



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CATALÍTICO DA MAGHEMITA
PARA SÍNTESE DE 1,4-DIHDROPIRIDINAS**

ISADORA BOLZONI PACHECO

Florianópolis
Outubro/2020

Isadora Bolzoni Pacheco

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CATALÍTICO DA MAGHEMITA PARA
SÍNTESE DE 1,4-DIHDROPIRIDINAS**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio II (QMC 5512)

Prof. Dr. Ricardo Ferreira Affeldt
Orientador

Giovana Schmitt Wecker
Coorientadora

Florianópolis
Outubro/2020

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, Neiva e Maurício, por nunca duvidarem dos meus sonhos e sempre me apoiarem, com muito amor, paciência e muitos ensinamentos. Sou eternamente grata a vocês.

Aos meus avós, que tenho tanto orgulho, agradeço por estarem presentes nessa minha caminhada, vocês sempre foram e serão minha grande inspiração e admiração.

A toda minha família, que mesmo a 470 km de distância sempre estiveram presentes, assim como minhas amigas de longa data, Camila e Ana.

A minha família que criei em Florianópolis, Isabelle, Marina, Ana Gabriela e em especial Amanda, vocês foram fundamentais durante esses anos, obrigada por compartilhar tantos momentos bons, mesmo que algumas vezes tenha sido difícil, sei que crescemos muito juntas. Contem sempre comigo.

A todas as pessoas do LaCFI, os quais me acolheram de uma forma maravilhosa. Em especial a Gio, que me amparou em todos os momentos durante este trabalho, me ensinado da melhor forma possível, meu muito obrigada.

Não poderia deixar de agradecer o responsável por todo este trabalho, Prof. Ricardo, uma pessoa muito especial, que representa mais que um orientador, mas um amigo que fiz durante esses últimos anos. Agradeço por todo ensinamento, confiança e incentivo.

À UFSC e a todos os professores do Departamento de Química, por acrescentarem conhecimento nessa minha caminhada.

À Central de Análises do Departamento de Química.

Ao professor Dr. Alexandre Luis Parize e a Dra. Natália Bruzamarello Caon do laboratório POLIMAT pela colaboração com o trabalho.

Ao CNPq e a Capes, pelo auxílio financeiro.

E a todas as pessoas e amigos que de alguma forma contribuíram para onde estou hoje.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Reações Multicomponentes e Química Verde.....	16
2.2 Reação de Hantzsch	18
2.3 Dihidropiridinas.....	20
2.3.1 <i>Atividades Biológicas</i>	21
2.3.2 <i>Fotooxidação</i>	23
2.4 Fluorescência de compostos orgânicos.....	25
2.5 Catálise.....	27
2.5.1 <i>Nanocatalisador: Maghemita</i>	29
2.5.2 <i>Catalisador Mesoporoso: SBA-15</i>	30
3. OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo Geral.....	32
3.2 Objetivos Específicos	32
4. METODOLOGIA	33
4.1 Materiais e Métodos	33
4.1.1 <i>Reagentes e Solventes</i>	33
4.1.2 <i>Instrumentação</i>	33
4.1.3 <i>Técnicas de Caracterização</i>	34
4.1.3.1 <u><i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H, ¹³C e COSY</i></u>	34
4.1.3.2 <u><i>Espectroscopia na região UV-Vis</i></u>	34
4.1.3.3 <u><i>Espectroscopia no IV</i></u>	34
4.1.3.4 <u><i>Espectrometria de massas (CG-EM)</i></u>	34
4.1.3.5 <u><i>Espectroscopia de Fluorescência</i></u>	35
4.1.3.6 <u><i>Ponto de Fusão</i></u>	35

4.2	Aplicação de teste biológico	35
4.3	Metodologia Experimental	35
4.3.1	<i>Otimização reacional</i>	35
4.3.2	<i>Síntese 1,4-Dihidropiridinas</i>	36
4.3.3	<i>Purificação</i>	36
4.4	Caracterização das 1,4-DHPs	37
4.5	Acompanhamento Reacional das 1,4-DHPs	38
4.6	Teste Biológico das 1,4-DHPs.....	39
4.7	Segurança no Laboratório e Tratamento de Resíduos	40
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	Caracterização da Maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$).....	41
5.2	Otimização reacional da síntese de Hantzsch	42
5.3	Síntese das 1,4-Dihidropiridinas.....	44
5.4	Caracterização dos Heterociclos Dihidropiridínicos.....	48
5.5	Acompanhamento reacional por UV-Vis.....	53
5.6	Propriedades Fotofísicas	55
5.7	Ensaio Citotóxico das 1,4-Dihidropiridinas	59
6.	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	61
7.	REFERÊNCIAS	62
I	Apêndice	68
II	Apêndice	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Regioisômeros da dihidropiridina.	20
Figura 2. Estrutura da coenzima NADH (Adaptado de Saini <i>et al.</i> 2007).	20
Figura 3. Estrutura 4-quinolina-1,4-dihidropiridina (Adaptado de Goldmann, <i>et al.</i> 1991).	21
Figura 4. 1,4-Dihidropiridinas comercialmente disponíveis.	23
Figura 5. Estrutura β - Ciclodextrina.	25
Figura 6. a) Diagrama de Jablonski (superior). b) Consequências nos Espectros de Absorção, Fluorescência e Fosforescência (inferior).	26
Figura 7. Espectro de absorção e emissão com o deslocamento de Stokes.	27
Figura 8. Representação gráfica da trajetória da reação não catalisada e catalisada.	28
Figura 9. Representação da sílica mesoporosa ordenada SBA-15.	31
Figura 10. Distribuição de tamanho por Microscopia Eletrônica de Transmissão. ...	41
Figura 11. Magnetometria de Amostra Vibrante.	42
Figura 12. Espectro de massa da 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (Composto D).	47
Figura 13. Espectro de massas da 4-[(4-(dimetilamino)fenil)]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (Composto C).	48
Figura 14. 1,4-Dihidropiridina com hidrogênio 1 e 4 em destaque.	48
Figura 15. Espectro de RMN ¹ H (200MHz, CDCl ₃) da 4-[(4-dimetilamin)fenil)]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (Composto C).	49
Figura 16. Espectro de RMN ¹³ C (400MHz, CDCl ₃) da 4-[(4-dimetilamin)fenil)]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (Composto C).	50
Figura 17. Espectro na região do infravermelho da 4-[(4-dimetilamin)fenil)]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (Composto C).	51
Figura 18. A) Corrida Cromatográfica da 4-[(4-dimetilamin)fenil)]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (Composto C) B) Fragmentos do Composto C em 8,10 min (B1); 9,51 min. (B2); 11,10 min. (B3).	52
Figura 19. Espectro de absorção na região do UV-Vis do benzaldeído.	53
Figura 20. Curva de calibração do Composto B em etanol.	53
Figura 21. (a) Acompanhamento reacional através de espectroscopia na região do UV-Vis do Composto B em etanol. (b) Ampliação do produto em 275 nm	54

Figura 22. Perfil do surgimento do Composto B em 365 nm, através da técnica de espectrofotometria de UV-Vis.....	54
Figura 23. (a) Espectro de absorção na região do UV-Vis para os compostos HEH e HeH_{ox} em H ₂ O/ACN 80:20 (v/v) e concentração de 1x10 ⁻⁴ molL ⁻¹ . (b) Espectro de emissão de fluorescência para os compostos HEH e HeHox em H ₂ O/ACN 80:20 (v/v) e concentração de 1x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	56
Figura 24. (a) Espectro de absorção na região do UV-Vis dos compostos A-E em clorofórmio com concentração de 1x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ (b) Espectros de fluorescência para os compostos A-E em clorofórmio com concentração de 1x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	57
Figura 25. (a) Espectro de emissão de fluorescência dos compostos (A-E)	58
Figura 26. (a) Espectro de absorção na região do UV-Vis do HEH em diferentes solventes (b) Espectro de emissão de fluorescência do HEH em diferentes solventes.	59

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Condensação de <i>Knoevenagel</i> (Adaptado de Neto, <i>et al.</i> 2008).....	18
Esquema 2. Formação de enamina (Adapatado de Neto, <i>et al.</i> 2008).....	18
Esquema 3. Adição de Michael (Adaptado de Neto, <i>et al.</i> 2008)	19
Esquema 4. Síntese multicomponente de 1,4-dihidropiridinas do tipo ésteres de Hantzsch.	21
Esquema 5. Correlação entre as estruturas das 1,4-dihidropiridinas e o Sistema NADH: Formas oxidada e reduzida.	24
Esquema 6. Fotooxidação da Nifedipina (Adaptado de De Luca, <i>et al.</i> 2019)	24
Esquema 7. Metodologia sintética das 1,4-DHPs utilizando Maghemita como catalisador.	36
Esquema 8. Redução do MTT em Formazan pela ação do NADH.	40
Esquema 9. Oxidação do anel dihidropiridínico da 4-fenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila.	43
Esquema 10. Síntese multicomponente de 1,4-dihidropiridinas.	44
Esquema 11. Mecanismo proposto para condensação de <i>Knoevenagel</i>	46
Esquema 12. Mecanismo proposto para formação de enamina.....	47
Esquema 13. Fotooxidação do composto HEH.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reações Multicomponentes (Adaptado de Rogerio et al. 2016)	16
Tabela 2. Caracterização das 1,4-DHPs sintetizadas utilizando Maghemita como catalisador.	37
Tabela 3. Otimização das condições reacionais.	43
Tabela 4. Condições reacionais para síntese das entradas 7-12	45
Tabela 5. Conversão dos compostos B , D e E em 1 hora reacional e 2 horas reacionais.	55
Tabela 6. Propriedades fotofísicas dos compostos (A-E) em diferentes solventes..	58

LISTA DE ABREVIATURAS

- 1,4-DHP - 1,4-dihidropiridinas;
- RMC - Reação multicomponente;
- NADH - Dinucleótido de nicotinamida e adenina protonada;
- NAD⁺ - Dinucleótido de nicotinamida e adenina desprotonada;
- CG-EM - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
- RMN ¹³C - Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13;
- RMN ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio;
- IV - Espectroscopia de infravermelho;
- UV-Vis - Ultravioleta-visível;
- CCD - Cromatografia em camada delgada;
- CCS - Cromatografia em coluna em sílica;
- CDCl₃ - Clorofórmio deuterado;
- DQ-UFSC - Departamento de Química da UFSC
- LaCFI - Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais;
- HEH - Éster de Hantzsch;
- t.a. - Temperatura ambiente;
- δ - Deslocamento químico;
- λ - Comprimento de onda;
- λ_{Máx} – Comprimento de onda de máxima absorção;
- λ_{Ems} – Comprimento de onda de emissão;
- ε - Coeficiente de absorvidade molar;
- MTT – Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazol) 2,5-difenil tetrazólio
- LB – Linfócito B

RESUMO

1 Os compostos heterocíclicos nitrogenados estão presentes na nossa vida nas suas
2 mais diversas formas. Dentre eles, estão os derivados de 1,4-dihidropiridinas que
3 são importante classe de moléculas bioativas. O seu interesse no estudo da química
4 se dá por conta dos inúmeros efeitos biológicos que apresentam. Por serem
5 moléculas potencialmente bioativas se torna necessário evitar a contaminação do
6 produto final. Dessa forma, para contornar esta problemática, neste trabalho visa-se
7 sintetizar diferentes derivados de 1,4-dihidropiridinas (1,4-DHPs) através de uma
8 reação multicomponente, via método de Hantzsch, utilizando a Maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)
9 como catalisador, que proporciona uma fácil separação do meio reacional devido à
10 sua propriedade magnética. A otimização reacional na presença de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ foi
11 realizada em diferentes temperaturas e tempos reacionais e obtiveram-se
12 rendimentos eficientes em 1 hora com o mínimo de produto oxidado, à 90°C e com
13 excesso de reagente acetato de amônia. Foi então realizado um estudo em relação
14 aos substituintes do aldeído nessa reação. Observou-se que quando o substituinte
15 se trata de um grupo doador de densidade eletrônica os rendimentos baixam (**54%**),
16 enquanto com grupos desativadores de densidade eletrônica o rendimento aumenta
17 (**76%**). A Obtenção das cinco 1,4-dihidropiridinas foi confirmada pelas técnicas de
18 caracterização CG-EM, RMN de ^1H e ^{13}C , COSY e IV. Paralelamente, foi realizado o
19 estudo em relação ao acompanhamento reacional por técnica de espectroscopia UV-
20 Vis, onde foi possível monitorar a conversão dos reagentes e produtos entre 230 nm
21 e 700 nm. Por serem substratos fotoativos, tornou-se essencial elucidar suas
22 propriedades fotofísicas por espectroscopia de UV-Vis e fluorescência. A fim de
23 compreender os resultados obtidos, é necessário efetuar experimentos
24 complementares.

Palavras-chave: 1,4-dihidropiridinas; Bioatividade; Superparamagnética; Maghemita.

1. INTRODUÇÃO

1 As dihidropiridinas são heterocíclicos nitrogenados também conhecidos como
2 ésteres de Hantzsch. A primeira síntese desses derivados piridínicos
3 polissubstituídos foi realizada em 1882 por um químico alemão, Arthur Rudolf
4 Hantzsch. Estes compostos apresentam um amplo interesse para nosso cotidiano,
5 uma vez que possuem larga aplicabilidade na química medicinal, visto que as 1,4-
6 dihidropiridinas (1,4-DHPs) são familiares fármacos efetivos para diversos
7 tratamentos agindo como bloqueadores dos canais de Cálcio.

8 O protocolo clássico desenvolvido por Hantzsch envolve um equivalente de
9 aldeído, dois equivalentes de β -cetoéster e um excesso de amônia. Apesar de já ser
10 bem conhecido e utilizado na literatura, devido à sua simplicidade reacional, já que
11 todos os reagentes são misturados em um mesmo frasco (*one-pot*), a reação original
12 fazia o uso de ácido forte e apresentava rendimentos baixos. Estes motivos
13 influenciaram a busca por novas metodologias sintéticas.

14 Nesse contexto, vários catalisadores de ácidos de Lewis vêm sendo empregados
15 na literatura a fim de diminuir o tempo reacional. Contudo, um dos problemas
16 associado à catálise homogênea é a produção de resíduos aquosos contendo
17 metais e a contaminação do produto final. Vale salientar que estamos falando de
18 moléculas potencialmente bioativas, ou seja, fica evidente a importância de se evitar
19 contaminação dos produtos com metais ou outras espécies catalíticas. Dessa forma,
20 a utilização de um catalisador heterogêneo se torna necessária para sanar este
21 problema, além do mais se torna possível um reciclo, o que para indústria é algo de
22 extremo interesse.⁵²

23 Neste sentido, o presente trabalho vem com o objetivo de buscar desenvolver
24 uma metodologia sintética para otimizar e avaliar o potencial catalítico da síntese
25 dos derivados de 1,4-dihidropiridinas (1,4-DHPs) utilizando um catalisador de
26 nanopartícula magnética: Maghemita (γ -Fe₂O₃). O fato de este material ser
27 magnético o torna muito interessante devido à sua fácil separação do meio reacional
28 para o possível reciclo, evitando a contaminação dos produtos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Reações Multicomponentes e Química Verde

1 As reações multicomponentes (RMCs) são reações onde 3 ou mais reagentes
 2 se combinam de modo *one-pot*, a fim de ser obtido um produto final com a maior
 3 parte dos átomos envolvidos na sua formação.¹ Em meados do século XIX, Strecker
 4 deu início à primeira reação relatada na literatura, produzindo aminoácidos pela
 5 condensação de aldeídos com amônia e cianeto de hidrogênio.² Em seguida, vários
 6 nomes de reações clássicas como Hantzsch, Biginelli, Mannich, Passerini e Ugi se
 7 encaixaram nessa definição e foram amplamente utilizadas na síntese orgânica.³
 8 (Tabela 1)

Tabela 1. Reações Multicomponentes (Adaptado de Rogerio et al. 2016)¹.

Reação	Exemplo
Strecker	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H} + \text{NH}_3 + \text{HCN} \longrightarrow \text{R}-\underset{\text{H}}{\text{C}}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
Biginelli	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H} + \text{H}_2\text{N}-\overset{\text{X}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2 + \text{EtO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R} \longrightarrow \text{EtO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{C}(\text{R})=\text{N}-\overset{\text{X}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-\text{R}$ <p style="text-align: center;">X = O, S</p>
Mannich	$\text{R}^1-\overset{\text{H}}{\text{N}}-\text{R}^2 + \text{R}^3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}^4 + \text{R}^5-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}^6 \longrightarrow \text{R}^2-\overset{\text{R}^3}{\text{N}}(\text{R}^1)-\text{CH}_2-\overset{\text{R}^4}{\text{C}}(\text{R}^5)-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}^6$
Ugi	$\text{R}^1-\text{N}^{\oplus}=\text{C}^{\ominus} + \text{R}^2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH} + \text{R}^3-\text{NH}_2 + \text{R}^4-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}^5 \longrightarrow \text{R}^2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{N}(\text{R}^3)-\text{CH}_2-\overset{\text{R}^4}{\text{C}}(\text{R}^5)-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}^1$
Hantzsch	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H} + \text{EtO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R} + \text{NH}_3 \longrightarrow \text{EtO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{C}(\text{R})=\text{N}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}$
Passerini	$\text{R}^1-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}^2 + \text{R}^3-\text{NC} + \text{R}^4-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH} \longrightarrow \text{R}^3-\text{HN}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{C}(\text{R}^1)-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}^4$

9 Frente às reações químicas convencionais as RMCs oferecem vantagens,
 10 pois há simplicidade operacional, alta convergência, eficiência sintética e economia
 11 de átomos⁴. Contudo, a colisão de três ou mais moléculas independentes é

1 altamente improvável, assim elas geralmente envolvem várias sub-reações, além de
2 apresentarem complexidade no mecanismo reacional.⁵

3 Neste contexto, a abordagem de múltiplos componentes é especialmente
4 atraente, considerando que os produtos são formados em uma única etapa sintética,
5 e o alto grau de diversidade molecular alcançado nas RMCs faz com que elas sejam
6 uma ferramenta essencial na síntese orgânica. Dessa forma, as reações
7 multicomponentes estão rapidamente tornando-se um dos paradigmas na
8 descoberta moderna de fármacos, devido à sua importância na indústria
9 farmacêutica, visto que a uma crescente necessidade de uma ampla biblioteca de
10 estruturas bioativas, a fim de estudar a interação dessas moléculas com o sistema
11 biológico.^{6,7} Em suma, pesquisas avançadas em química biológica fornecem a
12 matéria prima para o desenvolvimento, no entanto, para garantir essa diversidade e
13 complexidade, há uma necessidade contínua de novas reações.

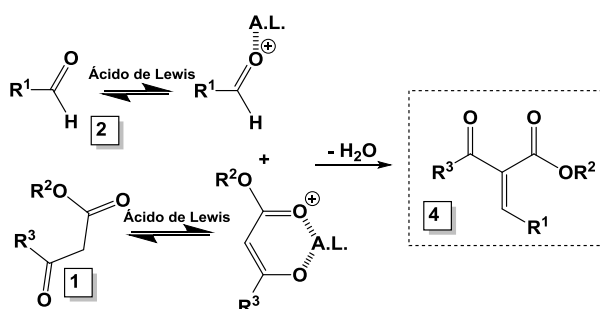
14 Na química orgânica contemporânea eficiência e sustentabilidade são
15 questões centrais, em virtude de que nas últimas décadas houve um aumento das
16 preocupações ambientais, devido ao grande impacto da indústria química em nossa
17 sociedade.⁸ Logo, a busca pelo desenvolvimento a processos químicos eficientes e
18 ambientalmente seguros fez necessário a inserção de princípios da Química Verde
19 na síntese orgânica.

20 O termo “Química Verde” foi criado no início dos anos 90, pela *Environmental*
21 *Protection Agency* (EPA) dos Estados Unidos, com o âmbito de planejar
22 cuidadosamente a síntese química a fim de reduzir às consequências adversas.⁹ Os
23 12 princípios abordam fundamentos para alcançar a química verde de processos
24 sintéticos como, baixos custos de materiais de partida e reagentes, economia
25 atômica, alta seletividade, simplicidade operacional, prevenção e segurança
26 ambiental.¹⁰ Uma abordagem para enfrentar esses desafios é o desenvolvimento de
27 procedimentos multicomponentes. Nesse cenário da Química Verde as RMCs
28 despontam como a idealidade, com sua economia atômica e a menor geração de
29 resíduos.¹¹

2.2 Reação de Hantzsch

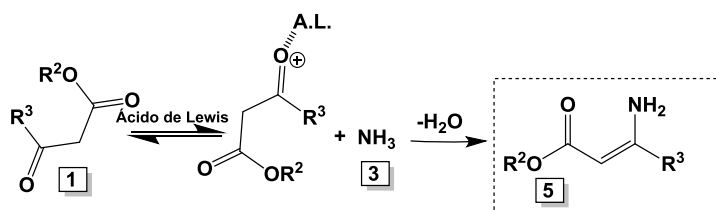
1 Em 1882 Arthur Rudolf Hantzsch, químico alemão, deu início ao estudo da
 2 síntese multicomponente de heterociclos nitrogenados, conhecidos mais tarde como
 3 ésteres de Hantzsch (HEH).¹² O protocolo clássico proposto envolve uma reação
 4 tricomponente entre um equivalente de aldeído, dois equivalentes de éster
 5 acetoacético e amônia em excesso.^{12,13}

6 O mecanismo da síntese de Hantzsch se divide em três etapas consecutivas,
 7 a primeira corresponde a uma condensação de *Knoevenagel* entre o cetoéster (1) e
 8 o aldeído (2) que leva a formação do primeiro intermediário α,β insaturado (4) na
 9 presença de um ácido de Brønsted ou Lewis, os quais facilitam a reação devido à
 10 complexação destes com o oxigênio do aldeído ou ainda a enolização do cetoéster.
 11¹⁴ (Esquema 1)



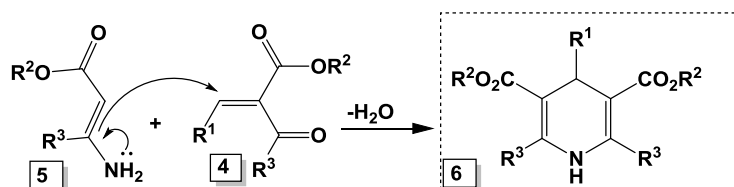
Esquema 1. Condensação de *Knoevenagel* (Adaptado de Neto, *et al.* 2008).¹⁵

12 A segunda etapa corresponde à formação de enamina, o segundo
 13 intermediário (5), devido à adição nucleofílica da amônia (3) ao β -cetoéster (1),
 14 levando a uma sucessão de transferência de prótons gerando água como
 15 subproduto.¹⁴ (Esquema 2)



Esquema 2. Formação de enamina (Adaptado de Neto, *et al.* 2008).¹⁵

1 A última etapa, por fim, se trata de da Adição de Michael, ou seja, a
 2 condensação dos intermediários (4 e 5) que leva a formação do produto, 1,4-
 3 dihidropiridina (6) ¹⁴ (**Esquema 3**). No entanto, a reação de Hantzsch não se
 4 restringe apenas à síntese de 1,4-DHP's e sim a derivados policíclicos dos análogos
 5 aromáticos, como polihidroquinolinas e as polihidroacridinodionas. ¹⁴



Esquema 3. Adição de Michael (Adaptado de Neto, *et al.* 2008).¹⁵

6 A reação multicomponente de Hantzsch é altamente sensível a certas
 7 condições, por exemplo, presença ou ausência de solvente, versões catalisadas e
 8 não catalisadas, efeitos de substituintes nos reagentes, tempo de reação,
 9 temperatura e a presença de uma base ou ácido. ¹⁵ Logo, os rendimentos de 1,4-
 10 dihidropiridinas pelo método clássico de Hantzsch geralmente são baixos, por essa
 11 razão, novas metodologias e condições para síntese desses importantes compostos
 12 vem sendo descritas pela literatura. ^{16,17}

13 Ademais, a possibilidade de introdução de diferentes grupos alquílicos, arila e
 14 heteroarila em R² e R³ do composto β-dicarbonílico, além do R¹ do aldeído,
 15 resultando em compostos com grande variedade estrutural, fez com que houvesse
 16 uma grande diversidade de estruturas na química orgânica. ¹⁸

2.3 Dihidropiridinas

1 No século 19, as dihidropiridinas (DHPs), que compreendem a um grupo de
 2 moléculas de baixa massa molar de compostos orgânicos baseados em um núcleo
 3 de piridina, foram anunciadas por Arthur Hantzsch.¹⁹ Teoricamente, cinco
 4 regioisômeros são produzidos (**Figura 1**), contudo, devido à ressonância do anel
 5 central, apenas 1,2-DHP e 1,4-DHP ganharam atenção significativa, pois
 6 apresentam hibridização sp^2 nos carbonos, gerando uma estabilidade maior na
 7 molécula.²⁰

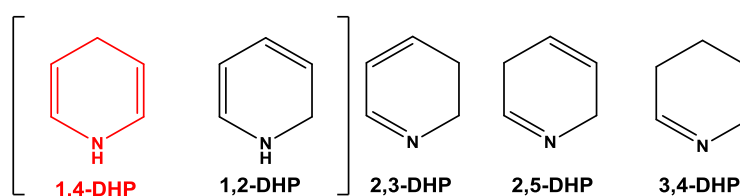


Figura 1. Regioisômeros da dihidropiridina.

8 Em 1930 a descobriu-se a semelhança estrutural das DHPs com a coenzima,
 9 nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) (**Figura 2**). As dihidropiridinas
 10 apresentam estrutura conjugada capaz de fornecer dois átomos de hidrogênio,
 11 atuando assim, como agentes redutores de ligações C=C, C=N e C=O através da
 12 transferência de hidrogênio, similar a esta coenzima, responsável por processos de
 13 oxirredução no metabolismo biológico.^{21,22} Isto fez com que, o esqueleto 1,4-DHP
 14 servisse como núcleo de vários medicamentos de grande sucesso e uma busca
 15 acelerada por novas moléculas com possível bioatividade. Logo, o desenvolvimento
 16 de abordagens sintéticas bem organizadas para a síntese desses heterociclos
 17 atraentes recebeu muita atenção dos pontos de vista farmacológico, industrial,
 18 sintético, econômico e ambiental.^{23,24}

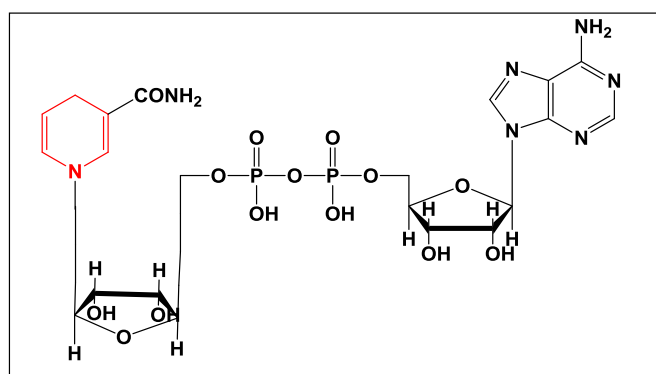
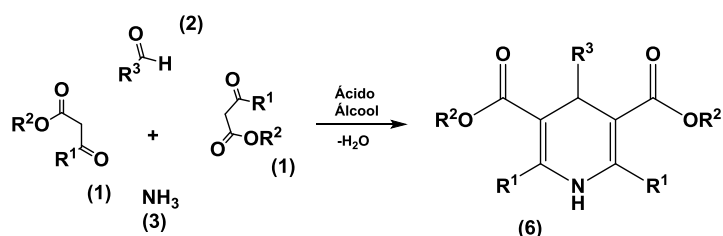


Figura 2. Estrutura da coenzima NADH (Adaptado de Saini *et al.* 2007).¹⁴

1 A síntese clássica, descrita por Arthur Hantzsch, para preparação de 1,4-
 2 DHPs consiste em uma reação tricomponente, onde todos os reagentes são
 3 misturados em um único frasco reacional (*one-pot*) para obter-se a molécula alvo ²⁵
 4 (**Esquema 4**). Este protocolo proporciona economia energética e atômica, questões
 5 inseridas na química verde, como já mencionado no capítulo anterior.



Esquema 4. Síntese multicomponente de 1,4-dihidropiridinas do tipo ésteres de Hantzsch.

2.3.1 Atividades Biológicas

6 Somente 60 anos após a publicação da síntese do núcleo das 1,4-
 7 dihidropiridinas (1,4-DHP's) de Hantzsch, esses compostos foram testados quanto à
 8 sua atividade biológica, como descrita em uma patente de Wellcome, em 1943, que
 9 relatava as propriedades analgésicas de 4-quinolina dihidropiridina (**Figura 3**). Uma
 10 vez que, quando as DHP's são substituídas adequadamente, podem modular
 11 seletivamente diversos receptores, canais e enzimas, logo, podem ser usadas para
 12 tratar diversas doenças. ²⁶

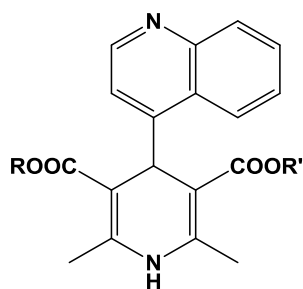


Figura 3. Estrutura 4-quinolina-1,4-dihidropiridina (Adaptado de Goldmann, *et al.* 1991). ²⁶

13 A Nifedipina (Adalat) foi introduzida na Alemanha no início de 1975 com a
 14 descoberta de propriedades cardiovasculares. ²⁷ Em seguida, verificou-se que essas
 15 substâncias (DHP's) agem inibindo a entrada de Ca^{2+} (antagonistas do cálcio) nas
 16 células neuronais, neurosecretoras e musculares através dos canais de cálcio

1 dependentes da voltagem. Os canais de cálcio do Tipo-L são considerados alvos
2 terapêuticos para o tratamento de várias patologias, que variam de doenças
3 cardiovasculares, como já citado, a doenças neurológicas e psiquiátricas.^{27,28}

4 Como consequência desses papéis fisiológicos distintos entre os canais de
5 cálcio, a identificação de novos agentes direcionados é de extrema importância.
6 Esforços contínuos para modificar as estruturas levaram uma nova geração de
7 compostos, os quais mostraram que o foco nas modificações da cadeia lateral do
8 éster é uma abordagem racional para identificar bloqueadores dos canais de cálcio
9 mais eficientes.²⁹

10 Com esses estudos iniciais, muitos derivados das dihidropiridinas foram
11 sintetizados e revolucionaram a indústria farmacêutica com propriedades biológicas
12 bastante pronunciadas, levando a três gerações de produtos: Nifedipina **I** (1ª
13 geração); Nisoldipina **II**, Nimodipina **III** e Nitrendipina **IV** (2ª geração); e
14 recentemente, Lercanidipina **V** e Amlodipina **VI** (3ª geração),³⁰ (**Figura 4**) sendo a
15 Amlodipina (Norvasc) um dos cinco medicamentos mais vendidos, com vendas de
16 mais de US\$ 4,5 bilhões nos últimos anos.²⁶

17 Além do já citado, as 1,4-dihidropiridinas apresentam ações farmacológicas
18 como agentes anti-inflamatórias, antituberculares, antimicrobianas, além dos
19 agentes antioxidantes, os quais protegem contra os danos dos radicais livres,
20 prevenindo e reduzindo a oxidação de macromoléculas, uma vez que as DHP's têm
21 uma estrutura análoga à coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), como
22 já relatado, que está envolvida em reações de redução em sistemas biológicos.^{31,32}

23 Pesquisas recentes já demonstram que as dihidropiridinas podem vir a
24 revelar-se altamente importantes como agentes de reversão da resistência a
25 múltiplas drogas na quimioterapia do câncer.³³ Além disso, outras atividades
26 notáveis, que vem sendo estudas recentemente é atuação para o tratamento da
27 doença de Alzheimer.³⁴

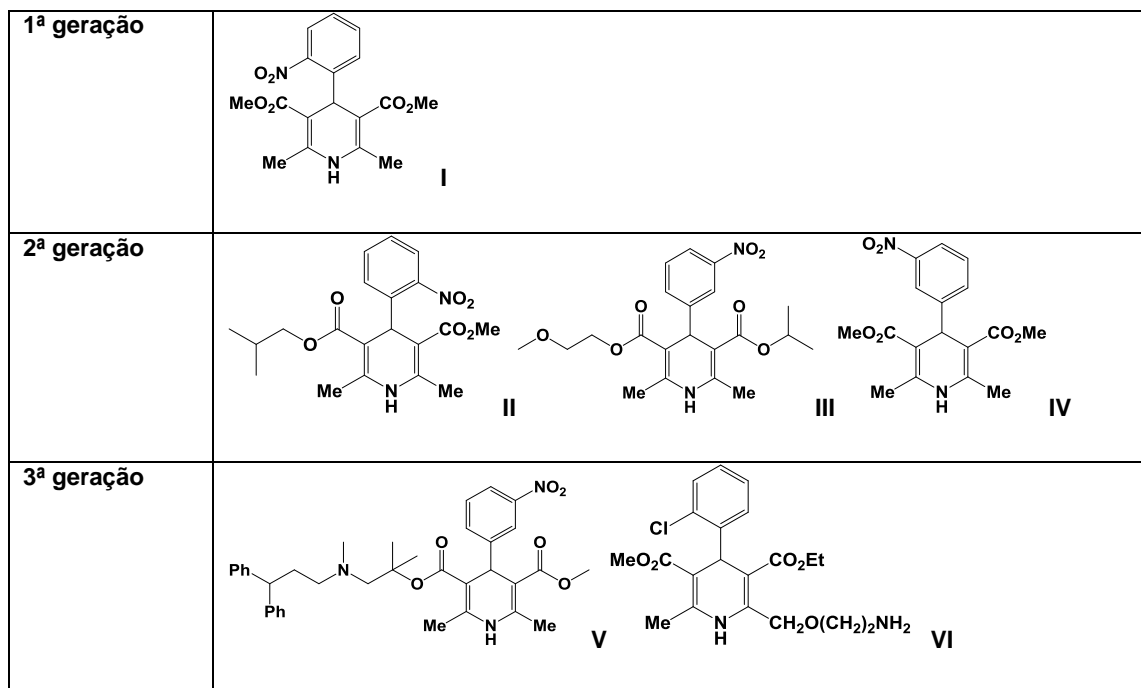
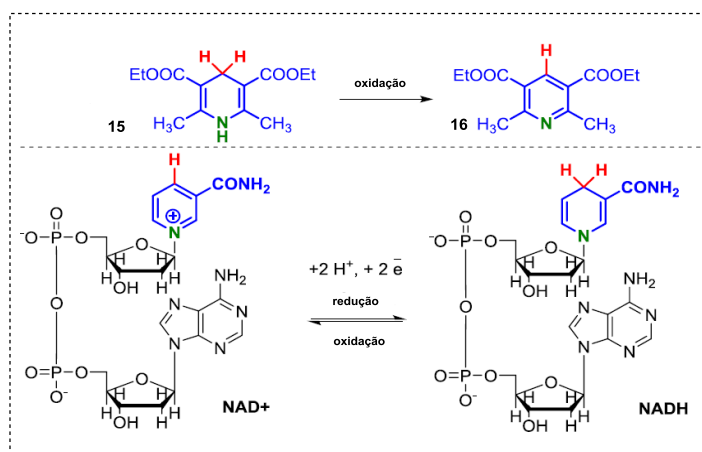


Figura 4. 1,4-Dihidropiridinas comercialmente disponíveis.

2.3.2 Fotooxidação

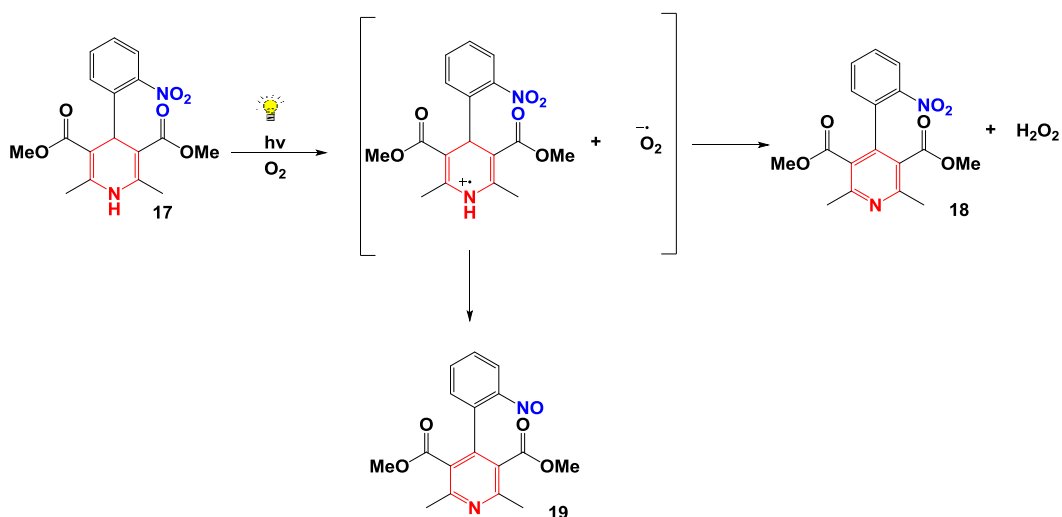
1 Outro aspecto relevante das dihidropiridinas é a sua fotoestabilidade, ou seja,
 2 apresentam sensibilidade significativa à luz, sofrendo fotodegradação, o qual
 3 consiste na oxidação da molécula, levando a aromatização do anel. Em alguns
 4 casos, o processo leva à formação de fotoprodutos secundários, dependentes dos
 5 grupos funcionais presentes no anel fenil e na piridina.³⁵

6 A conversão oxidativa das dihidropiridinas na piridina é talvez a reação mais
 7 típica e geral desses sistemas heterocíclicos, uma vez que elas apresentam
 8 semelhança com algumas reações que ocorrem no organismo, mais
 9 especificamente no sistema conezimático oxirredutivo NAD⁺/NADH são de fato
 10 bastante semelhante à oxidação das dihidropiridinas em termos estruturais.³⁶
 11 (**Esquema 5**). Outro ponto interessante é que assim como as estruturas reduzida e
 12 oxidada do NADH, as dihidropiridinas também apresentam diferenças entre si nos
 13 seus espectros de absorção na região do UV-Visível nos diferentes estados de
 14 oxidação.



Esquema 5. Correlação entre as estruturas das 1,4-dihidropiridinas e o Sistema NADH: Formas oxidada e reduzida.

1 A Nifedipina é um dos derivados das DHPs altamente fotossensíveis. Os
 2 principais produtos de sua fotodegradação são os derivados nitro (**18**) e nitroso (**19**)
 3 (**Esquema 6**). A cinética da sua fotodegradação é fortemente dependente da
 4 intensidade da luz e do comprimento de onda utilizado. Dados mostram que quando
 5 utilizada em prescrição hospitalar, sua exposição à luz ambiente proporcionou uma
 6 diminuição de 20% em teor de nifedipina após 18 horas.³⁷



Esquema 6. Fotooxidação da Nifedipina (Adaptado de De Luca, *et al.* 2019).³⁵

7 As modificações no núcleo dihidropiridínico após a exposição à luz não é
 8 desejada, uma vez que pode haver completa perda de atividades farmacológicas.
 9 Assim, muitos estudos vêm sendo dedicados à fotooxidação de medicamentos
 10 dihidropiridínicos.³⁸

1 O estudo de fotoproteção e carreadores de estruturas que possuem
2 potenciais frente à fotooxidação vêm sendo exploradas, nos últimos anos, através da
3 complexação com supramoléculas macrocíclicas. Baseado no princípio hóspede-
4 hospedeiro (*host-guest*), o encapsulamento utilizando macrociclos, como por
5 exemplo as ciclodextrinas, vem se mostrando capaz em uma melhora na
6 administração.³⁹ (Figura 5)

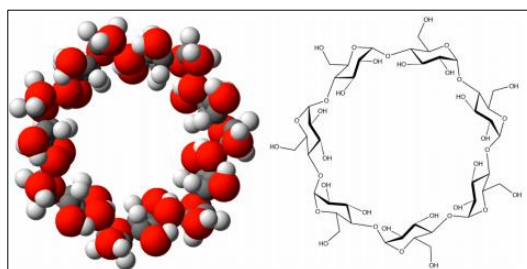


Figura 5. Estrutura β - Ciclodextrina.

2.4 Fluorescência de compostos orgânicos

7 A fluorescência molecular é amplamente utilizada na ciência física, química,
8 biológica e na medicina. De fato, os compostos fluorescentes podem ser usados
9 como sondas indicadoras, sensores e rastreadores para fornecer informações sobre
10 parâmetros físicos ou químicos.⁴⁰

11 Moléculas com conjugação de elétrons π são capazes de absorver na região
12 visível para cima, e podem perder a energia absorvida por diversas formas, como
13 vibração e rotação. Um dos processos fotofísicos de luminescência, ou seja,
14 emissão da luz a partir do deslocamento de estados eletronicamente excitados para
15 o estado fundamental, quando esta não é capaz de dissipar a energia absorvida de
16 forma não radiativa, é conhecido como fluorescência.⁴¹ Este processo, não altera a
17 identidade da molécula, e é ocorrente em espécies rígidas, com conjugação,
18 planaridade do sistema e com a presença de substituintes doadores de densidade
19 eletrônica.⁴²

20 Os processos que ocorrem entre a absorção e emissão da luz são geralmente
21 ilustrados pelo diagrama de Jablonski, são geralmente evidenciados por vários
22 processos moleculares que podem ocorrer, como absorção de radiação e o
23 decaimento, o qual pode ser por: relaxamento vibracional, conversão interna,

- 1 cruzamento entre sistema (não radioativos), fluorescência ou fosforescência
 2 (radiativos). Esse diagrama leva o nome do professor Aleksander Jablonski que é
 3 considerado o pai da espectroscopia de fluorescência. ⁴³ (Figura 6)

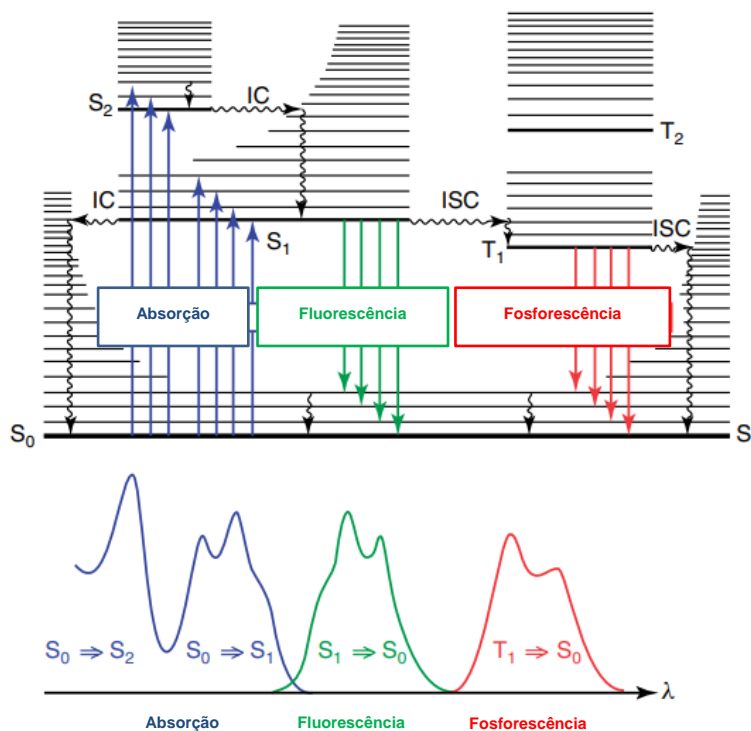


Figura 6. a) Diagrama de Jablonski (superior). **b)** Consequências nos Espectros de Absorção, Fluorescência e Fosforescência (inferior).

4 A fluorescência é um processo permitido por spin, ou seja, pela regra de
 5 seleção a transição eletrônica vertical mantém a mesma multiplicidade nos estados
 6 iniciais e finais. Portanto, uma determinada radiação é incidida sobre a molécula e
 7 esta passa para o estado eletrônico de maior energia (S₁). O singlete
 8 eletronicamente excitado (S₁) ao dissipar a energia absorvida sobre forma de
 9 radiação, decai ao estado singlete fundamental (S₀). ⁴⁴ Este processo de emissão de
 10 fluorescência apresenta um tempo de 10⁻⁸ segundos.

11 O diagrama de Jablonski revela que a energia de emissão é tipicamente
 12 menor que a da absorção, de modo que, a fluorescência ocorre em energias mais
 13 baixas ou comprimentos de onda maiores. Esse fenômeno foi observado pela
 14 primeira vez por George Gabriel Stokes. ⁴⁵ A correlação entre a diferença do
 15 comprimento de onda máximo de absorção e o de emissão é resultado do

1 deslocamento de Stokes (**Figura 7**), que representa a perda de energia do estado
 2 excitado para o estado fundamental ao emitir energia. Esse parâmetro depende de
 3 diversos fatores, que podem ser estruturais, como a presença de grupos elétron-
 4 doadores no sistema, ou ainda externos como solventes de diferentes polaridades
 5 (solvatocromismo).⁴⁶

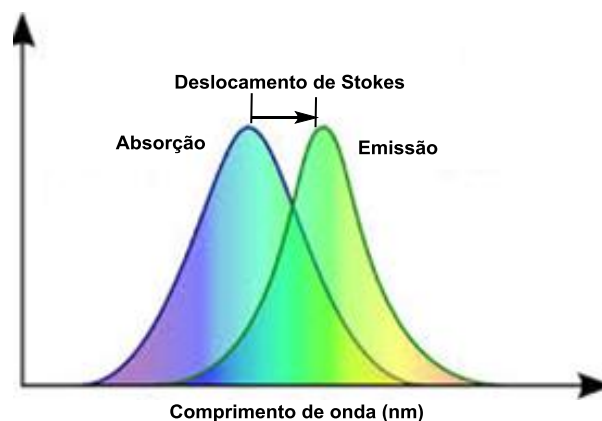


Figura 7. Espectro de absorção e emissão com o deslocamento de Stokes.

6 Para inferir a intensidade de fluorescência de uma molécula se faz necessário
 7 calcular o rendimento quântico, que se baseia entre a razão do número de fótons
 8 emitidos e o número de fótons absorvidos.⁴⁷

9 A fluorescência é estudada através dos espectros de emissão e absorção
 10 moleculares. A absorção de radiação obedece à lei de Lambert-Beer que relaciona
 11 linearmente a absorbância, ou seja, a intensidade de radiação monocromática que
 12 incide na amostra sobre a intensidade de radiação que emerge da amostra ($A =$
 13 $\log(I_0/I)$), com a absortividade molar (ϵ), que é uma grandeza característica para o
 14 tipo de transição eletrônica entre orbitais moleculares, com a concentração da
 15 espécie absorvente (c) e o caminho óptico (b) que é a distância percorrida pelo feixe
 16 através da amostra.⁴⁸

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Equação de Lambert-Beer. A: Absorbância, ϵ : Coeficiente de Absortividade Molar em $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, b: Caminho óptico em cm e c: Concentração da amostra em $mol \cdot L^{-1}$

2.5 Catálise

17 A catálise é um importante processo facilitador que suporta a economia global
 18 e está presente em muitas indústrias, incluindo química, petroquímica, agricultura,

1 polímero, eletrônica e farmacêutica. Uma vez que, o seu uso oferece uma infinidade
 2 de benefícios, entre elas economia de tempo, energia e menor geração de resíduos.
 3 O foco crescente de processos sustentáveis e ambientalmente corretos coloca a
 4 catálise como a tecnologia para a química verde, sendo ela um dos doze princípios de
 5 química verde.^{49,50}

6 A catálise consiste na adição de um composto, o catalisador, em uma reação
 7 química, com intuito de acelerar a reação, ou seja, aumentar a velocidade reacional,
 8 fornecendo um caminho alternativo (um mecanismo de reação diferente) entre
 9 reagentes e produtos, sem ser consumido durante o processo. Esse novo caminho
 10 faz com que a energia livre de Gibbs de ativação diminua ($\Delta^\ddagger G$) comparada ao
 11 caminho original, sem alterar a energia livre de Gibbs global de reação.⁵¹ (**Figura 8**)

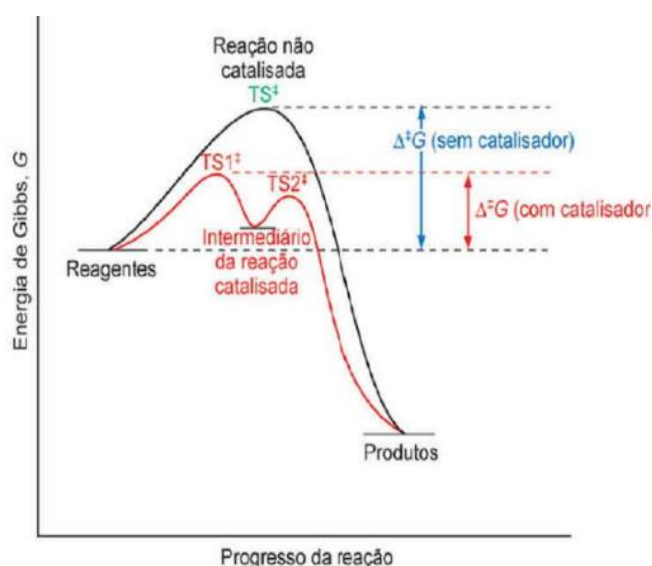


Figura 8. Representação gráfica da trajetória da reação não catalisada e catalisada.

12 A catálise pode-se dividir entre duas categorias: homogênea e heterogênea.
 13 Em uma catálise homogênea, o catalisador encontra-se na mesma fase que os
 14 reagentes, sua vantagem é que todos locais catalíticos são acessíveis, uma vez que
 15 o catalisador é geralmente um complexo metálico solúvel. Embora, possa apresentar
 16 alta seletividade, a sua separação do produto final cria barreiras econômicas e
 17 ambientais para ampliar seu uso, visto que a remoção de pequenas quantidades do
 18 catalisador do produto final é essencial, pois a contaminação por metais é altamente
 19 controlada, principalmente pela indústria farmacêutica.⁵²

20 Para superar os problemas de separação em catalisadores homogêneos, o
 21 uso de catalisadores heterogêneos tornou-se viável. Em catálise heterogênea, os

1 catalisadores são baseados, normalmente, em suportes de sílica, principalmente
2 porque a sílica apresenta algumas propriedades vantajosas, como excelente
3 estabilidade, química e térmica, boa acessibilidade, porosidade e o fato de que
4 grupos orgânicos podem ser firmemente ancorados à superfície para fornecer
5 centros catalíticos. No entanto, o catalisador encontra-se em fases distintas dos
6 reagentes, logo, o contato é reduzido entre catalisador e substrato, assim faz com
7 que o empenho catalítico se torne mais baixo. Contudo, sua grande vantagem se dá
8 pela fácil separação do meio reacional, não contaminando o produto final.⁵³

2.5.1 *Nanocatalisador: Maghemita*

9 Neste contexto, novos sistemas de catalisadores que permitem
10 transformações químicas rápidas e seletivas com excelentes rendimentos de
11 produto, combinados com a facilidade de separação e recuperação do catalisador
12 são altamente necessários.⁵⁴ Os materiais em escala nanométrica possuem
13 diferentes propriedades quando comparado com seus respectivos sólidos massivos.
14 Isso explica o crescente interesse tanto do meio acadêmico, quanto da indústria, na
15 síntese e caracterização das nanopartículas.

16 As nanopartículas surgiram como uma alternativa sustentável aos materiais
17 convencionais, proporcionando uma ponte entre a catálise homogênea e
18 heterogênea. As partículas de tamanho nano (1-100 nm) apresentam grande
19 potencial catalítico em função da alta relação superfície e volume quando as
20 partículas adquirem diâmetros abaixo de 5 nm, isso faz com que haja um aumento
21 da área de superfície exposta do componente ativo do catalisador, similar aos
22 catalisadores homogêneos, melhorando assim o contato entre reagentes e
23 catalisador.^{55,56} Além disso, sua insolubilidade na maioria dos solventes de reações
24 torna fácil sua separação do meio reacional, o que por sua vez é possível um rápido
25 isolamento do produto, assim como os catalisadores heterogêneos.⁵⁵

26 Recentemente, a síntese de material magnético na nanoescala tem sido um
27 campo de intenso estudo. Especialmente, nanopartículas de ferritas (< 20 nm) que
28 apresentam superparamagnetismo em temperatura ambiente, que é uma
29 propriedade adquirida quando materiais, tais como $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, CoFe_2O_4 e MnFe_2O_4 ,
30 são reduzidos de tamanho, até escala nanométrica. A elevada razão

1 superfície/volume, alta energia superficial e excelente reatividade quando
2 comparada ao seu equivalente micrométrico são fatores inerentes da nanopartícula
3 magnética, originados principalmente devido a efeitos de tamanho e fenômenos de
4 superfície. Com essa propriedade, as nanopartículas de óxido de ferro são base
5 para múltiplas aplicações na química moderna, principalmente como catalisadores.
6 ^{57,58}

7 A superioridade desses catalisadores se deve ao seu caráter magnético, que
8 pode ser simplesmente separado por meio de um campo magnético externo aplicado
9 e sua possível reutilização. ⁵⁹ Assim, recentemente vem ganhando interesse
10 significativo na pesquisa no ponto de vista da química verde.

11 A Maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), muito similar a Magnetita (Fe_3O_4), é uma
12 nanopartícula de óxido ferromagnético mais comum na natureza e mais utilizada
13 porque é muito menos tóxico do que seus equivalentes metálicos e ainda possuem
14 magnetização de alta saturação, embora menor que a Magnetita, e comportamento
15 superparamagnético. Além de ter a vantagem de ser mais estável e resistente a
16 ambientes ácidos e altas temperaturas. ^{57,60}

2.5.2 Catalisador Mesoporoso: SBA-15

17 Materiais com estrutura porosa ajustável sempre foram de grande interesse
18 na indústria e na comunidade acadêmica. No início dos anos 90, as sílicas
19 mesoporosas foram descobertas por cientistas da Mobil Oil Company e por Kuroda,
20 uma resposta à necessidade de ampliar as aplicações de zeólitas (materiais
21 inorgânicos com poros com diâmetro menor ou igual a 20 Å). Dado que, o seu uso é
22 restrito ao tamanho de seus poros e havia uma crescente demanda por matérias
23 mesoporosas ordenados devido à sua potencial aplicação envolvendo moléculas
24 maiores. ⁶¹

25 A divulgação de materiais mesoporosos ganhou atenção, visto que entre as
26 suas propriedades, destacam-se estrutura altamente ordenada, alta área de
27 superfície, distribuição estreita do tamanho dos poros e estabilidade térmica. Além
28 de apresentar um desempenho catalítico superior a zeólitas, em algumas aplicações,
29 pois é possível a modificação por incorporação de grupos ativos, proporcionando
30 assim catalisadores altamente ativos e seletivos. ^{62,63} Além disso, a possibilidade de

1 reciclar os catalisadores de peneiras moleculares mesoporosas ordenadas, o que
 2 reduz o uso de substâncias auxiliares e o consumo de energia e tempo investidos
 3 em processos de separação, atendem aos desejos da química verde. ⁶³

4 O destaque se dá para o SBA-15 (*Santa Barbara Amorphous*) um material a
 5 base de sílica que foi desenvolvido e sintetizado pela primeira vez em 1998 por Zhao
 6 *et al.* ⁶⁴ com estrutura bidimensional hexagonal e unidirecional, paredes espessas,
 7 grande estabilidade térmica e hidrotérmica, alto diâmetro de poros, além da
 8 facilidade de síntese e a possibilidade de ajuste dos tamanhos dos poros. ⁶⁵

9 Sua vasta aplicabilidade se dá pelos seus mesoporos ordenados
 10 hexagonalmente com tamanhos uniformes de até 300 Å aproximadamente, e
 11 interligados por microporos que possibilitam o alojamento ou a difusão de grandes
 12 moléculas (**Figura 9**). ^{64,65} A síntese da SBA-15 é realizada via método sol-gel,
 13 utilizando um precursor de silício, que pode ser extraído de vidro reciclado via
 14 lixiviação alcalina, e um agente direcionador. A obtenção dos materiais contendo
 15 metais de transição M-SBA15, onde M = Fe³⁺ e Al³⁺ é realizado pelos métodos de
 16 impregnação pós-síntese e one-pot. ⁶⁶

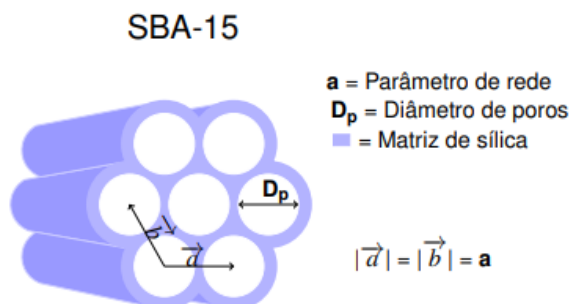


Figura 9. Representação da sílica mesoporosa ordenada SBA-15.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

1 O presente trabalho propõe avaliar o potencial catalítico do nanocatalisador
2 Maghemita na síntese multicomponente de derivados de 1,4-dihidropiridinas (1,4-
3 DHPs) em condições reacionais verdes.

3.2 Objetivos Específicos

- 4 ✚ Sintetizar diferentes 1,4-dihidropiridinas, variando o aldeído e o β -
5 cetoéster via reação clássica multicomponente, através do uso da
6 Maghemita, um catalisador superparamagnético, com otimização
7 dos parâmetros reacionais;
- 8 ✚ Caracterizar os produtos por cromatografia gasosa acoplada a
9 espectrômetro de massa (CG-EM) e técnica espectroscópica de
10 ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (^1H e ^{13}C),
11 COSY e de infravermelho (IV);
- 12 ✚ Acompanhar o meio reacional da síntese das 1,4-dihidropiridinas
13 por espectroscopia na região do UV-Vis;
- 14 ✚ Determinar propriedades fotofísicas das 1,4-dihidropiridinas através
15 das técnicas espectroscópicas de UV-Vis e Fluorescência;
- 16 ✚ Avaliar o potencial catalítico da Maghemita frente a diferentes
17 substratos e o potencial de reutilização do catalisador;
- 18 ✚ Avaliar o teste biológico dos derivados de 1,4-DHPs em células
19 Daudi (linfoma de Burkitt) e Jurkat (leucemia linfoblástica aguda de
20 células t) em colaboração com grupo de pesquisas da farmácia do
21 Departamento da Universidade Federal de Santa Catarina.

4. METODOLOGIA

4.1 Materiais e Métodos

4.1.1 Reagentes e Solventes

1 Os reagentes e solventes utilizados neste trabalho foram disponibilizados no
2 Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais (LaCFI) do Departamento de
3 Química - UFSC. Eles possuem alto grau de pureza (95-98%) e solventes como
4 etanol e acetato de etila possuem grau de pureza P.A./absoluto. Todos são
5 provenientes da Sigma-Aldrich, Dinamica, Cambridge ICT, Vetec, NEON ou Synth.
6 Em relação aos solventes, acetato de etila e *n*-hexano, utilizados nas cromatografias
7 em camada delgada (CCD) e cromatografias em coluna de sílica (CCS) foram
8 realizadas o processo de destilação para sua purificação e posterior uso. Já a
9 acetonitrila utilizada no preparo das amostras de CG-EM possui grau de pureza
10 HPLC.

11 O catalisador Maghemita (γ - Fe_2O_3) foi fornecido em colaboração com a Dra.
12 Natália B. Caon e o Prof. Dr. Alexandre Luis Parize do Grupo de Estudos em
13 Materiais Poliméricos (POLIMAT), localizado no Departamentos de Química - UFSC.
14 Já o catalisador FeSBA-15 foi fornecido em colaboração com Heitor A. G. Bazani e o
15 Prof. Dr. Luiz Fernando Dias Probst do Laboratório de Catálise Heterogênea
16 (LABOCATH), localizado no Departamento de Química- UFSC.

4.1.2 Instrumentação

17 Para síntese dos derivados de 1,4-DHPs, todas as vidrarias de uso geral e
18 equipamentos a serem utilizados. Como chapa de aquecimento com agitação
19 magnética, barras magnéticas, balança, rotaevaporadores, linhas de vácuo, câmara
20 escura para análise ultravioleta, entre outros foram fornecidos pelo grupo LaCFI do
21 Departamento de Química - UFSC.

4.1.3 *Técnicas de Caracterização*

4.1.3.1 *Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e COSY*

1 As análises dos espectros de RMN ^1H (200 e 400 MHz), ^{13}C (50 e 100 MHz)
2 foram realizadas na Central de Análise do Departamento de Química - UFSC nos
3 espectrometros Bruker AC 200 MHz e Varian AS-400 400 MHz. As amostras para
4 caracterização foram preparadas pela dissolução com clorofórmio deuterado (CDCl_3)
5 da Oxford. Os deslocamentos químicos (δ) foram reportados em parte por milhão
6 (ppm) contendo tetrametilsilano (TMS) como padrão interno ($\delta = 0,00$ ppm). Os
7 dados espectrais obtidos foram tratados por meio do software *MestReNova* (
8 Mestrelab Research S.L.).

4.1.3.2 *Espectroscopia na região UV-Vis*

9 Os espectros de absorção de UV-Vis foram obtidos no espectrofotômetro UV-Vis
10 da marca Agilent Cary, presente no LaCFI. O tratamento dos dados foi realizado
11 com auxílio do software Origin 8.0 (OriginLab).

4.1.3.3 *Espectroscopia no IV*

12 As análises de IV foram realizadas na Central de Análises do Departamento de
13 Química - UFSC, em um espectrofotômetro da marca Bruker, modelo Alpha. As
14 amostras sólidas foram preparadas em pastilhas de KBR e o espectro foi obtido na
15 região média ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) do infravermelho.

4.1.3.4 *Espectrometria de massas (CG-EM)*

16 As análises de CG-EM foram realizadas no Laboratório de Eletroforese Capilar
17 (LabEC) do Departamento de Química - UFSC, num cromatógrafo gasoso modelo
18 7820A, acoplado a um espectrômetro de massas 5975, ambos da marca Agilent
19 Technologies. O cromatógrafo foi operado com injetor automático e coluna 5% polar
20 HP-5MS. Todas as amostras foram preparadas com CH_3CN padrão HPLC.

4.1.3.5 **Espectroscopia de Fluorescência**

1 As análises de fluorescência foram realizadas no Laboratório de Catálise e
2 Fenômenos Interfaciais, LaCFI do Departamento de Química - UFSC em um
3 espectrofluorímetro da marca Varian (Agilent Technologies), modelo Cary Eclipse,
4 com largura de fenda de absorção e emissão em 10 mm, com a fonte de energia
5 operando em potência média.

4.1.3.6 **Ponto de Fusão**

6 Os pontos de fusão dos compostos sólidos foram determinados utilizando o
7 equipamento MQAPF-301 da Microquímica Equipamentos localizado no Laboratório
8 de Catálise e Fenômenos Interfaciais – LaCFI do Departamento de Química da
9 UFSC.

4.2 Aplicação de teste biológico

10 Os testes biológicos *in vitro* foram realizados em colaboração da mestrandia
11 Lisandra de Oliveira e a Prof. Dr. Maria Cláudia Santos da Silva do Laboratório de
12 Oncologia Experimental e Hematopatias (LOEH) do Departamento de Análises
13 Clínicas - UFSC, utilizando linhagens de células Daudi (linfoma de Burkitt) e Jurkat
14 (leucemia linfoblástica aguda de células t).

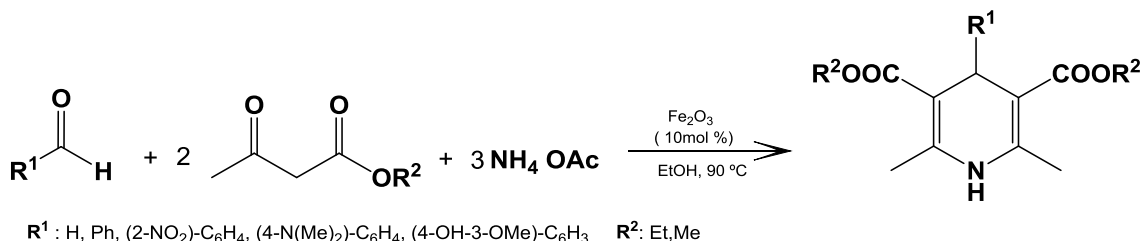
4.3 Metodologia Experimental

4.3.1 Otimização reacional

15 A otimização reacional foi realizada frente à variação de temperatura entre 90, 60
16 °C e temperatura ambiente (t.a). O tempo reacional foi acompanhado, variando entre
17 1 hora, 3 horas e 10 minutos, visando minimizar a formação do produto oxidado (Py-
18 4). Por último, variou-se a quantidade de equivalentes de acetato de amônio para
19 verificar se o excesso ocasionaria um aumento de rendimento significativo. Destaca-
20 se o uso de 10 mol% de Maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e o não uso de solvente orgânico
21 durante a otimização reacional. Os produtos, bem como os intermediários da reação
22 foram detectados por Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas.

4.3.2 Síntese 1,4-Dihidropiridinas

1 Empregou-se o método tradicional multicomponente de Hantzsch para a síntese
2 dos derivados de 1,4-DHPs, utilizando a Maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) como catalisador
3 (Esquema 7).



Esquema 7. Metodologia sintética das 1,4-DHPs utilizando Maghemita como catalisador.

4 Em um frasco de vidro com tampo de rosca com capacidade para 5 mL, foram
5 adicionados 1 mmol de aldeído, 2 mmol de cetoéster, 15 mg de Maghemita (10
6 mol%; 159,69 g mol⁻¹) na presença de 1 mL de etanol. Em seguida foram
7 adicionados 3 mmol de acetato de amônia (231 mg; 77,08 g mol⁻¹) e o frasco de
8 vidro foi embalado em papel alumínio para proteção à luz. A mistura reacional foi
9 então aquecida à 90°C sob agitação magnética. Para o acompanhamento do
10 progresso da reação foi utilizada a técnica de CCD, utilizando cromatoplaças de
11 sílica gel 60 GF-254 da Merck com fase estacionária e uma fase móvel constituída
12 por hexano: acetato de etila (70:30, v/v). A revelação da placa de CCD foi realizada
13 por agentes de revelação: luz ultravioleta curta (254 nm) e longa (354 nm). Além
14 disso, utilizou-se, o revelador universal, iodo molecular, o qual foi colocado em forma
15 de cristais em uma câmera com a placa, até a presença da coloração das manchas.
16 Ao utilizar a Maghemita como catalisador, por ser um material magnético, a sua
17 separação do meio reacional se dá por meio de um ímã, já o catalisador Fe-SBA15 é
18 separado por centrifugação, por 10 minutos, à 4000 RPM, seguido de uma filtração
19 simples em etanol. Salienta-se que neste presente trabalho, duas condições foram
20 utilizadas, uma com uso do nanocatalisador, Maghemita, e outra sem um uso do
21 catalisador, afim assim, de avaliar o potencial catalítico do Maghemita.

4.3.3 Purificação

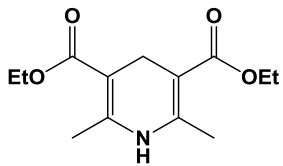
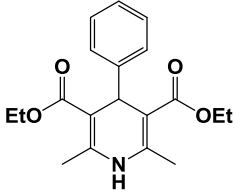
22 Quanto à metodologia de purificação, inicialmente o etanol presente na mistura
23 reacional é evaporado por um rotaevaporador, em pressão reduzida (131 atm) e

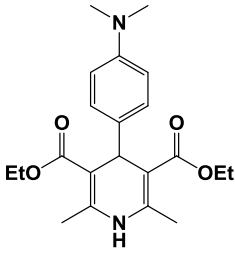
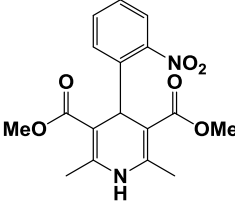
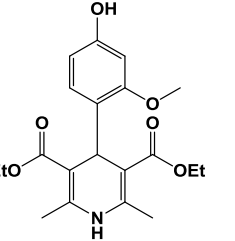
1 aquecimento (60 °C). Em seguida, a solução restante é purificada por cromatografia
 2 em coluna, utilizando sílica como fase estacionária e uma mistura de eluente de
 3 hexano e acetato de etila como fase móvel, sendo sua proporção gradual, conforme
 4 a eluição da coluna. A cromatografia flash, sílica flash 60 (230-400 mesh), a qual é
 5 basicamente impulsionada por pressão, proporcionando uma coluna curta e uma
 6 separação rápida e eficiente ⁶⁷. Durante a eluição, são retiradas alíquotas e
 7 acompanhadas por CCD, na mesma proporção de eluente, até a completa remoção
 8 de intermediários, reagentes e produto. O produto, por apresentar maior polaridade
 9 é o que fica mais retido na sílica, sendo o último a eluir. Após a separação do
 10 suposto produto essa solução é transferida para um balão de fundo redondo,
 11 rotaevaporada e seco em bomba de alto vácuo por cerca de 12h. Posterior, o
 12 produto é caracterizado e quantificado.

4.4 Caracterização das 1,4-DHPs

13 Os dados de caracterização dos derivados dihidropiridínicos sintetizados são
 14 apresentados na tabela abaixo.

Tabela 2. Caracterização das 1,4-DHPs sintetizadas utilizando Maghemita como catalisador.

 <p>Composto A (C₁₃H₁₉NO₄) 2,-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (HEH)</p> <p>MM: 253,13 gmol⁻¹</p> <p>Rendimento: 24%</p>	<p>P.F.: 169 - 171 °C (lit. 178-183 °C).</p> <p>RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ = 5,13 (s, 1H); 4,17 (qua, J = 7 Hz, 4H); 3,17 (s, 2H); 2,19 (s, 6H); 1,29 (t, J = 7 Hz, 6H) ppm. IV (KBr, cm⁻¹): 3351; 2982; 2895; 1696; 1650; 1506; 1216; 760; CG-MS: 252,9 (M⁺); 224,3 (100%); 207,2; 196,2; 178,5; 151,5; 105,6 m/z.</p>
 <p>Composto B (C₁₉H₂₃NO₄) 4-fenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila</p> <p>MM: 329,16 gmol⁻¹</p> <p>Rendimento: 74%</p>	<p>P.F.: 145 - 147 °C (lit. 156 - 157 °C).</p> <p>RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ = 7,20 (m, 5H, CH); 5,61 (s, 1H, NH); 4,98 (s, 1H, CH); 4,09 (qua, J = 8 Hz, 4H, CH₂); 2,33 (s, 6H, CH₃); 1,22 (t, J = 8 Hz, 6H, CH₃) ppm. IV (KBr, cm⁻¹): 3350; 2985; 2932; 1705; 1656; 1492; 1223; 708. CG-MS: 8,7 min; 136,1; 135,1 (100%); 107,1; 105; 77,1; 51,1 m/z.</p>

 <p>Composto C (C₂₁H₂₈N₂O₄) 4-[(4-(dimetilamini)fenil)]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila</p> <p>MM: 372,20 g mol⁻¹</p> <p>Rendimento: 54%</p>	<p>P.F.: 108 - 110 °C (lit. 158 °C).</p> <p>RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ = 7,14 (d, J = 8 Hz, 2H); 6,6 (d, J = 8 Hz, 2H); 5,97 (s, 1H); 4,89 (s, 1H); 4,08 (qua, J = 7 Hz, 4H); 2,87 (s, 6H); 2,29 (s, 6H); 1,23 (t, J = 8 Hz, 6H) ppm. RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ = 168,20; 149,06; 143,92; 136,41; 128,54; 112,31; 104,32; 59,31; 40,73; 38,35; 19,41; 14,27; ppm. IV (KBr, cm⁻¹): 3657-3179; 2977; 2805; 1683; 1623; 1491; 1208; 1097. CG-MS: 10,5 min. 183,1 (M+); 157; 101; 89; 88,1 (100%); 73; 70; 57; 55 m/z.</p>
 <p>Composto D (C₁₇H₁₈N₂O₆) 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila</p> <p>MM: 346,12 g mol⁻¹</p> <p>Rendimento: 76%</p>	<p>P.F.: 165 - 167 °C (lit. 172 - 174 °C).</p> <p>RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ = 7,68 (d, J = 8 Hz, 1H); 7,49 (dd, J = 6 Hz, 2H); 7,25 (td, J = 8 Hz, 1H); 5,77 (s, 1H); 5,72 (s, 1H); 3,59 (s, 6H); 2,34 (s, 6H) ppm. RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ = 167,49; 147,88; 144,76; 142,07; 132,68; 131,03; 127,02; 123,88; 103,71; 50,99; 34,54; 19,50 ppm. IV (KBr, cm⁻¹): 3333; 2957; 1689; 1533; 1349; 1232; 1113; 826.</p>
 <p>Composto E (C₂₀H₂₅NO₆) 4-[(4-hidroxi-3-metoxi)fenil)]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila</p> <p>MM: 375,42 g mol⁻¹</p> <p>Rendimento: 33%</p>	<p>P.F.: 152 - 155 °C (lit. 156 - 157 °C).</p> <p>RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ = 6,85 (s, 1H, CH); 6,73 (d, J = 8 Hz 1H, CH); 6,10 (d, J=8Hz 1H, CH); 5,72 (s, 1H, NH); 4,92 (s, 1H, CH); 4,10 (qua, J = 8 Hz, 4H, CH₂); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 2,30 (s, 6H, CH₃); 1,24 (t, J = 8 Hz, 6H, CH₃) ppm. RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃): 167,87; 145,86; 143,88; 140,16; 120,42; 113,93; 110,97; 104,09; 59,74; 55,72; 39,10; 19,45; 14,34 ppm. IV (KBr, cm⁻¹): 3357; 2974; 1698; 1669; 1502; 1221; 1109; 816.</p>

4.5 Acompanhamento Reacional das 1,4-DHPs

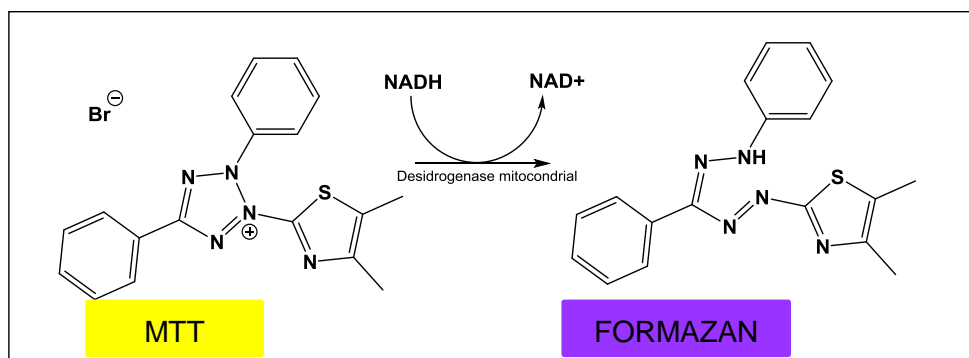
- O acompanhamento das reações dos derivados dihidropiridínicos **B**, **D** e **E** foram
- realizadas inicialmente com a confecção das curvas de calibração no
- espectrofotômetro Cary 50 (Varian), em solvente etanol. O procedimento geral,
- primeiramente envolveu a adição de 2 mL do solvente em uma cubeta de quartzo,

1 contendo 1 cm de caminho ótico, para a obtenção do branco. Em seguida, foi
2 adicionado a cubeta alíquotas de 20µL a 200 µL de uma solução estoque contendo
3 $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de amostra. A concentração contida na cubeta foi recalculada a partir
4 do volume total e, juntamente com absorção obtido para cada concentração, por
5 meio da equação de *Lambert-Beer*, foi possível determinar o coeficiente de absorção
6 (ϵ) das estruturas.

7 Com a curva de calibração de absorção pré-confeccionada o monitoramento
8 reacional, realizado no espectrofotômetro Cary 50 (Varian) também, partiu da adição
9 de uma alíquota de 10 µL, em uma cubeta de quartzo, de uma solução de 5 mmol de
10 aldeído, 10 mmol de cetoéster, 10 mol% de Maghemita em 5 mL de etanol, mantida
11 a 90°C, para obtenção do branco. Em seguida, foi adicionado 15mmol de acetato de
12 amônia (1,1562 g; $77,08 \text{ g mol}^{-1}$) no meio reacional e o acompanhamento se deu
13 com a retirada de alíquotas de 16µL da reação num intervalo de 5 minutos,
14 devidamente diluídas em etanol. Dessa forma, o monitoramento entre 200 e 700 nm
15 observado pela diminuição da banda de absorção do reagente e o aumento da
16 banda de absorção do produto, foi possível, durante uma hora reacional, a
17 conversão dos reagentes em produto.

4.6 Teste Biológico das 1,4-DHPs

18 A avaliação da citotoxicidade das 1,4-DHPs foi realizada pela professora Dr.
19 Maria Cláudia Santos da Silva do Laboratório de Oncologia Experimental e
20 Hematopatias (LOEH) da Universidade Federal de Santa Catarina frente à linhagem
21 Daudi (linfoma de Burkitt) por análise de viabilidade celular. O método colorimétrico
22 empregado foi MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio), o
23 qual consiste na clivagem do anel tetrazólico do MTT, de cor amarela, que pela ação
24 das desidrogenases mitocondriais é convertido em um precipitado de coloração
25 roxa, Formazan (**Esquema 8**). Assim, a quantidade de formação de Formazan é
26 diretamente proporcional à viabilidade celular. Para a determinação das curvas de
27 concentração e tempo resposta as células foram incubadas em placas multipoços
28 com densidades de 10^5 células/poço para 24 horas de incubação, 5×10^4
29 células/poço para 48 horas e $2,5 \times 10^4$ células/poço para 72 horas. Assim, a
30 concentração inibitória 50% (CI_{50}) foi determinada por meio de regressão linear.



Esquema 8. Redução do MTT em Formazan pela ação do NADH.

4.7 Segurança no Laboratório e Tratamento de Resíduos

1 O Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais (LaCFI) adota o uso de
 2 Equipamentos de Proteção Individual (EPI), como guarda-pó de algodão, luvas,
 3 óculos de proteção, calças compridas e sapatos fechados, para promover a
 4 segurança de seus integrantes.

5 Além disso, tomam medidas semanalmente de como promover segurança no
 6 laboratório, ou seja, como manusear reagentes, como proceder com reações
 7 perigosas e como utilizar equipamentos. Qualquer tipo de trabalho é sempre
 8 realizado na capela com sistema de exaustão, evitando contato direto com o
 9 pesquisador. Todos os critérios são seguidos para evitar acidentes e gerar um
 10 ambiente conservado para o trabalho.

11 Os resíduos gerados no laboratório são classificados em cinco categorias:
 12 resíduo sólido, solventes halogenados, não halogenados, aquosos e ácidos. Eles
 13 podem ser descartados ou tratados de acordo com os padrões, os solventes são
 14 destilados para um possível reaproveitamento. As vidrarias quebradas são
 15 analisadas para possível conserto ou descartadas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da Maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)

1 Inicialmente, a Maghemita, óxido de ferro, foi previamente preparado por
2 coprecipitação de FeCl_3 e FeCl_2 pelo Grupo de Estudos em Materiais Poliméricos
3 (POLIMAT) do Departamento de Química da UFSC. O material então foi testado na
4 reação multicomponente clássica para obtenção dos ésteres de Hantzsch. A
5 caracterização do material foi também realizada pelo POLIMAT.

6 Posteriormente, realizou-se a análise Microscopia Eletrônica de Transmissão
7 (MET) que indicou que as partículas possuem diâmetro aproximado de 7
8 nanômetros (**Figura 10**), o que resulta em um grande aumento na área superficial,
9 melhorando assim o contato do reagente com o componente ativo da Maghemita.
10 Foi realizado também a Magnetometria de Amostra Vibrante que comprovou que se
11 trata de um material superparamagnético (**Figura 11**), o que para o presente trabalho
12 é de suma importância, dado que é uma propriedade que possibilita a fácil remoção
13 do meio reacional através de aproximação de um ímã.

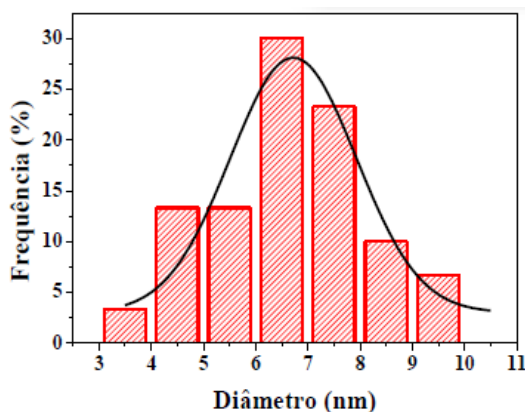


Figura 10. Distribuição de tamanho por Microscopia Eletrônica de Transmissão.

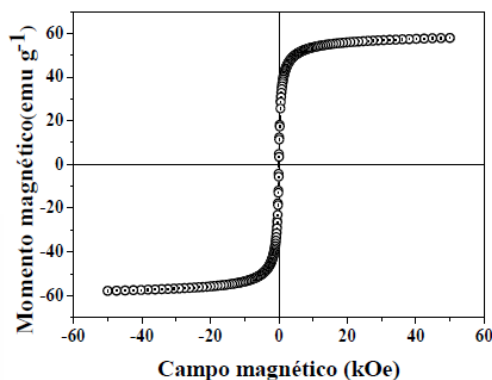
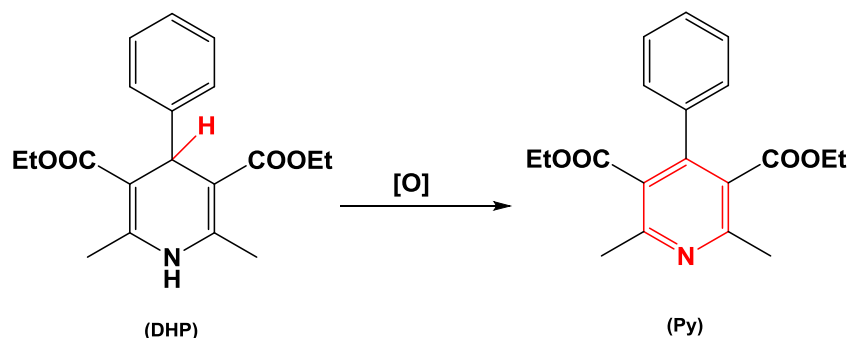


Figura 11. Magnetometria de Amostra Vibrante.

5.2 Otimização reacional da síntese de Hantzsch

1 A 4-fenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto B**),
 2 formada a partir da condensação de *Knoevenagel*, seguida da formação de enamina
 3 e adição de Michael. Neste trabalho, foi utilizado a Maghemita (10% mol),
 4 inicialmente, foi conduzida em diferentes temperaturas (90, 60 °C e temperatura
 5 ambiente) e diferentes tempos reacionais (10 minutos, 1 e 3 horas) sem a utilização
 6 de solvente orgânico. Os resultados apresentados (**Tabela 3**) mostram-se que há
 7 necessidade de uma alta temperatura para que a reação ocorra. Além do mais,
 8 quanto menor o tempo reacional a formação de produto oxidado (**Py**) é minimizado.
 9 Contudo, 10 minutos (**entrada 2**) não é suficiente para apresentar um produto
 10 quantificável, uma vez que há a presença de muitos intermediários no meio
 11 reacional. A fim de investigar a possível causa da oxidação do produto (**Esquema 9**),
 12 na entrada **4** a reação foi realizada em atmosfera inerte, no entanto, não houve
 13 mudança de resultado, a proporção de produto oxidado continuou a mesma.



Esquema 9. Oxidação do anel dihidropiridínico da 4-fenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila.

1 Ao comparar a entrada **4** com a entrada **6** percebe-se que se triplicou o
 2 equivalente de acetato de amônio, o que resultou no aumento do rendimento. A
 3 explicação plausível para isto é que primeiramente o acetato de amônio sofre
 4 degradação em meio aquoso originando a amônia gasosa e ácido acético. Parte
 5 dessa amônia gerada *in situ* pode atuar como base frente aos hidrogênios α das
 6 carbonilas do β -cetoéster, os quais possuem $pK_a \sim 11$,⁶⁸ juntamente com a
 7 complexação do Fe (III) aos oxigênios das carbonilas do β -cetoéster elevando ainda
 8 mais a acidez, facilitando a enolização para o processo reacional da condensação
 9 de *Knoevenagel*. Outro fator relevante para essa explicação é que esta
 10 condensação não ocorre sem a adição de amônia no meio, mesmo em presença do
 11 catalisador.

Tabela 3. Otimização das condições reacionais.

Entrada	NH ₄ OAc (mmol)	Solvente	T (°C)	Tempo	CG (DHP:PY)	Rend* (%)
1	1	-	90	3h.	76:24	48
2	1	-	90	10min.	93:07	-
3	1	-	T.A	1h.	-	-
4**	1	-	90	1h.	85:28	55
5	1	-	60	3h.	54:45	-
6	3	-	90	1h.	-	74
7	3	EtOH	90	1h.	-	74

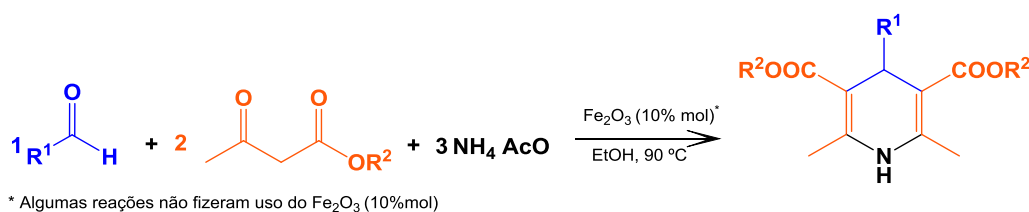
Condições Reacionais: 1mmol de benzaldeído, 2mmol de acetoacetato de etila e 15 mmg de Maghemita.

*Produto isolado e purificado por CCS **Realizado sob atmosfera inerte.

1 Em suma, a melhor condição reacional apresentada foi da entrada **6**, no entanto,
 2 ao comparar com a entrada **7**, ambas apresentaram o mesmo rendimento de
 3 produtos isolados, nas mesmas condições, alterando apenas o uso do solvente
 4 etanol na entrada **7**. Resolveu-se prosseguir então com a condição reacional da
 5 última entrada, uma vez que embora haja o uso de um solvente orgânico, pela
 6 seleção de solvente GSK (GlaxoSmithKline) o etanol apresenta pontuação oito no
 7 score *Environment Impact*, contribuindo positivamente como solvente “verde”.⁶⁹
 8 Ademais auxilia no processo reacional em questão, promovendo a homogeneização
 9 do meio e facilitando os processos de extração e purificação da reação.

5.3 Síntese das 1,4-Dihidropiridinas

10 A síntese dos derivados das 1,4-dihidropiridinas contendo diferentes substituintes
 11 foi realizada através da metodologia descrita anteriormente, que se baseia em dois
 12 equivalentes de β -cetoéster, um equivalente de aldeído e um excesso de acetato de
 13 amônia. (**Esquema 10**).



Esquema 10. Síntese multicomponente de 1,4-dihidropiridinas.

14 Foram então sintetizados os compostos **A-E (Tabela 2)** através das condições
 15 descritas na **Tabela 4**, ondes apenas as entradas **9*** e **11*** não empregam o uso de
 16 catalisador Maghemita.

Tabela 4. Condições reacionais para síntese das entradas 7-12.

Ent.	R ¹	R ²	Maghemita	T (°C)	Solvente	Tempo	Rend.
7	H	Et	15mg	90	EtOH	1h.	24%
8	Ph	Et	15mg	90	EtOH	1h.	74%
9	4-(Me) ₂ -N-C ₆ H ₄	Et	15mg	90	EtOH	24h.	54%
9*	4-(Me) ₂ -N-C ₆ H ₄	Et	-	90	EtOH	24h.	63%
10	4-OH,3-OMe-C ₆ H ₃	Et	15mg	90	EtOH	1h.	33%
11	2-NO ₂ -C ₆ H ₄	Me	15mg	90	MeOH	24h.	76%
11*	2-NO ₂ -C ₆ H ₄	Me	-	90	EtOH	24h.	22%
12	Furil	Et	15mg	90	EtOH	1h.	-

Condições Reacionais: 1mmol de aldeído, 2mmol de β-cetoéster, 3mmol de acetato de amônia.

1 As entradas **9** e **9*** com e sem ação da Maghemita, respectivamente, mostram
 2 rendimentos divergentes do esperado. Acredita-se que a explicação para isto se dá
 3 na primeira etapa reacional, na condensação de *Knoevenagel*, em virtude que na
 4 entrada **9** o meio reacional foi catalisado, dessa forma a Maghemita deveria atuar
 5 como um ácido de Lewis, complexando os oxigênios do cetoéster ou o oxigênio do
 6 aldeído para formar o primeiro intermediário. Contudo, como o aldeído trata-se de
 7 um dimetilaminobenzaldeído possivelmente o nitrogênio acaba se coordenando à
 8 Maghemita, tornando a reação mais lenta e um produto com rendimento abaixo do
 9 esperado.

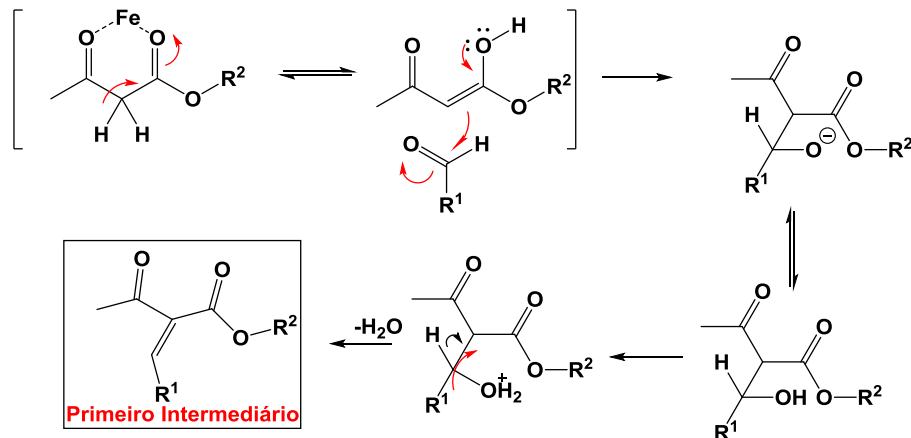
10 Ao analisar a entrada **10** verificou-se que a eficiência do catalisador é
 11 dependente do caráter dos substituintes no aldeído, onde a utilização de vanilina em
 12 curto tempo reacional levou à baixo rendimento do composto, uma vez que houve a
 13 formação de inúmeros intermediários ligados aos substituintes do benzaldeído. Já
 14 nas entradas **11** e **11***, com e sem catalise respectivamente, ficaram evidentes que o
 15 rendimento maior está para o meio reacional catalisado, evidenciando que a

1 Maghemita atuou com eficiência sobre o sítio ativo do oxigênio do aldeído e do
2 cetoéster.

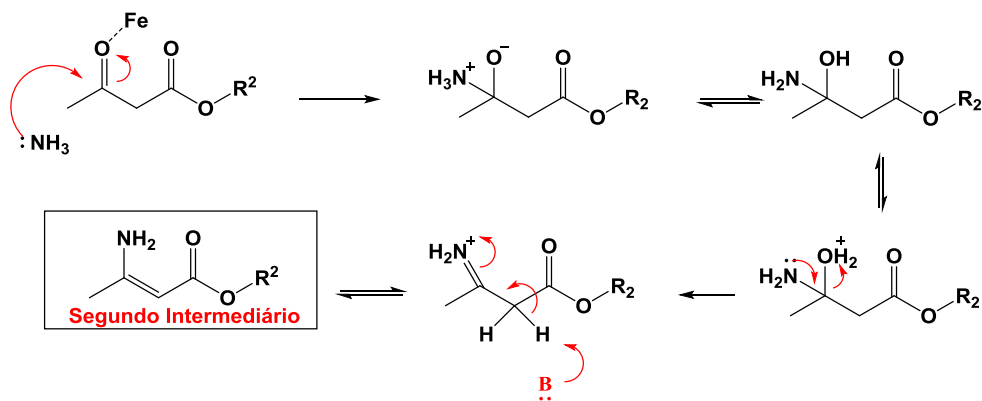
3 Além do mais, ao comparar as entradas **9** e **11**, com R³ sendo derivados do 4-
4 dimetilaminobenzaldeído e 2-nitrobenzaldeído respectivamente, o dimetilamino atua
5 como um grupo responsável por ativar o anel aromático, desta maneira o ataque
6 nucleofílico sobre a carbonila do aldeído é menos pronunciado do que a carbonila do
7 benzaldeído substituído com grupo nitro, o qual é um grupo retirador.

8 Em suma, os grupos doadores de elétrons demonstraram diminuição no
9 rendimento em comparação com a mesma reação em ausência do catalisador, por
10 provável coordenação com o metal, mesmo em longos tempos reacionais.

11 Na literatura são relatados diversos trabalhos onde a reação multicomponente
12 para formação das 1,4-dihidropiridinas passa por três etapas reacionais. Iniciando
13 com a condensação de *Knoevenagel* entre um aldeído e um cetoéster, formando o
14 primeiro intermediário, enolato (**4**) (**Esquema 11**), seguido da formação do segundo
15 intermediário, enamina (**5**), pela adição nucleofílica do cetoéster com a amônia
16 (**Esquema 12**) e por fim a Adição de Michael, gerando o produto esperado.



Esquema 11. Mecanismo proposto para condensação de *Knoevenagel*.



Esquema 12. Mecanismo proposto para formação de enamina.

1 A partir disso, evidências plausíveis comprovaram por espectrometria de
 2 massas que realmente a rota sintética das dihidropiridinas segue o mecanismo
 3 proposto anteriormente, visto que na síntese da Nifedipina (**Composto D**) foi
 4 identificado o fragmento característico do primeiro intermediário em 9,06 minutos,
 5 após migração por uma coluna apolar, com pico do íon molecular $m/z = 206$. (**Figura**
 6 **12**).

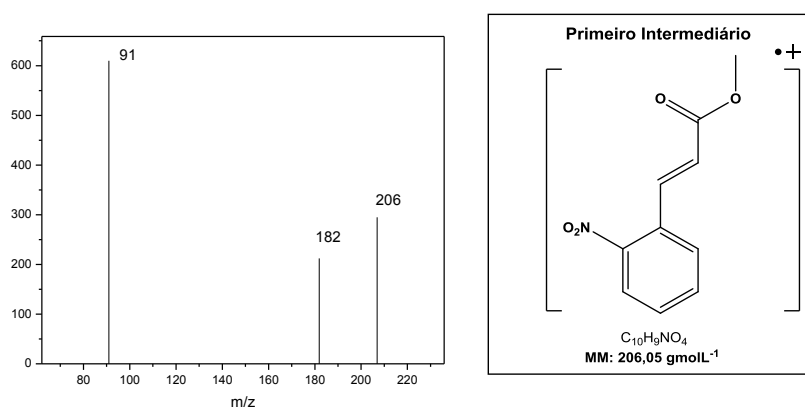


Figura 12. Espectro de massa da 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (**Composto D**).

7 Ademais, na preparação da molécula contendo o grupo dimetilamino
 8 (**Composto C**) observou-se um pico em 10,5 minutos com fragmento $m/z =$ razão
 9 129, corroborando a formação do segundo intermediário reacional (**Figura 13**).

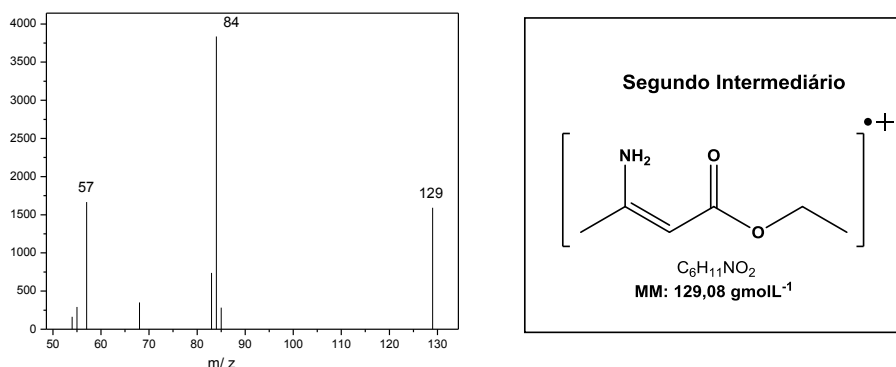


Figura 13. Espectro de massas da 4-(4-(dimetilamino)fenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (**Composto C**).

5.4 Caracterização dos Heterociclos Dihidropiridínicos

1 As 1,4-dihidropiridinas sintetizadas foram caracterizadas através de ressonância
 2 magnética nuclear de hidrogênio e carbono, espectroscopia de absorção na região
 3 do infravermelho, espectrometria de massas e ponto de fusão. A análise por RMN ¹H
 4 permite observar o aparecimento de sinais característicos destas moléculas,
 5 correspondentes ao hidrogênio benzílico (H4) e ao hidrogênio ligado ao nitrogênio
 6 da dihidropiridina (H1) (**Figura 14**).

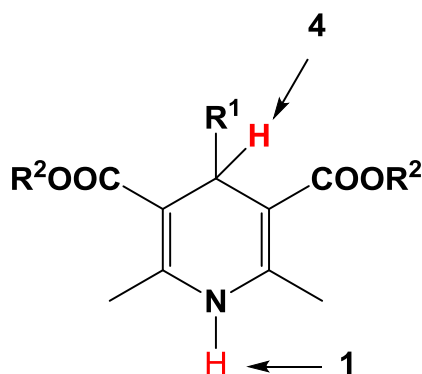


Figura 14. 1,4-Dihidropiridina com hidrogênio 1 e 4 em destaque.

7 O mesmo sinal do hidrogênio benzílico (H4) visto no RMN¹H são correspondidos
 8 a sinal no RMN¹³C, para o carbono benzílico. Além disso, no infravermelho o
 9 estiramento N-H da dihidropiridina destaca-se em todas estruturas.
 10 No espectro de RMN¹H do derivado 4-dimetilaminofenil da dihidropiridina (**Figura**
 11 **15**), pode ser visualizado o sinal simpleto do hidrogênio benzílico, ligado ao carbono
 12 sp³ em 4,98 ppm, característico que houve a condensação entre os dois
 13 intermediários, através da Adição de Michael, levando ao produto. O simpleto do

1 hidrogênio da amina secundária do anel dihidropiridinico aparece em 5,97 ppm, essa
 2 presença indica que o produto se encontra na forma reduzida, por conseguinte não
 3 há a aromatização do anel central.

4 A região dos hidrogênios aromáticos apresenta no espectro o acoplamento entre
 5 os hidrogênios vizinhos **a** e **b**, originando em dois dupletos ($^3J = 8\text{Hz}$). Na região
 6 entre 4,5 ppm a 1 ppm o **composto C** apresenta característicos sinais, em 4,09
 7 ppm encontra-se o quarteto com acoplamento 6 Hz para o cetoéster, assim como os
 8 singletos 2,87 ppm e 2,29 ppm, respectivamente, referentes às metilas do grupo
 9 amino e às metilas 2,6 do heterociclo nitrogenado, já em 1,23 ppm o triploto com
 10 acoplamento 6 Hz é clássico de metilas do grupo cetoéster, já que eles são mais
 11 desblindados por estarem próximos ao efeito retirado da carbonila do éster. Devido à
 12 simetria molecular, os sinais decorrentes do cetoéster não aparecem duplicados.

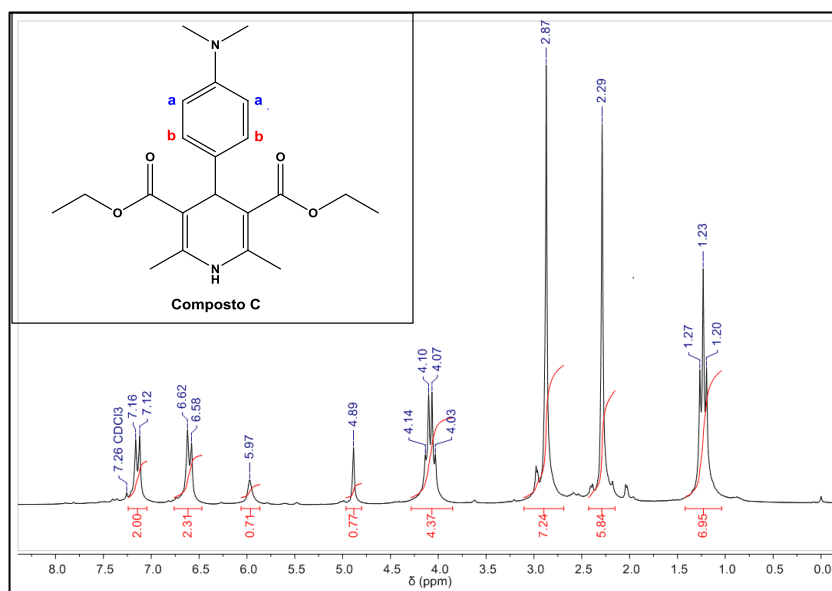


Figura 15. Espectro de RMN¹H (200MHz, CDCl₃) da 4-[(4-dimetilamin)fenil]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto C**).

13 Na análise através de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (**Figura 16**)
 14 foi observado o sinal do carbono benzílico característico em 40,73 ppm. O carbono
 15 carbonílico do cetoéster em 167,91 ppm e outros 3 sinais dos carbonos quartenários
 16 entre 149-137 ppm, enquanto o carbono quartenário ligado à carbonila aparece em
 17 104,32 ppm pois sofre um deslocamento químico devido a desblindagem maior. Os
 18 carbonos secundários aromáticos aparecem em 128,54 e 112,31 ppm e em 59,60
 19 ppm o carbono secundário do cetoéster. Os carbonos primários são observados

- 1 entre 38-15 ppm, sendo os carbonos ligados diretamente na amina terciária em
- 2 38,35 ppm.

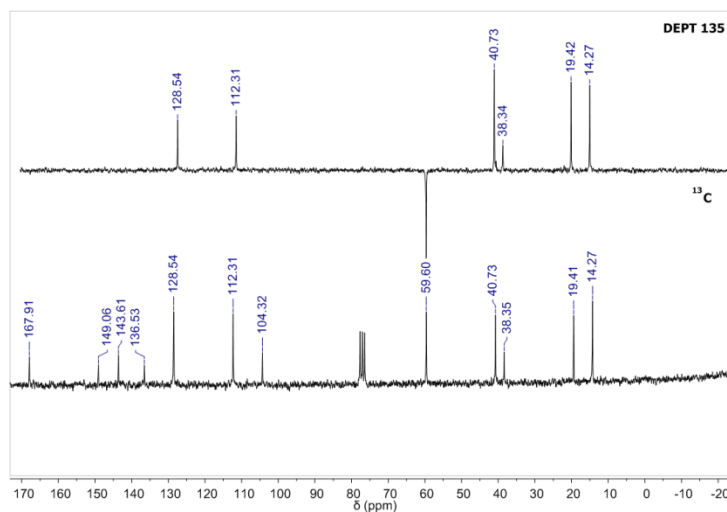


Figura 16. Espectro de RMN ^{13}C (400MHz, CDCl_3) da 4-[(4-dimetilamin)fenil]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto C**).

- 3 No espectro da região do infravermelho (**Figura 17**) é possível analisar a
- 4 identidade dos grupos funcionais. Neste caso, observa-se a banda alargada 3330
- 5 cm^{-1} característico do estiramento da ligação N-H da dihidropiridina. Na região entre
- 6 3000 cm^{-1} pode se atribuir o processo vibracional do C-H específico da posição 4 do
- 7 anel heterociclo. Ademais, é plausível identificar em 1673 cm^{-1} o pico referente ao
- 8 estiramento C=O do éster, nesta mesma região aparece bandas de C=C das duplas
- 9 ligações do anel central dihidropiridinico.

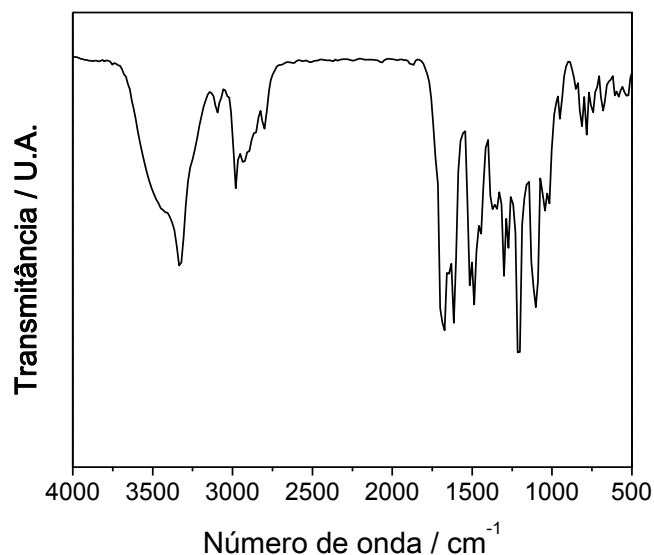


Figura 17. Espectro na região do infravermelho da 4-[(4-dimetilamin)fenil]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto C**).

1 Os compostos dihidropiridinicos sintetizados também foram submetidos à análise
2 em espectrômetro de massas. O composto 4-[(4-dimetilamin)fenil]-2,6-dimetil-1,4-
3 dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto C**) foi detectado em 11
4 minutos de tempo de retenção por meio de vários fragmentos característicos do
5 substrato, com razão massa carga de 281, 251, 205, 178 e 106 (**Figura 18 B3**). Em
6 8 minutos é observado o íon molecular com razão massa carga de 129, referente ao
7 segundo intermediário (enamina) (**Figura 18 B1**). Já em 9,51 minutos é observado o
8 pico base com razão massa carga 149, relativo ao 4-(dimetilamino)benzaldeído
9 ainda presente no meio reacional (**Figura 18 B2**). Destaca-se que esta análise foi
10 realizada antes da purificação por cromatografia em coluna.

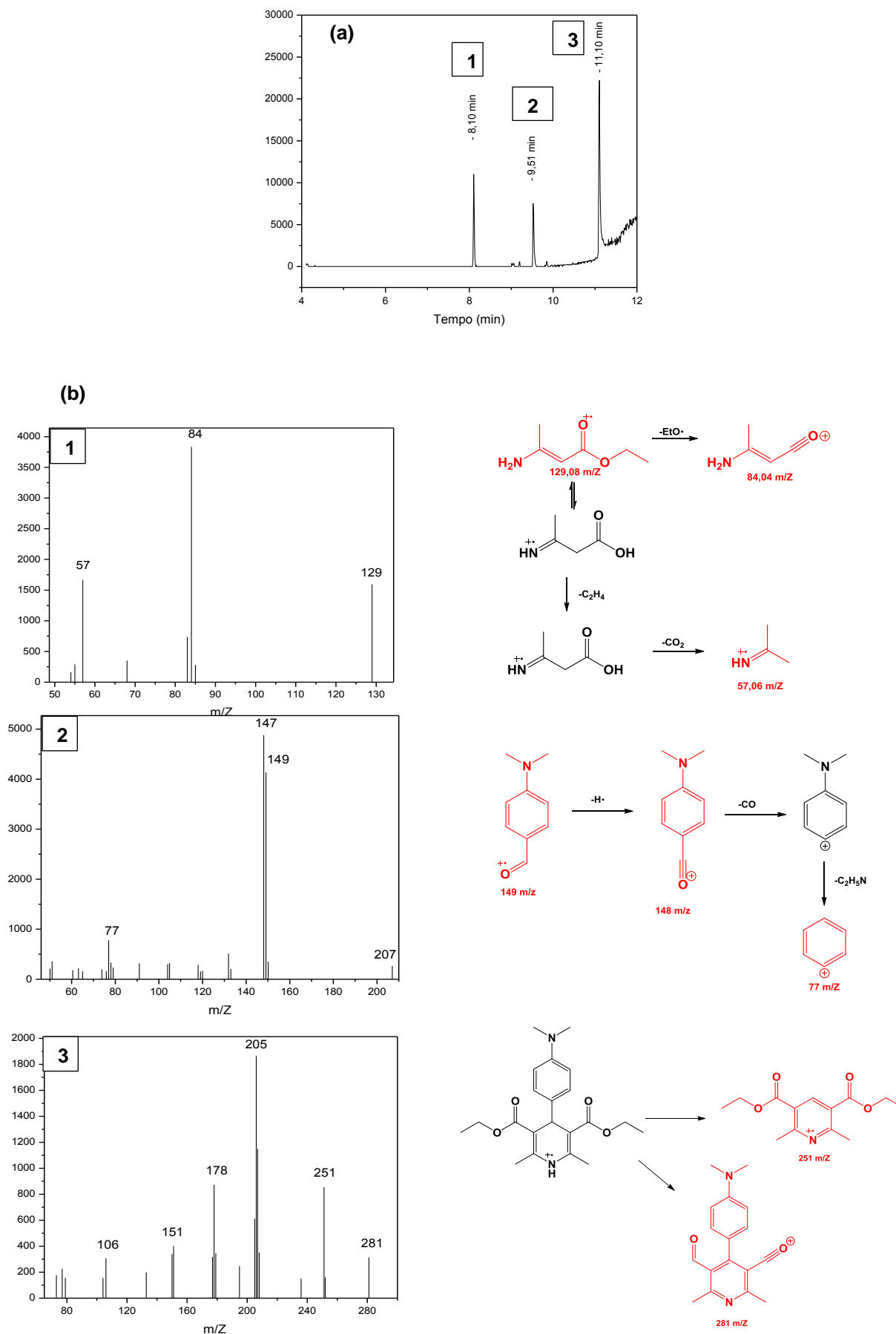


Figura 18. (a) Corrida Cromatográfica da 4-[(4-dimetilamin)fenil]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto C**) **(b)** Fragmentos do **Composto C** em 8,10 min (**B1**); 9,51 min. (**B2**); 11,10 min. (**B3**).

5.5 Acompanhamento reacional por UV-Vis

1 A técnica de espectroscopia na região do UV-Vis foi empregada a fim de
 2 monitorar o meio reacional das 1,4-dihidropiridinas. O estudo iniciou-se com a
 3 síntese do composto **B**, que parte de 1 equivalente de benzaldeído ($106,13 \text{ g.mol}^{-1}$),
 4 2 equivalentes de acetoacetato de etila ($130,14 \text{ g.mol}^{-1}$) e 3 equivalentes de acetato
 5 de amônia ($77,0825 \text{ g.mol}^{-1}$), na presença do catalisador Maghemita (10% mol). A
 6 reação tem como produto a 4-fenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de
 7 dietila com comprimento de onda máximo em 356 nm que difere do reagente
 8 benzaldeído com absorção em 245 nm (**Figura 19**).

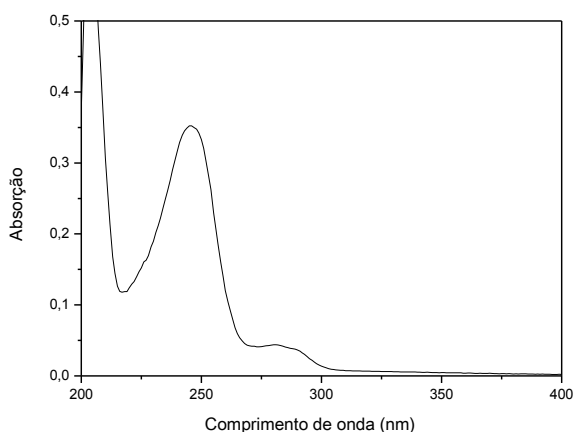


Figura 19. Espectro de absorção na região do UV-Vis do benzaldeído.

9 Inicialmente obteve-se o $\epsilon = 6031,98 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ (coeficiente de absorvidade
 10 molar) a partir da *Lei de Lambert-Beer* pela confecção da curva de calibração do
 11 composto **B** (**Figura 20**).

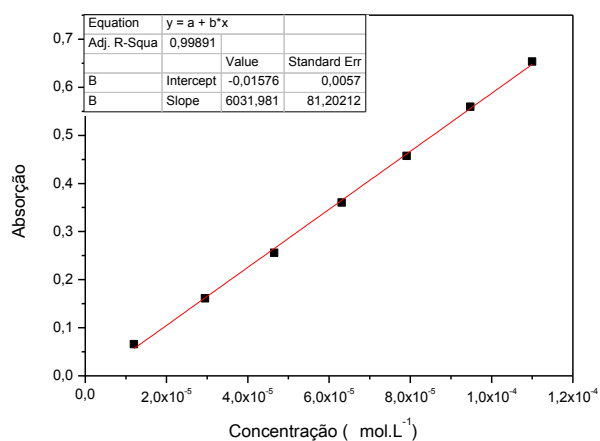


Figura 20. Curva de calibração do **Composto B** em etanol.

1 Então, realizou-se o monitoramento por meio de alíquotas, devidamente diluídas
 2 em etanol, retiradas do meio reacional em intervalos de 5 minutos durante uma hora.
 3 O espectro foi então obtido (**Figura 21**) após 1 hora de reação. Durante o controle
 4 reacional, percebeu-se uma variação no aumento e diminuição de absorção no
 5 comprimento de onda de um dos possíveis intermediários, 275 nm. Este é um dos
 6 obstáculos encontrados nessa técnica por se tratar de uma reação multicomponente.

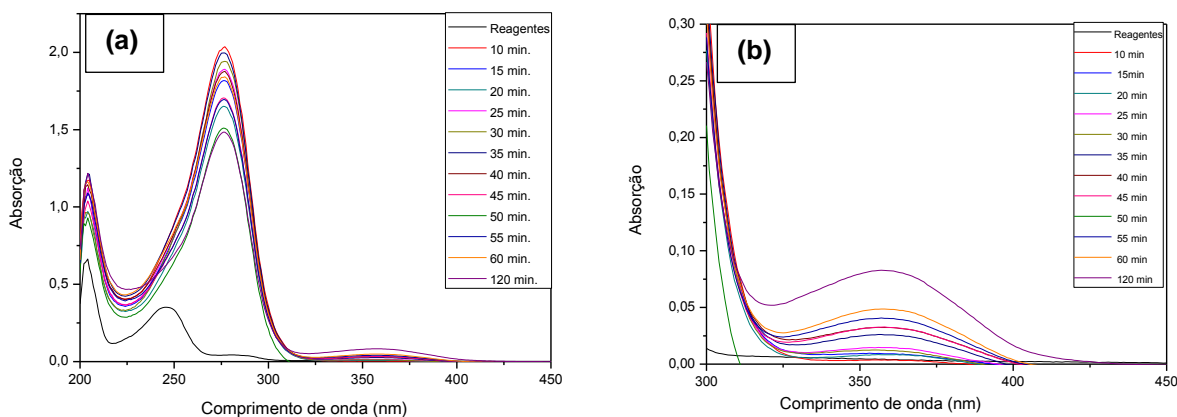


Figura 21. (a) Acompanhamento reacional através de espectroscopia na região do UV-Vis do **Composto B** em etanol. **(b)** Ampliação do produto em 275nm

7 Analisando os valores de absorção obtidos em intervalos de 5 minutos para o
 8 produto foi possível plotar o gráfico da **Figura 22** e obter um valor de conversão pela
 9 Lei de *Lambert-Beer*. A fim de analisar a formação de produto num tempo superior,
 10 deixou-se a reação por mais uma hora de reação.

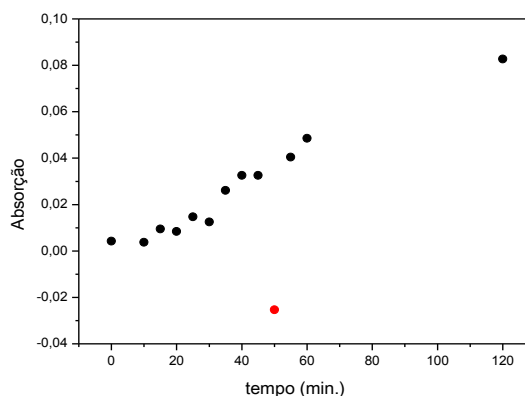


Figura 22. Perfil do surgimento do **Composto B** em 365 nm, através da técnica de espectrofotometria de UV-Vis.

1 Em acréscimo realizou-se o mesmo estudo com os compostos **D** e **E**, os
2 valores de conversão dos reagentes em produtos são apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Conversão dos compostos **B**, **D** e **E** em 1 hora reacional e 2 horas reacionais.

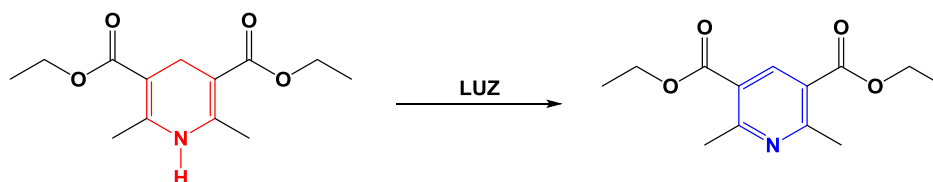
	Conversão (%)	
	1hr.	2hr.
Composto B	12,1	20,6
Composto D	13,7	22,2
Composto E	19,37	26,56

3 Ao comparar esses resultados com o obtido pela purificação, sem
4 monitoramento, há uma notável diferença de rendimentos, visto que um dos
5 problemas encontrados durante a o experimento foi a perda do solvente na retirada
6 de alíquotas, tornando o meio reacional não tão homogêneo, o que dificulta o
7 progresso da reação. Novos estudos se tornam necessários para que se possa
8 realizar essa técnica com outros derivados de 1,4-dihidropiridinas. Ademais,
9 algumas dihidropiridinas já se mostram fluorescentes, dessa maneira uma
10 perspectiva é realizar o monitoramento reacional por técnica espectrofotométrica de
11 fluorescência.

5.6 Propriedades Fotofísicas

12 As propriedades fotofísicas dos compostos sintetizados foram determinadas
13 através das técnicas espectroscópicas na região do UV-Vis e fluorescência. Este
14 estudo iniciou com a investigação da fotooxidação do **HEH** sob ação da luz.
15 Posteriormente, foi avaliado a influência de modificações estruturais das DHPs nos
16 espectros de absorção de UV-Vis e emissão de fluorescência. Por fim, foi analisado
17 o efeito solvatocrômico sob as estruturas sintetizadas em diferentes solventes.

18 A fim de compreender a sensibilidade significativa à luz das 1,4-dihidropiridinas
19 relatada na literatura, fez-se um estudo com o composto **1** (**HEH**) no processo foto-
20 oxidativo através da espécie reduzida (**HEH**) e oxidada (**HEH_{ox}**) (**Esquema 13**).



Esquema 13. Fotooxidação do composto HEH.

1 Por meio da técnica de espectroscopia de absorção no UV-Vis, em H₂O/ACN
 2 80:20 (v/v), ambas as estruturas apresentaram uma banda em 240 nm referente a
 3 transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$ e uma banda de transição eletrônica $n \rightarrow \pi^*$ que diferem-
 4 se entre si, o **HEH** apresenta em 375 nm enquanto o **HEH_{ox}** em 280 nm. Com as
 5 análises de fluorescência é observado forte emissão para o composto **HEH** em 463
 6 nm frente ao **HEH_{ox}**, em virtude da conjugação eletrônica entre as carbonilas e as
 7 insaturações do núcleo heterocíclico da dihidropiridina, processo ausente para o
 8 derivado piridínico.

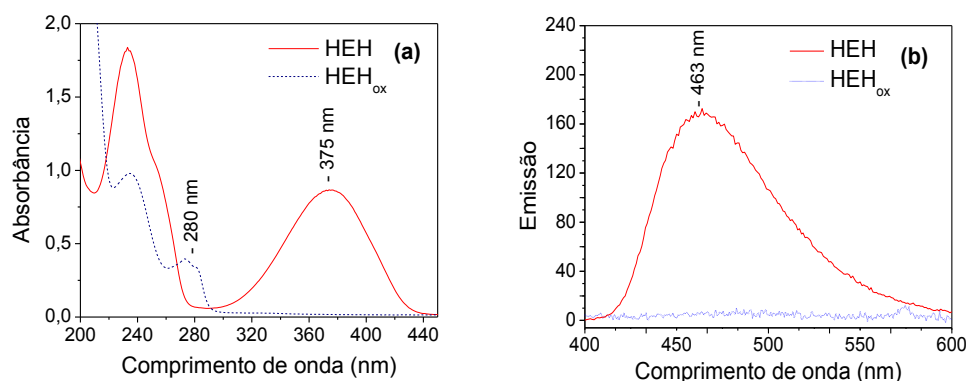


Figura 23. (a) Espectro de absorção na região do UV-Vis para os compostos **HEH** e **HeH_{ox}** em H₂O/ACN 80:20 (v/v) e concentração de 1×10^{-4} molL⁻¹. (b) Espectro de emissão de fluorescência para os compostos **HEH** e **HeH_{ox}** em H₂O/ACN 80:20 (v/v) e concentração de 1×10^{-4} molL⁻¹.

9 Este estudo se tornou essencial, dado que quando as dihidropiridinas são
 10 expostas à luz acabam oxidando e levando a aromatização do anel. Sabe-se que
 11 elas são moléculas potencialmente bioativas, logo esse processo de fotooxidação
 12 pode levar a perda de atividades farmacológicas. Desse modo o cuidado na síntese
 13 se torna necessário.

14 Em acréscimo foi realizado um ensaio comparativo entre os substituintes no
 15 anel aromático adjacente ao cromóforo dihidropiridina, através da obtenção de
 16 espectro de absorção e emissão de fluorescência em clorofórmio. A presença de

1 grupos auxocromos (dimetilamino, nitro, hidroxila e metoxila) evidencia a influência
 2 desses grupos ao comparar os comprimentos de onda de absorção (**Figura 24**).
 3 Pávez e colaboradores⁶⁸ relatam o efeito de um anel aromático fixado na posição 4
 4 das dihidropiridinas, ocasionando a extensão do sistema eletrônico π das DHPs ao
 5 substituinte aromático, provocando a diminuição no $\lambda_{M\acute{a}x}$, levando a um desvio para o
 6 azul.

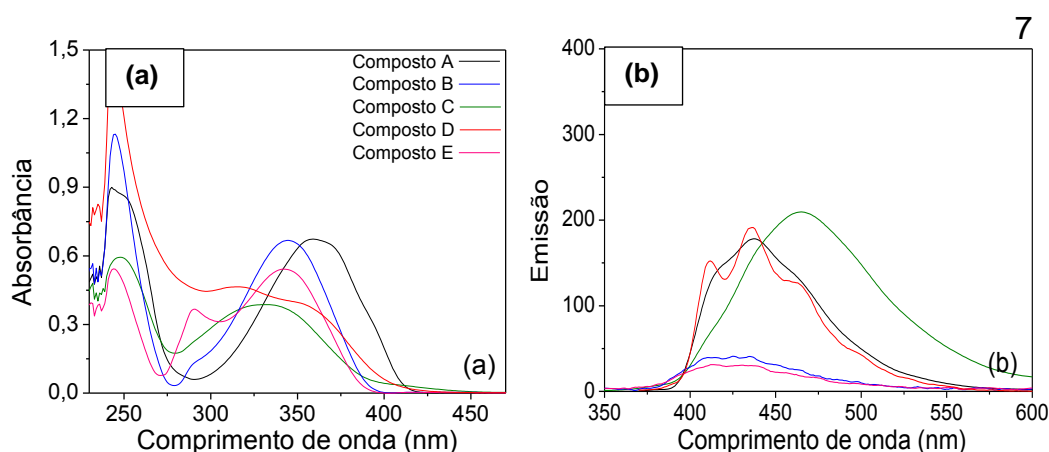


Figura 24. (a) Espectro de absorção na região do UV-Vis dos compostos **A-E** em clorofórmio com concentração de 1×10^{-4} mol L⁻¹ (b) Espectros de fluorescência para os compostos **A-E** em clorofórmio com concentração de 1×10^{-4} mol L⁻¹.

8 Em relação à emissão de fluorescência no clorofórmio, o **Composto C** possui
 9 emissão intensa com deslocamento batocrômico em 465 nm, com um deslocamento
 10 de 30 nm quando comparado com **HEH**, observando um deslocamento para o
 11 vermelho (**Figura 24**). Esse efeito indica que o estado excitado do **Composto C** é
 12 mais estabilizando comparado ao do **HEH**, como resultado de um processo de
 13 transferência de carga intramolecular no estado excitado.⁷⁰

14 Ao analisar o espectro de emissão dos compostos (**A-E**) num solvente mais
 15 polar, H₂O/ACN 80:20 (v/v), a perda de fluorescência é aparente nos compostos **C** e
 16 **D** (**Figura 25**). O composto **C** e **D** por apresentarem respectivamente um grupo
 17 dimetilaminofenil e nitrofenil substituído, podem promover ligações de hidrogênio
 18 entre os auxocromos e o solvente polar prótico, ao invés de promover uma
 19 estabilização por transferência de carga intramolecular com o solvente. Além do
 20 mais, o composto **C** é parcialmente solúvel em solventes aquosos ocasionando a

- 1 formação de uma agregado que precipita, podendo quebrar o efeito de transferência
- 2 de carga.

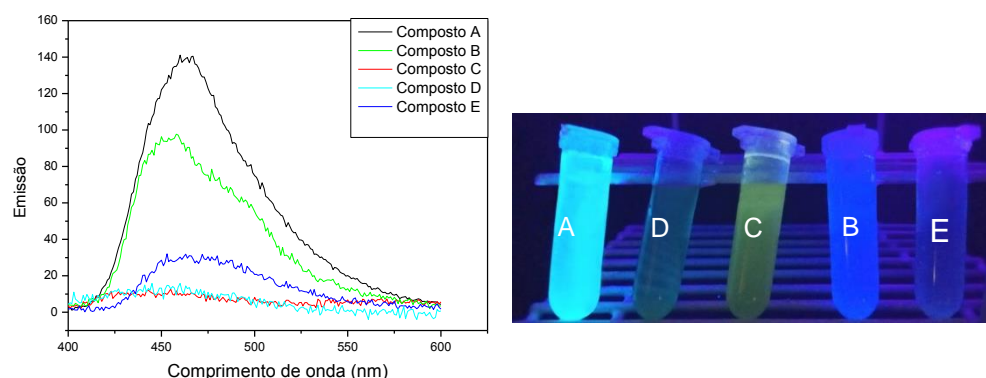


Figura 25. (a) Espectro de emissão de fluorescência dos compostos (A-E)

(b) (A) HEH (B) Dicarboxilato de dietila 1,4-dihidropiridina fenil substituída (C) Dicarboxilato de dietila 1,4-dihidropiridina diamino fenil substituída (D) Dicarboxilato de dietila 1,4-dihidropiridina vanilina substituída (E) Nifedipina em H₂O/ACN 80:20 (v/v) sob irradiação UV 365 nm.

- 3 Em seguida foi estudado o efeito nas propriedades espectrais e fotofísicas
- 4 dos compostos sintetizados (A-E) em diferente solventes: clorofórmio, etanol e
- 5 H₂O/ACN 80:20 (v/v) (**Tabela 6**).

Tabela 6. Propriedades fotofísicas dos compostos (A-E) em diferentes solventes.

	Clorofórmio			Etanol			H ₂ O/ACN 80:20 (v/v)		
	$\lambda_{\text{abs}} (\epsilon) / \text{nm}$	$\lambda_{\text{em}} / \text{nm}$	$\Delta\lambda_{\text{ST}}$	$\lambda_{\text{abs}} (\epsilon) / \text{nm}$	$\lambda_{\text{em}} / \text{nm}$	$\Delta\lambda_{\text{ST}}$	$\lambda_{\text{abs}} (\epsilon) / \text{nm}$	$\lambda_{\text{em}} / \text{nm}$	$\Delta\lambda_{\text{ST}}$
Composto A	360 (7178,9)	435	75	370 (5616,3)	460	90	375 (6281,5)	463	88
Composto B	345 (6272,1)	425	100	355 (5182,9)	428	73	355 (452,5)	425	70
Composto C	330 (5317,7)	465	135	350 (8865,8)	n.a.	-	355 (4336,8)	n.a.	-
Composto D	317 (5286,3)	435	118	337 (3681,6)	n.a.	-	370 (6162,0)	n.a.	-
Composto E	342 (6746,6)	425	83	355 (5642,7)	428	90	358 (n.a.)	438	80

Parâmetros: λ_{abs} = comprimento de onda de absorção; λ_{em} = comprimento de onda de emissão; ϵ = coeficiente de absorção (L mol⁻¹ cm⁻¹).

- 6 A **Tabela 5** mostra uma das modificações mais evidentes no espectro de
- 7 absorção, o qual consiste no deslocamento batocrômico (deslocamento para o
- 8 vermelho) da banda n- π^* de todos os 5 compostos com o aumento da polaridade do
- 9 solvente e em solventes próticos, os quais permitem a formação de ligações de

1 hidrogênio. Essa interação leva a uma diminuição da energia do sistema, refletida
 2 em espectros com maior comprimento de onda. O deslocamento maior foi observado
 3 para o composto **D**, com o substituinte 2-nitrofenil, isto é esperado devido à maior
 4 deslocalização eletrônica por se tratar de um substituinte aceitador de elétrons.

5 Na emissão de fluorescência dos compostos **HEH** e **Composto E**, esse
 6 deslocamento batocrômico também é observado na forma que o solvente altera o
 7 momento de dipolo dos estados S_0 e S_1 das moléculas. Pávez e colaboradores
 8 também descrevem o efeito do solvente nas propriedades espectroscópicas de
 9 dihidropiridinas principalmente através do parâmetro de aceitação de ligação de
 10 hidrogênio (β), seguido de menores contribuições de polarizabilidade (π^*) e doação
 11 de ligação de hidrogênio (α).

12 A fim de visualizar o efeito do solvente no deslocamento da banda discutido
 13 anteriormente, a **Figura 26** representa o espectro de absorção e emissão composto
 14 **1 (HEH)** nos diferentes solventes.

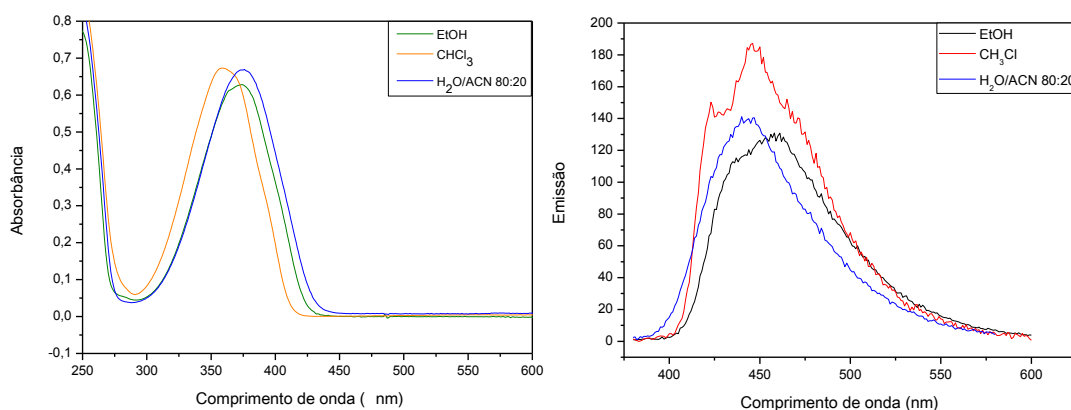


Figura 26. (a) Espectro de absorção na região do UV-Vis do **HEH** em diferentes solventes
(b) Espectro de emissão de fluorescência do **HEH** em diferentes solventes.

5.7 Ensaio Citotóxico das 1,4-Dihidropiridinas

15 As dihidropiridinas **A** e **D** foram selecionadas para o primeiro ensaio citotóxico
 16 frente à linhagem de células de LB (Daudi) pelo método de MTT (brometo de 3-(4,5-
 17 dimetil-2-tiazol) 2,5-difenil tetrazólio). Este estudo foi realizado pela aluna de
 18 mestrado Lisandra de Oliveira Silva do Laboratório de Oncologia Experimental e
 19 Hematopatias (LOEH) da Universidade Federal de Santa Catarina.

1 Primeiramente foi feito uma triagem dos compostos que apresentaram maior
2 redução na viabilidade celular. Os resultados obtidos indicaram que houve uma
3 baixa redução da viabilidade celular na concentração de 100 μ M quando
4 comparadas ao grupo controle (células sem tratamento) na linhagem Daudi para os
5 compostos **9** e **11**. Dessa forma, os estudos de avaliação de citotoxicidade em
6 diferentes concentrações (1-100 μ M) e tempos de 24, 48 e 72h não foram
7 realizados.

8 Visando a obtenção de resultados melhores, testes com outros derivados de
9 1,4-dihidropiridinas serão realizados.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

1 A partir dos resultados obtidos nesse projeto, algumas conclusões finais e
2 comentários acerca das perspectivas do trabalho serão descritas.

3 Através dos experimentos mencionados, foram identificados indícios de um bom
4 direcionamento na síntese multicomponente de derivados de 1,4-dihidropiridinas de
5 Hantzsch (**A-E**) com rendimentos entre 24-76%, já esperados. Os produtos foram
6 então comprovados pelas técnicas de caracterização CG-EM, RMN ^1H , ^{13}C e IV.

7 Além disso, o uso da Maghemita, uma nanopartícula magnética, como catalisador
8 apresentou resultados satisfatórios, uma vez que além de proporcionar uma
9 eficiência no tempo reacional, foi facilmente removida do meio reacional através da
10 aproximação de um ímã, em virtude de se tratar de uma partícula
11 superparamagnética.

12 Acerca dos obstáculos deparados durante o projeto, percebeu-se a característica
13 fotossensível das 1,4-dihidropiridinas, sofrendo fotooxidação sob ação da luz, o que
14 pode ser um limitante para se obter bons rendimentos. Ademais, por se tratar de
15 uma reação multicomponente o acompanhamento reacional por espectroscopia de
16 UV-Vis apresenta grandes limitações frente às reações multietapas.

17 Visto o momento delicado que o mundo vem enfrentado frente à pandemia,
18 alguns experimentos necessitaram ser interrompidos, visto que o primordial no
19 momento é a saúde de todos. Assim, como futuras perspectivas, espera-se avaliar a
20 reutilização da Maghemita, como também comparar sua eficiência frente ao
21 catalisador mesoporoso Fe-SBA15 citado na revisão da literatura, e assim concluir
22 seu real potencial catalítico.

7. REFERÊNCIAS

- (1) Rogerio, K. R., Vitório, F., Kummerle, A. E., & Graebin, C. S. (2016). Multicomponent reactions: A brief history and their versatility for the synthesis of biologically active molecules. **Revista Virtual de Quimica**, 8(6), 1934–1962.
- (2) MacLeod, I. A., Kumar, B., & McCullough, J. (2009). Strategies for Innovation in the Design. **Innovation in Civil and Construction Engineering**, 49(3), 29–32.
- (3) Del Corte, X., Marigorta, E. M. De, Palacios, F., Vicario, J., Corte, X., Marigorta, E. M. De, ... Vicario, J. (2019). **Molecules**. A Brønsted Acid-Catalyzed Multicomponent Reaction for the Synthesis of Highly Functionalized γ -Lactam Derivatives, 24, 2951.
- (4) Hayashi, Y. (2016). **Chemical Science**. Pot economy and one-pot synthesis 7(2), 866–880.
- (5) Ruijter, E., Scheffelaar, R., & Orru, R. V. A. (2011). **Angewandte Chemie - International Edition**. Multicomponent reaction design in the quest for molecular complexity and diversity., 50(28), 6234–6246.
- (6) Singh, M. S., & Chowdhury, S. (2012). **RSC Advances**. Recent developments in solvent-free multicomponent reactions: A perfect synergy for eco-compatible organic synthesis, 2(11), 4547–4592.
- (7) Zarganes-Tzitzikas, T., & Dömling, A. (2014). **Organic Chemistry Frontiers**. Modern multicomponent reactions for better drug syntheses, 1(7), 834–837.
- (8) Anastas, P., & Eghbali, N. (2010). **Chemical Society Reviews**. Green chemistry: Principles and practice., 39(1), 301–312.
- (9) Sheldon, R.A. (2012). **Chemical Society Review**. Fundamentals of green chemistry: Efficiency in reaction design, 41(4), 1437-1451.
- (10) Anastas, P.T, Kirchhoff, M. M. (2002). **Accountsof Chemical Research** Origins currents status and future challenges of green chemistry, 35(9), 686–694.
- (11) Gerencsér, J., Dormán, G., & Darvas, F. (2006). **QSAR and Combinatorial Science**. Meldrum's acid in multicomponente reactions: Applications to combinatorial and diversity-oriented synthesis, 25(5-6),439-448.
- (12) Hantzsch, A. (1881). **Chem. Ber A**. Hantzsch, 14, 1637.
- (13) Lavilla, R. (2002). **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1** Recent developments in the chemistry of dihydropyridines., 2(9), 1141–1156.

- (14) Saini, A., Kumar, S., & Sandhu, J. S. (2007). **Journal of Scientific and Industrial Research**. Hantzsch reaction: Recent advances in Hantzsch 1,4-dihydropyridines, *67*(2), 95–111.
- (15) Alvim, H. G. O., Da Silva Júnior, E. N., & Neto, B. A. D. (2014). **RSC Advances**. What do we know about multicomponent reactions? Mechanisms and trends for the biginelli, hantzsch, mannich, passerini and ugi MCRs, *4*(97), 54282–54299.
- (16) Kiyani, H., & Ghiasi, M. (2015). **Research on Chemical Intermediates**. Solvent-free efficient one-pot synthesis of Biginelli and Hantzsch compounds catalyzed by potassium phthalimide as a green and reusable organocatalyst, *41*(8), 5177–5203.
- (17) Maheswara, M., Siddaiah, V., Rao, Y. K., Tzeng, Y. M., & Sridhar, C. (2006). **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. A simple and efficient one-pot synthesis of 1,4-dihydropyridines using heterogeneous catalyst under solvent-free conditions, *260*(1–2), 179–180.
- (18) Sharma, V. K., & Singh, S. K. (2017). **RSC Advances**, Synthesis, utility and medicinal importance of 1,2- & 1,4-dihydropyridines, *7*(5), 2682–2732.
- (19) Affeldt, R. F.; Benvenuti, E. V.; Russowsky, D. (2012) **New Journal of Chemistry**. A new In–SiO₂ composite catalyst in the solvent-free multicomponent synthesis of Ca²⁺ channel blockers nifedipine and nemadipine, *36*(7), 1502–1511.
- (20) Xiong, Huan et al. (2018). **European Journal of Medicinal Chemistry**. Discovery of 1,8-Acridinedione Derivatives as Novel GCN5 Inhibitors via High Throughput Screening, *151*, 740–51.
- (21) Zheng, C., & You, S. (2012). **Chemical Society Reviews**. Transfer hydrogenation with Hantzsch esters and related organic hydride donors. *41* (6), 2498-2518.
- (22) Faísca Phillips, A. M., & Pombeiro, A. J. L. (2017). **Organic & Biomolecular Chemistry**. Recent advances in organocatalytic enantioselective transfer hydrogenation. *15*(11), 2307–2340.
- (23) Sharma, M. G., Pandya, J., Patel, D. M., Vala, R. M., Ramkumar, V., Subramanian, R., ... Patel, H. M. (2019). **Polycyclic Aromatic Compounds**. One-Pot Assembly for Synthesis of 1,4-Dihydropyridine Scaffold and Their Biological Applications, *1–11*.
- (24) Hemmateenejad, B., Miri, R., Akhond, M., & Shamsipur, M. (2002). **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**. QSAR study of the calcium channel antagonist activity of some recently synthesized dihydropyridine derivatives.

An application of genetic algorithm for variable selection in MLR and PLS methods., 64(1), 91–99.

(25) Sridharan, V., Perumal, P. T., Avendaño, C., & Menéndez, J. C. (2007). **Tetrahedron**. A new three-component domino synthesis of 1,4-dihydropyridines, 63(21), 4407–4413

(26) Goldman, B. S., & Stoltefuss, J. (1991). **Angewandte Chemie - International Edition** 1,4-Dihydropyridines: Effects of Chirality and Conformation on the Calcium Antagonist and Calcium Agonist Activities, 30, 1559–1578.

(27) Edraki, N., Mehdipour, A. R., Khoshneviszadeh, M., & Miri, R. (2009). **Drug Discovery Today** Dihydropyridines: evaluation of their current and future pharmacological applications, 14(11), 1058–1066.

(28) Epstein, B. J., Vogel, K., & Palmer, B. F. (2007). **Drugs**. Dihydropyridine Calcium Channel Antagonists in the Management of Hypertension. 67(9), 1309–1327.

(29) Aygün Cevher, H., Schaller, D., Gandini, M. A., Kaplan, O., Gambeta, E., Zhang, F. X., Gündüz, M. G. (2019). **Bioorganic Chemistry**. Discovery of Michael acceptor containing 1,4-dihydropyridines as first covalent inhibitors of L-/T-type calcium channels., 91(8), 103187.

(30) Langs, D.A.; Triggle, D.J. (1975). **Molecular Pharmacology**. Conformational features of calcium channel agonist and antagonist analogs of nifedipine, 27(5), 544–548.

(31) D. da Costa Cabrera, D., Santa-Helena, E., Leal, H. P., de Moura, R. R., Nery, L. E. M., Gonçalves, C. A. N., ... Montes D'Oca, M. G. (2019). **Bioorganic Chemistry** Synthesis and antioxidant activity of new lipophilic dihydropyridines, 84(11), 1–16

(32) Kumar, R. S., Idhayadhulla, A., Nasser, A. J. A., & Selvin, J. (2011). **Journal of the Serbian Chemical Society**. Synthesis and antimicrobial activity of a new series of 1,4-dihydropyridine derivatives, 76(1), 1–11.

(33) Manna, D., Akhtar, S., Maiti, P., Mondal, S., Kumar Mandal, T., & Ghosh, R. (2020). **Anti-Cancer Drugs**. Anticancer activity of a 1,4-dihydropyridine in DMBA-induced mouse skin tumor model, 31(4), 394–402.

(34) Kasza, Á., Hunya, Á., Frank, Z., Fülöp, F., Török, Z., Balogh, G., Abisambra, J. (2016). **Journal of Alzheimer's Disease**. Dihydropyridine Derivatives Modulate Heat Shock Responses and have a Neuroprotective Effect in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease, 53(2), 557–571.

- (35) De Luca, M., Ioele, G., & Ragno, G. (2019). **Pharmaceutics** 1,4-Dihydropyridine Antihypertensive Drugs: Recent Advances in Photostabilization Strategies, 11(2), 85.
- (36) Memarian, H. R., Bagheri, M., & Döpp, D. (2004). **Monatshefte Für Chemie/Chemical Monthly**. Synthesis and Photochemistry of Novel 3,5-Diacetyl-1,4-dihydropyridines. II [1], 135(7), 833-838.
- (37) Bayomi, M., Abanumay, K.A., & Al-Angary, A.A. (2002). **International Journal of Pharmaceutics**. Effect of inclusion complexation with cyclodextrins on photostability of nifedipine in solid state. 243(1-2), 107-117.
- (38) Ioele, G., Luca, M. De, Garofalo, A., & Ragno, G. (2017). **Drug Delivery**. Photosensitive drugs: a review on their photoprotection by liposomes and cyclodextrins, 0(0), 33-44.
- (39) Wenz, G. (2000). **Clinical Drug Investigation**. An Overview of Host-Guest Chemistry and its Application to Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, 19(Supplement 2), 21-25.
- (40) Valeur, B., & Berberan-Santos, M. N. (2012). **Wiley- VCH**. Molecular Fluorescence: Principles and Applications, 2nd ed.
- (41) Adams, F., Aime, S., Andersson, L. A., Ando, I., Andrenyak, D. M., Andrews, D. L., ... Vickery, K. (2010). **Elsevier**. Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry, 2nd ed.
- (42) Sjöback, S.; Nygren, J.; Kubista, M. Spectrochim.(1995).Elsevier .Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 51(6), 941-1096.
- (43) Demchenko, A. P. (2009). **Springer Science & Business Media**. Introduction to Fluorescence Sensing, 1-586.
- (44) Lakowicz, J.R.(2006). **Springer Science & Business Media, LLC**. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd ed.
- (45) Drummen, G. P. C. (2012). **Molecules**. Fluorescent probes and fluorescence (microscopy) techniques - illuminating biological and biomedical research, 17 (12), 14067-14090.
- (46) Mondal, P. P.; Diaspro, A. (2014). **Springer, New York**. Fundamentals of fluorescence microscopy: Exploring life with light.
- (47) Crosby, G. A., & Demas, J. N. (1971). **The Journal of Physical Chemistry**. Measurement of photoluminescence quantum yields. Review, 75(8), 991-1024

- (48) Rocha, F. R. P., & Teixeira, L. S. G. (2004). **Química Nova**. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS, 27(5), 807–812.
- (49) Polshettiwar, V., & Varma, R. S. (2010). **Green Chemistry**. Green chemistry by nano-catalysis, 12(5), 743.
- (50) Busacca, C. A. et al. (2011) **Advanced Synthesis & Catalysis**. The Growing Impact of Catalysis in the Pharmaceutical Industry, 353(11-12), 1825-1864.
- (51) Atkins, P.W.; Loretta, J. (2012) **Porto Alegre: Bookma**. Princípios de Química: questionando a vida moderna, 5ª Ed, 596-60.
- (52) Mizuno, N.; Misono, M. (1998). **Chemical Reviews**. Heterogeneous Catalysis, 98, 199-217.
- (53) Schlögl, R. (2015). **Angewandte Chemie International Edition**. Heterogeneous Catalysis, 54(11), 3465–3520.
- (54) Astruc, D. (2020). **Chemical Reviews**. Introduction: Nanoparticles in Catalysis, 120(2), 461–463.
- (55) Polshettiwar, V., & Varma, R. S. (2010). **Green Chemistry**. Green chemistry by nano-catalysis, 12(5), 743–754.
- (56) Ferreira, H. S., & Rangel, M. D. C. (2009). **Química Nova**. Nanotecnologia: Aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise, 32(7), 1860–1870.
- (57) Oliveira, L. C. A. (2013). **Química Nova**. Óxidos de ferro e suas aplicações em processos catalíticos: Uma Revisão, 36(1), 123–130.
- (58) Lee, S.-J., Jeong, J.-R., Shin, S.-C., Kim, J.-C., & Kim, J.-D. (2004). **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**. Synthesis and characterization of superparamagnetic maghemite nanoparticles prepared by coprecipitation technique, 282, 147–150.
- (59) Khosravinia, S., Kiasat, A. R., & Saghanezhad, S. J. (2019). **Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**. Synthesis and characterization of $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@ \text{hap} @ \beta\text{-cd}$ core-shell nanoparticles as a novel magnetic nanoreactor and its application in the one-pot preparation of β -azido alcohols, β -nitro alcohols, and β -cyanohydrins, 38(3), 61–68.
- (60) Rossi, L. M., Costa, N. J. S., Silva, F. P., & Wojcieszak, R. (2014). **Green Chemistry**. Magnetic nanomaterials in catalysis: Advanced catalysts for magnetic separation and beyond, 16(6), 2906–2933.

- (61) Slowing, I. I., Vivero-Escoto, J. L., Trewyn, B. G., & Lin, V. S.-Y. (2010). **Journal of Materials Chemistry**. Mesoporous silica nanoparticles: structural design and applications, 20(37), 7924.
- (62) Magalhães, G. O. de, Ribeiro, J. de O. N., Vasconcelos, D. C. L., & Vasconcelos, W. L. (2018). **Materials Research**. Production of Pure Granules Of Sba-15 Mesoporous Silica, 21(6).
- (63) Calvino-Casilda, V., & Martín-Aranda, R. M. (2019). **Catalysis Today**. Ordered mesoporous molecular sieves as active catalyts for the synthesis of 1,4-dihydropyridine derivatives, (6), 1–7.
- (64) Fernandes, F. R. D., Santos, A. G. D., Souza, L. Di, Paula, A., & Santos, B. (2016). **Revista Virtual de Química**. Síntese e Caracterização do Material Mesoporoso SBA-15 Obtido com Diferentes Condições de Síntese, 8(6), 1855–1864.
- (65) Jiang, Y., Wang, Y., Wang, H., Zhou, L., Gao, J., Zhang, Y., ... Li, J. (2015). **New Journal of Chemistry**. Facile immobilization of enzyme on three dimensionally ordered macroporous silica via a biomimetic coating, 39(2), 978–984.
- (66) Zhao, D. (1998). **Science**. Triblock Copolymer Syntheses of Mesoporous Silica with Periodic 50 to 300 Angstrom Pores, 279(5350), 548–552.
- (67) Still, W. C., Kahn, M., & Mitra, A. (1978). **The Journal of Organic Chemistry**. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution, 43(14), 2923–2925.
- (68) Pávez, P., & Encinas, M. V. (2007). **Photochemistry and Photobiology**. Photophysical and Photochemical Studies of 1,4-Dihydropyridine Derivatives, 83(3), 722–729.
- (69) D.H. Ripin, D.A. Evans. pKa's of Nitrogen Acids. Chem 206.
- (70) Henderson, R. K., Jiménez-González, C., Constable, D. J. C., Alston, S. R., Inglis, G. G. A., Fisher, G., ... Curzons, A. D. (2011). **Green Chemistry**. Expanding GSK's solvent selection guide – embedding sustainability into solvent selection starting at medicinal chemistr, 13(4), 854.
- (71) Affeldt, R.F., Iglesias R.S., Rodembusch F.S., Russowsky D. (2012). **Journal of Physical Organic Chemistry**. Photophysical properties of a series of 4-aryl substituted 1,4-dihydropyridines, 25,769-777.

I Apêndice

Figura A 1. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do 2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto A**).

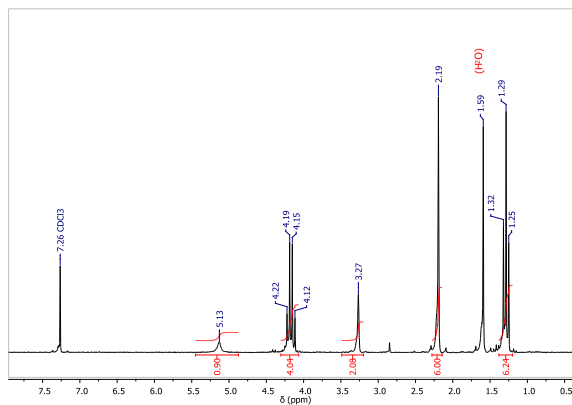


Figura A 2. Espectro de IV (KBr) do 2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto A**).

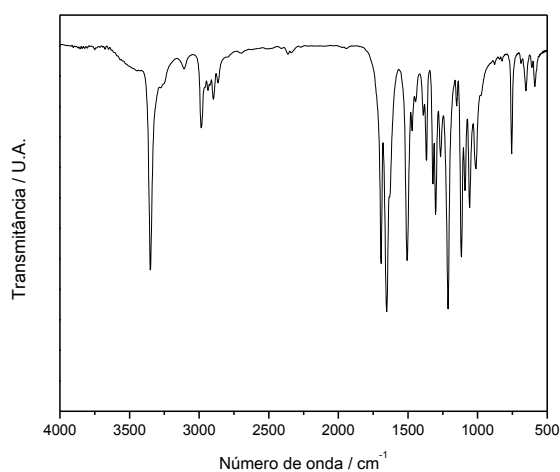


Figura A 3. Cromatograma e espectro de massa para o 2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto A**).

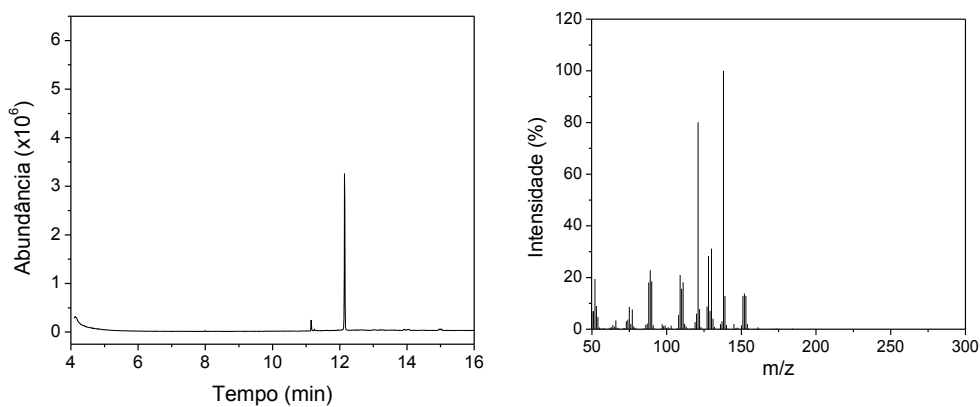


Figura A 4. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do 2,6-dimetil-piridina-3,5- dicarboxilato de dietila (HEH_{ox}).

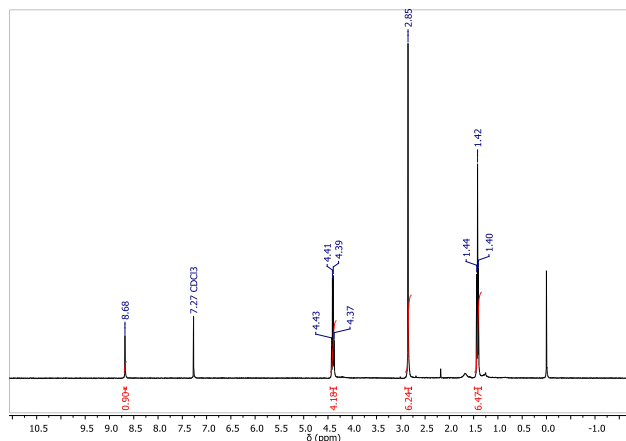


Figura A 5. Espectro de IV (KBr) do 2,6-dimetil-piridina-3,5- dicarboxilato de dietila (HEH_{ox}).

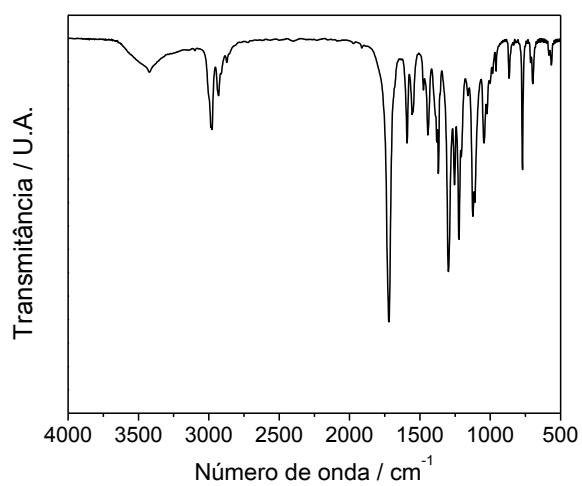


Figura A 6. Cromatograma e espectro de massa para o 2,6-dimetil-piridina-3,5- dicarboxilato de dietila (HEH_{ox}).

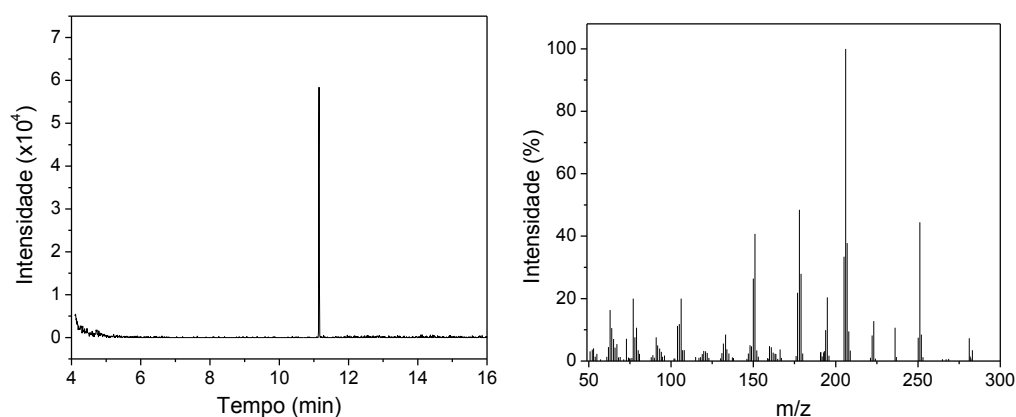


Figura A 7. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do 4-fenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto B**).

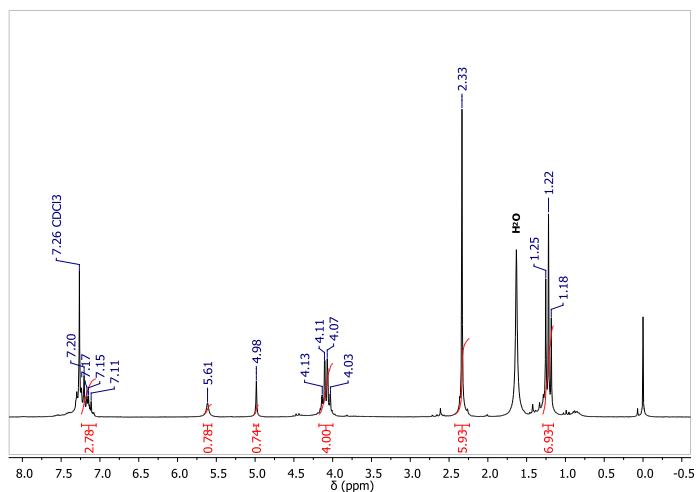


Figura A 8. Espectro de IV (KBr) do 4-fenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto B**).

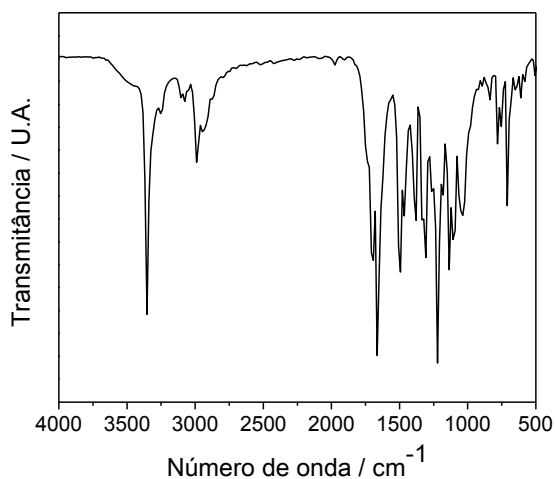


Figura A 9. Cromatograma e espectro de massa para o 4-fenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto B**).

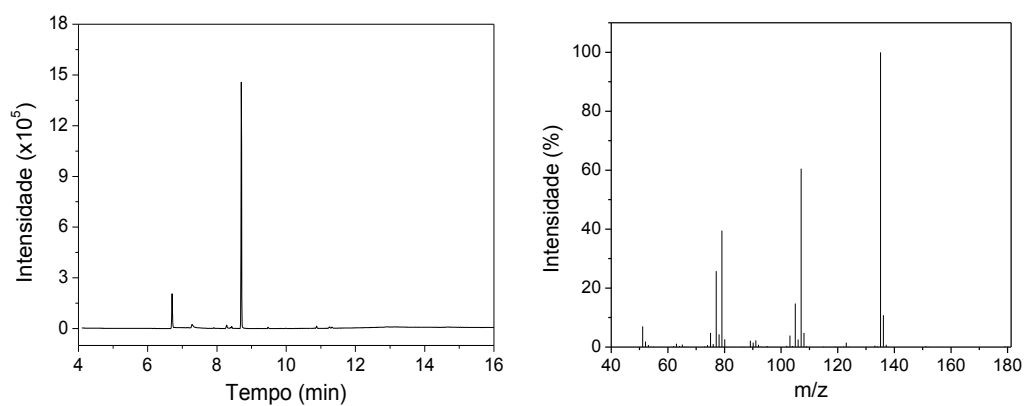


Figura A 10. Espectro de RMN 2D COSY (50 MHz, CDCl₃) do 4-[(4-(dimetilamino)fenil)]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto C**).

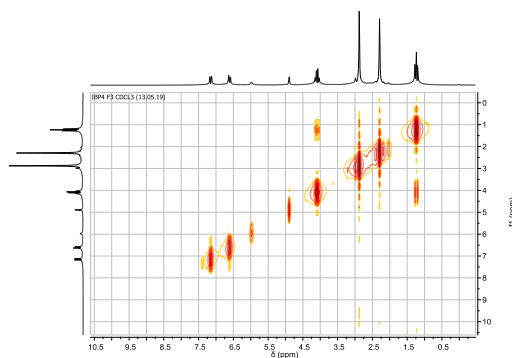


Figura A 11. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) do 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (**Composto D**).

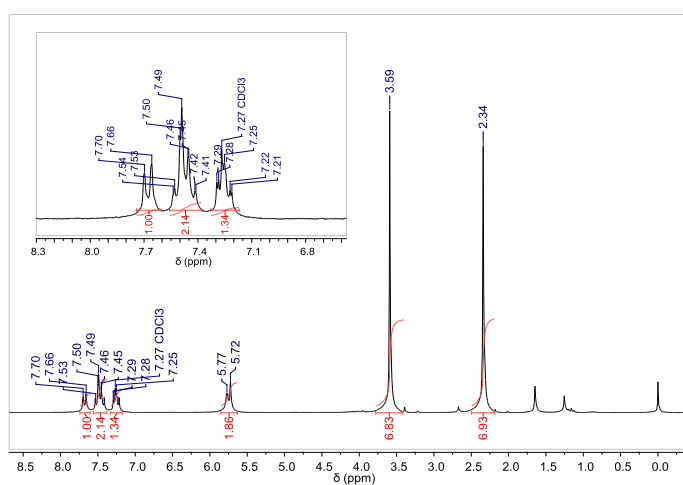


Figura A 12. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃) do 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (**Composto D**).

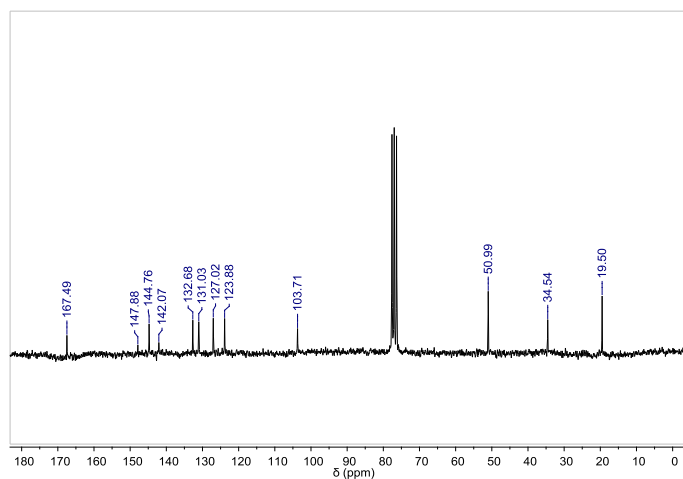


Figura A 13. Espectro de RMN 2D COSY (50 MHz, CDCl₃) do do 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto D**).

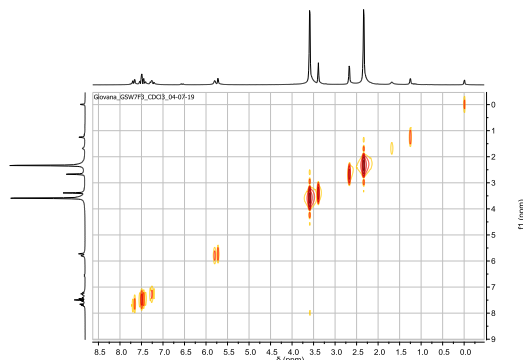


Figura A 14. Espectro de IV (KBr) do 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila (**Composto D**).

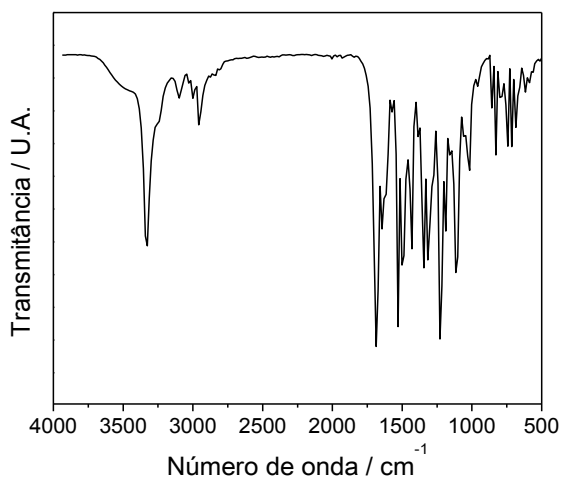


Figura A 15. Cromatograma e espectro de massa para o 4-(2-nitrofenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto D**).

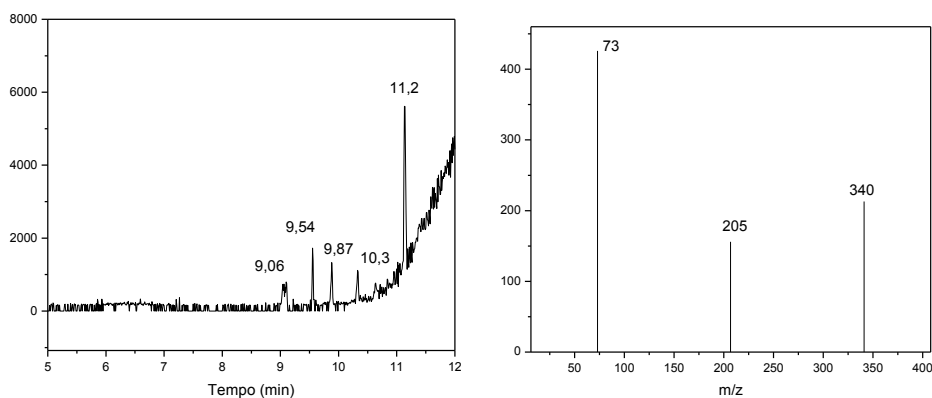


Figura A 16. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do 4-[(4-hidroxi-3-metoxi)fenil]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto E**).

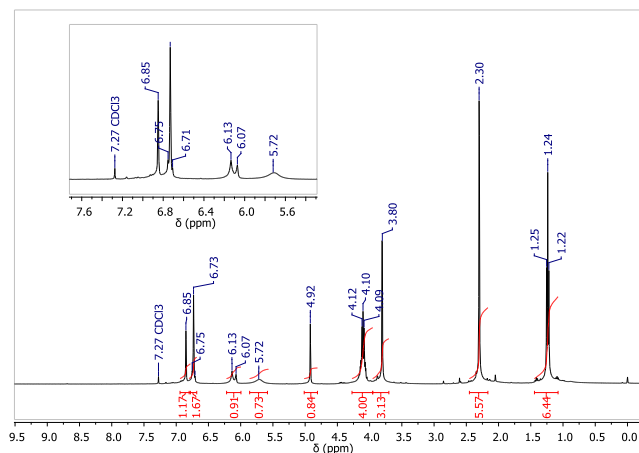


Figura A 17. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) e DEPT195 do 4-[(4-hidroxi-3-metoxi)fenil]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto E**).

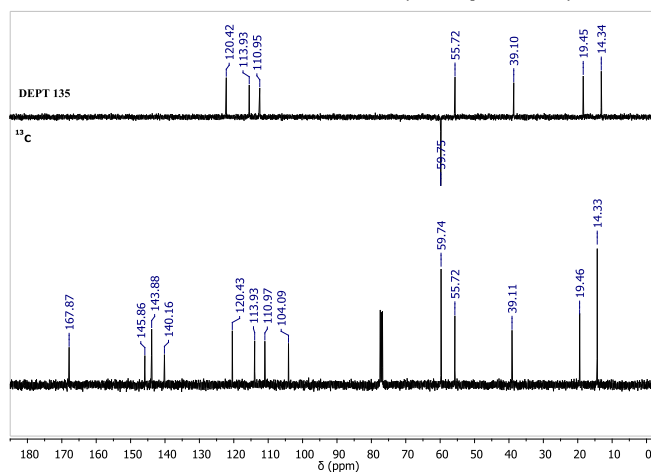
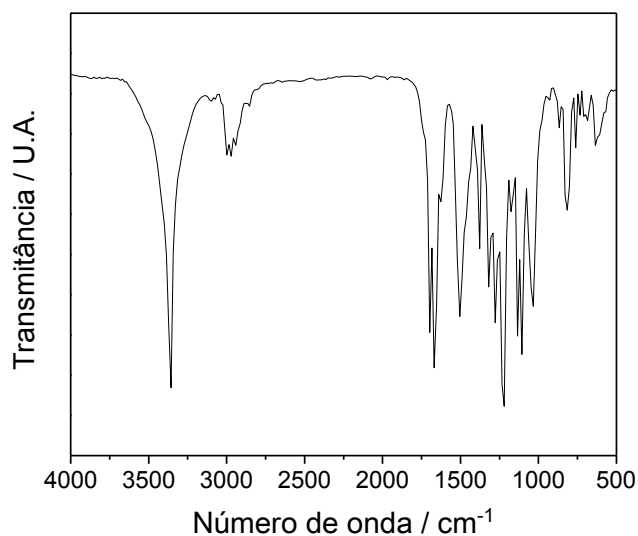


Figura A 18. Espectro de IV (KBr) do 4-[(4-hidroxi-3-metoxi)fenil]-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietila (**Composto E**).



II Apêndice

Figura B 1. Curva de calibração do **Composto D** em etanol.

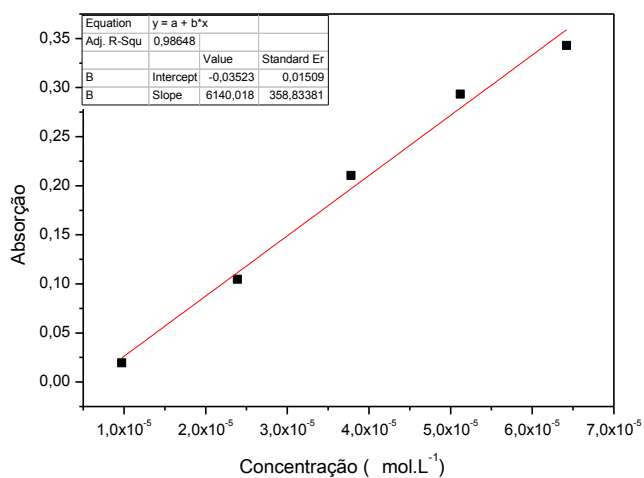


Figura B 2. Espectro de absorção do reagente 2-nitrobenzaldeído.

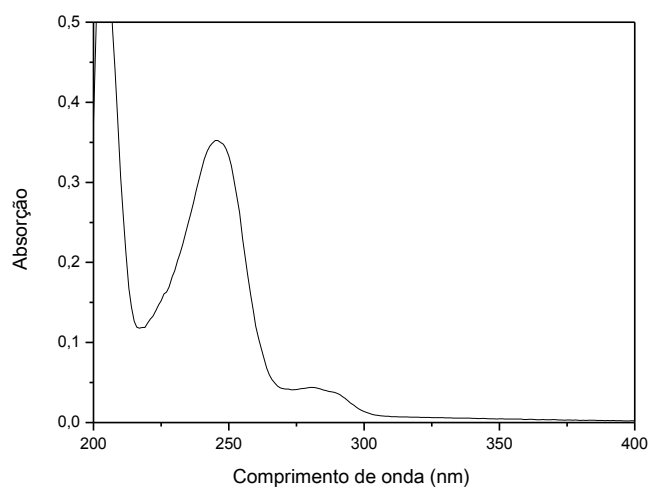


Figura B 3. Espectro de absorção do acompanhamento reacional do **Composto D**.

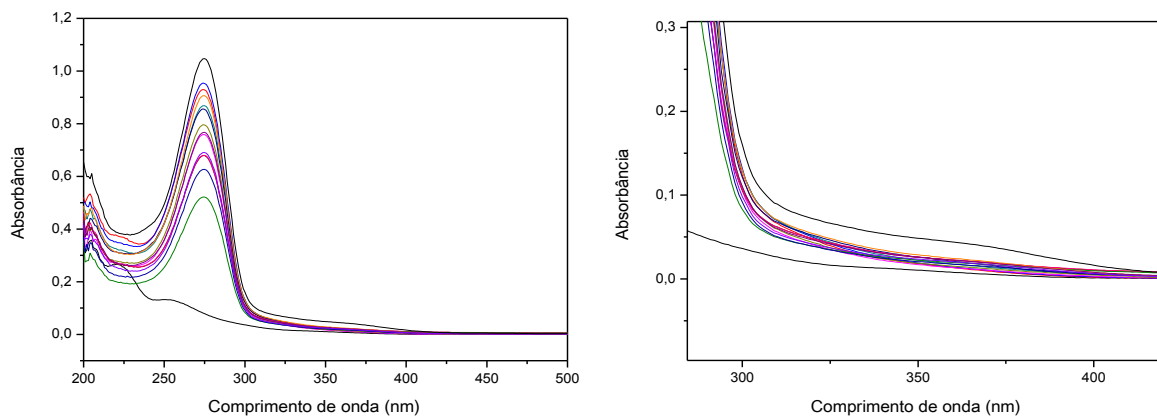


Figura B 4. Perfil do surgimento do **Composto D**.

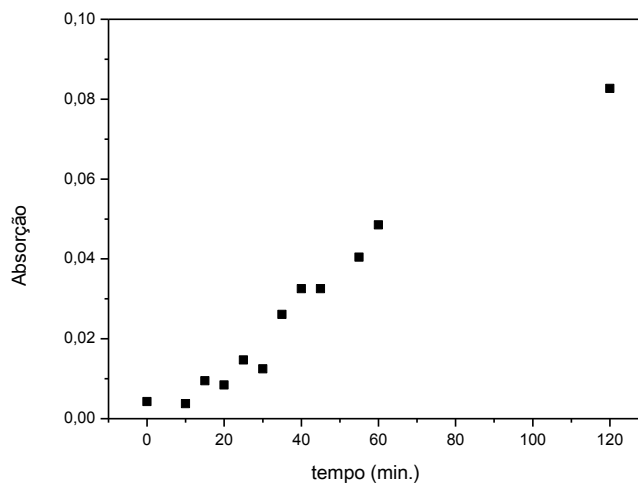


Figura B 5. Curva de calibração do **Composto E** em etanol.

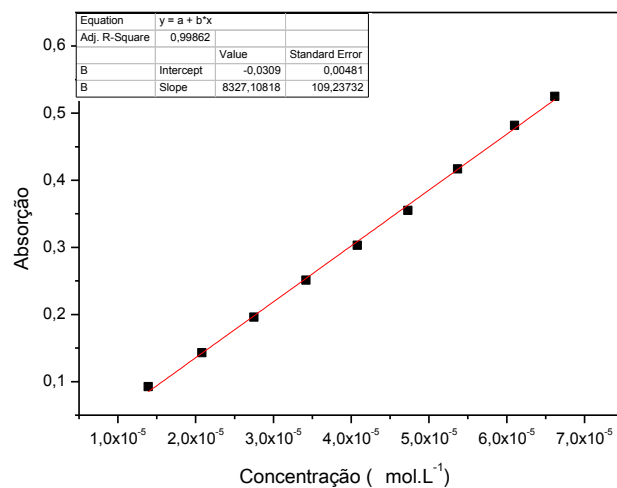


Figura B 6. Espectro de absorção do reagente vanilina.

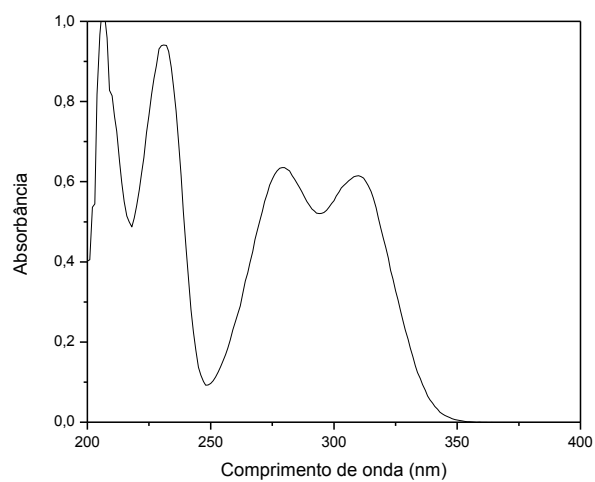


Figura B 7. Espectro de absorção do acompanhamento reacional do **Composto E**.

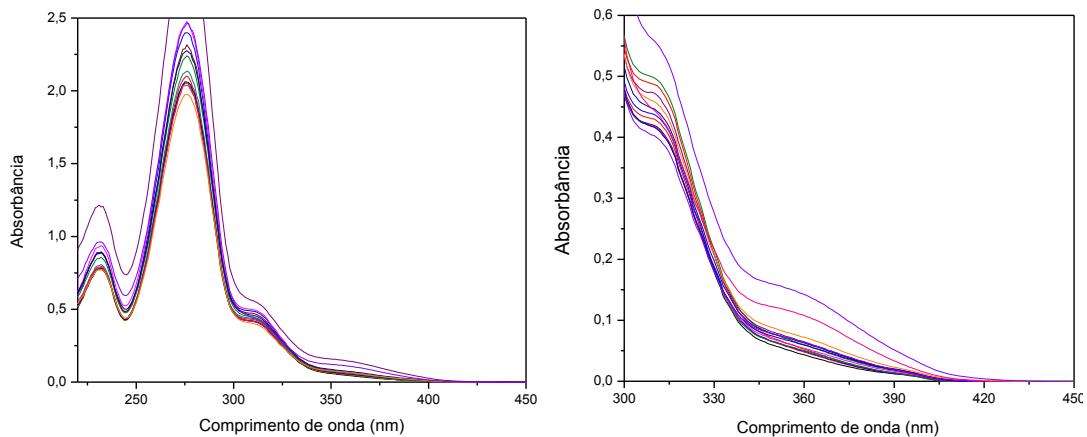


Figura B 8. Perfil da conversão do **Composto E**.

