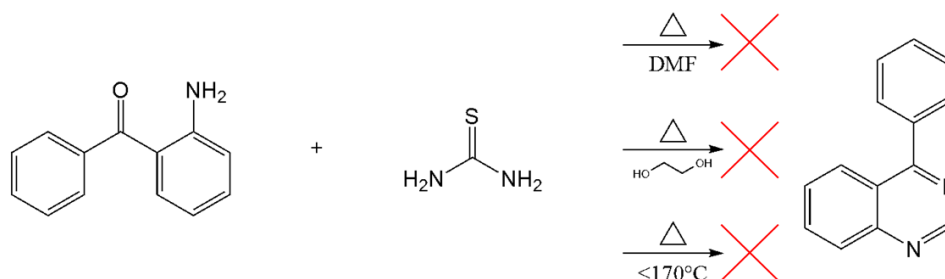
**Esquema 3.** Em cima: Resultado esperado por Wang et. al. para a reação entre tiourea e 2ABP; Em baixo, resultado obtido para a reação entre tiourea e 2ABP em DMSO<sup>7</sup>.

Então, intrigados pelo mecanismo dessa reação, Wang et. al. realizaram uma série de experimentos e eventualmente elaboraram uma proposta<sup>7</sup>. De acordo com essa proposta, inicialmente ocorre a decomposição da tiourea formando carbodiimida (HN=C=NH) e H<sub>2</sub>S. A reação entre 2ABP e carbodiimida dá início a uma série de etapas reacionais que levam eventualmente à formação do produto, as quais incluem uma etapa de redução supostamente mediada por alguma espécie sulfonada também produzida no meio a partir da decomposição da tiourea. O *Esquema 4* mostra o mecanismo proposto e introduz a nomenclatura que será usada ao longo do texto para os intermediários (em **negrito**) e para as etapas reacionais (em azul).



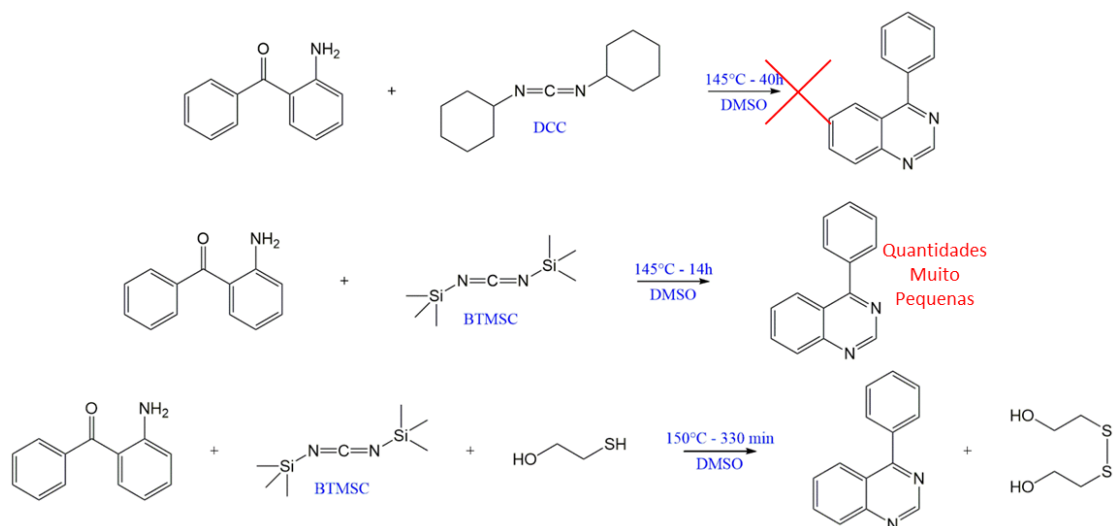
**Esquema 4.** Representação esquemática do mecanismo proposto por Wang et. al. para a reação de formação de 4-fenilquinazolina a partir de 2ABP e tiourea em DMSO<sup>7</sup>. Os números mostrados indicam a massa da molécula associada em unidades atômicas. Em **negrito** são indicados os nomes que serão usados para identificar os intermediários e em azul os nomes dados às etapas reacionais.

É importante mencionar alguns dos resultados obtidos por Wang *et. al.* durante sua investigação mecanística. A reação entre 2ABP e tioureia, quando realizada em DMF (dimetilformamida), em etilenoglicol, ou mesmo na ausência de solvente (com temperaturas mais altas que 170°C, causando o derretimento de ambos os reagentes), levou à formação apenas de quantidades muito pequenas de 4-feniquinazolina, quase indetectáveis, confirmando a importância do DMSO para o processo (*Esquema 5*).



**Esquema 5.** Representação esquemática das tentativas falhas de reprodução da reação de Wang em DMF, etilenoglicol e na ausência de solvente<sup>7</sup>.

Eles também realizaram experimentos testando reações entre a 2ABP e duas carbodiimidas diferentes em DMSO a 145°C: a DCC e a BTMSC (*Figura 1*). Sem a presença de quaisquer outros reagentes, a reação com a DCC não gerou o produto mesmo após 40h, mas a reação com BTMSC gerou quantidades detectáveis por GC/MS (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas) após 14h. No entanto, a adição do 2-mercaptoetanol (HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SH) ao meio reacional promoveu a reação com BTMSC e o produto já pôde ser detectado após apenas 110 minutos. A ideia era suprir a falta dos agentes redutores sulfonados produzidos com a decomposição da tioureia. Foi também testada a adição de ácidos (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou AlCl<sub>3</sub>), que acelerou tanto a reação com a tioureia quanto com a BTMSC. Alguns desses resultados estão ilustrados no *Esquema 6*.



**Esquema 6.** Resultados dos testes realizados por Wang *et. al.* para as reações entre (de cima pra baixo) 2ABP e DCC; 2ABP e BTMSC; 2ABP e BTMSC + 2-mercaptoetanol<sup>7</sup>.

Wang *et. al.* comentaram que possivelmente essas duas carbodiimidas seriam menos eficientes que a gerada *in situ* por serem mais estericamente impedidas e que a BTMSC poderia se decompor na carbodiimida menor (HN=C=NH) por rompimento das ligações fracas



C-Si, o que explica o melhor desempenho em comparação à DCC. Inclusive, foram apontados como possíveis motivos para a eficiência da catálise ácida tanto a promoção da decomposição da BTMSC quanto a protonação do intermediário 221 (*Esquema 4*), o que facilitaria a sua redução.

Esses pesquisadores também publicaram um trabalho computacional sobre a decomposição da tioureia no qual analisam diferentes caminhos reacionais levando a produtos variados<sup>13</sup>. O trabalho é bastante extenso e traz discussões também fundamentadas em dados experimentais. Os resultados apontam para a formação do H<sub>2</sub>S e da carbodiimida a partir da tioureia, dando suporte à proposta montada para o mecanismo da reação de Wang.

Por fim, o trabalho de Wang *et. al.* é bastante coerente e apresenta várias evidências experimentais relevantes para sustentar a proposta mecanística. No entanto, apenas um dos intermediários foi detectado por GC-MS<sup>7</sup>: o intermediário de massa 221 u (unidade de massa atômica, equivalente a Dalton – Da) foi detectado nas duas formas isoméricas 221a e 221b. Assim, é justificada a busca de mais evidências acerca dos intermediários e suas estruturas, bem como a modelagem computacional do mecanismo mostrado no *Esquema 4*.

## 1.2 Aceleração de Reações Químicas em Gotículas de Eletrospray

A aceleração de reações orgânicas em volumes confinados<sup>14-17</sup> é um fenômeno interessante que vem sendo estudado nos últimos anos. Esse fenômeno pode ocorrer em gotículas como as tipicamente geradas por ESI (*Electrospray Ionization*) ou ESSI (*Electrosonic Spray Ionization*), que é o caso de interesse para este trabalho, mas também em outras condições, como em filmes finos de solvente e em aerossóis naturais.

As causas da aceleração observada em gotículas são discutidas na literatura e podem envolver diferentes mecanismos. Dentre os fatores que podem estar envolvidos, são citados: o aumento na concentração de reagentes em decorrência da evaporação do solvente que constitui a gotícula; possíveis variações no pH das gotículas com relação ao pH da amostra; a grande razão área de superfície/volume característica das gotículas, que pode levar a alterações em energias de ativação em decorrência de efeitos de superfície. Esse assunto não será discutido aqui a fundo, mas maiores detalhes podem ser encontrados na revisão escrita por Yan *et. al.*<sup>14</sup>.

No que diz respeito a esse projeto, vale a pena apresentar os experimentos relatados em dois artigos, que serviram de inspiração para alguns procedimentos.

Bain *et. al.* observaram a aceleração da reação de Hatzsch em gotículas de ESI e puderam controlar o avanço da reação variando a distância de voo das gotículas entre a fonte de íons e a entrada do espectrômetro de massas<sup>15</sup>.

Os autores injetaram a mistura reacional na fonte de eletrospray e variaram a distância entre a fonte e a entrada do massas chegando até a distancias maiores que um metro. Com o aumento da distância, os espectros observados revelaram gradativo avanço da reação, com aumento na intensidade de sinais relativos aos produtos e a alguns intermediários.

Para possibilitar a obtenção de sinal a distâncias tão grandes, os autores colocaram um tubo de aço inoxidável entre a fonte de ESI e a entrada do massas, concentrando o fluxo de gotículas e protegendo-as de interferências atmosféricas.

O segundo trabalho<sup>18</sup> não abordou o fenômeno da aceleração em si, mas envolveu um procedimento experimental interessante. Os autores foram capazes de promover a fragmentação de analitos em gotículas de ESSI antes da entrada na região de vácuo do espectrômetro de massas. Para isso, eles colocaram um tubo de aço inox enrolado na forma de uma bobina entre a fonte de ESSI e o massas, concentrando o fluxo de gotículas. Esse tubo foi aquecido com uma fita de aquecimento, causando a fragmentação térmica dos analitos nas gotículas, que foi observada nos espectros de massa obtidos.

Como será relatado na seção 4.3, os procedimentos adotados nesses dois trabalhos serviram de base para alguns experimentos desenvolvidos neste projeto visando a tentativa de observação da aceleração da reação de Wang em gotículas de eletrospray.

### 1.3 Objetivos

O presente trabalho visa, a partir do acompanhamento de reações por espectrometria de massas, espectroscopia vibracional de íons IRMPD (*Infrared Multiple Photon Dissociation*) e da realização de cálculos computacionais de estrutura eletrônica, fornecer maiores detalhes sobre os mecanismos reacionais e os intermediários envolvidos na reação de Wang.

Mais especificamente, os objetivos envolvem a:

- Modelagem computacional do mecanismo de Wang por cálculos estáticos de estrutura eletrônica, com avaliações termodinâmicas, cinéticas e estruturais;
- Detecção e identificação, por ESI-MS (*Electrospray Ionization – Mass Spectrometry*) e espectroscopia IRMPD, de espécies envolvidos na reação de Wang original (entre tiourea e 2ABP) ou em versões com reagentes alternativos;
- Verificação da possibilidade da aceleração da reação de Wang em gotículas de eletrospray através do emprego de grandes distâncias de voo para as gotículas.

## 2 Fundamentação Teórica

### 2.1 Catálise Ácida de Bronsted

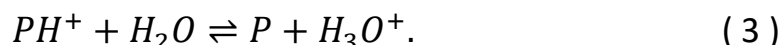
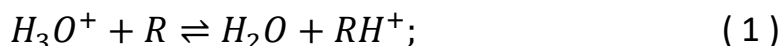
A catálise por ácidos de Bronsted constitui parte essencial da descrição mecanística de diversas reações orgânicas, é um dos processos mais fundamentais nessa área<sup>19-22</sup>. Inclusive, a reação de Wang conta com esse tipo de catálise. Portanto, é relevante que tal tópico seja apresentado.

A catálise por ácidos de Bronsted é classificada em dois tipos: catálise ácida específica (CAE) e catálise ácida geral (CAG). A seguir, serão dadas as definições e explicadas as principais características de cada tipo, em termos cinéticos e mecanísticos.

A CAE e a CAG possuem casos análogos na catálise básica que não serão abordados. Nesses casos, tanto os comportamentos quanto as demonstrações matemáticas são análogos aos aqui apresentados para a CAE e a CAG.

#### 2.1.1 Catálise Ácida Específica

A CAE é caracterizada pela existência de um equilíbrio de protonação anterior à etapa determinante da velocidade da reação<sup>19-21</sup>. Ou seja, sendo R o substrato (reagente) e P o produto, tem-se:



Assume-se uma reação unimolecular e em meio aquoso, mas o mesmo raciocínio pode ser aplicado para outros casos. A lei de velocidade da reação é dada por:

$$\frac{dP}{dt} = k[RH^+]. \quad (4)$$

Sabe-se, no entanto, que a constante de acidez de  $RH^+$  ( $K_{aRH}$ ) relaciona as duas concentrações  $[RH^+]$  e  $[R]$ . Portanto, fazendo essa substituição e as manipulações necessárias, a lei de velocidade se torna (onde  $k_{cat}$  é um agrupamento de constantes):

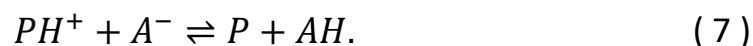
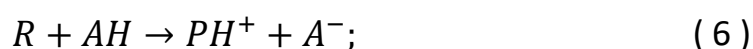
$$\frac{dP}{dt} = \frac{k[R][H_3O^+]}{K_{aRH}} = k_{cat}[R][H_3O^+]. \quad (5)$$

Isso significa que a velocidade da reação depende apenas das concentrações do reagente e do ácido específico daquele meio. "Ácido específico" é o nome dado à molécula de solvente protonada e é daí que vem o nome da CAE. No caso da água, o ácido específico é representado por  $H_3O^+$  e sua concentração é o pH. No caso do DMSO, por exemplo, o ácido específico é o  $(CH_3)_2SOH^+$ .

Cabe mencionar que, apesar da protonação ter sido representada com o ácido específico, não importa qual o ácido efetivamente responsável pela protonação do substrato (supondo que haja vários ácidos no meio). Como a protonação é considerada um pré-equilíbrio, o que realmente importa para a cinética é a concentração de  $RH^+$ , que por sua vez é dependente apenas da quantidade de prótons disponíveis no meio, que é expressa matematicamente pela concentração do ácido específico.

### 2.1.2 Catálise Ácida Geral

Na CAG, a transferência protônica participa da etapa determinante da velocidade da reação<sup>19-21</sup>. Portanto, sendo R o substrato (reagente), P o produto e AH um ácido de Bronsted qualquer, tem-se:



Assume-se uma reação em que apenas R e AH participam, mas o mesmo raciocínio pode ser aplicado para outros casos com mais reagentes. A lei de velocidade da reação é dada por:

$$\frac{dP}{dt} = k[AH][R]. \quad (8)$$

Neste caso, diferentemente do que se observa na CAE, não há uma substituição que elimine  $[AH]$  e  $[A^-]$  da lei de velocidade simultaneamente, ou seja, a velocidade da reação é dependente da concentração do ácido usado e também da sua natureza (já que ela influencia na constante k).

Como consequência disso, uma reação envolvendo CAG poderá ocorrer através de várias vias, uma para cada ácido de Bronsted presente no meio. Assim, a velocidade observada experimentalmente para a reação em um determinado momento será o somatório das velocidades de todas essas vias<sup>20,21</sup> (onde  $A_IH$ ,  $A_{II}H$  e  $A_{III}H$  representam diferentes ácidos de Bronsted):

$$\frac{1}{[R]} \frac{dP}{dt} = k_1[A_IH] + k_2[A_{II}H] + k_3[A_{III}H] + (\dots). \quad (9)$$

Portanto, quanto mais ácidos estiverem presentes no sistema, mais complicada será a lei de velocidade. No entanto, dependendo da concentração dos ácidos envolvidos e da constante de velocidade associada a cada um deles, a lei de velocidade poderá possivelmente ser aproximada por uma lei mais simples contendo menos termos.

A possibilidade de comparação entre as constantes de velocidade associadas a diferentes ácidos é estabelecida pela “Lei de Catálise de Bronsted”. Essa lei aponta uma correlação linear de energia livre entre a constante de velocidade associada a um ácido de Bronsted numa reação catalisada por CAG e a constante de acidez desse mesmo ácido: quanto

mais ácido for o ácido de Bronsted, maior a constante de velocidade que ele proporciona na CAG<sup>19-21</sup>.

Também é importante perceber que nada impede que um desses doadores de prótons seja o próprio ácido específico do meio. Portanto, é possível que, mesmo na CAG, a protonação pelo ácido específico seja cineticamente significativa. Inclusive, como o ácido específico é o ácido mais forte que pode estar disponível em quantidades apreciáveis em determinado solvente, a constante de velocidade associada a ele será, a princípio, a maior dentre todas elas. Assim, a relevância cinética do ácido específico ficará condicionada apenas à sua concentração (se sua concentração não for muito menor que a dos outros ácidos ele será relevante para a cinética na CAG).

## 2.2 A Química da Reação de Wang

Vale a pena discutir alguns detalhes relacionados à teoria das reações envolvidas no mecanismo de Wang (*Esquema 4*), para melhor contextualizar as discussões ao longo do texto.

Em especial, é relevante comentar as possibilidades de catálise ácida de Bronsted nesse sistema, dado que esse tipo de catálise é comum em reações como eliminações de H<sub>2</sub>O e NH<sub>3</sub>, ou ataques nucleofílicos, que constituem quase todas as etapas elementares da reação de Wang. Inclusive, Wang *et. al.* propuseram a possibilidade de que a protonação do intermediário de *m/z* 221 (razão massa/carga) pudesse facilitar a etapa de redução e até mesmo apresentaram resultados evidenciando a eficiência da catálise ácida no sistema, como mencionado anteriormente. A acidez do meio aparenta ser devida principalmente ao H<sub>2</sub>S produzido durante a decomposição da tiourea.

A primeira etapa consiste em um ataque nucleofílico intermolecular no qual se destaca a principal propriedade da carbodiimida, sua eletrofilicidade. Em termos de catálise ácida, uma etapa de pré-protonação da carbodiimida favoreceria o ataque, num caso de CAE.

É importante perceber, no entanto, que a protonação do grupo amina da 2ABP diminuiria sua nucleofilicidade a ponto de tornar o ataque inviável. Portanto, a catálise dessa etapa depende da existência de uma faixa de pH na qual a carbodiimida se encontra majoritariamente protonada e a 2ABP majoritariamente desprotonada, o que depende do pK<sub>b</sub> dos sítios básicos.

A segunda (ataque nucleofílico intramolecular) e a terceira (desidratação) etapas podem ser interpretadas juntas como uma tradicional reação de formação de iminas, numa variação intramolecular<sup>22</sup>.

Esse tipo de reação geralmente requer catálise ácida em função da etapa de desidratação, onde a protonação do grupo –OH o transforma em um grupo de saída bem mais eficiente. No entanto, a etapa do ataque é desfavorecida em pHs muito baixos devido à protonação do grupo amina, que é estatisticamente mais favorável que a protonação da carbonila e que atrapalha o ataque. Assim, tem-se um balanço entre as protonações do grupo de saída e do nucleófilo e o que se observa é uma faixa de pH em que a reação é favorecida por catálise (que a princípio seria CAE).

Analisando o ataque intramolecular isoladamente, ainda que seja estatisticamente improvável o ataque favorecido pela protonação da carbonila, é possível imaginar a ocorrência dessa protonação no contexto da CAG. Neste caso, a transferência de um hidrogênio para a carbonila e o ataque intramolecular ocorrem de forma concertada. Esse foi o modelo usado para modelagem desta etapa na sua versão catalisada para a parte teórica deste trabalho (seção 4.4.3.3).

A etapa de isomerização, que converte os intermediários 221a e 221b é uma simples tautomerização, cujo resultado também pode ser obtido através de equilíbrios consecutivos de protonação e desprotonação. Não é necessário, portanto, discutir a possibilidade de catálise ácida para esta etapa.

A etapa de redução é possivelmente a etapa mais complexa envolvida no mecanismo. Wang *et. al.* não apresentaram uma proposta mecanística para ela, mas discutiram alguns aspectos da mesma tendo como base seus resultados experimentais. Neste trabalho, não foram obtidos resultados experimentais e nem computacionais acerca da etapa de redução. No entanto, uma avaliação um pouco mais elaborada sobre essa etapa é dada ao final do texto, na seção 5.

A última etapa é uma simples eliminação de amônia, muito similar à etapa de desidratação. Aqui, a pré-protonação do grupo amina forma um ótimo grupo de saída  $-NH_3^+$ , num caso de CAE.

Certamente as duas eliminações (de amônia e água) ocorrem através de mecanismos do tipo  $E_1$ , ou com forte caráter de  $E_1$ . O principal motivo para isso é a falta de bases fortes em quantidades apreciáveis, já que se trata de um meio ácido. Além disso, o vasto sistema  $\pi$  conjugado tende a ajudar na estabilização da carga positiva do carbocátion intermediário e a CAE contribui fortemente para a eliminação dos grupos de saída.

### 2.3 Teoria do Estado de Transição

A modelagem computacional estática realizada neste projeto, bem como toda a discussão em torno do modelo apresentado e da cinética da reação de Wang, tem como base teórica o conceito do estado de transição (TS) e a teoria do estado de transição (TST – Transition State Theory).

A TST foi desenvolvida em 1935 simultaneamente por Eyring<sup>23</sup> e pela dupla Evans e Polanyi<sup>24</sup> e representou a culminação de uma série de trabalhos desenvolvidos previamente que procuravam compreender qualitativamente e quantitativamente a cinética de reações químicas do ponto de vista teórico<sup>25</sup>. Ela descreve sistemas ativados termicamente.

Em função de sua grande importância até hoje, a TST será brevemente apresentada. A derivação dada na seção 2.3.2 é similar à encontrada no livro de Arnaut, Formosinho e Burrows<sup>26</sup>, mas outros livros também são recomendados para diferentes derivações, discussões e pontos de vista sobre a teoria<sup>27,28</sup>.

### 2.3.1 Superfícies de Energia Potencial e o Conceito do Estado de Transição

Para compreender a dinâmica de reações químicas é útil pensar em termos de superfícies de energia potencial. O conjunto de átomos que compõe um sistema químico pode ser disposto de infinitas formas diferentes através de variações nas posições relativas dos núcleos atômicos (variações ao longo dos graus de liberdade do sistema), as quais levam à variações na sua energia potencial. Assim, pode-se imaginar uma superfície (em geral não visualizável em decorrência do grande número de graus de liberdade) que expressa a energia potencial do sistema em função de sua geometria.

Em uma superfície como essa, configurações correspondentes a compostos relativamente estáveis se encontram em mínimos locais de energia. O caminho de menor energia entre os reagentes e os produtos de uma reação é chamado de coordenada de reação e o ponto de mais alta energia nesse caminho é o TS, uma estrutura com geometria intermediária entre reagentes e produtos.

Em decorrência de sua definição, o TS é um ponto de sela, ou seja, é estabelecido pelo contato entre um ponto de máximo com relação ao grau de liberdade que caracteriza a reação (esse grau de liberdade inclui os movimentos de formação e quebra de ligações) e pontos de mínimo com relação aos outros graus de liberdade vibracionais do sistema.

A princípio é possível calcular, através do emprego da mecânica quântica e usando métodos numéricos, a energia potencial de um sistema químico como função de todos os seus graus liberdade. A partir daí, torna-se possível desvendar em detalhes a dinâmica do sistema durante determinada reação química e obter a análise cinética correspondente. No entanto, esse é um trabalho colossal, já que a complexidade dos cálculos é extremamente grande.

A alternativa é o emprego de teorias que, usando aproximações e modelos simplificados, oferecem panoramas mais práticos para o entendimento da cinética de sistemas químicos e o cálculo de taxas de reação. Dentre essas, a mais largamente empregada na química moderna é a TST. Ela permite o cálculo da constante de velocidade de reações requerendo apenas o conhecimento prévio da estrutura e das propriedades termodinâmicas dos reagentes e do estado de transição.

### 2.3.2 Derivação da Teoria do Estado de Transição

A derivação é aqui apresentada com algumas omissões sem prejudicar a progressão da dedução e com o propósito de manter o texto simples e direto. Cabe mencionar que, apesar dessa dedução levar em consideração uma reação bimolecular, a teoria se estende para outras molecularidades.

Essa derivação começa com um postulado no qual se estabelece que a transformação de reagentes em produtos se dá através de um processo como o representado na equação ( 10 ):



Onde A e B representam os reagentes, P representa os produtos e  $AB^\ddagger$  representa o TS, comumente marcado pelo símbolo  $\ddagger$ . A transformação de TS em reagentes se dá com a constante de velocidade  $k_1$ .

A taxa de reação é dada por:

$$\frac{dP}{dt} = k_1[AB^\ddagger]. \quad (11)$$

Esse início envolve a aplicação da aproximação do quase-equilíbrio, onde se considera que a velocidade da reação que leva do TS aos produtos é pequena quando comparada às velocidades das reações que levam dos reagentes ao TS ou do TS de volta aos reagentes, de modo que há aproximadamente um equilíbrio estático entre reagentes e TS. Assim, é possível dizer que existe uma constante de equilíbrio  $K_\ddagger$ , como mostrado na equação (12). Podem ser encontradas discussões na literatura a respeito da validade dessa aproximação<sup>25,29</sup>.

$$K_\ddagger = \frac{[AB^\ddagger]}{[A][B]} \quad (12)$$

$$\therefore \frac{dP}{dt} = k_1 K_\ddagger [A][B] = k[A][B] \quad (13)$$

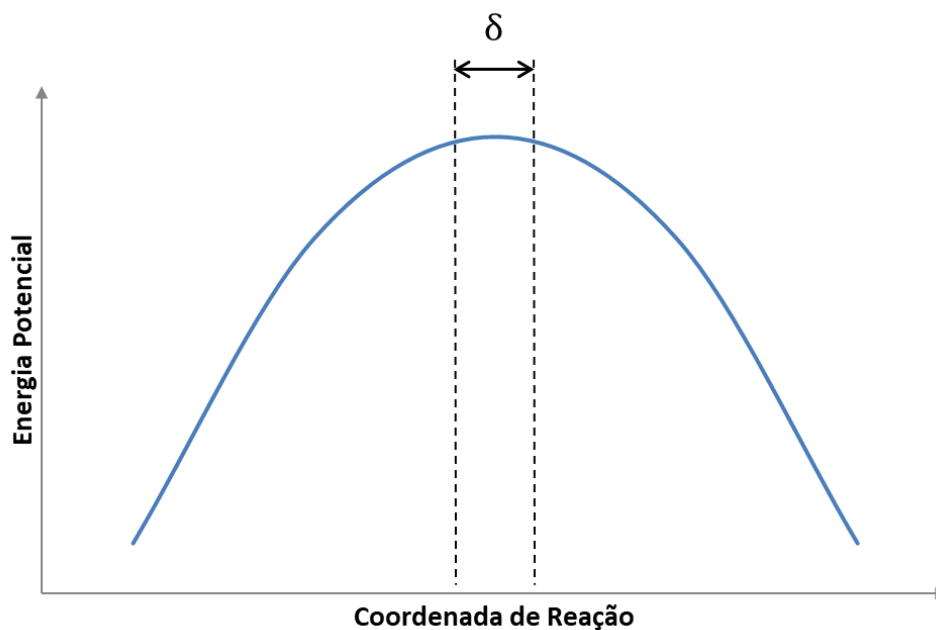
Na equação (13) encontra-se a expressão familiar para a velocidade de uma reação bimolecular, onde as constantes  $k_1$  e  $K_\ddagger$  são agrupadas numa única constante  $k$ . O que a TST permite é justamente calcular, a partir apenas de características das moléculas envolvidas, essa constante  $k$ . Para isso, é necessário obter expressões tanto para  $k_1$  quanto para  $K_\ddagger$ .

Para a próxima etapa, deve-se perceber que, como mostrado pela equação (11), a constante  $k_1$  pode ser interpretada como a frequência com a qual as espécies no estado de transição são convertidas em produtos (a frequência multiplicada pela concentração das espécies é igual a taxa de reação).

Então, assume-se que essa constante possa ser estimada tendo como modelo o movimento de translação de um sistema clássico em uma dimensão. A ideia é que o grau de liberdade associado à reação possa ser separado dos outros e tratado estatisticamente como um grau de liberdade translacional na imediata proximidade do máximo de energia potencial, pois sendo essa região suficientemente pequena, a energia potencial varia pouco com relação ao movimento nesse grau de liberdade (*Gráfico 1*)<sup>23</sup>.

Nesse contexto, a constante  $k_1$  é dada pela razão entre a velocidade média da translação ( $\bar{v}$ ) e a distância ( $\delta$ ) que deve ser percorrida. Essa distância representa a pequena região do espaço unidimensional na qual é definido o TS, a região no topo da barreira de potencial que o sistema deve atravessar para ir da região dos reagentes para a região dos produtos.





**Gráfico 1.** Representação da distância  $\delta$  em um gráfico que retrata a energia potencial em função da coordenada de reação nas proximidades do máximo da barreira de potencial.

$$k_1 = \frac{\bar{v}}{\delta} \quad (14)$$

A velocidade média é calculada usando a distribuição de velocidades de Maxwell-Boltzmann unidimensional (omitida) e o resultado é:

$$\bar{v} = \sqrt{\frac{k_b T}{2\pi m}} \quad (15)$$

Onde  $k_b$  é a constante de Boltzmann,  $T$  é a temperatura e  $m$  é a massa efetiva do sistema para o movimento em questão (a massa referente às partes do sistema que participam do movimento no grau de liberdade que caracteriza a reação). Então:

$$k = \frac{1}{\delta} \sqrt{\frac{k_b T}{2\pi m}} K_{\ddagger} \quad (16)$$

A mecânica estatística permite mostrar que a constante de equilíbrio  $K_{\ddagger}$  pode ser expressa em termo das funções de partição molares por unidade de volume dos reagentes e do produto ( $Q_A$ ,  $Q_B$  e  $Q_{\ddagger}$ ). Assim:

$$K_{\ddagger} = \frac{Q_{\ddagger}}{Q_A Q_B} e^{-\Delta E_0/RT}; \quad (17)$$

$$\therefore k = \frac{1}{\delta} \sqrt{\frac{k_b T}{2\pi m}} \frac{Q_{\ddagger}}{Q_A Q_B} e^{-\Delta E_0/RT}. \quad (18)$$

Onde R é a constante dos gases ideais e  $\Delta E_0$  é a diferença entre as energias de ponto zero molares do TS e dos reagentes calculadas para T = 0 K.

Agora, a função de partição  $Q_{\ddagger}$  é separada em um produto de duas funções,  $Q^{\ddagger}$  e  $Q_t$ . A primeira inclui todos os outros graus de liberdade do sistema e a segunda inclui apenas o movimento translacional do sistema ao longo da coordenada de reação e pode ser calculada usando a mecânica estatística (demonstração omitida – h é a constante de Planck):

$$Q_{\ddagger} = Q^{\ddagger} Q_t; \quad (19)$$

$$\therefore Q_{\ddagger} = Q^{\ddagger} \frac{\delta}{h} \sqrt{2\pi m k_b T}. \quad (20)$$

Substituindo esse resultado na equação ( 18 ), o fator ( $\delta$ ) é cancelado e obtêm-se a principal expressão fornecida pela TST para a constante de velocidade da reação:

$$k = \frac{k_b T}{h} \frac{Q^{\ddagger}}{Q_A Q_B} e^{-\Delta E_0/RT}. \quad (21)$$

Essa expressão possui outra forma muito importante. Para obtê-la, restaura-se  $K_{\ddagger}$  na equação ( 21 ):

$$k = \frac{k_b T}{h} K_{\ddagger}. \quad (22)$$

Então, emprega-se a relação entre a constante de equilíbrio e a energia livre de Gibbs padrão de ativação ( $\Delta^{\ddagger}G^o$ ), bem como a definição da energia livre de Gibbs (G), dadas nas equações ( 23 ) e ( 24 ).

$$\Delta^{\ddagger}G^o = -RT \ln K_{\ddagger} \quad (23)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (24)$$

Fazendo as manipulações necessárias, obtêm-se:

$$k = \frac{k_b T}{h} e^{-\frac{\Delta^{\ddagger}G^o}{RT}} = \frac{k_b T}{h} \exp\left(\frac{\Delta^{\ddagger}S^o}{R}\right) \exp\left(-\frac{\Delta^{\ddagger}H^o}{RT}\right). \quad (25)$$

### 2.3.3 Observações Sobre a Teoria do Estado de Transição

As equações ( 21 ) e ( 25 ) são os principais resultados matemáticos da TST e revelam os importantes panoramas conceituais oferecidos pela teoria. Como mencionado anteriormente, ela fornece a constante de velocidade de dada reação e requer apenas o conhecimento prévio das estruturas e das propriedades termodinâmicas do estado de

transição e dos reagentes (o que se reflete matematicamente no fato de  $k$  ser dada em função de  $\Delta^\ddagger G^0$ ), o que representa uma enorme simplificação em comparação ao cálculo da curva de energia potencial.

Porém, a TST apresenta sérios problemas que atrapalham sua aplicação quantitativa a sistemas complexos: é uma teoria simplificada baseada na mecânica estatística clássica que tenta descrever fenômenos quânticos. Vários pressupostos da teoria são aproximações potencialmente inadequadas, por exemplo: a modelagem da reação em termos de um movimento de translação através da coordenada de reação; a aplicação da distribuição de Maxwell-Boltzmann para a obtenção da velocidade média dessa translação; a aplicação da aproximação do quase-equilíbrio ao esquema reacional, levando à suposição de uma constante  $K^\ddagger$ ; etc.

Além disso, em termos práticos, mesmo a teoria sendo simplificada, sua aplicação a sistemas complexos não é nada trivial. Primeiro, sem o conhecimento completo da curva de energia potencial, não é fácil identificar a coordenada de reação, já que ela depende, por exemplo, da conformação das espécies. Sem mencionar que uma determinada reação pode ocorrer por caminhos sutilmente diferentes e que competem entre si.

Ademais, ainda é computacionalmente custoso realizar a modelagem computacional de sistemas químicos com métodos muito acurados. Em geral são empregados métodos mais baratos (como DFT – *Density Functional Theory*), o que também atrapalha na obtenção de resultados quantitativos com exatidão. Podem ser citados ainda outros obstáculos à modelagem computacional, como a necessidade da simulação de efeitos de solvente e a dificuldade prática envolvida na obtenção da estrutura de um estado de transição.

No entanto, é importante reconhecer que o maior valor da TST não está na sua capacidade de render resultados quantitativos, mas principalmente no panorama qualitativo que essa teoria fornece para o entendimento de reações químicas ativadas termicamente. Esse aspecto da TST foi largamente reconhecido<sup>25</sup> e ela se estabeleceu como a base conceitual para o entendimento básico de cinética e dinâmica química do ponto de vista teórico.

Um bom exemplo dessa capacidade está no fato de que a equação ( 25 ) permite que a constante de velocidade seja compreendida em termos de parâmetros termodinâmicos cujos significados são bem conhecidos tanto teoricamente quanto fenomenologicamente. Também permite que a dependência da constante de velocidade com relação à temperatura seja avaliada em termos desses mesmos parâmetros.

A TST é, portanto, muito útil como ferramenta para a previsão ou análise de tendências em cinética química tendo como base simplesmente aspectos estruturais das espécies envolvidas em dada reação e um conhecimento prévio de termodinâmica química.

## 2.4 Espectrometria de Massas

A história da espectrometria de massas é comumente contada a partir do importante experimento de J.J. Thomson, publicado em 1897, no qual ele foi capaz de medir a razão carga/massa do elétron usando um tubo de deflexão de raios catódicos<sup>30,31</sup>. Pouco depois, ele

também foi capaz de medir a carga do elétron isoladamente. Esses resultados foram considerados como o marco da descoberta do elétron e foram muito importantes na época, pois muitos cientistas se empenhavam em tentar compreender a natureza dos raios catódicos, bem como a estrutura interna dos átomos. No entanto, este foi também um marco importantíssimo para o desenvolvimento futuro da espectrometria de massas.

Com o passar de mais alguns anos, Thomson tornou-se responsável pela criação do que foi considerado o primeiro espectrômetro de massas, tendo sido capaz de medir a razão massa/carga de vários íons. Em 1913, ele já divulgava o potencial desse tipo de equipamento para análises químicas<sup>32</sup>.

Eventualmente a espectrometria de massas tornou-se um campo de estudo importantíssimo em química analítica e em físico-química, levando à criação de variados instrumentos com aplicações diversas e à popularização da técnica.

De fato, atualmente a espectrometria de massas pode ser considerada não como uma técnica específica, mas sim como uma vasta família de técnicas analíticas, já que abrange muitos tipos de instrumentos para muitos tipos de aplicações<sup>33,34</sup>. O fundamento que caracteriza essa família é a medida das razões  $m/z$  de íons.

Dentre os principais componentes que compõem um espectrômetro de massa estão a fonte de íons e o analisador, responsáveis respectivamente pela geração dos íons a partir da amostra e pela separação dos íons em função de sua razão  $m/z$  para que possam ser posteriormente detectados. Esses dois componentes são especialmente relevantes pois conferem ao instrumento as suas capacidades analíticas.

No presente trabalho, foi empregado um espectrômetro com ionização por eletrospray e análise em um *ion trap* 3D (amaZon SL – Bruker). Portanto, o foco desta seção será dado nesses dois componentes (em especial na ionização por eletrospray, cujo funcionamento exerce importante influência sobre os dados obtidos), bem como nas técnicas adicionais de caracterização de íons empregadas (CID – *Collision-Induced Dissociation* e espectroscopia IRMPD) e nos principais aspectos práticos relacionados à aplicação desse equipamento e dessas técnicas ao estudo de reações químicas. Já que existe grande variação na instrumentação empregada para espectrometria de massas, serão dadas características específicas do espectrômetro empregado (disponíveis no manual do usuário do amaZon SL<sup>35</sup>) para ilustrar as informações fornecidas ao longo do texto.

#### **2.4.1 Ionização por Eletrospray**

Os variados métodos de ionização em espectrometria de massas podem ser classificados, a princípio, com relação a três importantes aspectos: o estado físico das amostras usadas; as condições de pressão durante a ionização (pressão atmosférica ou algum nível de vácuo); a quantidade de energia fornecida às espécies durante a ionização e, como consequência, a extensão das fragmentações induzidas no processo (*Hard ionization* / *Soft ionization* – ionização dura / ionização suave)<sup>33,34</sup>.

A ESI<sup>33,34,36,37</sup> é uma técnica de *soft ionization* em fase líquida e sob pressão atmosférica. Muito diferente, por exemplo, da ionização eletrônica, a mais tradicional das técnicas de ionização, que se dá em fase gasosa, sob vácuo e induz extensa fragmentação (*hard ionization*).

A ESI se difundiu como técnica de análise a partir de trabalhos realizados na década de 1980 e se destacou por ser uma técnica de *soft ionization* que trabalha com soluções. Já haviam outras técnicas de *soft ionization* antes do desenvolvimento da ESI, bem como outras técnicas que transferiam íons de soluções para a fase gasosa, mas foi justamente a união dessas duas características, além da capacidade de ionização de macromoléculas, que tornou-a tão atrativa, em especial para algumas aplicações, como o estudo de intermediários reacionais ou o estudo de proteínas<sup>36,37</sup>.

Toda fonte de ESI possui dois elementos básicos, uma fonte de spray e uma interface que faz a separação entre o meio externo (pressão atmosférica) e o interior do espectrômetro (vácuo). Entre esses dois elementos (separados por uma distância da ordem de centímetros) é estabelecida uma grande diferença de potencial (entre 3 e 6 kV), que tem um papel importante no processo de ionização. Normalmente a voltagem é aplicada à fonte de spray, mas no caso do amaZon SL, ela é aplicada à interface do espectrômetro e a fonte de spray é aterrada.

A fonte de spray consiste em um tubo capilar, no qual é injetada a amostra na forma de solução. O forte campo elétrico estabelecido entre o capilar e a interface do espectrômetro faz com que se estabeleça um acúmulo de cargas na ponta do capilar e leva à formação de um “cone de Taylor”: a solução é puxada para fora do capilar, mas sem romper a tensão superficial do líquido, formando uma estrutura parecida com um cone. A voltagem pode ser positiva ou negativa, causando o acúmulo de cargas respectivamente negativas ou positivas no cone de Taylor, o que torna possível escolher entre a análise de ânions ou cátions com a mesma fonte.

A partir de determinada voltagem, a força elétrica vence a tensão superficial e gotículas de solução com concentração de carga passam a ser ejetadas do cone em direção à interface do espectrômetro, formando um spray. Para auxiliar na formação do spray, bem como na contenção do espalhamento do fluxo de gotículas, é empregado um fluxo de gás inerte (N<sub>2</sub>, no caso deste projeto) coaxial ao redor do capilar.

As gotículas voam em direção à interface do espectrômetro, atraídas pela força elétrica que atua em suas cargas. Durante esse trajeto, diferentes processos levam à diminuição das gotículas e eventualmente à formação dos íons dessolvatados. Esses processos serão discutidos em maiores detalhes adiante.

É interessante notar que a fonte ESI pode ser vista como um tipo especial de célula eletroquímica. A aplicação da diferença de potencial leva à formação de uma corrente de íons entre o spray e a interface do espectrômetro, enquanto elétrons são transferidos ou retirados da solução através de reações eletroquímicas ocorrendo na interface capilar/solução, de modo a restaurar a carga perdida e manter a neutralidade da solução. Já foram realizados experimentos comprovando esses processos, nos quais as espécies formadas por oxidação-redução foram detectadas<sup>36,37</sup>.

A interface do espectrômetro, bem como a trajetória dos íons em seu interior, pode variar de equipamento em equipamento, mas é comum que as gotículas restantes e íons livres (formados durante o voo), ao se aproximarem da interface, enfrentem um fluxo contrário de um gás inerte aquecido e emitido pelo equipamento, chamado de gás de secagem, cujo propósito será explicado adiante. A transição entre a região sob pressão atmosférica e a primeira região de pressão reduzida, no interior do espectrômetro, geralmente se dá através de um pequeno orifício ou de um tubo capilar, que por vezes é aquecido (o aquecimento tem o mesmo propósito do gás de secagem). No caso do amazon SL, usa-se o N<sub>2</sub> como gás de secagem e um capilar de vidro para a interface.

A passagem dos íons desde a atmosfera até a região onde é feita a análise ocorre com um sistema no qual a pressão é reduzida gradualmente por bombas de vácuo e os íons passam por compartimentos com pressões cada vez menores separados entre si por pequenos orifícios (*differential pumping system*)<sup>33</sup>. A transmissão dos íons nessa trajetória varia muito de equipamento em equipamento e é em geral auxiliada pela aplicação de diferentes artifícios como funis de íons e potenciais elétricos, mas os detalhes deste processo não são relevantes para a presente discussão. Qualquer que seja a trajetória, ela leva aos analisadores de massas para que a análise por espectrometria de massas possa ser realizada.

#### **2.4.2 Formação de Íons a Partir das Gotículas de Eletrospray**

O processo de formação de íons na ESI foi fonte de muitos estudos e de debate ao longo dos anos. Em essência, a formação dos íons livres se dá como consequência do processo de dessolvatação das gotículas durante o seu voo, que leva à formação de gotículas muito pequenas que, por sua vez, podem dar origem aos íons livres. Estabeleceram-se duas principais teorias que apontam mecanismos para explicar a formação dos íons, cada qual com seus méritos. Aqui será dada uma breve apresentação desses processos. Mais informações podem ser encontradas nas duas revisões de Kebarle *et. al.*<sup>36,37</sup>.

Assim que as gotículas de ESI iniciam seu voo, dá-se início também ao processo de dessolvatação: recebendo energia térmica das moléculas de gás atmosférico, essas gotículas gradualmente diminuem seu volume enquanto mantêm constante sua carga elétrica. Esse processo naturalmente tem um limite, pois em determinado momento a repulsão entre as cargas torna-se muito grande em comparação à tensão superficial do solvente. Então, ocorre o fenômeno conhecido como fissão de Coulomb, no qual as gotículas se rompem e distribuem material, levando à formação de outras gotículas.

Durante essa fissão, a gotícula precursora não se divide em gotículas com tamanho e carga similares, mas sim dá origem a um grande número de gotículas muito menores e com maior concentração de carga (carga/volume). Estudos experimentais estimaram que uma gotícula precursora perde, em decorrência da fissão, cerca de 2% da sua massa e entre 15% e 20% da sua carga. Esse processo pode ser compreendido matematicamente com uma breve análise da equação de Rayleigh (26), que fornece a carga  $Q$  em função do volume  $R$  a partir da qual uma gotícula sofre a fissão ( $\epsilon_0$  é a permissividade elétrica do vácuo e  $\gamma$  é a tensão superficial do solvente).

$$Q = 8\pi(\epsilon_0\gamma R^3)^{1/2} \quad (26)$$

Substituindo  $R^3$  por  $3V/4\pi$  (da expressão para o volume de uma esfera), obtêm-se:

$$Q = 4(3\pi\epsilon_0\gamma V)^{1/2}. \quad (27)$$

Portanto, a carga de fissão  $Q$  é diretamente proporcional à raiz quadrada do volume  $V$ . Com base nesse modelo, para que uma gotícula possa acomodar, por exemplo, um décimo da carga  $Q_0$ , ela precisa de um volume equivalente à apenas um centésimo do volume  $V_0$ , ou seja, gotículas menores conseguem acomodar maior concentração de carga.

Fundamentalmente isso se deve aos seguintes fatos: 1) a carga de um condutor carregado em equilíbrio eletrostático sempre se distribui pela superfície do mesmo; 2) a proporção (área superficial)/volume é maior para esferas menores.

Foi estimado teoricamente que uma perda de 2% da massa da gotícula precursora levaria à formação de 20 gotículas menores. Com essa redistribuição de carga, a fissão de Coulomb permite a estabilização do sistema e o início de uma nova etapa de dessolvatação seguida de outra fissão de Coulomb, na qual as gotículas menores geradas na fissão anterior podem atuar como precursoras, gerando uma nova geração de gotículas ainda menores.

Ao longo de vários ciclos como esse, as gotículas que se mantêm relativamente grandes e com menor concentração de carga, tendem a se tornar principalmente transportadoras de pares de íons positivos e negativos que acabam não chegando ao interior do espectrômetro de massas, ao passo que as gotículas geradas nas gerações tardias possuem altas concentrações de carga e participam do processo de formação dos íons livres.

O gás de secagem mencionado anteriormente tem justamente o propósito de auxiliar no processo de dessolvatação e prevenir a sobrevivência ou a formação de *clusters* de íons solvatados<sup>33</sup>. Efetivamente, ele impõe uma etapa final de dessolvatação bruta e descontínua antes da entrada dos íons no equipamento (em contraste ao processo de dessolvatação contínua e progressiva que ocorre com as gotículas durante a maior parte do seu voo)<sup>15</sup>.

Os dois principais modelos que explicam a formação dos íons livres são o Modelo de Evaporação de Íons – MEI (*Ion Evaporation Model*) e o Modelo de Resíduos de Carga – MRC (*Charge Residue Model*). De acordo com o MEI, íons livres podem ser emitidos diretamente da superfície das gotículas quando seu raio se torna menor que 10nm, num processo que leva à diminuição da concentração de carga das mesmas e, portanto, substitui a fissão de coulomb. Já o MRC, propõe que, em decorrência de extensa dessolvatação, uma gotícula acabe por se tornar um íon contendo toda a carga da gotícula.

Esses dois modelos não são opostos ou concorrentes, mas sim complementares. Eles foram desenvolvidos para explicar conjuntos de observações diferentes, de modo que ambos são válidos e em conjunto explicam a formação de íons em fontes de ESI. O MEI serve para explicar a formação de íons pequenos, tendo sido desenvolvido a partir do estudo de íons inorgânicos provenientes de uma solução de NaCl, como  $\text{Na}^+$  e  $\text{Na}(\text{H}_2\text{O})^+$ . Já o MRC foi desenvolvido para explicar a formação de íons de macromoléculas, contendo múltiplas cargas.

Adicionalmente, vale mencionar brevemente a existência de um terceiro modelo, mais restrito em seu escopo, referido como o Modelo de Ejeção de Cadeias – CEM (*Chain Ejection Model*)<sup>38-41</sup>. Ele descreve um fenômeno que ocorre durante a formação de íons a partir de proteínas desnaturadas, no qual inicialmente a extremidade da cadeia proteica é projetada para o exterior da gotícula carregada e então o resto da cadeia é progressivamente ejetado, parte por parte, até que a proteína é completamente separada da gotícula, levando consigo uma parcela da carga em excesso.

### 2.4.3 *Ion Trap* 3D e Espectrometria de Massas Tandem

O *ion trap* 3D<sup>33,34</sup> é um analisador para espectrômetros de massas que permite o encarceramento de uma população de íons em um pequeno volume. O processo de manipulação de íons realizado por esse instrumento é, em princípio, similar ao de um quadrupolo linear e as estruturas dos dois também tem semelhanças. Ambos utilizam combinações de diferentes potenciais elétricos em seus eletrodos para manipular a trajetória dos íons. No entanto, enquanto o quadrupolo guia íons através do volume que ele compreende, o *ion trap* 3D prende íons dentro de determinado espaço.

O *ion trap* 3D é composto por três eletrodos. Um deles possui formato de anel e os outros dois se assemelham a tampas, uma de cada lado do anel (e cada uma atravessada por um pequeno orifício), de modo a encobrir quase que totalmente um volume interno, no qual se estabelece vácuo. No caso do amaZon SL é estabelecida uma pressão base de  $10^{-9}$  bar no interior do *ion trap*. No entanto, esse valor não corresponde à pressão total na região, em decorrência da injeção de gás He diretamente no interior do *trap*, assunto que será abordado adiante.

Os íons, provenientes da amostra, adentram esse volume através do orifício em um dos eletrodos e passam a se mover em trajetórias estáveis nessa região. Tais trajetórias são induzidas através da aplicação de potenciais elétricos, que podem ser manipulados para a realização de diferentes tarefas. A mais essencial dessa tarefas é a varredura do espectro, na qual as trajetórias de íons numa pequena faixa de razões  $m/z$  específicas são perturbadas, fazendo com que estes íons sejam expelidos do *trap* através do orifício oposto àquele pelo qual chegaram, saindo em direção ao detector do equipamento. Variando continuamente a faixa de razões  $m/z$  detectadas, obtêm-se o espectro.

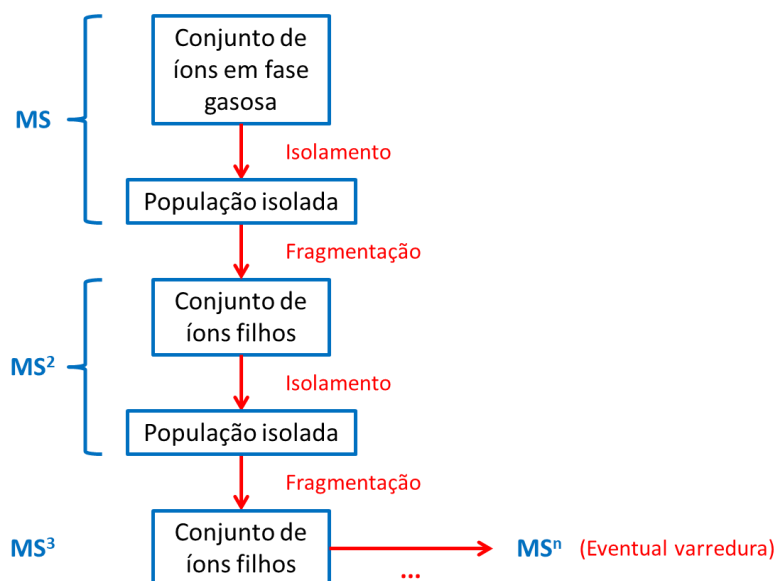
No entanto, a manipulação dos íons não é feita exclusivamente pelos potenciais elétricos. Para auxiliar nesse processo é estabelecida uma atmosfera inerte de baixa pressão geralmente de gás He. Esse gás tem importante atuação no aprisionamento dos íons, bem como na manutenção de suas trajetórias, pois, por possuírem cargas de mesmo sinal, os íons sofrem repulsão uns pelos outros e tendem a ocupar cada vez mais espaço. Em ambos os casos, o gás atua absorvendo parte da energia dos íons através de colisões e efetivamente esfriando-os<sup>33,34</sup>.

Uma das principais vantagens do *ion trap* 3D é a sua versatilidade. Além de obter o espectro de massas através da varredura, ele é capaz de selecionar pequenas faixas do espectro tornando apenas algumas trajetórias específicas estáveis e, dessa forma, isolar os



íons pertencentes a essa faixa, ejetando todos os outros. Uma vez que os íons são selecionados, é possível também promover colisões entre as moléculas de gás inerte e os íons presentes, levando à fragmentação dos íons na técnica conhecida como CID (collision induced dissociation), que será abordada adiante.

Tais tarefas podem ser alternadas e realizadas sequencialmente consecutivas vezes, tornando esse analisador extremamente adequado para a técnica conhecida como espectrometria de massas tandem (ou  $MS^n$ ), que comumente envolve o isolamento de uma faixa de razões  $m/z$ , seguido da fragmentação dos íons e da varredura do espectro, possibilitando a análise dos íons filhos. A repetição dessas etapas caracteriza o  $MS^n$ .



**Esquema 7.** Representação esquemática das etapas envolvidas na espectrometria de massas tandem ( $MS^n$ ).

No caso do *ion trap* 3D, tem-se o que se chama de espectrometria de massas tandem no tempo, já que as populações de íons são sempre manipuladas no mesmo espaço mas em diferentes etapas separadas por intervalos de tempo. Já na tandem no espaço, cada etapa de manipulação dos íons é realizada em um compartimento diferente. Isso pode ser feito, por exemplo, com sistemas de quadrupolos em sequência, como os triplos quadrupolos, onde cada quadrupolo realiza uma etapa do processo.

Em tal exemplo, a limitação do número de etapas se dá em função do número de quadrupolos, ao passo que, no caso do *ion trap* 3D, em princípio, não há um limite para o número de etapas que podem ser realizadas. No entanto, na prática, a cada etapa em que uma população de íons precisa ser retida no *trap*, parte dela é perdida, o que faz com que haja uma diminuição da intensidade observada nos sinais obtidos. No caso do amaZon SL, por exemplo, não é corriqueira a obtenção de dados além de  $MS^3$ , apesar de possível, como será mostrado em alguns dos resultados.

#### 2.4.4 Aplicação da ESI-MS ao Estudo de Reações Químicas

A espectrometria de massas é uma ferramenta muito útil para estudos qualitativos de mecanismos de reação, pois permite a observação direta de intermediários com curto tempo de vida provenientes do sistema reacional, no que é conhecido como “fishing” de intermediários de reações<sup>42-45</sup>. A ESI-MS é especialmente adequada para isso, já que, como mencionado anteriormente, permite a análise de amostras líquidas e tende a preservar a estrutura dos analitos.

Porém, pela própria natureza dessa técnica, a detecção de uma espécie só pode ser feita caso ela possua carga nativa, ou possa formar interações com outras espécies carregadas durante a ionização. Para análises corriqueiras por ESI-MS, o tratamento da amostra com aditivos, geralmente ácidos ou bases, permite que muitos dos analitos sejam detectados em sua forma iônica.

Entretanto, em estudos de mecanismos de reação, tal procedimento pode levar a obtenção de resultados errôneos, prejudicando a interpretação do mecanismo. Primeiramente, o tratamento do meio reacional com os aditivos faz com que as condições reacionais sejam alteradas, interferindo no processo a ser estudado. Caso a reação seja conduzida sem aditivos, para que as alíquotas sejam diluídas e condicionadas posteriormente, corre-se o risco de perder informações relevantes de intermediários de reação transientes, que não resistiriam aos tratamentos anteriores à análise por espectrometria de massas<sup>42</sup>. Principalmente quando fontes ESI são utilizadas, o meio reacional pode ser muitas vezes incompatível com a análise por MS, por conta de solventes inadequados ou alta carga de sais, fato que impõe a necessidade do preparo de amostra<sup>46,47</sup>.

Assim, no caso da ESI, dentre os principais fatores que determinam a detecção de um intermediário neutro estão: a disponibilidade de íons na amostra, a capacidade de interação do intermediário com esses íons, a interação entre o intermediário e o solvente, e a capacidade desse intermediário se manter estável durante o preparo de amostra e o processo de ionização.

A correlação entre um sinal detectado e o íon ao qual ele corresponde nem sempre é óbvia apenas com a razão  $m/z$ . Em alguns casos, uma mesma razão  $m/z$  (considerando instrumentos de baixa resolução – que não permitem a análise de casas decimais em Thomson) corresponde a dois agregados ou íons diferentes que podem ser gerados a partir do mesmo meio reacional. Em outros casos, a razão  $m/z$  detectada pode corresponder a dois ou mais isômeros estruturais que, por possuírem a mesma massa exata, não podem ser diferenciados.

Há diferentes métodos que podem auxiliar nessas situações, contribuindo para a identificação dos sinais detectados. Os dois principais métodos empregados no presente projeto são a espectrometria de massas tandem<sup>48,49</sup>, usando fragmentação por CID, e a espectroscopia IRMPD. A espectrometria de massas de alta resolução também foi empregada e é útil para a distinção de espécies com composições diferentes e massas próximas, mas incapaz da distinção entre isômeros.

O estudo de padrões de fragmentação é extremamente útil, pois permite testar hipóteses estruturais através da comparação entre os dados observados e as fragmentações que seriam esperadas<sup>50</sup>. Já a espectroscopia IRMPD fornece informações acerca das ligações presentes nos íons ou *clusters* através da obtenção de espectros vibracionais. Ela é especialmente interessante para a diferenciação entre isômeros, pois há casos em que eles não podem ser diferenciados por padrões de fragmentação, além de serem indistinguíveis por alta resolução.

O uso conjunto das técnicas citadas permite a obtenção de um conjunto de dados que, por ser mais abrangente, tende a oferecer maior confiança na identificação de espécies provenientes de um meio reacional.

#### 2.4.5 CID

A técnica conhecida como Dissociação Induzida por Colisão (CID – *Collision Induced Dissociation*)<sup>33,34,51,52</sup> é uma das diferentes maneiras de induzir fragmentações de íons em espectrometria de massas e envolve, de forma bem geral, duas etapas: a promoção de colisões entre os íons e moléculas neutras, com o intuito de ativar os íons (fornecer energia), seguida da decomposição unimolecular dos íons.

CID não é um processo tão simples<sup>51</sup>, pois pode ocorrer de diferentes maneiras, com resultados variados, dependendo das condições empregadas. Os diferentes fatores que afetam esse processo são, por exemplo, as energias disponíveis nas colisões, a escala de tempo que é empregada e a natureza dos íons e das moléculas neutras envolvidas.

A indução de fragmentações (não somente por CID) necessariamente envolve processos de transferência de energia, de modo a aumentar a energia contida nos graus de liberdade vibracionais dos íons possibilitando reações unimoleculares de decomposição.

No caso da CID, o primeiro passo é a transferência de energia para os graus de liberdade translacionais dos íons. Esses íons são então submetidos a colisões com moléculas de gases inertes, que levam a um aumento na energia interna do íon: parte da energia cinética envolvida na colisão é transferida dos graus de liberdade translacionais para os graus de liberdade rotacionais e vibracionais, ou mesmo eletrônicos, do íon.

Cabe mencionar que, apesar da energia poder ser depositada em graus de liberdade eletrônicos, em geral as decomposições ocorrem a partir de estados excitados vibracionais e não eletrônicos, pois as taxas de decomposição dos íons a partir de estados eletrônicos excitados tendem a ser consideravelmente menores que as taxas com as quais essa energia é transferida para os graus de liberdade rotacionais e vibracionais<sup>51</sup>.

Apesar de haver nuances com relação aos regimes nos quais a CID pode ser realizada, em geral é adequado classificar os experimentos entre CID de alta ou baixa energia. Essa classificação é baseada nas energias cinéticas envolvidas em cada colisão (energia cinética do íon calculada no referencial do laboratório): CID de baixa energia envolve energias cinéticas entre 1 e 100 eV, ao passo que CID de alta energia envolve energias da ordem de keV<sup>33,51</sup>.

Um modelo simples baseado na colisão de objetos rígidos<sup>33</sup>, no qual se considera que um deles está parado, mostra que apenas uma fração da energia translacional do íon fica disponível nas colisões e, portanto, disponível para conversão em energia interna. Essa fração equivale à energia cinética do sistema calculada no referencial do centro de massa. A equação ( 28 ) expressa a energia cinética no referencial do centro de massa  $E_{cm}$  em função da energia cinética calculada no referencial do laboratório  $E_{lab}$  e das massas do objeto parado (gás neutro) e do objeto em movimento (íon), respectivamente  $M_n$  e  $M_i$ .

$$E_{cm} = E_{lab} \left( \frac{M_n}{M_i + M_n} \right) \quad ( 28 )$$

No entanto, essa é apenas a energia máxima que estaria disponível no caso de uma colisão totalmente inelástica. A energia que é de fato convertida para energia interna do íon é menor e depende de outros fatores, que não são muito relevantes para a presente discussão.

Em CID de alta energia, a ativação dos íons é rápida e eles tendem a sofrer fragmentação após apenas uma ou muito poucas colisões (menos de 10)<sup>51</sup>, pois há muita energia contida em cada colisão. Isso faz com que os padrões de fragmentação obtidos tendam a ser mais reprodutíveis e mais complexos, contendo uma grande quantidade de fragmentações possíveis, já que, com alta energia interna, tanto as fragmentações que requerem baixa energia quanto as que requerem alta energia podem ser acessadas<sup>34</sup>.

Já em CID de baixa energia, a ativação dos íons ocorre de forma lenta, através de uma grande quantidade de colisões e com intervalos de tempo significativos entre elas. Por isso, existe tempo suficiente entre as colisões para que a energia interna do íon seja redistribuída entre seus graus de liberdade vibracionais e para que ele sofra transformações químicas. Isso traz duas consequências práticas importantes: com CID de baixa energia, os padrões de fragmentação tendem a exibir as fragmentações mais acessíveis cineticamente e os mecanismos envolvidos podem ser mais complexos, podendo conter, por exemplo, etapas de rearranjos ou isomerizações<sup>33,34</sup>.

Essa é uma classificação relativamente grosseira e tem o propósito apenas de dar uma noção do caráter geral dos processos. É importante saber que tudo realmente depende das condições específicas empregadas em cada experimento. É possível, por exemplo, observar reações de isomerização em fragmentações com CID de alta energia, apesar disso ser mais comum em CID de baixa energia<sup>51</sup>.

Quando realizada em analisadores do tipo *íon trap* 3D, a CID empregada é a de baixa energia, que é mais adequada, já que esse analisador tem a capacidade de manter íons encarcerados por tempos relativamente grandes e não é capaz de fornecer a eles energias cinéticas muito altas, que fariam com que os íons fossem ejetados do *trap*. Outros analisadores como o setor magnético ou o tempo de voo são mais adequados para trabalhar com feixes de íons de alta energia translacional<sup>33,51</sup>.

No caso do *íon trap* 3D, as trajetórias estáveis dos íons pré-selecionados de uma curta faixa de razões  $m/z$  são perturbadas pela aplicação de uma radiofrequência ressonante, de modo a aumentar a energia cinética translacional dos mesmos. Por estarem mais velozes, eles

têm maior probabilidade de colisão com as moléculas de gás inerte presentes no *trap*. Durante o período em que estão sendo excitados, os íons sofrem colisões sequenciais que levam a um aumento progressivo na sua energia interna e eventualmente à fragmentação.

Uma das peculiaridades desse processo é que os íons filhos gerados pelas fragmentações não têm suas trajetórias excitadas pela mesma frequência ressonante que os íons pai e, portanto, não recebem energia adicional uma vez que são formados. Naturalmente, os íons filhos ainda carregam parte da energia do precursor, que pode ou não ser suficiente para levar à fragmentações subsequentes<sup>51</sup>.

Essa característica faz com que muitas vezes sejam necessárias etapas de CID subsequentes ( $MS^n$  com  $n > 2$ ) caso se queira observar a fragmentação dos íons filhos. Isso pode ser uma vantagem, pois em alguns casos é possível saber que algumas fragmentações ocorrem a partir dos íons pai e outras a partir dos íons filhos, o que facilita a análise dos resultados.

O *ion trap* do amaZon SL utilizado permite, em experimentos com CID, a variação da amplitude da radiofrequência ressonante empregada, bem como o tempo de exposição dos íons à essa radiofrequência (ambas dentro de certos limites), além de algumas outras funcionalidades. É possível realizar várias etapas de CID, variando em cada uma delas a faixa de razões  $m/z$  isoladas e excitadas, a intensidade da radiofrequência aplicada e o tempo de sua aplicação, o que torna esse equipamento bastante versátil para experimentos de MS tandem.

#### 2.4.6 Espectroscopia IRMPD

A espectroscopia IRMPD<sup>51-56</sup> (*infrared multiple photon dissociation* – dissociação com múltiplos fótons no infravermelho) é um tipo de espectroscopia de ação na faixa do infravermelho para íons em fase gasosa. O que a caracteriza como uma espectroscopia de ação em contraposição à espectroscopia vibracional comum é que ela mede o efeito da radiação no sistema e não sua absorção, mas ambas fornecem espectros vibracionais moleculares. A impossibilidade do emprego da espectroscopia de absorção no estudo de íons por MS se deve ao fato de que ela não é sensível o suficiente para registrar a absorção de radiação pelas populações de íons muito pouco densas que são analisadas em espectrometria de massas<sup>52,53</sup> (em geral menores que  $10^8$  moléculas por  $cm^3$ )<sup>53</sup>.

Antes de entrar em maiores detalhes, é interessante compreender o processo que leva à obtenção de um espectro de IRMPD como um processo que envolve três etapas: a ativação dos íons em fase gasosa através da exposição à radiação infravermelha; a decomposição unimolecular desses íons; a medida da extensão de fragmentação (proporção íons filhos/íons totais) em função do comprimento de onda usado para a ativação. O conjunto dessas três etapas é repetido várias vezes, sempre com uma pequena variação no comprimento de onda, de modo a se obter um espectro aproximadamente contínuo.

A ativação dos íons se dá através da absorção de múltiplos fótons da faixa do infravermelho, que são fornecidos ao sistema através do uso de um laser sintonizável. A cada fóton absorvido, a energia interna do íon aumenta um pouco e, eventualmente, depois de

diversos ciclos de absorção e redistribuição de energia interna nos seus modos vibracionais, o íon atinge um limite energético de dissociação e fragmenta, produzindo íons filhos.

Naturalmente, a absorção dos fótons é condicionada à ressonância entre a frequência natural de algum modo vibracional do íon e a frequência dos fótons irradiados. Se não há ressonância, os fótons não são absorvidos e o íon não fragmenta. Além disso, a extensão da fragmentação observada é diretamente proporcional à absorção dos fótons, por isso é possível construir um espectro vibracional com a medida dessa extensão, sendo este o fundamento da espectroscopia IRMPD.

É essencial a compreensão de que, apesar dos processos de absorção serem dependentes da ressonância entre um determinado modo vibracional e a frequência da radiação incidente, a fragmentação não decorre necessariamente do rompimento de ligações associadas a esse mesmo modo vibracional, que é chamado de modo bomba (*pump mode*).

A ativação dos íons envolve vários eventos de absorção sequenciais, com intervalos de tempo entre eles, nos quais a energia recém absorvida no modo bomba é distribuída rapidamente entre todos os modos vibracionais do íon antes que uma nova absorção ocorra. Tal fenômeno, chamado de redistribuição vibracional intramolecular (*intramolecular vibrational redistribution* – IVR), faz com que a energia adquirida com cada fóton contribua para uma elevação gradual da energia interna do íon, distribuída entre todos os seus modos vibracionais.

É também esse fenômeno que permite que o modo bomba possa absorver sequencialmente mais de um fóton com o mesmo comprimento de onda durante o início da ativação. Em princípio, em decorrência da anarmonicidade dos modos vibracionais, isso não deveria ser possível. No entanto, após a IVR, o modo bomba é restaurado no estado fundamental e fica livre para uma nova absorção<sup>51,53</sup>.

Ainda assim, a frequência de absorção do modo bomba é progressivamente alterada quando o íon se aproxima de energias internas mais altas, mas isso deixa de ser um problema, pois a densidade de níveis de energia do conjunto dos modos vibracionais do íon se torna progressivamente maior, até que eles passam a ser descritos num regime quase-contínuo, no qual há um grande número de níveis de energia acessíveis e com energias muito próximas umas das outras. Nesse regime, o íon é capaz de absorver fótons com qualquer comprimento de onda naquela região do espectro<sup>51,53</sup>.

Pode-se estabelecer alguns paralelos entre a ativação que ocorre na espectroscopia IRMPD e a ativação por CID de baixa energia, descrita anteriormente. Apesar da transmissão de energia se dar de formas diferentes, em ambos os casos a ativação ocorre de forma relativamente lenta e em múltiplas etapas, sempre permitindo a sua distribuição. Assim, as fragmentações induzidas por IRMPD também tendem a ocorrer pelos caminhos cineticamente mais favoráveis e podem envolver isomerizações ou rearranjos intermediários. Assim, em muitos casos, os padrões de fragmentação obtidos pelos dois processos são os mesmos.

É importante esclarecer que, apesar de ser um espectro vibracional de ação, o espectro IRMPD é um espectro vibracional que em geral pode ser interpretado de forma semelhante a um espectro vibracional de absorção. A diferença está apenas na forma indireta através da qual a informação é obtida. Ademais, como esta técnica é conduzida diretamente

em fase gasosa com os íons isolados, os resultados podem ser prontamente comparados com cálculos de estrutura eletrônica em vácuo para permitir a elucidação da natureza dos íons observados<sup>53,54,57</sup>.

O *ion trap* amaZon SL empregado no presente projeto foi adaptado pelo grupo de pesquisa para o acoplamento com um laser de bancada e para a realização da espectroscopia IRMPD<sup>58</sup>. O laser de bancada é composto com um laser de Nd:YAG operando em 1064 nm acoplado a um sistema OPO/OPA<sup>53</sup>, que permite a sintonização do número de onda da radiação de saída em diversas faixas, incluindo a faixa de 2300-4000 cm<sup>-1</sup>. Para aquisição do espectro na região do *fingerprint*, abaixo de 2000 cm<sup>-1</sup>, onde outras informações espectrais podem ser obtidas, abordagens criogênicas ou dependentes de lasers de elétrons livres baseados em feixes de elétrons acelerados precisariam ser utilizadas<sup>53</sup>.

Enfim, cabe uma descrição de como é obtido um espectro IRMPD a partir dos dados de fragmentação. A reação de fragmentação dos íons isolados em fase gasosa na espectroscopia IRMPD pode ser descrita como uma reação de primeira ordem e, portanto, sua cinética é dada matematicamente pela seguinte lei de velocidade, em que  $[A]_t$  representa a concentração do reagente no tempo  $t$  e  $[A]_0$  representa a concentração do reagente no momento inicial:

$$\ln \frac{[A]_t}{[A]_0} = -kt. \quad (29)$$

As concentrações dos íons no *ion trap* são diretamente proporcionais à intensidade dos respectivos sinais, portanto,  $[A]_t$  é proporcional à intensidade do sinal do íon pai ( $I_A$ ) e  $[A]_0$  é proporcional ao somatório das intensidades do sinal do íon pai e dos íons filhos, supondo que não haja perda de íons no *trap*. O parâmetro chamado de eficiência de fragmentação (EFF) é definido conforme a equação (30)<sup>56,58</sup>:

$$EFF = -\ln \left( \frac{I_A}{I_A + \sum I_{filhos}} \right). \quad (30)$$

Como o tempo de exposição dos íons ao feixe de laser é mantido fixo independentemente do comprimento de onda usado, esse parâmetro funciona como uma medida da quantidade de fragmentação e se relaciona diretamente à absorção de fótons pelo íon pai. O equipamento faz uma varredura de comprimentos de onda e registra o espectro de massas após irradiação com cada comprimento (para cada espectro é usada uma nova população de íons proveniente da amostra). Para construção do espectro, a EFF é representada em função do comprimento de onda associado.

### 3 Metodologia

O projeto relatado nessa dissertação pode ser dividido primeiramente em duas partes, uma experimental e outra computacional. As três sessões de resultados experimentais são referentes, em termos gerais, aos seguintes procedimentos:

- Monitoramento da reação de Wang original através da retirada e análise de alíquotas em diferentes tempos corridos de reação. Tentativas de identificação de espécies encontradas no meio reacional – seção 4.1.
- Preparação de reações similares usando derivados da 2-aminobenzofenona. Análise dos meios reacionais após 3 horas de reação – seção 4.2.
- Tentativa de aceleração da reação de Wang em gotículas de ESI – seção 4.3.

Os principais métodos empregados para a obtenção de dados experimentais são a espectrometria de massas por eletrospray (ESI-MS) a fragmentação por CID (*Collision Induced Dissociation*), e a espectroscopia IRMPD<sup>54</sup> (*Infrared Multiphoton Dissociation*), todos realizados em um espectrômetro de massas do tipo *ion trap* 3D amaZon SL (Bruker), modificado por nosso grupo de pesquisa para a realização de espectroscopia vibracional de íons IRMPD conforme apresentado na literatura<sup>58</sup>. Os espectros IRMPD obtidos foram comparados à espectros teóricos calculados usando os métodos que serão informados ainda nesta seção.

Esse espectrômetro é um equipamento de baixa resolução, no qual não é adequado levar em consideração diferenças entre  $m/z$  de menos de 0,5 Th (Thomson). Ele possui dois modos de aquisição de espectros, denominados “*ultra scan*” e “*enhanced resolution*”. O primeiro deles tende a gerar sinais com maior intensidade e é mais veloz, ao passo que o segundo proporciona uma resolução um pouco maior (apesar de ainda ser baixa no contexto geral de espectrometria de massas), que é útil em alguns casos para confirmar a  $m/z$  atribuída aos íons (mesmo nesse modo não é adequado levar em consideração diferenças entre  $m/z$  de menos de 0,5 Th). A distinção entre esses modos não é diretamente relevante para as discussões realizadas ao longo do texto, mas foi feita apenas para esclarecer a diferença entre alguns dos espectros dados nos apêndices (seção 8.2).

Para a obtenção de espectros IRMPD, empregou-se uma fonte de laser de bancada Continuum Surelite II Nd:YAG (1064 nm, 530 mJ/pulso, 10 Hz, 10 ns), acoplada a um sistema OPO/OPA (Laservision, Bellevue, WA, USA), que permite a sintonização do laser de forma eficiente na faixa 2300-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Para a construção dos gráficos, os dados dos espectros IRMPD foram “alisados” com o método Savitzky-Golay implementado no pacote OriginPro 9.

Uma análise de ESI-MS de alta resolução foi realizada para este projeto pela Central Analítica do Instituto de Química da USP em um espectrômetro de massas do tipo *tempo de voo* MAXIS 3G (Bruker) por infusão direta.

Todas as vezes em que foi empregado banho de óleo nos procedimentos que serão detalhados, a temperatura foi controlada por uma placa de aquecimento com termômetro e regulação automática de temperatura. O termômetro foi sempre inserido no óleo.

A parte teórica do projeto envolve a modelagem computacional do mecanismo de Wang através de cálculos estáticos nos quais as estruturas de intermediários e estados de



transição foram otimizadas e suas propriedades termodinâmicas obtidas, permitindo a montagem de curvas de energia livre de Gibbs e de tabelas de dados termodinâmicos. Esse trabalho foi dividido em duas partes:

- Modelagem do mecanismo proposto por Wang na sua versão não catalisada (apenas espécies neutras) – seção 4.4.
- Modelagem do mecanismo de Wang com catálise ácida de Bronsted – seção 4.5.

Todos os cálculos de estrutura eletrônica e de frequências vibracionais foram feitos com o programa Gaussian09<sup>59</sup> e usando o método DFT (*Density Functional Theory*) e o par funcional/função de base: M06-2X/6-31+G(d,p). O programa Spartan16<sup>60</sup> foi empregado em alguns casos para buscas conformacionais usando os métodos de mecânica molecular com o campo de força MMFF ou semi-empírico com campo de força AM1.

A escolha do par funcional/função de base foi baseada em um estudo publicado pelo nosso grupo de pesquisa<sup>57</sup> que avalia especificamente a aplicabilidade das metodologias de DFT para o uso com IRMPD. Nesse estudo foi verificado que o par M06-2X/6-31+g(d,p) possui ótimo custo benefício para a modelagem de espectros vibracionais. Para padronização da metodologia, decidiu-se usar esse par em todos os cálculos, tanto na modelagem dos mecanismos quanto na modelagem de espectros vibracionais para comparação com IRMPD. No segundo caso, os espectros calculados foram ajustados com um fator de escala de 0,947, reportado na literatura<sup>57</sup>.

Todos os TS otimizados foram verificados pela presença de apenas uma frequência vibracional imaginária e submetidos à cálculos de IRC (*Intrinsic Reaction Coordinate* – coordenada de reação intrínseca), para confirmação da conectividade. O *stepsize* empregado para os cálculos de IRC foi otimizado quando necessário. Em todos os gráficos dados em função de valores de IRC, esses valores são fornecidos em unidades de  $u^{1/2}$ Bohr (onde  $u$  é a unidade de massa atômica e Bohr é o raio de Bohr), mais comumente encontradas como  $amu^{1/2}$ Bohr. Essas unidades são explicitadas nos eixos dos gráficos, mas omitidas no texto.

Os mecanismos foram inicialmente modelados no vácuo, mas depois o efeito da solvatação foi simulado com solvente implícito, devido ao baixo custo computacional. O modelo escolhido foi o SMD<sup>61</sup>.

Apesar desse modelo ter um desempenho pior na simulação do DMSO em comparação a outros solventes<sup>62</sup>, o SMD é, em geral, consideravelmente mais acurado que o método PCM<sup>61</sup>. Já foi mostrado que é possível obter resultados melhores com o PCM na simulação de barreiras de energia livre de reações aniônicas em solventes polares apróticos<sup>63</sup>, no entanto, os autores deste estudo empregaram uma parametrização especial para o modelo. Não foram encontradas evidências na literatura de que o PCM possa oferecer melhores resultados que o SMD quando usadas as configurações padrão implementadas no Gaussian09.

Todas as estruturas (incluindo os mecanismos catalisado e não catalisado e os casos com ou sem solvatação implícita) foram submetidas ao cálculo de modos vibracionais e correções termodinâmicas a 150°C (423,15 K) após a otimização.

Para a montagem das várias curvas de energia livre de Gibbs foi usado o programa mechaSVG<sup>64</sup>, disponível livremente em: <https://github.com/ricalmang/mechaSVG>.

### 3.1 Reação de Wang Tradicional

A reação de Wang foi reproduzida em laboratório em um balão de três bocas de 125mL, sob refluxo, contendo 15mL de DMSO. Foram empregadas as concentrações usadas no procedimento térmico original<sup>7</sup> (1,5 M de 2ABP e 4,5 M de tioureia), bem como as condições de temperatura (150°C em banho de óleo). Uma das bocas do balão foi tampada com tampa de vidro e a outra com um septo, permitindo a coleta de alíquotas com seringa de vidro e agulha de metal. Alíquotas foram retiradas em intervalos de 1h30min, nos tempos: 0 min (logo após o preparo do sistema), 1h30min, 3h, 4h30min, 6h, 7h30min. Essas alíquotas foram preparadas para análise e então analisadas no espectrômetro de massas do laboratório.

O preparo de amostra foi feito da seguinte forma: as alíquotas retiradas do meio reacional foram diluídas em  $10^4$  vezes em cada um dos seguintes solventes ou misturas de solventes: acetonitrila, metanol, 1:1 acetonitrila e água ou 1:1 metanol e água. Essas amostras diluídas foram injetadas na fonte de ESI em uma concentração final aproximada de  $10^{-4}$  vezes a concentração do meio reacional.

Após o final da reação, o sobrenadante foi separado do precipitado e foi guardado em um frasco de vidro tampado para análises adicionais, nas quais o preparo de amostra foi feito da mesma forma.

Verificou-se que o espectro do sobrenadante não sofreu alterações significativas com o passar do tempo e, portanto, muitas alíquotas foram retiradas para realização de análises adicionais, incluindo obtenção de padrões de fragmentação e a análise em espectrômetro de alta resolução, para a qual a amostra foi preparada com diluição em mistura 1:1 água/acetonitrila.

A análise dos dados obtidos com alta resolução foi feita com emprego do programa<sup>65</sup> ChemCalc disponibilizado livremente no endereço: <https://www.chemcalc.org/mf-finder>. Esse programa fornece as fórmulas moleculares cuja massa monoisotópica mais se aproxima de uma massa dada como *input* e é, portanto, conveniente para a análise dos dados obtidos. Previamente à análise, o espectro foi calibrado usando como referência a massa teórica do íon de  $m/z$  198, referente à 2ABP protonada.

As razões  $m/z$  detectadas por alta resolução foram usadas como *input* em várias pesquisas realizadas com o ChemCalc. As condições impostas ao programa para limitar a abrangência dos resultados de pesquisa foram as seguintes: 0 a 100 átomos de C, 0 a 200 átomos de H, 0 a 20 átomos de N, 0 a 20 átomos de O, 0 a 20 átomos de S, 0 a 1 átomos de Na e 0 a 1 átomos de K. Os metais foram incluídos pois é comum encontrar íons em espectros de ESI-MS contendo esses metais mesmo que eles não tenham sido adicionadas à amostra.

Além de fornecer uma lista de fórmulas moleculares, o ChemCalc fornece também suas massas monoisotópicas calculadas, a diferença em ppm entre as massas calculadas e a massa dada como *input*, e o grau de instauração correspondente a cada fórmula. No entanto,

a análise das fórmulas fornecidas e da razoabilidade das mesmas usando critérios químicos e tendo em mente as características do meio couberam ao pesquisador.

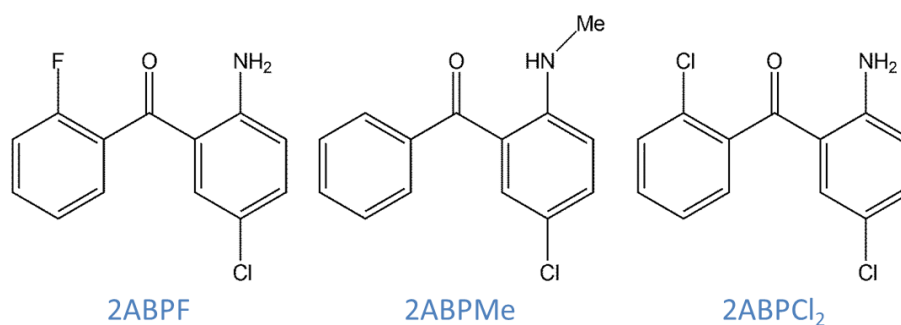
Os espectros vibracionais teóricos mostrados ao longo da seção 4.1, obtidos para comparações com espectros IRMPD, foram calculados durante as otimizações de geometria de uma série de possíveis isômeros para os íons em questão. As geometrias de *input* desses isômeros foram inicialmente montadas de forma “manual” e com base em critérios químicos, tentando-se obter um número considerável de isômeros que englobassem as principais estruturas possíveis (com variações no sítio de protonação e na conformação).

### 3.2 Reação de Wang com Derivados da 2-ABP

A reação de Wang foi reproduzida em laboratório com três derivados da 2-aminobenzofenona. O estudo dessas reações foi mais superficial que o da reação original e configurou um teste para a confirmação da generalidade do mecanismo proposto por Wang. Dadas as diferentes estruturas dos substratos, também seria possível que algum intermediário não detectado com o monitoramento da reação original fosse detectado nesse teste.

Os derivados da 2ABP foram escolhidos dentre os empregados por Wang em testes de escopo da reação<sup>7</sup> e, portanto, já se sabia que poderiam ser usados sem o risco da reação não funcionar.

As moléculas escolhidas foram a 2-amino-5-cloro-2'-fluorobenzofenona (2ABPF), a 5-cloro-2-(metilamino)benzofenona (2ABPMe) e a 2-amino-2',5-diclorobenzofenona (2ABPCl<sub>2</sub>). Suas estruturas são dadas na Figura 31.



**Figura 2.** Estruturas dos três derivados da 2-aminobenzofenona. Da esquerda para a direita: 2-amino-5-cloro-2'-fluorobenzofenona (2ABPF), 5-cloro-2-(metilamino)benzofenona (2ABPMe), 2-amino-2',5-diclorobenzofenona (2ABPCl<sub>2</sub>).

As três reações foram realizadas em escala reduzida (0,5 mL de DMSO), mas com as mesmas concentrações da reação de Wang original (derivados da 2ABP = 1,5 M; tioureia = 4,5 M). As misturas foram colocadas em frascos de vidro fechados com septo e deixadas por 3h sob aquecimento a 150°C em banho de óleo. Três horas foram consideradas suficientes já que com esse tempo corrido de reação já era possível detectar os principais sinais observados no caso da reação de Wang original (Figura 5).

O preparo de amostra usado foi o mesmo já descrito na seção 3.1 para a reação de Wang original. A única diferença foi a coleta das amostras que não precisou de uma agulha e

foi feita diretamente com uma pipeta volumétrica após o encerramento das reações e abertura dos frascos.

### 3.3 Aceleração da Reação de Wang em Gotículas de ESI

Tendo como inspiração os trabalhos encontrados na literatura a respeito da aceleração de reações em gotículas de ESI (seção 1.2), decidiu-se tentar reproduzir esse fenômeno em nosso laboratório com a reação de Wang.

A observação da aceleração já seria um resultado muito interessante por si só, mas ela também permitiria o estudo da reação de Wang com diferentes graus de processamento da reação e sem o preparo de amostra, como observado no trabalho<sup>15</sup> de Bain *et. al.*. Isso teoricamente poderia facilitar a observação de intermediários reacionais ainda não detectados.

Foram feitos diferentes testes, com variação nas distâncias entre fonte de ESI e entrada do massas. Não seria possível usar as concentrações tradicionais dos reagentes da reação de Wang, pois elas são muito altas e certamente contaminariam os equipamentos usados para injeção da amostra na fonte de ESI, bem como a agulha da fonte. No entanto, concentrações mais baixas poderiam atrapalhar a reação. Numa tentativa de contornar esse problema, misturas reativas com tiourea “pré-ativada” foram empregadas.

Essa “pré-ativação” consistiu em aquecer a tiourea (4,5 M) dissolvida em 0,5 mL de DMSO por 2h a 150°C em banho de óleo (as mesmas condições de temperatura e concentração da reação de Wang), em frasco de vidro fechado com septo. O tempo de 2h permitiu a alteração do aspecto da solução de transparente para um aspecto opaco nebuloso de cor branca. À esses 0,5 mL de DMSO contendo tiourea pré-ativada foi adicionada 2ABP numa concentração de 1,5 M (a mesma empregada na reação de Wang). Então, foi retirada uma alíquota dessa mistura pré-ativada. A alíquota foi diluída em  $10^4$  vezes em acetonitrila antes dos experimentos.

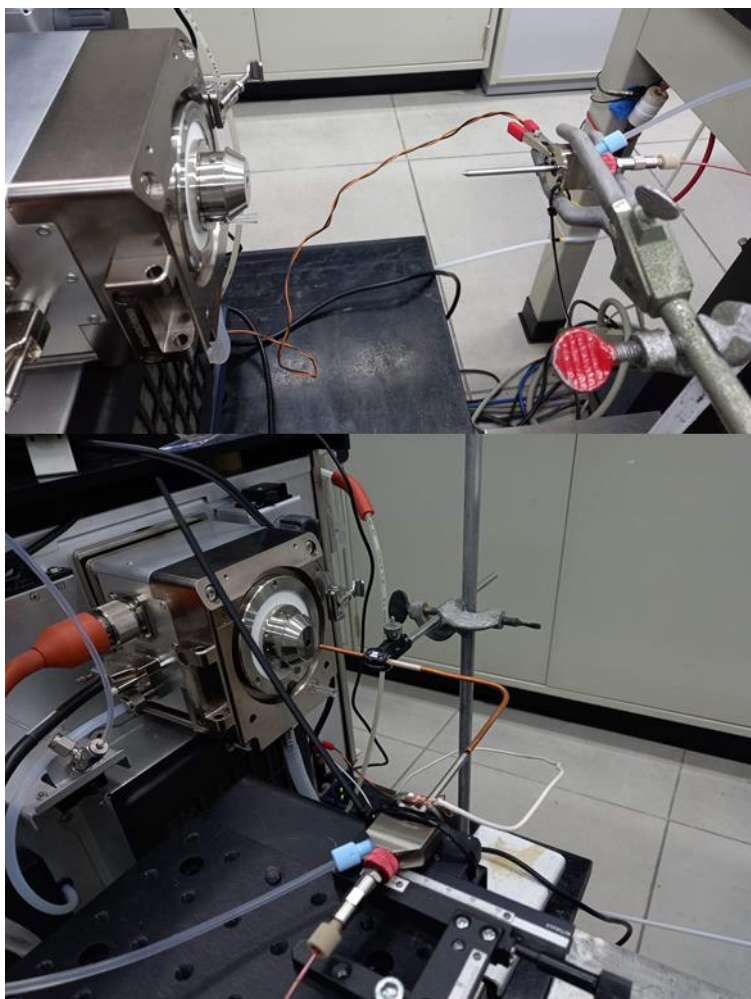
A ideia é que o uso de concentrações muito mais baixas que na reação de Wang original pudesse ser compensado, pelo menos parcialmente, pela pré-ativação ou pré-decomposição da tiourea em DMSO, contribuindo para observação da reação acelerada.

Os testes iniciais foram feitos sem uso de tubos, apenas aumentando a distância entre a fonte de ESI e a entrada do massas e posicionando (manualmente) a agulha da fonte de ESI paralela ao chão do laboratório (*Figura 3*). Geralmente essa agulha fica encaixada em um compartimento fechado e posicionada bem próxima (algo como 2 cm) da entrada do equipamento e a um ângulo (próximo de 45°) em relação ao eixo central do espectrômetro de massas. Para esses testes com distâncias maiores, ela foi removida do recipiente fechado e a posição paralela ao chão foi escolhida para facilitar o posicionamento.

Depois, para se obter sinal a distâncias maiores, foram empregados tubos de cobre. A posição dos tubos foi ajustada manualmente: é importante que as extremidades dos tubos estejam bem alinhadas à fonte de spray e à entrada do massas. As pontas dos tubos foram sempre colocadas a um cm da entrada do massas (*Figura 3*).

Foram usados tubos com comprimentos variados. Eles tiveram que ser dobrados num ângulo de 90° em decorrência da posição de objetos no espaço do laboratório, mas isso não impediu a obtenção de sinal.

A pressão do gás de nebulização, a voltagem empregada na fonte e o fluxo de injeção de amostra foram variados conforme necessidade para obtenção de sinais apreciáveis. Verificou-se que altas pressões de gás de nebulização são necessárias para a obtenção de sinal quando empregadas grandes distancias.

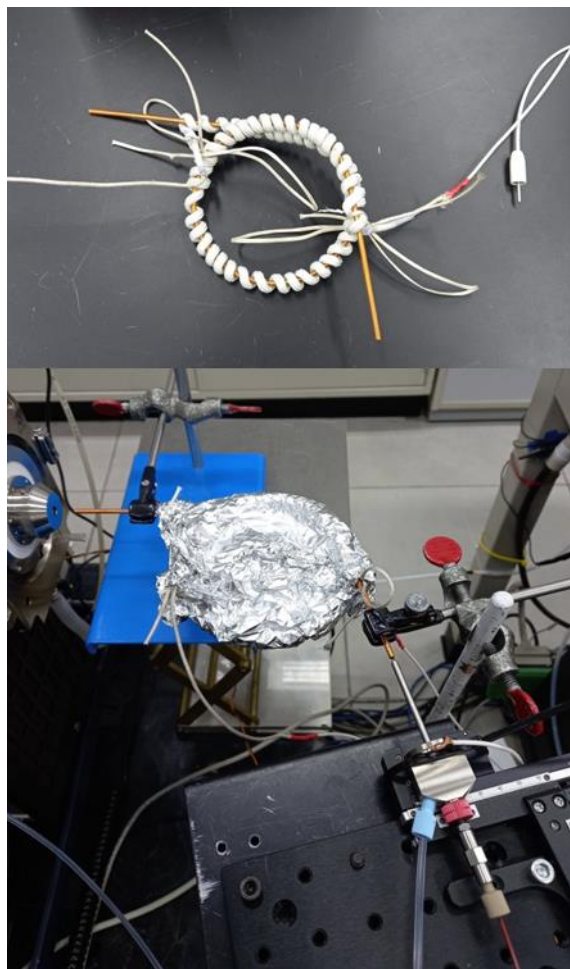


**Figura 3.** Fotos dos arranjos experimentais usados para testes de ESI-MS com distancias variadas. Em cima, um teste sem emprego de tubo de cobre, apenas com a fonte do spray distanciada da entrada do massas. Abaixo, um teste com tubo de cobre de 20 cm de comprimento.

Um teste final foi feito com um tubo de cobre de 60 cm enrolado na forma de uma bobina e com uma fita de aquecimento enrolada ao redor dele. O conjunto foi coberto com papel alumínio e posicionado em frente ao massas (*Figura 4*).

As fitas de aquecimento foram ligadas a um seletor de voltagem (Variac), permitindo variação da temperatura empregada. A temperatura da parte externa do tubo foi medida previamente em um teste a parte com um termômetro a laser. De acordo com esse teste, a temperatura mais alta alcançada nas condições usadas para o experimento final estaria entre

70 e 125 °C. Infelizmente o equipamento usado não permitiu um registro mais acurado da temperatura.

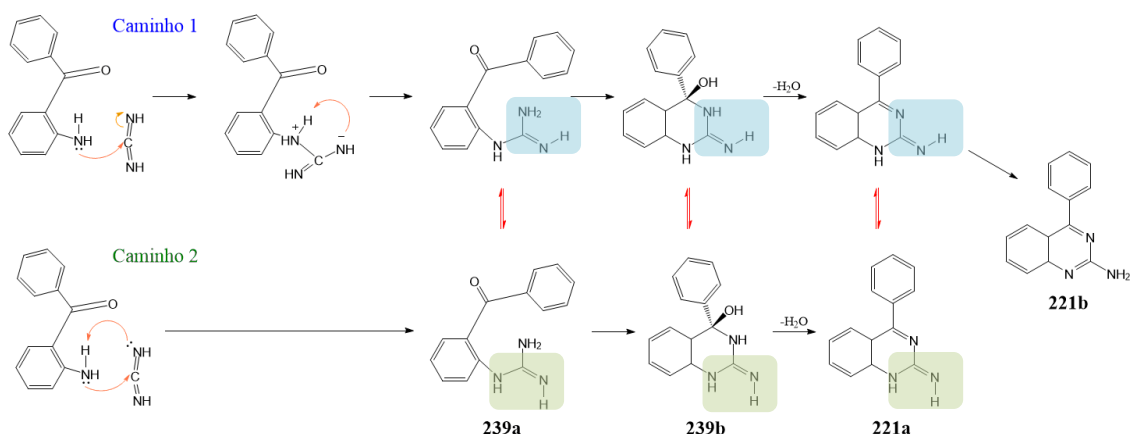


**Figura 4.** Em cima, tubo de cobre enrolado na forma de uma bobina e coberto pela fita de aquecimento. Em baixo, o tubo de cobre e a fita de aquecimento cobertos por papel alumínio e posicionados para o experimento.

Esse experimento foi inspirado pelo trabalho<sup>18</sup> de Chen e colaboradores. A ideia era que, assim como eles foram capazes de promover fragmentações sob pressão atmosférica em analitos dissolvidos em gotículas de ESSI através do aquecimento, um arranjo experimental parecido poderia ajudar a promover a reação de Wang em gotículas.

### 3.4 Modelagem Computacional do Mecanismo de Wang

O *Esquema 4*, apresentado anteriormente, é uma boa representação simplificada da reação de Wang, mas não retrata alguns detalhes relevantes para este trabalho. Primeiramente deve-se considerar que as etapas reacionais podem ocorrer mediadas por catálise ácida. Neste projeto decidiu-se trabalhar com os casos catalisado e não catalisado separadamente. O *Esquema 8* apresenta mais detalhes a respeito da proposta de trabalho para o caso do mecanismo não catalisado, distinguindo dois possíveis caminhos.



**Esquema 8.** Representação esquemática dos dois caminhos possíveis para a reação de Wang não catalisada (mecanismo dado no Esquema 4). As setas em vermelho representam possíveis conversões entre espécies envolvidas nos dois caminhos. Apesar das setas laranja indicarem processos concertados, não necessariamente essas etapas ocorrem dessa maneira.

Os dois caminhos partem dos mesmos reagentes e a configuração da dupla ligação que os diferencia (*Esquema 8*) é definida no momento do primeiro ataque nucleofílico e depende apenas dessa etapa. A distinção entre estruturas pertencentes a cada caminho só é possível do início da reação até o intermediário 221a, já que depois eles convergem. Assim, a existência de um caminho mais favorável não tem nenhuma influência na estrutura do produto final, que é sempre o mesmo.

Outra importante diferença percebida ao longo do projeto e indicada pelos cálculos computacionais realizados é que, no caminho 1, a reação representada pela primeira etapa reacional parece ocorrer, na verdade, em duas etapas, compreendendo dois estados de transição. A primeira etapa, chamada de pré-ataque 1, é constituída apenas da aproximação entre os reagentes e o ataque propriamente dito, ao passo que a segunda, chamada de ataque 1, é constituída da transferência de hidrogênio. Já no caminho dois, esses dois processos ocorrem de forma concertada, com apenas um estado de transição, referido simplesmente como ataque 1.

O intermediário 221b supostamente pode ser gerado a partir de uma transferência de H no intermediário 221a do caminho 1, mas o mesmo não pode ocorrer no caminho 2, pois a orientação da dupla CN impede tal transferência. É importante mencionar que em meio ácido é possível que a formação do intermediário 221b ocorra sem essa reação de isomerização, simplesmente através da protonação de um nitrogênio seguida da desprotonação de outro nitrogênio.

Apesar disso e também do fato de que o intermediário 221b não é uma parte essencial do caminho que leva aos produtos, a reação de isomerização mencionada foi modelada em função da completude do estudo e do fato de que os intermediários de *m/z* 221 foram detectados experimentalmente por Wang *et. al.*, bem como no presente projeto.

Portanto, todas as etapas mostradas no *Esquema 4* e no *Esquema 8* foram modeladas para o caso não catalisado (intermediários e estados de transição) tanto nas conformações

referentes ao caminho 1, quanto nas referentes ao caminho 2. A única exceção é a etapa de redução, que não foi modelada.

Teoricamente existe a possibilidade de conversões entre os intermediários dos caminhos 1 e 2 (marcadas em vermelho no *Esquema 8*), mas os estados de transição referentes a essas conversões não foram avaliados.

A conformação do ataque 1 não depende somente dos dois caminhos possíveis, mas também tem duas possibilidades (nomeadas como “lado 1” e “lado 2”) para a posição em que ocorre a transferência de hidrogênio associada (processo discutido em maiores detalhes na seção 4.4.3.1). As estruturas denominadas “lado 1” são aquelas nas quais o H é transferido para o nitrogênio mais próximo da carbonila e as chamadas “lado 2” são aquelas em que o H é transferido para o N mais distante da carbonila, como mostrado na *Figura 18*. Assim, para essa etapa foram otimizados 4 TS distintos.

Para três das espécies modeladas no mecanismo não catalisado, foram realizadas buscas conformacionais antes das otimizações de geometria. Essas espécies são a 2-aminobenzofenona e os intermediários 239a e 239b (*Esquema 4*). Considerou-se que nos outros casos não havia necessidade devido à elevada rigidez das moléculas.

Considerando que os valores de energia fornecidos pelos métodos empregados nas buscas conformacionais não necessariamente refletem a ordem real de estabilidade entre conformações, não seria aconselhável apenas escolher as de mais baixa energia para as otimizações. Portanto, foi feita uma análise caso a caso e algumas das estruturas fornecidas pelas buscas foram selecionadas para otimização no pacote computacional Gaussian09 a nível de DFT. Então, a geometria otimizada com menor energia eletrônica referente a cada espécie foi selecionada para representar aquela molécula.

Para o mecanismo catalisado foram modeladas apenas as três primeiras etapas reacionais: os ataques nucleofílicos e a desidratação. Para cada ataque nucleofílico foi adotada uma abordagem diferente. Para o primeiro, foi possível considerar a CAE com a carbodiimida pré-protonada sofrendo o ataque. Para o segundo, foi necessário considerar a CAG com o DMSO agindo como doador de próton e os dois processos químicos (doação protônica e ataque nucleofílico) ocorrendo simultaneamente.

Caso se utilizasse a CAE no caso do segundo ataque, a protonação teria que ocorrer na carbonila e não no grupo amina, que é muito mais básico e precisa estar desprotonado para que a reação ocorra. Ou seja, a CAE é praticamente impossível para esse ataque e por isso foi descartada, como previamente discutido na seção 2.2.

No caso da desidratação, a modelagem também envolveu a CAG, que foi considerada mais adequada por motivos práticos. No sistema real é de se esperar que essa etapa possa ocorrer por CAE, no entanto, a modelagem desse processo é inviável, pois após a protonação não há uma barreira de energia livre se opondo à eliminação do grupo de saída e, portanto, não é possível encontrar um TS para essa etapa.

Assim, a CAG foi escolhida para a modelagem da desidratação catalisada simplesmente para que fosse possível incluir essa etapa na metodologia utilizada. Caso se considere que na



prática a protonação do reagente pode ocorrer sem uma barreira cinética relevante, se torna razoável também supor que a desidratação possa ocorrer sem uma barreira cinética relevante.

Nessas três etapas, percebeu-se que as energias de interações entre os reagentes ou entre os produtos são consideráveis. Na primeira etapa as interações são entre a 2ABP e a carbodiimida e nas duas etapas seguintes, as interações são entre o DMSO e o substrato (o DMSO está presente para a simulação da CAG). Assim, para se obter as energias livre de Gibbs de ativação adequadas, foi necessário levar essas interações em conta.

Isso foi feito da seguinte forma: após a obtenção dos gráficos de IRC de cada estado de transição, as geometrias encontradas nas extremidades desses gráficos foram otimizadas (houve uma exceção pouco significativa que é explicada na seção 4.5.4.3). Os resultados foram denominados como reagentes ou produtos de cada etapa e suas energias puderam ser comparadas às dos estados de transição para a obtenção das energias de ativação ou dos  $\Delta G$  das etapas elementares com interferência limitada das energias de interação. Cabe destacar que no caso do caminho 2, o produto do ataque 1 e o intermediário 239a protonado representam a mesma estrutura.

Intermediários indicados por: “nome-do-intermediário H<sup>+</sup>” em geral representam este intermediário protonado, exceto no caso da carbodiimida protonada (logo após os reagentes), que representa os reagentes separados, mas com protonação na carbodiimida (ou seja: carbodiimida protonada + DMSO + 2-aminobenzofenona). Ademais, TS correspondentes a simples protonações ou desprotonações de intermediários não foram modelados, pois considera-se que as estruturas protonadas e desprotonadas se encontrem em equilíbrio termodinâmico no meio.

Todos os entes reacionais apresentados nas tabelas de dados termodinâmicos e nas curvas de energia livre (incluindo intermediários e estados de transição) representam somas das energias de moléculas que foram otimizadas individualmente, de modo que o total de átomos contidos no sistema permaneça sempre o mesmo em todos os itens.

No caso não catalisado, as seguintes moléculas adicionais foram otimizadas em função do balanço energético: H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>, MeSH, MeS<sub>2</sub>Me, DMSO e DMSOH<sup>+</sup>. O metanotiol foi escolhido como agente redutor por motivos que são expostos na seção 5. Nesse mecanismo os reagentes incluem a 2-aminobenzofenona, a carbodiimida e duas moléculas de MeSH. Os produtos incluem: 4-fenilquinazolina, H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub> e uma molécula de MeS<sub>2</sub>Me. A água e a amônia são subprodutos gerados nas etapas de eliminação e o MeS<sub>2</sub>Me é subproduto da etapa de redução.

A molécula de água foi adicionada não só aos produtos, mas a todos os outros itens que aparecem no mecanismo após a etapa de desidratação (intermediários 221a, 221b e 223, etapa de isomerização, etapa de eliminação da amônia). A molécula de amônia só foi adicionada aos produtos, já que a sua eliminação é última etapa reacional. O MeSH, por sua vez, foi adicionado a todos os itens que aparecem no mecanismo antes da etapa de redução e o MeS<sub>2</sub>Me a todos os itens que aparecem após a redução.

Já no caso catalisado, as moléculas adicionais usadas para o balanço energético são apenas três: DMSO,  $\text{DMSOH}^+$  (com protonação no oxigênio) e  $\text{H}_2\text{O}$ . Para cada intermediário ou TS catiônico foi somada a energia do DMSO e para os neutros foi somada a energia do  $\text{DMSOH}^+$  (os TS do segundo ataque e da desidratação, bem como seus reagentes e produtos já contém uma molécula de DMSO, portanto, tal procedimento não foi adotado para estas espécies). Essa é uma maneira simplificada de simular protonações e desprotonações. A água foi somada a todas as estruturas que aparecem no mecanismo após os produtos da desidratação.

Os valores de Energia de ativação ( $E_a$ ) dados em algumas das tabelas foram calculados usando as seguintes equações<sup>66</sup>:

Para etapas bimoleculares:

$$E_a = \Delta H^\ddagger + 2RT. \quad (31)$$

Para etapas unimoleculares:

$$E_a = \Delta H^\ddagger + RT. \quad (32)$$

Sendo T a temperatura de 423,15 K e R a constante dos gases ideais em unidades apropriadas.

Para a simulação do efeito de solvente, todas as estruturas otimizadas no vácuo foram reotimizadas na presença do solvente implícito e suas frequências vibracionais foram recalculadas. Após as otimizações, todos os TS foram verificados pela presença de apenas uma frequência vibracional imaginária, mas novos cálculos de IRC não foram realizados.

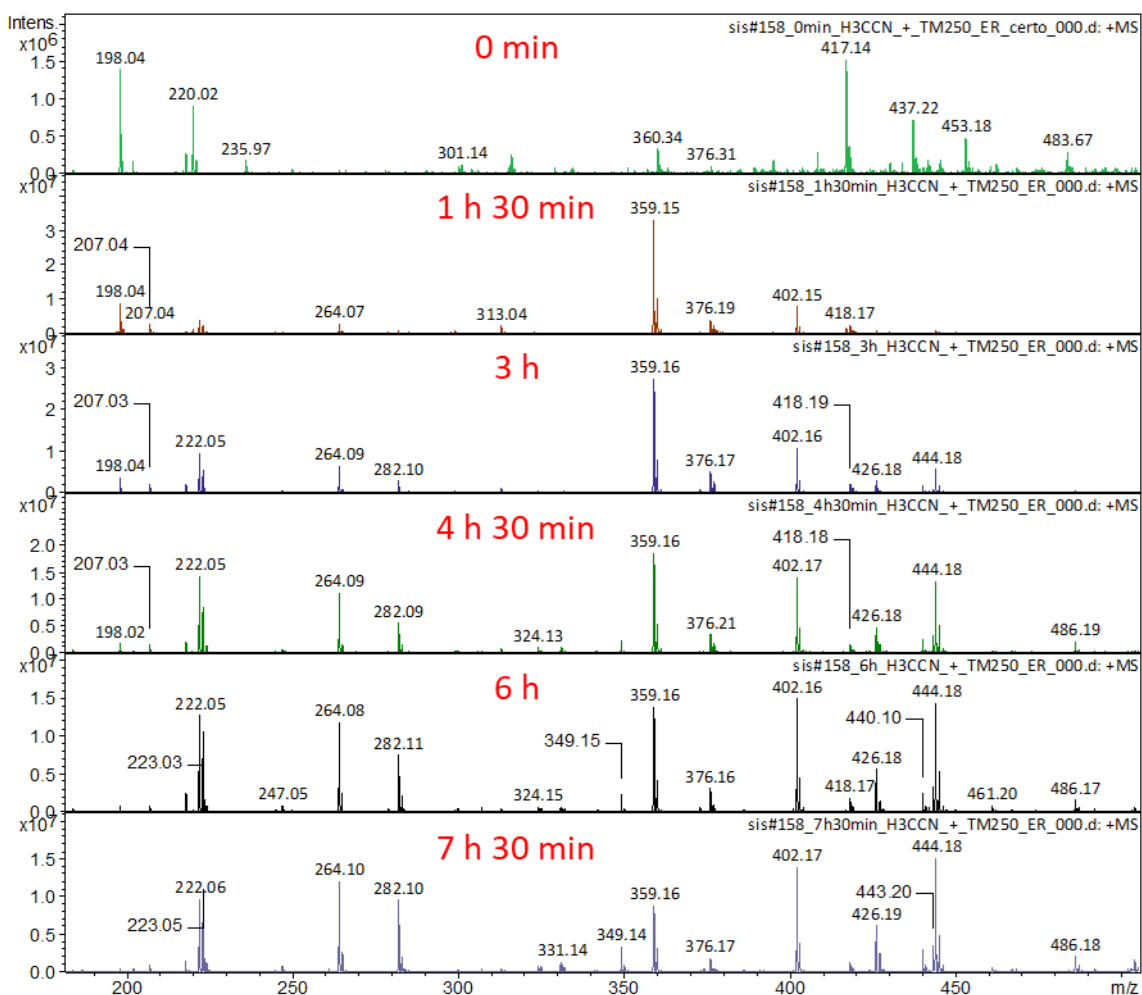
No caso não catalisado isso pôde ser feito sem problemas, mas no caso catalisado houveram casos nos quais os mínimos locais (ou máximos locais no caso dos TS) não foram preservados com a reotimização na presença de solvente implícito. Nesses casos, as estruturas tiveram que ser obtidas a partir da adaptação de estruturas análogas já solvatadas do caminho reacional alternativo. Por exemplo, o produto da desidratação do caminho 1 foi obtido a partir da adaptação e reotimização da estrutura previamente obtida para o produto da desidratação do caminho 2 solvatado.

## 4 Resultados

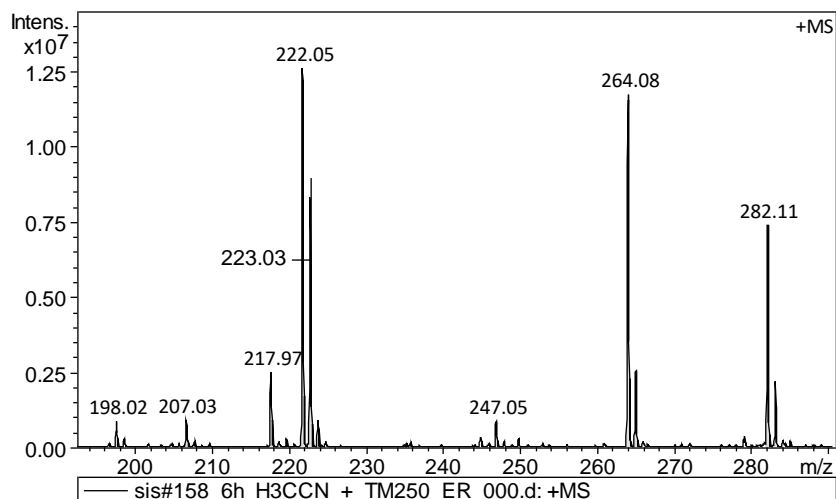
### 4.1 Estudos Experimentais da Reação de Wang Tradicional

Na *Figura 5* são mostrados os espectros correspondentes às alíquotas retiradas da reação de Wang nos tempos 0min, 1h30min, 3h, 4h30min, 6h, 7h30min (de cima para baixo) e dissolvidas em acetonitrila. Não foram observadas variações relevantes que possam enriquecer a discussão quando usados os outros solventes ou misturas de solventes. Portanto, os espectros mostrados são suficientes.

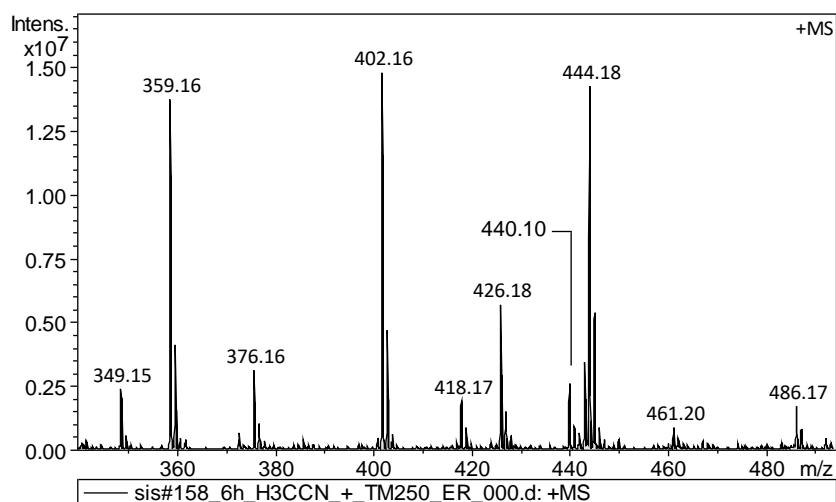
A *Figura 6* e a *Figura 7* contém dois recortes menores que podem auxiliar na visualização dos sinais mais importantes que foram estudados. A região entre 282 e 349 Th foi deixada de fora desses recortes por não incluir nenhum sinal relevante. Inicialmente serão discutidos os sinais da *Figura 6* e depois os da *Figura 7*.



**Figura 5.** Espectros de massa obtidos por ESI-MS a partir das alíquotas retiradas da reação de Wang. As alíquotas foram retiradas com tempos corridos de reação de: 0min, 1h30min, 3h, 4h30min, 6h, 7h30min (de cima para baixo). No eixo horizontal é dada a razão massa/carga (em Thomson) dos íons detectados e nos eixos verticais é dada a intensidade do sinal detectado em unidades arbitrárias.



**Figura 6.** Recorte de espectro de massa obtido por ESI-MS a partir de alíquota retirada da reação de Wang (entre 198 e 282 Thomson). A alíquota foi retirada com tempo corrido de reação de 6h. No eixo horizontal é dada a razão massa/carga (em Thomson) dos íons detectados e nos eixos verticais é dada a intensidade do sinal detectado em unidades arbitrárias.



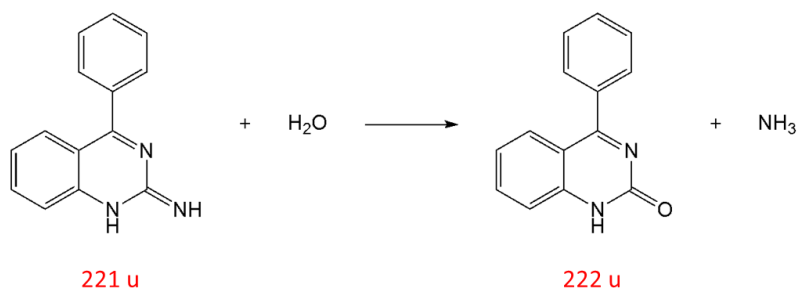
**Figura 7.** Recorte de espectro de massa obtido por ESI-MS a partir de alíquota retirada da reação de Wang (entre 349 e 486 Thomson). A alíquota foi retirada com tempo corrido de reação de 6h. No eixo horizontal é dada a razão massa/carga (em Thomson) dos íons detectados e nos eixos verticais é dada a intensidade do sinal detectado em unidades arbitrárias.

O sinal em 198 Th corresponde à 2ABP protonada. Esse sinal também foi observado em espectros da 2ABP isolada em solução e os padrões de fragmentação são os mesmos, o que confirma sua identidade.

Os sinais em 207, 222 e 223 Th também puderam ter sua identidade confirmada com o auxílio de espectros de CID e da análise em alta resolução. Eles correspondem, respectivamente, ao produto protonado (4-fenilquinazolina), ao intermediário de massa 221 u, e a um subproduto de massa 222 u fruto de reação paralela entre o intermediário 221 e uma molécula de água.

O intermediário 221 e subproduto 222 também foram identificados por Wang *et al.* por GC-MS<sup>7</sup>, mas esses pesquisadores não obtiveram padrões de fragmentação ESI-CID para tais compostos (como os que serão mostrados adiante). O *Esquema 9* mostra a reação paralela

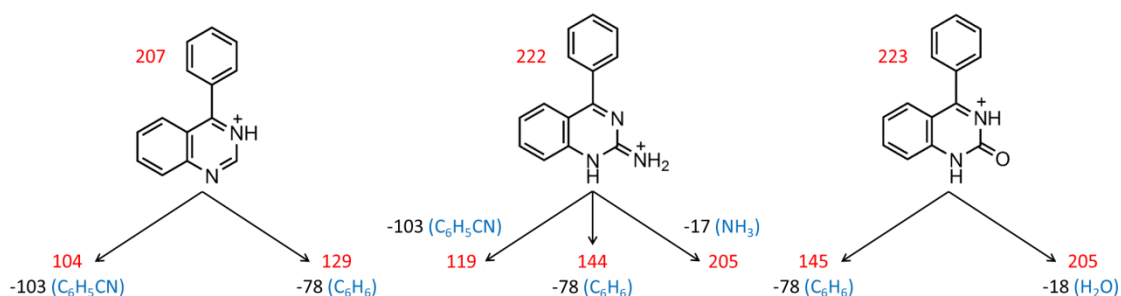
que leva à formação do subproduto 222. A molécula de água envolvida nessa reação seria proveniente de umidade residual no sistema reacional.



**Esquema 9.** Proposta de reação paralela que leva à formação do subproduto de massa 222 u a partir do intermediário de massa 221 u.

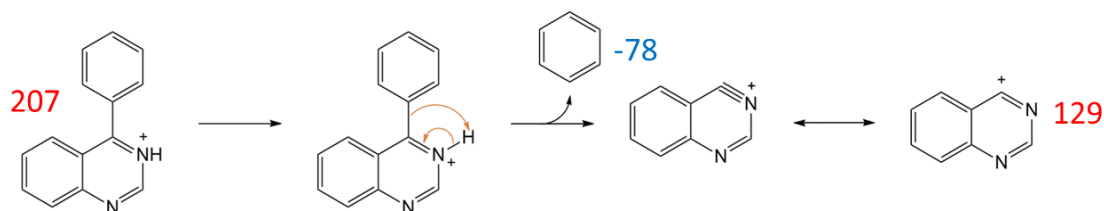
Como esses íons são bastante importantes e serão vistos novamente como fragmentos de outros íons de massa maior, vale a pena apresentar os espectros de fragmentação deles bem como propostas para os mecanismos de fragmentação.

Pelo fato de possuírem estruturas similares, as fragmentações desses íons são parecidas. O *Esquema 10* resume as principais fragmentações detectadas e analisadas para os íons de 207, 222 e 223 Th por ESI-CID. Os espectros em si são dados nos apêndices (seção 8.2).

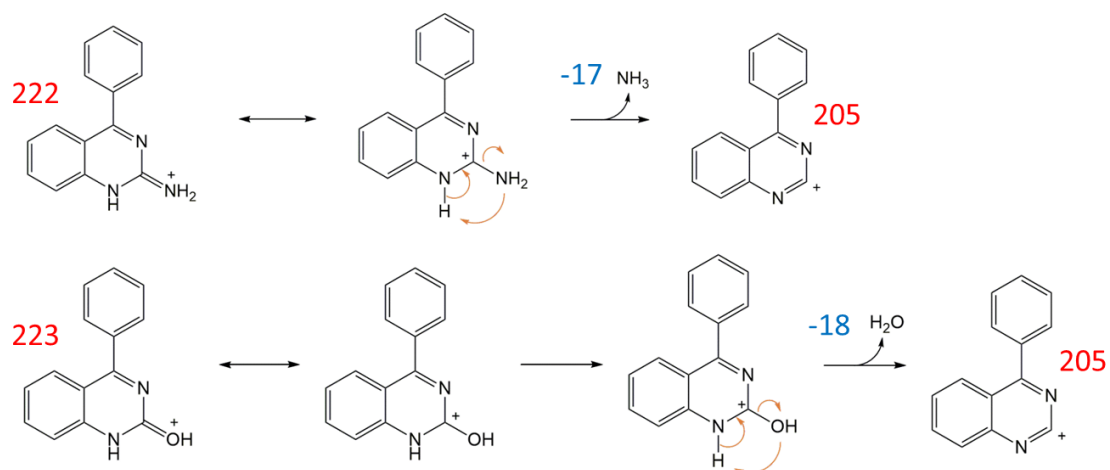


**Esquema 10.** Estruturas e principais fragmentações do íons em 207, 222 e 223 Th. As razões *m/z* dos íons pai e dos íons filhos são dadas em vermelho, ao passo que as dos neutros perdidos são dadas em preto. As formulas propostas para os neutros são indicadas pelo azul. As protonações mostradas não necessariamente indicam a protonação mais favorável para cada espécie.

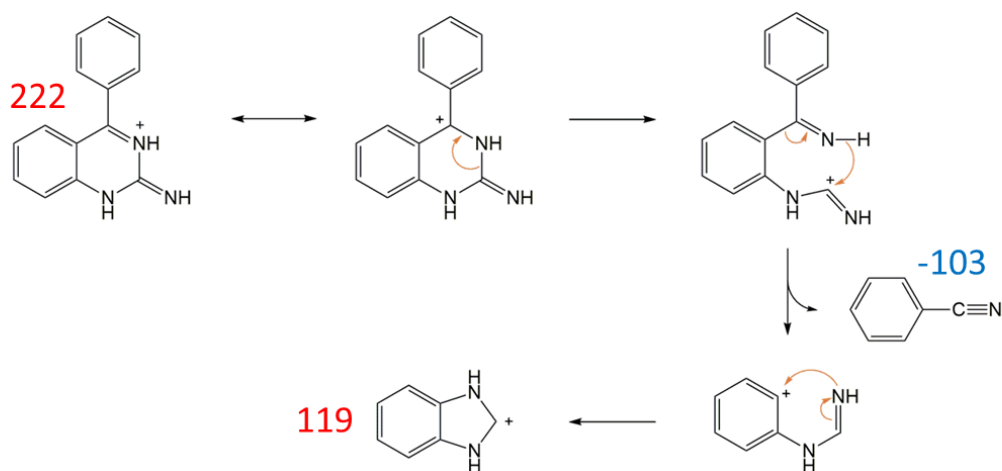
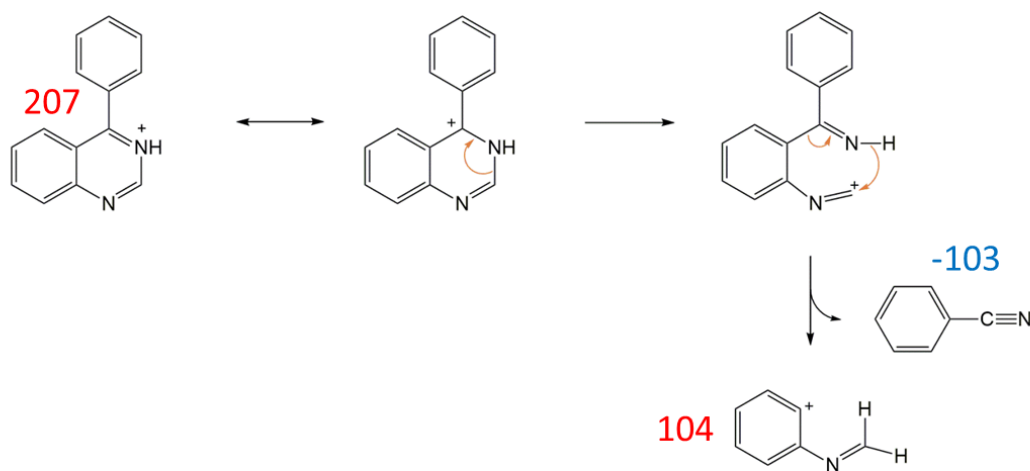
A perda de um neutro de massa 18 u pelo íon em 223 Th é análoga à perda de 17 u pelo íon em 222 Th e evidencia a estrutura proposta. Os três íons são capazes da perda de um anel benzeno (78 u) e, adicionalmente, os íons em 207 e 222 Th perdem um neutro correspondente a um anel benzeno ligado a um grupo CN. Os mecanismos propostos para essas fragmentações são dados no *Esquema 11*, no *Esquema 12* e no *Esquema 13*.



**Esquema 11.** Mecanismo de fragmentação proposto para a perda de um neutro com massa 78 u a partir do íon de razão *m/z* 207 Th. As razões *m/z* dos íons são dadas em vermelho e as dos neutros são dadas em azul.



**Esquema 12.** Mecanismos de fragmentação propostos para a perda de neutros com massa 17 e 18 u a partir dos íons de razão  $m/z$  222 e 223 Th. As razões  $m/z$  dos íons são dadas em vermelho e as dos neutros são dadas em azul.



**Esquema 13.** Mecanismos de fragmentação propostos para a perda de neutros com massa 103 u a partir dos íons de razão  $m/z$  207 e 222 Th. As razões  $m/z$  dos íons são dadas em vermelho e as dos neutros são dadas em azul.

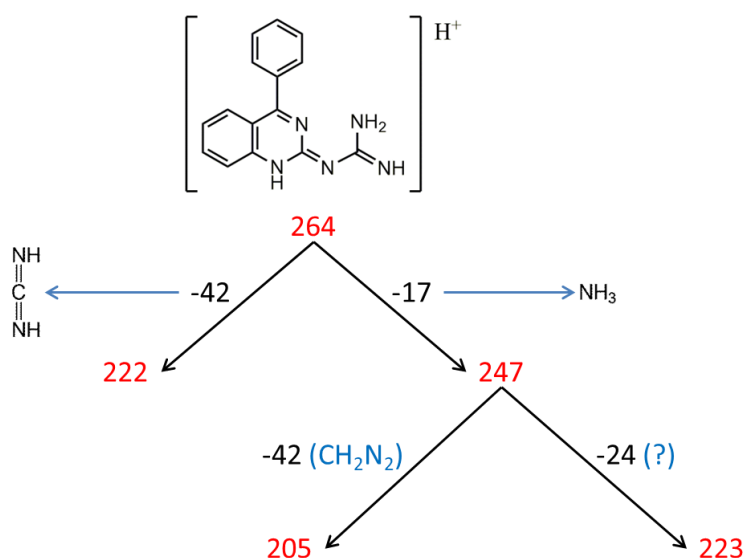
O mecanismo mostrado para a perda de neutro 78 u seria o mesmo para os três íons pai. Já os outros mecanismos (*Esquema 12* e *Esquema 13*) são dados em pares análogos. Os

mecanismos para perda de 78, 17 e 18 u são todos muito simples, apenas o mecanismo para perda de 103 u é um pouco mais elaborado.

Os resultados da análise em alta resolução apontaram claramente para as fórmulas propostas. Para os três íons em questão, as fórmulas propostas foram as primeiras das listas encontradas na pesquisa realizada, ou seja, foram as fórmulas encontradas pelo ChemCalc que apresentaram as menores diferenças entre as  $m/z$  detectadas por alta resolução e as  $m/z$  teóricas. Para os íons de razão  $m/z$  207, 222 e 223, as  $m/z$  detectadas em Th e as diferenças em ppm (dadas em módulo e entre parêntesis) entre elas e as  $m/z$  calculadas foram de, respectivamente: 207,0922 (0,1128); 222,1034 (1,2499); 223,0874 (1,1745).

Seguindo adiante, os íons de razão  $m/z$  264 e 282 são um pouco mais complexos. Acredita-se que, como o íon em 223 Th, correspondam também a subprodutos de reações paralelas formados a partir de intermediários da reação de Wang.

A proposta encontrada para a identificação do íon em 264 Th foi a da estrutura mostrada no *Esquema 14*, que também inclui as principais fragmentações detectadas por CID para este íon e para seu filho de razão  $m/z$  247 ( $MS^3$ ).

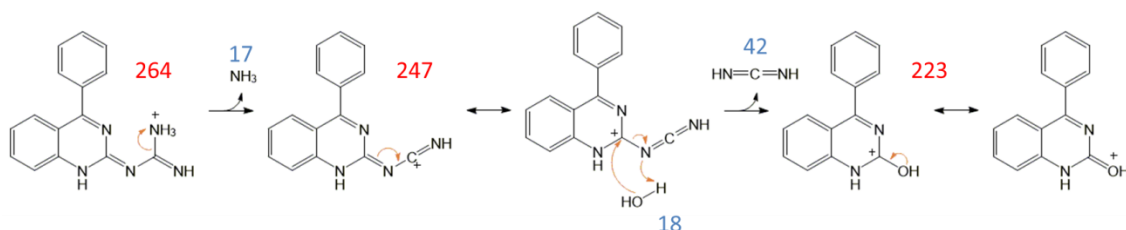


**Esquema 14.** Estrutura do íon em Th 264 e principais fragmentações a partir dele. As razões  $m/z$  dos íons pai e dos íons filhos são dadas em vermelho, ao passo que as dos neutros perdidos são dadas em preto. As fórmulas propostas para os neutros são indicadas pelo azul.

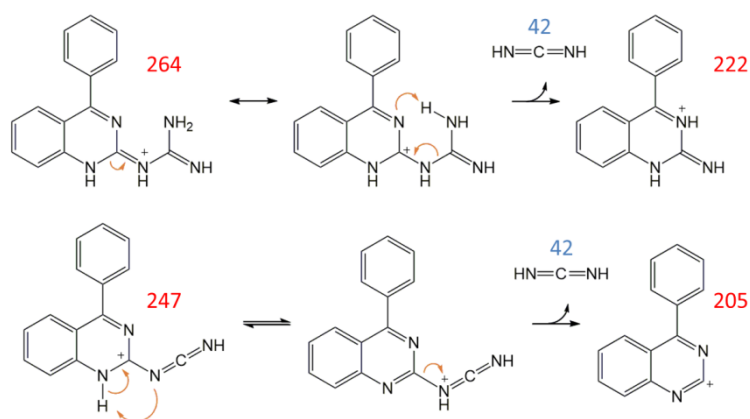
Esse íon seria formado a partir de reação entre o intermediário de massa 221 u e uma molécula de carbodiimida. O padrão de fragmentação encontrado é bastante característico: há possibilidade de perda de uma carbodiimida (42 u) ou de uma amina (17 u) e a ordem das duas eliminações pode ser trocada, ou seja, o íon pai pode inicialmente perder amina e seu filho perde carbodiimida ou o íon pai perde carbodiimida e seu filho perde amina. Supõe-se que esse comportamento seja característico do grupo guanidina periférico ( $-NCNH_2NH$ ).

O íon filho de razão  $m/z$  222 é o mesmo íon detectado anteriormente, que corresponde ao intermediário de massa 221 u (*Figura 6*, *Esquema 10*). Isso pôde ser confirmado através do padrão de fragmentação, que é o mesmo.

O íon filho de razão  $m/z$  247, além de poder perder uma carbodiimida também pode sofrer uma fragmentação com perda de 24 u. Essa fragmentação gerou especulação, pois não foi possível imaginar um neutro que pudesse ser eliminado com essa massa. A explicação encontrada envolve uma molécula de água reagindo com o íon de razão  $m/z$  247 dentro do *íon trap* e facilitando a eliminação da carbodiimida, fazendo que a variação de massa seja de 24 u ( $247 + 18 - 42 = 223$ ). O *Esquema 15* e o *Esquema 16* ilustram os mecanismos propostos para as fragmentações do íon de razão  $m/z$  264 e de seu filho de razão  $m/z$  247.



**Esquema 15.** Mecanismo de fragmentação proposto para a formação do íon filho de razão  $m/z$  247 a partir do pai  $m/z$  264 e da formação do neto  $m/z$  223 a partir do  $m/z$  247. As razões  $m/z$  dos íons são dadas em vermelho e as dos neutros são dadas em azul.



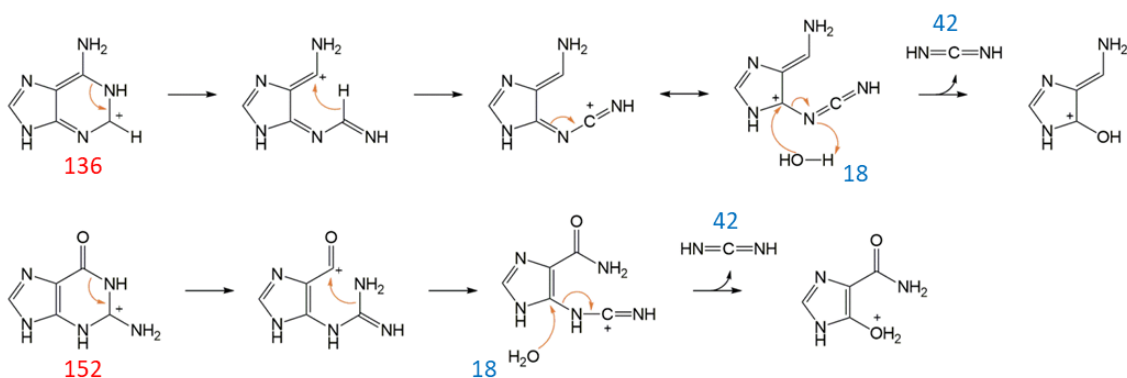
**Esquema 16.** Mecanismo de fragmentação proposto para a perda de neutros de massa 42 u a partir dos íons de razão  $m/z$  264 e 247. As razões  $m/z$  dos íons são dadas em vermelho e as dos neutros são dadas em azul.

O padrão de fragmentação do íon de razão  $m/z$  223, filho do  $m/z$  247, é o mesmo padrão do íon de razão  $m/z$  223 detectado anteriormente, que corresponde ao subproduto de massa 222 u (*Figura 6*, *Esquema 10*). Ou seja, sua estrutura é bem conhecida e inclui um átomo de oxigênio, fato que suporta a proposta de fragmentação apresentada para o íon de  $m/z$  247 (*Esquema 15*).

Uma evidência adicional para a incorporação da água foi obtida a partir da comparação entre dados obtidos por um membro do nosso grupo de pesquisa em outro projeto e dados da literatura. Ele obteve o padrão de fotofragmentação das moléculas de adenina e guanina protonadas usando IRMPD e comparou os resultados à padrões de fragmentação encontrados na literatura para os mesmos íons<sup>67</sup>. O que se observa para ambas as moléculas é que os padrões obtidos no nosso laboratório revelam um íon filho gerado pela perda de um neutro com massa 24 u, ao passo que os padrões encontrados na literatura não contém esse íon filho<sup>68-70</sup>.



Tal resultado não havia sido compreendido anteriormente, mas no presente contexto é possível explicá-lo. Devido à aparente similaridade entre as estruturas da adenina e da guanina protonadas (respectivamente  $m/z$  136 e 152) e do íon de  $m/z$  247, supõe-se que elas sejam capazes de sofrer uma fragmentação similar àquela proposta no *Esquema 15*, também envolvendo a incorporação de uma molécula de água. O *Esquema 17* ilustra um dos diferentes mecanismos possíveis encontrados para essa fragmentação (um para a adenina e outro para a guanina). Os outros mecanismos possíveis encontrados para a mesma fragmentação são dados nos apêndices (seção 8.1).



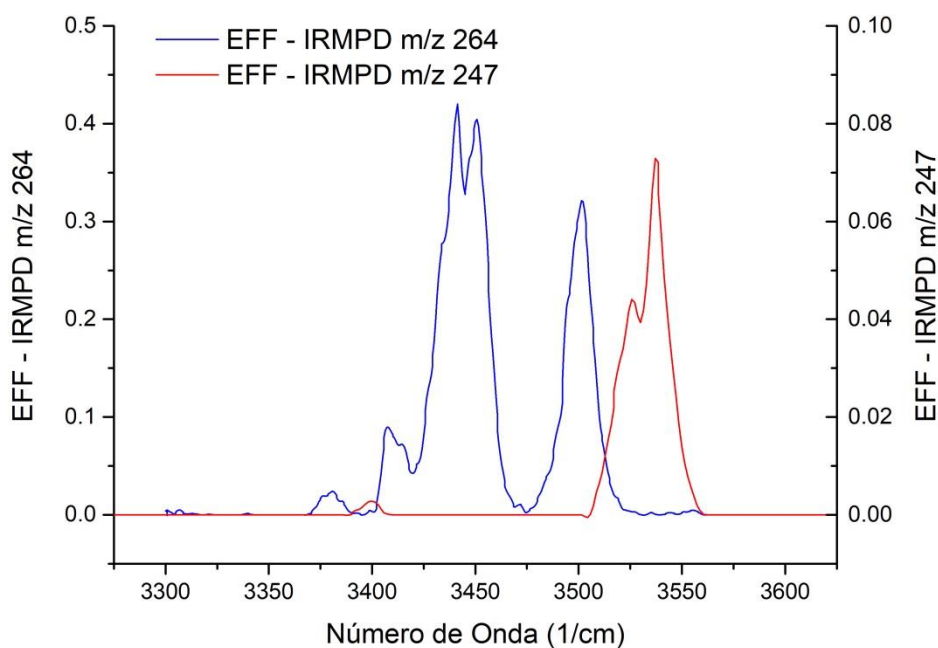
**Esquema 17.** Um dos mecanismos de fragmentação propostos para a perda de 24 u a partir da adenina e da guanina protonadas (respectivamente  $m/z$  136 e 152). As razões  $m/z$  dos íons são dadas em vermelho e as dos neutros são dadas em azul.

Portanto, a ideia de que a perda do neutró de 24 u é composta pela perda de uma carbodiimida combinada à incorporação de uma molécula de água é capaz de explicar uma grande quantidade de dados.

A diferença entre os resultados do nosso grupo e os dois resultados da literatura para as fragmentações da adenina e da guanina é devida à diferença entre os espectrômetros empregados, sendo que o nosso é o único que conta com um analisador do tipo *ion trap* 3D, o fator essencial sendo a possibilidade de interação com moléculas de água.

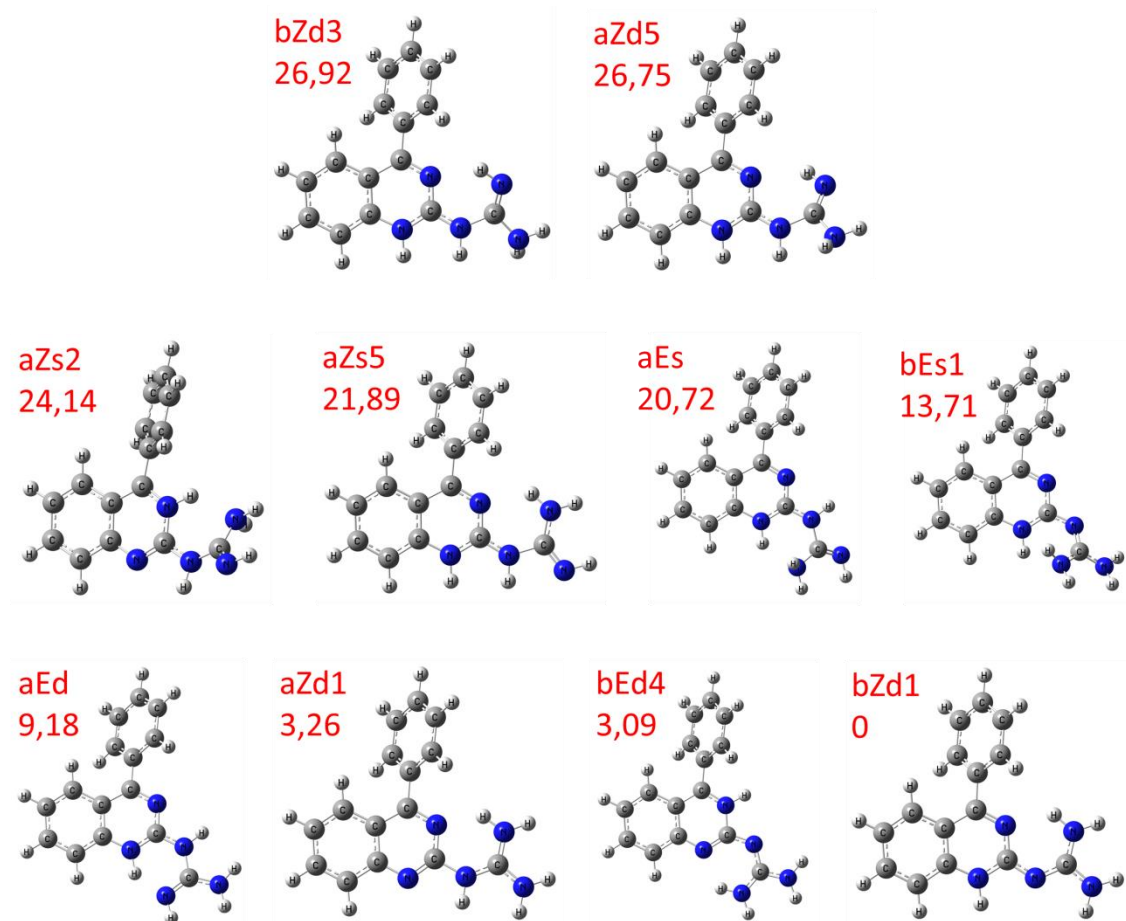
A interação entre íons isolados no *trap* e moléculas de água já foi observada diretamente pelo nosso grupo de pesquisa<sup>58</sup>. Mesmo usando bombas de vácuo, certa quantidade de água permanece no interior do instrumento. Além disso, a maior quantidade de tempo necessária para o aprisionamento e manipulação de íons durante a fragmentação por CID no *ion trap* 3D favorece esse fenômeno.

Os resultados obtidos na análise de alta resolução e por espectroscopia IRMPD também suportam as propostas apresentadas. A  $m/z$  calculada para a fórmula proposta para o íon de razão  $m/z$  264 concorda com a detectada por alta resolução com uma diferença de 2,9514 ppm em módulo (a  $m/z$  detectada foi de 264,1249 Th). Os espectros IRMPD obtidos para o íon  $m/z$  264 e seu filho  $m/z$  247 são dados no *Gráfico 2*. Esse gráfico só mostra a região entre 3300 e 3600  $\text{cm}^{-1}$ , mas espectros foram obtidos com menor resolução (pontos/ $\text{cm}^{-1}$ ) para ambos os íons em toda a região entre 2800 e 3800  $\text{cm}^{-1}$  e nenhuma banda foi observada fora da região entre 3300 e 3600  $\text{cm}^{-1}$ .

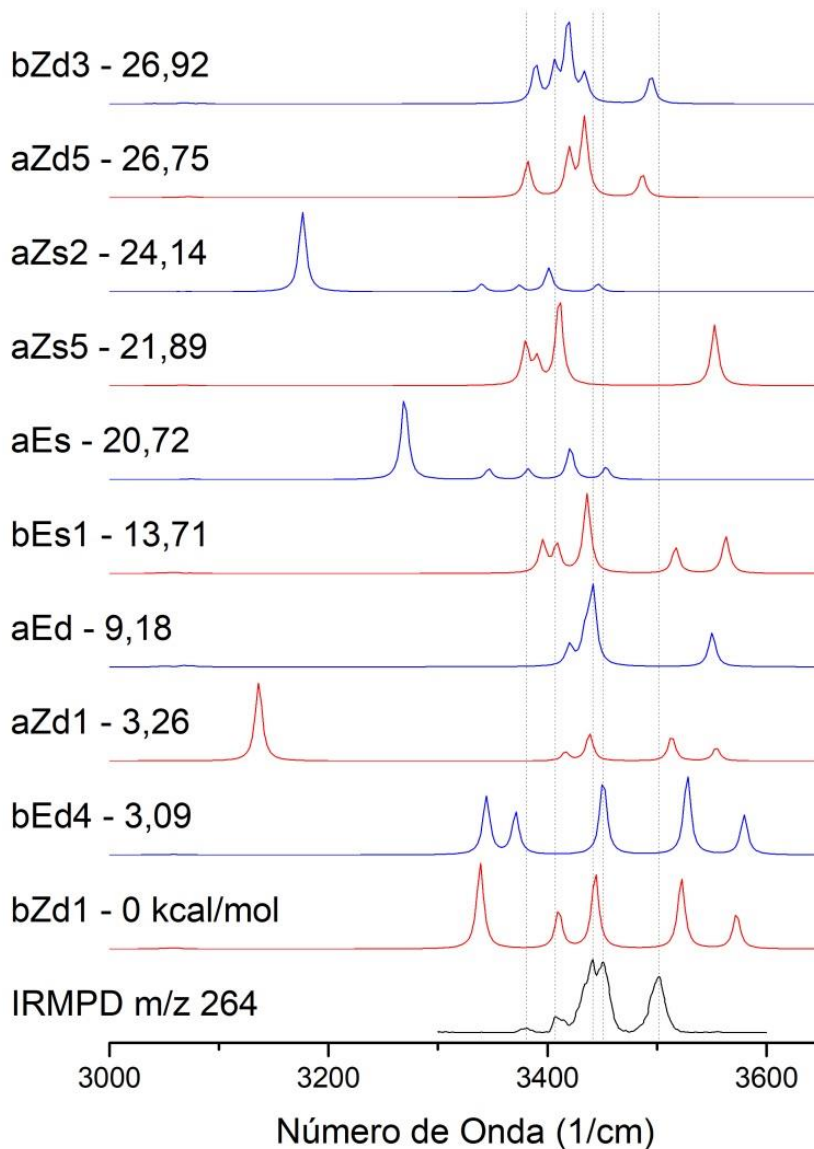


**Gráfico 2.** Espectros IRMPD dos íons de razão  $m/z$  264 e 247 (obtido a partir da fragmentação do  $m/z$  264). No eixo horizontal é dado o número de onda em  $\text{cm}^{-1}$  e nos eixos verticais, a eficiência de fragmentação (EFF). Esse gráfico só mostra a região entre 3300 e 3600  $\text{cm}^{-1}$ , mas espectros foram obtidos com menor resolução (pontos/ $\text{cm}^{-1}$ ) para ambos os íons em toda a região entre 2800 e 3800  $\text{cm}^{-1}$  e nenhuma banda foi observada fora da região entre 3300 e 3600  $\text{cm}^{-1}$ .

Dez diferentes isômeros foram modelados e tiveram seus espectros calculados para comparação com o IRMPD do íon de razão  $m/z$  264. A comparação é exposta no Gráfico 3 e as estruturas otimizadas de cada isômero são dadas na Figura 8.

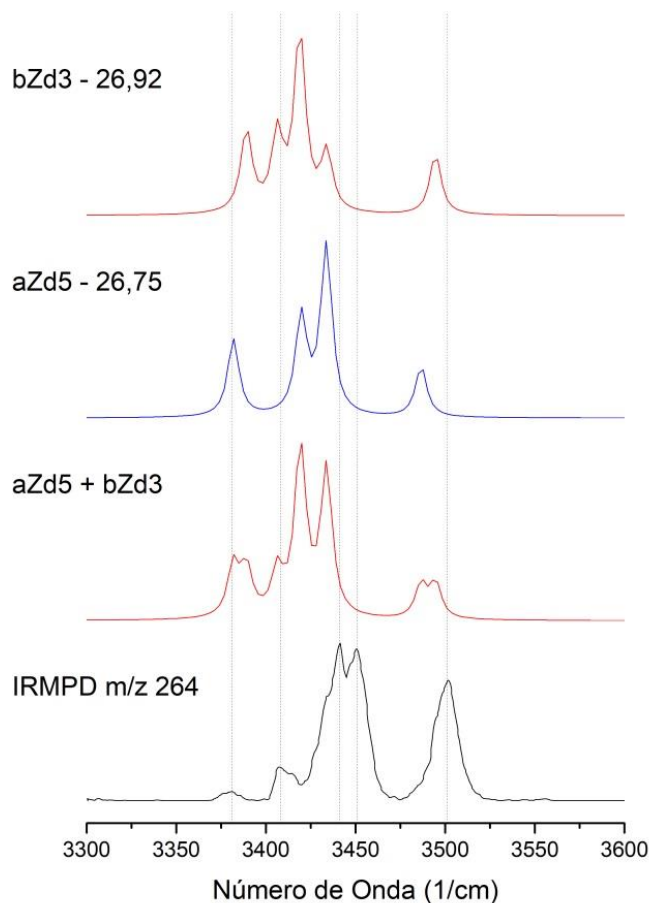


**Figura 8.** Estruturas otimizadas dos isômeros usados na modelagem de espectros vibracionais para comparação com o espectro IRMPD do íon de razão  $m/z$  264 (Gráfico 3). Ao lado de cada estrutura são dados em vermelho: o código usado para a identificação do isômero e a sua energia livre de Gibbs em kcal/mol com relação ao de menor energia, cuja energia foi fixada em 0.



**Gráfico 3.** Comparação entre o espectro IRMPD do íon de  $m/z$  264 e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis. Os códigos mostrados ao lado esquerdo de cada espectro são as identificações dadas a cada isômero seguidas das energias livres de Gibbs desses isômeros (em kcal/mol) com relação ao de menor energia, cuja energia foi fixada em 0. Os eixos verticais desse gráfico foram omitidos e as escalas de intensidade foram ajustadas para facilitar a comparação visual.

A correspondência entre os espectros teóricos e o espectro IRMPD na maioria dos casos não é boa. Os únicos dois espectros teóricos que concentram todas as bandas na mesma região do espectro IRMPD são os dois que correspondem aos isômeros de maior energia. O Gráfico 4 compara em maiores detalhes o espectro IRMPD com os espectros desses dois isômeros e com uma soma dos dois.



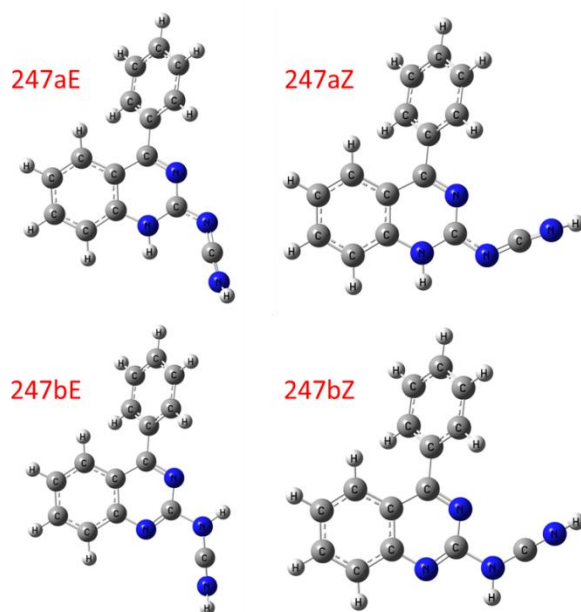
**Gráfico 4.** Comparação entre o espectro IRMPD do íon de  $m/z$  264, os espectros obtidos computacionalmente para os dois isômeros analisados de maior energia (Gráfico 3) e a soma dos espectros desse dois isômeros. Os códigos mostrados ao lado esquerdo de cada espectro identificam os isômeros correspondentes. Os eixos verticais desse gráfico foram omitidos e as escalas de intensidade foram ajustadas para facilitar a comparação visual.

A soma dos dois espectros apresenta boa correspondência com o espectro IRMPD. O número de bandas é o mesmo (caso se juntem os pares de picos de maior e menor energia no caso teórico, que são muito próximos) e todas elas apresentam boa correspondência com o espectro experimental em termos dos número de onda. Apenas as duas bandas de maior intensidade possuem deslocamentos maiores, mas ainda com diferenças relativamente pequenas.

Não é incomum observar pequenos desacordos entre os espectros teóricos e os espectros IRMPD, inclusive a posição das bandas teóricas é sensível aos métodos de cálculo empregados e depende também do fator de escala<sup>57,71</sup>.

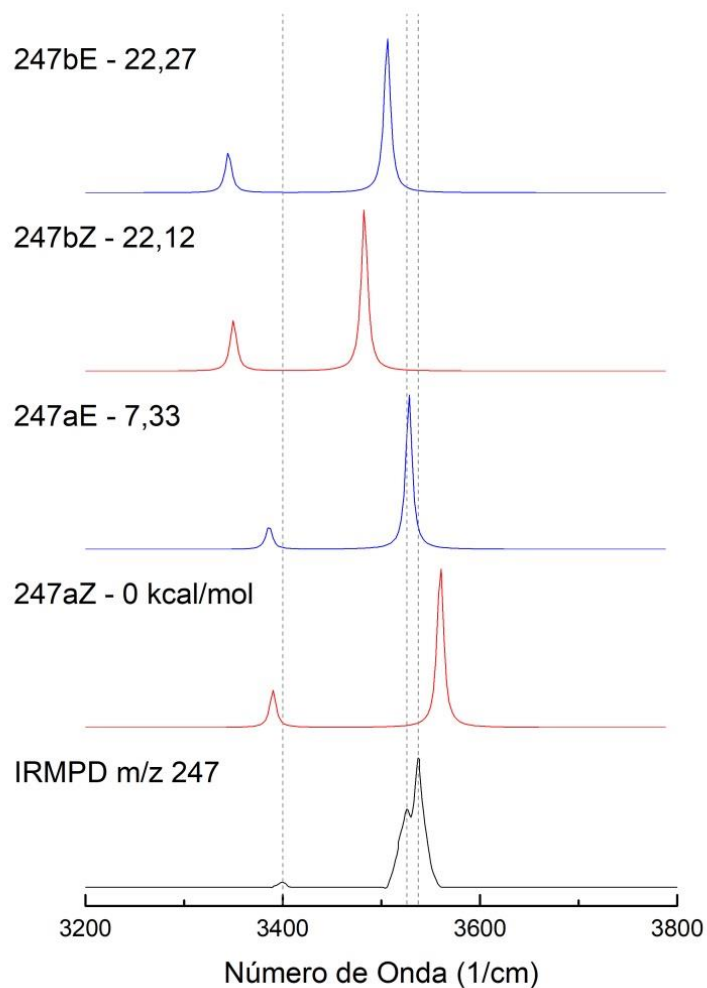
A soma dos espectros representaria uma mistura de duas populações de isômeros coexistindo no *íon trap*. É estranho que os isômeros de maior energia tenham se sobressaído, mas isso não deve ser considerado um impeditivo para a hipótese, pois a disponibilidade dos diferentes isômeros no *íon trap* durante o experimento dependeria da cinética da formação dos mesmos durante a ionização e dos processos que possam vir a ocorrer no próprio *íon trap* e esses fatores não estão sendo levados em consideração.

Seguindo adiante, a estrutura proposta para o íon de  $m/z$  247 possui geometria bem mais simples, de modo que julgou-se necessário considerar apenas quatro isômeros, cujas estruturas otimizadas são mostradas na *Figura 9*.



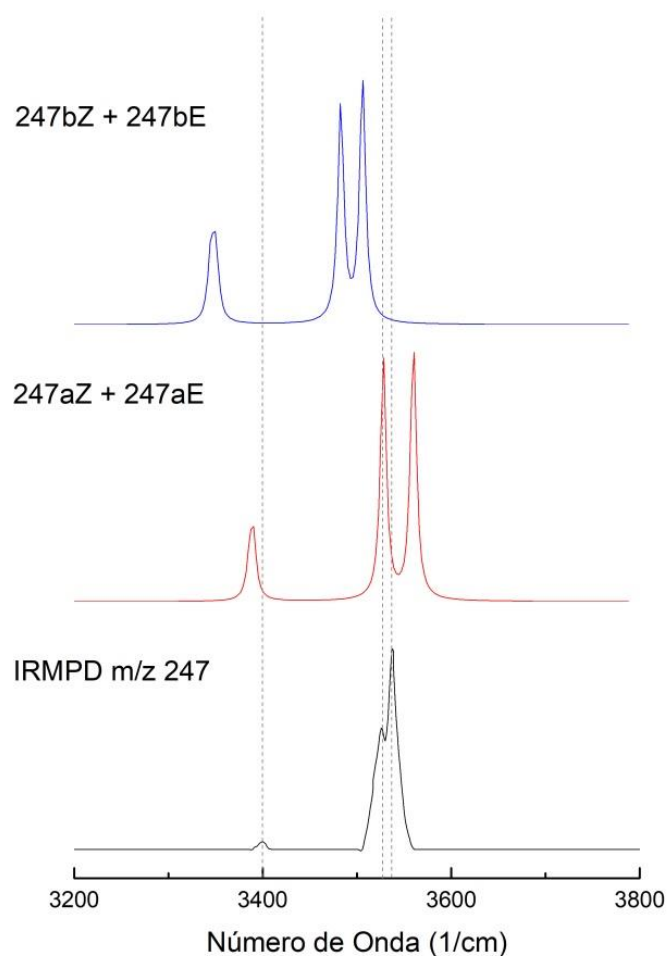
**Figura 9.** Geometrias otimizadas dos quatro isômeros utilizados na modelagem teórica do espectro vibracional do íon de raiz  $m/z$  247 (filho do  $m/z$  264). Os nomes dados a elas estão em vermelho (a e b indicam a posição de um dos H ligados a um N; E ou Z indicam a posição do grupo NCN periférico).

No *Gráfico 5* os quatro espectros teóricos obtidos para as estruturas mostradas na *Figura 9* são comparados ao espectro IRMPD do íon de razão  $m/z$  247.



**Gráfico 5.** Comparação entre o espectro IRMPD do íon de  $m/z$  247 (filho do  $m/z$  264) e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis (Figura 9). Os códigos mostrados ao lado esquerdo de cada espectro são as identificações dadas a cada isômero seguidas das energias livres de Gibbs desses isômeros (em kcal/mol) com relação ao de menor energia, cuja energia foi fixada em 0. Os eixos verticais desse gráfico foram omitidos e as escalas de intensidade foram ajustadas para facilitar a comparação visual.

A quantidade de bandas previstas nos espectros teóricos difere daquela observada no espectro IRMPD. Em função disso, foi feita uma nova análise. No Gráfico 6, o espectro IRMPD é comparado às somas de dois pares de espectros (duas somas, uma com os espectros 247aE e 247aZ e outra com os espectros 247bE e 247bZ).



**Gráfico 6.** Comparação entre o espectro IRMPD do íon de  $m/z$  247 (filho do  $m/z$  264) e somas de pares dos espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis (Gráfico 5). Os códigos mostrados ao lado esquerdo de cada espectro são as identificações relativas aos pares de isômeros cujos espectros foram somados. Os eixos verticais desse gráfico foram omitidos e as escalas de intensidade foram ajustadas para facilitar a comparação visual.

Percebe-se que o espectro teórico da mistura das estruturas 247aZ e 247aE (de menor energia) possui boa correspondência com o espectro IRMPD. Além do número de bandas ser previsto corretamente, duas das três bandas apresentam correspondência quase perfeita entre os números de onda teóricos e experimentais. A terceira (de maior energia) está deslocada em apenas aproximadamente  $+24\text{ cm}^{-1}$  com relação à banda experimental de maior energia.

Enfim, o conjunto dos dados obtidos (padrões de fragmentação, razão  $m/z$  de alta resolução e identificação por IRMPD) é amplo e, como tudo parece dar suporte às propostas apresentadas para as estruturas dos íons de  $m/z$  264 e 247 (filho), assume-se que elas estejam corretas.

O próximo íon a ser analisado é o de razão  $m/z$  282. Propõe-se que ele corresponda ao íon de razão  $m/z$  264 com adição de uma molécula de água. A estrutura seria fruto de uma



simples adição e corresponderia a um subproduto do sistema, bem como o íon de razão  $m/z$  264. A Figura 10 retrata duas possibilidades estruturais para esse íon.

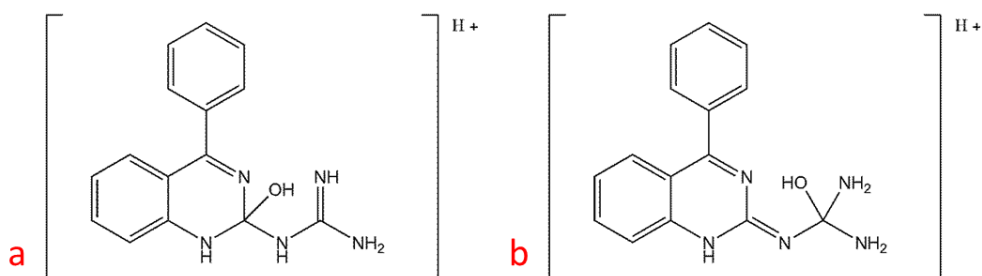
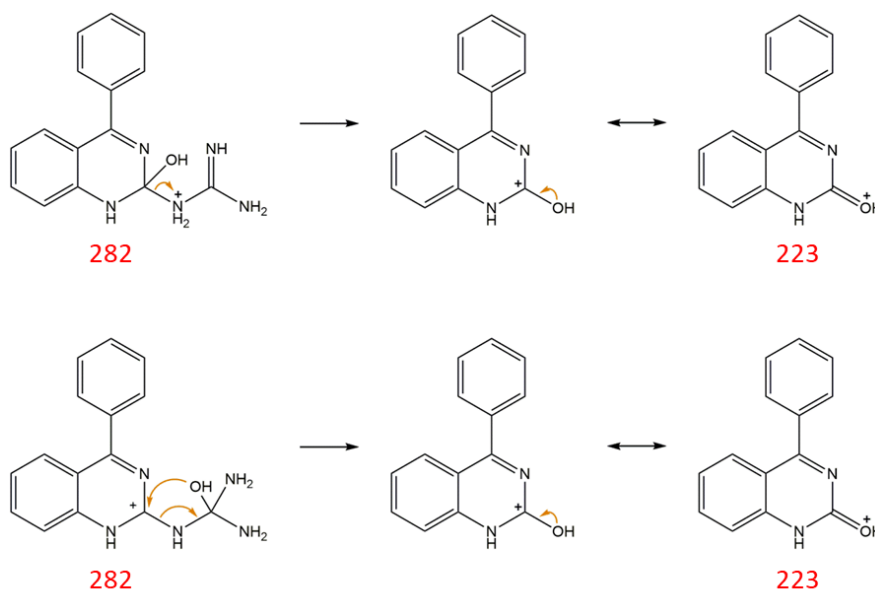


Figura 10. Estruturas propostas para o íon de razão  $m/z$  282.

O padrão de fragmentação obtido revelou apenas uma fragmentação com intensidade considerável, na qual o íon perde um neutro de massa 59 u e forma um filho de razão  $m/z$  223 (foram detectadas mais duas, mas elas não foram identificadas e possuem intensidades muito baixas). Acredita-se que a estrutura do filho corresponda à estrutura do íon de razão  $m/z$  223 previamente discutido e obtido diretamente da mistura reacional, pois seu padrão de fragmentação foi analisado e é o mesmo.

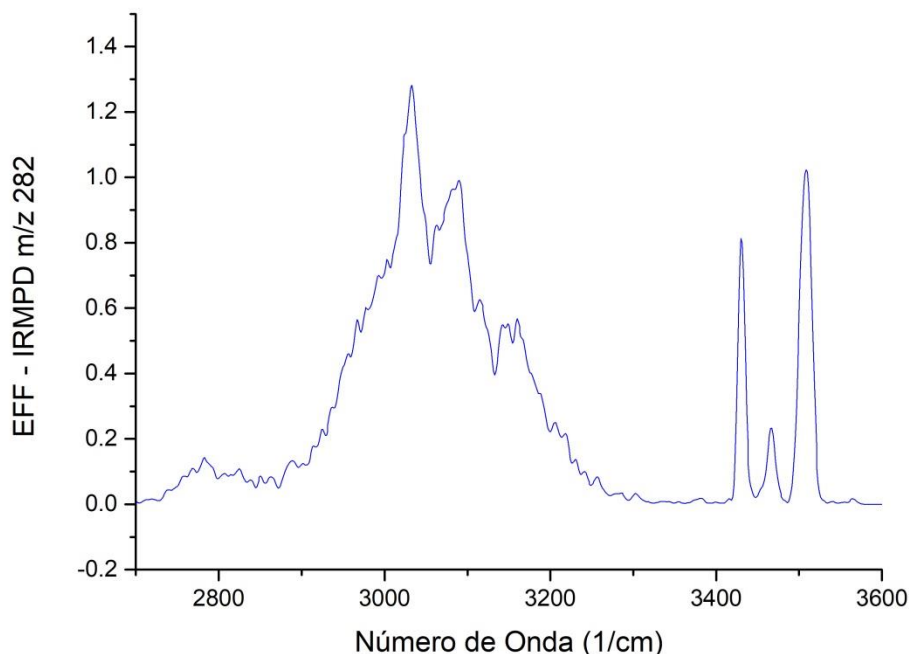
O neutro perdido corresponderia a uma guanidina ( $\text{CNH}_2\text{NH}_2\text{NH}$ ), eliminada conforme os mecanismos mostrados no Esquema 18. Eliminações de água, amônia ou mesmo de carbodiimida teoricamente também poderiam ocorrer, mas devem ser menos favoráveis cineticamente nas condições de CID neste caso e provavelmente por isso não são observadas.



Esquema 18. Mecanismo de fragmentação propostos para as duas estruturas isoméricas possíveis imaginadas para o íon de razão  $m/z$  282. Em vermelho são dadas as razões  $m/z$  dos íons.

A análise de alta resolução detectou uma  $m/z$  que também concorda com a  $m/z$  calculada para as estruturas propostas com uma diferença de apenas 1,4704 ppm em módulo (a  $m/z$  detectada foi de 282,1355 Th). Não há, portanto, dúvida significativa com relação à composição desse íon. No entanto, como as duas estruturas propostas são isoméricas, ambas

capazes de sofrer a fragmentação observada, os resultados de CID e alta resolução não são capazes de distingui-las. Recorreu-se então ao IRMPD. O espectro IRMPD obtido para o íon de razão  $m/z$  282 é mostrado no *Gráfico 7*.

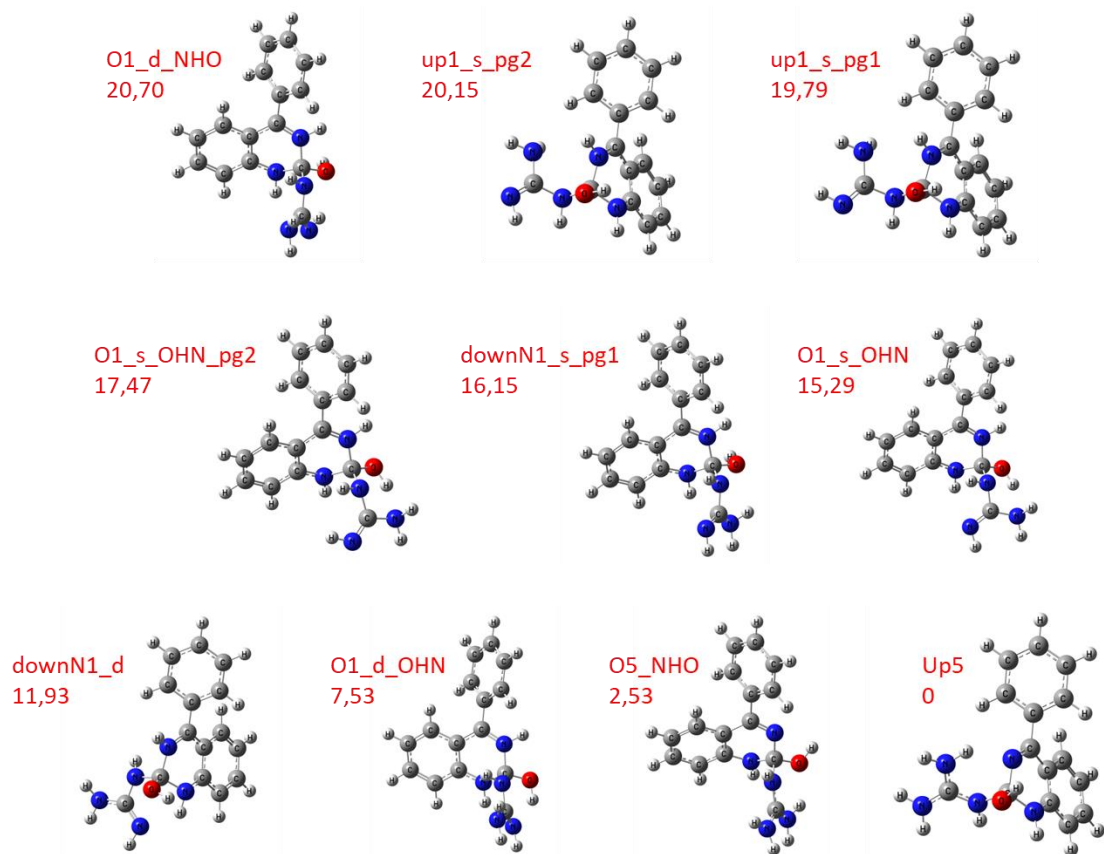


**Gráfico 7.** Espectro IRMPD obtido para o íon de razão  $m/z$  282. No eixo vertical é dada a eficiência de fragmentação (EFF) em unidades arbitrárias e no eixo horizontal é dado o número de onda em  $\text{cm}^{-1}$ . O intervalo mostrado vai de  $2700 \text{ cm}^{-1}$  a  $3600 \text{ cm}^{-1}$ , mas o espectro foi obtido até  $3800 \text{ cm}^{-1}$  e a região entre  $3600$  e  $3800 \text{ cm}^{-1}$  foi cortada por não conter nenhuma banda.

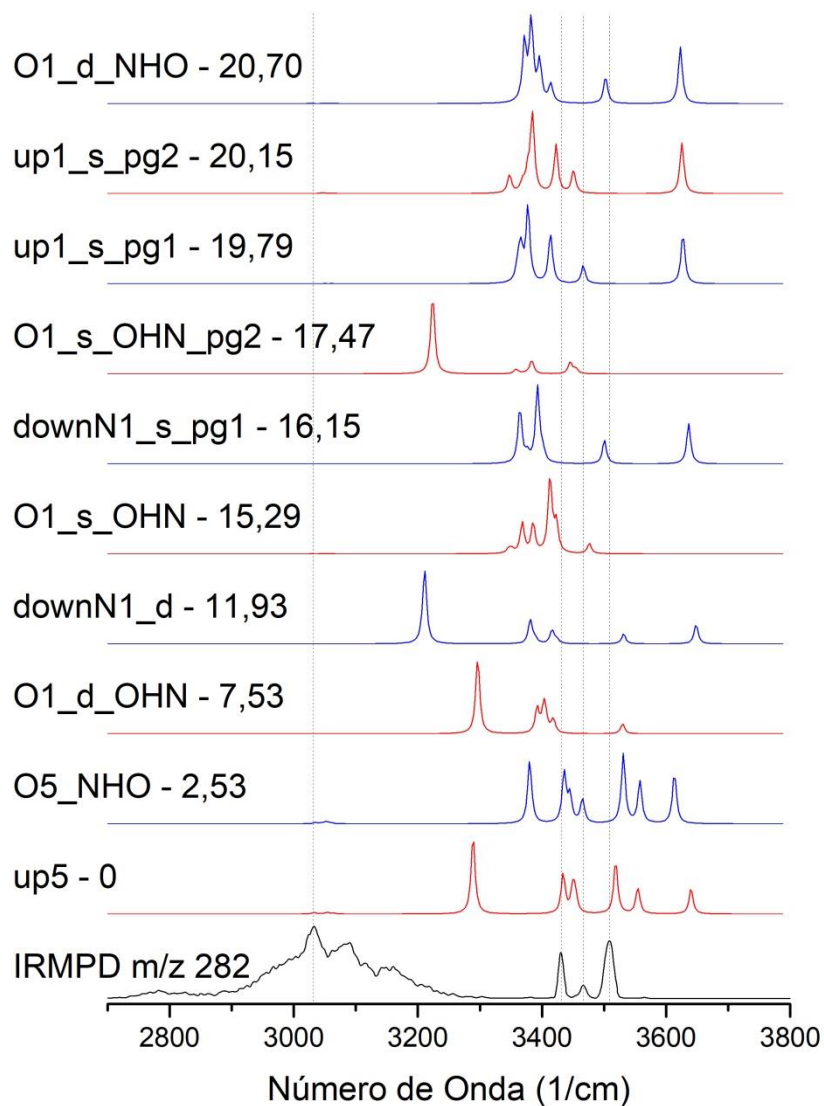
Esse espectro possui três bandas na região de maior energia, que devem ser bastante úteis para a identificação da estrutura. Ele possui também, na região entre  $2700$  e  $3300 \text{ cm}^{-1}$ , uma grande banda bem alargada que dificilmente seria reproduzida de maneira idêntica em um espectro teórico. Supõe-se que o alargamento dessa banda seja devido à presença de ligações de H na estrutura do íon: a idéia é que essas ligações possam ser estabelecidas com diferentes conformações (e até em diferentes sítios), de modo a permitir uma extensa gama de conformêros com frequências de absorção ligeiramente diferentes para a ligação NH ou OH envolvida na ligação de H.

Vários conformêros possíveis foram selecionados e tiveram suas estruturas otimizadas e seus espectros vibracionais calculados para comparação com o espectro IRMPD dado no *Gráfico 7*.

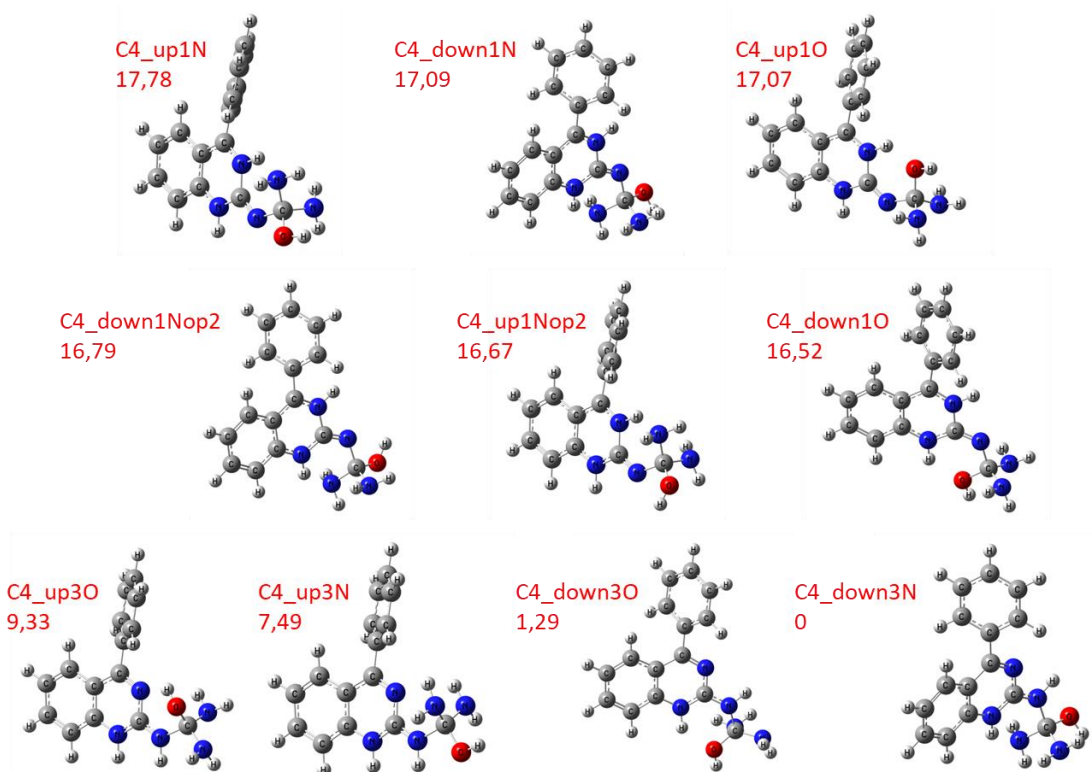
Na *Figura 11* são dadas as estruturas otimizadas dos conformêros selecionados para a modelagem da estrutura “a”, mostrada na *Figura 10*. Na *Figura 12*, são dados os conformêros selecionados para a modelagem da estrutura “b”. A comparação entre o IRMPD e os espectros teóricos é dada para a estrutura “a” no *Gráfico 8* e para a estrutura “b” no *Gráfico 9* e no *Gráfico 10* (a única diferença entre esses dois gráficos é a escala adotada para o eixo y, de modo a permitir a visualização de todos os picos).



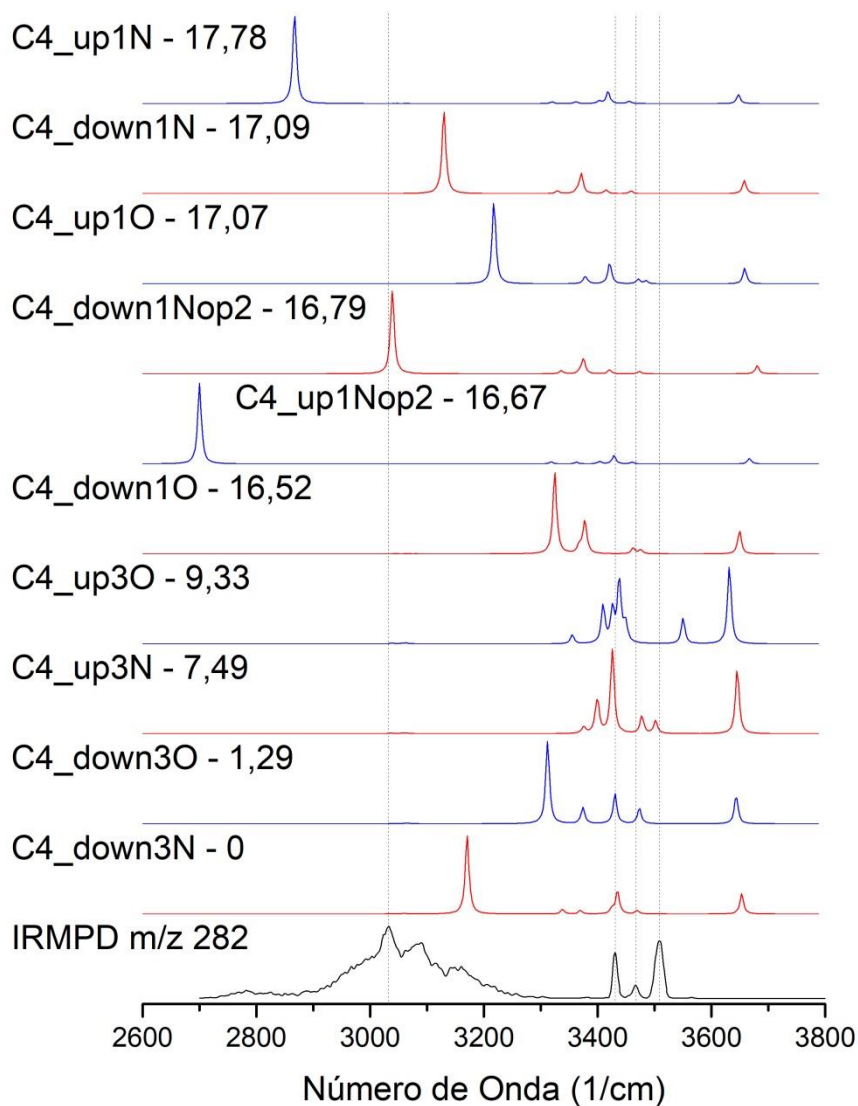
**Figura 11.** Estruturas otimizadas dos diferentes isômeros possíveis correspondendo à estrutura “a” mostrada na Figura 10. Elas foram usadas para a modelagem de espectros vibracionais para comparação com o espectro IRMPD do íon de razão  $m/z$  282 (espectros mostrados no Gráfico 8). Ao lado de cada estrutura são dados em vermelho: o código usado para a identificação do isômero e a sua energia livre de Gibbs em kcal/mol com relação ao de menor energia, cuja energia foi fixada em 0.



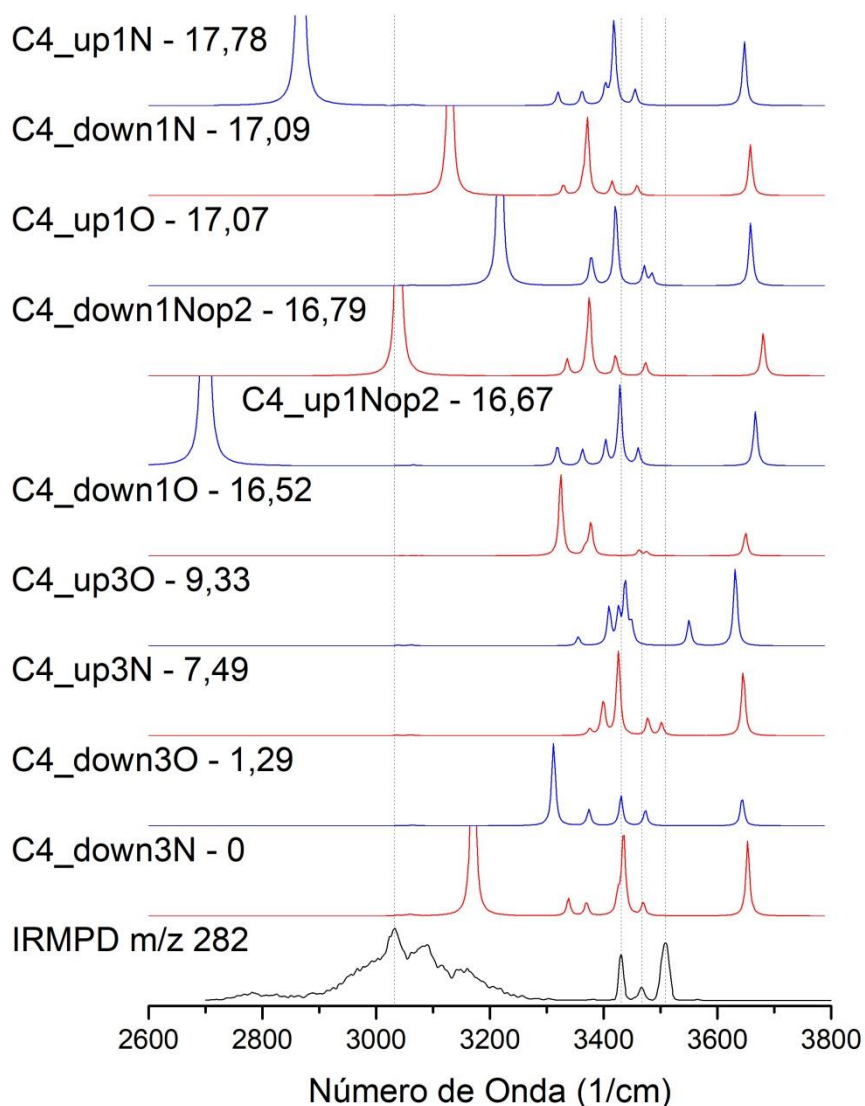
**Gráfico 8.** Comparação entre o espectro IRMPD do íon de  $m/z$  282 e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis, todos correspondendo à estrutura “a” da Figura 10. Os códigos mostrados ao lado esquerdo de cada espectro são as identificações dadas a cada isômero seguidas das energias livres de Gibbs desses isômeros (em kcal/mol) com relação ao de menor energia, cuja energia foi fixada em 0. Os eixos verticais desse gráfico foram omitidos e as escalas de intensidade foram ajustadas para facilitar a comparação visual.



**Figura 12.** Estruturas otimizadas dos diferentes isômeros possíveis correspondendo à estrutura “b” mostrada na Figura 10. Elas foram usadas para a modelagem de espectros vibracionais para comparação com o espectro IRMPD do íon de razão  $m/z$  282 (espectros mostrados no Gráfico 9 e no Gráfico 10). Ao lado de cada estrutura são dados em vermelho: o código usado para a identificação do isômero e a sua energia livre de Gibbs em kcal/mol com relação ao de menor energia, cuja energia foi fixada em 0.



**Gráfico 9.** Comparação entre o espectro IRMPD do íon de  $m/z$  282 e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis, todos correspondendo à estrutura “b” da Figura 10. Os códigos mostrados ao lado esquerdo de cada espectro são as identificações dadas a cada isômero seguidas das energias livres de Gibbs desses isômeros (em kcal/mol) com relação ao de menor energia, cuja energia foi fixada em 0. Os eixos verticais desse gráfico foram omitidos e as escalas de intensidade foram ajustadas para facilitar a comparação visual. A única diferença entre este gráfico e o Gráfico 10 é a escala do eixo y que foi variada para permitir a visualização de todos os picos.



**Gráfico 10.** Comparação entre o espectro IRMPD do íon de  $m/z$  282 e os espectros obtidos computacionalmente para diferentes isômeros possíveis, todos correspondendo à estrutura “b” da Figura 10. Os códigos mostrados ao lado esquerdo de cada espectro são as identificações dadas a cada isômero seguidas das energias livres de Gibbs desses isômeros (em kcal/mol) com relação ao de menor energia, cuja energia foi fixada em 0. Os eixos verticais desse gráfico foram omitidos e as escalas de intensidade foram ajustadas para facilitar a comparação visual. A única diferença entre este gráfico e o Gráfico 9 é a escala do eixo y que foi variada para permitir a visualização de todos os picos.

Em geral não se observou boa correspondência entre os espectros calculados e o espectro IRMPD, de modo que a análise não foi conclusiva. No entanto, algumas observações podem ser feitas.

Ainda que não se tenha observado correspondência, é difícil imaginar que a fórmula estrutural proposta esteja incorreta tendo em mente as evidências discutidas anteriormente (análise por alta resolução e padrão de fragmentação), mas é necessário admitir a

possibilidade de que se trate de uma outra estrutura isomérica que não corresponda aos confômeros modelados.

Dentre os espectros calculados, aqueles referentes à estrutura “b” parecem melhor reproduzir algumas características do espectro IRMPD, principalmente a presença de bandas muito intensas espalhadas na região entre 2700 e 3300  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde à região onde se tem uma banda muito intensa e alargada no espectro IRMPD. Essas bandas teóricas são decorrentes estiramentos N-H onde o H participa de uma ligação de hidrogênio, o que causa o *red-shift* observado. Além disso, esses espectros também apresentam bandas menos intensas na região próxima de onde se observam três bandas bem definidas no espectro IRMPD.

As principais falhas desses espectros são a não correspondência na posição dessas três bandas, bem como a existência de uma banda próxima de 3700  $\text{cm}^{-1}$  inexistente no espectro IRMPD e correspondente a um estiramento O-H.

Por fim, tendo como base as observações feitas, é possível estabelecer a seguinte hipótese: o espectro IRMPD em questão deve ser fruto de uma população de diferentes isômeros cujas estruturas contém ligações de hidrogênio. A soma das bandas associadas ao estiramentos participantes dessas ligações corresponderia à banda alargada observada entre 2700 e 3300  $\text{cm}^{-1}$ . Também é de se esperar que as ligações OH presentes em tais isômeros estejam envolvidas nessas ligações de hidrogênio ou então em outras interações, causando um *red-shift* que explique o não aparecimento das mesmas na região próxima a 3700  $\text{cm}^{-1}$  no espectro IRMPD. É também necessário que essas estruturas sejam capazes de sofrer uma fragmentação com perda de um grupo guanidina (59 u) e mantendo o átomo de O para formação do íon filho de  $m/z$ .

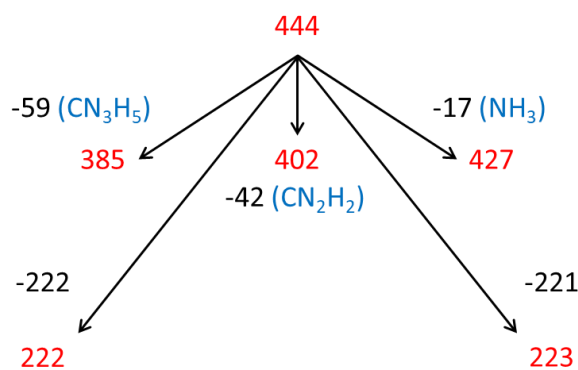
Seguindo para maiores razões  $m/z$ , entre 282 e 349 Th há uma região sem muitos sinais intensos no espectro de massas do meio reacional de Wang (*Figura 5*). De 349 em diante (*Figura 7*), foi detectado um conjunto de íons para o qual não foram construídas propostas estruturais tão bem fundamentadas como as anteriores, no entanto, algumas observações podem ser feitas.

Nenhum indício foi encontrado de que esses íons possam ser provenientes de intermediários reacionais que ainda não foram detectados, ou seja, as massas não correspondem aos íons que seriam esperados tendo em mente os intermediários do mecanismo de Wang (*Esquema 4*) ou os intermediários imaginados para a etapa de redução (*seção 5*). Imagina-se, portanto, que correspondam a subprodutos do meio reacional.

O íon de razão  $m/z$  444 é o íon que foi melhor analisado dentre eles e acredita-se que parte dos outros possuam sua estrutura relacionada com a estrutura dele. Portanto, a discussão será organizada inicialmente em torno do mesmo.

Em razão de sua razão  $m/z$  e de seu padrão de fragmentação, acredita-se que esse íon seja composto dos átomos que constituem o intermediário de massa 221 u somados aos que constituem o subproduto de massa 222 u (*Esquema 9*), com um próton adicional ( $221 + 222 + 1 = 444$ ). O *Esquema 19* resume o padrão de fragmentação.

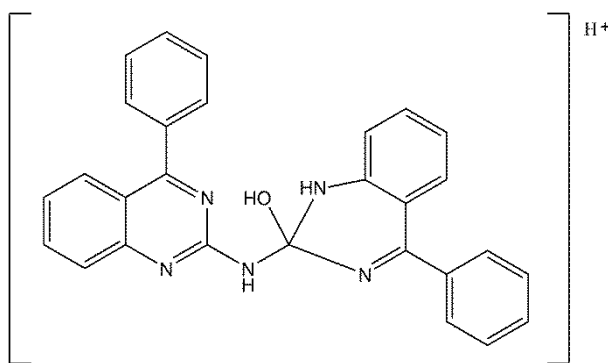




**Esquema 19.** Principais fragmentações observadas para o íon de razão  $m/z$  444. As razões  $m/z$  do íon pai e dos íons filhos são dadas em vermelho, ao passo que as dos neutros perdidos são dadas em preto. As fórmulas propostas para os neutros são indicadas pelo azul.

O íon em 444 Th pode perder neutros de massas 222 ou 221 u, gerando íons filhos de razões  $m/z$  223 e 222. Estes dois íons filhos tiveram suas fragmentações analisadas e eles possuem o mesmo padrão dos íons discutidos anteriormente com essas razões  $m/z$  (*Esquema 10*), devendo, portanto, ser os mesmos íons. Além disso, as massas dos neutros perdidos correspondem às massas das espécies que, quando protonadas, formam os íons com razão  $m/z$  222 e 223. Assim, é natural supor que o íon em 444 Th seja composto dessas duas espécies somadas com uma protonação.

As duas propostas mais simples para a estrutura desse íon seriam a de um *cluster* protonado contendo as espécies de massa 221 u e 222 u (ligadas por interações intermoleculares) ou a de uma molécula condensada por um ataque nucleofílico de uma das espécies à outra, como mostrado na *Figura 13*. Essa estrutura seria capaz de gerar os fragmentos de raiz  $m/z$  222 e 223 através de mecanismos simples.

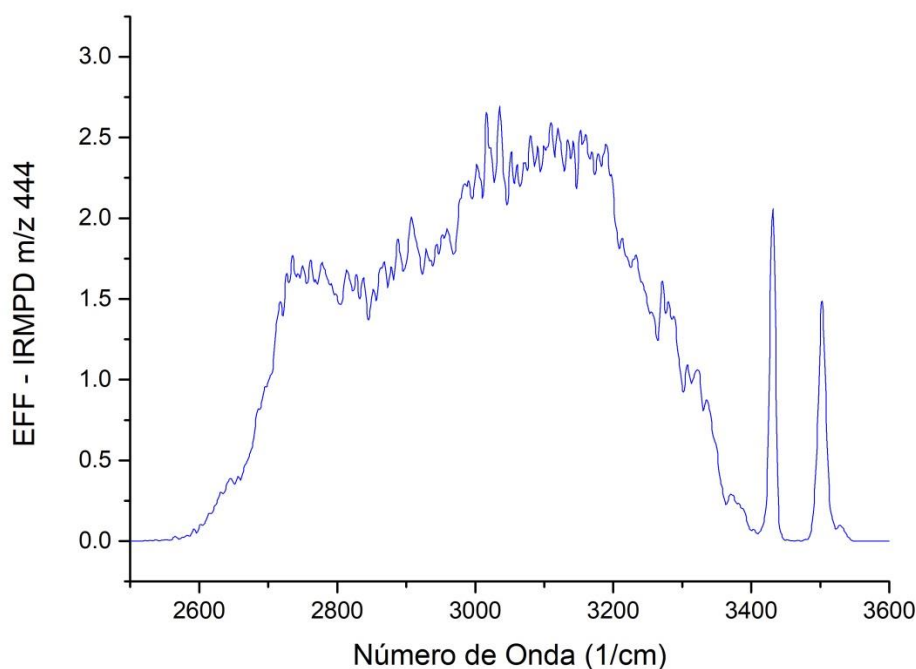


**Figura 13.** Uma das duas propostas iniciais imaginadas para a estrutura do íon de razão  $m/z$  444.

No entanto, as outras fragmentações mostradas tornam a situação um pouco mais complicada. O íon em 444 Th pode perder uma amina, uma carbodiimida ( $CN_2H_2$ ), ou ambas, correspondendo a um grupo guanidina ( $CN_3H_5$ ). Não só isso, o íon filho gerado pela perda de uma amina (razão  $m/z$  427) pode perder uma carbodiimida ao ser fragmentado por CID ( $MS^3$ ), ao passo que o íon filho formado pela perda de uma carbodiimida (razão  $m/z$  402) perde uma amina quando fragmentado por CID ( $MS^3$ ). Esse comportamento é o mesmo que foi observado para a fragmentação do íon de razão  $m/z$  264 (*Esquema 14*) e que foi atribuído ao grupo guanidina periférico presente em sua estrutura.

Seguindo essa lógica, seria de esperar que o íon em 444 Th também possuísse um grupo como esse, mas isso significaria que as duas propostas explicadas anteriormente (a proposta de um *cluster* e a proposta mostrada na *Figura 13*) são inadequadas.

O espectro de IRMPD deste íon foi obtido e é mostrado no *Gráfico 11*. Como os espectros teóricos correspondentes não foram calculados, a comparação aqui não é possível, mas o espectro obtido poderá ser usado futuramente caso novos estudos sejam desenvolvidos sobre essa reação.



**Gráfico 11.** Espectro IRMPD obtido para o íon de razão  $m/z$  444. No eixo vertical é dada a eficiência de fragmentação (EFF) em unidades arbitrárias e no eixo horizontal é dado o número de onda em  $\text{cm}^{-1}$ . O intervalo mostrado vai de  $2500 \text{ cm}^{-1}$  a  $3600 \text{ cm}^{-1}$ , mas o espectro na verdade foi obtido até  $3800 \text{ cm}^{-1}$  e a região entre  $3600$  e  $3800 \text{ cm}^{-1}$  foi cortada por não conter nenhuma banda.

Bem como no espectro IRMPD do íon em 282 Th, aqui se observa uma banda larga e intensa na região de números de onda menores que  $3400 \text{ cm}^{-1}$ , mas nesse caso ela é ainda mais larga. Novamente, é de se esperar que cálculos teóricos não reproduzam essa banda de forma idêntica, mas, como discutido para o caso do íon em 282 Th, ela deve ser fruto de uma população de íons contendo ligações de H. Como a estrutura do íon em 444 Th é maior e mais complexa que a do íon em 282 Th faz sentido que a banda seja mais larga, pois haveriam mais possibilidades de conformações diferentes com variações no *red-shift* causado pelas diferentes interações possíveis. Outra semelhança é ausência de uma banda na região dos estiramentos OH, o que leva novamente à suposição de que essas ligações estejam envolvidas em interações.

Também se observam dois picos na região de mais alta frequência que poderiam ser usados de forma mais precisa para uma comparação com dados teóricos e para a identificação da estrutura.

A análise de alta resolução confirmou a viabilidade da proposta para a fórmula molecular desse íon. A  $m/z$  detectada (444,1824 Th) para o íon de razão  $m/z$  444 difere em apenas 2,1717 ppm da  $m/z$  calculada (intermediário de massa 221 u + subproduto de massa 222 u + H).

A análise em alta resolução também serve como suporte para a proposta de fórmulas moleculares para quatro outros íons detectados no espectro de massas da reação de Wang (*Figura 7*) na região próxima a 444 Th.

Acredita-se que os íons em 402 e 426 Th teriam em sua composição respectivamente uma molécula de carbodiimida e uma molécula de água a menos que o íon em 444 Th. Já os íons de  $m/z$  376 e 359 seriam relacionados entre si por uma diferença de 17 u, correspondendo a uma molécula de amônia.

Apesar de não terem sido apresentadas propostas estruturais para esses íons, os dados da análise em alta resolução permitem a atribuição das fórmulas moleculares com certo grau de confiança. A *Tabela 1*, apresenta as fórmulas propostas para cada um dos íons, a massa calculada com base nas fórmulas, a massa detectada por alta resolução e o módulo da diferença entre elas em ppm.

**Tabela 1.** Massas detectadas por análise de ESI-MS de alta resolução para os íons de razão  $m/z$  359, 376, 402, 426 e 444, comparadas às massas teóricas (aproximadas à quarta casa decimal) obtidas com base nas fórmulas químicas propostas.

Razão $m/z$ (Th)	Fórmula Proposta	Massa Detectada (u)	Massa Calculada (u)	Módulo da Diferença Entre as Massas (ppm)
359	C26H19N2	359,1553	359,1548	1,3264
376	C26H22N3	376,1814	376,1814	0,0725
402	C27H20N3O	402,1614	402,1606	1,8966
426	C28H20N5	426,1722	426,1719	0,7728
444	C28H22N5O	444,1834	444,1824	2,1717

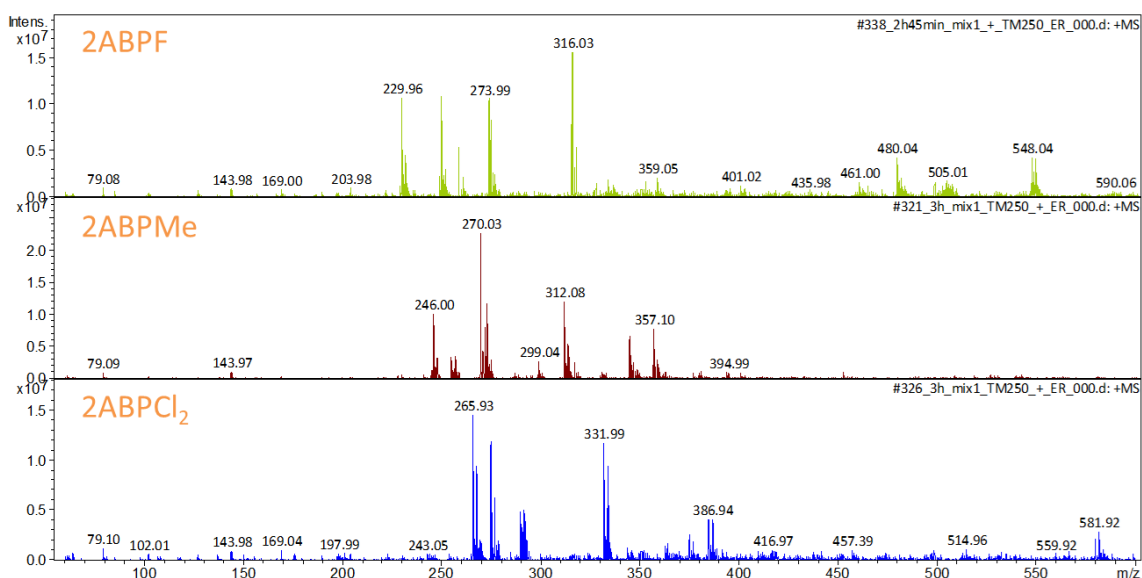
As massas detectadas experimentalmente foram utilizadas como *input* para ChemCalc e dentre as fórmulas encontradas com melhor correspondência, foram escolhidas aquelas que pareciam fazer maior sentido em termos da química do sistema (o alto grau de instauração, por exemplo, foi um dos critérios utilizados, já que todas as moléculas discutidas até agora possuem essa característica).

#### 4.2 Estudos Experimentais da Reação de Wang com Derivados da 2-ABP

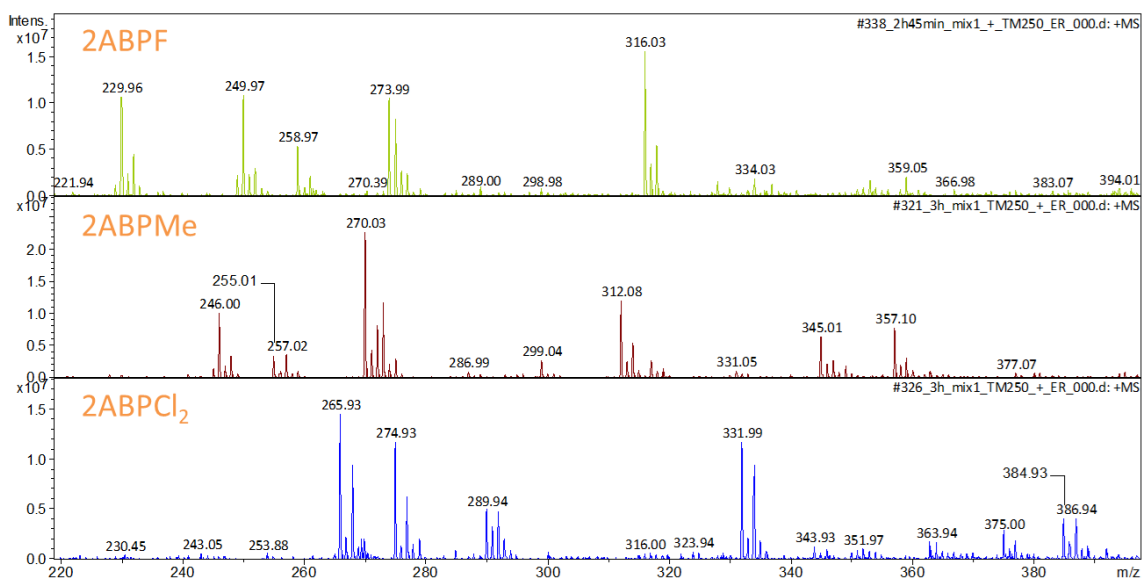
Os espectros obtidos após as 3h de reação para cada um dos derivados da 2ABP são dados na *Figura 14*. Adiante, na *Figura 15* é dado um recorte da região dos três gráficos que contém os sinais mais significativos.

Bem como no caso da reação de Wang original, não foram observadas diferenças relevantes entre os espectros obtidos com amostras em diferentes solventes. Portanto, são mostrados apenas os espectros preparados com mistura 1:1 água/acetonitrila.

É importante lembrar, ao analisar os espectros dados, que a presença de pares de íons com diferença de 2 Th é devida ao padrão isotópico do Cloro, átomo presente na molécula dos três substratos empregados.



**Figura 14.** Espectros obtidos para os meios reacionais das reações entre a tiourea e cada um dos três derivados da 2-aminobezofenona, após 3h de reação. De cima para baixo, os derivados são: 2ABPF, 2ABPMe e 2ABPCl<sub>2</sub>.



**Figura 15.** Recortes dos espectros obtidos para os meios reacionais das reações entre a tiourea e cada um dos três derivados da 2-aminobezofenona, após 3h de reação. De cima para baixo, os derivados são: 2ABPF, 2ABPMe e 2ABPCl<sub>2</sub>.

Uma análise das massas dessas moléculas revela que a maioria dos sinais de intensidade razoável detectados correspondem à íons análogos aos detectados no caso da reação de Wang original.

As diferenças entre as massas monoisotópicas dos derivados 2ABPF (249 u), 2ABPMe (245 u) e 2ABPCl<sub>2</sub> (265 u) e a massa da 2ABP (197 u) são de, respectivamente: 52, 48 e 68 u. Subtraindo esses valores da razão  $m/z$  dos íons detectados nos espectros de massa dos derivados (Figura 15), são reveladas as identidades deles como análogos aos íons de razão  $m/z$

198, 207, 222, 223 e 264 Th, previamente detectados e identificados no caso da reação de Wang original. A *Tabela 2* resume esses dados.

**Tabela 2.** Razões  $m/z$  de alguns dos principais íons detectados na reação de Wang original comparadas às razões  $m/z$  dos íons análogos detectados nas reações com derivados da 2ABP.

Razão $m/z$ do íon detectado na reação de Wang original (Th)	Identidade	Razão $m/z$ (Th)		
		do análogo detectado na reação com:		
		2ABPF (diferença de 52 u)	2ABPMe (diferença de 48 u)	2ABPCl <sub>2</sub> (diferença de 68 u)
198	Reagente	250	246	266
207	Produto	259	255	275
222	Intermediário	274	270	290
223	Subproduto	275	271	291
264	Subproduto	316	312	332

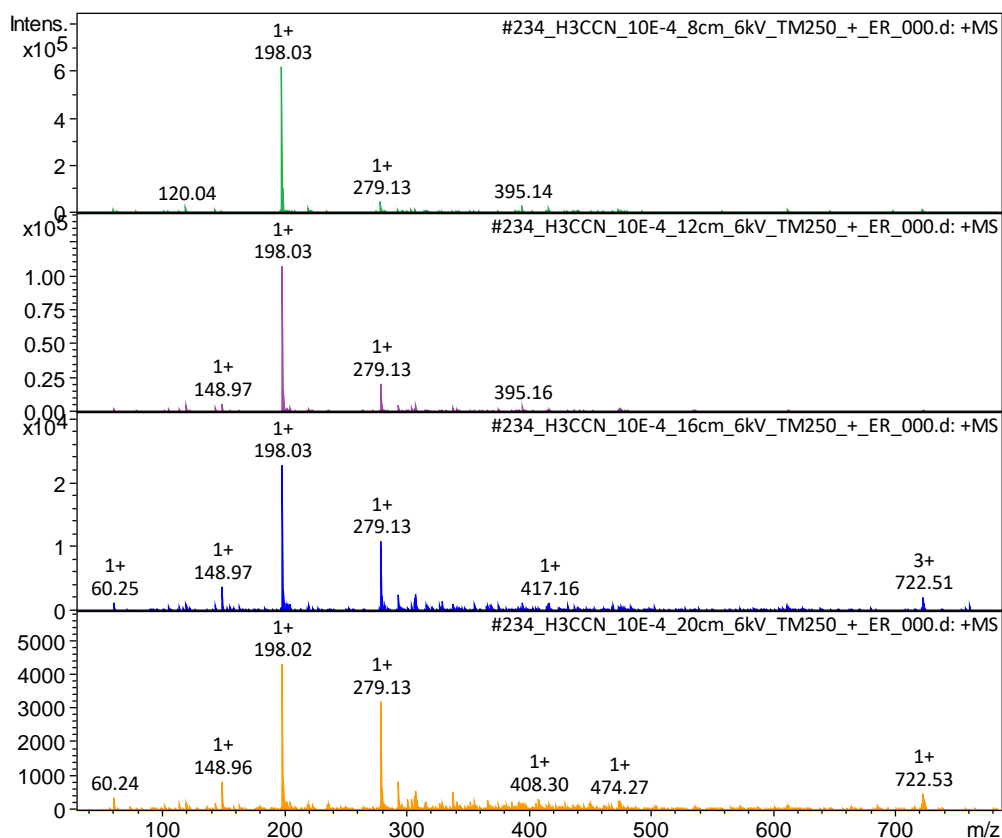
Além dos íons contidos na *Tabela 2*, dentre os poucos íons restantes com intensidades razoáveis nos espectros das reações com derivados da 2ABP, não foram identificados intermediários de reação.

Portanto, esses resultados apenas ajudam a confirmar o mecanismo proposto por Wang e sugerem sua generalidade com relação ao emprego de diferentes derivados da 2-aminobenzofenona.

Apesar disso, há uma observação interessante: não foram observados análogos ao íon de razão  $m/z$  282, detectado na reação de Wang original e nem análogos aos vários íons de alta intensidade localizados entre 349 e 444 Th nos espectros desta mesma reação. É possível que isso seja devido ao tempo relativamente curto (3h) empregado para o estudo das reações com derivados, já que a intensidade desses íons aumentou consideravelmente a partir das 3h no monitoramento da reação original (*Figura 5*). No entanto, também é possível que tais espécies simplesmente não sejam formadas nesses sistemas.

### 4.3 Tentativas de Aceleração da Reação de Wang em Gotículas de ESI

A *Figura 16* mostra espectros obtidos sem o uso de tubos de cobre e variando a distância entre a fonte de ESI e a entrada do massas. A voltagem empregada foi sempre de 6kV, a pressão do gás de nebulização foi sempre de 7,25 psi e o fluxo de injeção de amostra foi sempre de 150  $\mu$ L/h. As distâncias entre fonte e massas são, de cima para baixo, de: 8cm, 12cm, 16cm e 20cm.

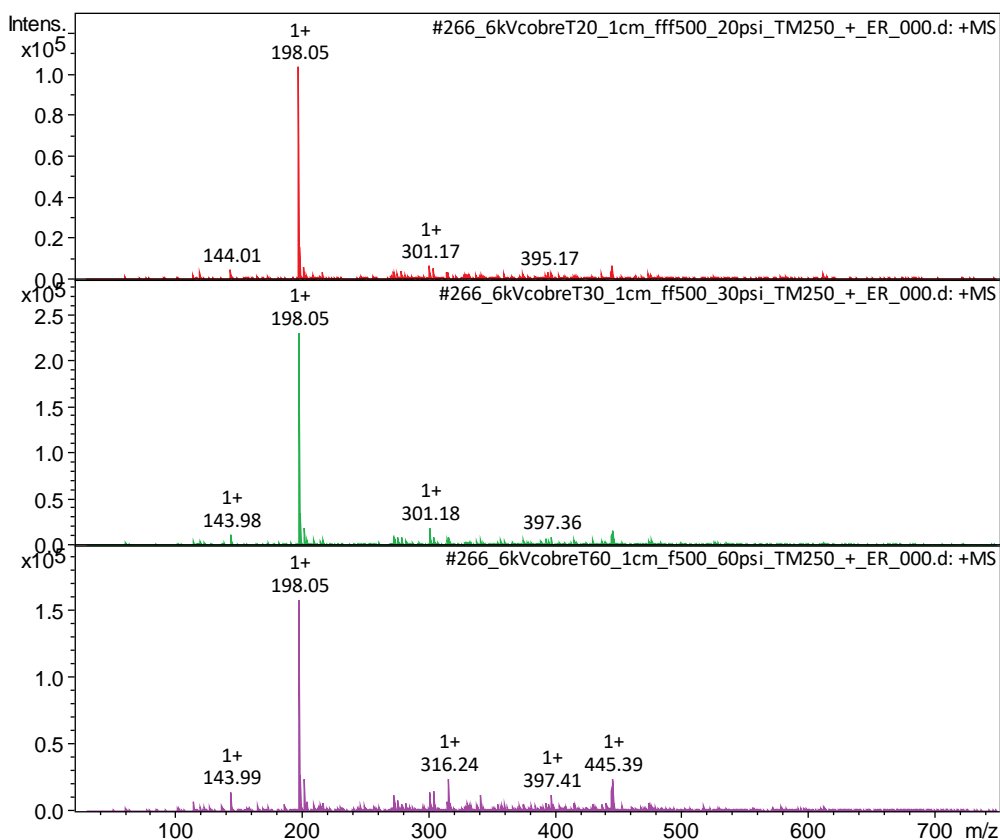


**Figura 16.** Espectros obtidos com a mistura reacional de Wang pré-ativada e variando a distância entre fonte de ESI e íon trap (sem tubos). A voltagem empregada é de 6kV, o fluxo de injeção de amostra é de 150  $\mu\text{L/h}$  e a pressão do gás nebulizador é de 7,25 psi. As distâncias entre fonte e massas são, de cima para baixo, de: 8cm, 12cm, 16cm e 20cm.

O principal sinal observado é o sinal em 198 Th, que corresponde à 2ABP protonada e que não desaparece com o aumento da distância. No entanto, outras alterações são observadas: o sinal total do espectro diminui radicalmente e progressivamente e o espectro fica mais sujo com o aumento da distância, com destaque para o aumento da intensidade de um sinal em 279 Th.

Não se sabe qual a origem desse sinal em 279 Th. No entanto, não parece se tratar de nenhuma espécie relacionada à reação de Wang, já que ele não foi observado nos outros experimentos. Como será mostrado adiante, ele também não aparece nos testes em que são empregados tubos de cobre, portanto, supõe-se que talvez seja decorrente do contato livre entre as gotículas de ESI e a atmosfera e, por isso, se torna mais intenso quando esse contato é prolongado. Essa suposição não é suportada por nenhuma outra evidência e não procurou-se investigar tal fenômeno mais a fundo.

A *Figura 17* mostra espectros obtidos com emprego de tubos de cobre de 20, 30 e 60 cm de comprimento, de cima para baixo. O fluxo de injeção de amostra é de 500  $\mu\text{L/h}$ , a voltagem empregada na fonte é de 6kV e a pressão do gás de nebulização é de 20, 30 e 50 psi, de cima para baixo.



**Figura 17.** Espectros obtidos com a mistura reacional de Wang pré-ativada e variando a distância entre fonte de ESI e íon trap (usando tubos de cobre de 20, 30 e 60 cm, de cima para baixo). A voltagem empregada é de 6kV, o fluxo de injeção de amostra é de 500  $\mu\text{L/h}$  e a pressão do gás nebulizador é de 20, 30 e 50 psi, de cima para baixo.

Percebe-se que não há alterações significativas no espectro com variação da distância e o que se observa em todos é o sinal em 198 Th correspondente à 2ABP protonada. Portanto, não foi possível observar a reação de Wang ocorrendo nas gotículas com esses testes e nem com os testes sem tubos.

Numa última tentativa, o tubo de cobre de 60 cm foi enrolado na forma de uma bobina e aquecido com uma fita de aquecimento, cuja voltagem foi variada. Mas, não foi observada grande variação em função da temperatura nos espectros obtidos.

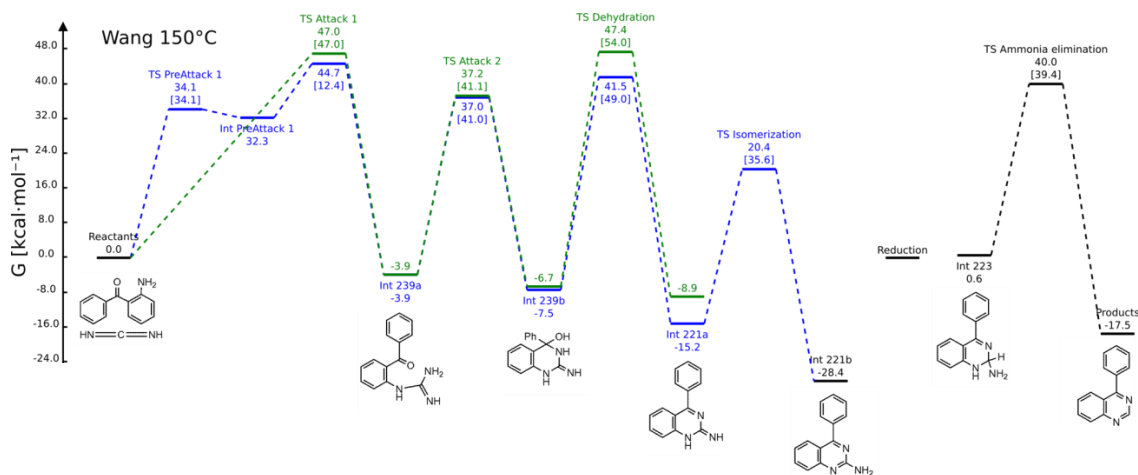
Enfim, nem mesmo com aquecimento e com um tubo de cobre de 60 cm a reação de Wang foi observada nas gotículas de ESI. Talvez o preparo da mistura reacional não tenha sido adequado e as concentrações tenham sido muito baixas, ou talvez isso seja devido a uma característica da própria reação.

Ainda assim, o arranjo experimental com os tubos funcionou, foi possível obter sinal razoavelmente intenso com um metro entre a fonte de ESI e o massas: uma distância muito grande em comparação às distâncias usualmente empregadas em análises por ESI-MS. Percebeu-se ao longo dos experimentos que o parâmetro que permite a obtenção de sinal a distâncias maiores é a pressão do gás de nebulização. Quanto maior a distância, maior a pressão necessária. Os dados obtidos durante esses experimentos poderão ser úteis para o nosso grupo de pesquisa caso futuros projetos abordem o fenômeno da aceleração de reações em gotículas.

## 4.4 Modelagem Computacional do Mecanismo de Wang Não Catalisado

### 4.4.1 Resultados Gerais (Vácuo)

A curva de energia livre montada para a reação de Wang não catalisada é dada no Esquema 20:



**Esquema 20.** Curva de energia livre de Gibbs montada para o mecanismo da reação de Wang (representado no Esquema 4 e no Esquema 8). A curva correspondente ao caminho 1 é dada em azul e a correspondente ao caminho 2 é dada em verde (do intermediário 221b em diante e nos reagentes não há diferença entre os dois caminhos e a cor usada é o preto). No eixo vertical é dada a energia livre de Gibbs relativa aos reagentes (fixados em 0) em kcal/mol e o eixo horizontal (omitido) representa a coordenada de reação. Os números próximos aos nomes de intermediários ou estados de transição indicam a energia livre de Gibbs relativa da espécie correspondente ou, quando dados entre chaves, o  $\Delta G^\ddagger$  (energia livre de ativação) associado à etapa reacional correspondente (só dado para estados de transição). São dadas as representações simplificadas da maioria dos intermediários.

Na Tabela 3 são dados H, S e G obtidos para todos os componentes mostrados no Esquema 20. Na Tabela 4 são dados os valores de  $\Delta S$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta S^\ddagger$  (entropia de ativação),  $\Delta H^\ddagger$  (entalpia de ativação) e  $\Delta G^\ddagger$  (energia livre de ativação) para cada uma das etapas reacionais modeladas e para a reação global. Também são dados os valores de  $T\Delta S$  e  $T\Delta S^\ddagger$  para facilitar a visualização da contribuição entrópica em  $\Delta G$  e  $\Delta G^\ddagger$ . O valor de T é o mesmo usado nos cálculos computacionais: 423,15 K.



**Tabela 3.** H, S e G relativos dos componentes do mecanismo da reação de Wang não catalisada e não solvatada. Os reagentes foram fixados em 0.

	Caminho 1			Caminho 2		
	S cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	H kcal mol <sup>-1</sup>	G kcal mol <sup>-1</sup>	S cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	H kcal mol <sup>-1</sup>	G kcal mol <sup>-1</sup>
Reagentes	0	0	0	0	0	0
TS Pré-Ataque 1	-42,936	15,93	34,10	---	---	---
Intermediário Pré-Ataque 1	-43,737	13,79	32,30	---	---	---
TS Ataque 1	-45,113	25,64	44,73	-42,772	28,91	47,01
Intermediário 239a	-41,930	-21,69	-3,95	-43,042	-22,12	-3,90
TS Ataque 2	-46,962	17,15	37,02	-47,655	17,02	37,18
Intermediário 239b	-48,632	-28,13	-7,55	-48,162	-27,04	-6,66
TS Desidratação	-48,341	21,04	41,50	-48,456	26,85	47,35
Intermediário 221	-10,439	-19,65	-15,24	-10,611	-13,39	-8,90
TS Isomerização	-11,510	15,49	20,36	---	---	---
Intermediário 221b	-9,631	-32,45	-28,37	---	---	---
Intermediário 223	-50,118	-20,64	0,56			
TS Eliminação Amônia	-53,751	17,26	40,01	Igual ao caminho 1		
Produtos	-14,930	-23,85	-17,53			

**Tabela 4.**  $\Delta S$ ,  $T\Delta S$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta S^\ddagger$ ,  $T\Delta S^\ddagger$ ,  $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta G^\ddagger$  e  $E_a$  (energias de ativação) obtidos para as etapas reacionais modeladas e para a reação global, todos correspondendo à reação não catalisada e não solvatada.

Caminho 1	$\Delta S^\ddagger$ cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$T\Delta S^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta H^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$E_a$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta S$ cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$T\Delta S$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta H$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G$ kcal mol <sup>-1</sup>
Pré-Ataque 1	-42,936	-18,17	15,93	34,10	17,62	-43,737	-18,51	13,79	32,30
Ataque 1	-1,376	-0,58	11,85	12,43	12,69	1,807	0,76	-35,48	-36,24
Pré-Ataque 1 + Ataque 1	---	---	---	---	---	-41,930	-17,74	-21,69	-3,95
Ataque 2	-5,032	-2,13	38,84	40,97	39,68	-6,702	-2,84	-6,44	-3,60
Desidratação	0,291	0,12	49,17	49,05	50,01	38,193	16,16	8,47	-7,69
Isomerização	-1,071	-0,45	35,15	35,60	35,99	0,808	0,34	-12,79	-13,14
Redução	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Eliminação Amônia	-3,633	-1,54	37,91	39,44	38,75	35,188	14,89	-3,20	-18,09
Reação global	---	---	---	---	---	-14,930	-6,32	-23,85	-17,53
Caminho 2	$\Delta S^\ddagger$ cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$T\Delta S^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta H^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$E_a$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta S$ cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$T\Delta S$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta H$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G$ kcal mol <sup>-1</sup>
Ataque 1	-42,772	-18,10	28,91	47,01	30,59	-43,042	-18,21	-22,12	-3,90
Ataque 2	-4,613	-1,95	39,13	41,08	39,97	-5,120	-2,17	-4,92	-2,76
Desidratação	-0,294	-0,12	53,89	54,01	54,73	37,551	15,89	13,65	-2,24
Isomerização	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Redução									
Eliminação Amônia		Igual ao caminho 1				Igual ao caminho 1			
Reação Global		Igual ao caminho 1				Igual ao caminho 1			

Os  $\Delta G^\ddagger$  obtidos são relativamente altos (com exceção do ataque 1 do caminho 1, todos entre 34 e 55 kcal por mol). Deve-se ter em mente que a reação é realizada a altas

temperaturas (150 °C), o que favorece a transposição de barreiras de ativação altas. Além disso, como será mostrado adiante, o efeito da catálise é muito relevante nesse sistema. Na seção 4.5 será discutido o mecanismo catalisado.

A etapa com maior  $\Delta G^\ddagger$  em ambos os caminhos é a de desidratação, com 49,05 kcal/mol no caminho 1 e 54,01 kcal/mol no caminho 2. Este é, portanto, um dos candidatos à etapa determinante de velocidade da reação (para o caso não catalisado), bem como a etapa de redução, não modelada.

A forma das curvas de energia livre (*Esquema 20*) a partir do ataque 1 é praticamente a mesma para os dois caminhos, mas o caminho 1 tem energias um pouco menores em quase todas as etapas. Além disso, a maior diferença entre os dois caminhos é no primeiro ataque nucleofílico, que ocorre em duas etapas com menores energias de ativação no caminho 1 e apenas uma etapa com maior energia de ativação no caminho 2. Conclui-se, portanto, que o caminho 1 é mais favorável em termos de cinética, mas como a etapa mais lenta não é o ataque 1 e aparenta ser a desidratação, onde as energias de ativação dos dois caminhos são menos distintas, não é possível afirmar que o caminho 2 possa ser dispensado em uma análise cinética. É importante lembrar que as conversões entre os intermediários não foram modeladas, mas, caso tenham energias de ativação baixas o suficiente, poderiam afetar o comportamento do sistema.

De todos os  $\Delta G^\ddagger$  obtidos, apenas o do primeiro ataque possui contribuição entrópica significativa, o que é um reflexo da molecularidade dessa etapa. É interessante observar que no caso do caminho 1, a contribuição entrópica é quase totalmente contida no pré-ataque 1, como seria de se esperar.

Observa-se que a reação global é bastante exotérmica ( $\Delta H = -23,85$  kcal/mol) e possui um  $T\Delta S$  negativo menos significativo frente ao seu  $\Delta H$  ( $T\Delta S = -6,32$  kcal/mol). O primeiro ataque é a única etapa dentre as modeladas que causa diminuição grande na entropia. Além disso, é a etapa mais exotérmica, com o  $\Delta H$  de maior magnitude por uma margem considerável. No caso do caminho 1, o pré-ataque 1 é endotérmico e possui  $\Delta S$  negativo, levando a um  $\Delta G$  positivo, que é compensado pelo  $\Delta G$  do ataque 1, etapa altamente exergônica e exotérmica.

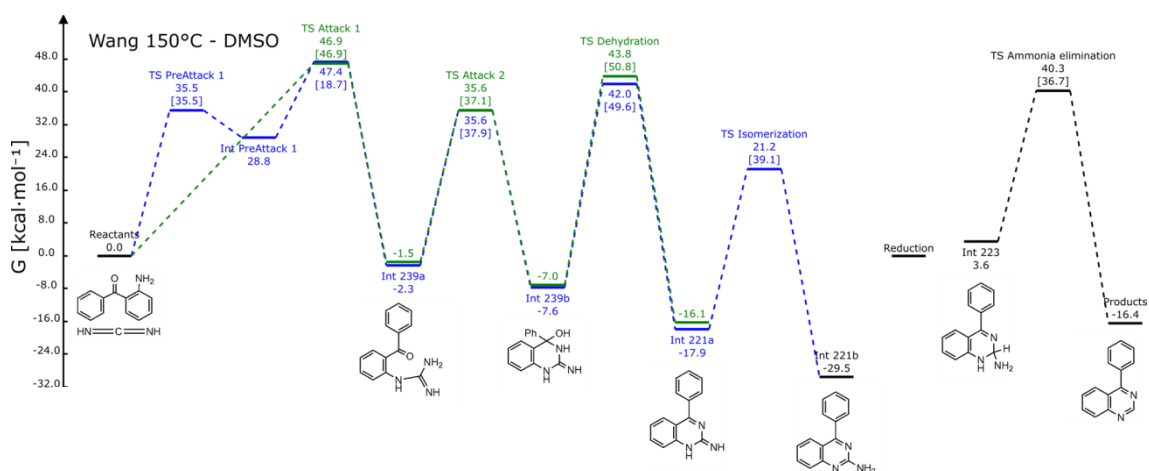
Dentre as etapas modeladas, as endotérmicas são a desidratação e o pré-ataque 1. A desidratação possui  $\Delta G$  negativo devido a um aumento entrópico relevante ( $T\Delta S$  próximo de 16 kcal/mol). O pré-ataque 1 é a única etapa dentre as modeladas que possui  $\Delta G$  positivo e o módulo é bastante alto, próximo de 30 kcal/mol. No entanto, através de uma análise da curva de energia potencial, é possível afirmar que a etapa de redução também teria um  $\Delta G$  positivo caso ela fosse modelada com a mesma metodologia aqui empregada, já que a energia livre de Gibbs do intermediário 223 é maior que a de todos os intermediários de massa 221 u.

As duas eliminações (água e amônia) e o primeiro ataque são as únicas etapas com significativa contribuição entrópica no  $\Delta G$ , sendo que as duas eliminações possuem  $\Delta S$  positivo e o primeiro ataque possui  $\Delta S$  negativo.

Em suma, a reação global é bastante exotérmica e possui  $\Delta G$  bastante negativo, com contribuição entrópica menor que a contribuição entálpica. A etapa com maior contribuição para o  $\Delta H$  é o primeiro ataque, altamente exotérmico. Dentre as etapas modeladas, as que possuem os maiores  $\Delta G$  em módulo são o pré-ataque 1 e o ataque 1 (apenas no caso do caminho 1, no qual eles são separados) e a eliminação de amônia. O maior  $\Delta G^\ddagger$  encontrado é o da desidratação, devido essencialmente a um alto  $\Delta H^\ddagger$ .

#### 4.4.2 Efeito da Solvatação Implícita

A curva de energia livre montada para o mecanismo solvatado é dada no *Esquema 21*. Os dados termodinâmicos obtidos, bem como comparações entre eles e os valores do caso não solvatado, são dados na *Tabela 5* e na *Tabela 6*.



**Esquema 21.** Curva de energia livre de Gibbs montada para o mecanismo da reação de Wang (representado no Esquema 4 e no Esquema 8) na presença de solvatação implícita. A curva correspondente ao caminho 1 é dada em azul e a correspondente ao caminho 2 é dada em verde (do intermediário 221b em diante e nos reagentes não há diferença entre os dois caminhos e a cor usada é o preto). No eixo vertical é dada a energia livre de Gibbs relativa aos reagentes (fixados em 0) em kcal/mol e o eixo horizontal (omitido) representa a coordenada de reação. Os números próximos aos nomes de intermediários ou estados de transição indicam a energia livre de Gibbs relativa da espécie correspondente ou, quando dados entre chaves, o  $\Delta G^\ddagger$  (energia livre de ativação) associado à etapa reacional correspondente (só dado para estados de transição). São dadas as representações simplificadas da maioria dos intermediários.

**Tabela 5.** *H, S e G relativos dos componentes do mecanismo da reação de Wang não catalisada com solvatação implícita. Os reagentes foram fixados em 0.*

	Caminho 1			Caminho 2		
	$S_{\text{DMSO}}$ cal $\text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	$H_{\text{DMSO}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$	$G_{\text{DMSO}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$	$S_{\text{DMSO}}$ cal $\text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	$H_{\text{DMSO}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$	$G_{\text{DMSO}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$
Reagentes	0	0	0	0	0	0
TS Pré-Ataque 1	-42,227	17,66	35,53	---	---	---
Intermediário Pré-Ataque 1	-44,523	9,93	28,77	---	---	---
TS Ataque 1	-46,202	27,90	47,45	-42,373	28,97	46,90
Intermediário 239a	-43,403	-20,63	-2,27	-44,246	-20,23	-1,51
TS Ataque 2	-51,264	13,94	35,63	-51,258	13,88	35,57
Intermediário 239b	-47,618	-27,75	-7,60	-48,190	-27,36	-6,97
TS Desidratação	-50,992	20,45	42,03	-50,436	22,48	43,82
Intermediário 221	-11,663	-22,83	-17,89	-12,182	-21,23	-16,08
TS Isomerização	-10,631	16,75	21,25	---	---	---
Intermediário 221b	-8,453	-33,03	-29,46	---	---	---
Intermediário 223	-53,138	-18,90	3,59			
TS Eliminação Amônia	-55,777	16,67	40,27	Igual ao caminho 1		
Produtos	-16,862	-23,51	-16,37			

**Tabela 6.** *TAS,  $\Delta H$ ,  $\Delta G$ ,  $TAS^\ddagger$ ,  $\Delta H^\ddagger$  e  $\Delta G^\ddagger$  obtidos para as etapas reacionais modeladas e para a reação global, todos correspondendo à reação não catalisada e com solvatação implícita. Também é dada a diferença entre os  $\Delta G^\ddagger$  com solvente e sem solvente, indicados respectivamente pelos subscritos "DMSO" e "VAC". Os  $\Delta G^\ddagger_{\text{VAC}}$  são os mesmos  $\Delta G^\ddagger$  já dados na Tabela 4.*

Caminho 1	$TAS^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta H^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta G^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta G^\ddagger_{\text{DMSO}}$ - $\Delta G^\ddagger_{\text{VAC}}$	$TAS_{\text{DMSO}}$	$\Delta H_{\text{DMSO}}$	$\Delta G_{\text{DMSO}}$	$\Delta G_{\text{DMSO}}$ - $\Delta G_{\text{VAC}}$
	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$
Pré-Ataque 1	-17,87	17,66	35,53	1,42	-18,84	9,93	28,77	-3,52
Ataque 1	-0,71	17,96	18,67	6,24	0,47	-30,57	-31,04	5,20
Pré-Ataque 1 + Ataque 1	---	---	---	---	-18,37	-20,63	-2,27	1,68
Ataque 2	-3,33	34,57	37,90	-3,07	-1,78	-7,12	-5,33	-1,73
Desidratação	-1,43	48,20	49,63	0,58	15,21	4,92	-10,29	-2,60
Isomerização	0,44	39,57	39,14	3,54	1,36	-10,21	-11,56	1,57
Redução	---	---	---	---	---	---	---	---
Eliminação Amônia	-1,12	35,57	36,69	-2,75	15,35	-4,61	-19,96	-1,86
Reação global	---	---	---	---	-7,14	-23,51	-16,37	1,16
Caminho 2	$TAS^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta H^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta G^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta G^\ddagger_{\text{DMSO}}$ - $\Delta G^\ddagger_{\text{VAC}}$	$TAS_{\text{DMSO}}$	$\Delta H_{\text{DMSO}}$	$\Delta G_{\text{DMSO}}$	$\Delta G_{\text{DMSO}}$ - $\Delta G_{\text{VAC}}$
	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$
Ataque 1	-17,93	28,97	46,90	-0,11	-18,72	-20,23	-1,51	2,39
Ataque 2	-2,97	34,12	37,08	-4,00	-1,67	-7,13	-5,46	-2,70
Desidratação	-0,95	49,84	50,79	-3,23	15,24	6,13	-9,11	-6,87
Isomerização	---	---	---	---	---	---	---	---
Redução								
Eliminação Amônia		Igual ao caminho 1				Igual ao caminho 1		

Observa-se que o efeito do solvente sobre as energias livres de ativação é pouco significativo. A média dos valores de  $(\Delta G^{\ddagger}_{\text{DMSO}} - \Delta G^{\ddagger}_{\text{VAC}})$  é de aprox. 0,15 kcal/mol e a média quadrática é de 3,29 kcal/mol, valores muito pequenos quando comparados às altas energias de ativação, quase todas na faixa de 35 a 50 kcal/mol. A única exceção é o ataque 1 do caminho 1 com uma diferença  $(\Delta G^{\ddagger}_{\text{DMSO}} - \Delta G^{\ddagger}_{\text{VAC}})$  de 6,24 kcal/mol, representando um aumento de aproximadamente 50% com relação à energia livre de ativação do caso não catalisado (o  $\Delta G^{\ddagger}$  variou de 12,43 para 18,67 kcal/mol).

Esse aumento percentual tão grande se deve à combinação de dois fatores: 1) O  $\Delta G^{\ddagger}_{\text{DMSO}}$  dessa etapa é o menor dentre todas as etapas desse caminho, de apenas 18,67 kcal/mol, o que faz com que qualquer variação no  $\Delta G^{\ddagger}$  em função da solvatação implícita tenha um maior impacto percentual nesta etapa do que nas outras; 2) em valor absoluto, o  $(\Delta G^{\ddagger}_{\text{DMSO}} - \Delta G^{\ddagger}_{\text{VAC}})$  desta etapa foi consideravelmente maior que o  $(\Delta G^{\ddagger}_{\text{DMSO}} - \Delta G^{\ddagger}_{\text{VAC}})$  das outras etapas do mesmo caminho.

Portanto, com exceção do ataque 1 – caminho 1, o efeito da solvatação implícita foi, de forma geral, pouco relevante para a cinética do mecanismo. Relacionado à isso está o fato de que a curva de energia livre de Gibbs manteve sua forma geral sem grandes alterações nos valores de G normalizados (relativos aos reagentes) das diferentes espécies. A média quadrática das diferenças  $(G_{\text{DMSO}} - G_{\text{VAC}})$  é de apenas 2,50 kcal/mol em uma curva de energia potencial que envolve valores de G normalizados variando numa faixa ampla entre aproximadamente 50 kcal/mol e -30 kcal/mol.

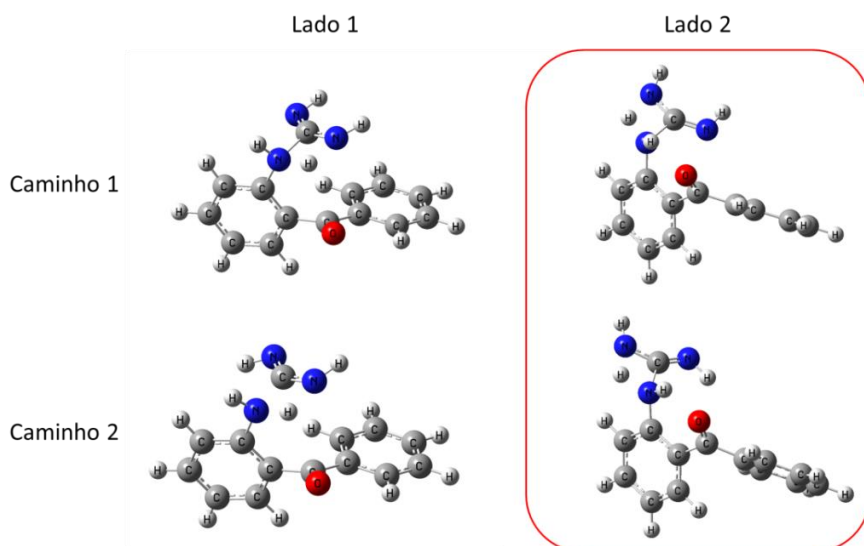
#### 4.4.3 Análise Estrutural dos Estados de Transição e IRC (Vácuo)

##### 4.4.3.1 Ataque 1

O ataque intermolecular não apenas pode ocorrer levando aos caminhos 1 ou 2, mas também pode ocorrer com a transferência de hidrogênio por um lado ou por outro (em cada um dos nitrogênios da carbodiimida). O lado em que a transferência ocorre não determina nenhuma distinção no produto, mas poderia teoricamente causar diferenças no  $\Delta G^{\ddagger}$ .

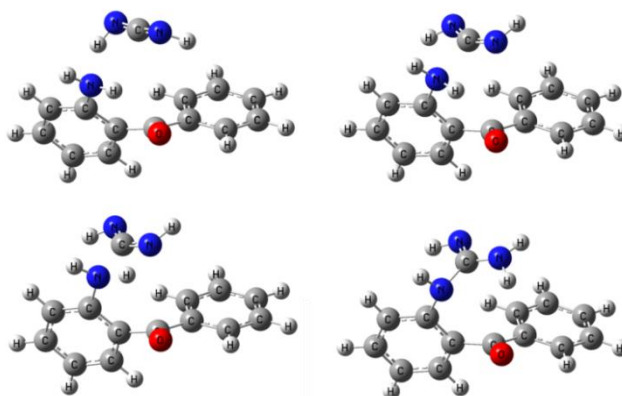
Para a montagem da curva de energia livre de Gibbs (*Esquema 20*) e das tabelas de energia da reação (*Tabela 3* e *Tabela 4*), foram usados os estados de transição com menor energia livre de Gibbs encontrados: para o caminho 1 foi usado o lado 2 e para o caminho 2 também foi usado o lado 2. As estruturas denominadas “lado 1” são aquelas nas quais o H é transferido para o nitrogênio mais próximo da carbonila e as chamadas “lado 2” são aquelas em que o H é transferido para o N mais distante da carbonila, como mostrado na *Figura 18*.

As transferências de H pelo lado 2 são mais eficientes provavelmente por permitir a manutenção da ligação de hidrogênio NH-OC entre o H do grupo amina da 2-aminobenzofenona e o oxigênio dessa mesma molécula.

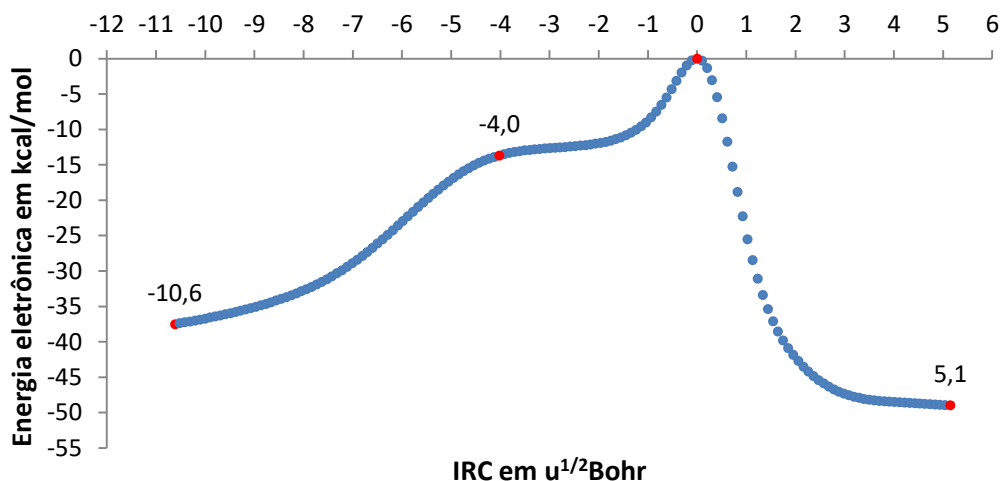


**Figura 18.** Estruturas dos 4 possíveis estados de transição encontrados para o ataque 1. Em cima: caminho 1 – lado 1 (esquerda), caminho 1 – lado 2 (direita); em baixo: caminho 2 – lado 1 (esquerda), caminho 2 – lado 2 (direita). As estruturas circuladas representam os estados de transição de menor energia livre de Gibbs e foram usadas para a modelagem termodinâmica da reação (montagem das tabelas de energia e da curva de energia livre de Gibbs).

Essa etapa também foi a que rendeu os resultados mais interessantes em termos de análises de IRC. Apesar das transferências de H pelo lado 1 não terem sido aproveitadas para a modelagem termodinâmica da reação, o gráfico obtido para o TS do caminho 2 – lado 1 apresenta uma curva com forma bastante interessante e fornece informações valiosas (Gráfico 12).



**Figura 19.** Geometrias referentes aos 4 pontos marcados em vermelho no Gráfico 12. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -10,6 e -4,0 (na linha de cima); 0 e 5,1 (na linha de baixo).

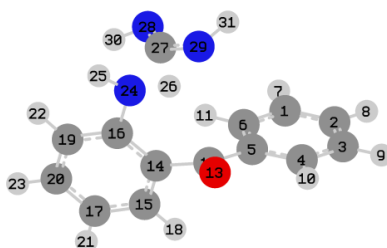


**Gráfico 12.** Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 1 – caminho 2 – lado 1. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 4 pontos vermelhos são referentes às quatro estruturas representadas na Figura 19. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

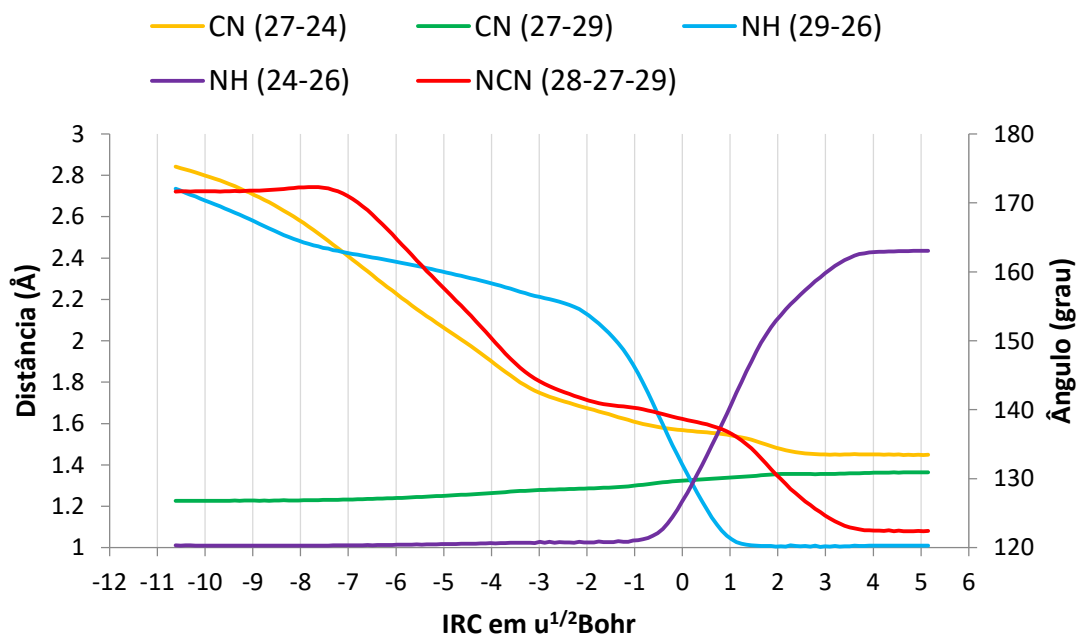
Observa-se uma região em torno de IRC = -4,5 que se assemelha visualmente a um ombro. As geometrias mostradas na Figura 19 facilitam a compreensão de que essa reação se dá em duas partes.

A parte inicial consiste na aproximação entre o grupo amina e o carbono da carbodiimida, bem como a distorção do ângulo NCN da carbodiimida. Já a segunda parte consiste na transferência do H, levando à formação do produto. Evidentemente, para o caminho 2, apenas a segunda parte da reação constitui um estado de transição (ponto de máximo local).

O Gráfico 13 permite uma avaliação quantitativa do processo. Fica claro que a transferência do H realmente ocorre no estado de transição, fenômeno marcado pela quebra de uma ligação NH e pela formação de outra. Percebe-se também, que a maior parte da distorção do ângulo NCN da carbodiimida ocorre entre os valores de IRC de -7 e -3 e a maior parte da aproximação entre o C da carbodiimida e o N do grupo amina também ocorre na parte esquerda do gráfico, antes de IRC = -3. A numeração dos átomos empregada é dada na Figura 20.



**Figura 20.** Geometria encontrada para o TS do ataque 1 – caminho 2 – lado 1, contendo a numeração dos átomos que é empregada no Gráfico 13 para a identificação de distâncias e ângulos.



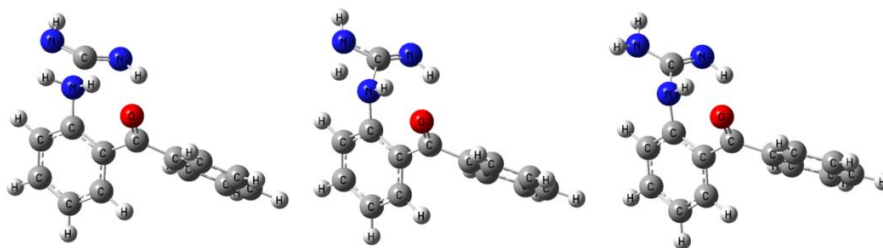
**Gráfico 13.** Algumas distâncias interatômicas dadas em angstrom e o ângulo NCN dado em grau, ambos em função da IRC (referente ao Gráfico 12, obtido para o TS do ataque 1 – caminho 2 – lado 1). A numeração dos átomos é mostrada na Figura 20.

Entre IRC = -3 e -2 a energia do sistema permanece aproximadamente constante, como se de fato houvesse ali um intermediário e a reação ocorresse em duas etapas elementares. Porém, há apenas um estado de transição e não há um intermediário entre as duas partes do processo, pois um intermediário seria caracterizado por um mínimo local.

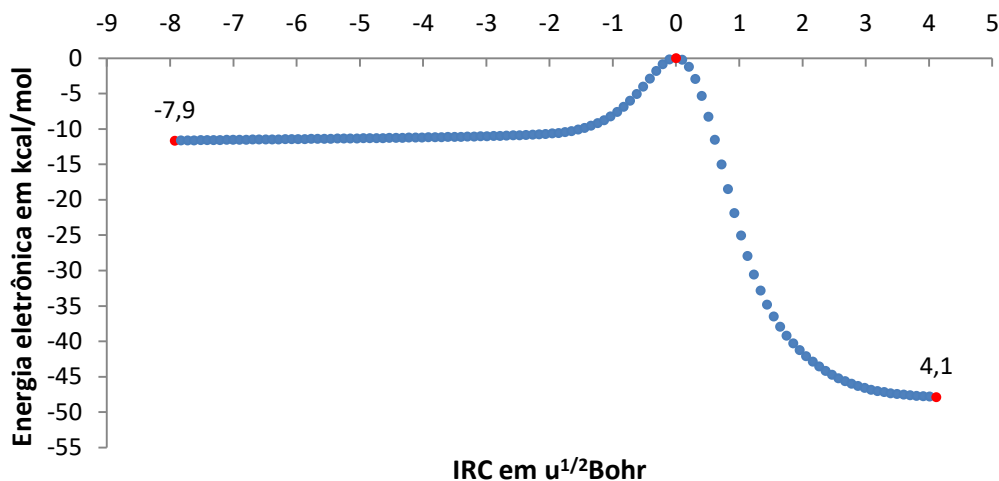
Pode-se imaginar uma relação entre esse comportamento e a possibilidade de catálise ácida no sistema. Se houvesse CAE no caso analisado (ataque 1 – lado 1), um dos nitrogênios da carbodiimida já se encontraria ligado a dois hidrogênios logo após a protonação e não haveria uma transferência protônica durante o ataque nucleofílico. Nesse caso, a reação consistiria apenas na aproximação entre os dois reagentes, envolvendo a deformação do ângulo NCN da carbodiimida, e no ataque propriamente dito. A pré-protonação também tornaria a carbodiimida mais eletrofílica, outra contribuição para um menor  $\Delta G^\ddagger$ . Isso é observado na modelagem desta etapa para o caso catalisado, exposta na seção 4.5.

Os outros três estados de transição encontrados para o ataque 1 no caso não catalisado apresentam gráficos de IRC com um formato mais convencional. O Gráfico 14 mostra a curva de IRC obtida para o estado de transição referente ao caminho 2 – lado 2.





**Figura 21.** Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 14. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -7,9; 0; 4,1.

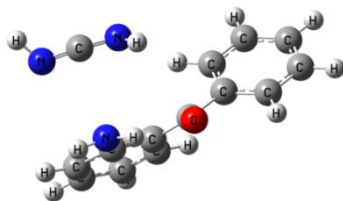


**Gráfico 14.** Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 1 – caminho 2 – lado 2. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na Figura 21. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

Nesse caso, a distorção que se observa no Gráfico 12 em valores de IRC abaixo de -4 não está presente e a energia do sistema fica estável em toda a região anterior ao estado de transição. No entanto, as geometrias mostradas na Figura 21 apontam para o mesmo comportamento encontrado anteriormente: o estado de transição envolve essencialmente a transferência do hidrogênio e, na geometria anterior a esse processo, o ângulo NCN da carbodiimida já é encontrado bastante distorcido e o C da carbodiimida já bastante próximo ao N do grupo amina.

Ou seja, o comportamento do sistema aparenta ser o mesmo, apesar de o resultado do cálculo de IRC não ter mostrado a primeira parte do processo: a aproximação dos reagentes e a distorção do ângulo NCN da carbodiimida com aumento gradual da energia.

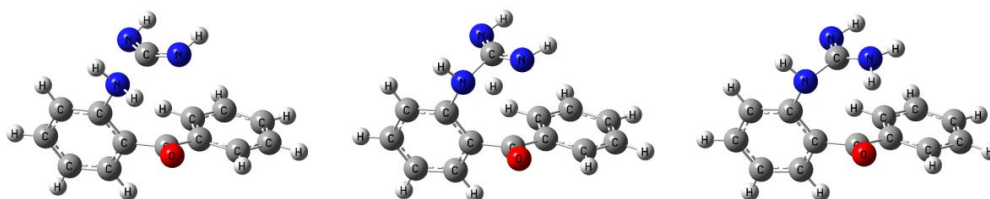
Para confirmar que esse caso também não se trata de uma reação em duas etapas elementares (com dois TS), a geometria de uma das estruturas encontradas através do cálculo de IRC (correspondente ao ponto em IRC = -1,96 – Gráfico 14) foi otimizada. O resultado revelou um ângulo NCN mais próximo de 180 graus (171 graus) e não há grande aproximação entre a carbodiimida e o grupo amina, ou seja, uma estrutura mais próxima dos reagentes livres (Figura 22).



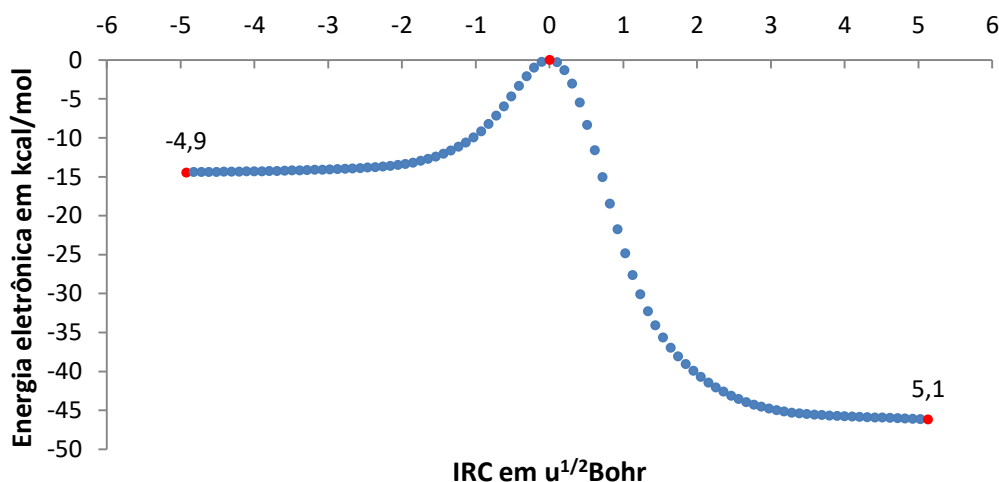
**Figura 22.** Estrutura obtida a partir da otimização da geometria referente a um dos pontos do Gráfico 14, com IRC de aproximadamente -1,96.

Isso significa que o mínimo de energia mais próximo e anterior ao estado de transição corresponde realmente aos reagentes e não há um intermediário e um TS adicional. Caso houvesse, a geometria otimizada teria ficado semelhante àquela mostrada do lado esquerdo da *Figura 21* e configuraria um intermediário.

Já nos casos do caminho 1, os resultados pareciam apontar para exatamente o mesmo comportamento observado no caso do caminho 2 – lado 2. Os gráficos de IRC ficaram muito parecidos com o *Gráfico 14* e as geometrias anteriores aos TS preservaram a distorção do ângulo NCN da carbodiimida e a aproximação entre os reagentes. A curva de IRC obtida para o ataque 1 – caminho 1 – lado 1 é mostrada no *Gráfico 15* e as geometrias dos seus extremos e do TS são dadas na *Figura 23*.

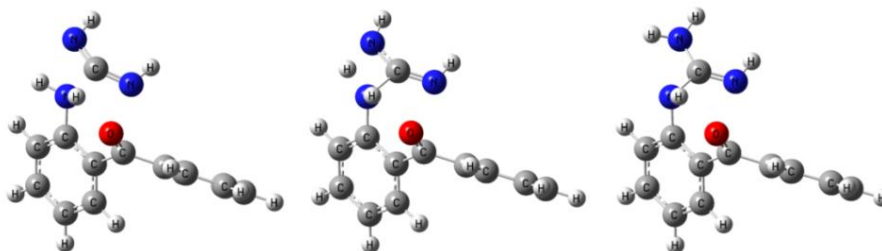


**Figura 23.** Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 15. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -4,9; 0; 5,1.

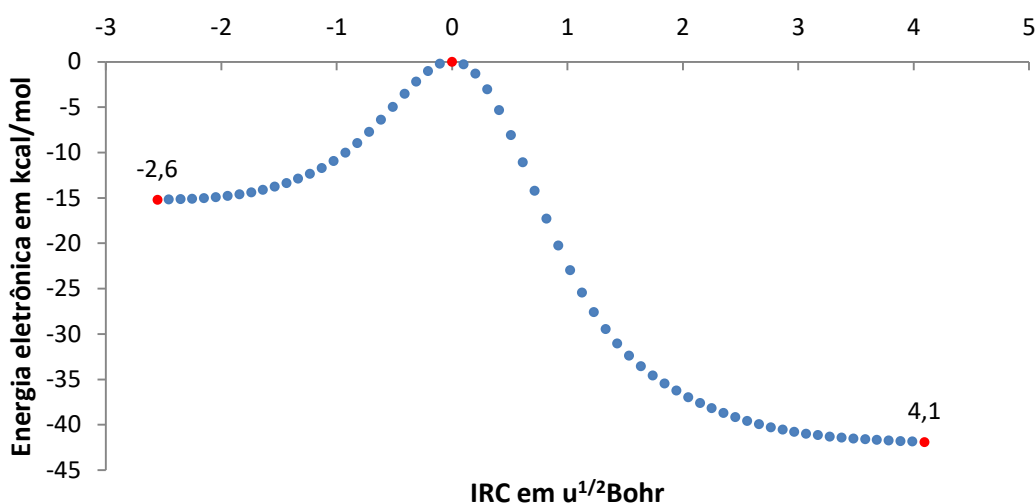


**Gráfico 15.** Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 1 – caminho 1 – lado 1. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na *Figura 23*. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

Os resultados encontrados para o ataque 1 – caminho 1 – lado 2 são dados na *Figura 24* e no *Gráfico 16*.



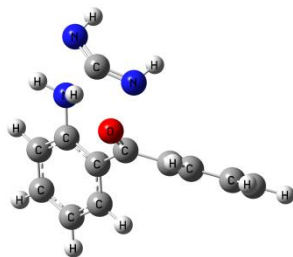
**Figura 24.** Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no *Gráfico 16*. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -2,6; 0; 4,1.



**Gráfico 16.** Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 1 – caminho 1 – lado 2. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na *Figura 24*. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

Então, pelo mesmo procedimento adotado anteriormente (otimizar uma das geometrias anteriores ao TS) foi possível verificar se o resultado apontaria para uma estrutura mais próxima aos reagentes livres.

Diferentemente do caso anterior, as estruturas encontradas, tanto no caso do caminho 1 – lado 1, quanto do caminho 1 – lado 2, preservam a distorção do ângulo NCN e a aproximação entre os reagentes. Isso significa que existe um mínimo de energia entre o TS e os reagentes, ou seja, um intermediário. A *Figura 25* mostra o intermediário encontrado a partir da otimização da geometria mostrada no lado esquerdo da *Figura 23*, referente ao ataque 1 – caminho 1 – lado 1.



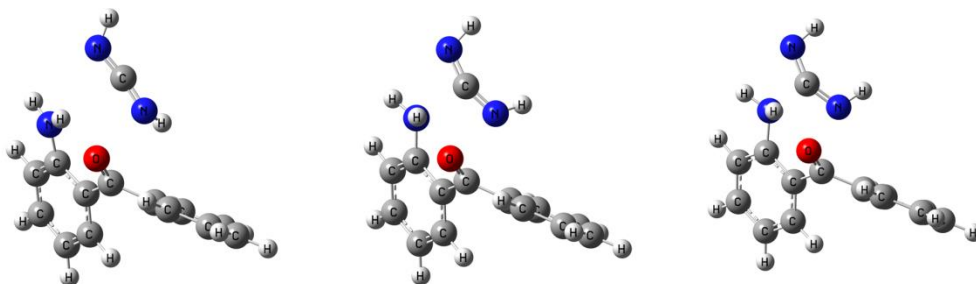
**Figura 25.** Intermediário encontrado a partir da otimização da geometria mostrada no lado esquerdo da Figura 23, referente a um dos extremos do Gráfico 15, ambos associados ao ataque 1 – caminho 1 – lado 1.

Portanto, no caso do caminho 1, essa reação deve envolver duas etapas elementares: a primeira delas (“pré-ataque 1”) corresponde à formação de uma ligação entre o carbono da carbodiimida e o N da amina, e a segunda delas (“ataque 1”) corresponde à transferência de hidrogênio.

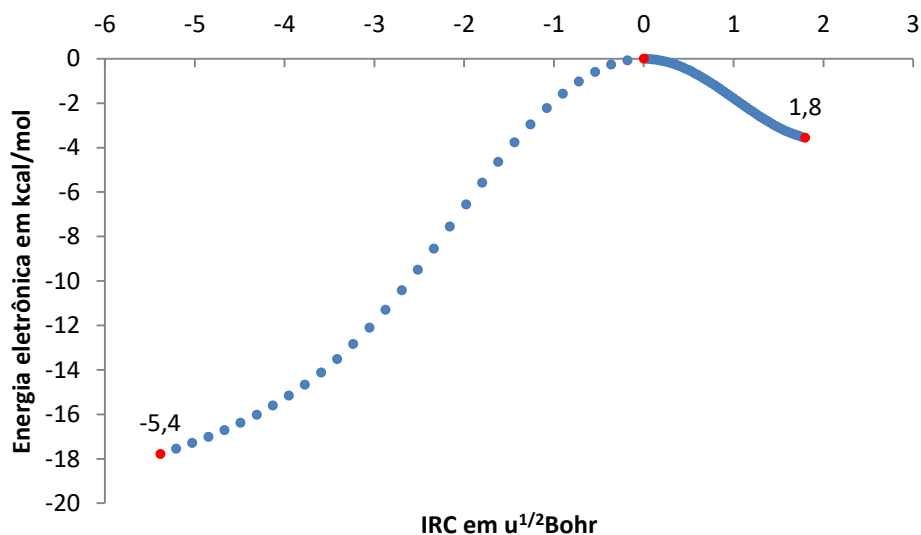
Novamente, cabe uma observação sobre a catálise. Uma pré-protonação dispensaria totalmente a segunda etapa elementar e tornaria a carbodiimida mais eletrofílica, facilitando a primeira. Assim, o único TS envolveria o ataque nucleofílico à carbodiimida protonada, como observado na seção 4.5.

#### 4.4.3.2 Pré-Ataque 1

O gráfico de IRC (*Gráfico 17*) encontrado para o pré-ataque 1 e as estruturas relacionadas (*Figura 26*) confirmam a conectividade esperada e a existência de um TS adicional totalizando 2 TS no processo que compreende o primeiro ataque nucleofílico do caminho 1. Percebe-se que a estrutura mostrada ao lado direito da *Figura 26* representa a mesma espécie retratada na *Figura 25*.



**Figura 26.** Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 17. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -5,4; 0; 1,8.



**Gráfico 17.** Gráfico de IRC obtido para o TS pré-ataque 1. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na Figura 26. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

A distribuição espacial encontrada para a carbodiimida, bem como a orientação das ligações NH (que define os caminhos 1 e 2), são bastante características. Apesar de terem sido feitas tentativas de otimização desse TS com diferentes estruturas iniciais, os cálculos sempre levaram ao resultado mostrado. Assim, considerou-se que isso deve representar uma tendência do próprio sistema e que o ataque 1 é dividido em duas etapas elementares no caminho 1, mas não no caminho 2. Essas considerações, entretanto, dependem dos modelos de cálculo empregados, que influenciam nos resultados obtidos.

#### 4.4.3.3 Ataque 2

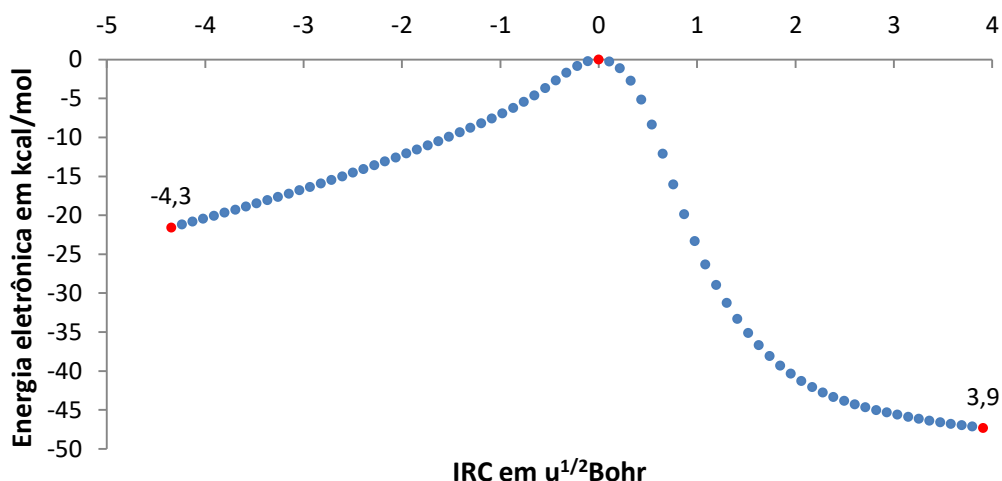
O gráfico de IRC encontrado para o ataque 2 – caminho 1 (*Gráfico 18*) e as geometrias associadas (*Figura 27*) confirmam claramente a conectividade entre produtos e reagentes e revelam um processo mais conciso, no qual a transferência de H e a formação da ligação entre nucleófilo e eletrófilo parece ocorrer de forma concertada, diferentemente do que se observou para o ataque 1.

Ainda assim, é possível distinguir em quais partes da curva de IRC predominam quais processos: em quase toda a parte anterior ao TS, ocorre quase exclusivamente a aproximação entre nucleófilo e eletrófilo; o TS se localiza no início da transferência protônica, que continua a ocorrer na parte mais vertiginosa da curva (até cerca de IRC = 2); a partir daí, parte final da curva, envolve apenas um ajuste de algumas distâncias interatômicas. Além disso, percebe-se que a conformação adotada pelo reagente não requer muitas tensões angulares e, portanto, tende a ser facilmente acessível.

O gráfico de IRC referente ao ataque 2 – caminho 2 ficou muito semelhante ao *Gráfico 18* e as geometrias muito semelhantes às dadas na *Figura 27*, por isso, ambos não serão apresentados.



**Figura 27.** Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 18. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -4,3; 0; 3,9.



**Gráfico 18.** Gráfico de IRC obtido para o TS do ataque 2 – caminho 1. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na Figura 27. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

Também seria possível propor que essa reação ocorra em duas etapas. A primeira seria o ataque sem a transferência de hidrogênio, levando à formação de um intermediário zwitteriônico, e a segunda seria apenas uma rápida transferência protônica. Porém, um estado de transição em que o ataque ocorre sem a transferência protônica no caso não catalisado, se possível, seria provavelmente mais difícil de encontrar, especialmente considerando que os resultados mostrados (*Gráfico 18* e *Figura 27*) não dão nenhum indício da separação entre esses dois processos químicos, como ocorreu para os TS do ataque 1.

A CAE é pouco provável para o ataque 2 devido a tendência das carbonilas de não atuarem como bases de Bronsted. Seria mais fácil que ocorresse a protonação da amina, o que a tornaria menos nucleofílica e dificultaria o ataque. Portanto, se houver catálise ácida, a CAG (catálise ácida geral) é a melhor opção e se daria através de uma interação parcial entre o próton do ácido e a carbonila, tornando-a mais eletrofílica.

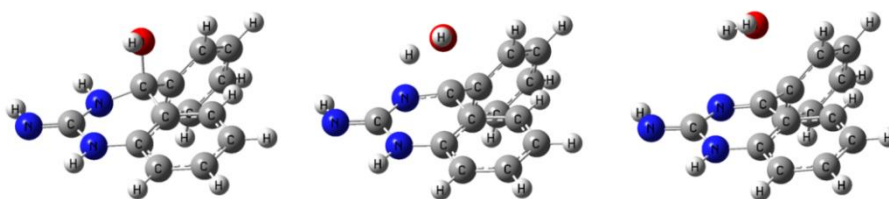
Haveria também a possibilidade dessa reação ser mediada por um ácido de Lewis, sem transferência protônica durante o ataque. A única molécula que poderia atuar dessa forma presente no meio é a própria carbodiimida. Entretanto, em um processo como esse, a elevada eletronegatividade da carbodiimida poderia impedir a formação do produto desejado e levar à formação de uma ligação entre o O da carbonila e o C da carbodiimida, no que seria uma

reação paralela. Assim, a CAG se mantém como o modelo mais simples e viável para uma possível catálise dessa etapa.

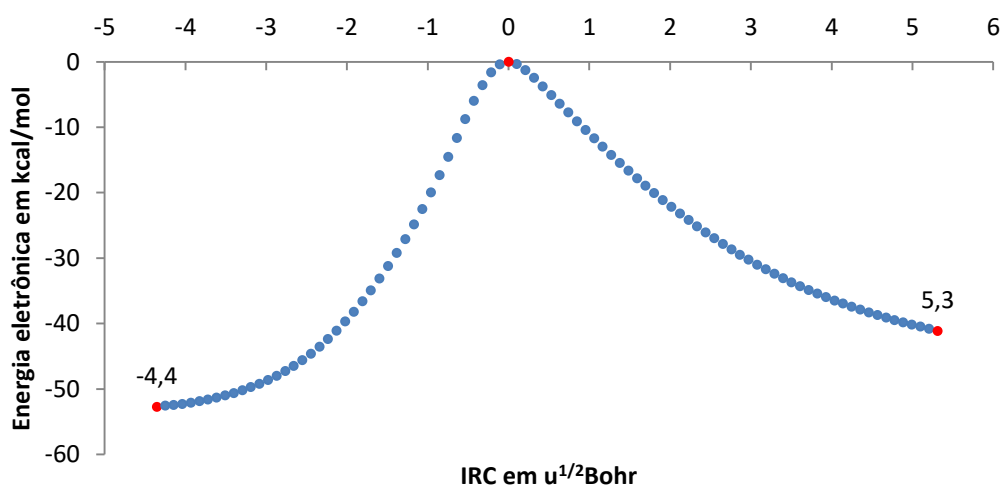
#### 4.4.3.4 Desidratação

O gráfico de IRC da etapa de desidratação do caminho 1 (*Gráfico 19*) possui forma bastante convencional e as geometrias associadas (*Figura 28*) mostram claramente a transformação do produto aos reagentes com a transferência de H e a quebra da ligação CO ocorrendo de forma concertada. Os resultados obtidos para o caminho 2 são muito similares e serão omitidos.

Observações sobre a possibilidade de catálise ácida nas duas eliminações (água e amônia) podem ser encontradas na seção 4.4.3.6.



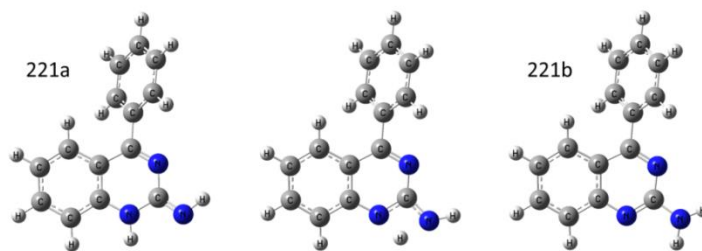
**Figura 28.** Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no *Gráfico 19*. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -4,4; 0; 5,3.



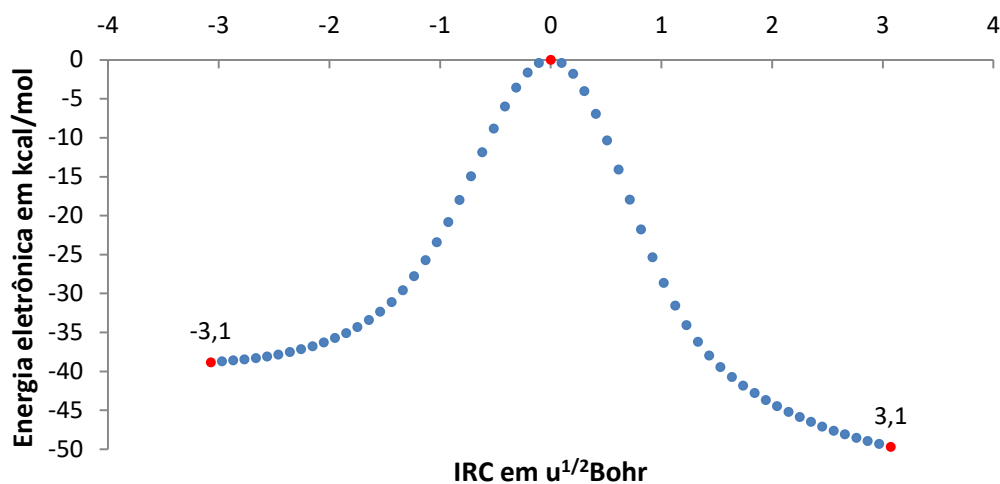
**Gráfico 19.** Gráfico de IRC obtido para o TS da desidratação – caminho 1. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na *Figura 28*. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

#### 4.4.3.5 Isomerização $m/z$ 221

O gráfico de IRC da etapa de isomerização do intermediário de  $m/z$  221 (*Gráfico 20*) também exibe um perfil convencional. É possível verificar a transformação do reagente (intermediário 221a) em produto (intermediário 221b) com as geometrias mostradas na *Figura 29*. As espécies chamadas 221a e 221b são tautômeros.



**Figura 29.** Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 20. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -3,1; 0; 3,1.

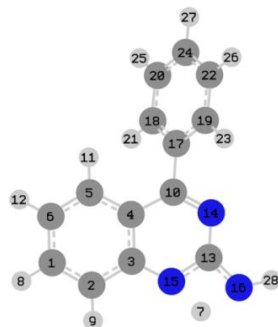


**Gráfico 20.** Gráfico de IRC obtido para o TS da isomerização 221. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na Figura 29. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

Essa isomerização se trata apenas de uma transferência de H entre dois nitrogênios, portanto, não faria muito sentido falar em catálise ácida para essa etapa. É mais simples considerar que haja um equilíbrio termodinâmico entre todas as espécies protonadas e desprotonadas possíveis, com apenas uma barreira cinética relevante, referente justamente à reação elementar de isomerização aqui retratada.

A princípio os três nitrogênios presentes nos intermediários 221a ou 221b podem ser protonados, mas a protonação do nitrogênio 16 (numeração mostrada na *Figura 30*) a partir do intermediário 221a ou a protonação do nitrogênio 15 a partir do intermediário 221b levam à mesma espécie. Essa é a espécie que tende a participar da etapa de redução, que será discutida na seção 5.





**Figura 30.** Geometria encontrada para o TS da isomerização 221, contendo a numeração dos átomos que é usada no texto.

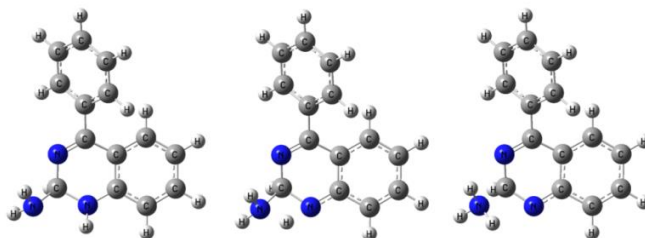
#### 4.4.3.6 Eliminação de Amônia

Os resultados encontrados para a etapa de eliminação de amônia revelam uma situação parecida com aquela descrita para o ataque 1 – caminho 2 – lado 2. O gráfico de IRC (*Gráfico 21*) mostra um estado de transição ligando dois patamares energéticos. Porém, as geometrias associadas revelam que o produto não foi atingido (*Figura 31*).

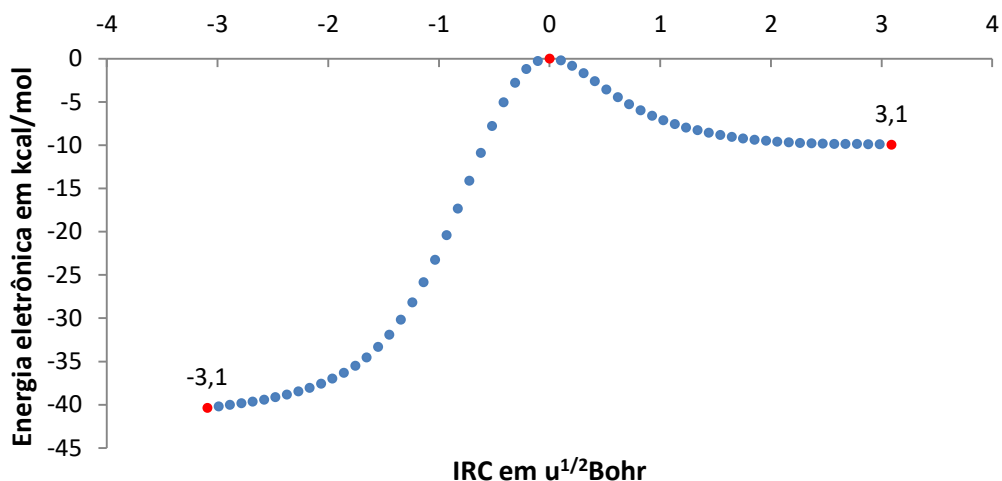
O estado de transição é caracterizado por uma transferência de hidrogênio, mas não envolve a quebra da ligação CN, que significaria a eliminação propriamente dita. Na última geometria alcançada pelo cálculo de IRC, a transferência de hidrogênio já está concluída e o grupo NH<sub>3</sub> permanece ligado ao carbono.

Para verificar se o caminho reacional encontrado envolveria duas etapas elementares (dois estados de transição distintos), a geometria correspondente a IRC = 3,1 (mostrada do lado direito da *Figura 31* e correspondente à extremidade direita do *Gráfico 21*) foi copiada e otimizada. O resultado dessa otimização revelou claramente a quebra da ligação CN e a eliminação da amônia (*Figura 32*). Isso significa que o mínimo de energia mais próximo da região posterior ao estado de transição representa os produtos de eliminação desejados.

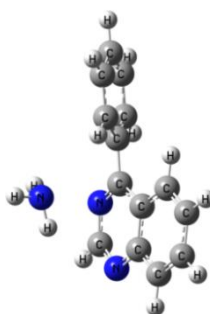
Em suma, essa etapa ocorre em duas partes, mas com apenas um estado de transição formal pela teoria do estado de transição clássica. A primeira parte consiste na transferência de hidrogênio e ocorre no estado de transição. A segunda parte envolve o distanciamento e eliminação propriamente dita do grupo NH<sub>3</sub> e ocorre sem barreira energética.



**Figura 31.** Geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no *Gráfico 21*. Da esquerda para a direita, as estruturas correspondem aos valores de IRC de aproximadamente: -3,1; 0; 3,1.



**Gráfico 21.** Gráfico de IRC obtido para o TS da eliminação de amônia. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na Figura 31. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.



**Figura 32.** Intermediário encontrado a partir da otimização da geometria mostrada no lado direito da Figura 31, referente a um dos extremos do Gráfico 21, ambos associados à eliminação de amônia.

A discussão que pode ser feita a respeito de catálise ácida para as duas eliminações (amônia e água) é praticamente a mesma. Ambas seriam favorecidas pela protonação, já que esse processo transforma  $\text{NH}_2$  e  $\text{HO}$  em  $\text{NH}_3^+$  e  $\text{H}_2\text{O}^+$ , que são grupos de saída muito melhores.

O resultado obtido para a eliminação da amônia ilustra esse fenômeno, já que foi constatada a ausência barreira energética separando o substrato com grupo  $\text{NH}_3^+$  dos produtos de eliminação.

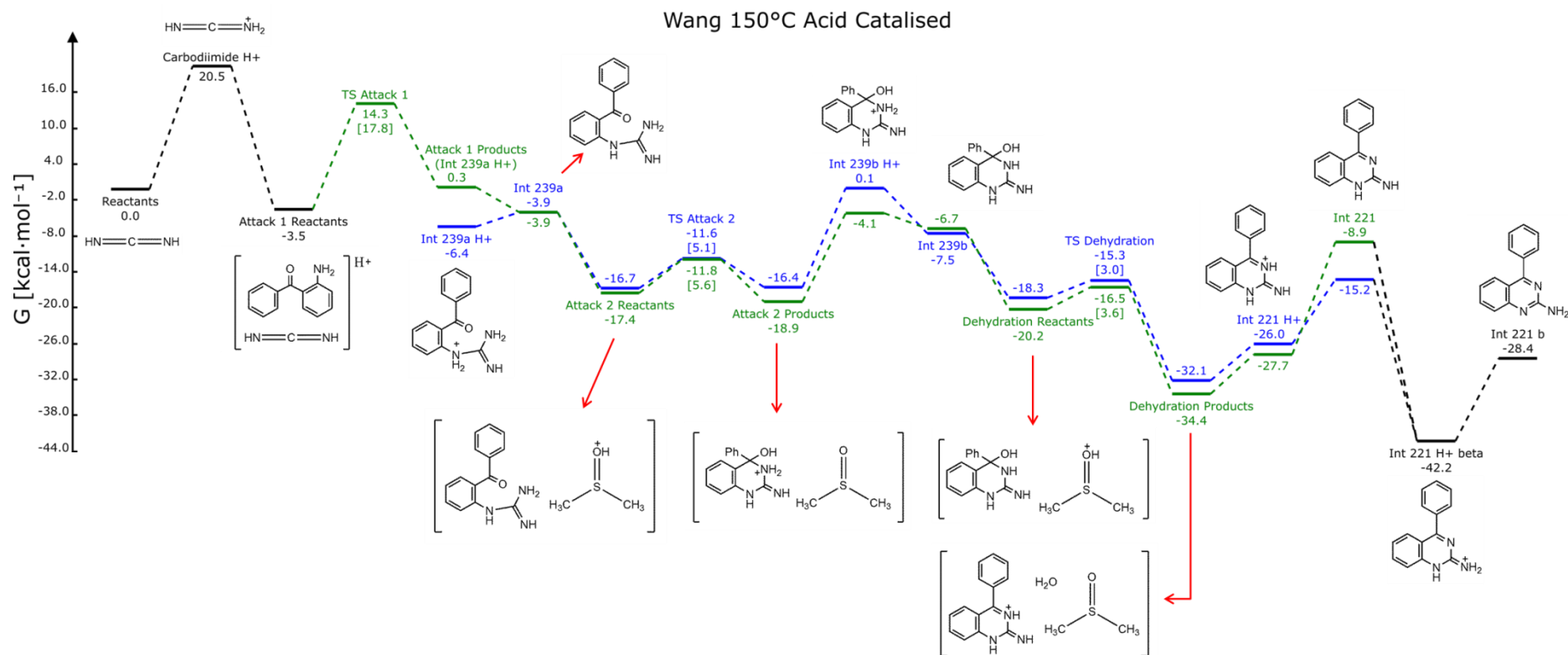
Portanto, ainda que a CAE possa descrever cineticamente essas duas eliminações, como se entende ser o caso, não seria possível modelar a estrutura de estados de transição representativos dessas eliminações e obter as curvas de energia potencial com os métodos aqui empregados e usando a CAE. A CAG, no entanto, é uma alternativa viável e foi empregada na modelagem da desidratação catalisada.

Talvez seja possível considerar que na prática essas etapas não sejam relevantes para uma análise cinética do caso catalisado, já que a ocorrência das eliminações requerem apenas protonações, que, a princípio, podem ser consideradas etapas rápidas. Naturalmente isso é uma aproximação.

## **4.5 Modelagem Computacional do Mecanismo de Wang Catalisado**

### **4.5.1 Resultados Gerais (Vácuo)**

A curva de energia livre montada para a reação de Wang catalisada é dada no *Esquema 22*:



**Esquema 22.** Curva de energia livre de Gibbs montada para as três primeiras etapas reacionais do mecanismo da reação de Wang catalisada. A curva correspondente ao caminho 1 é dada em azul e a correspondente ao caminho 2 é dada em verde (antes do primeiro TS e após o intermediário 221, não há diferença entre os dois caminhos e a cor usada é o preto). No eixo vertical é dada a energia livre de Gibbs relativa aos reagentes (fixados em 0) em kcal/mol e o eixo horizontal (omitido) representa a coordenada de reação. Os números próximos aos nomes de intermediários ou estados de transição indicam a energia livre de Gibbs relativa da espécie correspondente ou, quando dados entre chaves, o  $\Delta G^\ddagger$  (energia livre de ativação) associado à etapa reacional correspondente (só dado para estados de transição). São dadas as representações simplificadas de todas as espécies que não são TS e as chaves indicam complexos.

Na *Tabela 7* são dados H, S e G obtidos para todos os componentes mostrados no *Esquema 22*; na *Tabela 8*, são dados os valores de  $\Delta S$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta S^\ddagger$ ,  $\Delta H^\ddagger$  e  $\Delta G^\ddagger$  para as etapas reacionais modeladas. Também são dados os valores de  $T\Delta S$  e  $T\Delta S^\ddagger$  para facilitar a visualização da contribuição entrópica em  $\Delta G$  e  $\Delta G^\ddagger$ . O valor de T é o mesmo usado nos cálculos computacionais: 423,15 K.

É importante lembrar que os valores de  $\Delta S$ ,  $\Delta H$  e  $\Delta G$ , dados na *Tabela 8*, são calculados considerando os produtos e reagentes obtidos a partir do IRC de um determinado TS, diferentemente do que foi feito no caso não catalisado, no qual esses valores eram calculados com base na diferença de energia entre os intermediários livres que vinham antes e depois de um dado TS.

A diferença é que aqui esses valores são afetados pelas energias de interação que existem entre os reagentes antes do TS e entre os produtos depois do TS e, no caso não catalisado, os reagentes e produtos de cada etapa estão isolados no vácuo. Por exemplo, para o ataque 2 catalisado, as estruturas levadas em conta (Ataque 2 Reagentes; TS Ataque 2; Ataque 2 Produtos) todas incluem uma molécula de DMSO interagindo fortemente com o substrato.

**Tabela 7.** H, S e G relativos dos componentes do mecanismo da reação de Wang catalisada e sem solvatação. Os reagentes foram fixados em 0.

	Caminho 1			Caminho 2		
	S cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	H kcal mol <sup>-1</sup>	G kcal mol <sup>-1</sup>	S cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	H kcal mol <sup>-1</sup>	G kcal mol <sup>-1</sup>
Reagentes	0	0	0	0	0	0
Carbodiimida H+	Igual ao caminho 2			-1,948	20,58	21,41
Ataque 1 Reagentes	Igual ao caminho 2			-35,113	-18,36	-3,50
TS Ataque 1	---	---	---	-40,339	-2,73	14,34
Ataque 1 Produtos (239a H+)	-45,611	-25,68	-6,38	-45,668	-19,05	0,28
Intermediário 239a	-41,930	-21,69	-3,95	-43,042	-22,12	-3,90
Ataque 2 Reagentes	-85,439	-52,87	-16,71	-83,338	-52,63	-17,36
TS Ataque 2	-91,799	-50,43	-11,59	-92,186	-50,81	-11,80
Ataque 2 Produtos	-90,221	-54,60	-16,43	-89,760	-56,92	-18,94
Intermediário 239b H+	-51,703	-21,77	0,11	-51,976	-26,14	-4,15
Intermediário 239b	-48,632	-28,13	-7,55	-48,162	-27,04	-6,66
Desidratação Reagentes	-91,777	-57,13	-18,30	-90,326	-58,38	-20,16
TS Desidratação	-90,738	-53,73	-15,33	-90,097	-54,67	-16,54
Desidratação Produtos	-82,022	-66,80	-32,09	-80,052	-68,23	-34,36
Intermediário 221 H+	-13,453	-31,70	-26,01	-13,574	-33,46	-27,72
Intermediário 221	-10,439	-19,65	-15,24	-10,611	-13,39	-8,90
Intermediário 221 H+ beta	Igual ao caminho 2			-13,383	-47,84	-42,18
Intermediário 221b	Igual ao caminho 2			-9,631	-32,45	-28,37

**Tabela 8.**  $\Delta S$ ,  $T\Delta S$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta S^\ddagger$ ,  $T\Delta S^\ddagger$ ,  $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta G^\ddagger$  e  $E_a$  (energias de ativação) obtidos para as etapas reacionais do mecanismo catalisado e não solvatado.

<b>Caminho 1</b>	$\Delta S^\ddagger$ cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$T\Delta S^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta H^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$E_a$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta S$ cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$T\Delta S$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta H$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G$ kcal mol <sup>-1</sup>
Ataque 1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ataque 2	-6,360	-2,69	2,43	5,12	4,11	-4,782	-2,02	-1,73	0,29
Desidratação	1,039	0,44	3,40	2,96	5,08	4,128	-9,67	-13,80	5,08
<b>Caminho 2</b>	$\Delta S^\ddagger$ cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$T\Delta S^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta H^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G^\ddagger$ kcal mol <sup>-1</sup>	$E_a$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta S$ cal mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$T\Delta S$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta H$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G$ kcal mol <sup>-1</sup>
Ataque 1	-5,226	-2,21	15,63	17,84	17,31	-10,555	-4,47	-0,69	3,78
Ataque 2	-8,848	-3,74	1,82	5,56	3,50	-6,422	-2,72	-4,30	-1,58
Desidratação	0,229	0,10	3,71	3,62	5,39	4,347	-9,85	-14,20	5,39

O *Esquema 22* indica claramente a ausência do ataque inicial no caminho 1 (azul). Apesar de tentativas com diferentes geometrias iniciais, não foi possível encontrar um TS que correspondesse a essa reação no caminho 1: em todos os casos a geometria otimizada apontava para o caminho 2. Isso foi tomado como um indicativo de que essa etapa ocorra só possa ocorrer pelo caminho 2 mesmo no sistema real. No entanto, é possível que o resultado seja característico dos modelos usados. De qualquer forma, o caminho 1 ainda pode ser acessado através da conversão do intermediário 239a por equilíbrios de protonação e desprotonação.

Isso realça o fato de que a distinção entre dois caminhos separados no caso catalisado é meramente uma abstração que simplifica a análise do sistema. Caso se assuma que os intermediários estão envolvidos em equilíbrios de protonação e desprotonação, deve-se considerar que a conversão entre os caminhos é possível a cada etapa reacional. A princípio, conversões também seriam possíveis no caso não catalisado, mas as energias de ativação das conversões podem ter valores significativos.

O ataque 1 possui energia livre de ativação bem mais alta que o ataque 2, mas há possibilidade de que isso se deva às diferentes formas de catálise em cada TS. Talvez, caso o ataque 1 seja modelado de forma similar ao ataque 2 (com CAG), ele apresente menor energia livre de ativação.

Em termos das energias encontradas, o efeito da catálise é muito drástico. No caso não catalisado e não solvatado o maior  $\Delta G^\ddagger$  encontrado foi de aprox. 54 kcal/mol para a desidratação do caminho 2, ao passo que no caso catalisado o maior  $\Delta G^\ddagger$  encontrado foi de 17,84 kcal/mol para o ataque 1 do caminho 2.

Já para os dois TS modelados com CAG, as  $\Delta G^\ddagger$  não chegaram nem a 6 kcal/mol e os valores encontrados representaram reduções na  $\Delta G^\ddagger$  de mais de 85% com relação ao caso não catalisado. Mesmo para o ataque 1 – caminho 2 catalisado, que apresentou a maior  $\Delta G^\ddagger$  das etapas catalisadas, a redução da  $\Delta G^\ddagger$  com relação ao caso não catalisado foi muito marcante: aprox. 57%. Fica clara, portanto, a importância da catálise ácida para a reação de Wang.

Outro resultado interessante é o grande aumento em G causado pela protonação da carbodiimida. Como consideramos que estruturas protonadas e não protonadas existem em equilíbrio, a princípio isso não tem influência na cinética do processo, pois não há um  $\Delta G^\ddagger$ . No entanto, ao se considerar as populações envolvidas é possível que haja alguma influência.

Além da importância da catálise ácida, os resultados também permitem argumentar que a solvatação explícita induziria uma forte suavização de partes da curva de energia livre da reação, mas especificamente das partes que envolvem protonações e desprotonações de intermediários. É possível estabelecer essa relação pois a implementação da CAG envolveu o emprego de moléculas do solvente. Ainda que se trate de apenas uma molécula de DMSO em algumas das estruturas, suas interações com o substrato revelam tendências associadas à solvatação explícita.

A suavização da curva ocorreria através da diminuição da diferença energética entre diferentes estruturas. Por exemplo, no caso da diferença de energia entre as carbodiimidas protonada e desprotonada, é de se esperar que, caso essa etapa seja modelada na presença de solvente explícito, tal diferença seja consideravelmente menor, já que ambas as estruturas contariam com ligações de H entre o DMSO e a carbodiimida e isso tornaria o efeito da transferência de hidrogênio menos pronunciado.

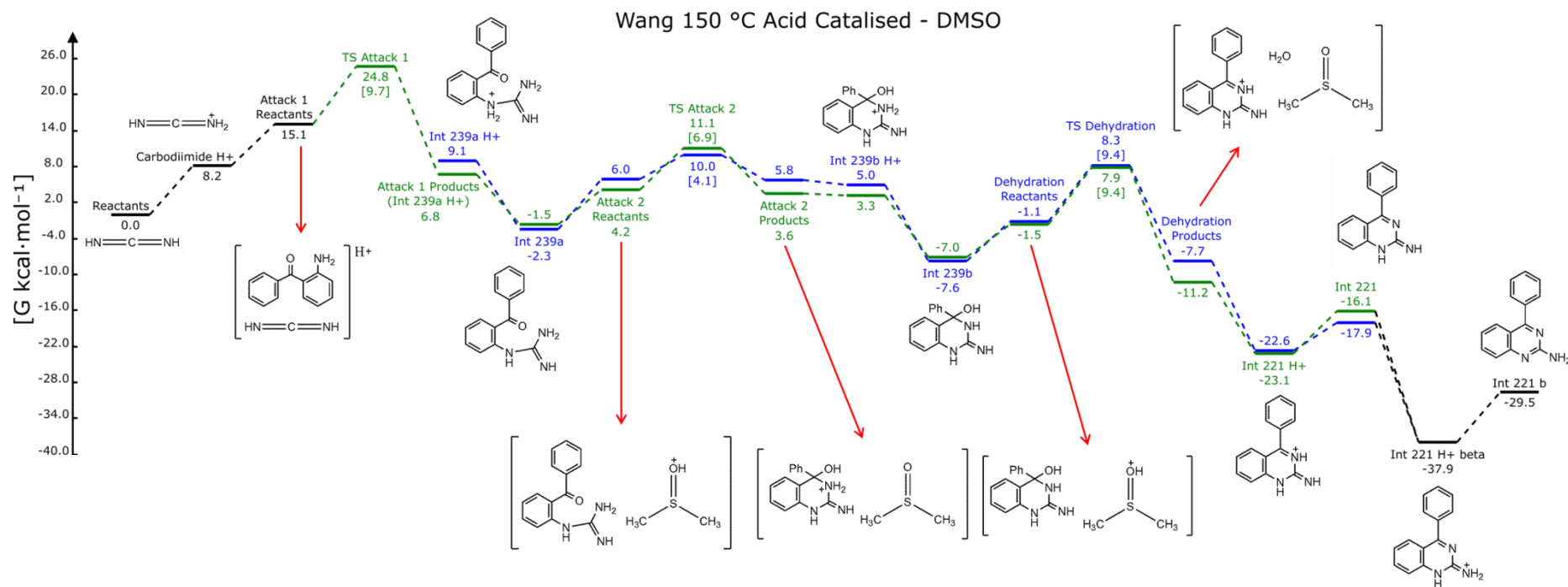
É interessante fazer a comparação dos valores de G entre os produtos do ataque 2 e os reagentes da desidratação. A variação de G é de apenas -1,87 kcal/mol, no que corresponde a uma transferência protônica entre o substrato e uma molécula de DMSO com a preservação das interações entre eles. Esse valor é consideravelmente menor em módulo do que os valores de  $\Delta G$  envolvidos na protonação da carbodiimida e nas protonações e desprotonações dos intermediários de massa 221 u sem levar em consideração interações DMSO – substrato. Os  $\Delta G$  associados à protonações ou desprotonações deste tipo (sem as interações DMSO – substrato) são dados na *Tabela 9*.

**Tabela 9.** Valores de  $\Delta G$  de protonação e desprotonações de intermediários sem interações com o DMSO, todos referentes ao mecanismo catalisado e não solvatado. Os dados dessa tabela foram obtidos a partir dos valores de G mostrados na *Tabela 7*.

	<b>Caminho 1</b>	<b>Caminho 2</b>
	<b><math>\Delta G</math></b>	<b><math>\Delta G</math></b>
	<b>kcal mol<sup>-1</sup></b>	<b>kcal mol<sup>-1</sup></b>
Protonação Carbodiimida	Igual ao caminho 2	21,41
Desprotonação Int 239a	2,44	-4,18
Desprotonação Int 239b	-7,66	-2,51
Desprotonação Int 221	10,77	18,81
Int (221 H+ beta) - Int 221	Igual ao caminho 2	-33,27
Int 221b - Int (221 H+ beta)	Igual ao caminho 2	13,81

#### 4.5.2 Efeito da Solvatação Implícita

A curva de energia livre montada para a reação de Wang catalisada e solvatada é dada no *Esquema 23* e os dados termodinâmicos obtidos, bem como comparações entre eles e os valores do caso catalisado e não solvatado, são dados na *Tabela 10* e na *Tabela 11*.



**Esquema 23.** Curva de energia livre de Gibbs montada para as três primeiras etapas reacionais do mecanismo da reação de Wang catalisada e com solvatação implícita. A curva correspondente ao caminho 1 é dada em azul e a correspondente ao caminho 2 é dada em verde (antes do primeiro TS e após o intermediário 221, não há diferença entre os dois caminhos e a cor usada é o preto). No eixo vertical é dada a energia livre de Gibbs relativa aos reagentes (fixados em 0) em kcal/mol e o eixo horizontal (omitido) representa a coordenada de reação. Os números próximos aos nomes de intermediários ou estados de transição indicam a energia livre de Gibbs relativa da espécie correspondente ou, quando dados entre chaves, o  $\Delta G^\ddagger$  (energia livre de ativação) associado à etapa reacional correspondente (só dado para estados de transição). São dadas as representações simplificadas de todas as espécies que não são TS.



**Tabela 10.**  $H$ ,  $S$  e  $G$  relativos dos componentes do mecanismo da reação de Wang catalisada e com solvatação implícita. Os reagentes foram fixados em 0.

	Caminho 1			Caminho 2		
	$S_{\text{DMSO}}$ cal $\text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	$H_{\text{DMSO}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$	$G_{\text{DMSO}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$	$S_{\text{DMSO}}$ cal $\text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	$H_{\text{DMSO}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$	$G_{\text{DMSO}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$
Reagentes	0	0	0	0	0	0
Carbodiimida H+	Igual ao caminho 2			0,341	8,32	8,17
Ataque 1 Reagentes	Igual ao caminho 2			-37,110	-0,57	15,13
TS Ataque 1	---	---	---	-42,484	6,83	24,80
Ataque 1 Produtos (239a H+)	-46,120	-10,46	9,06	-43,863	-11,81	6,75
Intermediário 239a	-43,403	-20,63	-2,27	-44,246	-20,23	-1,51
Ataque 2 Reagentes	-90,136	-32,15	5,99	-86,420	-32,40	4,17
TS Ataque 2	-91,280	-28,58	10,05	-94,046	-28,69	11,11
Ataque 2 Produtos	-93,535	-33,79	5,79	-91,336	-35,02	3,63
Intermediário 239b H+	-53,009	-17,43	5,00	-53,099	-19,15	3,32
Intermediário 239b	-47,618	-27,75	-7,60	-48,190	-27,36	-6,97
Desidratação Reagentes	-90,586	-39,44	-1,11	-89,804	-39,51	-1,52
TS Desidratação	-92,113	-30,72	8,26	-92,318	-31,21	7,85
Desidratação Produtos	-81,316	-42,15	-7,74	-80,045	-45,09	-11,22
Intermediário 221 H+	-13,643	-28,39	-22,62	-13,873	-28,96	-23,09
Intermediário 221	-11,663	-22,83	-17,89	-12,182	-21,23	-16,08
Intermediário 221 H+ beta	Igual ao caminho 2			-12,749	-43,25	-37,85
Intermediário 221b	Igual ao caminho 2			-8,453	-33,03	-29,46

**Tabela 11.**  $T\Delta S$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta G$ ,  $T\Delta S^\ddagger$ ,  $\Delta H^\ddagger$  e  $\Delta G^\ddagger$  das etapas reacionais modeladas e da reação global, todos correspondendo à reação catalisada e com solvatação implícita. Também é dada a diferença entre os  $\Delta G^\ddagger$  com solvente e sem solvente implícito, indicados respectivamente pelos subscritos "DMSO" e "VÁC". Os  $\Delta G^\ddagger_{\text{VÁC}}$  são os mesmos  $\Delta G^\ddagger$  já dados na Tabela 8.

Caminho 1	$T\Delta S^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta H^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta G^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta G^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$T\Delta S_{\text{DMSO}}$	$\Delta H_{\text{DMSO}}$	$\Delta G_{\text{DMSO}}$	$\Delta G_{\text{DMSO}}$
	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	$-\Delta G^\ddagger_{\text{VÁC}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	$-\Delta G_{\text{VÁC}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$
Ataque 1	---	---	---	---	---	---	---	---
Ataque 2	-0,48	3,57	4,05	-1,07	-1,44	-1,64	-0,20	-0,49
Desidratação	-0,65	8,73	9,37	6,41	3,92	-2,71	-6,63	-11,71
Caminho 2	$T\Delta S^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta H^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta G^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$\Delta G^\ddagger_{\text{DMSO}}$	$T\Delta S_{\text{DMSO}}$	$\Delta H_{\text{DMSO}}$	$\Delta G_{\text{DMSO}}$	$\Delta G_{\text{DMSO}}$
	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	$-\Delta G^\ddagger_{\text{VÁC}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	kcal $\text{mol}^{-1}$	$-\Delta G_{\text{VÁC}}$ kcal $\text{mol}^{-1}$
Ataque 1	-2,27	7,40	9,67	-8,17	-2,86	-11,24	-8,38	-12,16
Ataque 2	-3,23	3,71	6,94	1,38	-2,08	-2,62	-0,54	1,04
Desidratação	-1,06	8,30	9,37	5,75	4,13	-5,57	-9,70	-15,10

Algumas observações interessantes podem ser feitas sobre os dados apresentados. Inicialmente, com relação aos  $\Delta G$  de protonações e desprotonações discutidos na seção 4.5.1, observa-se que a solvatação implícita levou a uma diminuição dos módulos de alguns desses valores e ao aumento dos módulos de outros, em aparente contraste com o efeito imaginado

para a catálise explícita (foi sugerido que a tendência seria de diminuir os módulos). Esses resultados são mostrados na *Tabela 12*.

**Tabela 12.** Valores de  $\Delta G$  de protonação e desprotonação de intermediários sem interações com o DMSO, todos referentes ao mecanismo catalisado com solvatação implícita e obtidos a partir dos valores de  $G$  mostrados na Tabela 10. São dadas também as diferenças entre os módulos dos  $\Delta G$  encontrados para o caso não solvatado, dados na Tabela 9 e dos  $\Delta G$  do caso solvatado. Os  $\Delta G$  referentes ao caso não solvatado são indicados pelo subscrito VÁC e os referentes ao caso solvatado, pelo subscrito DMSO.

	Caminho 1		Caminho 2	
	$\Delta G_{\text{DMSO}}$ kcal mol <sup>-1</sup>	$ \Delta G _{\text{DMSO}}$ - $ \Delta G _{\text{VÁC}}$ kcal mol <sup>-1</sup>	$\Delta G_{\text{DMSO}}$ kcal mol <sup>-1</sup>	$ \Delta G _{\text{DMSO}}$ - $ \Delta G _{\text{VÁC}}$ kcal mol <sup>-1</sup>
Protonação Carbodiimida	Igual ao caminho 2		8,17	-13,23
Desprotonação Int 239a	-11,32	8,89	-8,26	4,08
Desprotonação Int 239b	-12,60	4,95	-10,29	7,78
Desprotonação Int 221	4,73	-6,04	7,01	-11,80
Int (221 H+ beta) - Int 221	Igual ao caminho 2		-21,78	-11,50
Int 221b - Int (221 H+ beta)	Igual ao caminho 2		8,40	-5,41

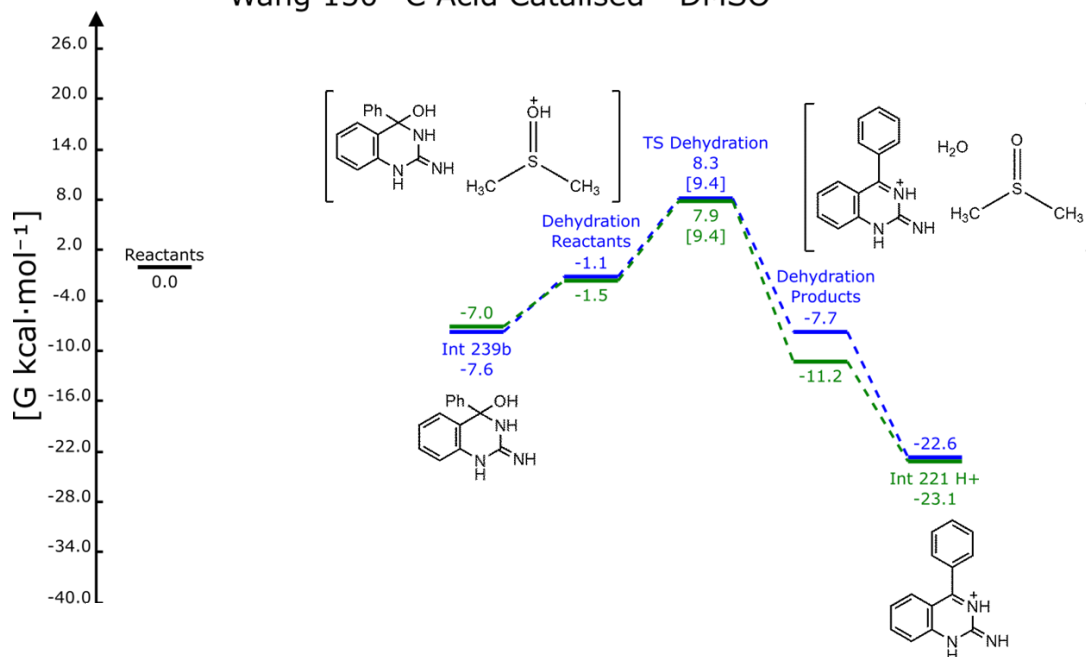
No entanto, parte essencial do que foi previsto se concretizou, pois os três  $\Delta G$  de protonação/desprotonação com os maiores módulos no caso não solvatado (protonação da carbodiimida; desprotonação do int 221; Int (221 H+ beta) - Int 221) tiveram seus módulos consideravelmente reduzidos.

Portanto, é possível afirmar que a solvatação implícita foi capaz de simular, ao menos qualitativamente, o efeito da diminuição do módulo de algumas energias livres de protonação/desprotonação que estavam muito altas na modelagem sem solvatação. Talvez esse efeito se mostrasse ainda mais intenso na presença de solvente explícito.

Ademais, é bem interessante perceber que a solvatação implícita transformou a curva de energia livre de forma a estabelecer estruturas com formato de pirâmide em volta dos três estados de transição modelados. Nessas estruturas, que não estão presentes da mesma forma na curva de energia livre do caso não solvatado, os TS se encontram no topo das “pirâmides” e são cercados por dois níveis de estruturas com energias progressivamente mais baixas em cada lado.

Usando a etapa de desidratação como exemplo, temos o TS da desidratação no topo, cercado por ambos os lados pelos complexos entre produtos/reagentes e DMSO, que apresentam  $G$  mais baixos que o TS. Por sua vez, esses complexos são cercados externamente pelos produtos/reagentes sem interação com DMSO, que apresentam  $G$  ainda mais baixos. O *Esquema 24* apresenta um recorte da curva de energia livre contendo a “pirâmide” descrita.

### Wang 150 °C Acid Catalised - DMSO



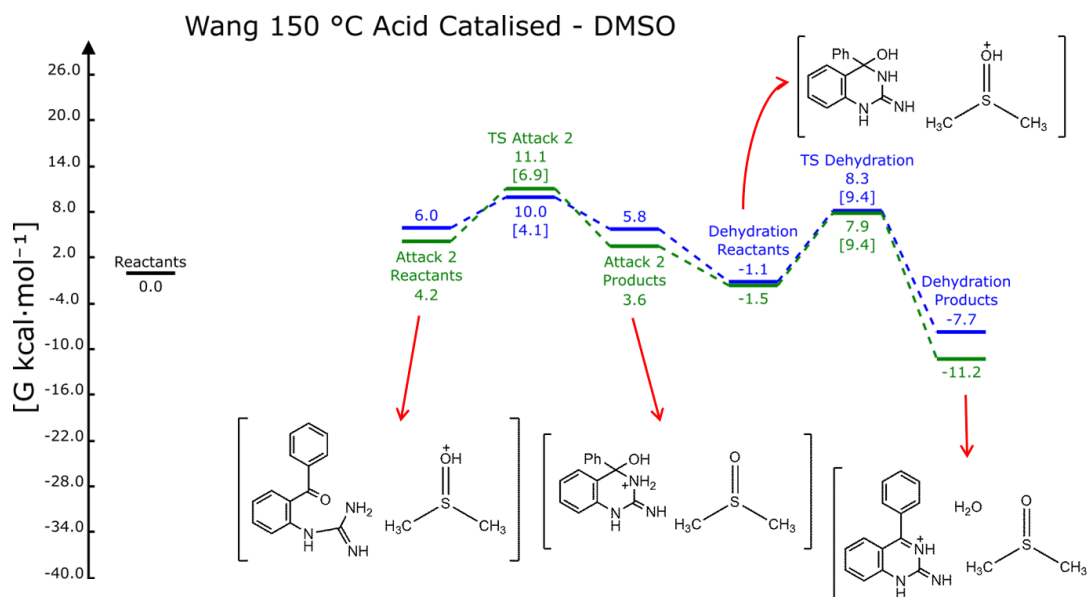
**Esquema 24.** Recorte da curva de energia livre de Gibbs do mecanismo da reação de Wang catalisada e com solvatação implícita (dada no Esquema 23), contendo apenas a etapa de desidratação. A curva correspondente ao caminho 1 é dada em azul e a correspondente ao caminho 2 é dada em verde. No eixo vertical é dada a energia livre de Gibbs relativa aos reagentes (fixados em 0) em kcal/mol e o eixo horizontal (omitido) representa a coordenada de reação. Os números próximos aos nomes de intermediários ou estados de transição indicam a energia livre de Gibbs relativa da espécie correspondente ou, quando dados entre chaves, o  $\Delta G^\ddagger$  (energia livre de ativação) associado à etapa reacional correspondente (só dado para estados de transição). São dadas as representações simplificadas de espécies que não são TS e as chaves indicam complexos.

Esse tipo de estrutura se repete de forma análoga para o ataque 2 e de forma um pouco diferente para o ataque 1, pois ele não envolveu CAG. Na verdade, a curva de energia livre do caso catalisado e solvatado é dominada pela presença dessas pirâmides e consiste, quase em sua totalidade, da sucessão das três etapas reacionais onde os TS formam picos de energia livre cercados por vales cujos mínimos locais são intermediários que não interagem com o DMSO.

Esse padrão transmite novamente a ideia previamente apresentada na seção 4.5.1, de que a solvatação explícita tenderia a suavizar a curva, já que os mínimos locais observados na presença de solvente implícito seriam removidos e os novos mínimos locais teriam energias livres mais próximas da energia livre dos TS.

Dessa forma, a curva correspondente ao caso catalisado e com solvatação explícita seria uma curva mais simples formada por uma sucessão de máximos e mínimos correspondendo aos TS e aos intermediários, o que a princípio não é nada demais, apenas o que normalmente se espera de uma curva de energia potencial de uma reação química. A diferença relevante é que essa curva seria mais suave (no sentido de menores diferenças entre os G dos máximos e mínimos) que as curvas aqui apresentadas, em especial, bem mais suave que a curva correspondente ao caso não catalisado e não solvatado, o que demonstra a inadequação daquela modelagem para representação do sistema real.

No *Esquema 25*, um novo recorte da curva de energia livre do caso catalisado e solvatado dá uma ideia desse efeito. Nesse recorte foram incluídas apenas as estruturas nas quais o substrato interage com o DMSO.



**Esquema 25.** Recorte da curva de energia livre de Gibbs do mecanismo da reação de Wang catalisada e com solvatação implícita (dada no Esquema 23), contendo apenas as estruturas onde o substrato interage com o DMSO (além dos reagentes). A curva correspondente ao caminho 1 é dada em azul e a correspondente ao caminho 2 é dada em verde. No eixo vertical é dada a energia livre de Gibbs relativa aos reagentes (fixados em 0) em kcal/mol e o eixo horizontal (omitido) representa a coordenada de reação. Os números próximos aos nomes de intermediários ou estados de transição indicam a energia livre de Gibbs relativa da espécie correspondente ou, quando dados entre chaves, o  $\Delta G^\ddagger$  (energia livre de ativação) associado à etapa reacional correspondente (só dado para estados de transição). São dadas as representações simplificadas de espécies que não são TS e as chaves indicam complexos.

Na verdade, é mais correto dizer que a suavização da curva seja um efeito da solvatação e da catálise combinadas, já que algumas das comparações estão sendo feitas com o caso não catalisado. No entanto, não se pode ignorar, por exemplo, o efeito da solvatação nas energias livres de protonação/desprotonação, previamente discutido.

Por fim, cabe mencionar as variações nos  $\Delta G^\ddagger$  entre o caso catalisado solvatado e o caso catalisado não solvatado. Na ausência do solvente implícito, a etapa com maior  $\Delta G^\ddagger$  é o ataque 1, por uma margem considerável (dados da *Tabela 8*). Já no caso solvatado, as desidratações do caminho 1 e 2 e o ataque 1 estão praticamente empatados com  $\Delta G^\ddagger$  muito próximos de 9,5 kcal/mol. Isso representa uma barreira cinética menor, já que o  $\Delta G^\ddagger$  do ataque 1 no caso não solvatado é de 17,84 kcal/mol. Uma possível explicação para a variação na  $\Delta G^\ddagger$  do ataque 1 é dada a seguir, na seção 4.5.3.

De modo geral, o impacto do solvente implícito foi muito mais relevante no caso catalisado do que no caso não catalisado. Esse comportamento pode ser atribuído a dois fatores: a presença de cargas e os módulos menores encontrados para os  $G$  do caso catalisado.

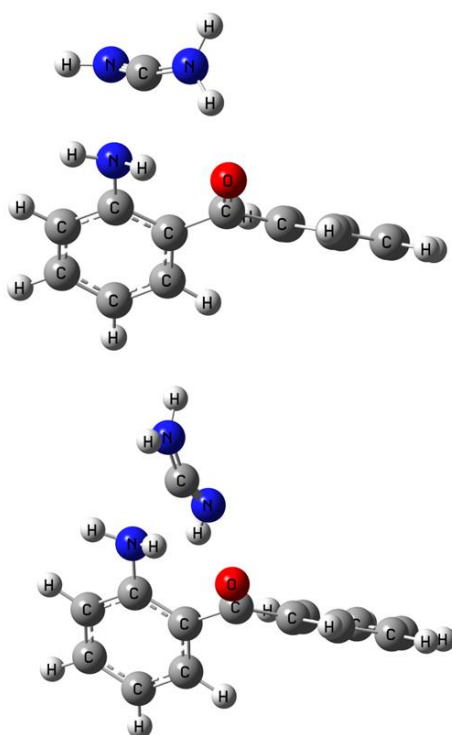
A presença de cargas faz com que o sistema se torne mais sensível ao efeito de solvatação, ao passo que os menores módulos das energias livres fazem com que um determinado efeito de solvente seja mais relevante quando levada em consideração a proporção que ele representa da energia livre do sistema. Por exemplo, uma variação de 5

kcal/mol é pouco relevante no mecanismo não catalisado onde os módulos de G são altos, mas a mesma variação tem um impacto muito mais relevante no mecanismo catalisado.

#### 4.5.3 A Estrutura do TS do Ataque 1 Catalisado e Solvatado

É importante apontar uma peculiaridade que foi observada na aplicação do solvente implícito à modelagem do ataque 1 catalisado. Nos casos do ataque 2 e da desidratação, as estruturas foram bem preservadas quando reotimizadas na presença do solvente implícito, mas o TS do ataque 1 sofreu uma alteração relevante.

A *Figura 33* mostra as estruturas otimizadas do TS do ataque 1 catalisado e não solvatado (em cima) e catalisado e solvatado (embaixo).



**Figura 33.** Estruturas otimizadas para o TS do ataque 1 catalisado para os casos não solvatado (em cima) e solvatado (embaixo).

Percebe-se que a posição da carbodiimida foi alterada, de modo a romper uma ligação de hidrogênio NHO observada no caso não solvatado. Pode ser que isso represente uma tendência real do sistema, significando que essa ligação de H seria menos favorável que as interações entre substrato e solvente que podem ser formadas quando a interação carbodiimida – DMSO é quebrada. Essa pode ser parte da explicação da diminuição observada para o  $\Delta G^\ddagger$  desta etapa em função da solvatação implícita.

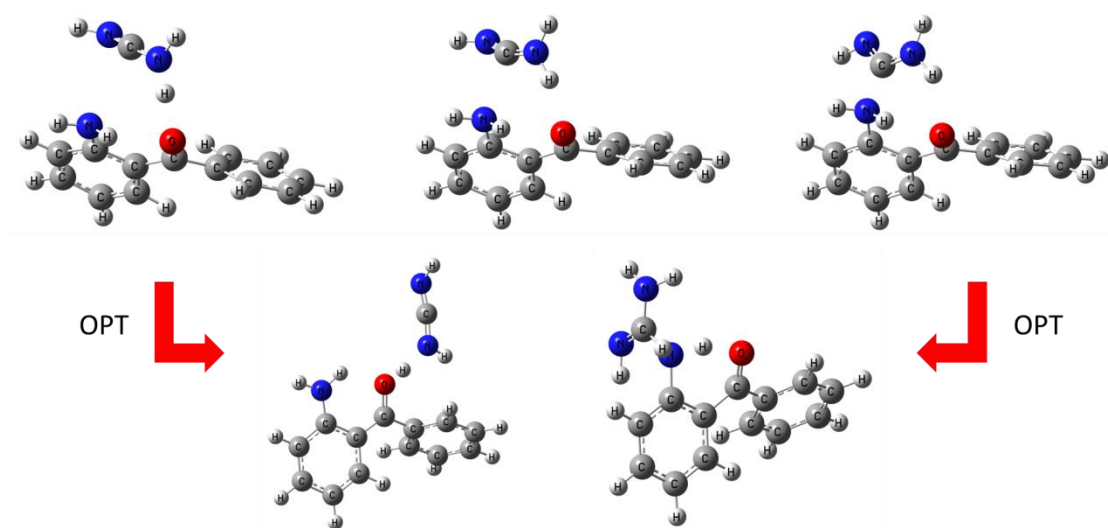
#### 4.5.4 Análise Estrutural dos Estados de Transição Encontrados e IRC (Vácuo)

Nesta seção são apresentadas as estruturas encontradas para os TS do caso catalisado e não solvatado. As estruturas correspondentes do caso solvatado não são apresentadas por serem muito semelhantes.

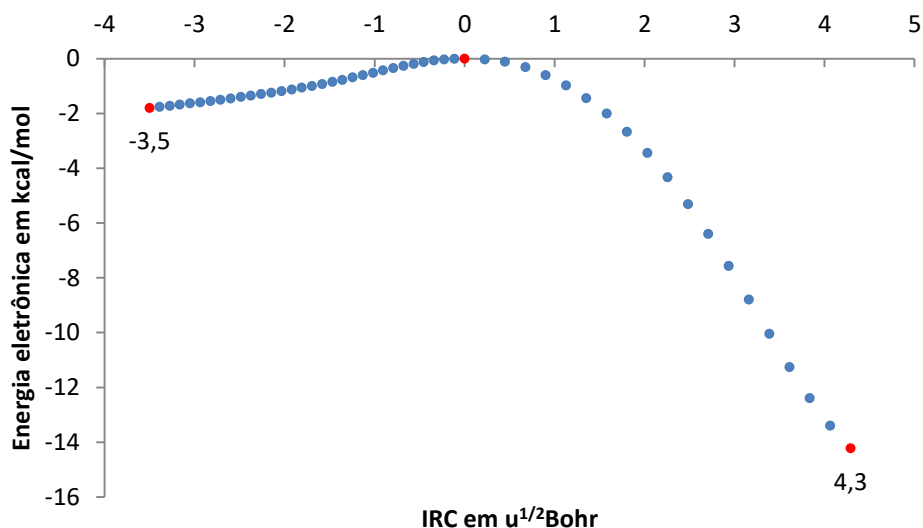
##### 4.5.4.1 Ataque 1 Catalisado

A *Figura 34* permite visualização da variação estrutural que ocorre durante o caminho reacional do ataque 1 – caminho 2. É claramente visível a variação do ângulo NCN que caracteriza a reação.

Além disso, há presença constante de uma ligação de hidrogênio auxiliar entre o grupo amina da carbodiimida e a carbonila, bem como de uma segunda ligação de hidrogênio entre o grupo amina da própria 2-aminobenzofenona e a carbonila, ambas presentes antes mesmo do início da reação. Após o fim da reação, a primeira dessas interações é rompida, mas a segunda permanece.



**Figura 34.** Em cima: geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 22. Em baixo: geometrias obtidas a partir da otimização das duas estruturas correspondentes às extremidades do mesmo gráfico.



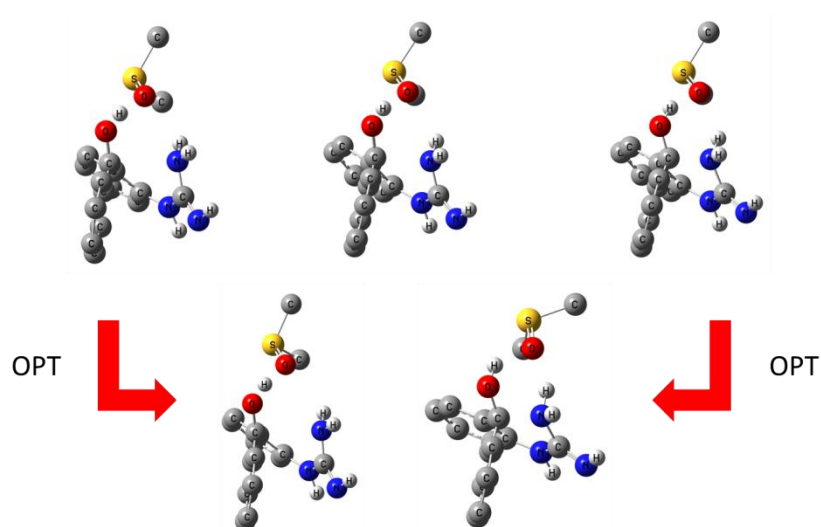
**Gráfico 22.** Gráfico de IRC obtido para o TS ataque 1 – caminho 2 catalisado. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na parte de cima da Figura 34. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

#### 4.5.4.2 Ataque 2 Catalisado

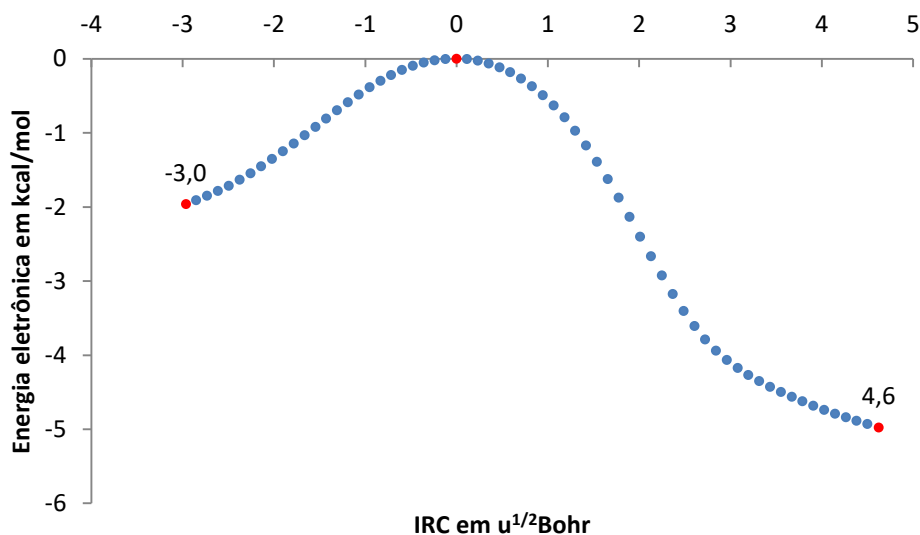
Essa etapa reacional envolve processos um pouco mais sutis do que aqueles presentes no ataque 1 catalisado. A reação é caracterizada pela formação de uma ligação CN com simultânea transferência de hidrogênio entre os átomos de oxigênio do DMSO e da carbonila. Esse segundo processo é de mais difícil visualização pois o oxigênio do DMSO continua a interagir com o hidrogênio que foi transferido mesmo após o fim da reação e da formação da ligação OH no substrato. No entanto, de fato, há aumento na distância O(DMSO) – H e diminuição na distância O(substrato) – H.

A presença de uma ligação de H entre os oxigênios do substrato e do DMSO é constante e a principal diferença em termos das interações DMSO – substrato antes e depois da reação é o fortalecimento da interação entre o grupo  $NH_2$  e o DMSO no produto, decorrente da aproximação desse nitrogênio.

Apesar da *Figura 35* e do *Gráfico 23* se referirem ao caminho 1, o mesmo procedimento foi adotado para o caminho 2 e o comportamento do sistema é o mesmo.



**Figura 35.** Em cima: geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 23. Em baixo: geometrias obtidas a partir da otimização das duas estruturas correspondentes às extremidades do mesmo gráfico. Todos os H ligados a carbonos foram omitidos para facilitar a visualização das estruturas.



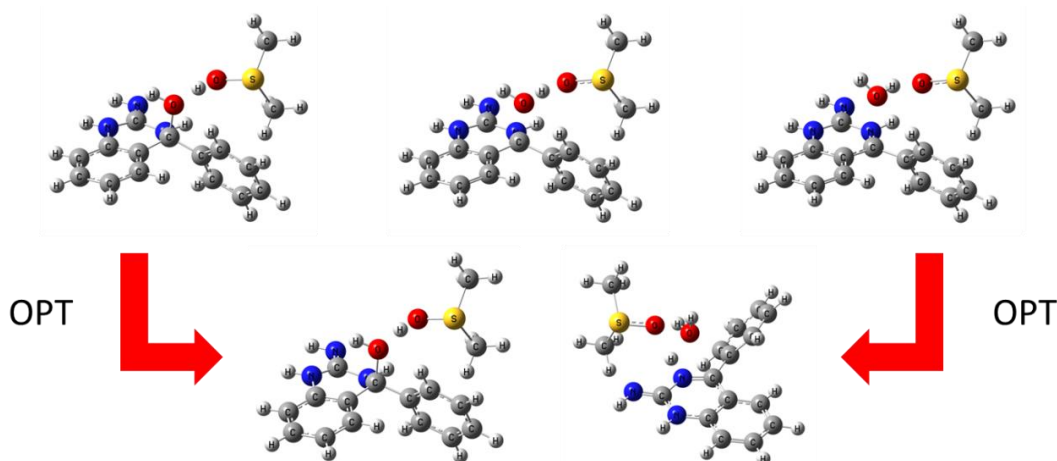
**Gráfico 23.** Gráfico de IRC obtido para o TS ataque 2 – caminho 1 catalisado. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na parte de cima da Figura 35. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

O gráfico de IRC pode ser dividido entre duas regiões: a primeira entre IRC = -3,0 e aproximadamente 2,8; a segunda de aproximadamente 2,8 em diante. É na primeira dessas regiões que os processos envolvidos diretamente com a reação ocorrem quase que em sua totalidade (formação de ligação CN e transferência de H). Na segunda região, as ligações associadas a eles variam muito pouco e ocorrem acomodações espaciais das espécies e ajustes mais gerais nas estruturas. Essa segunda região não foi obtida no gráfico encontrado para o caminho 2, mas as tendências estruturais são as mesmas e foram confirmadas pela otimização das extremidades do gráfico.

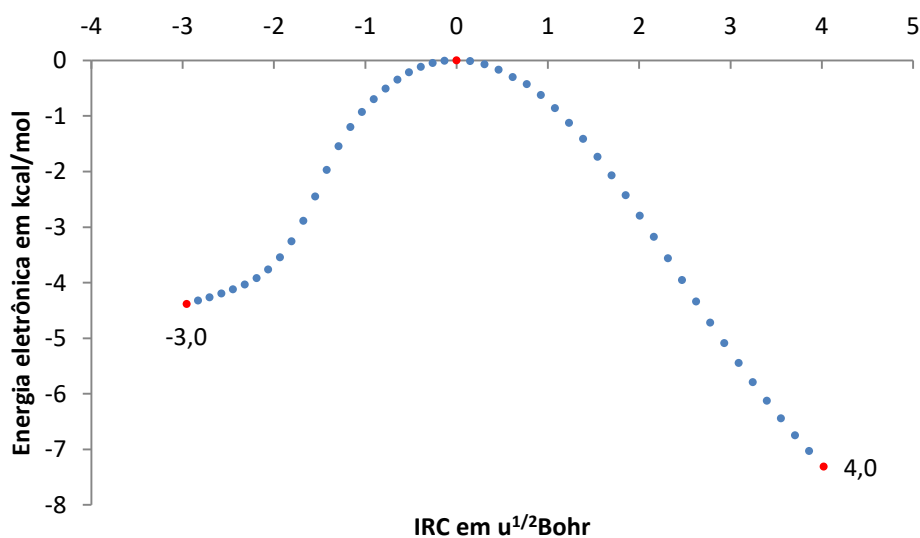


#### 4.5.4.3 Desidratação Catalisada

Aqui são finalmente mostradas as estruturas referentes à etapa de desidratação catalisada por CAG. Na *Figura 36* é claramente visível a eliminação da molécula de água. A quebra da ligação CO e a transferência protônica entre o DMSO e o grupo OH ocorrem simultaneamente. Adicionalmente, observa-se a presença constante de uma ligação de H entre o DMSO e o grupo de saída (ou a molécula de água).



**Figura 36.** Em cima: geometrias referentes aos 3 pontos marcados em vermelho no Gráfico 24. Em baixo: geometrias obtidas a partir da otimização das duas estruturas correspondentes às extremidades do mesmo gráfico.



**Gráfico 24.** Gráfico de IRC obtido para o TS desidratação – caminho 2 catalisado. As energias são dadas com relação ao TS, fixado em 0. Os 3 pontos vermelhos são referentes às 3 estruturas representadas na parte de cima da Figura 36. Os valores aproximados de IRC desses pontos são dados próximos a eles no gráfico.

O Gráfico 24 e a Figura 36 são referentes ao caminho 2, mas o IRC também foi calculado para o caminho 1 e a conectividade foi confirmada. No entanto, houve uma peculiaridade: a otimização do último ponto do gráfico de IRC obtido, que deveria levar aos produtos, não levou a um mínimo de energia, pois foi verificada a presença de uma frequência vibracional imaginária. Ainda assim, isso não atrapalhou a confirmação da conectividade, pois

nessa estrutura a desidratação claramente já havia ocorrido e a frequência imaginada obtida correspondia a uma movimentação não relacionada.

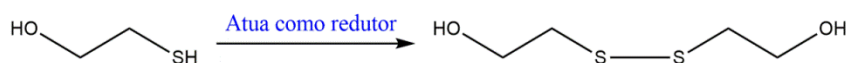
Para a montagem da curva de energia potencial (*Esquema 22*), da *Tabela 7* e da *Tabela 8*, era necessário encontrar o mínimo de energia correspondendo a esse produto. Como isso não foi possível a partir do IRC, foi feita uma adaptação da estrutura do produto obtido para a desidratação do caminho 1 e, em seguida, uma reotimização. O resultado desse procedimento corresponde ao mínimo procurado e foi empregado para a construção da curva e das tabelas.

## 5 Considerações Sobre a Etapa de Redução

A etapa de redução do intermediário de massa 221 u é uma etapa relativamente complexa devido às várias espécies que podem estar envolvidas. De acordo com a hipótese de Wang *et. al.*, os agentes redutores seriam espécies contendo enxofre, mais especificamente o H<sub>2</sub>S, proveniente da decomposição da tioureaia, e o metanotiol (MeSH). Supostamente, o MeSH seria proveniente de reações entre o H<sub>2</sub>S e o próprio DMSO, que poderiam levar a formação de diferentes espécies sulfuradas<sup>7</sup>.

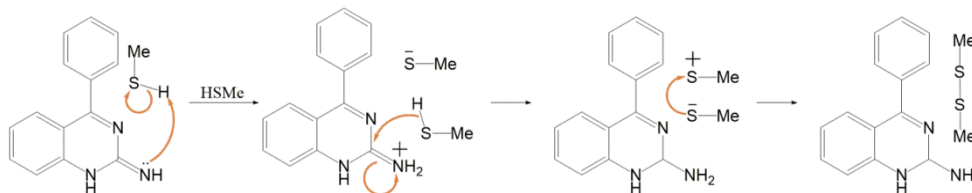
Aqui serão apresentadas propostas mecanísticas para a redução do intermediário de *m/z* 221. Tais propostas tem caráter bastante especulativo, já que no presente projeto não foram identificadas espécies que pudessem fornecer informações acerca dessa reação e nem foram feitos estudos computacionais sobre ela. No entanto, as propostas foram baseadas em alguns resultados obtidos por Wang *et. al.*, sendo o principal deles, a detecção das seguintes espécies no meio reacional por GC-MS: H<sub>2</sub>S, MeSH, MeSMe, MeS<sub>2</sub>Me, MeS<sub>3</sub>Me e até MeS<sub>4</sub>Me.

Adicionalmente, quando o 2-mercaptoetanol (HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SH) foi empregado como agente redutor, Wang *et. al.* puderam detectar o subproduto HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH<sup>7</sup>. Esse dado também auxilia na idealização das propostas e serve de suporte por evidenciar a formação de ligações S-S entre duas moléculas do agente redutor (*Esquema 26*).



**Esquema 26.** Formação do subproduto HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH a partir da atuação do 2-mercaptoetanol como agente redutor em teste realizado por Wang *et. al.*<sup>7</sup>.

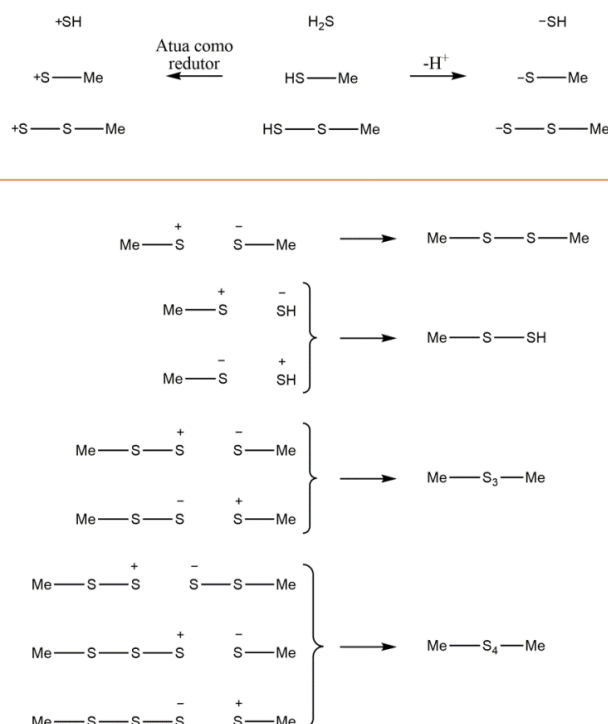
Uma proposta inicial, consistindo em um mecanismo iônico simples, é apresentada no *Esquema 27*, onde se observa primeiramente a protonação do intermediário 221 com o metanotiol agindo como ácido de Bronsted. Em seguida, uma segunda molécula de metanotiol atua como agente redutor doando um íon H<sup>-</sup> para o intermediário 221 protonado e levando à formação do intermediário 223 (o produto da redução) e de um íon MeS<sup>+</sup>. Na última parte, os íons MeS<sup>-</sup> e MeS<sup>+</sup> se combinam para formar uma molécula de MeS<sub>2</sub>Me (o subproduto dessa etapa).



**Esquema 27.** Proposta de mecanismo iônico simplificado para a etapa de redução, com atuação do metanotiol tanto como ácido quanto como agente redutor.

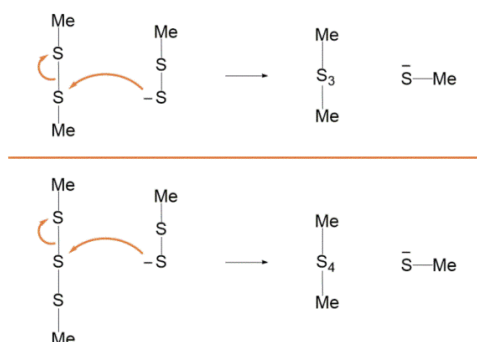
Teoricamente a reação também poderia ocorrer com outros reagentes, por exemplo: com uma molécula de H<sub>2</sub>S no lugar de uma das moléculas de metanotiol mostradas no *Esquema 27* ou até mesmo com duas moléculas de H<sub>2</sub>S e nenhuma de metanotiol, possibilidades que levariam respectivamente à formação dos subprodutos: HS-S-Me e HS-SH.

A partir daí é possível imaginar a formação das outras moléculas detectadas experimentalmente por Wang *et. al.*. Como mostrado no *Esquema 28*, através de sucessivas oxidações das espécies sulfuradas, seria possível a montagem de cadeias com números variados de átomos de enxofre.



**Esquema 28.** Ilustração das possíveis interações entre várias moléculas sulfuradas presentes no sistema. Na parte de cima, é mostrada a formação de íons a partir da atuação dessas moléculas como ácidos ou agentes redutores. Na parte de baixo, são mostradas as possíveis combinações entre esses íons, levando à formação das espécies detectadas experimentalmente por Wang *et. al.*<sup>7</sup>.

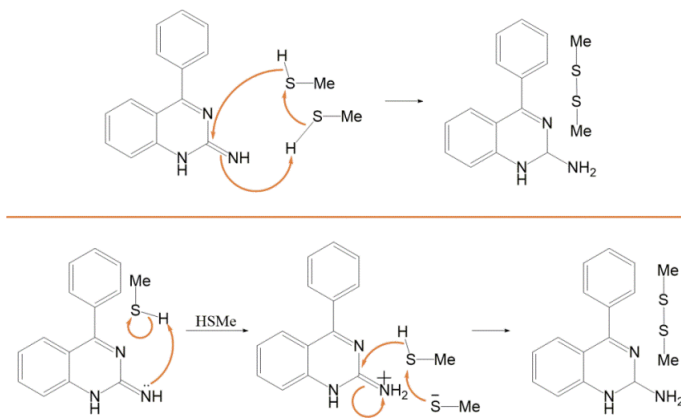
É importante mencionar que existe uma reação de trocas de substituintes entre tiois e dissulfetos, que já foi estudada<sup>72</sup> e ocorre através de um mecanismo simples do tipo  $S_n2$ . Como mostrado no *Esquema 29*, reações similares a essa poderiam também ocorrer no sistema de Wang *et. al.*, contribuindo para a formação das espécies mostradas no *Esquema 28*.



**Esquema 29.** Reações do tipo  $S_n2$  que podem contribuir para a formação das espécies mostradas no *Esquema 28* e detectadas por Wang *et. al.*

Já a formação do Me-S-Me pode ocorrer através da redução do próprio DMSO por tiois e talvez também pelo  $\text{H}_2\text{S}$ . A formação de tioéteres através da reação entre sulfóxidos e tiois já foi demonstrada em estudos presentes na literatura<sup>73,74</sup>.

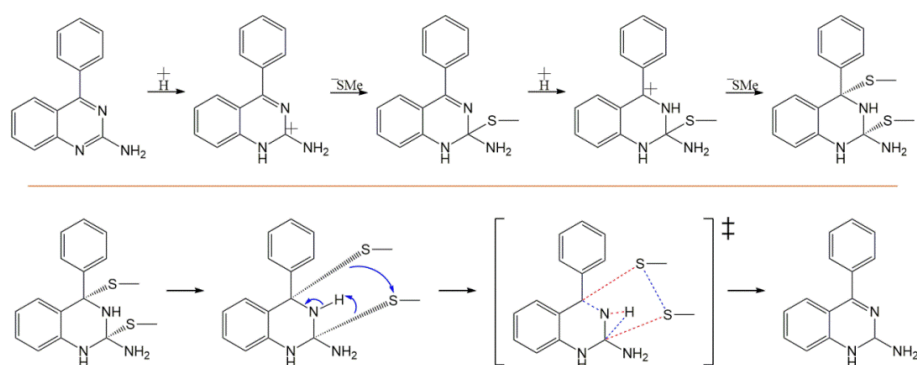
Voltando à redução do intermediário 221, é possível supor também um mecanismo concertado simples para a reação retratada no *Esquema 27*. Ela poderia ocorrer com uma única etapa concertada englobando todo o processo, ou então com uma etapa de pré-protonação seguida de uma etapa concertada, conforme mostrado no *Esquema 30*.



**Esquema 30.** Proposta de mecanismos concertados simples para a etapa de redução tendo o metanotiol como agente redutor.

Em ambos os casos, a etapa concertada envolveria uma reação entre três componentes, o que elevaria consideravelmente o  $\Delta S^\ddagger$ . No entanto, o  $\Delta H^\ddagger$  de ativação seria menor, já que não haveria formação de um intermediário  $^+S-Me$ , que é desfavorável. A comparação entre o mecanismo totalmente iônico e os mecanismos concertados depende, portanto, do balanço entre essas energias.

Propõe-se, no entanto, um mecanismo adicional (*Esquema 31*), que evita tanto a formação de uma espécie do tipo  $^+S-Me$  quanto reações elementares entre três componentes. Nesse caso, têm-se duas adições consecutivas de nucleófilos sulfonados às duplas  $C=N$ , que levam à aproximação entre as estruturas dos dois nucleófilos. Em seguida, ocorre uma eliminação levando diretamente à formação dos produtos.



**Esquema 31.** Proposta mecanística adicional para a etapa de redução. No estado de transição mostrado, as linhas tracejadas em azul indicam a formação de ligações (ou transformação de simples para dupla) e as linhas tracejadas em vermelho indicam a quebra de ligações.

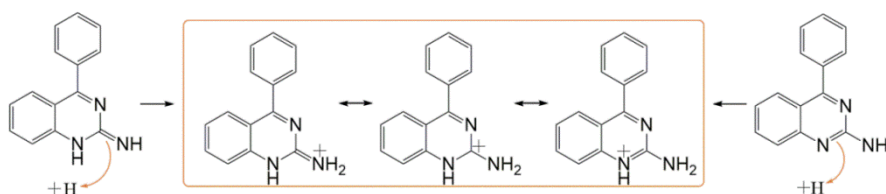
É importante ressaltar que nenhuma dessas propostas possui, até o momento, suporte de evidências experimentais ou cálculos teóricos ainda no contexto desse sistema específico.

Apesar de admitidamente haverem diferentes combinações possíveis de reagentes para a etapa de redução, como mostrado no *Esquema 28*, a opção ilustrada (com duas moléculas de metanotiol) foi escolhida para o balanço energético da modelagem computacional do mecanismo não catalisado (como mencionado na seção 3.4) pelo fato de teoricamente ser um melhor agente redutor que o H<sub>2</sub>S. Além disso, o subproduto formado é o MeS<sub>2</sub>Me, que foi detectado experimentalmente por Wang *et. al.* e cuja formação é análoga à do subproduto HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH (*Esquema 26*), também detectado experimentalmente.

De qualquer modo, o sistema real provavelmente envolve reagentes variados num grau maior ou menor, a depender não só da acidez e do potencial redutor de cada espécie, mas também da concentração delas em função do tempo no sistema reacional.

Também vale ressaltar que a formação das espécies detectadas por Wang *et. al.* mostrada no *Esquema 28* não é restrita à proposta iônica, apesar de estar representada dessa forma no esquema. As mesmas espécies podem ser formadas através de qualquer uma das propostas mecanísticas apresentadas.

Por fim, essas propostas mostram a redução ocorrendo a partir da protonação do intermediário 221a, mas fica implícita a possibilidade de que a mesma reação ocorra a partir do 221b, já que a protonação desses dois intermediários nos sítios certos levam ao mesmo íon, conforme ilustrado no *Esquema 32*.



**Esquema 32.** Ilustração de como os intermediários 221a e 221b podem levar à formação do mesmo íon a partir da protonação nos sítios certos. A esquerda o intermediário 221a e a direita o intermediário 221b.

## 6 Conclusões

A reação de Wang constitui não apenas um sistema de interesse prático para a síntese orgânica, mas também exibe um mecanismo muito interessante do ponto de vista teórico. É um mecanismo bastante complexo, que envolve várias etapas elementares e conta com a geração de diferentes reagentes *in situ*, além da participação essencial do solvente em algumas das reações.

Nesta dissertação foi relatado um estudo deste mecanismo no qual foram empregadas diferentes técnicas experimentais relacionadas à espectrometria de massas por eletrospray, além de cálculos computacionais de química quântica empregados em uma modelagem teórica do mecanismo.

Foi possível detectar diferentes espécies geradas no meio reacional e estudar suas estruturas usando fragmentações por CID, espectroscopia IRMPD e espectros de massa de alta resolução. Os intermediários de massa 221 u, bem como o subproduto de massa 222 u, previamente identificados por Wang *et. al.*, foram detectados e tiveram suas estruturas confirmadas com novos dados experimentais que não estavam presentes na literatura.

Novos intermediários não foram detectados, mas alguns subprodutos interessantes foram estudados e puderam ter suas naturezas determinadas. Se destacam os subprodutos detectados com as razões  $m/z$  264 e 282 Th, cujos espectros IRMPD foram registrados e analisados, bem como seus padrões de fragmentação por CID.

Experimentos adicionais permitiram a detecção de espécies análogas às aquelas observadas no sistema original em sistemas similares com variações nos reagentes. A repetição de estruturas análogas em todos os sistemas parece apontar para a generalidade do mecanismo proposto por Wang *et. al.*, pelo menos dentro do escopo testado.

Também tentou-se observar a aceleração da reação de Wang nas gotículas de eletrospray através do aumento da distância de voo dessas gotículas. Apesar do fenômeno em si não ter sido observado, foi possível a montagem de um sistema experimental capaz desses experimentos, rendendo resultados que poderão ser bastante úteis em futuros projetos conduzidos pelo nosso grupo de pesquisa.

A modelagem computacional do mecanismo de Wang envolveu a construção de curvas de energia livre de Gibbs e a análise estrutural de estados de transição, englobando análises dos efeitos da solvatação implícita, bem como da catálise ácida no sistema (pelo menos para 3 das etapas elementares estudadas).

Observou-se o drástico efeito da catálise no mecanismo, que leva a grandes diminuições nas energias livres de ativação. O efeito de solvatação se mostrou muito mais relevante no caso catalisado do que no caso não catalisado. A combinação da catálise e da solvatação levaram à suavização da curva de energia livre, diminuindo as diferenças de G entre máximos e mínimos.

O estudo computacional gerou uma vasta quantidade de dados que, combinados aos dados experimentais obtidos, enriquecem o conjunto do conhecimento disponível sobre o mecanismo desse sistema, contribuindo para futuros estudos acerca dele ou de sistemas

similares. A dissertação também contribui para demonstrar a capacidade das técnicas utilizadas para o estudo de mecanismos de reações orgânicas, em especial quando combinadas.

De modo geral, as evidências obtidas, tanto nos experimentos quanto na modelagem computacional, não contradizem a proposta mecanística de Wang, mas sim ajudam à sustentá-la e trazem a tona pormenores que não haviam sido previamente analisados.



## 7 Referências Bibliográficas

1. Holmyard, E. J. & Mandeville, D. C. *Avicennae de congelatione et conglutinatione lapidum: Being Sections of the Kitâb al-Shifâ'*. (Librairie Orientaliste Paul Geuthner, 1927).
2. Principe, L. M. *The Secrets of Alchemy*. (The University of Chicago Press, 2013).
3. Nakajima, N. & Ikada, Y. Mechanism of Amide Formation by Carbodiimide for Bioconjugation in Aqueous Media. *Bioconjug. Chem.* **6**, 123–130 (1995).
4. Valeur, E. & Bradley, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. *Chem. Soc. Rev.* **38**, 606–631 (2009).
5. Joullié, M. M. & Lassen, K. M. Evolution of amide bond formation. *Arkivoc* **2010**, 189 (2010).
6. Mojarradi, H. Coupling of substances containing a primary amine to hyaluronan via carbodiimide-mediated amidation. *Uppsala Univ. Publ.* **44** (2011).
7. Wang, Z. D., Eilander, J., Yoshida, M. & Wang, T. Mechanistic study of a complementary reaction system that easily affords quinazoline and perimidine derivatives. *European J. Org. Chem.* **2014**, 7664–7674 (2014).
8. Wang, D. Z., Yan, L. & Ma, L. Facile Preparation of 4-Substituted Quinazoline Derivatives. *J. Vis. Exp.* **2016**, 1–13 (2016).
9. Alagarsamy, V. *et al.* An overview of quinazolines: Pharmacological significance and recent developments. *Eur. J. Med. Chem.* **151**, 628–685 (2018).
10. Khan, I., Ibrar, A., Ahmed, W. & Saeed, A. Synthetic approaches, functionalization and therapeutic potential of quinazoline and quinazolinone skeletons: The advances continue. *Eur. J. Med. Chem.* **90**, 124–169 (2015).
11. Harry, N. A., Ujwaldev, S. M., Aneeja, T. & Anilkumar, G. A Comprehensive Overview of Perimidines: Synthesis, Chemical Transformations, and Applications. *Curr. Org. Chem.* **25**, 248–271 (2021).
12. Sahiba, N. & Agarwal, S. Recent Advances in the Synthesis of Perimidines and their Applications. *Top. Curr. Chem.* **378**, 44 (2020).
13. Wang, Z. D., Yoshida, M. & George, B. Theoretical study on the thermal decomposition of thiourea. *Comput. Theor. Chem.* **1017**, 91–98 (2013).
14. Yan, X., Bain, R. M. & Cooks, R. G. Organic Reactions in Microdroplets: Reaction Acceleration Revealed by Mass Spectrometry. *Angew. Chemie Int. Ed.* **55**, 12960–12972 (2016).
15. Bain, R. M., Pulliam, C. J. & Cooks, R. G. Accelerated Hantzsch electrospray synthesis with temporal control of reaction intermediates. *Chem. Sci.* **6**, 397–401 (2015).
16. Sahota, N. *et al.* A microdroplet-accelerated Biginelli reaction: mechanisms and separation of isomers using IMS-MS. *Chem. Sci.* **10**, 4822–4827 (2019).

17. Bain, R. M., Pulliam, C. J., Ayrton, S. T., Bain, K. & Cooks, R. G. Accelerated hydrazone formation in charged microdroplets. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **30**, 1875–1878 (2016).
18. Chen, H., Eberlin, L. S. & Cooks, R. G. Neutral Fragment Mass Spectra via Ambient Thermal Dissociation of Peptide and Protein Ions. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 5880–5886 (2007).
19. Anslyn, E. & Dougherty, D. *Modern Physical Organic Chemistry*. (University Science Books, 2006).
20. Carroll, F. *Perspectives on Structure and Mechanism in Organic Chemistry, 2nd Edition*. (John Willey & Sons, Inc., 2010).
21. Carey, F. & Sundberg, R. *Advanced Organic Chemistry, Part A: Structures and Mechanism, 5th Edition*. (Springer Science+Business Media, LLC, 2007).
22. Clayden, J., Greeves, N. & Warren, S. *Organic Chemistry, 2nd Edition*. (Oxford University Press, 2012).
23. Eyring, H. The Activated Complex in Chemical Reactions. *J. Chem. Phys.* **3**, 107–115 (1935).
24. Evans, M. G. & Polanyi, M. Some applications of the transition state method to the calculation of reaction velocities, especially in solution. *Trans. Faraday Soc.* **31**, 875 (1935).
25. Laidler, K. J. & King, M. C. Development of transition-state theory. *J. Phys. Chem.* **87**, 2657–2664 (1983).
26. Arnaut, L., Formosinho, S. & Burrows, H. *Chemical kinetics - From Molecular Structure to Chemical Reactivity, 1st Edition*. (Elsevier B.V., 2007).
27. Houston, P. *Chemical Kinetics and Reaction Dynamics, 1st Edition*. (Dover Publications, Inc., 2006).
28. Steinfeld, J., Francisco, J. & Hase, W. *Chemical Kinetics and Dynamics, 2nd Edition*. (Prentice Hall, 1998).
29. Perez-Benito, J. F. Some Considerations on the Fundamentals of Chemical Kinetics: Steady State, Quasi-Equilibrium, and Transition State Theory. *J. Chem. Educ.* **94**, 1238–1246 (2017).
30. Thomson, J. J. XL. Cathode Rays. *London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci.* **44**, 293–316 (1897).
31. Griffiths, J. A Brief History of Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **80**, 5678–5683 (2008).
32. Thomson, J. J. Bakerian Lecture :—Rays of positive electricity. in *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character* **89**, 1–20 (1913).
33. de Hoffmann, E. & Stroobant, V. *Mass Spectrometry: Principles and Applications, 3rd Edition*. (John Wiley & Sons Ltd, 2007).
34. (Editors) Ekman, R., Silberring, J., Westman-Brinkmalm, A. & Kraj, A. *Mass Spectrometry*

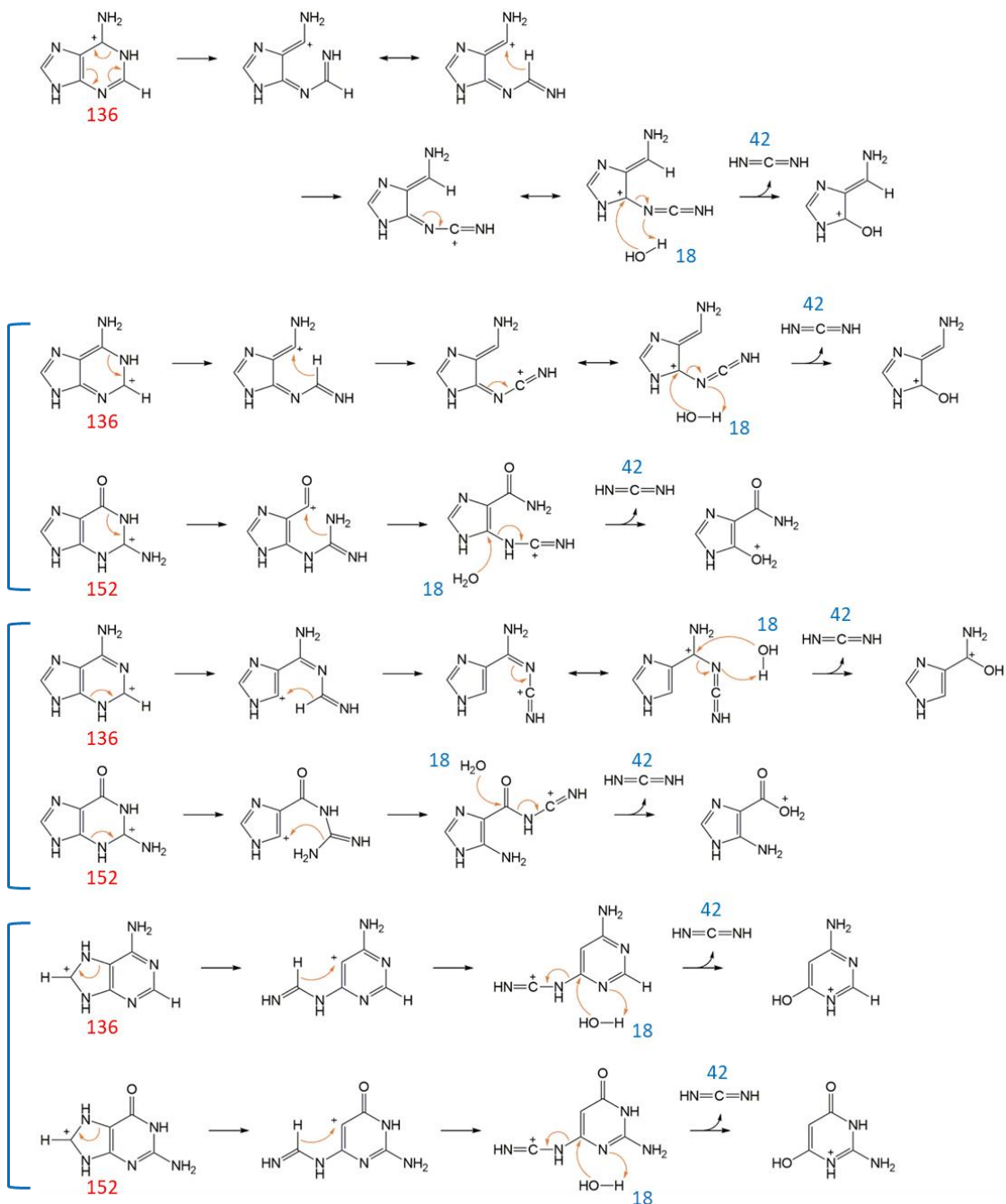
- Instrumentation, Interpretation and Applications.* (John Wiley & Sons, Inc., 2009).
35. *amaZon Series User Manual, Revision 1.* (Bruker Daltonik GmbH, 2009).
  36. Kebarle, P. & Verkerk, U. H. Electrospray: From ions in solution to ions in the gas phase, what we know now. *Mass Spectrom. Rev.* **28**, 898–917 (2009).
  37. Kebarle, P. & Tang, L. From ions in solution to ions in the gas phase - the mechanism of electrospray mass spectrometry. *Anal. Chem.* **65**, 972A-986A (1993).
  38. Konermann, L., Ahadi, E., Rodriguez, A. D. & Vahidi, S. Unraveling the Mechanism of Electrospray Ionization. *Anal. Chem.* **85**, 2–9 (2013).
  39. Mehmood, S., Allison, T. M. & Robinson, C. V. Mass Spectrometry of Protein Complexes: From Origins to Applications. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **66**, 453–474 (2015).
  40. Konermann, L., Metwally, H., Duez, Q. & Peters, I. Charging and supercharging of proteins for mass spectrometry: recent insights into the mechanisms of electrospray ionization. *Analyst* **144**, 6157–6171 (2019).
  41. Aliyari, E. & Konermann, L. Formation of Gaseous Proteins via the Ion Evaporation Model (IEM) in Electrospray Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **92**, 10807–10814 (2020).
  42. Zhu, W. *et al.* The Expanding Role of Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Probing Reactive Intermediates in Solution. *Molecules* **17**, 11507–11537 (2012).
  43. Santos, L. S., Pavam, C. H., Almeida, W. P., Coelho, F. & Eberlin, M. N. Probing the Mechanism of the Baylis–Hillman Reaction by Electrospray Ionization Mass and Tandem Mass Spectrometry. *Angew. Chemie Int. Ed.* **43**, 4330–4333 (2004).
  44. Tripodi, G. L. *et al.* The Intermediates in Lewis Acid Catalysis with Lanthanide Triflates. *European J. Org. Chem.* **2019**, 3560–3566 (2019).
  45. M. Ribeiro, F. W., Rodrigues-Oliveira, A. F. & C. Correra, T. Benzoxazine Formation Mechanism Evaluation by Direct Observation of Reaction Intermediates. *J. Phys. Chem. A* (2019).
  46. Henderson, M. A. & McIndoe, J. S. Ionic liquids enable electrospray ionisation mass spectrometry in hexane. *Chem. Commun.* 2872 (2006). doi:10.1039/b606938j
  47. Chen, C.-C. & Lin, P.-C. Monitoring of chemical transformations by mass spectrometry. *Anal. Methods* **7**, 6947–6959 (2015).
  48. Kind, T. *et al.* Identification of small molecules using accurate mass MS/MS search. *Mass Spectrom. Rev.* **37**, 513–532 (2018).
  49. Brodbelt, J. S. Ion Activation Methods for Peptides and Proteins. *Anal. Chem.* **88**, 30–51 (2016).
  50. Demarque, D. P., Crotti, A. E. M., Vessecchi, R., Lopes, J. L. C. & Lopes, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. *Nat. Prod. Rep.* **33**, 432–455 (2016).
  51. (Editors) Armentrout, P. B., Gross, M. L. & Caprioli, R. *The Encyclopedia of Mass Spectrometry, Volume 1.* (Elsevier Ltd., 2003).

52. Bayat, P., Lesage, D. & Cole, R. B. TUTORIAL: ION ACTIVATION IN TANDEM MASS SPECTROMETRY USING ULTRA-HIGH RESOLUTION INSTRUMENTATION. *Mass Spectrom. Rev.* **39**, 680–702 (2020).
53. Polfer, N. C. Infrared multiple photon dissociation spectroscopy of trapped ions. *Chem. Soc. Rev.* **40**, 2211–21 (2011).
54. Roithová, J. Characterization of reaction intermediates by ion spectroscopy. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 547–559 (2012).
55. Martens, J., Berden, G., Gebhardt, C. R. & Oomens, J. Infrared ion spectroscopy in a modified quadrupole ion trap mass spectrometer at the FELIX free electron laser laboratory. *Rev. Sci. Instrum.* **87**, 103108 (2016).
56. (Editors) Polfer, N. C. & Dugourd, P. *Laser Photodissociation and Spectroscopy of Mass-separated Biomolecular Ions*. (Springer International Publishing, 2013). doi:10.1007/978-3-319-01252-0
57. Rodrigues-Oliveira, A. F., Ribeiro, F. W. M., Cervi, G. & Correra, T. C. Evaluation of Common Theoretical Methods for Predicting Infrared Multiphotonic Dissociation Vibrational Spectra of Intramolecular Hydrogen-Bonded Ions. *ACS Omega* **3**, 9075–9085 (2018).
58. Penna, T. C. *et al.* Development of a photoinduced fragmentation ion trap for infrared multiple photon dissociation spectroscopy. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **34**, (2020).
59. Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G. A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H. P., Izmaylov, A. F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenb, D. J. Gaussian 09, Revision A.02.
60. Shao, Y. *et al.* Advances in methods and algorithms in a modern quantum chemistry program package. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8**, 3172–3191 (2006).
61. Marenich, A. V., Cramer, C. J. & Truhlar, D. G. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *J. Phys. Chem. B* **113**, 6378–6396 (2009).
62. Zanith, C. C. & Pliego, J. R. Performance of the SMD and SM8 models for predicting solvation free energy of neutral solutes in methanol, dimethyl sulfoxide and acetonitrile. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **29**, 217–224 (2015).
63. Miguel, E. L. M., Santos, C. I. L., Silva, C. M. & Pliego Jr., J. R. How Accurate is the SMD Model for Predicting Free Energy Barriers for Nucleophilic Substitution Reactions in Polar Protic and Dipolar Aprotic Solvents? *J. Braz. Chem. Soc.* (2016). doi:10.5935/0103-5053.20160095
64. Angnes, R. A. mechaSVG. (2020). doi:10.5281/zenodo.4065333
65. Patiny, L. & Borel, A. ChemCalc: A Building Block for Tomorrow's Chemical Infrastructure. *J. Chem. Inf. Model.* **53**, 1223–1228 (2013).
66. McQuarrie, D. A. & Simon, J. D. *Physical Chemistry: A Molecular Approach*. (University Science Books, 1997).

67. Cervi, G. Desenvolvimento e validação da espectroscopia vibracional de íons em fase gasosa. (Universidade de São Paulo, 2019). doi:10.11606/D.46.2019.tde-20082019-160818
68. Nelson, C. C. & McCloskey, J. A. Collision-induced dissociation of adenine. *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 3661–3668 (1992).
69. Cheong, N. R. *et al.* Photofragmentation in selected tautomers of protonated adenine. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13**, 291–295 (2011).
70. Gregson, J. M. & McCloskey, J. A. Collision-induced dissociation of protonated guanine. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* **165–166**, 475–485 (1997).
71. Katari, M. *et al.* Improved Infrared Spectra Prediction by DFT from a New Experimental Database. *Chem. - A Eur. J.* **23**, 8414–8423 (2017).
72. Nagy, P. Kinetics and Mechanisms of Thiol–Disulfide Exchange Covering Direct Substitution and Thiol Oxidation-Mediated Pathways. *Antioxid. Redox Signal.* **18**, 1623–1641 (2013).
73. Yiannios, C. N. & Karabinos, J. V. Oxidation of Thiols by Dimethyl Sulfoxide. *J. Org. Chem.* **28**, 3246–3248 (1963).
74. Wallace, T. J. Reactions of Thiols with Sulfoxides. I. Scope of the Reaction and Synthetic Applications. *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 2018–2021 (1964).

## 8 Apêndices

### 8.1 Mecanismos de fragmentação

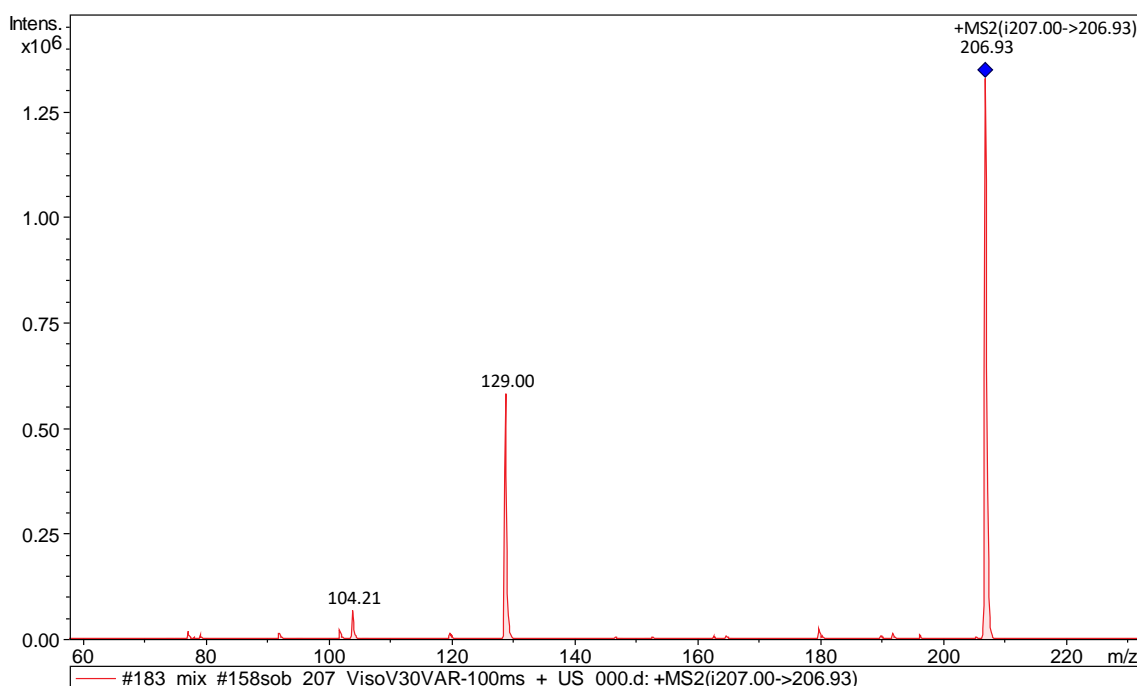


**Esquema 33.** Mecanismos de fragmentação propostos para a perda de 24 u a partir da adenina e da guanina protonadas (respectivamente  $m/z$  136 e 152). As razões  $m/z$  dos íons são dadas em vermelho e as dos neutros são dadas em azul. Os mecanismos são dados em 3 pares (cada par contendo um mecanismo para cada uma das espécies) e um mecanismo extra é dado para a adenina no topo.

## 8.2 Espectros obtidos por ESI-CID

Esta seção contém todos os espectros de padrões de fragmentação obtidos por ESI-CID citados no texto. Todos os íons fragmentados são provenientes diretamente do meio reacional da reação de Wang ou filhos, netos, etc. de íons provenientes desse mesmo meio.

Para clarificar a notação usada nas legendas, a legenda da *Figura 52* será usada como exemplo: “ $m/z$  264→247→223 CID;  $MS^4$ ; modo ultra scan”. Para a obtenção desse espectro, inicialmente o íon de  $m/z$  264 foi isolado a partir do meio reacional e fragmentado por CID. Dentre seus filhos, o íon de  $m/z$  247 foi isolado e fragmentado por CID. Dentre os filhos do íon de  $m/z$  247, o íon de  $m/z$  223 foi isolado e fragmentado por CID. O espectro dado contém o resultado da fragmentação do íon de  $m/z$  223, se tratando, portanto, de um espectro de  $MS^4$ . Tudo isso foi feito no modo de operação “ultra scan”.



**Figura 37.**  $m/z$  207 CID;  $MS^2$ ; modo ultra scan.

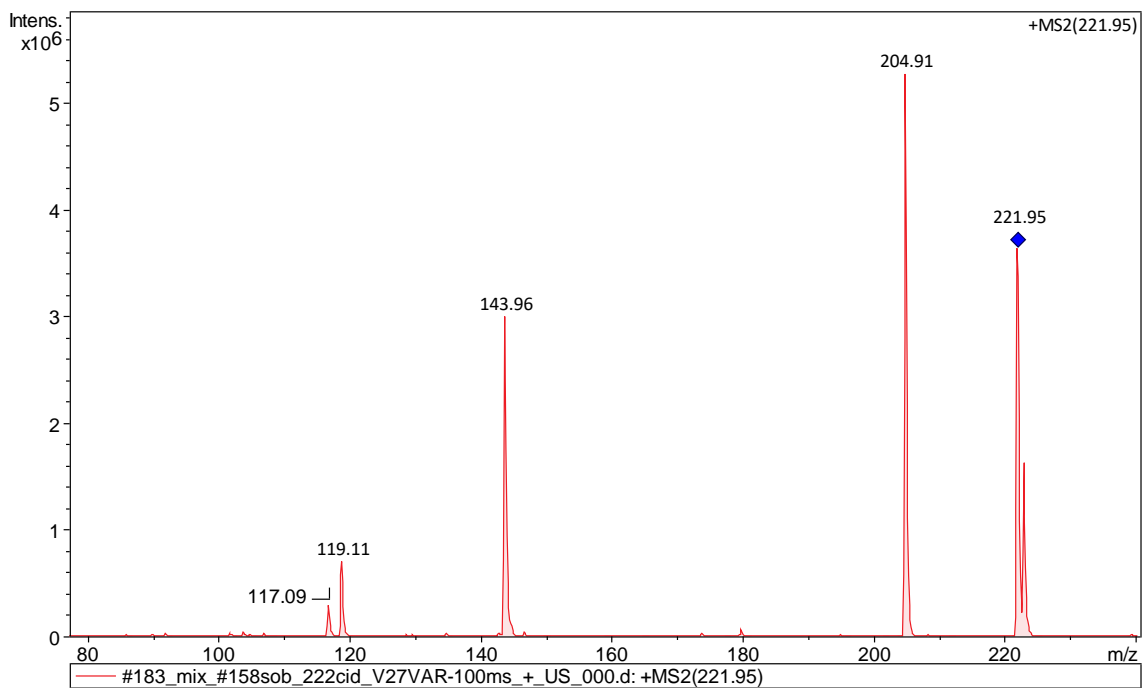


Figura 38. m/z 222 CID; MS<sup>2</sup>; modo ultra scan.

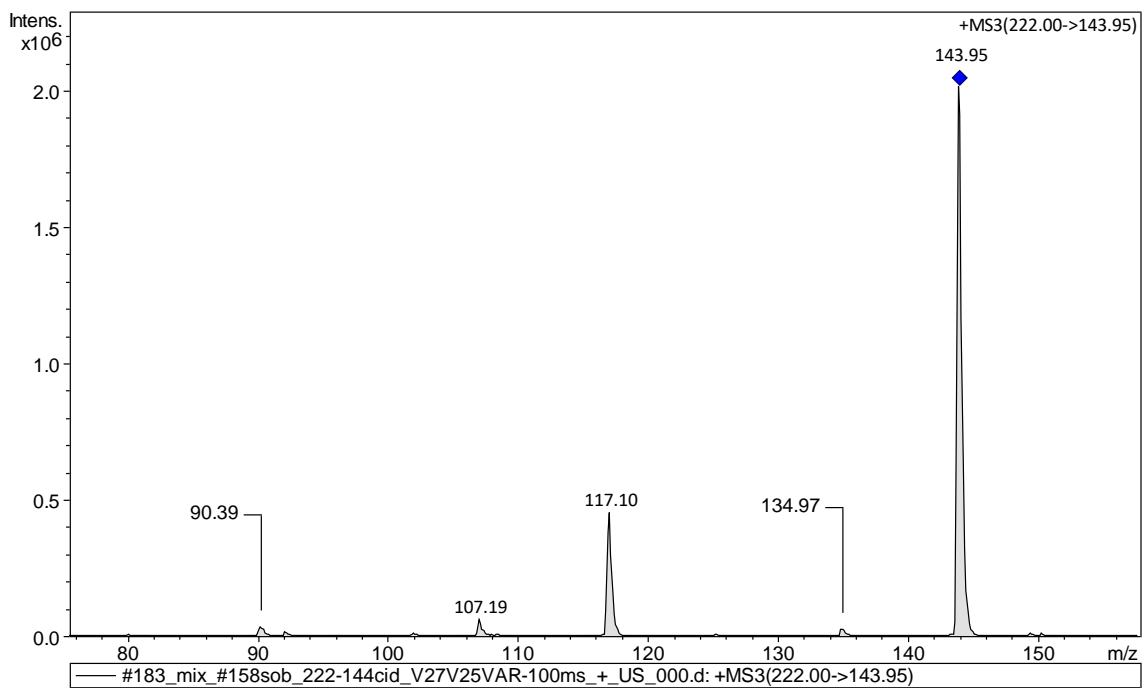


Figura 39. m/z 222→144 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.



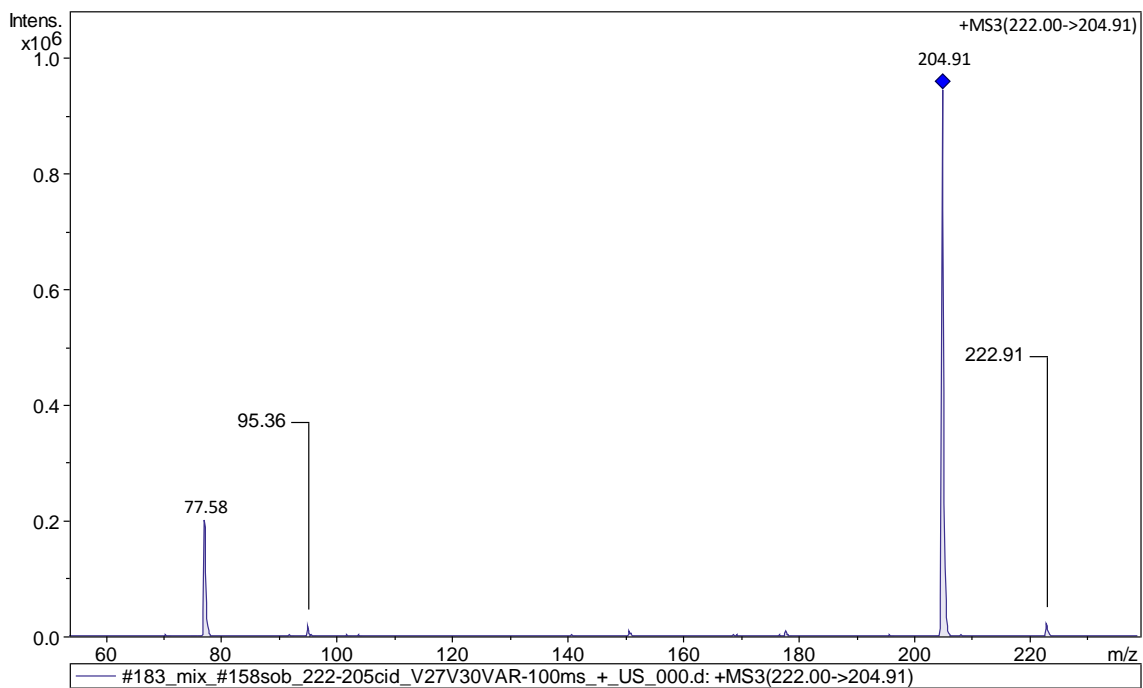


Figura 40.  $m/z$  222  $\rightarrow$  205 CID;  $MS^3$ ; modo ultra scan.

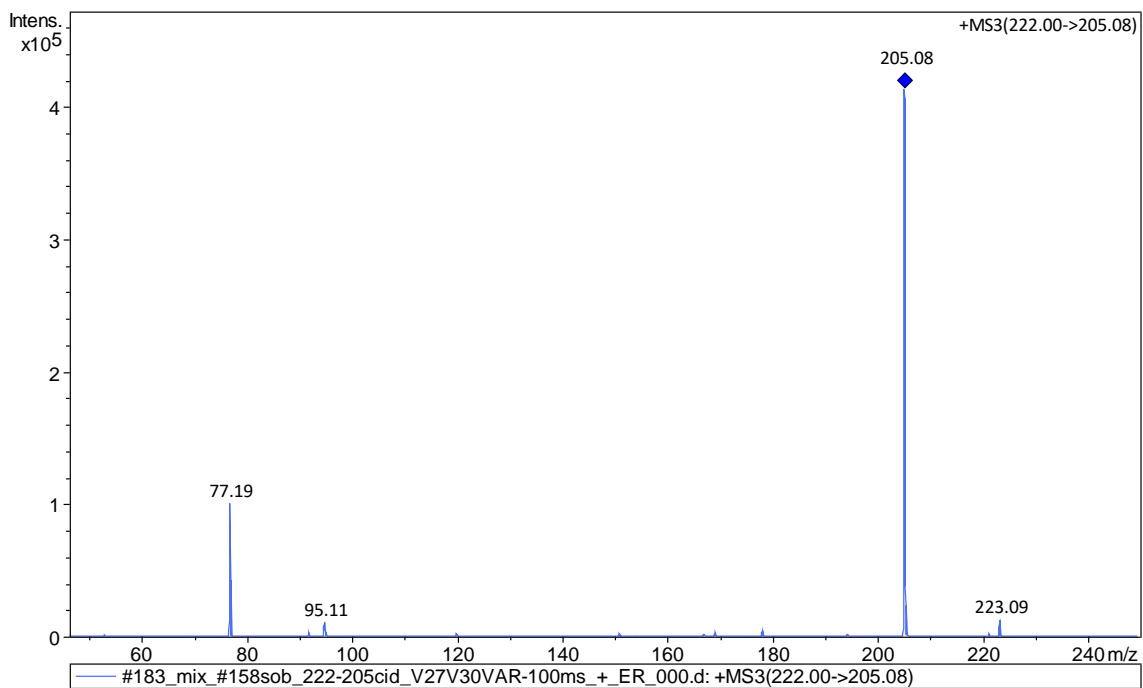


Figura 41.  $m/z$  222  $\rightarrow$  205 CID;  $MS^3$ ; modo enhanced resolution.

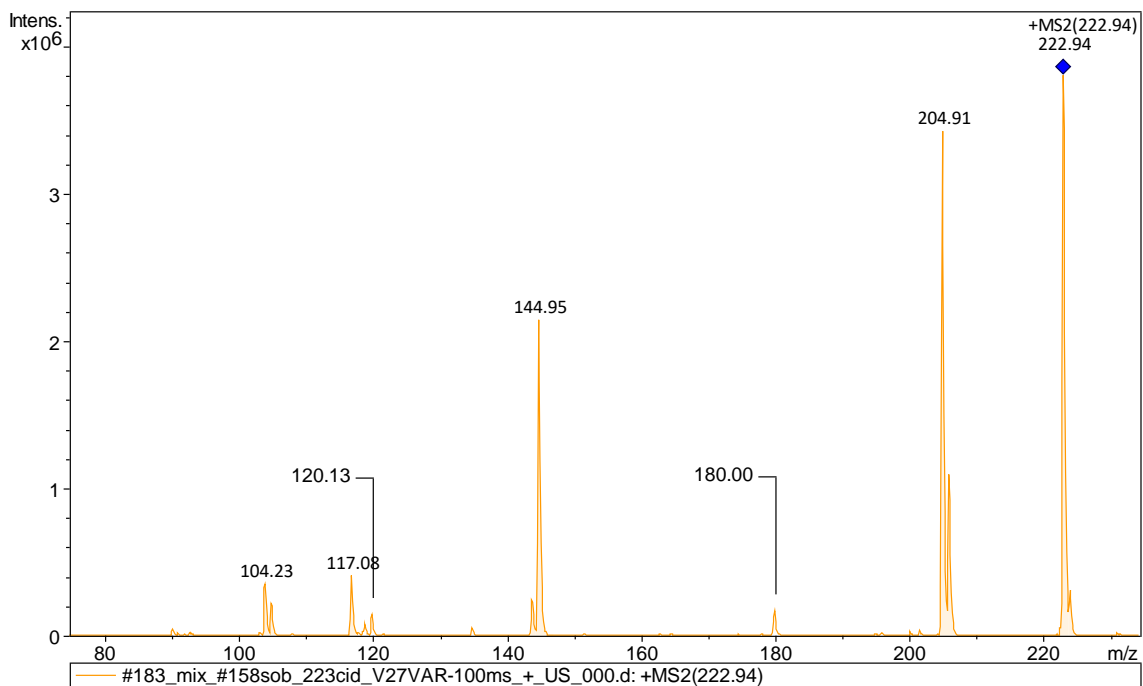


Figura 42. m/z 223 CID; MS<sup>2</sup>; modo ultra scan.

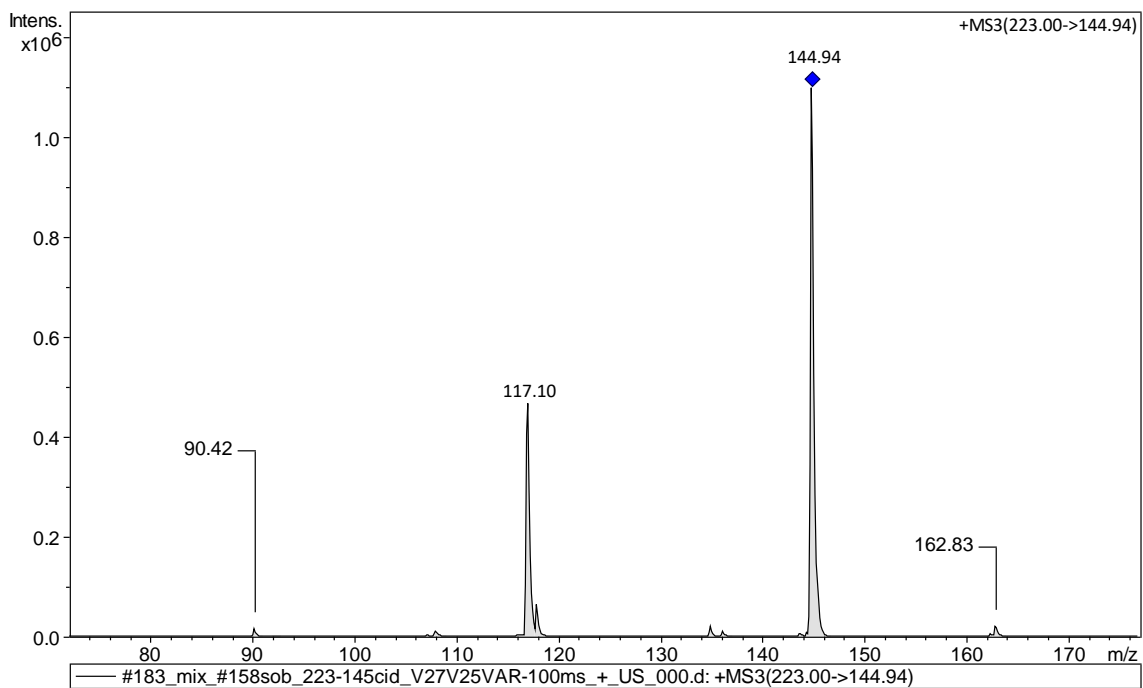


Figura 43. m/z 223→145 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.

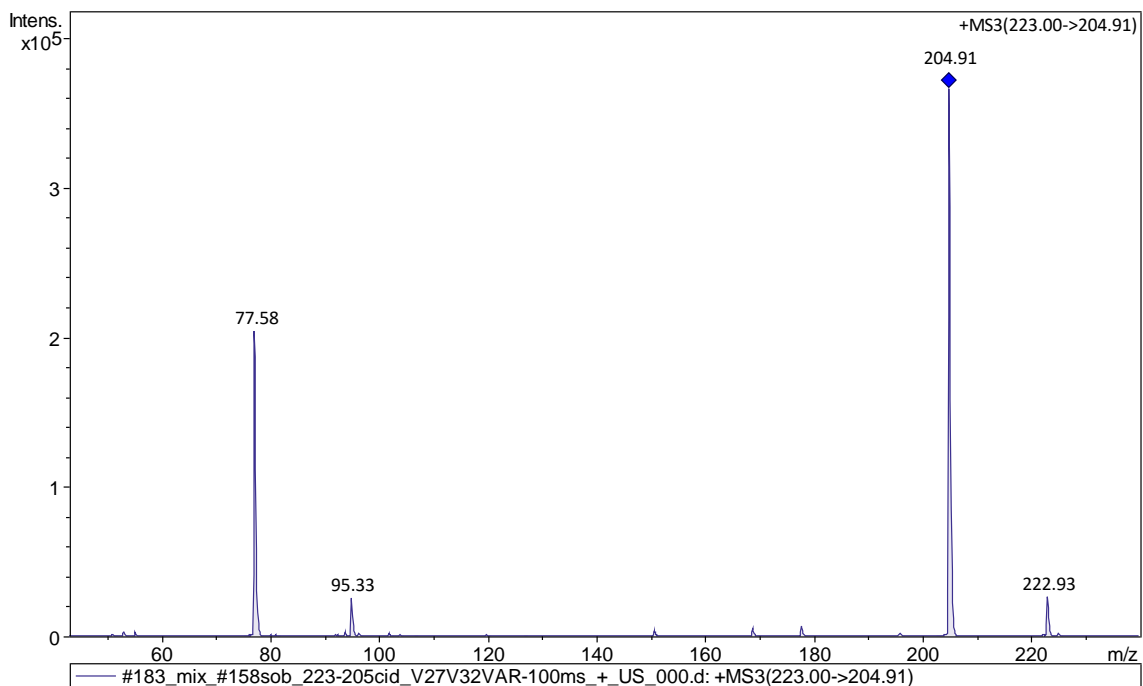


Figura 44.  $m/z\ 223 \rightarrow 205$  CID;  $MS^3$ ; modo ultra scan.

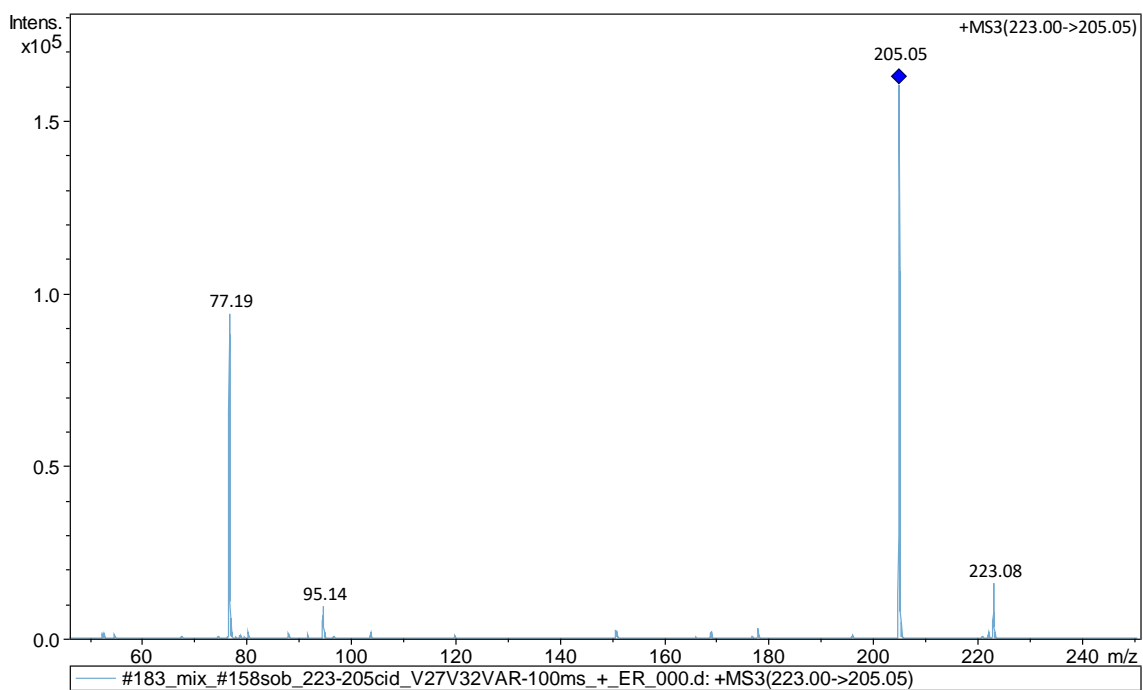


Figura 45.  $m/z\ 223 \rightarrow 205$  CID;  $MS^3$ ; modo enhanced resolution.

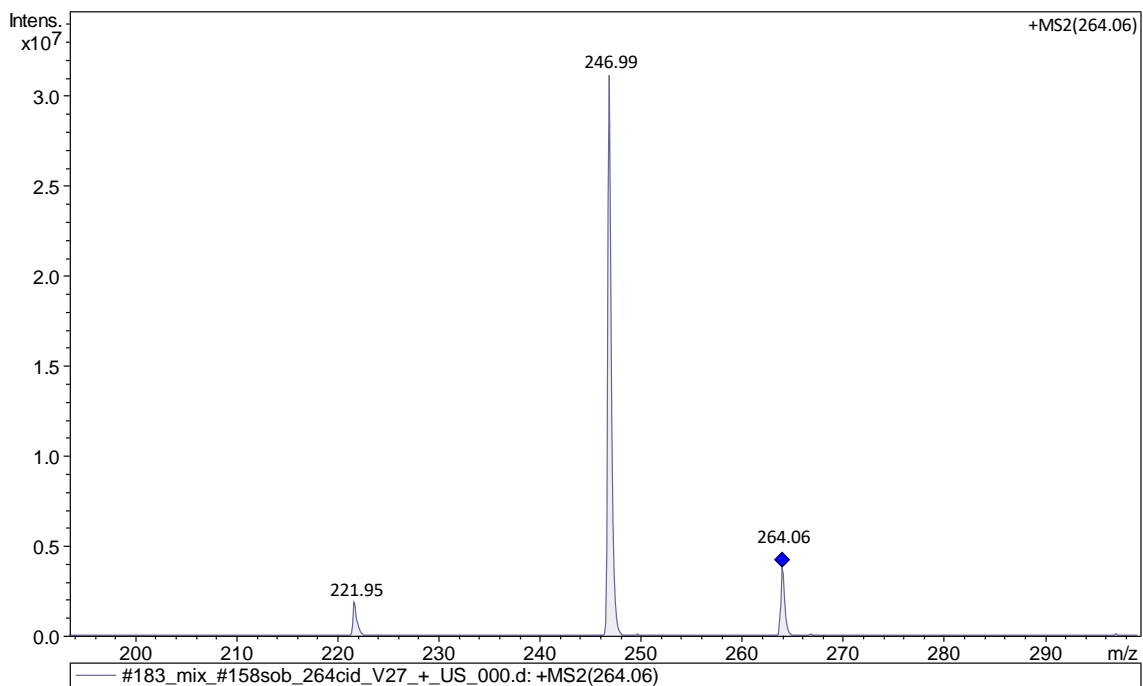


Figura 46. m/z 264 CID; MS<sup>2</sup>; modo ultra scan.

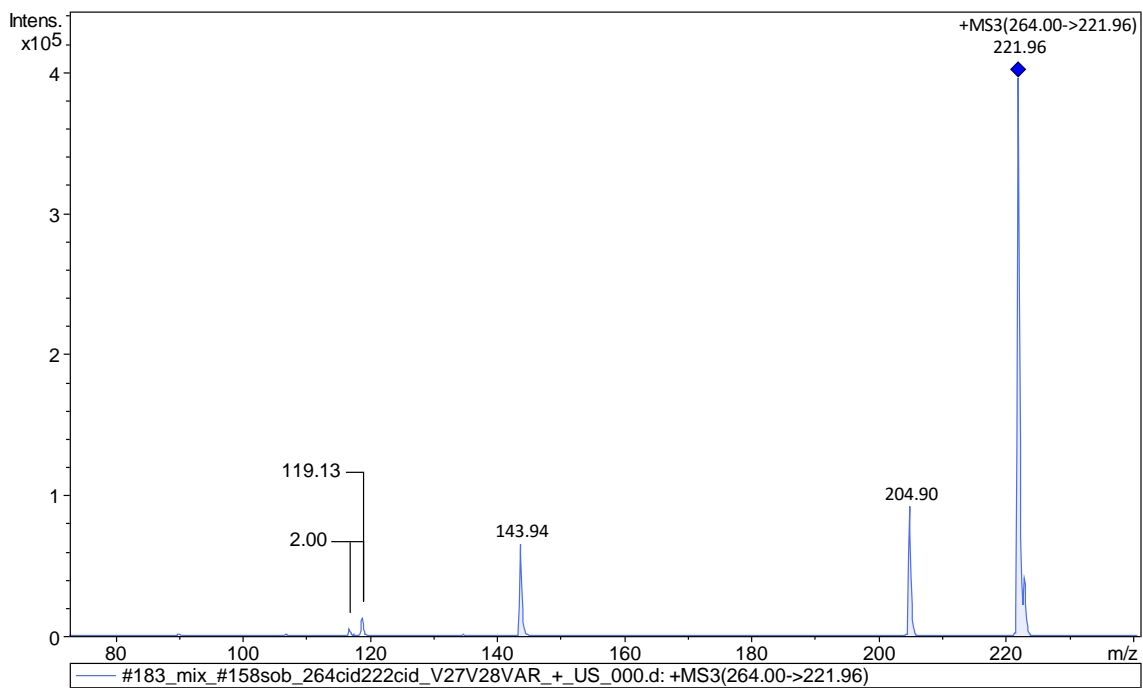


Figura 47. m/z 264→222 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.

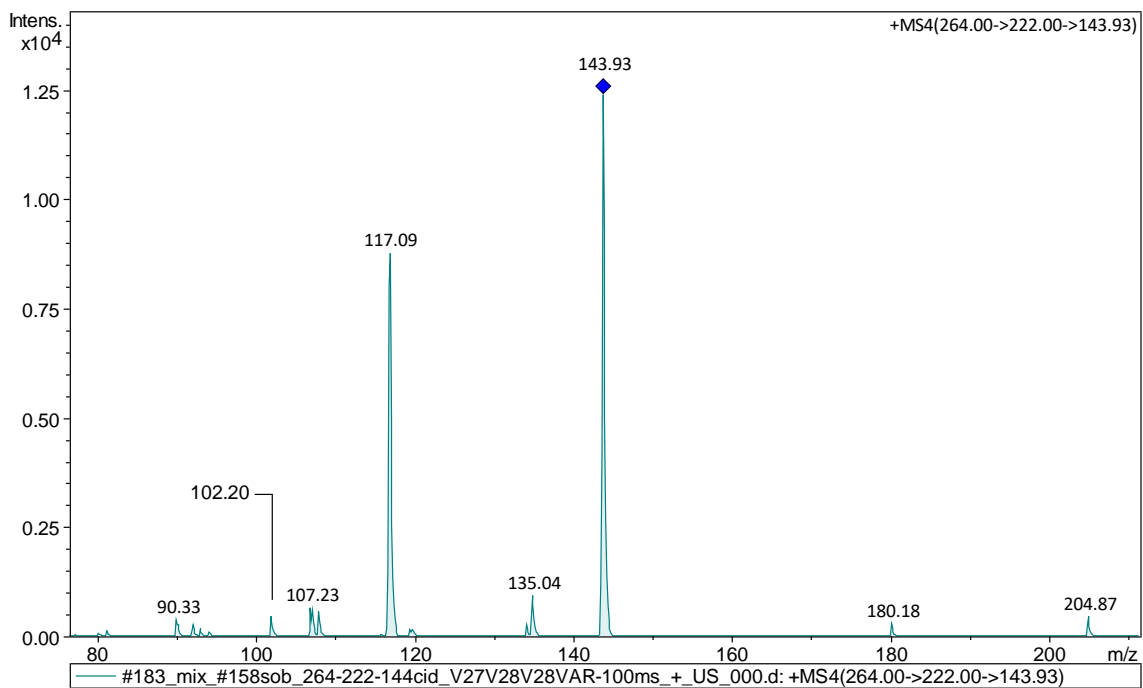


Figura 48.  $m/z\ 264 \rightarrow 222 \rightarrow 144$  CID; MS<sup>4</sup>; modo ultra scan.

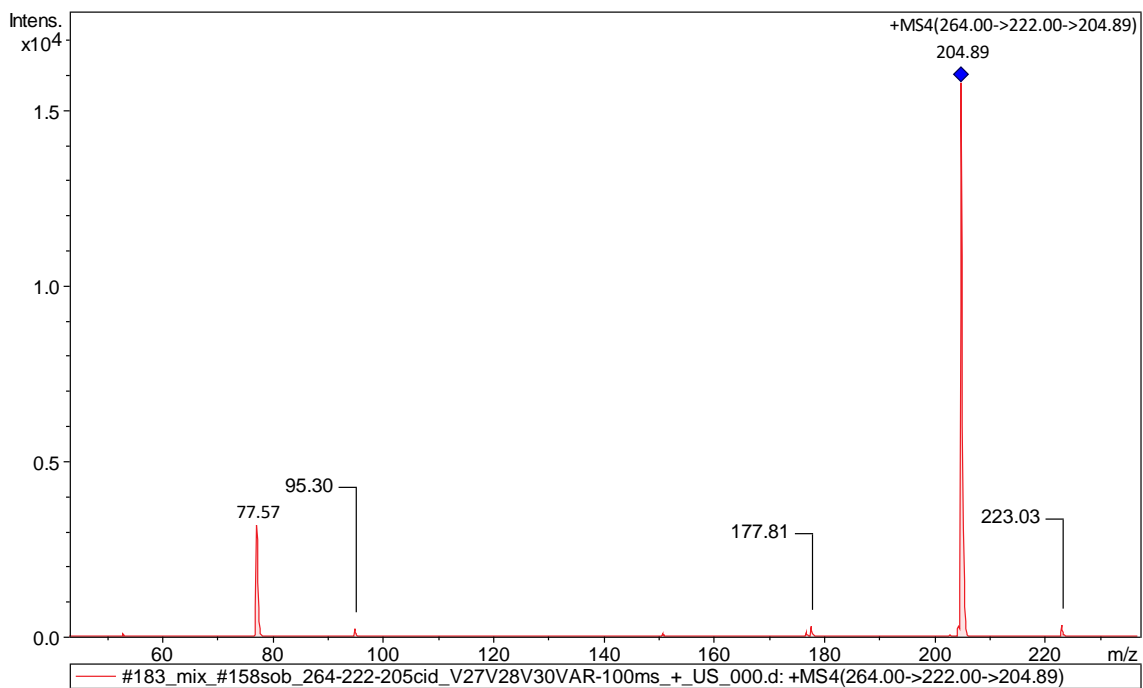


Figura 49.  $m/z\ 264 \rightarrow 222 \rightarrow 205$  CID; MS<sup>4</sup>; modo ultra scan.

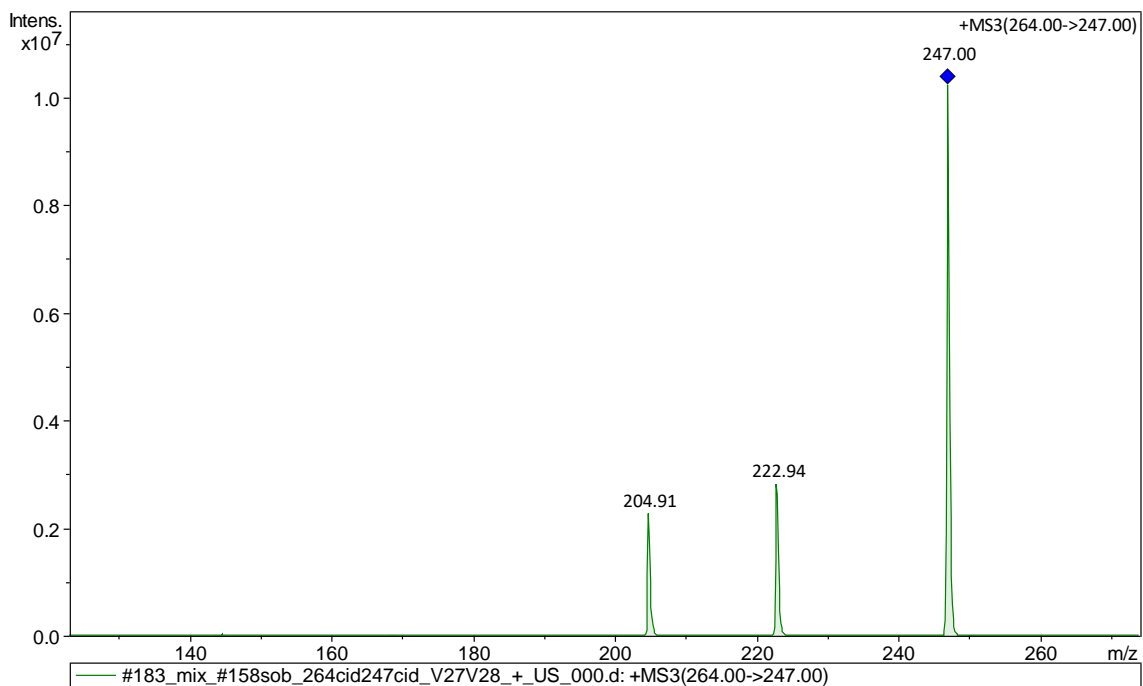


Figura 50. m/z 264→247 CID; MS<sup>3</sup>; modo ultra scan.

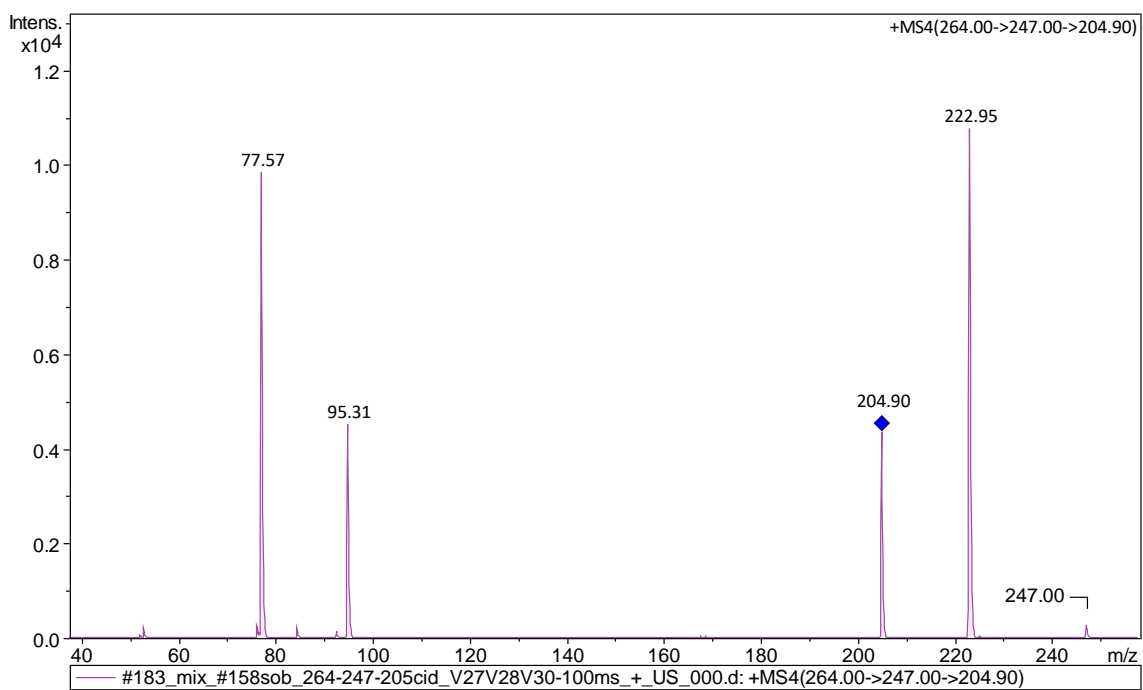


Figura 51. m/z 264→247→205 CID; MS<sup>4</sup>; modo ultra scan.

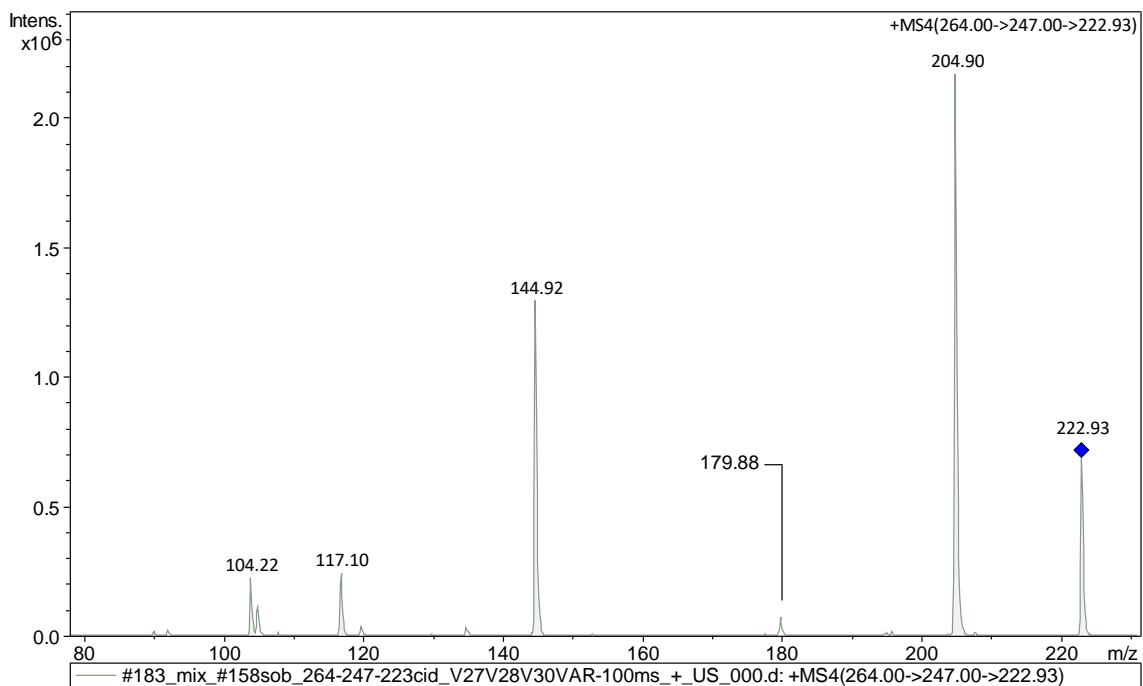


Figura 52.  $m/z$  264→247→223 CID;  $MS^4$ ; modo ultra scan.

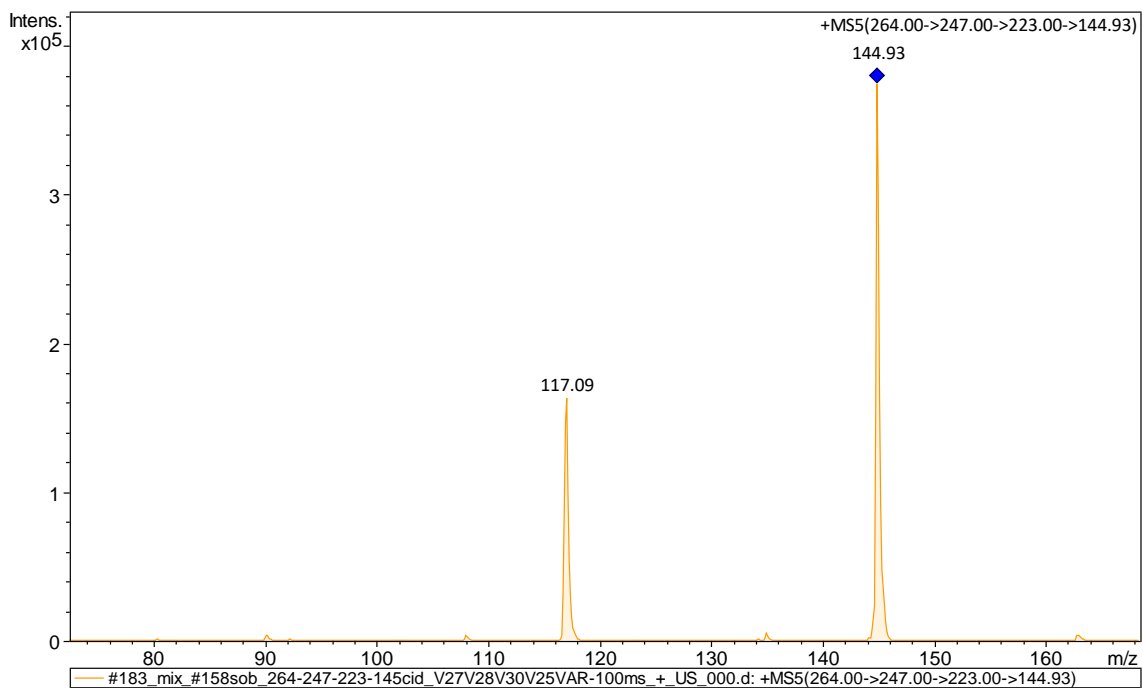
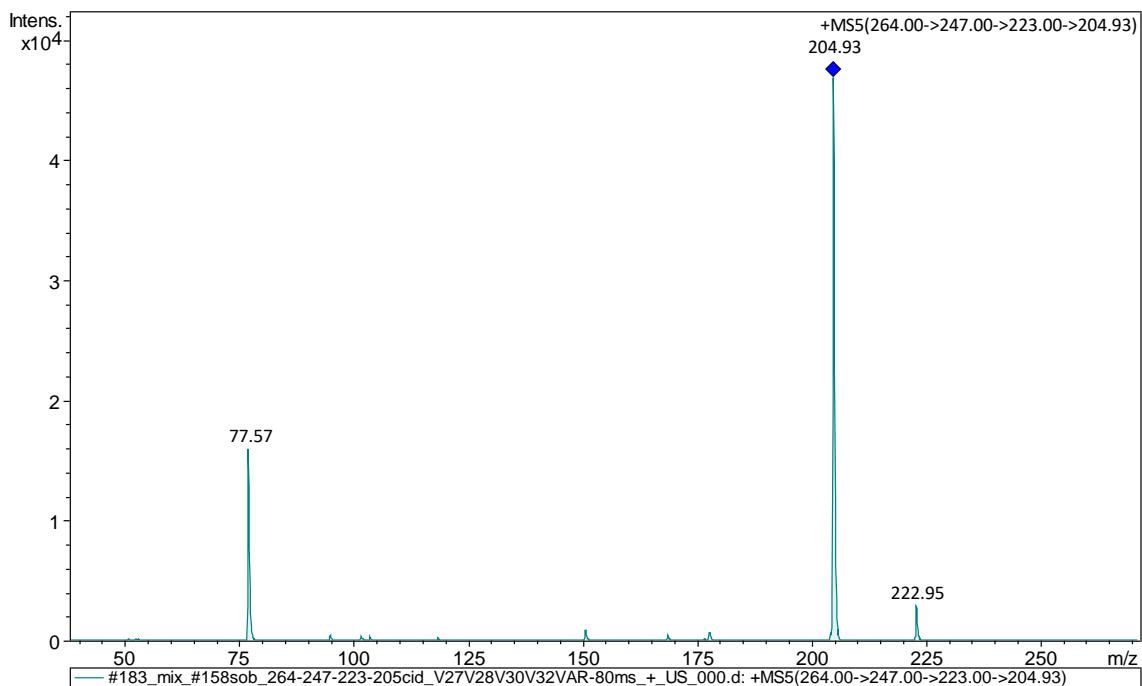
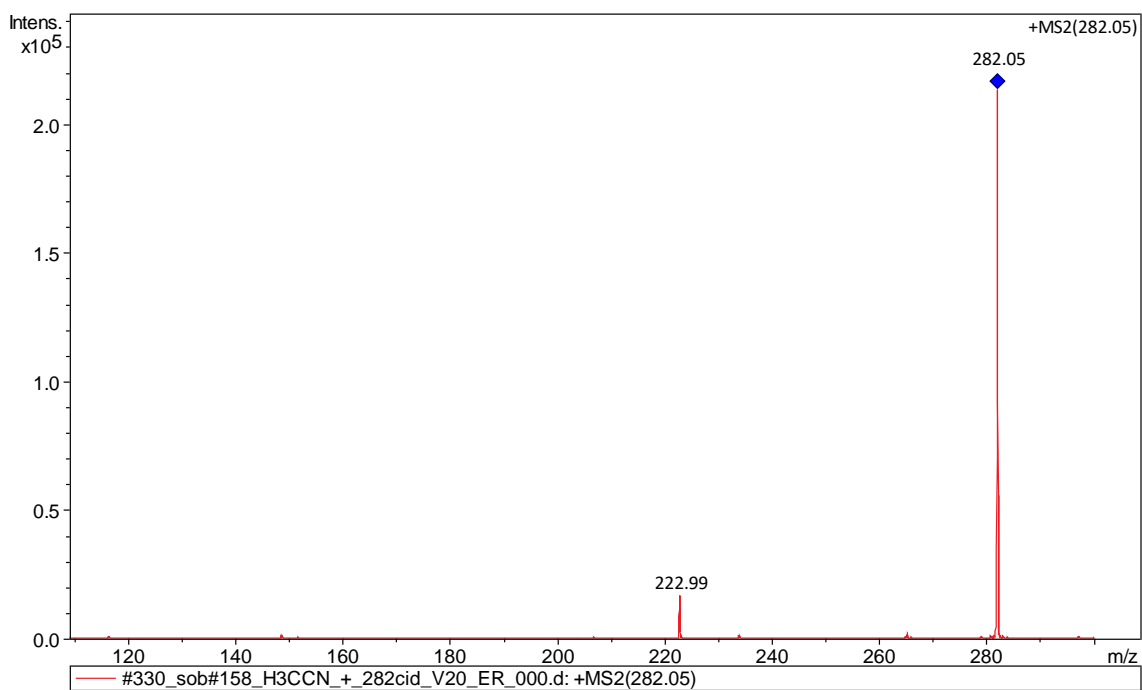


Figura 53.  $m/z$  264→247→223→145 CID;  $MS^5$ ; modo ultra scan.



**Figura 54.** *m/z* 264→247→223→205 CID; MS<sup>5</sup>; modo ultra scan.



**Figura 55.** *m/z* 282 CID; MS<sup>2</sup>; modo enhanced resolution.



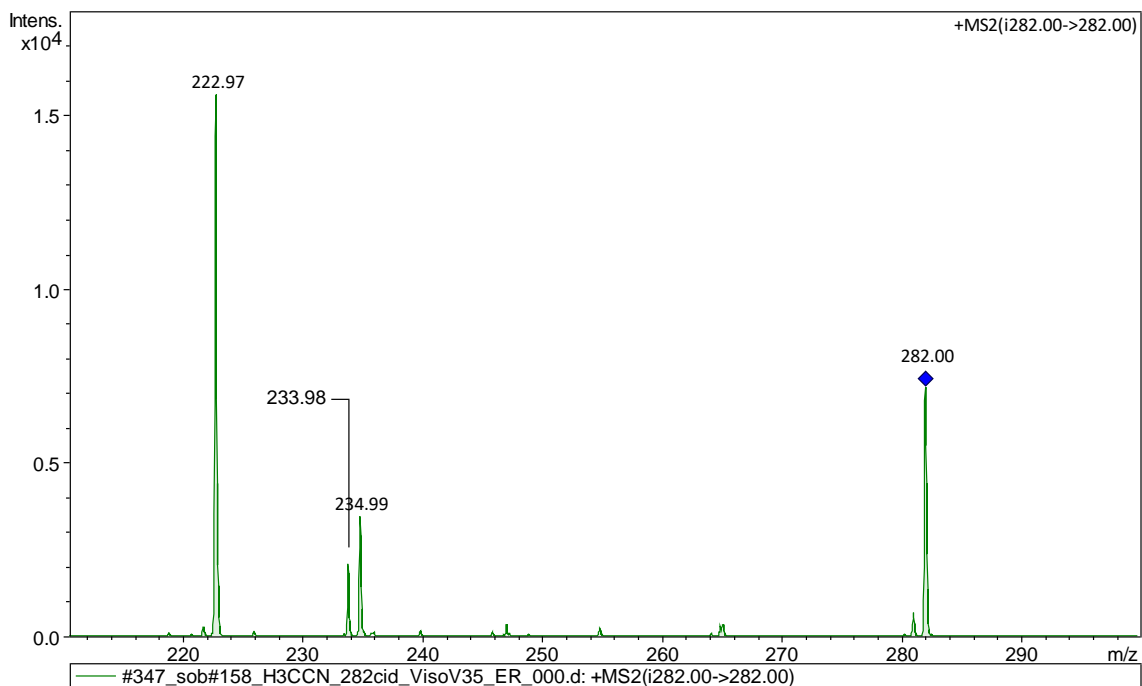


Figura 56. m/z 282 CID; MS<sup>2</sup>; modo enhanced resolution.

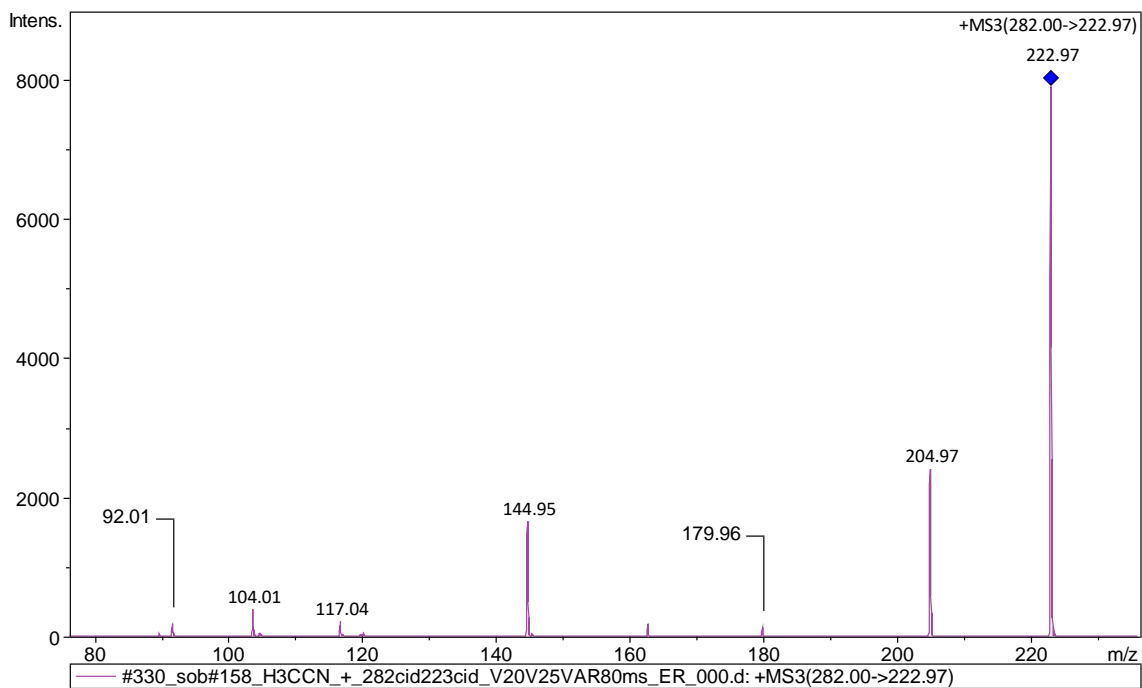


Figura 57. m/z 282→223 CID; MS<sup>3</sup>; modo enhanced resolution.

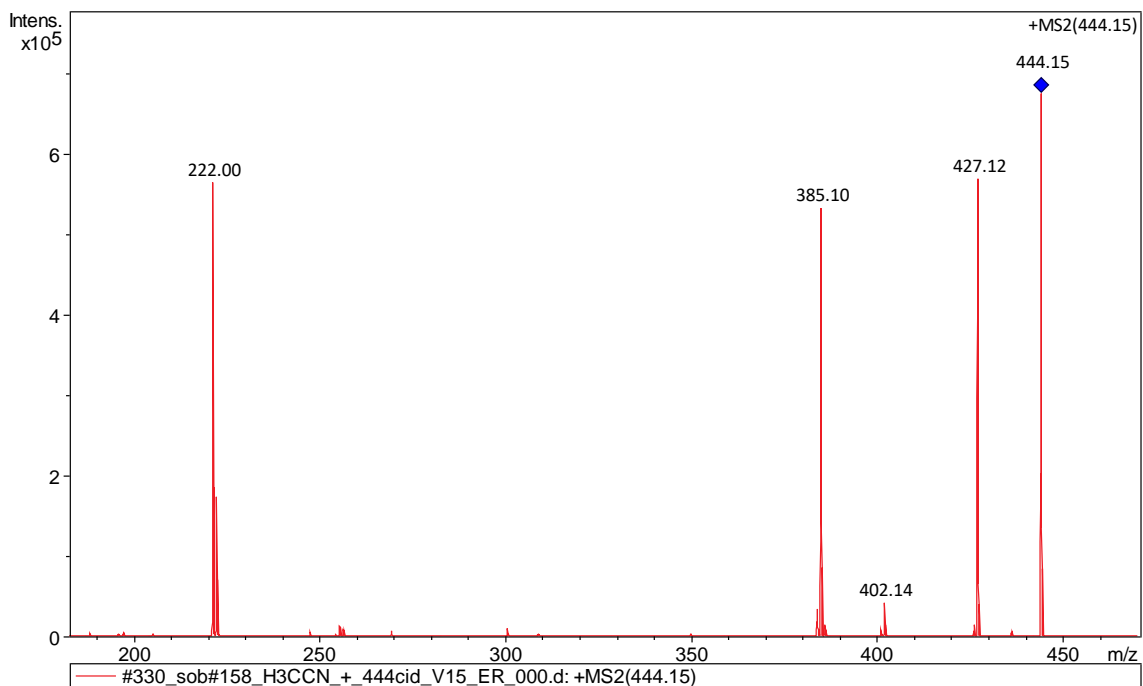


Figura 58. m/z 444 CID; MS<sup>2</sup>; modo enhanced resolution.

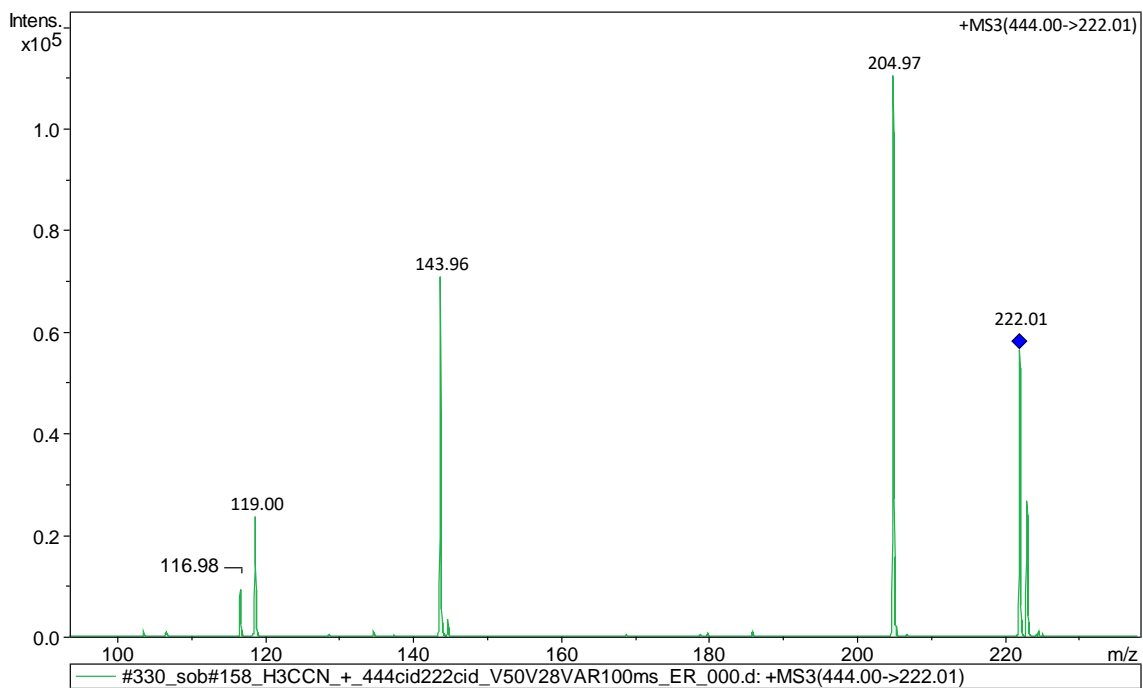
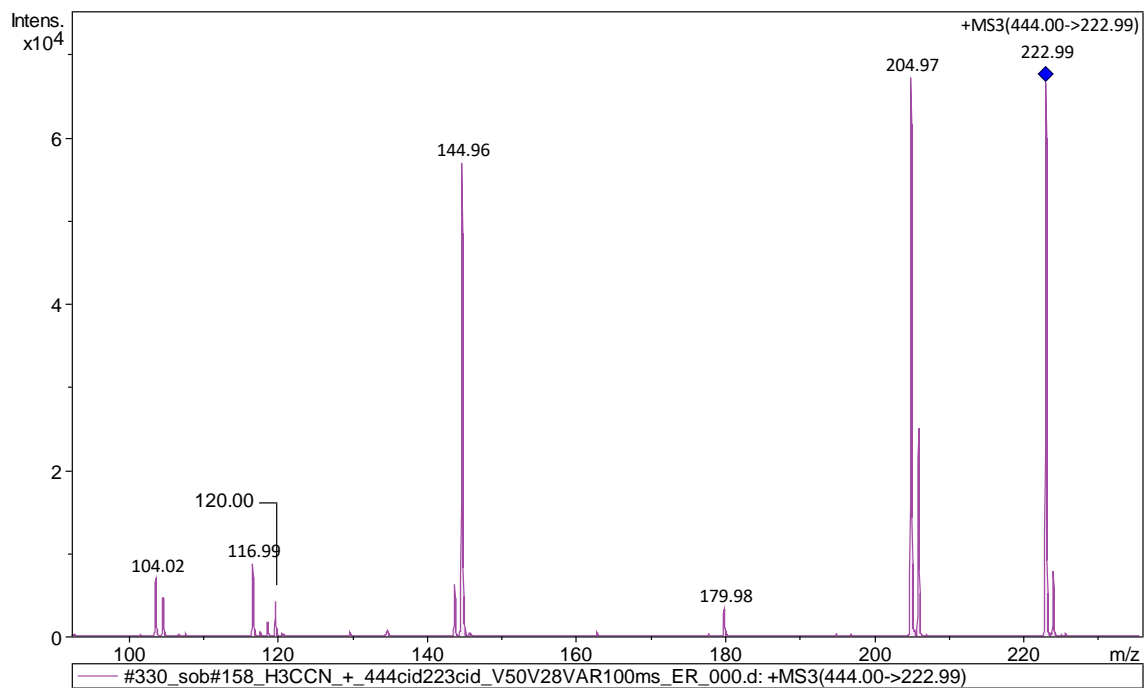


Figura 59. m/z 444→222 CID; MS<sup>3</sup>; modo enhanced resolution.



**Figura 60.**  $m/z$  444→223 CID; MS<sup>3</sup>; modo enhanced resolution.