

Universidade Federal de Juiz de Fora

Pós-Graduação em Química

Mestrado em Química

Angelina Maria de Almeida

**Preparação e Avaliações Biológica e Físico-Química de Novas
Aminas e Amidas Aromáticas Anfílicas**

Juiz de Fora
2013

Angelina Maria de Almeida

**Preparação e Avaliações Biológica e Físico-Química de Novas
Aminas e Amidas Aromáticas Anfílicas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração Química Orgânica, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Mireille Le Hyaric

Juiz de Fora
2013

Dedico este trabalho ao meu esposo Virgílio. Obrigada por todo seu amor, paciência e pelos momentos felizes que passamos juntos todos estes anos. Sem você a minha trajetória seria mais árdua. Amo você!

Agradecimentos

Em primeiro lugar e acima de tudo, agradeço a Deus por seguir sempre ao meu lado nesta caminhada.

Aos meus pais, Jairo e Rosa, pelo carinho e dedicação em todos os anos de minha vida.

Aos meus irmãos, Ana Paula e Júnior, pela amizade, confiança e alegrias. Ao meu sobrinho João Pedro, agradeço a alegria que me trás com apenas um sorriso inocente seu.

A toda minha família pelo apoio, mas em especial quero deixar claro minha gratidão à minha avó Maria e à Tia Cecília que são as grandes responsáveis pelo meu crescimento profissional, sempre me incentivando e ajudando na concretização de meus sonhos.

Ao Virgílio, meu companheiro, sempre me apoiando em todos os momentos.

À Profa. Mireille Le Hyaric pela orientação, ensinamentos e pela amizade proporcionada nestes anos de convívio.

Ao Prof. Mauro Vieira de Almeida e à Profa. Mara Rúbia por estarem sempre dispostos a ajudar a esclarecer minhas dúvidas.

Aos Professores Giovanni W. Amarante e Fernanda Bombonato pelas contribuições feitas no exame de qualificação deste trabalho.

Aos Professores Cláudio G. Diniz e Gilson C. Macedo pelos testes biológicos.

Ao Prof. Luis Henrique M. da Silva (UFV) pela ajuda na realização do estudo físico-químico.

Aos amigos de graduação Ana Elisa, Rafaela, Arthur, William, Lívia, Ana Paula, Dhieniffer, Maria Márcia, Felipe, Gláucio, Gustavo, Gabriele, Ângela, Felipe, Ingrid, Victor pela união e companheirismo.

Aos amigos do laboratório de orgânica, Bianca, Camila, William, Fábio, Celso, Balbino, Lígia, Lara, Isabela, Tayrine, Eloah, Rodrigo, Vanessa, Talita, Jaqueline, Amanda, Taís, Joana, Adriane, Larissa, Bruno pela amizade e ajuda durante nosso convívio.

À Bianca e Camila pela ajuda nos testes biológicos e por estarem sempre ao meu lado, dispostas a me ajudar sempre. E ao Celso e ao Fábio por me ajudarem a solucionar alguns problemas relacionados à parte experimental do trabalho.

Ao João Vitor pela realização dos espectros de massa de alta resolução durante o período que esteve na França.

Aos demais alunos, professores e funcionários do departamento de Química.

À CAPES, FAPEMIG, Rede Mineira de Química e a UFJF pelo suporte financeiro.

A todos que, de alguma forma, compartilharam essa conquista. Obrigada!

Certeza

De tudo, ficaram três coisas:

A certeza de que estamos sempre começando...

A certeza de que precisamos continuar...

A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar.

Façamos da interrupção um caminho novo...

Da queda, um paço de dança...

Do medo, uma escada...

Do sonho, uma ponte...

Da procura, um encontro.

Fernando Sabino

RESUMO

Neste trabalho foram realizadas as sínteses de amins e amidas aromáticas anfílicas inéditas derivadas do Tris. A primeira série foi obtida através da reação de aminação redutiva de *p*-alquiloxibenzaldeídos com o TRIS. A série das amidas foi obtida a partir do ácido *p*-alquiloxibenzóico: esses foram convertidos a cloretos de acila e tratados com TRIS. As metodologias usadas foram simples e todos os compostos foram obtidos em rendimentos satisfatórios. Após purificação e caracterização através das técnicas espectroscópicas usuais (IV, RMN de ^1H e ^{13}C e espectroscopia de massas). Os compostos sintetizados foram avaliados quanto as suas propriedades biológicas *in vitro*. A atividade antimicrobiana foi avaliada frente a bactérias Gram-positivas (ATCC e MRSA), bactérias Gram-negativas (ATCC) e fungos *Candida*. O potencial anti-inflamatório foi avaliado através da capacidade dos compostos de inibirem a produção de óxido nítrico por macrófagos ativados. A citotoxicidade foi investigada através do método do MTT. Os resultados obtidos mostraram que apenas as amins foram ativas nos testes, com concentrações inibitórias mínimas comparáveis ou superiores as dos padrões usados como controle (cloranfenicol e itraconazol), e não apresentaram toxicidade nessas concentrações. Foi possível estabelecer uma boa correlação positiva entre a lipofilicidade dos compostos testados e a atividade antimicrobiana. Os estudos físico-químicos ainda estão em andamento com o intuito de estabelecer uma relação entre atividade biológica e propriedades surfactantes das novas amins anfílicas.

Palavras-chave: Aminoálcoois aromáticos, Surfactantes, Atividade Biológica, Tris.

ABSTRACT

In this work were carried out the synthesis of novel amphiphilic aromatic amines and amides derived from Tris. The first set was obtained by reductive amination reaction of p-alkyloxybenzaldehydes with TRIS. The series of amides was obtained starting from p-alkyloxybenzoic acid: these were converted to the acyl chlorides and treated with TRIS. The methodologies used were simple and all compounds were obtained in satisfactory yields. After purification and characterization through the usual spectroscopic techniques (IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR and mass spectroscopy), the synthesized compounds were evaluated for their biological properties *in vitro*. The antimicrobial activity was evaluated against Gram-positive bacteria (ATCC and MRSA), Gram-negative bacteria (ATCC) and fungi of *Candida*. The anti-inflammatory potential was assessed by the ability of the compounds to inhibit nitric oxide production by activated macrophages. Cytotoxicity was assessed by the MTT method. The results showed that only the amines were active in the tests, with minimum inhibitory concentrations comparable or superior to the standards used as control (chloramphenicol and itraconazole), and showed no toxicity in these concentrations. It was possible to establish a good correlation between the lipophilicity of the tested compounds and the antimicrobial activity. The physico-chemical studies are still under going aiming to establish a relationship between the biological activity and the surfactant properties of the new amphiphilic amines.

Keywords: Amino-alcohols Aromatic, Surfactants, Biological Activity, Tris.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCS	Cromatografia em Coluna de Sílica
CMC	Concentração Inibitória mínima
δ	Deslocamento químico
d	Dupleto
DMA	<i>N,N'</i> -Dimetilacetamida
DMF	<i>N,N'</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsufóxido
FF	Faixa de Fusão
FM	Fórmula Molecular
Hz	Hertz
ITC	Titulação Microcalorimétrica Isotérmica
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m	Multiplete
MM	Massa Molar
ppm	Partes por milhão
qui	Quinteto
q	Quarteto
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

s	Simpleto
sex	Sexteto
sl	Sinal largo
Tris	2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de surfactantes: (A) aniônico; (B) catiônico; (C) neutro; (D) zwitteriônico	2
Figura 2. Estabilização de sistemas de tensoativos em solução aquosa	4
Figura 3. Representação esquemática de agregados formados por tensoativos em solução aquosa	5
Figura 4. Representação gráfica para a determinação da CMC a partir de diferentes parâmetros físico-químicos	6
Figura 5. Representação da membrana plasmática	7
Figura 6. Estrutura química do composto da miriocina e do FTY 720	7
Figura 7. Exemplos de compostos químicos da classe das aminas de importância biológica	8
Figura 8. Estrutura química do etambutol	11
Figura 9. Exemplos de moléculas anfifílicas ativas desenvolvidas pelo grupo	12
Figura 10. Exemplos de fármacos que apresentam a função amida	12
Figura 11. Ordem de reatividade de derivados de ácidos carboxílicos	13
Figura 12. Espectro de IV do composto 24d (KBr 1%)	20
Figura 13. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 300 MHz) do composto 24d	21
Figura 14. Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ ; 75 MHz) do composto 24d	22
Figura 15. Espectro na região de infravermelho do composto 26a (KBr 1%)	25
Figura 16. Espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD; 300 MHz) do composto 26a	26
Figura 17. Espectro de RMN ¹³ C (CD ₃ OD; 75 MHz) do composto 26a	27
Figura 18. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto 26a	28
Figura 19. Espectro de IV do composto 32c (KBr 1%)	34
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H (CD ₃ OD; 300 MHz) do composto 32c	35

Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto 32c	36
Figura 22. Espectro de massas (HRMS-ESI) da amida 32c	36
Figura 23. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) dos compostos 26g e 33g	39
Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto 33g	40
Figura 25. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) dos compostos 30d e 36d	41
Figura 26. Comparação entre os espectros de RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) dos compostos 30d e 36d	42
Figura 27. <i>S. aureus</i>	44
Figura 28. <i>S. epidermidis</i>	45
Figura 29. <i>E. coli</i>	45
Figura 30. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
Figura 31. Halo de inibição formado no método de difusão em Agar	46
Figura 32. Regressão linear pCIM x logP para as bactérias	52
Figura 33. <i>Candida albicans</i>	55
Figura 34. Placa de 96 poços, utilizada na metodologia de microdiluição em caldo	56
Figura 35. Regressão linear pCIM x logP para as diferentes espécies de <i>Candida</i>	57
Figura 36. (A) Avaliação da viabilidade celular pelo método do MTT; (B) Aparelho de microplacas com placa de cultura para leitura das absorvâncias apos realização do teste do MTT	58
Figura 37. Gráfico de Viabilidade celular obtido para os compostos 26c-g	60
Figura 38. Produção de óxido nítrico por macrófagos J774 estimulados com LPS + Interferon- γ 20 U/mL e tratados com os compostos 26c-g	61

Figura 39. Valores de Druglikeness e Drugscore dos compostos 26a-g e 32a-g , cloranfenicol e FTY720	68
Figura 40. Gráfico da temperatura (°C) x solubilidade (mg.mL ⁻¹) obtido para 26c	69
Figura 41. Variação da condutância em função da concentração de surfactante adicionado em água a 25 °C	71
Figura 42. Gráfico da variação da condutância em função da concentração do surfactante 26c	71
Figura 43. Medidas de absorvância para diferentes concentrações de surfactantes (SDS: C ₁₂ H ₂₅ OSO ₃ Na) utilizando o corante sudan III (504 nm) em água	72
Figura 44. Gráfico de absorvância x Concentração de tensoativo 26c (mol.L ⁻¹)	73
Figura 45. Descrição do calorímetro CSC 4200: a) foto da parte exterior do calorímetro; b) Esquema do funcionamento do calorímetro ITC; c) torres e cela da amostra e referência	74
Figura 46. a) Variação de potência durante injeções consecutivas de solução de surfactante; b) Resultado de integração de cada pico resultante da titulação a partir da linha base correspondente a variação de entalpia ($\Delta H/\mu\text{cal.s}^{-1}$) <i>versus</i> a concentração do titulante na cela (mmol)	74

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Métodos tradicionais de síntese de aminas secundárias	9
Esquema 2. Exemplo de síntese de amina secundária por reações de <i>N</i> -alquilação	9
Esquema 3. Síntese de diaminas alquiladas por reação de <i>N</i> -alquilação	10
Esquema 4. Etapa de aminação redutiva na síntese do antibiótico esqualamina	10
Esquema 5. Síntese de aminas aromáticas através da metodologia de aminação redutiva ...	11
Esquema 6. Métodos sintéticos para obtenção de amidas	13
Esquema 7. Síntese da <i>N</i> -benzil-15- <i>Z</i> -tetracosenamida (22) na presença de DCC e DMAP.	14
Esquema 8. Síntese das aminas alquiladas por aminação redutiva	16
Esquema 9. Síntese das amidas alquiladas	16
Esquema 10. Reação de quaternarização das aminas 26a-g	17
Esquema 11. Síntese das amidas <i>N</i> -alquiladas 38a-g	17
Esquema 12. Síntese dos aldeídos alquilados 24a-g	19
Esquema 13. Síntese de iminas	22
Esquema 14. Síntese das aminas 26a-g por aminação redutiva e os rendimentos obtidos	24
Esquema 15. Tentativa de alquilação direta de 27	28
Esquema 16. Síntese realizada por PRAJAPATI e VISHAL (2010)	29
Esquema 17. Síntese do éster etílico derivado de 28	29
Esquema 18. Síntese dos ésteres alquilados 29a-g	30
Esquema 19. Reação teste para síntese de 42 a partir de cloreto de benzoíla (41)	31
Esquema 20. Síntese dos ácidos carboxílicos alquilados 30a-g	31
Esquema 21. Síntese empregada para obtenção dos cloretos de acila 31a-g	32

Esquema 22. Mecanismo de formação do cloreto de acila utilizando cloreto de oxalila e DMF catalítico	32
Esquema 23. Aminólise do cloreto de acila	33
Esquema 24. Síntese das amidas alquiladas derivadas do tris 32a-g	33
Esquema 25. Plano de síntese de metilação das aminas 34a-g	37
Esquema 26. Tentativa de obtenção dos sais quaternários	38
Esquema 27. Reação de alquilação do ácido <i>p</i> -aminobenzóico (35)	40
Esquema 28. Tentativa de síntese das amidas 38a-g , derivadas do ácido <i>p</i> -aminobenzóico 35	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de BLH para surfactantes não iônicos	3
Tabela 2. Condições empregadas na tentativa de síntese de amidas a partir da aminólise dos ésteres alquilados 29a-g	30
Tabela 3. Condições reacionais empregadas nas tentativas de síntese dos sais quaternários .	38
Tabela 4. Dados experimentais do halo de inibição antibacteriano das aminas (medida do diâmetro, mm)	47
Tabela 5. Concentração Inibitória Mínima (CIM) das aminas 26a-g	48
Tabela 6. Atividade inibitória dos compostos 26c-g	50
Tabela 7. Atividade inibitória dos compostos 26c-g contra MRSA, expressados como CIM ₅₀ e CIM ₉₀ (µg/mL)	51
Tabela 8. Correlação entre pCIM (CIM expresso em mmol.L ⁻¹) e logP	52
Tabela 9. Concentração bactericida mínima para os compostos 26c-g	54
Tabela 10. Resultados avaliação antifúngica dos compostos 26a-g	56
Tabela 11. Resultados de viabilidade celular obtidos através do ensaio de MTT para os compostos 26a-g	59
Tabela 12. Resultados da capacidade inibitória de NO (%) obtidos para produção de óxido nítrico por macrófagos J774 estimulados com LPS + Interferon-γ 20 U/mL e tratados com os compostos 26c-g	61
Tabela 13. Regras de Lipinski, porcentagem de absorção e área de superfície polar para os compostos 26a-g e 32a-g	64
Tabela 14. Toxicidade teórica obtida a partir do programa <i>Osiris® Property Explorer</i>	65
Tabela 15. Valores de druglikeness e drugscore obtidos pelo programa <i>Osiris® Property Explorer</i>	66
Tabela 16. Determinação da temperatura Krafft dos compostos 26c-f	69

Tabela 17. Estequiometria e rendimentos da síntese dos aldeídos alquilados 24a-g	77
Tabela 18. Estequiometria e rendimentos das sínteses dos cloridratos de aminas 26a-g	81
Tabela 19. Estequiometria e rendimentos obtidos na síntese das amidas alquilados derivadas do Tris	92

LISTA DE APÊNDICES

<u>Apêndice 1:</u> Seção de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos aldeídos alquilados 24a-g ..	122
<u>Apêndice 2:</u> Seção de espectros de Massas, IV, RMN de ^1H e de ^{13}C das aminas 26a-g ..	129
<u>Apêndice 3:</u> Seção de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto 28	143
<u>Apêndice 4:</u> Seção de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos ésteres alquilados 29a-g	144
<u>Apêndice 5:</u> Seção de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos ácidos alquilados 30a-g	150
<u>Apêndice 6:</u> Seção de espectros de massas, IV e RMN de ^1H e de ^{13}C das amidas 32a-g e 42	155
<u>Apêndice 7:</u> Seção espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto 33g	169
<u>Apêndice 8:</u> Seção espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto 36d	170

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 SUBSTÂNCIAS ANFIFÍLICAS E SURFACTANTES	1
1.1.1 Classificação	1
1.1.2 Agregação de moléculas anfifílicas em meio aquoso	3
1.1.3 Concentração Micelar Crítica (CMC)	5
1.1.4 Propriedades biológicas dos tensoativos	6
1.2 AMINAS E AMIDAS COM ATIVIDADE BIOLÓGICA	8
1.2.1 Aminas secundárias	8
1.2.2 Amidas	12
2 OBJETIVOS E PLANO DE SÍNTESE	15
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	19
3.1 SÍNTESE DOS ALDEÍDOS ALQUILADOS 24a-g	19
3.1.1 Caracterização de 4-nonaloxibenzaldeído (24d)	19
3.2 SÍNTESE DAS AMINAS 26a-g	22
3.2.1 Caracterização de Cloreto de <i>N</i> -(4-butoxibenzil)-1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-amínio (26a)	24
3.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS AMIDAS 32a-g	28
3.3.1 Caracterização de <i>N</i> -[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]-4-(octiloxi)benzamida (32c)	34
3.4 METILAÇÃO DAS AMINAS 26a-g	37
3.5 SÍNTESE DAS AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO <i>p</i> -AMINOBENZÓICO	40
4 AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA	44

4.1 MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR	46
4.2 MÉTODO DE DILUIÇÃO EM CALDO	47
4.3 TESTES ANTIBACTERIANOS FRENTE A BACTÉRIAS <i>S. AUREUS</i> METICILINO RESISTENTE (MRSA)	49
4.4 CORRELAÇÃO ENTRE LIPOFILICIDADE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA ..	51
4.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA	52
5 AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA	55
6 ENSAIOS DE VIABILIDADE CELULAR E PRODUÇÃO DE NO	58
6.1 TESTES DE VIABILIDADE CELULAR	58
6.2 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE INIBITÓRIA NA PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO.....	60
7 ANÁLISE <i>IN SILICO</i> DOS PARÂMETROS ADMET	62
8 TESTES FÍSICO-QUÍMICOS	68
8.1 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA KRAFFT DOS SURFACTANTES	68
8.2 DETERMINAÇÃO DA CMC POR MEDIDAS DE CONDUTIVIDADE	70
8.3 ESTUDOS DA CMC POR MEDIDAS DE ESPECTROSCOPIA UV-VIS	72
8.4 DETERMINAÇÃO DA CMC POR TITULAÇÃO MICROCALORIMÉTRICA ISOTÉRMICA (ITC)	73
9 PARTE EXPERIMENTAL	76
9.1 MATERIAIS E MÉTODOS	76
9.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS ALDEÍDOS ALQUILADOS 24a-g	77
9.2.1 Procedimento geral	77
9.2.2 Caracterização dos aldeídos alquilados 24a-g	77
9.3 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS CLORIDRATOS DE AMINAS 26a-g	80

9.3.1 Procedimento geral	80
9.3.2 Caracterização das aminas 26a-g	81
9.4 PREPARAÇÃO DO 4-HIDROXIBENZOATO DE ETILA (28)	85
9.5 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS ÉSTERES ALQUILADOS 29a-g	85
9.5.1 Procedimento geral	85
9.5.2 Caracterização dos ésteres alquilados 29a-g	86
9.6 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS ALQUILADOS 30a-g	89
9.6.1 Procedimento geral	89
9.6.2 Caracterização dos ácidos carboxílicos alquilados 30a-g	89
9.7 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS CLORETOS DE ÁCIDO 31a-g	91
9.8 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS AMIDAS 32a-g e 42	92
9.8.1 Procedimento geral para a síntese das amidas 32a-g e 42	92
9.8.2 Caracterização das amidas 32a-g e 42	92
9.9 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO 2-(HIDROXIMETIL)-2-{METIL[4-(TETRADECILOXI) BENZIL]AMINO}PROPANO-1,3-DIOL (33g)	97
9.10 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO 4-(NONILAMINO)BENZÓICO (36d)	97
9.11 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS 39 E 40	98
9.11.1 Procedimento geral	98
9.11.2 Caracterização do 4-hidroxibenzoato de octila (39)	98
9.11.2 Caracterização do 4-(octiloxi)benzoato de octila (40)	99
9.12 ENSAIOS BIOLÓGICOS	99
9.12.1 Avaliação antibacteriana através do Método de diluição em Agar	99

9.12.2 Avaliação antibacteriana através do Método de diluição em caldo	99
9.12.3 Atividade bactericida e bacteriostática	100
9.12.4 Avaliação da atividade antifúngica	101
9.12.5 Cultura celular da linhagem de macrófagos murinos J774	101
9.12.6 Viabilidade Celular	102
9.12.7 Determinação da produção de NO	104
10 CONCLUSÕES	105
11 REFERÊNCIAS	107
APÊNDICES	122

1 Introdução

1.1 Substâncias anfifílicas e surfactantes

Do ponto de vista físico-químico, uma substância anfifílica apresenta uma afinidade dupla, ou seja, uma dualidade polar-apolar. Esse tipo de molécula apresenta em sua estrutura duas partes: uma parte polar (subunidade hidrofílica) contendo heteroátomos (álcool, ácido, sulfato, fosfato, amina, amida, etc) e uma parte apolar (subunidade hidrofóbica ou lipofílica), constituída geralmente por uma cadeia alifática longa ou alquilbenzeno.

Por apresentar dupla afinidade, as moléculas anfifílicas mostram forte tendência de migrar para interfaces de modo a promover maior estabilização do sistema.

A palavra “surfactante” é usada para classificar uma substância que apresenta atividade interfacial. É importante lembrar que nem todas as moléculas anfifílicas apresentam tal atividade. Para que isso ocorra, a molécula deve apresentar propriedades relativamente equilibradas: a estrutura não poderá ser demasiadamente hidrofóbica ou hidrofílica (SALAGER *et al.*, 2002).

1.1.1. Classificação

Os surfactantes podem ser classificados de acordo com sua estrutura molecular, especificamente observando sua forma de dissociação em água (DALTIM, 2011):

Surfactantes aniônicos: dissociam-se em um ânion anfifílico e um cátion. Podemos citar como exemplo dessa classe os detergentes sintéticos como os alquilbenzenos sulfonatos, sabões e detergentes (figura 1A).

Surfactantes catiônicos: em solução aquosa se dissociam em um cátion orgânico anfifílico e um íon geralmente do tipo halogênio. A maioria dessa classe é representada por compostos nitrogenados do tipo sal de amina graxa ou quaternário de amônio. A síntese desse tipo de surfactante apresenta uma maior complexidade e um custo de produção mais elevado frente os demais tipos de surfactantes, por isso os surfactantes catiônicos são usados em aplicações específicas ligadas as suas propriedades de adsorção e bactericida, como por exemplo, cloreto de benzalcônio (cloreto de alquil dimetil benzil amônio) (figura 1B).

Surfactantes neutros: nessa classe não há dissociação posto que a subunidade hidrofílica seja constituída por grupos do tipo álcool, fenol, éter ou amida. Podemos exemplificar esta classe através do surfactante éter poli(oxietileno)-*p*-octilfenil (figura 1C).

Surfactantes zwitteriônicos: também conhecidos como anfóteros, apresentam combinação de características aniônicas e catiônicas dentro de uma mesma estrutura. Os compostos desta classe apresentam um custo de produção elevado, assim como os surfactantes catiônicos. Por este motivo, a utilização desses compostos é restrita a aplicações particulares, como é o caso da utilização da *N*-dodecil-*N,N*-dimetil betaína (figura 1D) em formulações cosméticas.

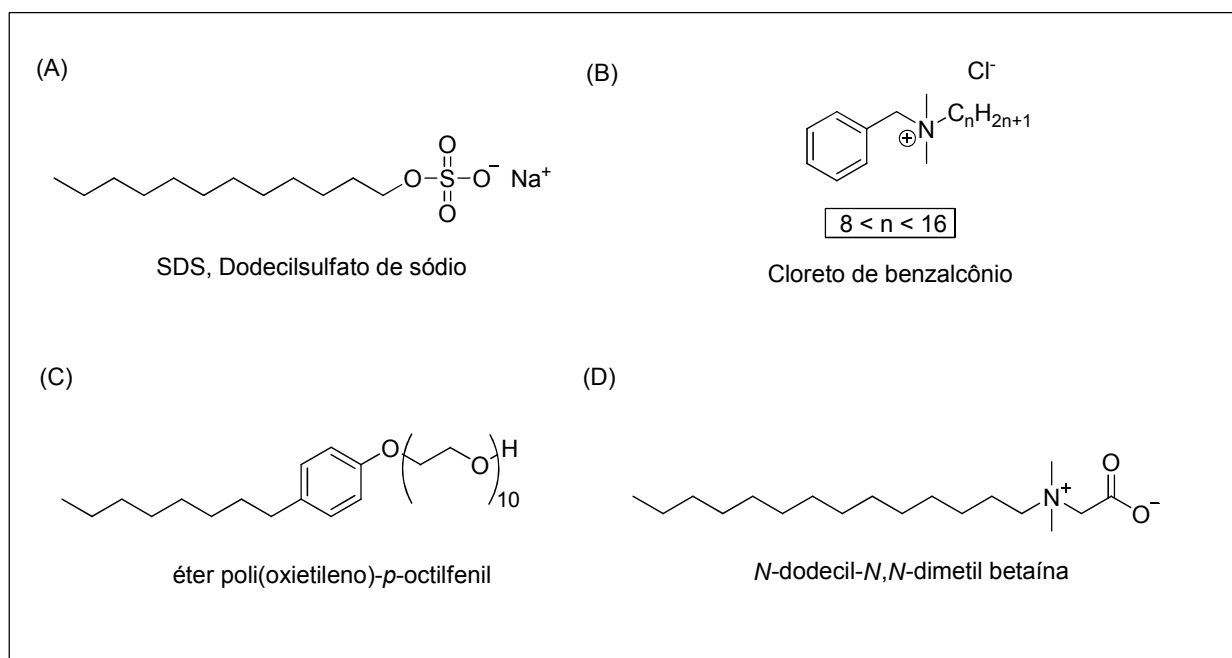


Figura 1. Exemplos de surfactantes: (A) aniônico; (B) catiônico; (C) neutro; (D) zwitteriônico.

A produção mundial de surfactantes atual ultrapassa 3 milhões de toneladas/ano sendo que sua utilização se concentra nas indústrias de cosmético, petróleo e produtos de higiene e de limpeza (BARROS *et al.*, 2007). Substâncias tensoativas apresentam papel de destaque em vários processos industriais, visto que são fundamentais na produção de produtos de limpeza (sabão, detergente, amaciantes de roupas) e de higiene (pasta de dente, shampoo) (BANAT, 2000), nas indústrias de alimentos, têxteis, química, farmacêutica e agroquímica. Os surfactantes também desempenham funções vitais em diversos sistemas biológicos, como a constituição da membrana celular por lipídeos (BRANDÃO, 1999).

O índice empírico conhecido como BLH (balanço lipofílico-hidrofílico) é utilizado em descrições sobre o comportamento relativo de agentes de superfície ativa. O valor do BLH varia

em função do tamanho da cadeia polar do surfactante. Para os surfactantes neutros o BLH pode ser calculado utilizando-se a equação de Griffin (GRIFFIN, 1949; GRIFFIN,1954):

$$BLH = 20 \times Mh / MM$$

Mh: Massa molar da parte hidrofílica da molécula.

MM: Massa molar do composto em estudo.

Quanto maior o valor obtido, maior será a afinidade pela fase aquosa.

Os valores de BLH (tabela 1) podem ser úteis para prever o tipo de emulsão obtida (AO: emulsão água/óleo; OA: (emulsão óleo/água) e quais aplicações podem ser atribuídas a cada composto analisado.

Tabela 1. Valores de BLH para surfactantes não iônicos

Valores BLH	Aplicação
0 - 3	Antiespumante
2 - 8	Emulsionante A/O
7 - 9	Formadores de gel
8 -18	Emulsão O/A
13 - 15	Detergentes
15 - 18	Solubilizantes

(AO: emulsão água/óleo; OA: emulsão óleo/água)

A correlação entre os valores de BLH e as aplicações tecnológicas está intimamente ligada a concentração de surfactante, comprimento da cauda lipofílica, temperatura, pH, pureza, dentre outros.

1.1.2. Agregação de moléculas anfílicas em meio aquoso

Em solução, os surfactantes apresentam como característica a adsorção nas interfaces sólido-líquido, líquido-gás, ou líquido-líquido. Como resultado há uma diminuição da tensão superficial do líquido (figura 2). Porém, se todas as interfaces disponíveis estiverem saturadas pode ocorrer cristalização ou precipitação (separação de fases). A formação de agregados moleculares ou micelas também se apresenta como alternativa no processo de estabilização do

sistema: esses agregados permanecem termodinamicamente estáveis como espécies dispersas em solução com propriedades distintas daquelas de um monômero (MYERS, 1999).

As micelas são agregados moleculares constituídos por tensoativos que dinamicamente se associam em solução aquosa de forma espontânea a partir de uma concentração crítica (CMC) e temperatura (ponto “Krafft”) (MANIASSO, 2001). A micela não é uma estrutura estática, mas sim um equilíbrio dinâmico entre o agregado e as moléculas livres de surfactantes. Abaixo da CMC os surfactantes encontram-se como monômeros em solução.

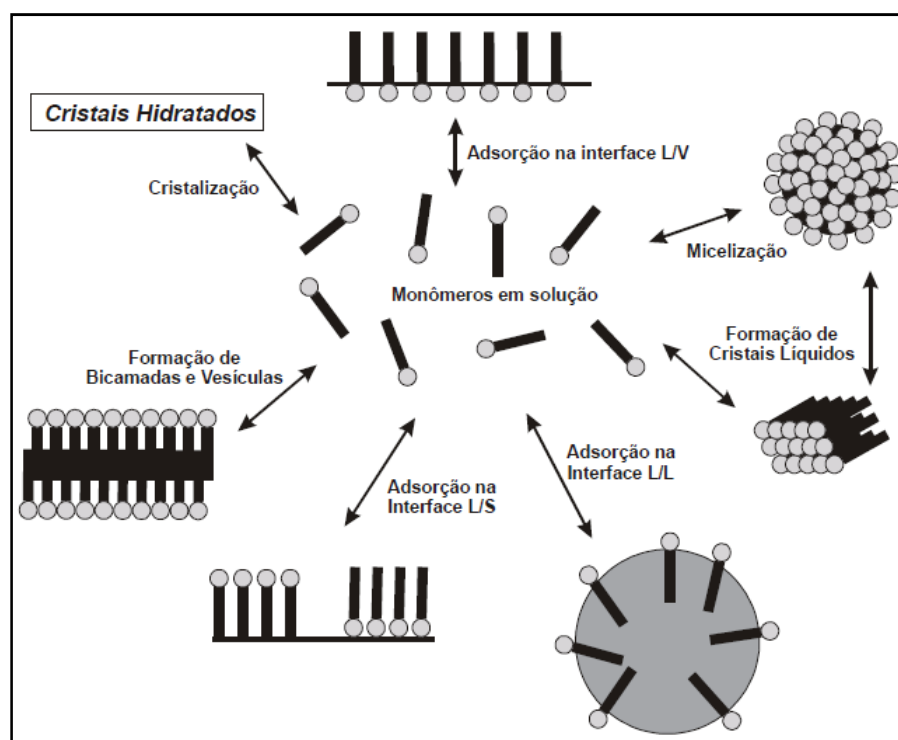


Figura 2. Estabilização de sistemas de tensoativos em solução aquosa (BAZITO, 2001; MYERS, 1999).

Outra propriedade intrínseca da formação de agregados moleculares é a possibilidade de solubilizar solutos com diferentes características. Como mostra a figura 3, os agregados moleculares podem apresentar variadas formas devido a interações com o soluto (interação de caráter eletrostático, hidrofóbico ou ambos os efeitos combinados), além da dependência de outros parâmetros tais como: a estrutura molecular, número de agregação (número de moléculas de tensoativos que se encontram envolvidas na formação da micela), hidratação dos grupos polares, interação intermolecular, etc. (ISRAELACHVILI *et al.*, 1976; GOMES, 2009).

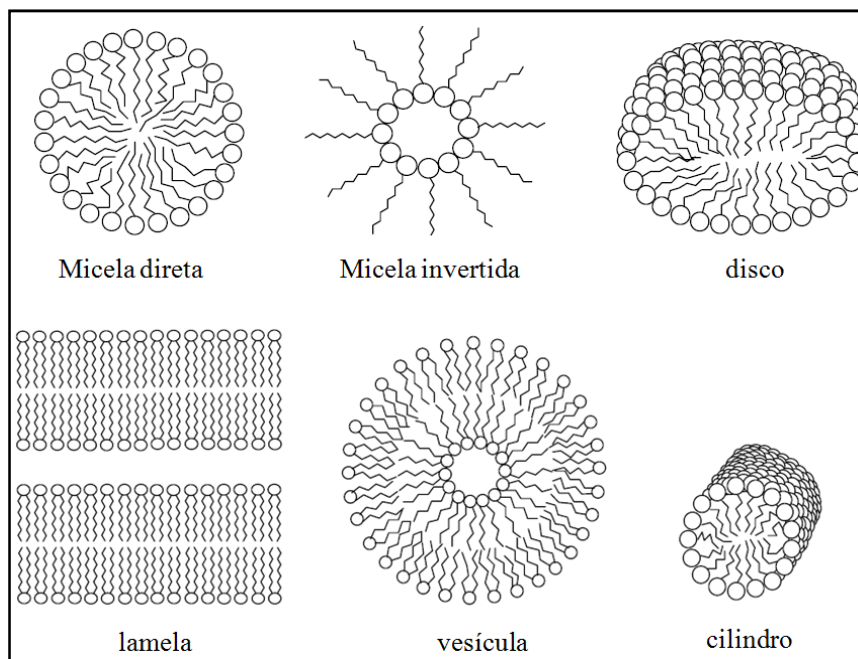


Figura 3. Representação esquemática de agregados formados por tensoativos em solução aquosa (GOMES, 2009).

1.1.3. Concentração Micelar Crítica (CMC)

A concentração de surfactante necessária para promover o fenômeno de micelização é denominada concentração micelar crítica (CMC). O fenômeno de agregação ocasiona uma variação abrupta nas propriedades físico-químicas, como tensão superficial, condutividade, solubilização de corantes, dentre outras. A determinação da CMC pode ser feita pela análise dessas variações em função da concentração de surfactante (figura 4). O ponto de inflexão apresentado em todas as curvas corresponde ao início da formação de agregados moleculares, os quais interferem nas propriedades da solução (BAZITO, 2001; CANDAU, 1987; EVANS & WENNERSTROM, 1999; HUNTER, 1989; ZANA *et al.*, 1981).

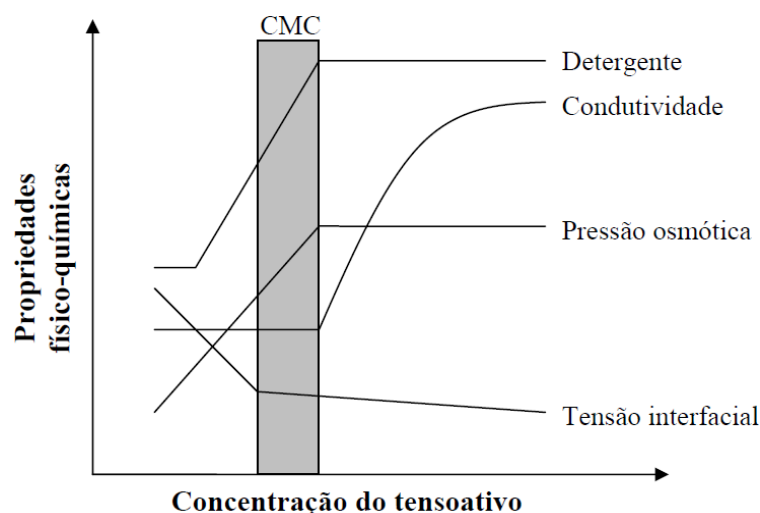


Figura 4. Representação gráfica para a determinação da CMC a partir de diferentes parâmetros físico-químicos (GOMES, 2009).

1.1.4. Propriedades biológicas dos tensoativos

Compostos anfifílicos podem apresentar acentuada atividade farmacológica. Essas moléculas podem interagir de variadas maneiras em nosso organismo, como por exemplo, através de interações com a membrana celular (UCHEGBU e VYAS, 1998; BAROON e THOMSON, 1975; PLUSQUELLEC *et al.*, 1989).

A propriedade de agregação dos surfactantes pode ser responsável pela interação entre estas moléculas e a membrana celular (figura 5), promovendo lise, solubilização de enzimas e extração de componentes específicos, como proteínas e lipídeos (HELENIUS e SIMONS, 1977; LASCH, 1995; SEELIG e HEERKLOTZ, 2000). Através da formação de micelas mistas a membrana celular perde a estrutura de bicamada facilitando a entrada de água nas células e lise destas (LICHTENBERG, 1985).

Os fármacos anfifílicos exibem grande potencial para várias aplicações médicas (SEEMAN, 1972). Além de desempenhar papel antibacteriano e antifúngico (THIMON *et al.*, 1992), esses fármacos apresentam atividade antiviral (KRACHT *et al.*, 1999) e antitumoral (KAMEDA *et al.*, 1974), dentre outras.

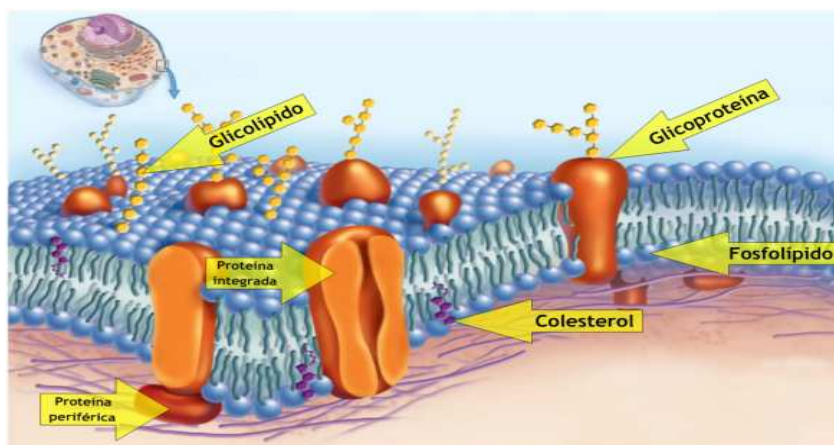


Figura 5. Representação da membrana plasmática (<http://www.enemvirtual.com.br/membrana-plasmatica-2/> acessado 29/10/12)

Como exemplo de fármacos anfifílicos pode-se citar o FTY720 (figura 6), um imunomodulador de baixo peso molecular que foi desenvolvido a partir de modificações estruturais da miriocina, um metabólito derivado do fungo *Isaria sinclairii* com estrutura análoga a esfingosina (um esfingolípido pertencente a uma classe de lipídeos de membranas celulares).

FUJITA e colaboradores (1995) realizaram um estudo de estrutura-atividade de análogos de miriocina a fim de propor uma estrutura básica com potencial atividade imunossupressora. Nesse estudo verificou-se que a presença do grupo aminoálcool e da cadeia lipofílica são fundamentais para a manutenção da atividade biológica.

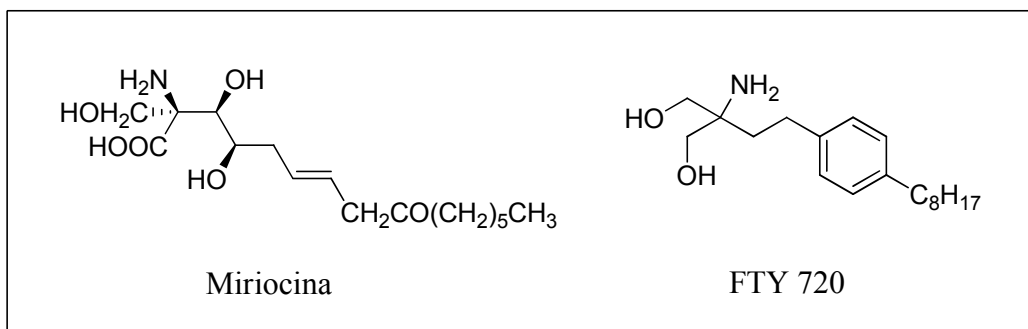


Figura 6. Estrutura química do composto da miriocina e do FTY 720.

1.2. Aminas e amidas com atividade biológica

Os grupos amina e amida são encontrados nas estruturas de numerosos compostos naturais ou sintéticos que possuem as mais diversas atividades biológicas. Para a síntese desses compostos várias metodologias podem ser seguidas (NAITO, 2008).

1.2.1. Aminas secundárias

Um grande número de compostos com atividade biológica contém um grupo amina em suas estruturas. Essas substâncias são responsáveis por várias funções vitais, como regulação biológica, defesa contra predadores ou neurotransmissão, como por exemplo, adrenalina ou a anfetamina (figura 7).

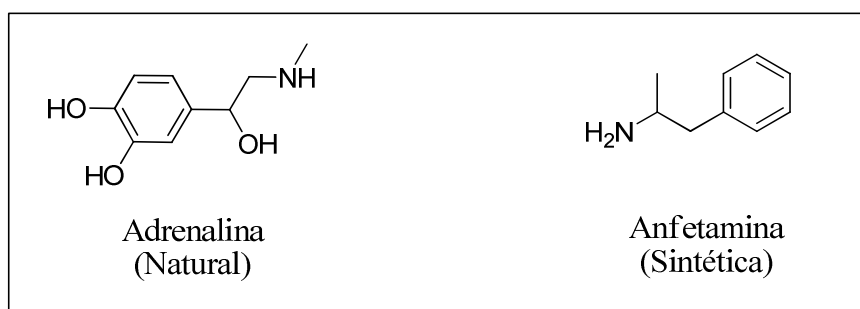
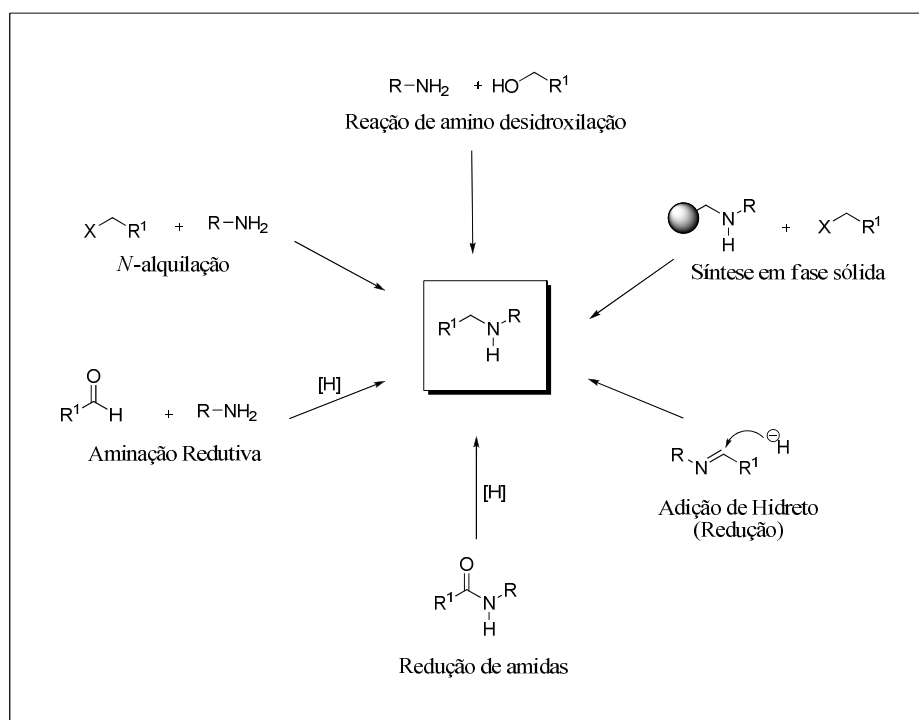


Figura 7. Exemplos de compostos químicos da classe das aminas de importância biológica.

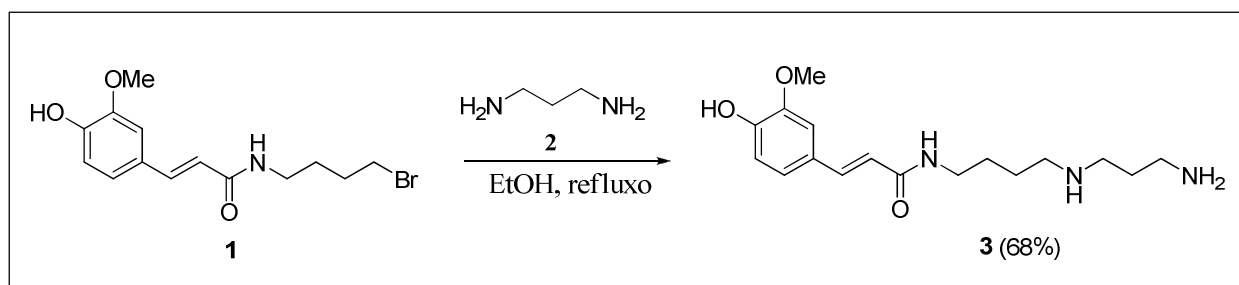
Dentro dessa classe, deve ser enfatizada a importância das aminas secundárias, pois se constituem como grupos farmacofóricos em diversos compostos biologicamente ativos e apresentam destaque na área de descoberta de fármacos (SALVATORE, 2001; INSAF e WITICK, 1999).

O esquema 1 ilustra brevemente alguns dos métodos tradicionais de obtenção de aminas secundárias.



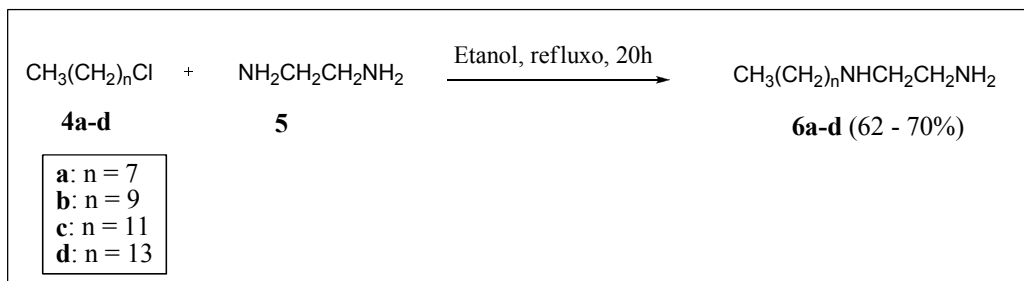
Esquema 1. Métodos tradicionais de síntese de aminas secundárias (SALVATORE, 2001).

As reações de *N*-alkilação de aminas primárias por tratamento dessas com haletos de alquila constituem a rota mais comum para formação de aminas secundárias (KATRITZKY *et al.*, 1995). Utilizando essa metodologia, Ramiandrasoa e colaboradores realizaram uma eficiente síntese de espermidinas mono-*N*-alkilada usando diaminas e poliaminas (RAMIANDRASOA *et al.*, 1989). O tratamento do brometo **1** com excesso de 1,3-propanodiamina **2** em etanol sob refluxo proporcionou a diamina com 68% de rendimento (esquema 2).



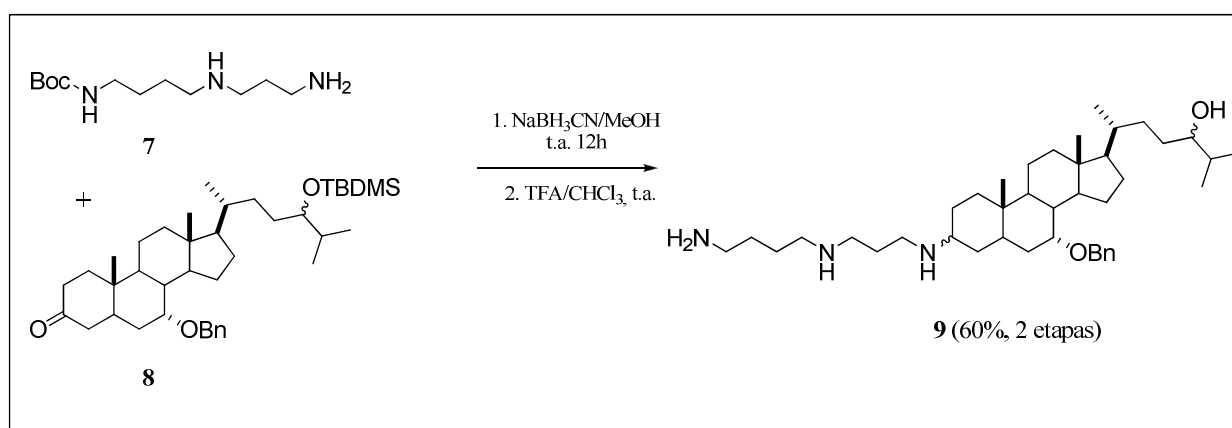
Esquema 2. Exemplo de síntese de amina secundária por reações de *N*-alkilação (RAMIANDRASOA *et al.*, 1989).

Nosso grupo utilizou essa técnica para a obtenção de moléculas anfífilas derivadas de carboidratos, cuja primeira etapa consiste na *N*-alquilação de diaminas (REIS *et al.*, 2008). O esquema 3 mostra essa síntese que envolve a reação de haletos de alquila **4a-d** com excesso de 1,2- etanodiamina **5** para obtenção de diaminas alquiladas **6a-d**.

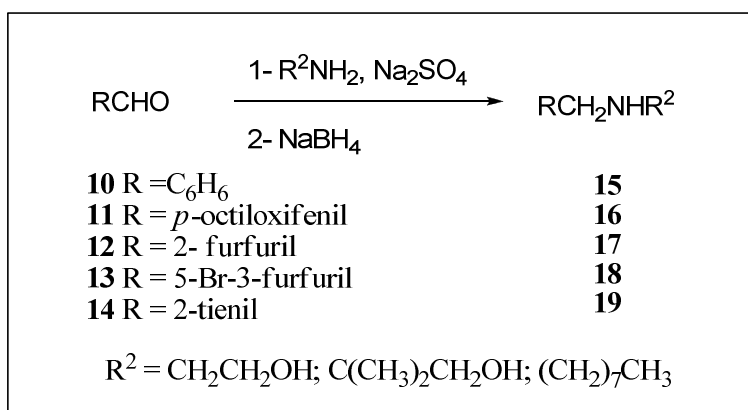


Esquema 3. Síntese de diaminas alquiladas por reação de *N*-alquilação (REIS *et al.*, 2008)

Outro método mais frequentemente utilizado na síntese de aminas secundárias é a aminação redutiva, que consiste no tratamento de aminas primárias com aldeídos ou cetonas na presença de um agente redutor adequado (boroidreto, hidrogenação catalítica, etc.) (BORCH *et al.*, 1971, TARASEVICH e KOZLOV,1999). Essa metodologia foi usada na síntese da esqualamina **9** (esquema 4) (PECHILUS *et al.*, 1995; SALVATORE *et al.*, 2001) e, recentemente nosso grupo preparou várias aminas aromáticas **15** a **19a-c** (esquema 5) usando esse mesmo método (ALMEIDA *et al.*, 2011).



Esquema 4. Etapa de aminação redutiva na síntese do antibiótico esqualamina (PECHILUS *et al.*, 1995).



Esquema 5. Síntese de aminas aromáticas via aminação redutiva (ALMEIDA *et al.*, 2011).

A redução de amidas e iminas também representa uma alternativa para obtenção de aminas (WITKOP, 1952). Os reagentes tipicamente utilizados nessas reduções são hidretos de alumínio (CHALLIS, 1970) e boroidreto (KUEHNE, 1977). Nesse último caso, usualmente é necessária a utilização de ácido de Lewis (BROWN e HEIM, 1973). Compostos que apresentem as funcionalidades nitrila ou carbamato podem ser vistos como materiais de partida para síntese de aminas através da redução destes (NAGARAJAN e GANEM, 1986; LAROCK, 1999).

Os aminoalcoóis são uma classe de compostos de considerável interesse em química medicinal. O grupo aminoálcool está presente na estrutura de muitos fármacos, como o etambutol (figura 8), usado no tratamento da tuberculose (DE SOUZA, 2006) ou o FTY720 (ADACHI *et al.*, 1995; FUJITA *et al.*, 1995).

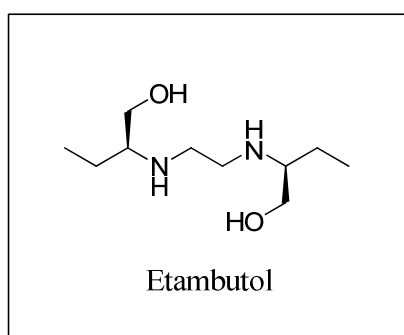


Figura 8. Estrutura química do etambutol.

Trabalhos anteriores do grupo evidenciaram a síntese de aminoalcoois anfifílicos com atividade antimicrobiana ou imunossupressora (figura 9) (ALMEIDA *et al.*, 2011; ALMEIDA *et*

al., 2008) (figura 9) e demonstraram a importância da cadeia lipofílica para a manutenção da atividade antibacteriana.

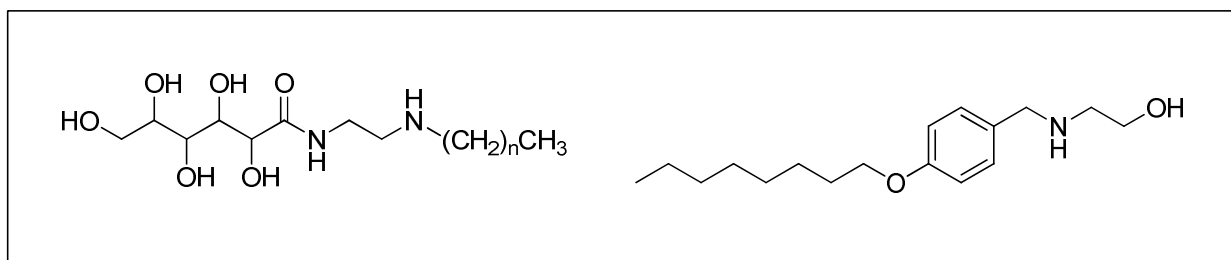


Figura 9. Exemplos de moléculas anfifílicas ativas desenvolvidas pelo grupo.

1.2.2. Amidas

O grupo funcional amida é comum na constituição de muitas substâncias biologicamente ativas: proteínas, ceramidas, glicosíngolípídeos, enzimas, dentre outros e está presente em mais de 25% da constituição dos fármacos conhecidos (figura 10) (GHOSE *et al.*, 1999; MONTALBETTI e FALQUE, 2005; ALCÂNTARA e PILO-VELOSO, 1993).

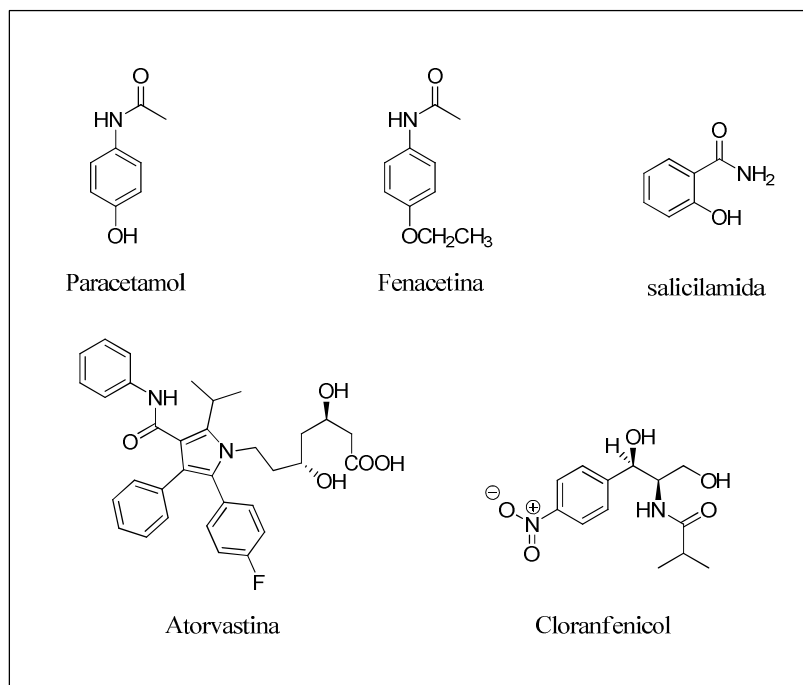


Figura 10. Exemplos de fármacos que apresentam a função amida.

A reação ácido-base entre um ácido carboxílico e uma amina, em condições brandas, conduz a formação de um sal de amônio. A amida pode ser obtida por pirólise, entretanto o

método limita-se a síntese de amidas que não apresentem grupos funcionais sensíveis à temperaturas elevadas, sendo ineficaz para síntese da maioria das moléculas mais complexas (COSTA *et al.*, 2005). Os métodos usuais para a síntese de amidas envolvem a ativação do grupo carboxila convertendo-o em haleto de acila (KANGANI e KELLEY, 2005), anidrido (WON *et al.*, 2008; McNULTY *et al.*, 2008) ou éster (GUO *et al.*, 2001). Esses métodos estão resumidos no esquema 6. A figura 11 mostra a reatividade de ácidos carboxílicos e derivados frente a nucleófilos.

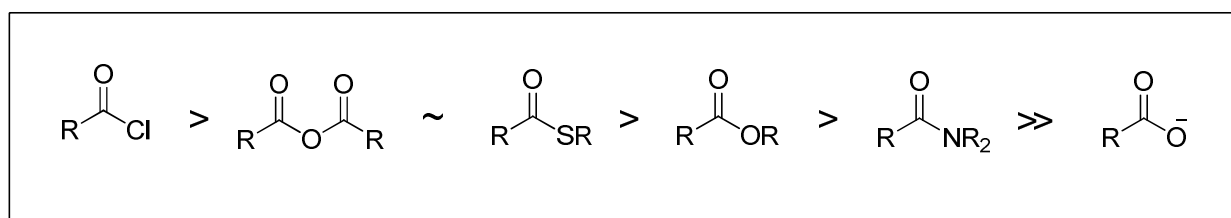
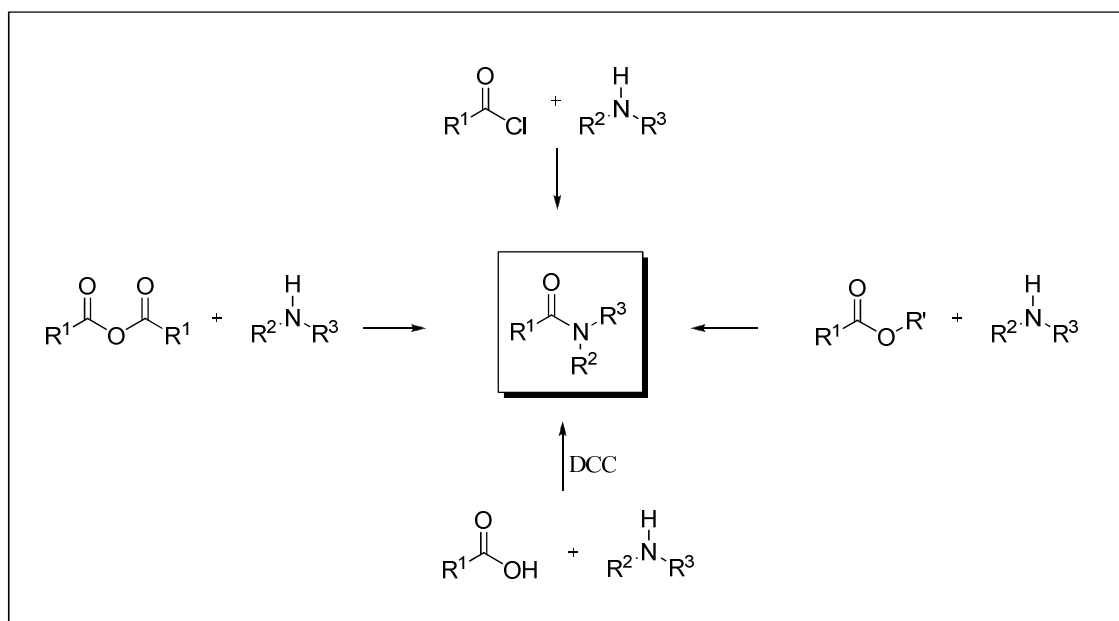
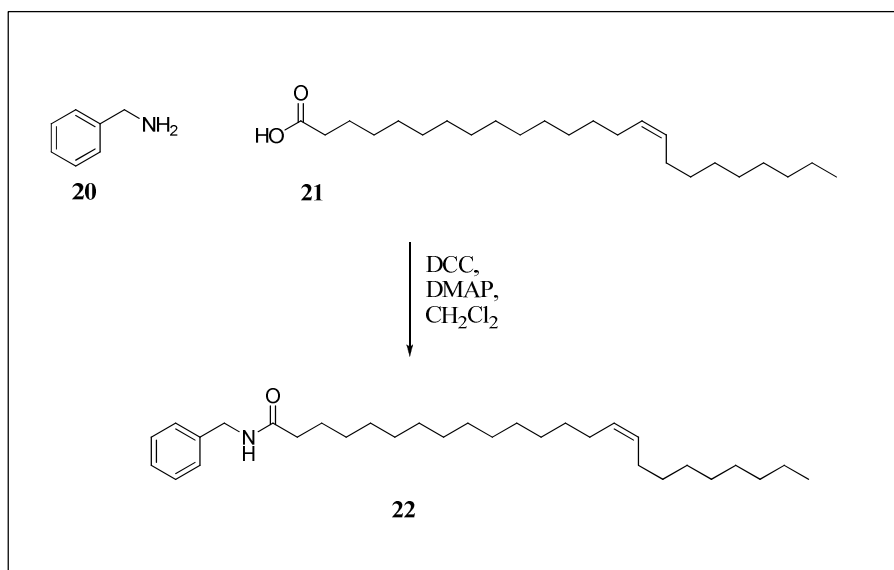


Figura 11. Ordem de reatividade de derivados de ácidos carboxílicos (COSTA *et al.*, 2005).



Esquema 6. Métodos sintéticos para obtenção de amidas.

Em alguns casos a reação envolve o uso de agentes de condensação como o dicitloexilcarbodiimida (DCC) ou de metoxiacetileno (SINGH *et al.*, 2002), permitindo condições reacionais brandas e um protocolo experimental simples. Esta metodologia é empregada de forma satisfatória na síntese de peptídeos (HU *et al.*, 2009; MAINA *et al.*, 2012) e de amidas graxas (esquema 7) (D'OCA *et al.*, 2010; KHAN *et al.*, 2005).



Esquema 7. Síntese da *N*-benzil-15-*Z*-tetracosenamida (**22**) na presença de DCC e DMAP (KHAN *et al.*, 2005).

2. Objetivo e Plano de Síntese

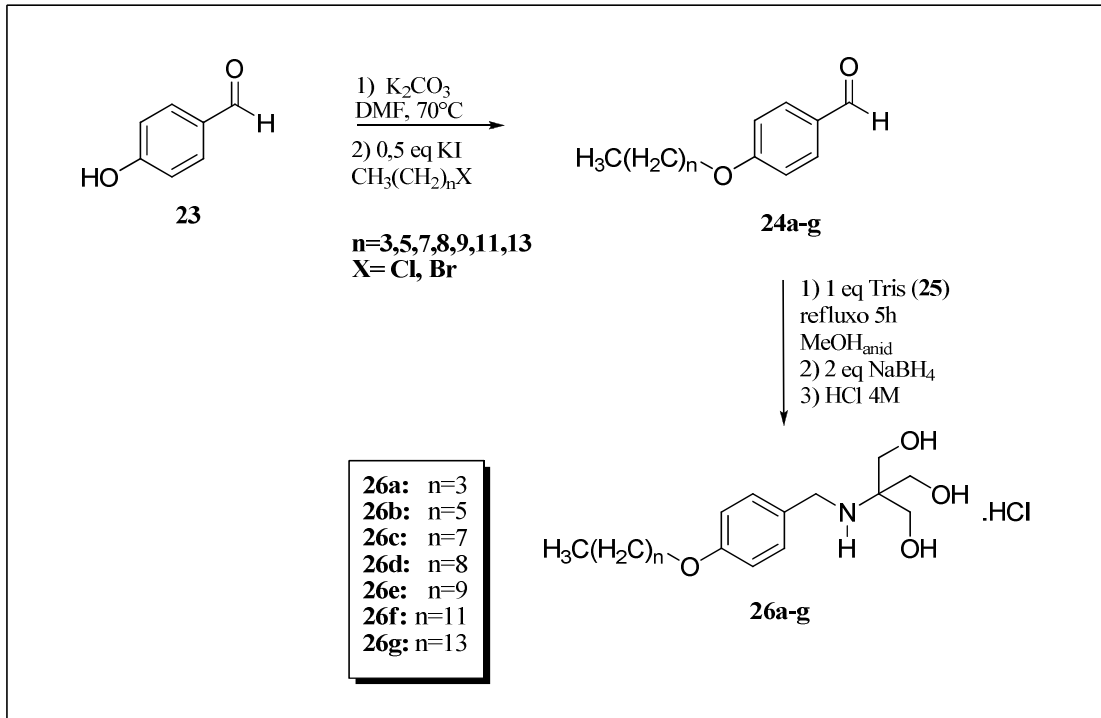
A síntese de novas moléculas que apresentem potencial biológico é de extrema importância para o tratamento de infecções bacterianas. Isto se deve ao crescente fenômeno de resistência bacteriana que, em muitos casos, gera limitações aos tratamentos comumente utilizados.

O primeiro antibiótico, a penicilina, foi descoberto por Alexander Fleming, em 1929, em um hospital londrino, onde foi observada a inibição do crescimento em placa de uma cultura de estafilococos contaminada por um fungo, mais tarde identificado como *Penicillium notatum*. Entretanto, durante a Segunda Guerra, esse medicamento foi utilizado intensamente contra bactérias do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus*, grandes causadores de pneumonias, infecções aéreas superiores, septicemias, etc (RUSSEL e CHOPRA, 1990). Foi observado em pouco tempo a resistência frente ao novo fármaco por cepas bacterianas produtoras de β -lactamases. Para essas bactérias o tratamento era eficaz apenas usando altas doses de medicamento (HAWKEY, 1988).

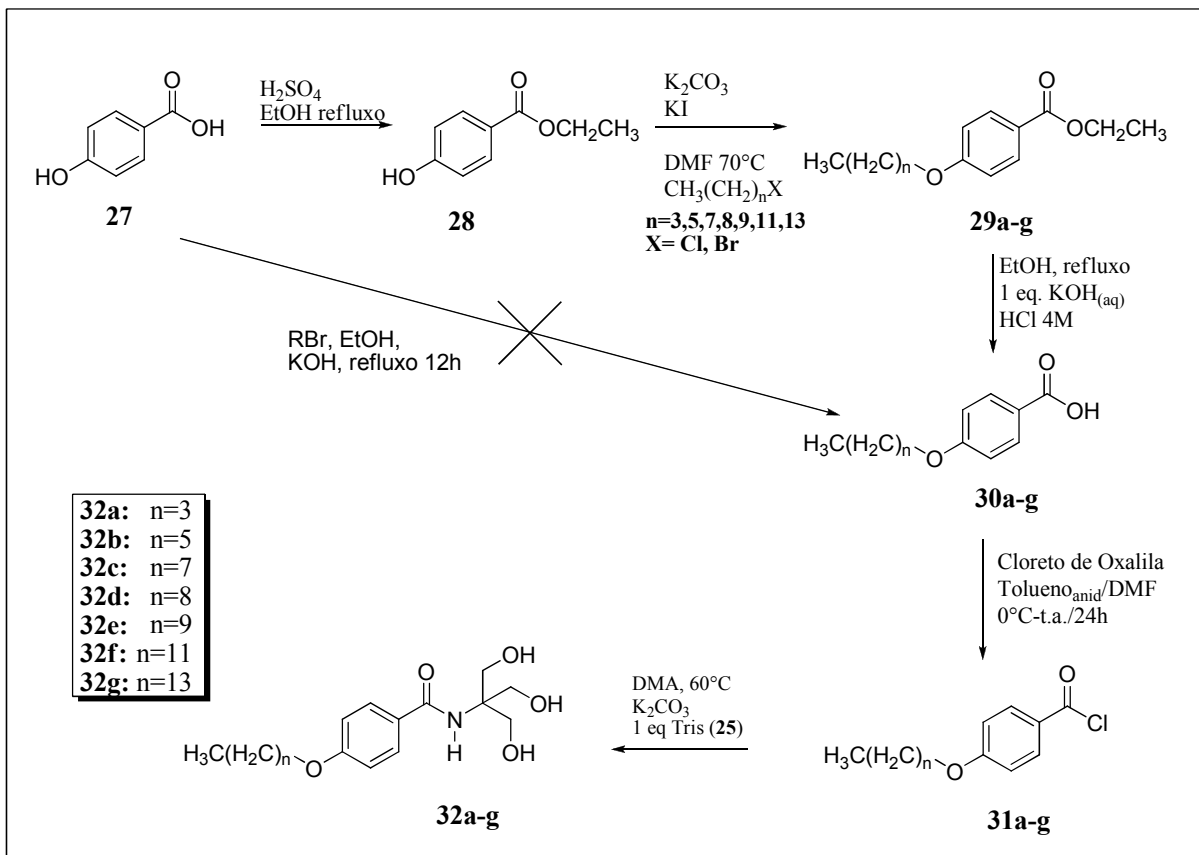
Inicialmente o fenômeno da resistência bacteriana não parecia ser um problema tão grande e temporariamente foi resolvido com a introdução de novos agentes antibacterianos (GOLD e MOELLERING, 1996). Hoje se conhecem microrganismos multirresistentes, não sensíveis a quaisquer dos antibióticos disponíveis clinicamente, levando pacientes hospitalizados a morte. Esses casos são cada vez mais frequentes, inclusive no Brasil (SADER *et al.*, 1998).

Devido aos problemas anteriormente mencionados, o foco desse projeto é a síntese de diferentes surfactantes aromáticos alquilados com potencial atividade biológica, nos quais a cabeça polar é formada pelo 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol **25** (Tris).

As aminas aromáticas *O*-alquiladas **26a-g** serão obtidas *via* aminação redutiva dos alquinoxibenzaldeídos **24a-g** obtidos a partir do *p*-hidroxibenzaldeído **23** (esquema 8). As amidas aromáticas *O*-alquiladas **32a-g** serão sintetizadas a partir do ácido *p*-hidroxibenzóico **27**. Primeiramente será preparado o éster etílico **28**, para posterior alquilação da hidroxila fenólica seguida pela clivagem dos ésteres, obtendo-se os ácidos carboxílicos alquilados **30a-g** (esquema 9), os quais serão convertidos a cloretos de ácidos **31a-g**, que por sua vez irão reagir com o Tris sob aquecimento para fornecer as amidas desejadas.

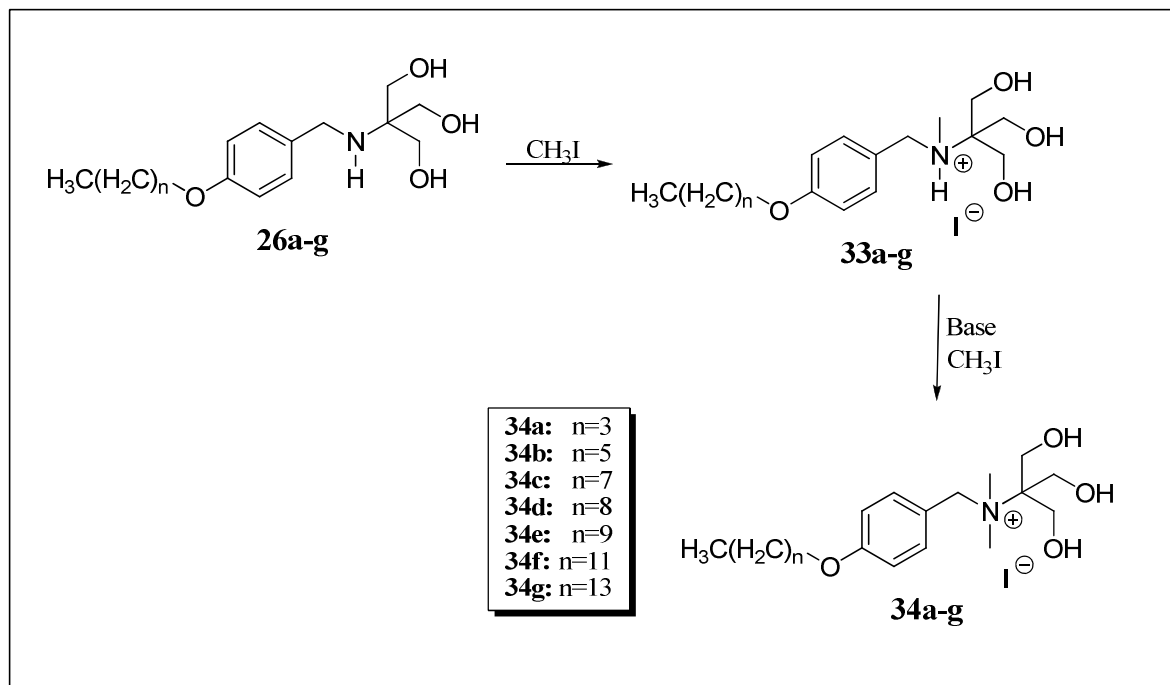


Esquema 8. Síntese das aminas alquiladas por aaminação redutiva.



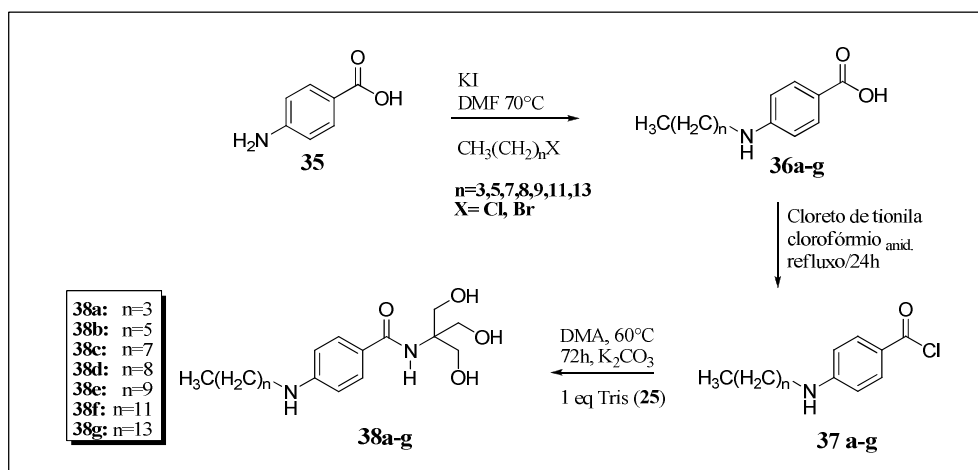
Esquema 9. Síntese das amidas alquiladas.

A quaternarização das aminas (**34a-g**) será proposta utilizando-se iodometano como agente metilante (esquema 10).



Esquema 10. Reação de quaternarização das aminas **26a-g**.

Com o intuito de comparação entre com as amidas **32a-g**, avaliar a importância do grupo funcional presente na cadeia lipofílica e realizar um estudo estrutura atividade mais efetivo, planejou-se a síntese de uma série de amidas *N*-alquiladas **38a-g** derivadas do ácido *p*-aminobenzóico **35** (esquema 11).



Esquema 11. Síntese das amidas *N*-alquiladas **38a-g**.

A avaliação biológica dos compostos sintetizados será realizada através de testes antimicrobianos, antifúngicos, citotóxicos e anti-inflamatórios.

Os testes antimicrobianos serão obtidos por meio das seguintes técnicas:

1. método de difusão em Agar, onde observamos a formação de um halo de inibição para os compostos ativos;
2. determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizando a técnica de microdiluição em caldo.

Ambos os métodos serão investigado frente a bactérias Gram-positivas (*S. aureus*; *S. epidermidis*) e Gram-negativas (*E. coli*; *P. aeruginosa*).

Para os testes antifúngicos, optaremos em utilizar a técnica de microdiluição e serão utilizadas diferentes espécies de *Candida*.

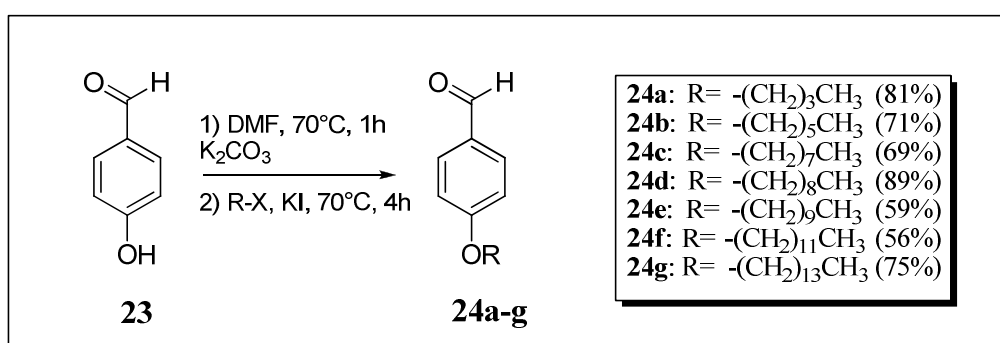
A atividade antiinflamatória será avaliada frente à capacidade dos compostos em inibir a ativação dos macrófagos, que será caracterizada através da produção de óxido nítrico (NO). A avaliação de citotoxicidade será realizada através do método do MTT.

Além disso, serão realizados testes físico-químicos, onde será feita a caracterização termodinâmica dos novos surfactantes. Medidas de entalpia de diluição de soluções concentradas de surfactantes serão realizadas em um microcalorímetro de titulação isotérmica com a finalidade de determinar os seguintes parâmetros termodinâmicos: CMC, ΔG_{mic} , ΔH_{mic} e ΔS_{mic} . Com a determinação destes parâmetros e da dependência dos mesmos em relação à estrutura dos surfactantes, poderá ser possível estabelecer as contribuições relativas das diferentes interações intermoleculares no processo de agregação das moléculas anfifílicas (interação hidrofóbica, eletrostática, de dispersão, etc.).

3. Resultados e Discussões

3.1. Síntese dos aldeídos alquilados 24a-g

Os aldeídos alquilados **24a-g** foram obtidos por reação de eterificação do *p*-hidroxibenzaldeído seguindo processos descritos na literatura (HASEGAWA *et al.*, 2005; CHANDRU *et al.*, 2007). Após reação do aldeído com K_2CO_3 , o fenóxido resultante foi tratado com haletos de alquila de cadeia longa (4 - 14 átomos de carbono) em presença de KI (esquema 12), levando a obtenção dos *p*-alquinoxibenzaldeídos **24a-g** com rendimentos de 56-89%.

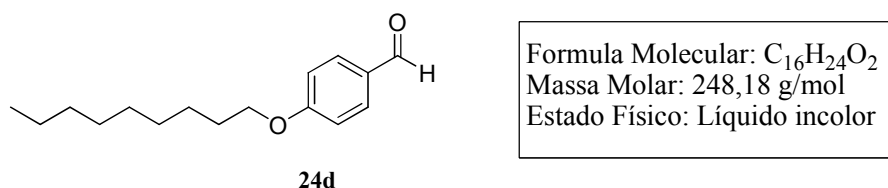


Esquema 12. Síntese dos aldeídos alquilados **24a-g**.

Os aldeídos alquilados **24a-f** apresentaram-se sob forma de líquidos incolores e o composto **24g** se apresentou sob forma de sólido branco. Todos os compostos foram purificados através de coluna cromatográfica, e caracterizados através de técnicas espectroscópicas como região do IV e RMN de 1H e ^{13}C .

Devido as similaridades estruturais dos compostos desta série, somente a análise do composto **24d** será detalhada a seguir.

3.1.1 Caracterização de 4-nonaloxibenzaldeído (24d)



Em espectroscopia no infravermelho, os aldeídos alifáticos simples apresentam uma banda muito forte do grupo carbonila ($C=O$), na faixa entre 1740 e 1725 cm^{-1} . Para o aldeído

alquilado **24d** (figura 12) essa banda é observada em frequências mais baixas (1701 cm^{-1}) devido a efeitos de conjugação com o grupo fenila. O estiramento C-H de aldeído (-CHO) aparece como uma banda fraca em 2734 cm^{-1} . Observa-se em 2908 cm^{-1} bandas referentes ao estiramento C-H de alifáticos e ainda uma banda em 1024 cm^{-1} referente à vibração de estiramento simétrico C-O-C.

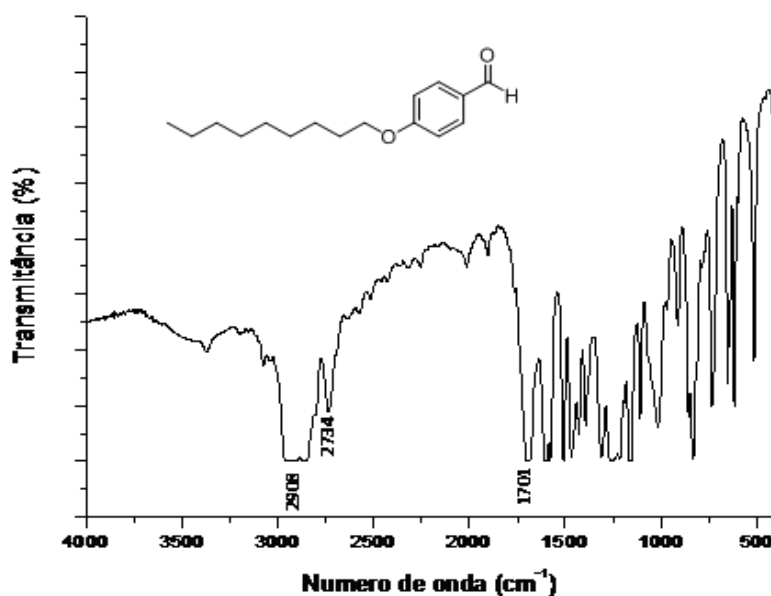


Figura 12. Espectro de IV do composto **24d** (KBr).

A estrutura do composto **24d** foi confirmada pela análise dos espectros de RMN e comparação com os dados da literatura. No espectro de RMN de ^1H (Figura 13) observou-se um tripleto em $\delta 0,88$ ($J = 6,8\text{ Hz}$) correspondente aos hidrogênios do grupo metila (H-1), um multipeto entre $\delta 1,28$ e $1,49$ referente aos hidrogênios metilênicos (H-2 a H-7), um quinteto em $\delta 1,81$ ($J = 6,6\text{ Hz}$) referente aos hidrogênios metilênicos (H-8), um tripleto em $\delta 4,03$ ($J = 6,6\text{ Hz}$) referentes aos hidrogênios metilênicos (H-9), dois dupletos em $\delta 6,99$ e $\delta 7,82$ ($J = 8,7\text{ Hz}$) referentes aos hidrogênios aromáticos H-11/H-12 e H-13/H-14, respectivamente, bem como, um simpleto em $\delta 9,87$ referente ao hidrogênio H-16 da função aldeído.

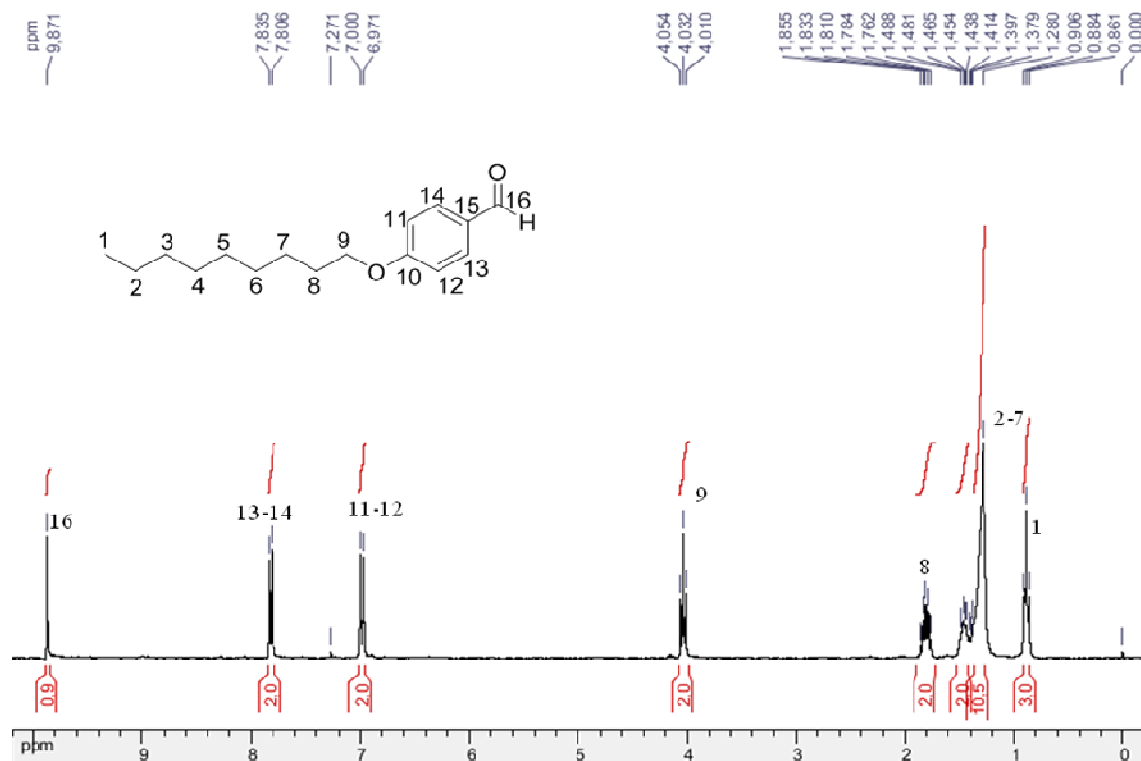


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) do composto **24d**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 14), observou-se um sinal em δ 14,3 referente ao carbono do grupo metila (C-1), sinais entre δ 22,8 e δ 32,0 referentes aos carbonos metilênicos C-2 a C-8, sinal em δ 68,6 referente ao carbono metilênico C-9, sinais em δ 114,9 e δ 132,2 referente aos carbonos aromáticos C-11/C-12 e C-13/C-14, respectivamente, além de sinais em δ 129,9 e δ 164,5 referentes aos carbonos aromáticos C-15 e C-10, respectivamente. O sinal referente à carbonila (C-16) encontra-se em δ 190,9.

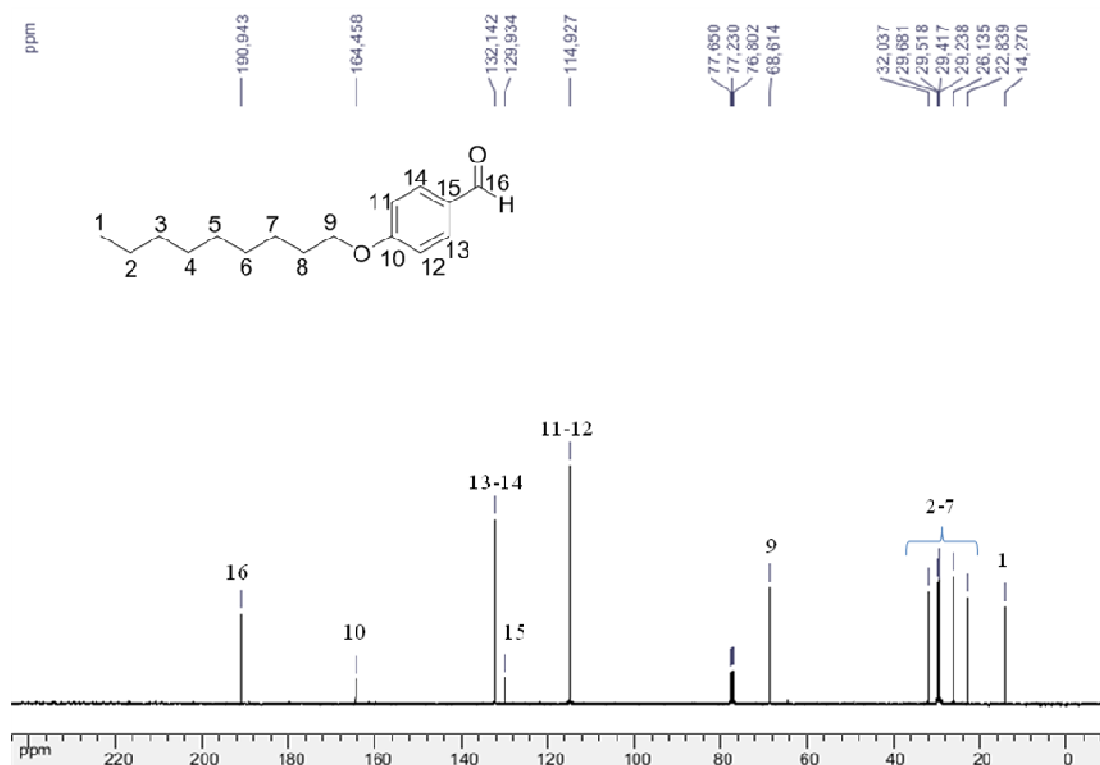
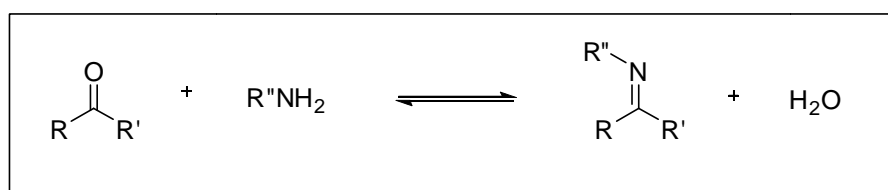


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) do composto **24d**.

3.2. Síntese das aminas 26a-g

A metodologia de obtenção de aminas através de aminação redutiva é um método sintético que vem sendo empregado com êxito em nosso grupo de pesquisa (ALMEIDA, 2010). O procedimento geral neste tipo de reação consiste no ataque nucleofílico da amina na função carbonílica do aldeído com posterior eliminação de água para obtenção das iminas. O uso de solventes anidros e agentes secantes é de extrema importância para o êxito da reação, pois as iminas são muito instáveis em contato com umidade. Podemos observar através do esquema 13 que a presença de água desloca o equilíbrio em direção aos reagentes (TEHRANI e DE KIMPE, 2004).



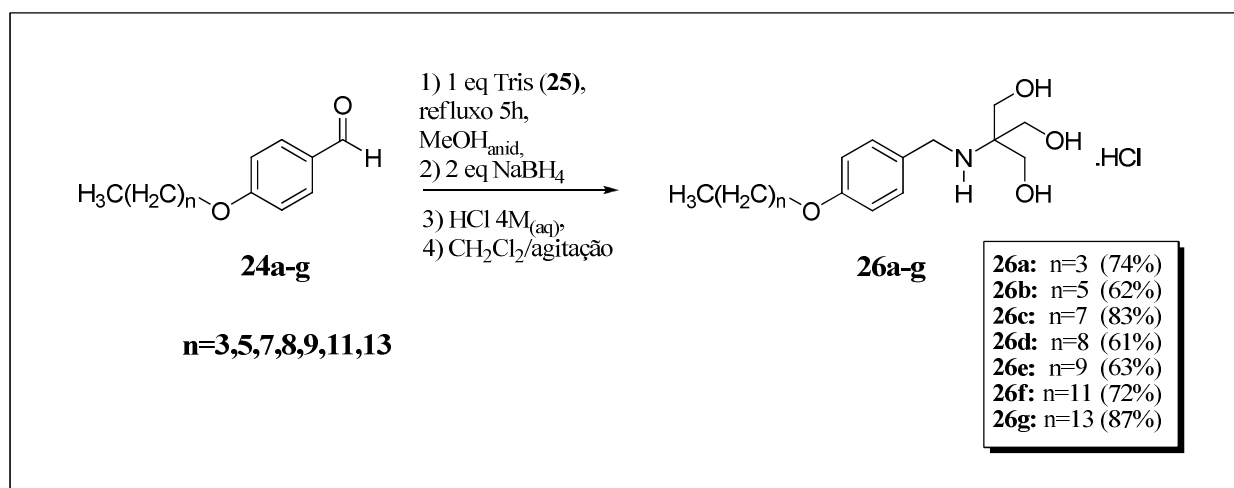
Esquema 13. Síntese de iminas

Experimentalmente, o aldeído e a amina são adicionados em proporções equimolares em um solvente anidro, como por exemplo, metanol ou etanol com ou sem aquecimento. Entre os métodos mais clássicos na síntese de iminas podemos citar a remoção azeotrópica de água, utilizando solventes com alto ponto de ebulição em refluxo, que arrastam a água formada para um reservatório separado do meio reacional através de um tubo *Dean Stark* (TARAROV e BOWWER, 2005). O uso de síntese em reator de microondas também é muito útil por reduzir o tempo reacional frente aos métodos convencionais (GIANG *et al.*, 2004).

Existem vários métodos de redução de iminas descritos na literatura com diferentes graus de eficiência e praticidade (HONG *et al.*, 2004), tais como hidrogenação catalítica, biocatálise enzimática e com microorganismos e uso de hidretos inorgânicos (DAVERIO e ZANDO, 2001). Entretanto, a maioria destes agentes redutores apresenta desvantagens como falta de seletividade, produção de subprodutos tóxicos, insolubilidade, inflamabilidade, intolerância a alguns grupos e condições difíceis de reação, como altas temperaturas e pressões (HEYDARI *et al.*, 2007; KAGAN *et al.*, 1973; IRELAND *et al.*, 2004; MALKOV *et al.*, 2004; JIAN *et al.*, 2006; ROCHA, 2008). É comum utilizar hidretos como o LiAlH_4 e NaBH_4 , onde o último tem menor força de redução e é mais quimiosseletivo. A utilização de NaBH_4 se mostra muito vantajosa, pois é um reagente relativamente barato, seguro e de fácil manuseio. Reage em condições brandas, de maneira limpa e não gera subprodutos tóxicos.

A reação pode ser realizada de forma direta quando o agente redutor é adicionado no início da reação com os demais componentes e indireta quando há a formação da imina em um primeiro momento e posteriormente é realizada a redução (ABDEL-MAGID *et al.*, 1996). Há vários relatos de aminação redutiva direta e indireta com NaBH_4 , alguns deles sem a utilização de solvente, através da simples mistura dos reagentes em um almofariz (YATAGAI e OHNUKI, 1990; HAJIPOUR e HANTEHZADEH, 1999).

Para a síntese das aminas **26a-g**, o Tris foi primeiramente adicionado ao aldeído alquilado em metanol anidro sob refluxo. As iminas formadas foram reduzidas *in situ* por tratamento da reação com NaBH_4 a 0°C (esquema 14). Tentativas de purificação das iminas por coluna cromatográfica em sílica gel resultaram na decomposição das mesmas (RAO *et al.*, 1998).



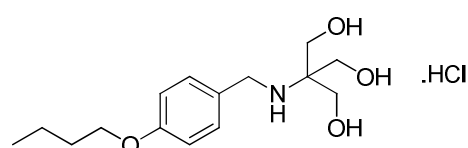
Esquema 14. Síntese das aminas **26a-g** por aminação redutiva e os rendimentos obtidos.

As aminas livres podem ser purificadas por precipitação: o meio reacional concentrado é diluído com um pequeno volume de água e diclorometano é adicionado até ocorrer precipitação. Após 24 h de repouso, o sólido é filtrado. Entretanto, para facilitar o processo, escolhemos purificar e caracterizar as aminas na forma de cloridratos. Após remoção do metanol inicialmente usado na reação e solubilização do material residual em água, foi adicionada uma solução HCl 4M até observação de precipitação (XIE *et al.*, 2009). Posteriormente, cloreto de metileno foi adicionado ao meio reacional com intuito de facilitar a precipitação uma vez que os cloridratos das aminas formadas são insolúveis neste solvente.

Após serem isolados, os compostos foram purificados através de recristalizações sucessivas em acetato de etila. Foram obtidos rendimentos satisfatórios que variaram de 61 a 87%. A caracterização foi realizada através da determinação da faixa de fusão e através de técnicas espectroscópicas como região do IV, RMN de ¹H e ¹³C e espectroscopia de massas.

Serão mostrados a seguir os dados espectroscópicos apenas para o composto **26a**, devido à semelhança estrutural da série.

3.2.1. Caracterização do Cloreto de *N*-(4-butoxibenzil)-1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-amínio (**26a**)



Formula Molecular: C₁₅H₂₆ClNO₄
 Massa Molar: 319,16 g/mol
 Estado Físico: sólido branco
 Faixa de Fusão: 129,8 - 130,1°C

No espectro na região do infravermelho em pastilha de KBr de **26a** (Figura 15), observou-se bandas larga de absorção devido a ligação de hidrogênio intermolecular em 3356 cm^{-1} referente ao estiramento O-H de alcoóis primários; em 3065 cm^{-1} referente ao estiramento N-H de aminas; em 2966 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-H de anel aromático; em 2872 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-H de alifáticos e ainda uma banda em 1061 cm^{-1} referente a vibração de estiramento simétrico C-O-C. Pode-se notar que a banda intensa em 1701 cm^{-1} presente na figura 12 referente à carbonila do aldeído (espectro de IV do aldeído alquilado) não está presente no espectro deste composto comprovando a ocorrência da reação.

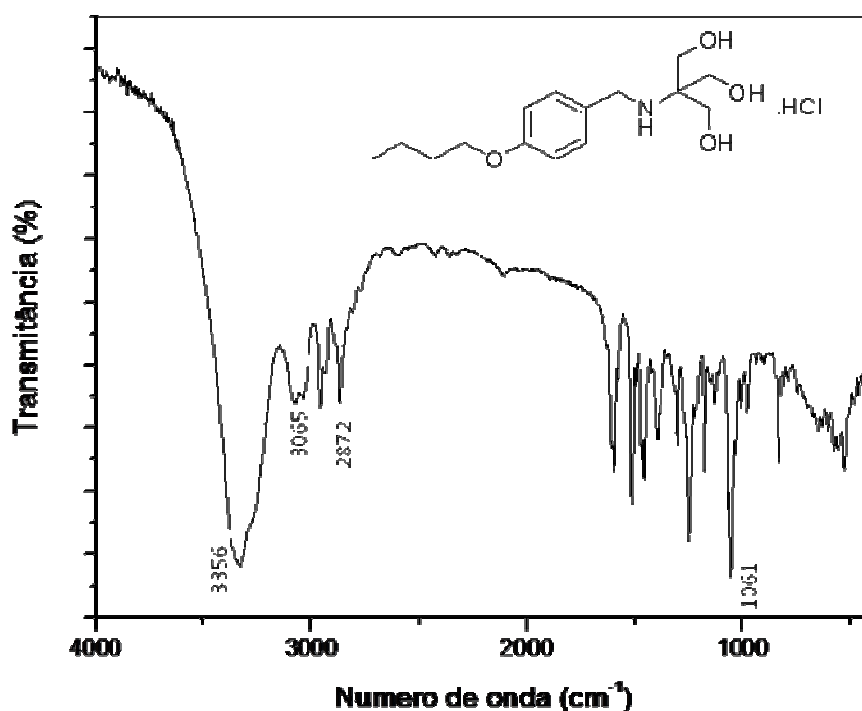


Figura 15. Espectro na região de infravermelho do composto **26a** (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **26a** (figura 16) podemos evidenciar o êxito da reação devido à presença de um simpleto (6H) em $\delta 3,80$ referente aos hidrogênios metilênicos do tris H-13,14,15 e um simpleto em $\delta 4,25$ ($J = 6,3\text{ Hz}$, 2H) referente aos hidrogênios metilênicos H-11. Em comparação com o espectro do aldeído alquilado (figura 19), o desaparecimento do simpleto em $\delta 9,87$ referente ao hidrogênio da função aldeído também comprova a síntese do composto almejado.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 17), podemos observar sinal em δ 59,4 referente aos carbonos metilênicos do tris (C-13, C-14, C-15), sinal em δ 67,8 referente ao carbono C-12 também da unidade aminoálcool e sinal em δ 46,8 referentes ao carbono metilênico ligado ao anel aromático (C-11). Pode-se notar que o sinal de carbonila presente no material de partida em δ 190,9 não está presente no espectro de ^{13}C do composto final.

No espectro de massa de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **26a** (figura 18) foram observados três picos, o primeiro foi atribuído ao pico base (maior intensidade) para a molécula desprotonada $[\text{M} - \text{H}]^-$ com $m/z = 318,1471$, em acordo com o valor calculado $m/z = 318,1472$; o segundo pico foi atribuído ao pico íon molecular com m/z de 319,1530 e o último pico $m/z = 320,1457$ com uma intensidade relativa a 32,5% do íon base foi atribuído ao pico de composição isotópica (^{37}Cl). Este último pico comprova a formação dos cloridratos para as estruturas sintetizadas.

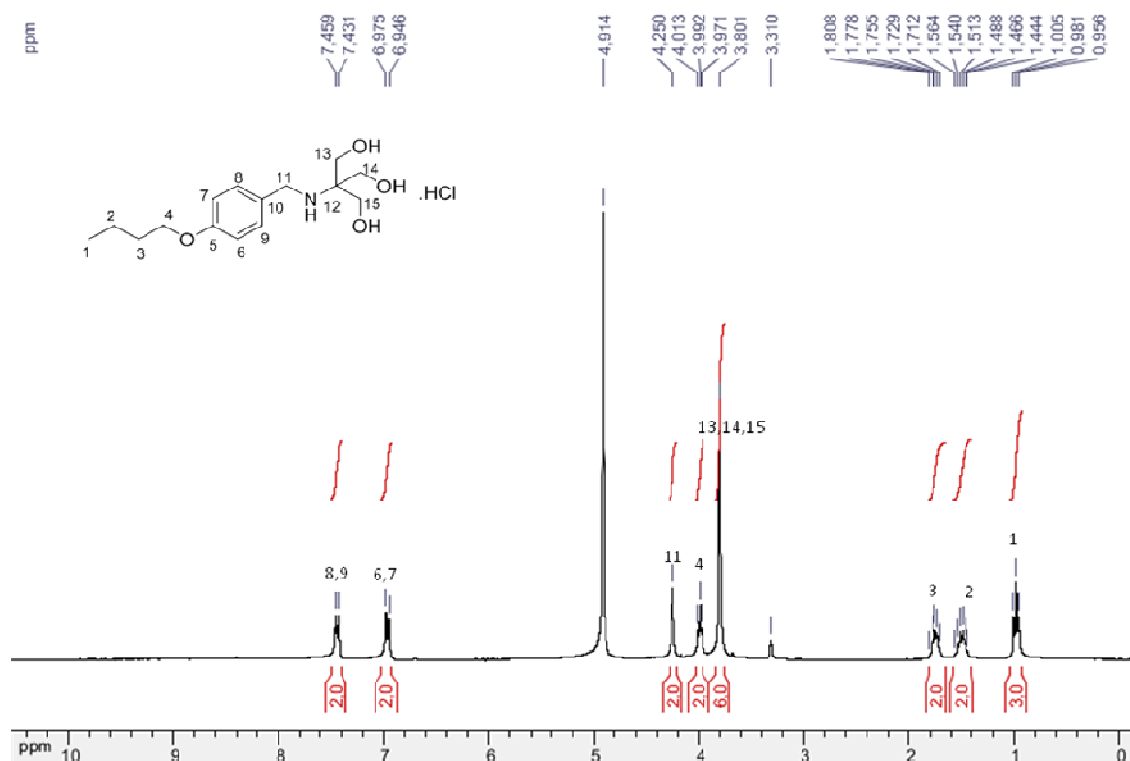


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto **26a**.

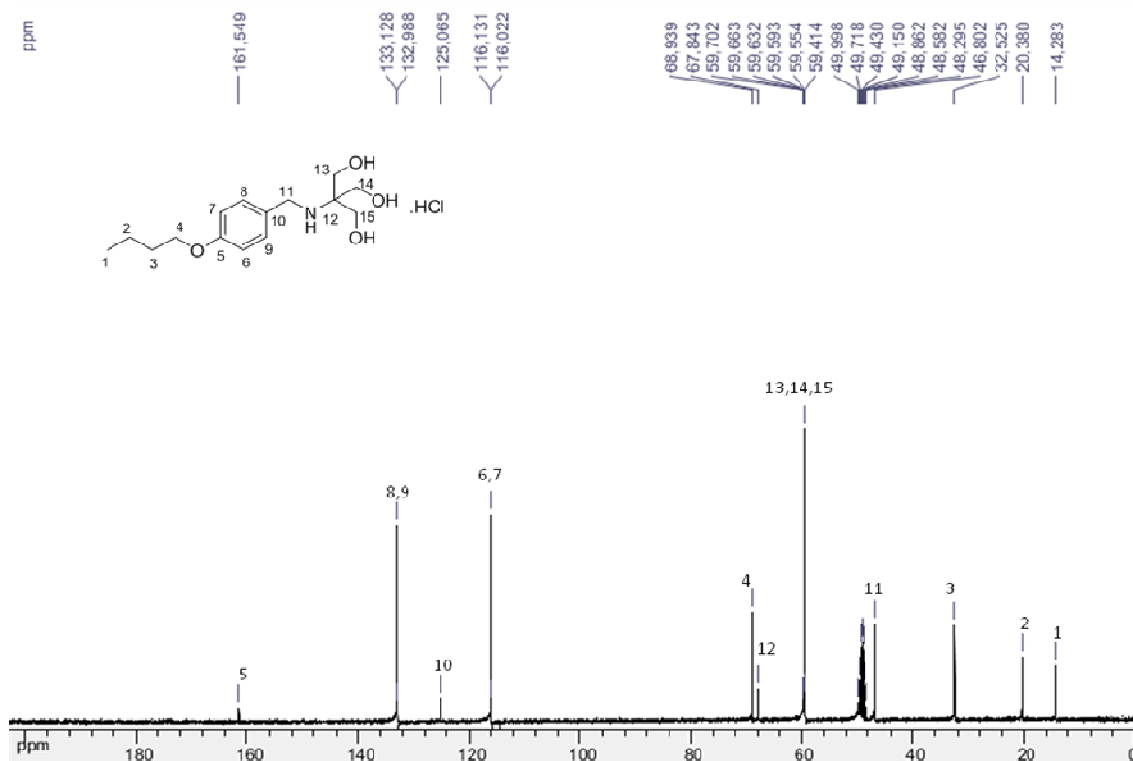


Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **26a**.

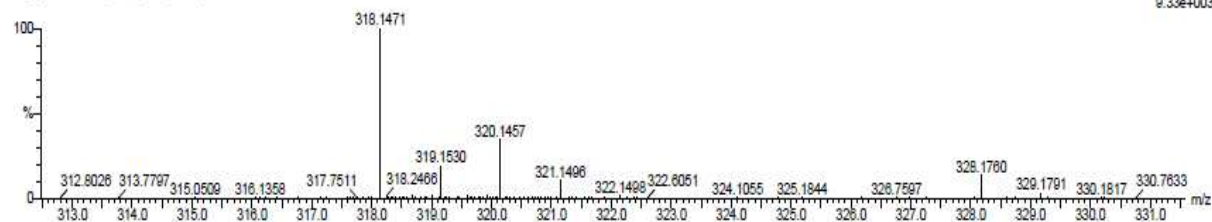
Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0
 Element prediction: Off
 Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
 420 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)
 Elements Used:
 C: 0-100 H: 0-110 N: 0-15 O: 1-15 Cl: 1-1
 DE-ASSIS
 DO_ja-anv12.24 (0.633) Cm (21:28)

MeOH

13-Jul-2012 16:15:32
 2: TOF MS ES-
 9.33e+003

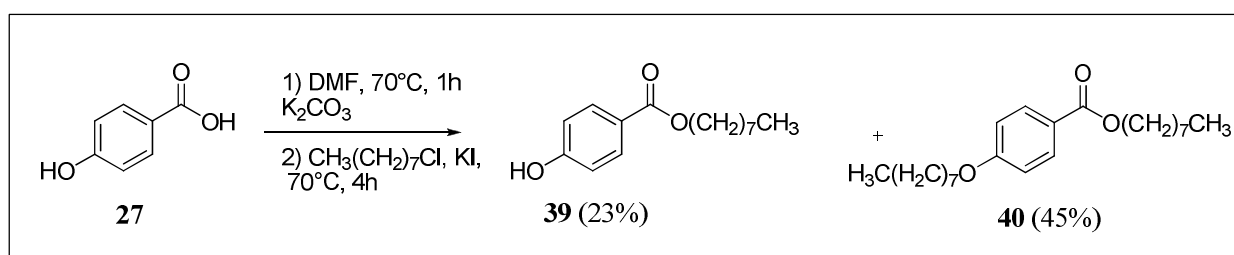


Minimum:	Maximum:							
		5.0	5.0	-1.5				
				100.0				
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula	
318.1471	318.1472	-0.1	-0.3	3.5	989.7	0.0	$\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{N}\text{O}_4\text{Cl}$	

Figura 18. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **26a**.

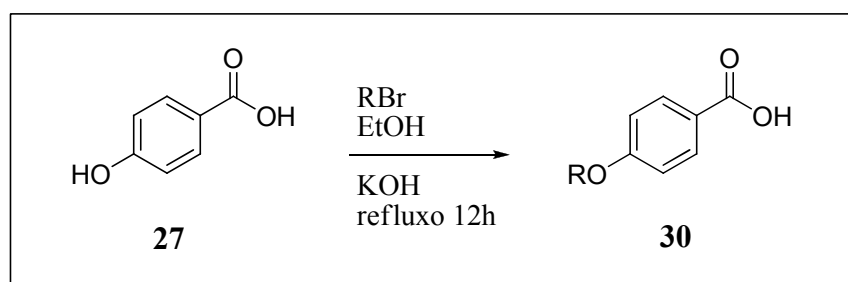
3.3. Síntese e caracterização das amidas 32a-g

Para a obtenção das amidas alquiladas derivadas do ácido *p*-hidroxibenzóico **27**, tentou-se primeiramente a alquilação da hidroxila fenólica usando um procedimento experimental similar ao utilizado na alquilação dos aldeídos **24a-g**. Após tratamento do composto **27** com K_2CO_3 e cloreto de octila, foi observada a formação de dois produtos mais apolares do que o ácido **27**. Esses compostos foram isolados e através da análise do espectro de RMN de 1H verificou-se a formação do éster **39** (23%) derivado do ácido *p*-hidróxibenzóico e do composto dialquilado **40** (45%) (Esquema 15).



Esquema 15. Tentativa de alquilação direta de **27**.

Uma metodologia de alquilação direta da hidroxila fenólica do composto **27** foi descrita por PRAJAPATI e VISHAL (Esquema 16), tratando-se o ácido carboxílico com o brometo de alquila e solução etanólica de KOH sob refluxo (PRAJAPATI e VISHAL, 2010; OJEDA *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2010). Esperava-se a formação inicial do éster alquilado com posterior clivagem *in situ* deste grupo devido à presença da base forte presente no meio reacional.



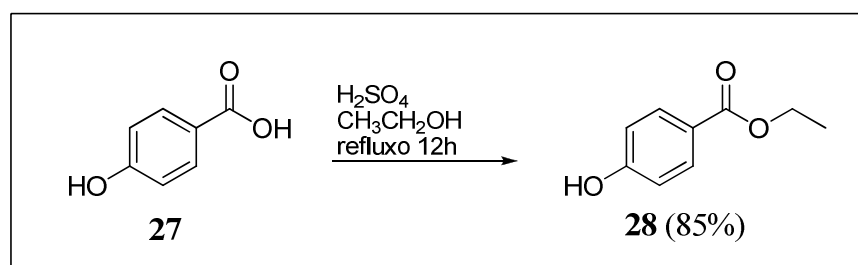
Esquema 16. Síntese realizada por PRAJAPATI e VISHAL (2010).

Entretanto, o produto referente à monoalquilação da hidroxila fenólica não foi obtido, mesmo empregando-se as condições experimentais descritas acima. Os produtos **39** e **40** indicados no esquema 16 continuaram a ser obtidos com rendimentos similares.

Este resultado se deve à acidez dos prótons envolvidos neste processo. O valor do pKa em água do próton do ácido carboxílico é 4,2; enquanto o pKa do próton da hidroxila fenólica é 9,9 (<http://www.chem.wisc.edu/areas/reich/pkatable/index.htm>). A formação do éster ocorre prioritariamente, mas a alquilação da hidroxila fenólica também foi observada porque foi utilizado excesso do haleto de alquila. Assim, o produto desejado referente apenas a alquilação da hidroxila fenólica não pode ser obtida por essa metodologia.

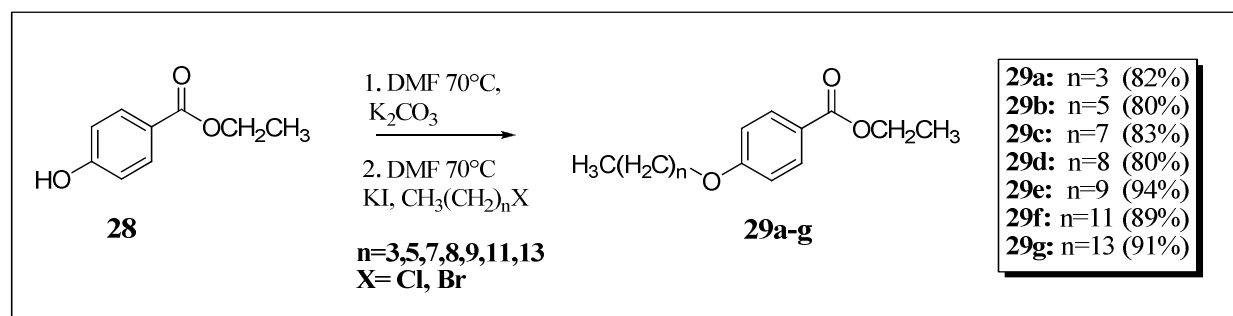
Para atingir nosso objetivo, optou-se pela síntese inicial do éster etílico com posterior alquilação. Em seguida realizou-se a clivagem do éster etílico com uma base forte.

Na reação de esterificação (OLAH *et al.*, 1981), o ácido carboxílico dissolvido em etanol foi aquecido sob refluxo em presença de H₂SO₄, levando ao éster etílico **28** (esquema 17).



Esquema 17. Síntese do éster etílico derivado de **28**.

O composto **28** foi isolado com rendimento de 85% e caracterizado por espectroscopia no IV, RMN de ¹H e ¹³C. Em seguida foi submetido à reação de alquilação com haletos de alquila de 4, 6, 8, 9, 10, 12 e 14 átomos de carbono para a síntese dos compostos **29a-g** (esquema 18). Essa reação pôde ser realizada nas mesmas condições de obtenção dos aldeídos alquilados, uma vez que apenas a hidroxila fenólica encontrava-se disponível para reação de alquilação. Os compostos **29a-g** foram purificados por coluna cromatográfica (eluente: diclorometano e metanol).



Esquema 18. Síntese dos ésteres alquilados **29a-g**.

Nas tentativas iniciais de síntese das amidas **32a-g**, os ésteres **29a-g** foram tratados com o Tris empregando várias condições reacionais, detalhadas na tabela 2 (RHO *et al.*, 2006; LOPES *et al.*, 2010; MOVASSAGHI e SCHMIDT, 2005). Entretanto, não foi observado nenhum indício de reação, e o material de partida empregado pode ser recuperado completamente.

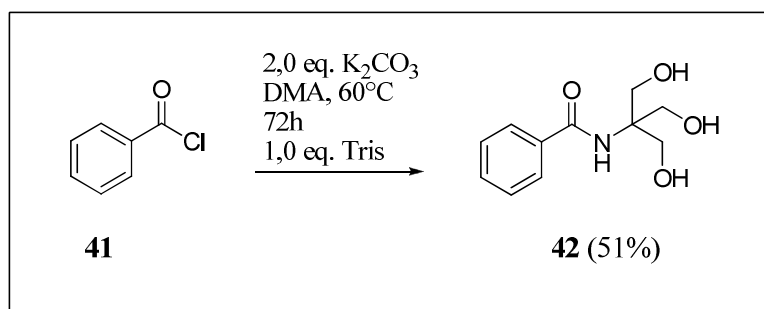
Tabela 2. Condições empregadas na tentativa de síntese das amidas a partir da aminólise dos ésteres alquilados **29a-g**.

Entrada	Solvente	Base ^a	Temperatura, °C	Tempo reacional, h
1	DMF	-	80	72
2	DMF	K ₂ CO ₃ (2.0)	t.a.	72
3	DMF	K ₂ CO ₃ (2.0)	80	72
4	DMF	TEA (1.1)	80	72
5	DMSO	K ₂ CO ₃ (2.0)	80	72
6	Metanol	K ₂ CO ₃ (2.0)	60	24
7	Metanol	MeONa (1,0)	60	24

^a A equivalência molar está representada em parênteses.

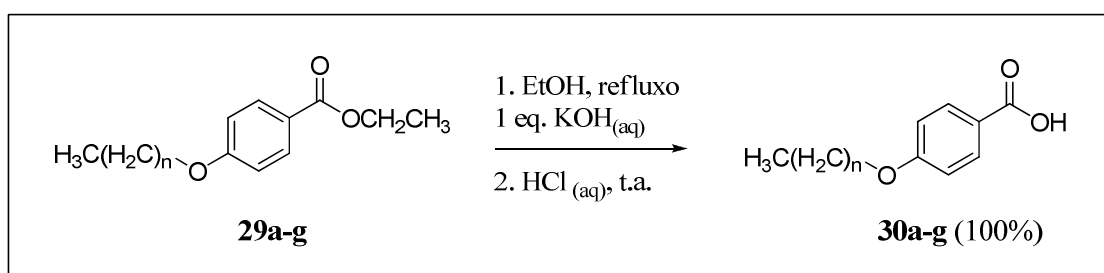
Optou-se pela tentativa de síntese das amidas a partir dos cloretos de ácidos, uma vez que estes são mais susceptíveis ao ataque nucleofílico do que os ésteres, devido à maior eletronegatividade do cloro que retira densidade eletrônica do carbono do grupo carbonila, aumentando a eletrofilicidade deste.

Realizou-se uma reação teste (esquema 19) tratando o cloreto de benzoíla comercial **41** com Tris (1,0 equivalente) em presença de K₂CO₃ (HAN *et al.*, 2006). O sal formado na reação foi filtrado e adicionou-se acetona à solução. A amida **42** precipitou no meio reacional, e maiores quantidades foram obtidas adicionando acetona ao filtrado. O procedimento foi repetido por três vezes, fornecendo a amida **42** que foi então purificada por coluna cromatográfica. A caracterização foi realizada através de espectroscopia de RMN de ¹H e ¹³C confirmando a estrutura do composto.



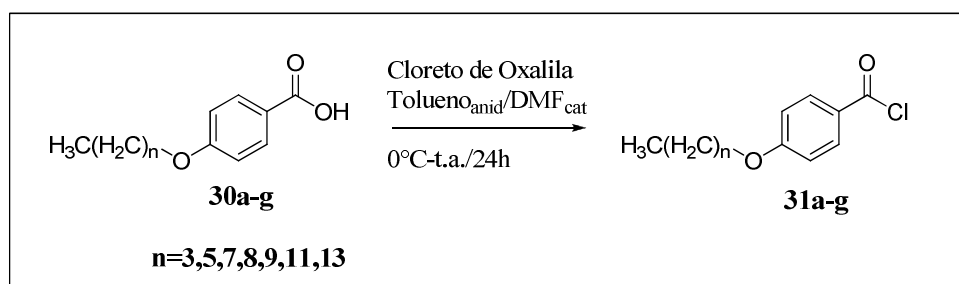
Esquema 19. Reação teste para síntese de **42** a partir de cloreto de benzoíla (**41**).

A mesma metodologia foi empregada na síntese dos compostos **32a-g**. Para este fim foi necessário realizar a clivagem dos ésteres **29a-g** por hidrólise básica com uma solução aquosa de KOH (esquema 20). Os ácidos carboxílicos *O*-alquilados **30a-g** foram obtidos em rendimentos quantitativos.



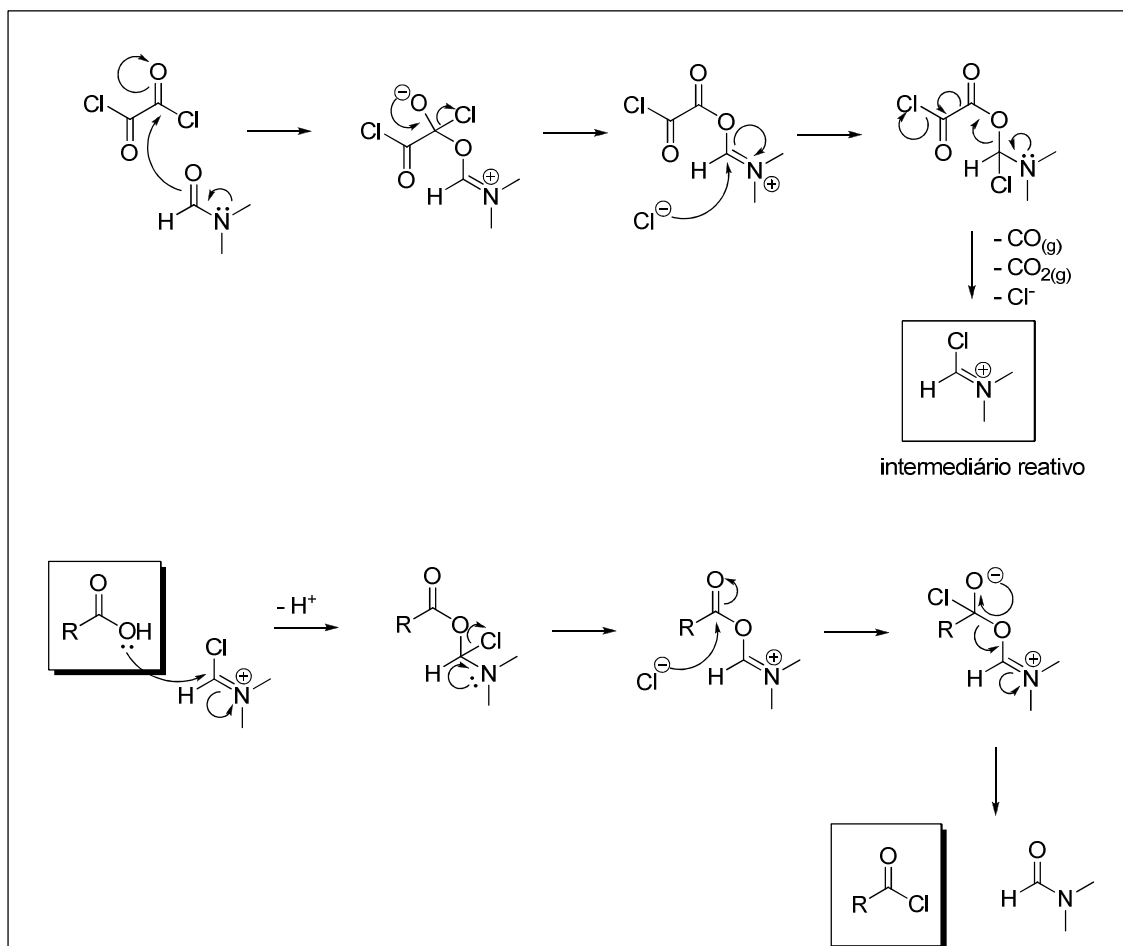
Esquema 20. Síntese dos ácidos carboxílicos alquilados **30a-g**.

Os ácidos carboxílicos **30a-g** foram convertidos em cloretos de acila **31a-g** através da reação com excesso de cloreto de oxalila e dimetilformamida (DMF) catalítica em tolueno (REZENDE JÚNIOR, 2010). A reação ocorreu inicialmente a 0°C e foi deixada por 24 horas à temperatura ambiente (esquema 21). O mecanismo da reação está descrito resumidamente no esquema 22 (CLAYDEN *et al.*, 2001).



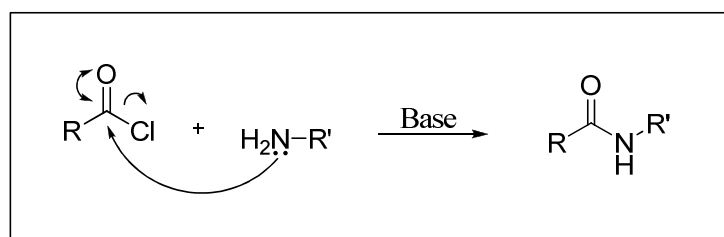
Esquema 21. Síntese empregada para obtenção dos cloretos de acila **31a-g**.

Outras metodologias muito empregadas para conversão de ácidos carboxílicos em cloretos de acila consistem no uso de cloreto de tionila (SOCl_2) (SINGH, 2010), tricloreto de fósforo (PCl_3), oxicloreto de fósforo (POCl_3) ou pentacloreto de fósforo (PCl_5) (MONTALBETTI *et al.*, 2005).



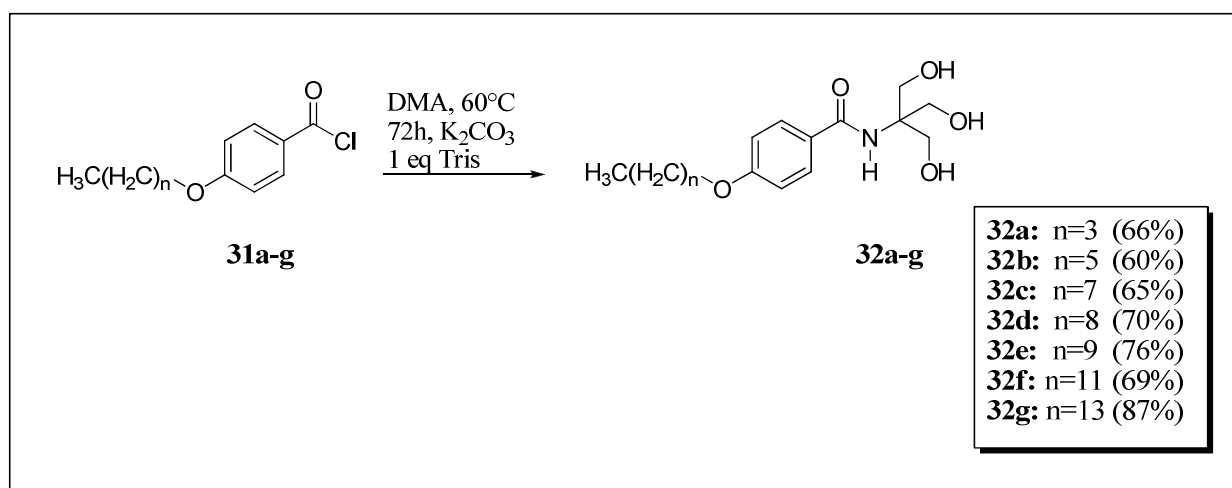
Esquema 22. Mecanismo de formação do cloreto de acila utilizando cloreto de oxalila e DMF catalítico (CLAYDEN *et al.*, 2001).

Após a obtenção do cloreto de acila, a amida pode ser obtida pela adição de amina ao meio reacional (esquema 23). Neste procedimento, pode-se utilizar uma base adicional com o intuito de neutralizar o HCl formado e evitar a conversão da amina em seu sal.



Esquema 23. Aminólise do cloreto de acila.

Assim, após evaporação do tolueno e do excesso de cloreto de oxalila, os cloretos de ácido obtidos **31a-g** foram solubilizados em DMA e tratados com Tris na presença de carbonato de potássio, agitação e aquecimento de 60°C por 72 horas (esquema 24). As amidas **32a-g** foram obtidas com rendimentos que variaram de 60 a 87% após purificação por coluna cromatográfica (eluente: diclorometano e metanol).

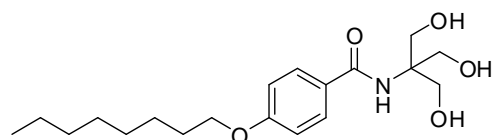


Esquema 24. Síntese das amidas alquiladas derivadas do tris **32a-g**.

A caracterização foi realizada utilizando técnicas espectroscópicas usuais (massas, região do IV e RMN de ^1H e ^{13}C).

A seguir detalharemos os dados espectrométricos obtidos para o composto **32c** devido às similaridades estruturais da série sintetizada.

3.3.1. Caracterização de *N*-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]-4-(octiloxi) benzamida (**32c**)



32c

Fórmula Molecular: C₁₉H₃₁NO₅
 Massa Molar: 353,22 g/mol
 Aspecto físico: sólido branco
 Faixa Fusão: 133,1-134,2°C

A formação da amida **32c** foi confirmada pela presença de bandas no espectro de infravermelho em fase sólida (pastilha de KBr 1%) na região de 1633 cm⁻¹, características para carbonila de amida. A banda de carbonila sobrepõe parcialmente à banda de dobramento N-H, que aparece em 1601 cm⁻¹, fazendo a banda de C=O aparecer como um duplete. Observa-se banda de estiramento em 3289 cm⁻¹ referente à ligação N-H e O-H. Além de e 1551 cm⁻¹ referentes à ligação C-N (figura 19).

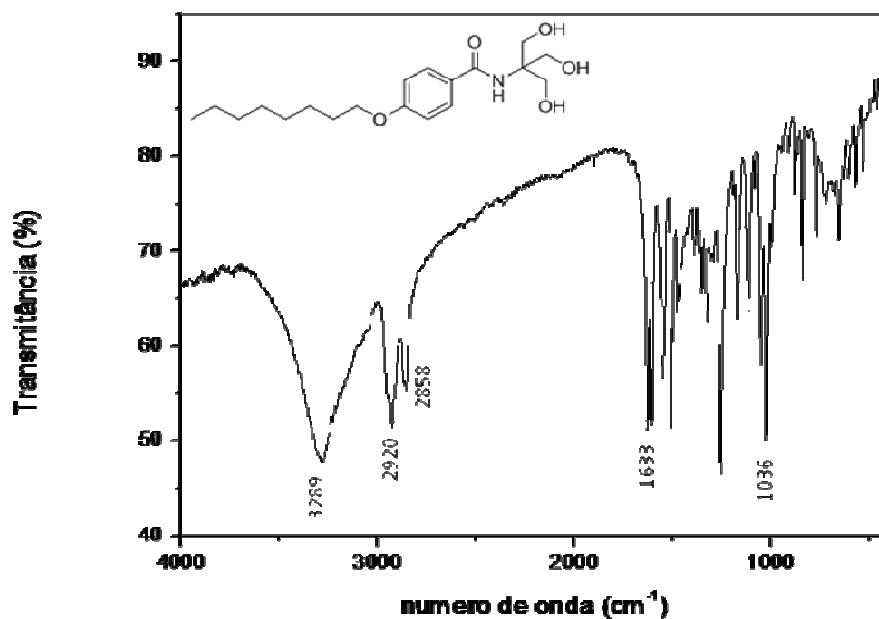


Figura 19. Espectro de IV do composto **32c** (KBr).

Podemos observar no espectro de RMN de ¹H de **32c** (figura 20) um simpleto em δ3,84 referente aos seis hidrogênios metilênicos H-17, H18, H19 do Tris. Este sinal comprova a presença do Tris na estrutura quando comparamos o espectro da amida com o espectro de RMN de ¹H do ácido carboxílico **30c**.

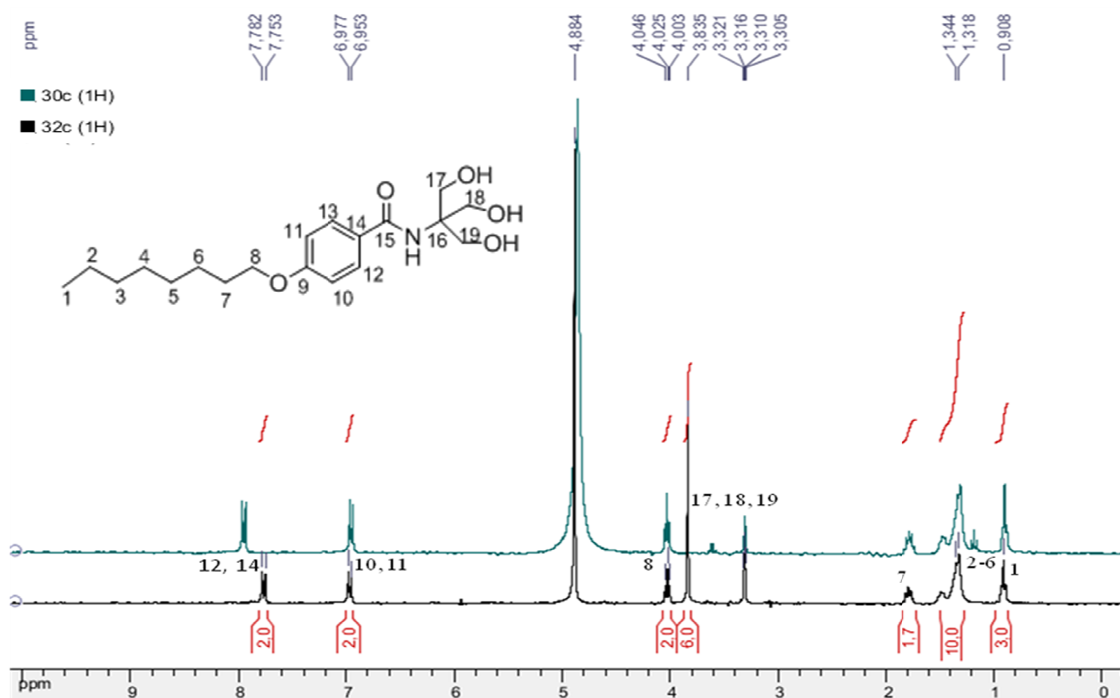


Figura 20. Espectros de RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) dos compostos **30c** e **32c**.

Na comparação dos espectros de RMN de ^{13}C (Figura 21) dos compostos **30c** e **32c**, a síntese da amida é evidenciada através da presença de sinais em δ 62,9 referente ao carbono metilênico C-17, C-18 e C-19 da subunidade aminoálcool e em δ 63,8 referente ao carbono não hidrogenado do Tris C-16. O sinal referente à carbonila encontra-se em δ 170,8.

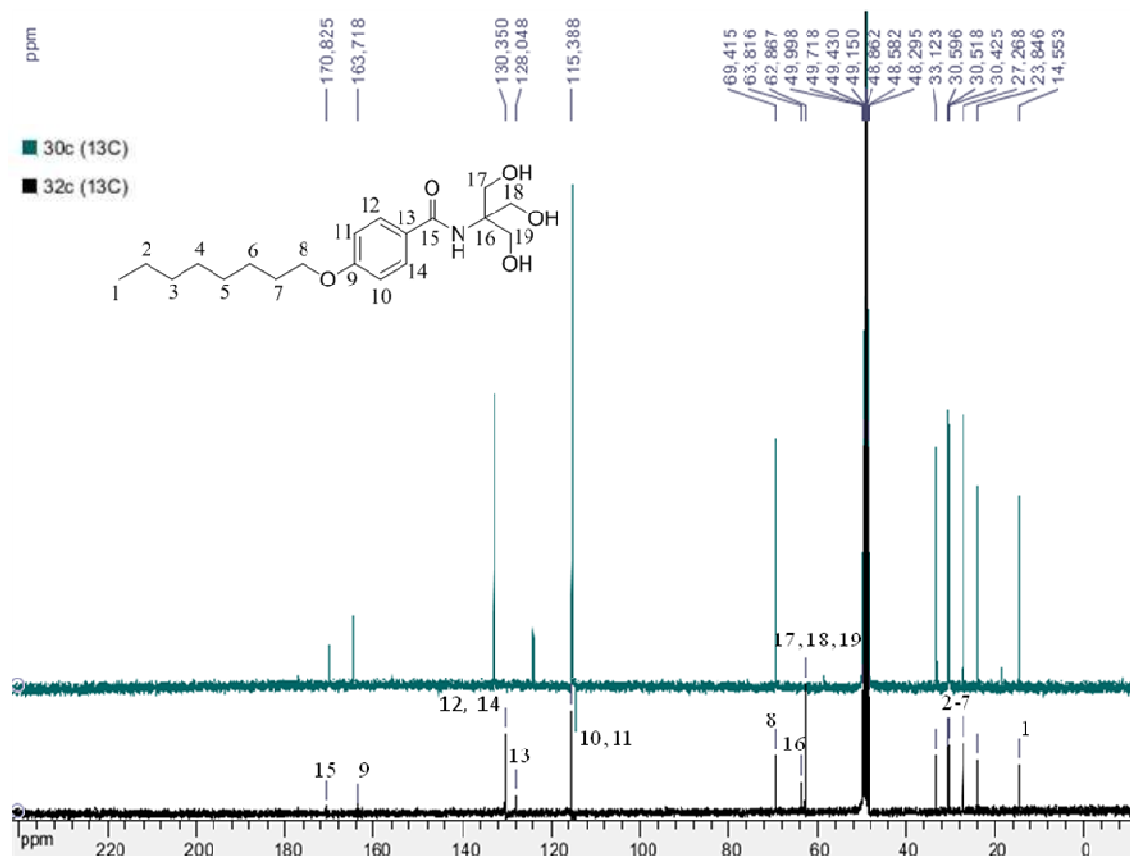


Figura 21. Espectros de RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) dos compostos **32c**.

No espectro de massa de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **32c** (figura 22) foram observados dois picos, o primeiro foi atribuído ao pico base (maior intensidade) para a molécula desprotonada $[\text{M} - \text{H}]^-$ com $m/z = 352,2141$, em acordo com o valor calculado $m/z = 352,2124$; o segundo pico foi atribuído ao pico íon molecular com m/z de 353,2142.

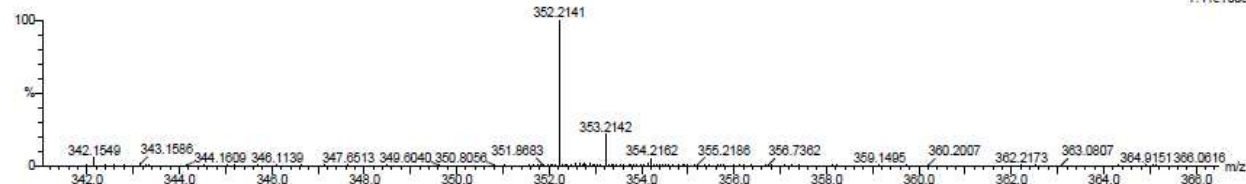
Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0
 Element prediction: Off
 Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
 85 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)
 Elements Used:
 C: 0-100 H: 0-110 N: 1-5 O: 2-5
 DE-ASSIS
 DO_ja-anv24 23 (0.618) Cm (21:28)

MeOH

13-Jul-2012 16:18:34
 2: TOF MS ES-
 7.41e+003

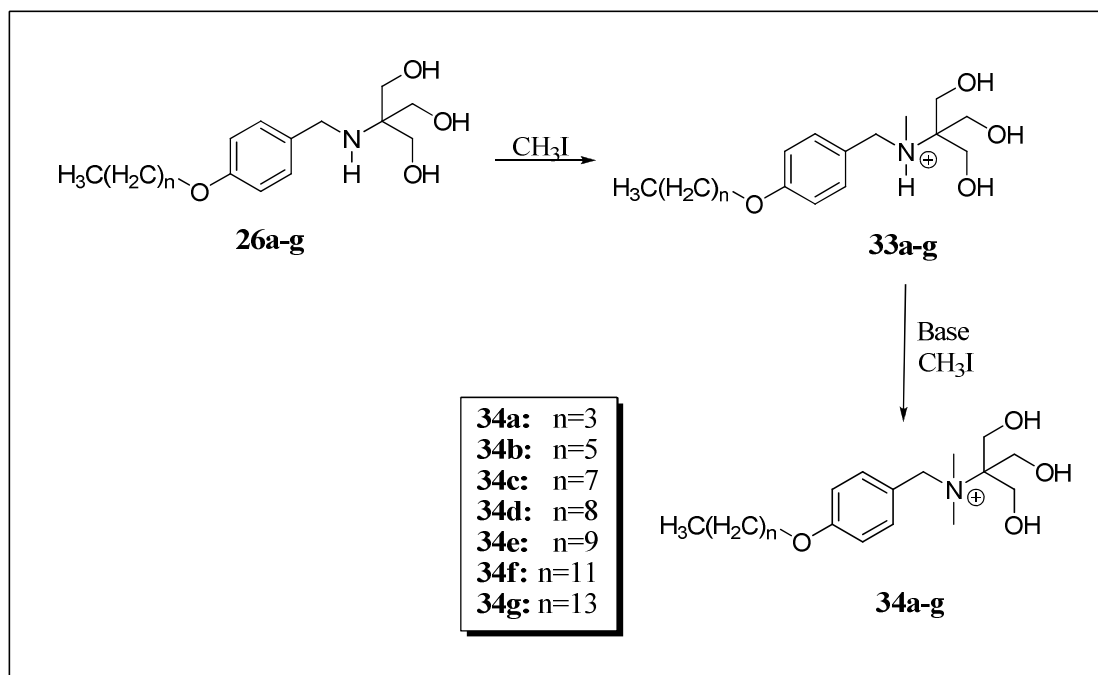


Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
352.2141	352.2124	1.7	4.8	5.5	866.5	0.0	C19 H30 N O5

Figura 22. Espectro de massas (HRMS-ESI) da amida **32c**.

3.4. Metilação das aminas 26a-g

Esperava-se que o tratamento das aminas **26a-g**, na forma de aminas livres, com iodeto de metila levaria a obtenção dos sais quaternários **34a-g** (esquema 25).



Esquema 25. Plano de síntese de metilação das aminas **34a-g**.

A amina **26g** foi dissolvida em THF e tratada com uma quantidade estequiométrica de iodeto de metila à temperatura ambiente por 24 h. Entretanto não foram observadas alterações no meio reacional por cromatografia em camada delgada. Optou-se em aumentar a proporção de iodeto de metila na reação e manter as demais condições empregadas (GUIJARRO *et al.*, 2004), mas novamente não ocorreu a metilação do nitrogênio. As seis condições reacionais testadas estão detalhadas na tabela 3, variando a estequiometria, o solvente e usando K_2CO_3 .

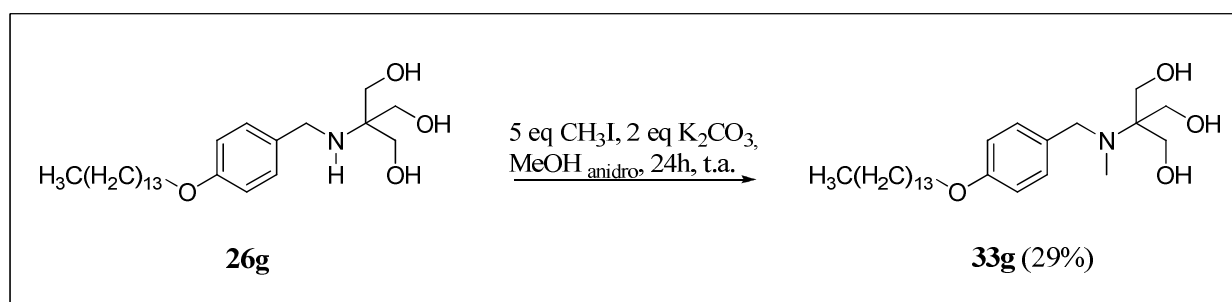
A reação ocorreu em metanol usando 5 equivalentes de iodeto de metila e em presença de dois equivalentes de K_2CO_3 (ZHURAVLEV *et al.*, 2010; KANG *et al.*, 2004; MITRA *et al.*, 2005). Após 24h o meio reacional foi concentrado e realizou-se coluna cromatográfica (eluente: diclorometano e metanol) a fim de isolar o composto sintetizado, que se apresentou como um óleo amarelo.

Tabela 3. Condições reacionais empregadas nas tentativas de síntese dos sais quaternários.

Entrada	MeI (eq)	Solvente	Base	Temperatura, °C	Tempo reacional, h
1	1,0	THF	-	t.a.	24
2	5,0	THF	-	t.a.	24
3	5,0	THF	K ₂ CO ₃ (2.0)	t.a.	24
4	2,0	acetonitrila	K ₂ CO ₃ (2.0)	t.a.	24
5 ^a	10,0	-	-	t.a.	24
6	5,0	Metanol anidro	K ₂ CO ₃ (2.0)	t.a.	24

^a GALLETTI *et al.*, 2009

A análise dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C (figuras 23 e 24) mostra que apenas um grupo metila foi introduzido à estrutura, apesar do excesso de agente alquilante usado na reação (esquema 26).

**Esquema 26.** Tentativa de obtenção dos sais quaternários.

A estrutura do composto **33g** foi confirmada através do aparecimento de um simpleto no espectro de RMN de ¹H em δ 2,55 referente à metila ligada ao nitrogênio. A integração de três hidrogênios desse sinal indica que apenas uma metila foi introduzida à estrutura do material de partida **26g** (figura 23).

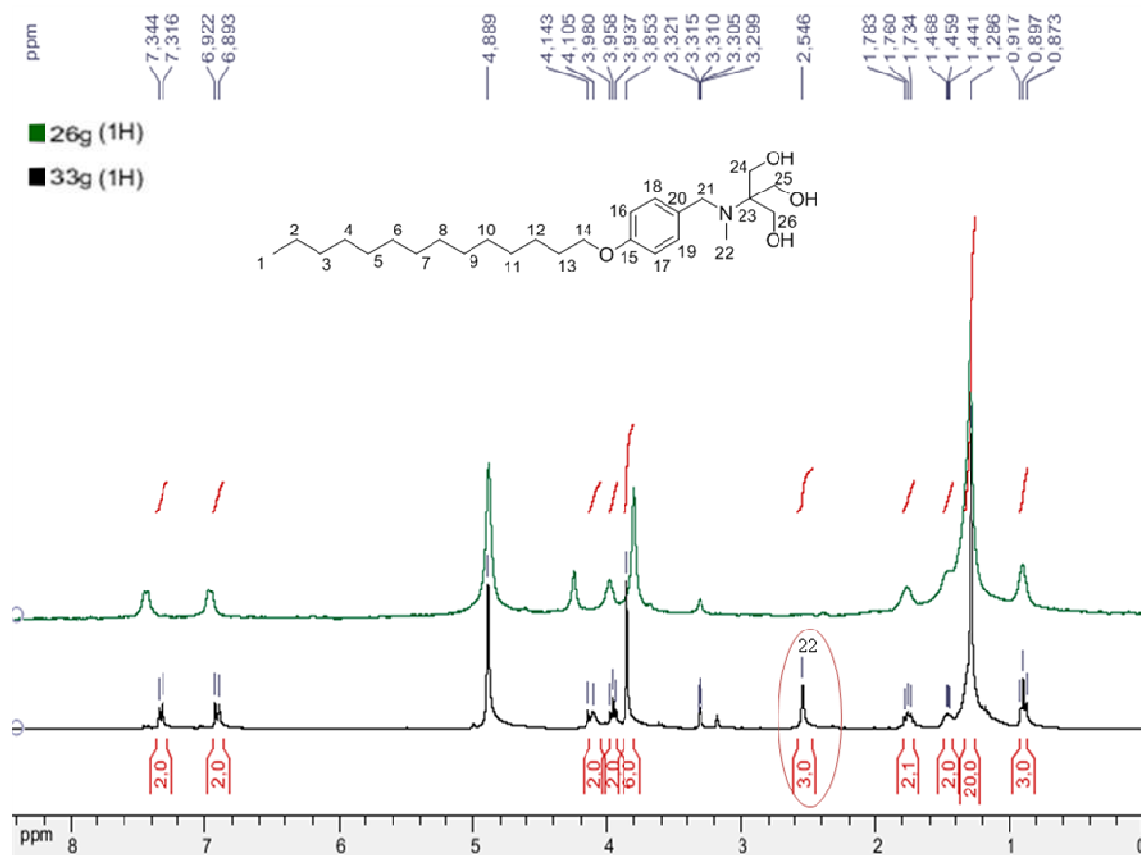


Figura 23. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) dos compostos **26g** e **33g**.

Através do espectro de RMN de ^{13}C deste composto, verifica-se a presença de sinal em δ 35,8 referente a metila introduzida na estrutura (figura 24).

Devido ao baixo rendimento obtido e por apenas uma metila ter sido incorporada à amina inicial **26g**, os demais compostos da série não foram sintetizados. Entretanto, ainda estão sendo feitas tentativas com intuito de aperfeiçoar esta reação.

Através da análise comparativa dos espectros de RMN de ^1H dos compostos **36d** e **30d** podemos verificar o êxito da reação. Como era de se esperar, o tripleto referente aos hidrogênios metilênicos da cadeia alquila ligados diretamente ao nitrogênio apresenta-se mais blindado ($\delta = 3,10$). Enquanto o tripleto ligado diretamente ao oxigênio no composto **30d** encontra-se mais desblindado. Isto se deve à maior eletronegatividade do oxigênio, pois diminui densidade eletrônica ao redor desses prótons. Assim, quanto maior a eletronegatividade do substituinte, maior é o deslocamento químico desses prótons (figura 25).

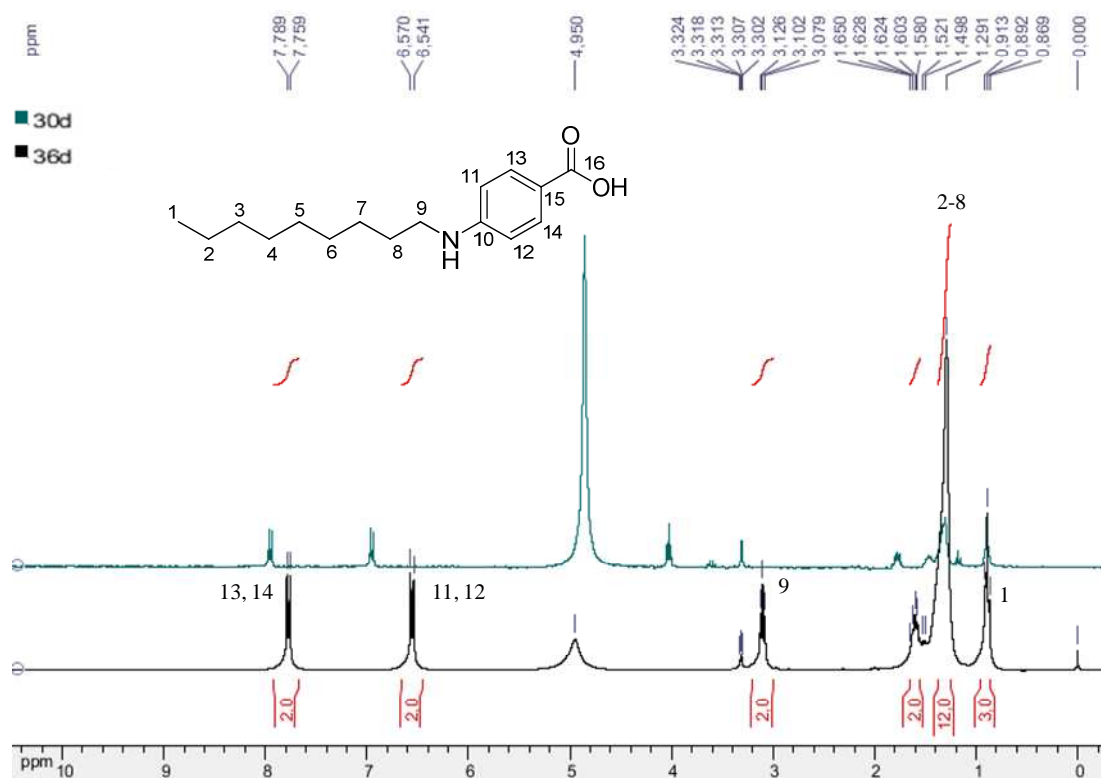


Figura 25. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) dos compostos **30d** e **36d**.

A mesma tendência foi observada através da comparação entre os espectros de RMN de ^{13}C (figura 26) destes compostos. O átomo de carbono nove, ligado ao nitrogênio do composto **36d**, apresenta-se mais blindado ($\delta 44,2$). Já o carbono ligado ao oxigênio no espectro de **30d** encontra-se em $\delta 69,4$. Através desta análise, podemos evidenciar o êxito da reação de alquilação para o ácido *p*-aminobenzóico.

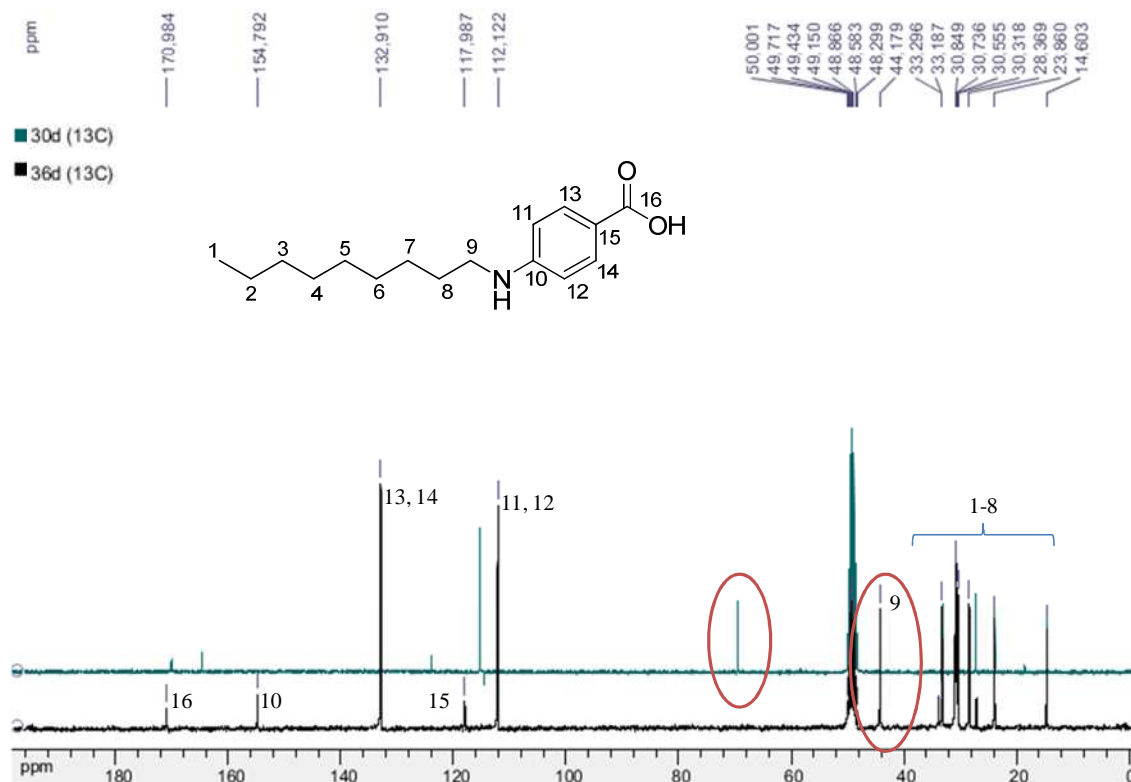
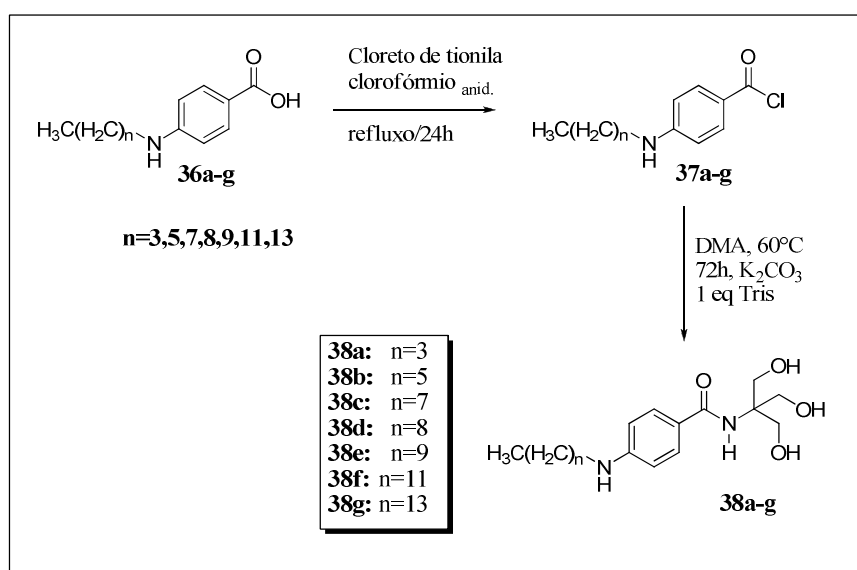


Figura 26. Comparação entre os espectros de RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) dos compostos **30d** e **36d**.

A etapa posterior consistiu da transformação do grupo carboxila em cloreto de ácido para utilização deste na síntese das amidas (esquema 28).



Esquema 28. Tentativa de síntese das amidas **38a-g**, derivadas do ácido *p*-aminobenzóico **35**.

O procedimento experimental empregado foi o mesmo utilizado para a síntese das amidas **32a-g** derivadas do ácido *p*-hidroxibenzoico **27**, com a exceção do procedimento de síntese dos cloretos de ácido que empregou cloreto de tionila em clorofórmio anidro sob refluxo, devido à indisponibilidade do cloreto de oxalila no momento da síntese. Entretanto, não houve formação das amidas almejadas. Após 72h de reação, observou-se apenas a presença do ácido alquilado **36d** por cromatografia em camada delgada.

4. Avaliação Antibacteriana

Os testes antibacterianos foram realizados no Instituto de Ciências Biológicas da UFJF no laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana com a supervisão do Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz.

Foram utilizadas as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) (Gram-positivas); *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) (Gram-negativas) para realização dos testes antibacterianos.

Os estafilococos são amplamente encontrados na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosa. O gênero *Staphylococcus* é composto por 27 espécies, sendo algumas delas causadoras de infecção de caráter oportunista em seres humanos e animais, como *S. aureus* e *S. epidermidis* (TRABULSI *et al.*, 1999).

O *Staphylococcus aureus* (figura 27) é a espécie que geralmente está envolvida em infecções piogênicas humanas, cuja gravidade vai de simples infecções, como espinhas, furúnculos, impetigo, até doenças mais graves como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia, dentre outras (SANTOS *et al.*, 2007).

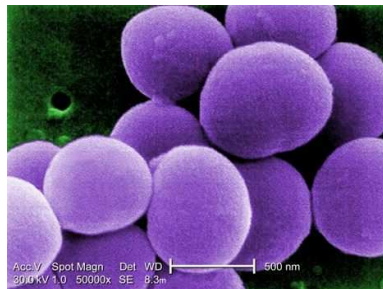


Figura 27. *S. aureus* (<http://eol.org/pages/2486313/overview> acessado em 13/01/13)

O *Staphylococcus epidermidis* (figura 28) é a segunda espécie mais importante do gênero *Staphylococcus*. Faz parte da flora normal da pele e da mucosa dos seres humanos e animais superiores. Apesar de ser bem menos virulenta que *S. aureus*, isto não significa que não podem ser patogênicas. Pode causar septicemia, endocardite, peritonite, ventriculite e infecções em locais com prótese (TRABULSI *et al.*, 1999).



Figura 28. *S. epidermidis* (<http://staphylococcusepidermidis.org/> e <http://www.sciencephoto.com/media/12836/view> acessado 01/12/12)

Escherichia coli são bacilos Gram-negativos (figura 29) que fazem parte da microbiota normal do intestino, tornando-se patogênico em localizações extra intestinal ou mesmo intestinais (TRABULSI *et al.*, 1999). Podem causar infecções urinárias, diarreias, intoxicação alimentar, apendicite, peritonite, dentre outras.

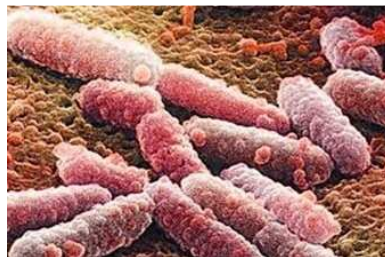


Figura 29. *E. coli* (<http://www.ensp.fiocruz.br/portal-ensp/informe/site/materia/detalhe/25967> acessado em 01/12/12).

A *Pseudomonas aeruginosa* (figura 30) habita solo, água e vegetais, podendo ser encontrada também nas fezes, pele e garganta de 3,0 a 5,0% dos indivíduos normais. Em pacientes hospitalizados a colonização poder ser bastante elevada. Esse microorganismo causa infecções tipicamente oportunistas, em processos cirúrgicos, queimaduras, pós cateterização urinária, pneumonias principalmente após procedimentos de entubação (TRABULSI *et al.*, 1999).

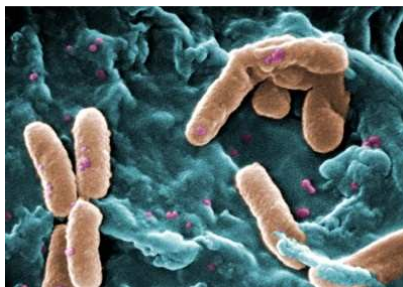


Figura 30. *Pseudomonas aeruginosa* (<http://cienciahoje.uol.com.br/noticias/2011/05/nem- tao-pura-assim> acessado em 01/12/12)

4.1. Método de difusão em Agar

O método de difusão em Agar foi usado como uma forma de pré selecionar compostos com potencial atividade antibacteriana. Neste experimento, as células bacterianas foram cultivadas em Tryptic Soy Agar (TSA), incubadas por 24h a 37°C sob condições aeróbicas (ALVIANO *et al*, 2008). Os inóculos foram ajustados em salinas estéreis (0,85% NaCl), a partir de uma escala de turbidez 0,5 McFarland (1.5×10^8 CFU/mL) e 1,0 mL foi espalhado sob a superfície de uma placa de Petri contendo meio TSA. Após 10 minutos foram confeccionados poços de 5,0 mm no Agar e adicionou-se 50,0 μ L da solução do composto testado na concentração de 5,0 mg/mL. As placas foram incubadas por 24h a 37°C sob condições aeróbicas e, por fim, foram feitas as medidas dos halos de inibição formados (figura 31).

Frente aos bons resultados obtidos no método de difusão em Agar (tabela 4), a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada para todos os compostos sintetizados da série das aminas tensoativas (**26a-g**) por diluição em caldo.



Figura 31. Halo de inibição formado no método de difusão em Agar.

Tabela 4. Dados experimentais do halo de inibição antibacteriano das aminas (medida do diâmetro, mm).

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
26a (n=3)	15,0	0,0	12,0	0,0
26b (n=5)	24,0	20,0	20,0	18,0
26c (n=7)	24,0	26,0	20,0	10,0
26d (n=8)	28,0	24,0	16,0	10,0
26e (n=9)	20,0	22,0	15,0	0,0
26f (n=11)	24,0	15,0	0,0	15,0
26g (n=13)	20,0	12,0	0,0	10,0
Etanol	0,0	0,0	0,0	0,0
Cloranfenicol	42,0	48,0	50,0	24,0

4.2. Método de diluição em caldo

A atividade antibacteriana dos compostos **26a-g** foi investigada *in vitro* usando o método de diluição em caldo (ALVIANO, 2008) contra as mesmas bactérias usadas para o método de difusão em Agar. Os inóculos para cada teste foram previamente cultivados em Tryptic Soy Agar (TSA) e incubados por 24h a 37°C sob condições aeróbicas. Utilizou-se soluções salinas estéreis 0,85% NaCl ajustadas através da turbidez da escala 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). As soluções dos compostos em estudo foram preparadas solubilizando-se 10,0 mg de composto em 1,0 mL de etanol. Fez-se diluições com Mueller Hinton Broth para obter as concentrações de 0,0625 a 1024,0 µg/mL, em um volume final de 3,0 mL. Em cada tubo foi inoculado 100,0 µL da cultura bacteriana e o experimento foi incubado a 37°C por 24h.

A CIM foi determinada como a menor concentração do composto testado que resulta em total inibição do crescimento bacteriano (tabela 5). O controle do experimento foi realizado usando-se somente solução de salina estérea inoculada em meio Mueller Hinton e o cloranfenicol foi usado como agente antimicrobiano para controle positivo de inibição do crescimento.

Tabela 5. Concentração Inibitória Mínima (CIM) das aminas **26a-g**.

	CIM ($\mu\text{g/mL}$)							cloranfenicol
	26a	26b	26c	26d	26e	26f	26g	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	1024,0	128,0	8,0	8,0	8,0	8,0	2,0	16,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	512,0	128,0	16,0	8,0	4,0	8,0	2,0	32,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	1024,0	256,0	32,0	16,0	32,0	>256,0	>256,0	16,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	512,0	512,0	>256,0	>256,0	16,0	>256,0	>256,0	32,0

Cloranfenicol (*S. aureus*: 2,0-16,0 $\mu\text{g/mL}$; Dados CLSI- Clinical and Laboratory Standards Institute)

Os compostos com cadeia maior que oito átomos de carbonos precipitaram em solução no meio de cultura em concentrações superiores a 256,0 $\mu\text{g/mL}$. Isto inviabilizou a leitura do CIM, uma vez que é feita de forma visual observando a turbidez dos tubos de ensaio contendo o experimento.

Analisando a tabela 5 podemos perceber um aumento da atividade antibacteriana dos compostos frente às bactérias Gram-positivas quando temos um aumento da cadeia lipofílica da estrutura. O melhor resultado foi para o composto **26g** em relação às bactérias *S. aureus* e *S. epidermidis*, com CIM de 2,0 $\mu\text{g/mL}$. Para as mesmas, o pior resultado foi para o composto **26a**, cuja cadeia carbônica apresenta apenas quatro átomos de carbono.

Para as bactérias Gram-negativas os melhores resultados foram para o composto **26d** frente a bactéria *E. coli* e **26e** frente a *P. aeruginosa*. A presença de cadeia lipofílica com mais de dez carbonos não contribuiu de forma efetiva para atividade.

O composto **26a** não apresentou problemas de precipitação por apresentar cadeia lipofílica menor, entretanto apresentou uma CIM elevada para *E. coli* e *P. aeruginosa*, de 256,0 e 512,0 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Os compostos **26c-g** mostraram-se tão ativos quanto o cloranfenicol frente às bactérias gram-positivas testadas.

Para a série de amidas não se realizou o teste de difusão em Agar devido à necessidade de mistura de solvente DMSO+Tween na solubilização dos compostos **32a-g**. Esta mistura de solventes (DMSO+Tween) apresenta viscosidade acentuada e pode interferir na difusão do

composto a ser testado, gerando dúvidas com relação à validade dos resultados. Por este motivo, optou-se por realizar diretamente o teste de concentração inibitória mínima para a série das amidas. Entretanto, não obtivemos resultados satisfatórios, uma vez que para todos os compostos o CIM foi superior a 1024,0 µg/mL.

Estes resultados sugerem que a presença da amida atua de maneira desfavorável na manifestação da atividade biológica devida ressonância do par eletrônico do nitrogênio com a carbonila e a possibilidade de formação de ligação de hidrogênio intramolecular.

4.3. Testes antibacterianos frente a bactérias *S. aureus* meticilino resistente (MRSA)

Os cocos Gram-positivos, principalmente o *S. aureus*, e os bastonetes de Gram-negativos são as bactérias mais comuns isoladas de pacientes hospitalizados com infecção da pele e dos tecidos moles (cSSTIs) (WEIGELT *et al.*, 2005). Estes tipos de infecções bacterianas estão entre as mais comuns em humanos, sendo as principais causas de introdução a terapias bacterianas (VINH e EMBIL, 2005).

Após a introdução da meticilina e outras penicilinas semi-sintéticas (oxacilina, nafcilina, cloxacilina) surgiram cepas resistentes chamadas *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* – (MRSA). A propagação global de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina indica que se trata agora de um patógeno de interesse para a saúde pública mundial. Assim, para graves infecções causadas por *S. aureus* meticilino resistente, as alternativas terapêuticas são os glicopeptídeos (vancomicina, teicoplanina) (TRABULSI *et al.*, 1999; CHOPRA, 2003; ANWAR e BOKHARI, 2003).

Como foram obtidos resultados satisfatórios em testes contra *S. aureus*, realizou-se testes antibacterianos frente a amostras clínicas de *S. aureus* meticilino resistente (MRSA), isoladas de pacientes do Hospital Universitário (HU) de Juiz de Fora entre os anos de 2009 e 2010.

Os testes foram realizados utilizando a mesma metodologia utilizada na determinação do CIM para as ATCC's, ou seja, através do método de diluição em caldo.

Os valores obtidos para a CIM dos compostos testados e para os controles positivos empregados estão detalhadas na tabela 6. Por apresentarem baixa atividade contra a amostra de referência de *S. aureus*, os compostos **26a** e **26b** não foram testados contra MRSA.

Tabela 6. Atividade inibitória dos compostos **26c-g**.

	CIM ($\mu\text{g/mL}$)							Cloranfenicol	Vancomicina
	26a	26b	26c	26d	26e	26f	26g		
<i>Amostras clínicas isoladas - MRSA</i>									
176	-	-	32,0	8,0	8,0	8,0	16,0	64,0	1,0
178	-	-	128,0	16,0	8,0	8,0	8,0	4,0	1,0
195	-	-	32,0	8,0	8,0	8,0	16,0	4,0	0,5
205	-	-	16,0	8,0	8,0	8,0	16,0	8,0	1,0
207	-	-	64,0	16,0	8,0	4,0	>1024,0	4,0	1,0
212	-	-	32,0	32,0	8,0	8,0	>1024,0	8,0	1,0
215	-	-	16,0	16,0	4,0	8,0	>1024,0	64,0	1,0
218	-	-	16,0	8,0	4,0	4,0	8,0	64,0	0,5
225	-	-	128,0	8,0	8,0	8,0	>1024,0	8,0	1,0
227	-	-	32,0	16,0	4,0	4,0	>1024,0	64,0	1,0
231	-	-	16,0	8,0	8,0	4,0	2,0	64,0	1,0
232	-	-	16,0	16,0	16,0	8,0	8,0	64,0	1,0
235	-	-	16,0	8,0	4,0	4,0	4,0	64,0	1,0
236	-	-	16,0	8,0	4,0	4,0	8,0	64,0	1,0
237	-	-	16,0	16,0	16,0	4,0	4,0	32,0	1,0
238	-	-	16,0	32,0	8,0	4,0	4,0	32,0	1,0
255	-	-	8,0	16,0	4,0	4,0	8,0	4,0	0,5
257	-	-	8,0	8,0	4,0	16,0	2,0	8,0	1,0
259	-	-	8,0	8,0	4,0	4,0	2,0	128,0	0,5
260	-	-	16,0	16,0	8,0	4,0	2,0	4,0	0,5
264	-	-	8,0	8,0	2,0	4,0	16,0	8,0	0,5

Os potenciais inibitórios, CIM₅₀ e CIM₉₀, que correspondem a 50% e 90% de inibição (tabela 7), foram determinados contra as 21 amostras clínicas de MRSA para os aminoálcoois lipofílicos **26c-g**. Os resultados, mostrados nas tabelas 6 e 7, mostram que os compostos **26c-f** foram ativos contra todas as amostras de MRSA isoladas (CIM = 2,0 - 128,0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Os

compostos **26e** and **26f** mostraram atividade antibacteriana *in vitro* mais potente, com $CIM_{90} = 8,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para ambos, superior ao resultado obtido frente ao cloranfenicol. Os resultados obtidos para a CIM dos compostos testados são superiores aos obtidos para a vancomicina que apresentou CIM variando de 0,5 e $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Tabela 7. Atividade inibitória dos compostos **26c-g** contra MRSA, expressados como CIM_{50} e CIM_{90} ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

	26c	26d	26e	26f	26g	Cloranfenicol*	Vancomicina*
CIM_{50}	16,0	8,0	8,0	4,0	8,0	16,0	1,0
CIM_{90}	64,0	16,0	8,0	8,0	>1024,0	32,0	1,0
<i>Varição de concentração</i>	8,0-128,0	8,0-32,0	2,0-16,0	4,0-16,0	2,0->1024,0	8,0-128,0	0,5-1,0

*Sensibilidade: Cloranfenicol: 43.7%; Vancomicina: 100%

*Resistência: Cloranfenicol: 56.3%; Vancomicina: 0

4.4. Correlação entre lipofilicidade e atividade antibacteriana

A lipofilicidade de uma substância química, definida por seu coeficiente de partição entre 1-octanol e água, é um importante parâmetro físico-químico que reflete a habilidade do composto a penetrar em membranas biológicas. Esse coeficiente, expressado como logP tem grande influência na biodisponibilidade do fármaco, e é frequentemente correlacionado a atividade biológica (WATERBEEMD & TESTA, 1987).

Na tentativa de estabelecer uma correlação entre atividade antibacteriana e lipofilicidade, os valores de CIM dos compostos **26a-g**, expressos em $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ foram primeiramente transformados em pCIM e o logP foi calculado usando Chemdraw Ultra (CambridgeSoft) (tabela 8). Os dados obtidos foram submetidos a análise de regressão linear usando o programa Graphpad Prism (figura 32). Uma alta colinearidade ($r^2 > 0,9$) foi observada entre os parâmetros para três ATCC's e para todas as amostras de MRSA, indicando que a atividade antibacteriana está relacionada à lipofilicidade para essa série de compostos.

Através da regressão linear obtiveram-se as seguintes funções:

$$S. aureus: \text{pCIM} = 0,6575 \log\text{P} + 2,109$$

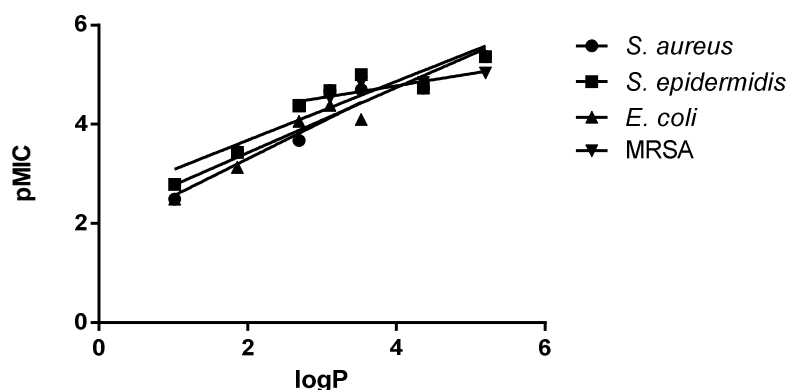
$$S. epidermides: \text{pCIM} = 0,5945 \log\text{P} + 2,488$$

$$E. coli: \text{pCIM} = 0,7480 \log\text{P} + 1,805$$

$$\text{MRSA: pCIM} = 0,2413 \log\text{P} + 3,812$$

Tabela 8. Correlação entre pCIM (CIM expresso em mmol.L⁻¹) e logP.

	pCIM							Coeficiente de correlação de Pearson (r ²)
	20a	20b	20c	20d	20e	20f	20g	
logP	1,02	1,86	2,69	3,11	3,53	4,36	5,2	
<i>S.aureus</i>	2,49	3,45	3,67	4,68	4,70	4,73	5,36	0,90
<i>S.epidermidis</i>	2,79	3,43	4,37	4,68	5,00	4,73	5,36	0,86
<i>E. coli</i>	2,49	3,13	4,06	4,38	4,1	ND	ND	0,90
MRSA	-	-	4,287 ± 0,149	4,529 ± 0,156	4,842 ± 0,278	4,842 ± 0,278	5,030 ± 0,315	0,84

**Figura 32.** Regressão linear pCIM x logP para as bactérias.

4.5. Determinação da concentração bactericida mínima

Após a determinação da CIM, uma alíquota de cada tubo foi transferida para placas de Petri contendo meio sólido TSA, sendo incubadas a 35±2°C por 24h para posterior verificação de presença ou ausência de crescimento bacteriano. A concentração bactericida mínima foi determinada como a menor concentração do composto capaz de matar totalmente a população bacteriana. Quando há crescimento bacteriano nas placas, mesmo em concentrações mais elevadas que a CIM, o composto poderia ser classificado como bacteriostático: ele inibe o crescimento bacteriano, ou seja, não ocorre morte das células bacterianas (PIZSOLITTO e POZETTI, 1987).

Analisando a tabela 9 verifica-se que os compostos **26c-g** não exibiram atividade bactericida contra *P. aeruginosa*. Os compostos **26c-e** foram bactericidas contra *E. coli*, nas mesmas concentrações encontradas para o CIM (**26c** e **26e**) ou duas vezes o CIM (**26d**). O composto **26c**, com menor lipofilicidade, mostrou atividade bactericida contra 14 estirpes de MRSA, com valores que variam de 8,0 a 512,0 µg.mL⁻¹. As concentrações bactericidas mínimas

obtidas para os compostos **26e** e **26f** contra as cepas Gram-positivas foram comparáveis aos valores de CIM obtidos ($8,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Esses dois aminoálcoois também exibiram atividade bactericida contra 13 dos 21 isolados de MRSA, em um intervalo de concentração de 2,0 a $128,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e 4,0 a $128,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Apesar de **26d** não ser o composto mais ativo, este mostrou efeito bactericida contra 19 das 21 estirpes de MRSA, em uma concentração de duas vezes o CIM ($16,0 - 32,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

Tabela 9. Concentração bactericida mínima para os compostos **26c-g**.

	Concentração bactericida mínima ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)					
	26c	26d	26e	26f	26g	Cloranfenicol
Cepas de referência						
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	32,0	16,0	8,0	8,0	16,0	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	128,0	16,0	8,0	8,0	512,0	128,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	32,0	32,0	32,0	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-
<i>Amostras clínicas isoladas - MRSA</i>						
176	-	32,0	-	128,0	-	-
178	-	32,0	128,0	-	-	-
195	-	32,0	-	-	-	-
205	-	-	-	-	-	-
207	-	64,0	-	-	-	-
212	128,0	64,0	128,0	128,0	-	128,0
215	-	32,0	-	-	-	-
218	128,0	-	-	-	-	128,0
225	512,0	16,0	-	-	-	512,0
227	-	64,0	-	-	-	-
231	16,0	32,0	8,0	4,0	4,0	16,0
232	16,0	32,0	32,0	16,0	8,0	16,0
235	32,0	32,0	4,0	32,0	8,0	32,0
236	32,0	16,0	4,0	8,0	8,0	32,0
237	16,0	32,0	16,0	4,0	4,0	16,0
238	16,0	32,0	8,0	4,0	4,0	16,0
255	8,0	32,0	8,0	16,0	16,0	8,0
257	8,0	64,0	8,0	16,0	8,0	8,0
259	8,0	32,0	4,0	16,0	2,0	8,0
260	32,0	32,0	16,0	4,0	8,0	32,0
264	64,0	32,0	2,0	8,0	64,0	64,0

5 Avaliação Antifúngica

Os fungos são seres eucarióticos, com núcleo definido por uma membrana nuclear. A membrana celular contém lipídeos, glicoproteínas e esteróis. Além disso, as células de fungos apresentam parede celular, mitocôndrias, ribossomos ligados ao retículo endoplasmático e um citoesqueleto constituído por microtúbulos, microfilamentos e filamentos intermediários. Podemos observar que esses microrganismos possuem células tão semelhantes às hospedeiras que é difícil elaborar estratégias terapêuticas específicas dirigidas contra o parasita e atóxica para o hospedeiro (SCHAECHTER *et al.*, 2002).

Espécies de *Candida* têm sido relacionadas às infecções micóticas superficiais e sistêmicas. Podem ser isoladas de até 60% da cavidade oral de adultos, estando *Candida albicans* (figura 33) e *Candida tropicalis* as mais prevalentes (MARSH e MARTIN, 2005).

Atualmente, o tratamento de doenças causadas por fungos, caracterizados como superficiais, pode ser realizado através do uso de agentes poliênicos (anfotericina B, nistatina) e azólicos (itraconazol, fluconazol, cetoconazol, dentre outros) (WINGETER *et al.*, 2007). O uso de antifúngicos pode apresentar limitações, como o aumento da resistência pelos microorganismos e reações indesejadas apresentadas pelos pacientes. Neste contexto, torna-se de extrema importância o estudo de novos agentes antifúngicos que possam ser usados no tratamento dessas doenças (BANSOD e RAI, 2008).



Figura 33. *Candida albicans* (<http://www.saudemedicina.com/candidiase/> acessado em 02/12/12)

Para realização dos testes antifúngicos *in vitro* é possível utilizar diferentes métodos padronizados como, por exemplo, a macrodiluição em caldo, a microdiluição em caldo (figura 34) e o método de difusão em disco. Em nossos estudos optou-se pelo método de microdiluição

em caldo por apresentar maior facilidade de execução, permitir a análise de um amplo número de amostras e economicamente é mais viável (COLOMBO e ALVES, 2002).

A atividade antifúngica dos compostos **26a-g** foi testada contra quatro espécies de *Candida* (*C. albicans* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. glabrata* ATCC 18804, *C. parapsilosis* ATCC 90030). Os valores de CIM estão representados na tabela 10 e o itraconazol foi usado como controle positivo.

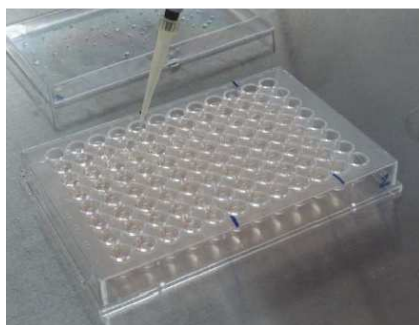


Figura 34. Placa de 96 poços, utilizada na metodologia de microdiluição em caldo.

Tabela 10. Resultados da avaliação antifúngica dos compostos **26a-g**.

	CIM ($\mu\text{g/mL}$)							itraconazol
	26a	26b	26c	26d	26e	26f	26g	
<i>Candida albicans</i> ATCC 22019	nt	Nt	4,0	4,0	4,0	4,0	16,0	nt
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	>512,0	>512,0	32,0	64,0	8,0	8,0	32,0	>512,0
<i>Candida glabrata</i> ATCC 18804	512,0	256,0	8,0	4,0	2,0	2,0	8,0	256,0
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 90030	>512,0	>512,0	32,0	32,0	8,0	4,0	8,0	>512,0

NT: não testados

Os compostos **26e** e **26f** foram os mais ativos, com CIM variando de 2,0 a 8,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Podemos observar através da análise dos resultados de avaliação antifúngica que os aminoálcoois com menor lipofilicidade (**26a** e **26b**) foram os compostos menos ativos contra os fungos testados. Embora uma correlação moderada ($0,79 < r < 0,99$) possa ser estabelecida entre pCIM e logP para os compostos **26c-26f** (Figura 35), a cadeia carbônica mais longa com 14 átomos de carbono (**26g**) resultou na perda de atividade contra todos os fungos estudados.

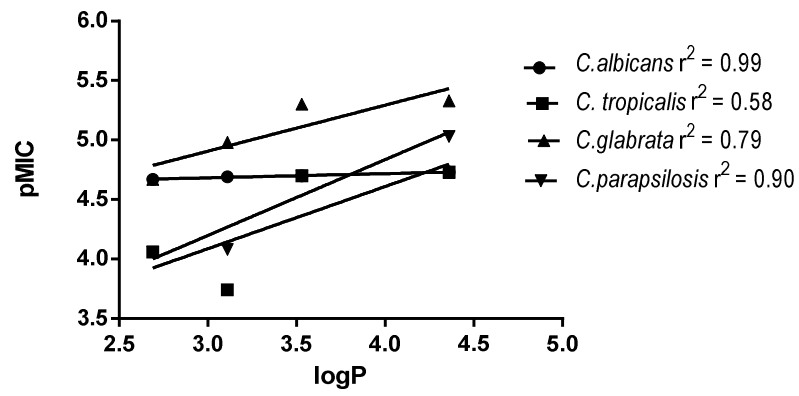


Figura 35. Regressão linear pCIM x logP para as diferentes espécies de *Candida*.

6 Ensaio de Viabilidade Celular e Produção de NO

Ensaio de *in vitro* de viabilidade celular são de extrema importância no desenvolvimento de compostos com potencial atividade biológica visto que fornecem informações relacionadas à biocompatibilidade dessas substâncias (ROGERO *et al.*, 2003).

Estes ensaios foram feitos no Instituto de Imunologia da UFJF, sob supervisão do Prof. Dr. Gilson Costa Macedo.

6.1. Testes de Viabilidade Celular

A determinação da viabilidade e proliferação celular se tornou uma tecnologia essencial nas pesquisas de novos compostos com potencial atividade biológica. Ensaio colorimétricos modernos tem sido otimizados para o uso em microplacas, permitindo que muitas amostras sejam analisadas rapidamente e simultaneamente (WEYERMANN *et al.*, 2005).

O estudo de viabilidade celular *in vitro* dos compostos **26c-g** foi realizado através do método colorimétrico de MTT (brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio) após cultivo das células de macrófagos J774 por 48 horas. Esse ensaio é um teste sensível, quantitativo e de confiança, além de ser rápido e apresentar baixo custo. Consiste no ensaio de proliferação celular que quantifica a habilidade das células viáveis reduzirem o sal amarelo de MTT em cristais púrpuros de formazan (Figura 36A), usando uma enzima mitocondrial, a succinato desidrogenase. A leitura é feita em um espectrofotômetro leitor de Elisa (Figura 36B), onde a absorbância é determinada a 570 nm.

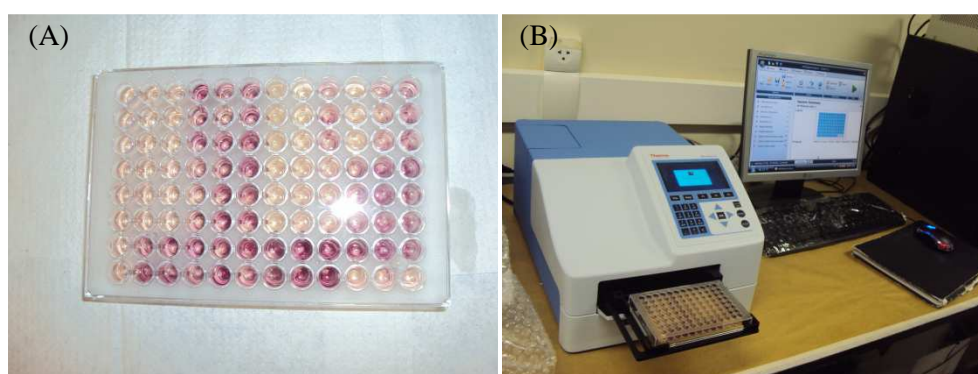


Figura 36. (A) Avaliação da viabilidade celular pelo método do MTT; (B) Aparelho de microplacas com placa de cultura para leitura das absorbâncias após realização do teste do MTT.

Foram considerados como satisfatórios os resultados que mantiveram a viabilidade celular acima de 70,0% (ALMEIDA, 2010). A tabela 11 e a figura 37 apresentam os resultados obtidos para os compostos **26c-g**.

Os compostos **26c-e** não foram citotóxicos em concentrações inferiores a 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O composto **26g** foi atóxico nas concentrações abaixo de 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (viabilidade celular de 82% nesta concentração). O composto **26f** apresentou viabilidade celular abaixo do limite proposto para todas as concentrações testadas.

Ao contrário do esperado observa-se para os compostos **26c** e **26d** uma diminuição da viabilidade celular com a diminuição da concentração testada (de 10,0 para 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Não podemos excluir a possibilidade da existência de algum erro no preparo de soluções, manipulação das microplacas durante o experimento e até mesmo algum erro com o equipamento. Porém, esta possibilidade é mínima uma vez que o experimento foi realizado três vezes e em triplicata. Apesar destas discrepâncias, as viabilidades determinadas para estes compostos permaneceram acima do limite estabelecido. Mais estudos tornam-se necessários para esclarecer esta questão.

Tabela 11. Resultados de viabilidade celular obtidos através do ensaio de MTT para os compostos **26a-g**.

	Viabilidade Celular (%)				
	26c	26d	26e	26f	26g
100,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	3,5	2,2	3,1	4,1	0,0
50,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	5,5	45,8	13,2	5,2	0,0
10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	98,6	97,8	77,2	50,1	17,4
1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	76,2	71,6	80,6	55,6	82,6
0,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	89,1	76,9	81,1	55,9	100,0

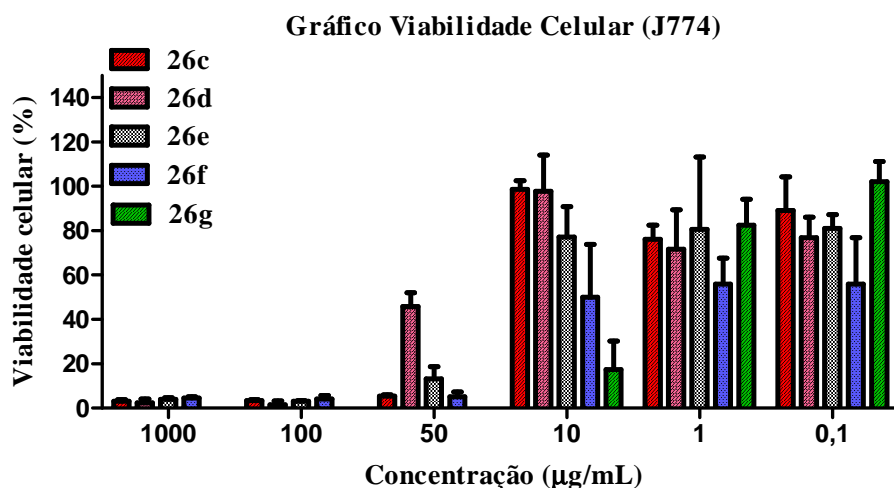


Figura 37. Gráfico de Viabilidade celular obtido para os compostos **26c-g**.

6.2. Avaliação da capacidade inibitória na produção de óxido nítrico

Em nosso organismo, uma grande variedade de células apresenta capacidade de produzir óxido nítrico. Como exemplo pode-se citar células do músculo liso, macrófagos, fibroblastos e células tumorais. Assim, o NO pode mudar bruscamente atividades fisiológicas, funções vasculares, processos inflamatórios e a resposta imunológica (HENDERSON *et al.*, 1999).

A concentração de NO foi mensurada através do método de Griess, que quantifica os nitritos acumulados nos sobrenadantes de culturas celulares, uma vez que o NO apresenta tempo de meia vida muito curto e origina nitritos em solução aquosa.

Devido a similaridades estruturais dos compostos sintetizados e o composto FTY720 {2-amino-2-[2-(4-octilfenil)etil]-1,3-propanodiol}, esse método foi utilizado para determinar a produção de óxido nítrico das células quando tratadas com os compostos **26c-g**. Esses foram testados por este método nas concentrações de 1,0; 10,0 e 25,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e os resultados podem ser analisados através do gráfico mostrado na figura 38.

Todos os compostos mostraram elevada inibição de NO a partir da concentração de 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (tabela 12 e figura 38). É importante lembrar que o composto não pode ser citotóxico na concentração responsável pela ausência de NO porque, se isso ocorrer, essa ausência estará ligada a morte celular e não a inibição causada pelo composto em estudo. Como mostrou o estudo de viabilidade celular, com exceção do **26f** e **26g**, os demais compostos não apresentaram citotoxicidade na concentração de 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Podemos observar que a capacidade de inibição de NO para os compostos **26c-g** é superior a 80% a partir da concentração de 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (tabela 12).

Tabela 12. Resultados da capacidade inibitória de NO (%) obtidos para produção de óxido nítrico por macrófagos J774 estimulados com LPS + Interferon- γ 20 U/mL e tratados com os compostos **26c-g**.

	Capacidade Inibitória (%)				
	26c	26d	26e	26f	26g
1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	6,6	5,2	16,5	0	0
10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	86,2	83,3	86,6	82,7	78,8
25,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	86,6	86,2	86,7	85,4	81,1
Meio + LPS	0	0	0	0	0

Podemos concluir que os compostos **26c**, **26d** e **26e** apresentam um promissor potencial anti-inflamatório, visto que exibem maior viabilidade celular e menor produção de NO na concentração de 10,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Assim, a avaliação da produção de citocinas, intimamente relacionadas ao processo inflamatório, tais como o TNF- α e a IL-1 β , é o passo primordial a ser seguido nas próximas etapas de nossos estudos na área da imunologia.

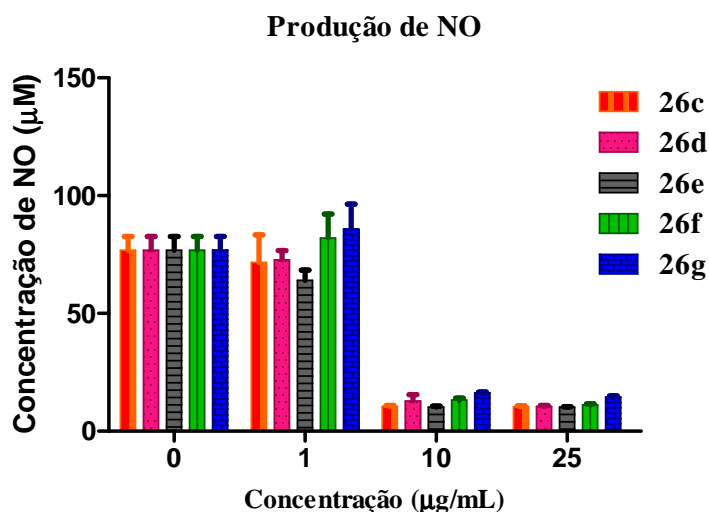


Figura 38. Produção de óxido nítrico por macrófagos J774 estimulados com LPS + Interferon- γ 20 U/mL e tratados com os compostos **26c-g**.

7 Análise *in silico* dos Parâmetros ADMET

Compostos estruturalmente parecidos tendem a apresentar atividades biológicas similares, mas podem apresentar diferentes potências, exibir efeitos colaterais e em alguns casos até mesmo atividades diferentes. As diferenças estruturais relacionadas são referidas como relação estrutura atividade. Estas relações são determinadas fazendo-se pequenas alterações nas estruturas dos protótipos, seguidas da avaliação do efeito que estas tiveram sobre a atividade biológica (GARETH, 2003).

Existem diversas formas de realizar modificações estruturais capazes de alterar a atividade, com possibilidade de melhorar ou diminuir os efeitos de toxicidade. A alteração do número de grupamentos metileno em uma cadeia, alteração do grau de insaturação, introdução ou remoção um sistema de anel representam formas de realizar um estudo estrutura atividade (GARETH, 2003).

A ação de um fármaco, quando administrado a humanos ou animais, pode ser dividida em três fases: fase farmacêutica, farmacocinética e farmacodinâmica. Na fase farmacêutica, ocorre a desintegração da forma de dosagem, seguida da dissolução da substância ativa. A fase farmacocinética está relacionada com os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) e a fase farmacodinâmica abrange a interação do fármaco com seu alvo (receptor, enzimas etc.) e a conseqüente produção do efeito terapêutico (PEREIRA, 2007).

Como existem diversas modificações possíveis no estudo estrutura atividade para um determinado composto, a abordagem *in silico* é comum no desenvolvimento de novos fármacos. Assim, é feita uma previsão do processo de ADME junto com a toxicidade (ADMET) a fim de acelerar o processo de descoberta, desenvolvimento de fármacos, com inteligência, economia e ética neste processo. Este método pode ainda definir a biodisponibilidade e efeitos tóxicos de uma molécula (HANSCH *et al.*, 2004; VAN DE WATERBEEMD e GIFFORD, 2003).

A boa biodisponibilidade oral é um dos atributos mais desejáveis de um novo fármaco. A predição desta propriedade foi realizada pela primeira vez por Lipinski e colaboradores (LIPINSKI *et al.*, 2001) através da “regra dos cinco de Lipinski” que define parâmetros capazes de identificar compostos com problemas de absorção e permeabilidade. Esta regra define que para uma boa absorção e permeabilidade uma molécula deve atender pelo menos três dos cinco parâmetros a seguir:

- número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (nALH) é menor ou igual a 10 (expresso pela soma dos átomos N e O na molécula);

- número de grupos doadores de ligação hidrogênio (nDLH) menor ou igual a 5 (expresso pela soma de OH e NH na molécula) ;
- massa (MM) molecular menor ou igual a 500 g/mol;
- logP calculado menor ou igual a 5.

Outro fator que interfere na biodisponibilidade oral e pode ser interpretado como uma extensão das regras de Lipinski é a área de superfície polar (PSA, do inglês, *polar surface area*). A PSA é definida como a soma da superfície de átomos em uma molécula polar e deve ser menor ou igual a 140Å para resultar em uma boa permeabilidade do fármaco na membrana celular.

A porcentagem de absorção pode ser calculada a partir do valor de PSA usando a seguinte equação (ZHAO *et al*, 2002):

$$\% \text{ ABS} = 109 - 0,345 \times \text{PSA}$$

Os dados teóricos a serem relacionados ao potencial comportamento farmacocinético e toxicológico dos compostos sintetizados **26a-g** e **32a-g** foram obtidos *in silico* usando o programa Osiris® Property Explorer da Actelion Pharmaceuticals (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>). Esse programa utiliza uma lista de 5300 fragmentos moleculares, onde a frequência de ocorrência de cada fragmento é determinada com base em uma coleção de 3300 fármacos comerciais e 15000 compostos não comerciais da coleção Fluka.

Os dados obtidos estão relacionados ao risco de toxicidade (mutagênico, tumorigênico, irritante e efeitos no sistema reprodutor), “*druglikeness*” (semelhança com fármacos) e “*drugscore*” (índice de aproximação para se tornar um potencial candidato a fármaco).

Os valores de área de superfície polar (PSA) foram calculados através do programa *Molinspiration* (<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>).

Os dados obtidos nesse estudo encontram-se nas tabelas 13, 14 e 15.

De acordo com a tabela 13, todos os derivados apresentam número de grupos aceptores de ligação hidrogênio entre 5 e 7, número de grupos doadores de ligação hidrogênio igual à 3 ou 4 e massa molecular entre 283,4 e 437,3 g/mol, dentro dos padrões estabelecidos por Lipinski. Os compostos apresentaram valores de lipofilicidade que variaram de 0,60 a 5,20, dentro ou muito próximos dos padrões recomendados. Os compostos citados não violaram mais do que uma das regras de Lipinski, podendo-se sugerir que esses compostos não teriam problemas com a biodisponibilidade oral.

Os compostos apresentaram ainda valores de PSA inferiores a 140 Å² (81,95 < PSA < 99,02) indicando uma boa permeabilidade do fármaco através da membrana plasmática celular, com valores de porcentagem de absorção variando de 74,8 a 80,7%. Pode-se observar que os valores de absorção são superiores ao valor apresentado pelo cloranfenicol, mas inferiores aos valores apresentados para o FTY720.

A solubilidade de um composto em água afeta características relacionadas a distribuição e absorção. De maneira geral, 80,0% dos fármacos do mercado apresenta logS superior a -4. Os menores resultados de logS foram obtidos para os compostos **26g** e **32g**.

Tabela 13. Regras de Lipinski, porcentagem de absorção e área de superfície polar para os compostos **26a-g** e **32a-g**.

Comp.	%ABS	PSA (Å ²)	Regras de Lipinski					
			<i>n</i> ALH	<i>n</i> DLH	logP	MM	<i>n</i> violações	Solub. (logS)
26a	80,70	81,95	5	4	1,02	283,36	0	-1,62
26b	80,70	81,95	5	4	1,86	311,42	0	-2,16
26c	80,70	81,95	5	4	2,69	339,48	0	-2,70
26d	80,70	81,95	5	4	3,11	353,26	0	-2,97
26e	80,70	81,95	5	4	3,53	367,52	0	-3,24
26f	80,70	81,95	5	4	4,36	395,59	0	-3,78
26g	80,70	81,95	5	4	5,20	423,64	1	-4,32
32a	74,84	99,02	6	4	0,60	297,16	0	-1,75
32b	78,99	86,99	5	3	1,43	325,15	0	-2,29
32c	78,99	86,99	5	3	2,27	353,22	0	-2,83
32d	78,99	86,99	5	3	2,69	357,24	0	-3,10
32e	78,99	86,99	5	3	3,1	381,51	0	-3,37
32f	78,99	86,99	5	3	3,94	409,28	0	-3,91
32g	78,99	86,99	5	3	4,77	437,31	0	-4,45
cloranfenicol	69,20	115,38	7	3	-0,18	282,12	0	-2,37
FTY720	86,06	66,48	4	3	4,01	307,25	0	-3,55

A tabela 14 apresenta os riscos toxicológicos para os compostos em estudo. Deve-se ressaltar que mesmo as substâncias que não apresentam altos riscos podem apresentar efeitos nocivos ao organismo, uma vez que estes estudos apenas auxiliam a identificação de compostos com potencial biológico.

Todos os compostos sintetizados apresentaram um baixo potencial mutagênico, irritante e de reprodução. Apenas os compostos **26c** e **32b** apresentaram alto risco tumorigênico e irritante, respectivamente. Os resultados desta análise mostram que os compostos sintetizados apresentam toxicidade teórica inferior ao cloranfenicol. O composto FTY720 também mostrou alto risco irritante.

Tabela 14. Toxicidade teórica obtida a partir do programa *Osiris® Property Explorer*.

Composto	Risco Mutagênico	Risco Tumorigênico	Risco Irritante	Risco Reprodutibilidade
26a	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
26b	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
26c	Baixo	Alto	Baixo	Baixo
26d	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
26e	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
26f	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
26g	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
32a	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
32b	Baixo	Baixo	Alto	Baixo
32c	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
32d	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
32e	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
32f	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
32g	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Cloranfenicol	Alto	Alto	Baixo	Alto
FTY720	Baixo	Baixo	Alto	Baixo

Um valor positivo para druglikeness mostra que o composto contém predominantemente fragmentos que estão frequentemente presentes em medicamentos comerciais e indica se a substância tem potencial para se tornar um fármaco.

Valores positivos de drugscore entre 0,1 e 1,0 indicam que a molécula contém predominantemente grupos farmacofóricos, que são frequentemente presentes em medicamentos comerciais. O valor de drugscore combina registros de druglikeness, lipofilicidade, solubilidade, massa molecular e riscos de toxicidade em um único valor prático que pode ser utilizado para prever o potencial global dos compostos como candidatos a novos fármacos. Quanto mais próximo de 1,0 for o resultado, maior será a probabilidade de sucesso (HANSCH *et al.*, 2004).

Os valores de druglikeness e de drugscore estão na tabela 15 e podem ser mais bem interpretados através dos gráficos da figura 39. Os valores de drugscore variaram de 0,10 a 0,47 e os valores de druglikeness de -36,79 a -4,61.

Tabela 15. Valores de druglikeness e drugscore obtidos pelo programa Osiris® Property Explorer.

Composto	Druglikeness	Drugscore
26a	-20,89	0,47
26b	-28,78	0,27
26c	-36,79	0,43
26d	-36,79	0,41
26e	-36,79	0,39
26f	-36,79	0,32
26g	-36,79	0,25
32a	-15,08	0,47
32b	-22,96	0,27
32c	-30,97	0,42
32d	-30,97	0,40
32e	-30,97	0,37
32f	-30,97	0,24
32g	-4,61	0,10
Cloranfenicol	-15,08	0,47
FTY720	-25,86	0,23

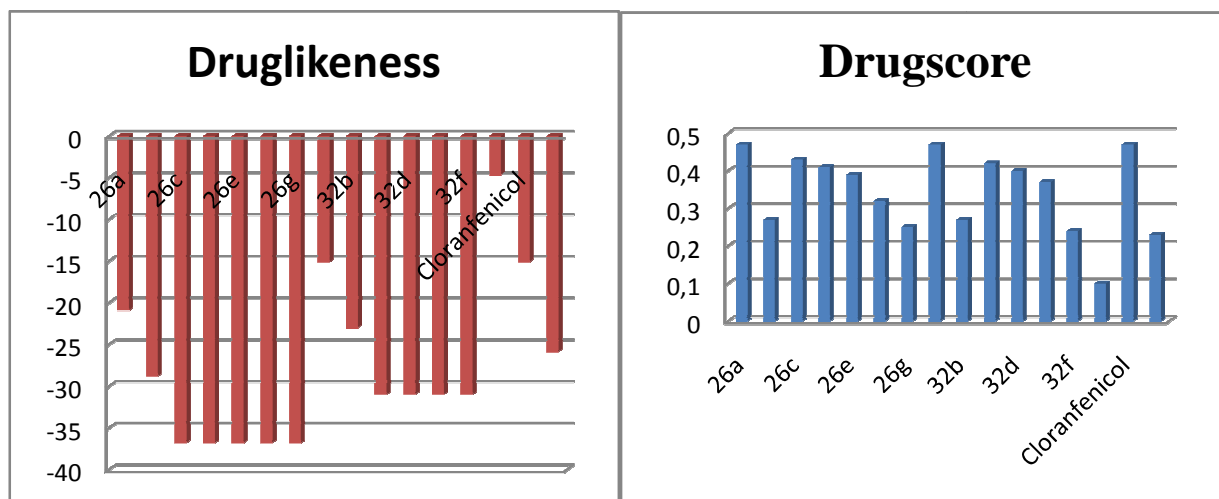


Figura 39. Valores de Druglikeness e Drugscore dos compostos **26a-g** e **32a-g**, cloranfenicol e FTY720.

Levando-se em consideração os resultados obtidos de drugscore e druglikeness, o melhor resultado foi obtido para o composto **26a** e **32a**, pois apresentaram maiores resultados para os valores de druglikeness e valores de Drugscore mais próximos a 1,0. Através da avaliação biológica realizadas nesse trabalho vimos que esses compostos não apresentaram bons resultados para os testes realizados (antibacterianos e antifúngicos). Assim, podemos evidenciar a importância de realização de testes *in vitro* contra outras atividades biológicas, como testes anticancerígenos, antiparasitários, imunossupressores, dentre outros.

8 Testes Físico-químicos

O estudo das propriedades surfactantes de compostos da série das aminas foi realizado no departamento de química da Universidade Federal de Viçosa, com o auxílio do Prof. Dr. Luis Henrique Mendes da Silva.

Foram realizados:

- ✓ Determinação da temperatura Krafft (compostos **26c-f**);
- ✓ Estudo da CMC por medidas de espectroscopia UV-VIS (composto **26c**);
- ✓ Estudo da CMC por medidas de condutividade (composto **26c**);
- ✓ Estudo da CMC por experimentos de calorimetria (ITC) (composto **26c**).

Para esses testes foi utilizado o composto **26c** da série das aminas devido à similaridade estrutural dos compostos e também devido ao tempo reduzido para realização dos testes. As amidas não foram testadas por não apresentarem solubilidade em água.

8.1. Determinação da Temperatura Krafft dos surfactantes

Em certa concentração (CMC), os surfactantes iniciam o processo de agregação formando estruturas denominadas micelas. A temperatura promove transições do tipo cristais hidratados→monômeros→micelas, caracterizando a temperatura Krafft de um surfactante iônico. Essa transição é caracterizada por uma rápida mudança nas propriedades físico-químicas, em particular a solubilidade. Na Temperatura Krafft observa-se um aumento drástico na solubilidade da solução de surfactante em um pequeno intervalo de temperatura.

A solubilidade dos surfactantes foi determinada de maneira visual acompanhando-se a turbidez das soluções.

Uma solução aquosa 6,0 mg/mL do composto analisado foi preparada e aquecida lentamente até completa dissolução. Em seguida, o tubo contendo a solução foi resfriado e deixado a temperatura ambiente até surgimento de turvação. A temperatura da solução foi anotada e foi adicionado um pequeno volume de água ao tubo (50,0 µL) a fim de obter soluções mais diluídas. Esse procedimento foi repetido até não observar turvação da solução.

Os compostos **26a** e **26b** não foram testados devido sua maior solubilidade em solução, o que exigiria uma quantidade maior de amostra para o testes. O composto **26g** apresentou baixa solubilidade em água e por isso não foi testado, uma vez que seriam necessárias temperaturas

elevadas para realização do teste. O aumento brusco na temperatura iria influenciar nas concentrações em estudo devido a perdas do solvente por evaporação e dificuldades de visualização da precipitação.

O gráfico da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) x solubilidade ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) obtido para o composto **26c** está representado na figura 40 e foi utilizado para determinar a temperatura Krafft.

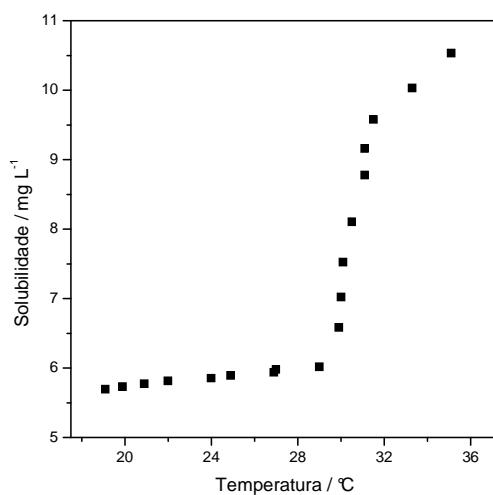


Figura 40. Gráfico da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) x solubilidade ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) obtido para **26c**.

Considerou-se como temperatura Krafft o primeiro ponto da curva onde se observou uma mudança brusca na solubilidade da solução de surfactante. Os resultados obtidos (tabela 16) mostram que a temperatura Krafft quase não muda com o aumento da cadeia lipofílica presente na estrutura.

Como se trata de um método visual, alterações de temperatura inferiores a um grau são difíceis de observar.

Tabela 16. Determinação da temperatura Krafft dos compostos **26c-f**.

Tensoativo	Temperatura Krafft ($^{\circ}\text{C}$)
26c	30,0
26d	30,0
26e	30,0
26f	32,0

8.2. Determinação da CMC por medidas de condutividade

A condutometria é uma técnica que mede o fluxo de corrente elétrica através de uma solução eletrolítica. Fatores como a voltagem aplicada e a concentração, carga e mobilidade dos íons em solução podem afetar a intensidade do fluxo de corrente elétrica. A mobilidade dos íons em solução depende da viscosidade, temperatura e do volume hidrodinâmico (geometria e intensidade de solvatação) (SHEDLOVSKY e SHEDLOVSKY, 1971). Como a condutividade depende do número de íons em solução, só é possível a determinação da CMC para surfactantes iônicos (FRAHM *et al.*, 1980).

O aumento da concentração de surfactante na solução analisada ocasiona um aumento na condutividade específica, a relação obtida entre concentração e condutividade específica é uma relação linear.

A Figura 41 representa um gráfico típico da condutividade específica *versus* concentração molar de surfactante (MORAES e REZENDE, 2004). O aumento da condutividade abaixo da CMC depende da condutividade molar das espécies em solução. Para eletrólitos fortes a concentração de íons na solução é proporcional à concentração de eletrólitos adicionados. Para eletrólitos fracos a concentração de íons em solução, e conseqüentemente a condutividade, depende do grau de dissociação do eletrólito adicionado. Acima da CMC, os monômeros adicionados à solução serão responsáveis pela formação das micelas. Portanto, haverá uma variação brusca do perfil da curva de condutividade *versus* a concentração de surfactante adicionado em solução, uma vez que o incremento da condutividade da solução com a adição de surfactante é menor. A CMC é definida como a concentração do surfactante no ponto que o perfil de condutividade muda.

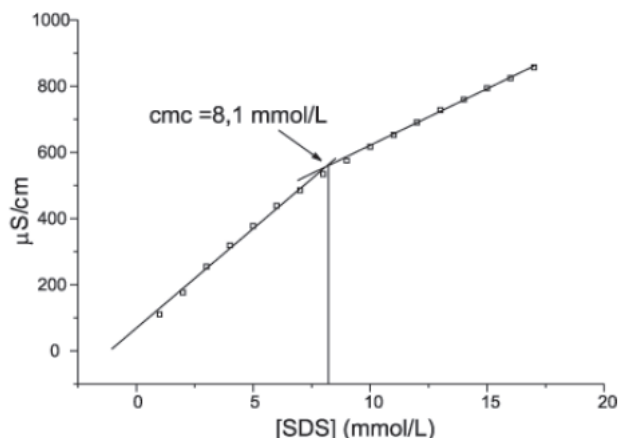


Figura 41. Variação da condutância em função da concentração de surfactante adicionado em água a 25 °C (MORAES e REZENDE, 2004).

Para a determinação da CMC do composto **26c** em meio aquoso preparou-se uma solução aquosa $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ do produto. Alíquotas ($50,0 \mu\text{L}$) dessa solução foram adicionadas sobre $20,00 \text{ mL}$ de água deionizada, sob agitação, medindo-se o valor da condutividade obtida após cada adição.

A variação da condutividade em função da concentração de **26c** está representada na figura 42. Não se observou mudança no valor da condutância em nenhum ponto do gráfico com aumento da concentração do tensoativo.

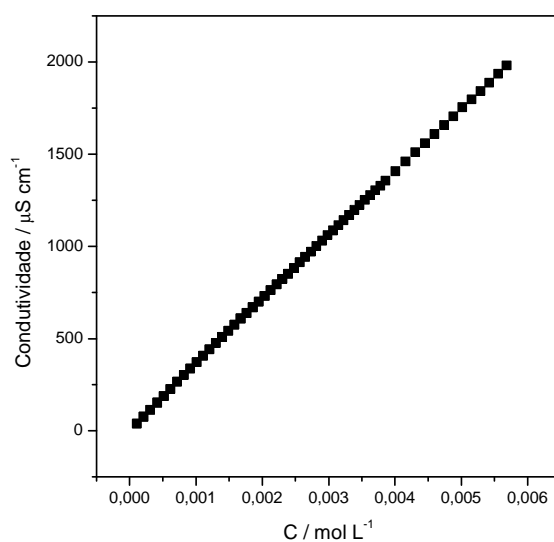


Figura 42. Gráfico da variação da condutância em função da concentração do surfactante **26c**.

8.3. Estudos da CMC por medidas de espectroscopia UV-VIS

O método de determinação da CMC através de espectroscopia de absorção UV-VIS para uma concentração fixa do corante está relacionado à variação do espectro de absorção do corante em função de acréscimos do surfactante à solução. Essa mudança se deve a incorporação do corante dentro das micelas formadas a partir da CMC até um ponto máximo, que se refere à total solubilização do corante dentro das micelas. Como está representado na figura 43, este ponto máximo representa o valor da CMC (MORAES e REZENDE, 2004).

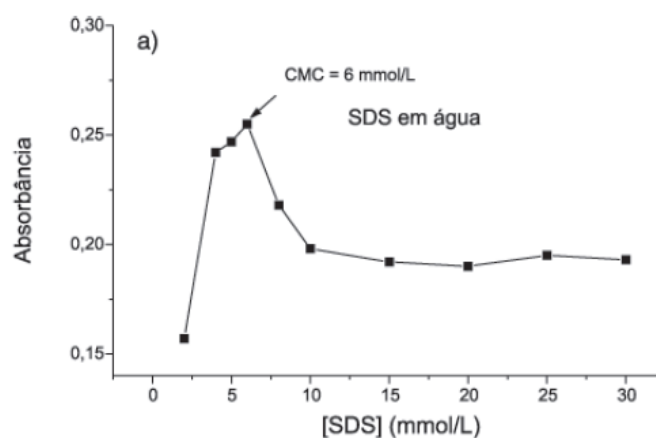


Figura 43. Medidas de absorbância para diferentes concentrações de surfactantes (SDS: $C_{12}H_{25}OSO_3Na$) utilizando o corante sudan III (504 nm) em água (MORAES e REZENDE, 2004).

Uma solução estoque do composto **26c** na concentração de $2,66 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ foi preparada e diluída em água ultra-pura para obter soluções de concentrações da ordem de 10^{-5} a $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. O corante utilizado foi 1-nitroso-2-naftol (1-N-2-N).

As medidas de absorbância mostradas a partir do gráfico obtido (figura 44) não permitiram uma determinação exata da CMC, uma vez que o corante apresentou solubilidade parcial em água causando interferência nos resultados obtidos. O ponto máximo da curva foi obtido para uma concentração de 0,5 mM. Planeja-se repetir as medidas usando o corante Sudan III (MORAES e REZENDE, 2004), pois este apresenta total insolubilidade em água.

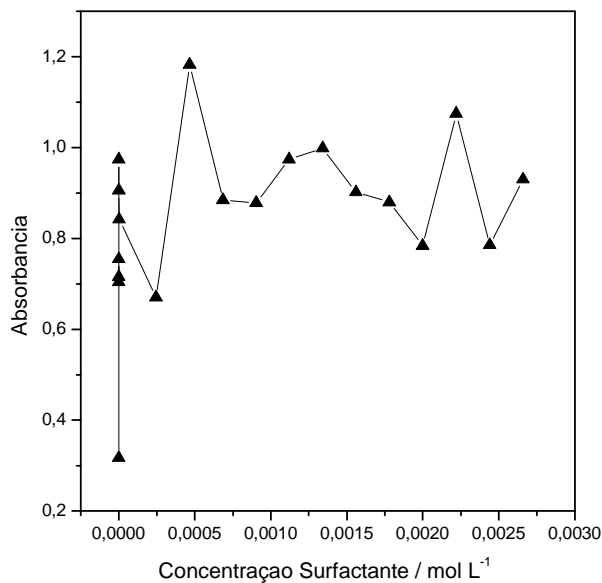


Figura 44. Gráfico de absorvância x Concentração de tensoativo **26c** (mol.L⁻¹).

8.4. Determinação da CMC por Titulação Microcalorimétrica Isotérmica (ITC)

A entalpia associada à mistura de duas soluções de composições diferentes pode ser medida por ITC (do inglês *isothermal titration calorimetry*, ITC). Dessa forma, os processos físicos e químicos podem ser acompanhados pela liberação ou absorção de energia. O calorímetro é composto, basicamente, de uma cela de referência e uma cela de amostra (figura 45). Pequenas alíquotas de um determinado composto são injetadas através de uma seringa à cela de amostra e a energia produzida ou consumida é medida em função do tempo (HEERKLOTZ e SEELIG, 2000). O sistema também contém um sistema de agitação para garantir a homogeneidade da amostra.

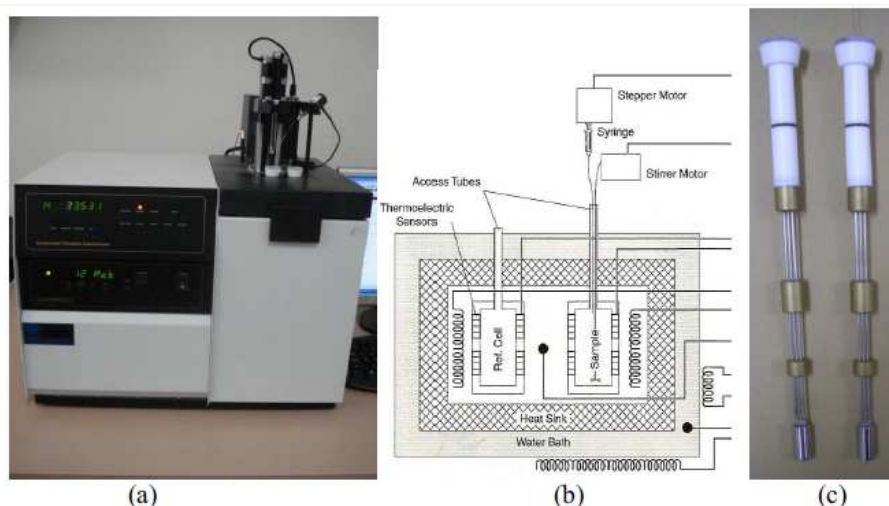


Figura 45. Descrição do calorímetro CSC 4200: a) foto da parte exterior do calorímetro; b) Esquema do funcionamento do calorímetro ITC; c) torres e cela da amostra e referência (MAGESTE, 2009).

Cada medida de fluxo de energia gera um pico que representa a energia associada à injeção de um pequeno volume da solução da seringa na solução presente na célula de amostra. Os valores de entalpia de reação são obtidos por integração das deflexões ocorridas a partir da linha base (curva de fluxo de calor *versus* o tempo), como está representado na figura 46. Sinais positivos de potência resultam de fenômenos endotérmicos e sinais negativos resultam de fenômenos exotérmicos (GOMES, 2009).

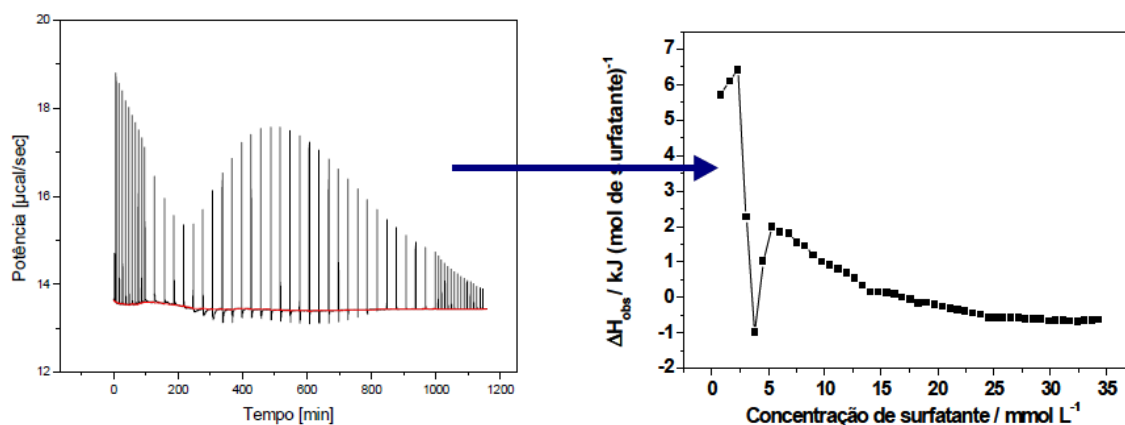


Figura 46. a) Variação de potência durante injeções consecutivas de solução de surfatante; b) Resultado de integração de cada pico resultante da titulação a partir da linha base correspondente a variação de entalpia ($\Delta H/\mu\text{cal}\cdot\text{s}^{-1}$) *versus* a concentração do titulante na cela (mmol) (NIEMIEC, 2008).

As titulações foram realizadas utilizando-se o calorímetro CSC 4200 com uma faixa de concentração de 10^{-5} a 10^{-4} mol.L⁻¹, porém não houve detecção de variação de energia durante as titulações.

Como conclusão, as técnicas empregadas até o momento não foram suficientes para determinar a CMC. Outras análises, como de espalhamento dinâmico de luz (DLS - do inglês *dynamic light scattering*) estão sendo realizadas com objetivo de identificar presença de agregados formados em solução aquosa. Esta é uma técnica não invasiva, que permite a análise da distribuição e medida do tamanho dos agregados formados no processo de interação (PECORA, 1985; KASZUBA, 2004, MENDOZA-ESPINOSA *et al.*, 2007).

9 Parte Experimental

9.1. Materiais e Métodos

As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada utilizando como fase estacionária sílica gel 60G (com ou sem fluoresceína) em lâminas de vidro. Como reveladores utilizou-se vapores de iodo e lâmpada ultravioleta (UV).

A verificação do andamento e pureza reacional foi realizada através de cromatografia em camada delgada. Utilizou-se sílica gel 60G em lâminas de vidro.

Os reagentes utilizados para a síntese dos compostos bem como os solventes P.A. utilizados na purificação são das marcas: Merck, Vetec e Sigma Aldrich.

Os solventes anidros empregados foram obtidos por destilação. O tetraidrofurano foi previamente destilado sob sódio/benzofenona e estocado em frasco com peneira molecular de 4,0 Å. O tolueno foi refluxado sob sódio/benzofenona por 3 h, destilado e armazenado sob nitrogênio em peneira molecular 4,0 Å ativada. O metanol foi refluxado e destilado com magnésio metálico/iodo. Todos os tratamentos seguiram procedimentos descritos na literatura (PERRIN *et al.*, 1987).

Os espectros no infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro BOMEMFTIR MB-120 no departamento de química da UFJF na faixa de 400 - 4000 cm^{-1} usando discos de KBr.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono 13 foram obtidos a 300 MHz e 75 MHz, respectivamente, em um espectrômetro BRUKER AVANCE DRX/300 no departamento de química da UFJF.

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho digital de ponto de fusão da Microquímica, modelo MQAPF do departamento de química da UFJF.

As numerações para os átomos de hidrogênio e de carbono dos compostos sintetizados neste trabalho utilizados para atribuição dos sinais nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C , podem não corresponder àquela utilizada na nomenclatura IUPAC.

Os espectros de massa de alta resolução (HRMS) foram obtidos através do espectrômetro Micromass LCT (ICSN – França) usando ionização eletrospray e analisador por tempo de voo (ESI-HRMS).

Para os testes “*in silico*”, os valores de logP (coeficiente de partição) foram obtidos a partir do simulador Chemdraw 11.0, versão 2007. Para predizer os efeitos de toxicidade das substâncias sintetizadas foi utilizado o programa Osiris Property Explorer. O estudo relacionado

à biodisponibilidade oral foram realizados através do Molinspiration online property calculation toolkit, disponível em <http://www.molinspiration.com>.

9.2. Síntese e caracterização dos aldeídos alquilados 24a-g

9.2.1. Procedimento geral

A uma mistura de *p*-hidroxibenzaldeído **23** (13,5 mmol) em 10,0 mL de DMF foram adicionados 27,0 mmol de K₂CO₃. A reação foi deixada a 70°C sob agitação magnética por 1h. Em seguida, adicionou-se 20,3 mmol haleto de alquila e 6,8 mmol de iodeto de potássio. O meio reacional foi aquecido a 80°C sob agitação magnética por 4 horas.

Verificou-se o término da reação por CCD (Hexano/AcOEt 7,0/3,0 %v/v). O meio reacional foi diluído com 50,0 mL de água e extraído 3,0 vezes com 30,0 mL de éter etílico. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada, o solvente removido por evaporação sob pressão reduzida e o material obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (AcOEt/Hexano).

Com exceção do composto **24g**, os demais compostos apresentaram-se na forma de líquidos incolores, em rendimentos satisfatórios que variaram de 56 a 81% (Tabela 17).

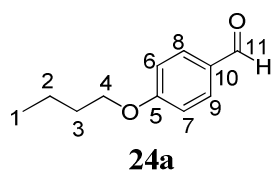
Tabela 17. Estequiometria e rendimentos da síntese dos aldeídos alquilados **24a-g**.

Compostos	CH ₃ (CH ₂) _n X (20,3 mmol)	KI (6,8 mmol)	Rendimentos (%)
24a	n=3; X= Br; (2,8 g)	1,1 g	81,0
24b	n=5; X= Cl; (2,5 g)	1,1 g	71,0
24c	n=7; X= Cl; (3,0 g)	1,1 g	69,0
24d	n=8; X= Br; (4,2 g)	1,1 g	74,0
24e	n=9; X= Cl; (3,6 g)	1,1 g	59,0
24f	n=11; X= Cl; (4,1 g)	1,1 g	56,0
24g	n=13; X= Cl; (4,7 g)	1,1 g	75,0

9.2.2. Caracterização dos aldeídos alquilados 24a-g

Os dados físico-químicos e espectrométricos dos aldeídos alquilados **24a-g** estão descritos a seguir. No apêndice 1 encontram-se disponíveis seus respectivos espectros.

4-(butoxi)-benzaldeído (24a)

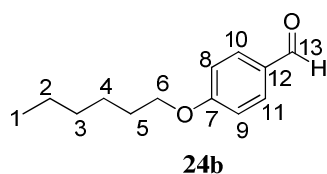


Fórmula Molecular: $C_{11}H_{14}O_2$ Massa Molar: 178,10 g/mol Estado físico: óleo
--

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): δ 0,94 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H, H-1); 1,46 (sex, $J = 7,5$ Hz, 2H, H-2); 1,75 (qui, $J = 7,5$ Hz, 2H, H-3); 3,99 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2); 6,94 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-6 e H-7); 7,78 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-8 e H-9); 9,83 (s, 1H, COH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): δ 13,9 (C-1); 19,3 (C-2); 31,2 (C-3); 68,3 (C-4); 114,9 (C-6 e C-7); 129,9 (C-10); 132,1 (C-8 e C-9); 164,4 (C-5); 190,9 (C-11).

4-(hexiloxi)-benzaldeído (24b)

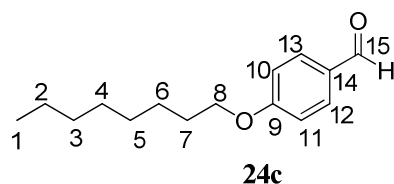


Fórmula Molecular: $C_{13}H_{18}O_2$ Massa Molar: 206,13 g/mol Estado físico: óleo
--

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): δ 0,86 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H, H-1); 1,26-1,33 (m, 4H, H-2 e H-3); 1,37-1,43 (m, 2H, H-4); 1,76 (qui, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-5); 3,98 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-6); 6,94 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-8 e H-9); 7,76 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-10 e H-11); 9,82 (s, 1H, COH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): δ 14,1 (C-1); 22,7 (C-2); 25,8 (C-3); 29,1 (C-4); 31,6 (C-5); 68,5 (C-6); 114,9 (C-8 e C-9); 129,9 (C-12); 132,1 (C-10 e C-11); 164,4 (C-7); 190,9 (C-13).

4-(octiloxi)-benzaldeído (24c)

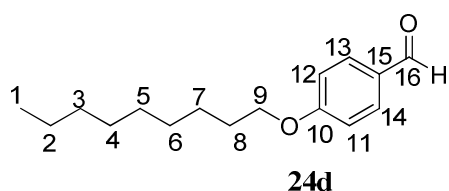


Fórmula Molecular: $C_{15}H_{22}O_2$ Massa Molar: 234,16 g/mol Estado físico: óleo
--

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ 0,86 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, H-1); 1,26-1,48 (m, 10H, H-2 a H-6); 1,78 (qui, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-7); 4,00 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-8); 6,95 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H-10 e H-11); 7,79 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H-12 e H-13); 9,84 (s, 1H, COH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ 14,3 (C-1); 22,8 - 31,9 (CH_2 alifáticos); 68,6 (C-8); 114,9 (C-10 e C-11); 129,9 (C-14); 132,2 (C-10 e C-11); 164,5 (C-9); 191,0 (C-15).

4-(noniloxi)-benzaldeído (24d)

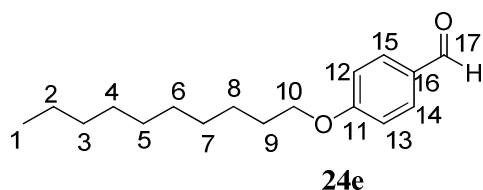


Fórmula Molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_2$ Massa Molar: 248,18 g/mol Estado físico: óleo

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ 0,85 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, H-1); 1,25-1,45 (m, 12H, H-2 a H-7); 1,77 (qui, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-8); 4,00 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-9); 6,95 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-11 e H-12); 7,78 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-13 e H-14); 9,84 (s, 1H, COH).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ 14,3 (C-1); 22,8 - 32,0 (CH_2 alifáticos); 68,6 (C-9); 114,9 (C-11 e C-12); 129,9 (C-15); 132,1 (C-13 e C-14); 164,5 (C-10); 190,9 (C-16).

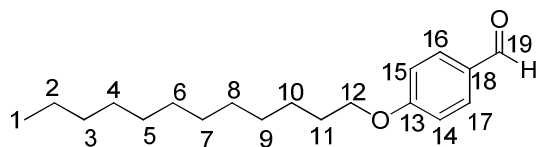
4-(deciloxi)-benzaldeído (24e)



Fórmula Molecular: $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_2$ Massa Molar: 262,19 g/mol Estado físico: óleo

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ 0,85 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H, H-1); 1,24-1,46 (m, 14H, H-2 a H-8), 1,75 (qui, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-9); 4,00 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-10); 6,96 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-12 e H-13); 7,79 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-14 e H-15); 9,85 (s, 1H, COH).

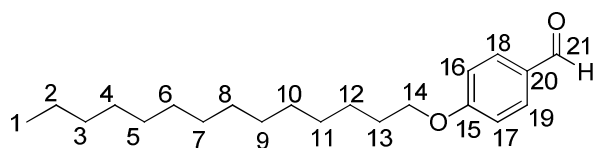
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ 14,3 (C-1); 22,9-32,1 (CH_2 alifáticos); 68,6 (C-10); 114,9 (C-12 e C-13); 129,9 (C-16); 132,2 (C-14 e C-15); 164,5 (C-11); 190,9 (C-17).

4-(dodeciloxi)-benzaldeído (24f)**24f**

Fórmula Molecular: C ₁₉ H ₃₀ O ₂
Massa Molar: 290,22 g/mol
Estado físico: óleo

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): δ 0,85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H, H-1); 1,23-1,45 (m, 18H, H-2 a H-10); 1,76 (qui, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-11); 3,99 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, H-12); 6,95 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H-14 e H-15); 7,78 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H-16 e H-17); 9,83 (s, 1H, COH).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): δ 14.2 (C-1), 22.8-32.1 (CH₂ alifáticos), 68.5 (C-12), 114,9 (C-14 e C-15); 129,9 (C-18); 132,1 (C-16 e C-17); 164,4 (C-13); 190,8 (C-19).

4-(tetradeciloxi)-benzaldeído (24g)**24g**

Fórmula Molecular: C ₂₁ H ₃₄ O ₂
Massa Molar: 218,26 g/mol
Estado físico: sólido

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): δ 0,84 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H, H-1); 1,22-1,44 (m, 22H, H-2 a H-12); 1,79 (qui, $J = 6,0$ Hz, 2H, H-13); 3,99 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, H-14); 6,94 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-16 e H-17); 7,78 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-18 e H-19); 9,82 (s, 1H, COH).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): δ 14,2 (C-1); 22,9 - 32,1 (CH₂ alifáticos); 68,6 (C-14); 114,9 (C-16 e C-17); 129,9 (C-20); 132,2 (C-18 e C-19); 164,5 (C-15); 190,9 (C-21).

9.3.Preparação e caracterização dos cloridratos de aminas 26a-g**9.3.1. Procedimento geral**

Uma mistura de 2,0 mmol de aldeído alquilado e 2,0 mmol de Tris (0,24g) em 5,0 mL de metanol foi aquecida à temperatura de refluxo por 5 horas sob agitação magnética. O meio reacional foi então resfriado com banho de gelo e adicionou-se 2,0 equivalentes de NaBH₄ (0,15 g), em pequenas porções. A reação foi mantida a temperatura ambiente por mais 5 horas.

O meio reacional foi concentrado sob pressão reduzida e diluído com 5,0 mL de água destilada e 3,00 mL de solução HCl 4M. Adicionou-se ao meio reacional 25,0 mL de CH₂Cl₂ e deixou-se o balão por mais uma hora sob agitação e a temperatura ambiente (XIE *et al.*, 2009). Observou-se a formação de um sólido branco que foi recristalizado em acetato de etila.

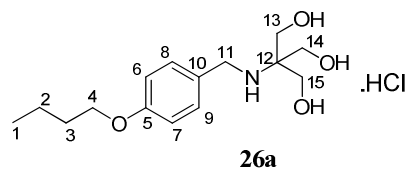
Tabela 18. Estequiometria e rendimentos das sínteses dos cloridratos de aminas **26a-g**.

Compostos	Aldeído alquilado (2,0 mmol)	Rendimentos (%)
26a	0,35 g	74
26b	0,41 g	62
26c	0,47 g	83
26d	0,50 g	61
26e	0,52 g	63
26f	0,58 g	72
26g	0,63 g	87

9.3.2. Caracterização das aminas 26a-g

Os dados físico-químicos e espectrométricos das aminas **26a-g** estão descritos a seguir. Os espectros podem ser conferidos no apêndice 2.

Cloreto de *N*-(4-butoxibenzil)-1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil) propan-2-amínio (**26a**)



Fórmula Molecular: C₁₅H₂₆ClNO₄
 Massa Molar: 319,16 g/mol
 Estado físico: sólido branco
 Faixa Fusão: 129,8-130,1°C

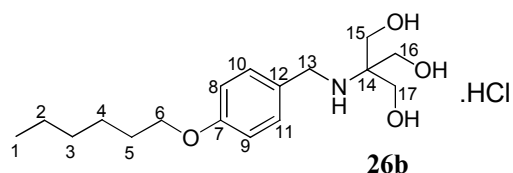
IV (KBr) (ν, cm⁻¹): 3356 (O-H); 3065 (N-H); 2966 (CH_{arom}); 2872(CH_{alif}); 1259(C-N); 1061(C-O).

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ(ppm): δ 0,98 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, H-1); 1,44-1,56 (m, *J* = 7,2 Hz 2H, H-2); 1,75 (qui, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-3); 3,80 (s, 6H, H-13, H-14, H-15); 3,99 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, H-4); 4,25 (s, 2H, H-11); 6,96 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, H-6 e H-7); 7,44 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, H-8 e H-9).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ (ppm): δ 14,2 (C-1); 20,4 (C-2); 32,5 (C-3); 46,8 (C-11); 59,4 (C-13, C-14, C-15); 67,8 (C-12); 68,9 (C-4); 116,0 (C-6 e C-7); 125,1 (C-10); 132,9 (C-8 e C-9); 161,6 (C-5).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{ClNO}_4$ 318,1472; encontrado 318,1471 (M-H).

Cloreto de N-[4-(hexiloxi)benzil]-1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)-propan-2-amínio (26b)



Fórmula Molecular: $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{ClNO}_4$ Massa Molar: 347,19 g/mol Estado físico: sólido branco Faixa Fusão: 126,5-126,8°C

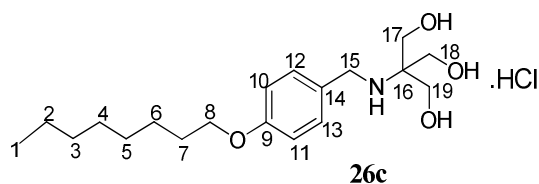
IV (KBr) (ν , cm^{-1}): 3346 (OH); 3055 (NH); 2939 (CH_{arom}); 2869 (CH_{alif}); 1247 (C-N); 1060 (C-O).

RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,89 (sl, 3H, H-1); 1,33 (sl, 6H, CH_2 alifáticos); 1,74 (2H, qui, $J = 6,5$ Hz, H-5); 3,78 (s, 6H, H-15, H-16 e H-17); 3,96 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, H-6); 4,22 (s, 2H, H-13); 6,93 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H-8, H-9); 7,42 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H-10, H-11).

RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ ppm: δ 14,5 (C1); 23,8 (C2); 26,9 (C3); 30,4 (C4); 32,8 (C5); 46,8 (C13); 59,4 (C14, C15 e C16); 67,8 (C17); 69,2 (C6); 116,0 (C10 e C11); 125,1 (C12); 132,9 (C8,C9); 161,5 (C7).

HRMS (ES+) m/z (M-H) encontrado para $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO}_4$: 312,2161 (M+H).

Cloreto de 1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)-N-[4-(octiloxi)benzil]propan-2-amínio (26c)



Fórmula Molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{ClNO}_4$ Massa Molar: 375,22 g/mol Estado físico: sólido branco Faixa Fusão: 129,4-130,5°C

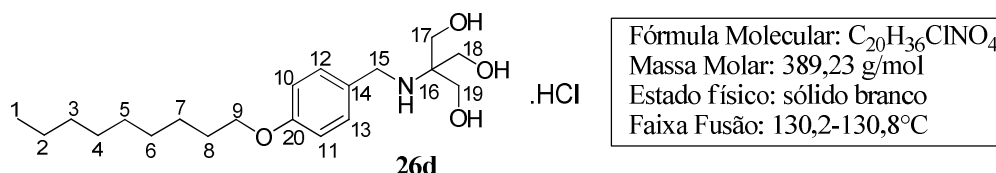
IV (KBr) (ν , cm^{-1}): 3326 (OH); 3072 (NH); 2919 (CH_{arom}); 2848 (CH_{alif}); 1257 (C-N); 1058 (C-O).

RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,90 (3H, sl, H-1); 1,33-1,49 (10H, m, H-2 a H-6); 1,75- 1,79 (2H, m, H-7); 3,80 (6H, s, H-17, H-18, H-19); 3,90 (2H, sl, H-8); 4,25 (2H, s, H-15); 6,90 (2H, d, $J=7,5$ Hz, H-10, H-11); 7,44 (2H, d, $J=7,5$ Hz, H-12, H-13).

RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,5 (C-1); 23,8 a 33,1 (CH_2 alifáticos); 46,9 (C-15); 59,5 (C-17, C-18 e C-19); 67,9 (C-16); 69,3 (C-8); 116,1 (C-10 e C-11); 125,1 (C-14); 133,0 (C-12,C-13); 161,6 (C-9).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{ClNO}_4$ 374,2098; encontrado 374,2092 (M-H).

Cloreto de 1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)-N-[4-(noniloxi)benzil]propan-2-amínio (26d)



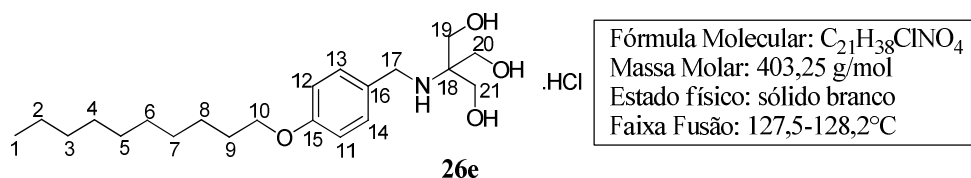
IV (KBr) (ν , cm^{-1}): 3336 (OH); 3064 (NH); 2929 (CH_{arom}); 2848 (CH_{alif}); 1257 (C-N); 1050 (C-O).

RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,89 (3H, sl, H-1); 1,30 (12H, m, H-2 a H-7); 1,76 (2H, m, H-8); 3,80 (6H, s, H-17, H-18 e H-19); 3,98 (2H, sl, H-9); 4,25 (2H, s, H-15); 6,96 (2H, d, $J=6,7$ Hz, H-10, H-11); 7,45 (2H, d, $J=6,7$ Hz, H-12,H-13).

RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,6 (C-1); 23,8 a 33,1 (CH_2 alifáticos); 46,8 (C-15); 59,4 (C-17, C-18 e C-19); 67,8 (C-16); 69,2 (C-9); 116,0 (C-10 e C-11); 125,1 (C-14); 132,9 (C-12,C-13); 161,6 (C-20).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{ClNO}_4$ 388,2255; encontrado 388,2257 (M-H).

Cloreto de N-[4-(deciloxi)benzil]-1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)-propan-2-amínio (26e)



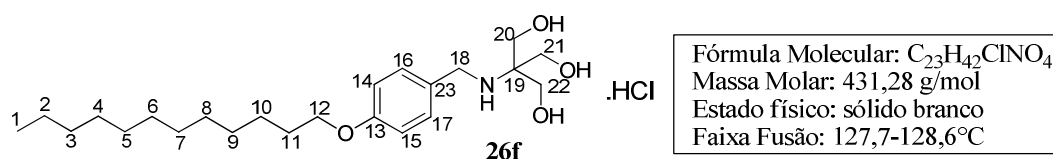
IV (KBr) (ν , cm^{-1}): 3340 (OH); 3047 (NH); 2923 (CH_{arom}); 2853 (CH_{alif}); 1272 (C-N); 1055 (C-O).

RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,88 (3H, sl, H-1); 1,29-1,52 (14H, m, H-2 a H-8); 1,77 (2H, sl, H-9); 3,80 (6H, s, H-19, H-20 e H-21); 3,98 (2H, sl, H-9); 4,26 (2H, s, H-15); 6,96 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H11,H12); 7,44 (2H, d, $J=7,5$ Hz, H13-H14).

RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,5 (C-1); 23,8 a 33,1 (CH_2 alifáticos); 46,9 (C-17); 59,5 (C-19, C-20 e C-21); 67,9 (C-18); 69,3 (C-10); 116,1 (C-11 e C-12); 125,1 (C-16); 132,9 (C-13,C-14); 161,6 (C-15).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{ClNO}_4$ 402,2411; encontrado 402,2413 (M-H).

Cloreto de *N*-[4-(dodeciloxi)benzil]-1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-amínio (26f)



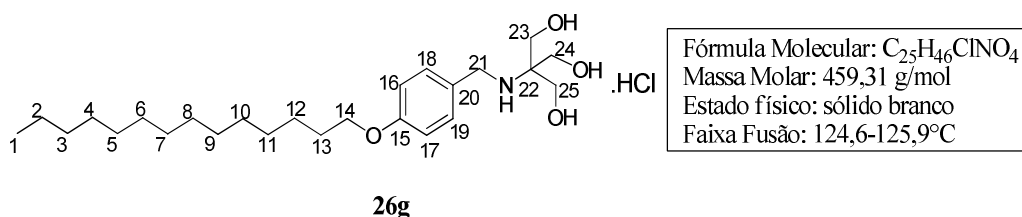
IV (KBr) (ν, cm^{-1}): 3352 (OH); 3062 (NH); 2918 (CH_{arom}); 2848 (CH_{alif}); 1255 (C-N); 1058 (C-O).

RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,90 (3H, sl, H-1); 1,29-1,51 (18H, m, H-2 a H-10); 1,77 (2H, qui, $J = 6,3$ Hz, H-11); 3,80 (6H, s, H-20, H-21 e H-22); 3,98 (2H, t, $J = 6,3$ Hz, H-12); 4,25 (2H, s, H-18); 6,97 (2H, d, $J=7,9$ Hz, H-14,H-15); 7,45 (2H, d, $J=7,9$ Hz, H-16,H-17).

RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,6 (C-1); 23,8 a 33,2 (CH_2 alifáticos); 46,8 (C18); 59,5 (C-20, C-21 e C-22); 67,9 (C-19); 69,3 (C-12); 116,1 (C-14 e C-15); 125,1 (C-23); 132,9 (C-14,C-15); 161,6 (C-13).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{42}\text{ClNO}_4$ 430,2724; encontrado 430,2720 (M-H).

Cloreto de 1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)-*N*-[4-(tetradeciloxi)benzil]propan-2-amínio (26g)



IV (KBr); (ν, cm^{-1}): 3336 (OH); 3055 (NH); 2919 (CH_{arom}); 2848 (CH_{alif}); 1244 (C-N); 1050 (C-O).

RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,90 (3H, t, $J = 6,6$ Hz, H-1); 1,29-1,48 (22H, m, H-2 a H-12); 1,77 (2H, m, H-13); 3,79 (6H, s, H-23, H-24 e H-25); 3,98 (2H, sl, H-14); 4,24 (s, 2H, H-14) 4,24 (2H, s, H-21); 6,95 (2H, sl, H-16, H-17); 7,44 (2H, sl, H-18, H-19).

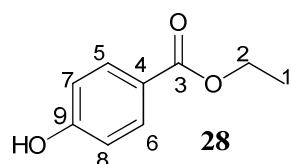
RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,6 (C-1); 23,9 a 33,2 (CH_2 alifáticos); 46,8 (C-21); 59,4 (C-23, C-24 e C-25); 67,8 (C-22); 69,3 (C-14); 116,1 (C-16 e C-17); 125,1 (C-20); 133,0 (C-18, C-19); 161,6 (C-15).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{46}\text{ClNO}_4$ 458,3037; encontrado 458,3034 (M-H).

9.4. Preparação do 4-hidroxibenzoato de etila (28)

Uma mistura de 7,2 mmol de ácido *p*-hidroxibenzóico **27** (1,0 g) dissolvido em álcool etílico (20,0 mL) e 0,3 mL de ácido sulfúrico 98% foi deixada sob refluxo por 24h. Após resfriamento neutralizou-se a reação com uma solução saturada de bicarbonato de sódio. O etanol foi evaporado sob pressão reduzida e foi realizada extração com 20,0 mL de diclorometano. A fase orgânica foi seca empregando sulfato de sódio, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, fornecendo o éster desejado de forma pura com rendimentos de 85%.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C estão no apêndice 3.



Fórmula Molecular: $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ Massa Molar: 166,06 g/mol Estado físico: sólido branco Faixa Fusão experimental: 113,6-114,9°C
--

Faixa de Fusão literatura: 112-115 °C (MAGANO *et al.*, 2006).

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm): δ 1,36 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, H-1); 4,34 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-2); 6,89 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-7, H-8); 7,93 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-5, H-6).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,6 (C-1); 61,3 (C-2); 115,6 (C-7 e C-8); 122,3 (C-4); 132,1 (C-5, C-6); 160,9 (C-9); 167,7 (C-3).

9.5. Síntese e caracterização dos ésteres alquilados 29a-g

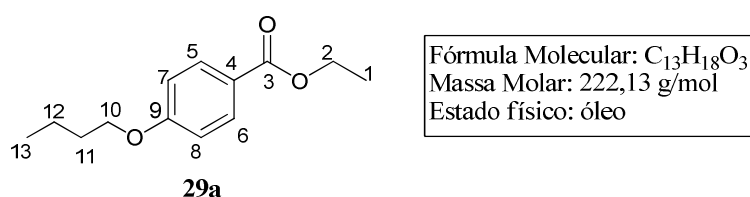
9.5.1. Procedimento geral

Uma mistura de 4-hidroxibenzoato de etila (**28**) (2,2 g, 13,0 mmol) e K_2CO_3 (3,1 g, 26,0 mmol) em 20 mL de DMF (HASEGAWA *et al.*, 2005) foi agitada a 70°C por 1 hora. Em seguida, o haleto de alquila (20 mmol) e KI (0,9 g, 6,5 mmol) foram adicionados e a reação ficou sob agitação e aquecimento por mais 24 horas. A reação foi monitorada através de CCD (Hexano/AcOEt 7,0/3,0 %v/v). O solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida e o resíduo foi diluído com 30,0 mL de água e extraído 3 vezes com 20,0 mL de éter etílico. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, filtradas e concentradas sob pressão reduzida. Os óleos obtidos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel (eluente: AcOEt/Hexano).

9.5.2. Caracterização dos ésteres alquilados **29a-g**

Os dados físico-químicos e espectrométricos dos ésteres alquilados **29a-g** estão descritos a seguir. No apêndice 4 encontram-se disponíveis seus respectivos espectros.

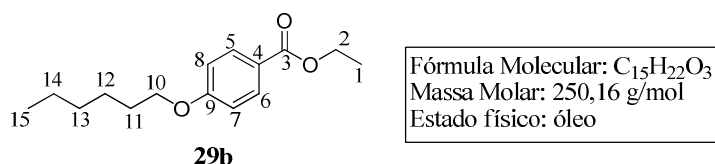
4-butoxibenzoato de etila (**29a**)



RMN de 1H ($CDCl_3$; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,97 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H, H-13); 1,35 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H, H-1); 1,47 (sex, $J = 7,5$ Hz, 2H, H-12); 1,73 (qui, $J = 7,5$ Hz, 2H, H-11); 3,98 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, H-10); 4,29 (q, $J = 6,9$ Hz, 2H, H-2); 6,91 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-5, H-6); 7,92 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-7, H-8).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,3 (C-13); 14,8 (C-1); 20,3 (C-12); 32,5 (C-11); 61,9 (C-2); 69,1 (C-10); 115,3 (C-7; C-8); 123,7 (C-4); 132,6 (C-5; C-6); 164,7 (C-9); 168,1 (C-3).

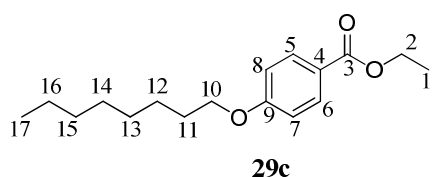
4-(hexiloxi)benzoato de etila (**29b**)



RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,89 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H, H-15); 1,30 - 1,45 (m, 9H, CH_2 alifáticos e H-1); 1,73 (qui, $J = 6,0$, 2H, H-11); 3,95 (t, $J = 6,0$, 2H, H-10); 4,29 (q; $J = 7,2$ Hz, 2H, H-2); 6,91 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-5, H-6); 7,92 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-7, H-8).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,5 (C-15); 14,8 (C-1); 23,8 (C-14); 26,9 (C-13); 30,3 (C-12); 32,8 (C-11); 61,8 (C-2); 69,4 (C-10); 115,3 (C-7; C-8); 123,7 (C-4); 132,6 (C-5; C-6); 164,6 (C-9); 168,0 (C-3).

4-(octiloxi)benzoato de etila (29c)

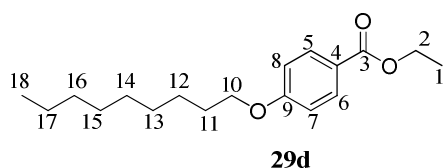


Fórmula Molecular: $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_3$ Massa Molar: 278,19 g/mol Estado físico: óleo

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,88 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, H-17); 1,25 a 1,44 (m, 13H, CH_2 alifáticos e H-1); 1,73 (qui, $J = 6,6$, 2H, H-11); 3,95 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-10); 4,29 (q, $J = 6,9$ Hz, 2H, H-2); 6,90 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-5, H-6); 7,92 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-7, H-8).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,3 (C-17), 14,8 (C-1), 23,8 - 32,1 (CH_2 alifáticos); 61,8 (C-2); 69,4 (C-10); 115,3 (C-7; C-8); 123,7 (C-4); 132,6 (C-5; C-6); 164,6 (C-9); 168,0 (C-3).

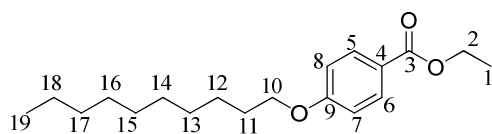
4-(noniloxi)benzoato de etila (29d)



Fórmula Molecular: $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_3$ Massa Molar: 292,20 g/mol Estado físico: óleo

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,86 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H, H-18); 1,25 a 1,45 (m, 15H, CH_2 alifáticos e H-1); 1,76 (qui, $J = 7,0$, 2H, H-11); 3,96 (t, $J = 7,0$, 2H, H-10); 4,29 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-2); 6,86 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-5, H-6); 7,96 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H; H-7, H-8).

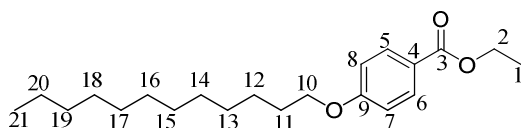
RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,3 (C-18), 14,6 (C-1), 22,8 - 32,0 (CH_2 alifáticos); 60,7 (C-2); 68,4 (C-10); 114,2 (C-7; C-8); 122,9 (C-4); 131,7 (C-5; C-6); 163,1 (C-9); 166,6 (C-3).

4-(deciloxi)benzoato de etila (29e)**29e**

Fórmula Molecular: C₁₉H₃₀O₃
 Massa Molar: 306,22 g/mol
 Estado físico: óleo

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ(ppm): δ 0,86 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, H-19); 1,25 a 1,45 (m, 17H, CH₂ alifáticos e H-1); 1,77 (qui, *J* = 6,6 Hz, 2H, H-11); 3,97 (t, *J* = 6,6, 2H, H-10); 4,32 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H, H-2); 6,87 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H-5, H-6); 7,96 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H-7, H-8).

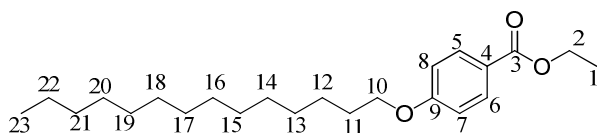
RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ(ppm): δ 14,3 (C-19); 14,6 (C-1); 22,9 - 32,1 (CH₂ alifáticos); 60,7 (C-2); 68,4 (C-10); 114,2 (C-7; C-8); 122,9 (C-4); 131,7 (C-5; C-6); 163,1 (C-9); 166,6 (C-3).

4-(dodeciloxi)benzoato de etila (29f)**29f**

Fórmula Molecular: C₂₁H₃₄O₃
 Massa Molar: 334,25 g/mol
 Estado físico: óleo

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ(ppm): δ 0,86 (t, *J* = 6,3 Hz, 3H, H-21); 1,24 a 1,42 (m, 21H, CH₂ alifáticos e H-1); 1,72 a 1,79 (m, 2H, H-11); 3,92 a 3,99 (m, 2H, H-10); 4,25 a 4,35 (m, 2H, H-2); 6,87 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-5, H-6); 7,96 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-7, H-8).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ(ppm): δ 14,3 (C-21); 14,6 (C-1); 22,9 - 32,1 (CH₂ alifáticos); 60,8 (C-2); 68,4 (C-10); 114,2 (C-7; C-8); 122,9 (C-4); 131,7 (C-5; C-6); 163,1 (C-9); 166,6 (C-3).

4-(tetradeciloxi)benzoato de etila (29g)**29g**

Fórmula Molecular: C₂₃H₃₈O₃
 Massa Molar: 362,55 g/mol
 Estado físico: óleo

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ(ppm): δ 0,86 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, H-23); 1,24 a 1,39 (m, 25H, CH₂ alifáticos e H-1); 1,77 (m, 2H, H-11); 3,97 (t, *J* = 6,6, 2H, H-10); 4,31 (m, 2H, H-2); 6,87 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-5, H-6); 7,96 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-7, H-8).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,3 (C-23); 14,6 (C-1); 22,8 - 32,1 (CH_2 alifáticos); 60,8 (C-2); 68,4 (C-10); 114,2 (C-7; C-8); 122,9 (C-4); 131,7 (C-5; C-6); 163,1 (C-9); 166,6 (C-3).

9.6. Síntese e caracterização dos ácidos carboxílicos alquilados 30a-g

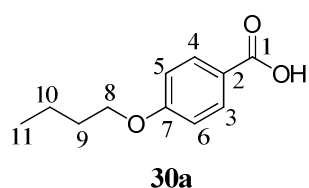
9.6.1. Procedimento geral

Uma solução de éster etílico alquilado (14,0 mmol) e hidróxido de potássio (14,0 mmol) em etanol foram agitados sob refluxo por 12h. Após neutralização com uma solução de HCl 4,0M o meio reacional foi extraído 3 vezes com 20,0 mL de CH_2Cl_2 . As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio, filtradas e concentradas sob pressão reduzida até a formação de um precipitado branco. Esse precipitado foi filtrado e lavado com hexano, fornecendo os ácidos carboxílicos **30a-g** desejados em rendimentos quantitativos.

9.6.2. Caracterização dos ácidos carboxílicos alquilados 30a-g

Os dados físico-químicos e espectrométricos dos ácidos carboxílicos alquilados **30a-g** estão descritos a seguir. No apêndice 5 encontram-se disponíveis seus respectivos espectros.

Ácido 4-(butoxi)benzóico (30a)

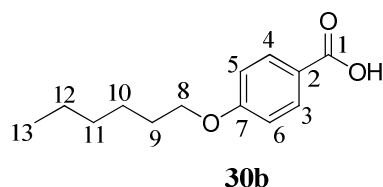


Fórmula Molecular: $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$ Massa Molar: 194,09 g/mol Estado físico: sólido branco
--

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,98 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H, H-11); 1,44 a 1,57 (m, 2H, H-10); 1,76 (qui, $J = 6,5$ Hz, 2H, H-9); 3,99 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, H-8); 6,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H-5, H-6); 7,88 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H-3, H-4).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ (ppm): δ 14,3 (C-11); 20,4 (C-10); 32,6 (C-9); 68,9 (C-8); 114,5 (C-5, C-6); 131,4 (C-2); 132,2 (C-3, C-4); 162,6 (C-7); 175,6 (C-1).

Ácido 4-(hexiloxi)benzóico (30b)

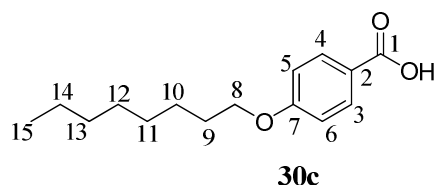


Fórmula Molecular: C ₁₃ H ₁₈ O ₃ Massa Molar: 222,13 g/mol Estado físico: sólido branco
--

RMN de ¹H (CD₃OD; 300 MHz) δ(ppm): δ 0,92 (sl, 3H, H-13); 1,36 a 1,48 (m, 6H, CH₂ alifáticos); 1,76 (sl, 2H, H-9); 3,99 (sl, 2H, H-8); 6,84 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H, H-5, H-6); 7,88 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H, H-3, H-4).

RMN de ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) δ(ppm):δ 14,5 (C-13); 23,8 (C-12); 26,9 (C-11); 30,5 (C-10); 32,6 (C-9); 69,2 (C-8); 114,5 (C-5, C-6); 131,5 (C-2); 132,2 (C-3, C-4); 162,6 (C-7); 175,6 (C-1).

Ácido 4-(octiloxi)benzóico (30c)

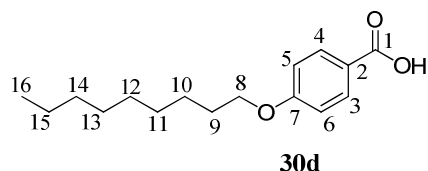


Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₂₂ O ₃ Massa Molar: 250,33 g/mol Estado físico: sólido branco
--

RMN de ¹H (CD₃OD; 300 MHz) δ(ppm): δ 0,89 (sl, 3H, H-15); 1,31 a 1,47 (m, 10H, CH₂ alifáticos); 1,78 (qui, *J* = 6,5 Hz, 2H, H-9); 4,03 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, H-8); 6,95 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-5, H-6); 7,95 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-3, H-4).

RMN de ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) δ(ppm):δ 14,5 (C-15); 23,8-33,1 (CH₂ alifáticos); 69,5 (C-8); 115,3 (C-5, C-6); 123,9 (C-2); 132,9 (C-3, C-4); 164,7 (C-7); 170,1 (C-1).

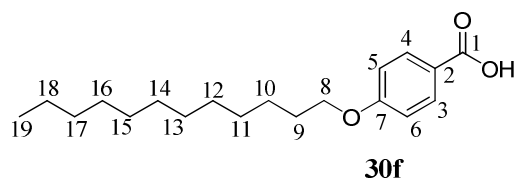
Ácido 4-(noniloxi)benzóico (30d)



Fórmula Molecular: C ₁₆ H ₂₄ O ₃ Massa Molar: 264,17 g/mol Estado físico: sólido branco
--

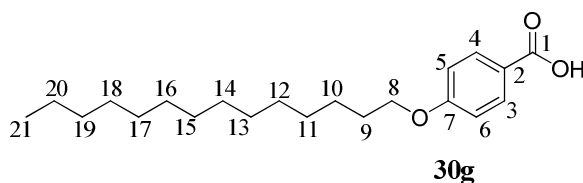
RMN de ¹H (CD₃OD; 300 MHz) δ(ppm): δ 0,90 (sl, 3H, H-16); 1,32 a 1,48 (m, 12H, H-10 a H-15); 1,76 (sl, 2H, H-9); 3,99 (sl, 2H, H-8); 6,85 (sl, 2H, H-5, H-6); 7,89 (sl, 2H, H-3, H-4).

RMN de ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) δ(ppm):δ 14,5 (C-16); 23,8-33,2 (CH₂ alifáticos); 69,2 (C-8); 114,5 (C-5, C-6); 131,4 (C-2); 132,2 (C-3, C-4); 162,6 (C-7); 175,6 (C-1).

Ácido 4-(dodeciloxi)benzóico (30f)

Fórmula Molecular: C ₁₉ H ₃₀ O ₃ Massa Molar: 306,22 g/mol Estado físico: sólido branco
--

RMN de ¹H (TFA; 300 MHz) δ(ppm): δ 0,86 (t, *J* = 4,5 Hz, 3H, H-19); 1,29 a 1,51 (m, 18H, H-10 a H-18); 1,85 – 1,91 (m, 2H, H-9); 4,23 – 4,25 (m, 2H, H-8); 7,08 (d, 2H, *J* = 8,0 Hz, H-5 e H-6); 8,12 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H-3 e H-4).

Ácido 4-(tetradeciloxi)benzóico (30g)

Fórmula Molecular: C ₂₁ H ₃₄ O ₃ Massa Molar: 334,25 g/mol Estado físico: sólido branco
--

RMN de ¹H (CD₃OD; 300 MHz) δ(ppm): δ 0,91 (sl, 3H, H-21); 1,29 a 1,50 (m, 22H, H-10 a H-20); 1,77 (sl, 2H, H-9); 3,99 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H, H-8); 6,85 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, H-5 e H-6); 7,89 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, H-3 e H-4).

9.7.Procedimento geral para a síntese dos cloretos de ácido 31a-g

Ao ácido carboxílico alquilado (17,7 mmol) dissolvido em tolueno anidro (20,0 mL) foram adicionados algumas gotas de DMF e cloreto de oxalila (26,4 mmol) (REZENDE JÚNIOR, 2010). A reação ocorreu inicialmente a 0°C e foi deixada sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas, quando se observou total solubilização e formação de uma solução amarela. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida, fornecendo os cloretos de ácido **31a-g** que foram utilizados imediatamente na síntese das amidas **32a-g**.

9.8.Síntese e caracterização das amidas 32a-g e 42**9.8.1. Procedimento geral para a síntese das amidas 32a-g e 42**

O haleto de acila, obtido a partir de 4,0 mmol de ácido carboxílico, foi dissolvido em 10,0 mL de DMA foram adicionados Tris (4,0 mmol) e K_2CO_3 (8,0 mmol). A reação foi agitada a 60°C por 72 horas. Verificou-se o término da reação por CCD (Hexano/Acetona 1,0/1,0 % v/v). O meio reacional foi resfriado e filtrado, seguido da adição de 10,0 mL de acetona. O precipitado branco foi filtrado e a água-mãe foi deixada na geladeira por 24h, havendo mais precipitação. Após uma nova filtração a água-mãe foi concentrada sob pressão reduzida e adicionou-se mais 5,0 mL de acetona. Novamente a mistura foi deixada na geladeira por 24h. Esse processo foi repetido até não haver mais precipitação.

Os compostos assim obtidos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica usando um gradiente de CH_2Cl_2 e MeOH.

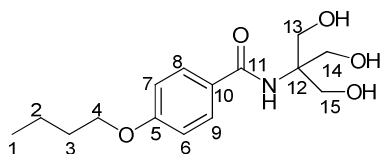
Tabela 19. Estequiometria e rendimentos obtidos na síntese das amidas alquiladas derivadas do Tris.

Compostos	Cloreto de ácido	Tris	K_2CO_3	Rend. (%)
32a	28a (0,8g - 4,0mmol)	0,5g (4,0 mmol)	1,1g (8,0 mmol)	66
32b	28b (0,9g - 4,0mmol)	0,5g (4,0 mmol)	1,1g (8,0 mmol)	60
32c	28c (0,5g - 4,0mmol)	0,5g (4,0 mmol)	1,1g (8,0 mmol)	65
32d	28d (1,1g - 4,0mmol)	0,5g (4,0 mmol)	1,1g (8,0 mmol)	70
32e	28e (1,2g - 4,0mmol)	0,5g (4,0 mmol)	1,1g (8,0 mmol)	76
32f	28f (1,2g - 4,0mmol)	0,5g (4,0 mmol)	1,1g (8,0 mmol)	69
32g	28g (1,3g - 4,0mmol)	0,5g (4,0 mmol)	1,1g (8,0 mmol)	87
42	34 (0,6g - 4,0mmol)	0,5g (4,0 mmol)	1,1g (8,0 mmol)	51

9.8.2. Caracterização das amidas 32a-g e 42

A caracterização foi realizada através da determinação da faixa de fusão e através de técnicas espectroscópicas como IV, RMN de 1H e ^{13}C e espectroscopia de massas. A seguir, encontra-se a descrição desses dados espectroscópicos e no apêndice 6 apresentam-se os espectros da série de compostos **32a-g** e **42**.

4-butoxi-N-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]benzamida (32a)



32a

Fórmula Molecular: C₁₅H₂₃NO₅
 Massa Molar: 297,16 g/mol
 Aspecto físico: sólido branco
 Faixa Fusão: 131,2-132,9 °C

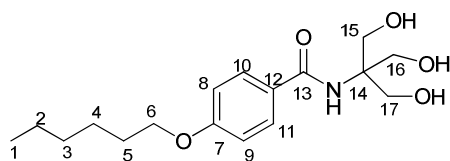
IV (KBr) (v,cm⁻¹): 3278 (OH e NH); 2945 (CH_{arom}); 2883 (CH_{alif}); 1633 (C=O); 1259 (C-N).

RMN de ¹H (CD₃OD; 300 MHz) δ (ppm): 0,98 (3H; t, *J* = 6,0 Hz, H-1); 1,52 (2H, m, H-2); 1,76 (2H, qui, *J* = 6,9 Hz, H-3); 3,83 (6H, s, H-13, H-14 e H-15); 4,02 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-4); 6,95 (2H, d, *J* = 8,7 Hz, H-6,H-7); 7,76 (2H, d, *J* = 8,7 Hz, H-8,H-9).

RMN de ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) δ (ppm): 14,3 (C-1); 20,4 (C-2); 32,5 (C-3); 62,9 (C-13, C14 e C15); 63,8 (C-12); 69,1 (C-4); 115,4 (C-6 e C-7); 128,0 (C-10); 130,3 (C-8,C-9); 163,7 (C-5); 170,8 (C-11).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para C₁₅H₂₂NO₅ 296,1498; encontrado 296,1494 (M-H).

***N*-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]-4-(hexiloxi) benzamida (32b)**



32b

Fórmula Molecular: C₁₇H₂₇NO₅
 Massa Molar: 325,19 g/mol
 Aspecto físico: sólido branco
 Faixa Fusão: 124,7-125,9°C

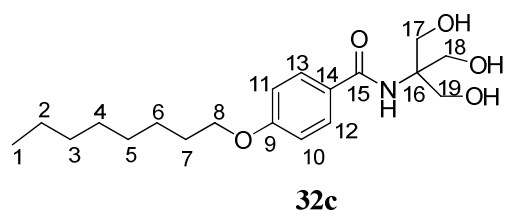
IV (KBr) (v,cm⁻¹): 3282 (OH e NH); 2941 (CH_{arom}); 2872 (CH_{alif}); 1637 (C=O); 1258 (C-N) cm⁻¹.

RMN de ¹H (CD₃OD; 300 MHz) δ(ppm): 0,91 (3H, sl, H-1); 1,34 a 1,46 (6H, m, CH₂ alifáticos); 1,76 (2H, m, H-5); 3,82 (6H, s, H15, H16 e H17); 3,99 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-4); 6,94 (2H, d, *J* = 7,0 Hz, H-8, H-9); 7,75 (2H, d, *J* = 7,0 Hz, H-10, H-11).

RMN de ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) δ(ppm): 14,5 (C-1); 23,8 (C-2); 26,9 (C-3); 30,4(C-4); 32,9 (C5); 62,9 (C15, C16 e C17); 63,8 (C-14); 69,4 (C-6); 115,4 (C-8 e C-9); 128,0 (C-12); 130,3 (C-10,C-11); 163,7 (C-7); 170,8 (C-13).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para C₁₇H₂₆NO₅ 324,1811; encontrado 324,1816 (M-H).

***N*-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]-4-(octiloxi) benzamida (32c)**



Fórmula Molecular: C ₁₉ H ₃₁ NO ₅ Massa Molar: 353,22 g/mol Aspecto físico: sólido branco Faixa Fusão: 133.1-134.2°C
--

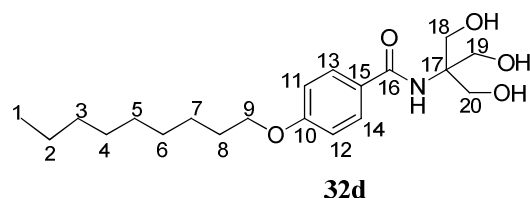
IV (KBr) (v,cm⁻¹): 3289 (OH e NH); 2917 (CH_{arom}); 2858 (CH_{alif}); 1633 (C=O); 1249 (C-N) cm⁻¹.

RMN de ¹H (CD₃OD; 300 MHz) δ(ppm): 0,87 (t, *J* = 6.5 Hz, 3H, H-1); 1,32 a 1,53 (10H, m, CH₂ alifáticos); 1,79 (qui, *J* = 6,5 Hz, 2H, H-7); 3,84 (6H, s, H-17, H-18 e H-19); 4,02 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, H-8); 6,96 (2H, d, *J* = 8,7 Hz, H-10,H-11); 7,77 (2H, d, *J* = 8,7 Hz, H-12, H-13).

RMN de ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) δ(ppm): 14,6 (C-1); 23,8 - 33,1 (CH₂ alifáticos); 62,9 (C17, C18 e C19); 63,8 (C-16); 69,4 (C-8); 115,4 (C-10 e C-11); 128,0 (C-14); 130,4 (C-12,C-13); 163,7 (C-9); 170,8 (C-15).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para C₁₉H₃₀NO₅ 352,2124; encontrado 352,2141 (M-H).

***N*-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]-4-(nonaloxi) benzamida (32d)**



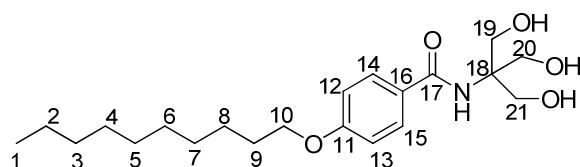
Fórmula Molecular: C ₂₀ H ₃₃ NO ₅ Massa Molar: 367,24 g/mol Aspecto físico: sólido branco Faixa Fusão: 140,2-141,0 °C

IV (KBr) (v,cm⁻¹): 3278 (OH e NH); 2930 (CH_{arom}); 2858 (CH_{alif}); 1633 (C=O); 1254 (C-N) cm⁻¹.

RMN de ¹H (DMF; 300 MHz) δ(ppm): 0,87 (t, *J* = 6,3 Hz, 3H, H-1); 1,27 a 1,47 (m, 12H, CH₂ alifáticos); 1,77 (m, 2H, H-8); 3,84 (s, 6H, H-18, H-19 e H-20); 4,07 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H, H-9); 5,17 (sl, 3H, OH); 7,02 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H-11,H-12); 7,45 (sl, 1H, NH); 7,89 (2H, d, *J* = 8,52 Hz, H-13, H-14).

RMN de ¹³C (DMF; 75 MHz) δ(ppm): 13,8 (C-1); 22,7 - 35,7 (CH₂ alifáticos); 62,1 (C-18, C-19 e C-20); 63,3 (C-17); 68,3 (C-9); 114,2 (C-11 e C-12); 127,4 (C-15); 129,4 (C-13,C-14); 162,5 (C-10); 167,8 (C-16).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para C₂₀H₃₂NO₅ 366,2280; encontrado 366,2270 (M-H).

4-(deciloxi)-*N*-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il] benzamida (32e)

32e

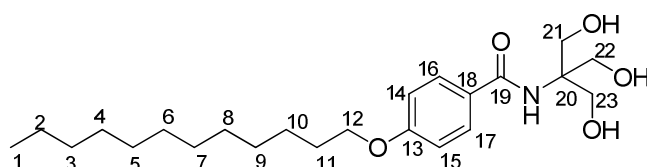
Fórmula Molecular: C ₂₁ H ₃₅ NO ₅ Massa Molar: 381,25 g/mol Aspecto físico: sólido branco Faixa Fusão: 140,2-141,0 °C

IV (KBr) (ν , cm⁻¹): 3283 (OH e NH); 2935 (CH_{arom}); 2848 (CH_{alif}); 1627 (C=O); 1243 (C-N) cm⁻¹.

RMN de ¹H (CD₃OD; 300 MHz) δ (ppm): 0,89 (t, $J = 6,3$ Hz, 3H, H-1); 1,30 a 1,48 (m, 14H, CH₂ alifáticos); 1,78 (q, $J = 6,9$ Hz, 2H, H-9); 3,83 (s, 6H, H-19, H-20 e H-21); 4,02 (t, $J = 6,3$ Hz, 2H, H-10); 6,95 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H; H-11, H-12); 7,77 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-14, H-15).

RMN de ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) δ (ppm): 14,6 (C-1); 23,9 - 33,2 (CH₂ alifáticos); 62,9 (C-19, C-20 e C-21); 63,8 (C-18); 69,4 (C-10); 115,4 (C-12 e C-13); 128,0 (C-16); 130,3 (C-14, C-15); 163,7 (C-11); 170,8 (C-17).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para C₂₁H₃₄NO₅ 380,2437; encontrado 380,2427 (M-H).

4-(deciloxi)-*N*-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il] benzamida (32f)

32f

Fórmula Molecular: C ₂₃ H ₃₉ NO ₅ Massa Molar: 409,28 g/mol Aspecto físico: sólido branco Faixa Fusão: 132,4- 133,4 °C
--

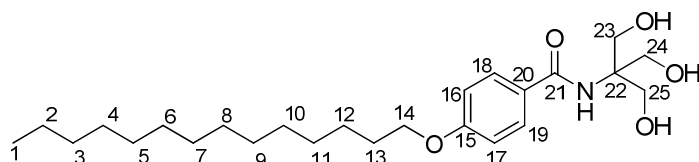
IV (KBr) (ν , cm⁻¹): 3278 (OH e NH); 2930 (CH_{arom}); 2848 (CH_{alif}); 1627 (C=O); 1243 (C-N) cm⁻¹.

RMN de ¹H (DMF; 300 MHz) δ (ppm): 0,88 (t, $J = 6,3$ Hz, 3H, H-1); 1,28 a 1,47 (m, 18H, CH₂ alifáticos); 1,78 (qui, $J = 6,0$ Hz, 2H, H-11); 3,84 (s, 6H, H-21, H-22 e H-23); 4,08 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, H-12); 5,10 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H, OH); 7,04 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-14, H-15); 7,41 (sl, 1H, NH); 7,87 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-16, H-17).

RMN de ^{13}C (DMF; 75 MHz) δ (ppm): 13,9 (C-1); 22,7 - 35,7 (CH_2 alifáticos); 62,2 (C-21, C-22 e C-23); 63,3 (C-20); 68,3 (C-12); 114,3 (C-14 e C-15); 127,5 (C-18); 129,5 (C-16,C-17); 162,6 (C-13); 167,9 (C-19).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{NO}_5$ 408,2750; encontrado 408,2730 (M-H).

***N*-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]-4-(tetradeciloxi) benzamida (32g)**



Fórmula Molecular: $\text{C}_{25}\text{H}_{43}\text{NO}_5$ Massa Molar: 437,31 g/mol Aspecto físico: sólido branco Faixa Fusão: 129,6- 130,1 °C
--

32g

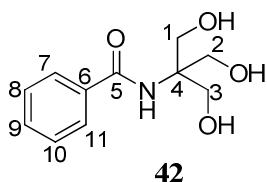
IV (KBr) (ν, cm^{-1}): 3292 (OH e NH); 2916 (CH_{arom}); 2854 (CH_{alif}); 1634 (C=O); 1267 (C-N) cm^{-1} .

RMN de ^1H (DMF; 300 MHz) δ (ppm): 0,90 (m, 3H, H-1); 1,29 a 1,48 (m, 22H, CH_2 alifáticos); 1,79 (m, 2H, H-13); 3,87 (s, 6H, H-23, H-24 e H-25); 4,09 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H; H-14); 5,14 (sl, 3H, OH); 7,04 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-16, H-17); 7,43 (sl, 1H, NH); 7,89 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-18, H-19).

RMN de ^{13}C (DMF; 75 MHz) δ (ppm): 14,7 (C-1); 23,5 - 36,5 (CH_2 alifáticos); 62,9 (C-23, C-24 e C-25); 64,1 (C-22); 69,1 (C-14); 115,2 (C-16 e C-17); 128,3 (C-20); 130,2 (C-18,C-19); 163,4 (C-15); 168,6 (C-21).

HRMS (ES-) m/z (M-H) calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{NO}_5$ 436,3063; encontrado 436,3044 (M-H).

***N*-[1,3-dihidroxi-2-(hidroximetil)propan-2-il]benzamida (42)**



Formula Molecular: $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ Massa Molar: 225,10 g/mol Aspecto Físico: Sólido Branco Faixa de Fusão: 130,7- 131,1
--

42

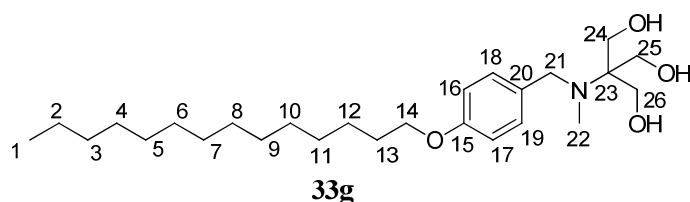
RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm): 3,86 (6H; s; H-1, H-2 e H-3); 7,42 - 7,48 (3H; m; H-8, H-9, H-10); 7,79 - 7,82 (2H; m; H-7, H-11).

RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ (ppm): 62,7 (C-1, C-2 e C-3); 63,9 (C-4); 128,4 (C-7, C-11); 129,7 (C-8, C-10); 132,9 (C-9); 136,2 (C-6); 171,2 (C-5).

9.9. Preparação e Caracterização do 2-(hidroximetil)-2-{metil[4-(tetradeciloxi)benzil]amino}propano-1,3-diol (33g)

A 1,4 mmol da amina **26g** dissolvida em 4,0 mL de metanol anidro foram adicionados 7,0 mmol de iodeto de metila e 2,8 mmol de K_2CO_3 . A reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas. O solvente e o excesso de iodeto de metila foram evaporados sob pressão reduzida. O material obtido foi purificado através de coluna cromatográfica de sílica gel (diclorometano e metanol) e obteve-se 29% de rendimento.

A seguir estão descritos os dados espectroscópicos obtidos através da análise dos espectros de RMN de 1H e ^{13}C . Os espectros do composto **33g** encontra-se no apêndice 7.



Fórmula Molecular: $C_{26}H_{47}NO_4$ Massa Molar: 437,35 g/mol Aspecto físico: óleo
--

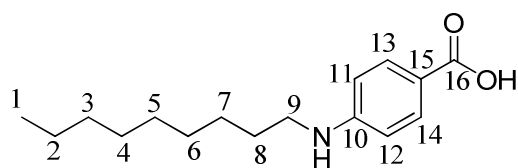
RMN de 1H (CD_3OD ; 300 MHz) δ (ppm): 0,89 (t; $J = 6,0$ Hz; 3H; H-1); 1,29 a 1,49 (m; 22H; CH_2 alifáticos); 1,76 (sl; 2H; H-13); 2,55 (s; 3H; H-22); 3,85 (s; 6H; H-24, H-25 e H-26); 3,96 (t; $J = 6,0$ Hz; 2H; H-14); 4,12 (sl; 2H; H-21), 6,91 (d; $J = 8,5$ Hz; 2H; H-16, H-17); 7,78 (d; $J = 8,5$ Hz; 2H; H-18, H-19).

RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) δ (ppm): 14,6 (C-1); 23,8 a 33,2 (CH_2 alifáticos); 35,8 (C-22); 56,5 (C-21); 61,5 (C-24, C-25, C-26); 62,4 (C-23); 69,3 (C-14); 115,8 (C-16, C-17); 132,5 (C-18, C-19); 136,5 (C-20); 160,8 (C-15).

9.10. Síntese e Caracterização do ácido 4-(nonilamino)benzóico (36d)

Uma mistura do ácido *p*-aminobenzóico **35** (0,9 g, 7,0 mmol), 1-bromononano (1,4 g, 7,0 mmol) e KI (0,6 g, 3,5 mmol) foi solubilizada em DMF e a reação deixada sob agitação e aquecimento ($70^\circ C$) por 5 horas. A reação foi monitorada através de CCD (Hexano/AcOEt 7,0/3,0 %v/v). O solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida e o resíduo foi diluído com 30,0 mL de água e extraído 3,0 vezes com 20,0 mL de éter etílico. As fases orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas sob pressão reduzida. O sólido obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (diclorometano e metanol) com rendimento de 41%.

Os espectros de RMN de 1H e ^{13}C estão no apêndice 8.

**36d**

Fórmula Molecular: C₁₆H₂₅NO₂
 Massa Molar: 263,19 g/mol
 Estado físico: sólido branco

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ(ppm): δ0,89 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H, H-1); 1,29 a 1,52 (m, 12H, H-2); 1,62 (qui, *J* = 6,6 Hz, 2H, H-8); 3,10 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H, H-9); 6,56 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-11, H-12); 7,77 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-13, H-14).

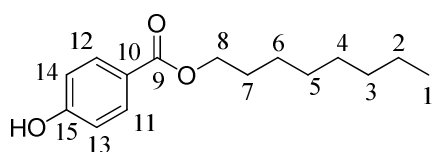
RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ(ppm): δ14,6 (C-1); 23,9 (C-2); 28,4 (C-3); 30,3 (C-4); 30,6 (C-5); 30,7 (C-6); 30,8 (C-7); 33,2 (C-8); 44,2 (C-9); 112,1 (C-11 e C-12); 117,9 (C-15); 132,9 (C-13, C-14); 154,8 (C-10); 170,9 (C-16).

9.11. Síntese e Caracterização dos compostos 39 e 40

9.11.1. Procedimento geral

Uma mistura de ácido *p*-hidroxibenzoico (**27**) (0,7 g, 5 mmol) e K₂CO₃ (1,2 g, 10 mmol) em 10 mL de DMF (HASEGAWA *et al.*, 2005) foi agitada a 70°C por 1 hora. Em seguida, o 1-clorooctano (0,7 g, 5,0 mmol) e KI (0,4 g, 2,5 mmol) foram adicionados e a reação ficou sob agitação e aquecimento por mais 24 horas. A reação foi monitorada através de CCD (Hexano/AcOEt 7,0/3,0 %v/v). O solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida e o resíduo foi diluído com 30,0 mL de água e extraído 3,0 vezes com 20,0 mL de éter etílico. As fases orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas sob pressão reduzida. O óleo obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (eluente: AcOEt/Hexano) e obteve-se os compostos **39** e **40** com 23 e 45% de rendimento respectivamente

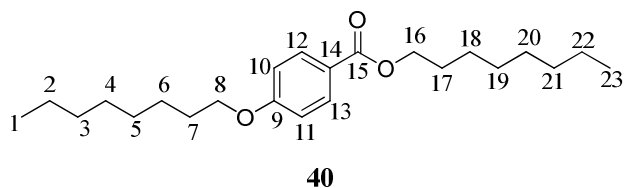
9.11.2. Caracterização do 4-hidroxibenzoato de octila (39)

**39**

Fórmula Molecular: C₁₅H₂₂O₃
 Massa Molar: 250,16 g/mol
 Estado físico: óleo amarelo

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,92 (sl, 3H, H-1); 1,30 a 1,46 (m, 10H, H-2 a H-6); 1,76 (qui, $J = 6,7$ Hz, 2H, H-7); 3,98 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, H-8); 4,27 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-16); 6,89 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-13,H-14); 7,97 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H-11, H-12).

9.11.3. Caracterização do 4-(octiloxi)benzoato de octila (40)



Fórmula Molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_3$
 Massa Molar: 362,28 g/mol
 Estado físico: óleo amarelo

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ (ppm): δ 0,90 (m, 6H, H-1, H-23); 1,30 a 1,46 (m, 20H, H-2 a H-6 e H-18 a H-22); 1,76 (qui, $J = 6,4$ Hz, 4H, H-7 e H-17); 4,31 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H, H-9); 6,93 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-12,H-13); 7,96 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-10, H-11).

9.12. Ensaio Biológicos

9.12.1. Avaliação antibacteriana através do Método de diluição em Agar

Células bacterianas foram cultivadas em Tryptic Soy Agar (TSA – Himedia laboratories, Mumbai, Índia), incubadas em condições aeróbicas a 37°C , por 24 horas. Os inóculos foram ajustados na escala de turbidez de 0.5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Com o auxílio de um swab estéril os inóculos foram disseminados na superfície das placas e após 10 minutos foram confeccionados poços de 5mm de diâmetro no Agar. Dentro destes foram adicionados 50 μL da solução a ser testada em uma concentração de 5mg/mL. Todas as placas foram incubadas sob condições aeróbicas a 37°C por 24 horas e o halo de inibição foi medido (ALVIANO *et al.*, 2008).

9.12.2. Avaliação antibacteriana através do Método de diluição em caldo

A atividade antibacteriana dos compostos sintetizados foi investigada *in vitro* usando o método de diluição em caldo. Foram usadas duas culturas puras de bactérias Gram-negativas (ATCC - American Type Culture Collection) (*Escherichia coli* ATCC 11229 e *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 27853), e duas ATCC de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228). O estudo foi realizado também com vinte e uma amostras clínicas de MRSA isoladas de pacientes do Hospital Universitário (Juiz de Fora, Brasil). Os testes foram realizados em duplicata.

Os inóculos utilizados nos testes, previamente cultivados em condições aeróbicas em TSA (Tryptic Soy Agar) a 35.5°C por 24h foram ajustados para turbidez de 0.5 McFarland (1.5×10^8 CFU/mL) com solução salina estéril (0.85% NaCl). Os compostos testados **26a-g** (20 mg) foram dissolvidos em etanol (2 mL) e os compostos **32a-g** (20 mg) foram dissolvidos em DMSO: Tween80 (2:1) (2 mL). As soluções foram diluídas em Mueller Hinton Broth para obter as concentrações de 0,0625 a 256 µg/mL, em um volume final de 3,0 mL. Nos tubos foram inoculados 100 µL da cultura bacteriana e incubados aerobicamente a 37.0°C por 24h.

O CIM foi definido como a menor concentração dos compostos testados que resultam na inibição total do crescimento bacteriano (taxa de inibição de 100%). Os experimentos foram realizados utilizando apenas solução de salina estéril inoculadas em Mueller Hinton Broth. Cloranfenicol foi utilizado como agente antimicrobiano para fins de comparação.

9.12.3. Atividade bactericida e bacteriostática

Para determinar as concentrações bactericidas foram transferidos com um auxílio de um swab estéril para uma placa de Petri contendo meio Agar Mueller Hinton (AMH – Himedia Laboratories, Mumbai, India) alíquotas das diluições selecionadas após a determinação do CIM através do método de diluição em caldo. Foram selecionadas duas diluições abaixo do CIM, a concentração relativa à CIM e duas diluições superiores ao CIM. A placa de Petri foi previamente demarcada de acordo com as posições das diluições das soluções desejadas.

A placa foi incubada em estufa sob condições aeróbicas a 37°C por 24 h. A classificação de concentração bactericida mínima foi feita a partir da menor concentração de solução do composto em análise que não permitiu o desenvolvimento dos microrganismos. Os compostos para os quais o crescimento bacteriano foi observado em todas as concentrações foram classificados como bacteriostáticos.

9.12.4. Avaliação da atividade antifúngica

A atividade inibitória foi determinada *in vitro* frente a quatro estirpes de leveduras (*Candida albicans* ATCC 18804, *Candida tropicalis* 750, *Candida parapsilosis* 22019, and *Candida glabrata* 90030).

O método usado foi o de microdiluição em caldo no formato CLSI M27-A3 e M38 A2 para orientação de experimentos com leveduras e bolores em meio RPMI 1640 com glutamina, vermelho de fenol e sem bicarbonato (KlinLab, república Checa) tamponado a pH 7,0 com 0,165M de ácido 3-morfolino-propano-1-sulfônico (Sigma-Aldrich, Alemanha). O solvente usado no preparo das soluções foi etanol. O inóculo de fungo foi preparado para obter uma concentração final de $5,0 \times 10^3 \pm 0,2$ CFU/mL. Itraconazol foi usado com droga de referência. O CIM foi determinado após 24 e 48 horas de incubação e foram determinados em duplicata.

9.12.5. Cultura celular da linhagem de macrófagos murinos J774

Para avaliar a produção de NO (óxido nítrico) bem como a viabilidade celular, foi realizada cultura de células da linhagem celular murina J774 (ATCC n°. TIB 67). Alíquotas de células J774 contidas em suspensão com DMSO em criotubos, armazenadas em um tambor de nitrogênio líquido, foram descongeladas em fluxo laminar e transferidas para tubos tipo Falcon contendo 8,0 mL de meio RPMI completo (RPMI 1640 com 5 % de soro fetal bovino, 1 % de L-glutamina, 1% de aminoácidos não essenciais e 0,5 % de penicilina-estreptomicina (GIBCO – Invitrogen, CA, USA)) para lavagem. Essas suspensões de células foram centrifugadas a 1200 RPM por 10 min em uma temperatura de 4° C; os sobrenadantes foram desprezados e os *pellets* formados foram ressuspensos em 5,0 mL de RPMI completo. O conteúdo de cada suspensão formada foi transferido para um frasco de cultura (garrafa plástica de cultura estéril) e incubado à 37° C em estufa de CO₂.

Para manutenção das células em cultura, o meio contido nos frascos foram trocados quando necessário: o meio consumido foi desprezado e 5,0 mL de meio RPMI completo, adicionado ao frasco de cultura. Quando o grau de confluência de células em um frasco foi igual ou superior 80%, as células foram coletadas e lavadas em meio RPMI completo, por centrifugação a 1200 rpm a 4°C por 10 minutos e a viabilidade determinada utilizando o corante vital Azul de Trypan (MERCK, São Paulo, SP) pela contagem em câmara de Neubauer. As células foram ressuspensas em meio RPMI completo e distribuídas em placas de 96 poços (100,0 µL/poço- NUNC) na concentração $2,0 \times 10^5$ células/poço. Em seguida, as células foram

cultivadas por 48 horas, na presença ou não dos compostos testados (100,0 µL/poço) nas diversas concentrações avaliadas.

Para avaliação da produção de Óxido Nítrico, o meio de cultura foi enriquecido com 1,0 µg/mL de lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* (Sigma) e 20,0 u/mL de IFN-γ murino recombinante (R&D systems).

9.12.6. Viabilidade Celular

A viabilidade dos macrófagos foi determinada pelo método colorimétrico do MTT (corante *Thiazol Blue Tetrazolium Bromido* – Sigma, St. Louis, MO, USA). O MTT é reduzido em células metabolicamente ativas por desidrogenases mitocondriais. Nesta reação é formado cristal de formazan, um produto de cor roxa solúvel em DMSO e em álcool ácidos.

Após 48h de cultura celular, o sobrenadante foi retirado para dosagem de óxido nítrico (NO), como descrito acima. Às células que permaneciam nos poços da placa foram adicionados 90,0 µL de meio RPMI completo e 10,0 µL de uma suspensão de MTT (Sigma Chemical, St. Louis, MO-USA) a 5,0 mg/mL. Essas suspensões celulares foram incubadas por 4 horas, à temperatura de 37° C e 5% de CO₂. Após esse período, o sobrenadante foi removido e 100,0 µL de uma solução a 0,1 M de DMSO foram adicionadas em cada poço para dissolver o formazan formado. A viabilidade celular foi quantificada pela medida da densidade óptica no comprimento de onda de 570 nm, determinada por um leitor de microplacas (Spectramax 190 – Molecular Device). A média dos valores das absorbâncias obtida nas células não tratadas foi considerada como 100 % de viabilidade.

9.12.7. Determinação da produção de NO

A produção de NO foi avaliada *in vitro* pela dosagem do seu produto de degradação mais estáveis, nitrito, pelo método colorimétrico indireto conhecido como Reação de Griess. Neste método, o nitrito, quando presente na amostra, reage com a sulfanilamida em meio ácido para formar um composto intermediário, o sal de diazônio. Em seguida, este sal reage com *N*-naftil-etilenodiamina (NED) formando um composto azo estável de coloração púrpura, podendo assim ser analisado em espectrofotômetro em comprimento de onda de 550 nm.

Foram adicionados 0,1 mL de reagente de Griess a 0,1 mL dos sobrenadantes das culturas (obtidos e processados como descrito acima). Esse reagente é constituído pela mistura de duas soluções A e B na proporção 1:1, que eram preparadas imediatamente antes do uso. A solução A

é constituída por: naftiletilenodiamino 0,1% (p/v) em ácido orto-fosfórico 5,0 % (v/v), e a solução B por sulfonamina *p*-aminobenzeno 1,0% (p/v) em ácido fosfórico 5,0 % (v/v) (MERCK BIOSCIENCES, Germany). Após o reagente de Griess reagir por 10 min a 26° C com as amostras, foi realizada a leitura em leitor de microplaca utilizando filtro de 550 nm em leitor de microplaca (SPECTRAMAX 190 – Molecular Device). Os resultados em μM foram determinados pela comparação com a curva padrão (realizada com nitrito de sódio nas concentrações de 200,0; 100,0; 50,0; 25,0; 12,5; 6,3; 3,0 e 1,5 μM).

10 Conclusões

Neste trabalho foram sintetizados quarenta e seis compostos, sendo quatorze inéditos, a saber: a série das aminas alquiladas **26a-g** e a série das amidas **32a-g**.

A série de aminas **26a-g** foi sintetizada por aminação reductiva. Entretanto, algumas modificações precisaram ser feitas devido à dificuldade de solubilização do Tris. A dificuldade maior desta síntese apresentou-se na purificação dos compostos, uma vez que a cromatografia por coluna de sílica não nos deu resultados satisfatórios (baixos rendimentos e decomposição). A alternativa encontrada foi a obtenção dos cloridratos de amina. Esses precipitam em mistura de água/ diclorometano, e são purificados através de recristalizações em acetato de etila.

Na síntese das amidas **32a-g** derivadas do ácido *p*-hidroxibenzóico, houve uma grande dificuldade para se estabelecer as condições adequadas. Inicialmente foi proposta uma síntese direta entre o Tris e os ésteres alquilados **29a-g**. Entretanto, foi necessário realizar a clivagem dos ésteres formados para obtenção dos ácidos carboxílicos **30a-g** e a síntese de cloretos de ácidos **31a-g**, devido à maior reatividade destes haletos frente ao ataque nucleofílico.

A proposta de metilação das aminas previamente sintetizadas para obtenção dos sais quaternários **33a-g** também não foi atingida. O agente alquilante empregado foi o iodeto de metila. Apenas uma metila foi incorporada às estruturas das aminas usadas como material de partida, mesmo com excesso de iodeto de metila e o uso de diferentes bases.

Foi realizada a tentativa de síntese de amidas alquiladas derivadas do ácido *p*-aminobenzóico (**38a-g**). Entretanto, a síntese só se mostrou efetiva frente a *N*-alquilação do ácido *p*-aminobenzóico (**36d**). A etapa de formação do haleto de acila não foi eficiente, uma vez que não foi observada a síntese das amidas almeçadas.

A atividade antibacteriana foi testada para os compostos **26a-g** e **32a-g** frente a bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*), além de bactérias *S. aureus* metilino resistente (MRSA) isoladas de pacientes do Hospital Universitário de Juiz de Fora. A série de amidas **32a-g** não apresentou atividade antibacteriana contra as ATCC's e não foram testados contra MRSA, fungos, citotoxicidade e produção de NO devido à dificuldade de solubilização destes compostos. As aminas **26a-g** apresentaram resultados promissores, principalmente com relação às bactérias Gram-positivas (CIM = 2,0-1024,0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). O melhor resultado foi para **26g** com CIM = 2,0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ contra *S. aureus* e *S. epidermidis*. Os compostos **26c-g** apresentaram-se mais efetivos que o cloranfenicol. As substâncias com cadeias alifáticas menores (**26a** e **26b**) foram as que se apresentaram menos ativas. Através dos resultados

antibacterianos, pode ser estabelecida uma forte correlação entre lipofilicidade dos compostos e a atividade biológica.

Os resultados dos testes antifúngicos também foram muito animadores quando comparados aos resultados do padrão utilizado (Itraconazol). Os compostos **26e** e **26f** foram os mais ativos, com CIM entre 2,0 e 8,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. De forma similar aos testes antibacterianos, os aminoalcoois **26a** e **26b** também se apresentaram menos ativos contra os fungos testados. Entretanto, o composto **26g**, com maior cadeia lipofílica, mostrou perda de atividade neste teste quando comparado com os resultados de **26e** e **26f**.

A partir dos resultados dos testes de citotoxicidade, observa-se que os compostos **26c-e** não são citotóxicos em concentrações inferiores a 10,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Nota-se que este valor é superior a muitos resultados de CIM obtidos nas avaliações contra bactérias e fungos. Isto torna esses compostos promissores na busca de novas substâncias ativas contra esses microorganismos.

Na concentração de 10,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, os compostos **26c-g** apresentaram forte inibição na produção de NO. A viabilidade celular destes compostos está sendo testada em concentrações intermediárias a 10,0 e 25,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Os resultados obtidos nesse estudo incentivam à pesquisa mais aprofundada dos compostos contra atividade anti-inflamatória.

A partir da análise *in silico* dos parâmetros ADMET é possível inferir que os compostos não apresentam problemas de biodisponibilidade oral, bem como apresentam boa permeabilidade na membrana celular, já que os valores obtidos para PSA é inferior a 140 \AA^2 . Todos os compostos apresentaram baixo risco frente aos efeitos mutagênicos, tumorigênico, irritante e de reprodução, exceto **26c** e **32b** que apresentaram alto risco tumorigênico e irritante, respectivamente. Os compostos **26a-g** e **32a-g** apresentam potencial frente a diversas atividades biológicas, o que torna imprescindível a continuidade dos estudos biológicos desses compostos.

Os compostos **26a-g** apresentaram resultados biológicos satisfatórios, mesmo apresentando uma síntese relativamente simples. A purificação por recristalização é um fator vantajoso do ponto de vista econômico e ambiental. Pode-se citar também a vantagem de serem solúveis em diversos solventes orgânicos, como metanol, etanol e DMSO, além de apresentarem solubilidade moderada em água.

Com relação os testes físico-químicos, não foi possível determinar a CMC a partir destes experimentos iniciais. A determinação da CMC de substâncias tensoativas é de grande relevância para o estudo de várias propriedades termodinâmicas, porém essa determinação nem sempre é fácil de ser realizada. A formação de espuma das soluções aquosas dos compostos **26a-g** é um forte indício de que se trata de substâncias com propriedades surfactantes. É possível que a faixa

de concentração estudada esteja acima da CMC dos compostos, uma vez que não se observou variação brusca de nenhum dos parâmetros investigados. Logo, a fim de encontrar a CMC destes compostos, estudos com diferentes concentrações continuam sendo realizados a partir das mesmas técnicas citadas anteriormente.

A partir do desenvolvimento desse trabalho foi possível desenvolver um conhecimento entre várias áreas da ciência. Propiciou o aprendizado teórico e prático em síntese orgânica, como a utilização e interpretação de diversas técnicas espectroscópicas necessárias para a caracterização dos compostos sintetizados. A realização dos ensaios biológicos é de grande importância na síntese orgânica, uma vez que o conhecimento destes métodos além de gerar maior autonomia na obtenção dos resultados auxilia na melhor interpretação dos mesmos. Os testes físico-químicos, apesar de não terem apresentado resultados imediatos relativos à CMC, proporcionaram uma visão mais abrangente da química presente no trabalho.

11 Referências

ABDEL-MAGID, A. F.; CARSON, K. G.; HARRIS, B. D.; MARYANOFF, C. A.; SHAH, R. D.; Reductions in organic synthesis. **The Journal of Organic Chemistry**, 1996, 61, 3849-3862.

ADACHI, K.; KOHARA, N.; NAKAO, M., ARITA, M.; CHIBA, K.; MISHINA, T.; SASAKI, S.; FUJITA, T.; Design, synthesis, and structure-activity relationships of 2-substituted-2-amino-1,3-propanediols: discovery of a novel immunosuppressant, FTY720. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letter**, 1995, 5, 853-856.

ALCÂNTARA, A. F. C.; PILÓ-VELOSO, D.; Redução de amidas por Boranos. **Química nova**, 1993, 16, 3.

ALMEIDA, C. G.; REIS, S. G.; ALMEIDA, A. M.; DINIZ, C. G.; DA SILVA, V. L.; LE HYARIC, M.; Synthesis and Antibacterial Activity of Aromatic and Heteroaromatic Amino Alcohols. **Chem Biol Drug Des**, 2011, 78, 876-880.

ALMEIDA, C. G.; “**Síntese de aminoálcoois e amins derivados do furano e do tiofeno com potencial ação imunossupressora e antimicrobiana.**”, 2010. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora.

ALMEIDA, M. V.; LE HYARIC, M.; AMARANTE, G.; SILVA LOURENÇO, M. C.; LIMA BRANDÃO, M. Synthesis of amphiphilic galactopyranosyl diamines and amino alcohols as antitubercular agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2008, v. 42, p. 1076-1083.

ALVIANO, W. S.; ALVIANO, D. S.; DINIZ, C. G.; ANTONIOLLI, A. R.; ALVIANO, C. S.; FARIAS, L. M.; CARVALHO, M. A. R.; SOUZA, M. M. G.; BOLOGNESE, A. M.; In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. **Archives Oral of Biology**, 2008, 53, 6, 545-552.

ANWAR, M. S.; BOKHARI, S. R.; Treatment response in HCV related chronic hepatitis. **Journal of College of Physicians and Surgeons Pakistan**, 2003, 13, 1, 3-6.

BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; JÚNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M.; Surfactin: chemical, technological and functional properties for food applications. **Química Nova**, 2007, 30, 2, 409-414.

BAZITO, R. C.; “**Novos tensoativos derivados da 2-D-glucosamina.**”, 2001. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo.

BANAT, I. M.; MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S.; Potential commercial applications of microbial surfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2000, 53, 5, 495-508.

BANSOD, S.; RAI, M.; **World Journal of Medical Sciences**, 2008, 3, 2, 81-88.

BAROON, C.; THOMPSON, T.E.; Antifungal Activity of Essential Oils from Indian Medicinal Plants Against Human Pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*, **Biochimica et Biophysica Acta**, 1975, 382, 276.

BOSCH, J.; FURLAN, A.; COLOMBO, F.; KOVER, A.; ISSALY, N.; TINTORI, C.; ANGELI, L.; LEROUX, V.; LETARD, S.; AMAT, M.; ASSES, Y.; MAIGRET, B.; DUBREUIL, P.; BOTTA, M.; DONO, R.; Identification of new aminoacid amides containing the imidazo[2,1-b]benzothiazol-2-ylphenyl moiety as inhibitors of tumorigenesis by oncogenic Met signaling. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2012, v.47, p. 239 - 254.

BORCH, R. F.; BERNSTEIN, M. D.; DURST, H. D.; The cyanohidridoborate anion as a selective reducing agent. **Journal of the American Chemical Society**, 1971, 93, 2897-2904.

BRANDÃO, M. S. G.; Substâncias Tensoativas. **Biotecnologia Ciência e desenvolvimento**, 1999, ano II, 8.

BROWN, H. C.; HEIM, P.; Selective reductions. XVIII. Fast reaction of primary, secondary, and tertiary amides with diborane. Simple, convenient procedure for the conversion of amides to the corresponding amines. **The Journal of Organic Chemistry**; 1973, 38, 912.

CANDAU, S. J.; ZANA, R.; **Surfactant Solutions: new Methods of Investigation**. New York: Marcel Dekker, 1987.

CHALLIS, M. A.; **The Chemistry Amides**; Wiley: New York, 1970.

CHANDRU, H.; BETTADAIAH, B. K.; KUMAR, C. S. A.; RANGAPPA, K. S.; JAYASHREE K.; In vivo growth inhibitory and anti-angiogenic effects of synthetic novel dienone cyclopropoxy curcumin analogs on mouse Ehrlich ascites tumor. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2007, 15, 7696-7703.

CHOPRA, I.; Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus: concerns, causes and cures. **Expert Rev Anti Infect Ther**, 2003, 1, 45-55.

CLAYDEN, J., GREEVES, N., WARREN, S. AND WOTHERS, P.; **Organic Chemistry**. Oxford University Press, 2001.

COLOMBO, A. L.; ALVES, S. H.; **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, V.; **Substâncias carboniladas e derivados**. Porto Alegre: Bookman, 2005.

DALTIN, D. **Tensoativos: Química, Propriedades e Aplicações**. São Paulo: Blucher, p.12, 2011.

DAVERIO, P.; ZANDA, M.; Enantioselective reductions by chirally modified alumino- and Borohydrides. **Tetrahedron: Asymmetry**, 2001, 12, 2225.

DE SOUZA, M. V. N.; Synthesis of aminoalcohols from D-mannitol. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, 2006,12, 167.

D'OCA, C. D. R. M.; LOPES C. R.; DUARTE, R. C.; KURZ, M. H. S.; PRIMEL, E. G.; CLEMENTIN, R. M.; VILLARREYES, J. A. M.; D'OCA, M. G. M.; Síntese de novas amidas graxas a partir da aminólise de ésteres metílicos. **Química Nova**, 2010, v. 33, n. 6, p. 1335-1341.

EVANS, D. F.; WENNERSTROM, H.; **The Colloidal Domain. Where Physics, Chemistry, Biology, and Techonology Meet**. 2 ed. New York: Wiley-VCH, 1999.

FRAHM, J.; DIEKMANN, S.; HAASE, A.; Methods and importance of the separation of lipids and water in NMR tomography. **Berichte der Bunsen-Gesellschaft für Physikalische Chemie**, 1980, 84, 566.

FUJITA, T.; HIROSE, R.; HAMAMICHI, N.; KITAO, Y.; SASAKI, S.; YONETA, M.; CHIBA, K.; 2-Substituted 2-aminoethanol: minimum essential structure for immunosuppressive activity of ISP-1 (Miriocin). **Bioorganic Medicinal Chemistry Letter**, 1995, 5, 1857-1860.

GALLETTI, P.; MONTECAVALLI, A.; MORETTI, F.; PASTERIS, A.; SAMORÍ, C.; TAGLIAVINI, E.; Furan containing ammonium salts from furfural: synthesis and properties evaluation. **New Journal of Chemistry**, 2009, 33, 1859-1868.

GARETH, T.; **Química medicinal - uma introdução**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Kogan; 2003.

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J.; A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **Journal of Combinatorial Chemistry**, 1999, 1, 55-68.

GIANG, V. T.; LAHRACHE, H.; LOUPY, A.; KIM, I. J.; CHANG, D. H.; JUN, C. H.; Rh(I)-catalyzed solvent-free ortho-alkylation of aromatic imines under microwave irradiation. **Tetrahedron**, 2004, 60, 5539.

GOLD, H. S.; MOELLERING, R. C. Jr.; Antimicrobial-Drug Resistance. **The New England Journal of Medicine**, 1996, 355, 19, 1445-53.

GOMES, D. S. B.; “**Formação e caracterização de micelas reversas de (EO)₁₃(PO)₃₀(EO)₁₃ em *p*-xileno.**” 2009. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora.

GRIFFIN, W. C.; Classification of Surface Active Agents by HLB. **Journal of Cosmetic Chemistry**, 1949, 1, 311.

GRIFFIN, W. C.; Calculation of HLB values of Nonionic Surfactants. **Journal of Cosmetic Chemistry**, 1954, 5, 259.

GUIJARRO, D.; MARTÍNEZ, P. J.; NÁJERA, C.; YUS, M.; Benzylolithium from methylated benzylamine and its ammonium salt via naphthalene-catalyzed carbon-nitrogen bond reductive cleavage. **Arkivoc**, 2004, iv, 5-13.

GUO, Z.; DOWDY, E. D.; LI, W. S.; POLNIASZEK, R.; DELANEY, E.; A novel method for the mild and selective amidation of diesters and the amidation of monoesters. **Tetrahedron Letters**, 2001, 42, 1843-1845.

HAIPOUR, A. R.; HANTEHZADEH, M.; Asymmetric Reduction of Prochiral Cyclic Imines to Alkaloid Derivatives by Novel Asymmetric Reducing Reagent in THF or under Solid-State Conditions. **The Journal of Organic Chemistry**, 1999, 64, 8475.

HAN, J. W.; HARDCASTLE, K. I.; HILL, C. L.; Redox-Active Coordination Polymers from Esterified Hexavanadate Units and Divalent Metal Cations. **European Journal of Inorganic Chemistry**, 2006, 2598-2603.

HANSCH, C.; LEO, A.; MEKAPATI, S. B.; KURUP, A.; QSAR and ADME. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2004, 12, 3391-3400.

HASEGAWA, J.; HAMADA, M.; MIYAMOTO, T.; MIYAMOTO, K.; NISHIDE, T.; KAJIMOTO, J.; UENISHI, J.; NODE, M.; The application of phenylmethanethiol and benzenethiol derivatives as odorless organosulfur reagents in the synthesis of thiosugars and thioglycosides. **Carbohydrate Research**, 2005, 340, 2360-2368.

HAWKEY, P. M.; The origins and molecular basis of antibiotic resistance. **BMJ**, 1988, 317, 657-660.

HEERKLOTZ, H.; SEELIG, J.; Correlation of membrane/water partition coefficients of detergents with the critical micelle concentration. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2000, 1508, 69-85.

HENDERSON, B. W.; SITNIK-BUSCH, T. M.; VAUGHAN, L. A.; Potentiation of PDT anti-tumor activity in mice by nitric oxide synthase inhibition is fluence rate dependent. **Photochemistry and Photobiology**, 1999, 70, 1, 64-71.

HEYDARI, A.; KHAKSAR, S.; AKBARI, J.; ESFANDYARI, M.; POURAYOUBI, M.; TAJBAKHSI, M.; Direct reductive amination and selective 1,2-reduction of α,β -unsaturated aldehydes and ketones by NaBH_4 using $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ as catalyst. **Tetrahedron Letters**, 2007, 48, 1135.

HELENIUS, A.; SIMONS, K.; Charge shift electrophoresis: simple method for distinguishing between amphiphilic and hydrophilic proteins in detergent solution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 1977, 74, 529.

KHAN, I.A.; ZHAO, J.; MUHAMMAD, J.; DUNBAR, D.C.; MUSTAFA, J.; New alkaloids from maca (*Lepidium meyenii*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 690-693

HONG, L.; WILLIAMS, P.; MICKLEFIELD, J.; GARDINER, J.M.; STEPHENS, G.; A Dynamic Combinatorial Screen for Novel Imine Reductase Activity. **Tetrahedron**, 2004, 60, 753.

HU, Y.; NIU, T.; ZHANG, W.; HUANG, D.; XU, C.; WANG, H.; A Powerful Reagent for Synthesis of Weinreb Amides Directly from Carboxylic Acids. **Organic Letters**, 2009, v. 11, n. 19, p. 4474 – 4477.

INSAF, S. S.; WITIAK, D. T.; Facile non-racemizing route for the N- alkylation of hindered secondary amines. **Synthesis**, 1999, 3, 435.

IRELAND, T.; FONTANET, F.; TCHAO, G. G.; Identification of new catalysts for the asymmetric reduction of imines into chiral amines with polymethylhydrosiloxane using high-throughput screening. **Tetrahedron Letters**, 2004, 4383.

ISRAELACHVILI, J. N.; MITCHELL, D. J.; NINHAM, B.W.; Theory of self-assembly of hydrocarbons amphiphiles into micelles and bilayers. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2**, 1976, 72, 1525-1568.

JIAN, S.; SIYU, W.; PENGCHENG, W.; MOUNUO, C.; ZHOUYU, W.; L-Piperazine-2-carboxylic Acid Derived N-Formamide as a Highly Enantioselective Lewis Basic Catalyst for Hydrosilylation of N-Aryl Imines with an Unprecedented Substrate Profile. **Organic Letters**, 2006, 8, 14, 3045.

KAMEDA, Y.; OIRA, S.; MATSUI, K.; KANATOMO, S.; HASE, T.; Antitumor activity of bacillus natto. V. Isolation and characterization of surfactin in the culture medium of Bacillus natto KMD 2311. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 1974, 22, 938.

KAGAN, H. B.; LANGLOIS, N.; DANG, T. P.; Synthese asymetrique d'amines par hydrosilylation d'imines catalysee par un complexe chiral du rhodium. **Tetrahedron Letters**, 1973, 49, 4865.

KANG, J.; LI, W.; LIN, Y.; LI, X.; XIAO, X.; FANG, S.; Synthesis and ionic conductivity of a polysiloxane containing quaternary ammonium groups. **Polymers for Advanced Technologies**, 2004, 15, 61-64.

KANGANI, C. O.; KELLEY, D. E.; One pot direct synthesis of amides or oxazolines from carboxylic acids using Deoxo-Fluor reagent. **Tetrahedron Letters**, 2005, 46, 8917-8920.

KASZUBA, M.; "High concentration particle size measurements using dynamic light scattering"; **LabPlus international**, 2004.

KATRITZKY, A. R.; METH-COHN, O.; REES, C. W.; **Comprehensive Organic Functional Group Transformation**. New York: Pergamon, 1995.

KRACHT, M., ROKOS H., OZEL M., KOWALL M., PAULI G., VATER J.; Antiviral and hemolytic activities of surfactin isoforms and their methyl ester derivatives. **The Journal of Antibiotics**, 1999, 52, 613-619.

KUEHNE, S. J.; Reduction of amides and lactams to amines by reactions with phosphorus oxychloride and sodium borohydride. **The Journal of Organic Chemistry** , 1977, 42, 2082.

LAROCK, R. C.; **Comprehensive Organic Transformations**, 2 ed, Wiley: New York, 1999.

LASCH, J.; Interaction of detergents with lipid vesicles. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1995, 1241, 269.

LICHTENBERG, D.; Characterization of the solubilization of lipid bilayers by surfactants. **Biochim Biophys Acta.**, 1985, 821, 3, 470-478.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; Feeney, P.J.; Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2001, 46, 3-26.

MAGESTE, A. B.; “**Aplicação da microcalorimetria e do espalhamento de raio-X a baixos ângulos no estudo da interação poli(óxido de etileno) e dodecilsulfato de sódio: efeitos de cosolutos iônicos.**” 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa.

MALKOV, A. V.; MARIANI, A.; MACDOUGALL, K. N.; KOCOVSKY; Role of Noncovalent Interactions in the Enantioselective Reduction of Aromatic Ketimines with Trichlorosilane. **Organic Letters**, 2004, 6, 2253.

MANIASSO, N.; Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, 2001, 24, 88.

MARSH, P.; MARTIN, P.; **Microbiologia oral**. São Paulo: Editora Santos, 4ª Edição, 2005.

MCNULTY, J.; KRISHNAMOORTHY, V.; ROBERTSON, A.; **Direct formation of esters and amides from carboxylic acids using diethyl chlorophosphate in pyridine.** **Tetrahedron Lett.**, 2008, 49, 6344-6347.

MENDOZA-ESPINOSA, P.; MORENO, A.; CASTILLO, R.; MAS-OLIVA, J.; Lipid Dependant Disorder-to-Order Conformational Transitions in Apolipoprotein CI Derived Peptides. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 2007, 365, 1, 8-15.

- MITRA, R. N.; DASGUPTA, A.; DAS, D.; ROY, S.; DEBNATH, S.; DAS, P. K.; Amino Acid Based Cationic Surfactants in Aqueous Solution: Physicochemical Study and Application of Supramolecular Chirality in Ketone Reduction. **Langmuir**, 2005, 21, 12115-12123.
- MORAES, S. L.; REZENDE, M. O. O.; Determinação da Concentração Micelar Crítica de ácidos húmicos por medidas de condutividade e espectroscopia. **Química Nova**, 2004, 27, 5, 701-705.
- MOVASSAGHI, M.; SCHMIDT, M.; N-Heterocyclic Carbene-Catalyzed Amidation of Unactivated Esters with Amino Alcohols. **Organic Letters**, 2005, 7, 2453-2456.
- MONTALBETTI, C. A. G. N.; FALQUE, V.; Amide bond formation and peptide coupling. **Tetrahedron**, 2005, 61, 10827-10852.
- MYERS, D.; **Surfaces, interfaces and Colloids. Principles and Applications**. New York: Wiley-VCH, 1999.
- NAGARAJAN, S.; GANEM, B.; Chemistry of naturally occurring polyamines. 10. Nonmetabolizable derivatives of spermine and spermidine. **The Journal of Organic Chemistry**, 1986, 51, 4856.
- NAITO, T.; Development of New Synthetic Reactions for Nitrogen-Containing Compounds and Their Application. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 2008, 56, 10, 1367.
- NIEMIEC, A. B.; “**Propriedades de copolímeros estatísticos em comparação com co-polímeros em bloco: diagrama de fase e interação com surfactantes.**” 2008. Tese de Doutorado. Campinas.
- OJEDA, J. M. B.; QUIJADA-GARRIDO, I.; BARRALES-RIEUDA, J. M.; Synthesis, characterization and properties of *N*-maleimide side-chain liquid crystalline copolymers. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, 2011, 49, 495-510.
- OLAH, G. A.; NARANG, S. C.; GARCIA, L.; Synthesis, Characterization and Properties of *N*-Maleimide Side-Chain Liquid Crystalline Copolymers, **Synthesis**, 1981, 790-791.

PECHILUS, A. D.; BELLEVUE, F. H.; CIOFFI, C. L.; TRAPP, S. G.; FOJTIK, J. P.; McKITTY, A. A.; KINNEY, W. A.; FRYE, L. L.; Synthesis of 24.xi.-Squalamine, an Anti-Infective Steroidal Polyamine. **The Journal of Organic Chemistry**, 1995, 60, 5121.

PECORA R.; **Dynamic Light Scattering: Applications of Photon Correlation Spectroscopy**. Plenum Press, 1985.

PEREIRA, D. G.; Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química Nova**, 2007, 30, 171-177.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. R.; **Purification of Laboratory Chemicals**, 2ª Ed., Pergamon Press, 1987.

PIZSOLITTO, A. C.; POZETTI, G. L.; Avaliação comparativa da ação antibacteriana de tinturas-mãe de *Thuya occidentalis*. **Revista Pesquisa Homeopática**, 1987, 3, 33-39.

PLUSQUELLEC, D.; CHEVALIER, G.; TALIBART, R.; WROBLEWSKI, H.; Synthesis and Characterization of 6-O-(N-Heptylcarbamoyl)-methyl-cr-D-glucopyranoside, a New Surfactant for Membrane Studies. **Analytical Biochemistry**, 1989, 179, 145.

PRAJAPATI, A. K.; VISHAL M.; Bent- Shaped mesogenic oxadiazole and thiadiazole derivatives from rod-shaped mesogenic hydrazide containing polar chloro group. **Liquid Crystals**, 2010, 37, 4, 407-415.

RAMIANDRASOA, F.; MILAT, M. O.; KUNESCH, G.; CHUDON, S.; A new regioselective synthesis of n¹ - and n⁸-monoacylated spermidines. **Tetraedron Letters**, 1989, 30, 1365.

RAO, C. P; SREEDHARA, A.; RAO, P. V.; VERGHESE, B.; RISSANEN, K.; KOLEHMAINEN, E.; LOKANATH, N. K.; SRIDHAR, M. A.; PRASAD, J. S.; Syntheses, structure, reactivity and species recognition studies of oxo-vanadium(V) and -molybdenum(VI) complexes. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, 1998, 2383-2393.

REIS, R. C. N.; ODA, S. C.; DE ALMEIDA, M. V.; LOURENÇO, M. C. S.; VICENTE, F. R. C.; BARBOSA, N. R., TREVIZANI, R.; SANTOS, P.L.C.; LE HYARIC, M.; Synthesis and

Antimicrobial Activity of Amphiphilic Carbohydrate Derivatives. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, 2008, 19, 6,1065-1072.

REZENDE JÚNIOR, C. O.; “**Síntese de candidatos a novos inibidores da enzima *HIV Integrase***.” 2010. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora.

RHO, H. S.; BAEK, H.S.; KIM, D. H.; CHANG, I. S.; A convenient Method for the Preparation of Alkanolamides. **Bulletin of the Korean Chemical**, 2006, 27, 4, 584-586.

ROCHA, D. F. O.; “**Estudo da redução de iminas**”. 2008. Dissertação de mestrado, Campinas, SP.

RUSSELL, A. D. and CHOPRA, I.; **In Understanding antibacterial action and resistance**, 1st ed. Ellis Horwood, London, 1990.

SADER, H. S.; DALLA COSTA, L. M.; SOUZA, D.C.; MARTINS, L. T.; ZANELLA, R. C.; BRANDILONE, M. C.; BOKERMANN, S.; Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*: first case in Brazil. **The Journal of Infectious Diseases**, 1998, 2, 3, 160-3.

SALAGER J. L.; MARQUEZ N.; GRACIA A.; LACHAISE J.; Fluorosurfactant Self-Assembly at Solid/Liquid Interfaces. **Langmuir**, 2002, 18, 6021-6024.

SALVATORE, R. N.; YOON, C. H.; JUNG, K. W.; Synthesis of secondary amines. **Tetrahedron**, 2001, 57, 7785-7811.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C.; *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 43, 6, 2007, 413-423.

SCHAECHTER, M. E.; ENGLEBERG, N. C.; EISENSTEIN, B. I.; MEDOFF, G.; **Microbiologia: mecanismos das doenças infecciosas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SEEMAN P., The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. **Pharmacological Reviews**, 1972, 24, 583-655.

SEELIG, J.; HEERKLOTZ, H.; Correlation of membrane/water partition coefficients of detergents with the critical micelle concentration. **Biophysical Journal**, 2000, 78, 2435-2440.

SHEDLOVSKY, T.; SHEDLOVSKY, L.; **Physical Methods of Chemistry (Techniques of Chemistry)**, New York: Wiley.1971, v1 (2A), 163.

SINGH, R. P.; SHREEVE, J. M.; Recent Advances in Nucleophilic Fluorination/Polyfluorination Reactions of Organic Compounds using Deoxofluor and DAST. **Synthesis**, 2002, 17, 2561-2578.

SINGH, B.; PANDEY, A.; SINGH, S. K.; Liquid Crystalline Properties of 3-[4-(4'-alkoxybenzoyloxybenzilidene)amino]-1,2,4-triazines: Syntesis and Characterization. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, 2010, 517, 127-137.

TANFORD, C.; **The hydrophobic effect: Formation of micelles and biological membranes**, 2 ed, Flórida: Krieger, 1991.

TANFORD, C.; "**Physical chemistry of macromolecules**". Wiley; New York, 1961.

TARAROV, V. I.; BÖNER, A.; Approaching Highly Enantioselective Reductive Amination. **Synlett**, 2005, 2, 203.

TARASEVICH, V. A.; KOZLOV, N. G.; Reductive amination of oxygen-containing organic compounds. **Russian Chemical Reviews**, 1999, 68, 55.

TEHRANI, K. A.; DE KIMPE, N.; The Pseudomonas siderophore quinolobactin is synthesized from xanthurenic acid, an intermediate from the kynurenine pathway. **Science of Synthesis**, 2004, 27, 245.

THIMON, L.; PEYPOUX, F.; MAGET-DANA, G.; MICHEL, G.; Surface active properties of antifungal lipopeptides produced by *Bacillus subtilis*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1992, 69, 92, 93.

TOWNER, K. J.; **The problem of resistance. In: Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford University Press. Oxford, 1997.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N.; **Microbiologia**, 3 ed, São Paulo: Atheneu, 1999.

UCHEGBU, I.; VYAS, S.P.; Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) in drug delivery. **Journal of Pharmaceutical**, 1998, 172, 33.

VALEUR, E.; BRADLEY, M.; Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. **Chemical Society Reviews**, 2009, 38, 606-631.

VAN DE WATERBEEMD, H.; GIFFORD, E.; ADMET in silico modelling: towards prediction paradise? **Nature Reviews Drug Discovery**, 2003, 2, 192-204.

VINH, D. C; EMBIL, J. M.; Rapidly progressive soft tissue infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 2005, 5, 501-513.

XIE, Y.; Tetra- and Binuclear Complexes of Hydroxy-Rich Ligands: Supramolecular Structures, Stabilization of Unusual Water Clusters, and Magnetic Properties. **Crystal Growth & Design**, 2009, 9, 1, 118-126.

WATERBEEMD H. V.; TESTA B.; The parameterization of lipophilicity and other structural properties in drug design. **Advances in Drug Research**, 1987, 16, 85-225.

WEIGELT, J.; STEVENS, D.; Linezolid versus vancomycin in treatment of complicated skin and soft tissue infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2005, 49, 2260-2266.

WEYERMANN, J.; LOCHMANN, D.; ZIMMER, A.; A practical note on the use of cytotoxicity assays. **International Journal of Pharmaceutics**, 2005, 288, 369-76.

WINGETER, M. A.; GUILHERMETTI, E.; SHINOBU, C. S.; TAKAKI, I.; SVIDZINSKI, T.I.E.; Identificação microbiológica e sensibilidade in vitro de Candida isoladas da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina tropical**, 2007, 40, 3, 272-276.

WITKOP, P.; The Application of **p**-Nitrobenzyl Chloroformate to Peptide Synthesis. **American Chemical Society** , 1952, 74, 3861.

WON, J. E.; KIM, H. K.; KIM, J. J.; YIM, H. S.; KIM, M. J.; KANG, S. B.; CHUNG, H. A.; LEE, S. G.; YOON, Y. J.; Effective esterification of carboxylic acids using (6-oxo-6*H*-pyridazin-1-yl)phosphoric acid diethyl ester as novel coupling agents. **Tetrahedron**, 2008, 63, 12720-12730.

YATAGAI, M.; OHNUKI, T.; Asymmetric Reduction of Functionalized Ketones with a Sodium Borohydride-(L)-Tartaric Acid System. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 1990, 1826.

ZANA, R.; YIV, S.; STRAZIELLE, C.; LIANIS, P.; Effect of alcohol on the properties of micellar systems: I. Critical micellization concentration, micelle molecular weight and ionization degree, and solubility of alcohols in micellar solutions. **Journal of Colloid and Interface Science**, 1981, 80, 208.

ZHAO, Y.; ABRAHAM, M. H.; LEE, J.; HERSEY, A.; LUSCOMBE, N. C.; BECK, G.; SHERBORNE, B.; COOPER, I.; Cooper I: Rate-limited steps of human oral absorption and QSAR studies. **Pharmaceutical Research**, 2002, 19, 1446-1457.

ZHURAVLEV, O. E.; VEROLAINEN, N. V.; VORONCHIKHINA, L. I.; Effect of structure of nucleophile and substrate on the quaternization of heterocyclic amines. **Russian Journal of General Chemistry**, 80, 5, 854-857.

<http://cienciahoje.uol.com.br/noticias/2011/05/nem-tao-pura-assim> - acessado em 01/12/12

<http://www.chem.wisc.edu/areas/reich/pkatable/index.htm>

<http://www.enemvirtual.com.br/membrana-plasmatica-2/> - acessado 29/10/12

<http://www.ensp.fiocruz.br/portal-ensp/informe/site/materia/detalhe/25967> - acessado em 01/12/12

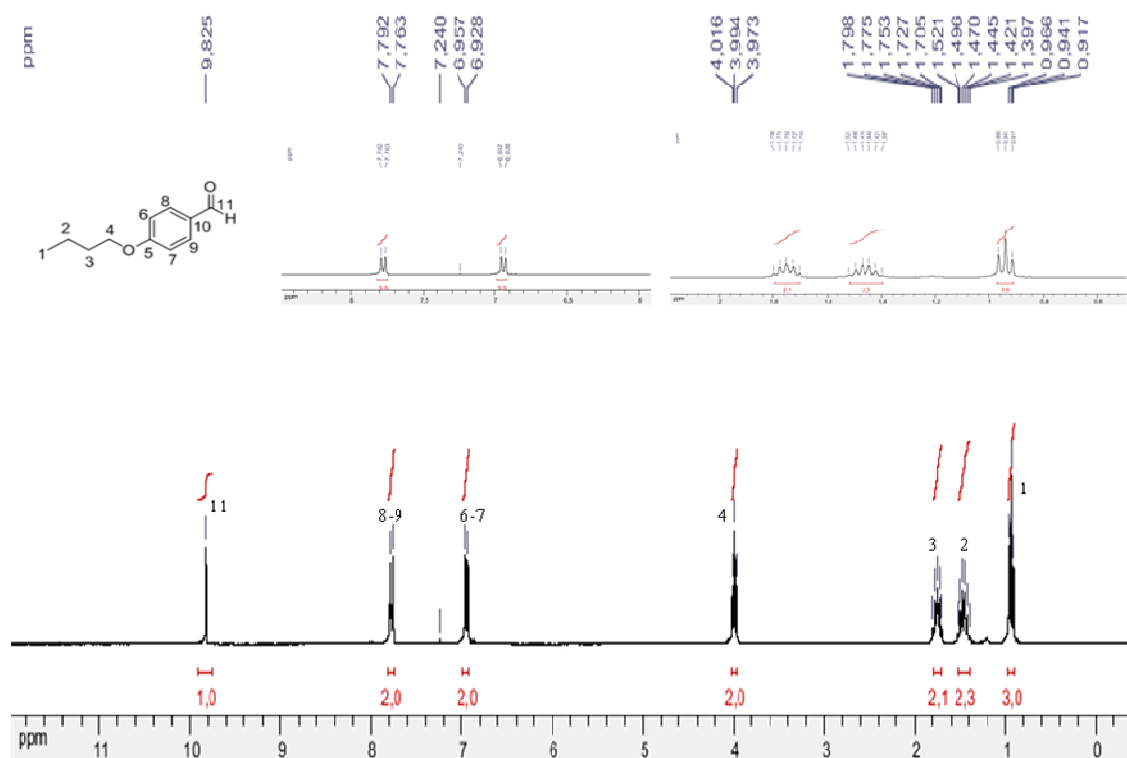
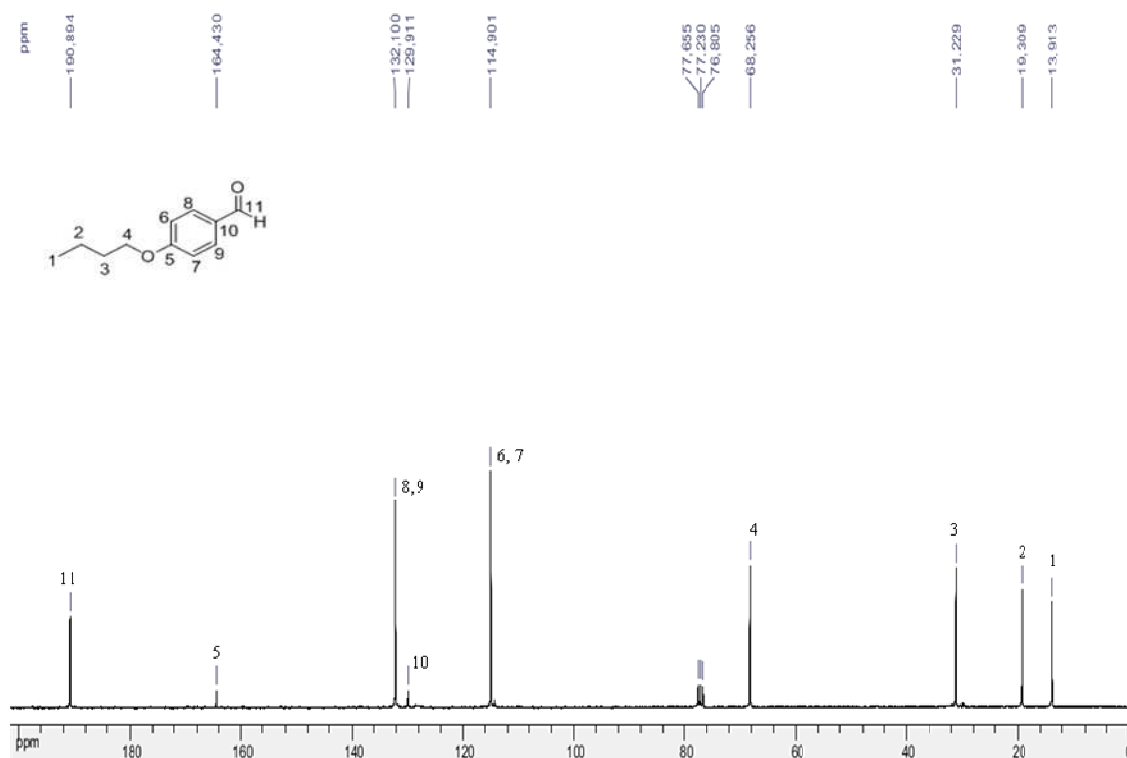
<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>

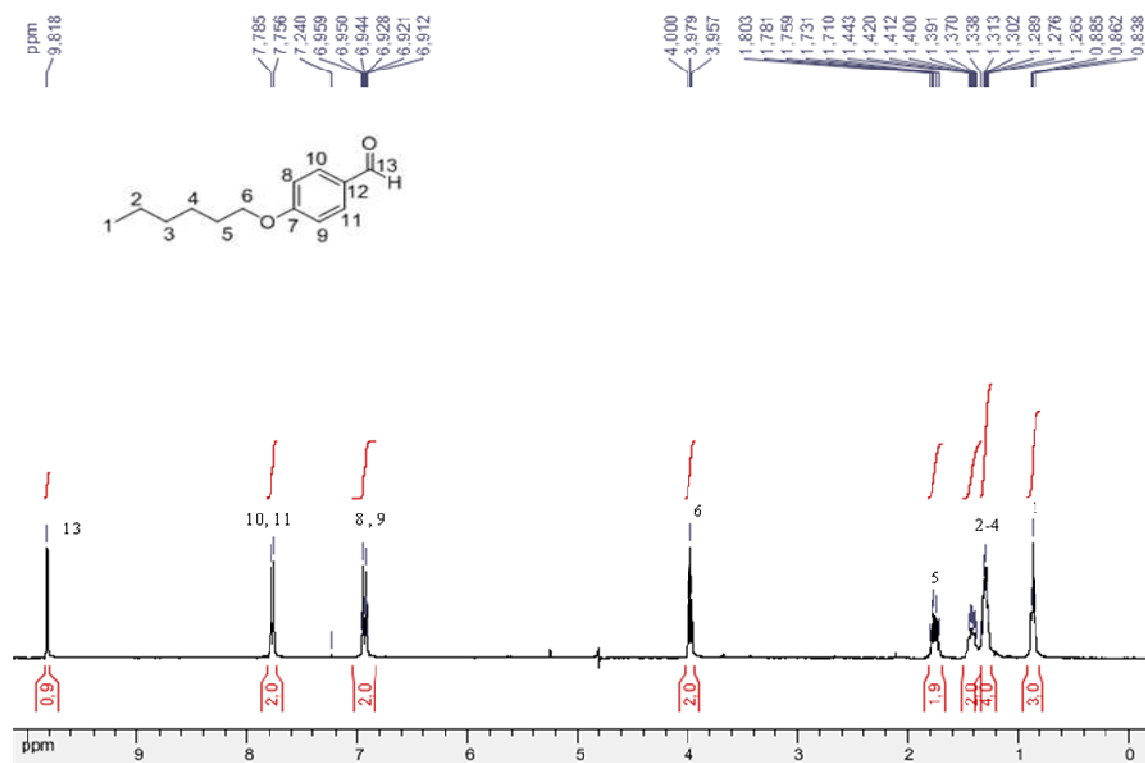
<http://www.organic-chemistry.org>

<http://www.sciencephoto.com/media/12836/view> - acessado 01/12/12

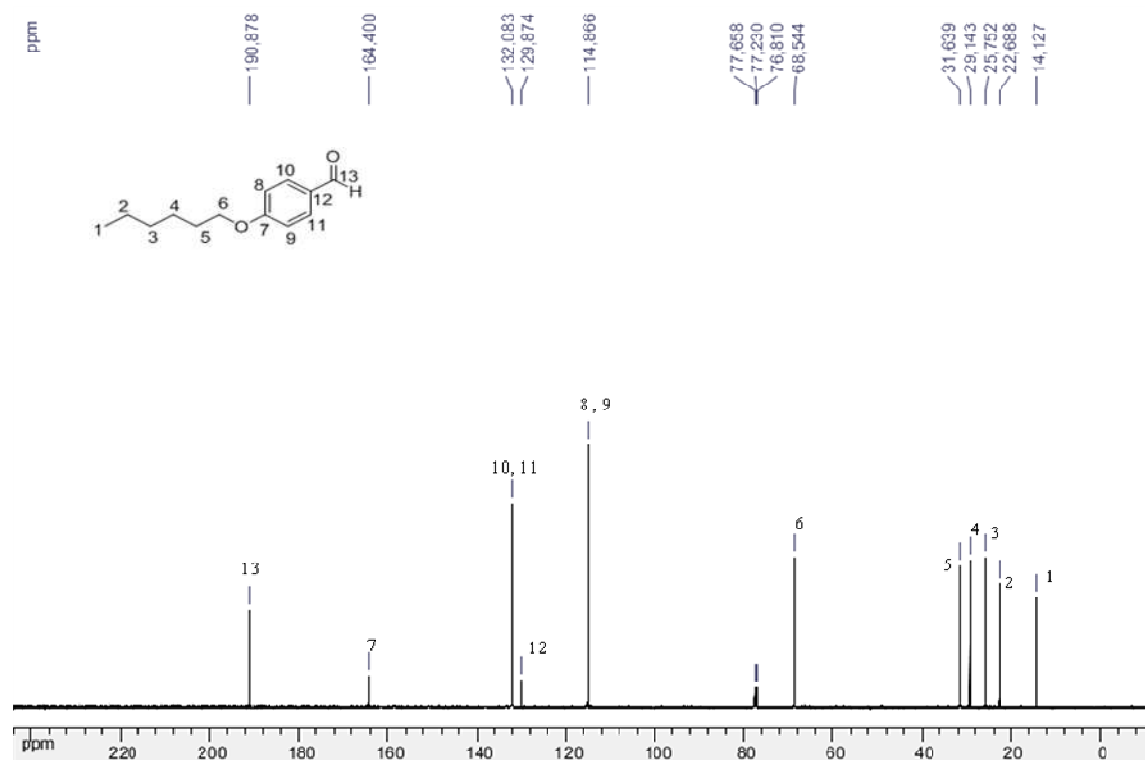
<http://staphylococcusepidermidis.org/> - acessado 01/12/12

Apêndices

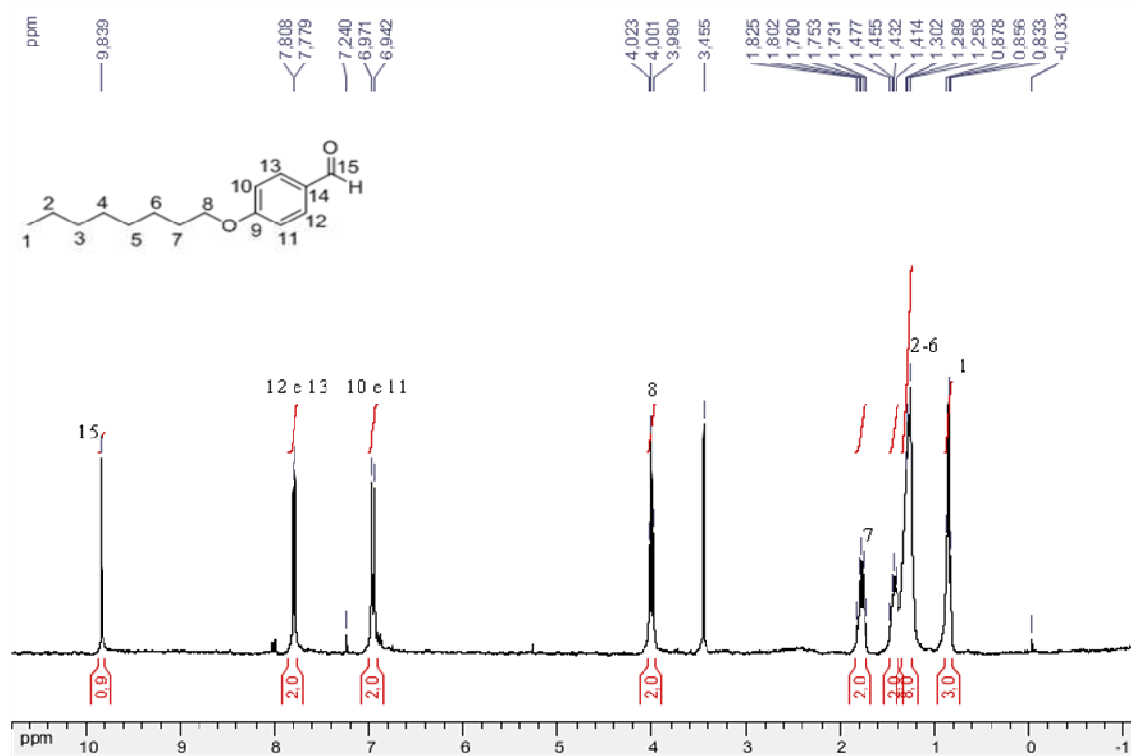
Apêndice 1: Seção de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos aldeídos alquilados 24a-g**Apêndice 1.1.** Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) do 4-(butoxi)-benzaldeído **24a**.**Apêndice 1.2.** Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) do 4-(butoxi)-benzaldeído **24a**.



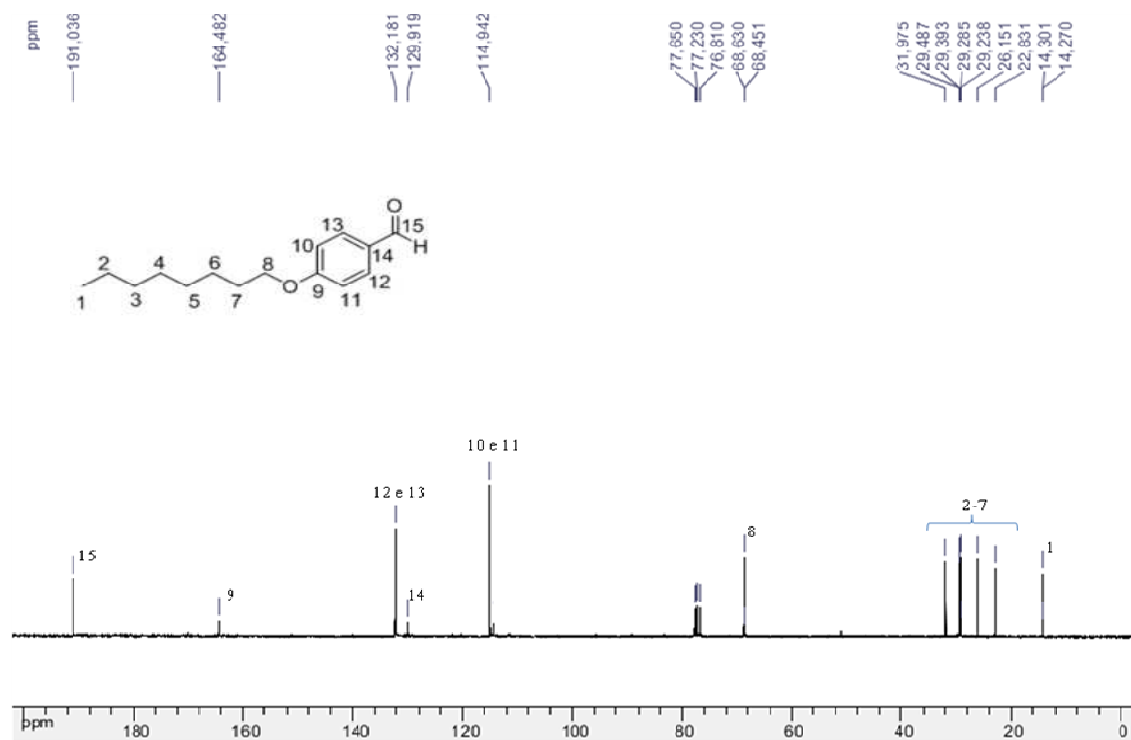
Apêndice 1.3. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do 4-(hexiloxi)-benzaléido **24b**.



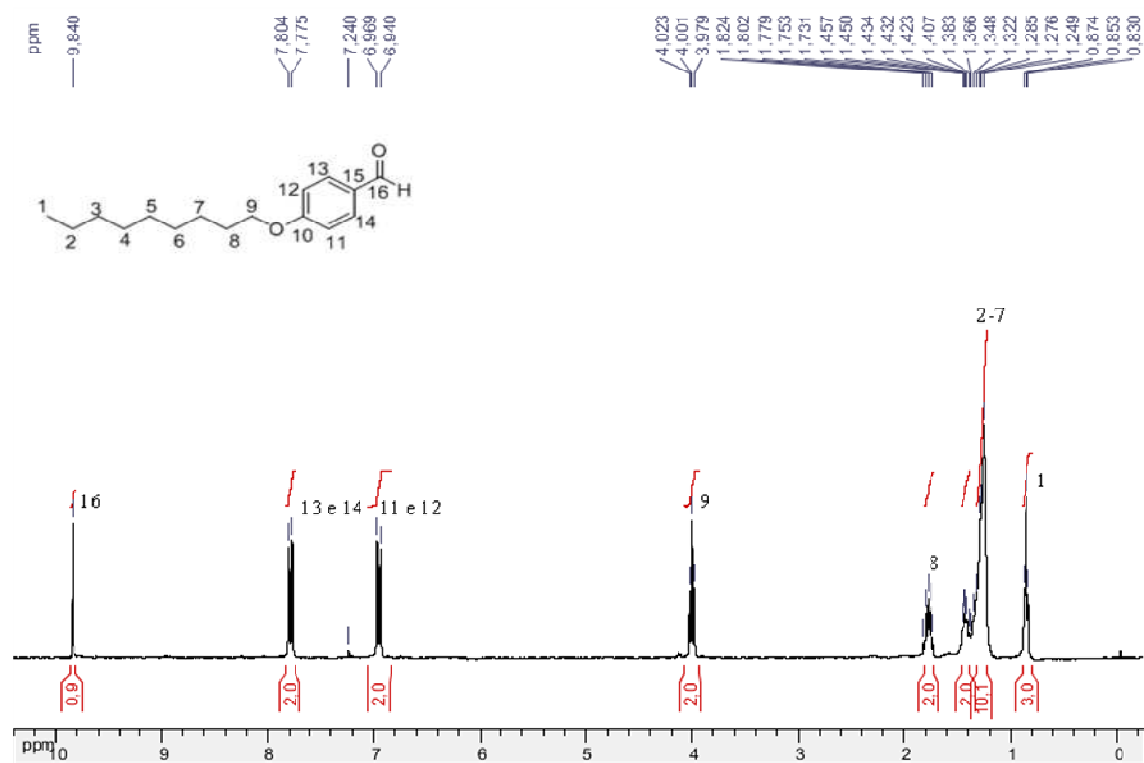
Apêndice 1.4. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do 4-(hexiloxi)-benzaléido **24b**.



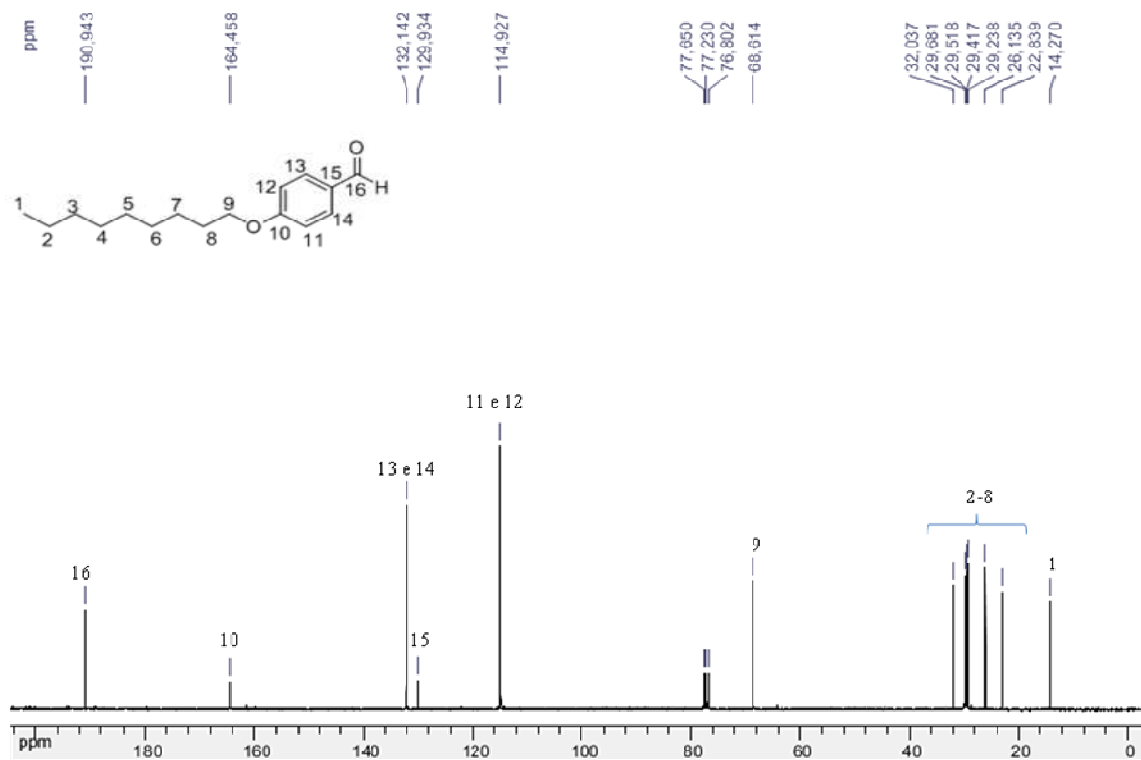
Apêndice 1.5. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do 4-(octiloxi)-benzaldeído **24c**.



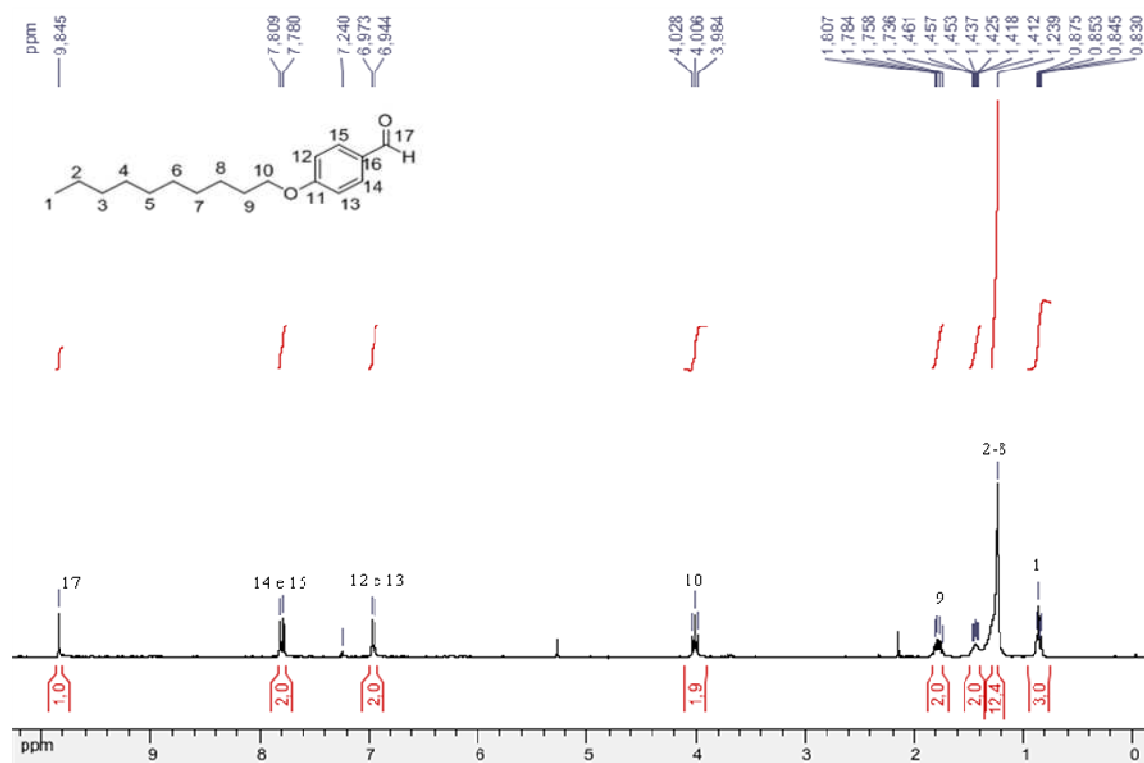
Apêndice 1.6. Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do 4-(octiloxi)-benzaldeído **24c**.



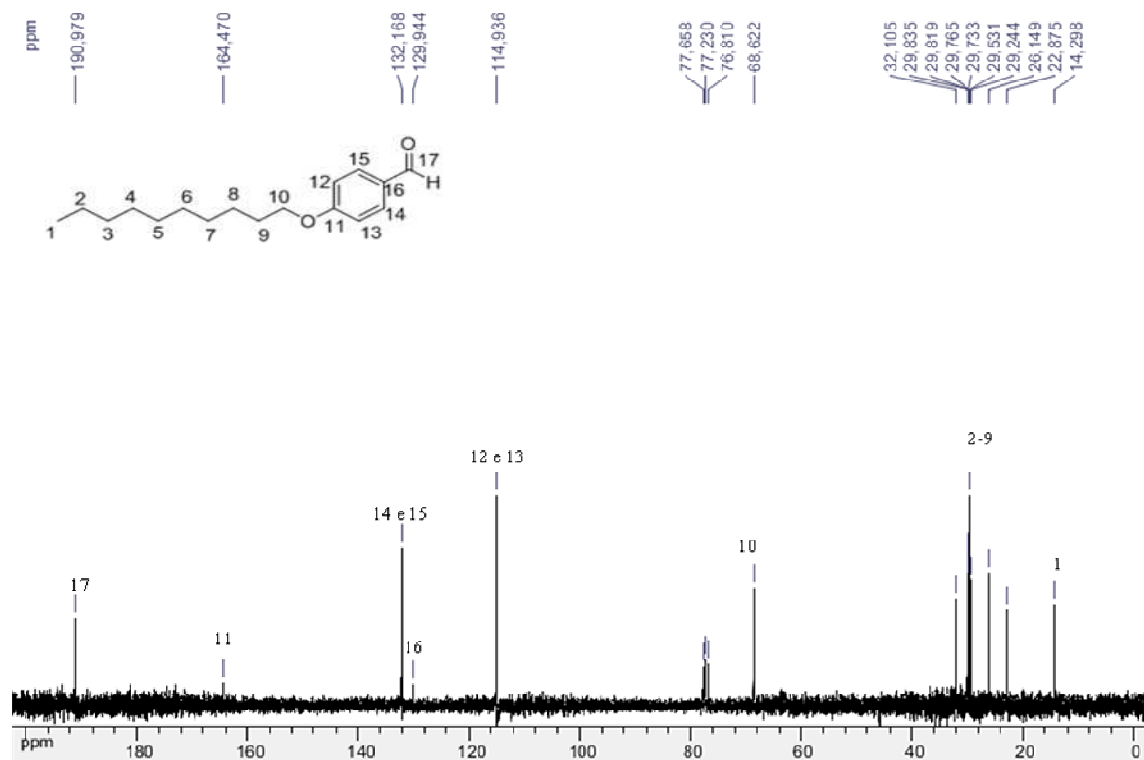
Apêndice 1.7. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do 4-(nonyloxi)-benzaldeído **24d**.



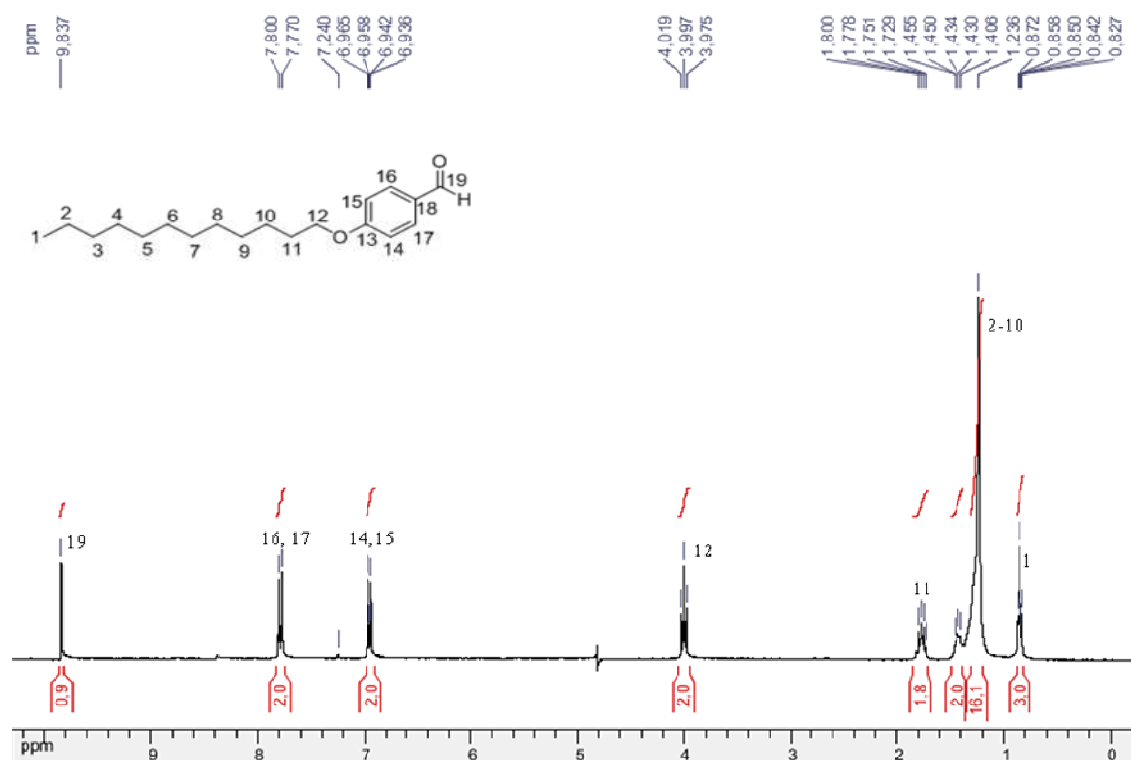
Apêndice 1.8. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do 4-(nonyloxi)-benzaldeído **24d**.



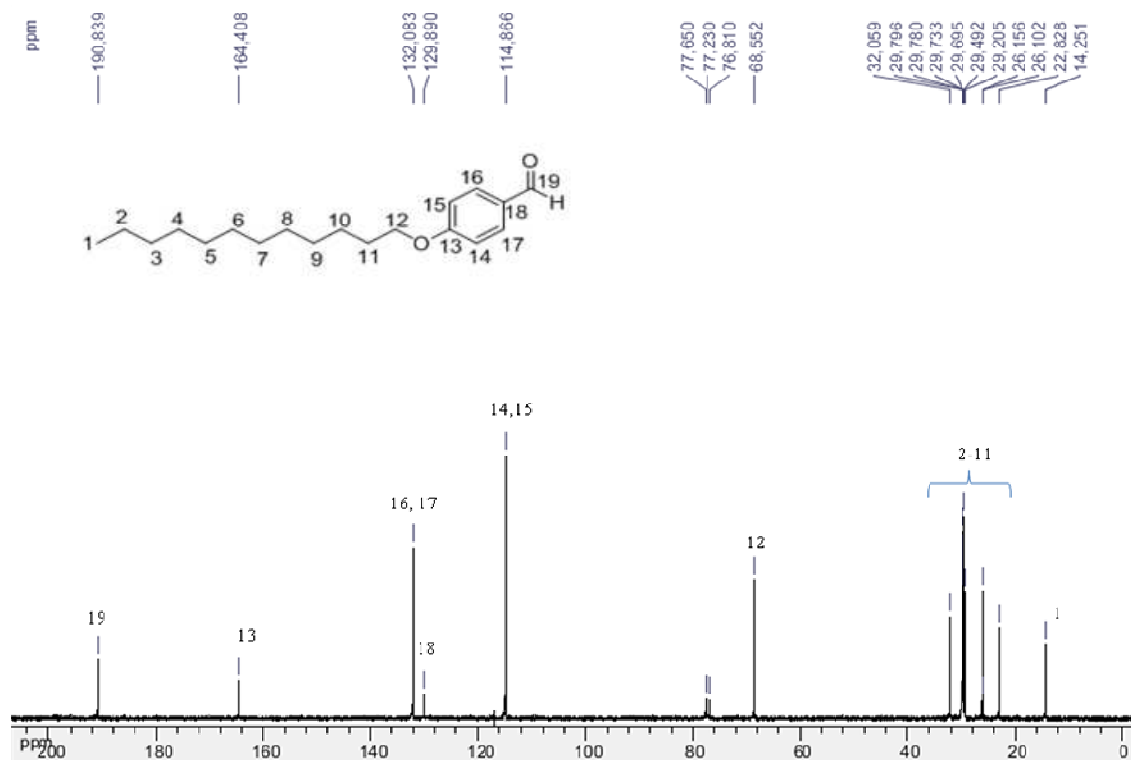
Apêndice 1.9. Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) do 4-(deciloxi)-benzaldeído **24e**.



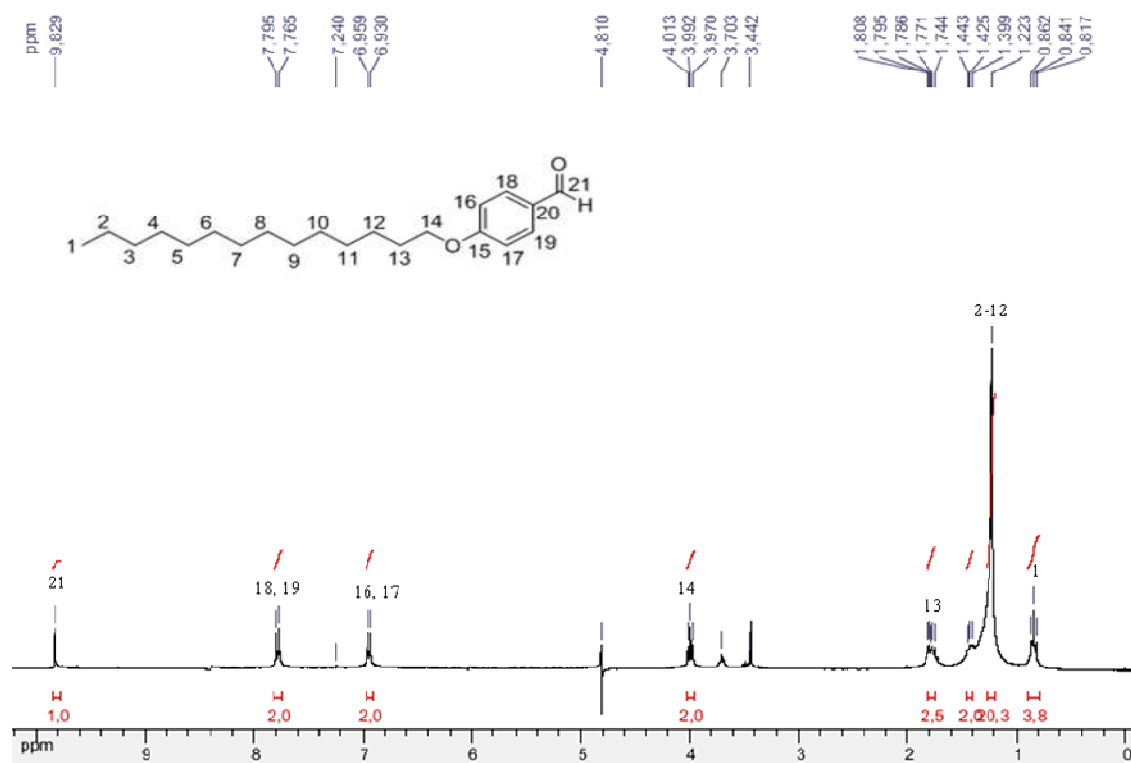
Apêndice 1.10. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) do 4-(deciloxi)-benzaldeído **24e**.



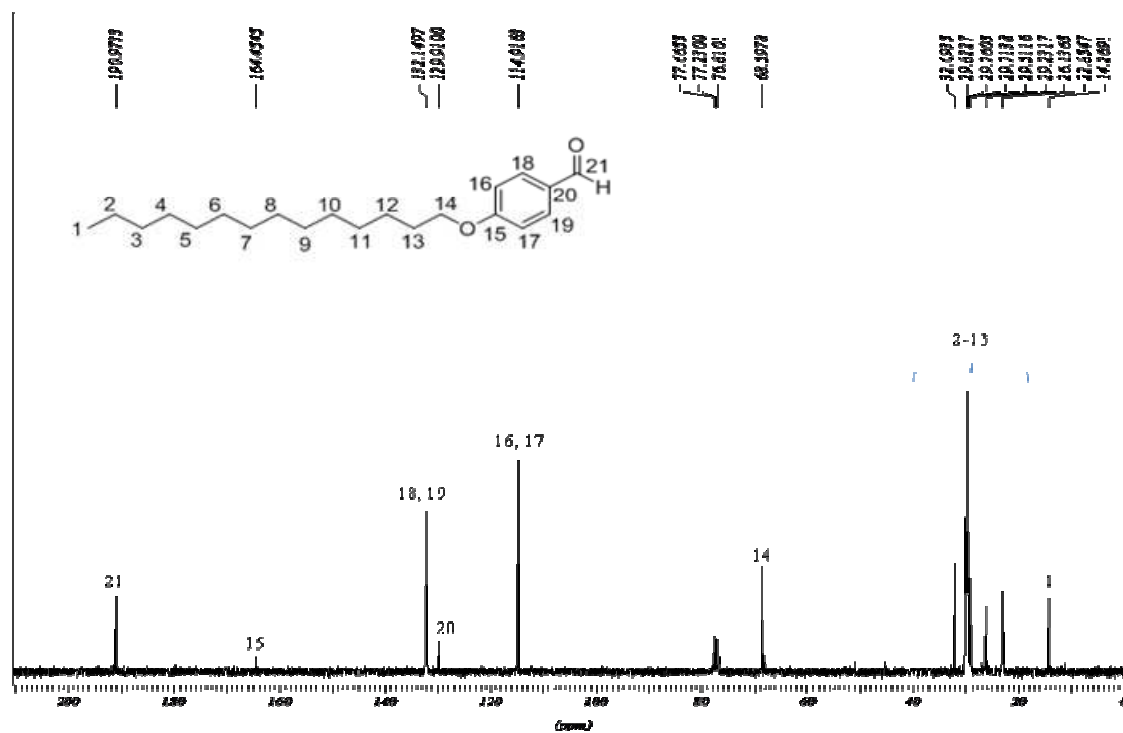
Apêndice 1.11. Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) do 4-(dodeciloxi)-benzaléido **24f**.



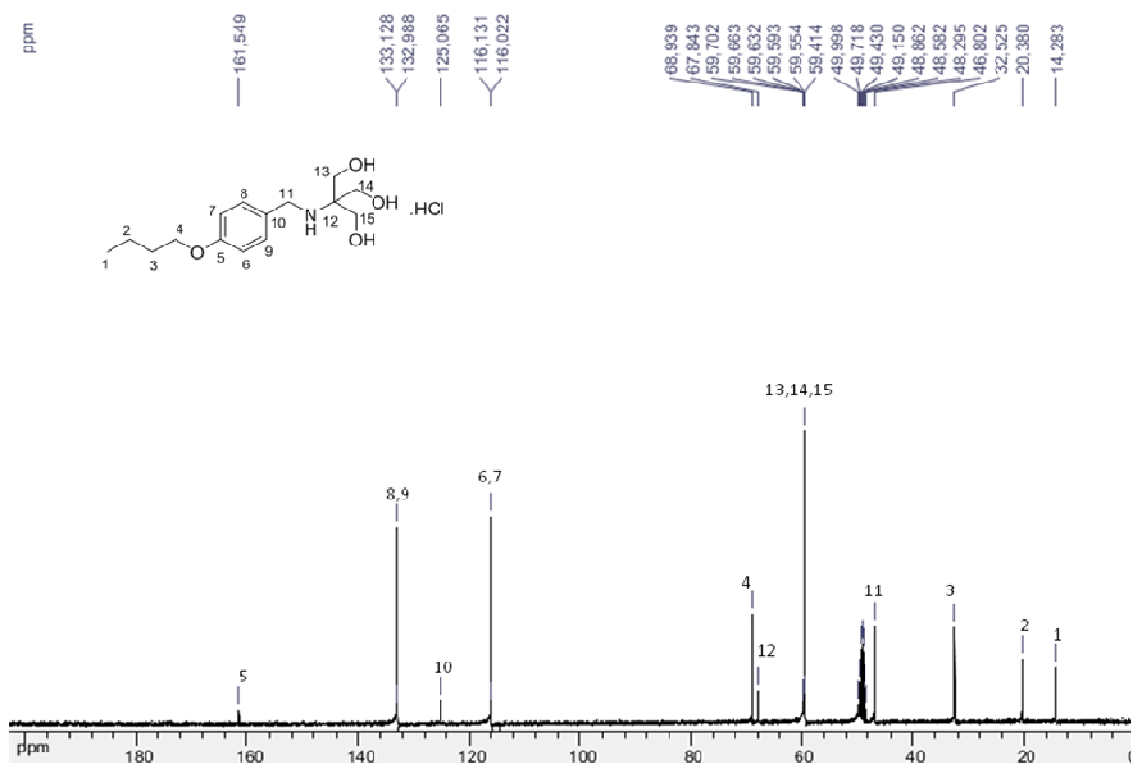
Apêndice 1.12. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) do 4-(dodeciloxi)-benzaléido **24f**.



Apêndice 1.13. Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) do 4-(tetradeciloxi)-benzaléido **24g**.



Apêndice 1.14. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) do 4-(tetradeciloxi)-benzaléido **24g**.



Apêndice 2.3. Espectro de RMN ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) do composto 26a.

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

420 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 0-15 O: 1-15 Cl: 1-1

DE-ASSIS

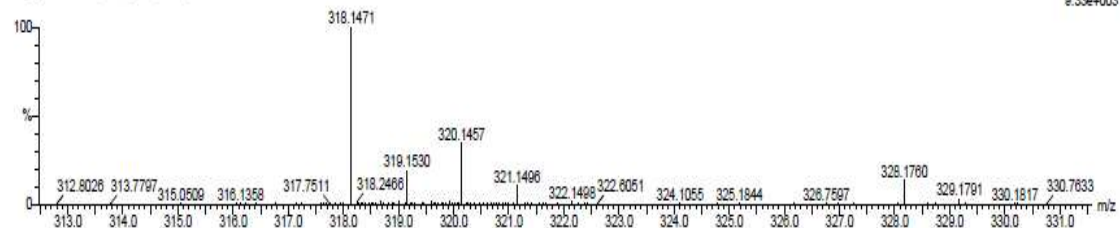
DO_ja-anv12 24 (0.633) Cm (21:28)

MeOH

13-Jul-2012 16:15:32

2-TOF MS ES-

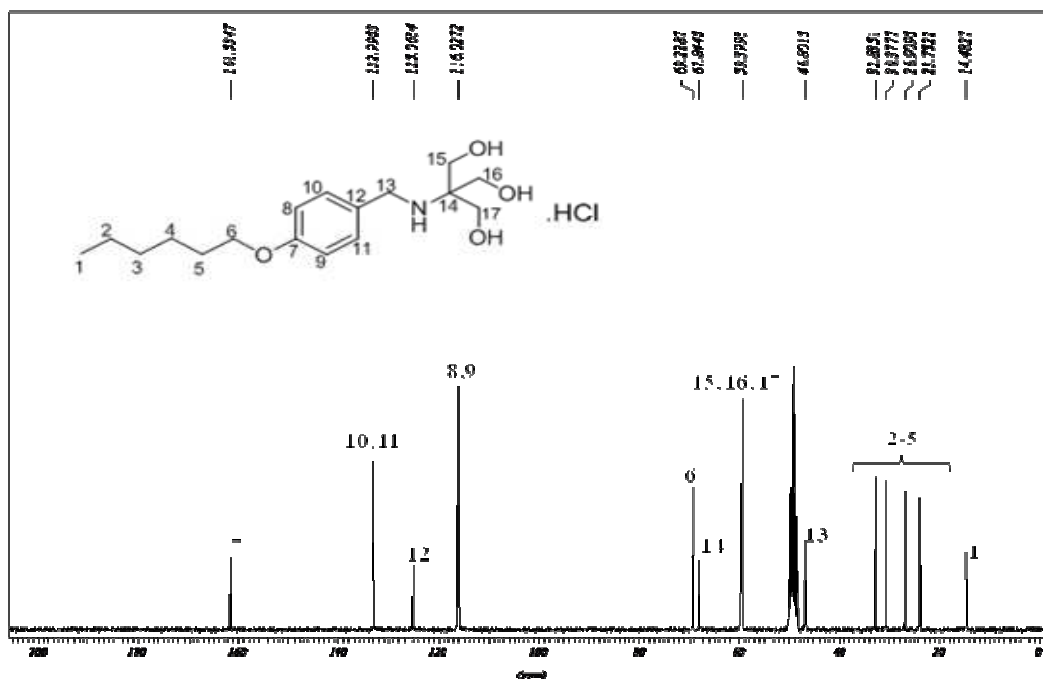
9.33e+003



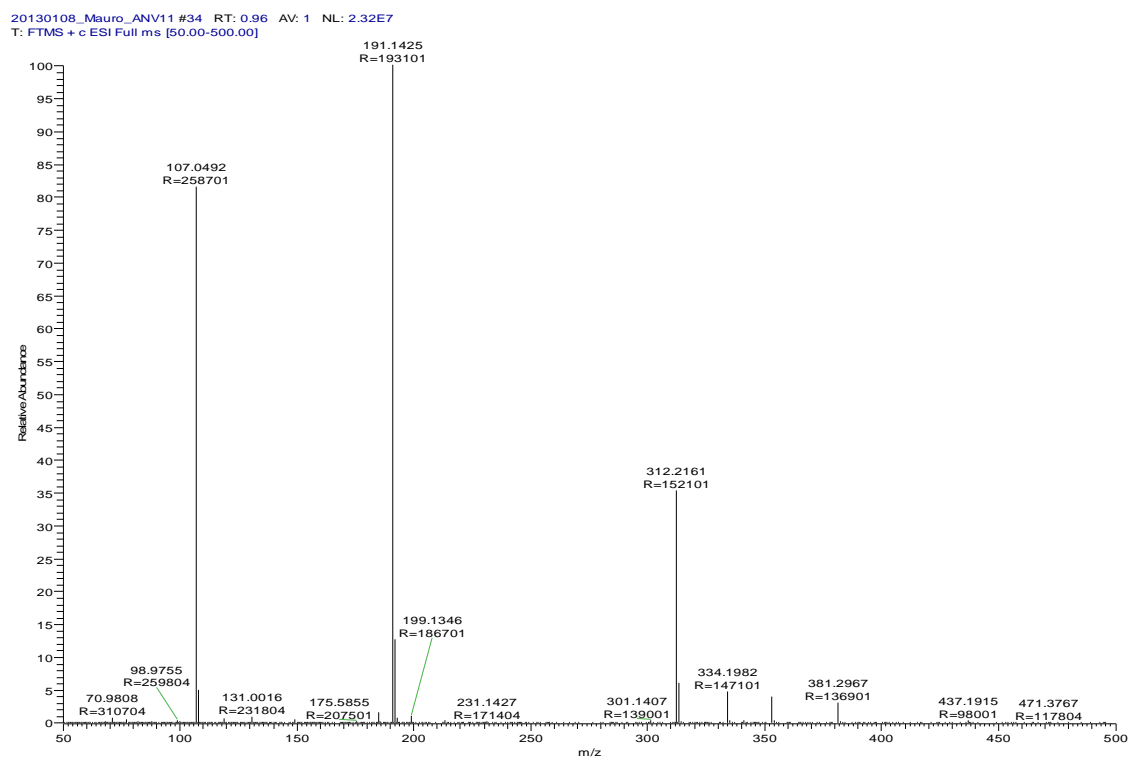
Minimum: -1.5
Maximum: 5.0 5.0 100.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
318.1471	318.1472	-0.1	-0.3	3.5	989.7	0.0	C15 H25 N O4 Cl

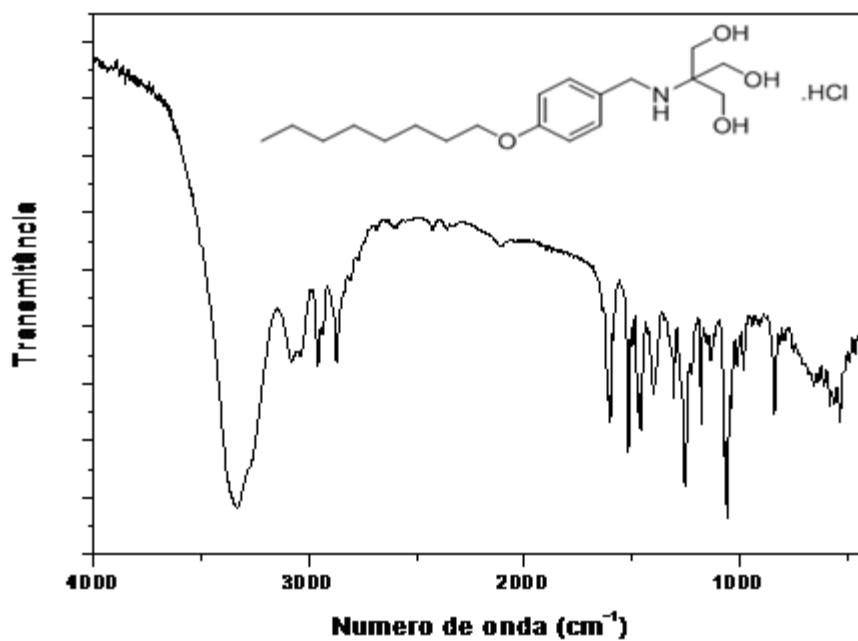
Apêndice 2.4. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto 26a.



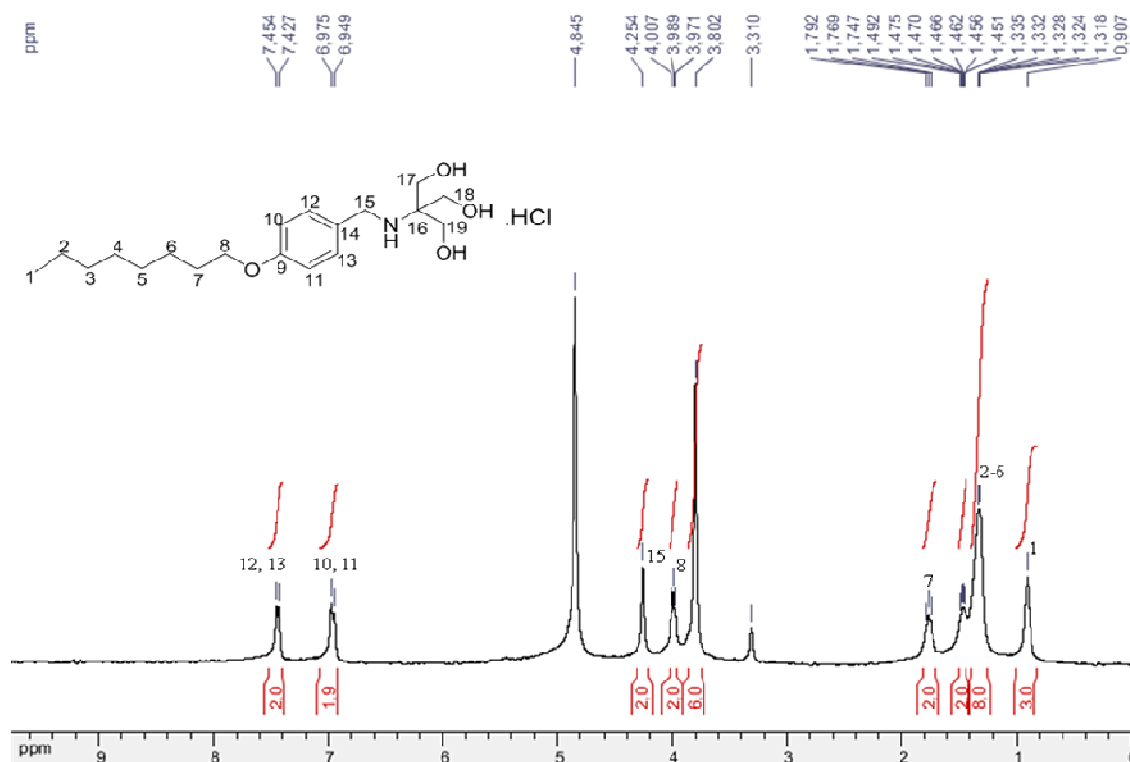
Apêndice 2.7. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **26b**.



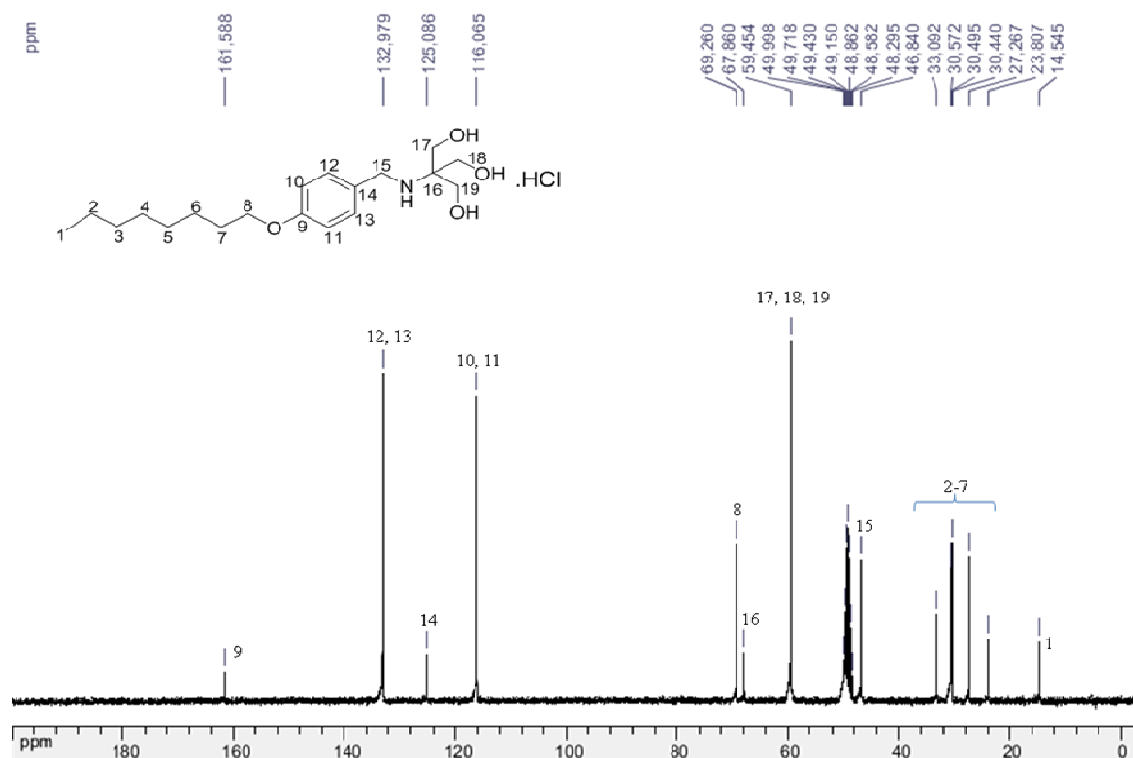
Apêndice 2.8. Espectro de massas (FTMS+ESI) do composto **26b**.



Apêndice 2.9. Espectro na região de infravermelho do composto 26c (KBr).



Apêndice 2.10. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto 26c.



Apêndice 2.11. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **26c**.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

112 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-4 O: 1-7 Cl: 1-1

DE-ASSIS

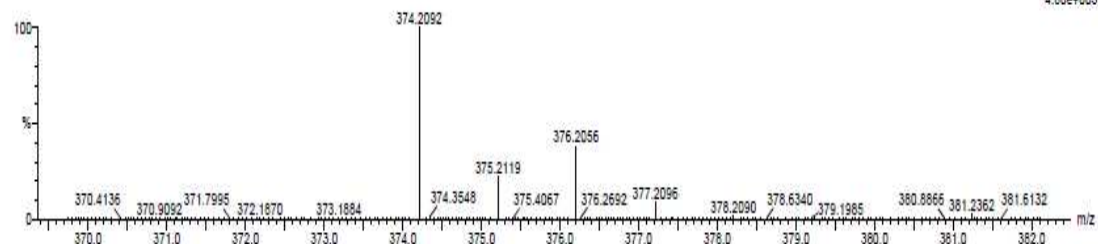
DO_Ja-anv05 27 (0.707) Cm (27.35)

MeOH

13-Jul-2012 16:51:54

2: TOF MS ES-

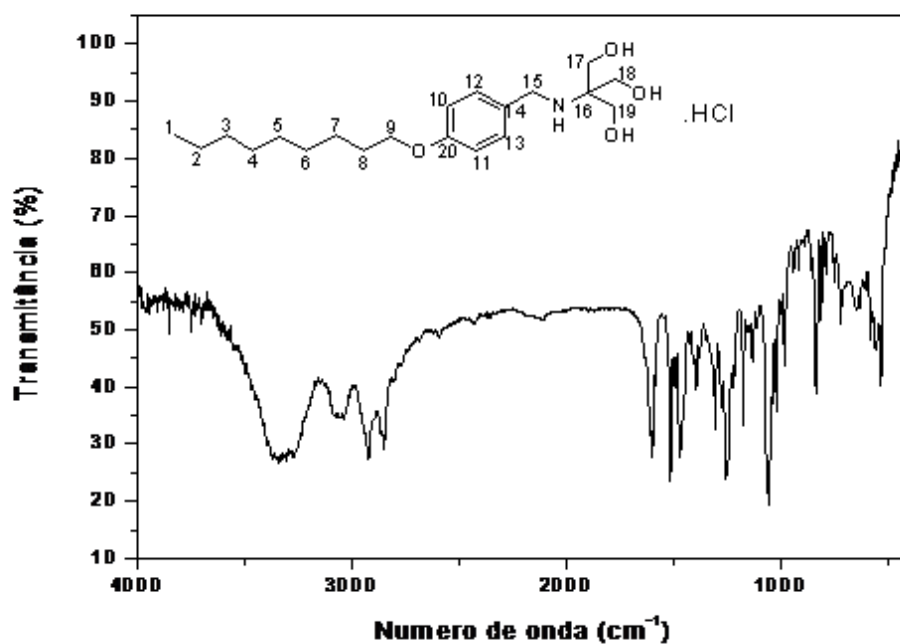
4.60e+003



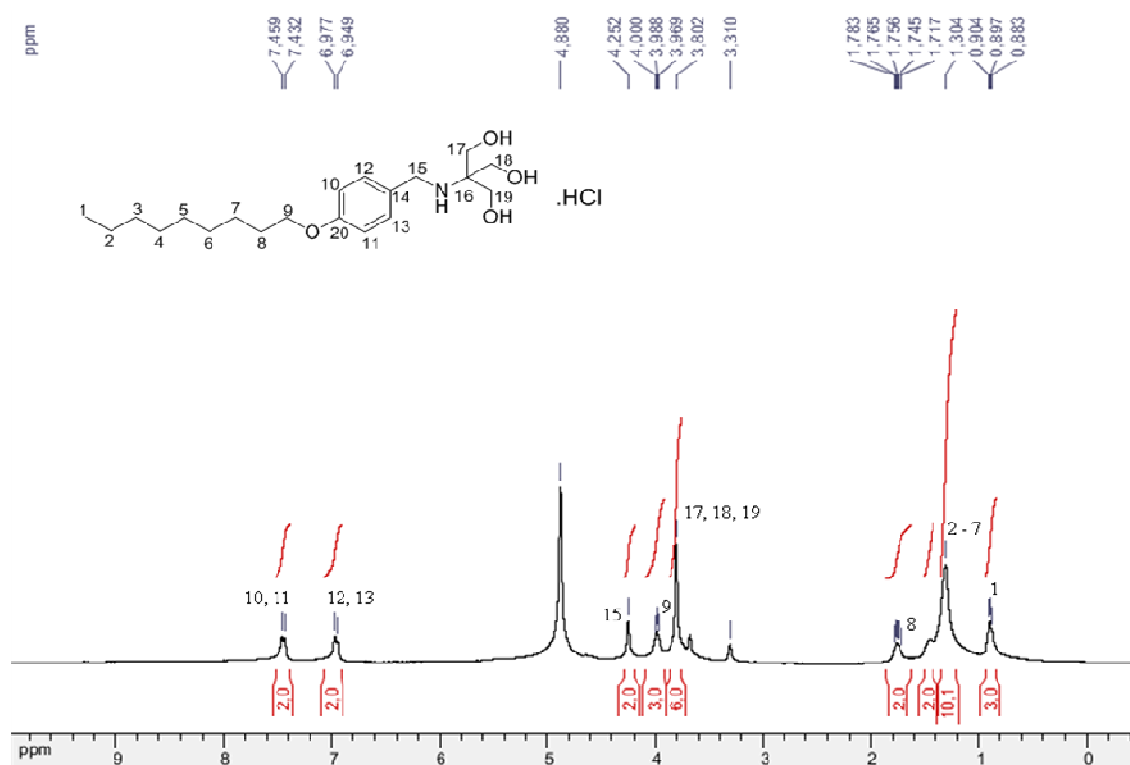
Minimum: -1.5
Maximum: 5.0 5.0 100.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
374.2092	374.2098	-0.6	-1.6	3.5	729.1	0.0	C19 H33 N O4 Cl

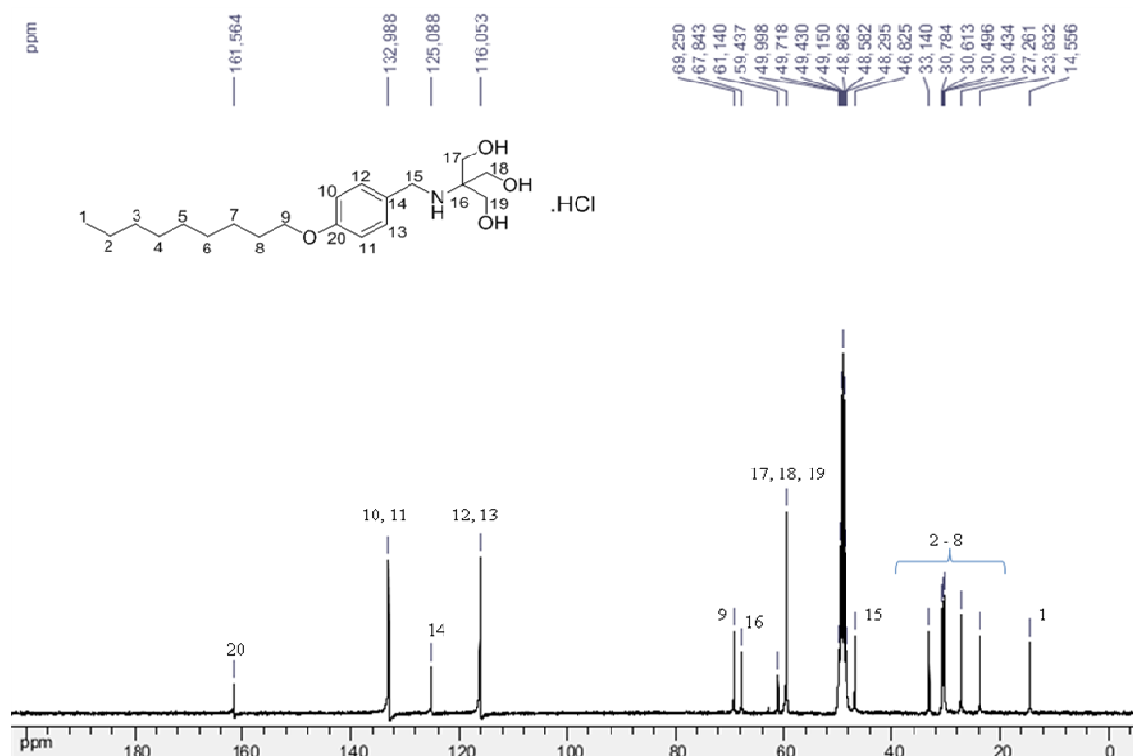
Apêndice 2.12. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **26c**.



Apêndice 2.13. Espectro na região de infravermelho do composto **26d** (KBr).



Apêndice 2.14. Espectro de RMN ¹H (CD₃OD; 300 MHz) do composto **26d**.



Apêndice 2.15. Espectro de RMN ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) do composto 26d.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

649 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 0-15 O: 1-15 Cl: 1-1

DE-ASSIS

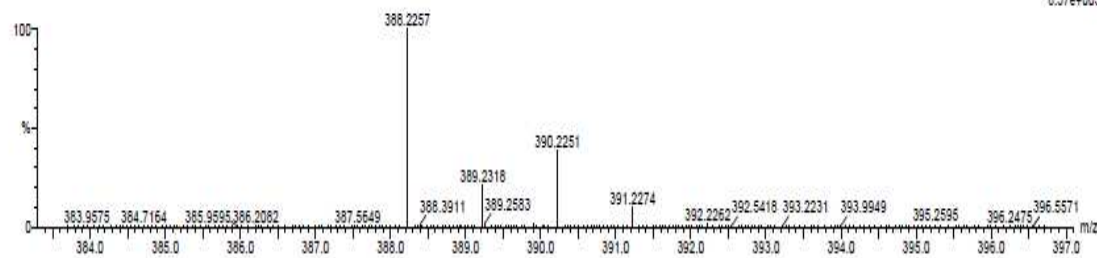
DO_Ja-ami06 24 (0.634) Cm (21.29)

MeOH

13-Jul-2012 16:00:30

2: TOF MS ES-

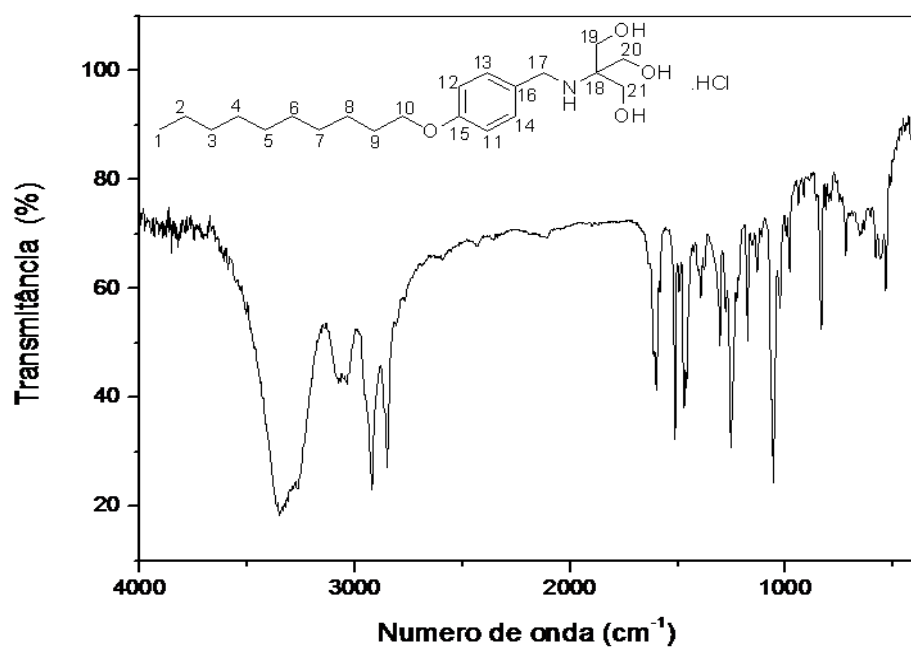
8.57e+003



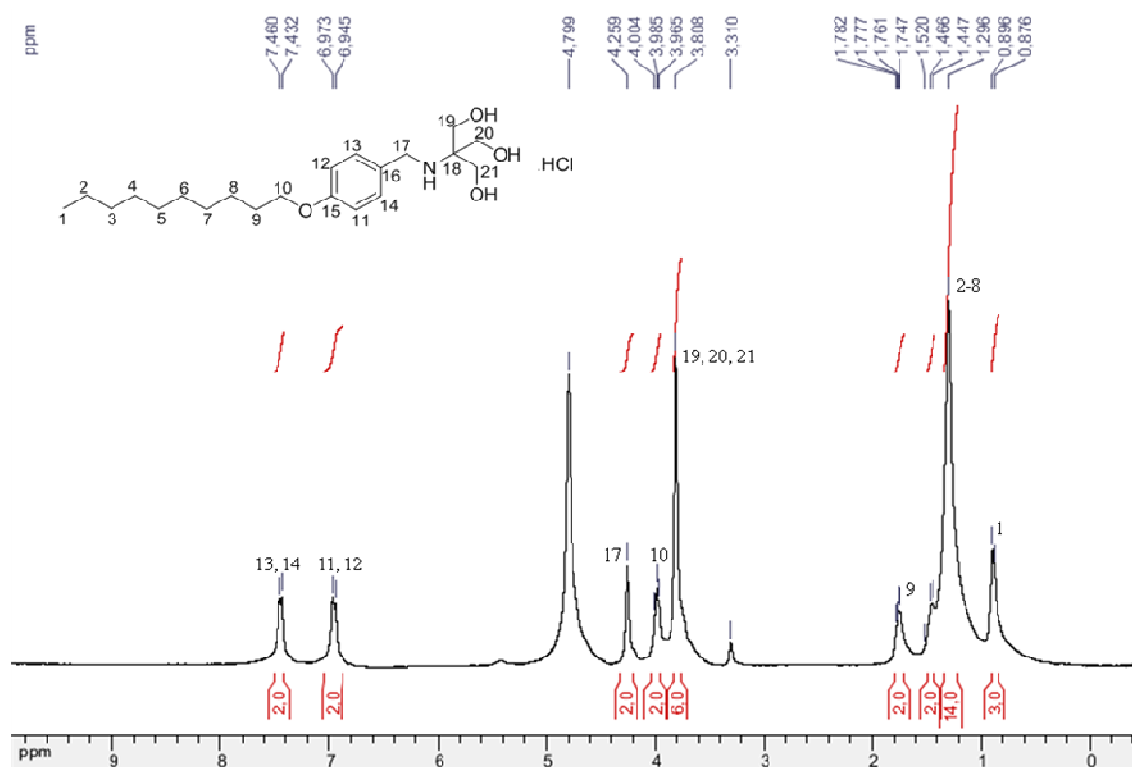
Minimum: -1.5
Maximum: 5.0 5.0 100.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
388.2257	388.2255	0.2	0.5	3.5	924.8	0.0	C20 H35 N O4 Cl

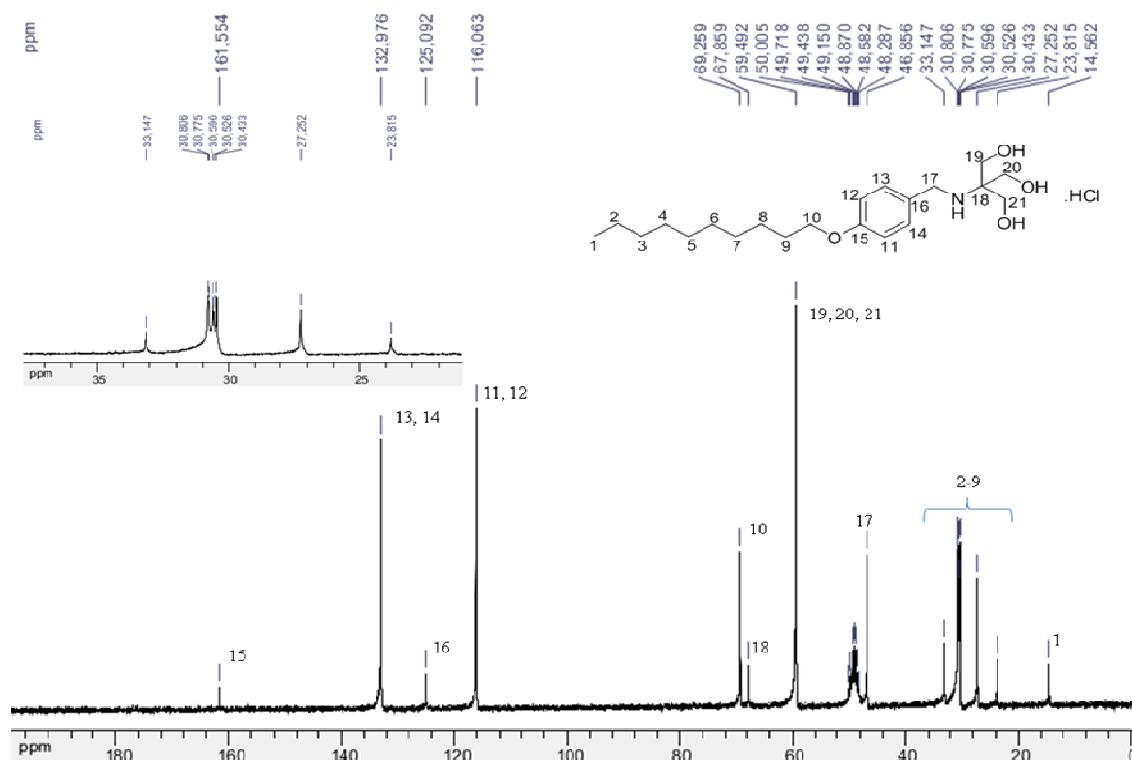
Apêndice 2.16. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto 26d.



Apêndice 2.17. Espectro na região de infravermelho do composto **26e** (KBr).



Apêndice 2.18. Espectro de RMN ¹H (CD₃OD; 300 MHz) do composto **26e**.



Apêndice 2.19. Espectro de RMN ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) do composto 26e.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 0

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

898 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 0-15 O: 1-15 Cl: 1-1

DE-ASSIS

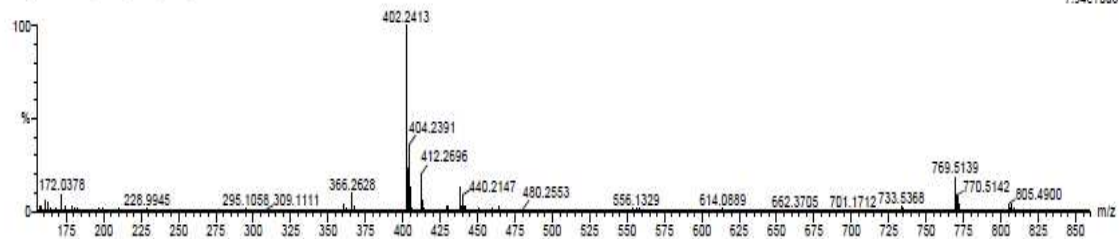
DO_ja-anv07 25 (0.672) Cm (21:28)

MeOH

13-Jul-2012 16:03:29

2: TOF MS ES-

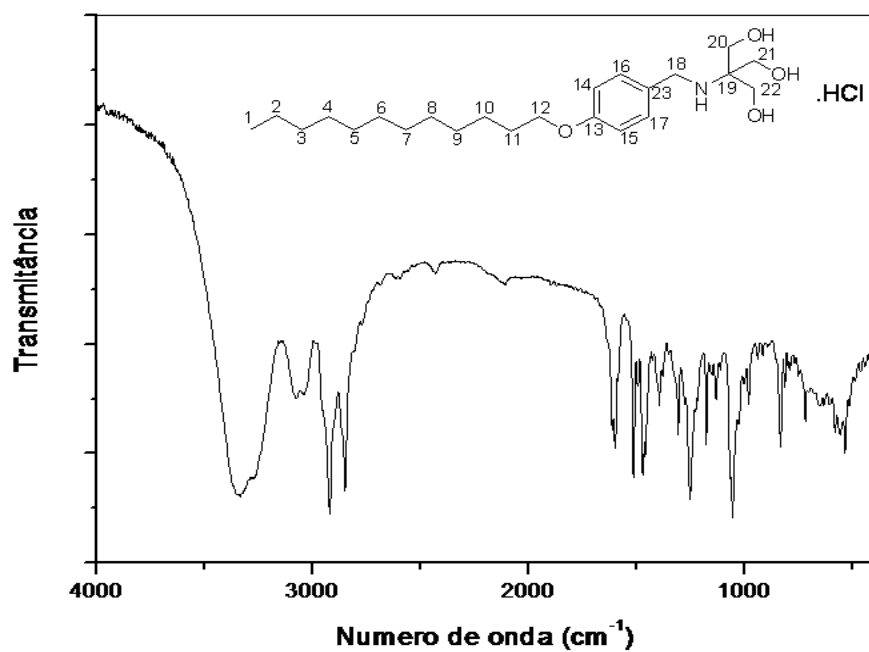
7.94e+003



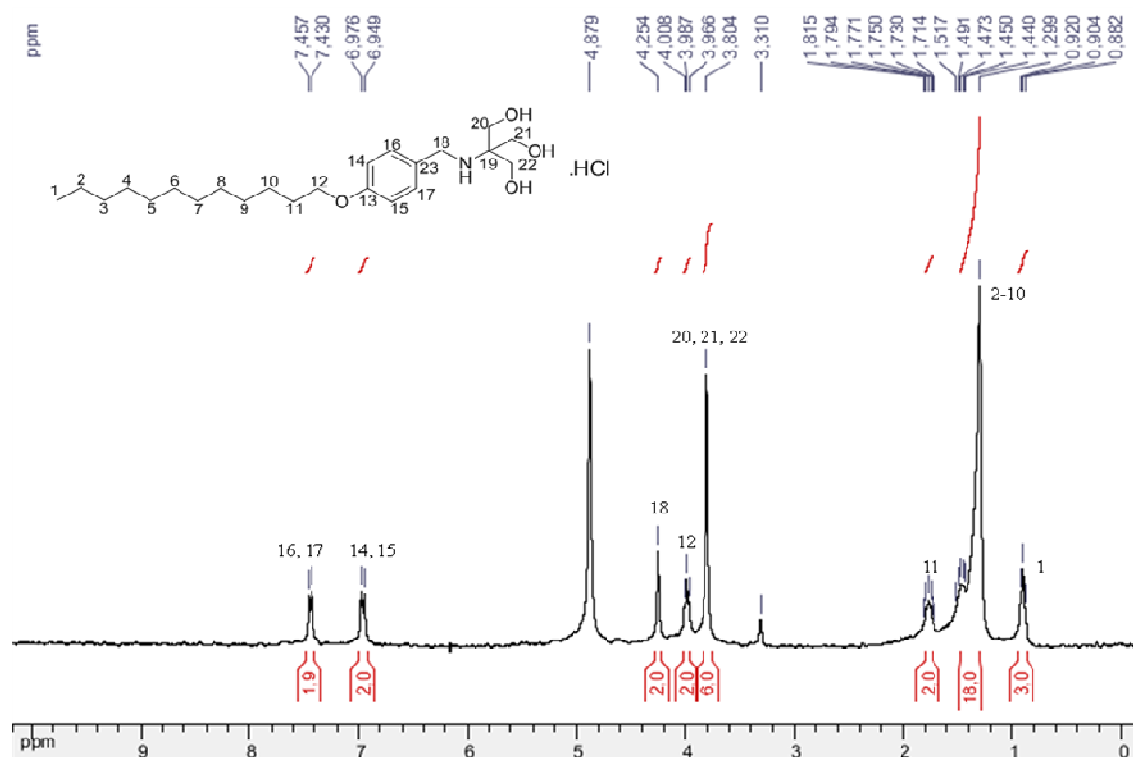
Minimum: -1.5
Maximum: 5.0 5.0 100.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
402.2413	402.2411	0.2	0.5	3.5	917.6	0.0	C21 H37 N O4 Cl

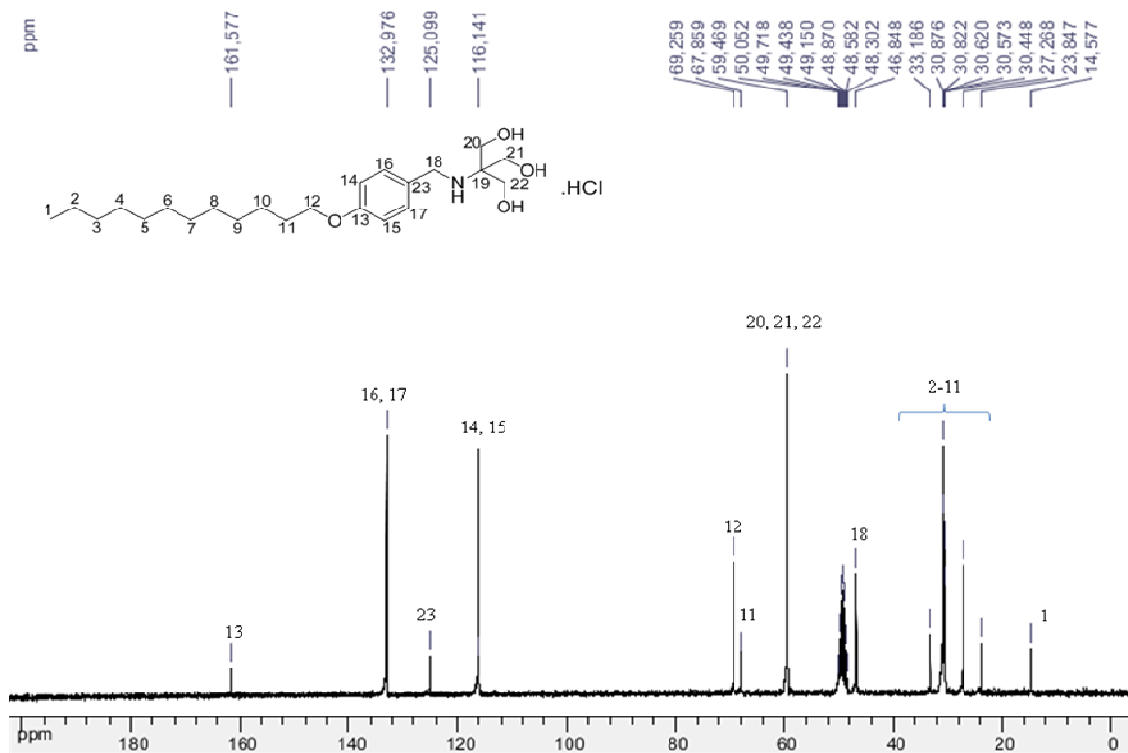
Apêndice 2.20. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto 26e.



Apêndice 2.21. Espectro na região de infravermelho do composto **26f** (KBr).



Apêndice 2.22. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto **26f**.



Apêndice 2.23. Espectro de RMN ^{13}C (CD₃OD; 75 MHz) do composto **26f**.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0
 Element prediction: Off
 Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

410 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-10 O: 1-10 Cl: 1-1

DE-ASSIS

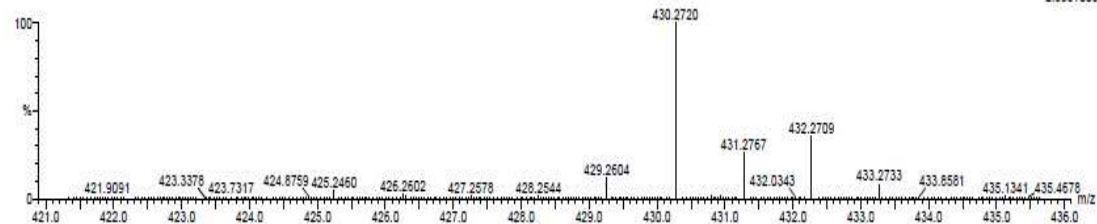
DO_ja-anv08_B 24 (0.634) Cm (18:30)

MeOH

16-Jul-2012 16:35:16

Z: TOF MS ES-

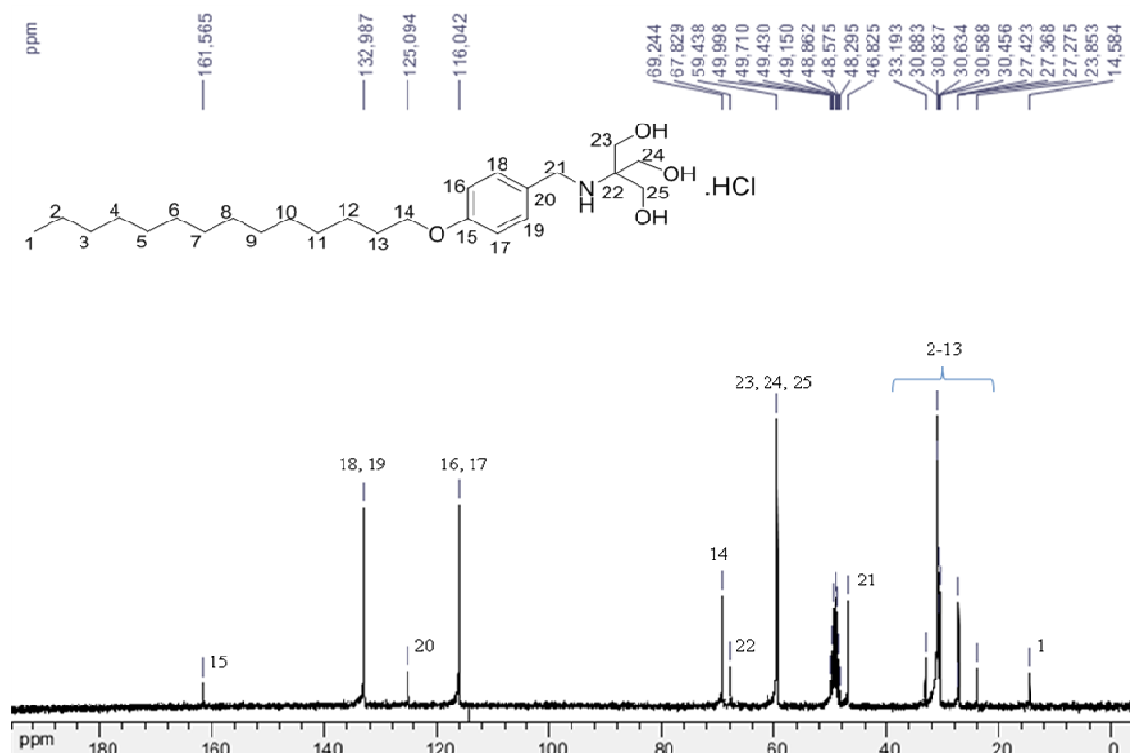
2.85e+003



Minimum: -1.5
 Maximum: 5.0 5.0 100.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
430.2720	430.2724	-0.4	-0.9	3.5	588.8	0.0	C23 H41 N O4 Cl

Apêndice 2.24. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **26f**.



Apêndice 2.27. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **26g**.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for I-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

888 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 0-15 O: 1-15 Cl: 1-1

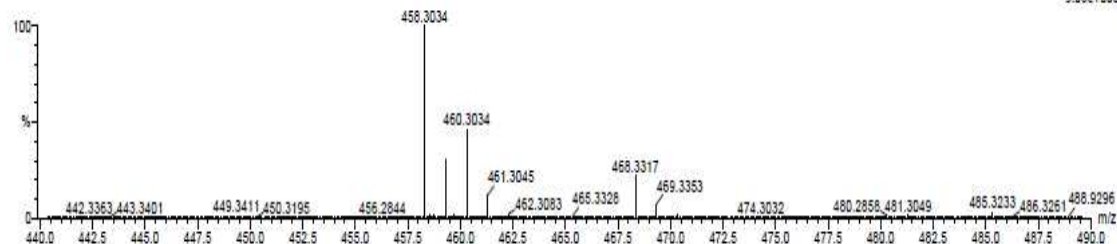
DE-ASSIS

DO Ja-anv09 24 (0.635) Cm (20:30)

MeOH

13-Jul-2012 16:12:34

2: TOF MS ES-
9.03e+003

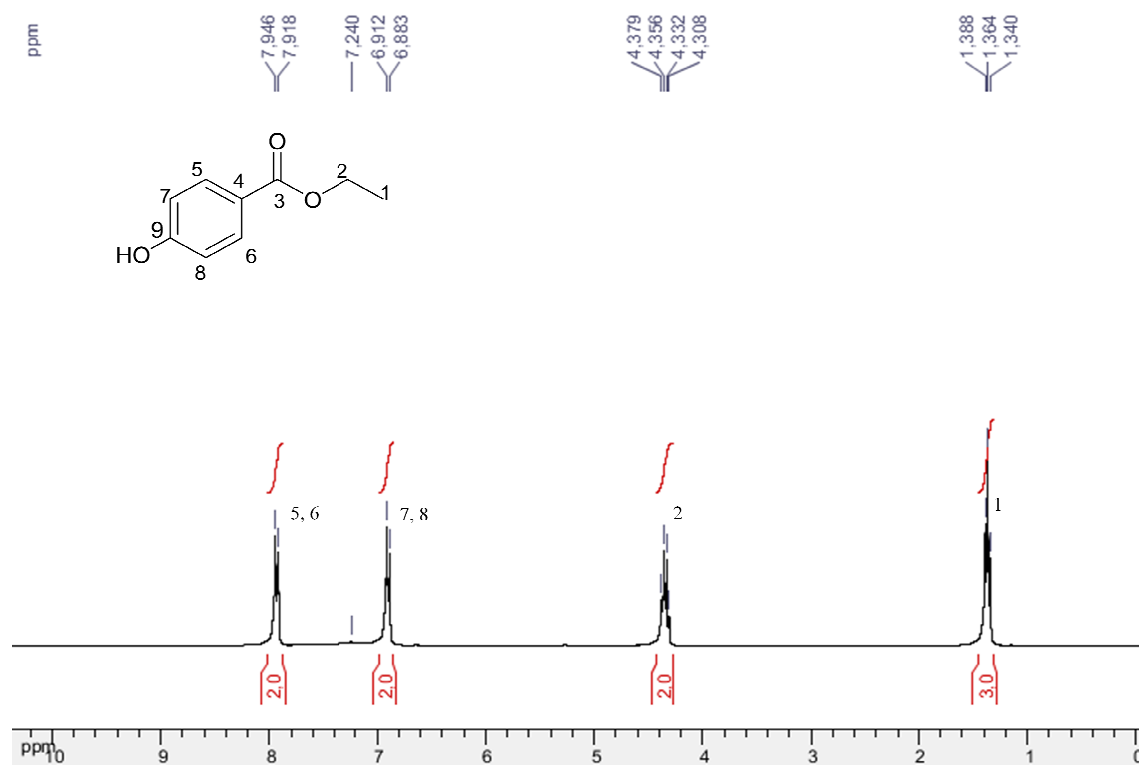
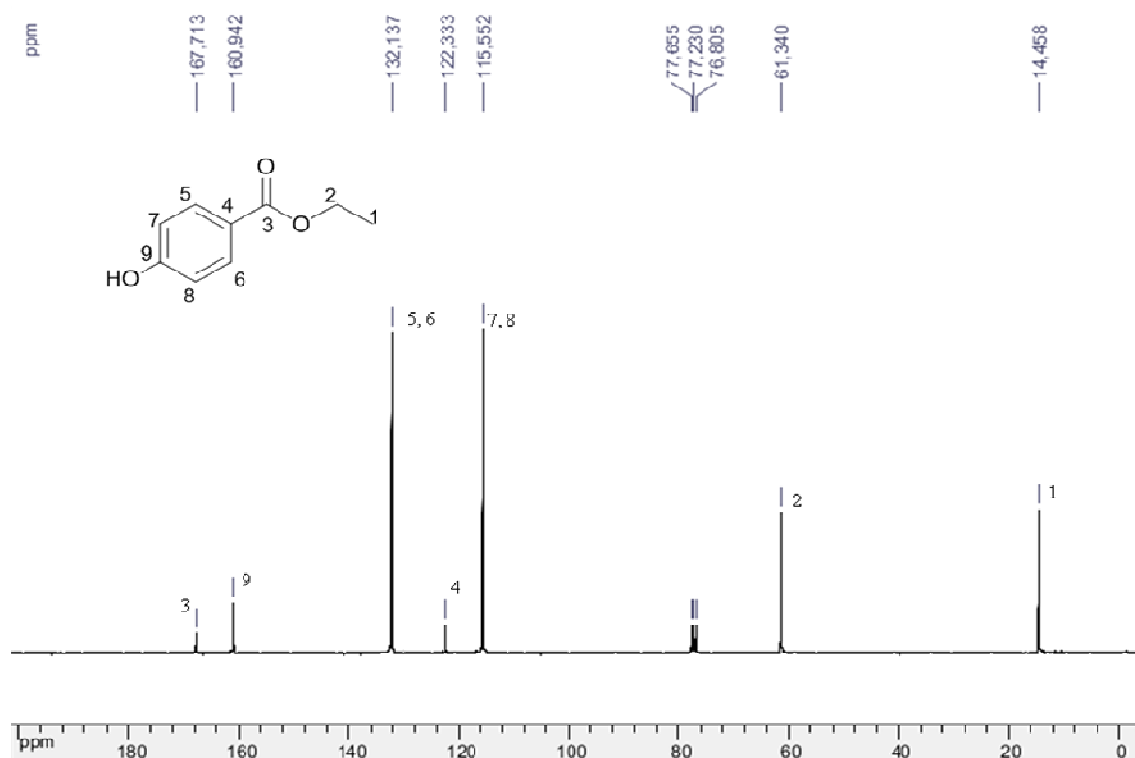


Minimum:

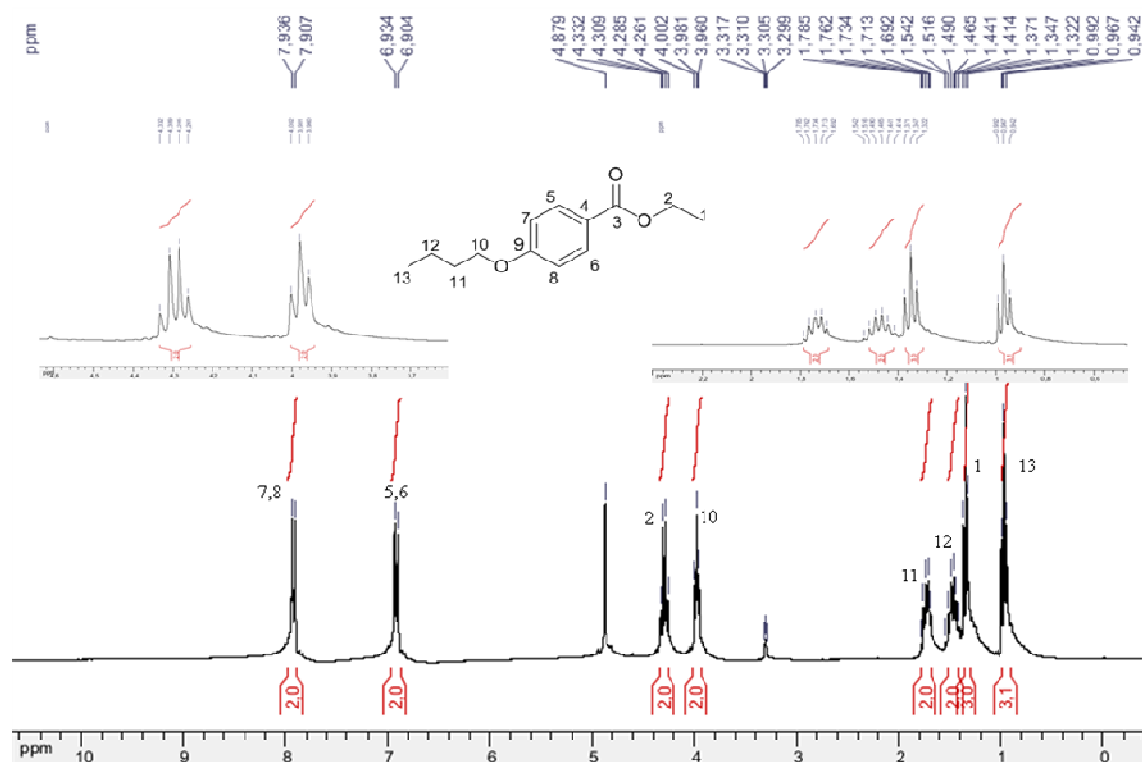
Maximum: 5.0 5.0 -1.5

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-PIT (Norm)	Formula
458.3034	458.3037	-0.3	-0.7	3.5	919.9	0.0	C25 H45 N O4 Cl

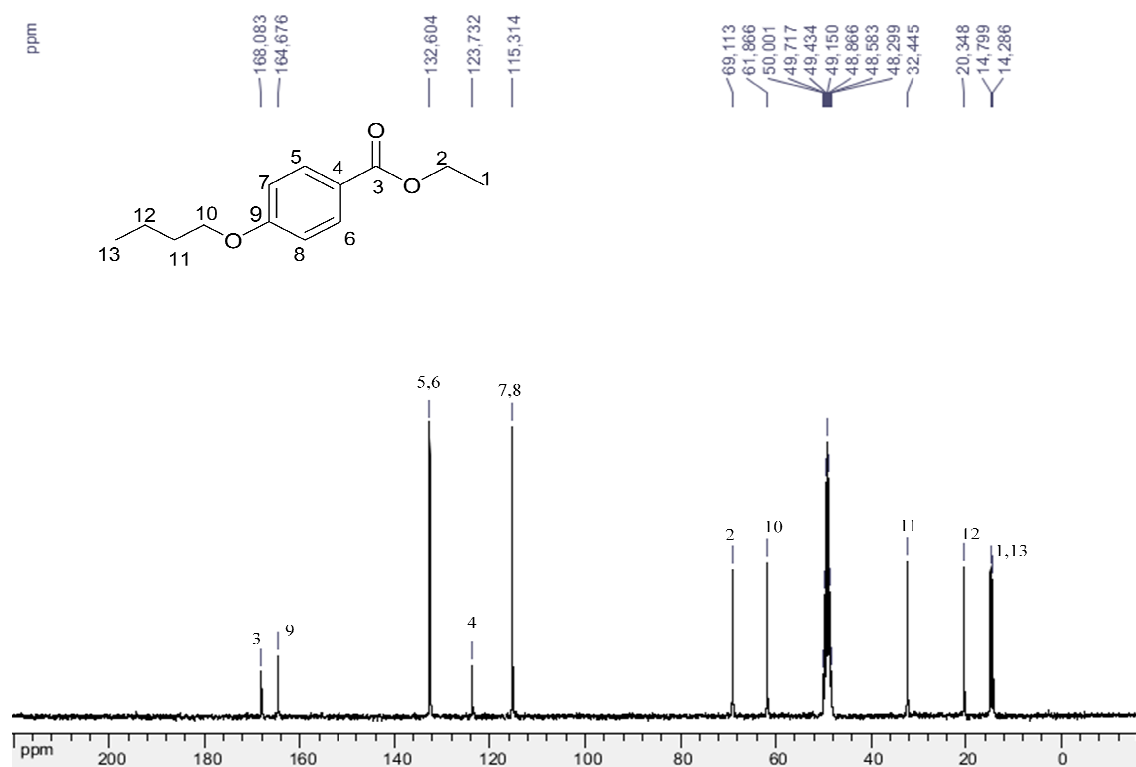
Apêndice 2.28. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **26g**.

Apêndice 3: Seção de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto **28****Apêndice 3.1.** Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) do composto **28**.**Apêndice 3.2.** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) do composto **28**.

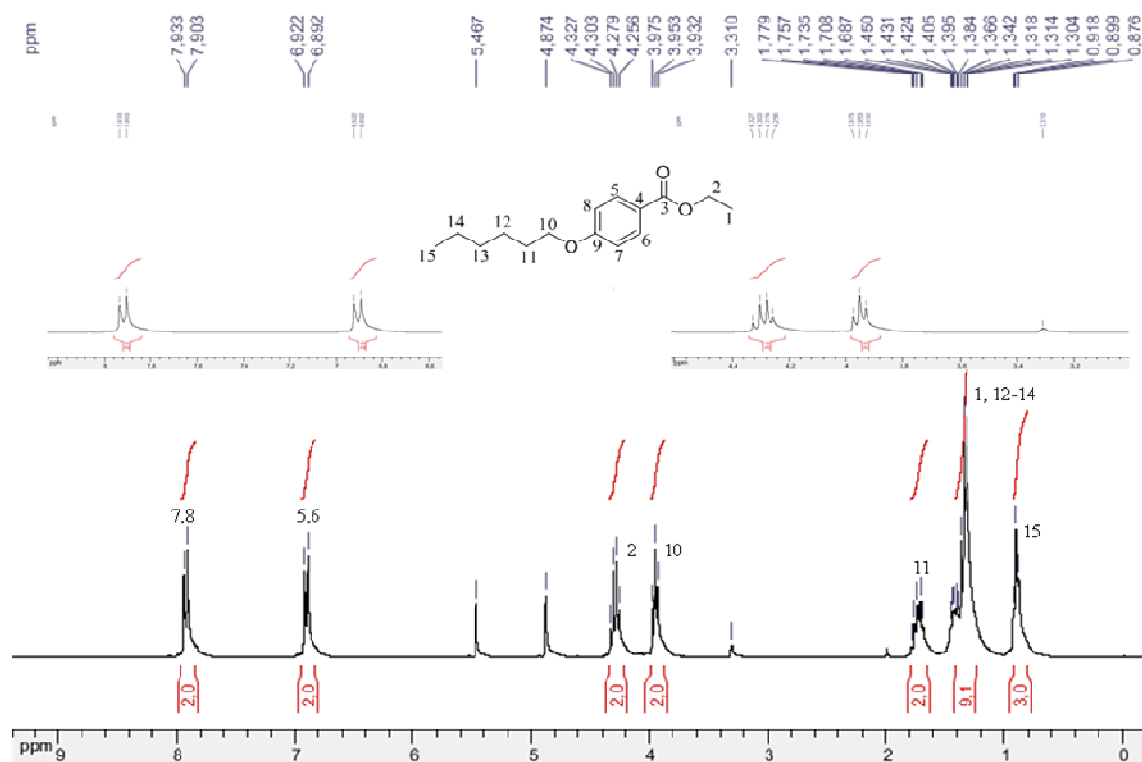
Apêndice 4: Seção de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos ésteres alquilados 29a-g



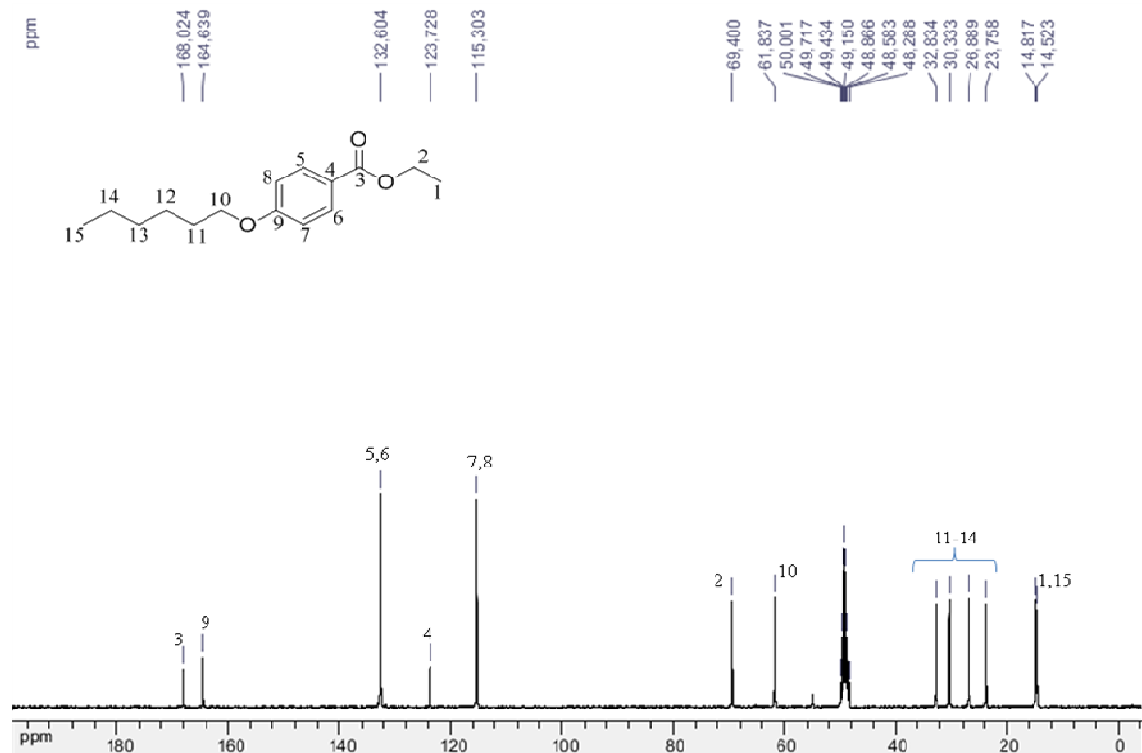
Apêndice 4.1. Espectro de RMN ^1H (CD₃OD; 300 MHz) do composto 29a.



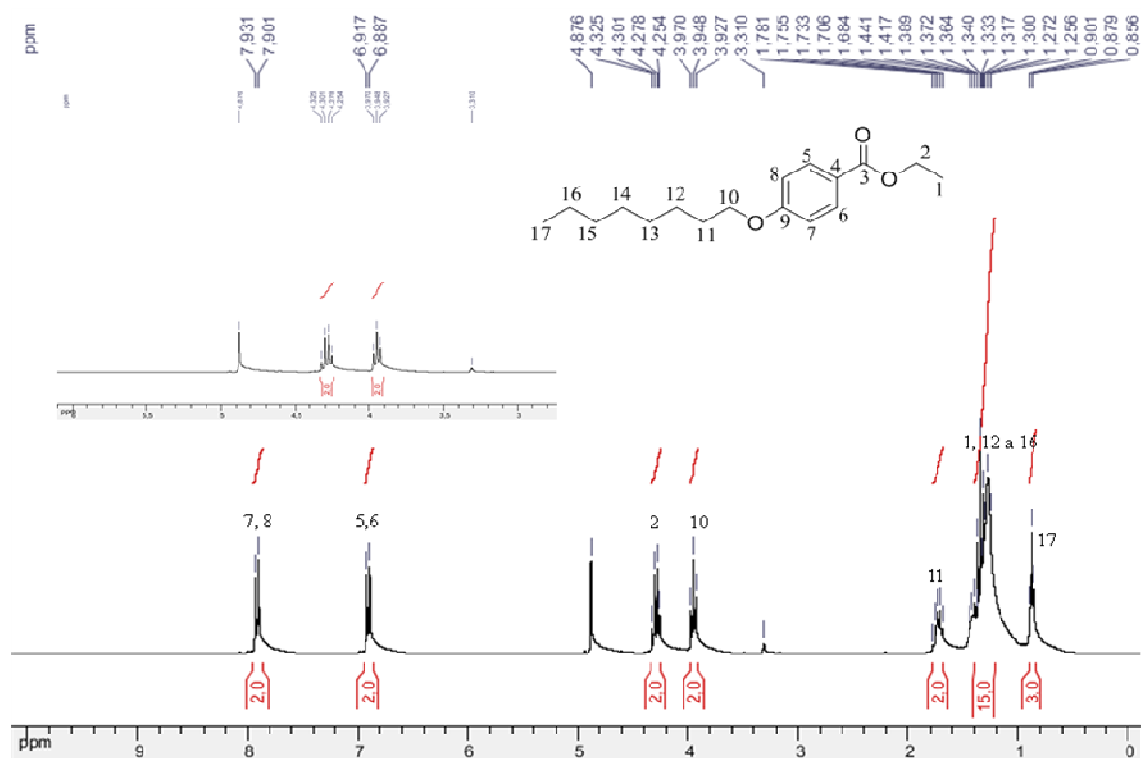
Apêndice 4.2. Espectro de RMN ^{13}C (CD₃OD; 75 MHz) do composto 29a.



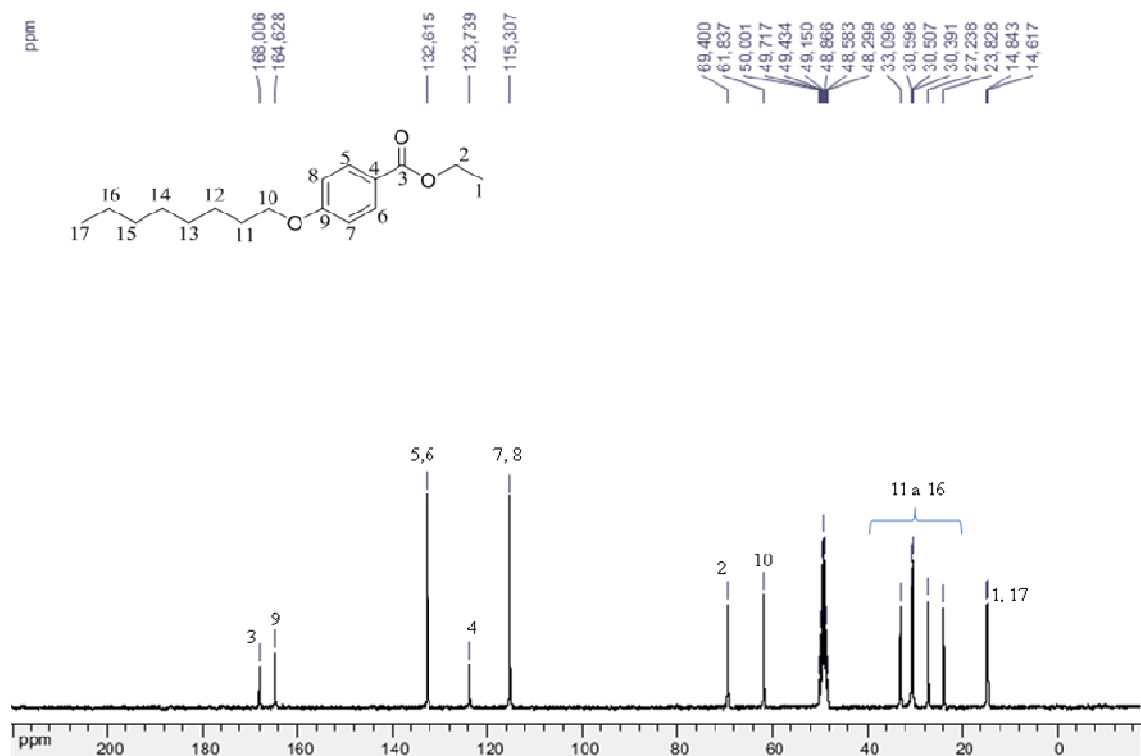
Apêndice 4.3. Espectro de RMN ^1H (CD₃OD; 300 MHz) do composto **29b**.



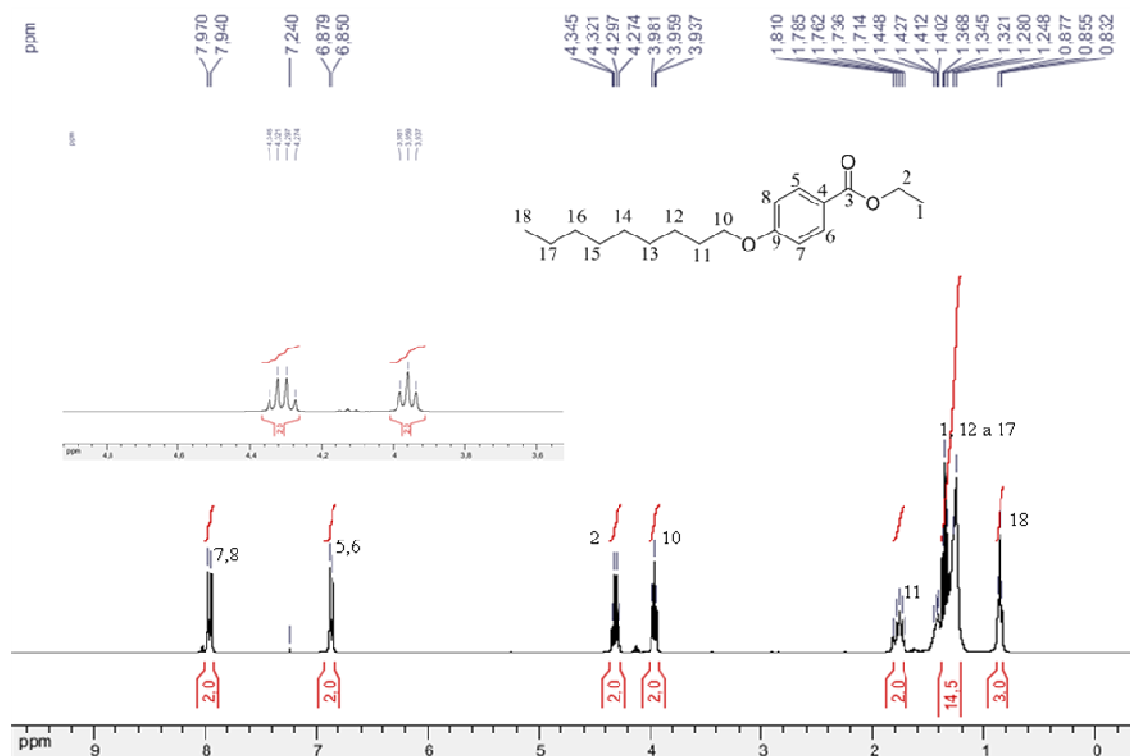
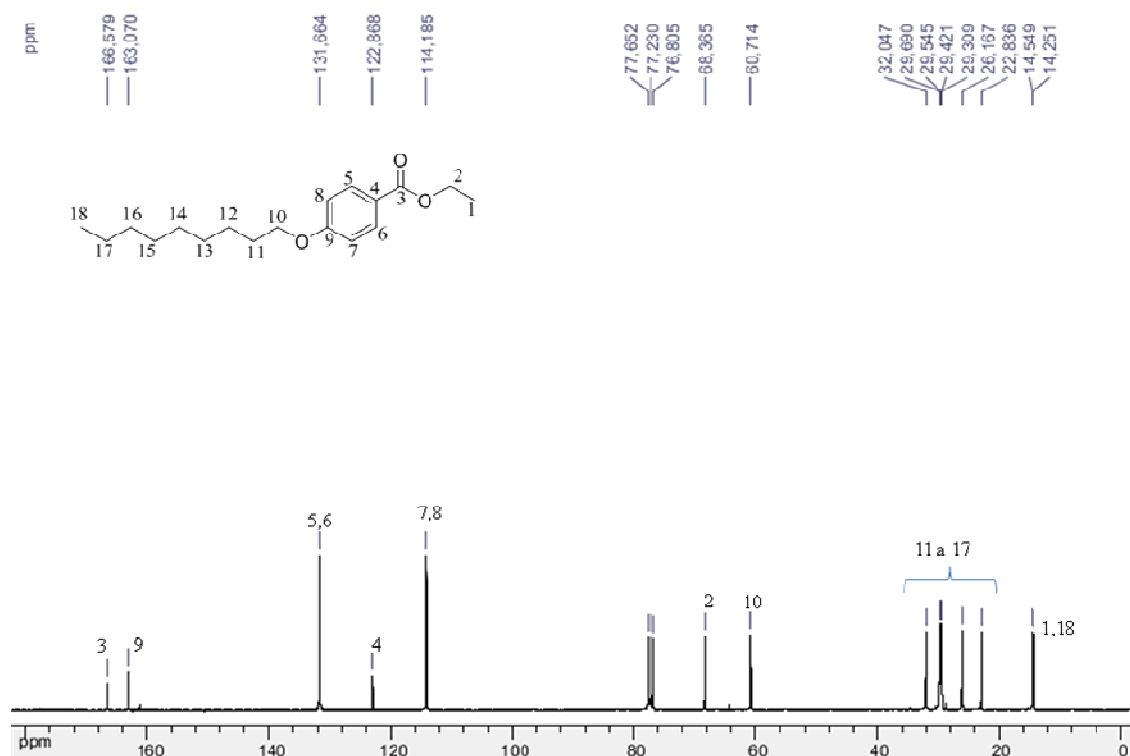
Apêndice 4.4. Espectro de RMN ^{13}C (CD₃OD; 75 MHz) do composto **29b**.

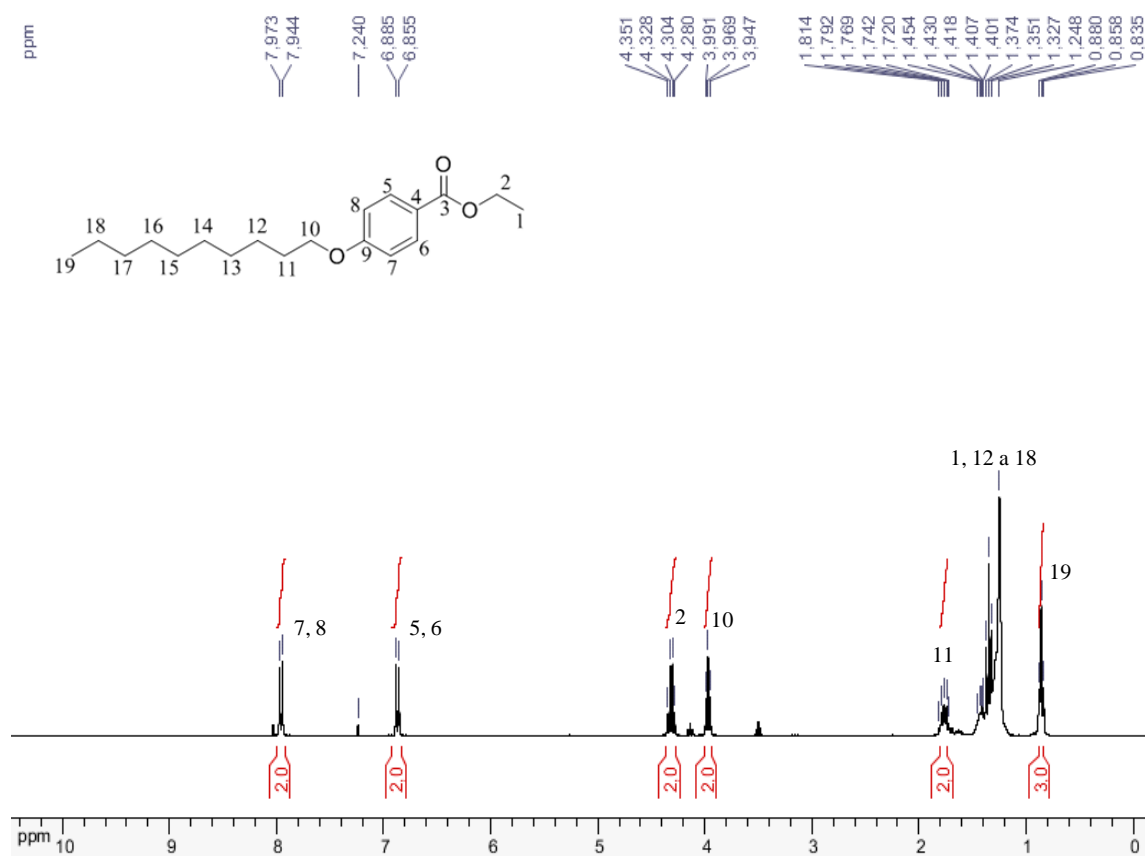
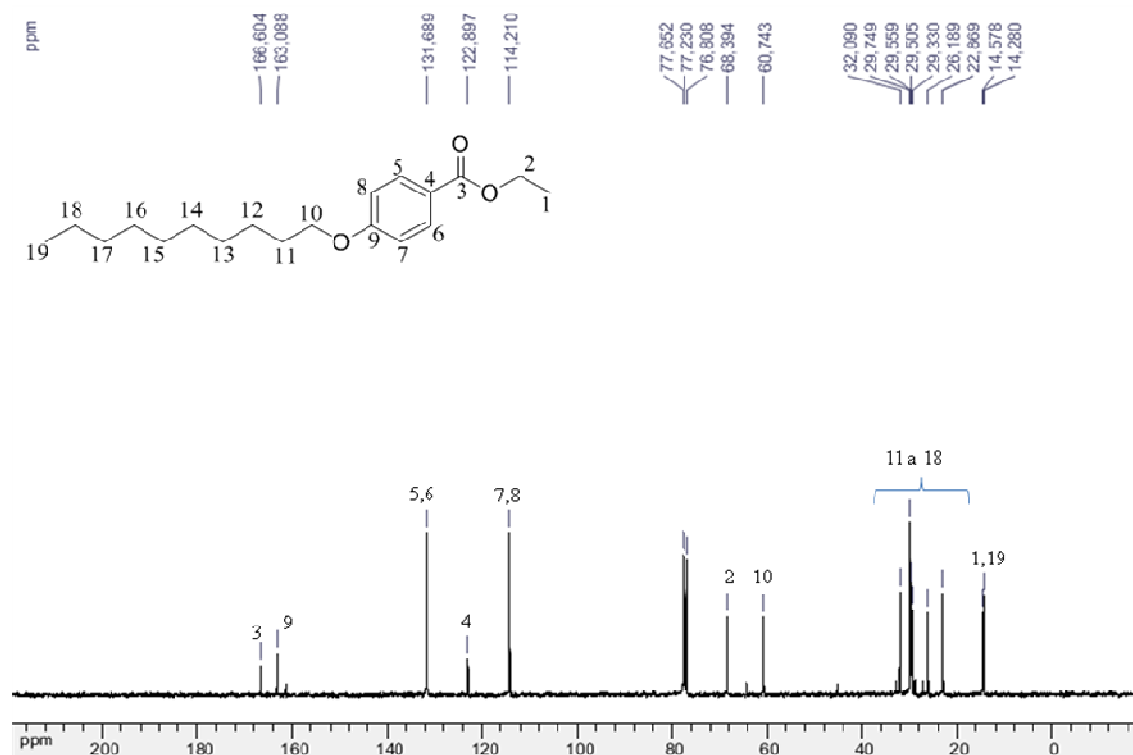


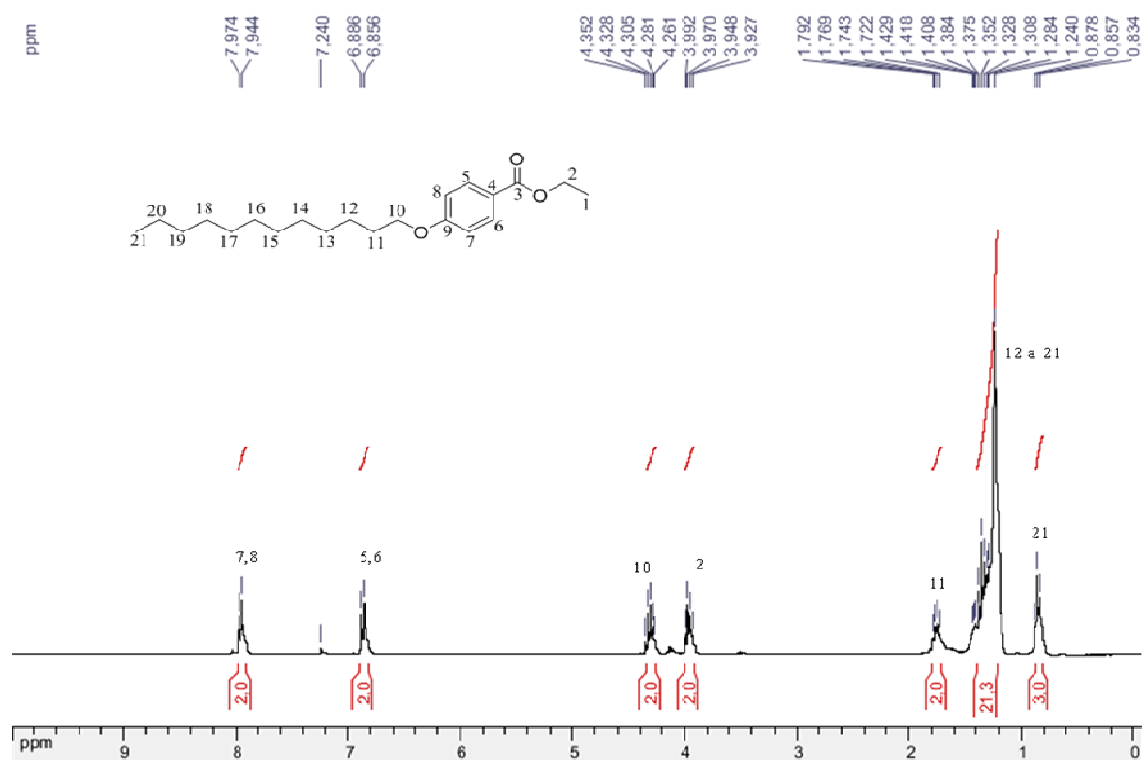
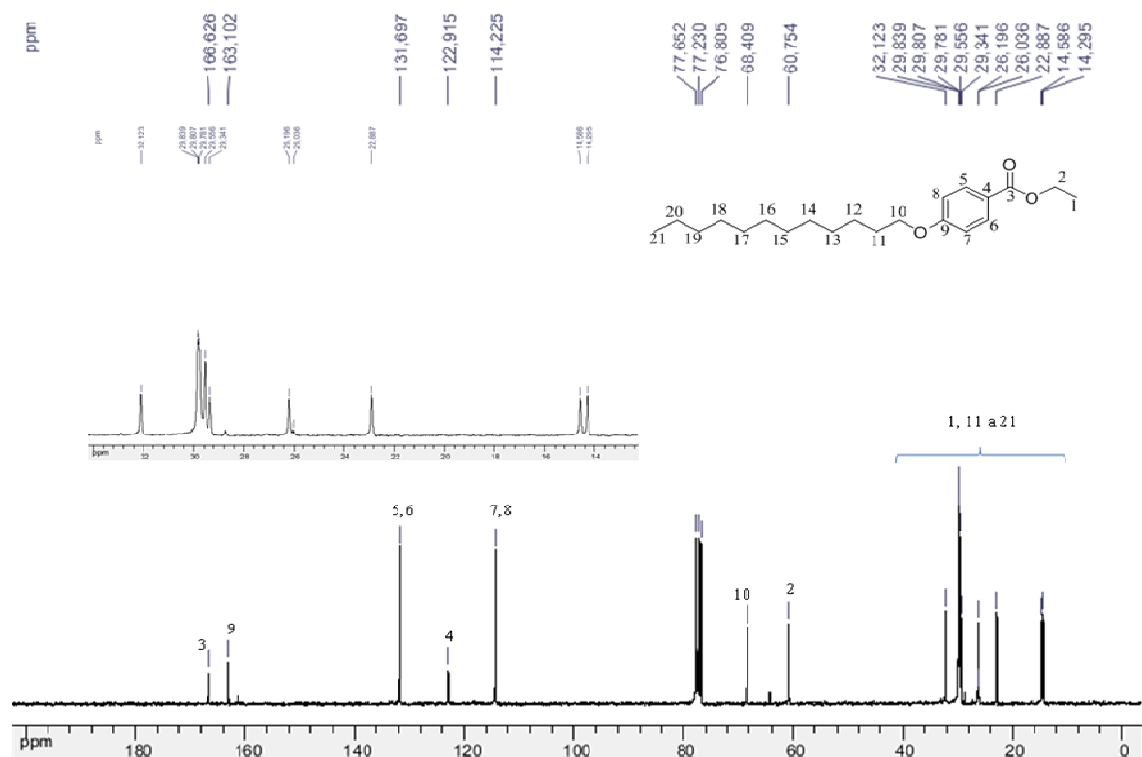
Apêndice 4.5. Espectro de RMN ^1H (CD₃OD; 300 MHz) do composto **29c**.



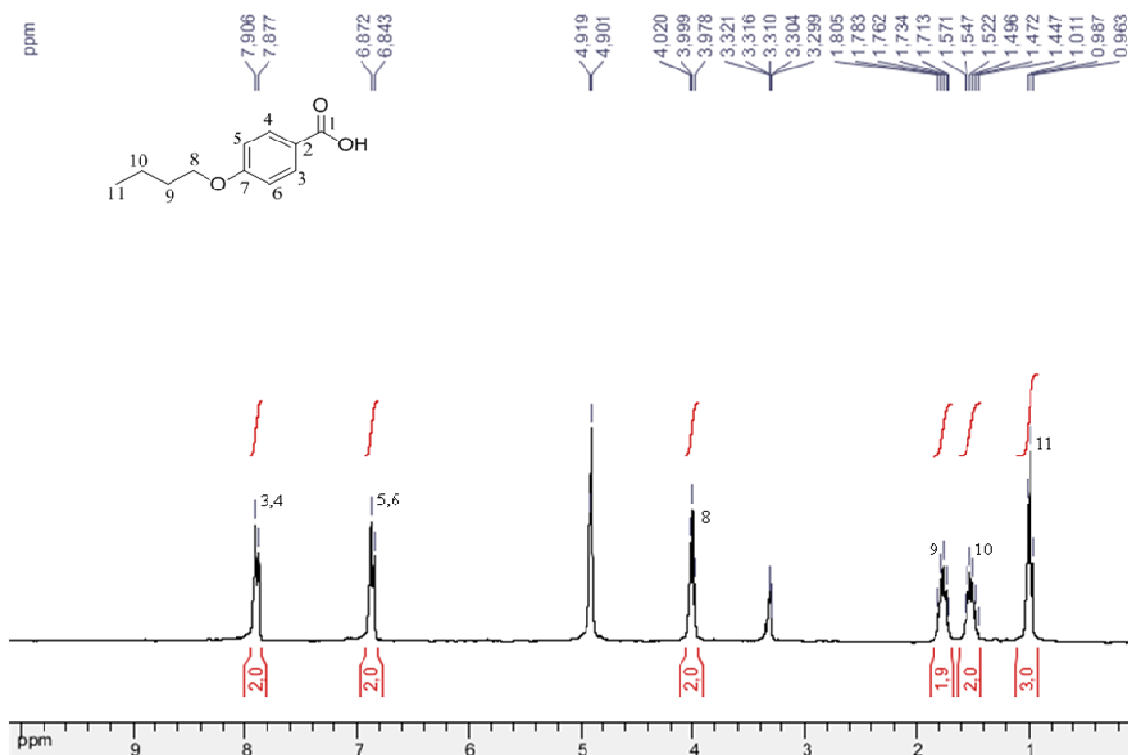
Apêndice 4.6. Espectro de RMN ^{13}C (CD₃OD; 75 MHz) do composto **29c**.

Apêndice 4.7. Espectro de RMN ^1H (CDCl₃; 300 MHz) do composto **29d**.Apêndice 4.8. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl₃; 75 MHz) do composto **29d**.

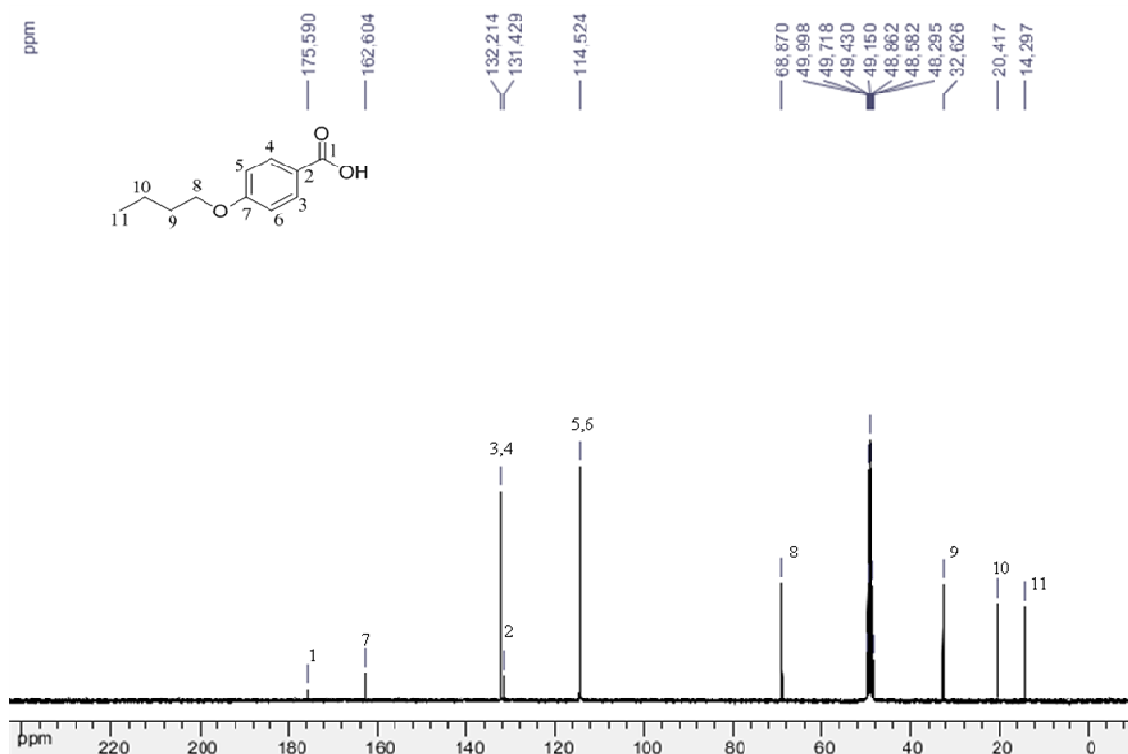
Apêndice 4.9. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) do composto **29e**.Apêndice 4.10. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) do composto **29e**.

Apêndice 4.11. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) do composto **29f**.Apêndice 4.12. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) do composto **29f**.

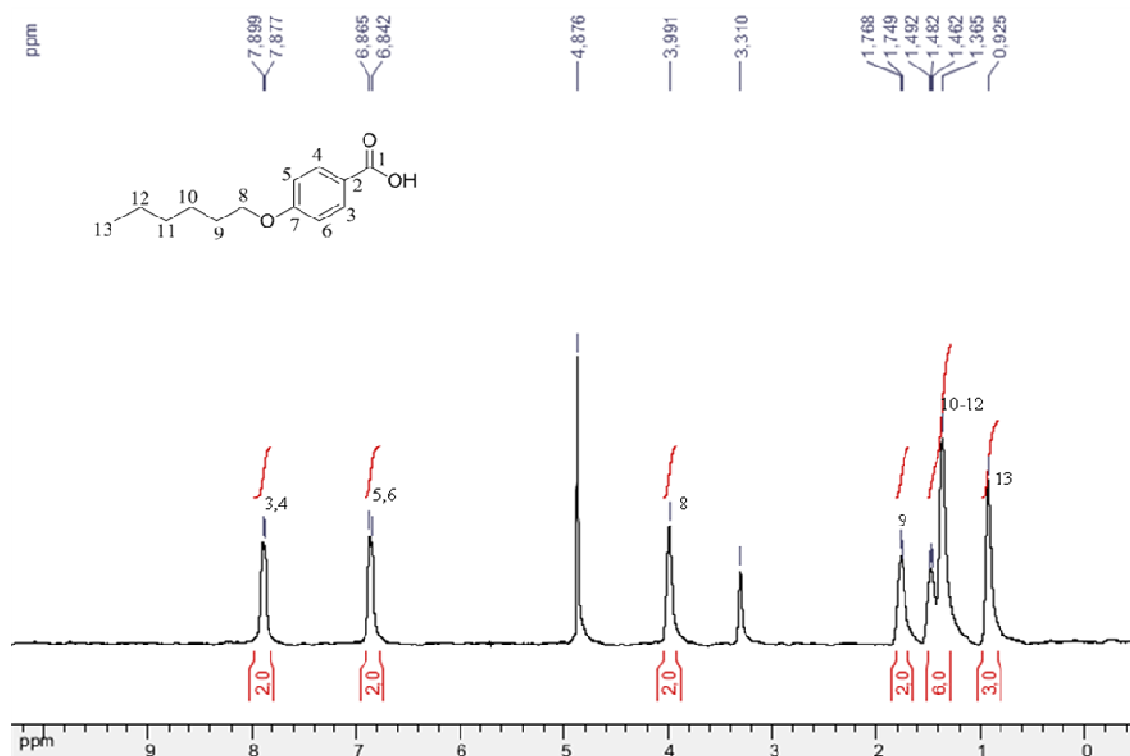
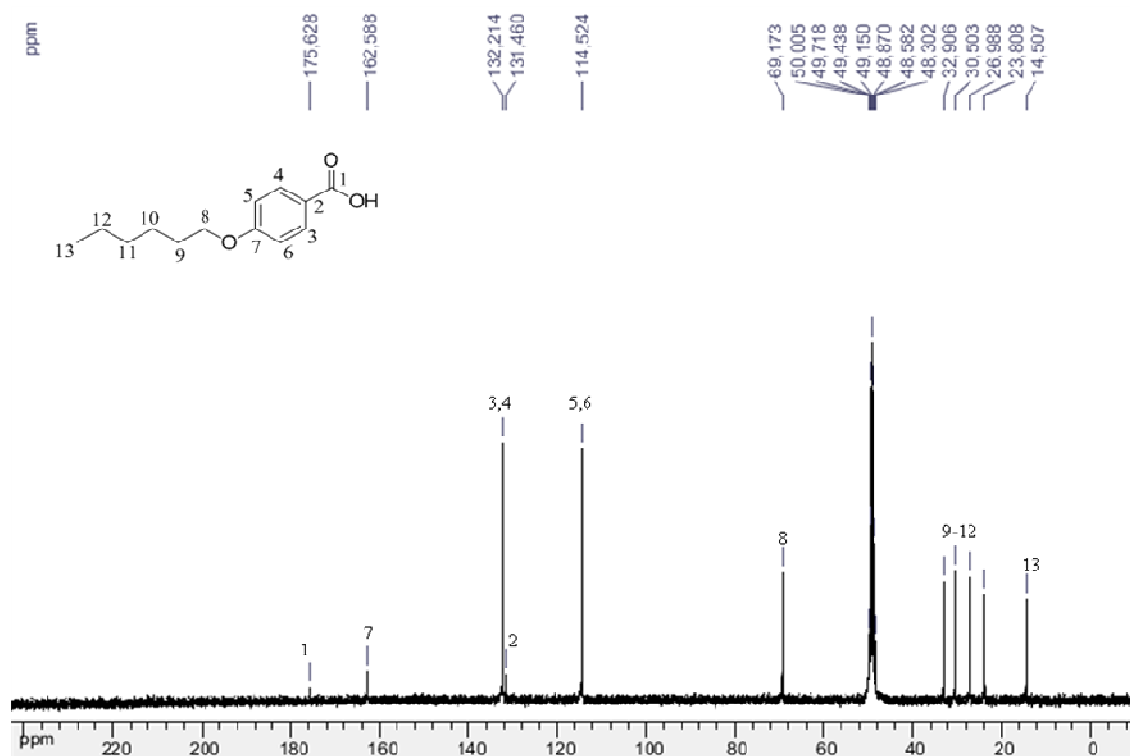
Apêndice 5: Seção de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos ácidos alquilados 30a-g

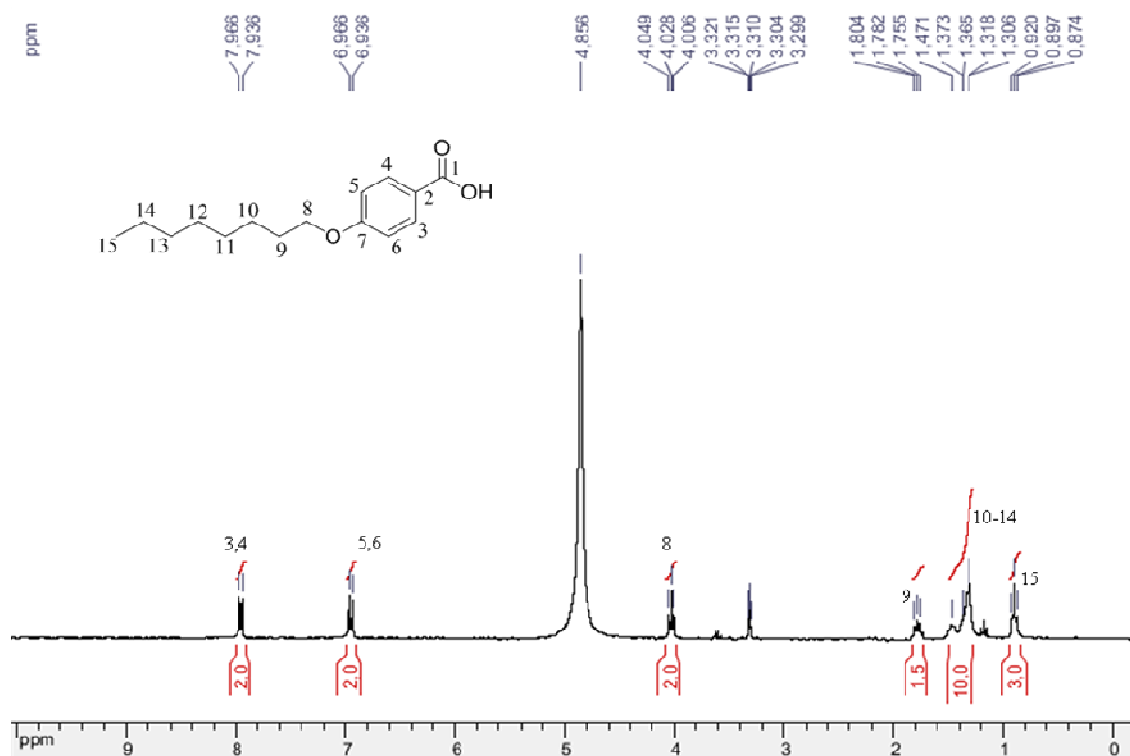


Apêndice 5.1. Espectro de RMN ^1H (CD₃OD; 300 MHz) do composto 30a.

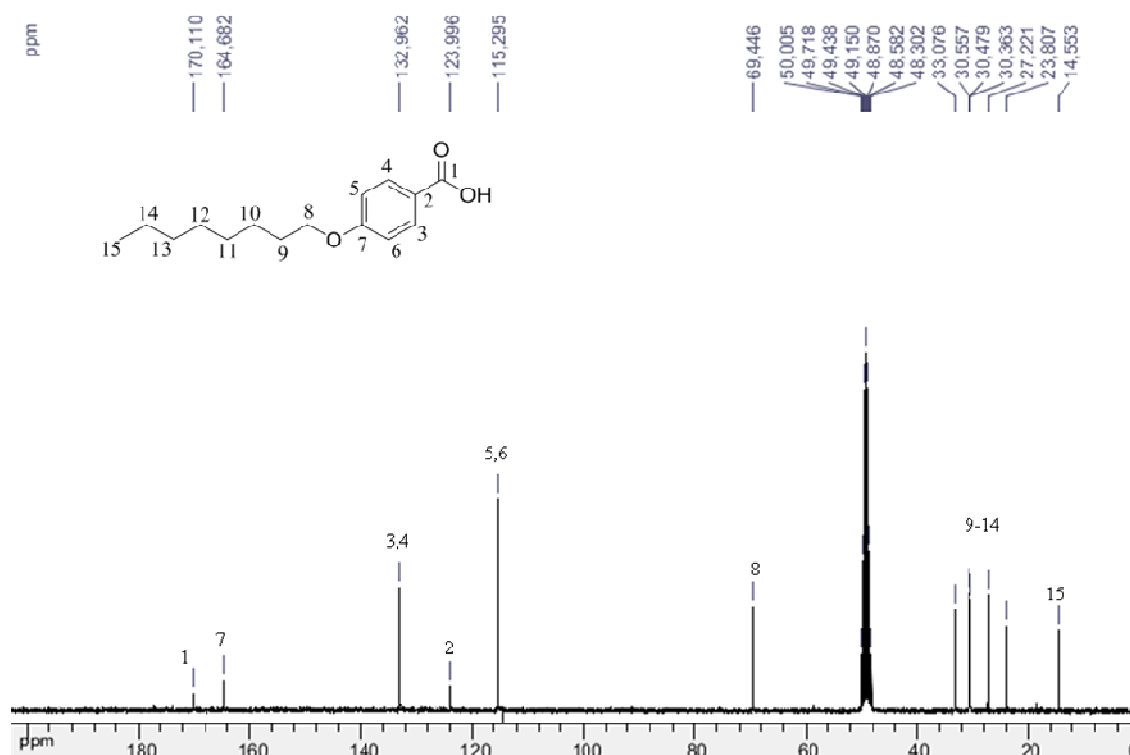


Apêndice 5.2. Espectro de RMN ^{13}C (CD₃OD; 75 MHz) do composto 30a.

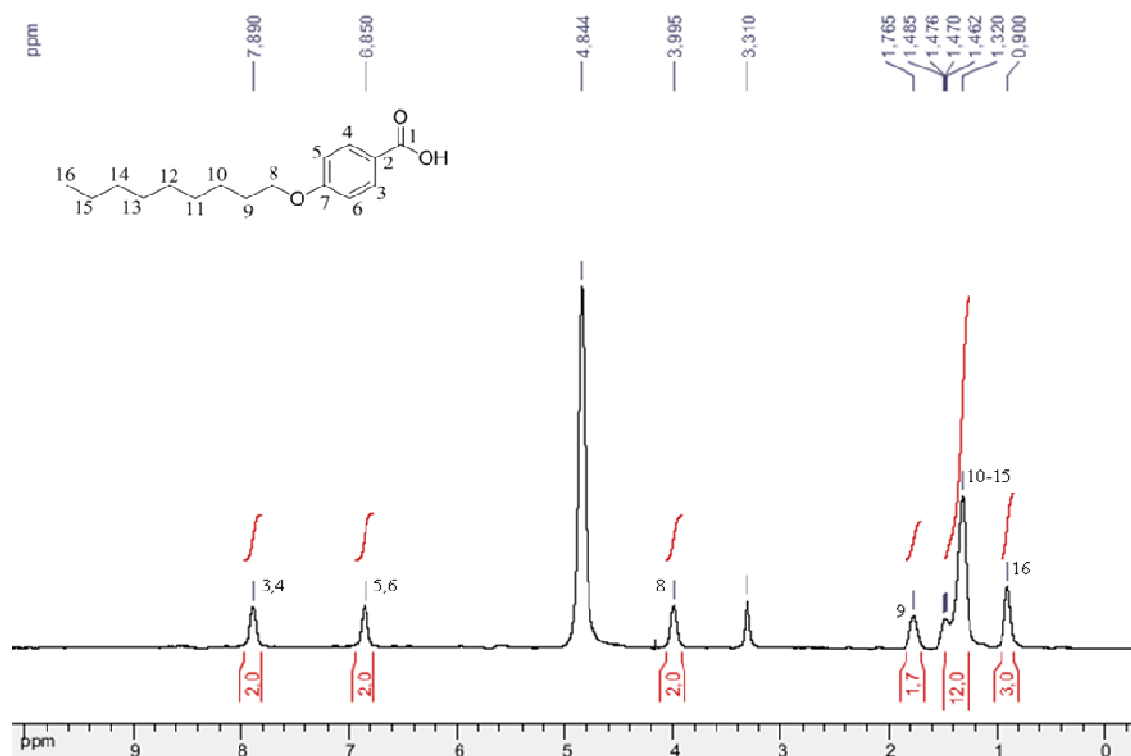
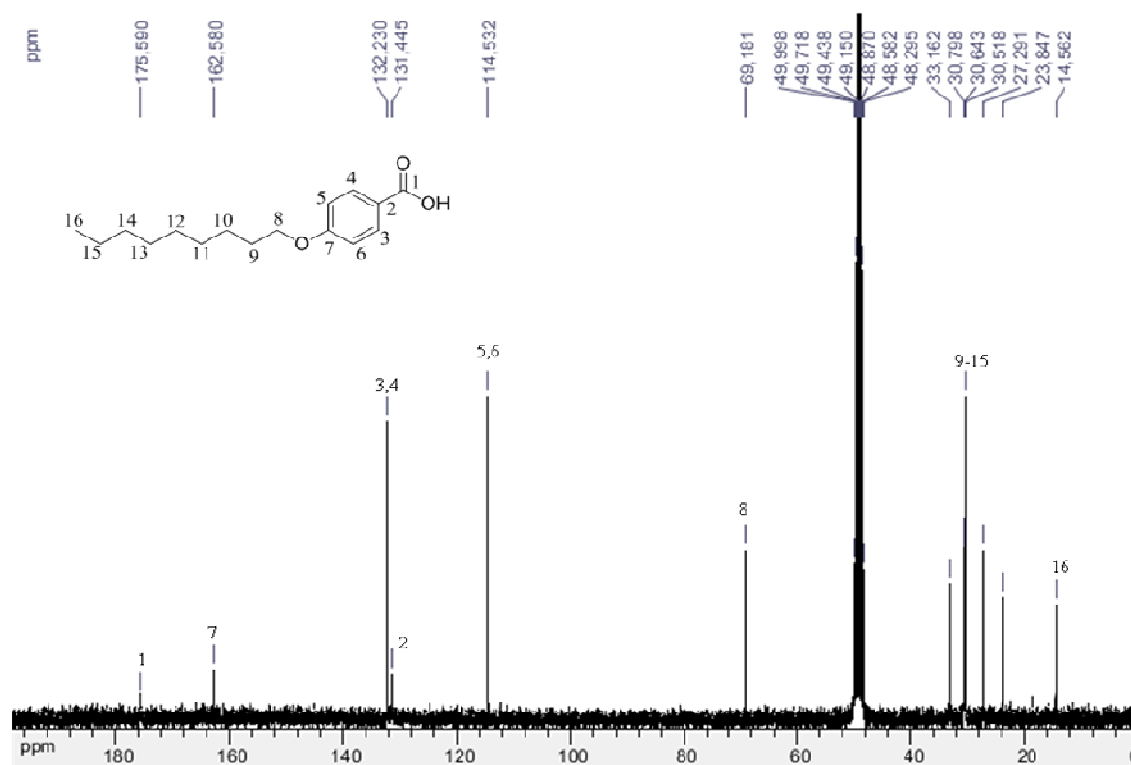
Apêndice 5.3. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto **30b**.Apêndice 5.4. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **30b**.

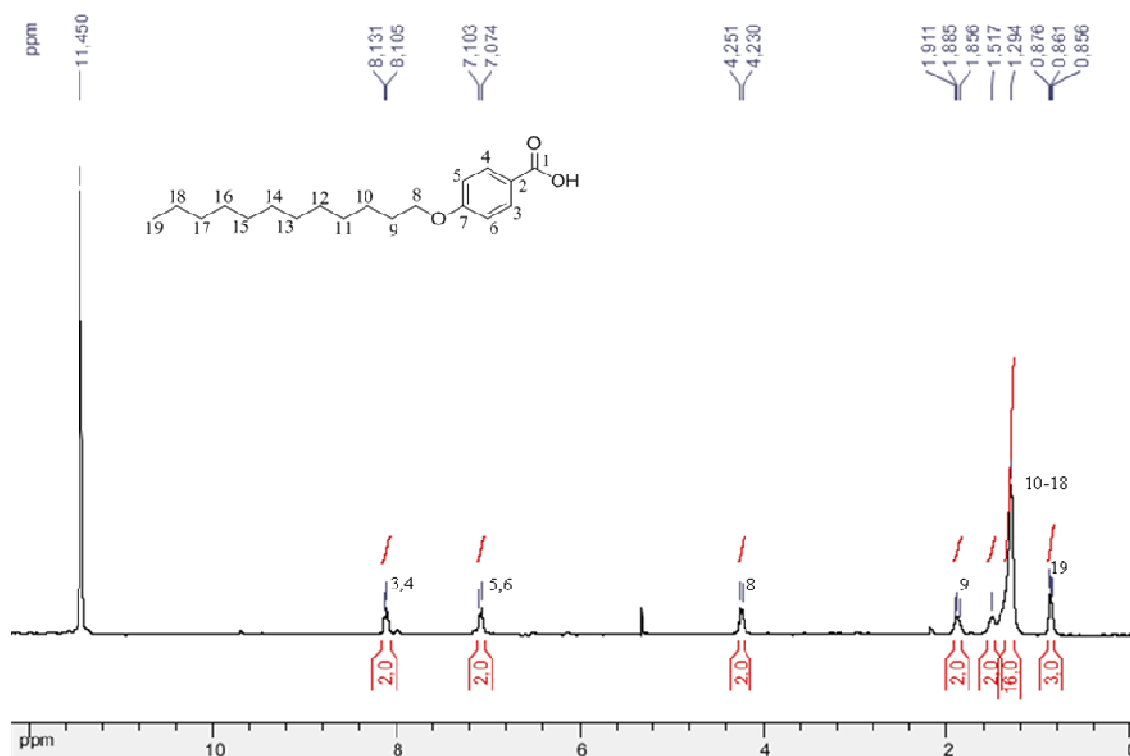


Apêndice 5.5. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto **30c**.

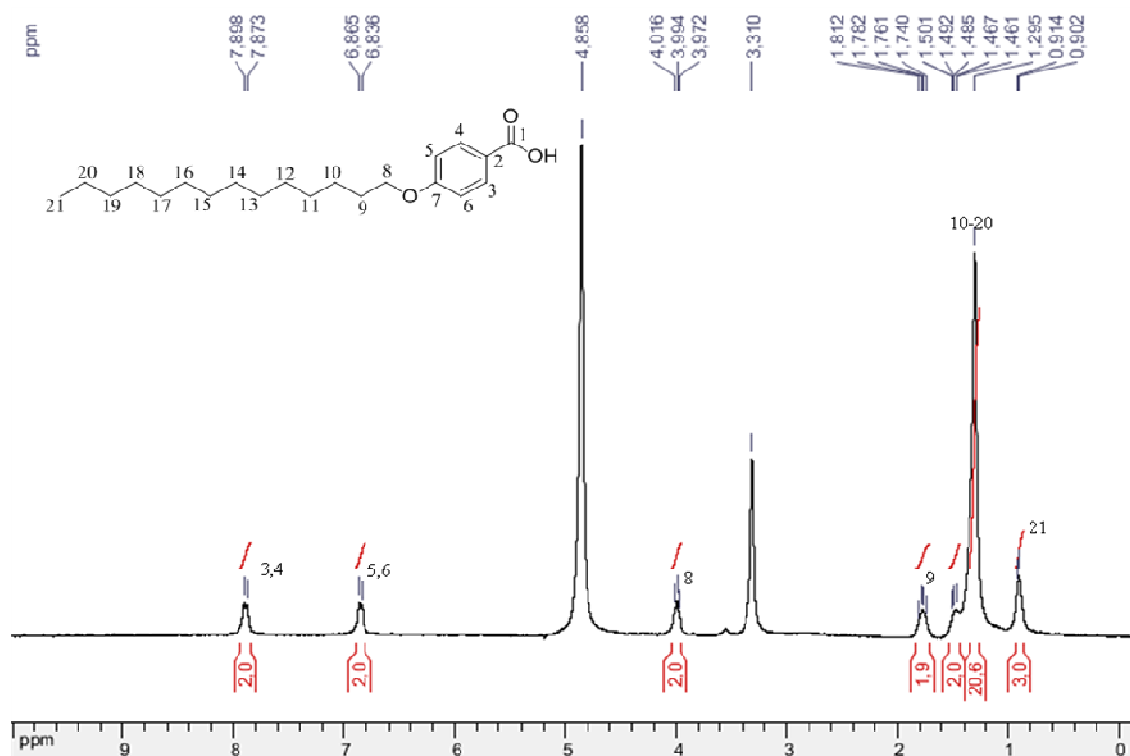


Apêndice 5.6. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **30c**.

Apêndice 5.7. Espectro de RMN ¹H (CD₃OD; 300 MHz) do composto 30d.Apêndice 5.8. Espectro de RMN ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) do composto 30d.

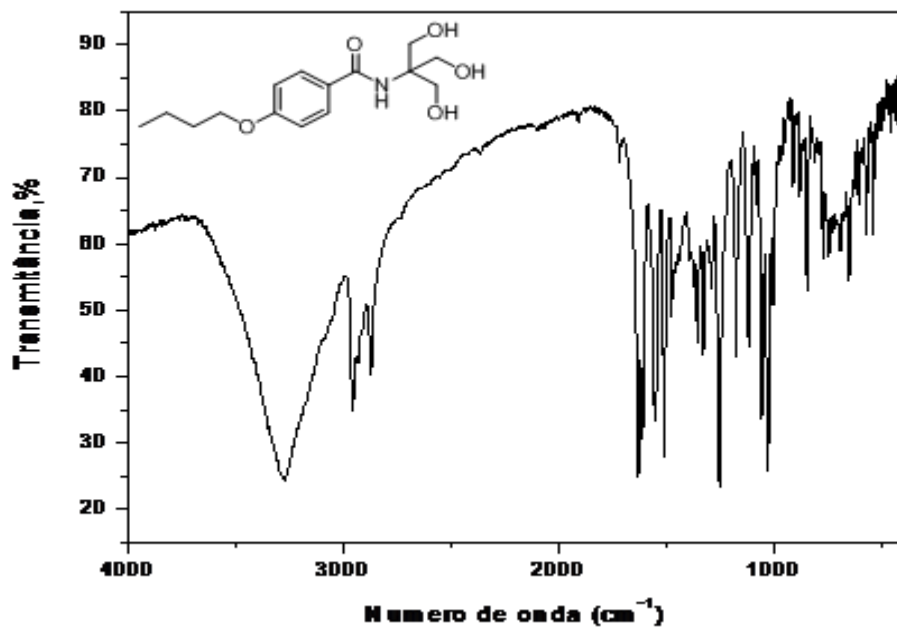


Apêndice 5.9. Espectro de RMN ^1H (TFA; 300 MHz) do composto **30f**.

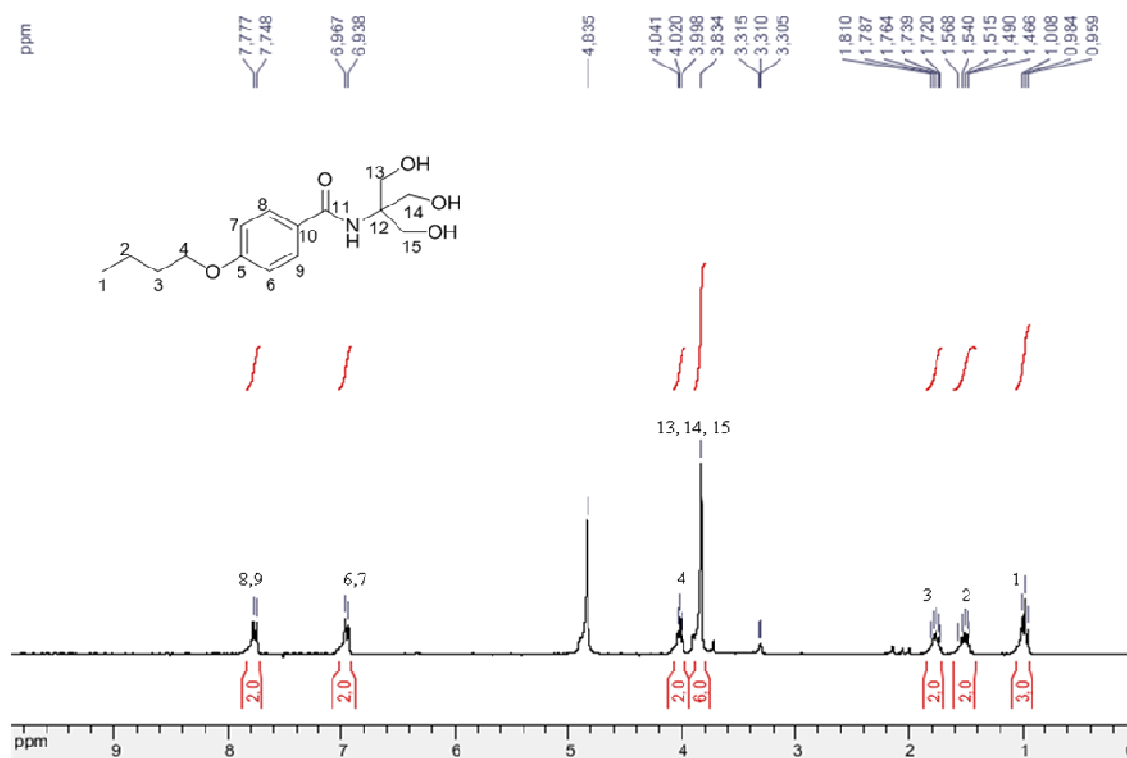


Apêndice 5.10. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **30g**.

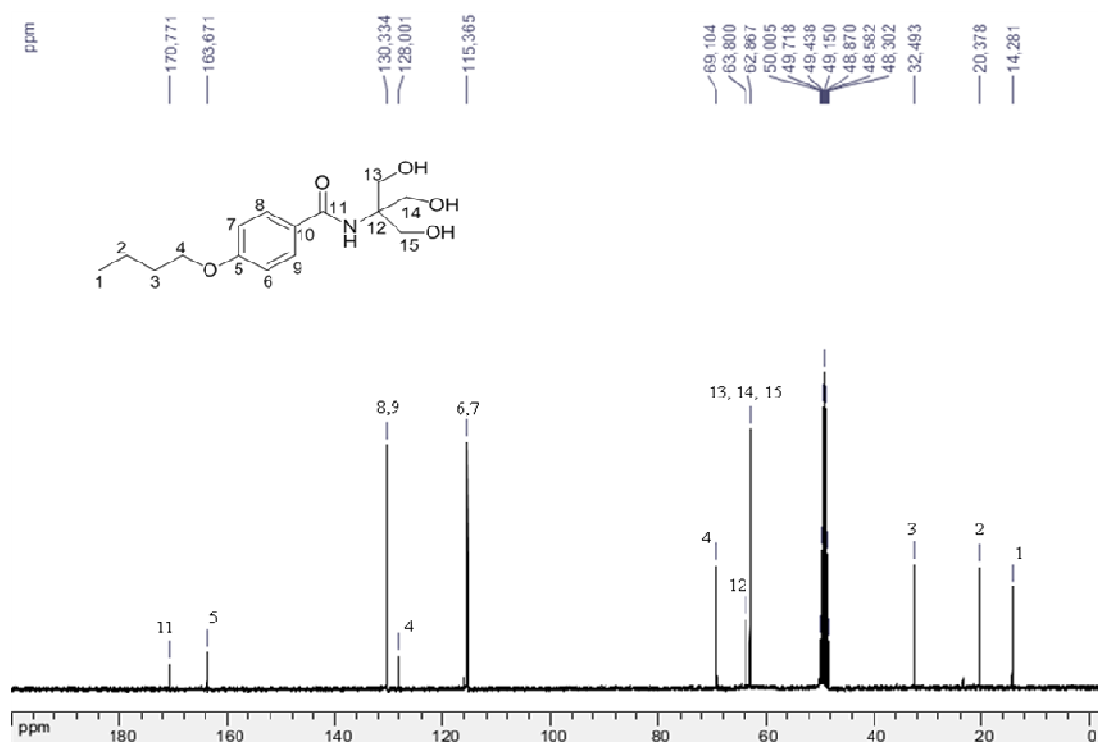
Apêndice 6: Seção de espectros de massas, IV e RMN de ^1H e de ^{13}C das amidas 32a-g e 42



Apêndice 6.1. Espectro na região de infravermelho do composto 32a (KBr).



Apêndice 6.2. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto 32a.



Apêndice 6.3. Espectro de RMN ¹³C (CD₃OD; 75 MHz) do composto **32a**.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 0

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

92 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-5 O: 1-5

DE-ASSIS

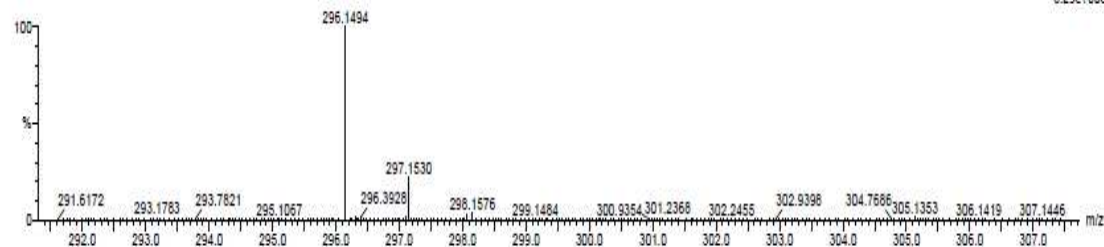
DO-ja-anv26 27 (0.706) Cm (27.36)

MeOH

13-Jul-2012 16:21:36

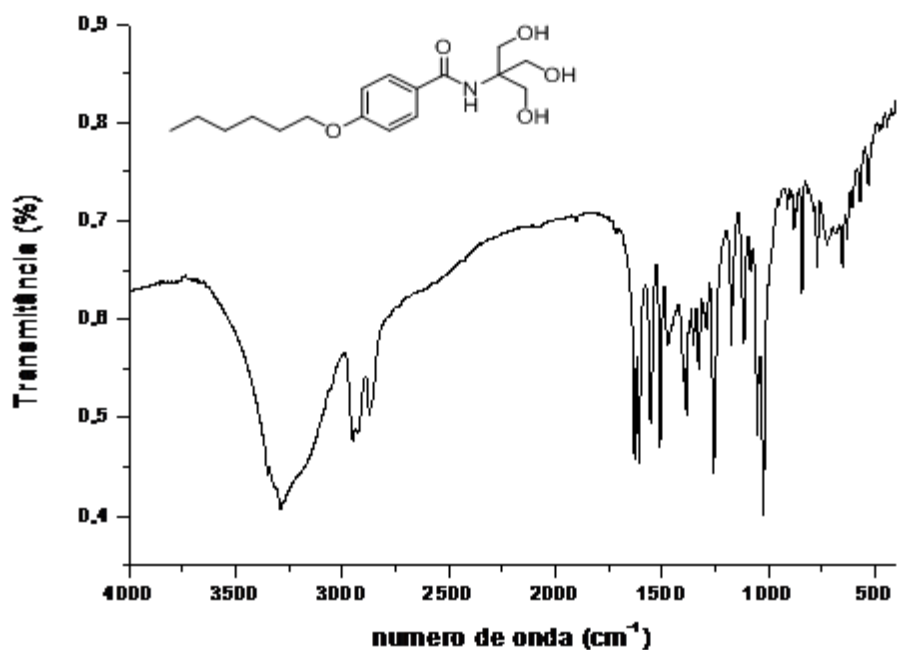
2: TOF MS ES-

6.29e+003



Minimum:				-1.5			
Maximum:	5.0	5.0	100.0				
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
296.1494	296.1498	-0.4	-1.4	5.5	888.6	0.0	C15 H22 N O5

Apêndice 6.4. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **32a**.



Apêndice 6.5. Espectro na região de infravermelho do composto **32b** (KBr).

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

108 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-4 O: 1-7

DE-ASSIS

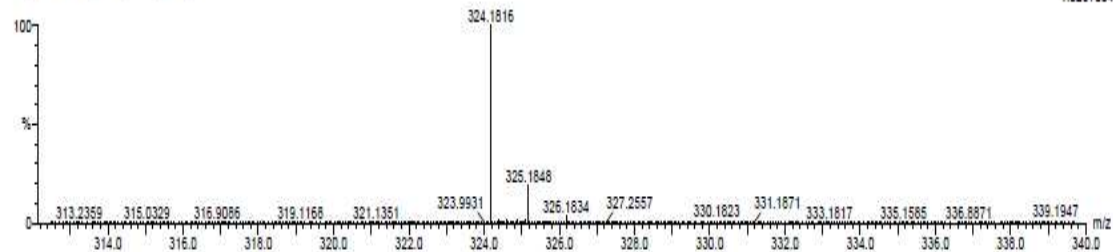
DO_ja-anv28.25 (0.672) Cm (20:30)

MeOH

13-Jul-2012 16:42:52

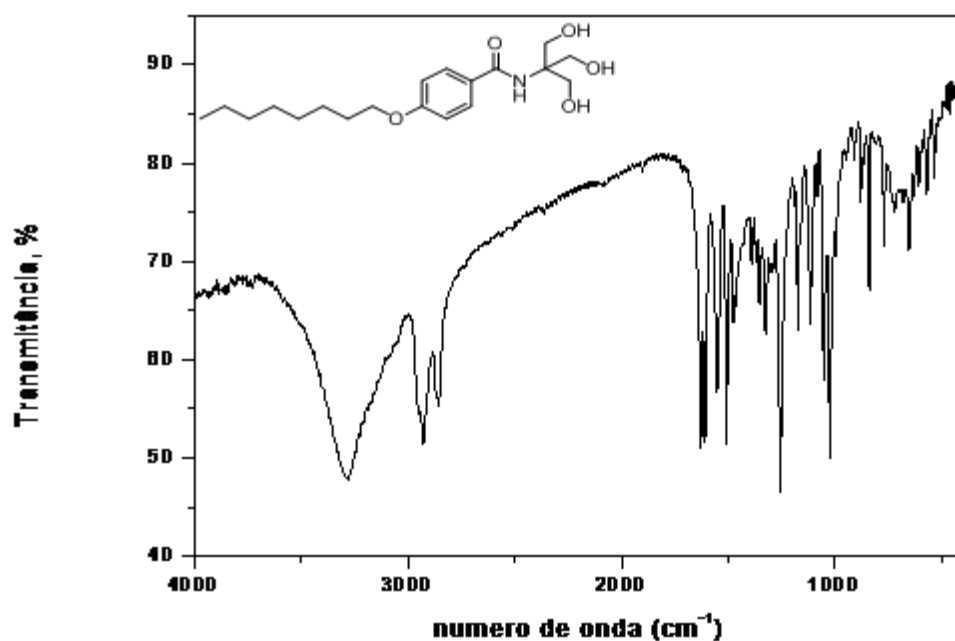
2: TOF MS ES-

1.02e+004

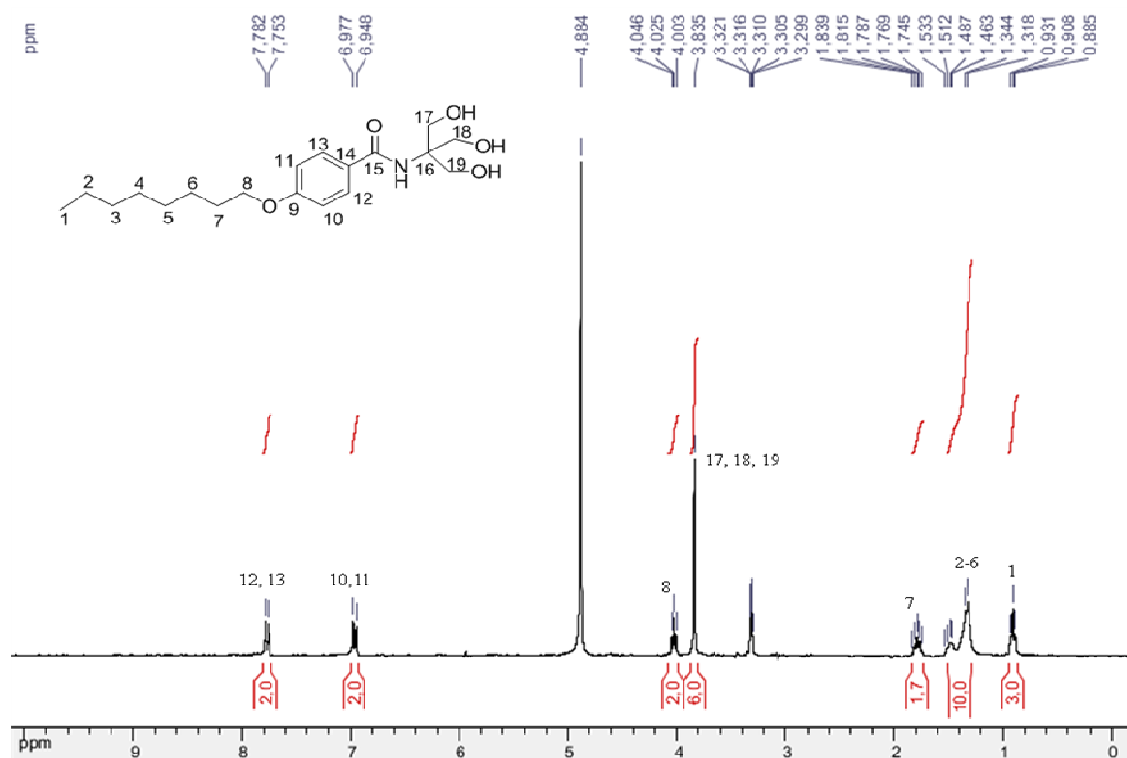


Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
324.1816	324.1811	0.5	1.5	5.5	1013.4	0.0	C17 H26 N O5

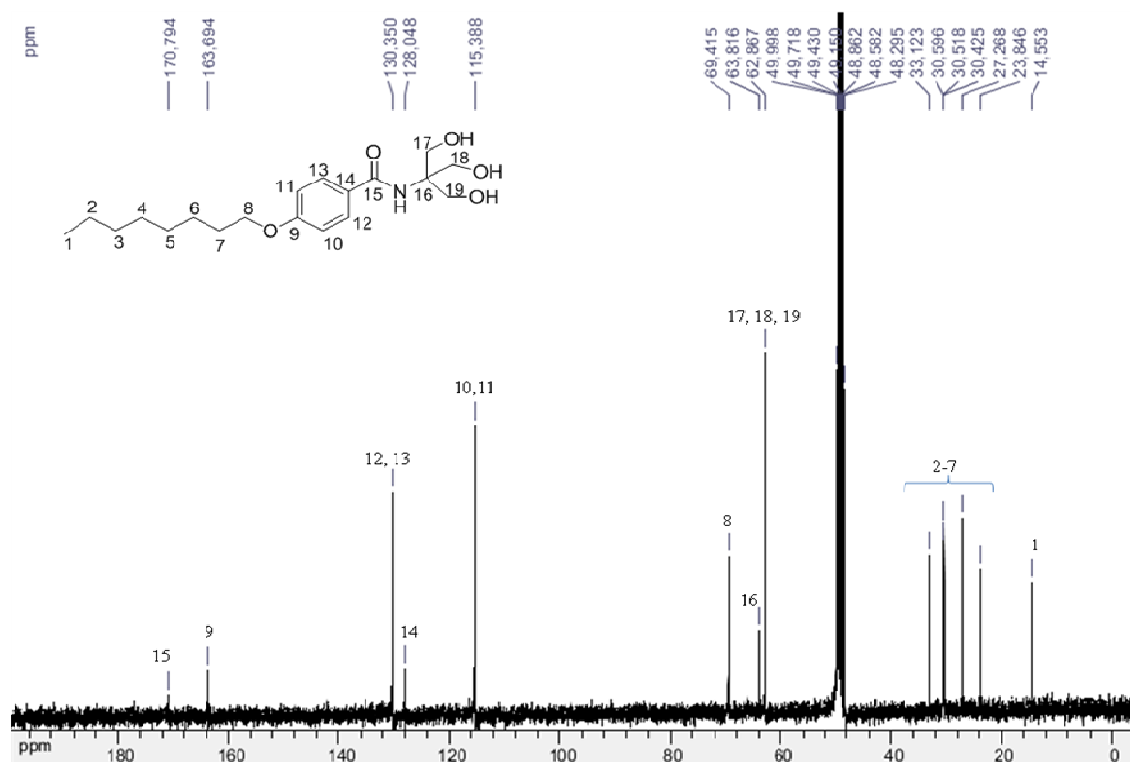
Apêndice 6.6. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **32b**.



Apêndice 6.7. Espectro na região de infravermelho do composto **32c** (KBr).



Apêndice 6.8. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto **32c**.



Apêndice 6.9. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **32c**.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 6.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 0

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

85 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-5 O: 2-5

DE-AGSIS

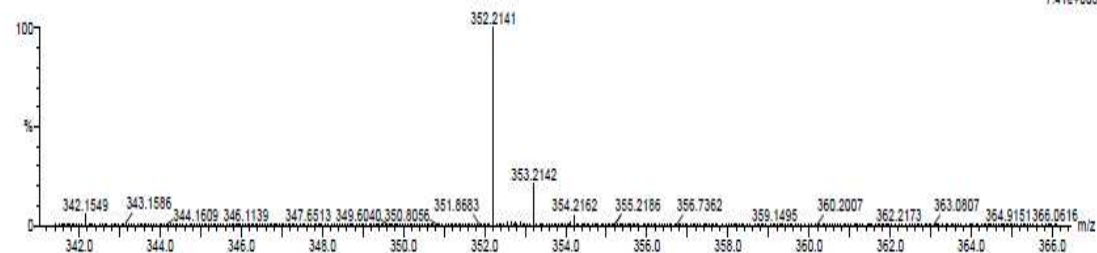
DO_ja-anv24 23 (0.616) Cm (21:28)

MeOH

13-Jul-2012 16:18:34

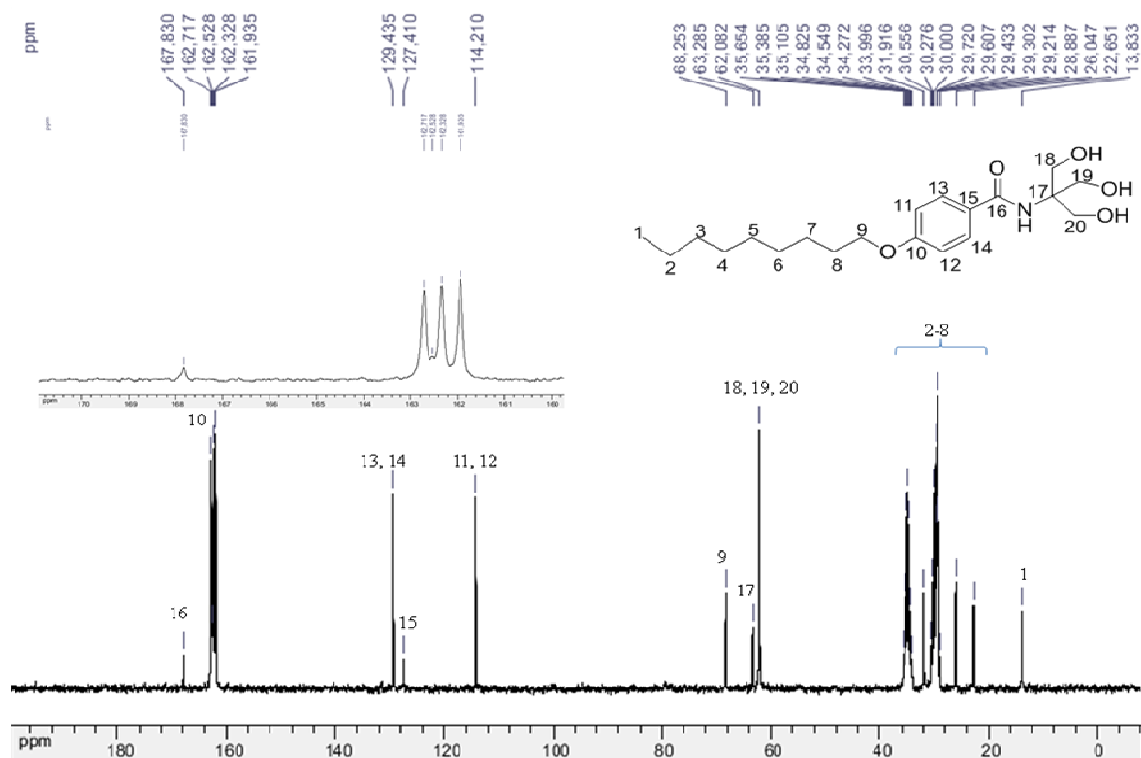
2: TOF MS ES-

7.41e+003



Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-PIT	1-PIT (Norm)	Formula
352.2141	352.2124	1.7	4.8	5.5	866.5	0.0	C19 H30 N O5

Apêndice 6.10. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **32c**.



Apêndice 6.13. Espectro de RMN ^{13}C (DMF; 75 MHz) do composto **32d**.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

89 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-5 O: 2-5

DE-ASSIS

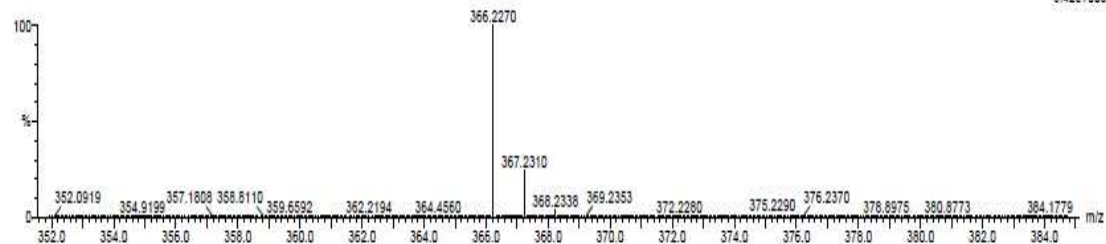
DO_Ja-anv32 28 (0.725) Cm (28:38)

MeOH

13-Jul-2012 16:24:38

2: TOF MS ES-

5.42e+003



Minimum:

5.0 5.0 -1.5

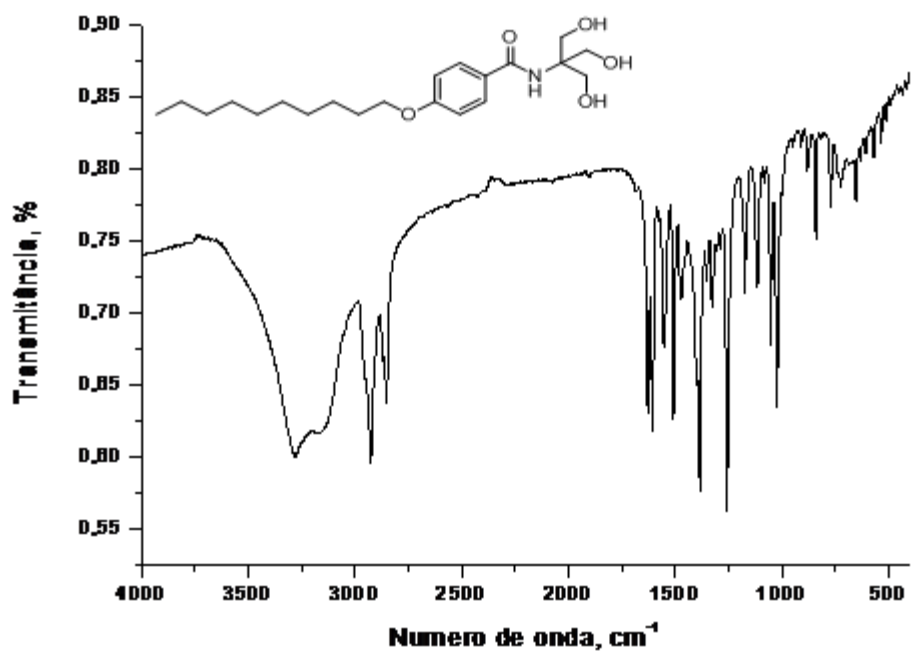
Maximum:

5.0 5.0 100.0

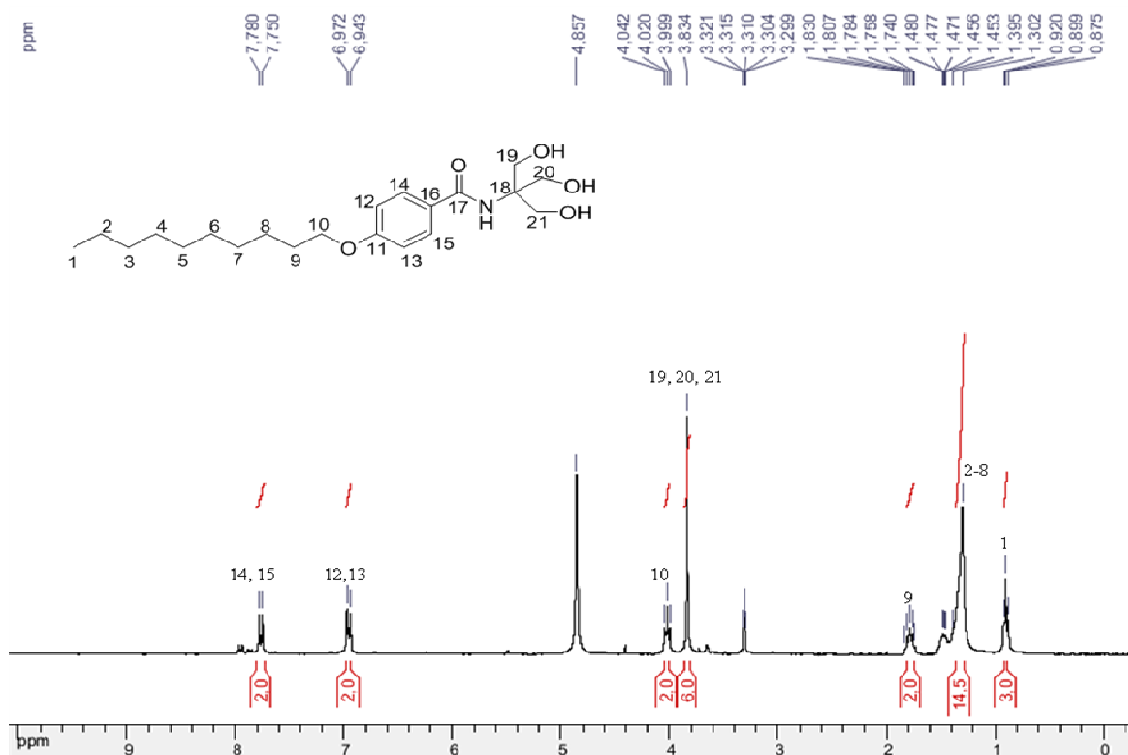
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
------	------------	-----	-----	-----	-------	--------------	---------

366.2270	366.2280	-1.0	-2.7	5.5	951.5	0.0	C20 H32 N O5
----------	----------	------	------	-----	-------	-----	--------------

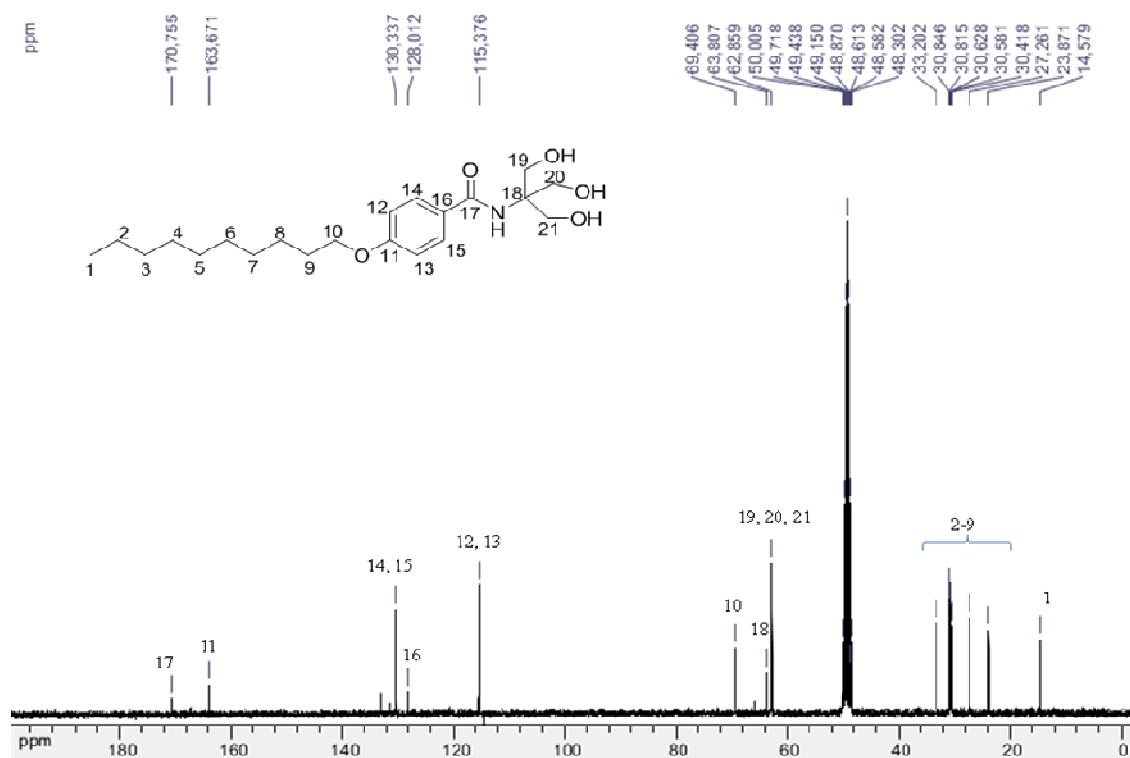
Apêndice 6.14. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **32d**.



Apêndice 6.15. Espectro na região de infravermelho do composto 32e (KBr).



Apêndice 6.16. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto 32e.



Apêndice 6.17. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto 32e.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

155 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-5 O: 1-7

DE-ASSIS

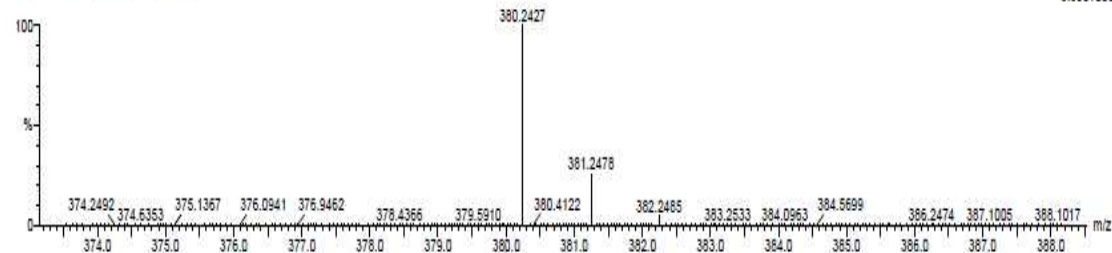
DO_ja-anv31 24 (0.636) Cm (19:29)

MeOH

13-Jul-2012 16:39:50

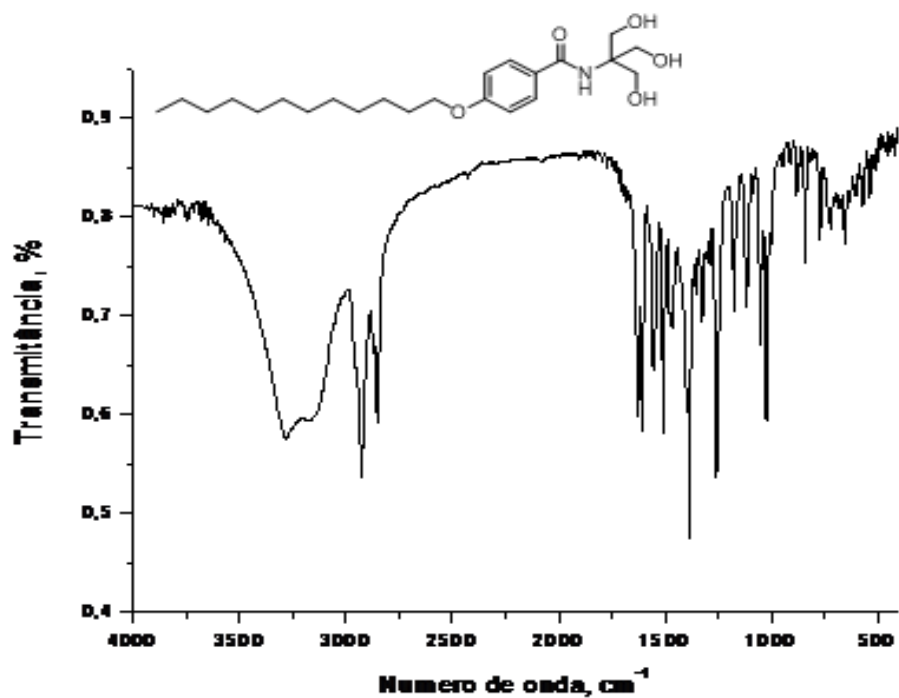
2: TOF MS ES-

8.85e+003

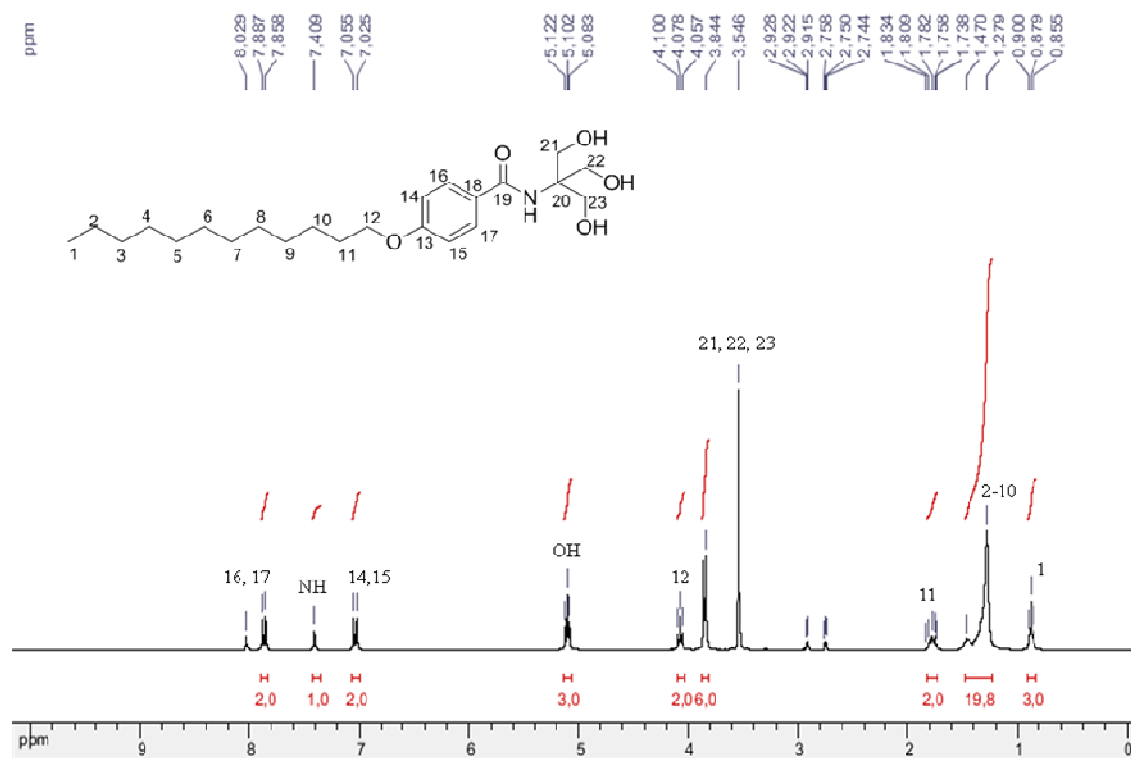


Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
380.2427	380.2437	-1.0	-2.6	5.5	835.2	0.0	C21 H34 N O5

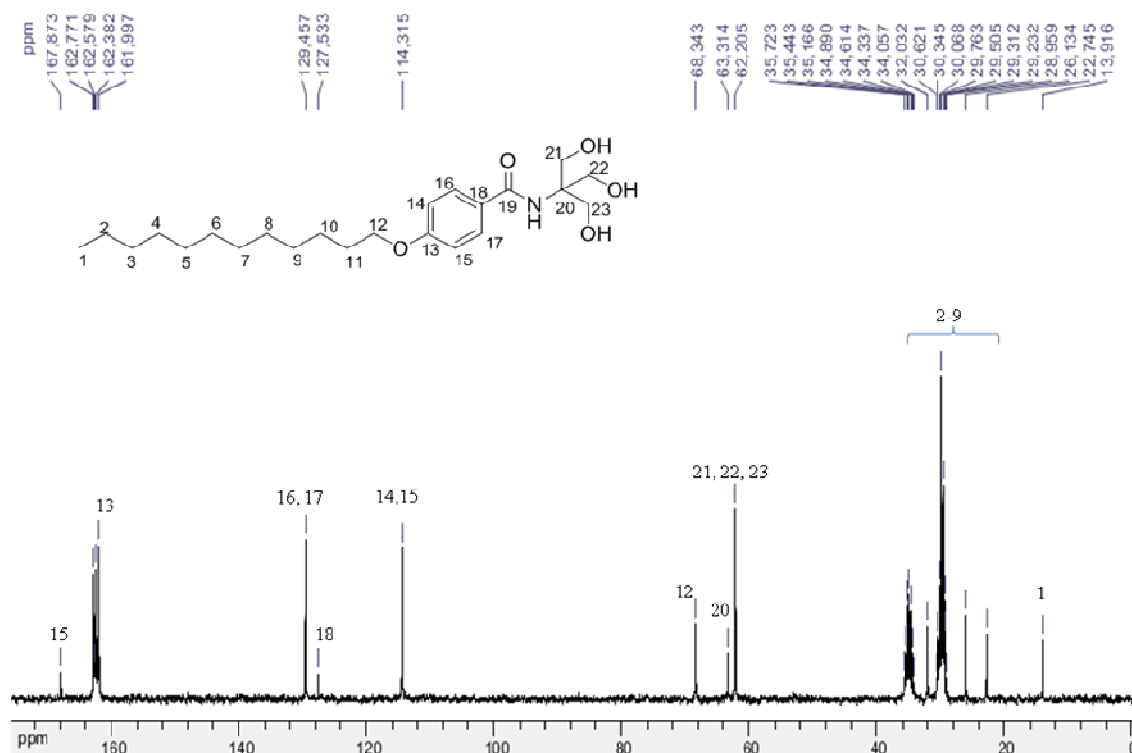
Apêndice 6.18. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto 32e.



Apêndice 6.19. Espectro na região de infravermelho do composto **32f** (KBr).



Apêndice 6.20. Espectro de RMN ¹H (DMF; 300 MHz) do composto **32f**.



Apêndice 6.21. Espectro de RMN ¹³C (DMF; 75 MHz) do composto 32f.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

98 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-5 O: 2-5

DE-ASSIS

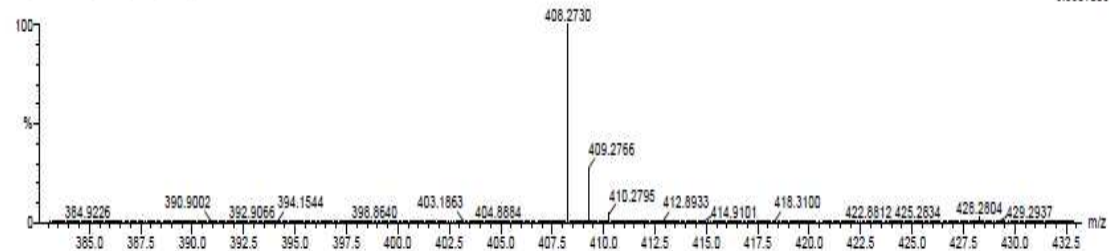
DO Ja-anv35 30 (0.779) Cm (29:37)

MeOH

13-Jul-2012 16:30:47

2: TOF MS ES-

3.66e+003



Minimum:

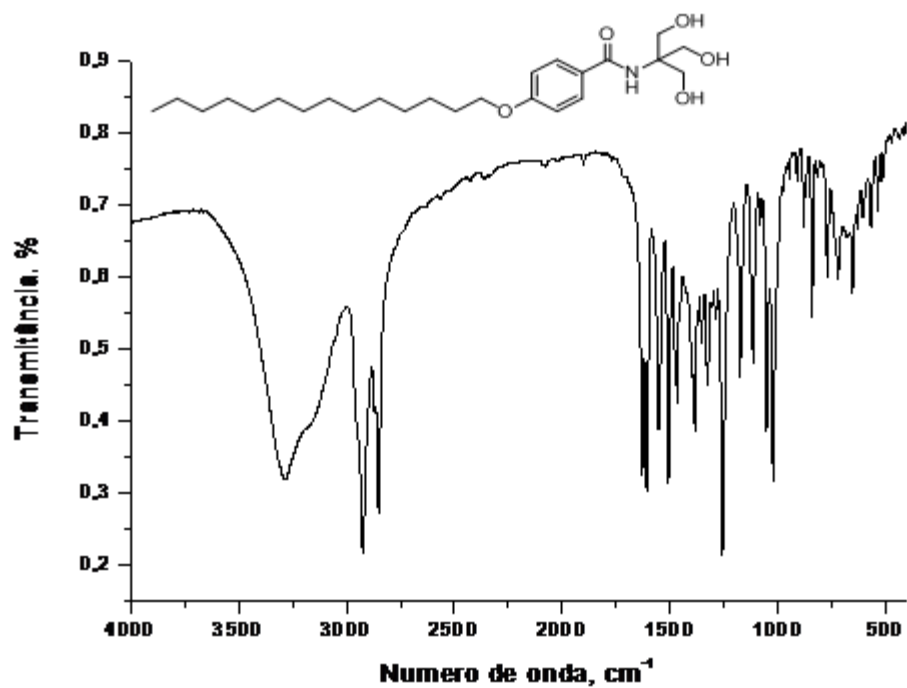
Maximum: 5.0 5.0 -1.5

Maximum: 5.0 5.0 100.0

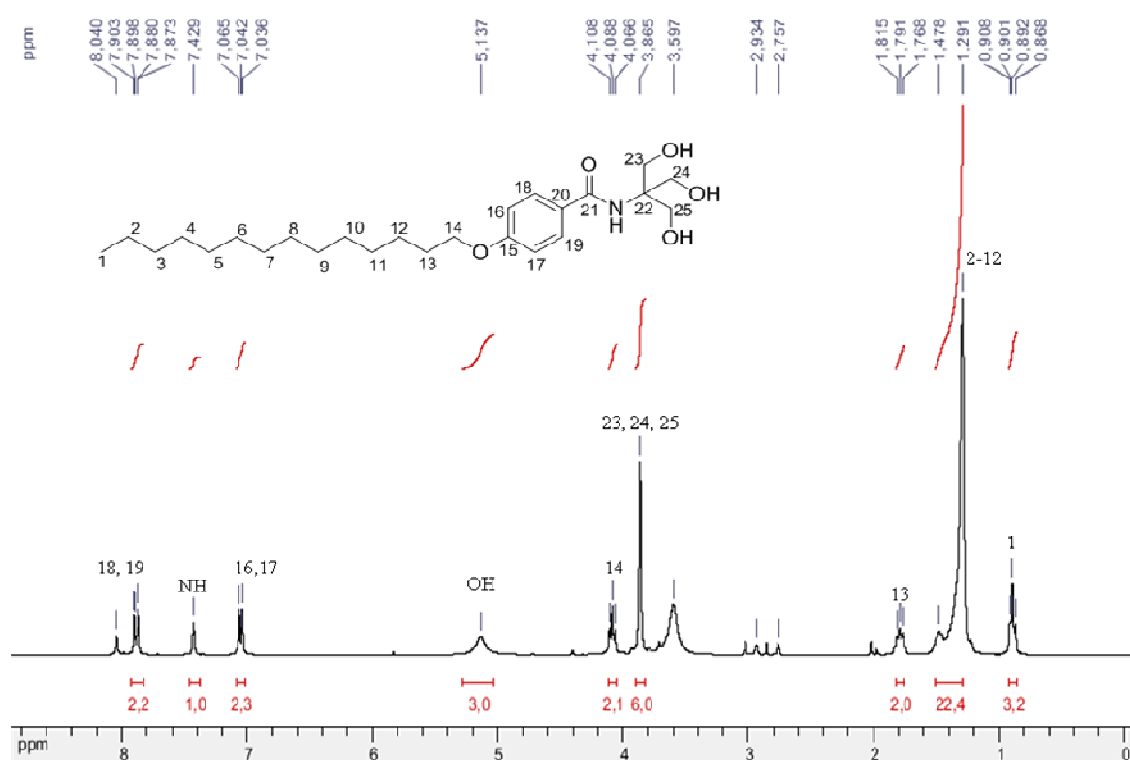
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	1-FIT	1-FIT (Norm)	Formula
------	------------	-----	-----	-----	-------	--------------	---------

408.2730	408.2750	-2.0	-4.9	5.5	662.2	0.0	C23 H38 N O5
----------	----------	------	------	-----	-------	-----	--------------

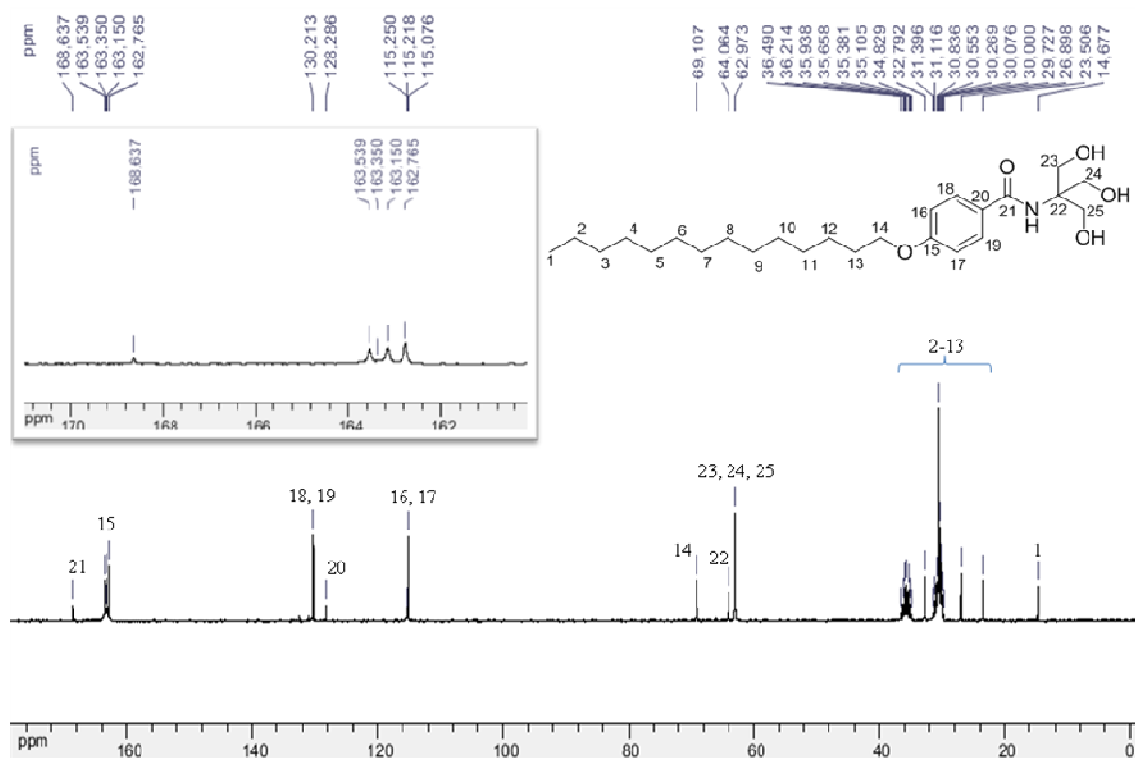
Apêndice 6.22. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto 32f.



Apêndice 6.23. Espectro na região de infravermelho do composto **32g** (KBr).



Apêndice 6.24. Espectro de RMN ^1H (DMF; 300 MHz) do composto **32g**.



Apêndice 6.25. Espectro de RMN ^{13}C (DMF; 75 MHz) do composto **32g**.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 100.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 9

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

105 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-110 N: 1-5 O: 2-5

DE-AGSIS

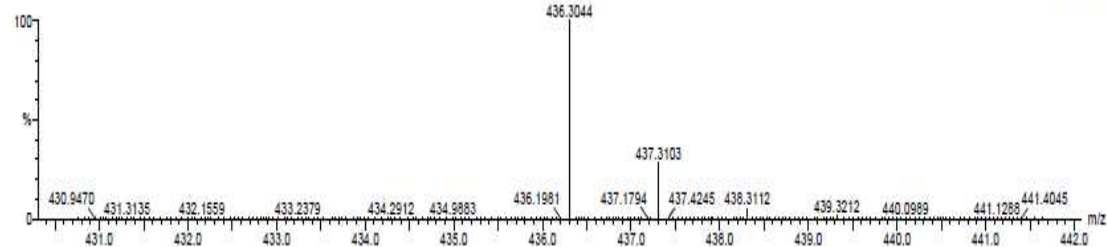
DO_ja-anv36 30 (0.780) Cm (30:38)

MeOH

13-Jul-2012 16:33:46

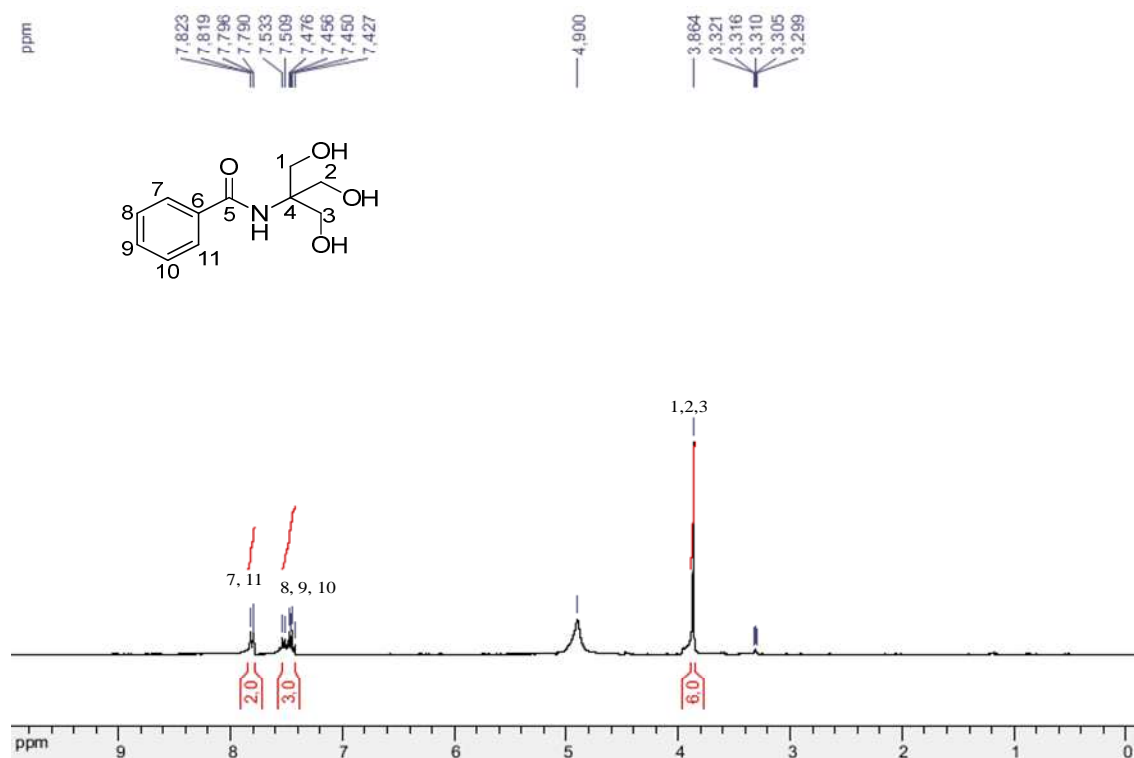
2: TOF MS ES-

3.01e+003

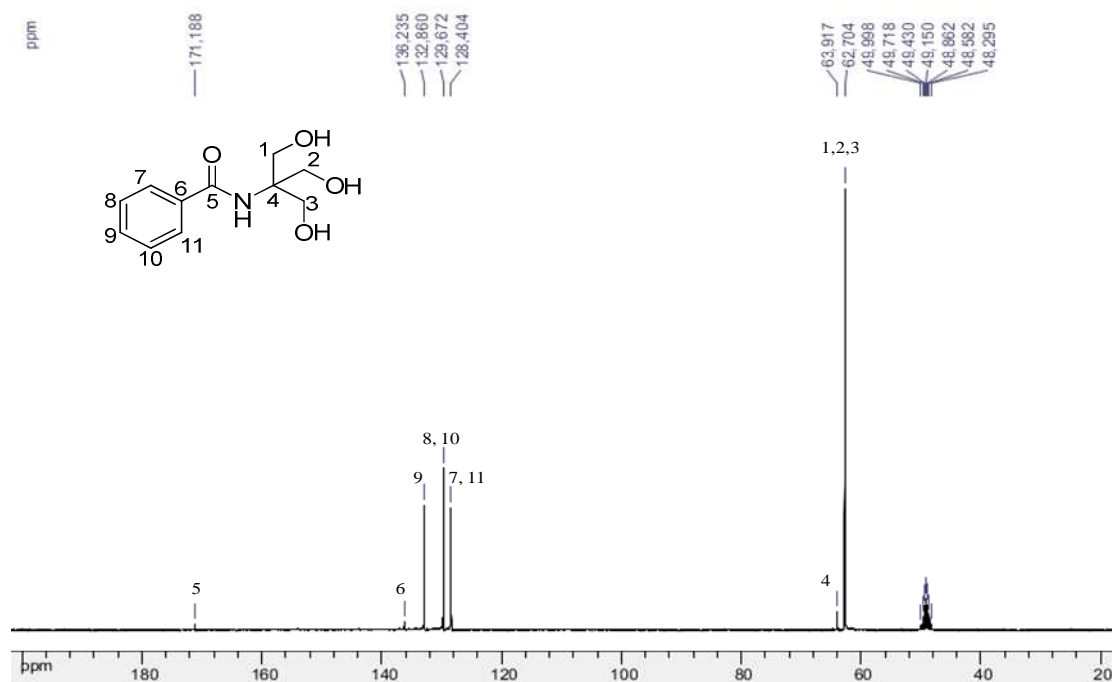


Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	i-PIT (Norm)	Formula
436.3044	436.3063	-1.9	-4.4	5.5	453.8	0.0	C25 H42 N O5

Apêndice 6.26. Espectro de alta resolução (HRMS-ESI) do composto **32g**.

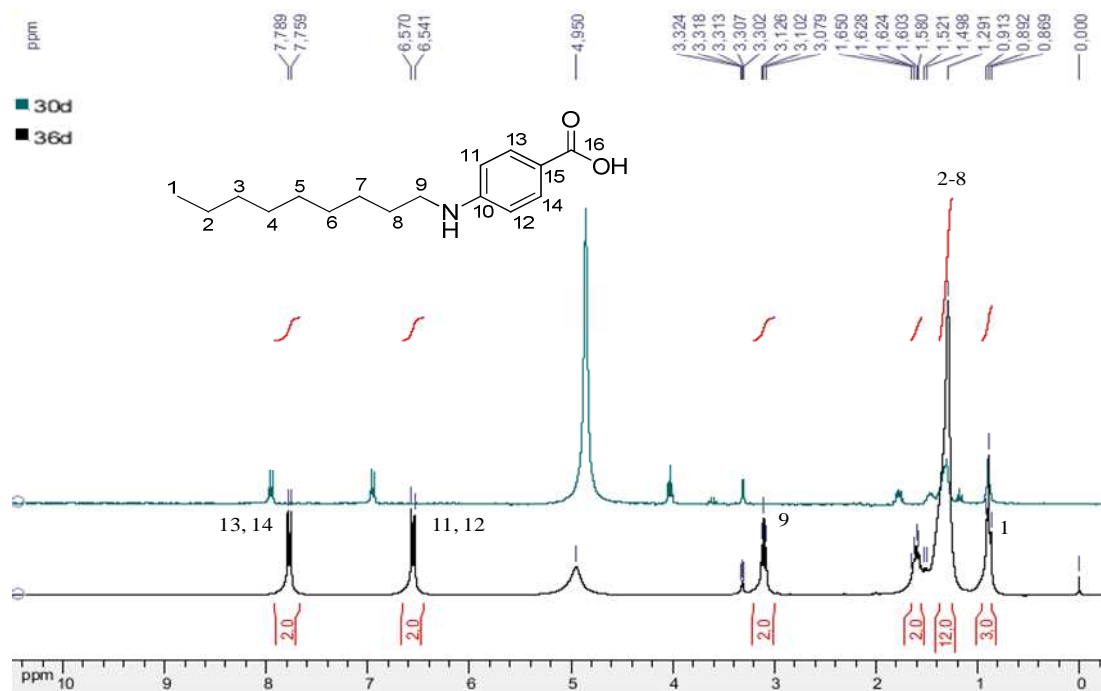


Apêndice 6.27. Espectro de RMN ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) do composto **42**.

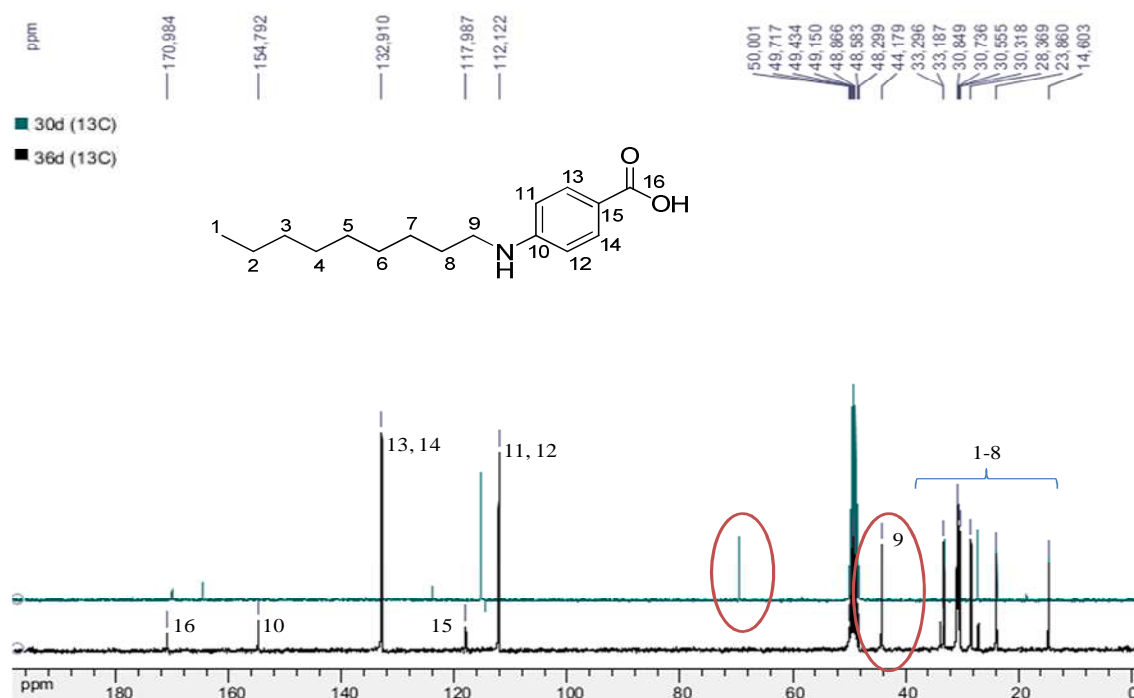


Apêndice 6.28. Espectro de RMN ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) do composto **42**.

Apêndice 8: Seção espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto 36d



Apêndice 8.1. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (CD_3OD ; 300 MHz) dos compostos 30d e 36d.



Apêndice 8.1. Comparação entre os espectros de RMN de ^{13}C (CD_3OD ; 75 MHz) dos compostos 30d e 36d.