

A aprendizagem ativa identifica uma conversão escalável de Quitina para 3-acetamido-5-acetilfurano

Juliana G. Pereira,^{um} João M. J. M. Ravasco,^{um} Latimah Bustillo,^{um} Inês S. Marques,^b Po-Yu Kao,^c Po-Yi Li,^d Yen-Chu Lin,^{c,e} Tiago Rodrigues,*^{um} Vasco Banco de dados Benício,^f F. Peixoto,^b Carlos S. U. Afonso,*^{um} Rafael A. Gomes*^{um}

um. Instituto de Investigação do Medicamento (iMed.U.Lisboa), Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Avenida Professor Gama Pinto, 1649-003, Lisboa, Portugal.

b. LAQV-REQUIMTE, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre/n, Porto 4169-007, Portugal.

c. Insilico Medicine Taiwan Ltd., Taipei 110208, Taiwan; Departamento de Farmácia, Nacional Yang Ming Chiao Universidade Tung, Taipei 112304, Taiwan.

e. Departamento de Ciência da Computação, Universidade do Sul da Califórnia, Centro de Ciência da Computação Salvatori, 941 Bloom Walk, Los Angeles, CA 90089, EUA.

f. Departamento de Farmácia, Universidade Nacional Yang Ming Chiao Tung, Taipei 112304, Taiwan.

g. iBB-Instituto de Bioengenharia e Biociências e i4HB-Instituto de Saúde e Bioeconomia, Instituto Técnico Superior, Universidade de Lisboa, Av. Rovisco Pais, 1049-001 Lisboa, Portugal.

g. Departamento de Bioengenharia, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Av. Rovisco Pais, 1049-001 Lisboa, Portugal.

Informações suplementares

Índice

Informações gerais:	3
Condições de triagem para a conversão de <i>N</i> -acetilglucosamina(NAG) em 3-acetamido-5-acetilfurano (3A5AF) por HPLC:	3
Aprendizado de máquina:	9
Procedimento para a conversão de NAG (1,13 mmol) em 3A5AF:	12
Procedimento para a conversão de NAG (1 g, 4,52mmol) em 3A5AF:	12
Procedimento para reutilização do TPAC na conversão de NAG (1,13 mmol) em 3A5AF:	13
Condições de triagem para a conversão de quitina(0,113 mmol) em 3A5AF:	16
Procedimento para a conversão do polímero de quitina(1,13 mmol) em 3A5AF	17
Procedimento para reutilização do TPAC na conversão de polímero de quitina (1,13 mmol) em 3A5AF:	17
Protocolo para moagem de bolas:	18
Protocolo para processo de moagem criogênica	
Preparação de SO ₃ Materiais funcionalizados em H	19
Preparação de K10_CSP e CLOI_CSP em uma única etapa	19
Preparação de K10_CISO em uma única etapa de SO ₃ H, o -MWCNT_CISO ₃ H	19
Preparação de K10_H em uma única etapa de H ₂ ENTÃO Biochar_H ₂ ENTÃO	20
Funcionalização em duas etapas:	2
Preparação em duas etapas de K10_PhCISO ₃ H e o-MWCNT_PhCISO ₃ H	20
Preparação em duas etapas de K10_BnCISO	21
Preparação de heteropoliácidos de Preyssler [Sest ₄ C ₃₀ O ₁₁₀] e H ₁₄ [Sest ₄ C ₂₉ MoO ₁₁₀]	21
Extração de quitina em duas etapas usando ácido cítrico como agente desmineralizador:	2
Caracterização da quitina	22
Resultados da caracterização	22
Cópias dos dados de RMN	23

Informações gerais:

Todos os solventes foram destilados anteriormente para usar. Todos os reagentes foram usados como recebidos de fornecedores comerciais, a menos que de outra forma declarado (quitina comprada de Sigma-Aldrich com um grau de acetilação de 95%).

e ^{13}C Os espectros de RMN de C foram adquiridos no espectrômetro Bruker MX300.

HPLC análise era realizado sobre um Termo Científico Dionex Final 3000 aparelho com um GLP-

3400SD Bombear, um UVMWD-3000 (RS) detector e um amostrador automático ACC-3000, equipado com um 20 μL

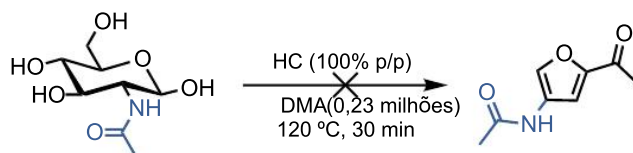
laço, usando uma fase reversa CE250/4 Nucleodur 100-5 Século XVIII coluna (250 Å ~ 4 milímetros, 5 μm) Termo

Científico Dionex. Marca Registrada

Triagem condições para o conversão de *N*-acetilglucosamina (NAG) em 3-acetamido-5-acetilfurano (3A5AF) por HPLC:

N-acetilglucosamina (25 mg, 0,11 mmol, 1 equiv.), aditivo 1 (0-2, 15 equiv.), aditivo 2 (0-3, 5 equiv.), solvente orgânico ou líquido iônico (0,125-1 mL/g), co-solvente (0-20%) e ácido (0-1 equiv.) foram adicionados a um vidrotubo. O reação mistura era mexido no 120-190 °C para 5-60 minutos. O bruto mistura era resfriado abaixo para sala temperatura e diluído em 500 μL de metanol (CLAE nota). O tubo era sucateado, garantindo completo dissolução de o mistura, seguido por o adição de 250 μL de Milli-Q água e sucateado de novo. O bruto mistura era sonificado para 1 minuto e seguido por o coleta de 22,5 μL de reação diluída a um HPLC frasco com 750 μL de acetonitrila e 750 μL de Água Milli-Q. O injeção volume era 20 μL e o fluxo a avaliar era definir para 1 mL/min. Método: Gradiente H₂O:ACN (95:5) para 20:80 (5:95); $t = 27$ min.

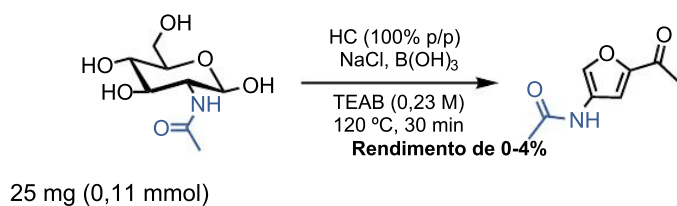
Tabela 1. Efeito de diferentes catalisadores heterogêneos (HC) na conversão de NAG em 3A5AF.



25 mg (0,11 mmol)

Entrada	Catalisador (100% p/p)	Colheita (%)
1	IRA400	0
2	IRA410	0
3	IRA458	0
4	IRC86	0
5	GC400	0
6	Amberlyst 15 molhado	0
7	Amberlyst 16 molhado	0
8	Amberlyst 21	0

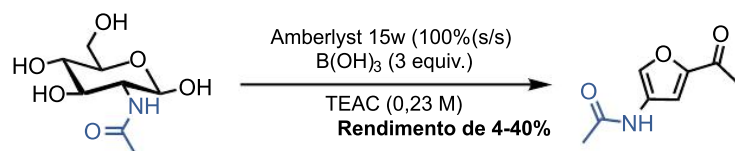
Tabela 2. Efeito de diferentes catalisadores heterogêneos (HC) na conversão de NAG em 3A5AF.



Entrada	H ₂ O (%)	Salmoura (%)	Catalisador	NaCl (equivalente)	B(OH) ₃ (equivalente)	Colheita (%)
1	-	-	IRA400	-	-	0
2	10	-	IRA400	-	-	0
3	-	-	IRA458	-	-	0
4	10	-	IRA458	-	-	0
5	-	-	IRC86	-	-	0
6	10	-	IRC86	-	-	0
7	-	-	GC400	-	-	0
8	10	-	GC400	-	-	0
9	10	-	IRA410	-	-	0
10	-	10	IRC120	2.15	3	3
11	-	-	Amberlyst 21	-	-	0
12	10	-	Amberlyst 21	-	-	0
13	-	-	Amberlyst 15 molha	-	-	1 ^{um}
14	10	-	Amberlyst 15 molha	-	-	1/0 ^b
15	-	10	Amberlyst 15 molha	-	-	0
16	-	10	Amberlyst 15 molha	2.15	-	2
17	-	10	Amberlyst 15 molha	2.15	3	2 ^b
18	-	-	Amberlyst 15 molha	2.15	3	4
19	-	-	Amberlyst 16 molha	-	-	1/0 ^c
20	10	-	Amberlyst 16 molha	-	-	1/0 ^c
21	10	-	Amberlyst 16 molha	2.15	3	2
22	-	10	Amberlyst 16 molha	2.15	-	2
23	-	10	Amberlyst 16 molha	2.15	3	2 ^{um}

^{um} Média de 2 reações; ^b Média/Mediana de 4 reações; ^c Média/Mediana de 3 reações. TEAB = Brometo de tetraetilamônio.

Tabela 3. Efeito do tempo e da temperatura na conversão de NAGem 3A5AF.



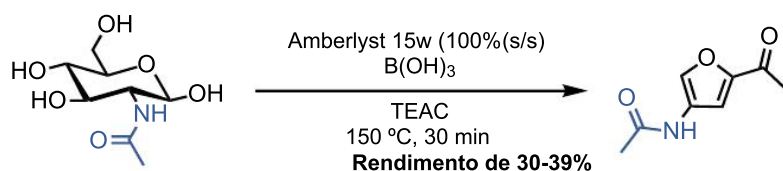
25 mg (0,11 mmol)

Entrada	Temperatura (°C)	tempo (min)	Colheita (%)
1	120	30	6/5 ^{um}
2 ^b	120	30	4
3 ^c	120	30	7
4	150	15	22
5	150	30	40
6	150	45	35 ^d
7	160	15	35
8	160	30	30/32 ^{um}
9	170	15	40
10	170	30	33 ^d
11	170	60	32
12	190	5	22
13	190	10	33
14	190	15	34
15	190	30	32 ^d

^{um} Média/Medianade 3reações; ^b NaCl(2,15 equivalentes) em vez de TEAC; ^d Média de 2reações.

TEAC = Cloreto de tetraetilamônio; TMAC = Cloreto de tetrametilamônio.

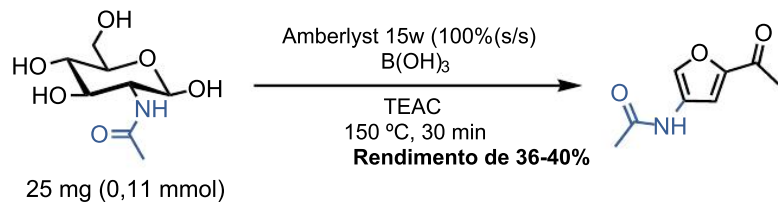
Tabela 4. Efeito da concentração de NAG na conversão de NAGem 3A5AF.



25 mg (0,11 mmol)

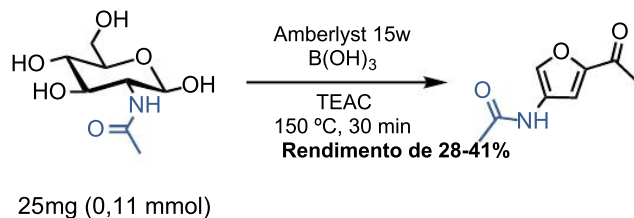
Entrada	TEAC (mL)	[] M	B(OH) ₃	Colheita (%)
1	0,5	0,23	2	37
2	0,25	0,45	2	39
3	0,125	0,90	1.7	30

Tabela 5. Efeito de B(OH)₃ e TEAC na conversão de NAG em 3A5AF.



Entrada	TEAC (g)	[] M	B(OH) ₃	Colheita (%)
1	0,5	0,23	2	37
2	0,5	0,23	3	40
3	0,5	0,23	3,5	40
4	0,25	0,45	2	39
5	0,25	0,45	3,5	36
6	0,25	0,45	5	36

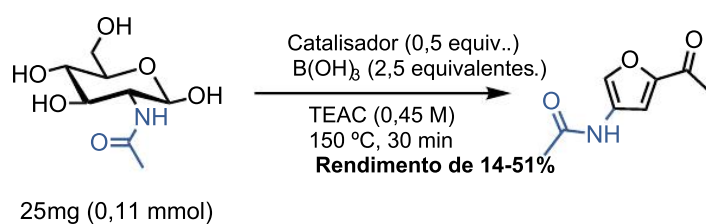
Tabela 6. Efeito da quantidade de Amberlyst 15w na conversão de NAG em 3A5AF.



Entrada	TEAC (g)	[] M	Amberlyst 15 úmido (% p/p)	B(OH) ₃	Colheita (%)
1	0,25	0,45	-	2	28
2	0,25	0,45	10	2	37
3	0,25	0,45	25	2	41
4	0,25	0,45	50	2,5	41/43 ^{um}
5	0,25	0,45	100	2	39
6	0,25	0,45	125	2,5	32

^{um}Média/Mediana de 3 reações.

Tabela 7. Efeito de diferentes aditivos como catalisadores potenciais sobre a conversão de NAG em 3A5AF.

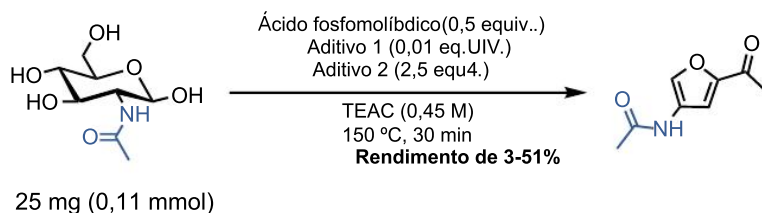


Entrada	Catalisador (0,5 equiv.)	pKa	Colheita (%)
1	Ácido acético	4,76	35 ^{um}
2	Ácido fenilacético	4,25	44
3	Ácido cloroacético	2,86	48
4	Ácido bromoacético	2,89	51
5	Ácido trifluoracético	0,23	46
6	Ácido benzoico	4.19	41
7	Ácido cítrico	3,13; 4,76; 6,40	44
8	Ácido fosfórico	2,15; 7,20; 12,35	51 ^{um}
9 ^d	Ácido fosfórico	2,15; 7,20; 12,35	16 ^{um}
10 ^g	Ácido fosfórico	2,15; 7,20; 12,35	14 ^{um}
11	Hexafluorofosfórico ácido		27
12	Ácido oxálico	1,27; 4,28	47
13	CSA	1.2	44
14	Ácido nítrico	-1,3	40
15	<i>p</i> TsOH	-2,8	38 ^{um}
16	HCl ^d	-5,9	47
17	Ácido sulfúrico	-10	47
18	Ácido fosfomolibdico		42/46 ^f
19	Ácido fosfomolibdico ^b		43
20	Amberlyst 15 molhado		41/43 ^e
21	K10 - PhTMS/H ₂ ENT ₄ ÃC	<0,2 (acidez mmol/g)	46
22	K10 - PhTES/H ₂ ENT ₄ ÃO	<0,2 (acidez mmol/g)	38
23	K10 - <i>p</i> -HBSA (H ₂ O)	0,2 (acidez mmol/g)	44
24	K10 - <i>p</i> -HBSA (tolueno)	0,5 (acidez mmol/g)	49
25	K10 – CSPTMS - CLOI	0,8 (acidez mmol/g)	48
26	K10 - PhTES/HSO ₃ Cl	6 (acidez mmol/g)	48

27	K10 - HSO ₃ Cl	2 (acidez mmol/g)	51
28	K10 - H ₂ ENTÃO	0,4 (acidez mmol/g)	41
29	K10 - BnOH/HSO ₃ Cl	6,9 (acidez mmol/g)	50
30	CLOI - HSO ₃ Cl	3,3 (acidez mmol/g)	46
31	CLOI - CSPTMS	0,7 (acidez mmol/g)	32
32	CLOI - H ₂ ENTÃO	0,7 (acidez mmol/g)	50
33	o -MWCNT - HSO ₃ Cl	0,5 (acidez mmol/g)	33
34	o -MWCNT - PhenTMS/HSO ₃ Cl	-	41
35	Biochar – H ₂ ENTÃO	0,2 (acidez mmol/g)	37
36	p TsOH-SiO ₂		43
37	Ácido trifílico-SiO ₂		49
38	CNT		31 ^{um}
39	CLOIS		48
40	H ₁₄ [SestC ₂₉ MoO ₁₁₀] ^d		30
41	CrKnNaP ₅ C ₃₀ O ₁₁₀ ^d		38
42	H ₁₄ SestC ₃₀ O ₁₁₀ ^d		47

^{um}Média de 2 reações; ^b 1 equiv.; ^c 0,75 equivalente; ^d em tubo de pressão e com água (10%); ^e Média/Mediana de 3 reações; ^f Média/Mediana de 7 reações; ^g em tubo de pressão e com água (10%).

Tabela 8. Efeito de diferentes aditivos na conversão de NAGem 3A5AF.

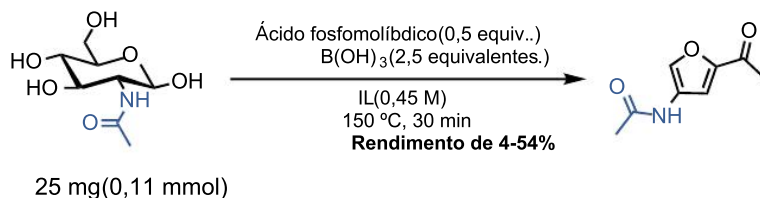


Entrada	Aditivo 1 (0,01 equiv.)	Aditivo 2 (2,5 equiv.)	Colheita (%)
1	-	B(OH) ₃	42/46 ^{um}
2	-	Ácido 4-nitrofenilborônico	51
3	-	Ácido 4-metoxifenilborônico	45
4	-	Ácido ascórbico	46
5	N / 2 ENTÃO	B(OH) ₃	40
6	N / 2 S ₂ O ₅	B(OH) ₃	49
7	Glicina	B(OH) ₃	23
8	-	B(OH) ₃ ^b	42
9	-	B(OH) ₃ ^c	49
10 ^d	-	B(OH) ₃	6 ^e
11 ^f	-	B(OH) ₃	39

12^a	-	B(OH) ₃	39
13^b	-	B(OH) ₃	26

^aMédia/Mediana de 7 reações; ^b 0,5 equivalentes; ^c vácuo; ^d Média de 2 reações; ^e co-solvente etilenoglicol (10%); ^f co-solvente etilenoglicol (20%); ^g co-solvente etilenoglicol (20%), 45 min.

Tabela 9. Efeito de diferentes líquidos iônicos (LI) na conversãode NAG em 3A5AF.



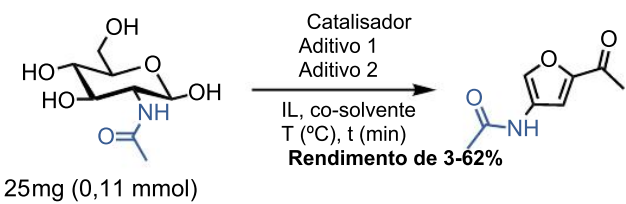
Entrada	Mídia de reação	Colheita (%)
1	TPAC	22
2	A definir	54
3	BnTEAC	17
4^{um}	TPAC	4

^{um}Co-solvente água (10%). TPAC=Tetrapropilamôniocloreto,BnTEAC=Benzil-trietilamônio cloreto

Aprendizado de máquina:

159reaçõesparaotransformaçãodeNAGem3A5AFeramcarregouforabaseadosobrequímicointuição. 133 reação condições e rendimentos (obtido por CLAE) eram adicionado para LabMate.ML Inicializador e analisado para fornecer inicial dados para aprendizado. Esse dados era feito disponível para LabMate.ML Otimizador. LabMate.ML era capaz para prever um adicional definir de condições. Os síntese era carregou foras ob alguns de o previsto condições, e o rendimento ser analisado usando o mesmo HPLC procedimento. O novas reações e rendimentos foram adicionados ao inicializador LabMate.ML e o processo foi repetido 8 vezes.

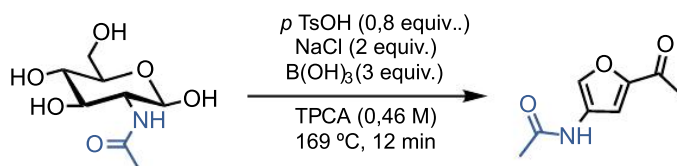
Tabela 10. Sugestões de aprendizado de máquina para a conversão de NAG em 3A5AF



Entrada	Reação Mídia	[α] mm	Co-solvente	(%)	Catalisador	Equação	Aditivo 1	Equivalente	Aditivo 2	Equivalente
1	TPAC	347,64	H ₂ O	6	<i>p</i> TsOH	1.18	NaCl	2	4-OMePhBA	1
2	TPAC	708,27	H ₂ O	13	Fosfomolibdico	0,78	NaCl	2	B(OH) ₃	3.23
3	TPAC	695	H ₂ O	15	Fosfomolibdico	1,23	NaCl	2	-	-
4	TPAC	805,51	-	-	Amberlyst 15w	61% p/p	NaCl	2	4-NãçDoutorac	3.31
5	TEAC	895,25	Etileno glicol	56	<i>p</i> TsOH	0,89	NaCl	2	4-NãçDoutorac	1.02
6	TEAC	523,16	-	-	-	-	-	-	-	-
7	TEAC	167,03	-	-	Ácido sulfúrico	0,38	N ½BNãç	0,35	-	-
8	TPAC	455,16	-	-	<i>p</i> TsOH	0,8	NaCl	2	B(OH)₃	3.01
9	TEAC	259,35	-	-	H[PF] ₆	1.1	NaCl	2	4-OMePhBA	2.09
10	TPAC	654,04	-	-	<i>p</i> TsOH	0,21	NaCl	2	4-OMePhBA	0,04
11	TPAC	755,8	-	-	Ácido cítrico	0,35	-	-	B(OH) ₃	1,76
12	TPAC	421,98	-	-	<i>p</i> TsOH	0,86	N ½BNãç	0,15	Ácido ascórbico	3,39
13	TPAC	422,55	Salmoura	10	HCl	0,55	NaCl	2	-	-

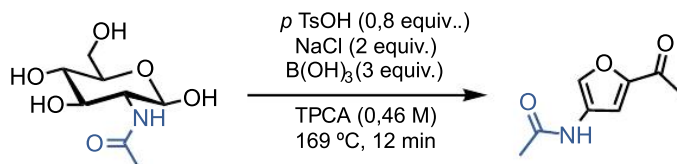
14	TPAC	266	Salmoura	10	Ácido nítrico	0,88	N / ₂ B ₂ O ₅	0,05	Ácido ascórbicc	2,92
15	TPAC	221,61	H ₂ O	10	Ácido benzoico	0,06	N / ₂ B ₂ O ₅	0,07	Ácido ascórbicc	3,42
16	TPAC	566,43	Salmoura	10	Ácido fosfórico	0,72	N / ₂ B ₂ O ₅	0,07	B(OH) ₃	0,87
17	TPAC	412	Salmoura	10	Ácido acético	0,33	-	-	-	-
18	TEAB	221,23	Etileno glicol	10	CA2	94% p/p	NaCl	2	B(OH) ₃	3.21
19	TEAB	174,33	H ₂ O	10	p TsOH	1	N / ₂ B ₂ O ₅	0,05	B(OH) ₃	3.01
20	TPAC	730,8	Salmoura	10	p TsOH-SiO ₂	32% p/p	-	-	B(OH) ₃	1.22
21	TEAB	862,6	Etileno glicol	10	Fosfomolibdico	0,83	NaCl	2	B(OH) ₃	3,46
22	TMAC	484,6	-	-	p TsOH	0,35	-	-	4-OMePhBA	3,37
23	TPAC	469,82	Salmoura	10	Ácido triflico-SiO ₂	0,51	NaCl	2	B(OH) ₃	3.06

Procedimento para a conversão de NAG (1,13 mmol) em 3A5AF:



N-acetilglucosamina (250 mg, 1,13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130 mg, 2,26 mmol, 2equiv.), B(OH)₃ (210 mg, 3,44 mmol, 3equiv.), tetrapropilamôniocloreto (TPAC) (2,48 g, 0,5 M) e *p*-toluenossulfônico ácido (160 mg, 0,904 mmol, 0,8 equiv.) eram adicionados para um vidro frasco. O reagente misturado era mexido no 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto misturado era resfriado abaixo para a temperatura seguida por adição de 2 mL de metanol. O reagente misturado era extraído com etilo acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico das fases era evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO₃ saturado solução (1 x 500 mL) seguido por extração com etilo acetato (2 x 250 mL). O combinado das fases orgânicas foram seco com MgSO₄ anidro, filtrado, e concentrado sob pressão reduzida. O produto era obtido com 66% colheita (124,5 mg) como um marrom sólido. O RMN espectro é em acordo com a literatura. ¹RMN de H (300 MHz, CD₃Então) δ 10,22 (s, 1H), 8,16 (d, *J* = 0,9 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 0,9 Hz, 1H), 2,39 (s, 3H), 2,02 (s, 3H) ppm.

Procedimento para a conversão de NAG (1 g, 4,52 mmol) em 3A5AF:



N-acetilglucosamina (1 g, 4,52 mmol, 1 equiv.), NaCl (520 mg, 9,04 mmol, 2equiv.), B(OH)₃ (840 mg, 13,61 mmol, 3equiv.), tetrapropilamôniocloreto (TPAC) (9,92 g, 0,5 M) e *p*-toluenossulfônico ácido (640 mg, 3,62 mmol, 0,8 equiv.) eram adicionados para um redondo fundo frasco de 100 mL. O reagente misturado era mexido no 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto misturado era resfriado abaixo para a temperatura seguida por adição de 2 mL de metanol. O reagente misturado era filtrado através de uma almofada de celatário, extraído com etilo acetato: salmoura (3 x 500 mL). O combinado orgânico das fases era evaporado para 1 eu, lavado com NaHCO₃ saturado solução (1 x 1 L) seguido por extração com etilo acetato (2 x 500 mL). O combinado orgânico das fases eram seco com anidro MgSO₄, filtrado, e concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com 68% rendimento (514,5 mg) como um marrom sólido.

Procedimento para reutilização do TPAC na conversão de NAG (1,13 mmol) em 3A5AF:

1^o ciclo: *N*-acetilglucosamina (250 mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130 mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)₃ (210 mg, 3.44 mmol, 3 equiv.), tetrapropilamônio cloreto (TPAC) (2.48 g, 0.5 M) e *p*-toluenossulfônico (160 mg, 0.904 mmol, 0.8 equiv.) foram adicionados para um copo frasco. A reação mistura era mexida no 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura era resfriado abaixo para sala temperatura seguida para adição de 2 mL de metanol. A reação mistura foi extraída com etil acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico fases eram evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO₃ saturada (1 x 500 mL) seguido pela extração com etil acetato (2 x 250 mL). O combinado orgânico fases foram seco com MgSO₄ anidro, filtrado e concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com rendimento de 66% (124,5 mg) como um sólido marrom. *Recuperação de TPAC:* O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (73% recuperado, 1,82 g calculado de ¹H RMN espectro de total massa 1,93 g de TPAC e mistura de *p* TsOH) como um sólido preto. Veja a Figura 2 para mais detalhes.

2^o ciclo: *N*-acetilglucosamina (250 mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130 mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)₃ (210 mg, 3.44 mmol, 3 equiv.), TPAC (666 mg, 0.5 M) e *p*-toluenossulfônico (160 mg, 0.904 mmol, 0.8 equiv.) eram adicionados para um vidro frasco com recuperado TPAC (1,82 g). O reação mistura era mexida em 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura foi resfriado abaixo para sala temperatura seguida para adição de 2 mL de metanol. O reação mistura era extraída com recuperado etil acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico fases eram evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO₃ saturada (1 x 500 mL) seguido por extração com recuperado etil acetato (2 x 250 mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidro MgSO₄, filtrado, e concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com 68% rendimento (127,9 mg) como um sólido marrom sólido. *Recuperação de TPAC:* O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (86% recuperado, 2.14 g calculado de ¹H RMN espectro de total massa 2,34 g de TPAC e *p* TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 4 para mais detalhes.

3^o ciclo: *N*-acetilglucosamina (250 mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130 mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)₃ (210 mg, 3.44 mmol, 3 equiv.), TPAC (342 mg, 0.5 M) e *p*-toluenossulfônico (160 mg, 0.904 mmol, 0.8 equiv.) eram adicionados para um vidro frasco com recuperado TPAC (2.14 g). O reação mistura era mexida em 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura foi resfriado abaixo para sala temperatura seguida para adição de 2 mL de metanol. O reação mistura era extraída com recuperado etil acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico fases eram evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO₃ saturada (1 x 500 mL) seguido por extração com recuperado etil acetato (2 x 250 mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidro MgSO₄, filtrado, e

concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com 63% rendimento (118,3mg) como um marrom sólido.

Recuperação de TPAC: O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (79% recuperado, 1,97g calculado de ^1HMR N espectro de total massa 2.24g de TPAC e p-TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 6 para mais detalhes.

4º ciclo: *N*-acetilglucosamina (250mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)_3 (210mg, 3.44 mmol, 3 equiv.), TPAC (511mg, 0.5M) e p-toluenossulfônico ácido (160mg, 0.904 mmol, 0.8 equiv.) eram adicionados para um vidro de frasco com recuperado TPAC (1,97g). O reação mistura era mexido em 169°C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura foi resfriado abaixo para a temperatura seguida por adição de 2 mL de metanol. O reação mistura era extraído com recuperado etilo acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico fases eram evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO_3 saturado solução (1x500 mL) seguida por extração com recuperado etilo acetato (2 x 250 mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidro MgSO_4 , filtrado, e concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com 70% rendimento (132,1mg) como um marrom sólido.

Recuperação de TPAC: O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (76% recuperado, 1,89g calculado de ^1HMR N espectro de total massa 2.23g de TPAC e p-TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 8 para mais detalhes.

5º ciclo: *N*-acetilglucosamina (250mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)_3 (210mg, 3.44 mmol, 3 equiv.), TPAC (590mg, 0.5M) e p-toluenossulfônico ácido (160mg, 0.904 mmol, 0.8 equiv.) eram adicionados para um vidro de frasco com reutilizado TPAC (1,89g). O reação mistura era mexido no 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura foi resfriado abaixo para a temperatura seguida por a adição de 2 mL de metanol. O reação mistura era extraído com recuperado etilo acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico fases eram evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO_3 saturado solução (1x500 mL) seguida por extração com recuperado etilo acetato (2 x 250 mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidro MgSO_4 , filtrado, e concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com 63% rendimento (118,5mg) como um marrom sólido.

Recuperação de TPAC: O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (80% recuperado, 1,98g calculado de ^1HMR N espectro de total massa 2,34g de TPAC e p-TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 10 para mais detalhes.

6º ciclo: *N*-acetilglucosamina (250mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)_3 (210mg, 3.44 mmol, 3 equiv.), TPAC (500mg, 0.5M) e p-toluenossulfônico ácido (160mg, 0.904 mmol, 0.8 equiv.) eram adicionados para um vidro de frasco com reutilizado TPAC (1,98g). O reação mistura era mexido

no 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura foi resfriado abaixo para o quarto temperatura seguida por o adição de 2 mL de metanol. O reação mistura era extraído com recuperado etilo acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico fases eram evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO₃ saturado solução (1x500 mL) seguido por extração com recuperado etilo acetato (2 x 250 mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidro MgSO₄, filtrado, e concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com 64% rendimento (120,3 mg) como um marrom sólido.

Recuperação de TPAC: O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (83% recuperado, 2,06 g calculado de ¹H RMN espectro de total massa 2,48 g de TPAC e p-TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 12 para mais detalhes.

7º ciclo: N -acetilglucosamina (250 mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130 mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)₃ (210 mg, 3.44 mmol, 3 equiv.), TPAC (420 mg, 0.5 M) e p-toluenosulfônico ácido (160 mg, 0.904 mmol, 0.8 equiv.) eram adicionado para um vidro frasco com reutilizado TPAC (2,06 g). O reação mistura era mexido no 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura foi resfriado abaixo para o quarto temperatura seguida por o adição de 2 mL de metanol. O reação mistura era extraído com recuperado etilo acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico fases eram evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO₃ saturado solução (1x500 mL) seguido por extração com recuperado etilo acetato (2 x 250 mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidro MgSO₄, filtrado, e concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com 56% rendimento (105,1 mg) como um marrom sólido.

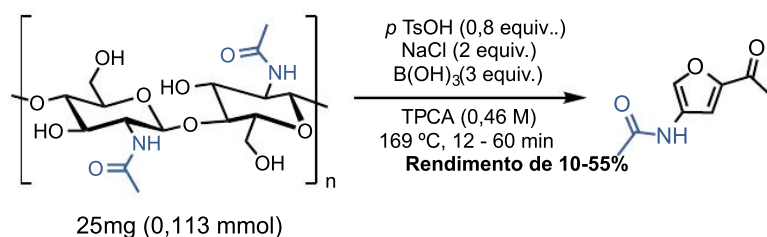
Recuperação de TPAC: O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (82% recuperado, 2,03 g calculado de ¹H RMN espectro de total massa 2,52 g de TPAC e p-TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 14 para mais detalhes.

8º ciclo: N -acetilglucosamina (250 mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130 mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)₃ (210 mg, 3.44 mmol, 3 equiv.), TPAC (450 mg, 0.5 M) e p-toluenosulfônico ácido (160 mg, 0.904 mmol, 0.8 equiv.) eram adicionado para um vidro frasco com reutilizado TPAC (2,03 g). O reação mistura era mexido no 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura foi resfriado abaixo para o quarto temperatura seguida por o adição de 2 mL de metanol. O reação mistura era extraído com recuperado etilo acetato: salmoura (total volume de 750 mL). O combinado orgânico fases eram evaporado para 500 mL, lavado com NaHCO₃ saturado solução (1x500 mL) seguido por extração com recuperado etilo acetato (2 x 250 mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidro MgSO₄, filtrado, e concentrado sob pressão reduzida. O produto foi obtido com 71% rendimento (134,9 mg) como um marrom sólido.

Condições de triagem para a conversão de quitina(0,113 mmol) em 3A5AF:

Quitina (25 mg, 0,113 mmol, 1 equiv.), NaCl (13 mg, 0,226 mmol, 2 equiv.), bórico ácido (21 mg, 0,340 mmol, 3 equiv.), tetrapropilamônio cloreto (TPAC) (250 mg, 0,46 M) e *p*-toluenossulfônico ácido (16 mg, 0,09 mmol, 0,8 equiv.) eram adicionados para um vidrotubo. O reagente mistura era mexido em 169 °C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura era resfriado abaixo para a temperatura e seguido por adição de 1 mL de metanol. O reagente mistura era extraído com etilo acetato: salmoura (3x20 mL), lavado com NaHCO₃ saturado solução (1x60 mL) seguido por extração com etilo acetato (3x30 mL). O combinado orgânico fases foram secos com MgSO₄ anidro, filtrado e concentrados sob pressão reduzida. O produto foi obtido como um sólido marrom.

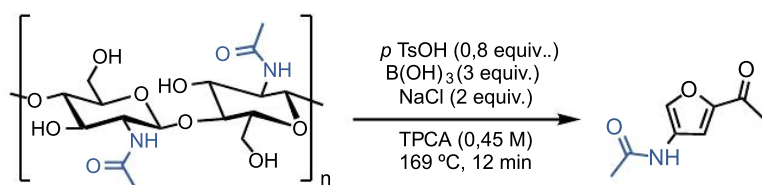
Tabela 11. Condições de triagem para a conversão direta de polímero de quitina comercial em 3A5AF.



Entrada	Quitina pré-tratada	t (minuto)	Rendimento de H	Rendimento isolado
1*	-	12	22	17 ^{um}
2*	-	24	19	11 ^{um}
3*	-	60	-	10
4	-	60	8	-
5	Moagem de bolas – B	12	-	55
6	Moagem de bolas com BM3	12	-	24 ^b
7	Criogrinding	12	-	38 ^c

* Filtração através um almofada de celatário antes extração, TPAC e *p* TsOH impurezas em o ¹RMN de H; Impurezas no ¹RMN de H, mais difícil de isolar.

Tabela 12. Conversão direta do polímero de quitina (extraído de cascas de camarão) em 3A5AF.



Entrada	Quitina pré-tratada	t (minuto)	Rendimento isolado mg/g de camarão
1	-	12	6
2	Moagem de bolas – B	12	83

Procedimento para a conversão do polímero de quitina (1.13mmol) em 3A5AF

Pré-moído quitina BM1 (250mg, 1.13mmol, 1equiv.), NaCl (130mg, 2.26mmol, 2equiv.), bórico ácido (210 mg, 3,40mmol, 3equiv.), TPAC (2,5 g, 0,46M) e ácido *p*-toluenossulfônico (160 mg, 0,904mmol, 0,8equiv.) foram adicionados para um vidro frasco. O reagente mistura era mexido no 169°C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura era resfriado a baixa temperatura e seguido por adição de 4mL de metanol. A reação mistura foi extraída com acetato de etila: salmoura (total volume de 600mL), lavado com NaHCO₃ saturado solução (1x500mL) seguido por extração com etilo acetato (3x250mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidrido MgSO₄, filtrado, e concentrado sob reduzido pressão. O produto era obtido com 40% colheita (70,7 mg) (média de dois independente reações) como um sólido marrom.

Procedimento para reutilização do TPAC na conversão de polímero de quitina (1,13 mmol) em 3A5AF:

1^o ciclo: Pré-moído quitina BM2 (250mg, 1.13mmol, 1equiv.), NaCl (130mg, 2.26mmol, 2equiv.), B(OH)₃ (210mg, 3,40 mmol, 3 equivalentes), TPAC (2,5 g, 0,46 M) e ácido *p*-toluenossulfônico (160mg, 0,904 mmol, 0,8 equiv.) e esferas de vidro 2 mm (1,53 g) foram adicionados a um frasco de vidro. A mistura de reação era mexida em 169°C para 12 minutos. O bruto mistura era resfriado a baixa temperatura e seguido por adição de 4mL de metanol em um reator. O reagente mistura era extraída com etilo acetato: salmoura (total volume de 600mL), lavado com NaHCO₃ saturado solução (1x500mL) seguido por extração com etilo acetato (3x250 mL). O combinado orgânico fases eram seco com anidrido MgSO₄, filtrado e concentrado sob condições reduzidas pressão. O produto foi obtido com rendimento de 37% (65,3 mg) como um sólido marrom.

Recuperação de TPAC: O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (76% recuperado, 1,88g calculado de 1^o HRMN espectro de total massa 1,97g de TPAC e *p*-TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 17 para mais detalhes.

2º ciclo: Pré-moído quitina BM2 (250 mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130 mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)₃ (210 mg, 3.40 mmol, 3 equiv.), TPAC (620 mg, 0.46 M) e *p*-toluenossulfônico ácido (160 mg, 0.904 mmol, 0.8 equivalente) e vidro contas 2 mm (1,50 g) eram adicionados para um copo de frasco com recuperado TPAC (1,88 g). O mistura de reação foi agitada a 169°C por 12 minutos em um reator. A mistura bruta era resfriada abaixo para a temperatura seguida por adição de 4 mL de metanol. O reação mistura era extraído com recuperado etilo acetato: salmoura (total volume de 600 mL), lavado com NaHCO₃ saturado solução (1x500 mL) seguida por extração com recuperado etilo acetato (3x250 mL). O as fases orgânicas combinadas foram secas com MgSO₄ anidro e concentrado sob condições reduzidas pressão. O produto foi obtido com rendimento de 29% (51,3 mg) como um sólido marrom.

Recuperação de TPAC: O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (81% recuperado, 2 g calculado de ¹RMN de H espectros de total massa 2.20 g de TPAC e *p* TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 19 para mais detalhes.

3º ciclo: Pré-moído quitina BM2 (250 mg, 1.13 mmol, 1 equiv.), NaCl (130 mg, 2.26 mmol, 2 equiv.), B(OH)₃ (210 mg, 3.40 mmol, 3 equiv.), TPAC (502 mg, 0.46 M) e *p*-toluenossulfônico ácido (160 mg, 0.904 mmol, 0.8 equivalente) e vidro contas 2 mm (1,50 g) eram adicionados para um copo de frasco com recuperado TPAC (2 g). O reação mistura era mexido no 169°C para 12 minutos em um reator. O bruto mistura era resfriada abaixo para a temperatura seguida por adição de 4 mL de metanol. O reação mistura era extraído com recuperado etilo acetato: salmoura (total volume de 600 mL), lavado com NaHCO₃ saturado solução (1x500 mL) seguida por extração com recuperado etilo acetato (3x250 mL). O as fases orgânicas combinadas foram secas com MgSO₄ anidro e concentrado sob condições reduzidas pressão. O produto foi obtido com rendimento de 37% (66 mg) como um sólido marrom.

Recuperação de TPAC: O aquoso fase era evaporado, e o bruto mistura era avançar lavado com diclorometano, filtrado fora e concentrado sob reduzido pressão para obter TPAC (83% recuperado, 2,05 g calculado de ¹H RMN espectros de total massa 2.29 g de TPAC e *p* TsOH mistura) como um sólido oleoso preto. Veja a Figura 21 para mais detalhes.

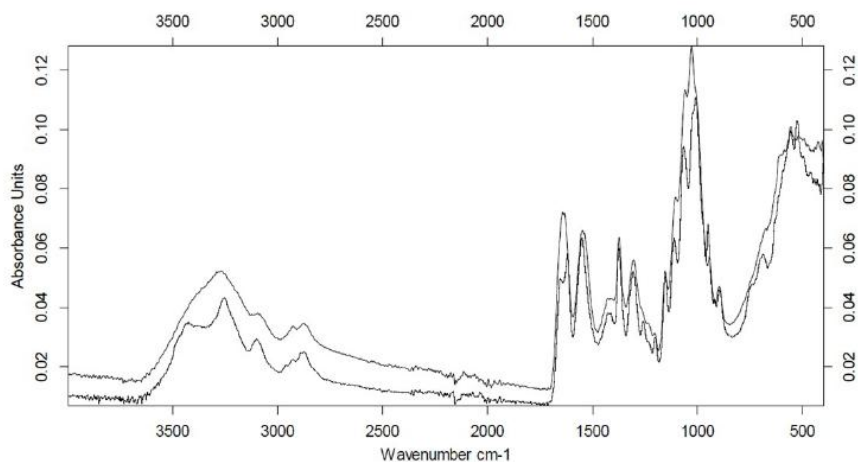
Protocolo para moagem de bolas de quitina:

Moído em bolas amostras eram obtidos sob diferentes moagem condições (BM1, BM2, BM3 e BM4). Quitina foi moído em um planetário bolamoinho (PM100, Retsch) usando um zircônio óxido (ZrO₂) jarde 50 mm Le 5 mm ZrO₂ bolas.

BM1 – 1 g de quitina comercial moído com 200 bolas a 500 rpm por 1 h 30 min, com rotação inversão ciclos de 15 minutos e 5 segundos pausa entre inversão ciclos; BM2 – 2 g de comercial quitina moído com 100 bolas no 650 rpm para 1 h 30 min com rotação inversão ciclos de 15 minutos e 5 segundos pausa entre ciclos de inversão; BM3 – 1 g de quitina comercial e 1 g de NaCl moído com 200 bolas a 500 rpm para 1 h 30 min com rotação inversão ciclos de 15 minutos e 5 segundos pausa entre inversão ciclos; BM4 – 100 mg de quitina extraído de cascas de camarão moído com 200 bolas em 500 rpm por 1 h 30 min com ciclos de inversão de rotação de 15 minutos e 5 segundos de pausa entre os ciclos de inversão.

Análise FTIR

Os espectros ATR-IR foram registrados usando um Alpha II (Bruker) para 16 varreduras até 4500 cm⁻¹ usando aproximadamente 2 mg de amostra.



Comparação entre quitina comercial (embaixo) e quitina moída em bolas (embaixo).

Protocolo para processo de moagem criogênica

UMRESTCHMoinho criogênicoequipado comum25mL moagemjarcom4zircônioóxidomoagembolas(10milímetros) foi usado.Quitina eramóido criogenicamenteem -196 °C (líquidonitrogênio) usando27 moagemciclos comosegue: 3mindepré-resfriamentoseguidopornove moagemciclos, cadacicloconsistindode3mindemoagemno30Hz seguido por 0,5 min de resfriamento intermediário a 5 Hz.

Preparação de SO₃ Materiais funcionalizados em H

Preparação de K10_CSP e CLOI_CSP em uma única etapa

Direto funcionalização cloisita N / D⁺ (CLOI) e montmorilonita (K10) com o organosilano 2-(4-clorosulfonilfenil)etiltrimetoxissilano (CSPTMS) foi realizado de acordopara a literatura¹: 2,0 g deocorrespondenteargilaeradispersosem 100 mLdeanidrotoluenoeosoluçãomantidosob mexendopara 5 minantes adiçãode 1,84 mLCSPTMS (7,8 mmol). Esses reaçõeseram carregou fora sobinerteatmosferaemagnéticomexendono 120 °C, para24 h. Ofinal sólido materiais (K10_CSP e CLOI_CSP) eram recuperado por lavado com 100 ml de tolueno e/ou CH₂Cl₂ sob refluxo, separados por filtração e secos a 100 °C por 24 h.

Preparação de K10_CISO em uma única etapa, H₂O₂/H₂SO₄, o -MWCNT_CISQH

Os materiais foram preparados diretamente por sulfonação de K10, CLIO e o-MWCNT (originalmente com paredes múltiplas de carbono nanotubos, denotado como MWCNTs), eram submetidos para uma anterior oxidação com HNO_3 de acordo com a literatura e com ácido clorossulfônico ^{1,3}.

K10- ClSO_3H e CLOI- ClSO_3H : 2.0 g de o-MWCNT e 35 mL de diclorometano foram transferidos para um frasco com uma despressurização de funil. A suspensão foi mantida sob magnético mexendo em gelo banho para 10 minutos. Subsequentemente, 2.0 mL de ClSO_3H adicionado gota a gota através um ar compensação de funil durante 10 minutos. Depois desse período, o gelo banho era removido e a solução era mantida sob mexendo na sala temperatura para 4 horas. Finalmente, o funcionalizado K10- ClSO_3H e CLOI- ClSO_3H foram filtrados, lavados com metanol (4 x 10 mL) e secos a 100 °C por 24 horas.

o-MWCNT- ClSO_3H : 1.0 g de o-MWCNT e 30 mL de CHCl_3 foram transferidos para um frasco. A suspensão foi mantida sob magnético mexendo por adição gota a gota de 1,0 mL de ClSO_3H . Depois desse período, a solução era mantida sob mexendo a 65 °C para 2 h. Finalmente, o funcionalizado o-MWCNT- ClSO_3H era filtrado, lavado com CHCl_3 e metanol e seco a 100 °C por 24 h. ³

Preparação de K10- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$, CLOI- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$ e Biochar- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$

Os materiais foram preparados diretamente por sulfonação de K10, CLIO e Biochar usando $\text{H}_2\text{ENTÃO}$ de acordo com a literatura. ^{1,4}

K10- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$ e CLOI- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$: Direto ácido ativação de K10 e Cloi- Na^+ era carregado fora por dispersando 2,0 g de argilas em 50 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico (4 M). Essas soluções foram mantidas sob magnético mexendo na sala temperatura para 48 horas. Finalmente, os materiais (K10- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$ e Cloi- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$) foram recuperados e lavados com metanol (4 x 10 mL). ⁴

Biochar- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$: 2,0 g de biochar e 20 mL de $\text{H}_2\text{ENTÃO}$ concentrado foram misturados em um fundo redondo de 50 mL frasco. A suspensão foi mantida sob agitação magnética a 80 °C por 6 h. Em seguida, o funcionalizado biochar- $\text{H}_2\text{ENTÃO}$ foi filtrado, lavado diversas vezes com destilado de água até pH > 6 e seco a 100 °C por 24 h.

Funcionalização em duas etapas:

Preparação em duas etapas de K10- PhClSO_3H , CLOI- PhClSO_3H e o-MWCNT- PhClSO_3H

Esses materiais foram preparados em 2 passos de acordo com a literatura. Normalmente, a argila era adicionada para anidrido tolueno e feniltriethoxissilano (PhTES) ou (2-feniletil)trimetoxissilano (PhETMS) e essa suspensão era refluxada para 24 horas, sob atmosfera magnético mexendo. O resultado os materiais eram filtrados e secos a 100 °C para 24 horas. Os intermediários CLOI-PhTES, K10-PhTES, o-MWCNT-PhETMS (2.0 g) eram então refluxados sob mexendo com 30 mL de diclorometano e 2,40 mL de ácido clorossulfônico, a 50 °C por 6 horas. Os materiais resultantes (K10- PhClSO_3H , CLOI- PhClSO_3H e o-MWCNT- PhClSO_3H) foram filtrados e lavados sucessivamente com pequenas quantidades (4 x 10 mL) de metanol. Finalmente foram secos a 100 °C por 24 horas.

Preparação em duas etapas de K10_BnClSO₃H

Este material foi preparado em 2 etapas de acordo com a literatura um) K10(2.0g) era suspenso em tolueno (40 mL) e benzilálcool (BnOH, 10 mL). O dispersões eram mantido em refluxo, sob magnético mexendo, para 12 horas. O resultando material era filtrado, lavado com diclorometano e seco no 100 °C para 24 horas. Então o conforme preparado K10_Bn era sulfonado com 3,40 mL ClSO₃H em diclorometano (30 ml), sob magnético mexendo, no 50 °C para 3 horas. Depois esse período, o dispersão era filtrado e o resultando material K10_BnClSO₃H era lavado diversas vezes com diclorometano e seco a 100 °C por 24 horas.

Preparação de heteropoliácidos de Preyssler, $K_{14}[S_{14}C_{30}O_{110}]$ e $H_{14}[S_{14}C_{29}MoO_{110}]$

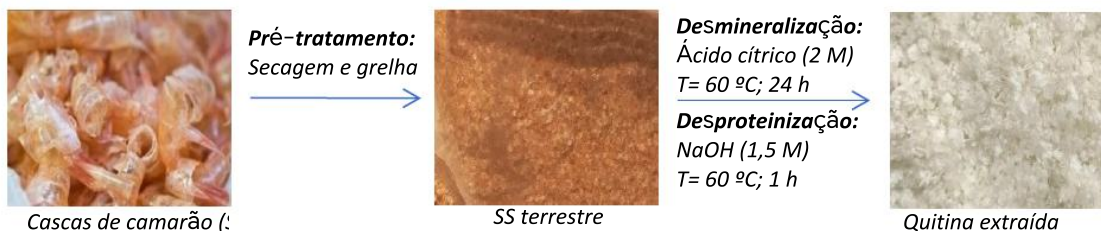
O sal de Preyssler, $K_{14}[S_{14}C_{30}O_{110}] \cdot nH_2O$, foi preparado a partir de $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ de acordo com um relatado método.⁶ Em um típico experimento, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ (30 g, 0,09 mol) era dissolvido em ebulição água (20 mL), e concentrado fosfórico ácido (H_3PO_4) era derramado com cuidado para dentro da solução (27 g, 0,27 mol). Então, a mistura era refluxada para 24 h, e concentrado nítrico ácido (1 mL) era adicionado para a solução. Preyssler sal era precipitado por adicionando KCl (10 g, 0,13 mol). O $K_{14}[S_{14}C_{30}O_{110}] \cdot nH_2O$ era convertido para o correspondente ácido $H_{14}[S_{14}C_{30}O_{110}]$ por passagem isto através um Dowex-50W-X8 ion coluna de troca.

O Preyssler heteropoliácido $H_{14}[S_{14}C_{29}MoO_{110}]$ era sintetizado seguindo um literatura método.^{6,7} O método era semelhante para que de $[S_{14}C_{30}O_{110}]$. Brevemente, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ (23 g, 0,07 mol) e $N_{1/2}MoO_4 \cdot 2H_2O$ (2 g, 8,3 mmol) foram dissolvidos em água (20 mL) e misturado em 333 K por 30 minutos. Então, H_3PO_4 (27 mL) era adicionado, e a solução era refluxada para 24 h. A solução era resfriada para a sala temperatura e KCl (10 g, 0,13 mol) dissolvido em H_2O (30 mL) foi adicionado com agitação vigorosa por 30 minutos. O sólido era obtido por cristalização em calor água (70 mL) e então era resfriado abaixo para a quarto temperatura, obtendo amarelos cristais correspondentes para $[S_{14}C_{29}MoO_{110}]$, este sal era convertido para isso é correspondente ácido $[S_{14}C_{29}MoO_{110}]$, por passagem isto através uma coluna preenchida com Dowex 50W-X8 resina de troca iônica.

Extração de quitina em duas etapas usando ácido cítrico como agente desmineralizador:

Camarão conchas (SS) eram gentilmente oferecido (congelado) por Marçó Cabo empresa (<https://marcabo.pt/>). O conchas eram desidratado, chão (1-1,5 mm) e embalado a vácuo para controlar o armazenamento em um local protegido da luz. Camarão conchas desmineralização eram conduzido usando ácido cítrico, um naturalmente ocorrendo ácido, menos tóxico que o convencional HCl comumente usado em camarão conchas desmineralização. A quantidade de 10,0 g de SS era misturado com 150 mL de ácido cítrico (2 M) durante 24 h sob mexendo e 60 °C de temperatura. Após esse tempo a mistura foi filtrada e lavada várias vezes com água destilada. A obtido desmineralizado SS eram então tratado com um 1,5 M NaOH solução (100 mL) sob constante magnético mexendo durante 1 hora e 60 °C de temperatura. O final solução era a vácuo filtrado e lavado

com água deionizada aquecida (80°C) até atingir pH~7. A quitina extraída da amostra foi seca e armazenada em um dessecador.



Representação esquemática da extração de quitina de cascas de camarão.

Caracterização da quitina

Fourier transform infrared spectroscopy spectra of all samples were recorded on a Jasco FT/IR-460 Plus spectrophotometer in the range of 4000–400 cm^{-1} , using a resolution of 4 cm^{-1} and 32 scans; the spectra were obtained in KBr pellets (Aldrich, FTIR spectroscopic grade). The electron microscopy/dispersible energy X-ray spectroscopy (MEV/EDS) was carried out using a high-resolution (Schottky) SEM ambient with microanalysis of X-rays and electron backscattered analysis (Quanta400 FEG SEM/EDAX Genesis X4M), in high vacuum conditions, at the *Centro de Materiais da Universidade do Porto* (CEMUP).

Resultados da caracterização

The morphological analysis images shown in Figure 29 present SEM images of shrimp shells used as raw material in this work (a), extracted shrimp shell (band for comparison SEM images of commercial chitin). The morphology of the extracted chitin (Figure 29) exhibited a high density of porous and fibrous structures, similar to commercial chitin. On the other hand, the shrimp shells (Figure 29) present a hard surface without pores, mainly due to the presence of proteins and minerals.^{10,11}

FTIR spectra of extracted chitin are consistent with commercial chitin, as shown in Figure 30. The absorption peak appearing at 3500 cm^{-1} is attributed to OH stretching vibration. Two bands of absorption at 3243 and 3100 cm^{-1} are attributed to N–H stretching. The presence of two bands in the region 1660–1620 cm^{-1} related to the vibration modes of amide I is indicative of the presence of α -chitin in both commercial chitin and extracted chitin as previously observed by other authors.¹² No significant differences were observed between extracted chitin and commercial chitin.

Cópias dos dados de RMN

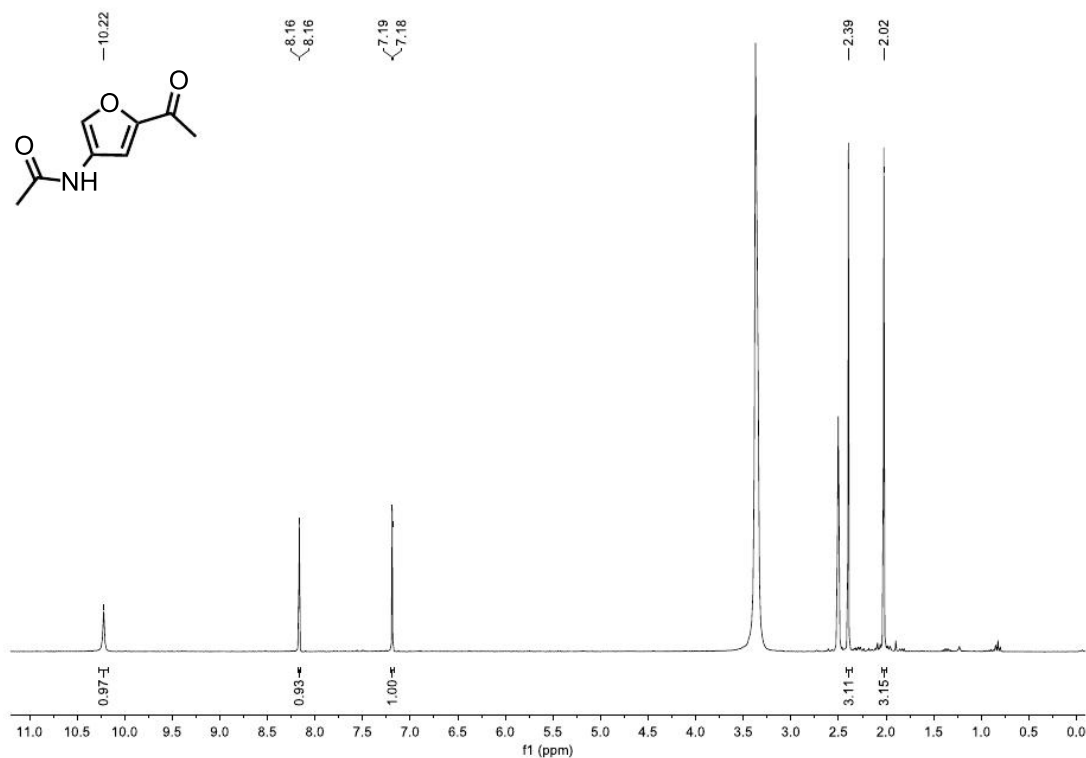


Figura 1. Espectros de RMN de H de 3A5AF obtidos de NAG em escala de 1,43 cm em DMSO-d₆.

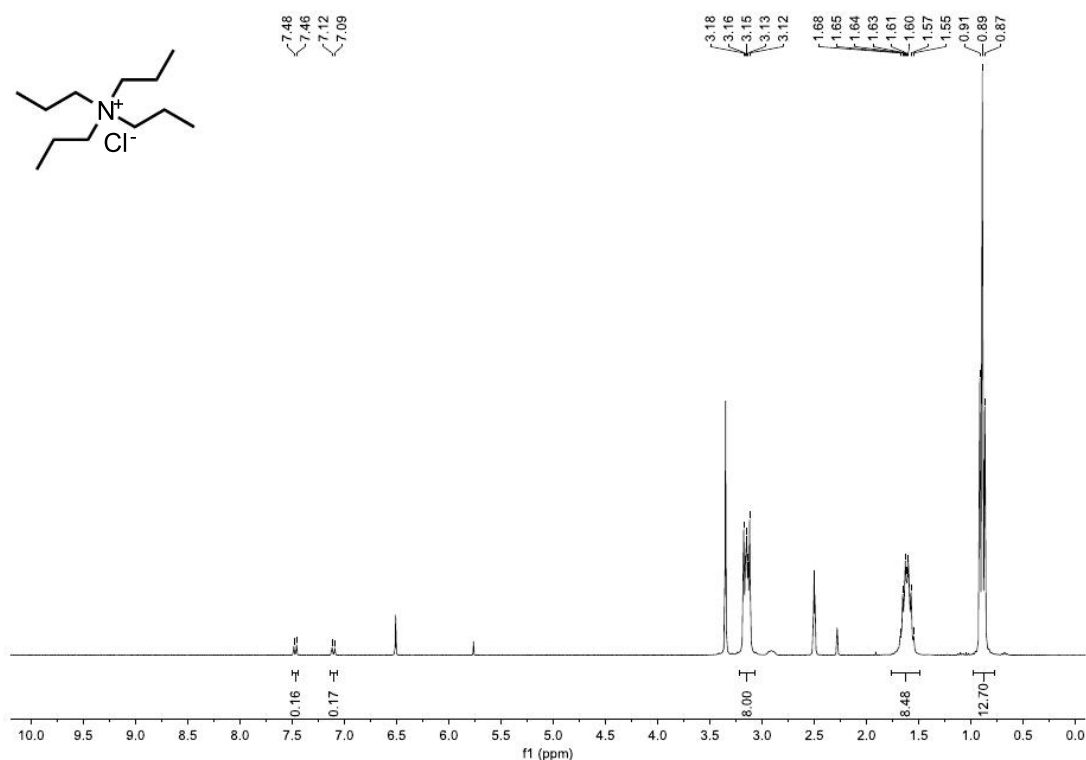


Figura 2. Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1,43 cm em DMSO-d₆.

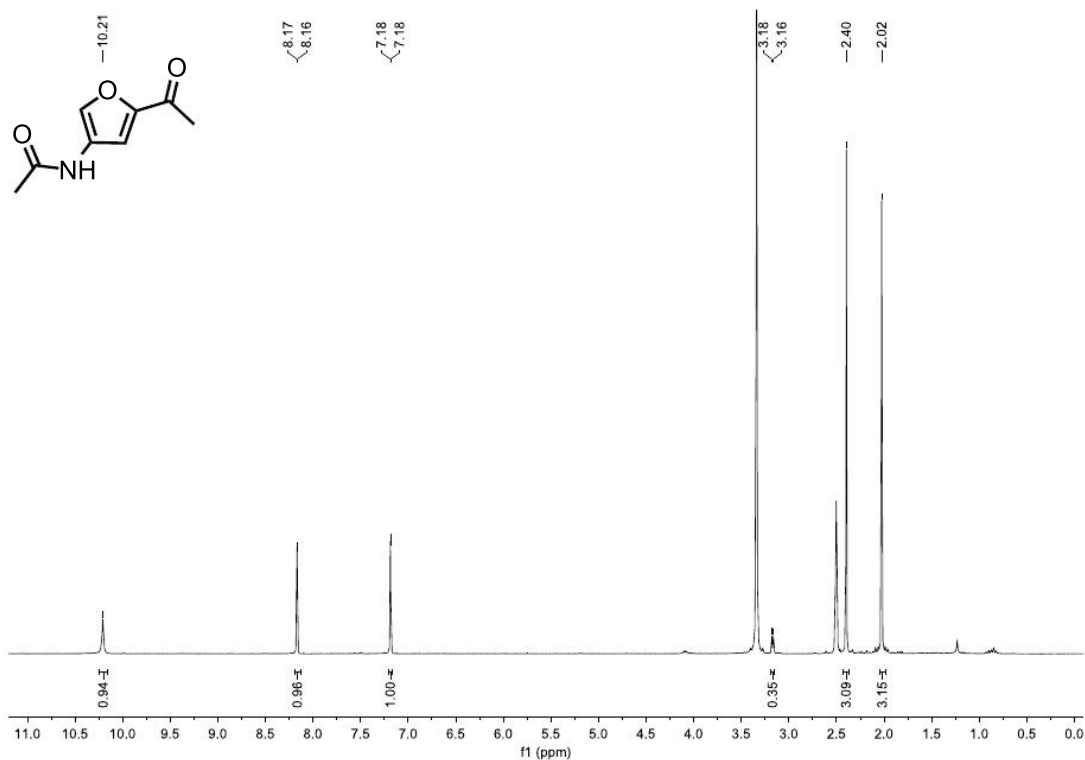


Figura 3. ¹Espectros de RMN de H de 3A5AF obtidos de NAG em escala de 1,10 e 100 ppm em DMSO-d₆.

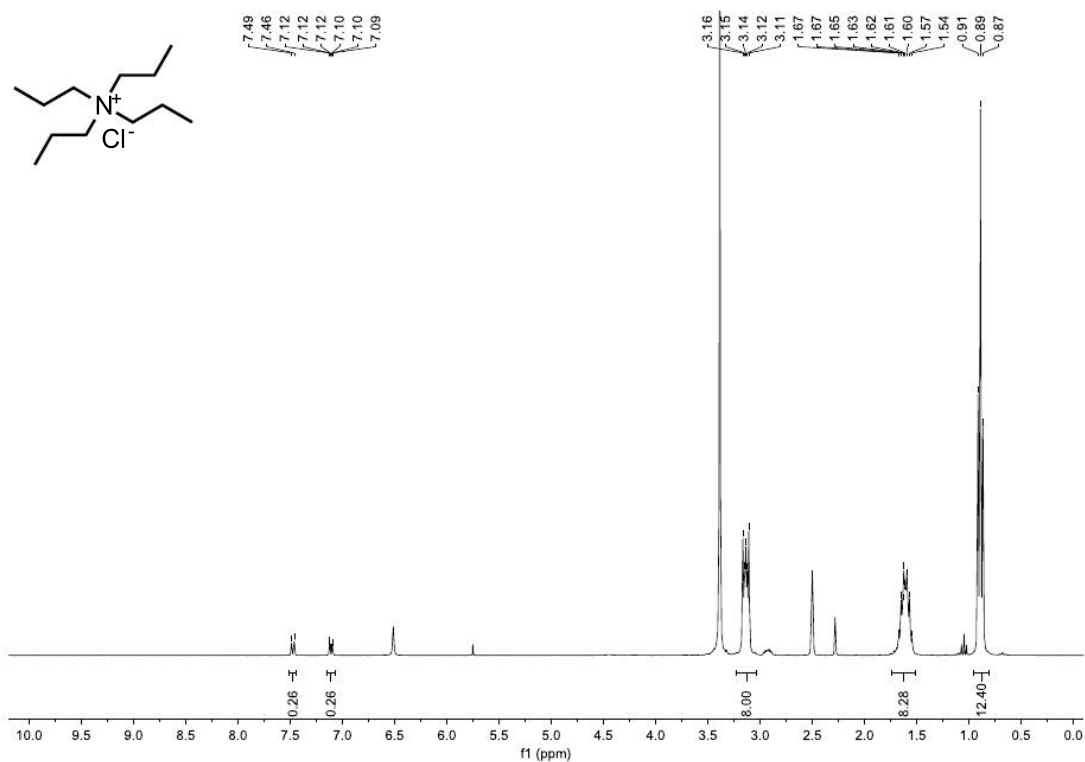


Figura 4. ¹Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1,10 e 100 ppm em DMSO-d₆.

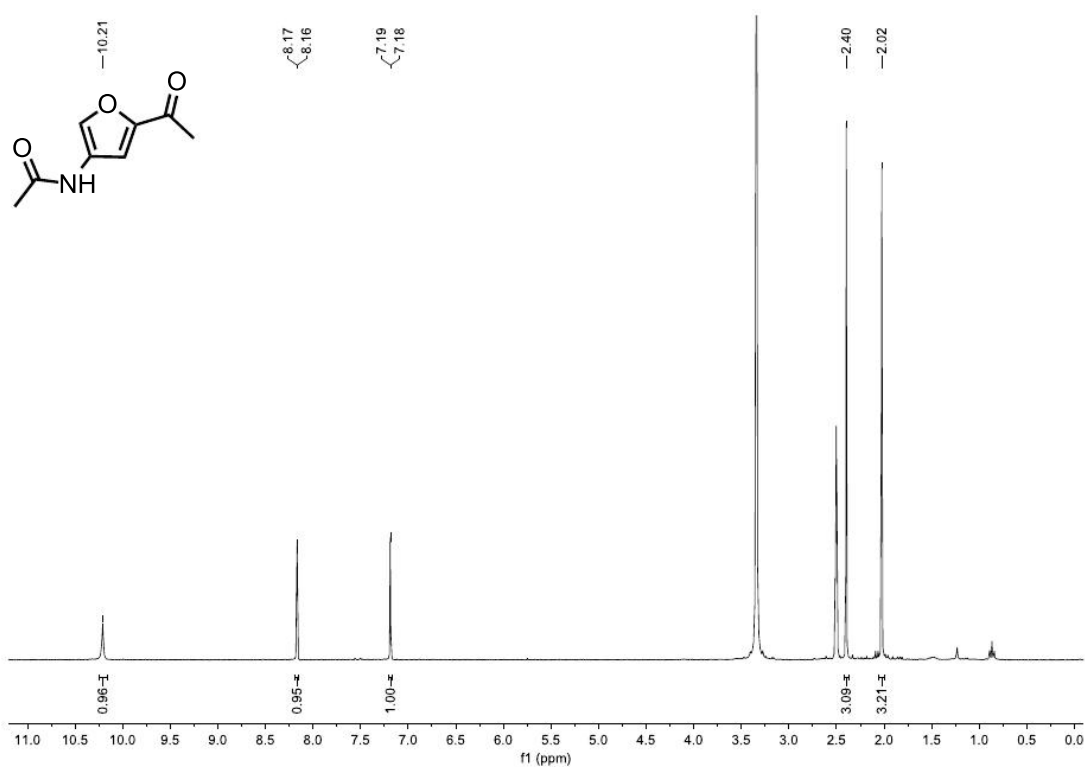


Figura 5. ¹Espectros de RMN de H de 3A5AF obtidos de NAG em escala de 1,13 (10) em DMSO-d₆.

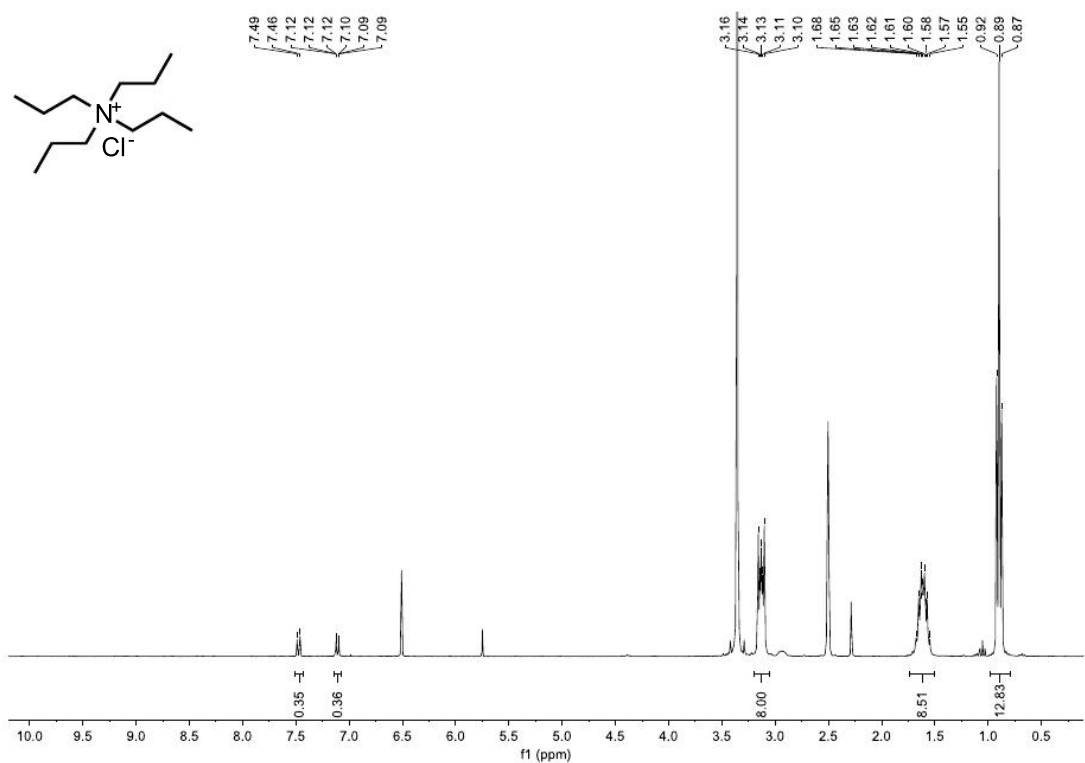


Figura 6. ¹Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1,13 (10) em DMSO-d₆.

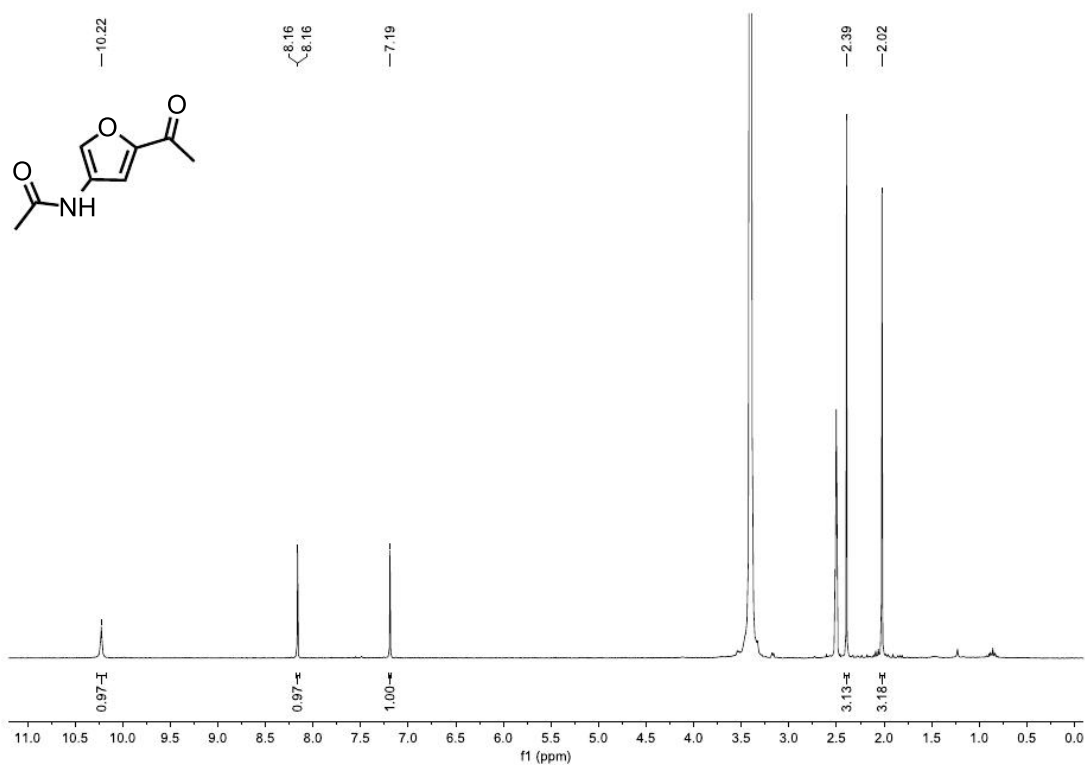


Figura 7. ¹Espectros de RMN de H de 3A5AF obtidos de NAG em escala de 1,13 ppm em DMSO-d₆.

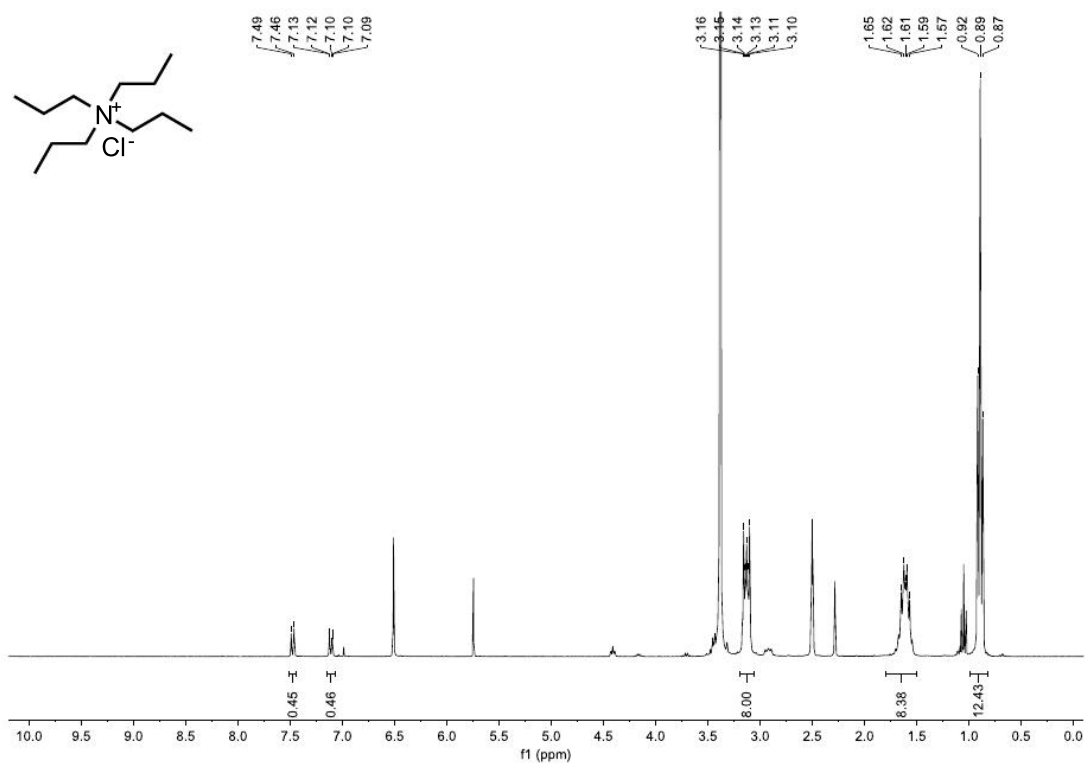


Figura 8. ¹Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1,13 ppm em DMSO-d₆.

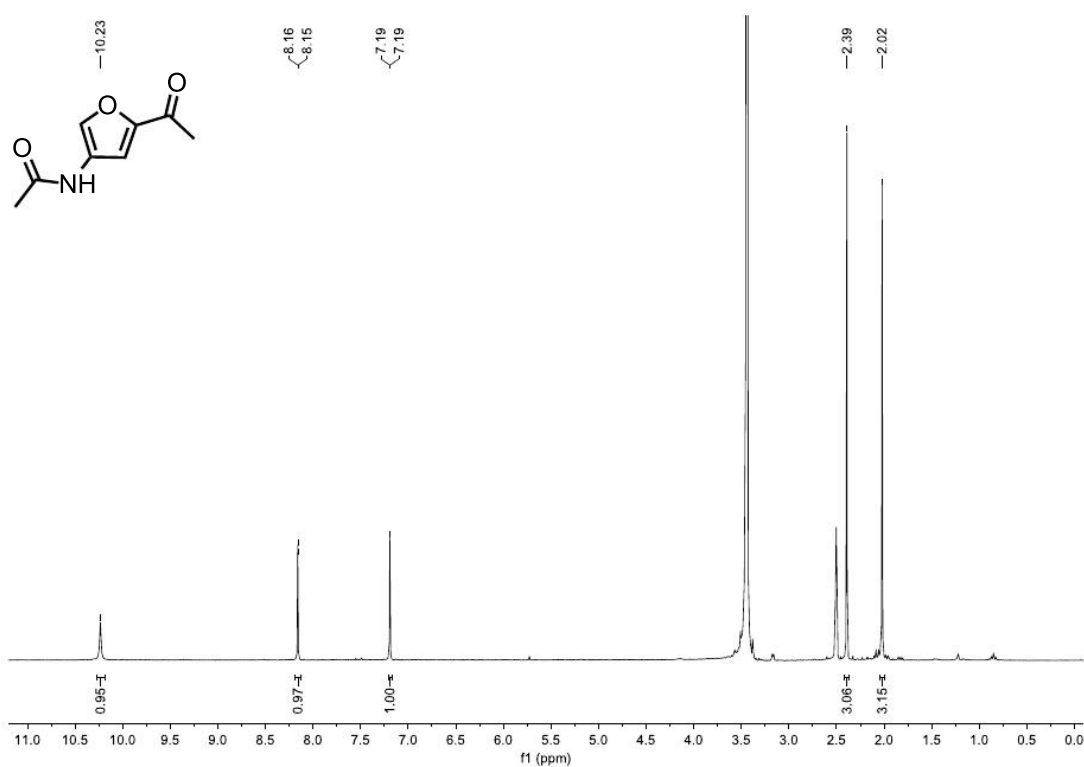


Figura 9. ¹Espectros de RMN de H de 3A5AF obtidos de NAG em escala de 1,13 ppm em DMSO-d₆.

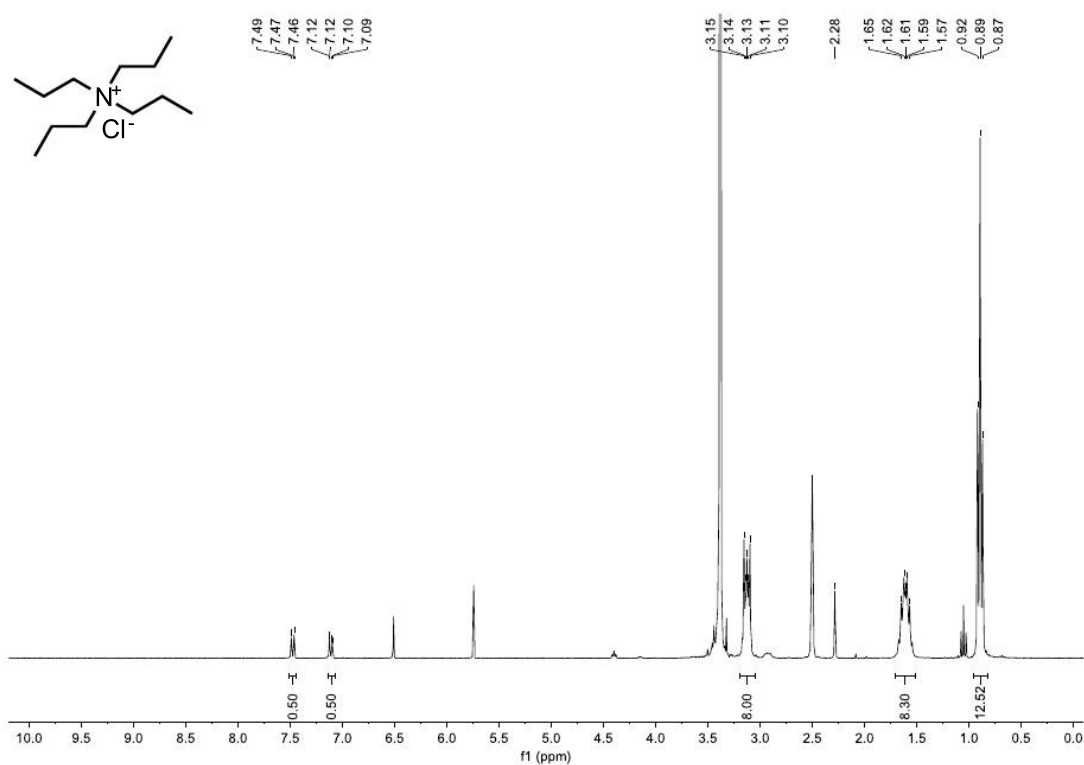


Figura 10. ¹Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1,13 ppm em DMSO-d₆.

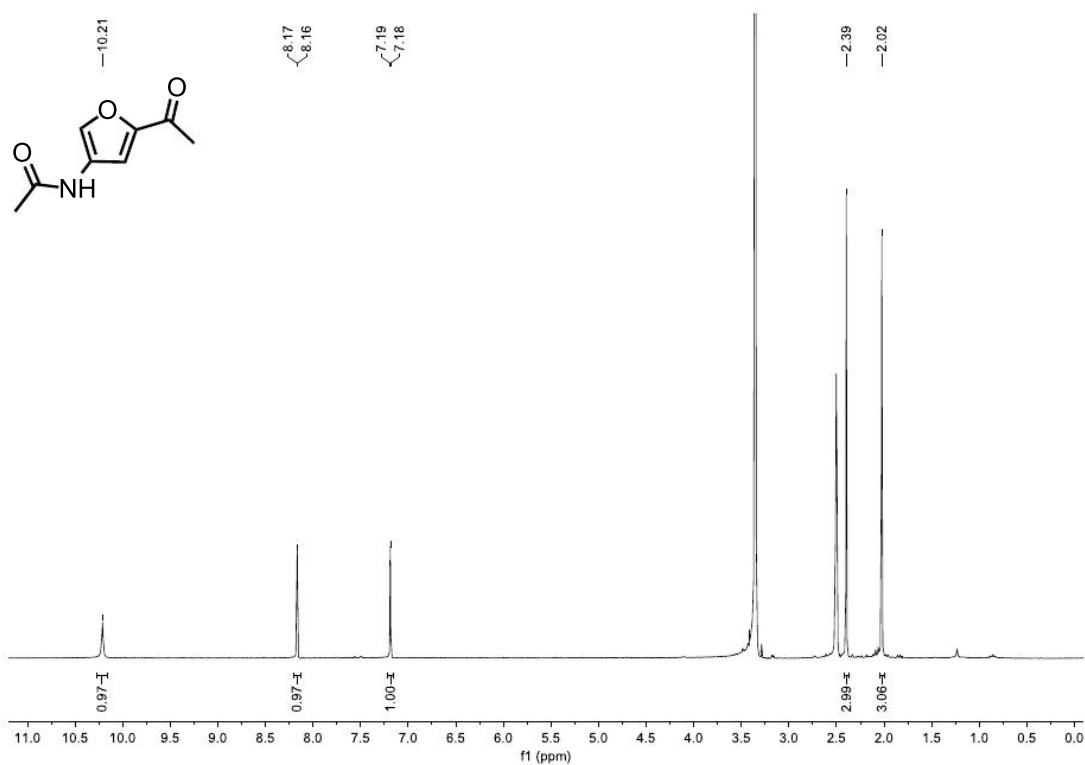


Figura 11. ¹Espectros de RMN de H de 3A5AF obtidos de NAG em escala de 1°, 130 MHz em DMSO-d₆.

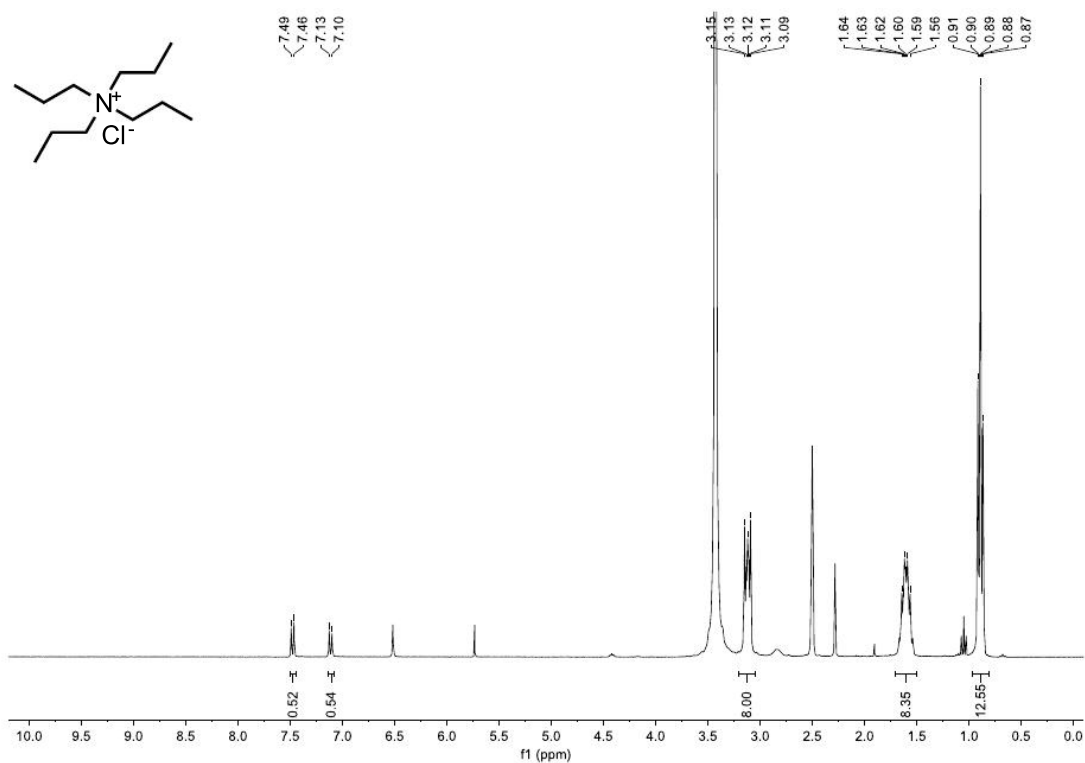


Figura 12. ¹Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1°, 130 MHz em DMSO-d₆.

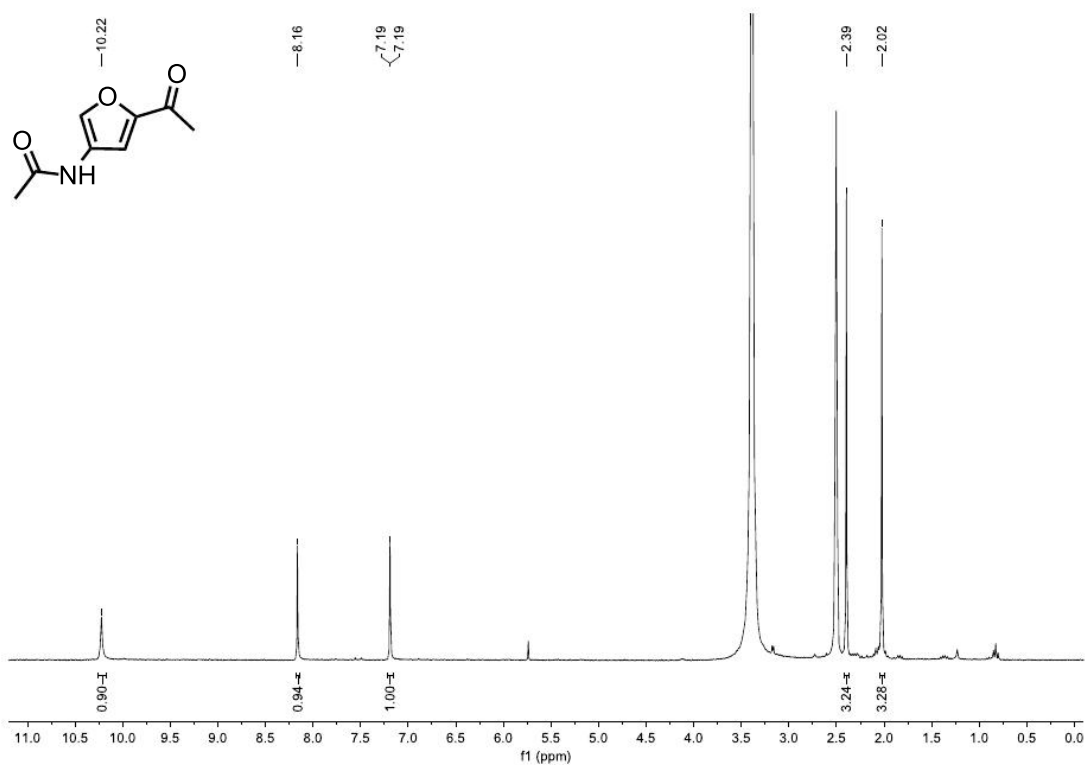


Figura 13. ¹Espectros de RMN de H de 3A5AF obtidos de NAG em escala de 1,13 ppm em DMSO-d₆.

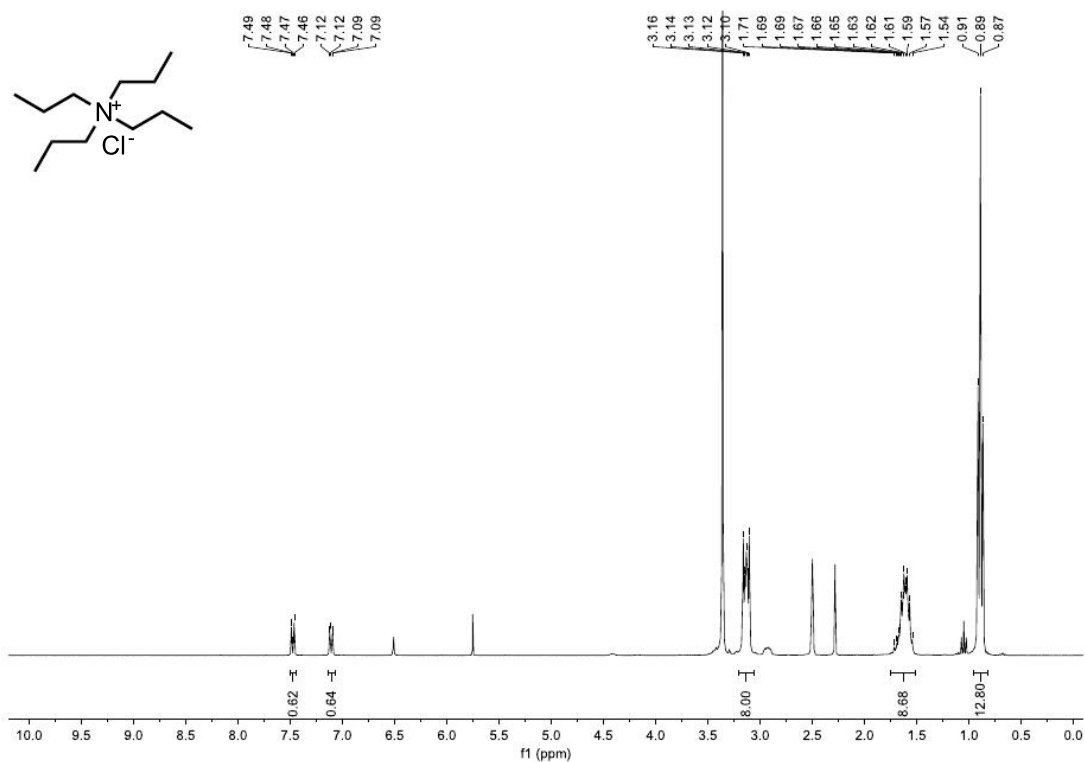


Figura 14. ¹Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1,13 ppm em DMSO-d₆.

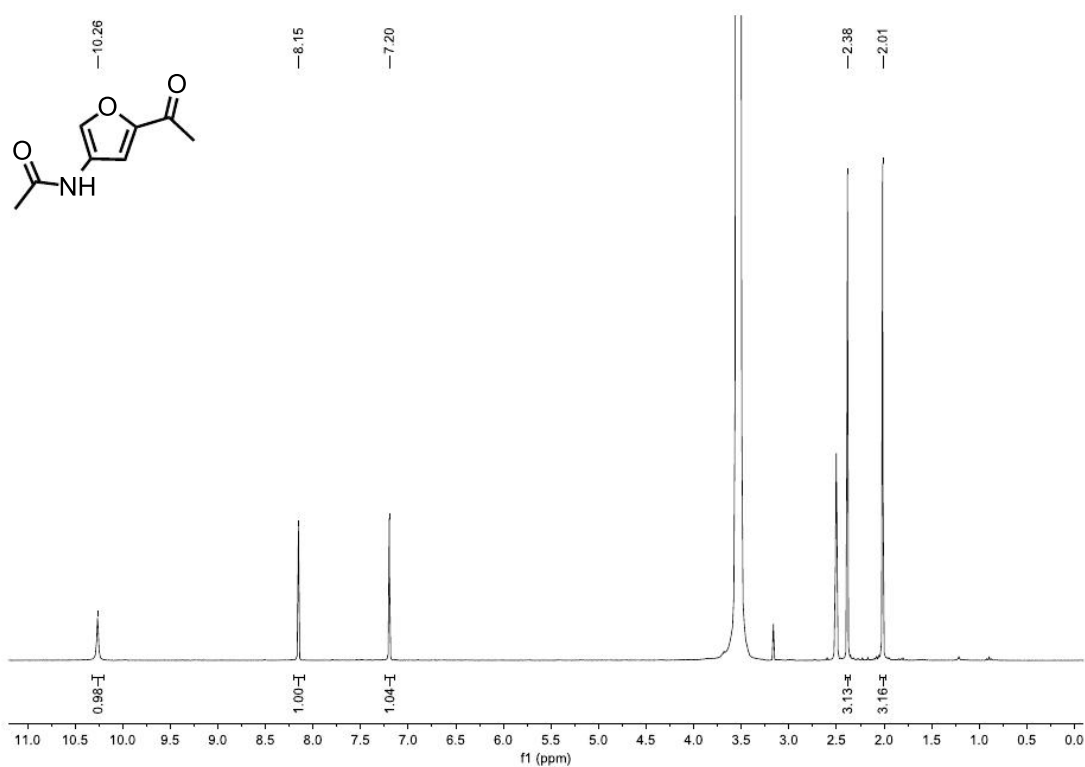


Figura 15. ¹Espectros de RMN de H de 3A5AF obtidos de NAG em escala de 1,13 mmol (8,33 mg) em DMSO-d₆.

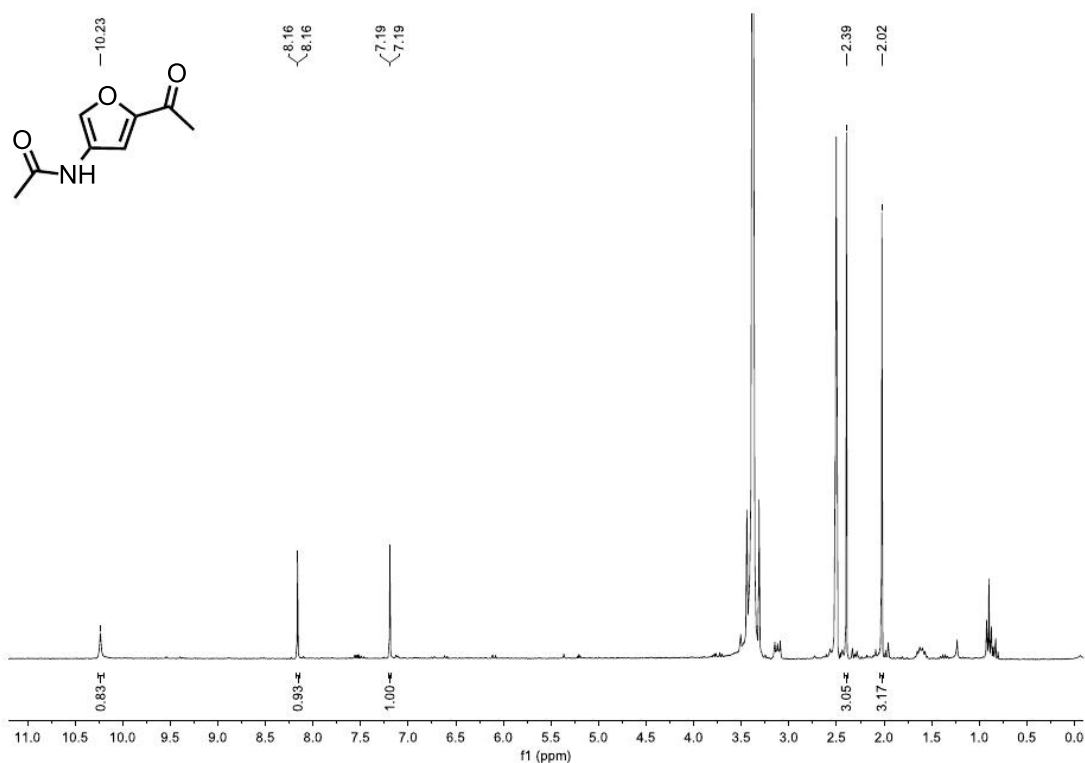


Figura 16. ¹HRMN espectros de 3A5AF obtido de pré-moído quitina em 1,13 mmol escala (1,13 mmol) em DMSO-d₆.

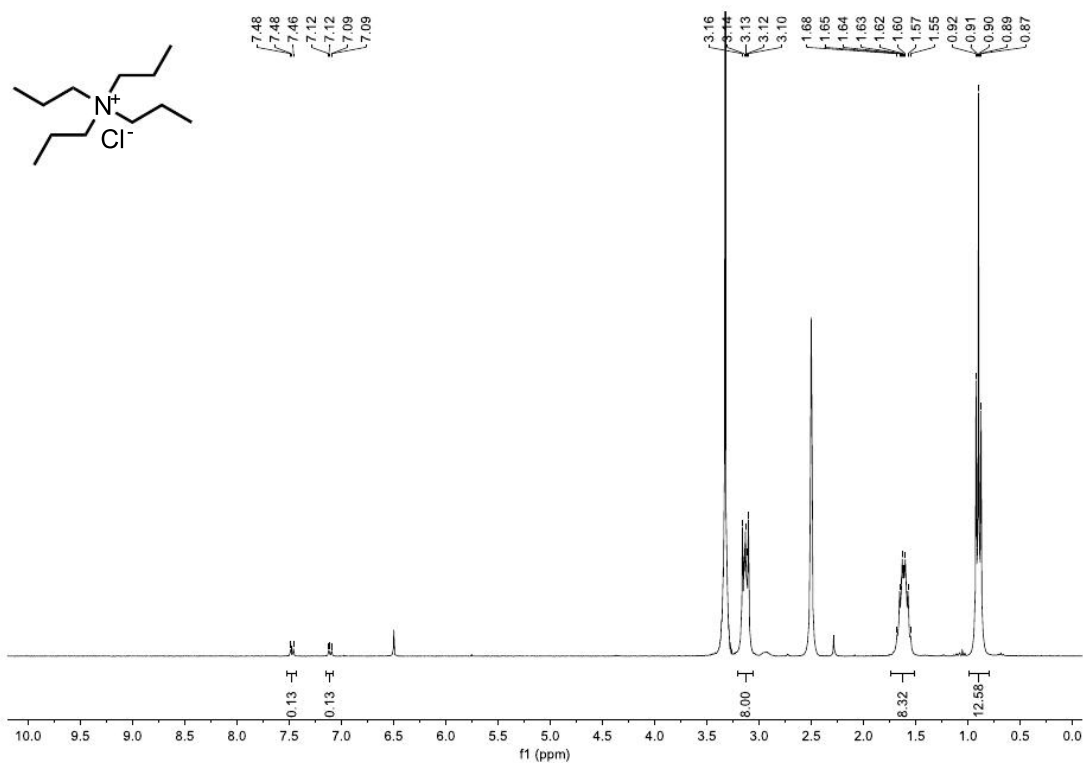


Figura 17. ¹Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1.13 mmol em DMSO-d₆.

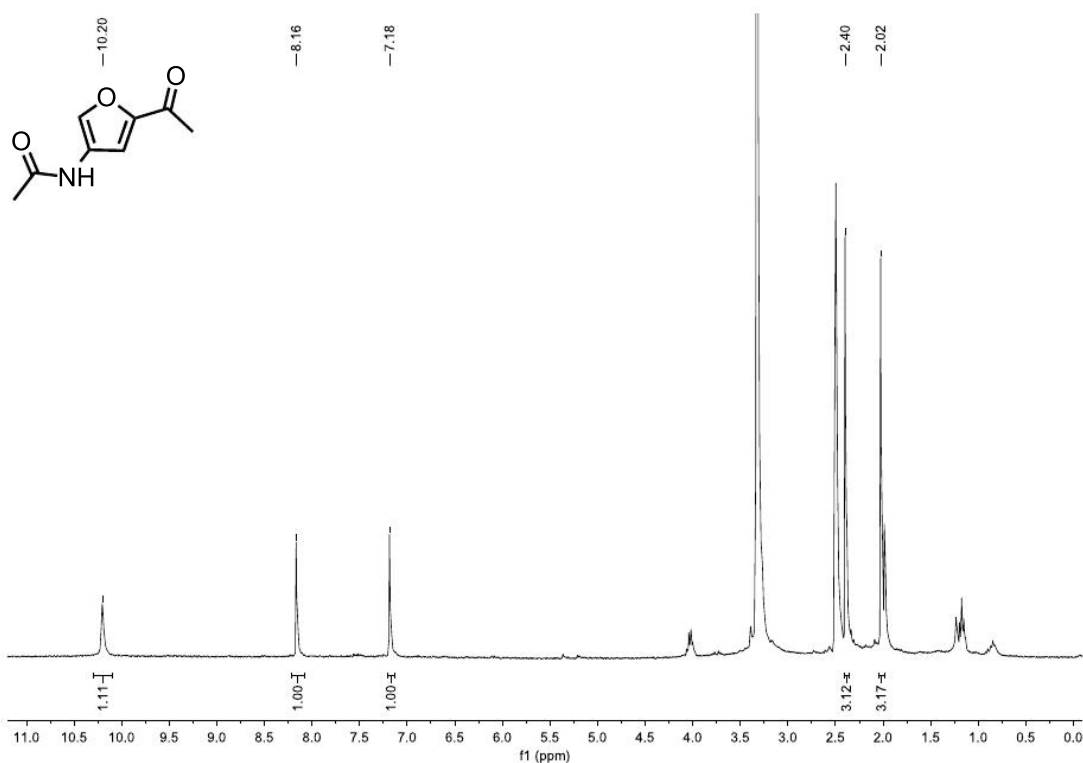


Figura 18. ¹HRMN espectros de 3A5AF obtido de pré-moldo quitina em 1.13 mmol escala (2^o ciclo) em DMSO-d₆.

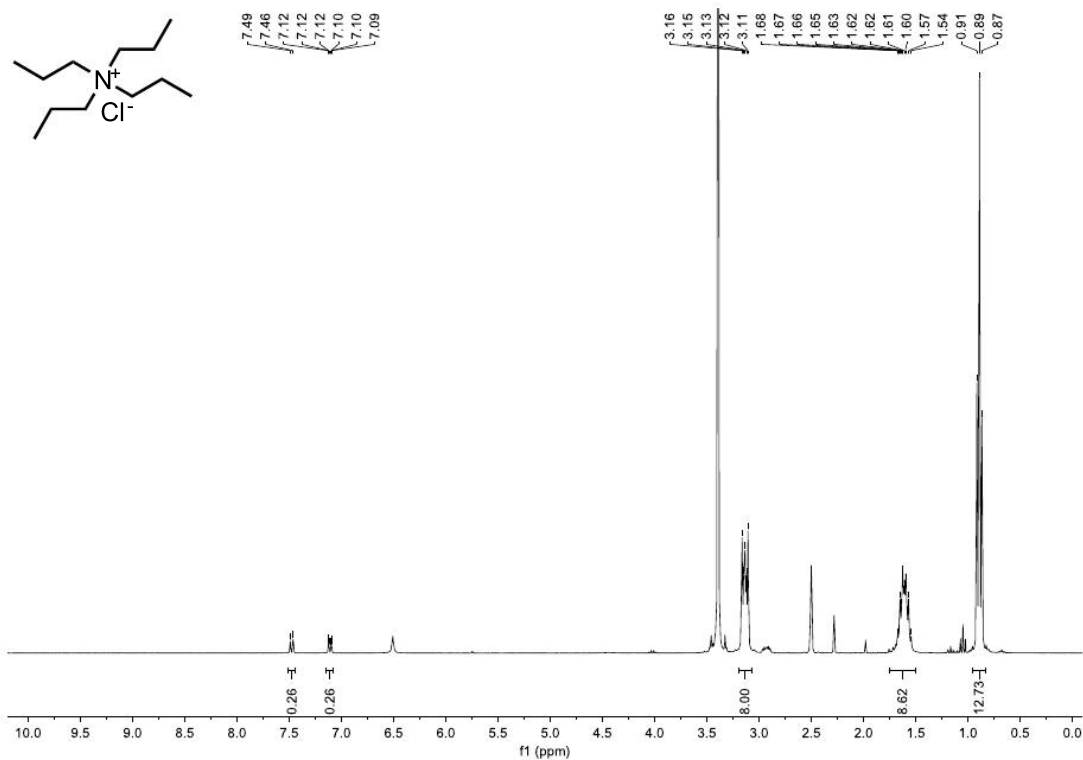


Figura 19. ¹Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 1.13 mmol em DMSO-d₆.

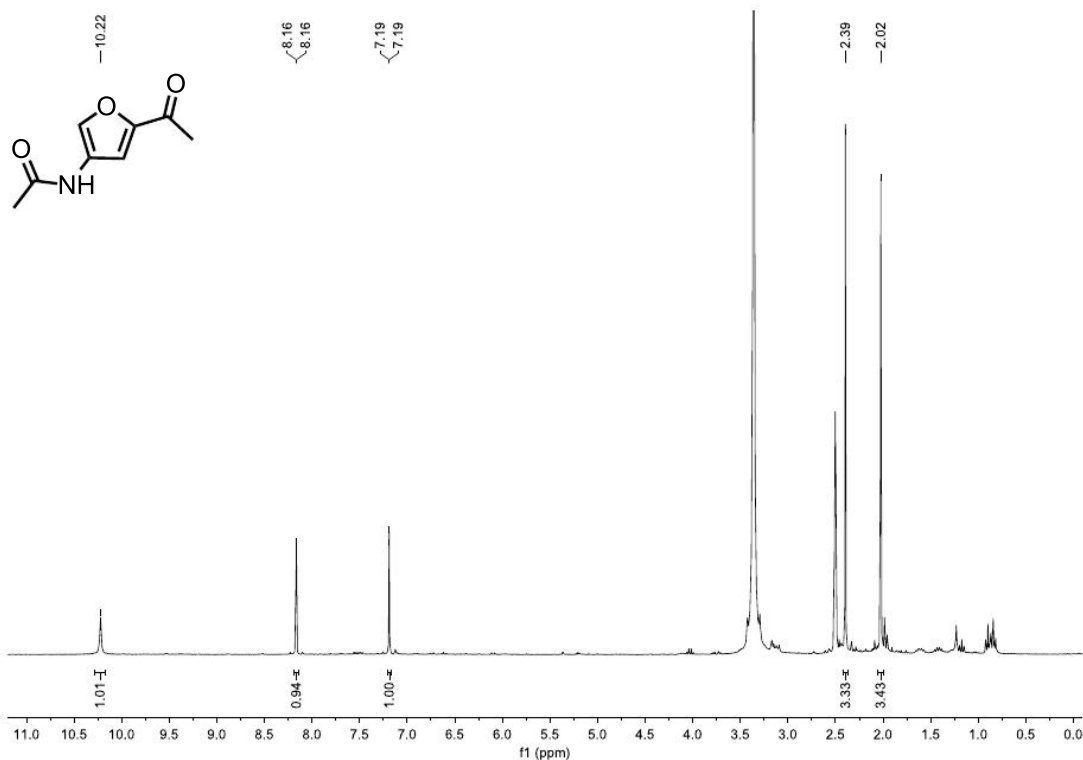


Figura 20. ¹HRMN espectros de 3A5A obtido de pré-moído quitina em 1.13 mmol escala (3rd ciclo) em DMSO-d₆.

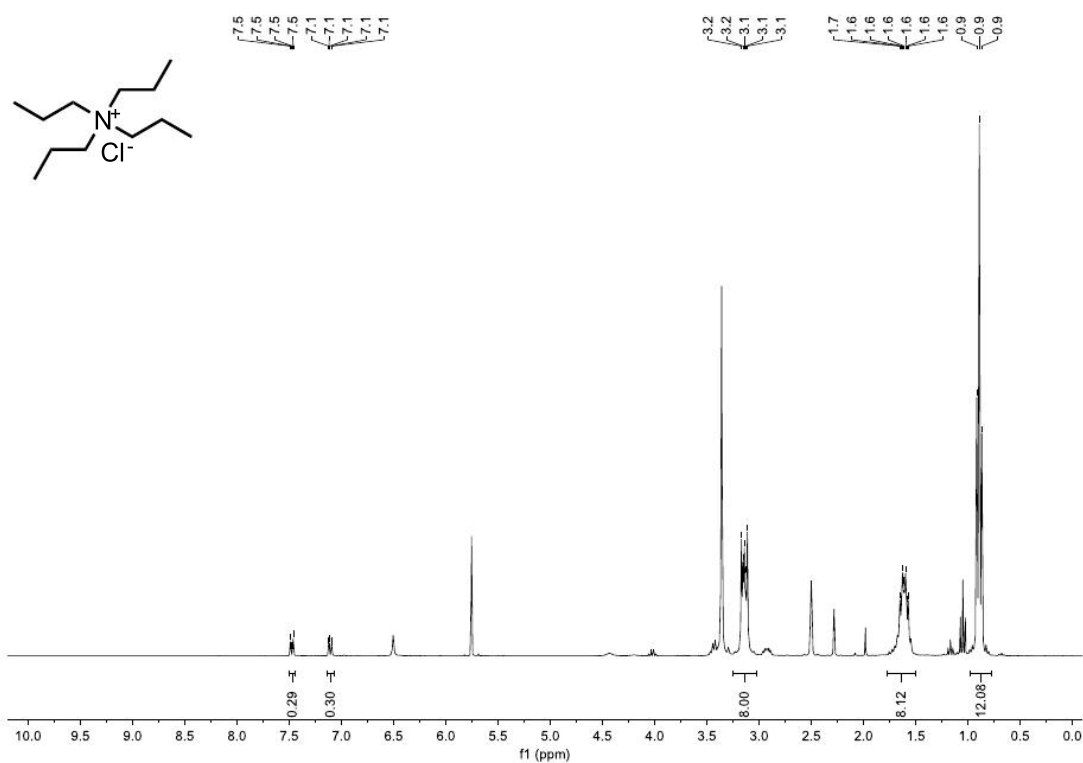


Figura 21. ^1H Espectros de RMN de H do TPAC recuperado em escala de 10 μg em DMSO- d_6 .

Estudos de estabilidade de 3A5AF em diferentes solventes deuterados

A estabilidade de 3A5AF em diferentes solventes deuterados (100mM) foi medida por quantitativo ^1H RMN em experimentos usando 1,3,5-metoxibenzeno ($\approx 33 \text{ mM}$) como padrão interno.

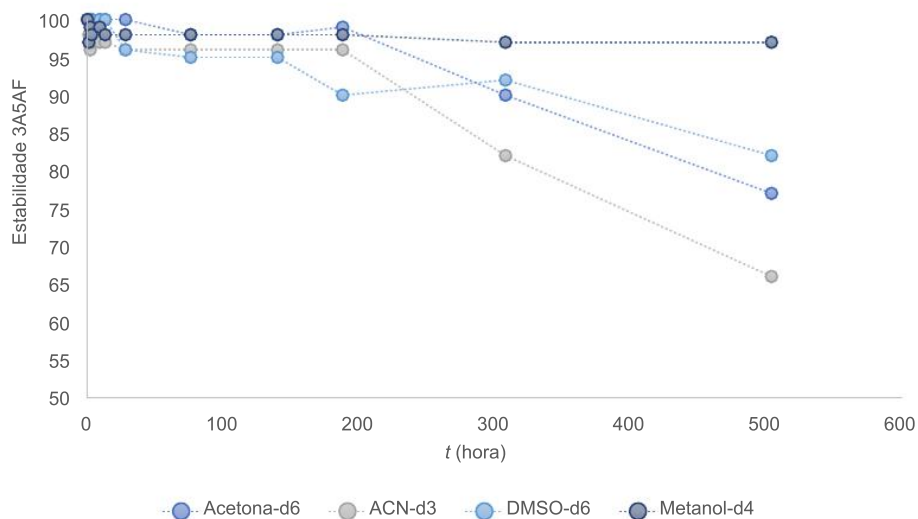


Figura 22. Estudos de estabilidade de 3A5AF em acetona- d_6 , ACN- d_3 , DMSO- d_6 e metanol- d_4 sobre 21 dias.

Para uma solução de 3A5AF (50 mM) em D_2O (100 μ L) foi adicionado D_2O (100 μ L). O estabilidade de 3A5AF era medido por quantitativo 1H RMN experimentos usando 1,3,5-metoxibenzeno ($\approx 16,67$ mM) como padrão interno.

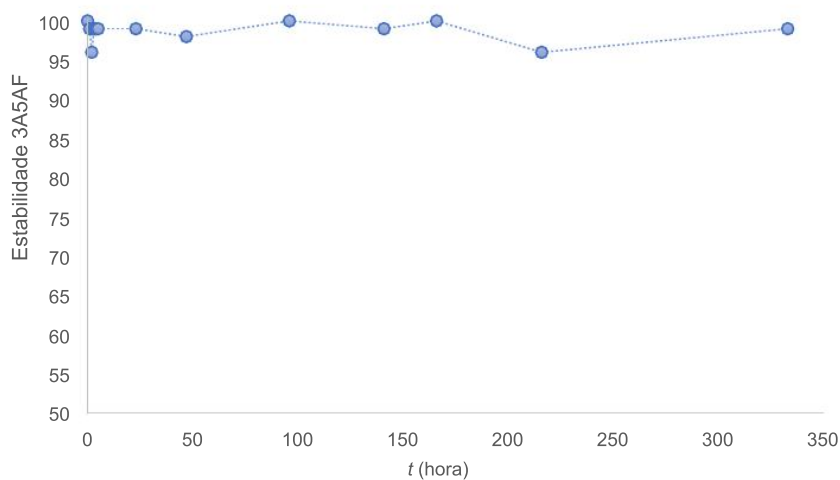


Figura 23. Estudos de estabilidade de 3A5AF em uma mistura D₂O/DMSO-d₆ de 14 dias.

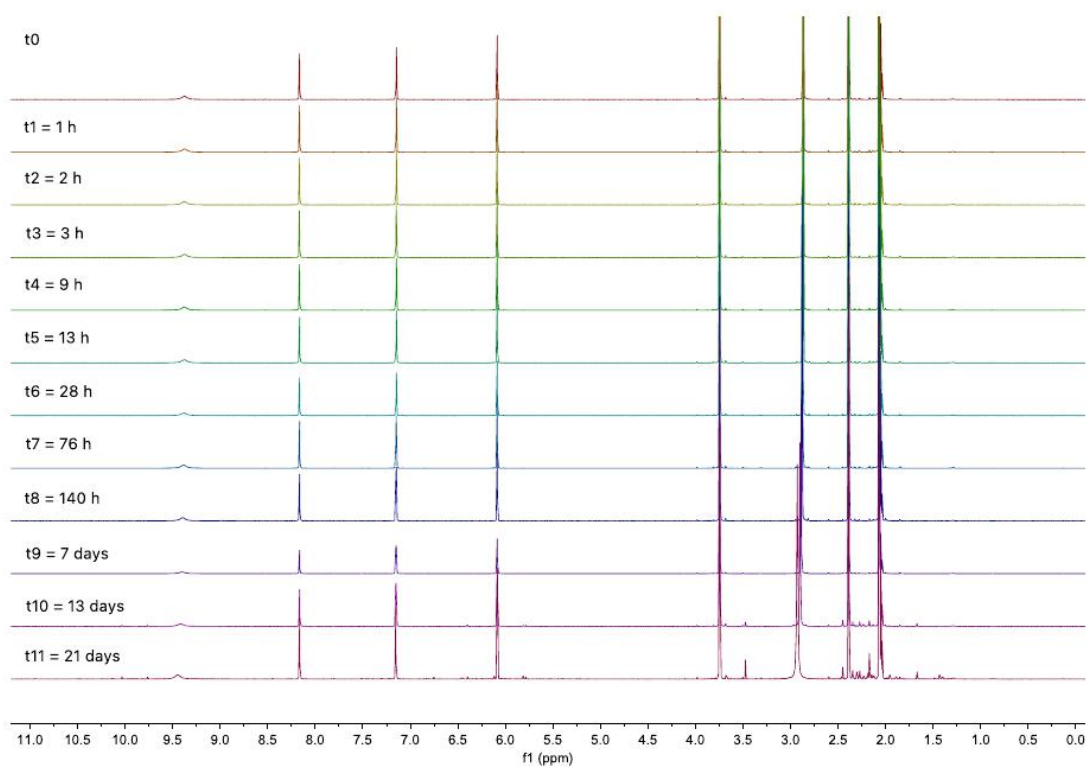


Figura 24. 1 Espectros de RMN de H da estabilidade de 3A5AF em DMSO-d₆ de 21 dias.

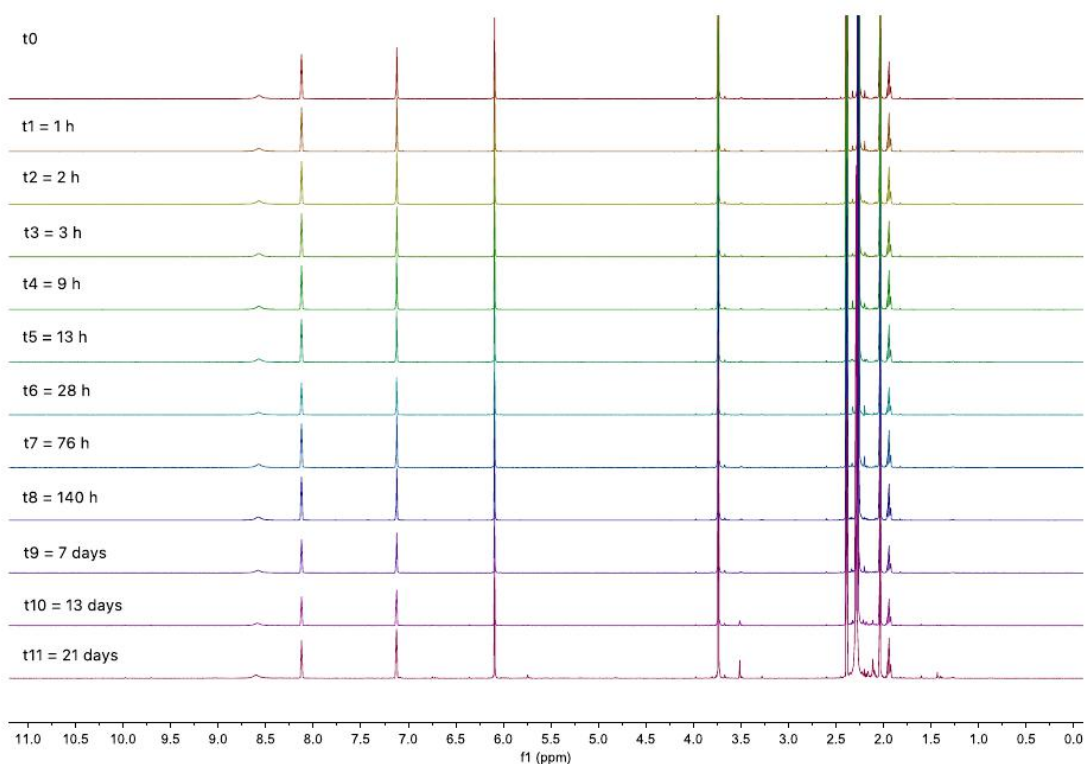


Figura 25. ¹Espectros de RMN de H da estabilidade de 3A5AF em CDCl₃-d

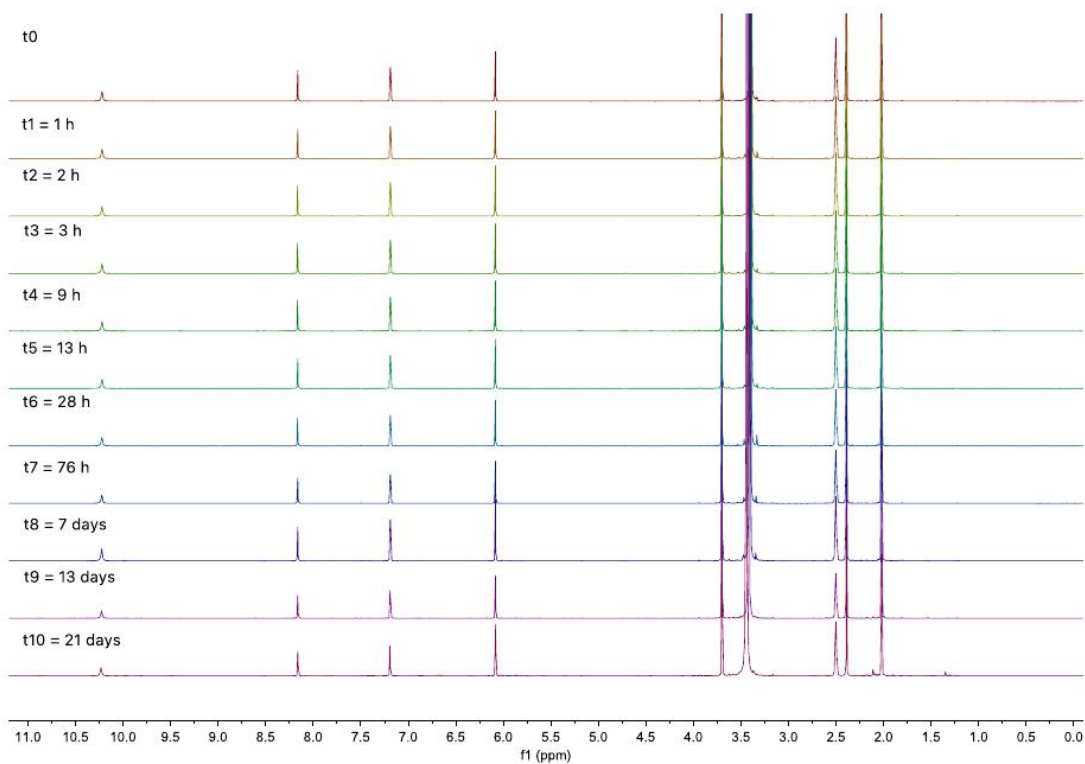


Figura 26. ¹Espectros de RMN de H da estabilidade de 3A5AF em DMSO-d₆

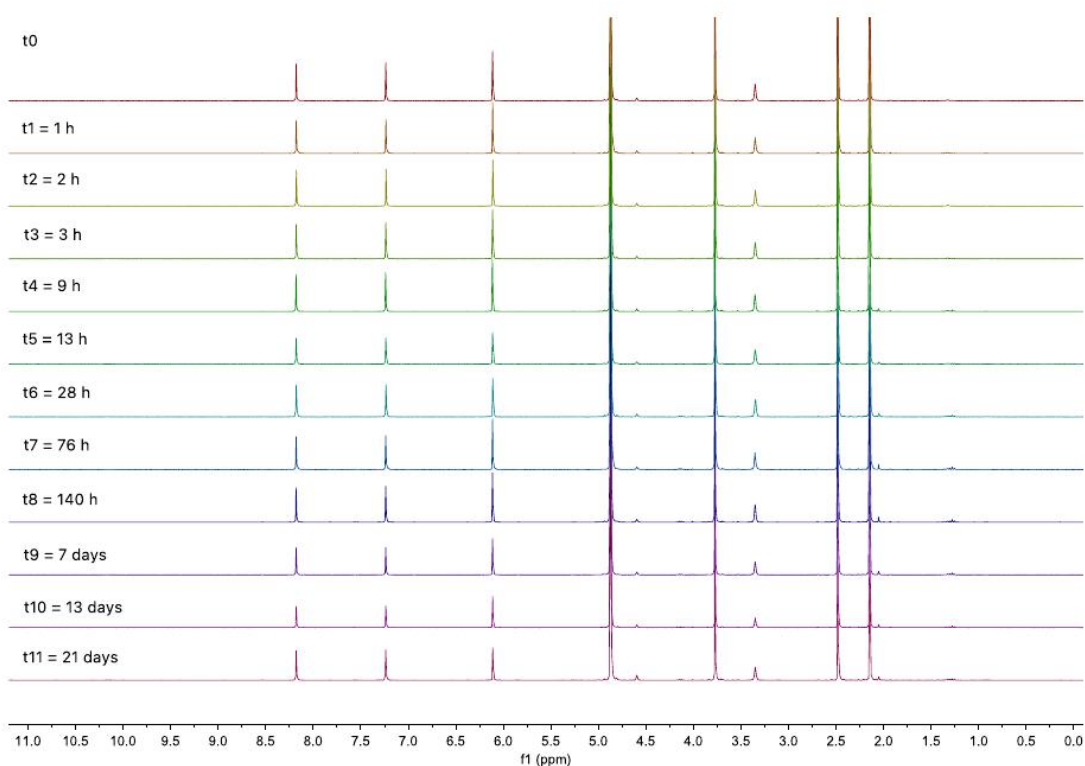


Figura 27. ¹Espectros de RMN de H da estabilidade de 3A5A em EtOH-d₄ durante 21 dias.

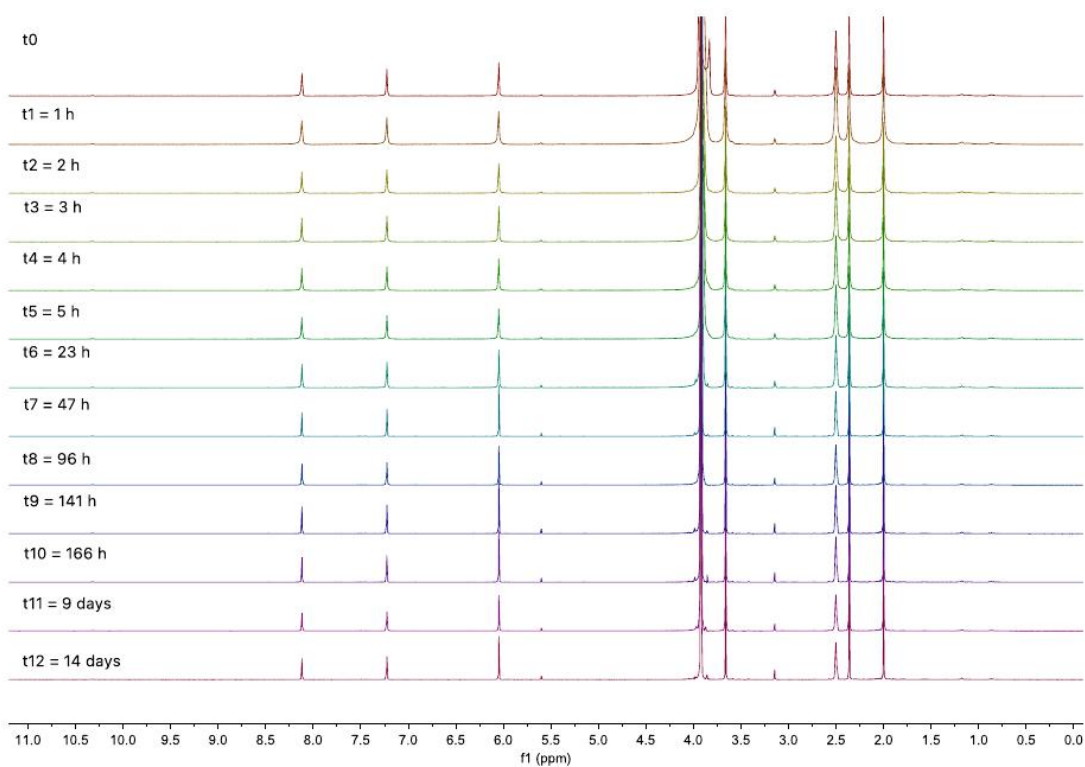
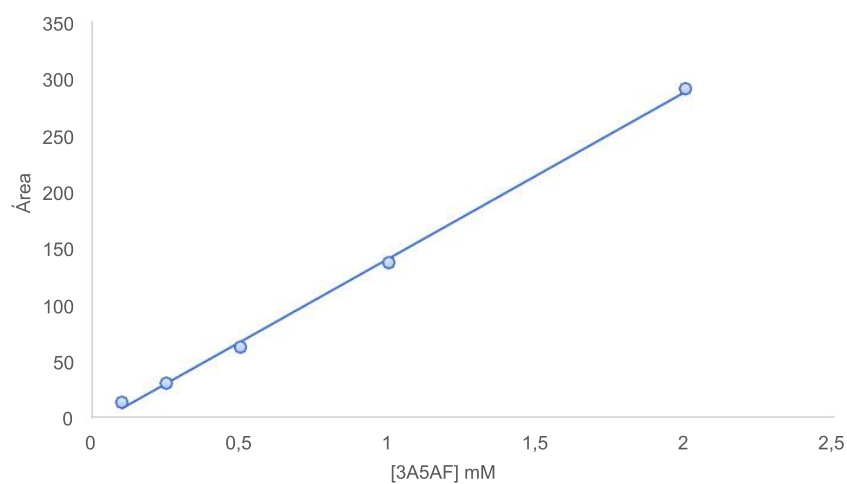


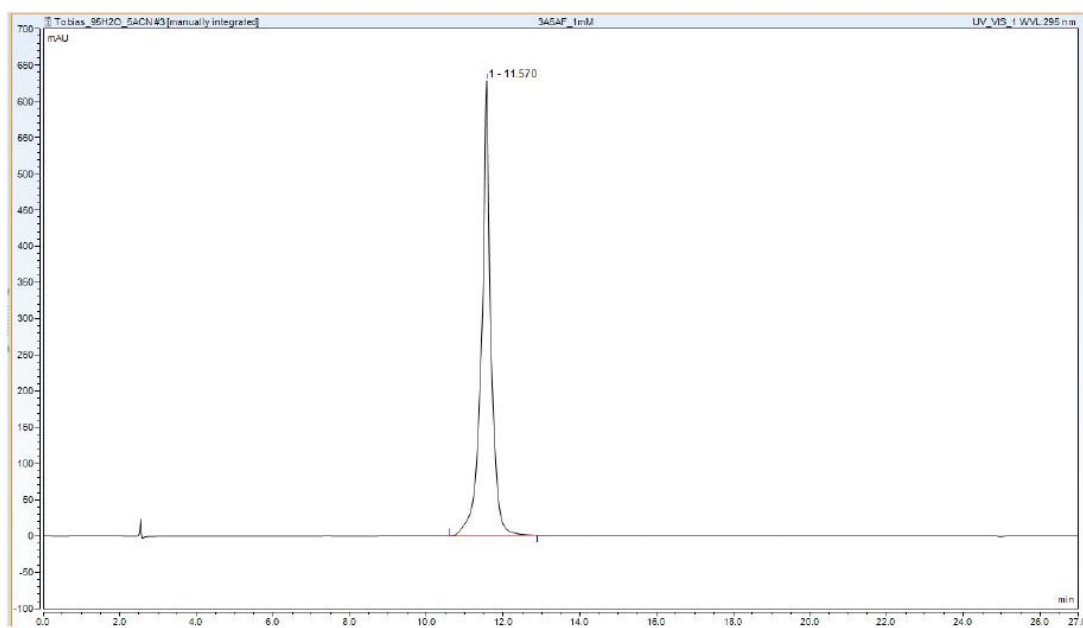
Figura 28. ¹Espectros de RMN de H da estabilidade de 3A5A em DMSO-d₆ durante 14 dias.

Curva de Calibração HPLC – 3A5AF

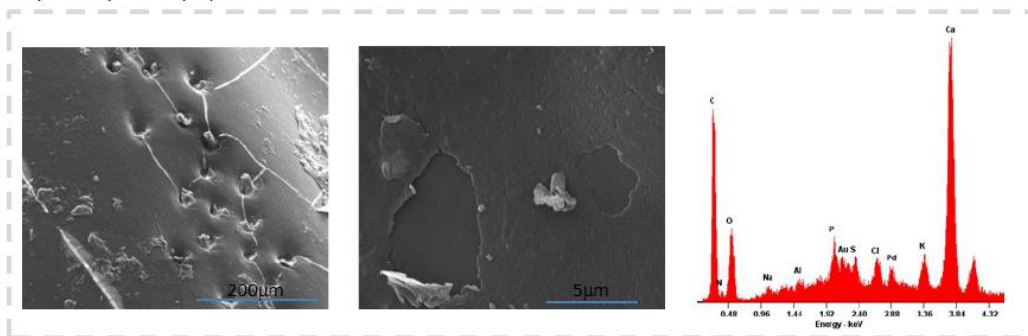


CLAE – 3A5AF

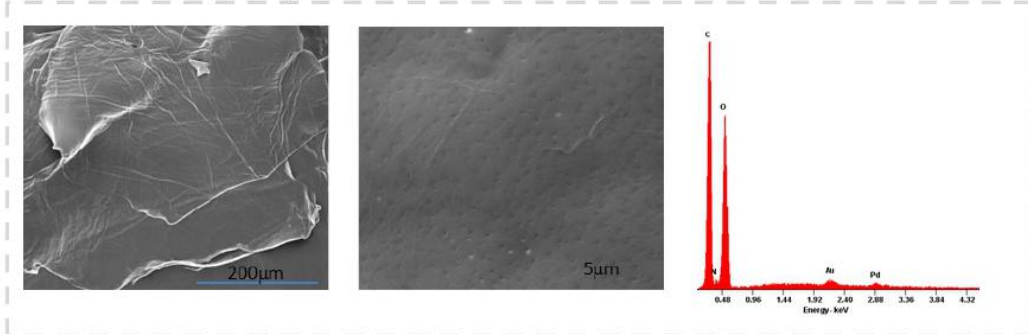
O injeção volume era 20 μ L e o fluxo a avaliar era definir para 1 mL/min. Método: Gradiente H₂O:ACN (95:5) para 5:95; $t = 27$ min.



a) *Shrimp shells(SS)*



b) *Extracted Chitin (from SS)*



c) *Commercial Chitin*

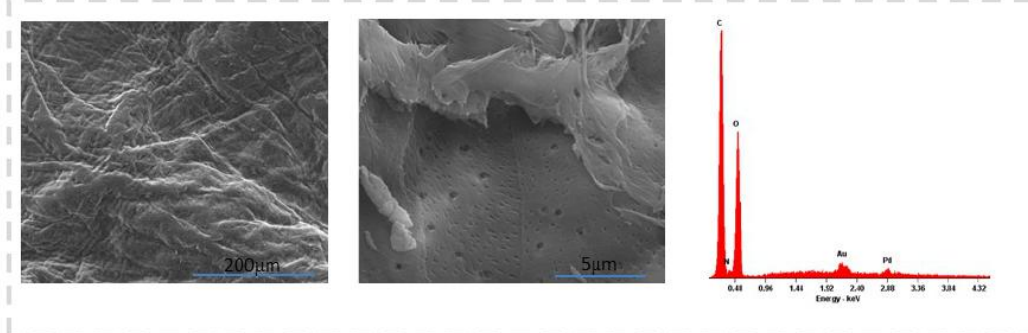


Figura29: SEMimagenseEDSespectrosde:um)camarãoconchas(SS);b)extraídoquitina(deSS)e c) quitina comercial.

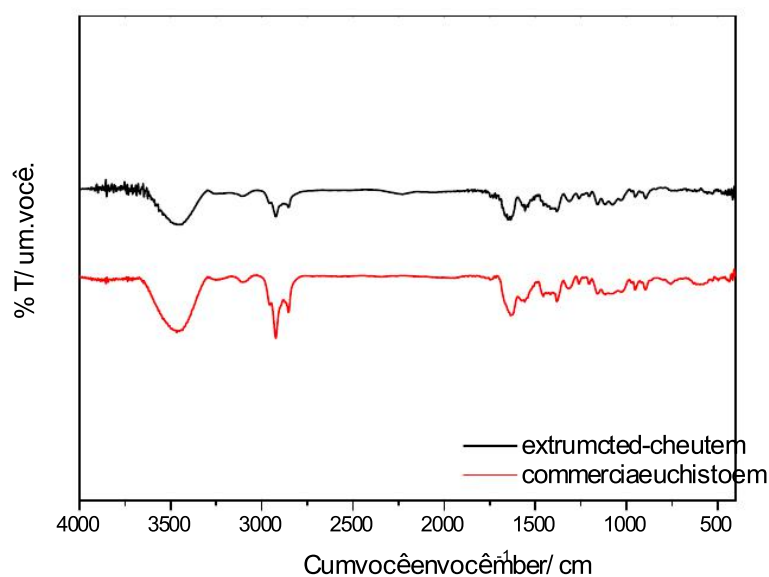


Figura 30: Espectros de FTIR da quitina extraída e da quitina comercial.

Referências

1. Silva, Sónia M.; Peixoto, Andréia F.; Freire, C. Organossulfônico ácido funcionalizado montmorilonitas como sólido catalisadores para (tradução) esterificação de livre gordos ácidos e (desperdício) óleos. *Energia* **146**, 2416–2429 (2020).
2. Gaspar, H.; Pereira, C.; Rebelo, S. EU. H; Pereira, M. F. R.; Figueiredo, J. L.; Freire, C. Compreendendo a reação de sililação de nanotubos de carbono de paredes múltiplas. *Carbono NY* **49**, 3441–3453 (2011).
3. Sidorenko, A. Yu; Li-Zhulanov, N. S. ; Mäki-Arvela, P. ; Sandberg, T. ; Kravtsova, U. M. V. ; Peixoto, A. F. ; Freire, C. ; Volcho, K. P. ; Salakhutdinov, N. F. ; Agabekov, V. E. ; D. Y. M. Estereosseletividade Inversão por Água Adição em o-SO₃H-catalisado Tandem Prins-Ritter Reação para Síntese de derivados de 4-amidotetra-hidropirano. *ChemCatChem* **12**, 2605–2609 (2020).
4. Peixoto, A. F. ; Ramos, R. ; Moreira, M. M. ; Soares, O. S. G. ; Ribeiro, L. S. ; Pereira, M. F. Delerue-Matos, C. ; Freire, C. Produção de levulinato de etil bioaditivo de combustível a partir de 5-hidroximetilfurfural sobre catalisadores de biocarvão funcionalizados com ácido sulfônico. *Fuel* **303**, 121227 (2021).
5. Peixoto, U. M. F. ; Silva, S. M. ; Costa, P. ; Santos, U. M. C. ; Valentim, B. ; Lázaro-Martínez, J. M. ; F. Ácido funcionalizado carvão voar cinzas: novo sólido catalisadores para levulínico ácido esterificação. *Catalão. Hoje* **357**, 74–83 (2020).
6. Páez, A. *et al.* Heteropoliácidos de Preyssler na Auto-Esterificação de 5-hidroximetilfurfural para 5,5'-[Oxibis(metileno)]bis-2-furfural Sob Leves Condições de reação. *ChemCatChem* **9**, 3322–3329 (2017).

7. Árabe, M., Amini, M. M., Abedini, M., Nemati, U. M. & Alizadeh, M. Esterificação de ftálico anidrido com 1-butanol e 2-etilhexanol catalisado por heteropoliácidos. *J. Mole. Catal. A: Phys.* **200**, 105–110 (2003).
8. Motorista, M. W., Omari, K. W., Murphy, J. N. e Kerton, Formação FM de uma fonte renovável a partir de 3-acetamido-5-acetilfurano, através de direta conversão de N-acetil-D-glucosamina. *RSC Adv.* **2**, 4642–4644 (2012).
9. Pohling, J., Dave, D., Liu, Y., Murphy, C., Trenholme, S., Duas etapas de desmineralização de camarão (*Pandalus borealis*) conchas usando ácido cítrico: um ambientalmente amigável, seguro e custo-efetivo alternativa à abordagem tradicional. *Green Chem.*, **24**: 1141–1151. (2022)
10. Zhao, D., Huang, B., BANHEIRO, G., Guo, N., Zhang, S., Xue, C., Mao, X., Duas etapas de separação de quitina de camarão conchas usando ácido cítrico e profundo eutético solventes como assistência de micro-ondas. *Polímeros* **11**(3): 409 (2019)
11. Triunfo, M., Tafi, E., Guarnieri, U. M., Sálvia, R., Scieuzo, C., Galo, T., Zibek, S., Gagliardini, U. M., Panariello, L., Coltell, M. B., De Bônus, U. M., Falabella, P., Caracterização de quitina e quitosana derivado de *Hermetia illucens*, um mais entrar na economia circular processo. *Ciência & Rep.* **12**: 6613. (2022)
12. Cárdenas, G., Cabrera, G., Taboada, E. e Miranda, S. P., Quitina caracterização por SEM, FTIR, DRX, e ¹³C cruzar polarização/massa ângulo de rotação RMN. *J. Aplicativo. Polímero. Ciências*, **93**: 1876–1885. (2004)