

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
TECNOLÓGICA E AMBIENTAL
Laboratório Kolbe de Síntese Orgânica**

**SÍNTESE DE NOVAS AMIDAS GRAXAS:
Estudo da Influência da Variação Estrutural na
Atividade Antituberculose**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: Caroline Da Ros Montes D'Oca

Orientador: Marcelo G. Montes D'Oca

Rio Grande, abril de 2010.

**SÍNTESE DE NOVAS BENZILAMIDAS GRAXAS:
ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO
ESTRUTURAL NA ATIVIDADE ANTITUBERCULOSE**

Por:

Caroline Da Ros Montes D'Oca

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de
Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, da
Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial para
obtenção do grau de **Mestre em Química Tecnológica e
Ambiental**

Orientador: Marcelo Gonçalves Montes D'Oca

Rio Grande, Rio Grande do Sul

2010.

**Universidade Federal do Rio Grande – FURG
Programa de Pós-Graduação em Química
Tecnológica e Ambiental
Escola de Química e Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada aprova a dissertação

**SÍNTESE DE NOVAS BENZILAMIDAS GRAXAS:
ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO ESTRUTURAL NA
ATIVIDADE ANTITUBERCULOSE**

Elaborada por:
Caroline Da Ros Montes D'Oca

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em
Química Tecnológica e Ambiental

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Marcelo Gonçalves Montes D'Oca (Presidente/Orientador)

Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli (IQ-UNICAMP)

Prof^a. Dr^a. Rosilene M. Clementin (EQA-FURG)

Rio Grande, 19 de abril de 2010.

A sabedoria de um ser humano não está no quanto tem consciência de que sabe, mas do quanto tem consciência de que não sabe. A consciência da própria ignorância é o primeiro passo em direção à sabedoria.

Aos meus pais, Jorge e Lígia e às minhas irmãs, Simoní e Fernanda, pelo carinho, amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço, em primeiro lugar, ao professor Marcelo Gonçalves Montes D’Oca pela oportunidade, pela confiança, pelo estímulo constante e principalmente, pelo exemplo.
- Aos colegas do Laboratório Kolbe de Síntese Orgânica, dos mais antigos aos mais novos, pela agradável convivência, pelos momentos de estudo e pelos momentos de descontração. Em especial, a Carolina e ao Rodrigo pelos valiosos ensinamentos; a Danielle e Jacqueline pelas preciosas noites de estudo e adaptação ao novo desafio. Agradeço especialmente à Tamara, minha fiel companheira nas muitas colunas cromatográficas durante estes breves dois anos. Muito obrigada.
- Aos professores do curso, que durante estes dois anos dedicaram-se à nossa formação e transformação. Que sua vontade de contribuir e de crescer nunca se esgote.
- Aos colaboradores, Prof. Dr. Marcos Eberlin e Mário Benassi, do Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas, pelas análises de ESI-MS/MS; Prof. Dr. Pedro Almeida e Tatiane Coelho, pelos ensaios antimicobacterianos e ao Prof. Dr. Ednei Primel, do Laboratório de Análises Orgânicas e Metais, pelas análises de GC-MS.
- Por fim, mas não menos importante, ao Marcelo, meu marido. Ocasionalmente, também meu orientador. Encontrar a felicidade e vivê-la a cada dia é uma experiência incrível. Obrigada por estar comigo em todos estes momentos. Obrigada pelo carinho, amor e dedicação.

RESUMO

Título: Síntese de Novas Amidas Graxas: Estudo da Influência da Variação Estrutural na Atividade Antituberculose

Autor: Caroline Da Ros Montes D'Oca

Orientador: Marcelo Gonçalves Montes D'Oca

A atividade biológica das amidas graxas tem sido amplamente estudada por diversos grupos de pesquisa. Estes compostos são considerados atualmente como uma nova família de lipídeos biologicamente ativos em virtude das propriedades farmacológicas a que estão associados. Este trabalho descreve a síntese das amidas graxas **66-67a-e**, derivadas dos ácidos graxos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e ricinoleico e das aminas benzilamina e α -metilbenzilamina. Para tanto, foram utilizados dicioexilcarbodiimida (DCC) como agente de acoplamento para formação da ligação C-N e dimetilaminopiridina (DMAP), em rendimentos que variaram de 60-80% a temperatura ambiente.

Após a síntese dos compostos, investigou-se o comportamento dissociativo das amidas graxas por espectrometria de massas juntamente com compostos derivados da etanolamina, pirrolidina, morfolina e piperidina, sintetizadas anteriormente pelo grupo. Todas as amidas estudadas apresentaram fragmentos resultantes do rearranjo de McLafferty. Porém, as amidas terciárias puderam ser diferenciadas pela formação do íon *N*-acílio, que não foi observado para as amidas secundárias.

A atividade antimicobacteriana desta classe de compostos foi investigada frente às cepas de *Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv*, *M. tuberculosis* resistente a Rifampicina e *M. tuberculosis* resistente a Isoniazida, para os quais pronunciado efeito foi observado. Os melhores resultados foram obtidos para amidas graxas derivadas de cadeias insaturadas e de aminas cíclicas, podendo-se observar claramente a influência da presença e orientação dos centros assimétricos sobre os dados observados. A ricinoleilpirrolidilamida (*R*-**30d**), derivada do ácido ricinoleico e da pirrolidina demonstrou a melhor atividade para as três linhagens testadas.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA E AMBIENTAL

Dissertação de Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental, Rio Grande, Abril de 2010.

ABSTRACT

Title: **Synthesis of new fatty acid amides: influence of structural variation on anti-tubercular activity**

Author: Caroline Da Ros Montes D'Oca

Advisor: Marcelo Gonçalves Montes D'Oca

Recent biochemical and pharmaceutical studies established different fatty acid amides as a new family of biologically active lipids. This work report the synthesis of new amides **66,67a-e** obtained from the reaction between palmitic, stearic, oleic, linoleic and ricinoleic fatty acids (FFA) families with benzyl and methylbenzyl amines. In this way, dicyclohexylcarbodiimide (DCC) and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) were used as coupling agent and catalyser, respectively. The fatty acid amides were obtained in yields of 60-80%.

The dissociative behavior of fatty acid amides was studied by Mass Spectroscopy by 70 eV electron ionization (EI) using a GC-MS and collision induced dissociation (CID) using a Q-TOF with electrospray ionization (ESI). All the tested compounds showed, as base signals, the ions produced by McLafferty rearrangement. Tertiary fatty acid amides had show an *N*-acylium ion ($R_2N\text{-CO}^+$), different of secondary fatty acid amides.

The fatty acid amide anti-tubercular activity was investigated for the first time, against *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv, *M. tuberculosis* resistant to rifampicin and *M. tuberculosis* resistant to isoniazide. The fatty acid amide (*R*)-**30d**, derivated of FFA 18:1,OH and the pyrrolidinil amine, showed the more effective biological activity against the three kinds of bacteria.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA E AMBIENTAL

Dissertação de Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental, Rio Grande, Abril de 2010.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplos de fármacos que apresentam a função amida.....	2
Figura 2 - Amidas graxas biologicamente ativas, N-palmitoletanolamida (1), anandamida (2), cis-oleamida (3) , N-esteariletanolamida (4), oleiletanolamida (5), dopamida graxa (6).....	4
Figura 3 - Amidas graxas testadas na inibição de células de câncer: N-acilamidas 7 , N-aciletanolamidas 8 , N-acilaminoácidos 9 e N-acil butilaminoácidos 10	5
Figura 4 - Sais associados com reagentes baseados em HOBT 49	15
Figura 5 - PyBOP 57 e seu sub-produto 1,1',1''- fosforiltripirrolidina 58	16
Figura 6 - Macamidas 59-61 isoladas no <i>Lepidium meyenni</i>	19
Figura 7 - Variações experimentais para síntese das amidas	24
Figura 8 - Cromatograma bruto reacional de (R)- 66e pelo Método B2.....	26
Figura 9 - Cromatograma bruto reacional de (R)- 66e pelo Método B3.....	27
Figura 10 - Cromatograma bruto reacional 66c pelo método B7.....	28
Figura 11 - Estruturas das benzilamidas sintetizadas: palmitoilbenzilamida (66a), estearilbenzilamida (66b), oleilbenzilamida (66c), ricinoleilbenzilamida (66d) e linoleilbenzilamida (66e).	29
Figura 12 - Linoleilpirrolidilamida 71e	30
Figura 13 - Cromatograma bruto reacional da Linoleilpirrolidilamida 71e	30

Figura 14 - Amidas graxas quirais 67a-e sintetizadas.....	31
Figura 15 - Espectro I.V. da oleilbenzilamida 66c	33
Figura 16 - Espectro de I.V. da (R)-(+)-estearilmetylbenzilamida (R)- 67b	34
Figura 17 - Estrutura ricinoleilbenzilamida (R)- 66d	34
Figura 18 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz) para (R)- 66d em CDCl_3	36
Figura 19 - Expansões espectro de RMN ^1H (300 MHz) para (R)- 66d em CDCl_3	37
Figura 20 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) para (R)- 66d em CDCl_3	38
Figura 21 – Estrutura (R)-oleilmetylbenzilamida (R)- 67c	39
Figura 22 - Espectro RMN ^1H (300 MHz) para (R)-(+)-oleilmetylbenzilamida (R)- 67c em CDCl_3	40
Figura 23 - Expansão RMN ^1H (300 MHz) para (R)-(+)-oleilmetylbenzilamida (R)- 67c em CDCl_3	41
Figura 24 - Espectro RMN ^{13}C (75 MHz), para (R)-(+)-oleilmetylbenzilamida (R)- 67c em CDCl_3	42
Figura 25 - Amidas graxas analisadas por Espectrometria de Massas.....	45
Figura 26 - Espectro de massas (GC-MS) da (R)-N-benzil-12-hidroxi-9Z-octadecenamida 66d	48
Figura 27 - Espectro de massas (GC-MS) da N-benzilhexadecanamida 66a . 48	
Figura 28 - Rearranjo de McLafferty.....	49
Figura 29 - Íon tropílio	49
Figura 30 - Proposta de fragmentação para 66a	50
Figura 31 – Espectro de massas ESI-(+)-MS/MS da N-benzil-9-Z-10-Z-octadidecenamida 66e	50

Figura 32 - Espectro de massas (GC-MS) da N-benzil-9Z,10Z-octadidecenamida (R)-67c.	51
Figura 33 – Perda de água característica de derivados da etanolamina - N-hidroxietil-9-Z-octadecenamida 77c.	51
Figura 34 - Espectro de massas (GC-MS) da N-hidroxietilexadecanamida 77a.	52
Figura 35 - Proposta de fragmentação da N-hidroxietilexadecanamida (77a).	52
Figura 36 – Espectro ESI-(+)-MS/MS da N-hidroxietil-9-Z-octadecenamida (77c).	53
Figura 37 - Espectro de massas(GC-MS) da N-pirrolidil-9Z-octadecenamida 75c.	54
Figura 38 - Espectro de massas ESI-(+)-MS/MS da N-pirrolidil-9Z-octadecenamida 75c.	54
Figura 39 - Espectro de massas ESI-(+)-MS/MS da N-morfolinil-9Z-octadecenamida 76c.	55
Figura 40 - Espectro de massas ESI-(+)-MS/MS da N-piperidil-9Z-octadecenamida 77c.	55
Figura 41 – Perda de H⁺ do íon acílio para formação de espécie neutra.....	56
Figura 42 - Fármacos utilizados no tratamento de TB: isoniazida (INH, 72), pirazinamida (PZA, 73) e rifampicina (74).	57
Figura 43 – Isoniazida graxa (77) sintetizada.....	61

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Síntese de amidas a partir de ácidos carboxílicos.	5
Esquema 2 - Ordem de reatividade dos derivados de ácidos carboxílicos.	6
Esquema 3 - Mecanismo formação cloreto de acila utilizando cloreto de tionila 13 ou cloreto de oxalila 14.....	6
Esquema 4 - Mecanismo formação cloreto de acila utilizando cloreto cianúrico 16.	7
Esquema 5 - Aminólise de cloreto de acila.....	7
Esquema 6 - Síntese de amidas nas condições Schotten-Baumann.	7
Esquema 7 - Síntese de dopamidas graxas via haleto de acila.	8
Esquema 8 - Síntese de amidas graxas via fluoreto de acila.	8
Esquema 9 - Síntese on-pot de amidas graxas via carbonildiimidazol 22.....	9
Esquema 10 - Preparação de anidridos com uso de DCC 25.	10
Esquema 11 - Síntese de amidas a partir de anidridos.	10
Esquema 12 - Síntese da N-benzil-15-Z-tetracosenamida (31) na presença de DCC (25) e DMAP (30).	11
Esquema 13 - Síntese de amidas graxas na presença de EDC.....	11
Esquema 14 - Síntese de amidas a partir de anidrido etóxicarbonílico (36)....	12
Esquema 15 - Síntese de amidas e ésteres a partir dietilclorofosfato (37).....	12
Esquema 16 - Síntese de amidas graxas utilizando PPAA.	13
Esquema 17 - Síntese de hidroxilamida graxa 45.	13

Esquema 18 - Amidação de diésteres catalisadas por ácidos de Lewis	14
Esquema 19 – Reagentes comumente utilizados na preparação de ésteres ativados para amidação.	14
Esquema 20 - Quelação adicional com HOAt 52.	15
Esquema 21 - Aminólise on-pot empregando BOP (53).....	16
Esquema 22 - Síntese de amidas com emprego de PhSiH₃.	17
Esquema 23 - Síntese de benzilamidas 66a-d a partir de ésteres graxos 63a-d	
.....	20
Esquema 24 - Síntese de amidas 66-67a-e	21
Esquema 25 - Proposta de mecanismo para ativação do ácido com DCC (25).	
.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimentos para a síntese de hidroxilamida graxa 45	13
Tabela 2 – Rendimentos Síntese de amidas 66a-d pelo Método A.....	20
Tabela 3 - Razões entre formação de amida e 69 pelos métodos B1-B7.....	25
Tabela 4 - Rendimentos Síntese das Benzilamidas 66a-e	29
Tabela 5 - Rendimentos Síntese das Amidas 67a-e	32
Tabela 6 - Rendimentos para a síntese de 66,67a-e com adição lenta de DCC	32
Tabela 7 - Dados espectrométricos para amidas sintéticas.....	45
Tabela 8: Atividade anti-TB amidas graxas	58

LISTA DE ABREVIATURAS

AEA – Araquidonoiletanolamida	HMPA – hexametilfosforamida
BOP – benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfônio hexafluorofosfato	HOAt – hidroxi-7-azabenzotriazol
CCD – Cromatografia de Camada Delgada	HOBt – hidróxibenzotriazol
CDCl₃ – clorofórmio deuterado	I.V. – infravermelho
CDI – Carbonildiimidazóis	INH – Isoniazida
CMI – concentração mínima inibitória	MeCN – Acetonitrila
c-OA – <i>cis</i> -Oleamida	OEA – Oleiletanolamida
DCC – dicicloexilcarbodiimida	PFF – pentafluorfenol
DCU – dicicloexiluréia	PNF – <i>p</i> -nitrofenol
DMAP – dimetilaminopiridina	PPAA – anidrido cíclico do ácido propilfosfônico
DMF – dimetilformamida	Py – Piridina
EDC – 1-etil-3-(3-dimetilamino)carbodiimida	PyBOP – benzotriazol-1-il-pirrolidinofosfonio-hexafluorofosfato
ESI- MS – do inglês <i>Mass Spectroscopy Eletrospray Ionization</i>	PZA – Pirazinamida
GC- do inglês <i>Gas Cromatography</i>	REMA – do inglês <i>Resazurin Microtitre Assay</i>
GC-FID – do inglês <i>Gas Cromatography – Flame Ionization Detection</i>	RMN ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
GC-MS – do inglês <i>Gas Cromatography – Mass Spectroscopy</i>	RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
	RMP – rifampicina
	TB – tuberculose
	tr – tempo de retenção

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Atividade Biológica de Amidas Graxas.....	2
2.2 Síntese de Amidas Graxas.....	5
3. OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo Geral	18
3.2 Objetivos Específicos	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 Síntese de amidas.....	19
4.2 Estudo do Comportamento Dissociativo das Amidas Graxas por Espectrometria de Massas.....	44
4.3 Comportamento antimicobacteriano das amidas graxas.....	57
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	64
6.1 Materiais, Métodos e Equipamentos	64
6.2 Procedimento geral para síntese dos ésteres metílicos 63a-c.	66
6.3 Procedimento geral para síntese das amidas 66,67a-e, 71e.	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	142

1. INTRODUÇÃO

A síntese de amidas graxas representa um campo de interesse para a química orgânica, por apresentarem grande aplicação farmacológica e por estarem sendo citadas recentemente na literatura como uma nova família de lipídeos biologicamente ativos¹. As amidas graxas mais estudadas e citadas na literatura são a anandamida, derivada do ácido araquidônico e da etanolamina, e a oleamida derivada do ácido oléico. A atividade biológica destes compostos tem sido foco de trabalho de diferentes grupos de pesquisa. Entretanto, poucos são direcionados à síntese propriamente dita e à otimização tecnológica dos processos.

As propriedades farmacológicas das amidas graxas são estudadas em muitos sistemas do organismo. Estes compostos são associados à regulação do sistema cardiovascular, nervoso, digestivo, metabólico, reprodutivo e imune^{2,3}. Estudos indicam efeitos supressivos, exemplificados pela diminuição da contratilidade do coração, vasorrelaxação, neuroproteção em condições neurológicas crônicas e efeitos antiinflamatórios⁴. Uma série de amidas derivadas de longas cadeias graxas vem sendo estudadas por seus efeitos na proliferação de células de câncer *in vitro* e esta ação tem sido demonstrada por ser dependente de três fatores: a cadeia graxa, o grupo amino e o tipo de célula⁵.

Este trabalho trata da síntese de benzilamidas e de α-metilbenzilamidas graxas a partir de diferentes ácidos graxos constituintes de fontes renováveis, investigando a relação entre variações estruturais e influência de centros assimétricos na atividade antituberculose testada.

Com o objetivo de investigar o comportamento dissociativo de diferentes amidas graxas, em colaboração com o Laboratório de Análises de Compostos Orgânicos e Metais – LACOM, da Universidade Federal do Rio Grande e do Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas da UNICAMP submetemos à análise por GC-MS e ESI-MS-MS amidas graxas derivadas de aminas cíclicas e acíclicas sintetizadas neste trabalho em produções anteriores do grupo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Atividade Biológica de Amidas Graxas

O grupo funcional amida é comum em moléculas sintéticas ou de ocorrência natural e está presente em diversos produtos farmacêuticos com aplicação em clínica médica (**Figura 1**)⁶. Estima-se que a função amida faça parte da constituição química de mais de 25% dos fármacos conhecidos.⁷ Este grupo funcional também está presente em moléculas essenciais à vida, tais como ceramidas, glicoesfingolipídeos, lipídeos *N*-acilados e lipoproteínas bacteriais⁸.

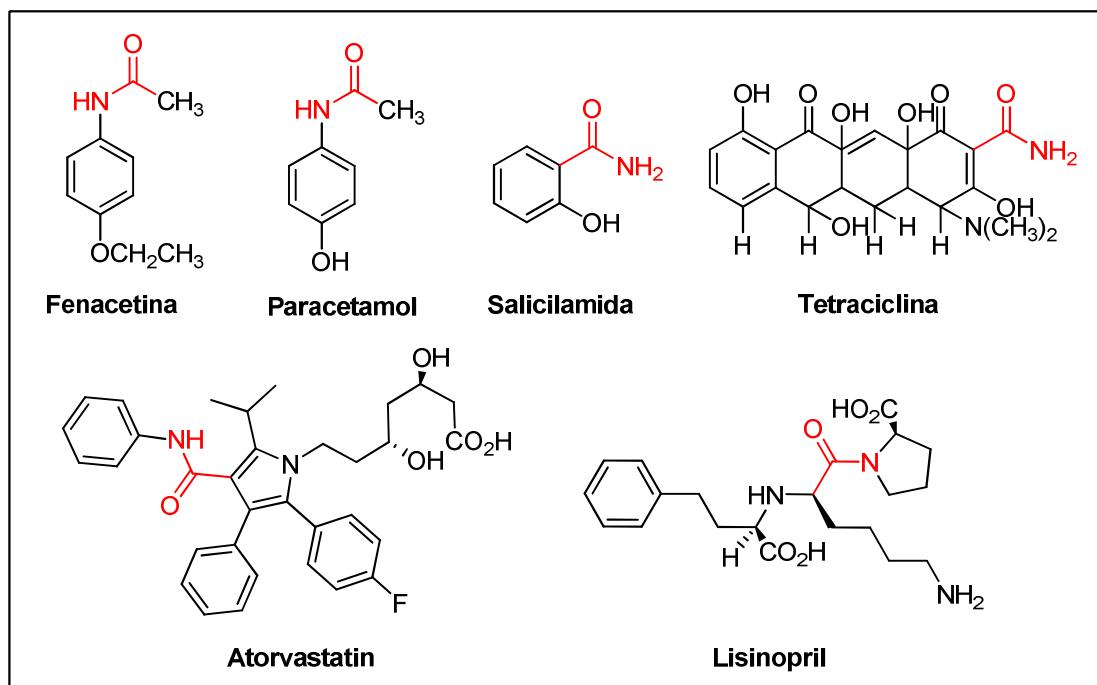


Figura 1 - Exemplos de fármacos que apresentam a função amida.

Os derivados graxos nitrogenados também vêm ganhando importância econômica e tecnológica devido às propriedades associadas às longas cadeias carbônicas, o que permite seu uso como detergentes, agentes antiestáticos, inibidores de corrosão, tensoativos entre outras aplicações industriais⁹.

Outro fator importante está relacionado à estabilidade metabólica que a ligação N-C apresenta. A função amida também confere à molécula a

capacidade de estabelecer interações de hidrogênio e aumentar a solubilidade dos compostos no meio¹⁰.

Recentemente as amidas graxas vêm sendo citadas na literatura como uma nova família de lipídios biologicamente ativos¹¹ por apresentarem, além das aplicações tecnológicas¹², importantes atividades biológicas¹³. Neste caso, as diferentes propriedades, como por exemplo, regulação do sistema cardiovascular, nervoso, digestivo, metabólico, reprodutivo e imune³, estão também relacionadas à presença das cadeias graxas^{14,15}.

Estes compostos têm sido naturalmente encontrados em vegetais terrestres e aquáticos, em animais e microorganismos. No reino vegetal, estão presentes nas algas *Rizoclonium hieroglyphicum*⁸, *Zoostera marina*¹⁶ e *Sebastes mentella*¹⁷, nos vegetais *Lepidium meyenii* (maca)¹⁸ e *Zanthoxylum sp*¹⁹. No reino animal, as amidas graxas podem ser encontradas na esponja marinha *Haliclona (Reniera) sp*²⁰, em mamíferos como por exemplo, em barbatanas de baleias, no fluido cerebroespinal de gatos e ratos^{21,22,23}, no plasma sanguíneo²⁴, no tecido adiposo²⁵, no cérebro, olhos, fígado, intestino e outros tecidos de ratazanas e porcos^{26,27,28,29,30}. Existem ainda algumas amidas graxas, como as *N*-aciletanolamidas, que foram detectadas em pequenas quantidades em diversos tecidos e células de mamíferos³¹.

O estudo das amidas graxas teve início na década de 1950 quando foi descoberta a atividade antiinflamatória de algumas frações do óleo de amendoim, da lecitina de soja e de gemas de ovos³². O princípio ativo responsável por essas ações foi atribuído a *N*-palmitoiletanolamida (**1**)³³, a primeira amida graxa isolada¹.

A identificação de duas outras amidas graxas biologicamente ativas, *N*-araquidoniletanolamida (**2**, anandamida, AEA) e a *cis*-oleamida (**3**, *c*-OA), abriu caminhos para a investigação da atividade, propriedades, síntese e isolamento de novas amidas graxas (**Figura 2**)³⁴. Contudo, AEA e *c*-OA são apenas as mais estudadas e os membros mais conhecidos de uma grande família de lipídeos biologicamente ativos¹⁴.

A anandamida (**2**) e outras amidas graxas poliinsaturadas derivadas da etanolamina atuam no deslocamento de ligantes canabinóides em sítios da membrana cerebral, agindo em canais de cálcio e também produzem hipotermia, catalepsia, analgesia, hipoatividade, além de influenciar a cognição,

a atividade motora e imunorreação^{35,36,37,38}. A AEA que também foi encontrada no tecido cerebral de mamíferos e no chocolate³⁹ mostrou ser capaz de aliviar a ansiedade e induzir estados de tranqüilidade e relaxamento². A *N*-palmitoletanolamida (**1**), biossintetizada pelo organismo durante inflamações e em tecidos em estado de putrefação é associada a efeitos analgésicos e antiinflamatórios^{40,41,42}. Também por apresentar a mesma atividade, o mecanismo de ação da *N*-esteariletanolamida (**4**) homóloga de **1**, tem sido exaustivamente estudado⁴³. Estudos relatam a aplicação da oleiletanolamida (**5**, OEA) no tratamento da infertilidade idiofática como protetora das células espermáticas humanas⁴⁴. A OEA é ainda citada como reguladora do apetite⁴⁵, indutora de saciedade⁴⁶, lipolítica⁴⁷ e redutora do peso corporal em roedores⁴⁸.

Não só as etanolamidas têm sido exaustivamente estudadas, a *cis*-oleamida (**3**), é reportada na literatura como indutora do sono⁴⁹ e mais recentemente, relacionada a atividades neurais como hipomotilidade e hipotermia (**Figura 2**)⁵⁰.

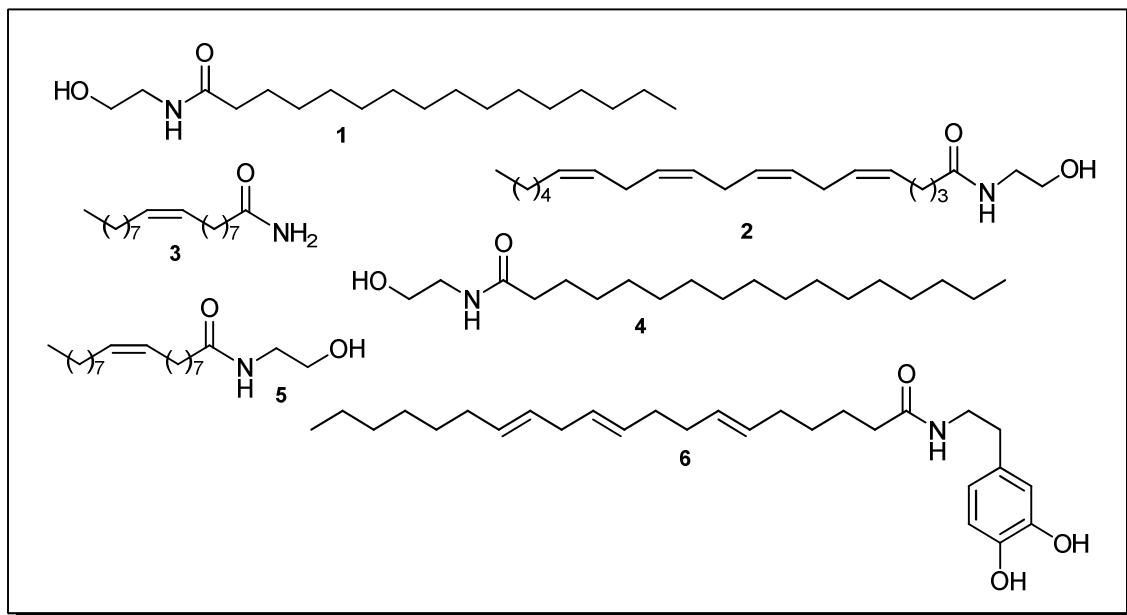


Figura 2 - Amidas graxas biologicamente ativas, *N*-palmitoletanolamida (**1**), anandamida (**2**), *cis*-oleamida (**3**), *N*-esteariletanolamida (**4**), oleiletanolamida (**5**), dopamida graxa (**6**).

As dopamidas graxas poliinsaturados derivadas da dopamina, como **6** (**Figura 2**) por exemplo, são citadas na literatura como causadoras de hipotermia, catalepsia, analgesia, além de atuarem como potentes agentes

anoréxicos⁵¹. Outros estudos relatam a atividade das dopamidas graxas na inibição em cerca de 90% da proliferação de células de câncer⁵². Neste mesmo trabalho os autores investigaram a ação inibitória de *N*-acilamidas (**7**), *N*-aciletanolamidas (**8**), *N*-acilaminoácidos (**9**) e *N*-acil butilaminoácidos (**10**) em células de câncer de mama, câncer cervical, de pulmão e macrófagos tumorais (**Figura 3**).

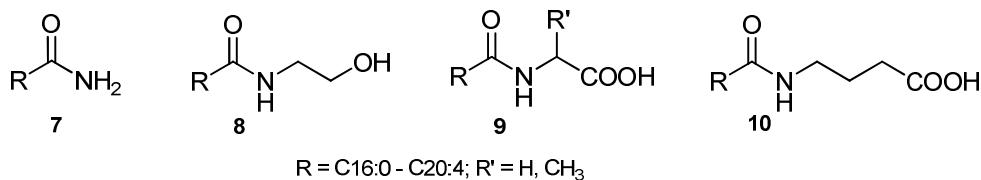
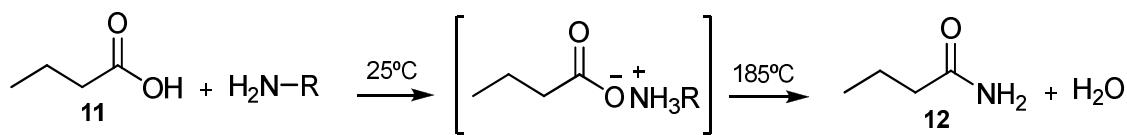


Figura 3 - Amidas graxas testadas na inibição de células de câncer: *N*-acilamidas **7**, *N*-aciletanolamidas **8**, *N*-acilaminoácidos **9** e *N*-acil butilaminoácidos **10**.

Esta ação demonstrou ser dependente de três fatores: a cadeia graxa, a porção nitrogenada da molécula e o tipo de célula avaliada, mostrando que o estudo das amidas graxas é um campo de crescente interesse na pesquisa de oleoderivados nitrogenados⁵³.

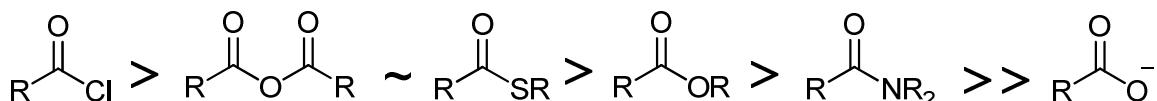
2.2 Síntese de Amidas Graxas

As amidas são tipicamente sintetizadas a partir da condensação de ácidos carboxílicos e aminas. Contudo, a reação entre estes dois grupos funcionais não ocorre espontaneamente, pois de maneira geral, ácidos carboxílicos **11** reagem com aminas formando sais à temperatura ambiente. A transformação destes sais em amidas **12** requer aquecimento vigoroso (**Esquema 1**), que pode ser incompatível com a presença de outros grupos funcionais ou centros assimétricos⁵⁴.



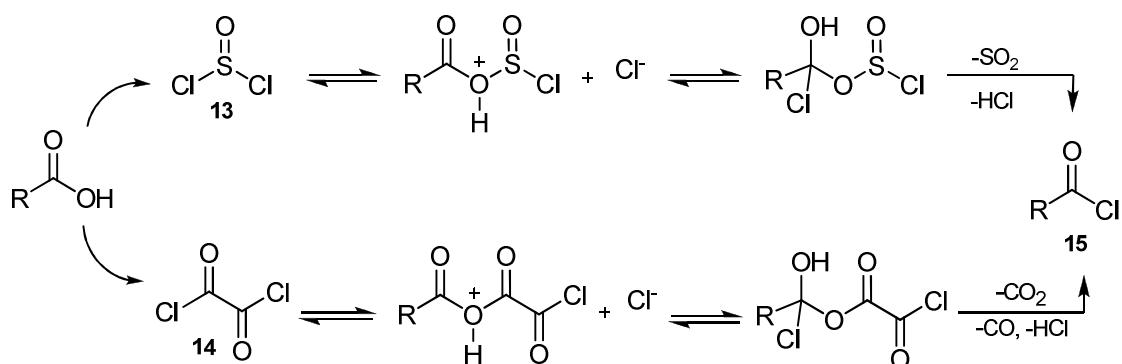
Esquema 1 - Síntese de amidas a partir de ácidos carboxílicos.

Por esta razão, é necessária a conversão do ácido carboxílico em grupos funcionais mais reativos¹⁰ (**Esquema 2**) e estas transformações tem sido extensivamente estudadas⁵⁵. Em geral, estes procedimentos baseiam-se na conversão do ácido carboxílico em haletos de acila⁵⁶, anidridos^{57,58} ou ésteres⁵⁹ e muitas metodologias para esta ativação são descritas na literatura.



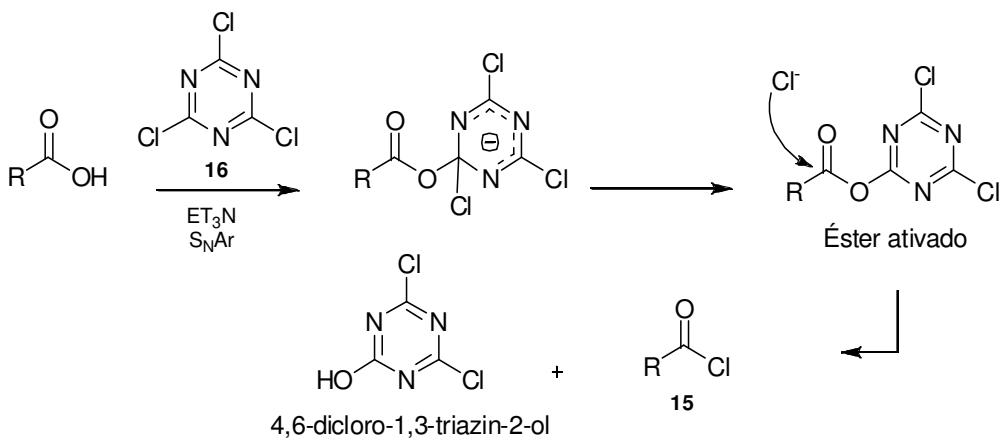
Esquema 2 - Ordem de reatividade dos derivados de ácidos carboxílicos.

Uma metodologia amplamente utilizada é a conversão do ácido carboxílico em cloreto de acila **15** na presença de cloreto de tionila (SOCl₂, **13**), cloreto de oxalila (COCl₂, **14**), tricloreto de fósforo (PCl₃), oxicloreto de fósforo (POCl₃) ou pentacloreto de fósforo (PCl₅)⁶ (**Esquema 3**).

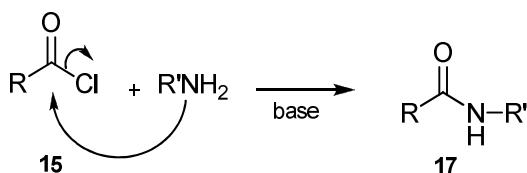


Esquema 3 - Mecanismo formação cloreto de acila utilizando cloreto de tionila **13 ou cloreto de oxalila **14**.**

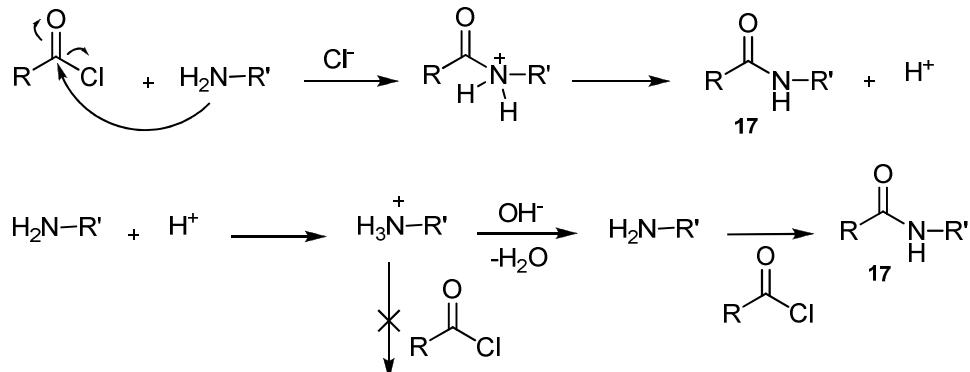
Um reagente muito utilizado na formação de haletos de acila para a síntese de amidas em maior escala é o 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazeno, ou cloreto cianúrico (**16**)^{60,61}. Neste processo, apenas 0,33 equivalentes do ativante **16** são utilizados, diminuindo o consumo de reagentes e a geração de subprodutos, que podem ser facilmente removidos por filtração e lavagem básica (**Esquema 4**).

**Esquema 4 - Mecanismo formação cloreto de acila utilizando cloreto cianúrico 16.**

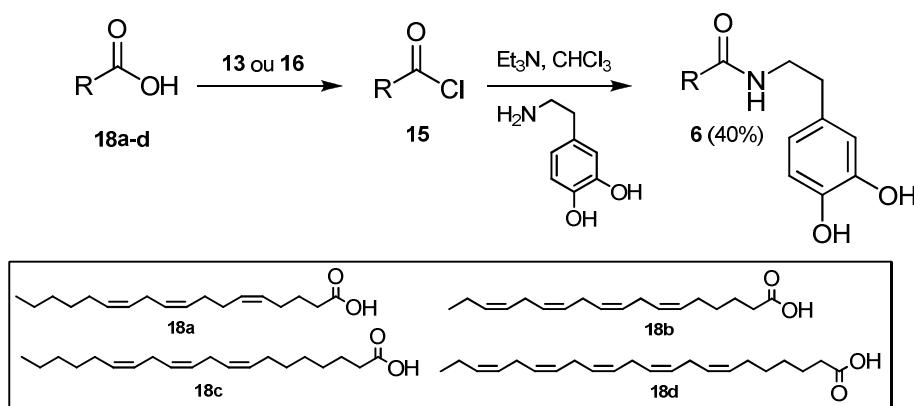
Após a formação do cloreto de acila **15**, a síntese da amida **17** ocorre pela adição da correspondente amina ao meio reacional (**Esquema 5**). Uma base adicional, como por exemplo, trietilamina ou diisopropiletilamina (base de Hünig), são usualmente utilizadas para neutralizar o HCl formado e evitar a conversão da amina em seu sal não reativo.

**Esquema 5 - Aminólise de cloreto de acila.**

Normalmente, os agentes acilantes são sensíveis à presença de água e meio aquoso. Entretanto, os halogeneto de acila são tolerantes a adição de NaOH aquoso ao meio reacional - condições de Schotten-Baumann – que garante a neutralização do sal quaternário⁶² aumentando os rendimentos na formação da amida **17** (**Esquema 6**).

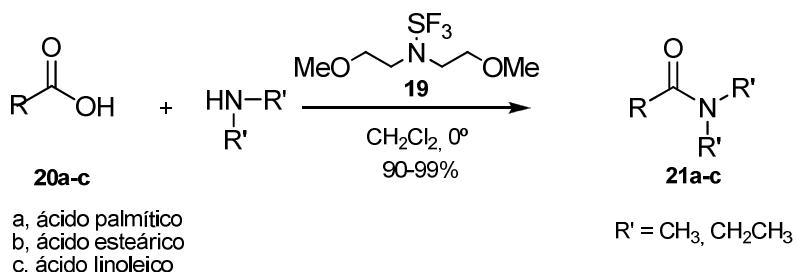
**Esquema 6 - Síntese de amidas nas condições Schotten-Baumann.**

A síntese de amidas graxas a partir de cloreto de acila foi proposta por Bezuglov e colaboradores¹³. Em seu trabalho, o autor descreve o uso de SOCl_2 **13** (10 equiv., benzeno, 50°C) ou cloreto cianúrico **16** (1 equiv., Py, MeCN, t.a.) para a síntese de dopamidas graxas a partir de ácidos graxos poliinsaturados **18a-d** obtendo a dopamida graxa **6** em um tempo total de 20 h com rendimentos inferiores a 40% (**Esquema 7**).



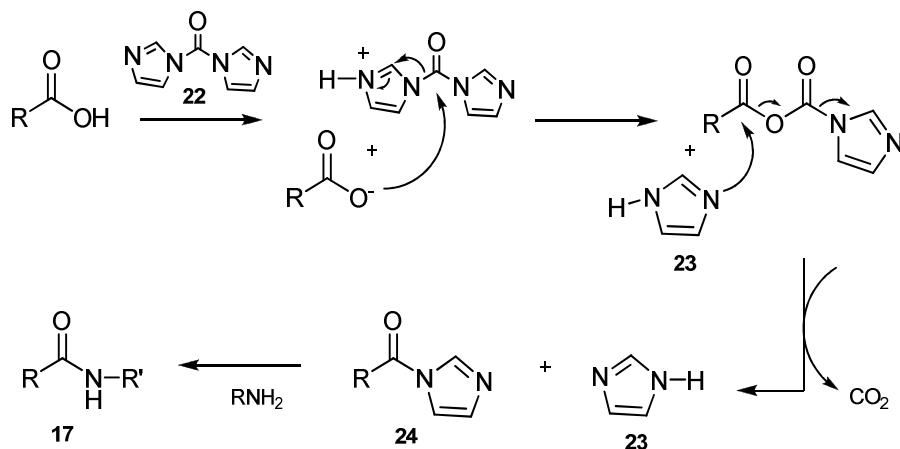
Esquema 7 - Síntese de dopamidas graxas via haleto de acila.

O uso de fluoretos de acila para a síntese de amidas também é descrito. O deoxo-fluor $(\text{MeOEt})_2\text{NSF}_3$ (**19**) têm sido usado para converter os ácidos carboxílicos em fluoretos de acila, sem a necessidade de adição de base ao meio reacional⁶³. Esta metodologia foi empregada na síntese de amidas graxas, através da formação *in situ* do respectivo fluoreto de acila graxo que, após reagir com a amina levou à formação dos produtos em excelentes rendimentos⁵⁶ (**Esquema 8**). Contudo, além de seu alto custo, a aplicação em procedimentos que empreguem aminas impeditas é limitada em função da formação de subprodutos resultantes de reações paralelas.



Esquema 8 - Síntese de amidas graxas via fluoreto de acila.

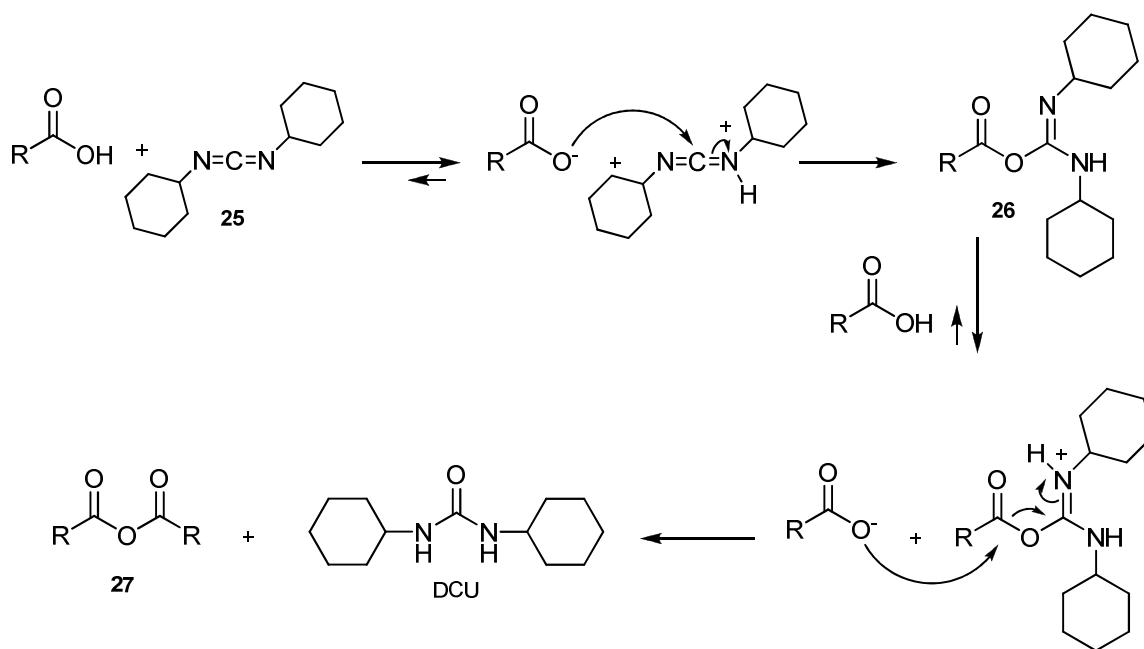
Outra metodologia clássica para a síntese de amidas envolve o uso de carbonildiimidazóis (CDI, **22**)⁶⁴. Esta reação, que leva a formação de imidazol (**23**) e da espécie ativada (**24**) ocorre em cerca de uma hora (**Esquema 9**), podendo ser utilizada para a síntese de amidas **17** em maior escala⁶⁵.



Esquema 9 - Síntese on-pot de amidas graxas via carbonildiimidazol **22**.

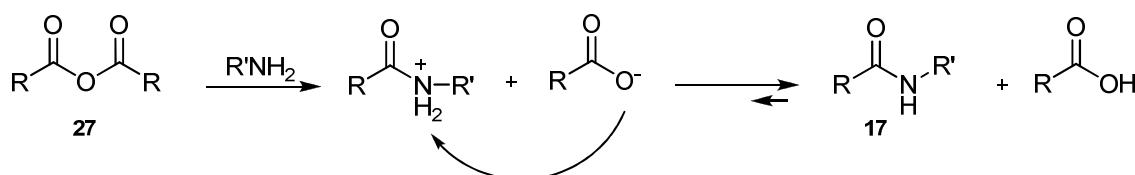
O uso de **22** também foi proposto por Bezuglov para a síntese de dopamidas graxas¹². Foram utilizados 1,2 equivalentes do agente ativante, a 22°C em MeCN por 20 h. Os rendimentos não ultrapassaram 40%.

A ativação de ácidos carboxílicos também pode ocorrer pela conversão destes em anidridos **27**, que são capazes de reagir com nucleófilos como alcoóis, tióis e aminas. Os anidridos, simétricos ou assimétricos, são geralmente preparados em uma etapa antecedente à reação de amidação, pela condensação de duas moléculas do ácido carboxílico na presença de um agente desidratante, como dicicloexilcarbodiimida (DCC **25**), fosgênio, difosgênio ou metoxiacetileno⁶³ (**Esquema 10**). As carbodiimidas, como DCC, por exemplo, são freqüentemente usadas para síntese de amidas, anidridos ou ésteres⁶⁶ e na síntese de peptídeos por apresentar condições reacionais brandas e um protocolo experimental simples, preservando a integridade dos centros assimétricos⁵⁴.



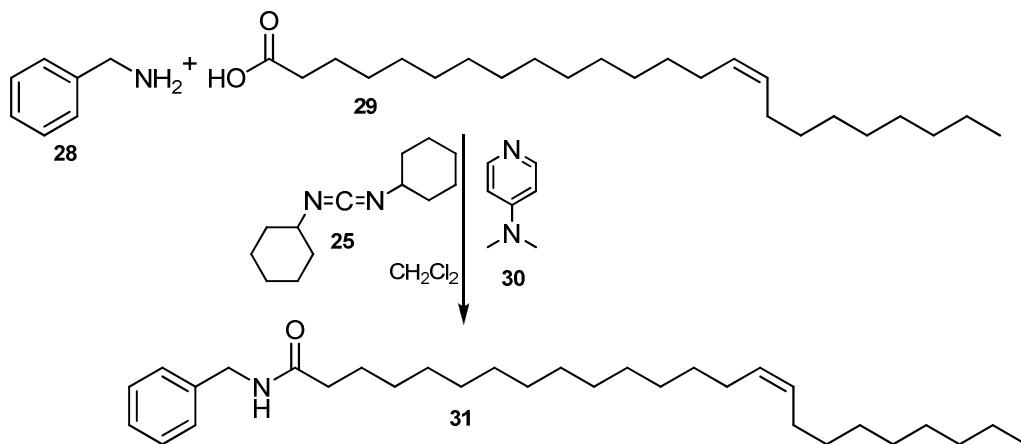
Esquema 10 - Preparação de anidridos com uso de DCC 25.

Segundo o mecanismo proposto⁶, o ácido carboxílico reage com o DCC (25) para formar a *O*-acilisouréia 26. Este intermediário pode reagir diretamente com a amina e formar a amida ou reagir com outra molécula de ácido e formar o anidrido 27 eliminando como subproduto a dicicloexiluréia (DCU). Em uma segunda etapa, o anidrido formado reage com a amina de interesse, sem a necessidade de base adicional para a formação da amida 17 (Esquema 11).



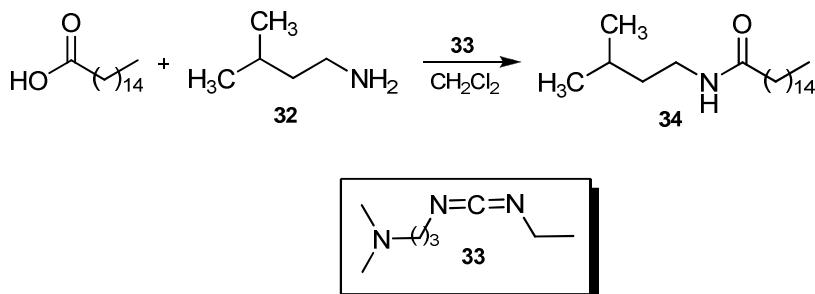
Esquema 11 - Síntese de amidas a partir de anidridos.

De acordo com a literatura, Khan¹⁸ utilizou carbodiimidas para a síntese de amidas graxas. Em seu trabalho, o autor descreve a reação entre a benzilamina (28) e o ácido *cis*-15-*Z*-tetracosenóico (29) com emprego de 25 e dimetilaminopiridina (DMAP, 30) na síntese da *N*-benzil-15-*Z*-tetracosenamida (31), amida graxa encontrada no vegetal *Lepidium meyenii* (Esquema 12).



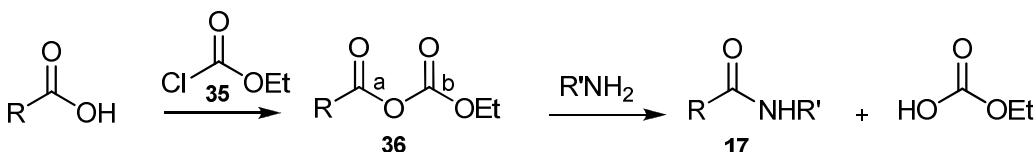
Esquema 12 - Síntese da *N*-benzil-15-*Z*-tetracosenamida (**31**) na presença de DCC (**25**) e DMAP (**30**).

Ranger e colaboradores⁶⁷ descrevem o uso de 1-etyl-3-(3-dimetilamino) carbodiimida, EDC (**33**) para a síntese de amidas graxas. A reação foi realizada a temperatura ambiente em um tempo total de 48 h. Com o uso de EDC, a uréia formada pode ser removida por simples lavagem. (**Esquema 13**)



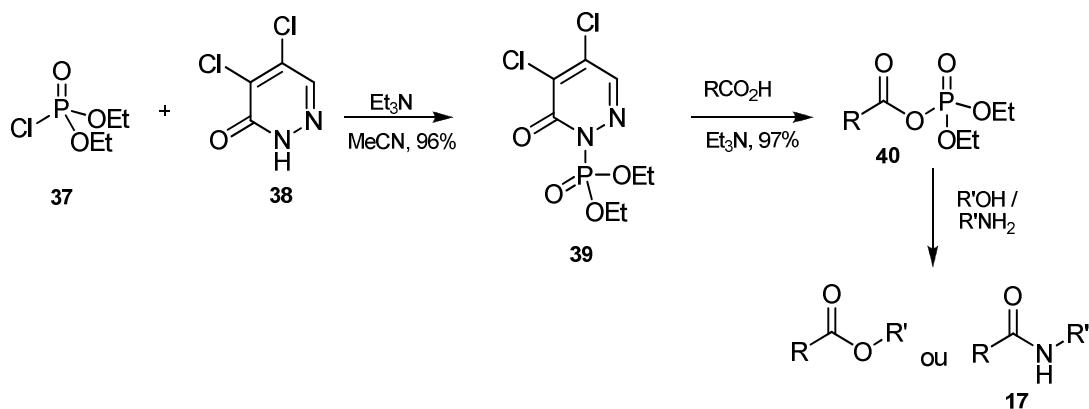
Esquema 13 - Síntese de amidas graxas na presença de EDC.

O uso de anidridos assimétricos ou anidridos mistos também pode ser aplicado na preparação de amidas **17**. A reatividade dos centros eletrofílicos pode ser prevista em função da natureza química dos compostos, como no anidrido etóxicarbonílico (**36**)⁶, por exemplo, gerado a partir do cloroformato de etila (**35**)⁶⁸. O centro eletrofílico carboxílico **a** é mais reativo frente ao ataque do nucleófilo que o centro eletrofílico do carbonato **b**, pois é menos estabilizado por ressonância (**Esquema 14**).



Esquema 14 - Síntese de amidas a partir de anidrido etóxicarbonílico (**36**).

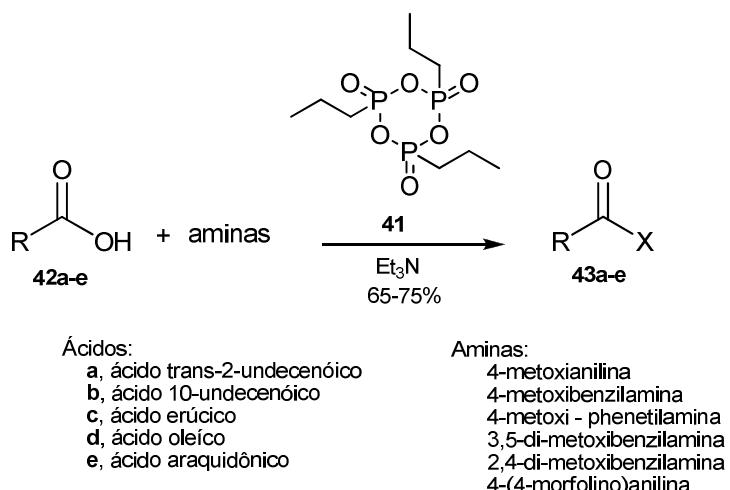
Em publicação recente, Yoon e colaboradores propuseram o uso de dietilclorofosfato (**37**) e 4,5-dicloropiridazin-3(2H)-ona (**38**) para esterificação ou amidação de ácidos carboxílicos⁵⁷ via anidrido misto. Este método envolve a formação de uma espécie ativada **39** a partir da reação de **37** com **38**. Esta espécie reage então com o ácido carboxílico, formando o anidrido (**40**), que sofre subsequente ataque nucleofílico do álcool ou amina para formação de ésteres ou amidas respectivamente (Esquema 15). Em ano seguinte, McNulty e colaboradores propuseram uma modificação nesta metodologia, propondo a esterificação ou amidação direta de ácidos carboxílicos utilizando apenas **37** e piridina^{57a}.



Esquema 15 - Síntese de amidas e ésteres a partir dietilclorofosfato (**37**).

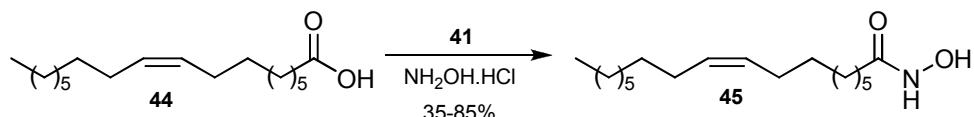
Outra metodologia propôs o uso do anidrido cíclico do ácido propilfosfônico (PPAA, **41**)⁶⁹. A reação ocorreu sob agitação à temperatura ambiente, nas proporções molares de 4:1,2, ácido graxo:PPAA formando o anidrido misto como intermediário que, posteriormente, reagiu com 1,2 equivalentes das respectivas aminas para a síntese das amidas graxas em rendimentos de 65-75%. Segundo a literatura este reagente possui a vantagem de ser menos tóxico que os demais utilizados na síntese de anidridos⁷⁰ e é

especialmente utilizado na síntese de peptídeos a partir de aminoácidos estericamente impedidos (**Esquema 16**).



Esquema 16 - Síntese de amidas graxas utilizando PPA.

O uso do PPA para ativação de ácidos graxos também foi investigado na presença de acetonitrila e trietilamina a temperatura ambiente para formação de hidroxilamidas graxas⁷¹. O anidrido misto formado a partir do ácido oléico (**44**) reagiu com o cloreto de hidroxilamina durante 12h gerando a respectiva hidroxilamida graxa **45** (**Esquema 17, Tabela 1**).



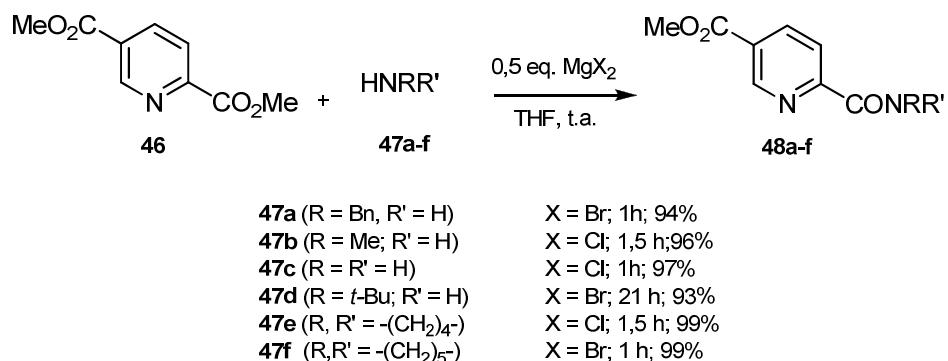
Esquema 17 - Síntese de hidroxilamida graxa **45**.

Tabela 1 - Rendimentos para a síntese de hidroxilamida graxa **45**

Entrada	NH₂OH.HCl (equiv.)	Solvente	Rendimento (%)
1	1	CH ₂ Cl ₂	35
2	2	CH ₂ Cl ₂	41
3	2	EtOAc	53
4	1	MeCN	76
5	2	MeCN	85

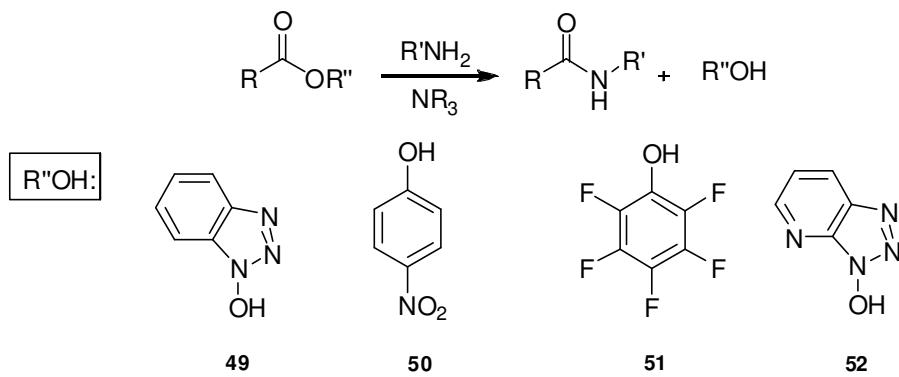
Guo e colaboradores investigaram condições reacionais brandas de amidação a partir de diésteres (**46**) e monoésteres empregando ácidos de Lewis como catalisadores⁵⁹ (**Esquema 18**). Os ésteres alquílicos embora não sejam considerados espécies ativantes, pois são utilizados como grupos

protetores podem ser convertidos em amida sob condições reacionais específicas⁶. Em seu trabalho os autores utilizaram MgCl₂, MgBr₂, Mg(OAc)₂ e NiCl₂ na presença de várias aminas aromáticas e alifáticas (**47a-f**). As reações foram realizadas a temperatura ambiente em rendimentos que variaram de 93-99%. Os resultados obtidos com as diferentes aminas investigadas pelos autores: amônia (**47c**), metilamina (**47b**), pirrolidina (**47e**) e piperidina (**47f**) indicaram a tolerância do método com relação a diferentes nucleófilos.



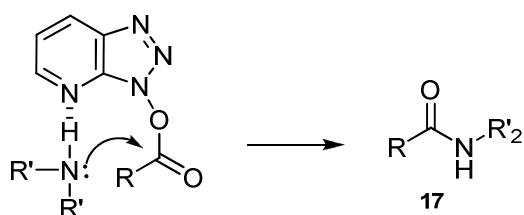
Esquema 18 - Amidação de diésteres catalisadas por ácidos de Lewis

O uso de ésteres ativados também foi uma alternativa para a síntese de amidas. Estes ésteres, sintetizados a partir de ácidos carboxílicos e alcoóis, além de poderem ser preparados com antecedência e armazenados, têm a eletrofilicidade do carbono carbonílico aumentada em virtude da estrutura do álcool escolhido⁶. Na síntese de peptídeos por exemplo, os reagentes mais utilizados geralmente como auxiliares ao DCC, são HOBT⁵⁴ (**49**), *p*-nitrofenol (PNF, **50**)⁷² e pentafluorfenol (PFF, **51**)⁷³, (**Esquema 19**).



Esquema 19 – Reagentes comumente utilizados na preparação de ésteres ativados para amidação.

Em 1994, Carpino descreveu o uso de Hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt, **52**), citado por ser mais eficiente que HOBr em alguns casos mais difíceis, como na presença de materiais de partida estericamente impedidos, por exemplo⁷⁴. O aumento desta eficiência pode ser explicado pela possibilidade de quelação do nitrogênio piridínico durante a etapa de aminólise (**Esquema 20**). O uso dos benzotriazóis necessita considerar as propriedades explosivas que estes compostos e suas variações apresentam⁷⁵.



Esquema 20 - Quelação adicional com HOAt **52**.

A formação de ésteres ativados também pode ocorrer com o uso de sais baseados na estrutura do benzotriazol, incluindo sais de urônio/amínio, fosfônio e imônio (**Figura 4**)⁶⁶.

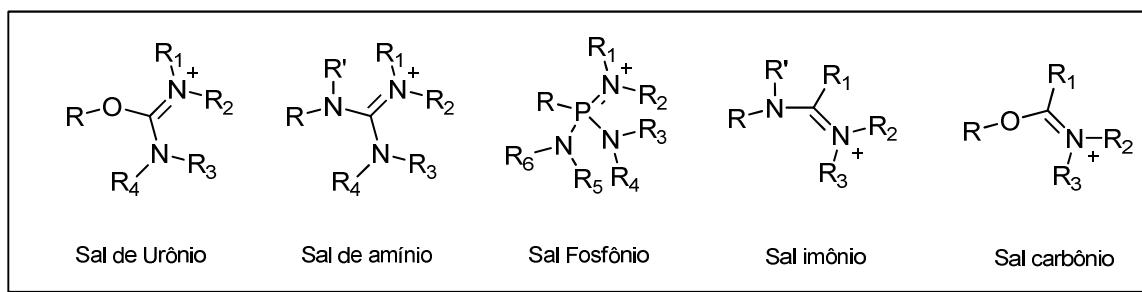
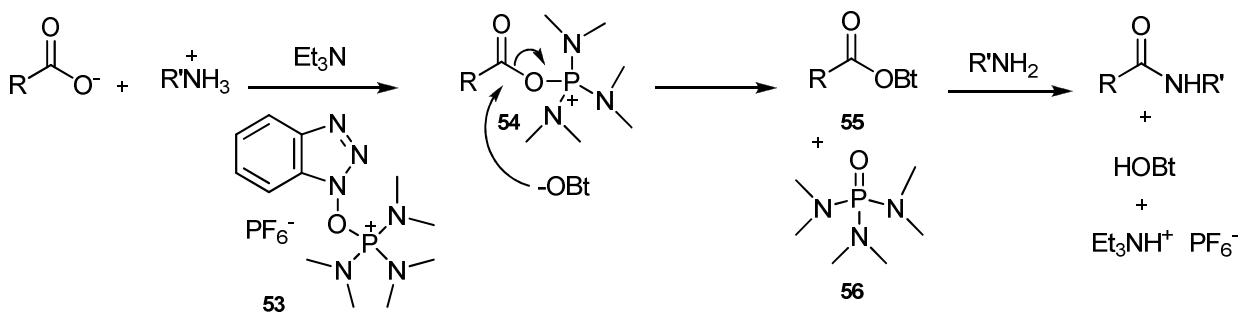


Figura 4 - Sais associados com reagentes baseados em HOBt **49**.

O primeiro sal fosfônico utilizado como reagente de acoplamento foi o benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfônio hexafluorofosfato (BOP, **53**), também conhecido por reagente de Castro⁷⁶. Neste processo *on-pot*, o uso de uma base é requerido (**Esquema 21**).



Esquema 21 - Aminólise on-pot empregando BOP (**53**).

O ácido desprotonado reage com **53** gerando uma espécie acil-fosfônio ativada **54** e HOBr. Este, por sua vez, reage com o com o ácido ativado, gerando o triazoléster **55** que, na presença da amina sofre aminólise. Este reagente, embora muito eficiente, teve sua comercialização banida em função da liberação de triamida – hexametilfosfórica (HMPA, **56**), altamente tóxica⁷⁷. Em seu lugar, o benzotriazol-1-il-pirrolidinofosfonio-hexafluorofosfato (PyBOP, **57**), igualmente eficiente foi desenvolvido, pois gera como subproduto 1,1',1"-fosforiltripirrolidina **58** de menor toxicidade⁷⁸ (**Figura 5**). Além de **57**, outros sais fosfônicos vêm sendo aplicados como agentes de acoplamento na formação da ligação amida na síntese de peptídeos⁷⁹.

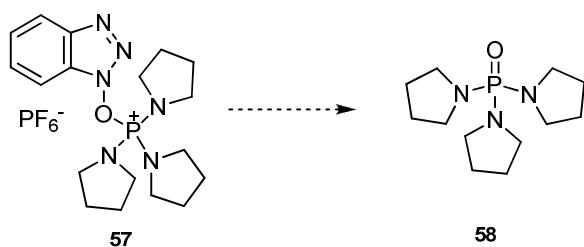
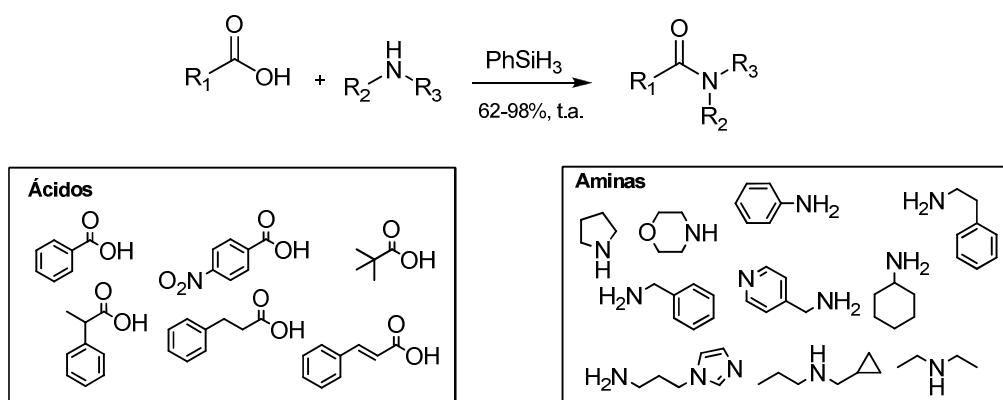


Figura 5 - PyBOP **57** e seu sub-produto 1,1',1"-fosforiltripirrolidina **58**.

A síntese de amidas a partir dos ésteres ativados, contudo, é descrita na literatura como pouco eficiente para a utilização com aminas secundárias. Este comportamento é atribuído ao impedimento estérico do éster ativado formado, que dificulta o ataque do nucleófilo secundário⁶. Além disso, embora os benzotriazóis apresentem uma ampla faixa de compostos, como

mencionado anteriormente, suas propriedades explosivas representam um importante contraponto a ser considerado.

Novas metodologias, além dos exemplos descritos e classicamente utilizados na síntese de amidas, vêm sendo publicadas. Um exemplo é o trabalho de Ruan e colaboradores que propuseram o uso de fenilsilano (PhSiH_3) como ativante *in situ* de ácidos carboxílicos para síntese de amidas e peptídeos (**Esquema 22**)⁸⁰. As reações foram realizadas a temperatura ambiente, em DMF *overnight*, empregando 3 equivalentes de PhSiH_3 , obtendo rendimentos que variaram de 62-98%.



Esquema 22 - Síntese de amidas com emprego de PhSiH_3 .

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Sintetizar novas benzil e metilbenzilamidas graxas, derivadas de diferentes ácidos graxos e avaliar a atividade antimicobacteriana no combate a *Mycobacterium tuberculosis*.

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar amidas graxas quirais e aquirais derivadas dos ácidos palmítico, esteárico, oléico, linoleico e ricinoleico;
- Investigar a melhor rota de síntese dos compostos nitrogenados graxos em estudo;
- Realizar estudos exploratórios da atividade antimicobacteriana dos compostos sintetizados frente às cepas de *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv, *M. tuberculosis* resistente a rifampicina e *M. tuberculosis* resistente a isoniazida.
- Investigar o comportamento dissociativo das amidas graxas por Espectrometria de Massas;
- Ampliar a interação com outros grupos de pesquisa através da investigação da atividade biológica dos compostos, em estudos biofísicos, bioquímicos e farmacológicos.
- Agregar valor às substâncias graxas através da síntese de novos oleoderivados nitrogenados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese de amidas

As benzilamidas graxas **59-61** (Figura 6), também chamadas de macamidas já foram isoladas dos tubérculos do vegetal *Lepidium meyenii* utilizado no Peru em dietas alimentares^{18,81}.

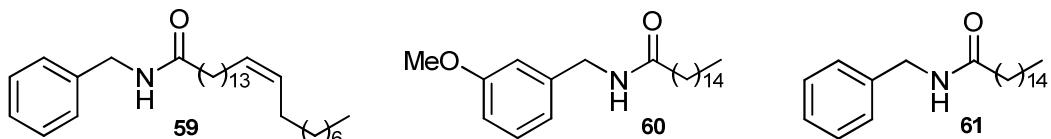


Figura 6 - Macamidas 59-61 isoladas no *Lepidium meyenii*.

Neste trabalho, investigamos a síntese de novas amidas graxas baseados na similaridade estrutural com as macamidas, que são moléculas descritas na literatura associadas a atividades biológicas importantes, como por exemplo, regulação hormonal, imunoestimulante e antidepressivo, além de ser descritas por interferir no comportamento sexual de animais como estimulantes.

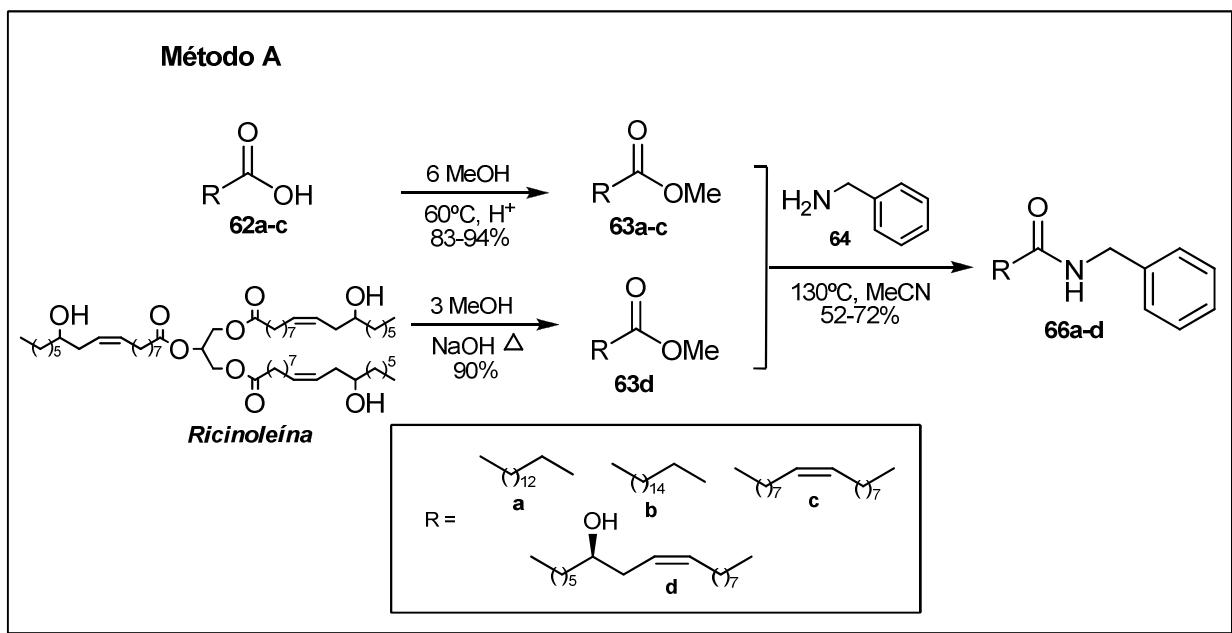
A inovação consistiu na variação dos substituintes ligados ao átomo de nitrogênio e a sua combinação com as cadeias dos ácidos palmítico (**62a**), esteárico (**62b**), oléico (**62c**), ricinoleico (**62d**) e linoleico (**62e**).

Para a síntese das amidas graxas **66a-d** seguiu-se o Método A, Esquema 23, procedimento em andamento no grupo de pesquisa. Na primeira etapa desta metodologia os ácidos carboxílicos **62a-c** foram convertidos em ésteres metílicos **63a-c** por esterificação com MeOH e catálise ácida por 4 horas a 60°C. Os rendimentos variaram entre 83-94%.

O ricinoleato de metila (**63d**), foi obtido a partir da transesterificação da ricinoleína, principal constituinte do óleo de mamona^{82,83} (*Ricinus communis*) utilizando NaOH (1%) na proporção molar 1:6, triglicerídeo:álcool sob aquecimento de 60°C por 1 hora. Todos os ésteres foram purificados por coluna cromatográfica e analisados por infravermelho, para os quais os dados observados foram condizentes com os encontrados na literatura⁸⁴. O desvio da

luz polarizada de **63d** foi medido para determinar a pureza óptica do composto. A rotação específica observada foi $[\alpha]_D^{20^\circ} + 7,10$ ($c = 7,4\%$ acetona), em concordância com o desvio descrito na literatura $[\alpha]_D^{20^\circ} = + 7,11$ ($c = 7,4\%$ acetona)⁸⁵.

Na segunda etapa, os ésteres metílicos graxos **63a-d** foram submetidos à aminólise com benzilamina (**64**), na proporção molar 1:6, a 130°C por 24 horas (**Esquema 23**). A conversão do éster metílico em amida graxa foi acompanhada por Cromatografia de Camada Delgada (CCD) e os rendimentos variaram entre 52-72%. (**Tabela 2**).



Esquema 23 - Síntese de benzilamidas **66a-d a partir de ésteres graxos **63a-d****

Tabela 2 – Rendimentos Síntese de amidas **66a-d pelo Método A.**

Entrada	Éster Graxo	Razão Molar	Amida	Rendimento (%)
1	63a	1:6	66a	72
2	63b	1:6	66b	60
3	63c	1:3	66c	52
4	63d	1:6	66d	66

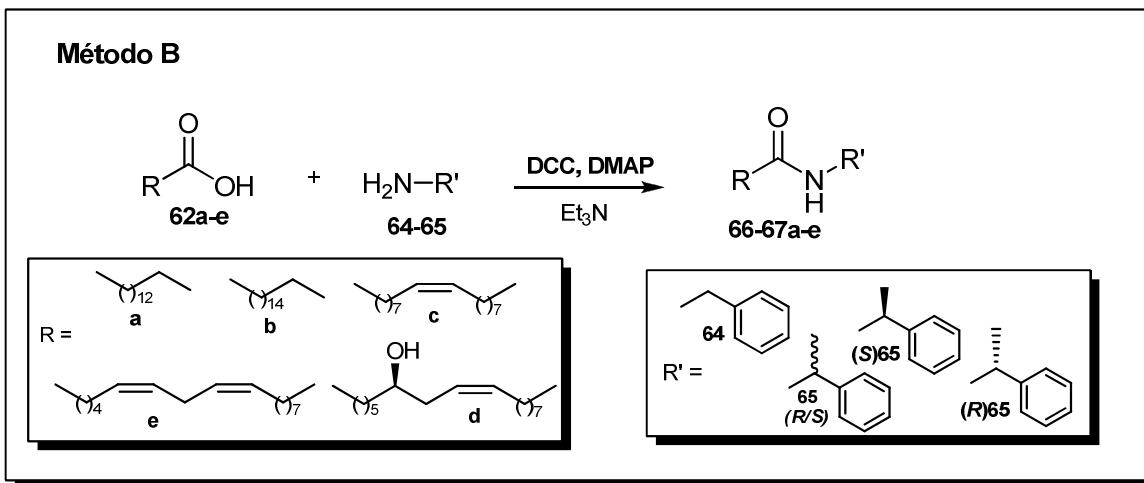
Os produtos isolados foram analisados por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS) e por infravermelho, onde o aparecimento de bandas na região de 1640-1680 cm^{-1} , características para

carbonilas de amida, confirmou a formação dos mesmos. Após, os compostos foram caracterizados por RMN de ^1H e de ^{13}C .

Embora a síntese das amidas **66a-d** pelo Método A (**Esquema 23**), tenha fornecido bons rendimentos, foi necessário o uso de excesso do nucleófilo (**Tabela 2**). Visando a síntese das amidas graxas derivadas da α -metilbenzilamina, aminas quirais de maior valor comercial, buscou-se uma metodologia em que este reagente nitrogenado fosse utilizado em menores quantidades.

De acordo com o exemplo já descrito no **Esquema 12** (ver pg. 11), Khan e colaboradores¹⁸ utilizaram DCC (**25**) e DMAP (**30**) na síntese da *N*-benzil-15-*Z*-tetracosenamida (**31**), amida graxa encontrada no vegetal *Lepidium meyenii*. Embora os rendimentos não tenham sido descritos pelos autores, a amina foi utilizada na mesma razão molar que o ácido graxo de partida. As carbodiimidas também foram utilizadas por Ranger⁶⁷ para a síntese de amidas graxas, exemplo descrito anteriormente no **Esquema 13** (ver pg. 11).

De acordo com estes exemplos, decidimos investigar o uso de DCC para a síntese das amidas **66-67a-e**. Neste procedimento, Método B, **Esquema 24**, os ácidos palmítico (**62a**), esteárico (**62b**), oléico (**62c**), linoleico (**62e**) e ainda ácido ricinoleico (**62d**, obtido por hidrólise do ricinoleato de metila (**63d**) foram colocados na presença de DCC e DMAP e da correspondente amina. (**Esquema 24**).



Esquema 24 - Síntese de amidas **66-67a-e**

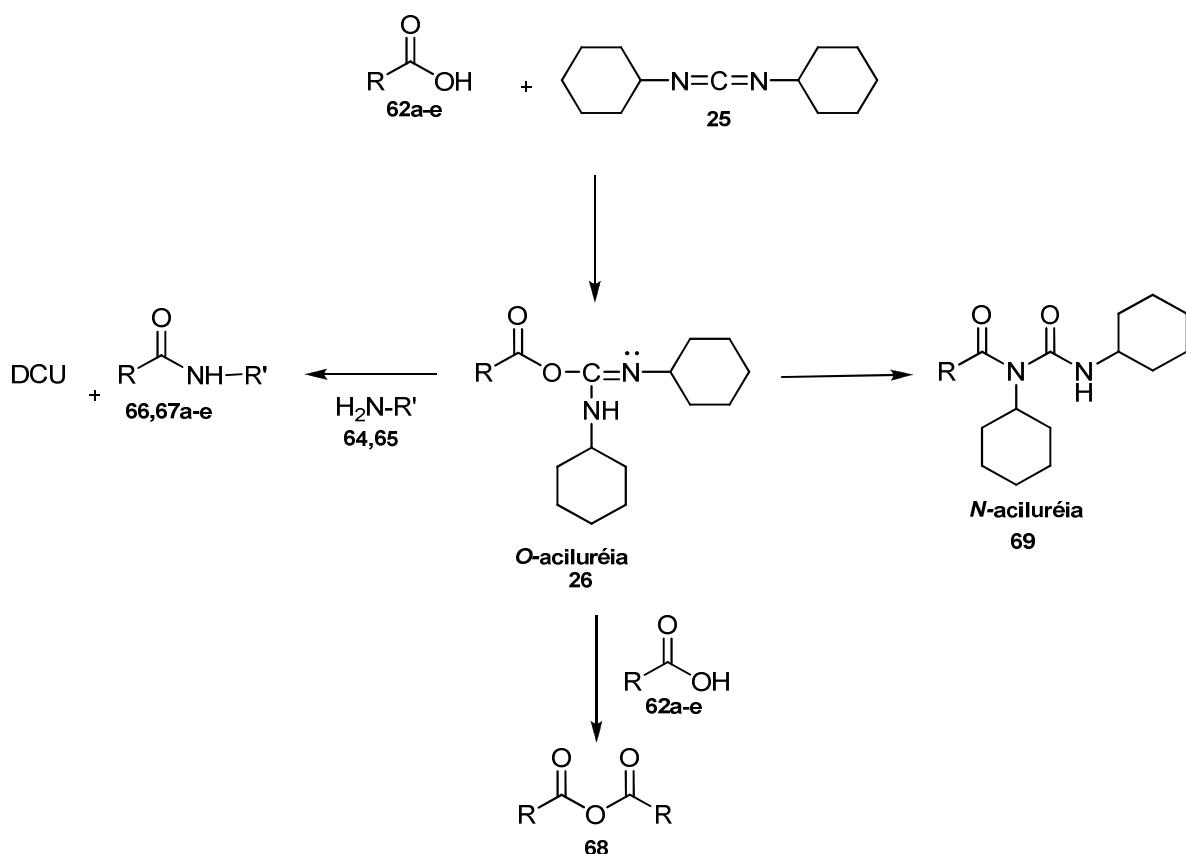
Segundo o mecanismo proposto por Valeur e Bradley⁶⁶ (**Esquema 25**), a primeira etapa da reação apresentada no Método B (**Esquema 24**), envolve a condensação do ácido carboxílico **62a-e** com o DCC (**25**) para formar *O*-aciluréia (**26**), por ser mais reativa que o material de partida este intermediário pode resultar em diferentes produtos:

- Ocorre a formação das amidas **66-67a-e** pelo acoplamento direto de **26** com a amina, formando dicicloexilcarbodiimida (DCU) facilmente separada por filtração.

- Leva ao anidrido **68** pela condensação de duas moléculas de ácido, formando posteriormente **66-67a-e** pela reação com o nucleófilo presente no meio.

- Forma-se a *N*-aciluréia **69** através do rearranjo intramolecular de **26**.

Embora estes reagentes sejam utilizados em processos sintéticos que requerem protocolos suaves, a formação dos subprodutos DCU e **69** pode comprometer tanto o rendimento quanto a purificação dos produtos.

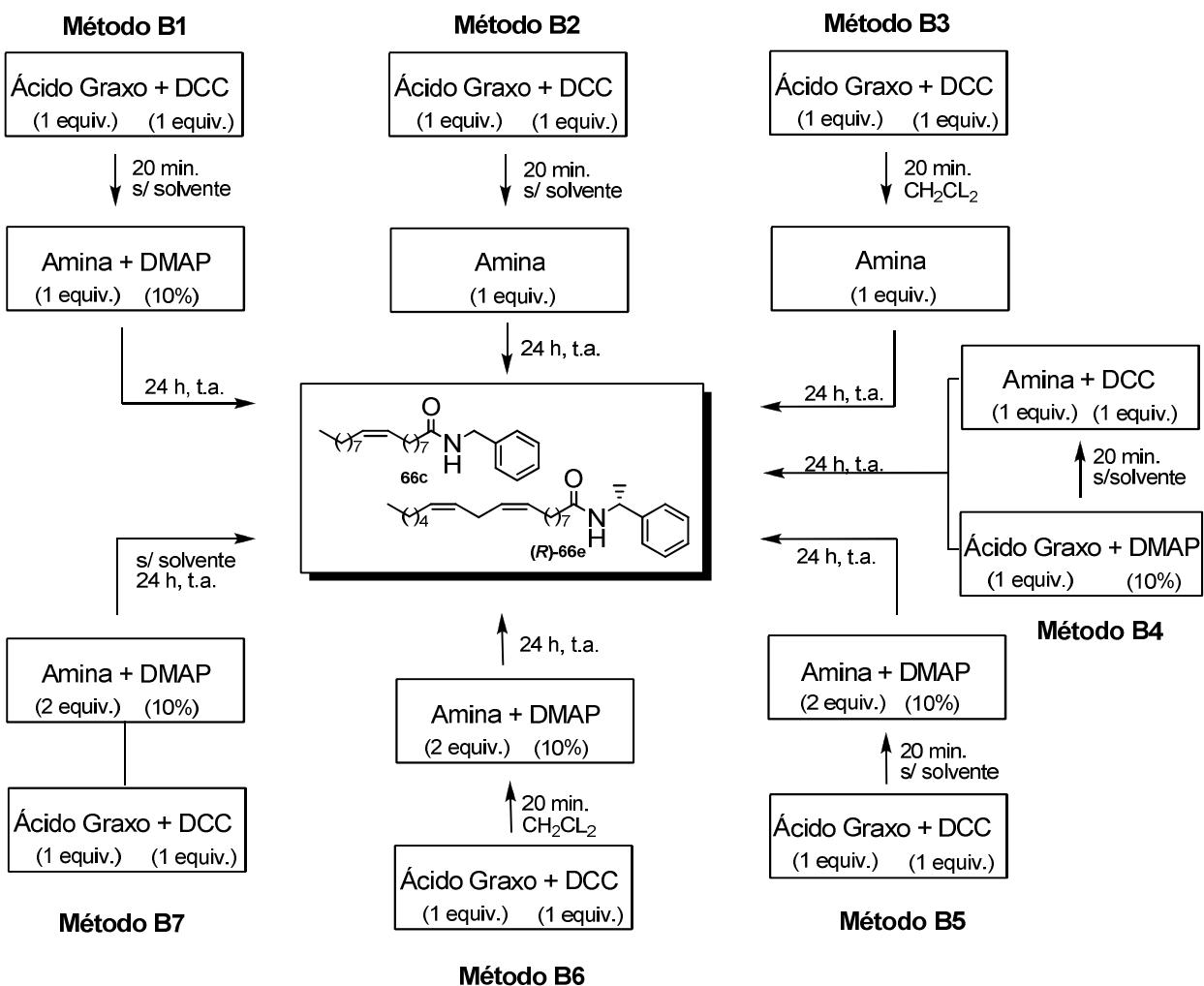


Esquema 25 - Proposta de mecanismo para ativação do ácido com DCC (**25**).

Para otimização do procedimento (Método B, **Esquema 24**), realizamos a síntese da Oleilbenzilamida (**66c**), acompanhando as reações por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Partindo do ácido oleico (**62c**) seguido da adição de DCC, observou-se após 20 minutos de reação o consumo total do ácido graxo e o surgimento de um novo composto, indicando, de acordo com o mecanismo, a formação de **26**.

Após a adição da amina **64** foi possível observar a conversão parcial de **26** no produto **66c** por CCD. Porém, após 24h de reação a altas temperaturas (130°C) esta conversão não foi completa, ocorrendo também a formação do subproduto de rearranjo **69**. Os compostos foram isolados por coluna cromatográfica e caracterizados.

A formação de **69** nas reações com DCC é descrita na literatura⁸⁶. A *N*-acilação intramolecular de **26** pelo ataque do nitrogênio ao carbono carbonílico leva à formação da *N*-aciluréia não reativa **69** e este ataque compete com o ataque nucleofílico da amina. Este processo é citado como um processo lento e é ainda mais favorecido com o uso de materiais de partida pouco reativos⁸⁷. Diante disso, a fim de otimizar o procedimento de síntese e investigar a influência da ordem de adição dos reagentes, uso de solvente e de DMAP para a formação das amidas buscando minimizar a formação de **69**, variações no protocolo experimental foram realizadas. As metodologias B1-B7 foram testadas para a síntese de **66c** e de (*R*)-**66e** a partir dos ácidos **62c** e **62e** e das aminas **64** e (*R*)-**65** respectivamente. (**Figura 7**).

**Figura 7 - Variações experimentais para síntese das amidas**

O acompanhamento das reações com os diferentes métodos testados foi realizado por Cromatografia Gasosa com Detector por Ionização em Chamas (GC-FID). Analisando os cromatogramas obtidos dos brutos reacionais, foi possível observar a influência das variações no procedimento experimental para a formação de amida (**66c**, **66e**) e produto de rearranjo **69**. A concentração destes compostos foi determinada por comparação relativa entre as áreas dos picos observados nos cromatogramas. Os resultados são mostrados na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Razões entre formação de amida e **69** pelos métodos B1-B7.

Entrada	Método	Ácido:Amina	Conc.69 (<i>t_r</i> 20,78 min)	Conc.66c, 66e (<i>t_{r 26,46 min)}</i>
1	B1	1:1	20,84%	79,15% (66c)
2	B2	1:1	28,98%	71,01% (66e)
3	B3	1:1	44,56%	55,34% (66e)
4	B4	1:1	34,19%	65,80% (66c)
5	B5	1:2	19,08%	80,91% (66c)
6	B6	1:2	46,89%	53,10 % (66c)
7	B7	1:2	58,27%	40,34% (66c)

Todos os reagentes utilizados e o padrão das amidas oleilbenzilamida **66c**, Linoleilbenzilamida **66e**, *N*-aciluréia **69** e Dicicloexiluréia (DCU) foram analisados isoladamente a fim de diferenciá-los no bruto reacional por comparação com seus respectivos tempos de retenção (*t_r*).

Analizando o cromatograma da reação pelo Método B1, em que o ácido graxo e o DCC são primeiramente agitados, seguidos da adição simultânea de DMAP e das aminas **64** e Et₃N em proporções equivalentes ao ácido, a razão entre **69** e **66c** foi de 1:4 respectivamente (Tabela 3, entrada 1).

Com o mesmo objetivo, testamos o Método B2 para a síntese de (*R*)-Linoleilbenzilamida (**66e**, *t_r* 26,46 min.), derivada do ácido linoleico (**62e**) e da amina quiral (*R*)-(+) -metilbenzilamina (**65**). Através deste procedimento (Tabela 3, entrada 2) foi possível observar o aumento da formação de **69** em relação à **66e**. As proporções entre os compostos formados foram 1:2,5 respectivamente (**Figura 8**), sugerindo a importância de DMAP (**30**) na reação, já que para a síntese de **66c** pelo Método B1, com DMAP, a proporção de amida formada foi maior (Tabela 3, entrada 1).

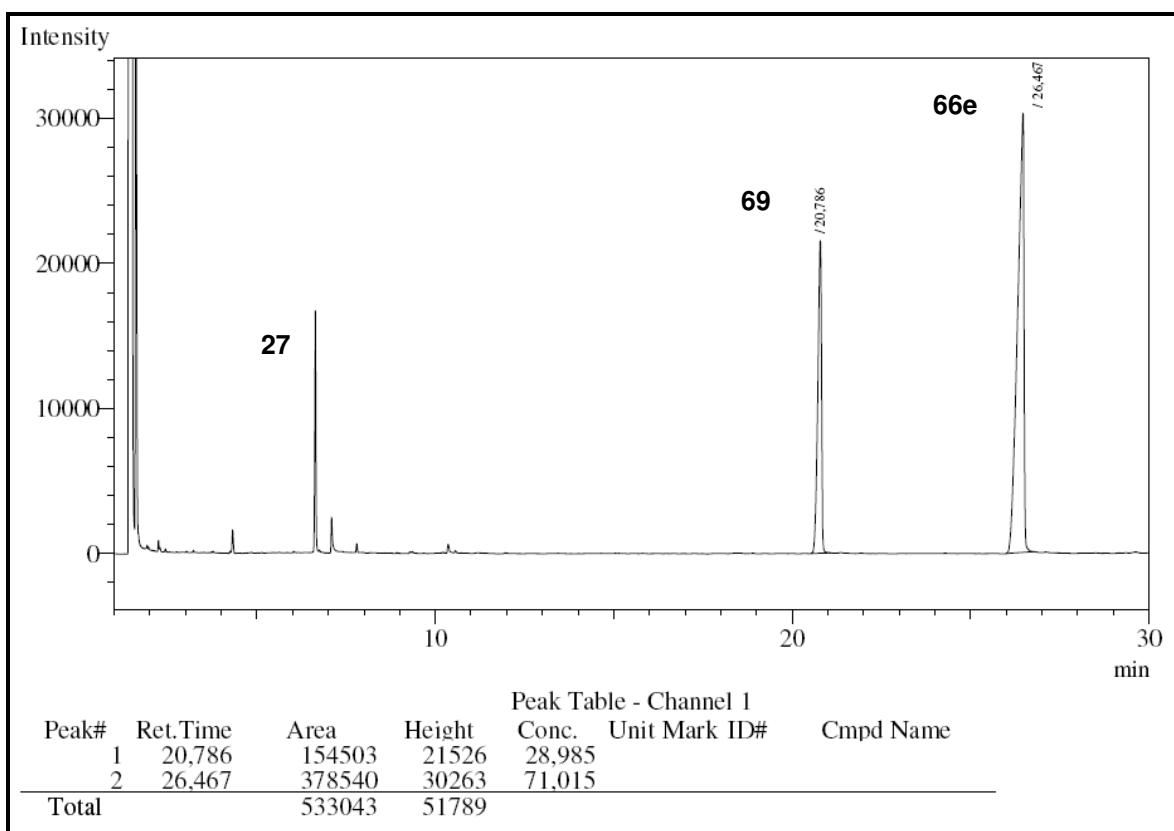


Figura 8 - Cromatograma bruto reacional de (*R*)-**66e** pelo Método B2.

Investigamos também a influência da adição de solvente ao meio reacional na formação de **66e** testando a síntese desta amida pelo Método B3. Porém, neste caso, as razões entre **69** e **66e** foram praticamente proporcionais (Tabela 3, entrada 3), sugerindo que a presença de solvente não favorece a formação do produto (**Figura 9**).

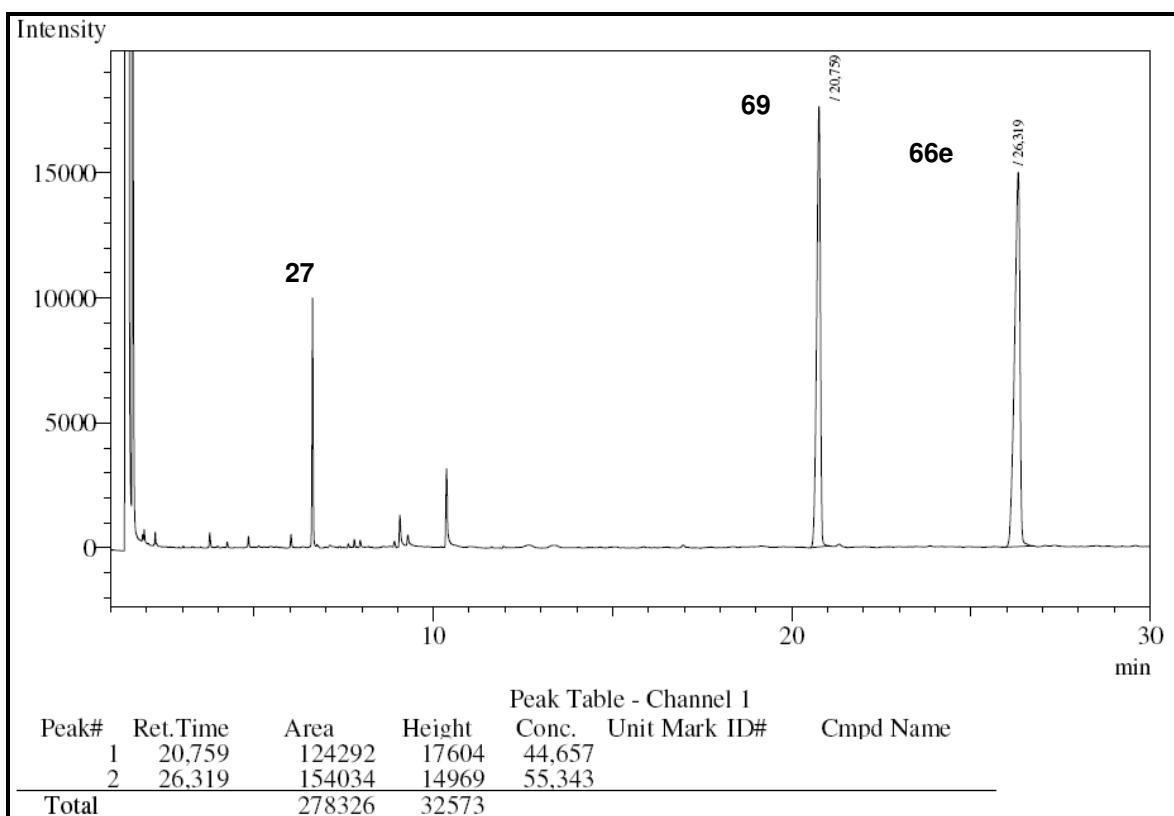


Figura 9 - Cromatograma bruto reacional de (*R*)-**66e** pelo Método B3

A ordem de adição dos reagentes na síntese de **66c** foi investigada com o Método B4. Neste procedimento o DMAP (**30**) é adicionado primeiramente ao ácido oléico (**62c**) e os demais reagentes são acrescentados posteriormente. Analisando o cromatograma do bruto reacional para este método, a razão entre **69** e **66c** foi de 1:2 (Tabela 3, entrada 4). Comparando estes resultados com os obtidos no Método B1 (Tabela 3, entrada 1), a adição de DCC juntamente com o ácido oléico mostrou melhor resultado.

Seguindo esta ordem, investigou-se pelo Método B5, o efeito do uso de excesso de nucleófilo (Tabela 3, entrada 5). A proporção entre **69** e **66c** foi 1:4 respectivamente. Este resultado é semelhante ao obtido com o Método B1 (Tabela 3, entrada 1), onde a amina e o ácido graxo são utilizados em proporções estequiométricas, sugerindo que excesso de nucleófilo não está associado a melhores resultados.

Investigou-se também, pelo Método B6, a influência de solvente no meio reacional com excesso de amina (Tabela 3, entrada 6). Foi possível observar, através do cromatograma, a formação em razões proporcionais de oleilbenzilamida (**66c**) e *N*-aciluréia **69**, confirmando que a presença de

solvente desfavorece a formação do produto. Este comportamento é citado na literatura, onde para a síntese de compostos são reportados altos rendimentos em meios reacionais livres de solvente^{88,89,90}.

Um último procedimento foi testado para a síntese das amidas através do Método B7, com a adição de todos os reagentes simultaneamente. Pela análise do cromatograma (**Figura 10**), percebe-se uma razão **69:66c** de 1,5:1, mesmo utilizando 2 mols de nucleófilo (Tabela 3, entrada 7).

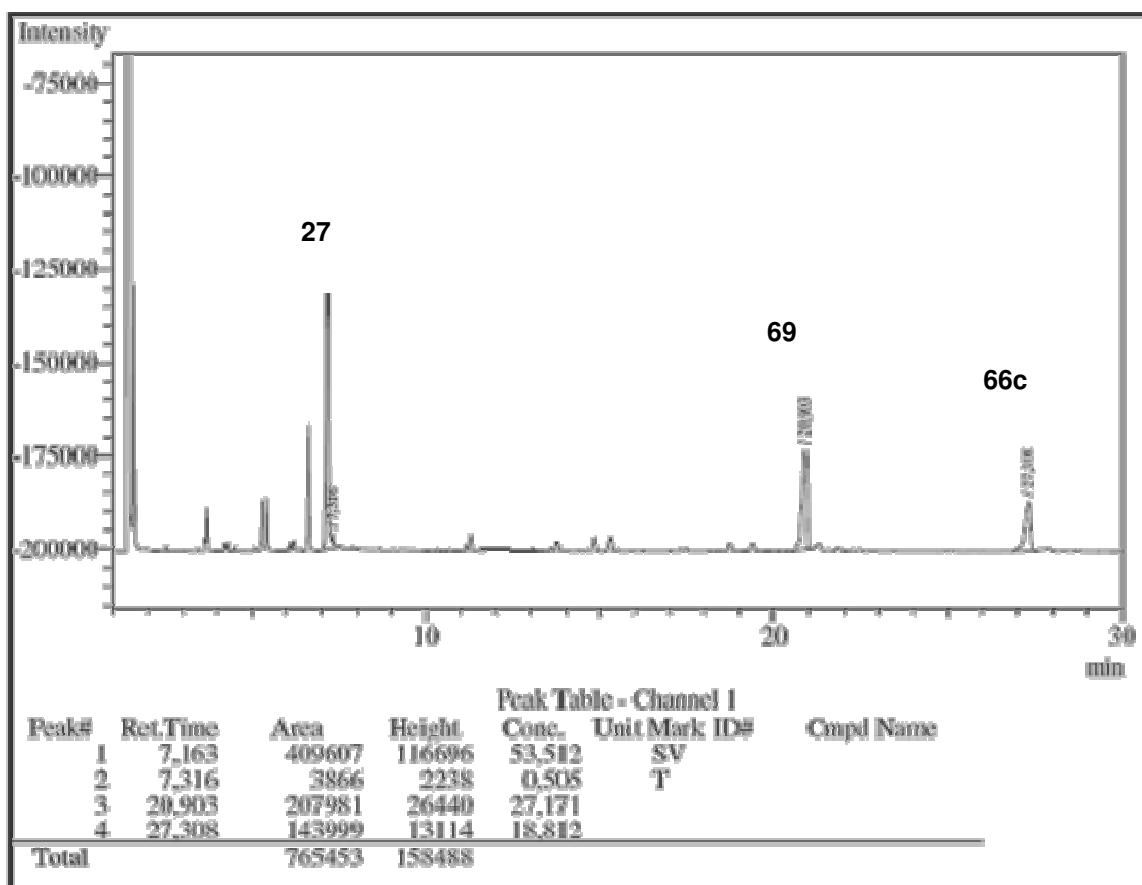


Figura 10 - Cromatograma bruto reacional **66c** pelo método B7

Analizando os resultados para os diferentes métodos testados na síntese de benzilamidas, a formação da *N*-aciluréia **69** foi verificada em todos os procedimentos. Este comportamento pode ser atribuído à baixa reatividade do nucleófilo (**64**) frente a *O*-aciluréia graxa **26**. Observou-se que o Método B1 apresentou a maior formação do produto em relação a **69** e também dispensou o uso de excesso do nucleófilo, bem como a adição de solvente ao meio reacional. Este método foi adotado como protocolo para a síntese das demais

benzilamidas graxas **66a-e**, (Figura 11), a partir dos ácidos graxos **62a-e** e da benzilamina (**64**), na presença de DCC (**25**) e DMAP (**30**).

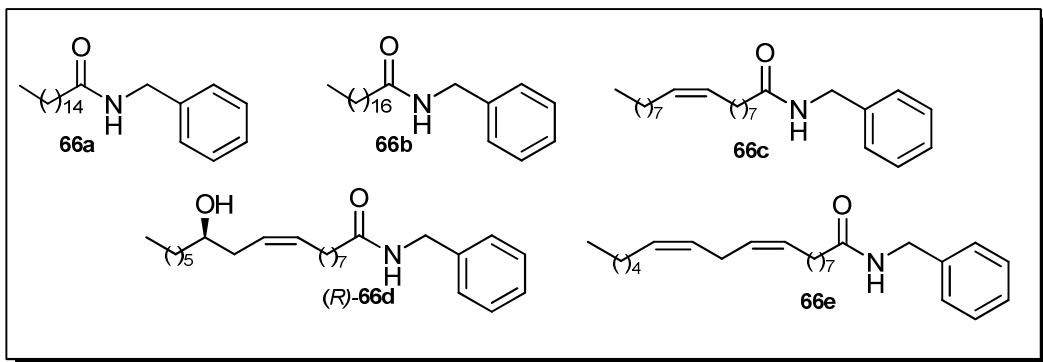


Figura 11 - Estruturas das benzilamidas sintetizadas: palmitoilbenzilamida (**66a**), estearilbenzilamida (**66b**), oleilbenzilamida (**66c**), ricinoleilbenzilamida (**66d**) e linoleilbenzilamida (**66e**).

As reações utilizando o Método B1 foram realizadas variando também a temperatura. Os rendimentos obtidos após a purificação por coluna cromatográfica são mostrados na **Tabela 4**.

Tabela 4 - Rendimentos Síntese das Benzilamidas **66a-e**

Entrada	Ácido Graxo	Amina	Amida	T°C	Rendimento (%)
1	62a	64	66a	130	90
2	62b	64	66b	60	55
3	62b	64	66b	80	58
4	62b	64	66b	130	80
5	62c	64	66c	25	58
6	62c	64	66c	60	75
7	62c	64	66c	130	87
8	(<i>R</i>)- 62d	64	(<i>R</i>)- 66d	130	50
9	62e	64	66e	60	25

Embora o objetivo deste trabalho seja a síntese de benzilamidas graxas, investigou-se a reação empregando o mesmo procedimento na presença de um nucleófilo mais reativo, como a pirrolidina (**70**), já utilizada na síntese de outras amidas graxas em nosso grupo de pesquisa⁹¹. Esta amida apresenta uma constante de nucleofilicidade $N = 17,21$, enquanto a benzilamina (**64**) tem sua constante $N = 13,44$ ⁹². Para tanto, realizou-se a

síntese da linoleilpirrolidilamida (**71e**, **Figura 12**) a partir do ácido linoleico (**62e**) e **70** na presença de DMAP e DCC, conforme Método B1.

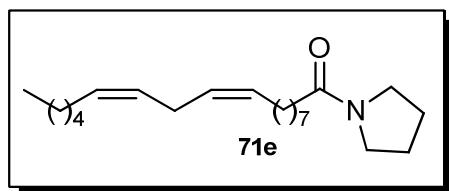


Figura 12 - Linoleilpirrolidilamida 71e

Neste caso, para a síntese de **71e** (t_r 16,51 min.) praticamente não houve a formação de **69** (t_r 20,75 min.), de acordo com o observado no cromatograma do bruto reacional (**Figura 13**). Este resultado indica que o uso de nucleófilos menos reativos, como a benzilamina, associado a baixa reatividade dos ácidos graxos, favorece o rearranjo intramolecular de **26** levando a uma maior formação de **69**.

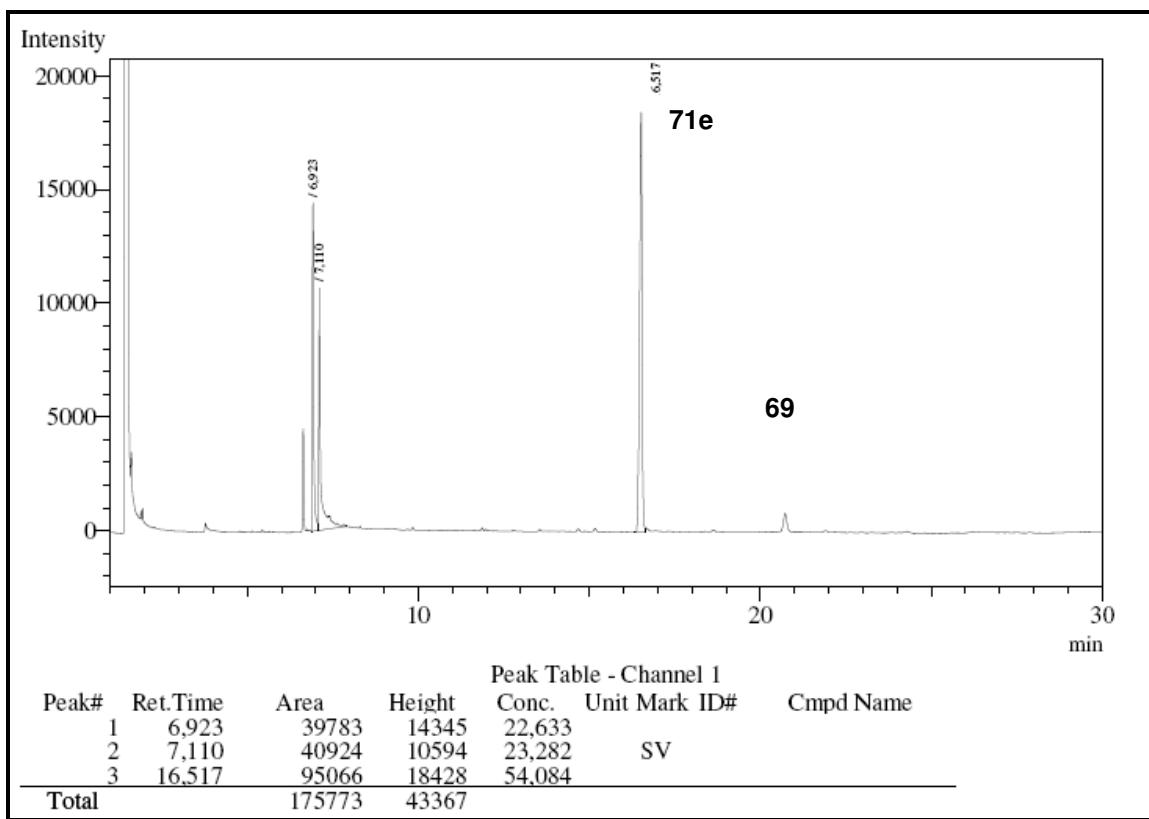


Figura 13 - Cromatograma bruto reacional da Linoleilpirrolidilamida 71e

Para a síntese das metilbenzilamidas graxas quirais **67a-e** (**Figura 14**), derivadas da metilbenzilamina, (*R*)-**65**, (*S*)-**65** e (*R/S*)-**65** seguimos o mesmo protocolo (Método B1). Neste caso, devido a presença do centro assimétrico α-

Nitrogênio e as altas temperaturas empregadas na reação, decidimos também investigar a síntese das amidas **66a-e** a temperatura ambiente. Em todos os casos, a temperatura ambiente, houve uma diminuição significativa nos rendimentos. Os resultados são mostrados na **Tabela 5**.

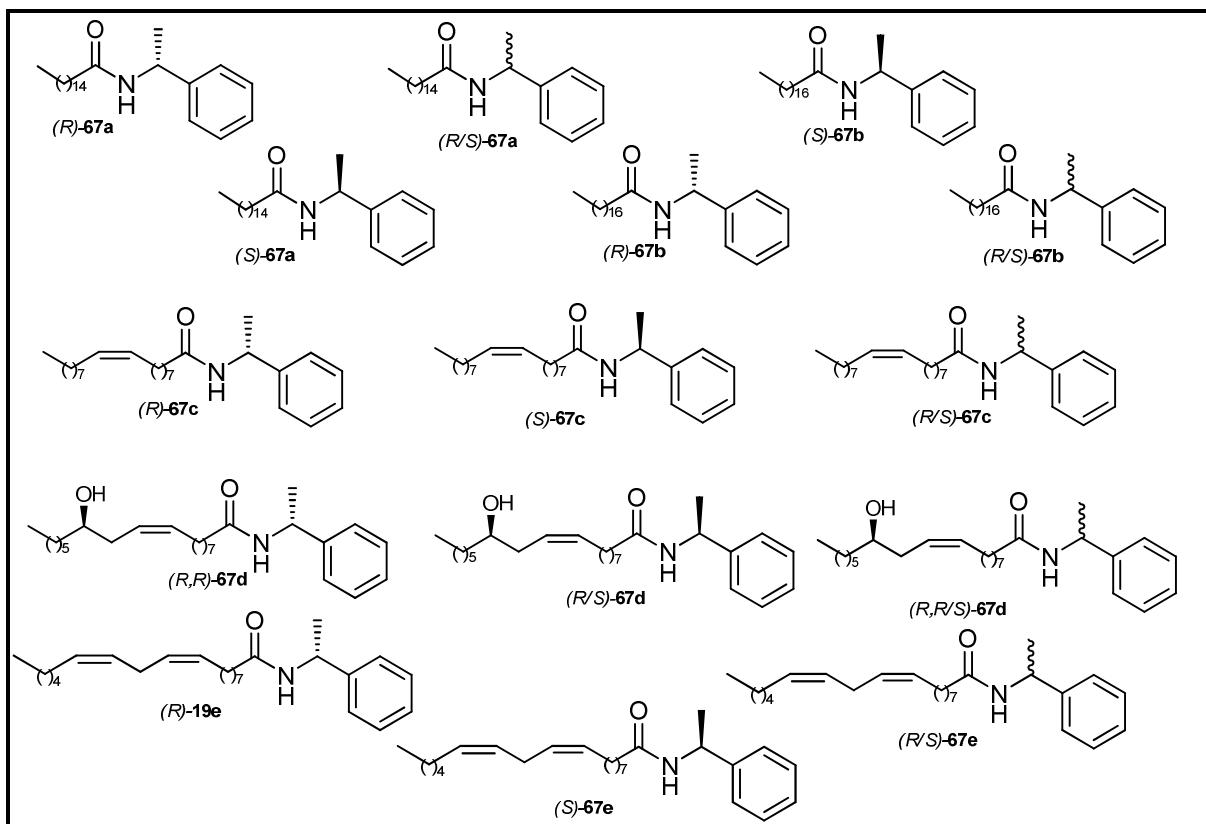


Figura 14 - Amidas graxas quirais **67a-e** sintetizadas.

Tabela 5 - Rendimentos Síntese das Amidas 67a-e

Entrada	Ácido Graxo	Amina	Amida	T°C	Rendimento (%)
1	62a	(R)-65	(R)-67a	130	57
2	62b	(R)-65	(R)-67b	25	30
3	62b	(R)-65	(R)-67b	130	63
4	62c	(R)-65	(R)-67c	130	64
5	(R)-62d	(R)-65	(R,R)-67d	25	37
6	(R)-62d	(R)-65	(R,R)-67d	130	76
7	62e	(R)-65	(R)-67e	25	22
8	62e	(R)-65	(R)-67e	60	26
9	62a	(S)-65	(S)-67a	25	25
10	62b	(S)-65	(S)-67b	25	30
11	62c	(S)-65	(S)-67c	25	57
12	(R)-62d	(S)-65	(R,S)-67d	25	27
13	62e	(S)-65	(S)-67e	25	20
14	62a	(R/S)-65	(R/S)-67a	130	95
15	62b	(R/S)-65	(R/S)-67b	60	56
16	62b	(R/S)-65	(R/S)-67b	80	58
17	62b	(R/S)-65	(R/S)-67b	130	75
18	62c	(R/S)-65	(R/S)-67c	80	65
19	62c	(R/S)-65	(R/S)-67c	130	87
20	(R)-62d	(R/S)-65	(R,R/S)-67d	130	52

Após a síntese das amidas graxas **66,67a-e** pelo Método B1, verificou-se que a adição gota-a-gota de DCC (**25**) em solução de CH₂Cl₂ à mistura de ácido graxo e aminas, a temperatura ambiente levou a maiores rendimentos (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Rendimentos para a síntese de 66,67a-e com adição lenta de DCC

Entrada	Ácido Graxo	Amina	Amida	T°C	Rendimento (%)
1	62a	64	66a	25	60
2	62b	64	66b	25	63
3	62c	64	66c	25	72
4	(R)-62d	64	(R)-66d	25	70
5	62e	64	66e	25	40
6	62a	(R)-65	(R)-67a	25	74
7	62b	(R)-65	(R)-67b	25	67
8	62c	(R)-65	(R)-67c	25	71
9	(R)-62d	(R)-65	(R,R)-67d	25	68
10	62e	(R)-65	(R)-67e	25	66
11	62a	(S)-65	(S)-67a	25	60
12	62b	(S)-65	(S)-67b	25	71
13	62c	(S)-65	(S)-67c	25	55
14	(R)-62 d	(S)-65	(R,S)-67d	25	69
15	62 e	(S)-65	(S)-67e	25	64

Estes resultados indicam que, na medida em que a carbodiimida é adicionada gota-a-gota à mistura, ocorre a reação com o ácido graxo levando à formação lenta do intermediário **26** (Esquema 25, pg. 22). A alta concentração do nucleófilo e de DMAP presentes no meio reacional evitam o rearranjo intramolecular de **26**, favorecendo a formação das amidas.

A formação das amidas foi confirmada pelo surgimento de bandas no espectro de infravermelho na região de 1640 cm^{-1} , características para carbonila de amida, além do estiramento em 3298 cm^{-1} referente à ligação N-H e $1540\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ referentes à ligação C-N. (**Figuras 15 e 16**).

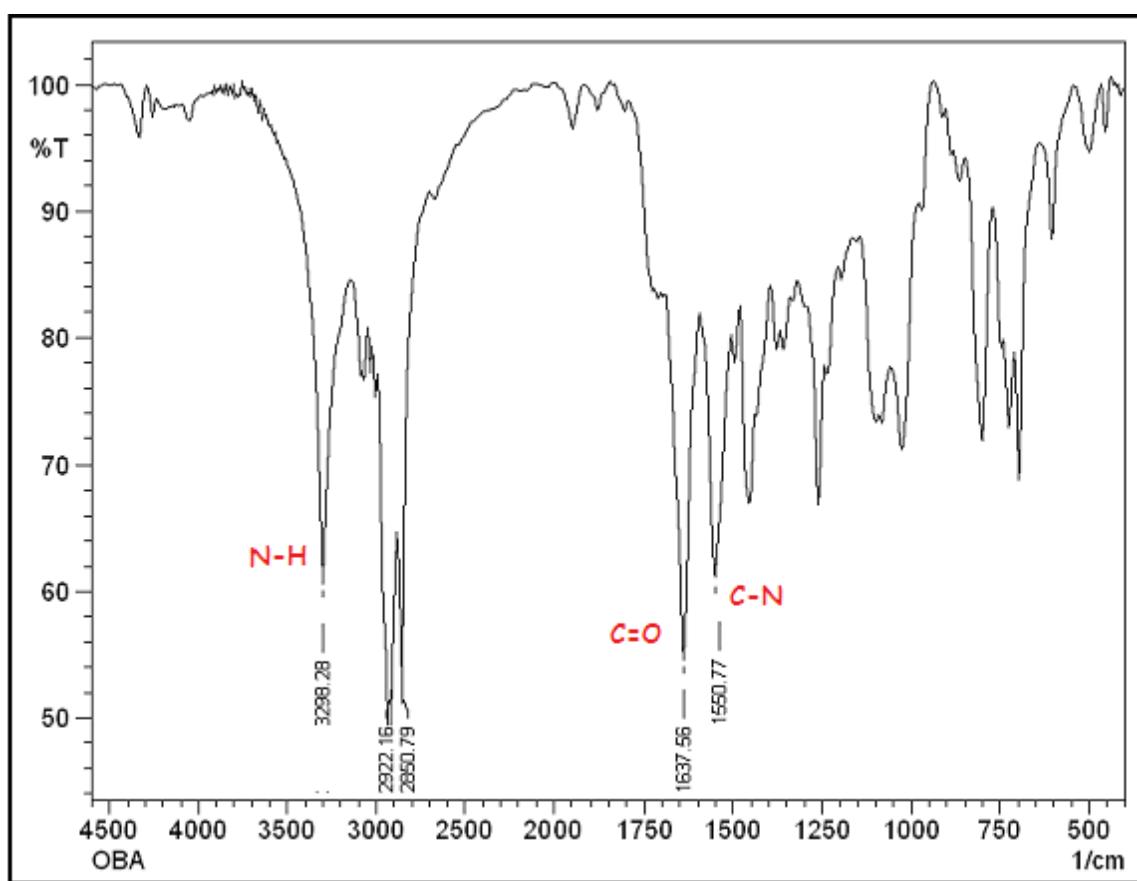


Figura 15 - Espectro I.V. da oleilbenzilamida **66c**

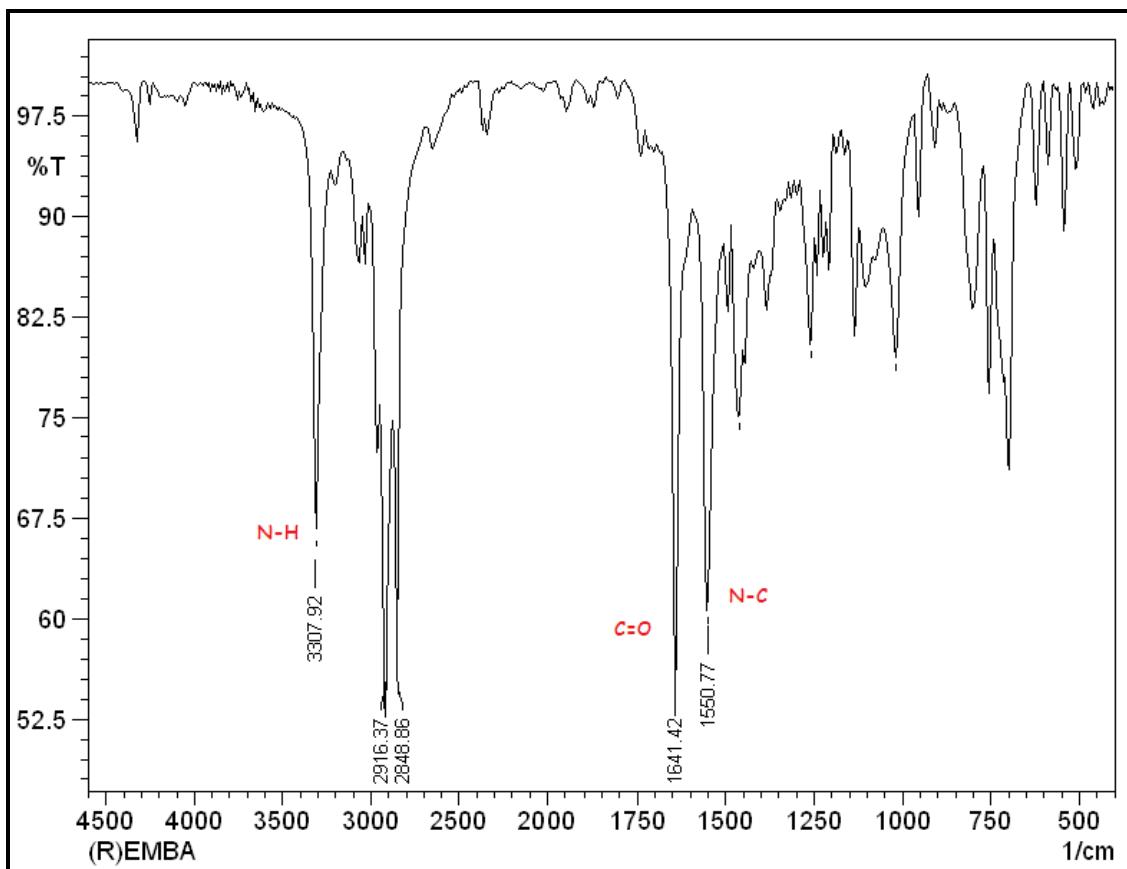


Figura 16 - Espectro de I.V. da (R)-(+)-estearilmetilbenzilamida (R)-67b

A caracterização dos compostos por RMN de ^1H e de ^{13}C foi realizada no Instituto de Química da UFRGS. O espectro de ^1H para (R)-66d (**Figura 17**) é mostrado na **Figura 18**.

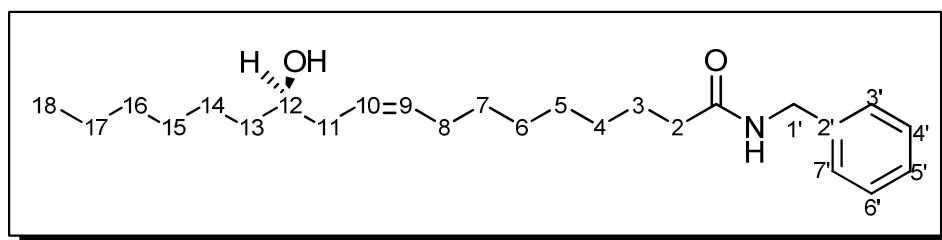


Figura 17- Estrutura ricinoleilbenzilamida (R)-66d

Os hidrogênios aromáticos foram observados em 7,3 ppm na forma de um multiplet. O hidrogênio ligado ao nitrogênio aparece como um sinal largo em 5,8 ppm, seguido de dois multipletos referentes aos hidrogênios vinílicos, 5,59 ppm (m, 1H, H₁₀) e 5,4 ppm (m, 1H, H₉), melhor observados em expansão na **Figura 19**. Os hidrogênios benzílicos aparecem na forma de dubeleto em 4,4

ppm ($J = 6\text{Hz}$) e em 3,6 ppm observa-se um multiplet referente ao H₁₂ (carbinólico). O multiplet observado em 2,2 ppm é relativo à 4H, sendo dois α-C=O e 2H alílicos H₁₁ que se sobrepõe para (R)-**66d**. Os 2H alílicos H₈ aparecem na forma de multiplet em 2,03 ppm, seguido pelo sinal largo em 1,79 referente a H-O. Os sinais observados em 1,65 ppm na forma de multiplet são atribuídos aos 2H β-C=O; em 1,46 ppm na forma de multiplet aos dois hidrogênios H₁₃, 1,3 ppm, multiplet de 16H H₄-H₇ e H₁₄-H₁₇ e 0,88 ppm na forma de triplete para os três hidrogênios terminais H₁₈.

No espectro de ¹³C (**Figura 20**) são observados os sinais em 173 ppm característico de C=O; 138 ppm para C2' (C₀) e 133 e 125 ppm para os carbonos da insaturação. Um sinal característico para (R)-**66d** é observado em 71 ppm para o C₁₂, ligado a hidroxila (carbinólico). Os sinais referentes aos carbonos aromáticos são encontrados na região de 127 ppm e para o carbono benzílico é observado um sinal em 43,5 ppm.

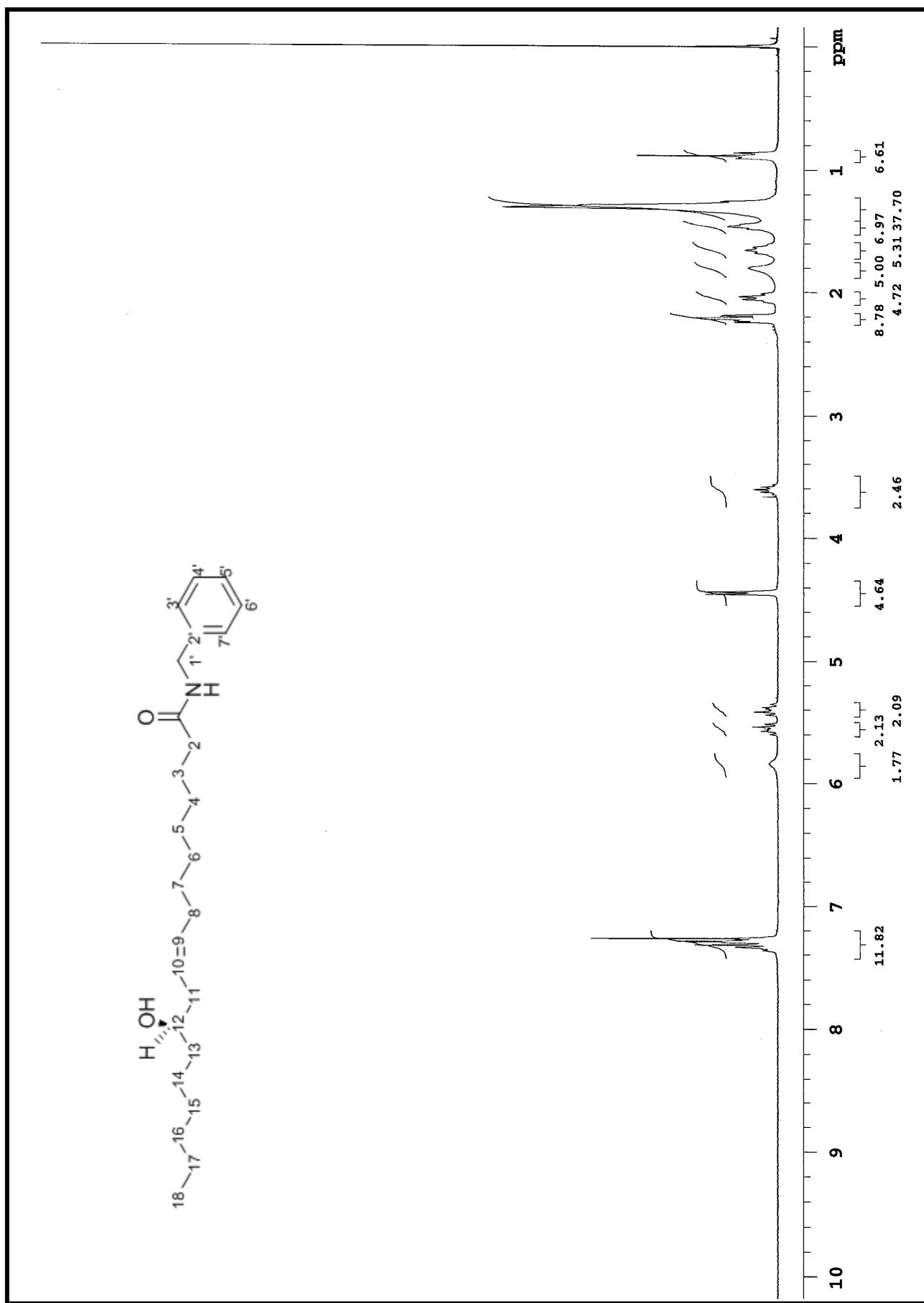


Figura 18 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz) para (R)-66d em CDCl_3 .

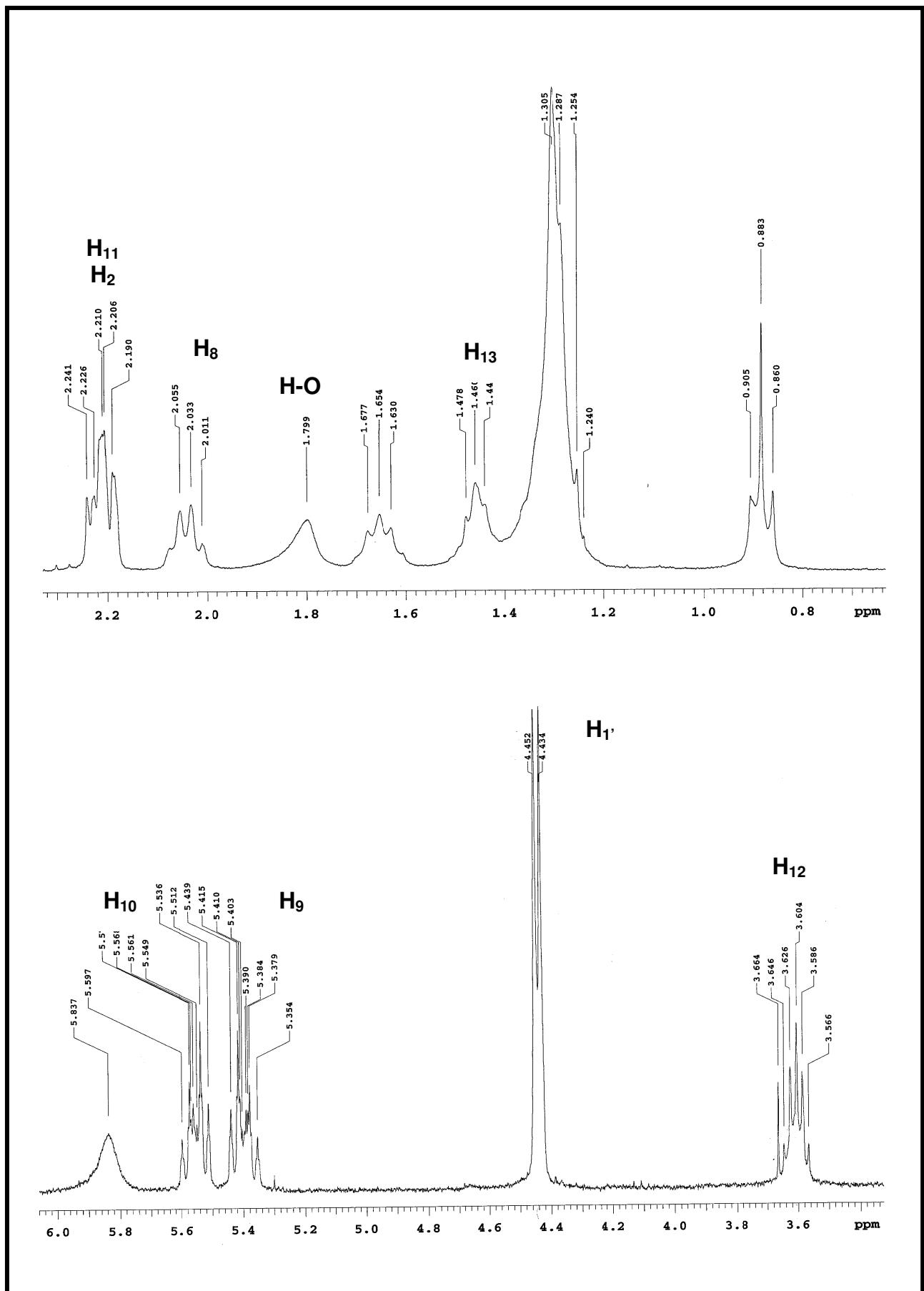


Figura 19 - Expansões espectro de RMN ^1H (300 MHz) para (R)-66d em CDCl_3 .

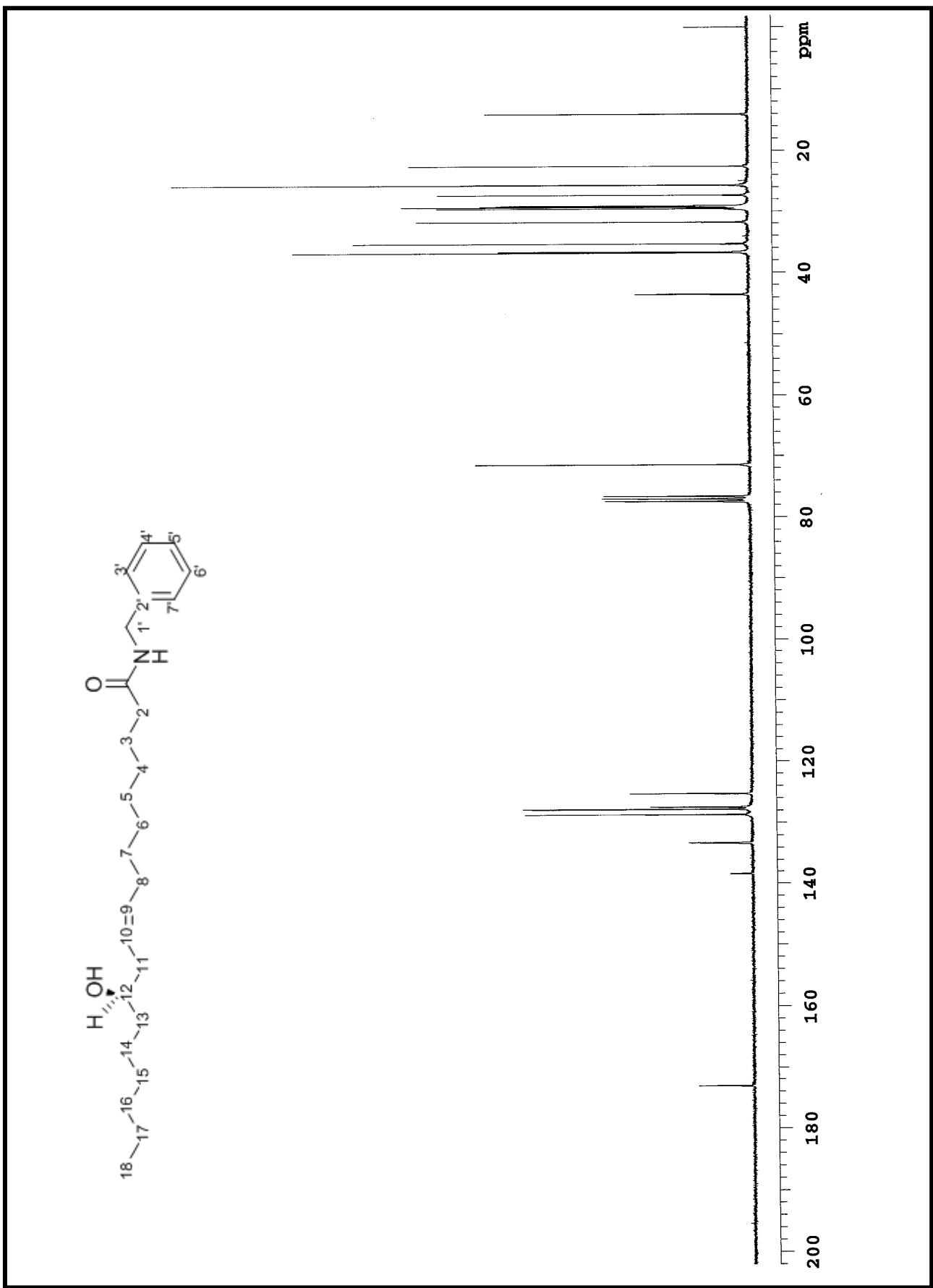


Figura 20 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) para (R)-66d em CDCl_3 .

Também foi característico para todos os compostos quirais um sinal na forma de multiplet em torno de 5 ppm referente ao hidrogênio benzílico e um sinal na forma de dbleto próximo de 1,4 ppm, referente aos 3 hidrogênios da metila α -N, além do H-N observado como um sinal largo em 5,8 ppm. Os hidrogênios α -C=O e β -C=O são observados na forma de triplete e multiplet em 2,1 e 1,53 ppm, respectivamente.

Para os compostos insaturados, como **67c**, por exemplo, (**Figura 21**) são observados sinais referentes aos hidrogênios vinílicos característicos para cadeias *cis*¹⁸, na forma de multiplet em 5,2 ppm, além de um multiplet em 1,9 ppm referentes aos 4 hidrogênios alílicos (**Figuras 22 e 23**).

O espectro de RMN ^{13}C das amidas **67a-e** (**Figura 24**) apresenta um sinal característico para todos os compostos derivados das aminas quirais em 21,6 ppm atribuído ao $-\text{CH}_3$ α -N. Observam-se sinais em 172 ppm característico de C=O, 143 ppm atribuído ao C₀; 129,9 e 129,68 referentes aos carbonos vinílicos. Os carbonos aromáticos aparecem com deslocamentos na região de 126-129 ppm, seguidos pelo carbono benzílico que apresenta um sinal em 48,49 ppm. Os carbonos α e β -C=O apresentam sinais em 32,5 e 36,7 ppm, respectivamente.

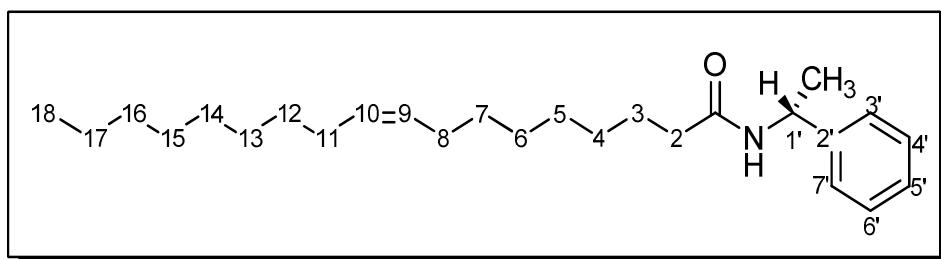


Figura 21 – Estrutura (R)-oleilmethylbenzilamida (R)-67c

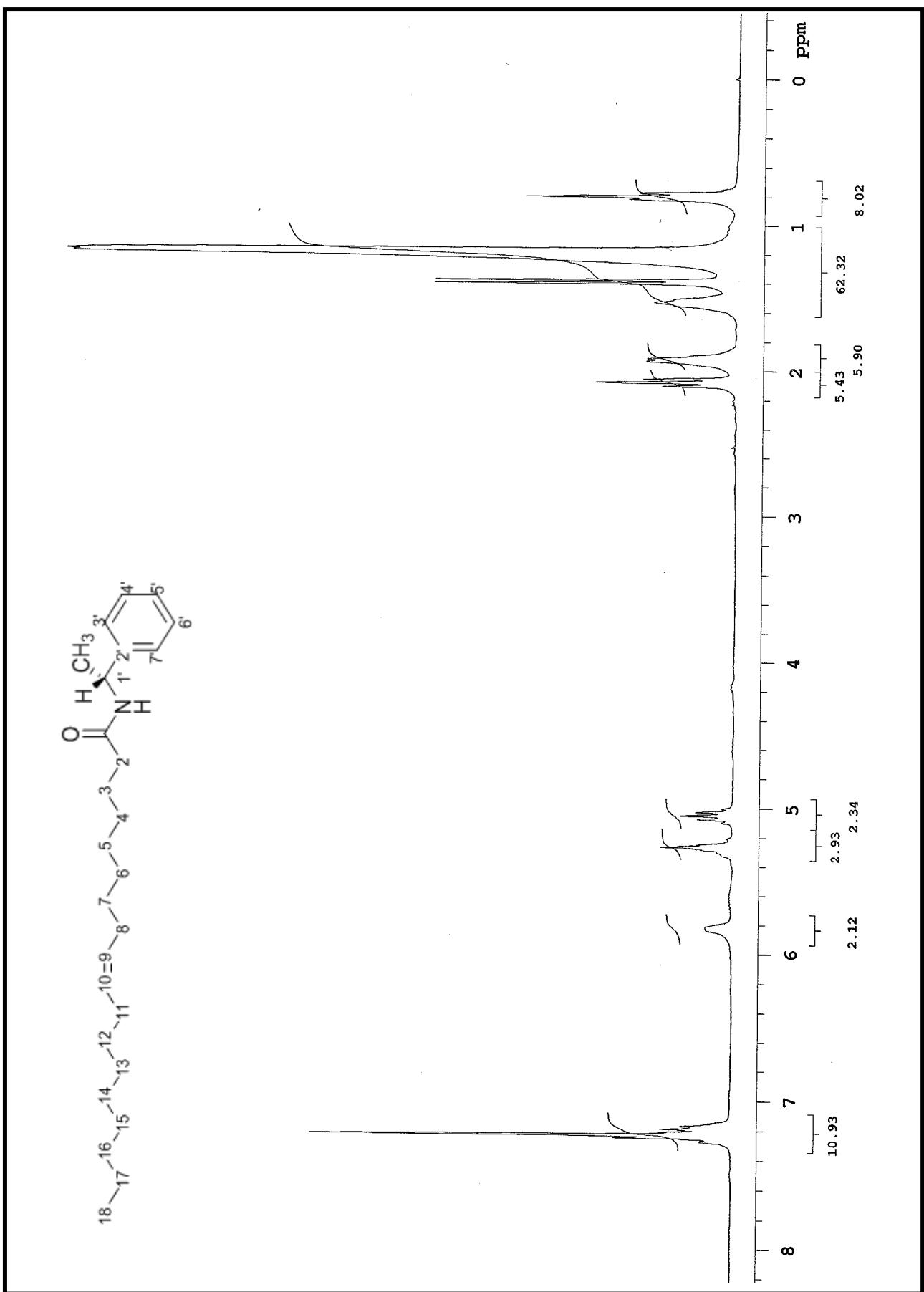


Figura 22 - Espectro RMN ^1H (300 MHz) para (R)-(+)-oleilmethylbenzilamida (R)-67c em CDCl_3

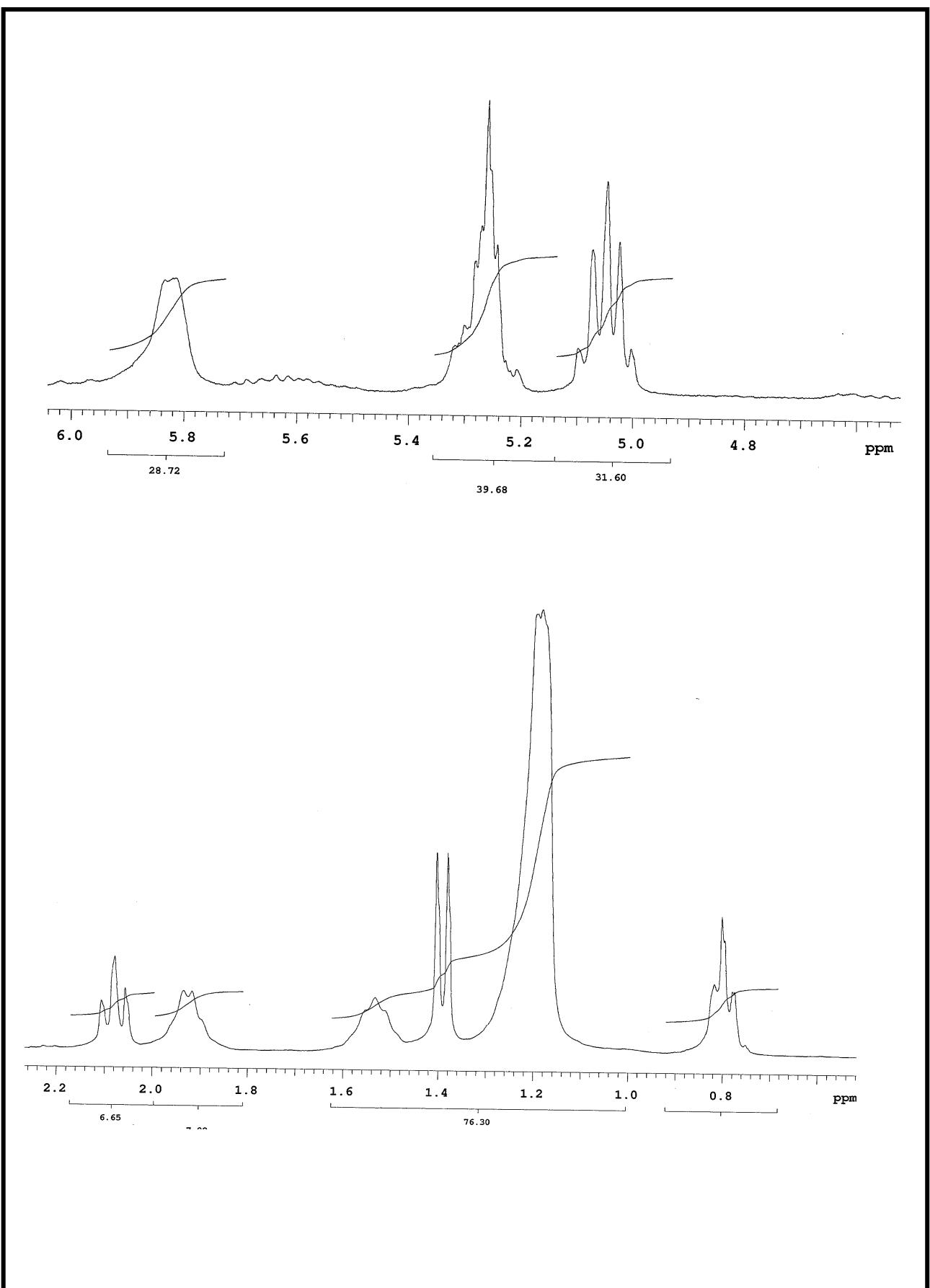


Figura 23 - Expansão RMN ^1H (300 MHz) para (R)-(+) -oleilmetilbenzilamida (R)-67c em CDCl_3 .

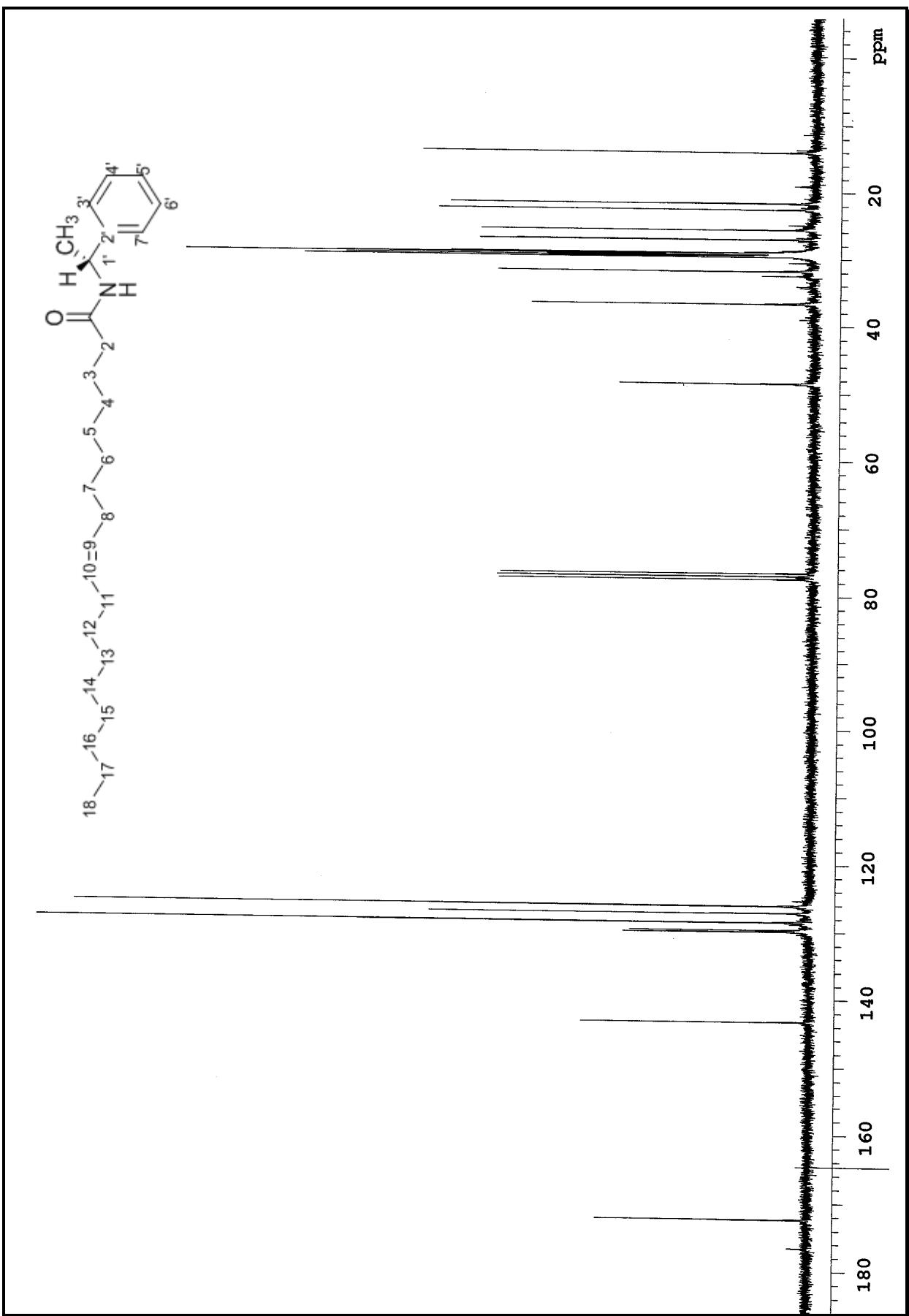


Figura 24 - Espectro RMN ^{13}C (75 MHz), para (R)-(+)-oleilmethylbenzilamida (R)-67c em CDCl_3 .

Dando continuidade à caracterização dos compostos foi realizado um estudo sobre o comportamento dissociativo das amidas graxas por espectrometria de massas. Esta investigação foi realizada em colaboração com o Laboratório de Análises de Compostos Orgânicos e Metais – LACOM, da Universidade Federal do Rio Grande e do Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Embora estes resultados façam parte da caracterização e, portanto, estariam incluídos no item Resultados e Discussão, por razões didáticas, será abordado em um novo subitem intitulado “Estudo do Comportamento Dissociativo das Amidas Graxas por Espectrometria de Massas”.

4.2 Estudo do Comportamento Dissociativo das Amidas Graxas por Espectrometria de Massas.

A Espectrometria de Massas (*Mass Spectrometry, MS*) é uma ferramenta analítica indispensável na química, bioquímica, farmácia e medicina. O princípio básico desta ferramenta é gerar íons a partir de compostos orgânicos ou inorgânicos, separar estes íons por sua razão massa/carga (m/z) e detectar qualitativa e quantitativamente por sua respectiva m/z e abundância⁹³.

Poucos trabalhos têm mostrado a aplicação de MS para identificação de amidas graxas. Ranger e colaboradores⁶⁷ realizaram um estudo por EI-MS sobre a caracterização destas nos tricomas de uma espécie de alfafa, *Medicago spp.*

Dembitsky⁸ utilizou GC-MS para identificar amidas graxas primárias presentes na alga verde *Rhizoclonium hieroglyphicum*. Kuo e seu grupo¹² utilizaram a mesma técnica para amidas graxas hidroxiladas sintetizadas a partir de catálise enzimática. Leweke e colaboradores validaram metodologia para determinação de anandamida e outras etanolamidas em plasma humano utilizando ESI-MS-MS⁹⁴.

Embora as matrizes e as amidas graxas estudadas sejam diferentes, todas apresentaram fragmentações resultantes do Rearranjo de McLafferty e esta clivagem característica é uma importante ferramenta para identificar esta classe de compostos. Por esta razão, a espectrometria de massas tem demonstrado ser de grande importância⁹⁵ para o estudo de novas amidas graxas. Com o objetivo de investigar o comportamento dissociativo de diferentes amidas graxas, submetemos à análise por GC-MS e ESI-MS-MS os compostos **66,67a-e** sintetizados neste trabalho. Foram investigadas também as amidas **75-78a-e**, derivadas de aminas cíclicas e acíclicas sintetizadas anteriormente pelo grupo⁹¹ (**Figura 25**). Os dados obtidos a partir das análises por GC-MS são mostrados na **Tabela 7**

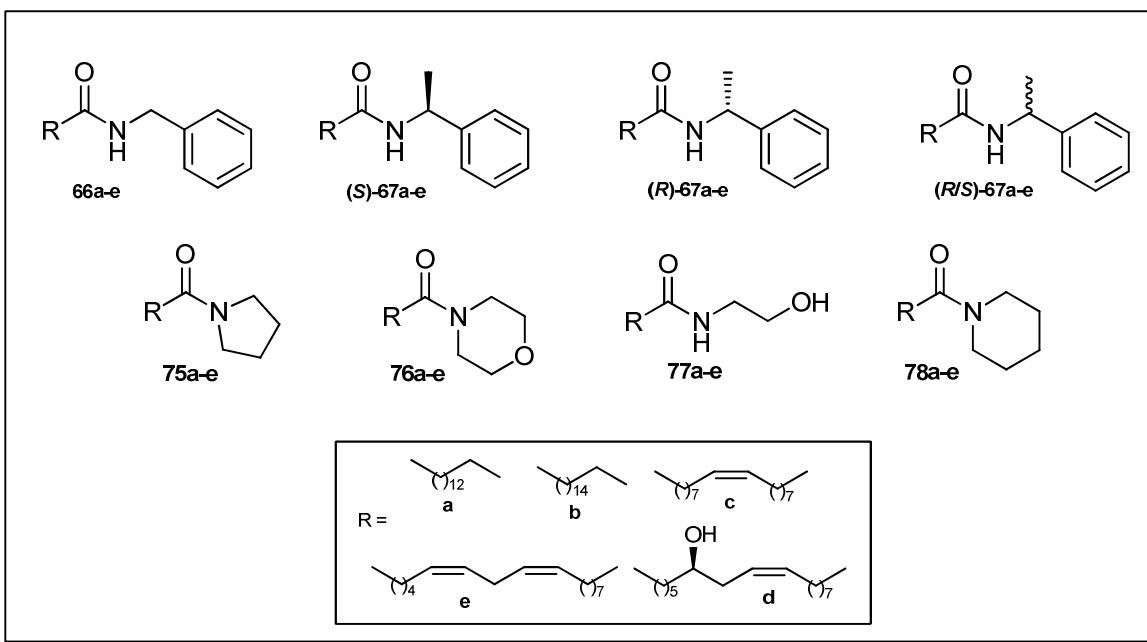
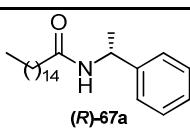
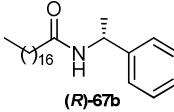
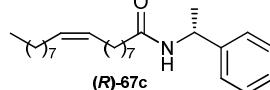
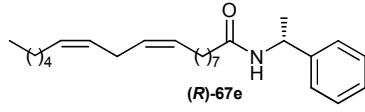
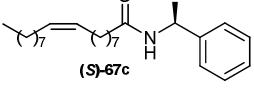
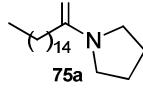
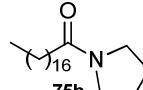
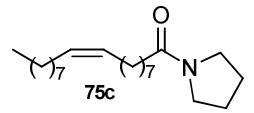
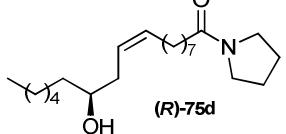
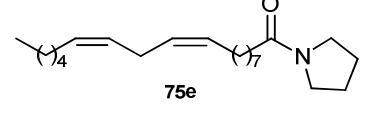
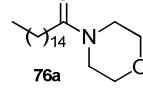
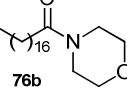
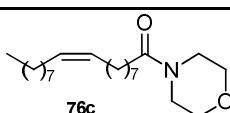
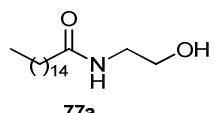
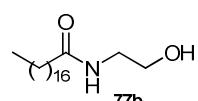
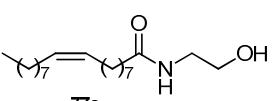
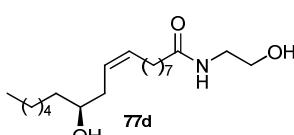
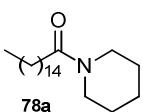
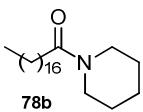
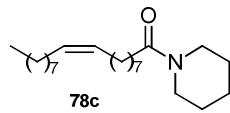


Figura 25 - Amidas graxas analisadas por Espectrometria de Massas.

Tabela 7 - Dados espectrométricos para amidas sintéticas.

Entrada	Composto	m/z (int. relat.) 70 eV
1	66a	345(M^+), 149(100), 91(53), 106(27), 162(20).
2	66b	373(M^+), 149(100), 91(57), 106(25), 162(23).
3	66c	371(M^+), 149(100), 91(95), 162(61), 106(48).
4	(R)-66d	369($M-18$), 149(100), 91(98), 106(85), 62(62), 216(17), 273(17).
5	66e	369(M^+), 91(100), 106(62), 149(43), 62(21).

Entrada	Composto	m/z (int. relat.) 70 eV
6		359 (M^+), 163 (100), 105(79), 120(39), 76(16).
7		387(M^+), 163(100), 105(89), 120(34), 176(19)
8		385 (M^+), 105(100), 120(39), 163(37), 176(19).
9		383 (M^+), 105(100), 120(48), 163(20), 176(8).
10		385 (M^+), 105(100), 120(41), 163(35), 176(16).
11		309 (M^+), 113 (100), 126 (20), 98 (13).
12		113 (100), 126 (18), 98 (12).
13		335 (M^+), 113 (100), 126 (59), 98 (33).
14		113 (100), 126 (56), 207 (25), 98 (23), 281 (13).
15		333(M^+), 113(100), 126(58), 72(49), 98(31).
16		325 (M^+), 129(100), 142(33), 114 (21).
17		353 (M^+), 129(100), 142 (21), 114(19).

Entrada	Composto	m/z (int. relat.) 70 eV
18		351 (M^+), 129(100), 142 (69), 114(13).
19		281(M-18), 83(100), 85 (69), 98 (2).
20		327 (M^+), 85 (100), 98 (43), 83 (12).
21		307(M-18), 98 (100), 85 (86), 83 (20).
22		341 (M^+), 306 (M-36), 85 (100), 98 (82), 83 (66).
23		323(M^+), 127(100), 140(22), 112(21)
24		351(M^+), 127(100), 140(22), 112(21)
25		349 (M^+), 127 (100), 140(61), 112 (35)

Para os compostos da série das benzilamidas (amidas graxas secundárias) **66a-c, e** (Tabela 7, entradas 1-3, 5) foi possível observar a presença deste íon molecular M^+ com m/z 345, 373, 371 e 369, **18a, b, c e e**, respectivamente. O íon molecular é uma ferramenta muito importante para a confirmação estrutural de compostos como **66a** e **66b**, por exemplo, que não se diferenciam por análises de infravermelho e RMN.

A única amida da série para a qual o íon molecular não foi observado foi a Ricinoleilbenzilamida (*R*)-**66d**. Este composto, derivado do ácido ricinoleico (**62d**) apresenta uma hidroxila em C₁₂. Como resultado desta

característica, a perda de água em uma primeira clivagem dá origem ao íon de m/z 369 (M-18). (**Figura 26**).

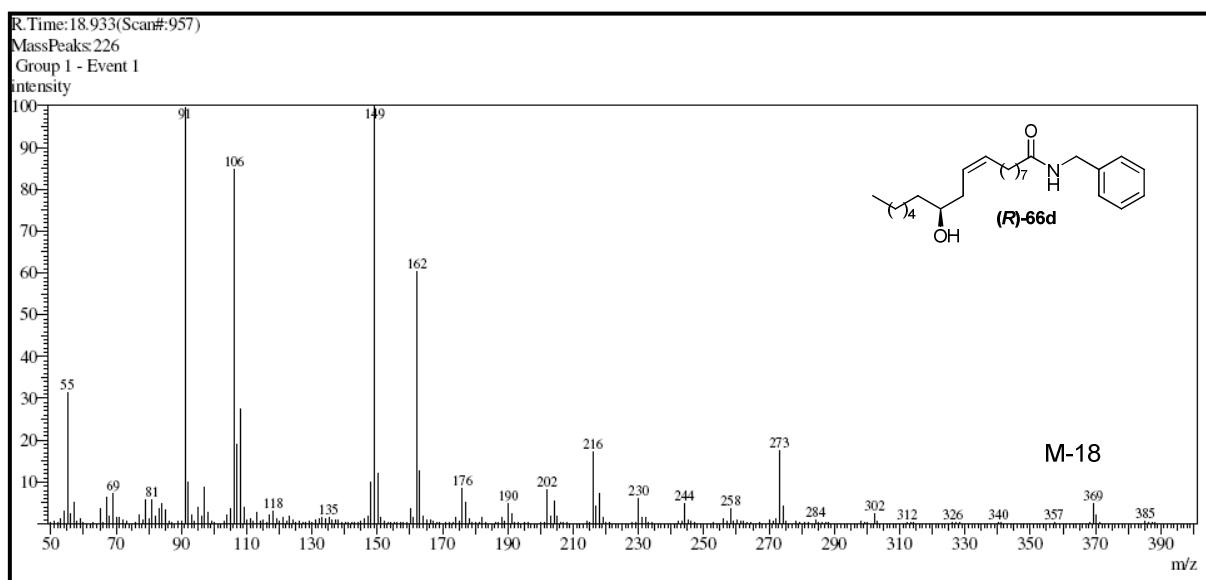


Figura 26 - Espectro de massas (GC-MS) da (*R*)-N-benzil-12-hidroxi-9Z-octadecenamida **66d**

Para todos os exemplares da série das benzilamidas foi possível observar a formação dos mesmos fragmentos: um pico base de m/z 149 e outros três íons proeminentes com m/z 162, 106 e 91 (**Figura 27**).

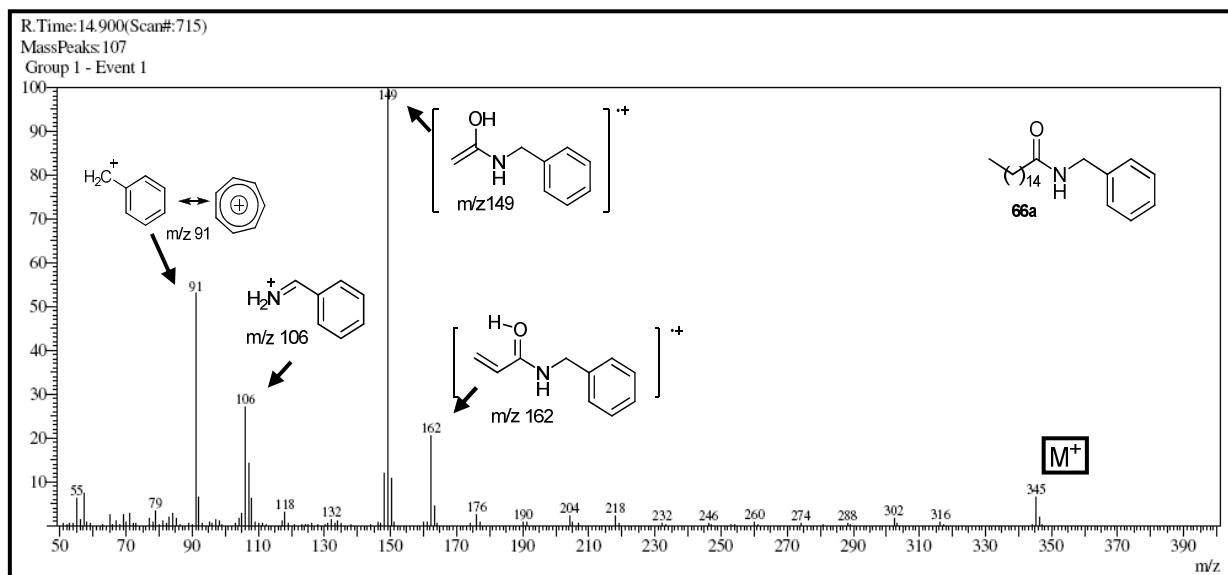


Figura 27 - Espectro de massas (GC-MS) da N-benzilhexadecanamida **66a**.

O pico base de m/z 149 (M-196), presente em todas as amidas da série, resulta do Rearranjo de McLafferty⁹⁶ (**Figura 28**).

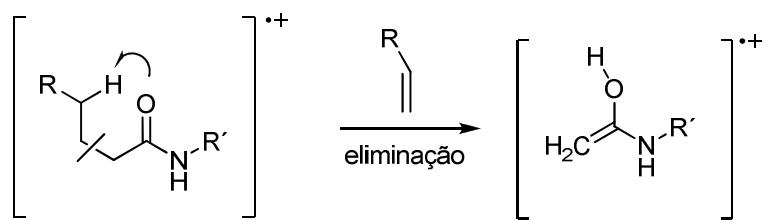


Figura 28 - Rearranjo de McLafferty.

Este rearranjo é comum para ácidos carboxílicos e derivados e consiste na clivagem da ligação *beta* ao carbono carbonílico com abstração do hidrogênio ligado ao carbono *gama*. A razão *m/z* deste fragmento varia de acordo com o substituinte ligado ao nitrogênio (*R'*).

O íon de *m/z* 162 (**Figura 27**) é resultado da quebra da ligação *gama* ao carbono carbonílico, chamada de γ -clivagem, também característica para ácidos carboxílicos e derivados.

A quebra da ligação N-C dá origem ao cátion benzílico ($C_6H_5CH_2^+$) de *m/z* 91 (M-254), comum para compostos aromáticos. Este fragmento é estável devido à estabilização da carga positiva por ressonância podendo se rearranjar para formar seu isômero íon tropílio ($C_7H_7^+$) de maior estabilidade (**Figura 29**). Numerosos estudos reportam a estabilidade termodinâmica do íon tropílio em relação a seu isômero⁹⁷.

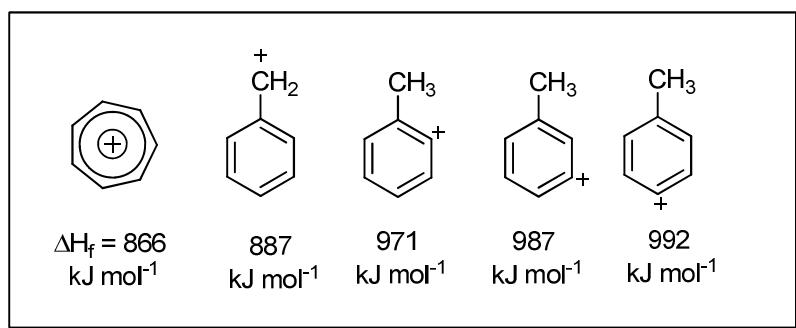


Figura 29 - Íon tropílio

Uma proposta de fragmentação para *N*-benzilexadecanamida **66a** é mostrada na **Figura 30**.

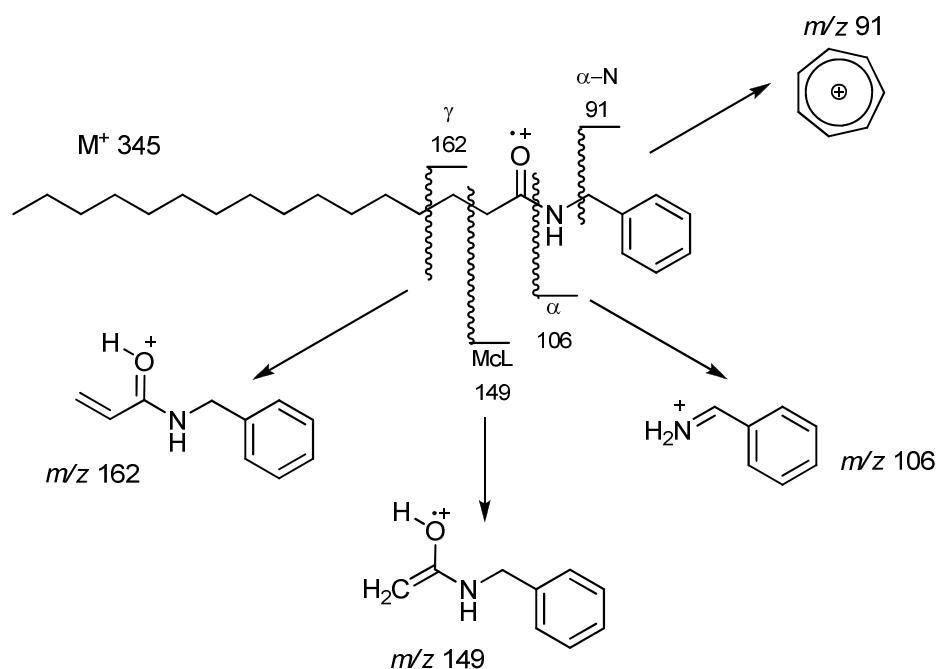


Figura 30 - Proposta de fragmentação para 66a.

Entre os compostos derivados da benzilamina, a Linoleilbenzilamida **66e** foi submetida à análise por ESI-(+)-MS/MS e apresentou, de maneira geral, o mesmo comportamento observado nas análises por GC-MS (**Figura 31**).

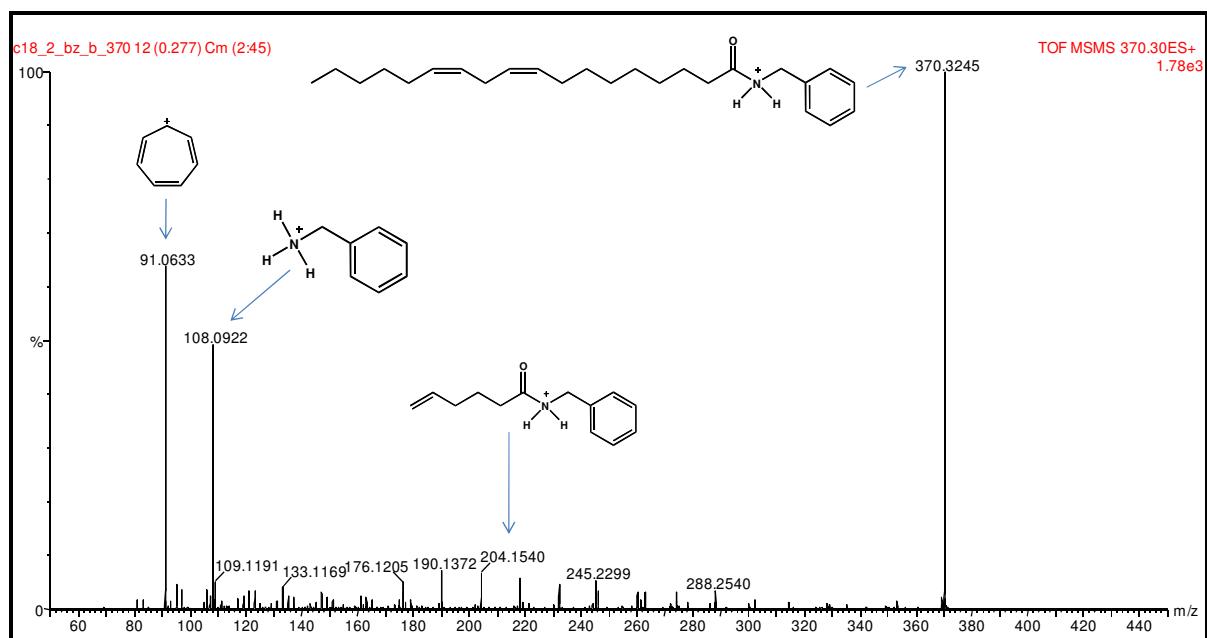


Figura 31 – Espectro de massas ESI-(+)-MS/MS da N-benzil-9-Z-10-Z-octadecenamida 66e.

Para as amidas **67a-c,e** derivadas da (*R*)-metilbenzilamina (Tabela 7, entradas 6-9), o mesmo padrão de fragmentação foi observado. Em todos os espectros, o íon molecular M^+ foi formado com m/z 359, (*R*)-**67a**, m/z 385, (*R*)-**67b** e m/z 383, (*R*)-**67c**, além dos picos de m/z 163, 120 e 105 (Figura 32), resultantes da mesma fragmentação observada para as benzilamidas **66a-e**.

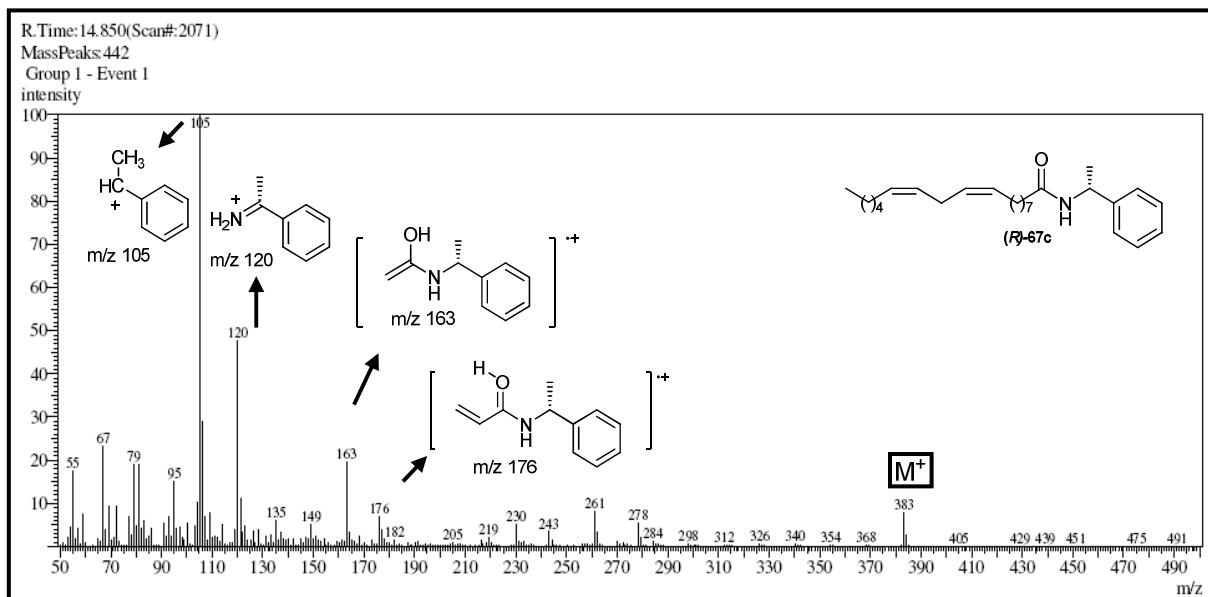


Figura 32 - Espectro de massas (GC-MS) da *N*-benzil-9*Z*,10*Z*-octadidecenamida (*R*)-**67c**.

Também investigamos o comportamento das amidas graxas secundárias derivadas da etanolamina, as etanolamidas **77a-d** (Tabela 7, entradas 19-22). Para estes compostos o íon molecular M^+ não foi observado. Estas amidas apresentam uma hidroxila na porção amino da molécula, responsável pela perda de água característica para a série, gerando um primeiro fragmento $M-18$ (Figura 33). Estes fragmentos resultantes da perda de 18 u.m.a. foram observados para todos os compostos, m/z 281 (**77a**), m/z 308 (**77b**) e m/z 307 (**77c**).

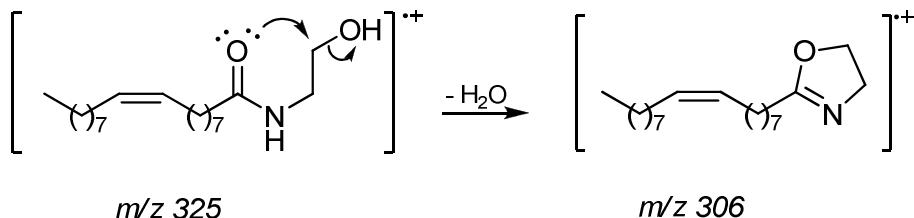


Figura 33 – Perda de água característica de derivados da etanolamina - *N*-hidroxietil-9-*Z*-octadecenamida **77c**.

O pico de m/z 83 observado para todos os exemplos da série é resultante do Rearranjo de McLafferty, assim como nas demais amidas graxas (**Figura 34**).

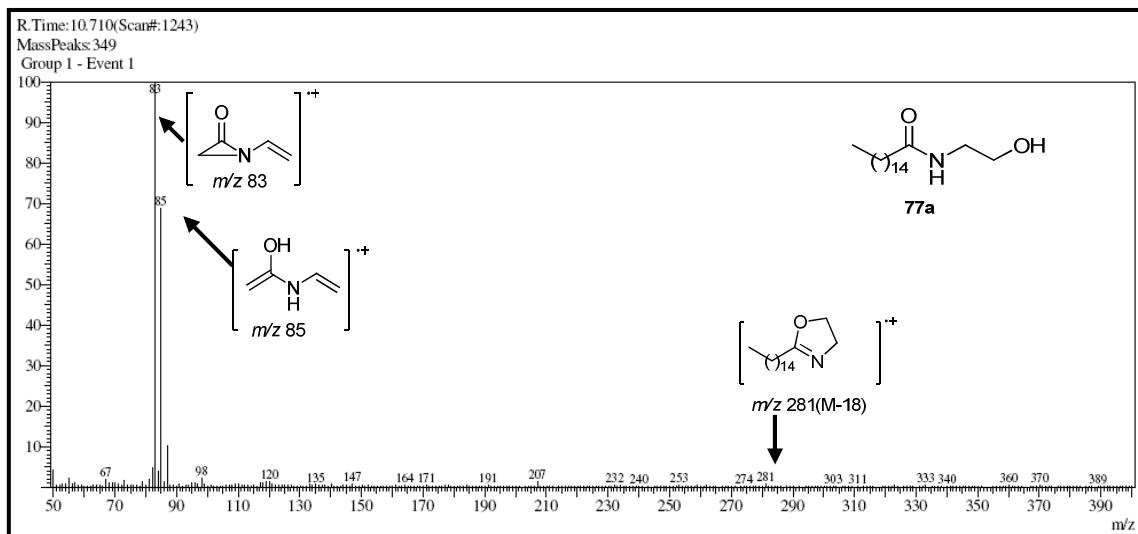


Figura 34 - Espectro de massas (GC-MS) da N-hidroxietilexadecanamida 77a.

Para esta série, o íon de m/z 83, resultante da perda de H_2 , apresentou-se como íon base, uma vez que pode ser estabilizado por estruturas de ressonância. Uma proposta de fragmentação para esta série é mostrada na **Figura 35**:

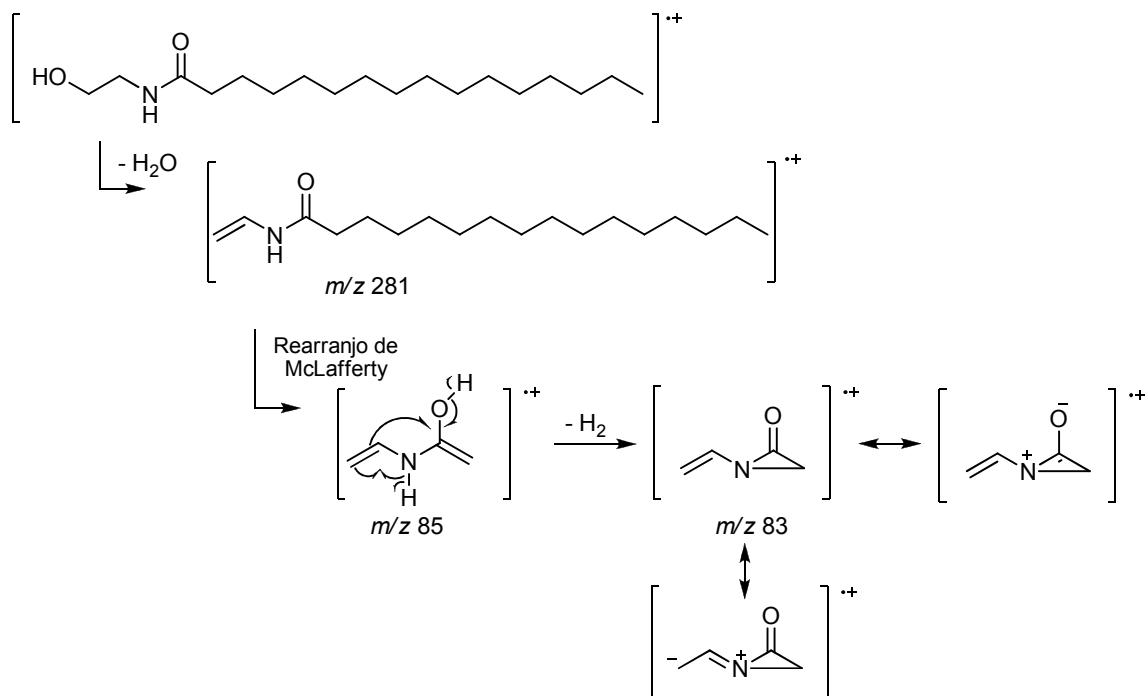


Figura 35 - Proposta de fragmentação da N-hidroxietilexadecanamida (77a).

A partir dos resultados nas análises por ESI-(+)-MS/MS obtidos para **77c**, foi possível identificar ainda a formação do produto de *O*-acilação através da observação do fragmento de *m/z* 309 (**Figura 36**). Este produto de *O*-acilação, provavelmente formado em função de uma competição nucleofílica na etapa de adição à carbonila durante a reação de aminólise, apresenta como primeira quebra a liberação de amônia, resultando em um íon de *m/z* M-17.

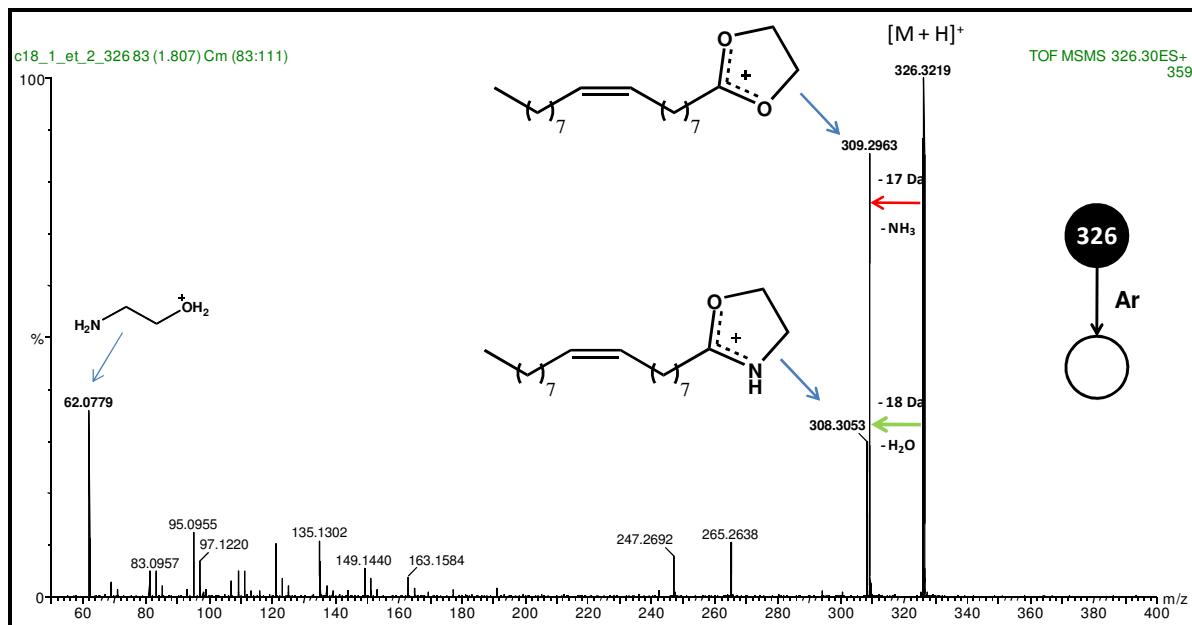


Figura 36 – Espectro ESI-(+)-MS/MS da *N*-hidroxietil-9-Z-octadecenamida (77c).

As amidas graxas terciárias derivadas da pirrolidina (**75a-e**), (Tabela 7, entradas 11-15) também foram investigadas. Assim como os demais, os compostos desta série apresentaram dois picos proeminentes com *m/z* 113 e 126, resultantes do rearranjo de McLafferty e γ -clivagem respectivamente (**Figura 37**).

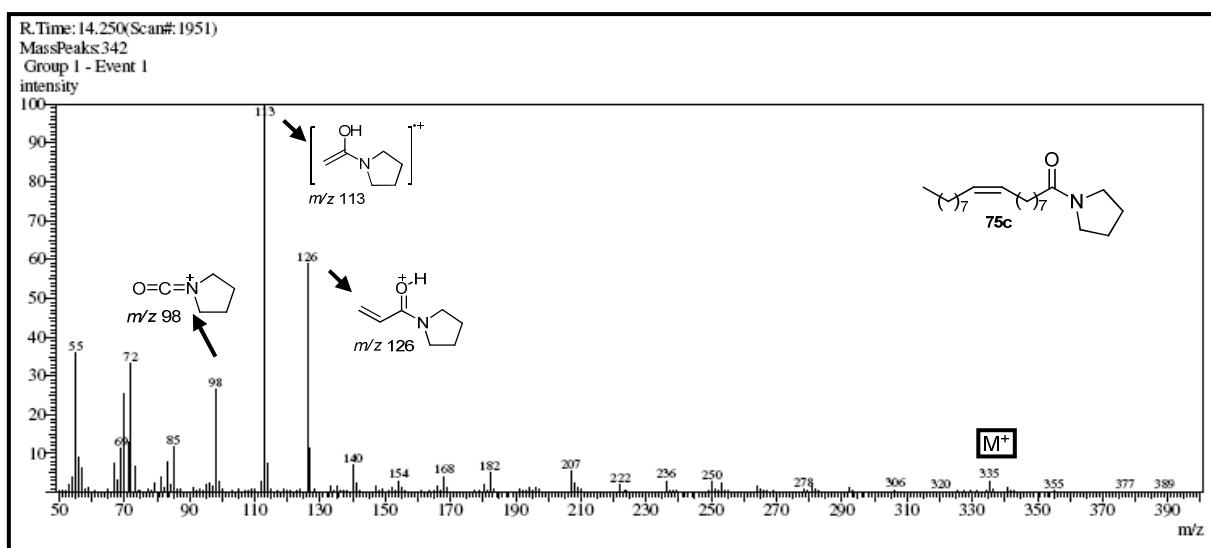


Figura 37 - Espectro de massas(GC-MS) da N-pirrolidil-9Z-octadecenamida 75c.

Contudo, diferentemente do observado para as amidas secundárias, a interpretação do espectro mostrou outro fragmento de m/z 98. Este íon pode ser resultado da quebra da ligação C-C α -C=O, com formação do íon N-acílio ($H_8C_4NC\equiv O^+$). Este fragmento também foi observado nas análises por ESI-(+)-MS/MS (Figura 38). Outros estudos de amidas graxas por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas já evidenciaram a formação deste íon para amidas terciárias e primárias, diferentemente do observado para secundárias^{8,13}.

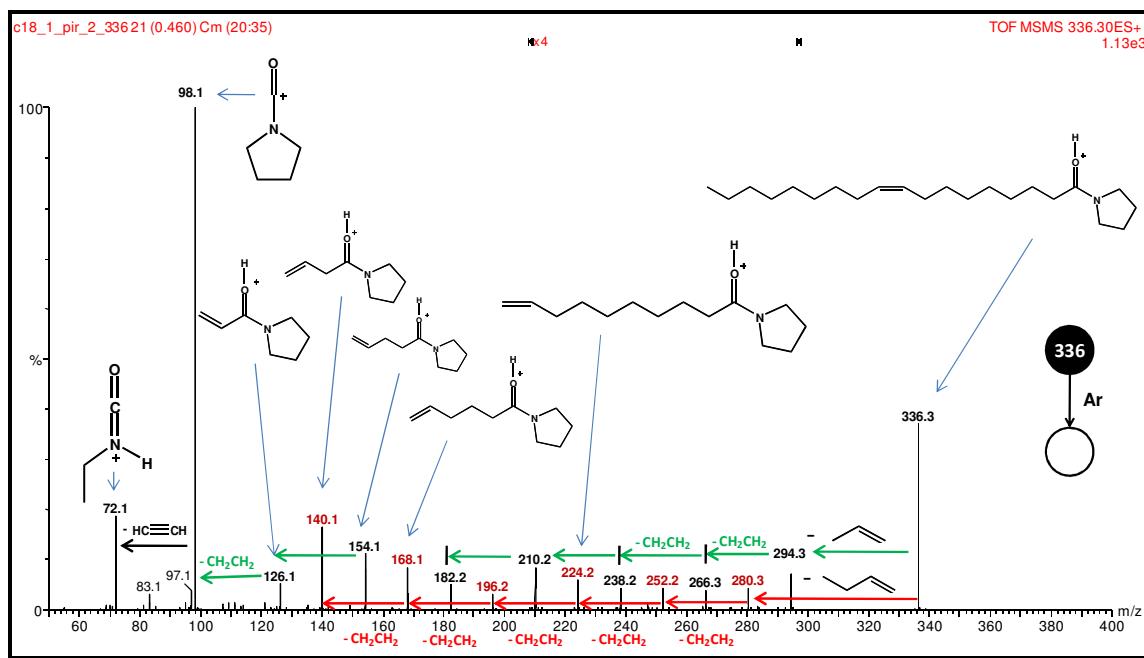


Figura 38 - Espectro de massas ESI-(+)-MS/MS da N-pirrolidinyl-9Z-octadecenamida 75c.

Diante disso, estudamos também o comportamento de amidas graxas terciárias derivadas da morfolina, **76a-c** (Tabela 7, entradas 16-18), e da piperidina, **78a-c** (Tabela 7, entradas 23-25).

Para todos os compostos derivados da morfolina foi possível observar a formação do íon molecular M^+ com m/z 325 (**76a**), m/z 353 (**76b**), m/z 351 (**76c**), além do pico base de m/z 129 resultante do Rearranjo de McLafferty.

Para estes exemplos, assim como as demais amidas terciárias estudadas (**75a-e**), o íon *N*-acílio de m/z 114 (**76a-c**) e m/z 112 (**78a-c**) também foi observado para as morfolinil e piperidilamidas, respectivamente (**Figuras 39 e 40**).

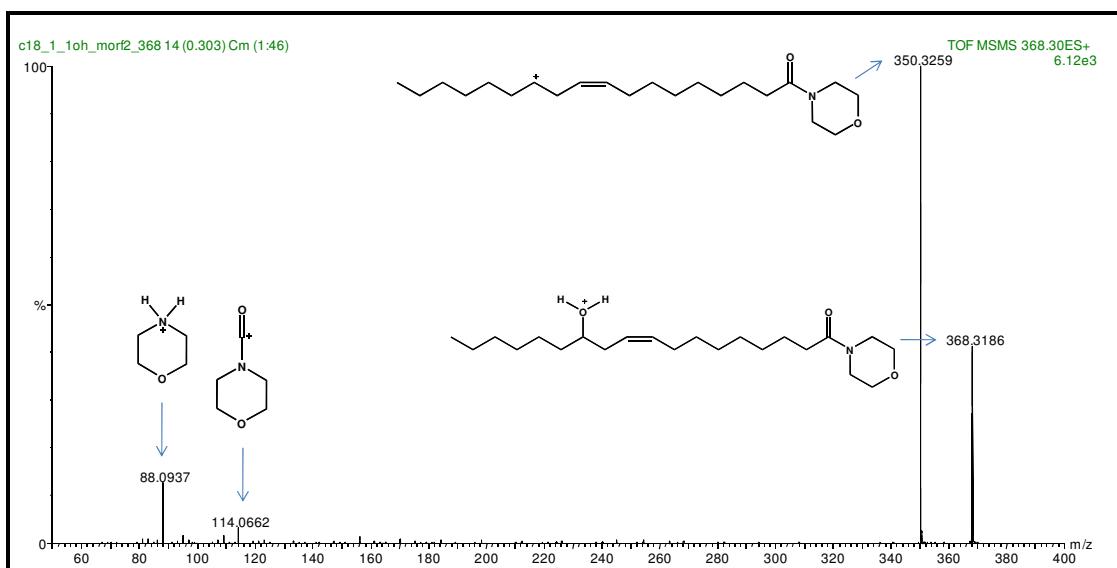


Figura 39 - Espectro de massas ESI-(+)-MS/MS da *N*-morfolinil-9Z-octadecenamida 76c.

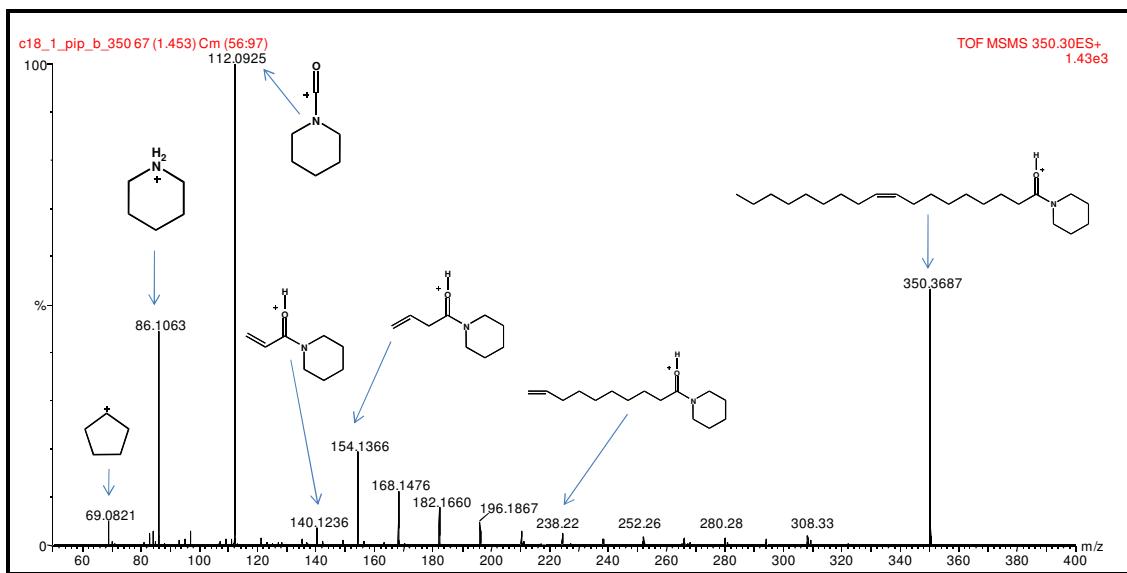


Figura 40 - Espectro de massas ESI-(+)-MS/MS da *N*-piperidil-9Z-octadecenamida 77c.

Após o estudo do comportamento das amidas graxas por GC-MS e ESI-(+)-MS/MS, foi possível observar uma diferença entre amidas secundárias (**66,67, 77a-e**) e terciárias (**75,76, 78a-e**), observando somente para os compostos terciários a formação do íon *N*-acílio.

Acreditamos que a razão para a não observação do íon *N*-acílio em amidas graxas secundárias esteja associado à presença de um hidrogênio ligado ao nitrogênio. Sugere-se que em amidas secundárias a perda deste hidrogênio leve à formação de uma molécula neutra não detectável por espectrometria de massas (**Figura 41**).

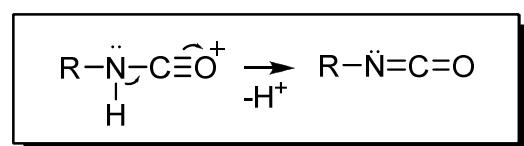


Figura 41 – Perda de H⁺ do íon acílio para formação de espécie neutra.

Estes resultados são úteis na caracterização das amidas graxas e esperamos contribuir para o aumento no escopo das pesquisas utilizando espectrometria de massas para a análise destes compostos graxos, ainda inéditos na literatura. Com base nas diversas atividades biológicas a que as amidas graxas vêm sendo relacionadas, após a síntese e caracterização dos compostos, investigamos a atividade antimicrobiana destes no combate à Tuberculose.

4.3 Comportamento antimicobacteriano das amidas graxas

Estima-se que atualmente, um terço da população mundial esteja infectada por Tuberculose (TB) e que mais de 5000 pessoas morram diariamente em função da doença e de suas complicações⁹⁸. A Isoniazida (INH, 72, **Figura 42**) e pirazinamida (PZA, 73, **Figura 42**) são amplamente aplicados como drogas de primeira linha para o tratamento da tuberculose em combinação com outros fármacos como a Rifampicina (74, **Figura 42**).

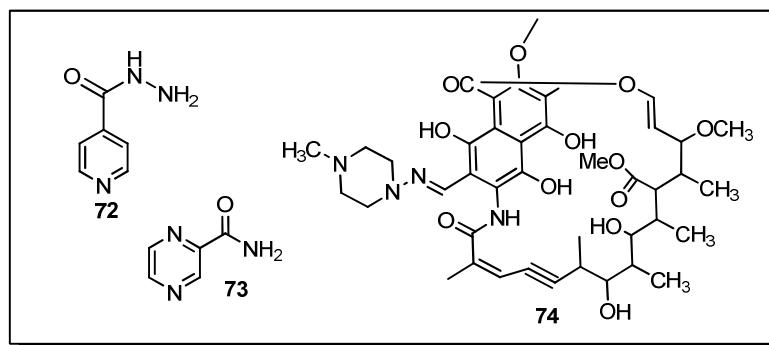


Figura 42 - Fármacos utilizados no tratamento de TB: isoniazida (INH, 72), pirazinamida (PZA, 73) e rifampicina (74).

Embora os tratamentos atualmente disponíveis possam curar a maioria dos casos suscetíveis às drogas, fatores como o longo tempo de terapia, a necessidade de multidrogas, a emergência da resistência, a co-infecção com o HIV e as linhagens persistentes, impõe a urgente necessidade de desenvolver novas drogas contra a TB⁹⁹. A modificação destes compostos, bem como a busca por novas substâncias ativas no combate à TB tem sido estudada por vários grupos de pesquisa^{100,101, 102, 103}.

A resistência do bacilo às drogas é uma ameaça significante ao controle da tuberculose, já que só algumas drogas eficazes são disponíveis contra o *M. tuberculosis*. Em particular, as linhagens resistentes às duas drogas mais importantes, isoniazida (INH) e rifampicina (RMP), podem causar repercussões sérias na epidemiologia e no controle da doença¹⁰⁴.

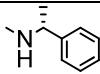
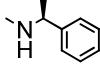
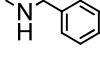
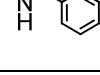
O descobrimento de novas drogas é um processo demorado e de alto custo. O tempo médio estimado para um composto tornar-se fármaco é de 12-15 anos e estima-se que, de cada 10.000 compostos testados em animais, 10 são testados em seres humanos e 1 chega ao mercado¹⁰⁵. De maneira geral,

as drogas não são descobertas. O mais comumente descoberto é um composto alvo com atividades biológicas de interesse. Este composto pode então sofrer alterações sintéticas para melhorar sua potência, diminuir efeitos indesejados ou melhorar a solubilidade. A identificação de substâncias potencialmente ativas é o primeiro passo para os subseqüentes planejamentos sintéticos e estudos de estrutura e atividade¹⁰⁶.

Neste trabalho, investigamos pela primeira vez a possível atividade antimicobacteriana de amidas graxas no combate à Tuberculose. Para ampliar a variação estrutural dos compostos testados, além das amidas **66,67a-e** sintetizadas, as amidas **75-78a-e** sintetizadas anteriormente em outros trabalhos do grupo⁹³ também foram investigadas (**Figura 25**, ver pg. 45). Este trabalho foi desenvolvido em uma parceria com o grupo de pesquisa do Professor Dr. Pedro Almeida, do Laboratório de Micobacteriologia, da Faculdade de Medicina da FURG.

A atividade antimicobacteriana foi avaliada frente às cepas de *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294), *M. tuberculosis* resistente a rifampicina (ATCC 35338) e *M. tuberculosis* resistente a isoniazida (ATCC 35822). Os resultados dos screenings e da Concentração Mínima Inibitória (CMI) estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8: Atividade anti-TB amidas graxas

Entrada	Composto	<i>R</i> ₁	<i>R</i> ₂	CMI µg/mL		
				H37Rv	35338	35822
1	(<i>R</i>)- 67a	CH ₂ (CH ₂) ₁₄		>100	>100	>100
2	(<i>S</i>)- 67a	CH ₂ (CH ₂) ₁₄		>100	>100	>100
3	77a	CH ₂ (CH ₂) ₁₄	-NH-CH ₂ OH	>100	>100	>100
4	78a	CH ₂ (CH ₂) ₁₄	-N(C ₂ H ₅) ₂	25	25	25
5	(<i>R</i>)- 67b	CH ₂ (CH ₂) ₁₆		>100	>100	>100
6	(<i>S</i>)- 67b	CH ₂ (CH ₂) ₁₆		>100	>100	>100

Entrada	Composto	R₁	R₂	CMI µg/mL		
				H37Rv	35338	35822
7	66c			(-)	(-)	100
8	(<i>R</i>)- 67c			(-)	50	12,5
9	(<i>S</i>)- 67c			(-)	(-)	(-)
10	(<i>R/S</i>)- 67c			(-)	100	(-)
11	75c		-N-	25	12,5	6,25
12	76c		-N-	25	12,5	6,25
13	77c		-N-	25	25	25
14	78c		-N-	50	25	12,5
15	(<i>R</i>)- 66d			25	12,5	12,5
16	(<i>R,R</i>)- 67d			>100	>100	>100
17	(<i>R,S</i>)- 67d			100	50	100
18	(<i>R</i>)- 75d		-N-	12,5	6,25	6,25
19	(<i>R</i>)- 76d		-N-	50	12,5	6,25
20	(<i>R</i>)- 67e			50	25	50
21	(<i>S</i>)- 67e			50	12,5	6,25
22	75e		-N-	12,5	12,5	12,5

O método REMA (*Resazurin Microtitre Assay*) foi empregado para determinar a Concentração Mínima Inibitória (CMI), utilizando a resazurina

como um indicador de viabilidade celular, através da sua oxi-redução por meio do metabolismo bacteriano¹⁰⁶. Os valores observados para os compostos sintetizados são comparados com o padrão de CMI para a Isoniazida (0,2 µg/mL) e para a Rifampicina (1 µg/mL). Desta forma, quanto menores as concentrações mínimas do composto necessárias para a inibição de proliferação do bacilo, mais este se assemelha ao fármaco utilizado no tratamento.

Analizando as cepas sensíveis a Rifampicina e a Isoniazida e resistente a Rifampicina, os melhores resultados foram observados para a ricinoleilpirrolidilamida (**75d**), para as quais a concentração mínima inibitória foi de 12,5 e 6,25 µg/mL, linhagem H37Rv e 35338, respectivamente (Tabela 8, entrada 18).

Já para a cepa 35822 resistente a Isoniazida, concentrações mínimas de 6,25 µg/mL foram observadas para os compostos **75c**, **76c**, **75d**, **76d**, (*S*)-**67e** (Tabela 8, entradas 11, 12, 18, 19 e 21).

Entre os compostos testados, aqueles contendo cadeias insaturadas apresentaram maior atividade sobre os saturados. Comparando os dados de (*R*) ou (*S*)-**67a** (Tabela 8, entradas 1 e 2) e (*R*) ou (*S*)-**67c** (Tabela 8, entradas 8 e 9) foi possível perceber a influência da insaturação sobre a CMI do composto, que diminui de concentrações superiores a 100 para 12,5 µg/mL.

As amidas derivadas de aminas cíclicas mostraram ser de grande importância para a atividade antimicobacteriana dos compostos. Analisando a porção nitrogenada da molécula (*R*²), os melhores resultados foram observados para as derivadas da pirrolidina e morfolina (Tabela 8, entradas 11, 12, 18, 19 e 22). A cadeia cílica pode exercer um efeito farmacocinético importante, como aumentar a lipofilicidade ou diminuir o metabolismo, o que tornaria o composto mais efetivo⁶⁴.

A pureza ótica da molécula também mostrou ser importante para a atividade anti-TB. Nos ensaios com (*R/S*)-oleilmetylbenzilamida, (*R/S*)-**67c** (Tabela 8, entrada 10) uma concentração de 100 µg/mol foi observada para 35338 e nenhuma atividade anti-TB foi verificada para H37Rv e 35822. O composto (*S*)-**67c** (Tabela 8, entrada 9) não manifestou atividade antimicobacteriana para nenhuma espécie testada, já seu enantiômero (*R*)-**67c** (Tabela 8, entrada 8) apresentou atividade para as linhagens 35338 e 35822

em 50 e 12,5 µg/mL respectivamente. Estas observações sugerem que a presença do enantiômero (*S*), inativo para todos os bacilos, influencia na ação de (*R*), pois na mistura racêmica testada a ação foi diminuída ou inibida. Este comportamento, contudo, não se apresentou constante. Para os compostos (*R*)-**67e** e (*S*)-**67e** (Tabela 8, entradas 20 e 21) os menores CMI's foram evidenciadas para o enantiômero (*S*). Este fato sugere que a presença de duas duplas ligações na cadeia graxa, neste caso, exerceu maior influência sobre o efeito antimicobacteriano que o arranjo espacial do centro assimétrico da molécula.

Estudos relacionados ao mecanismo de ação da Isoniazida descrevem que, uma das formas de resistência exercida pela micobactéria ao tratamento seria a dificuldade do fármaco penetrar a parede celular do organismo. Isto porque esta parede é composta, em sua maioria, por cadeias graxas polihidroxiladas que representam uma barreira lipofílica ao fármaco de caráter polar¹⁰⁷. Motivados por nossos resultados nos ensaios com as amidas graxas, decidimos modificar a estrutura da isoniazida (**72**) através da reação com o ácido oleico (**62c**), para a obtenção do composto identificado como Isoniazida Graxa (**77**, **Figura 43**).

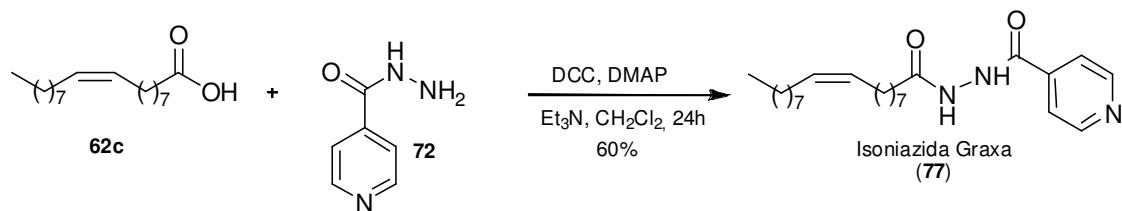


Figura 43 – Isoniazida graxa (77) sintetizada.

A isoniazida graxa (**77**) foi submetida aos testes de atividade antimicobacteriana e apresentou uma CMI de 0,007 µg/mL, o que representa uma atividade quatro vezes superior ao observado para a INH. Este resultado indica a importância da lipofilicidade do composto já que a inserção da cadeia graxa potencializou a ação do fármaco padrão utilizado para o tratamento da Tuberculose, provavelmente por facilitar a penetração deste pela parede celular da micobactéria.

Analisando os resultados obtidos nos ensaios anti-TB, as CMI's demonstraram sofrer a influência da cadeia graxa, da porção nitrogenada e do arranjo espacial das moléculas testadas. O melhor resultado obtido para as amidas graxas foi observado para (*R*)-**75d**, derivada do ácido ricinoleico (**62d**) e da pirrolidina (**70**). Os resultados preliminares nos testes com a isoniazida graxa demonstraram potencial ação, sendo que para o derivado do ácido oleico, uma atividade quatro vezes superior ao fármaco foi observada. Estes dados são importantes para novas pesquisas no grupo, seja na modificação estrutural ou na pesquisa de novos derivados para o óleo de mamona.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os objetivos propostos neste trabalho, novas amidas graxas, derivadas dos ácidos palmítico, esteárico, oléico, ricinoleico e linoleico e de aminas quirais e aquirais foram sintetizadas em bons rendimentos. A aminólise dos ésteres metílicos graxos forneceu resultados que variaram entre 50-70% de rendimento. Entretanto, com o emprego de DCC para a síntese das amidas graxas foram obtidos rendimentos que variaram de 60-80%, podendo atingir 95% em reações submetidas a aquecimento.

O comportamento dissociativo das amidas graxas por Espectrometria de Massas também foi investigado. Observou-se o fragmento resultante do Rearranjo de McLafferty para todos os compostos analisados, característico e citado na literatura para as amidas. As amidas graxas terciárias, diferentemente das secundárias, apresentaram um padrão de fragmentação característico com a formação do íon *N*-acílio.

Pela primeira vez, a atividade antimicobacteriana das amidas graxas no combate a Tuberculose foi avaliada. Neste estudo, os compostos sintetizados foram testados frente às cepas de *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294), *M. tuberculosis* resistente a rifampicina (ATCC 35338) e *M. tuberculosis* resistente a isoniazida (ATCC 35822) e apresentaram, de maneira geral pronunciado efeito. Relacionando a estrutura dos compostos testados e as respostas obtidas nos ensaios biológicos foi possível observar uma maior atividade para amidas derivadas de cadeias insaturadas e de aminas cíclicas. Entre estes, a *ricinoleilpirrolidilamida (R)-67d*, derivada do ácido ricinoleico e da pirrolidina, demonstrou a melhor atividade para as três linhagens testadas.

A modificação estrutural da Isoniazida também foi investigada. Os resultados preliminares para a isoniazida graxa (**77**), derivada da cadeia oléica, já demonstraram atividade quatro vezes superior à própria Isoniazida. Estes dados são importantes para novas pesquisas no grupo, seja na modificação estrutural ou na pesquisa de novos derivados para o ácido ricinoleico, principal constituinte do óleo de mamona.

Os estudos sobre os efeitos das amidas graxas **66,67a-e** na proliferação de células de melanoma encontram-se em andamento.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materiais, Métodos e Equipamentos

Todos os reagentes e solventes utilizados neste trabalho foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação. As reações foram monitoradas por Cromatografia de Camada Delgada em sílica gel Merck 60GF₂₅₄ e os produtos purificados por cromatografia em coluna utilizando sílica gel (ACROS 0,035-0,070 mm, 60A).

As análises de RMN de ¹H e de ¹³C foram realizadas em um aparelho Varian VNMRS, operando a 300 e 75MHz para ¹H e ¹³C, respectivamente. Os deslocamentos químicos (δ) são registrados em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hz. Os espectros de RMN-¹H tem seus dados expressos como: multiplicidade (s, singuleto; d, doubleto; dd, duplo-doubleto; t, tripleto; q, quarteto; m, mutipletto e sl, singleto largo), constante de acoplamento e número relativo de hidrogênios.

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrômetro modelo Shimadzu-IR PRESTIGE-21, utilizando pastilhas de KBr ou disco de NaCl. Os pontos de fusão foram determinados com equipamento Fisatom 430D e os valores não foram corrigidos. A rotação ótica específica foi obtida em polarímetro Polax WXG4 equipado com lâmpada de sódio, em tubos de 10 cm de comprimento.

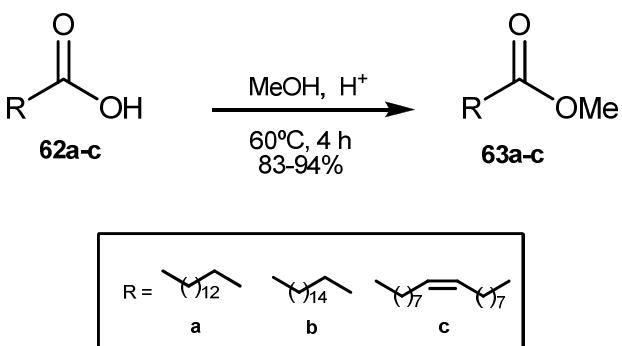
As análises cromatográficas gasosas foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu GC2010 utilizando uma coluna capilar RTX-5MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano, 30 m × 0,25 mm, 0,25 µm) nas seguintes condições: $T/t_{(inicial)} = 150^{\circ}\text{C}/3\text{ min.}$, $T/t_{(final)} = 250^{\circ}\text{C}/25\text{ min.}$, taxa = 15°C/min, injetor T = 180°C e detector T = 260°C, taxa de *split* 1:10, injeção de 1 µL de amostra, gás arraste H₂ (1 mL/min) e Detector por Ionização em Chama (GC-FID).

As análises cromatográficas gasosas acopladas à espectrometria de massas por impacto de elétrons (GC-MS/EI) foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu GC 2010 – QP2010 Plus, com injetor automático AOC-20i, coluna capilar RTX-5MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano, 30 m × 0,25

mm, 0,25 µm) nas seguintes condições: $T/t_{(inicial)} = 150^{\circ}\text{C}/3\text{ min.}$, $T/t_{(final)} = 300^{\circ}\text{C}/17\text{ min}$, taxa = $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$, injetor $T = 250^{\circ}\text{C}$, fonte $T = 250^{\circ}\text{C}$, interface $T = 280^{\circ}\text{C}$, ionização 70 eV, corrente de ionização $150\ \mu\text{A}$ e modo de varredura de $50 - 400\text{ m/z}$, detector $T = 260^{\circ}\text{C}$. O gás arraste foi Hélio, com vazão de $1,0\text{ mL/min}$, injeção splitless, volume de $1\ \mu\text{L}$ de amostra.

Para as análises por ESI-MS-MS, as amostras foram diluídas em $1000\ \mu\text{L}$ de MeOH 100%: uma alíquota de $10\mu\text{L}$ foi diluída em $1000\ \mu\text{L}$ de uma solução 0,1 % ácido fórmico em MeOH:H₂O (1:1). As análises foram realizadas em um Q-TOF (Micromass-Manchester – UK), com aceleração ortogonal e infusão direta nas seguintes condições: voltagem capilar 3500 V ; voltagem cone 35 V ; voltagem extrator 4 V ; Fonte $T = 100^{\circ}\text{C}$; Gás nebulização $T = 100^{\circ}\text{C}$; energia cela 30V .

6.2 Procedimento geral para síntese dos ésteres metílicos **63a-c**.



Em um balão contendo ácido graxo **62a-c** (25 mmols) foi adicionada uma solução metanólica (60:1 MeOH:AG) acidificada com 1,5% em massa de ácido sulfúrico (H_2SO_4) em relação ao ácido graxo. A mistura foi mantida em agitação e refluxo por 4 horas. Após o término da reação, foram adicionados 15 mL de hexano e a solução foi lavada até pH neutro. A fase orgânica foi separada, seca com MgSO_4 , filtrada e evaporada em evaporador rotatório. A purificação dos ésteres graxos **63a-c** foi realizada através de coluna cromatográfica utilizando sílica gel como fase estacionária e hexano:acetato de etila (9:1 v/v) como eluente.

Palmitato de metila (63a)¹⁰⁸: Fórmula molecular, $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$. Massa Molecular, 270,26. Aspecto, sólido branco. P.F.: 30-32°C. Eluente, acetato de etila 50% em hexano (CCD, $R_f = 0,9$). Rendimento, 83%. IV (KBr) cm^{-1} (intensidade): 2949 (F); 2916 (F); 2848 (m); 1741 (F); 1463 (f); 1172 (f). GC-FID, $t_r = 14,1$ min.

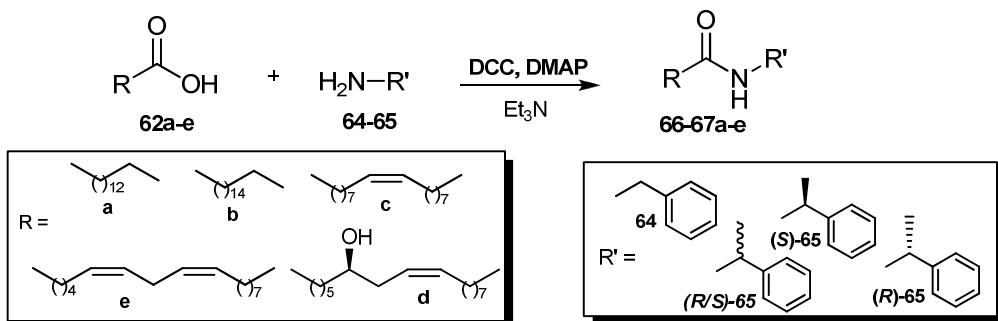
Estearato de metila (63b)¹⁰⁹: Fórmula molecular, $\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$. Massa molecular, 298,29. Aspecto, sólido branco. P.F.: 38-40°C. Eluente, acetato de etila 50% em hexano (CCD, $R_f = 0,9$). Rendimento, 94%. IV (KBr) cm^{-1} (intensidade):

2922 (F); 2852 (F); 1743 (F); 1463 (m); 1435 (m); 1359 (f); 1195 (f); 1170 (m). GC-FID, $t_r = 16,3$ min.

Oleato de metila (63c)¹⁰⁷: Fórmula molecular, $C_{19}H_{36}O_2$. Massa molecular, 296,27. Aspecto, líquido amarelo palha. Eluente, Acetato de etila 50% em hexano (CCD, $R_f = 0,8$). Rendimento, 85%. IV (NaCl, filme) cm^{-1} (intensidade): 2926 (F); 2854 (F); 1743 (F); 1462 (m); 1436 (m); 1197 (f); 1170 (f). GC-FID, $t_r = 16,6$ min.

Ricinoleato de metila (63d)¹¹⁰: Fórmula molecular, $C_{19}H_{36}O_3$. Massa molecular, 312,27. Aspecto, líquido amarelo. Eluente, Acetato de etila 50% em hexano (CCD, $R_f = 0,7$). Rendimento, 90%. IV (NaCl, filme) cm^{-1} (intensidade): 3450 (F), 3007 (f); 2926 (F); 2854 (F), 1737 (m); 1460 (f), 1438 (f); 1246 (f), 1172 (f); 756 (f). CG-FID, $t_r = 24$ min.

6.3 Procedimento geral para síntese das amidas 66,67a-e, 71e.



Em um balão contendo ácido graxo **62a-e** (1mmol), amina **64** ou **65** (1mmol), trietilamia (Et_3N , 1mmol) e 10% mol de DMAP (**30**) foi adicionado gota-a-gota uma solução de DCC (**25**, 1mmol) em 3 mL CH_2Cl_2 . A mistura foi mantida sob agitação constante em temperatura ambiente por 24 horas. Após, a dicicloexiluréia formada foi separada por filtração, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o bruto reacional purificado em coluna cromatográfica utilizando sílica gel como fase estacionária e hexano:acetato (7:3 v/v) como eluentes.

N-benzil-hexadecanamida (66a): Fórmula molecular, $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{NO}$. Massa Molecular, 345,30. Aspecto, sólido branco. P.F.: 95 - 96°C. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, $R_f = 0,62$). Rendimento, 60%. IV (KBr) cm^{-1} (intensidade): 3294 (F), 3082 (f), 2916(F), 2848 (F), 1631 (F), 1550 (m), 1456 (m), 1355 (f), 1116 (f), 1026 (f), 725 (f). RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ 7,28 (m, 5H), 5,82 (sl, 1H), 4,43 (d, $J = 6$, 2H), 2,20 (t, $J = 7,5$, 2H), 1,64 (m, 2H), 1,25 (m, 24 H), 0,88 (t, $J = 6,6$, 3H). RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ 172,99; 138,39; 128,70 (2C); 127,83 (2C); 127,50 (2C); 43,58; 36,83; 31,92; 29,68; 29,65;

29,63; 29,59; 29,50; 29,48; 29,35; 29,34; 29,31; 25,77; 22,68; 14,12. GC-MS (70 eV): m/z 91 (53%), 106 (27%), 149 (100%), 162 (21%), 345 (M^+).

N-benzil-octadecanamida (66b): Fórmula molecular, $C_{25}H_{43}NO$. Massa Molecular, 373,33. Aspecto, sólido branco. Ponto fusão, 93 - 94°C. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, R_f = 0,54). Rendimento, 63%. IV (KBr) cm^{-1} (intensidade): 3304 (F), 2914(F), 2846 (F), 1637 (F), 1548 (m), 1458 (m), 1278 (f), 727 (f). RMN de 1H (300 Hz, $CDCl_3$) δ 7,28 (m, 5H), 5,78 (sl, 1H), 4,44 (d, J = 6, 2H), 2,20 (t, J = 7,5, 2H), 1,64 (m, 2H), 1,25 (m, 28 H), 0,88 (t, 6,6, 3H). RMN de ^{13}C (75 Hz, $CDCl_3$) δ 172,99; 138,40; 128,67 (2C); 127,80 (2C); 127,46 (2C); 43,56; 36,80; 31,90; 29,67; 29,65; 29,63; 29,59; 29,55; 29,50; 29,48; 29,40; 29,35; 29,34; 29,30; 25,75; 22,67; 14,10. GC-MS (70 eV): m/z 91 (57%), 106 (25%), 149 (100%), 162 (23%), 373 (M^+).

N-benzil- 9-Z- octadecenamida (66c): Fórmula molecular, $C_{25}H_{41}NO$. Massa Molecular, 371,32. Aspecto, sólido pastoso amarelo palha. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, R_f = 0,55). Rendimento, 72%. IV (KBr) cm^{-1} (intensidade): 3298 (F), 3052 (f), 2922 (F), 2850 (F), 1637 (F), 1550 (m), 1429 (m), 1349 (f), 1250 (m), 1125 (f), 1063 (f), 1000 (m), 810 (f), 729 (f). RMN de 1H (300 Hz, $CDCl_3$) δ 7,28 (m, 5H), 6,00 (sl, 1H), 5,34 (m, 2H), 4,41 (d, J = 6, 2H), 2,18 (t, J = 7,5, 2H), 1,99 (m, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,26 (m, 22 H), 0,87 (t, J = 6,6, 3H). RMN de ^{13}C (75 Hz, $CDCl_3$) δ 173,02; 138,40; 129,92; 129,67; 128,58 (2C); 127,78 (2C); 127,36; 43,45; 36,69; 31,84; 29,70; 29,64; 29,55; 29,46; 29,29; 29,26; 29,20; 29,08; 27,15; 27,11; 25,71; 22,62; 14,06. GC-MS (70 eV): m/z 91 (95%), 106 (48%), 149 (100%), 162 (61%), 371 (M^+). ESI-MS/MS: M^+ teórico: 372,3266; M^+ observado: 372,3051.

N-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (66d): Fórmula molecular, $C_{25}H_{41}NO_2$. Massa Molecular, 387,31. Aspecto, sólido pastoso amarelo palha. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, R_f = 0,45). Rendimento, 70%. IV (KBr) cm^{-1} (intensidade): 3305 (F), 3090 (f), 2927 (F), 2852 (F), 1637 (F), 1550 (m), 1395 (m), 1349 (f), 1218 (m), 1123 (f), 1000 (f), 750 (f), 687 (m). RMN de 1H (300 Hz, $CDCl_3$) δ 7,28 (m, 5H), 5,83 (sl, 1H), 5,53 (m, 1H) 5,39 (m, 1H),

4,45 (d, $J = 6$, 2H), 3,60 (m, 1H), 2,20 (m, 4H), 2,03 (m, 2H), 1,79 (sl, 1H), 1,65 (m, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,30 (m, 18 H), 0,88 (t, $J = 6$, 3H). RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ 173,05; 138,42; 133,23; 128,64 (2C); 127,77 (2C); 127,42; 125,26; 71,46; 43,52; 36,81; 36,67; 35,33; 31,81; 29,66; 29,51; 29,42; 29,32; 29,18; 29,03; 27,30; 25,70, 22,60; 14,06. GC-MS (70 eV): m/z 91 (98%) 106 (85%) 149 (100%), 162 (61%), 216 (17%) 273 (18%), 369 (M-18). ESI-MS/MS: M^+ teórico: 388,3216; M^+ observado: 388,3229.

N-benzil-9,12-Z-octadidecenamida (66e): Fórmula molecular, $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}$. Massa Molecular, 369,30. Aspecto, líquido viscoso amarelo palha. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, $R_f = 0,44$). Rendimento, 40%. IV (NaCl, filme) cm^{-1} (intensidade): 3292 (F), 3090 (m), 2927 (F), 2854 (F), 1649 (F), 1543 (m), 1458 (m), 1220 (f), 756 (F). RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ 7,25 (m, 5H); 5,92 (sl, 1H); 5,66 (sl, 2H); 5,28 (m, 2H); 4,35 (m, 2H); 2,69 (m, 2H); 2,36 (m, 2H); 2,13 (t, $J = 7,5$, 2H); 1,89 (m, 2H); 1,55 (2H); 1,23 (sl, 14H); 0,82 (sl, 3H); RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ 173,20; 138,19; 130,14; 129,95; 128,61 (2C); 127,91; 127,73 (2C); 127,42 (2C); 43,52; 36,55; 27,10; 26,22; 25,62; 25,53; 25,39; 25,23; 24,78; 24,63; 24,41; 22,44; 22,24; 13,96. GC-MS (70 eV): m/z 67 (21%), 91 (100%), 106 (62%), 149 (43%), 207 (35%), 253 (14%), 281 (13%), 369 (M $^+$). ESI-MS/MS: M^+ teórico: 370,3110; M^+ observado: 370,3168.

α -Metil-N-benzil-hexadecanamida (67a): Fórmula molecular, $\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{NO}$. Massa molecular, 359,32. Aspecto, sólido branco. P.F.: 84,4-85,5 °C. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, $R_f = 0,61$). Rendimento, 74%. IV (KBr) cm^{-1} (intensidade): 3307 (F), 3062 (f), 2916(F), 2848 (F), 1639 (F), 1550 (F), 1462 (m), 1350 (f), 1125 (m), 781 (m), 700 (m). RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ 7,23 (m, 5H), 5,77 (sl, 1H), 5,05 (m, 1H); 2,09 (t, $J = 7,5$, 2H), 1,53 (m, 2H), 1,41 (d, $J = 9$, 3H), 1,18 (m, 24H); 0,80 (t, $J = 6$, 3H). RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ 172,16; 143,26; 128,59 (2C); 127,26; 126,13 (2C); 48,48; 36,87; 31,88; 29,66; 29,63; 29,61; 29,56; 29,48; 29,46; 29,41; 29,36; 29,32; 29,24; 25,72; 22,61; 21,67; 14,09. GC-MS (70 eV): m/z 105 (79%); 120 (39%); 163 (100%); 176 (16%); 359 (M^+); ESI-MS/MS: M^+ teórico: 360,3266; M^+ observado: 360,3092; $[\alpha]_D^{20^\circ}(R)$ -(+)-

α -Metil-N-benzil-hexadecanamida = +59,9° (+/- 1°, 10% em CHCl₃); [α]_D^{20°} (*S*)-(-)- α -Metil-N-benzil-hexadecanamida = - 59,9° (+/- 1°, 10% em CHCl₃).

α -Metil-N-benzil-octadecanamida (67b): Fórmula molecular, C₂₆H₄₅NO. Massa molecular, 387,35. Aspecto, sólido branco. P.F.: 87-88 °C. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, R_f = 0,62). Rendimento, 67%. IV (KBr): cm⁻¹(intensidade). 3307 (F), 3062 (f), 2916(F), 2848 (F), 1641 (F), 1550 (F), 1462 (m), 1259 (f), 1018 (m), 754 (m), 700 (m). RMN ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ 7,24 (m, 5H), 5,78 (sl, 1H), 5,06 (m, 1H); 2,08 (t, J = 6, 2H), 1,54 (m, 2H), 1,40 (d, J = 6, 3H), 1,18 (m, 28H); 0,80 (t, J = 6, 3H). RMN ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ 172,18; 143,25; 128,59 (2C); 127,26; 126,13 (2C); 48,50; 37,02; 36,85; 33,20; 31,88; 29,66; 29,62; 29,57; 29,51; 29,47; 29,33; 29,23; 25,88; 25,73; 25,49; 24,83; 22,66; 21,66; 14,09. GC-MS (70 eV): m/z 105 (91%), 120 (%), 148 (7%), 163 (100%), 176 (15%), 387 (M⁺). [α]_D^{20°} (*R*)-(+)- α -Metil-N-benzil-octadecanamida = +45,95° (+/- 1°, 10% em CHCl₃); [α]_D^{20°} (*S*)-(-)- α -Metil-N-benzil-octadecanamida = - 45,95° (+/- 1°, 10% em CHCl₃).

α -Metil-N-benzil-9-Z-octadecenamida (67c): Fórmula molecular, C₂₆H₄₃NO. Massa molecular, 385,33. Aspecto, sólido pastoso amarelo palha. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, R_f = 0,6). Rendimento, 71%. IV (NaCl, filme): cm⁻¹(intensidade): 3305 (F), 3100 (f), 2924 (F), 2852 (F), 1641 (F), 1541 (m), 1437 (m), 1375 (f), 1124 (f), 1054 (f), 968 (f), 687 (m). RMN ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ 7,25 (m, 5H), 5,81 (sl, 1H), 5,26 (m, 2H), 5,05 (m, 1H), 2,08 (t, J = 7,5, 2H), 1,91 (m, 4H), 1,53 (m, 2H), 1,38 (d, J = 6, 3H), 1,20 (m, 20H), 0,80 (t, J = 6,6, 3H). RMN ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ 172,34; 143,26; 129,85; 129,63; 128,47 (2C); 127,12; 126,05 (2C); 48,44; 36,67; 31,80; 29,66; 29,60; 29,56; 29,52; 29,42; 29,26; 29,22; 29,17; 29,05; 27,11; 25,68; 22,58; 21,63; 14,02. GC-MS (70 eV): m/z 105 (100%); 120 (39%); 163 (137%); 176 (19%); 385 (M⁺); ESI-MS/MS: M⁺ teórico: 386,3423; M⁺ observado: 386,3446. [α]_D^{20°} (*R*)-(+)- α -Metil-N-benzil-9-Z-octadecenamida = +74,9° (+/- 1°, 2% em CHCl₃); [α]_D^{20°} (*S*)-(-)- α -Metil-N-benzil-9-Z-octadecenamida = - 74,9° (+/- 1°, 2% em CHCl₃).

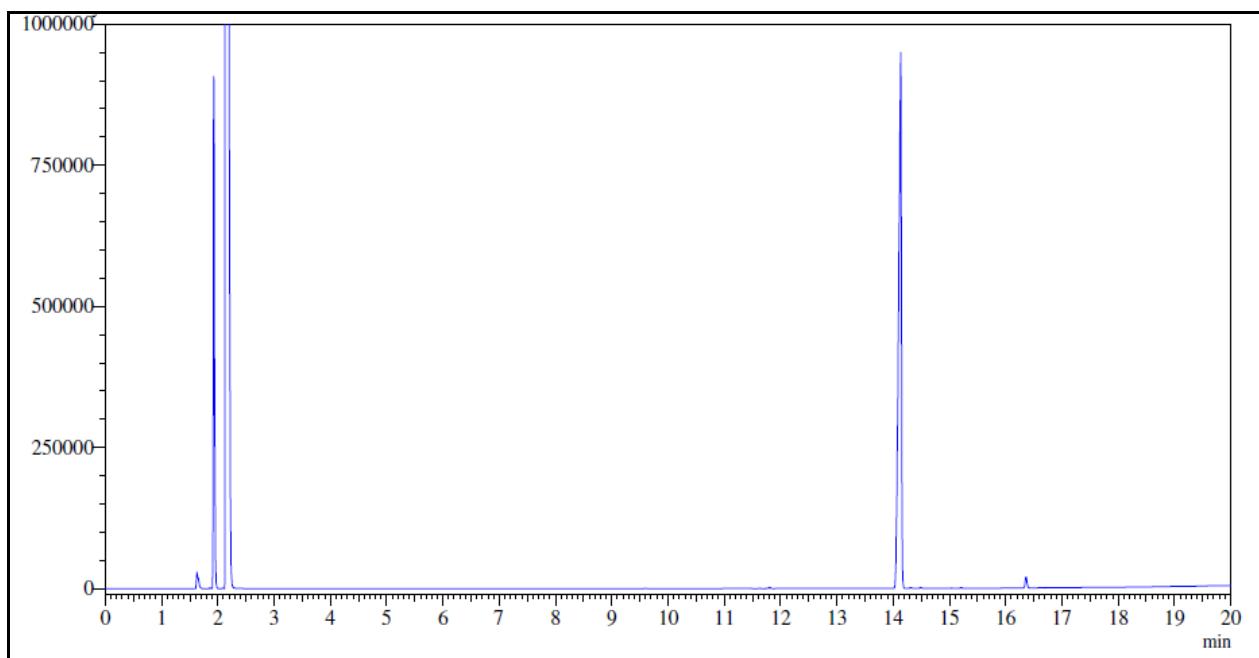
α -Metil-N-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (67d): Fórmula molecular, C₂₆H₄₃NO₂. Massa molecular, 401,33. Aspecto, sólido pastoso amarelo. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, R_f = 0,36). Rendimento, 83%. IV (NaCl, filme): cm⁻¹(intensidade): 3292 (M), 2927 (F), 2854 (f), 1633 (F), 1556 (F), 1450 (f), 1253 (f), 1093 (f). RMN ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ 7,30 (m, 5H), 5,92 (d, J=9 Hz, 2H), 5,62 (m, 1H), 5,41 (m, 1H), 4,78 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 2,16 (m, 4H), 2,05 (m, 2H), 1,77 (m, 1H), 1,60 (m, 2H), 1,48 (m, 2H), 1,42 (d, J=6 Hz, 3H), 1,28 (m, 15 H), 0,88 (t, J=6 Hz, 3H). ESI-MS/MS: M⁺ teórico: 402,3372; M⁺ observado: 402,3370. [α]_D^{20°}(R,R)-(+)- α -Metil-N-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida = +20,97° (+/- 1°, 5% em CHCl₃); [α]_D^{20°}(R,S)-(-)- α -Metil-N-benzil-12-hidroxi-9-Z-octadecenamida = -20,97° (+/- 1°, 5% em CHCl₃).

α -Metil-N-benzil-9,10-Z-octadidecenamida (67e): Fórmula molecular, C₂₆H₄₁NO. Massa molecular, 383,32. Aspecto, líquido viscoso amarelo palha. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, R_f = 0,59). Rendimento, 44%. IV (NaCl, filme): cm⁻¹(intensidade). 3286 (m), 3008 (f), 2927 (F), 2854 (F), 1641 (F), 1543 (m), 1452 (m), 1375 (f), 1215 (f), 1134 (f), 1020 (f), 758 (m). RMN ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ 7,24 (m, 5H); 5,80 (sl, 1H); 5,67 (sl, 2H); 5,03 (m, 3H); 2,45 (m, 2H); 2,36 (m, 2H); 2,11 (t, J = 7,05, 2H); 1,71 (m, 2H); 1,53 (m, 2H); 1,41 (d, J = 6,9, 3H); 1,24 (sl, 14 H); 0,81 (sl, 3H). RMN ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ 172,48; 143,13; 128,61 (3C); 127,30 (3C); 126,12 (2C); 48,63; 36,69; 33,87; 31,70; 31,22; 28,94; 28,88; 28,79; 25,55; 24,61; 24,43; 24,49; 22,26; 21,88; 21,65; 14,00. GC-MS (70 eV): m/z 105 (100%), 120 (48%), 163 (20%), 176 (8%), 383 (M⁺). [α]_D^{20°}(R)-(+)- α -Metil-N-benzil-9,12-Z-octadidecenamida = +51,94° (+/- 1°, 5% em CHCl₃); [α]_D^{20°}(S)-(-)- α -Metil-N-benzil-9,12-Z-octadidecenamida = -51,94° (+/- 1°, 5% em CHCl₃).

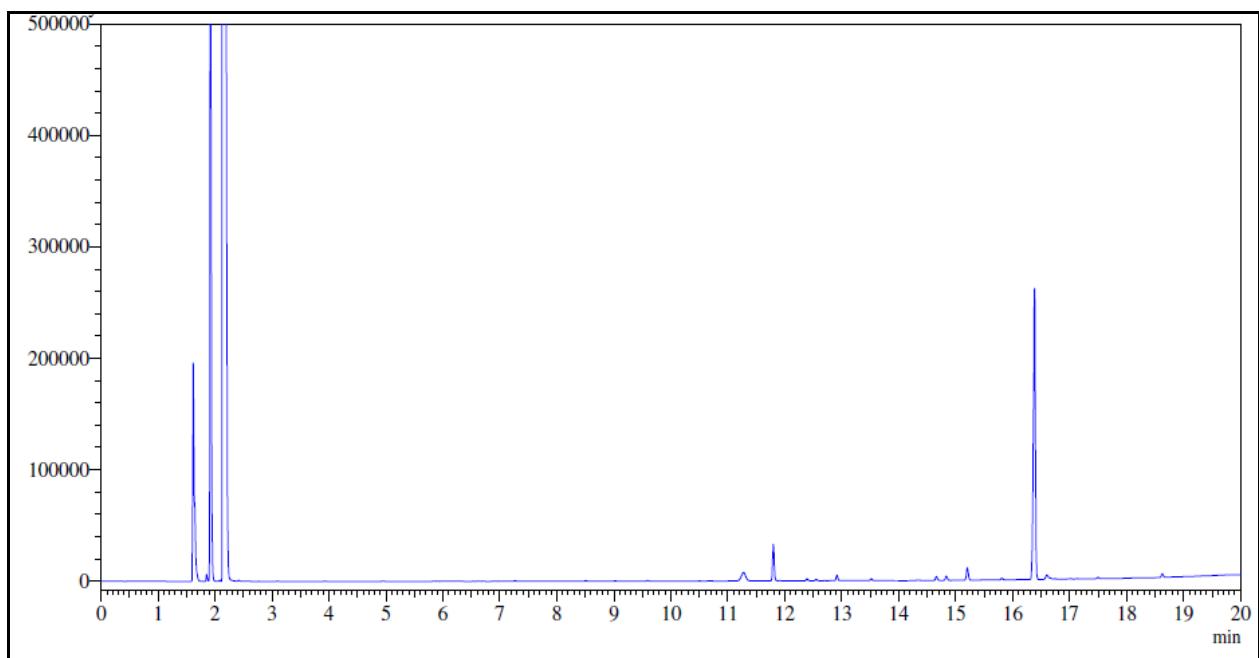
N-pirrolidil-9,12-Z-octadidecenamida (71e): Fórmula molecular, C₂₂H₃₉NO. Massa Molecular, 333,30. Aspecto, Líquido amarelo claro. Eluente, acetato de etila 30% em hexano (CCD, R_f = 0,52). Rendimento, 51%. IV (NaCl, filme): cm⁻¹(intensidade). 3000 (f), 2926 (F), 2854 (m), 1643 (F), 1433 (m), 1344 (f), 1193 (f), 1039 (f). RMN ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ 5,28 (m, 2H), 5,62 (sl, 2H), 3,36 (m, 4H), 2,69 (t, J = 5,85, 2H), 2,35 (m, 2H), 2,18 (t, J = 7,65, 2H), 1,94 (m, 2H),

1,82 (m, 4H), 1,55 (sl, 2H), 1,24 (sl, 14H), 0,81 (sl, 3H). RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ 172,06; 130,14; 130,03; 127,92; 127,85; 46,65; 45,62; 34,78; 31,23; 31,39; 29,12; 29,18; 29,29; 27,14; 26,04; 25,55; 24,75; 24,84; 24,34; 22,51; 22,47; 14,02. ESI-MS/MS: M^+ teórico: 334,3110; M^+ observado: 334,3163.

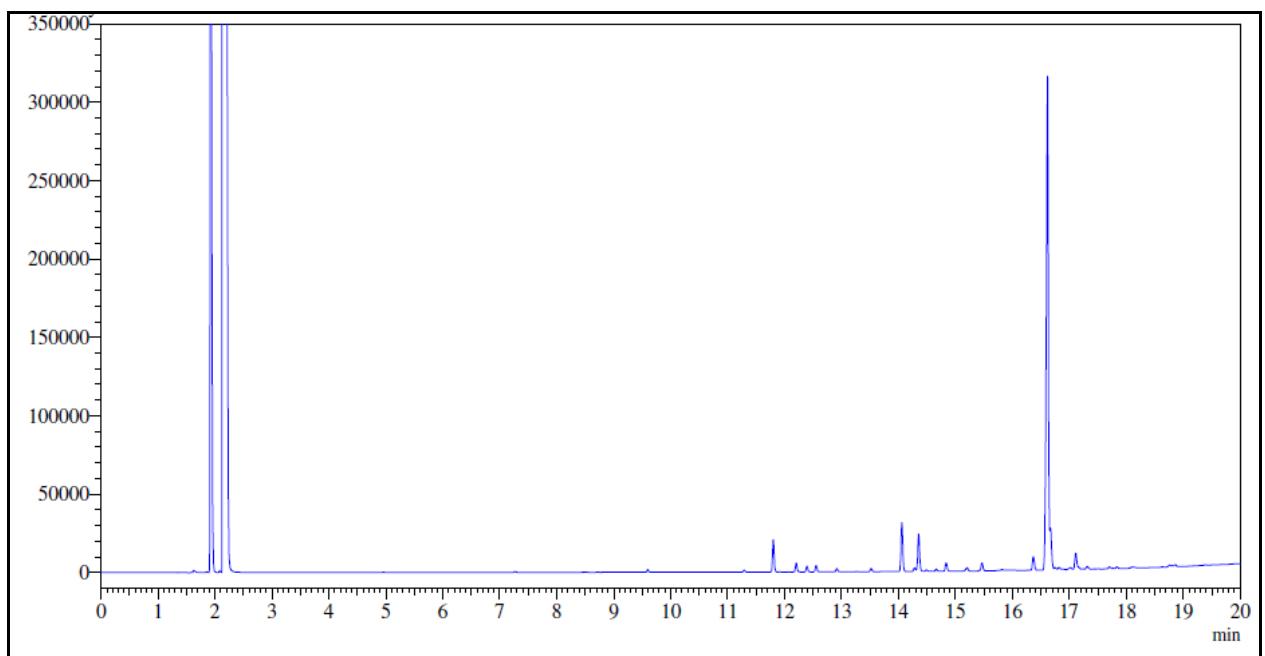
Cromatogramas (GC-FID) ésteres metílicos 63a-d



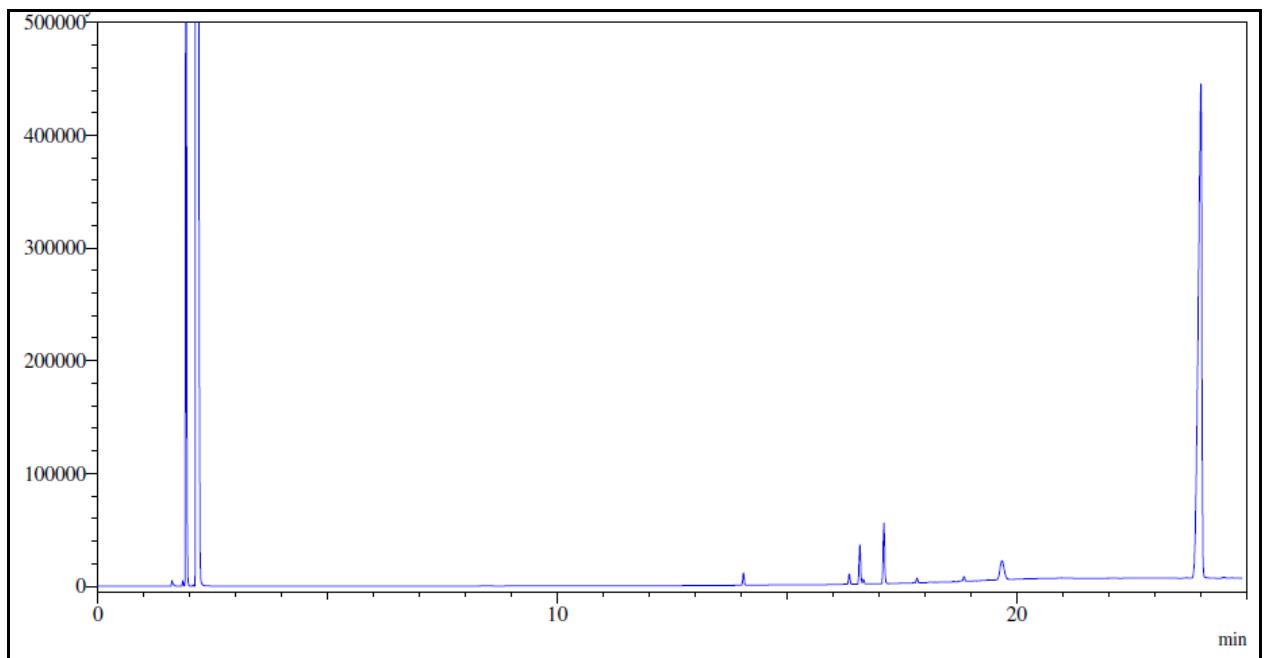
Cromatograma 1 – Palmitato de metila 63a.



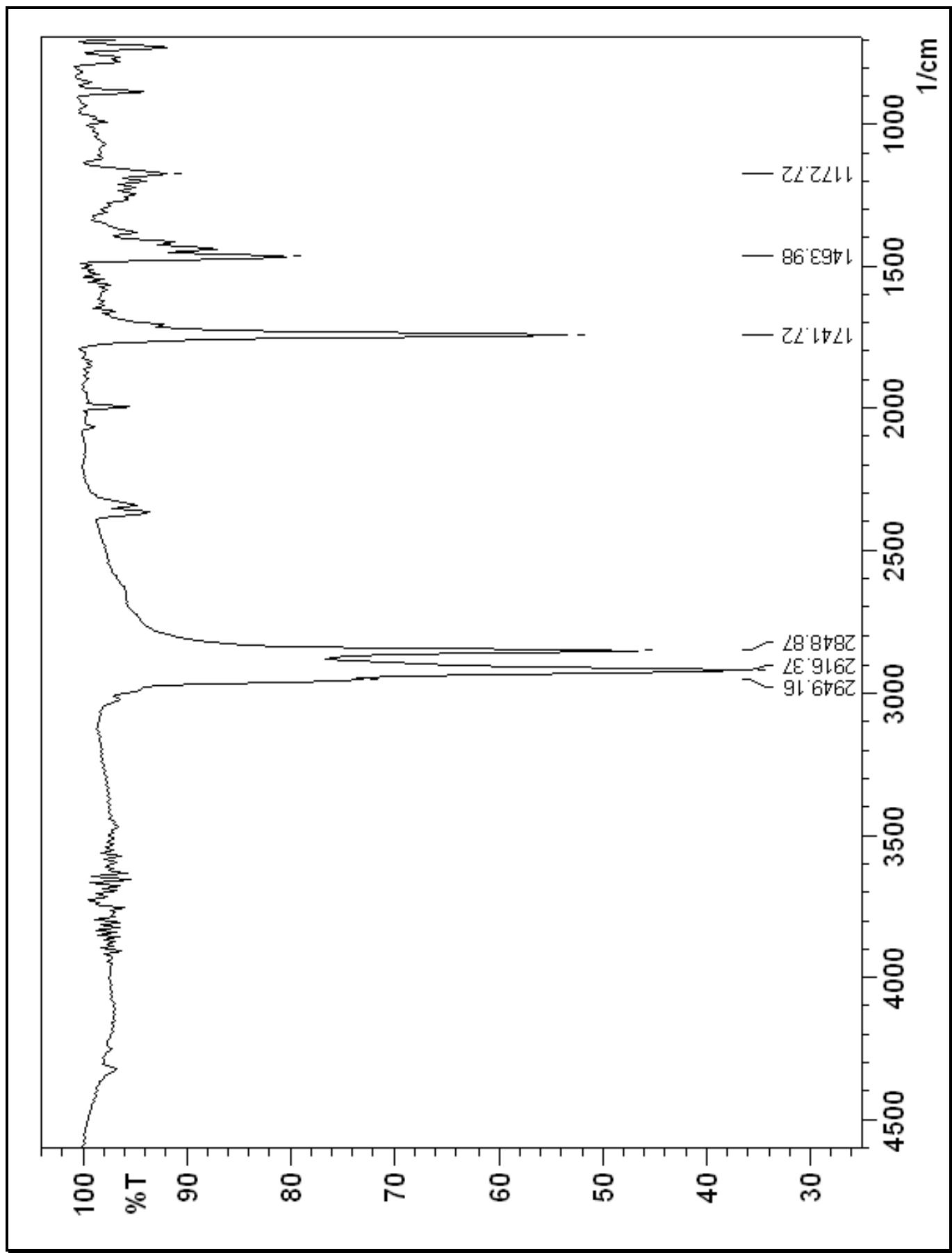
Cromatograma 2 – Estearato de metila 63b.



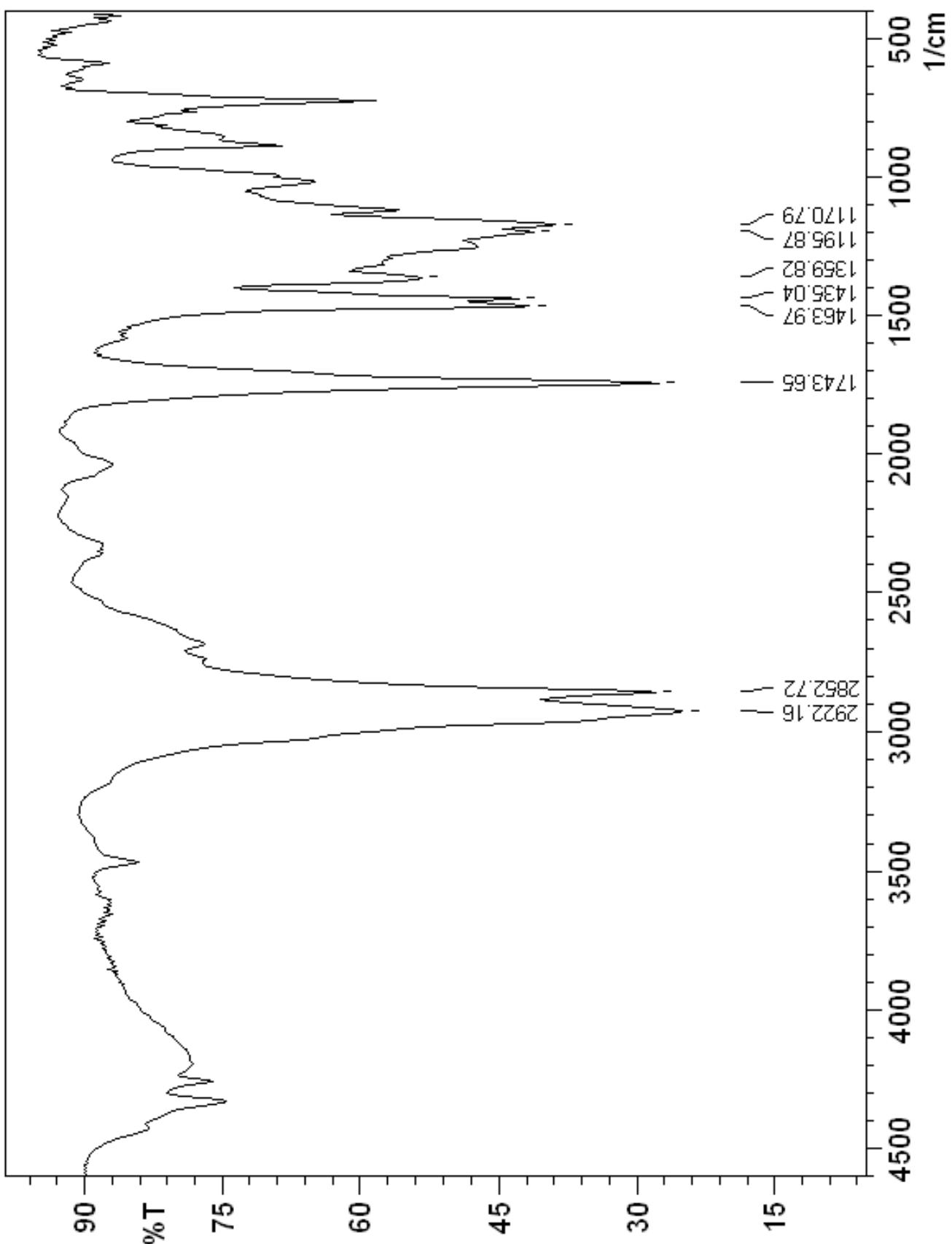
Cromatograma 3 – Oleato de metila 63c.



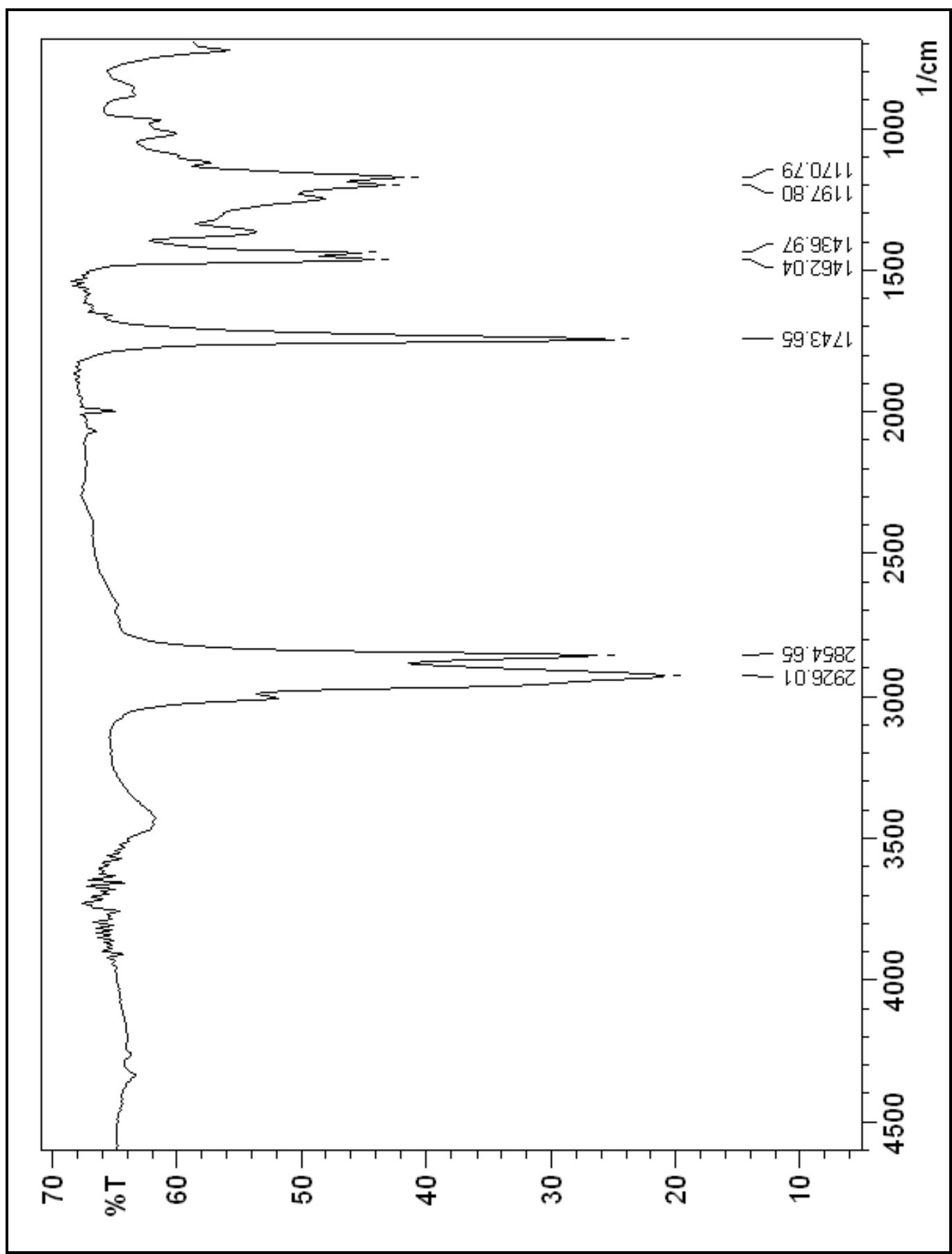
Cromatograma 4 – Ricinoleato de metila 63d.



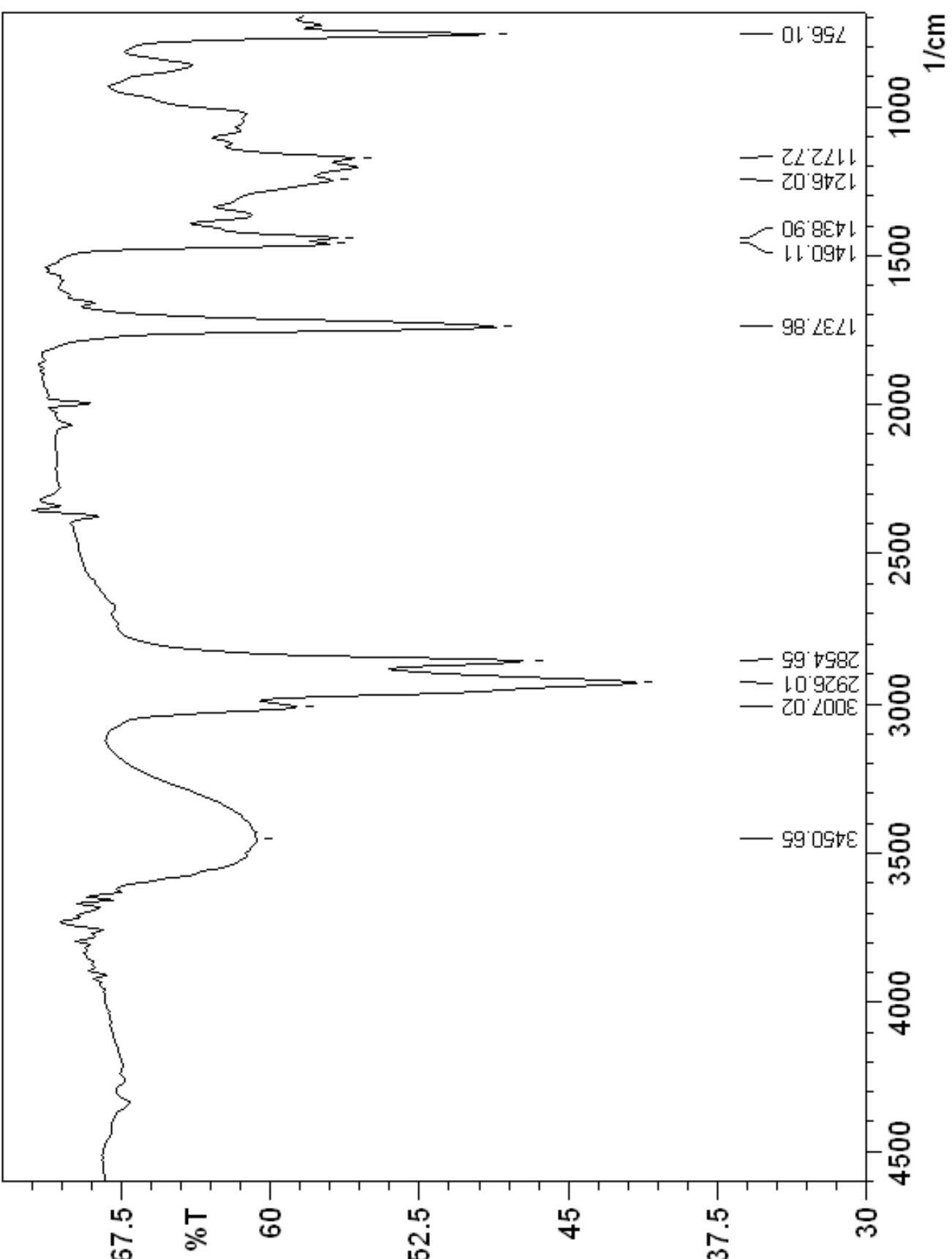
Espectro 1 – I. V. (KBr) do composto palmitato de metila (63a**).**



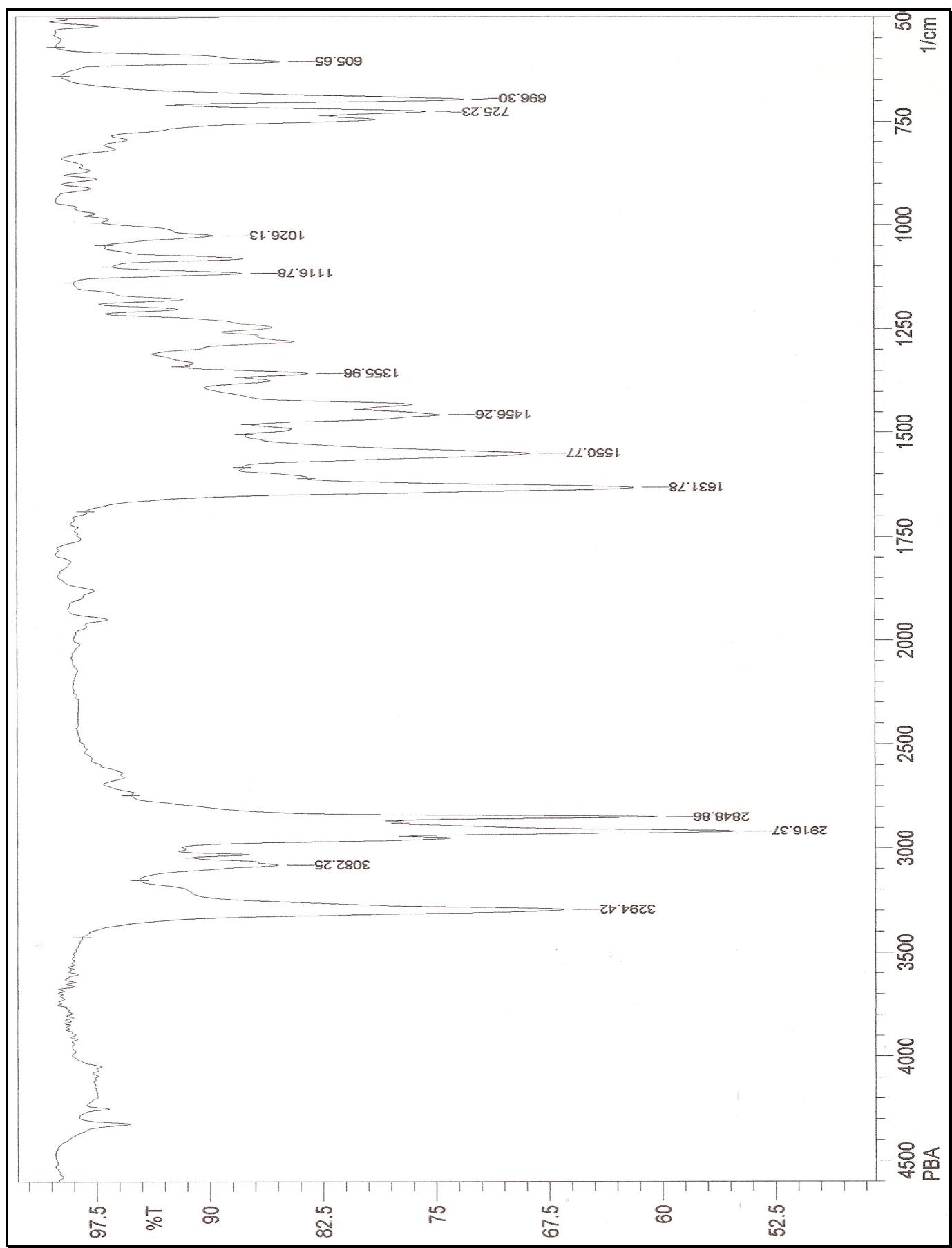
Espectro 2 – I. V. (KBr) do composto estearato de metila (63b**).**



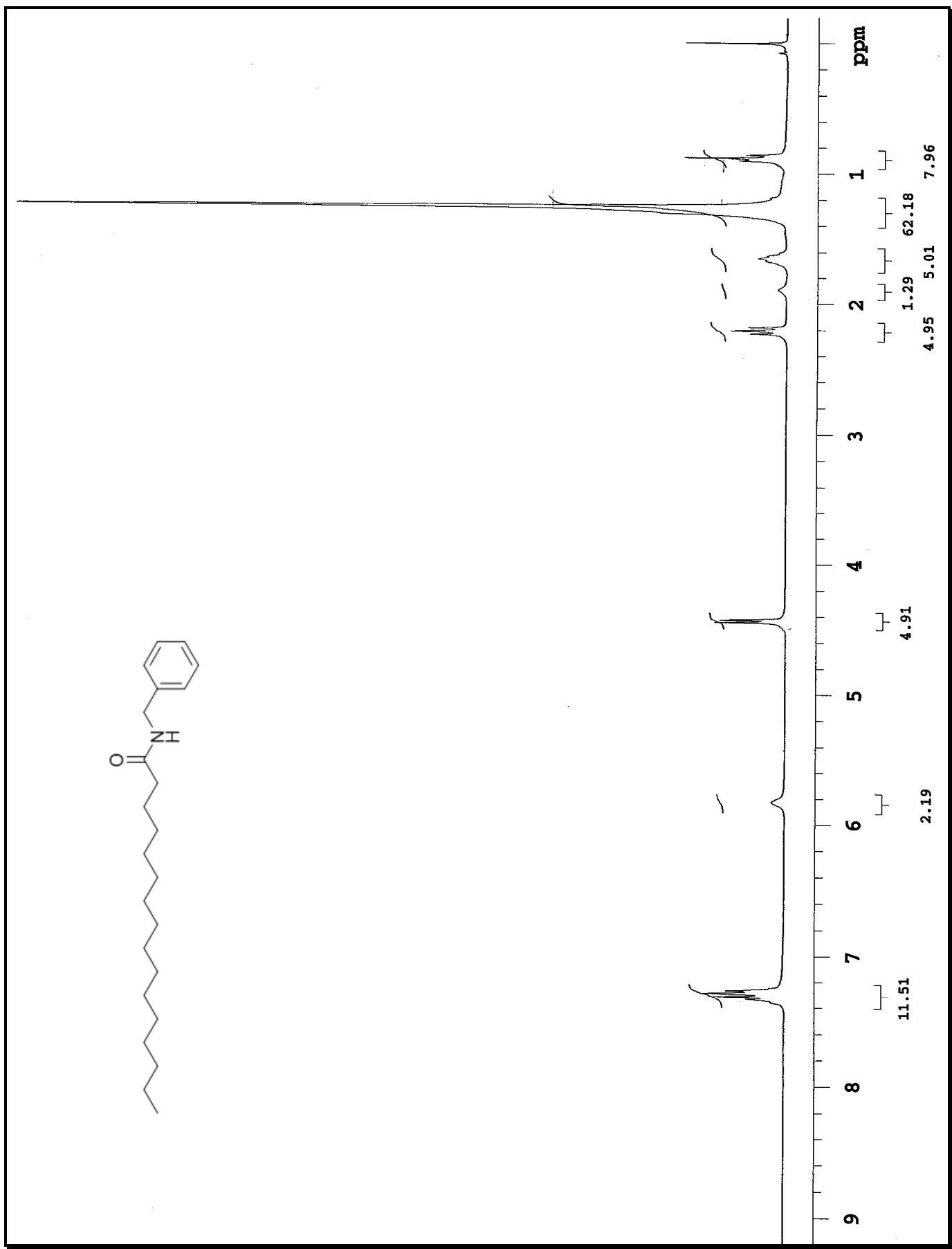
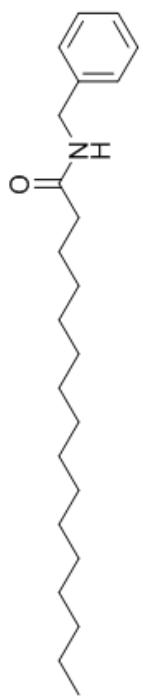
Espectro 3 – I. V. (NaCl, filme) do composto oleato de metila (**63c**).



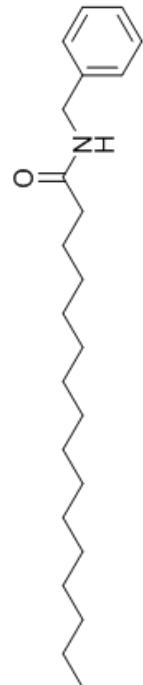
Espectro 4 – I. V. (NaCl, filme) do composto ricinoleato de metila (63 d).



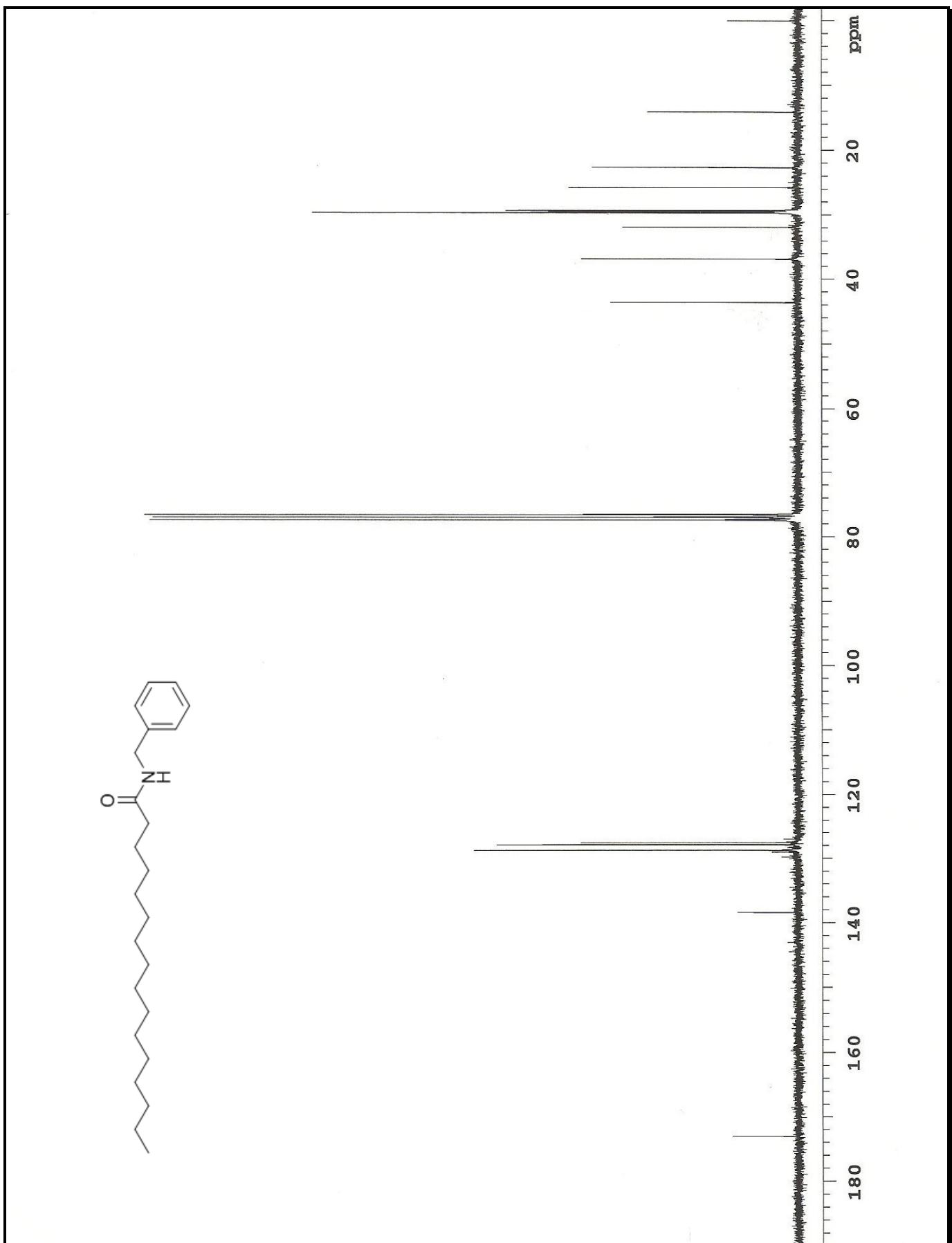
Espectro 5 – I.V. (KBr) do composto *N*-benzil-hexadecanamida (**66a**).

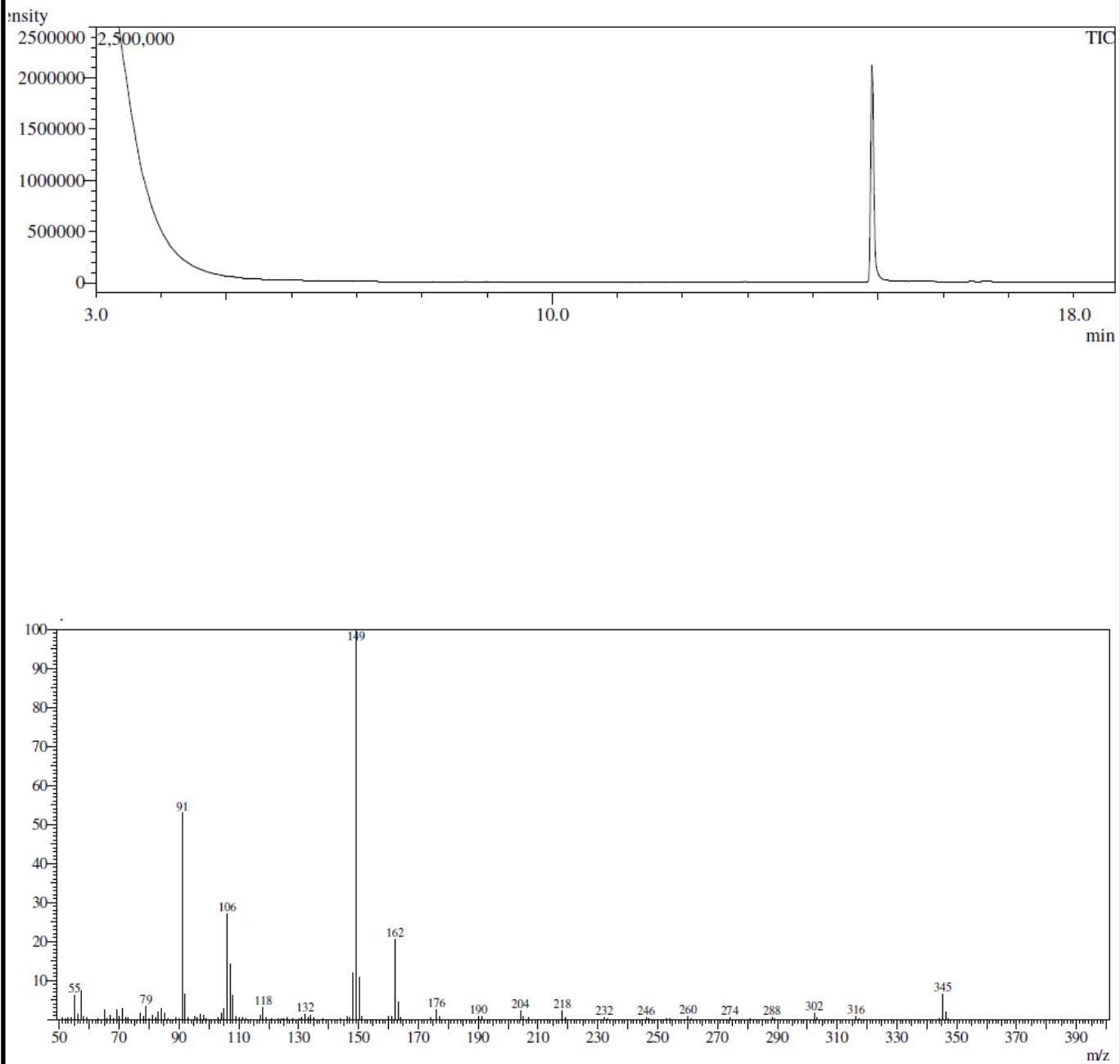


Espectro 6 – RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-hexadecanamida (**66a**).

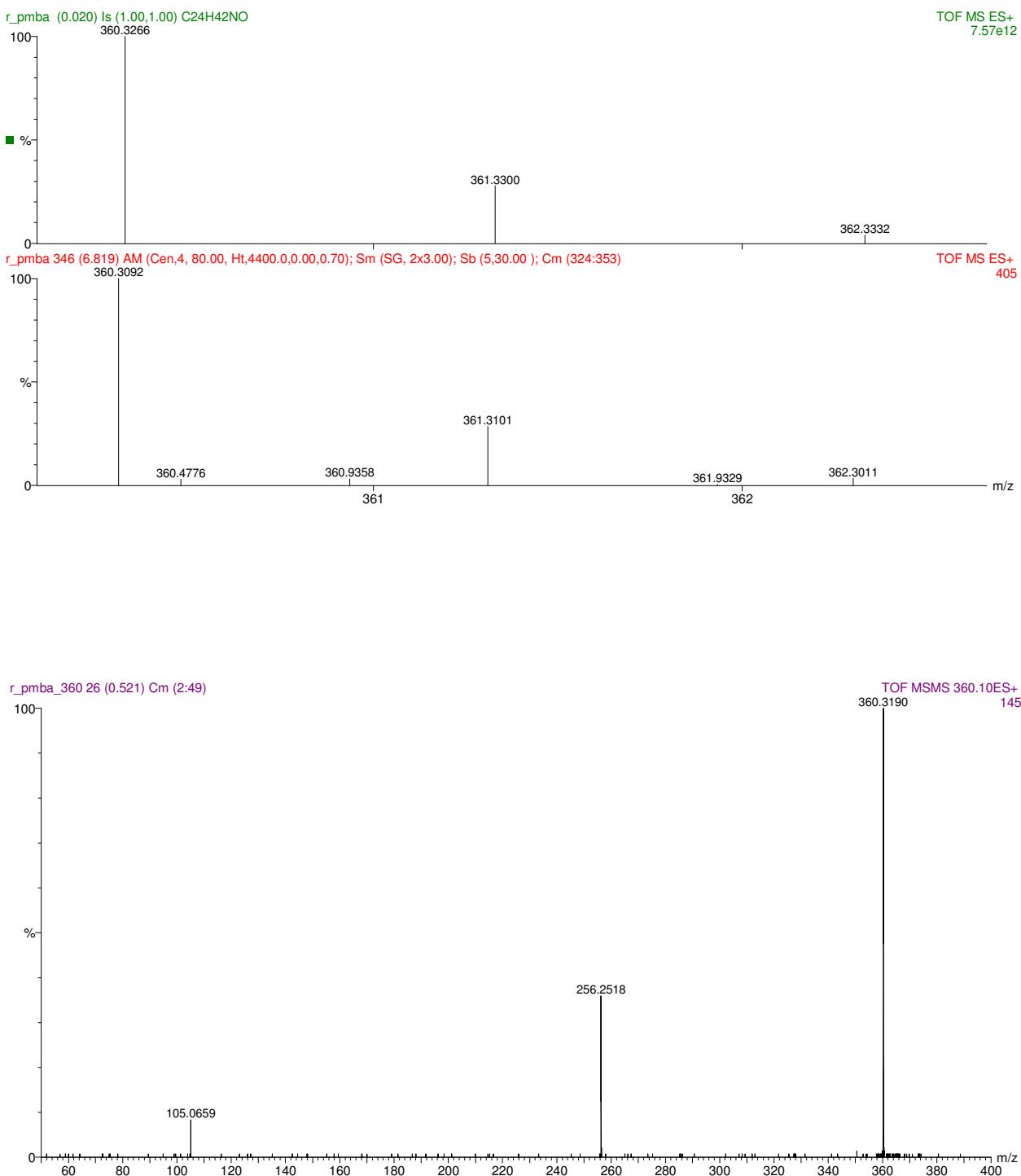


Espectro 7 – RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-hexadecanamida (**66a**).

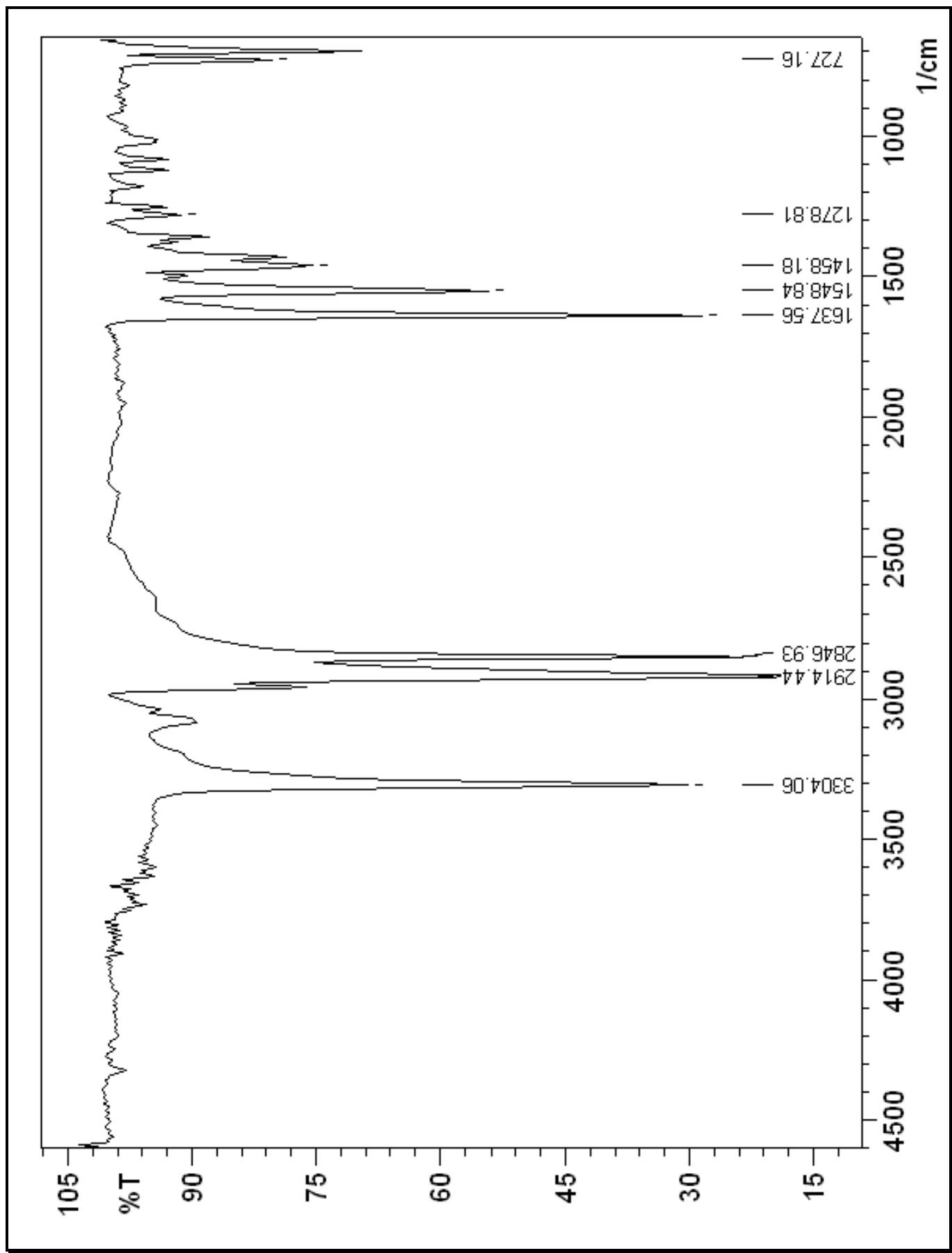




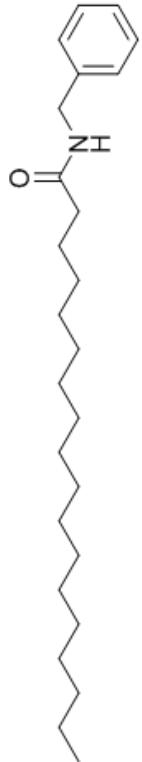
Espectro 8 – GC-MS (70 eV) da *N*-benzil-hexadecanamida (66a**).**



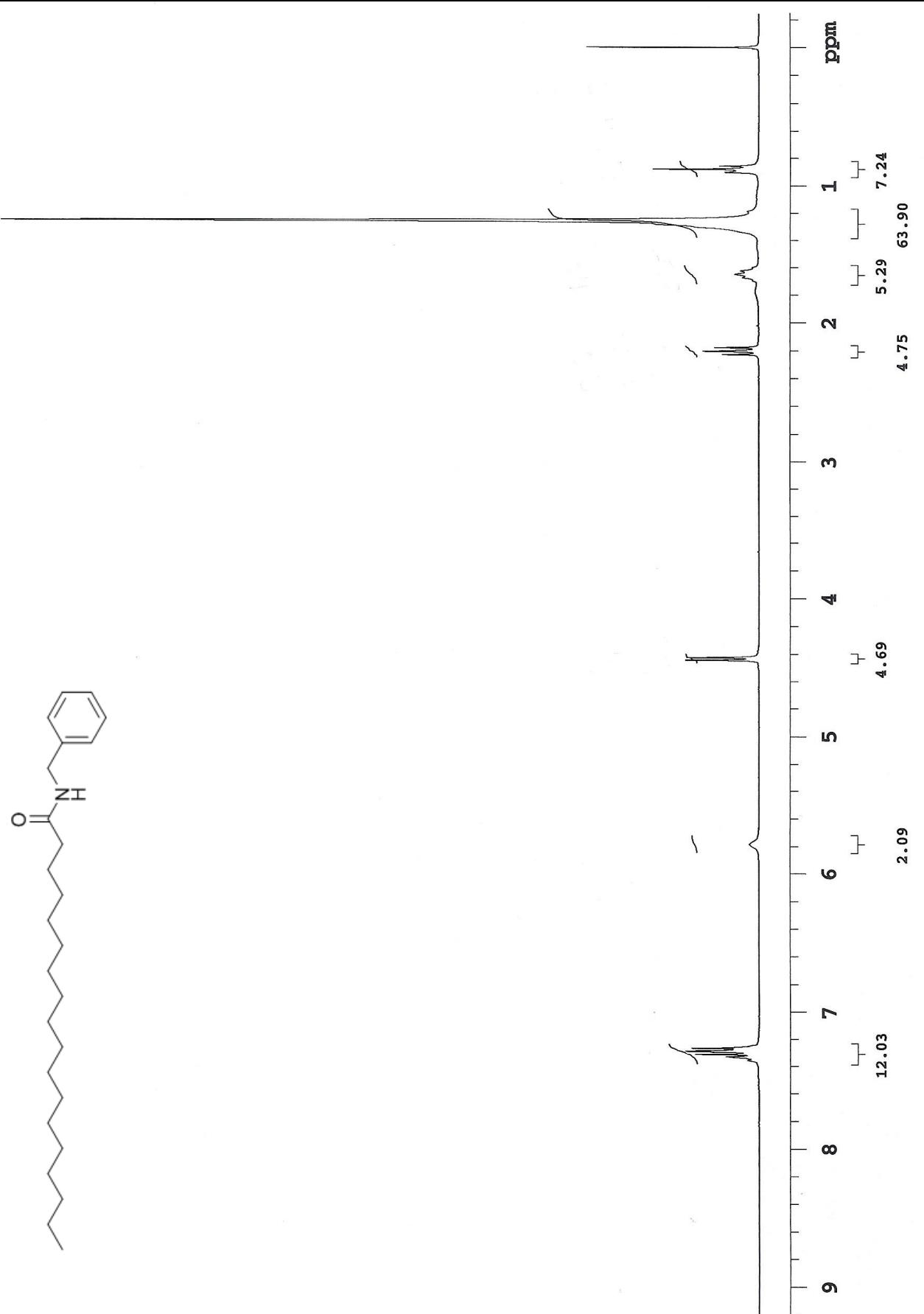
Espectro 9 – ESI-MS/MS da *N*-benzil-hexadecanamida (66a**).**

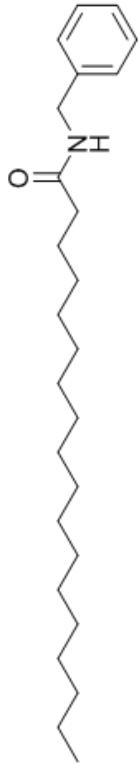


Espectro 10 – I.V. (KBr) da *N*-benzil-octadecanamida (**66b**).

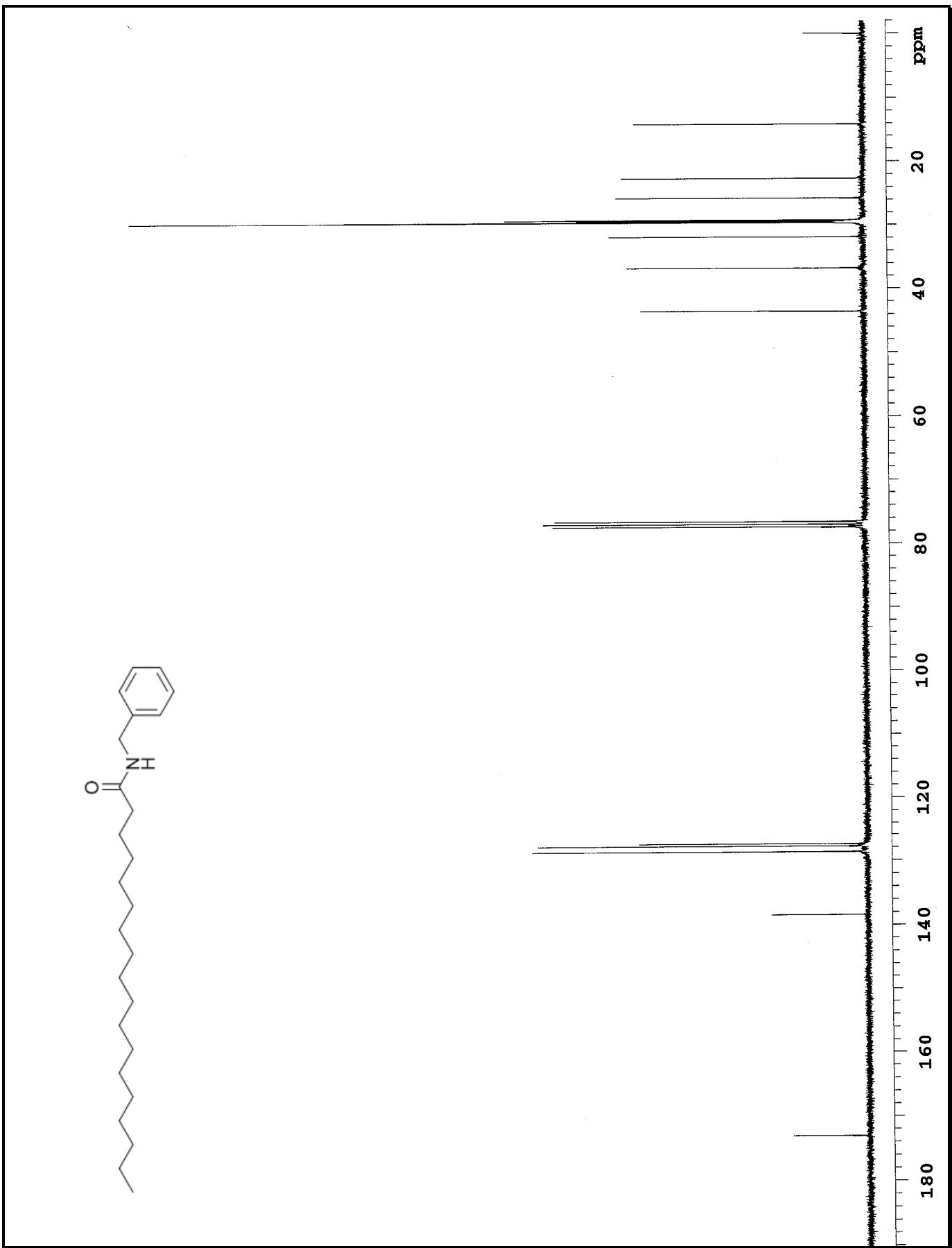


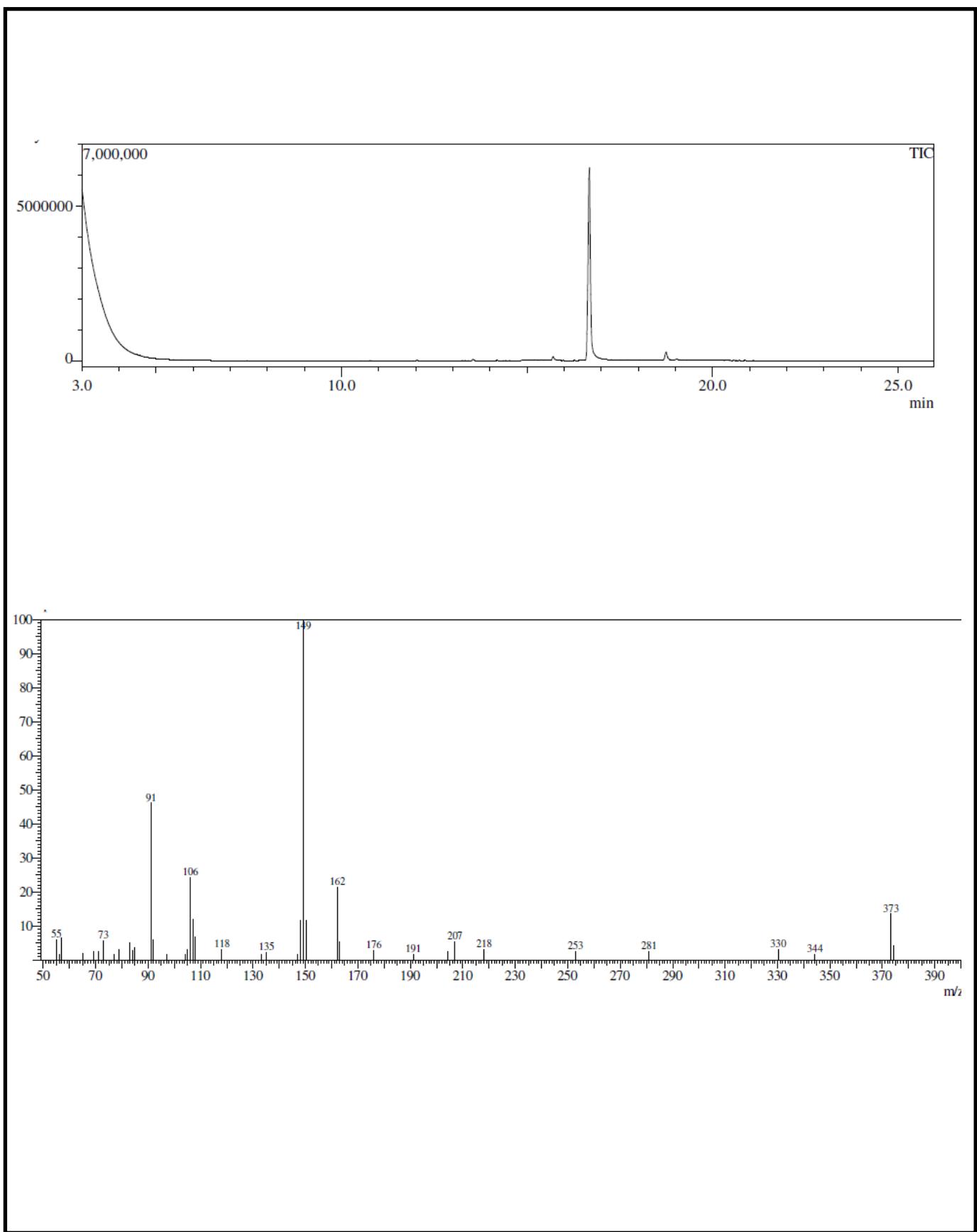
Espectro 11 – RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-octadecanamida (**66b**).



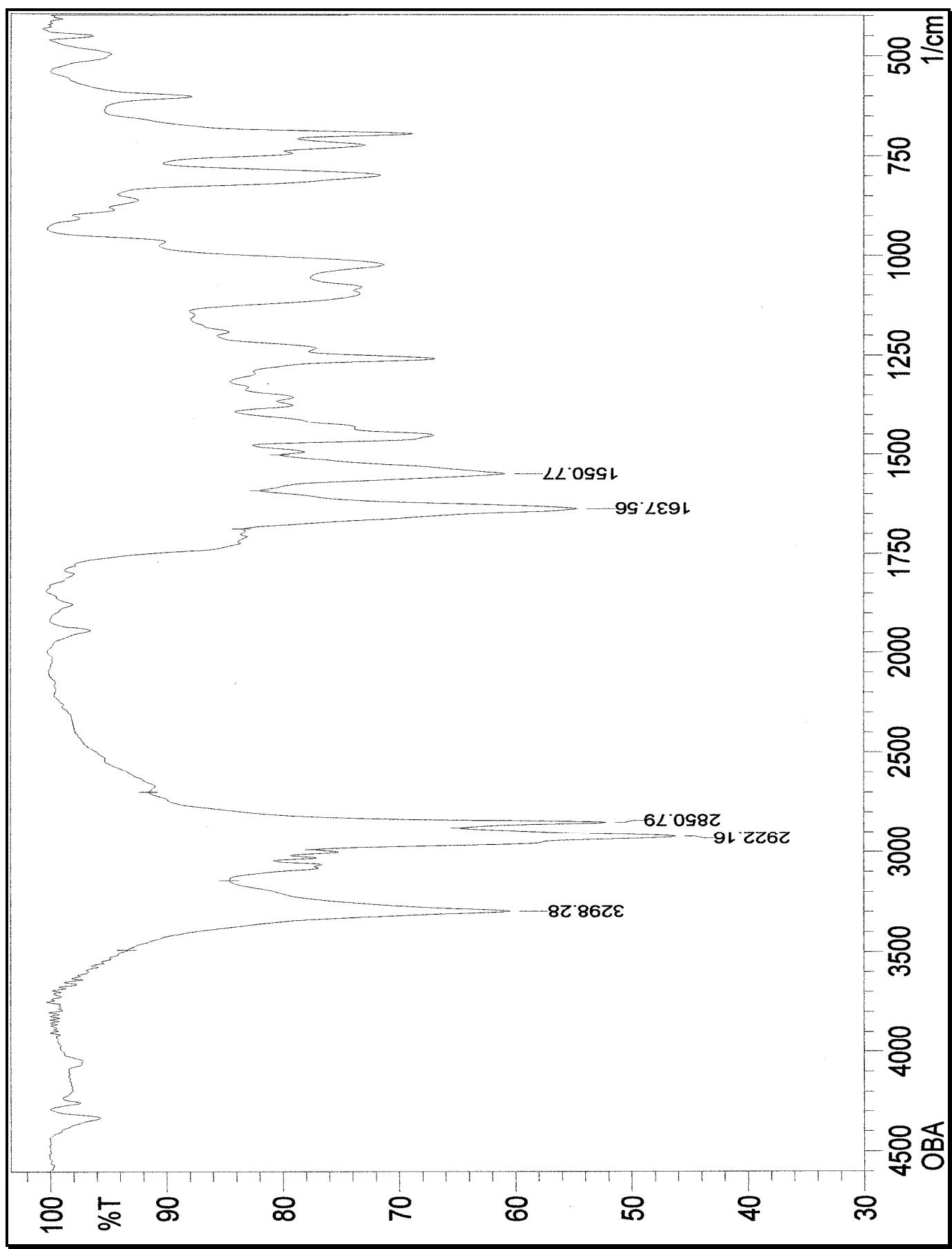


Espectro 12 – RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-octadecanamida (66b**).**

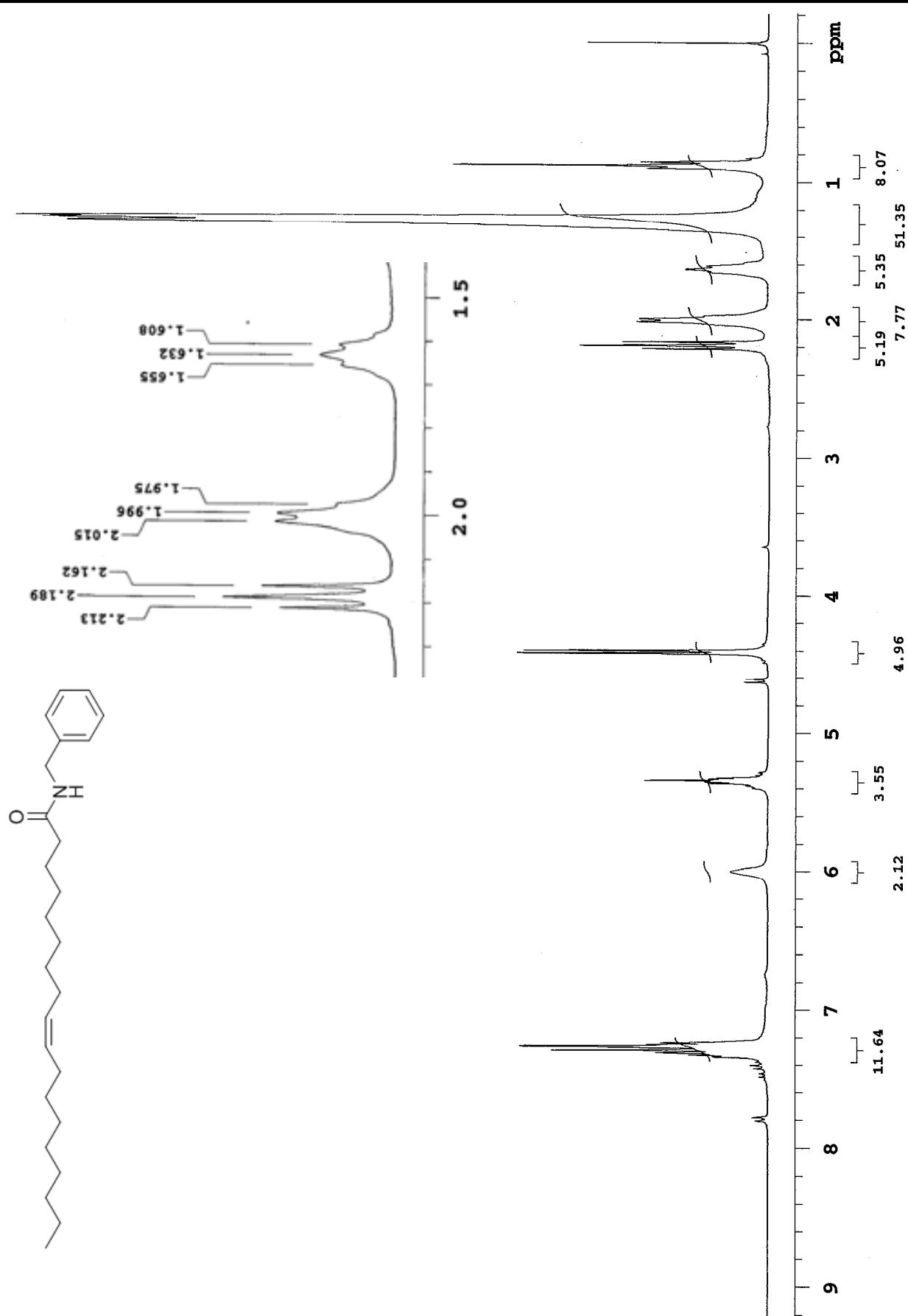




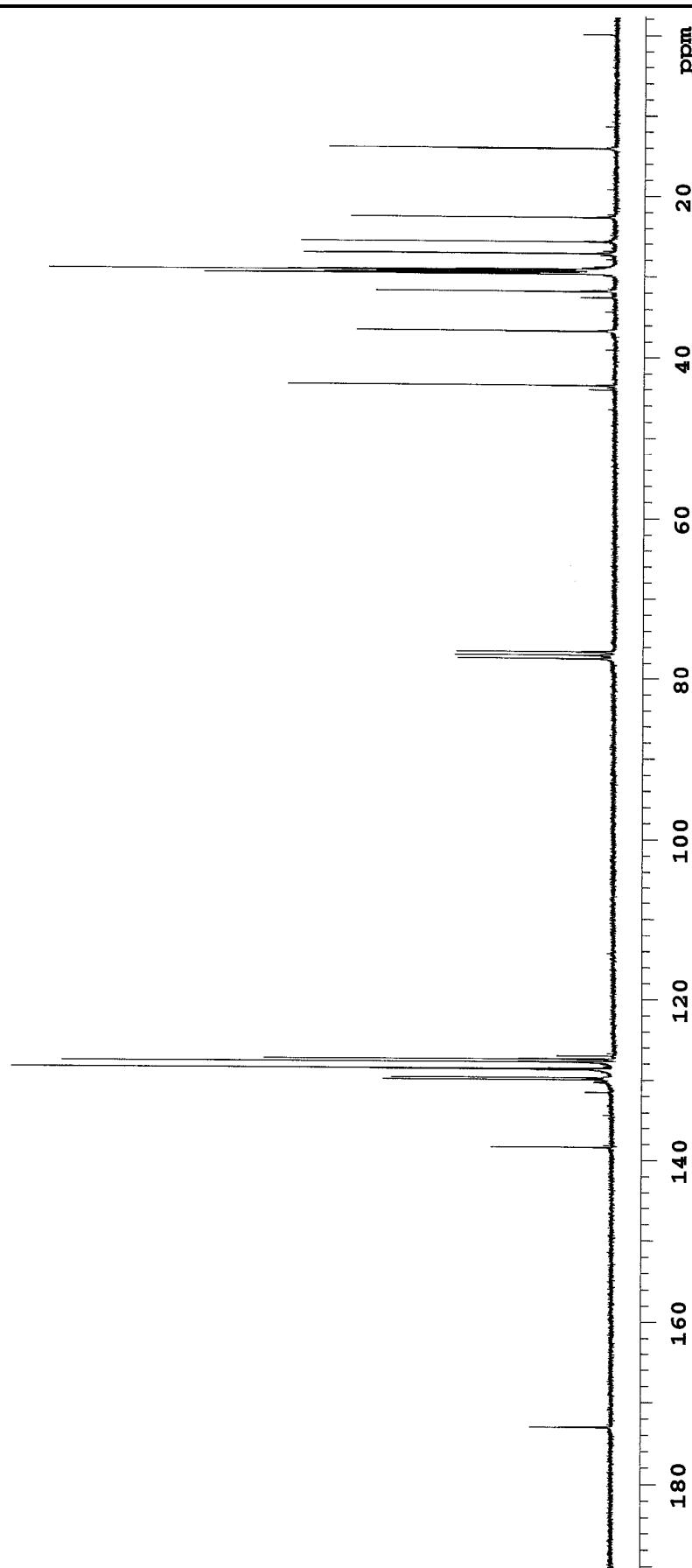
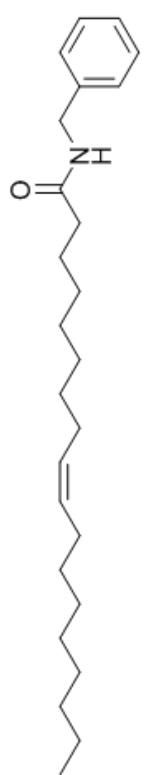
Espectro 13 – GC-MS da *N*-benzil-octadecanamida (66b**).**



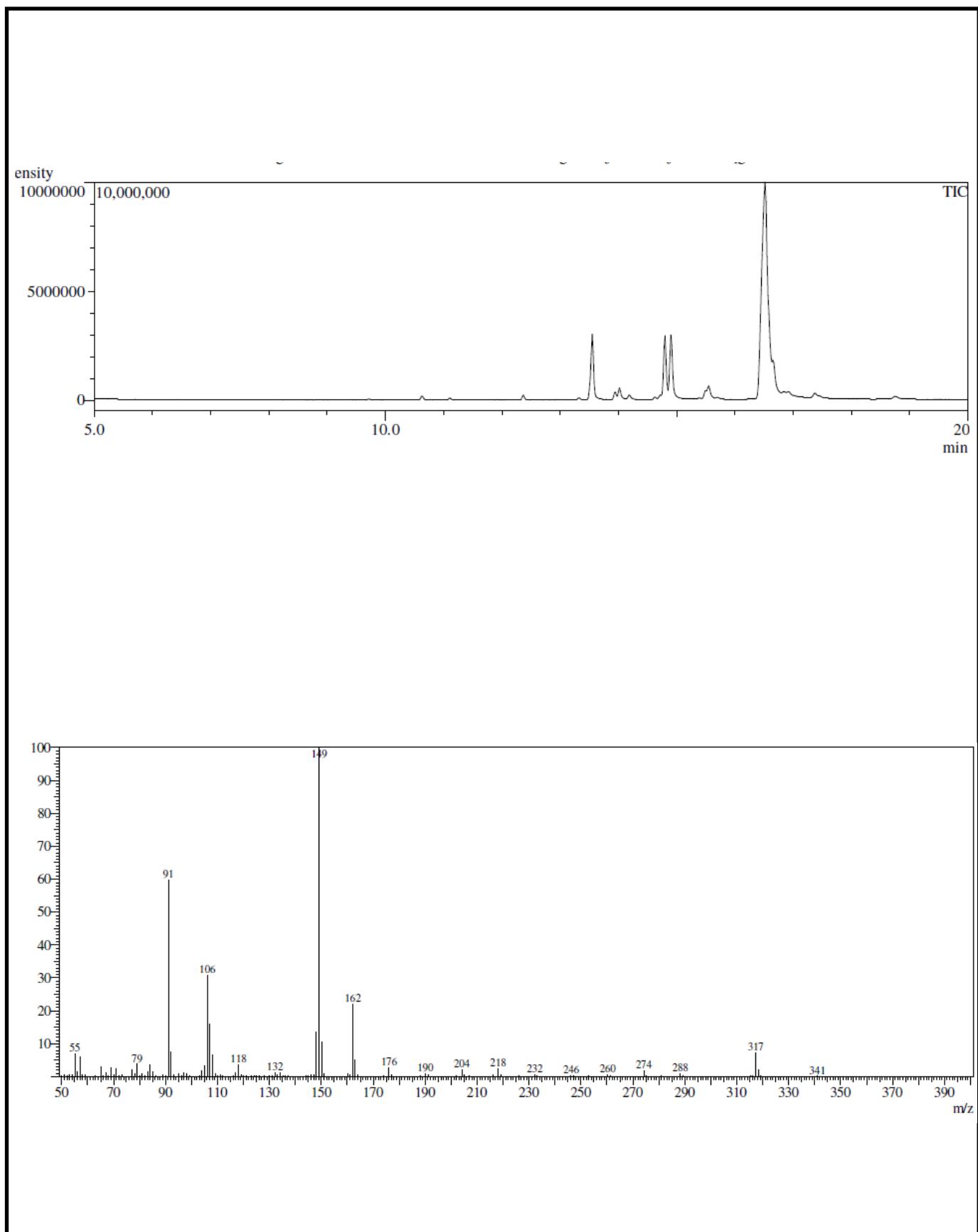
Espectro 14 – I.V. (Kbr) da *N*-benzil-9-Z-octadecenamida (**66c**).



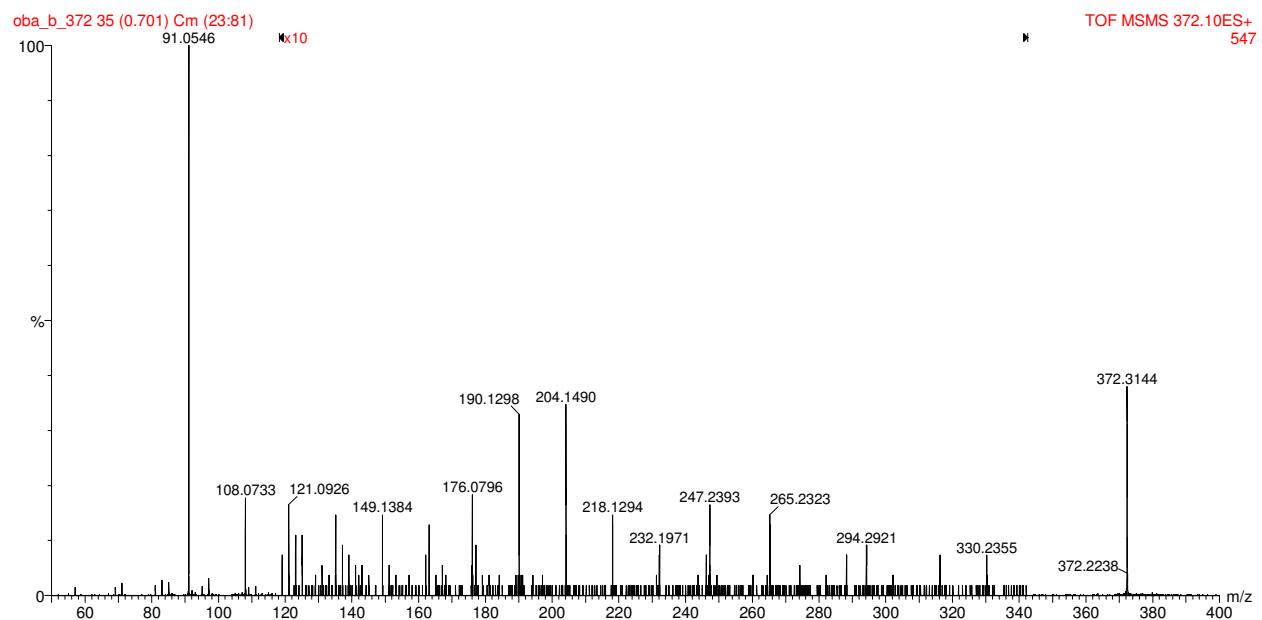
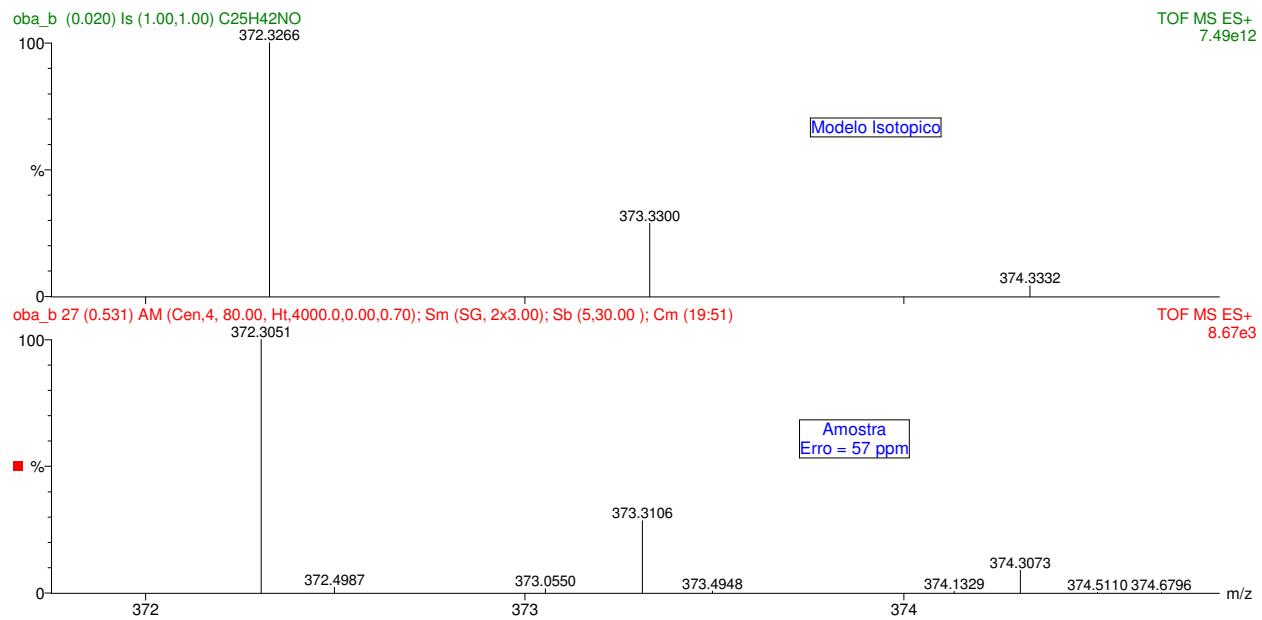
Espectro 15 – RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-9-*Z*-octadecenamida (**66c**).



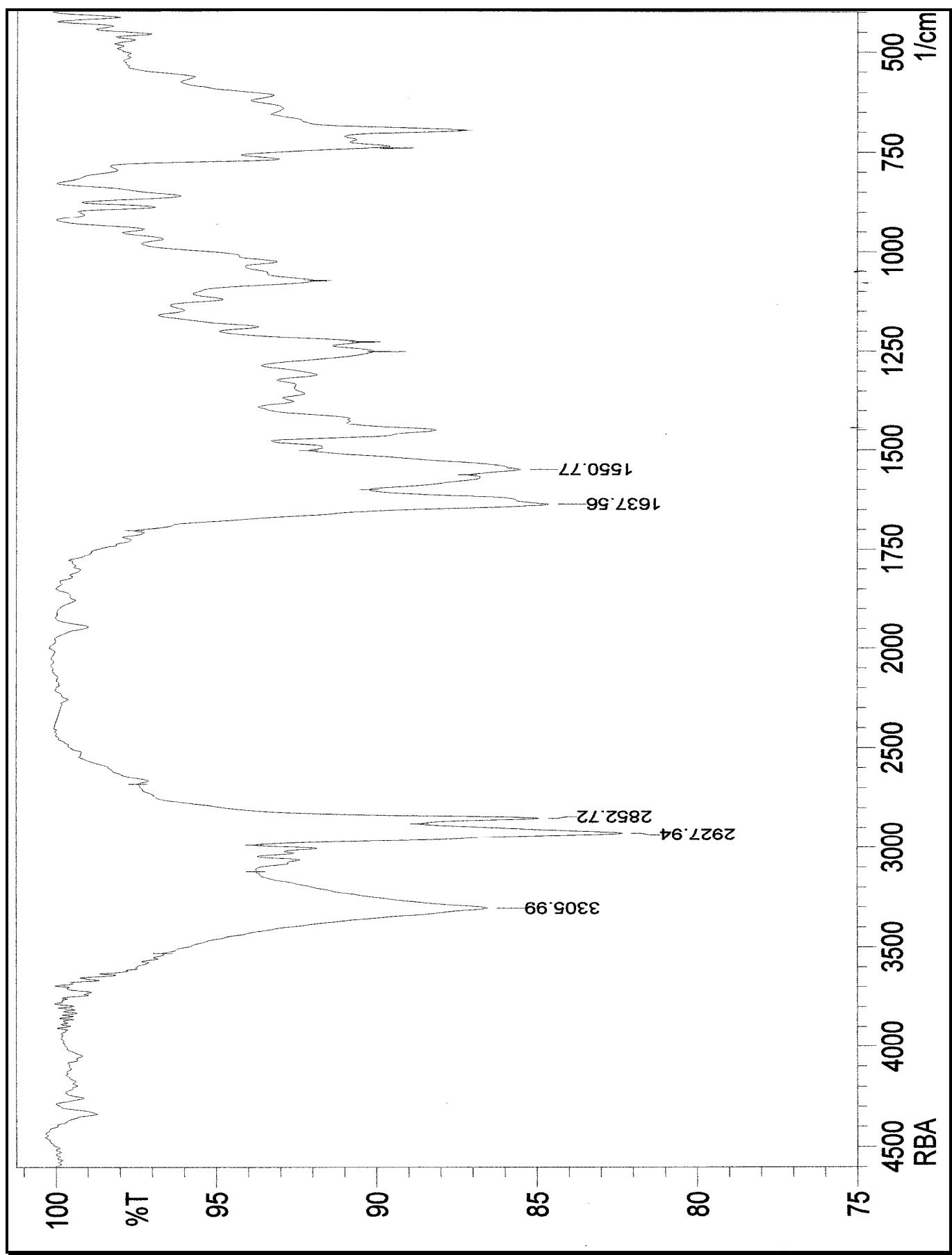
Espectro 16 – RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-9-*Z*-octadecenamida (**66c**).



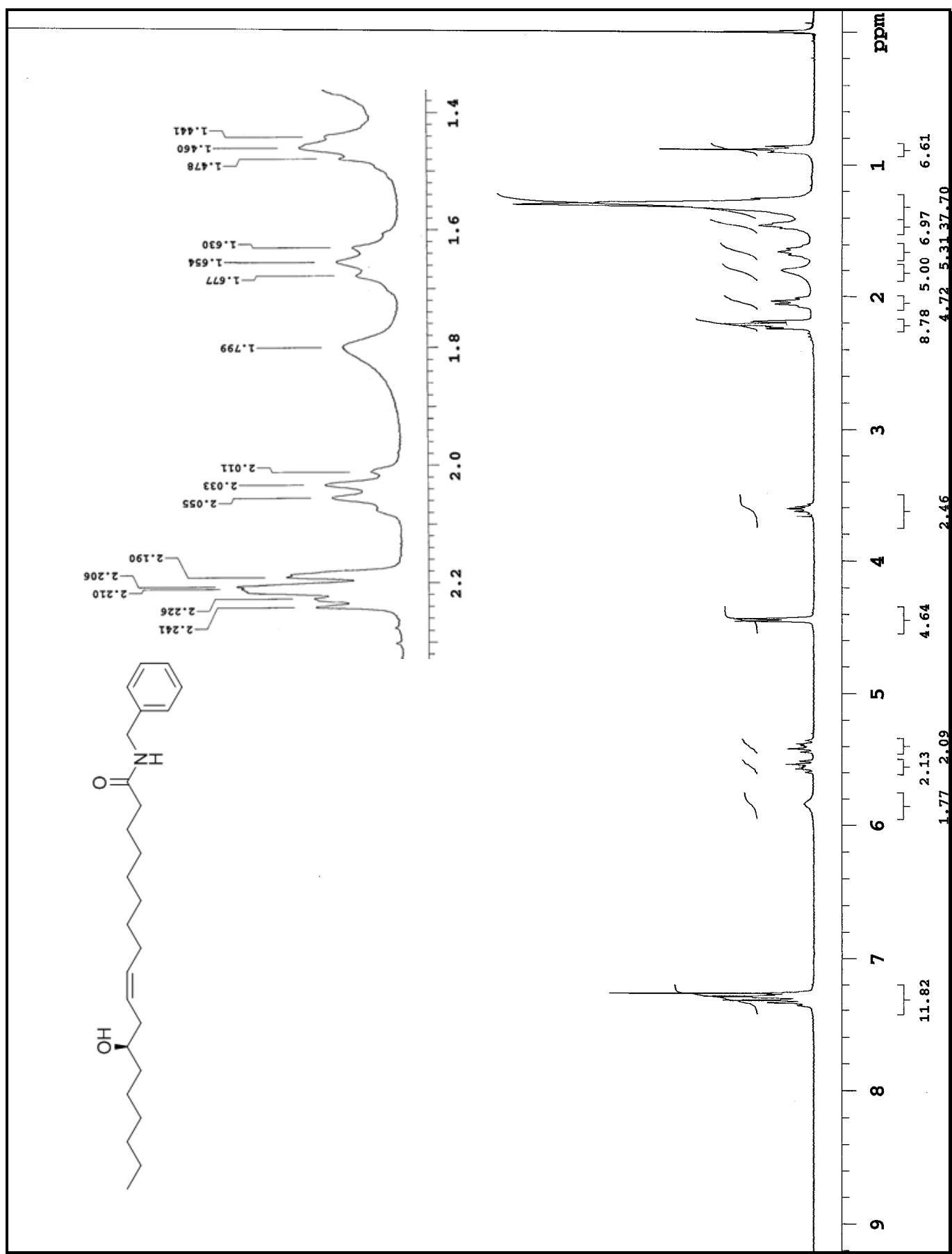
Espectro 17 – GC-MS da *N*-benzil-9-*Z*-octadecenamida (66c**).**



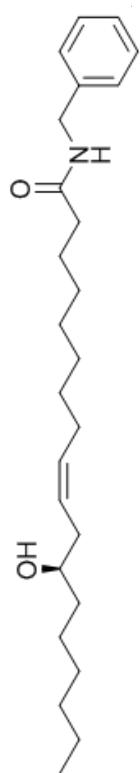
Espectro 18 – ESI-MS/MS da *N*-benzil-9-Z-octadecenamida (66c**).**



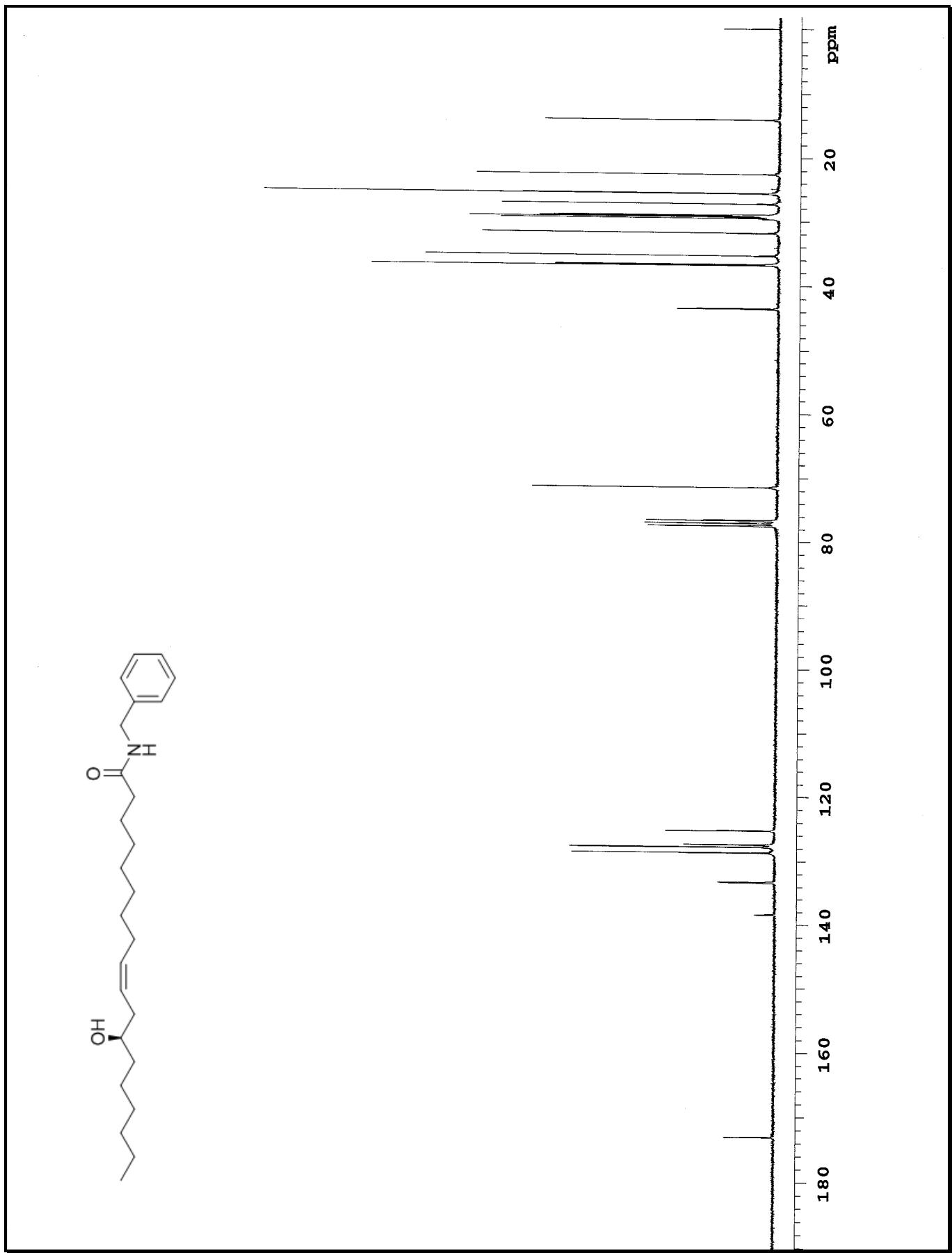
Espectro 19 – I.V. (KBr) da *N*-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (**66d**).

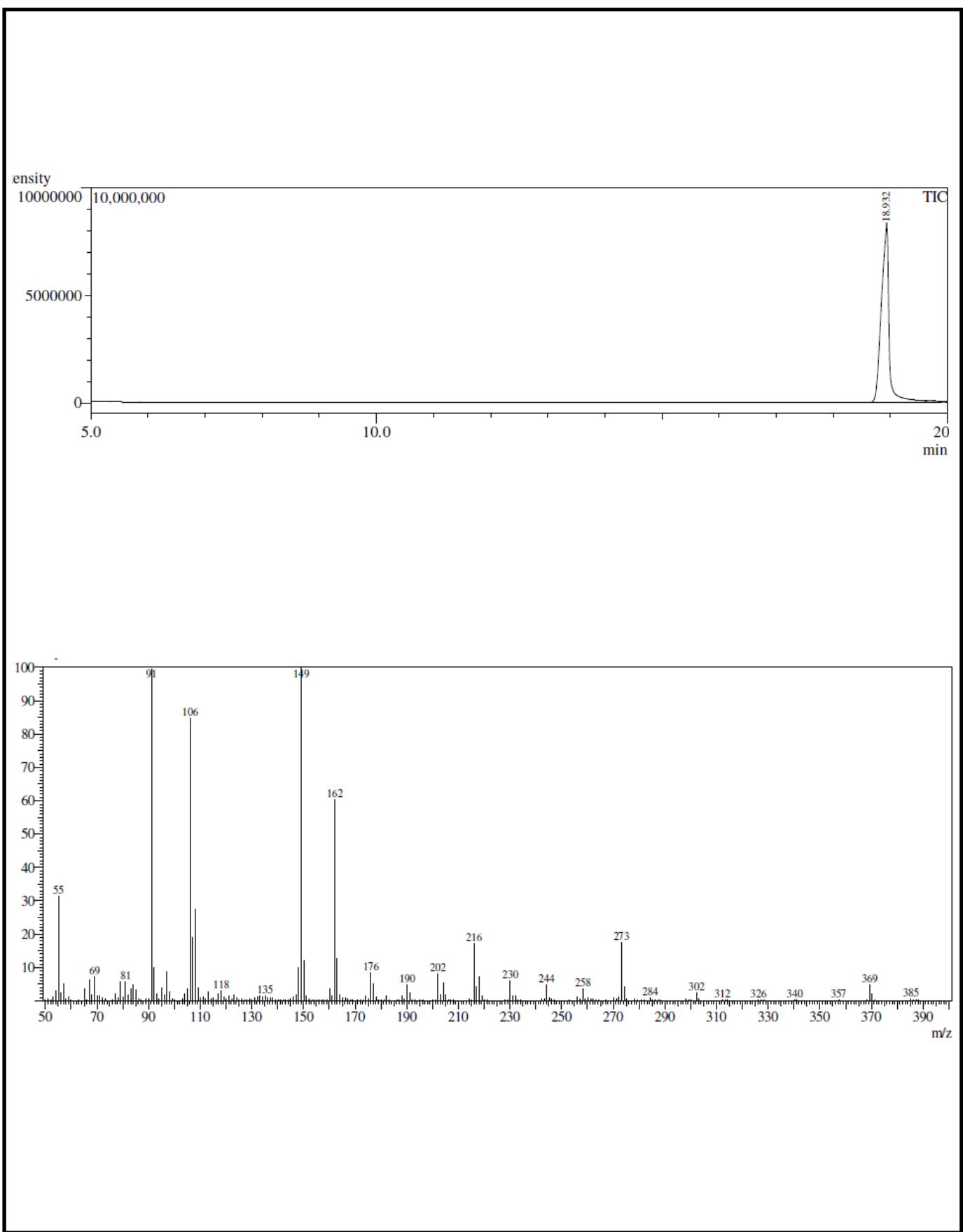


Espectro 20 – RMN 1H (300 Hz, CDCl₃) da N-benzil-12-hidróxi-9-Z-ctadecenamida (66d).

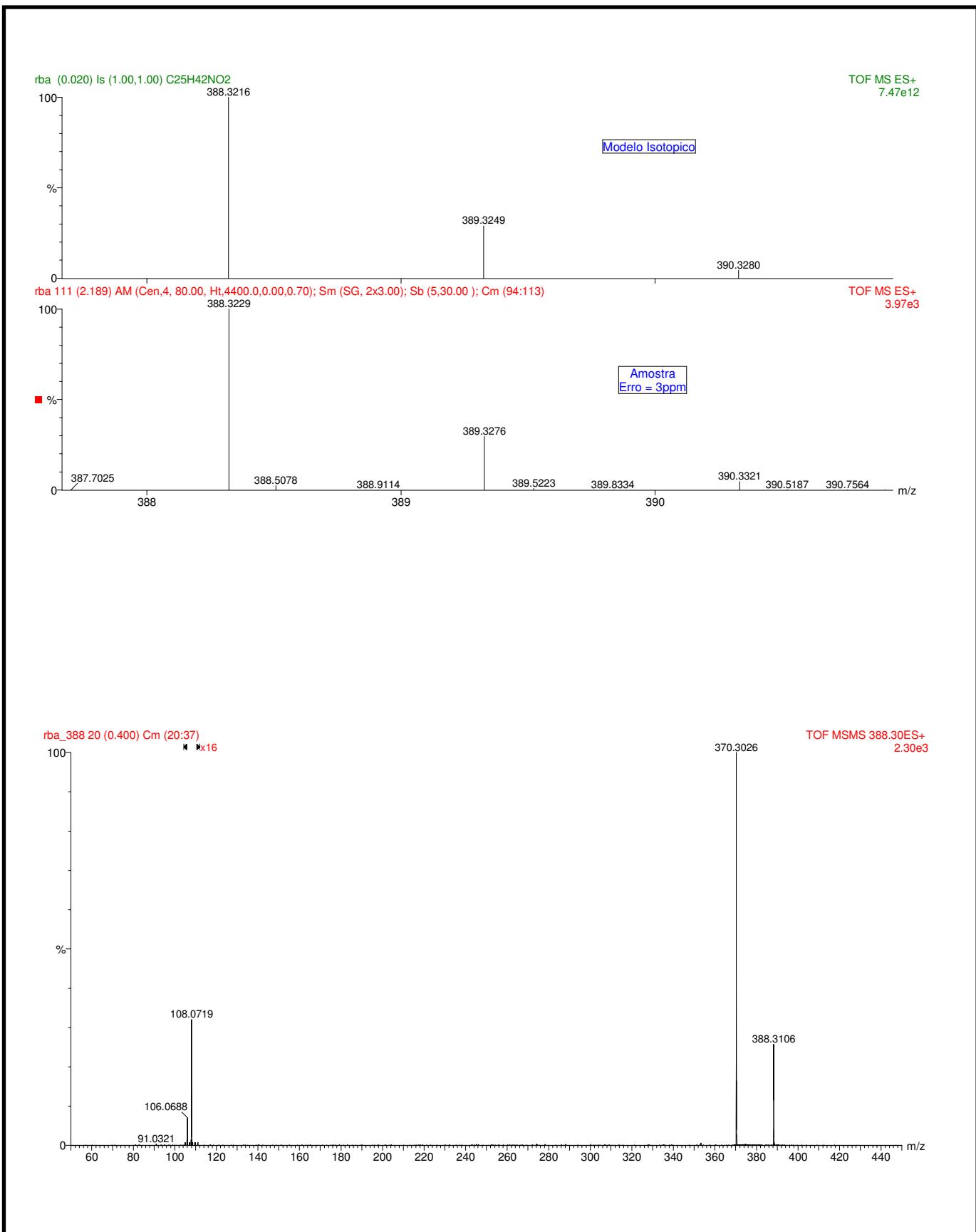


Espectro 21 – RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (**66d**).

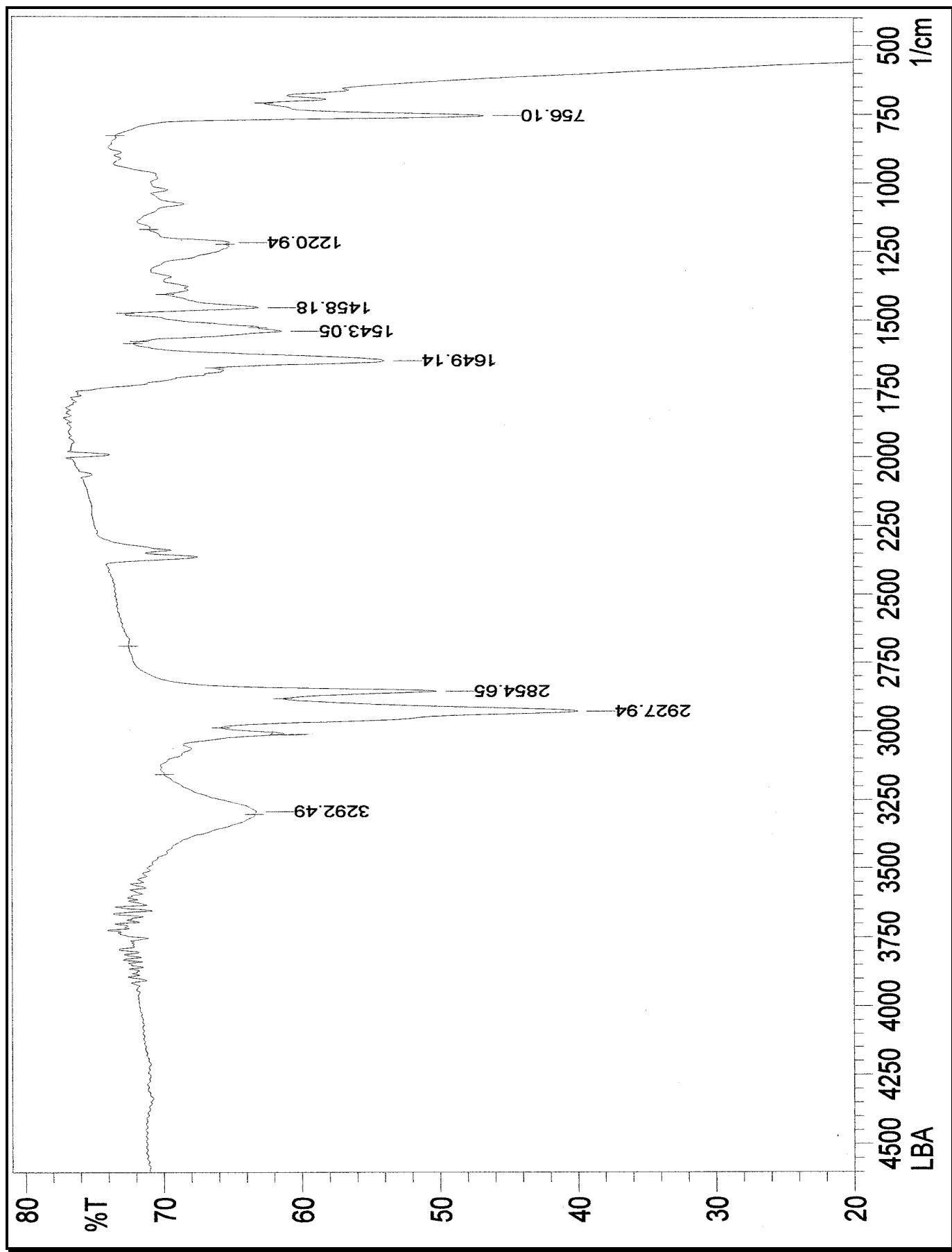




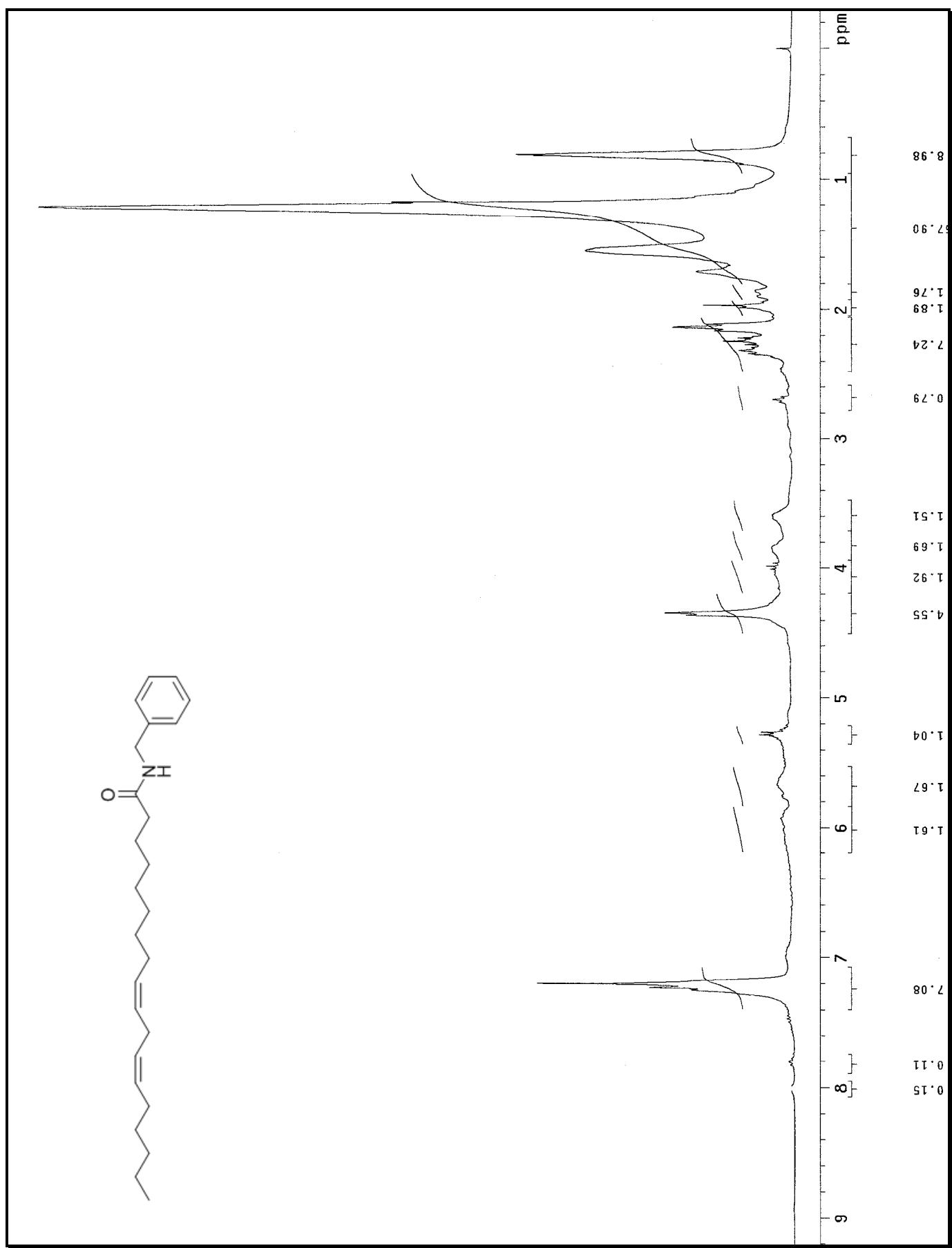
Espectro 22 – GC-MS da *N*-benzil-12-hidróxi-9-*Z*-octadecenamida (66d**).**



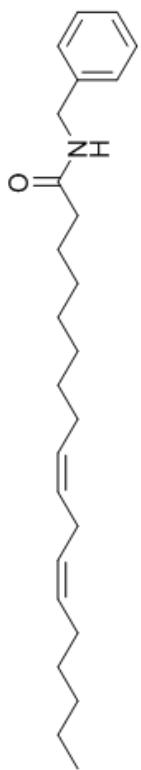
Espectro 23 – ESI-MS/MS da *N*-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (66d**).**



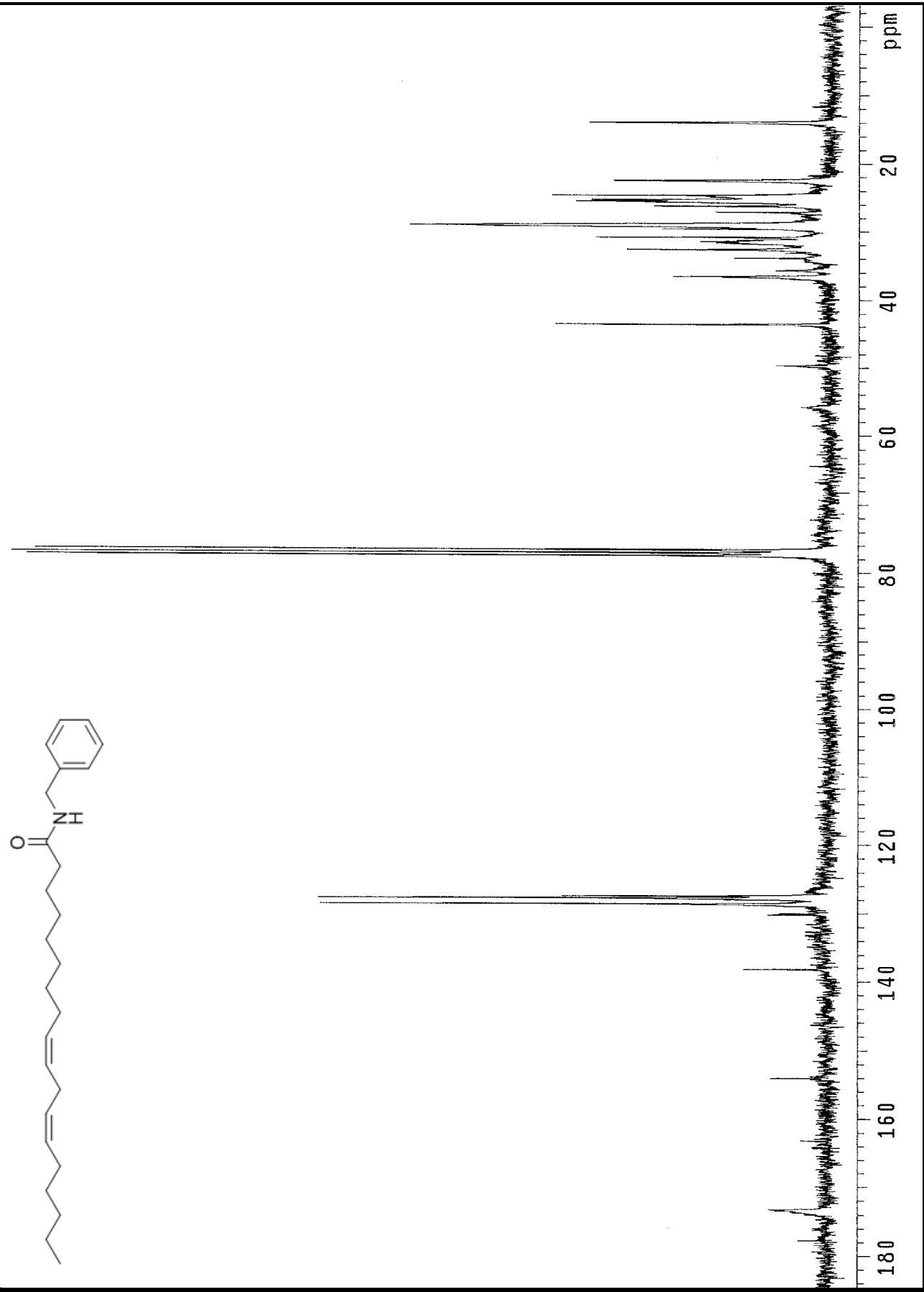
Espectro 24 – I.V. (NaCl, filme) da *N*-benzil-9,12-*Z*-octadidecena-10,14-dioica (66e).

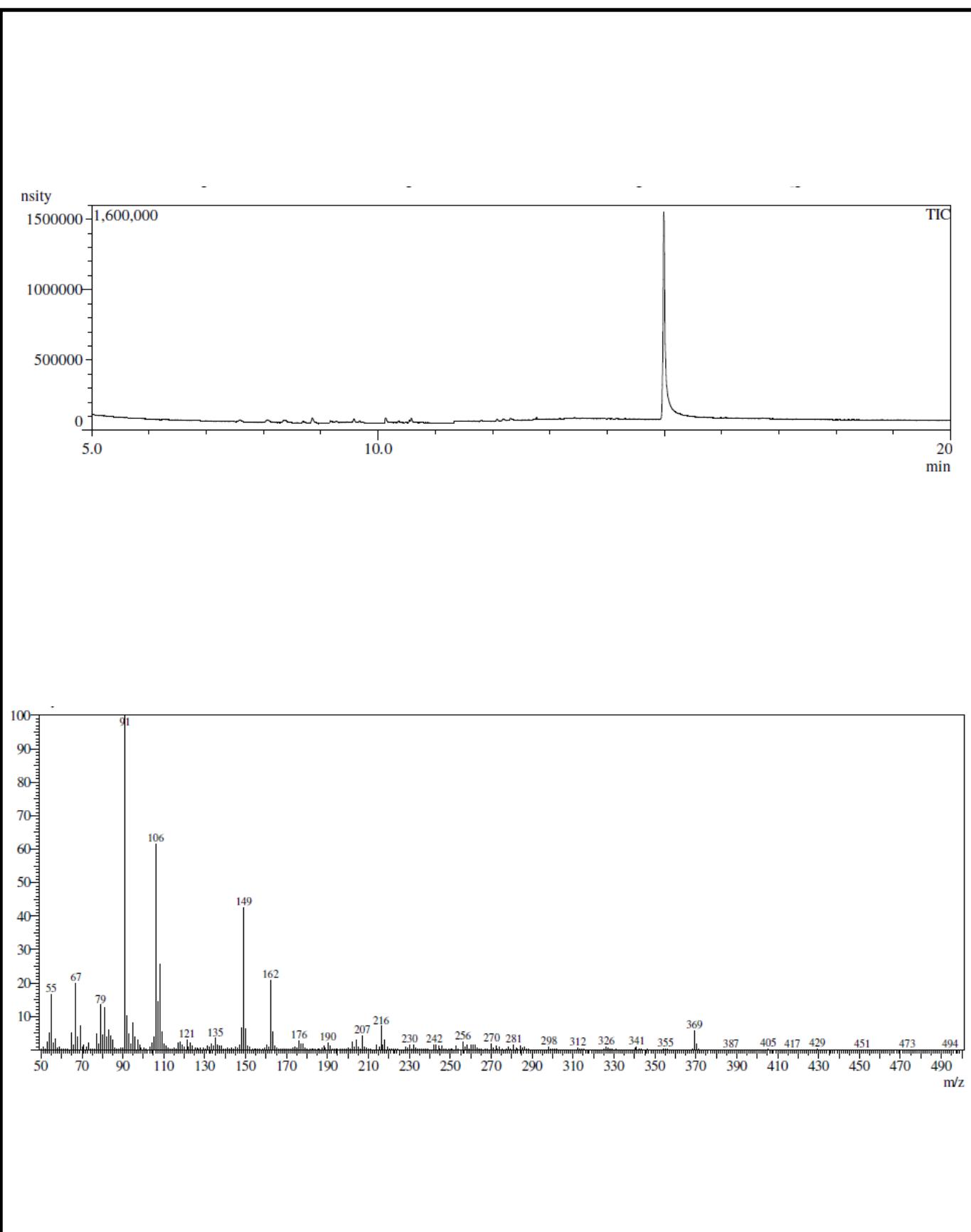


Espectro 25 – RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-9,12-*Z*-octadidecenamida (**66e**).

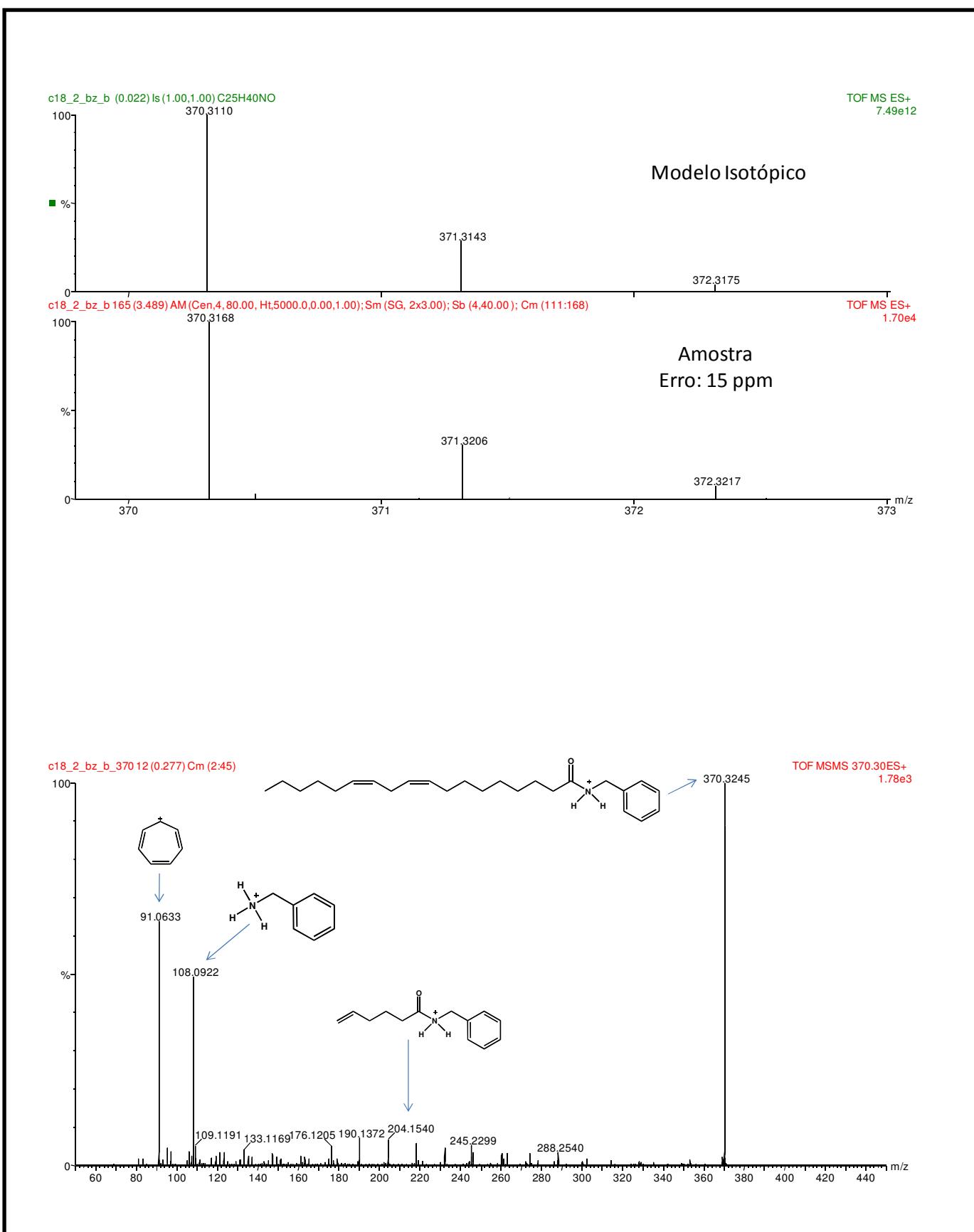


Espectro 26 – RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da *N*-benzil-9,12-*Z*-octadidecnamida (**66e**).

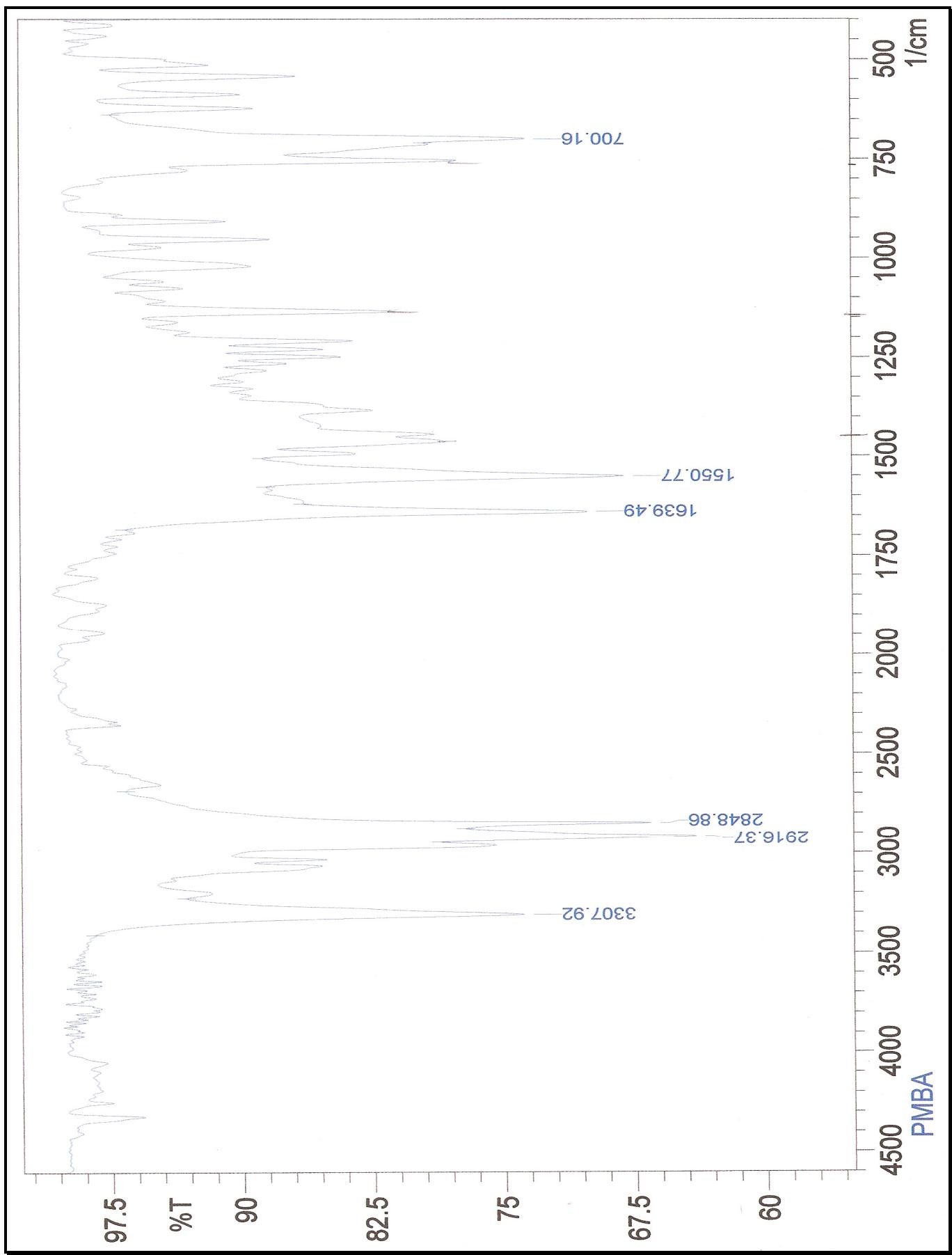




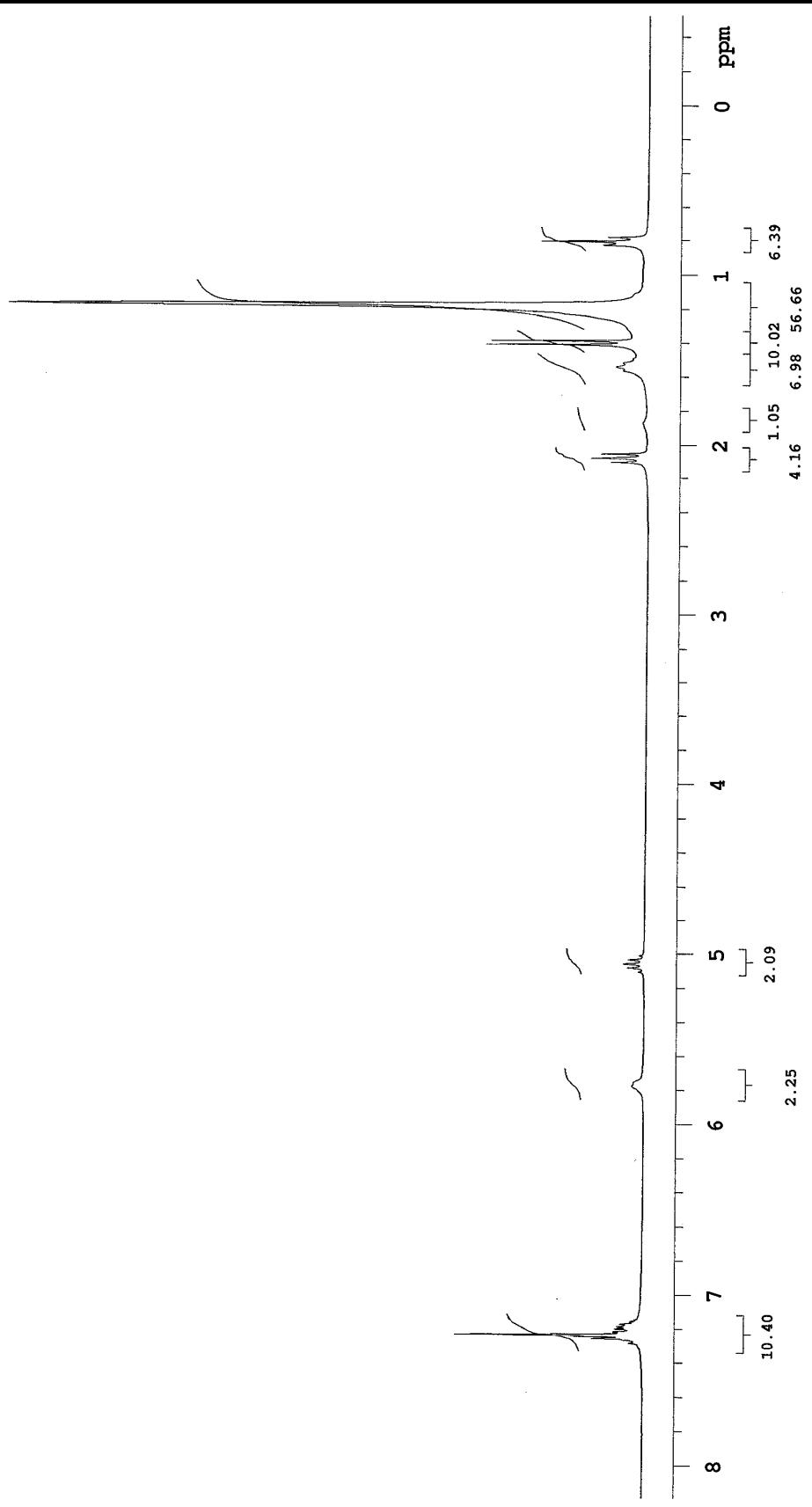
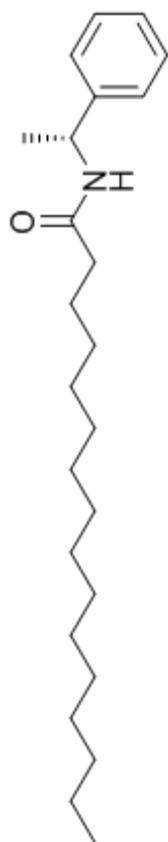
Espectro 27 – GC-MS da *N*-benzil-9,12-*Z*-octadidecnamida (66e**).**



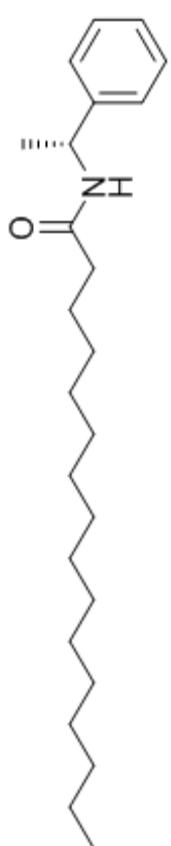
Espectro 28 – ESI-MS/MS da *N*-benzil-9,12-*Z*-octadidecnamida (66e**).**



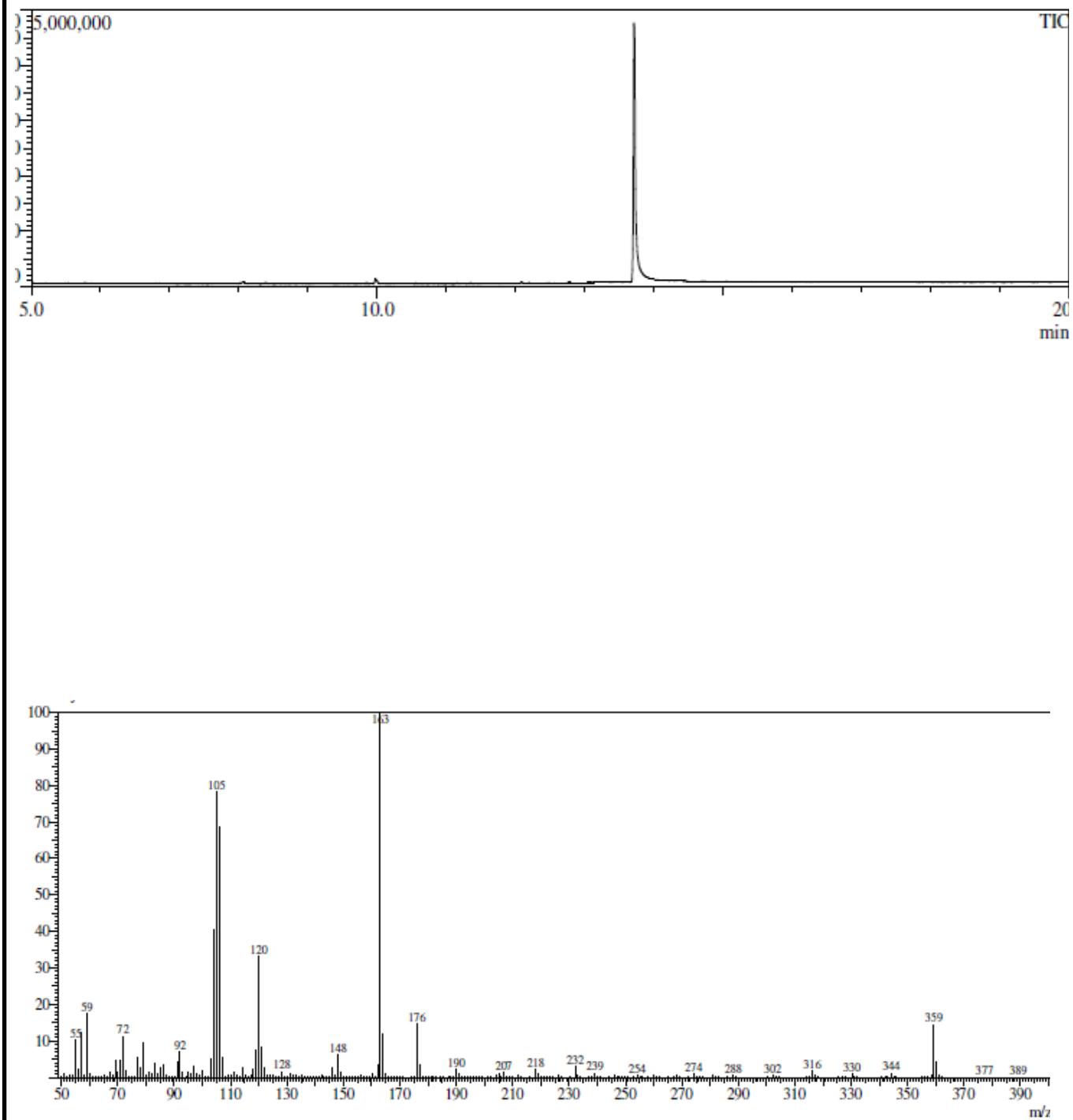
Espectro 29 – I.V. (Kbr) da α -metil-*N*-benzil-hexadecanamida (**67a**).



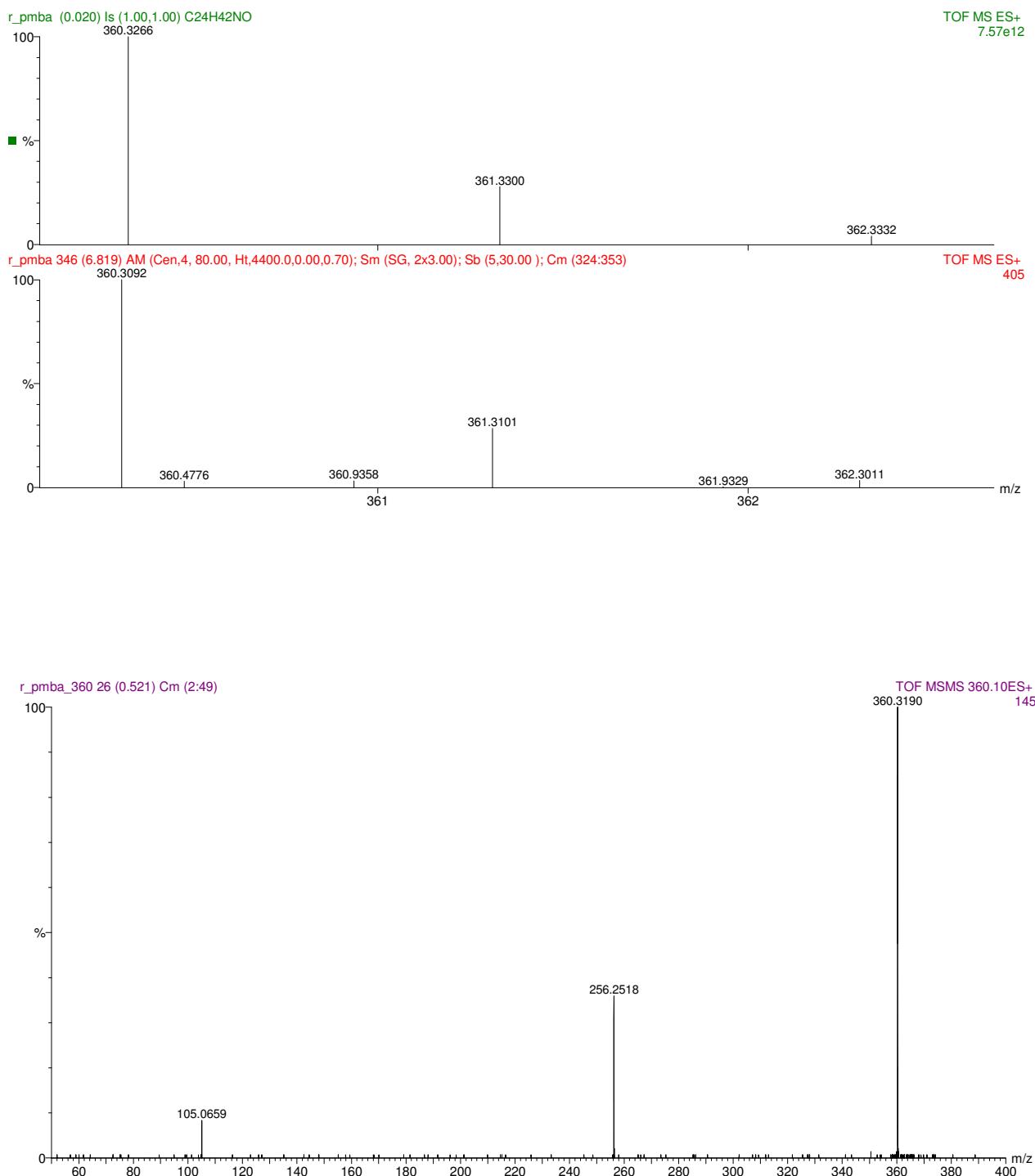
Espectro 30 – RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da α -metil- N -benzil-hexadecanamida (**67a**).



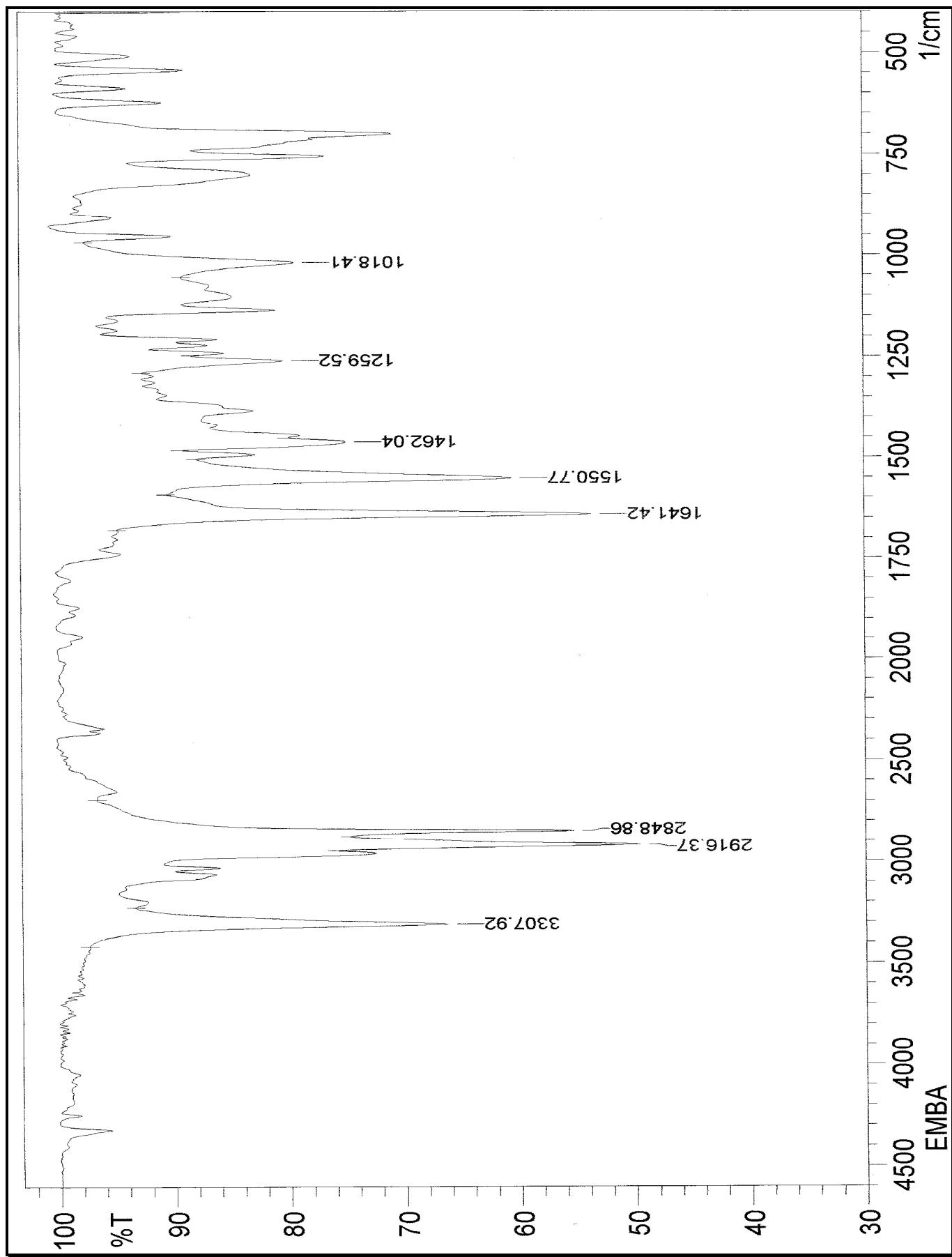
Espectro 31 - RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da α -metil- N -benzil-hexadecanamida (**67a**).



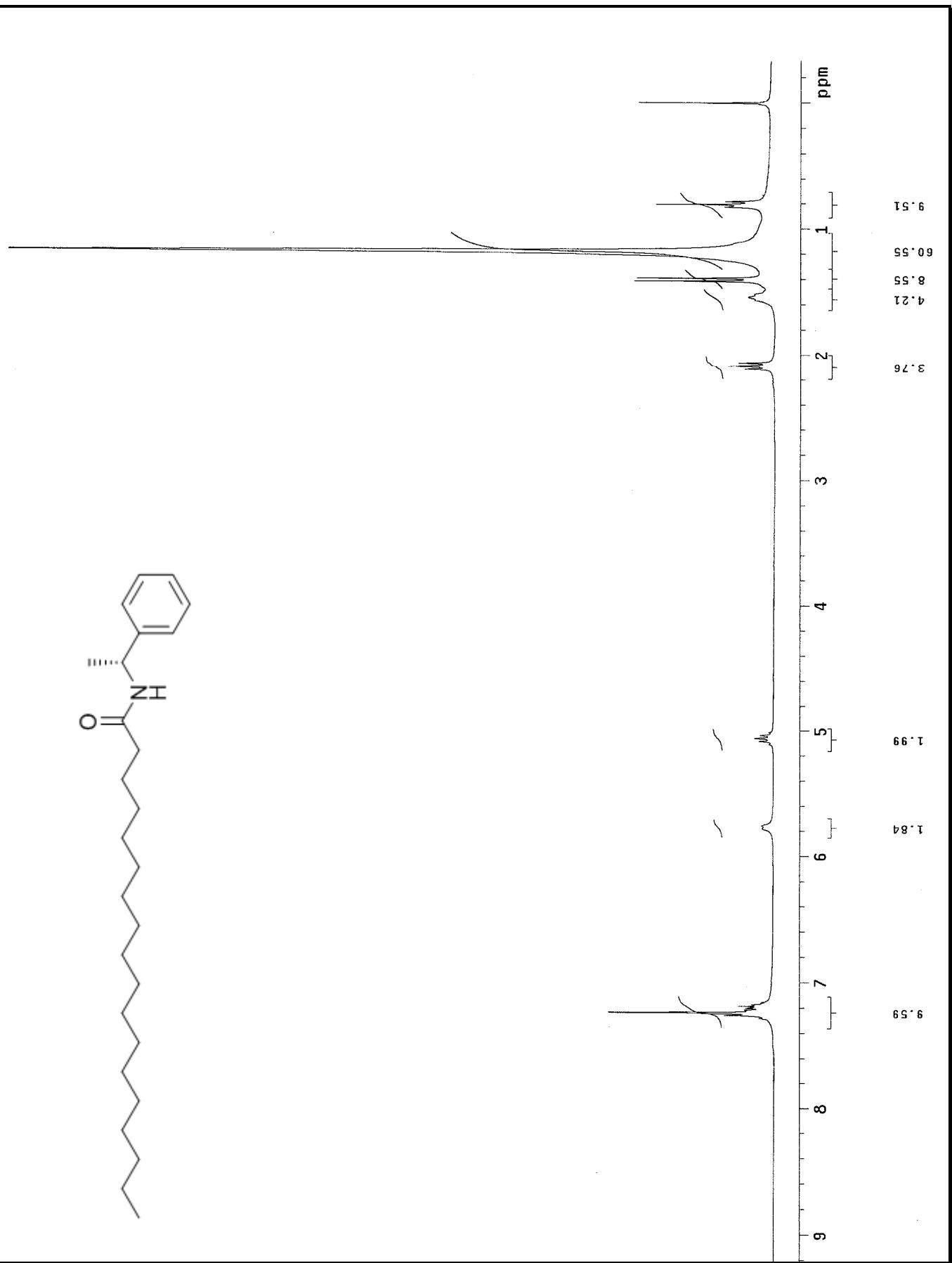
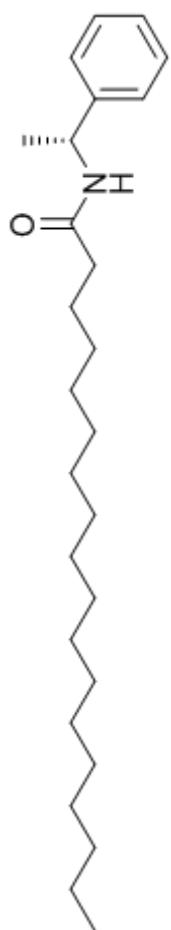
Espectro 32 – GC-MS (70 eV) da α -metil-*N*-benzil-hexadecanamida (67a**).**



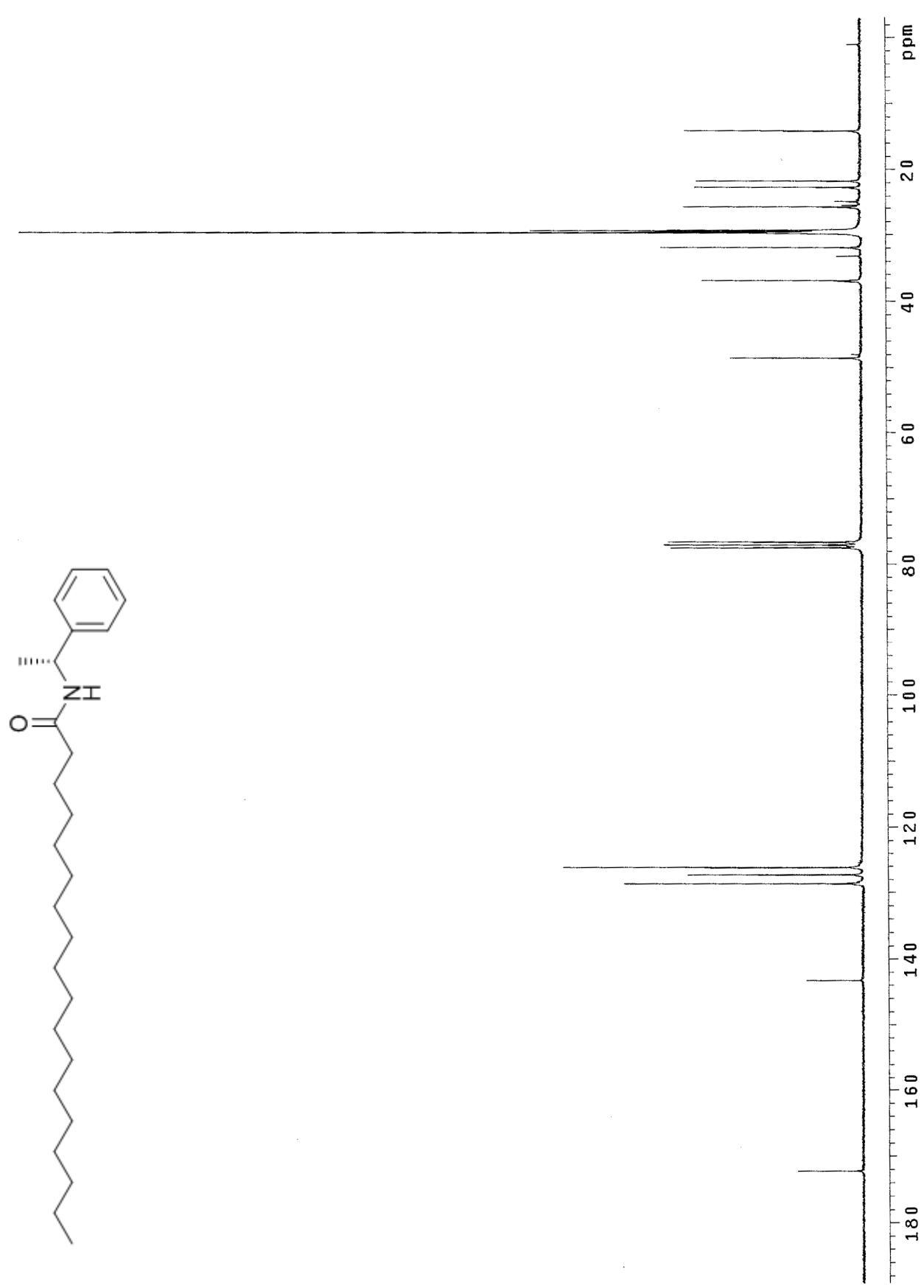
Espectro 33 – ESI-MS/MS da α -metil-N-benzil-hexadecanamida (67a**).**



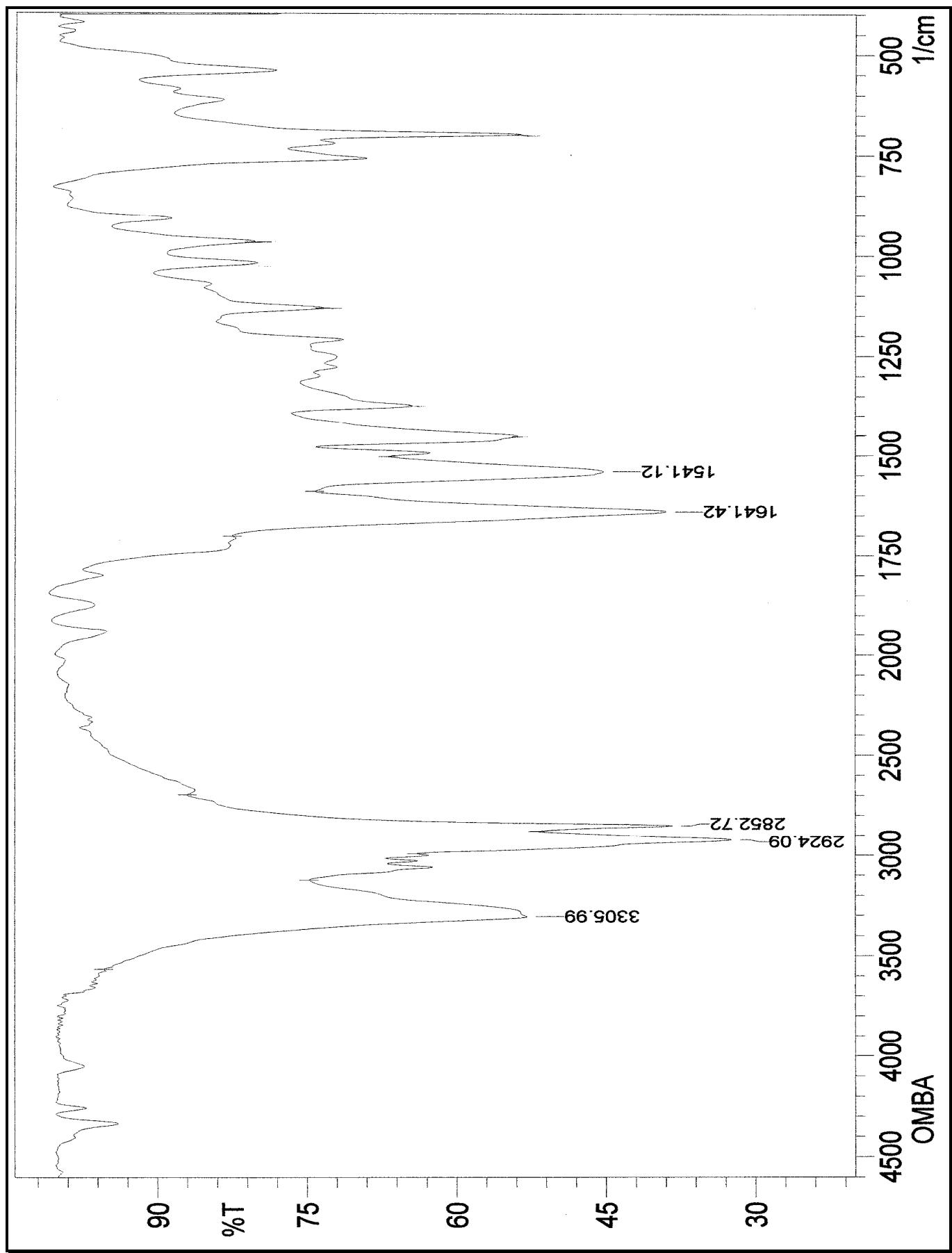
Espectro 34 – I.V. (KBr) da α -metil- N -benzil-octadecanamida (67b).



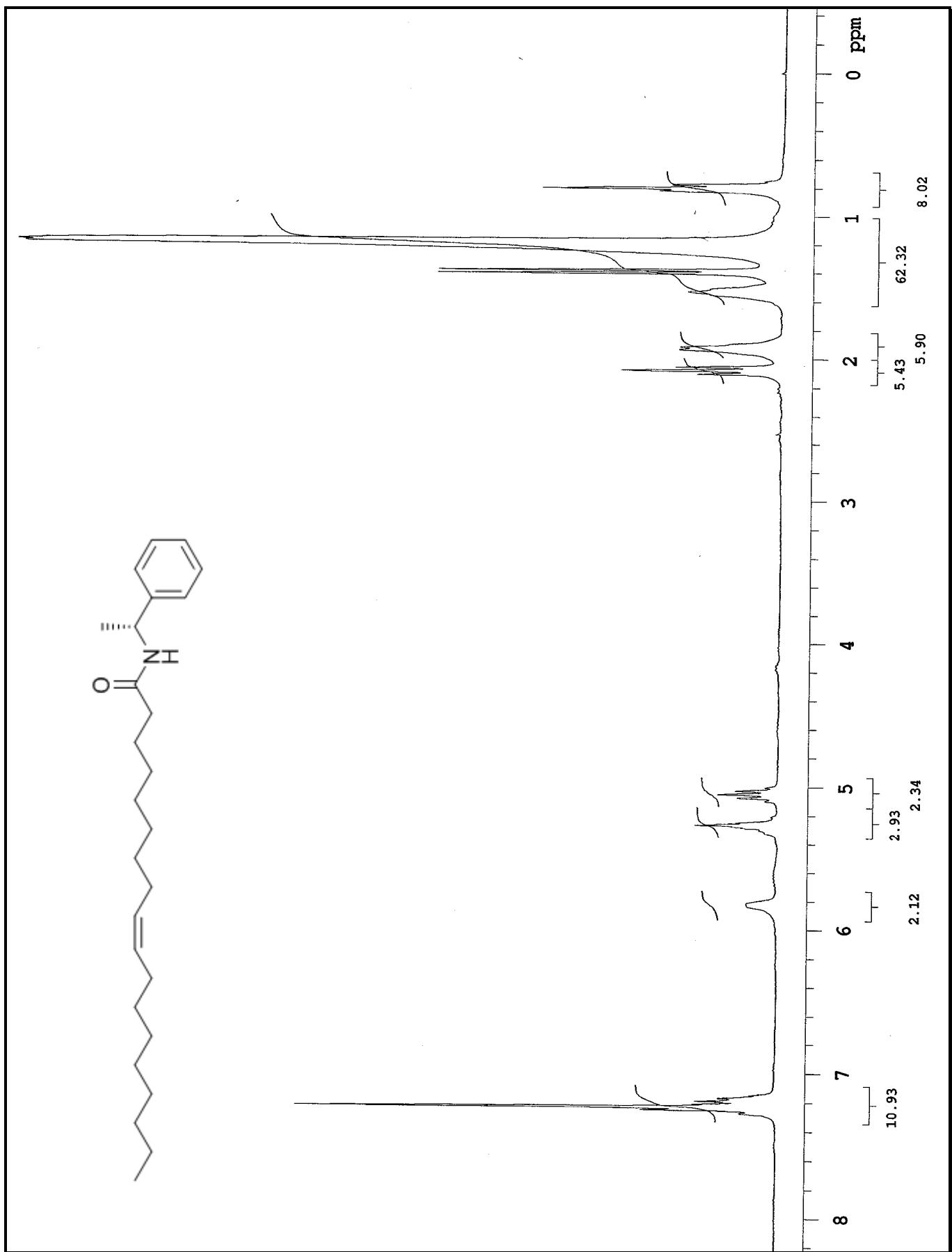
Espectro 35 – RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da α -metil- N -benzil-octadecanamida (**67b**).



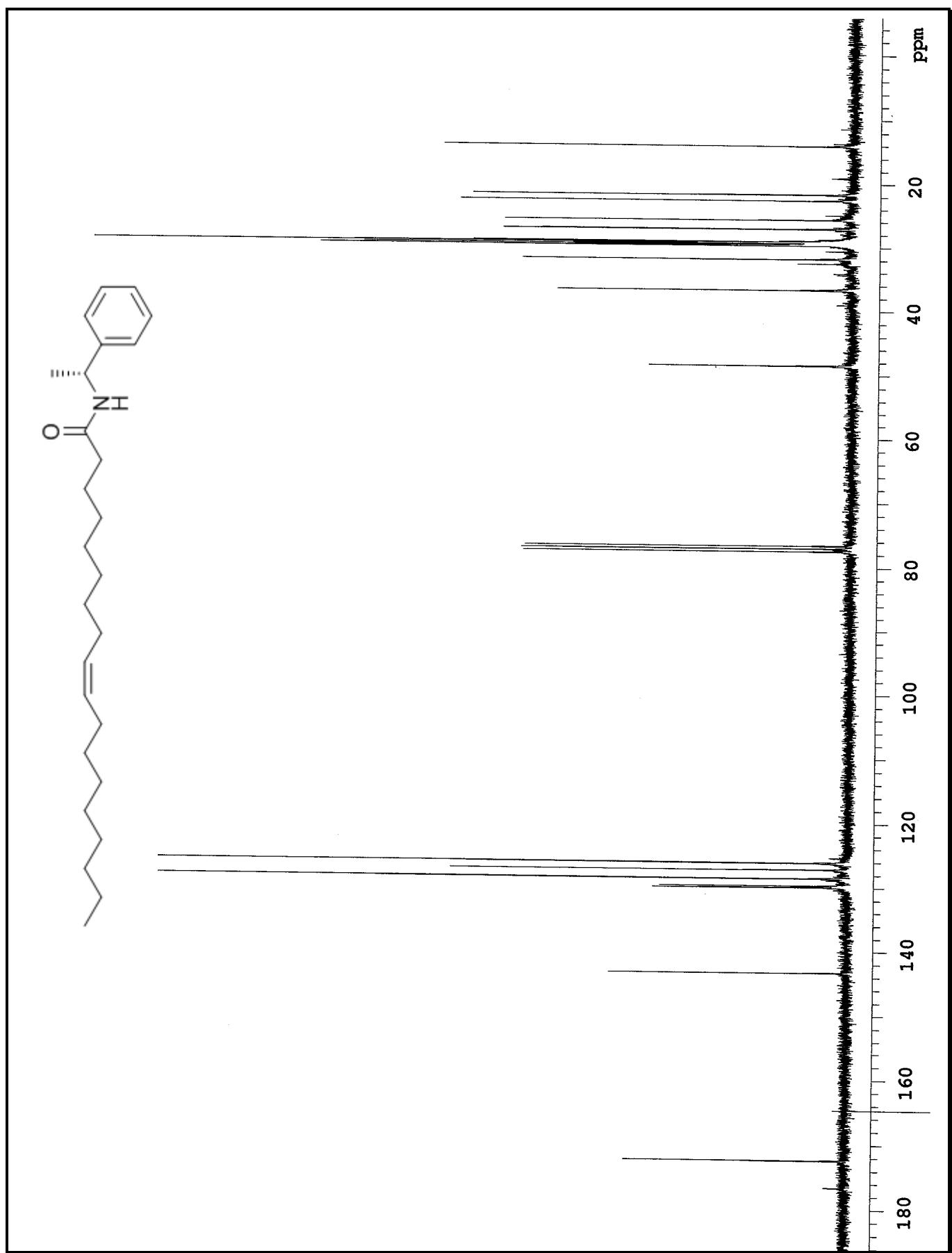
Espectro 36 – RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da α -metil- N -benzil-octadecanamida (67b**).**



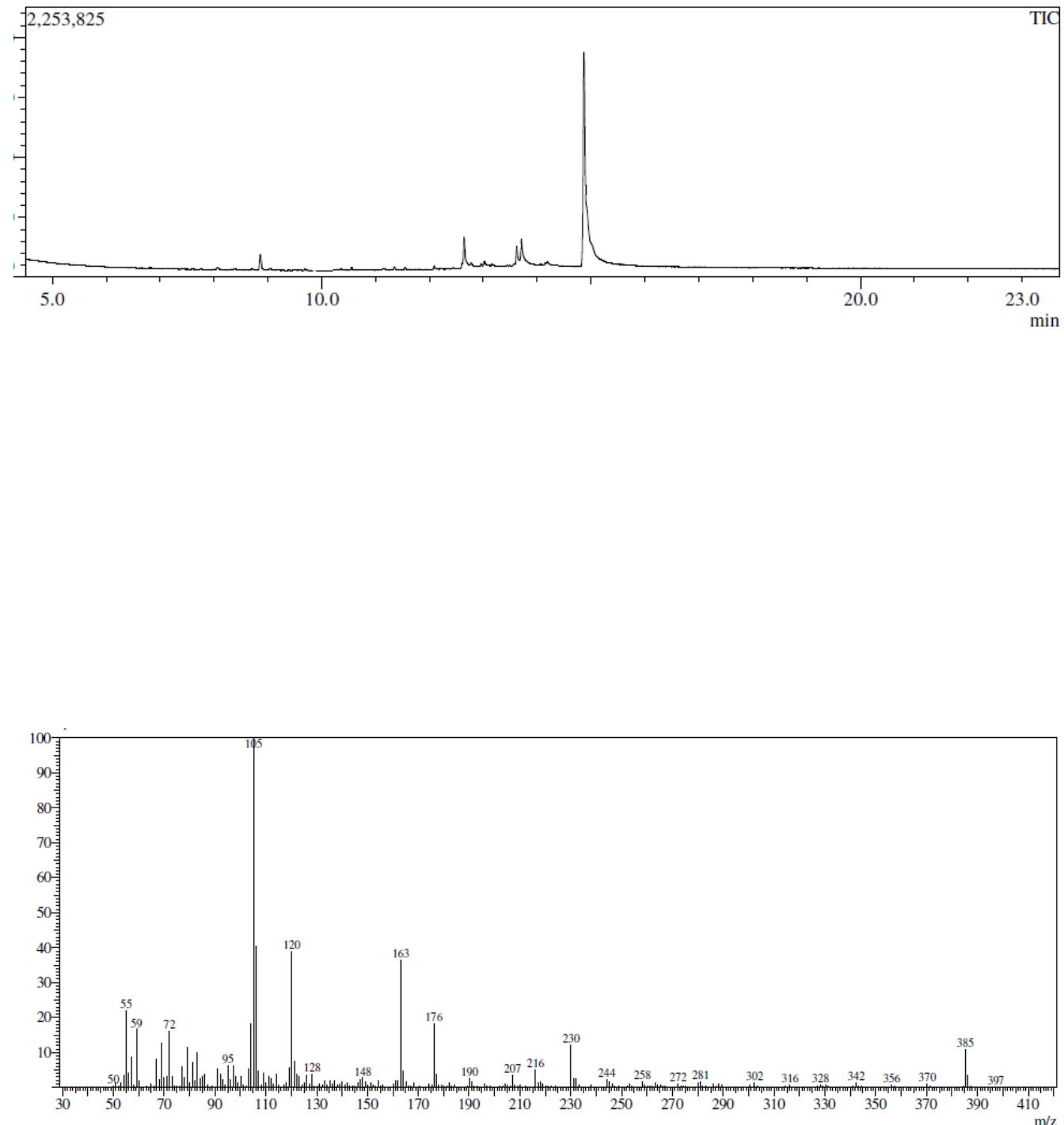
Espectro 37 – I.V. (KBr) da α -metil-*N*-benzil-9-*Z*-octadecenamida (**67c**).



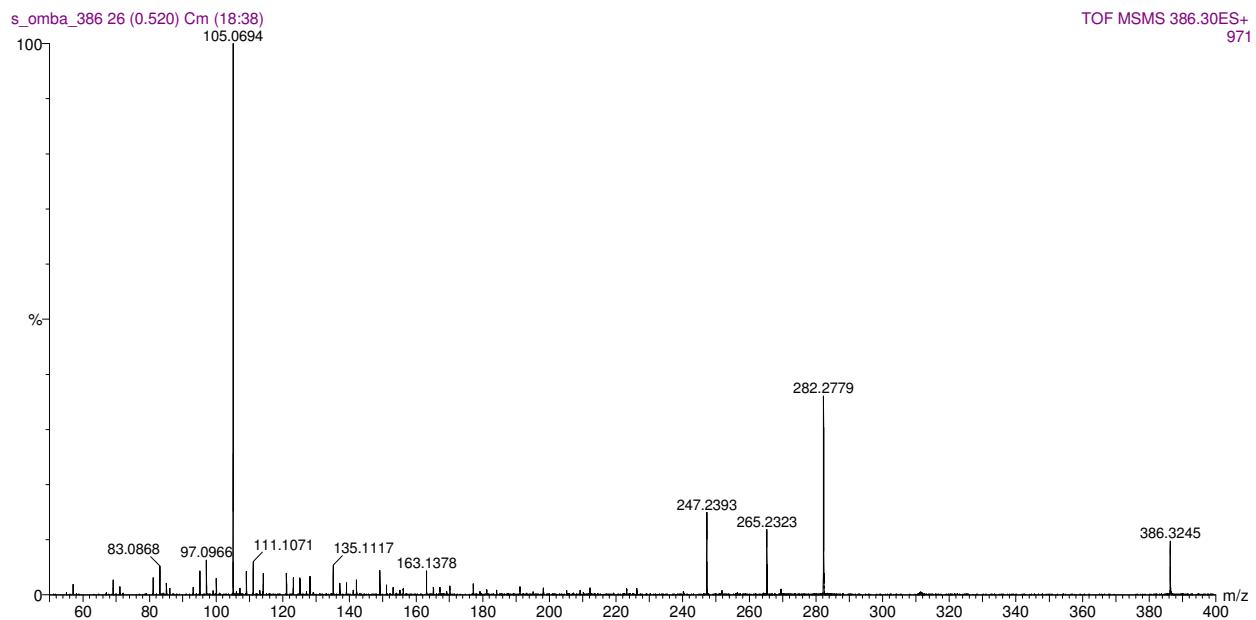
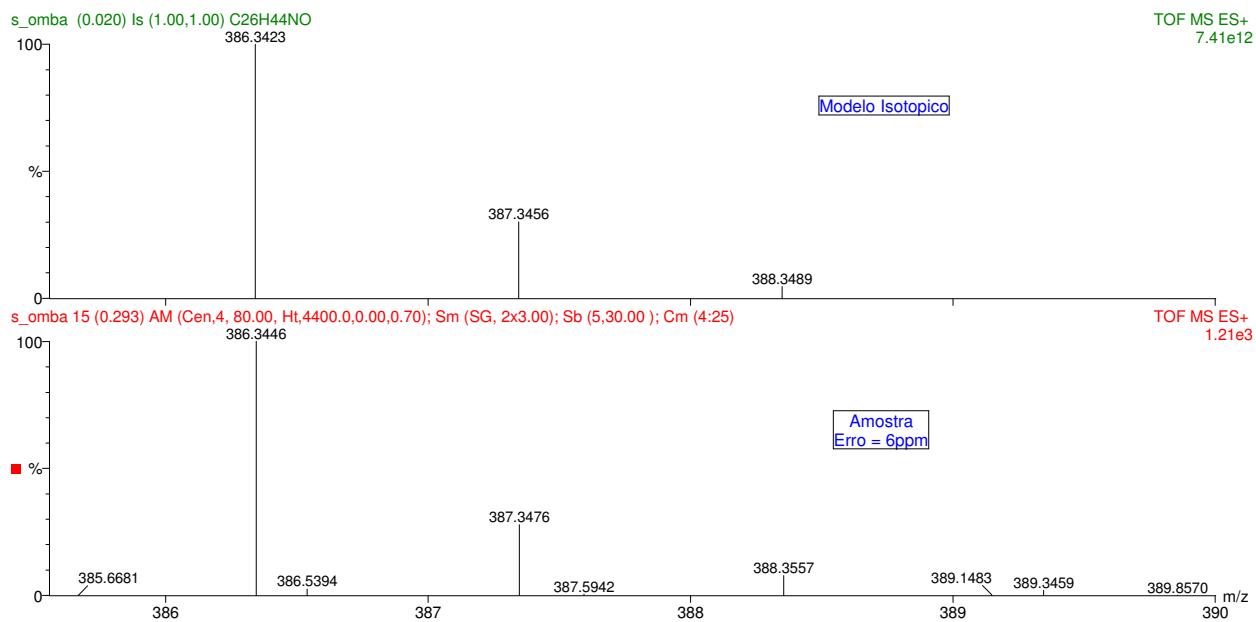
Espectro 38 – RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da α -metil- N -benzil-9- Z -octadecenamida (67c**).**



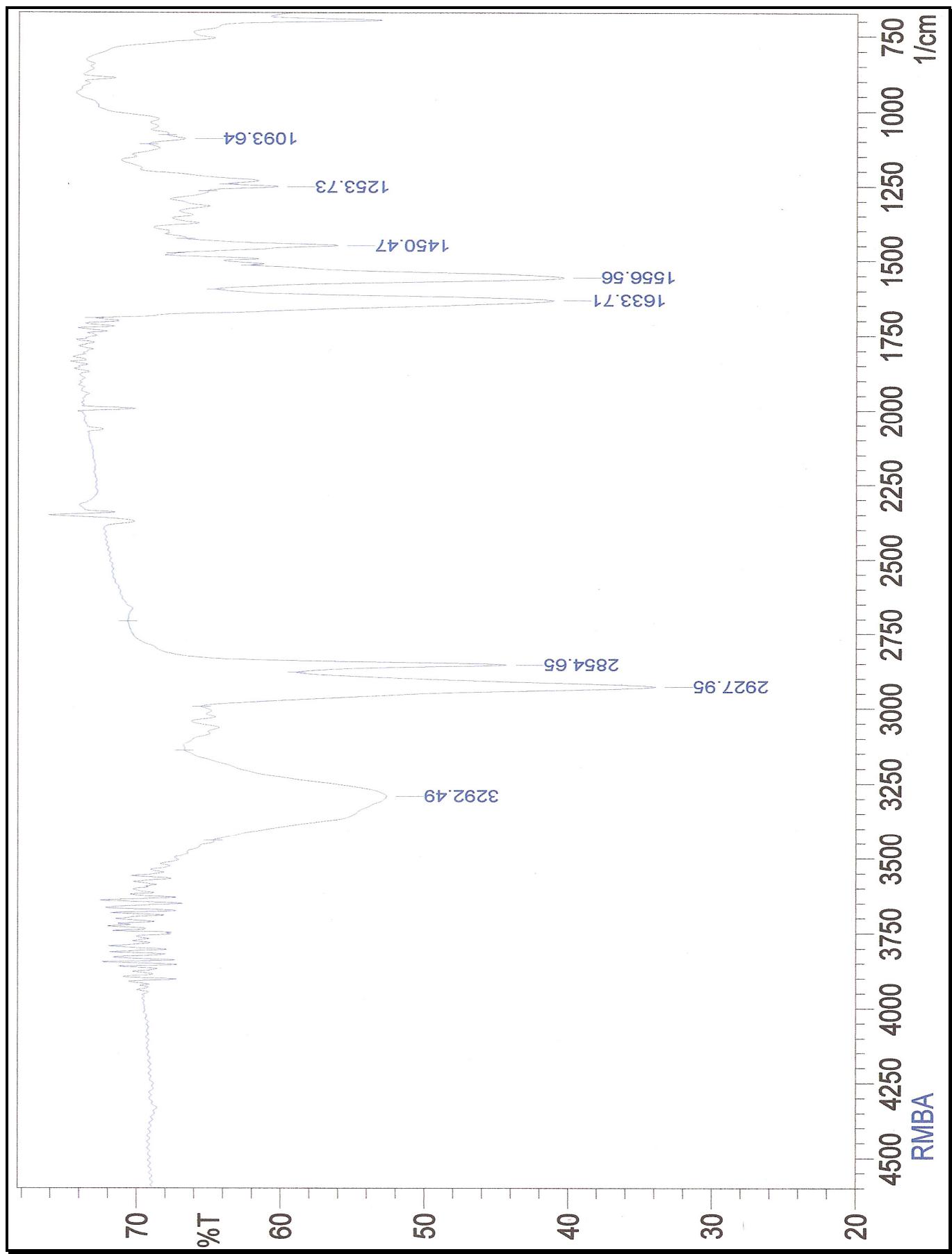
Espectro 39 – RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da α -metil- N -benzil-9- Z -octadecenamida (67c).



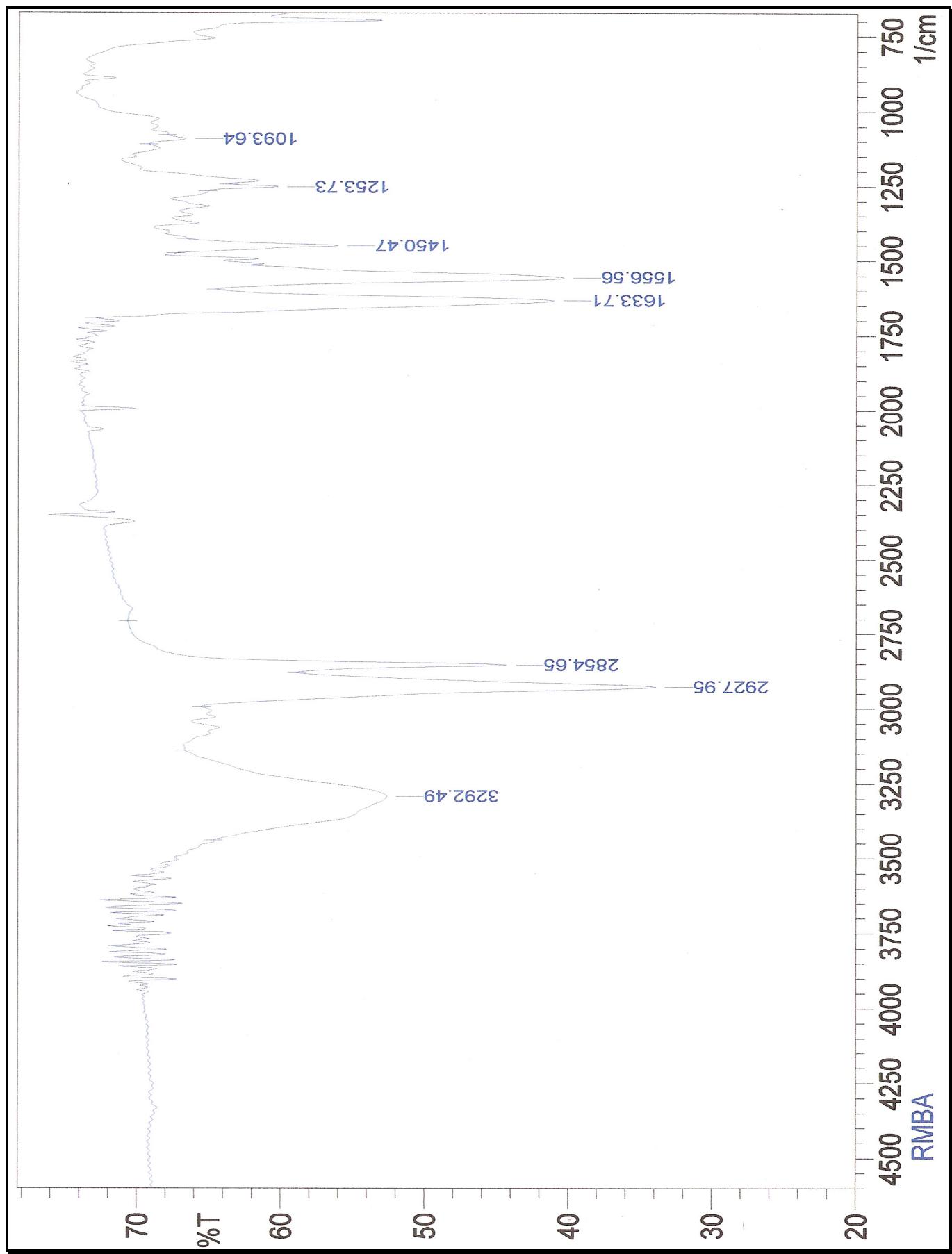
Espectro 40 – GC-MS (70 eV) da α -metil-*N*-benzil-9-*Z*-octadecenamida (67c**).**



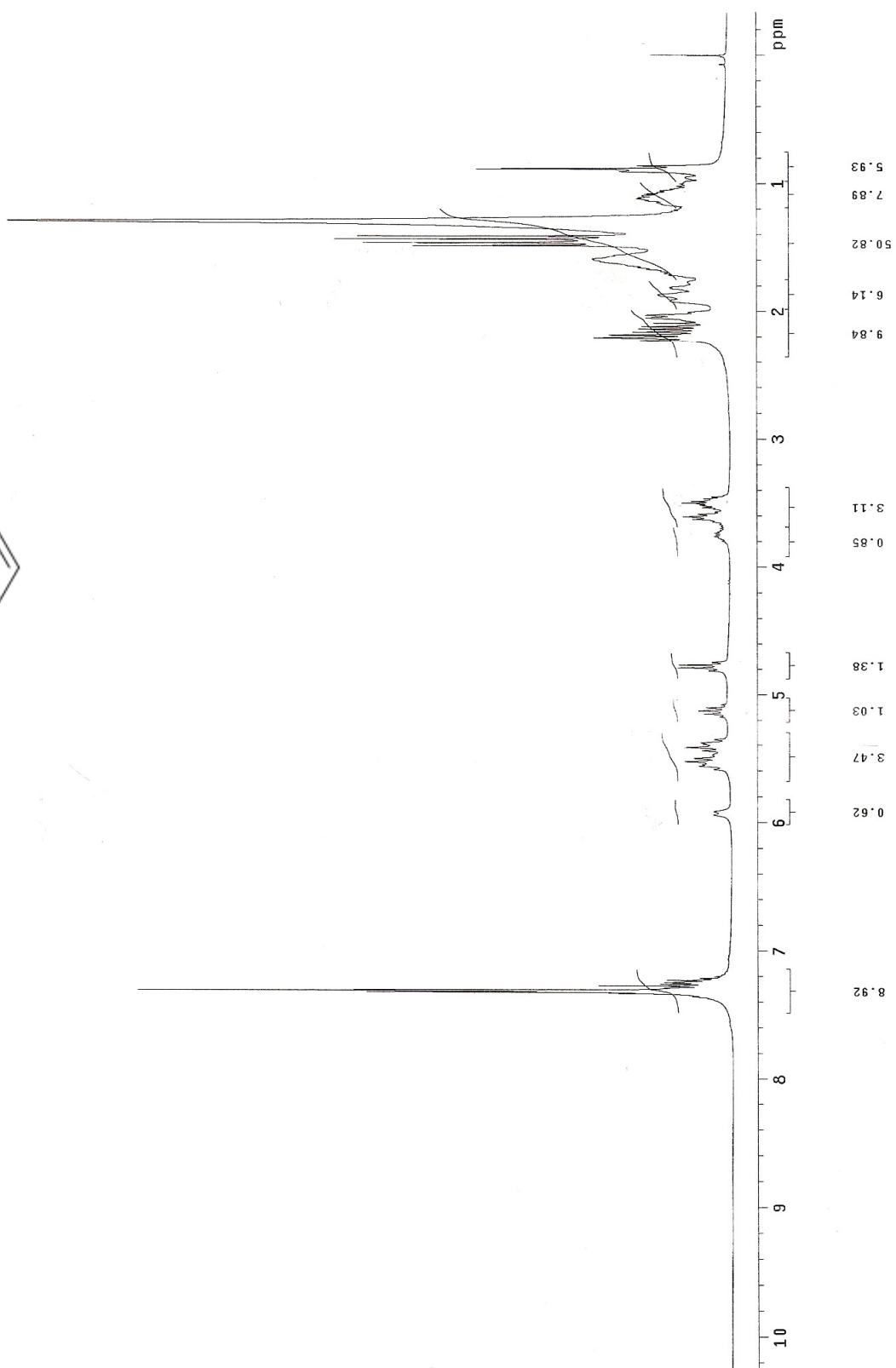
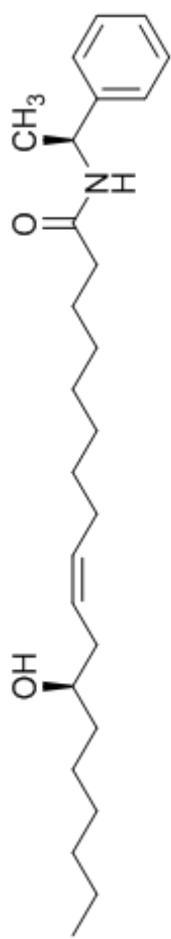
Espectro 41 – ESI-MS/MS da α -metil-N-benzil-9-Z-octadecenamida (67c).



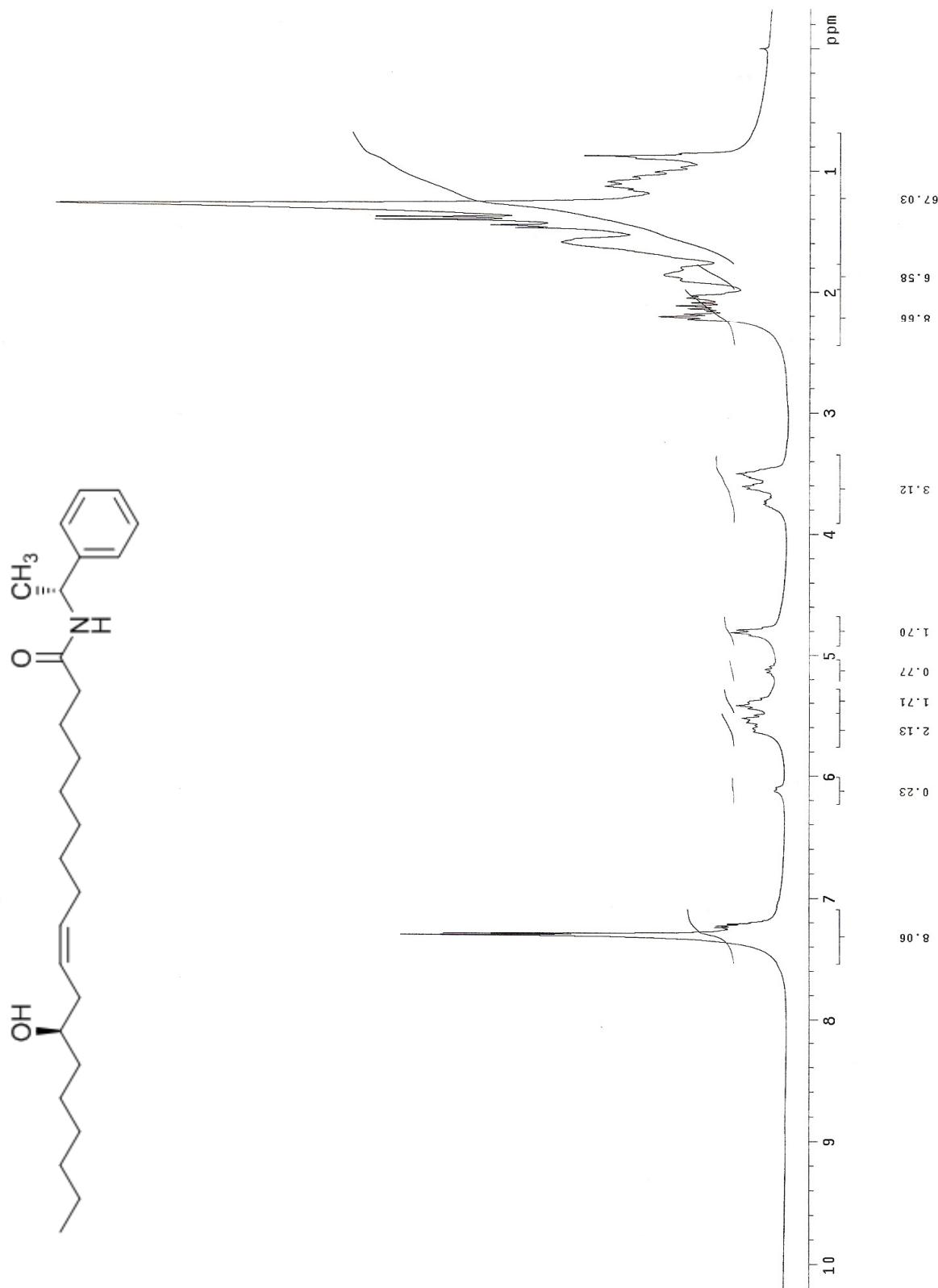
Espectro 42 – I.V. (NaCl, filme) da (R/S)- α -metil-N-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida(67d).



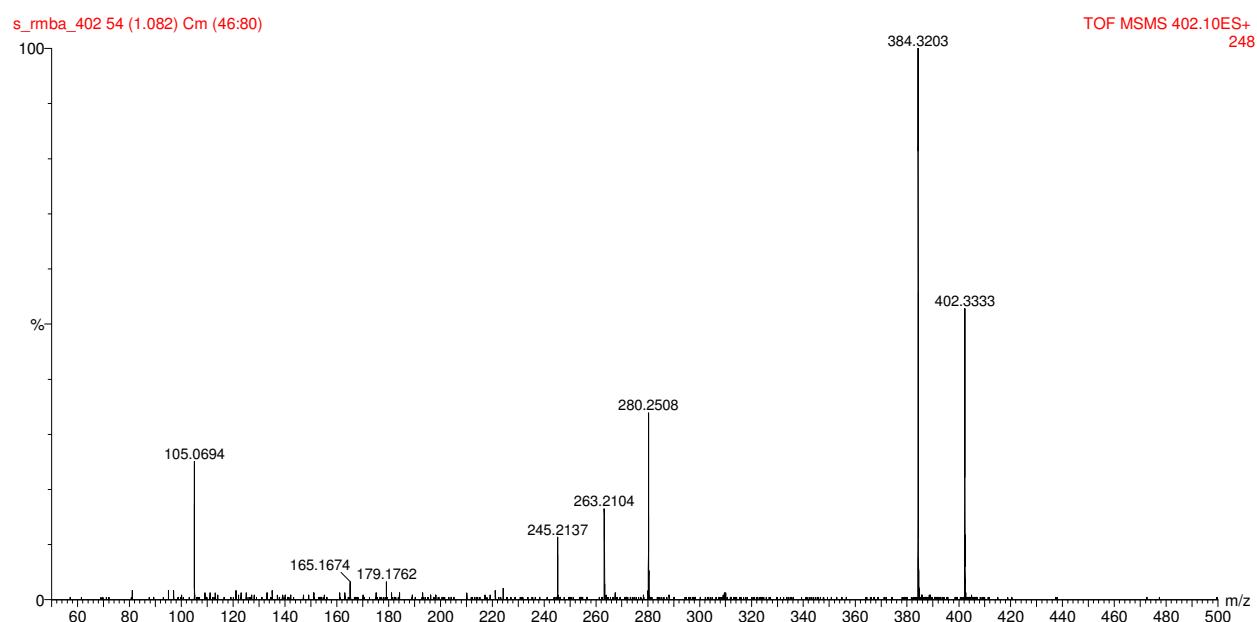
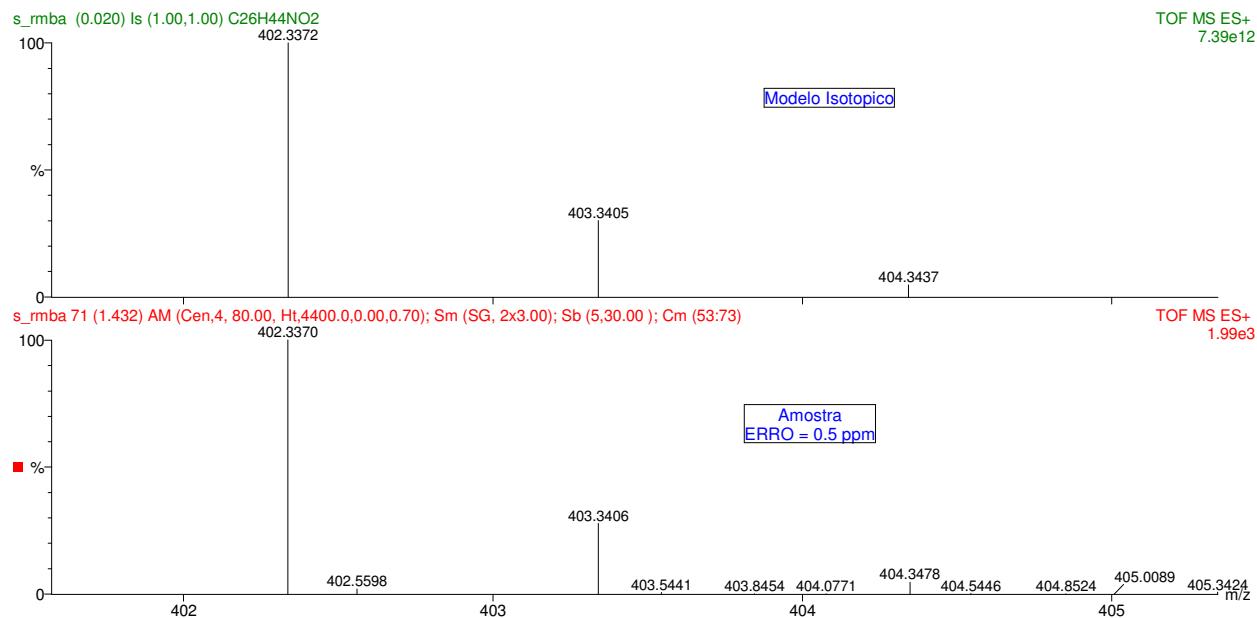
Espectro 43– I.V. (NaCl, filme) da (*R/R*)- α -metil-*N*-benzil-12-hidróxi-9-*Z*-octadecenamida (**67d**).



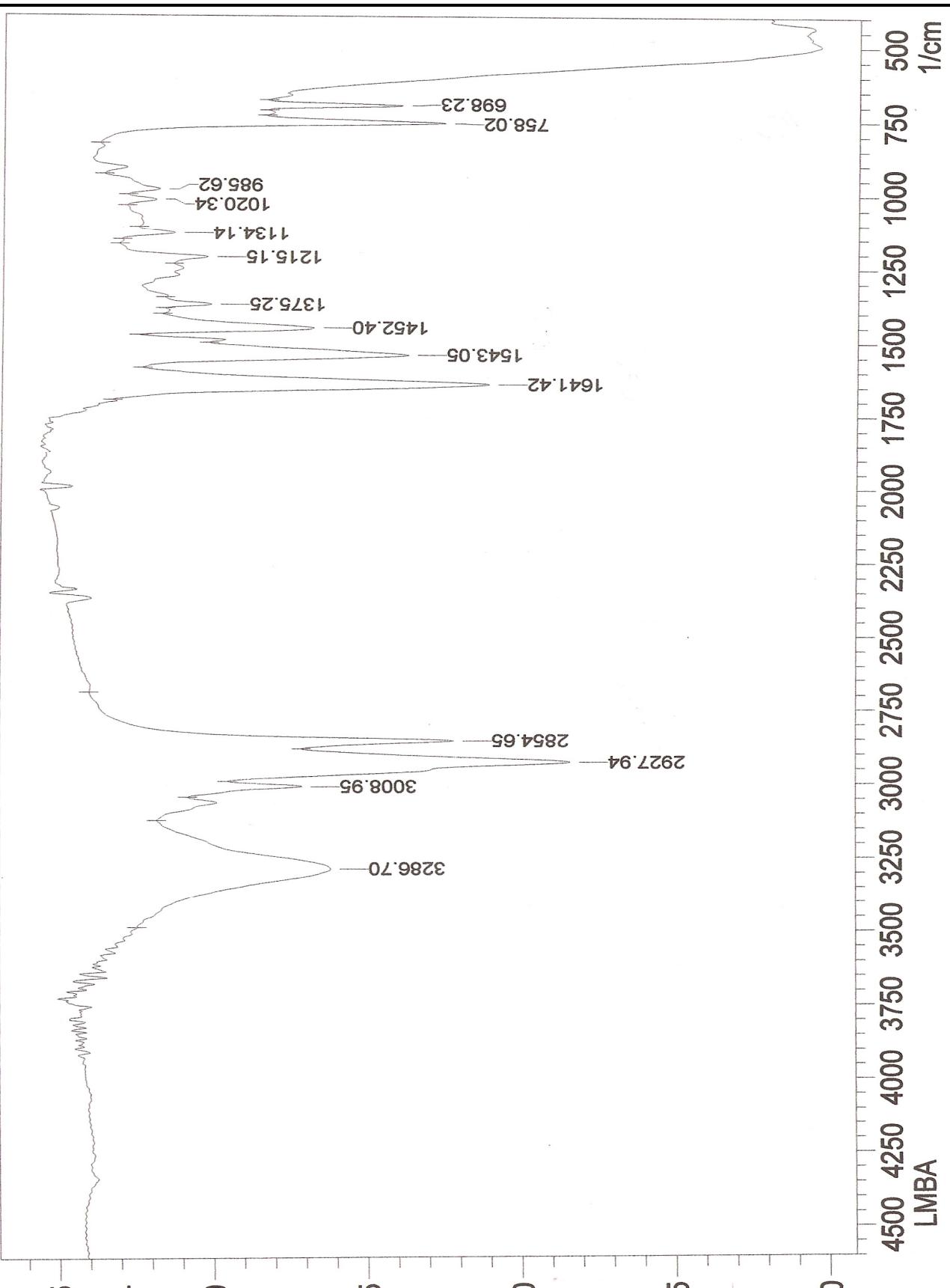
Espectro 44– RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da (R/S)- α -metil-N-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (67d).



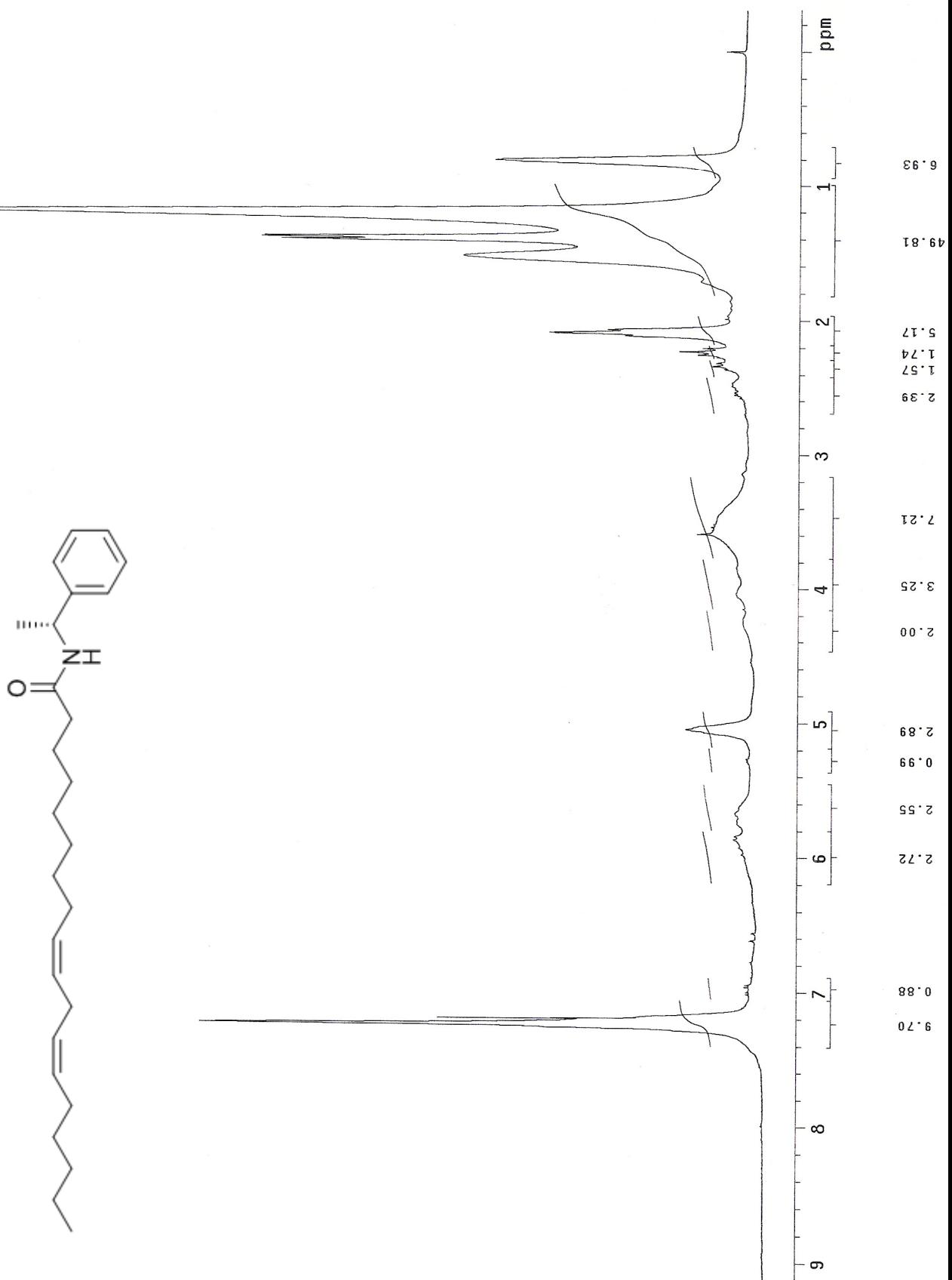
Espectro 45—RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da (*R/R*)- α -metil-*N*-benzil-12-hidróxi-9-*Z*-octadecenamida (**67d**).



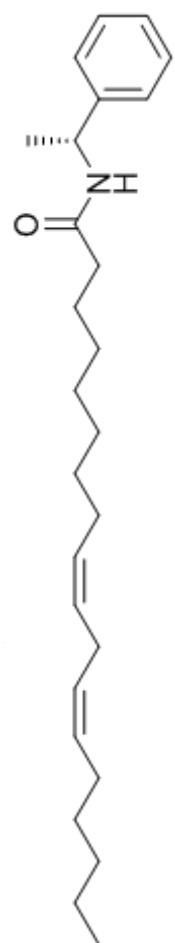
Espectro 46 – ESI-MS/MS da (R/S)- α -metil-N-benzil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (67d**).**



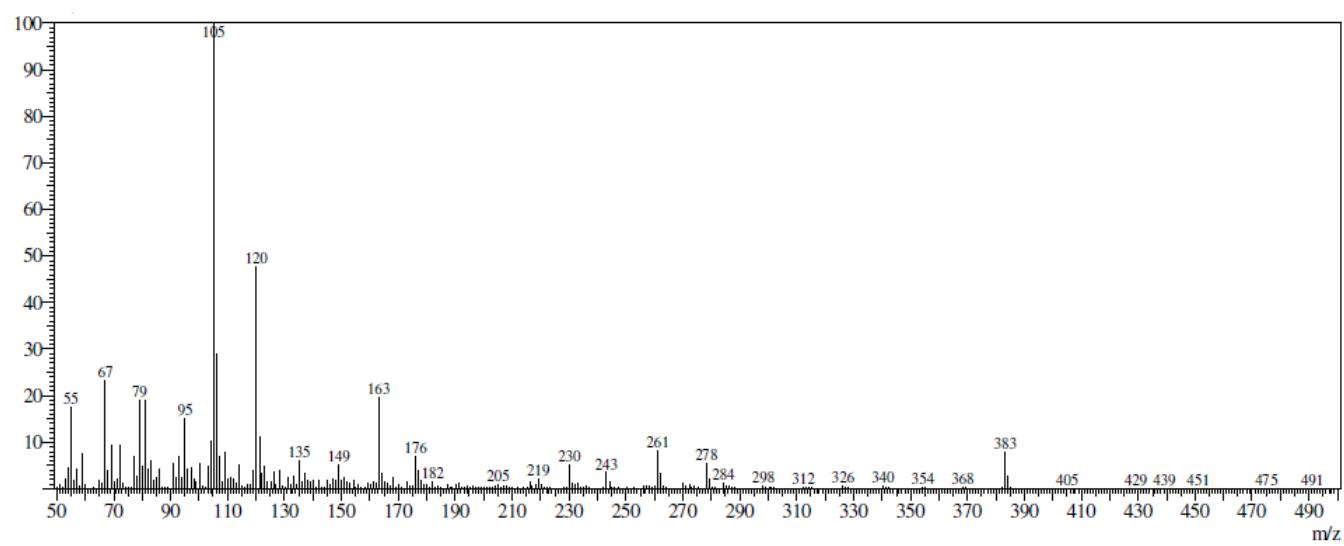
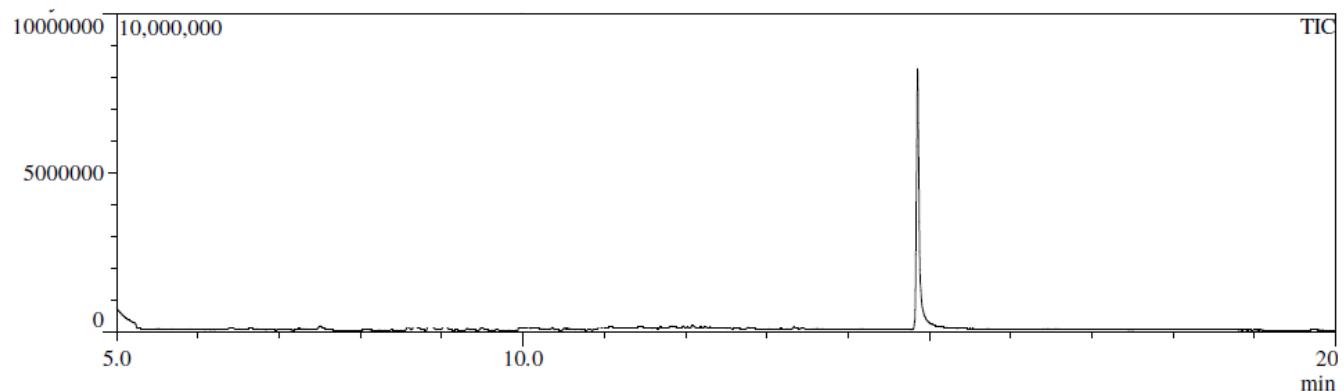
Espectro 47 – I.V. (NaCl) da α -metil-*N*-benzil-9,12-*Z*-octadidecenoamida (67e**).**



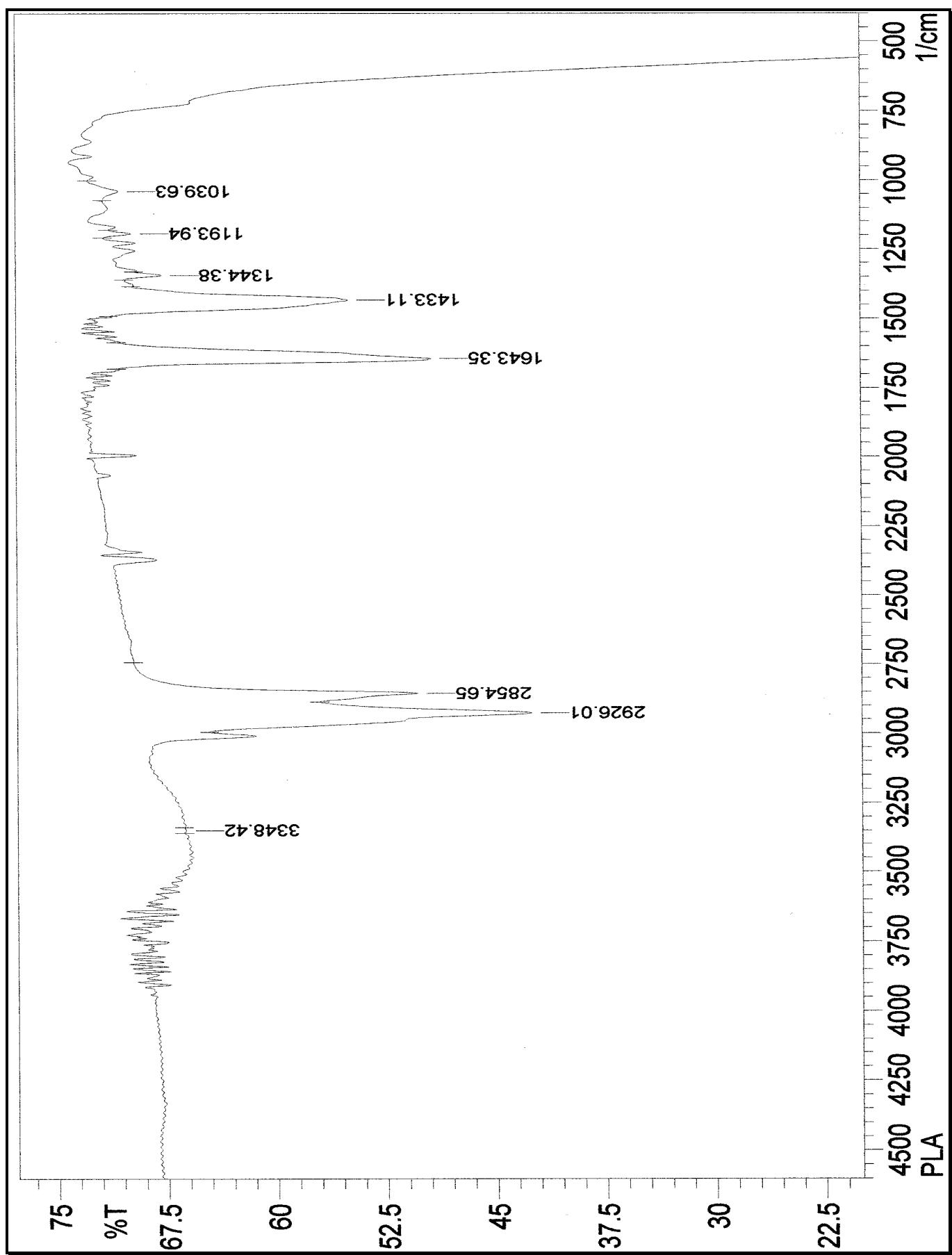
Espectro 48 – RMN ^1H (300 Hz, CDCl_3) da α -metil- N -benzil-9,12-*Z*-octadidecenamida (**67e**).



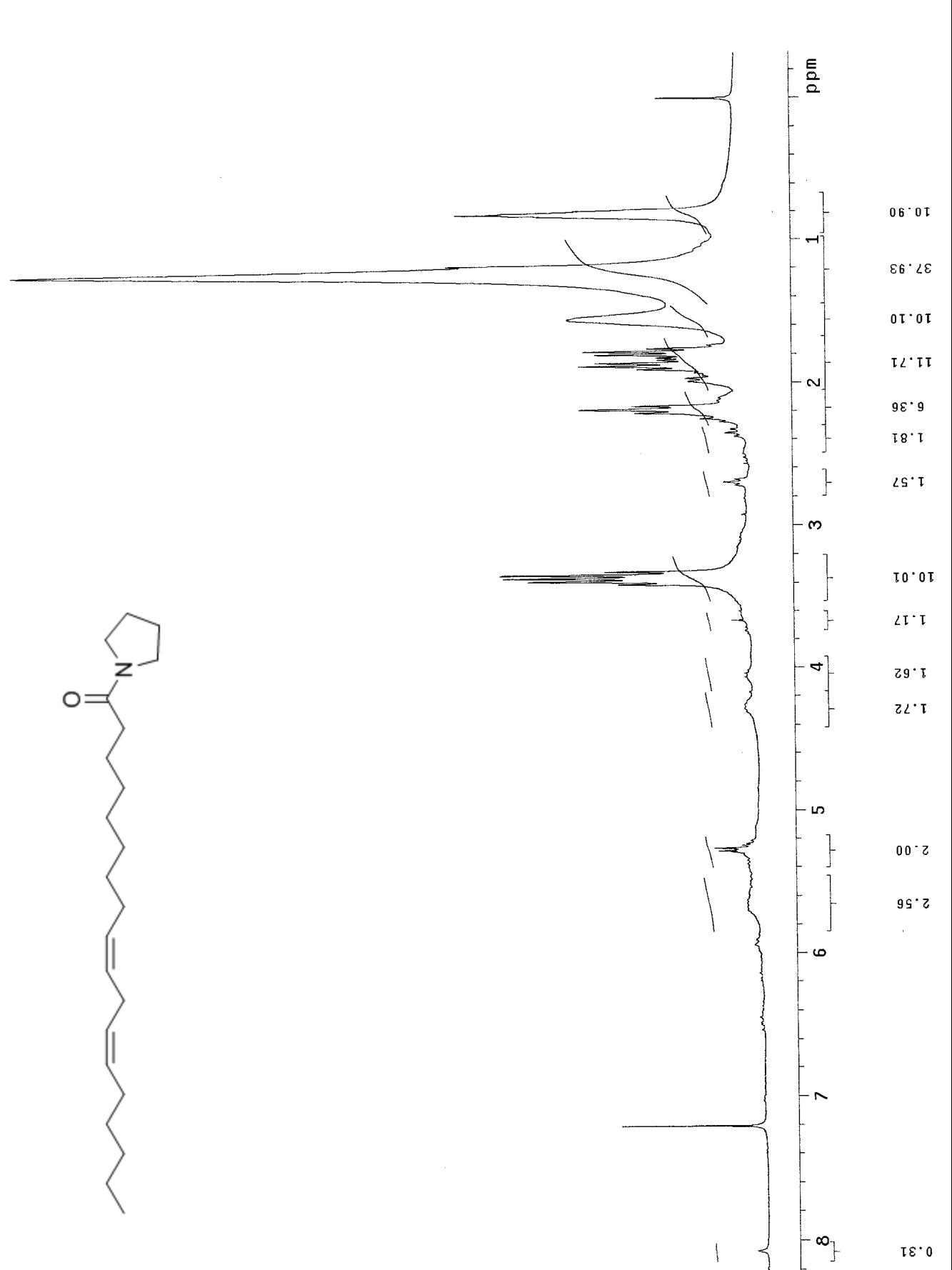
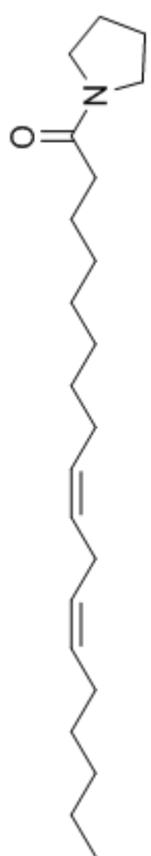
Espectro 49 – RMN ^{13}C (75Hz, CDCl_3) da α -metil- N -benzil-9,12-*Z*-octadidecnamida (67e**).**



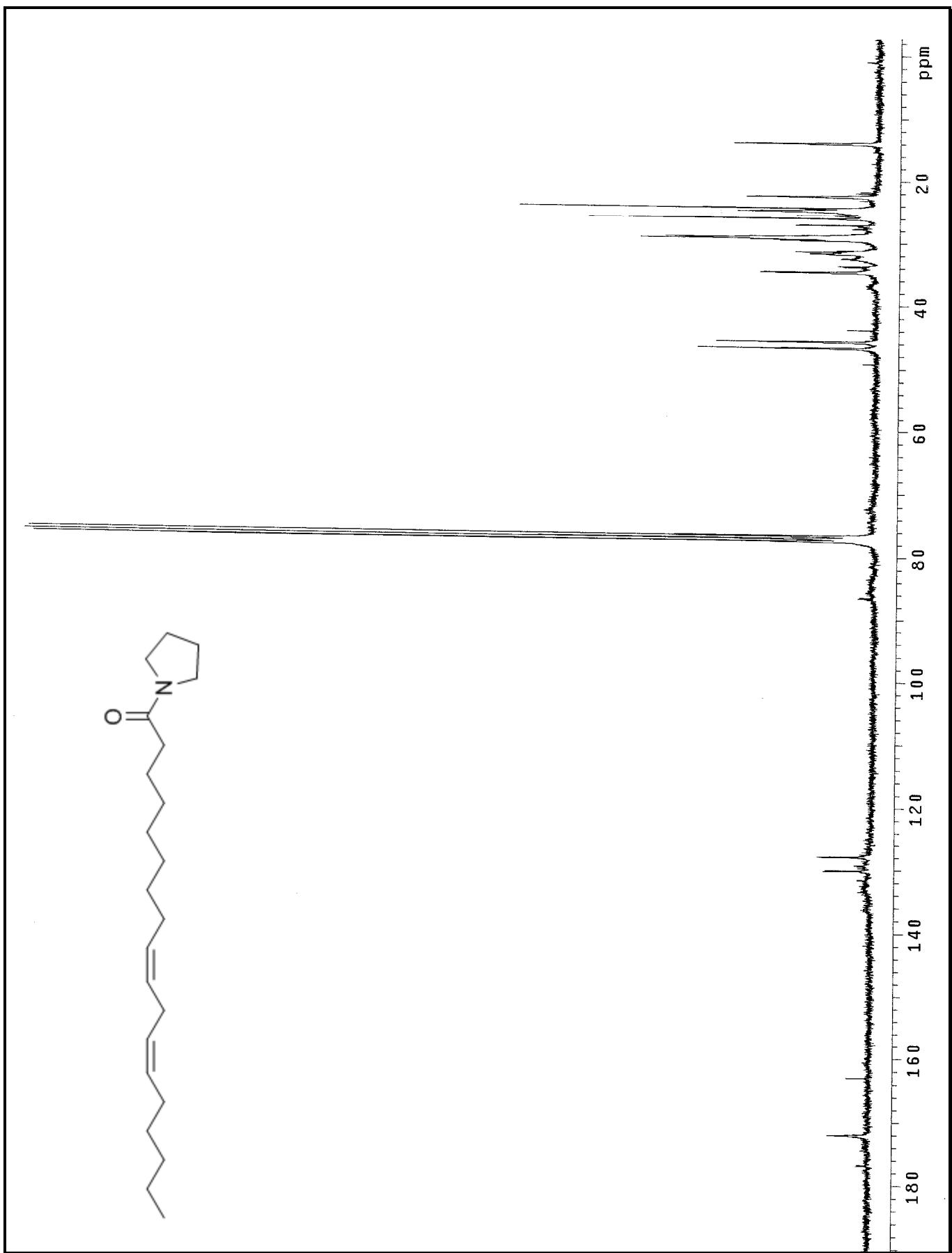
Espectro 50 – GC-MS (70 eV) da α -metil-N-benil-9,12-Z-octadidecena(mida) (67e**).**



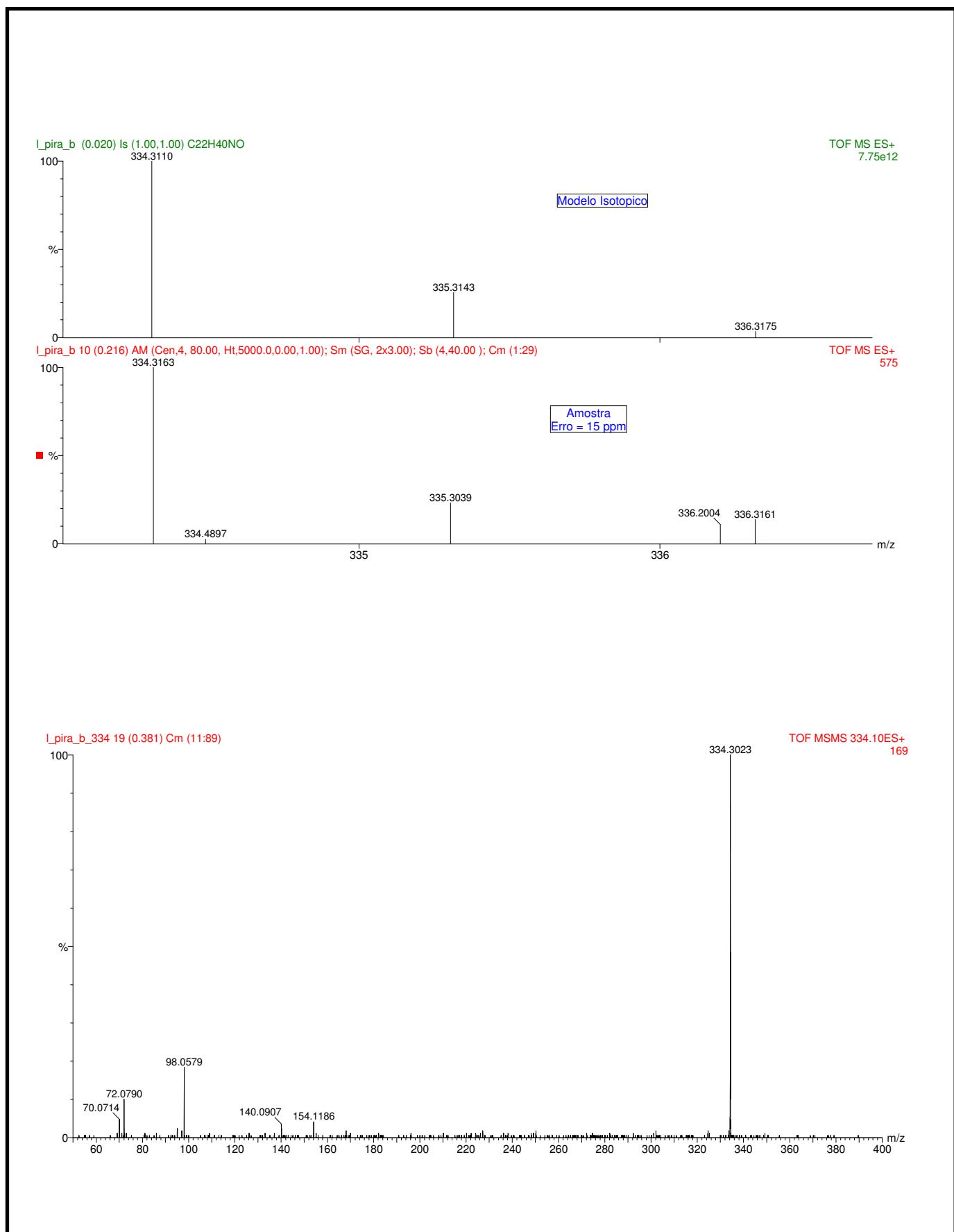
Espectro 51 – I.V. (NaCl) da *N*-pirrolidil-9,12-Z-octadidecenoamida (71e**).**



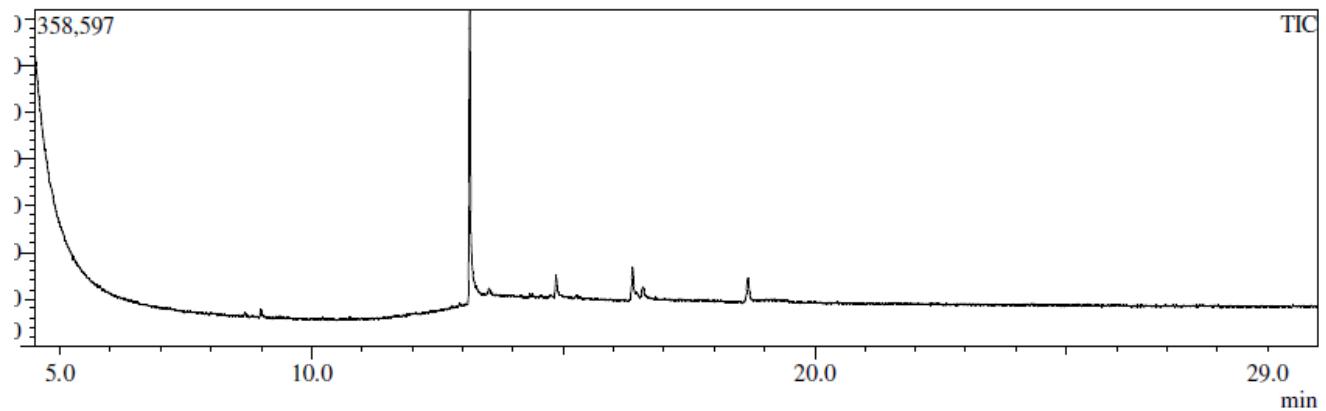
Espectro 52 – RMN ¹H (300 Hz, CDCl₃) da *N*-pirrolidil-9,12-*Z*-octadidecena(mida) (**71e**).



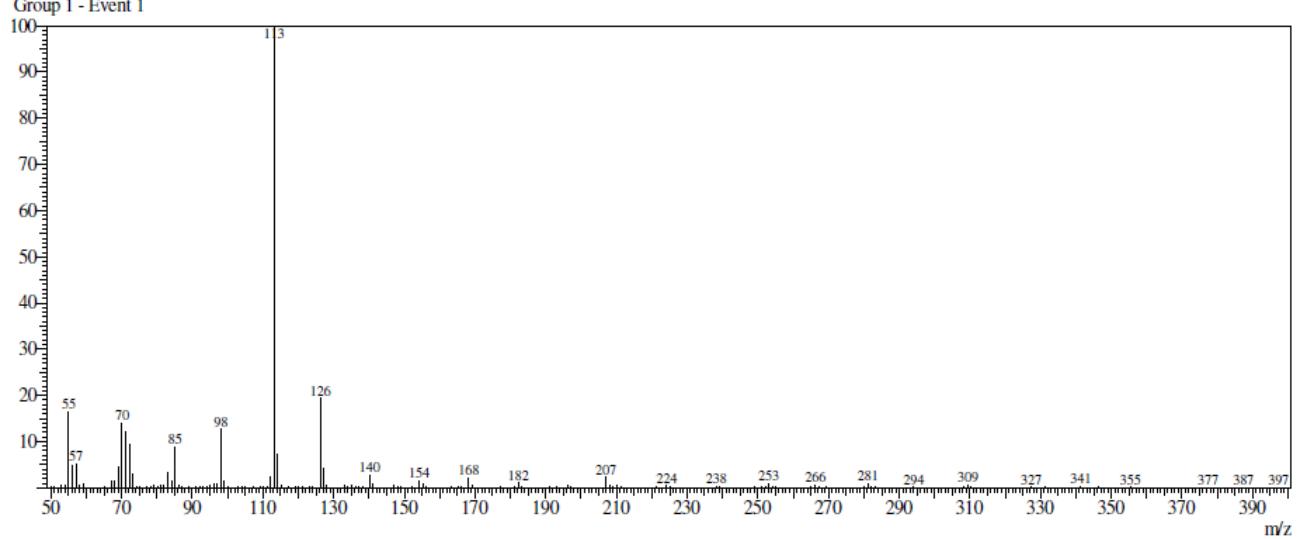
Espectro 53 – RMN ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) da *N*-pirrolidil-9,12-*Z*-octadidecnamida (71e**).**



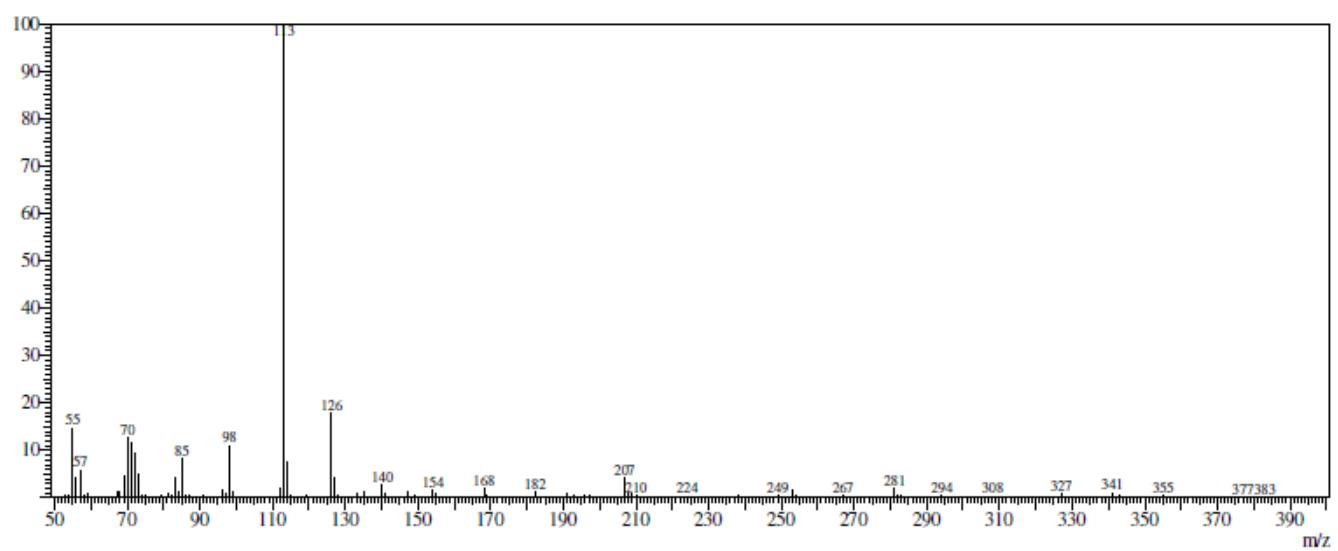
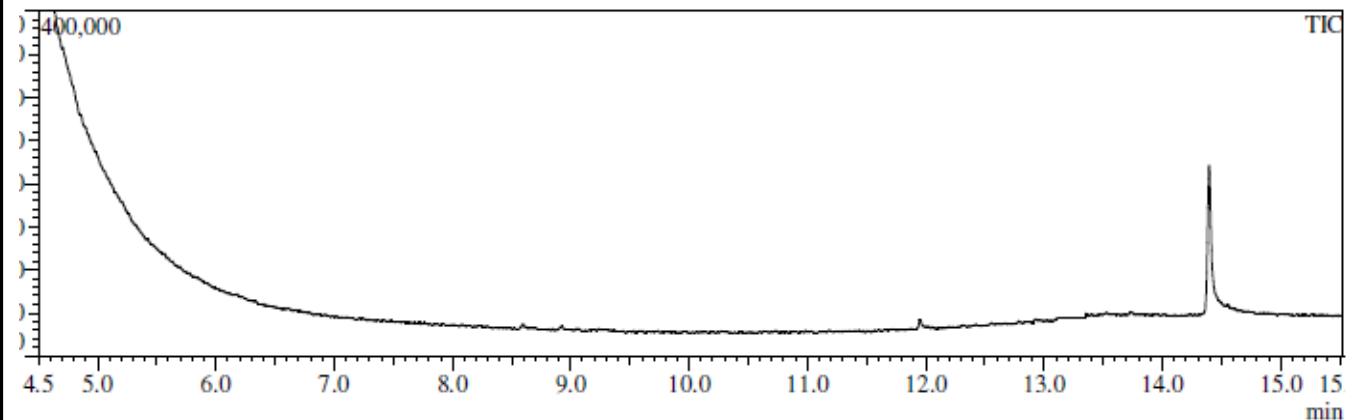
Espectro 54 – ESI-MS/MS da *N*-pirrolidil-9,12-*Z*-octadidecynamida (71e**).**



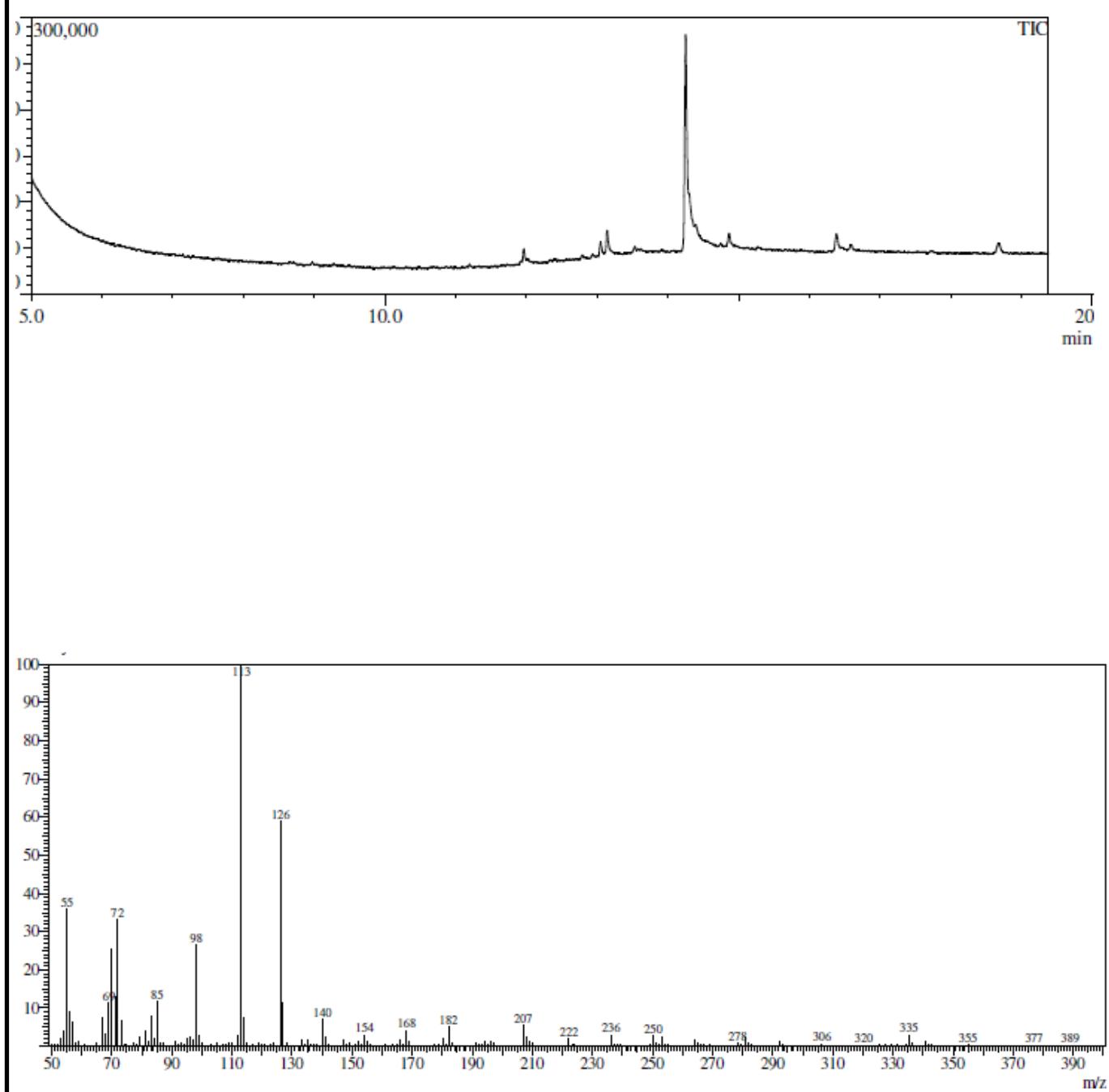
R.Time:13.140(Scan#:1729)
MassPeaks:347
Group 1 - Event 1



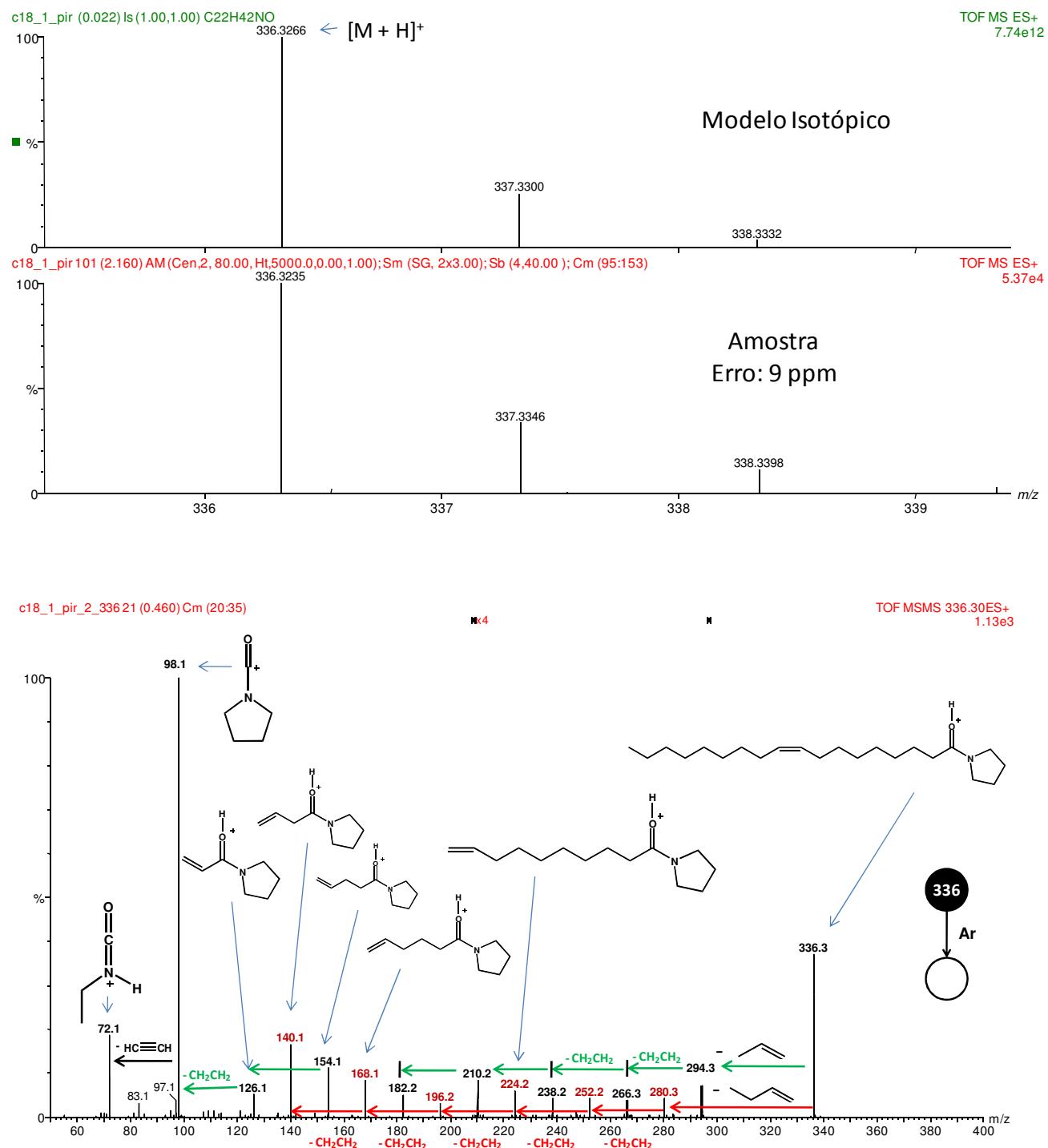
Espectro 55 – GC-MS (70 eV) da *N*-pirrolidinilhexadecanamida (75a).



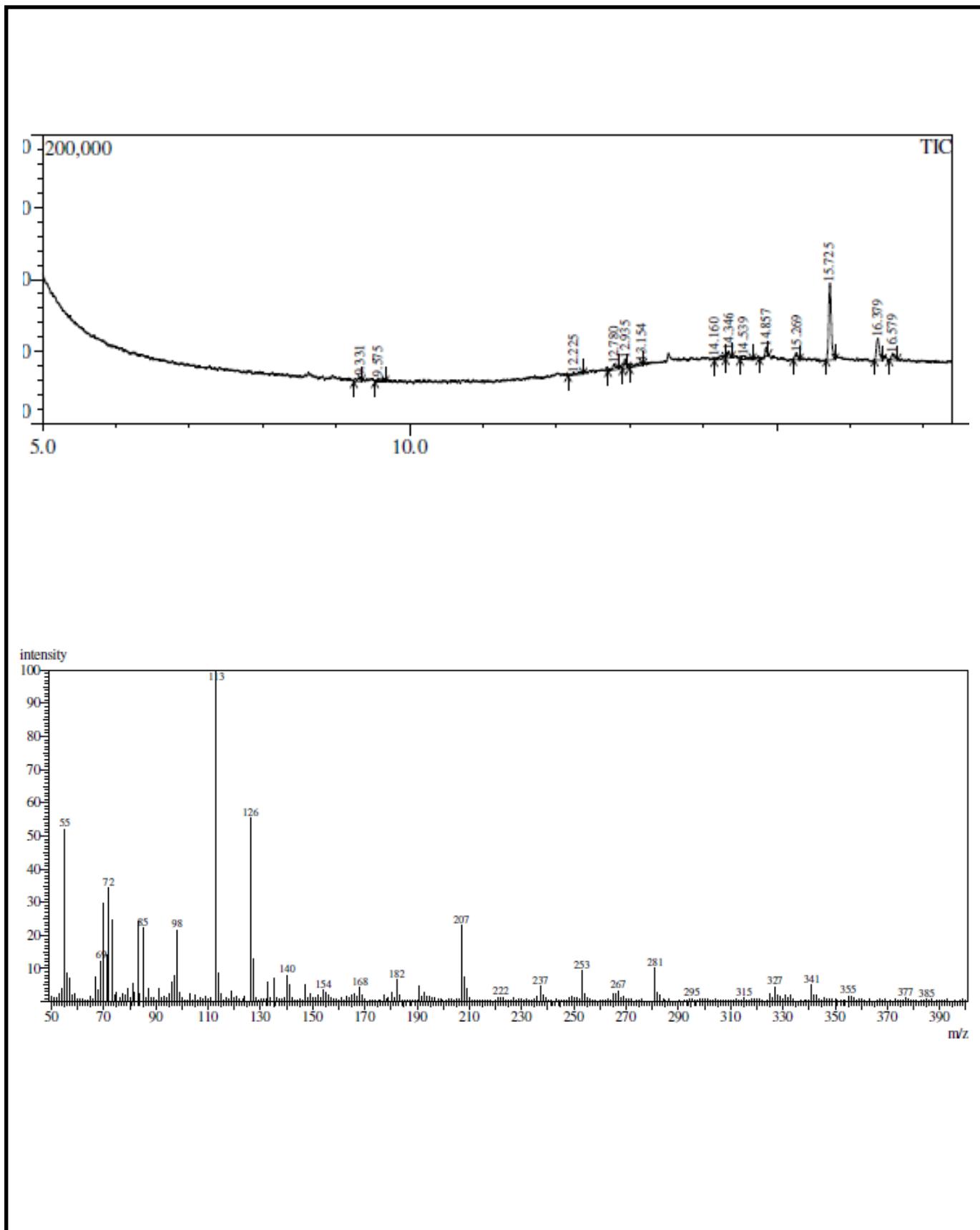
Espectro 56 – ESI-MS/MS da *N*-pirrolidilooctadecanamida (75b**).**



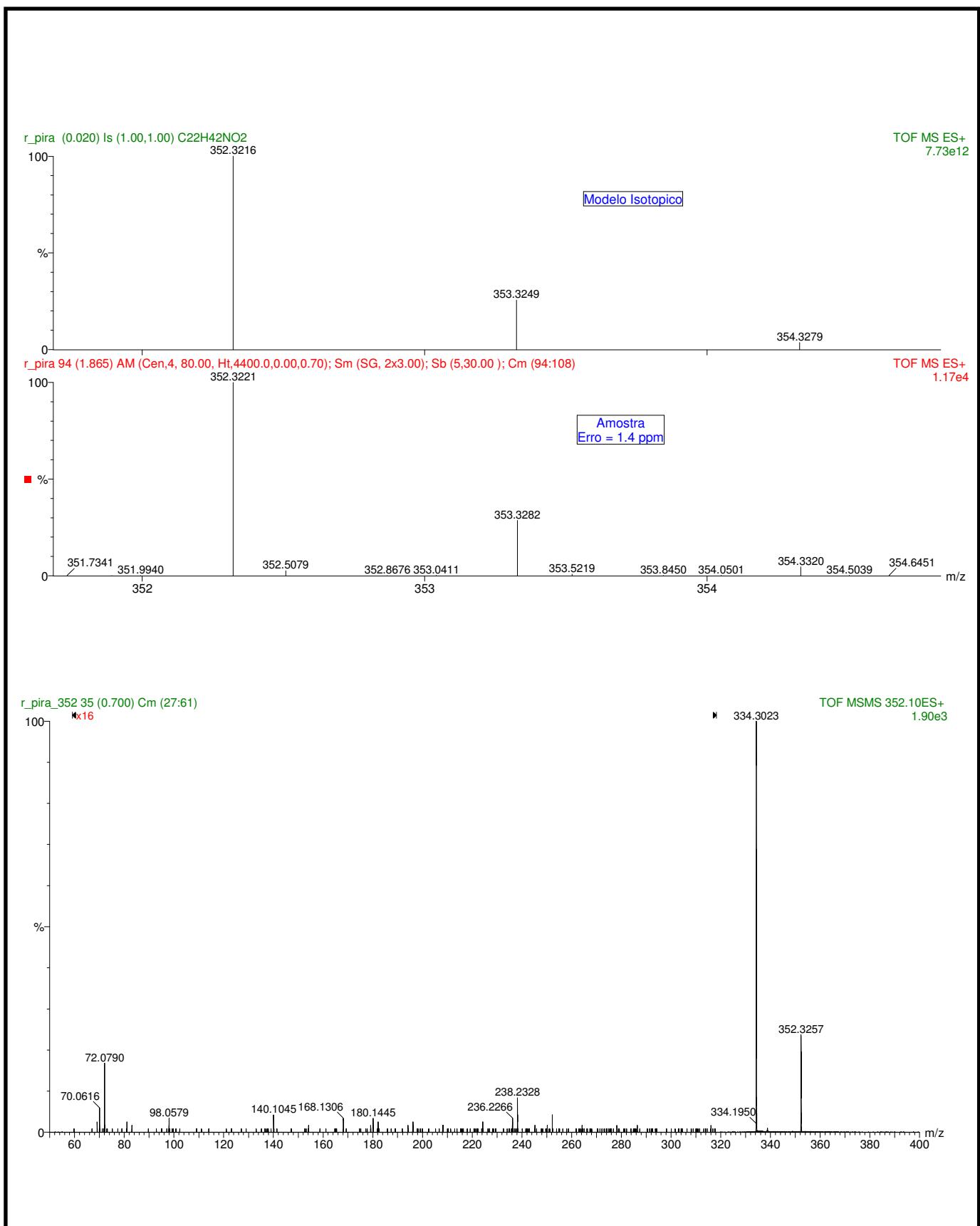
Espectro 57 – GC-MS (70 eV) da *N*-pirrolidin-9-Z-octadecenamida (75c**).**



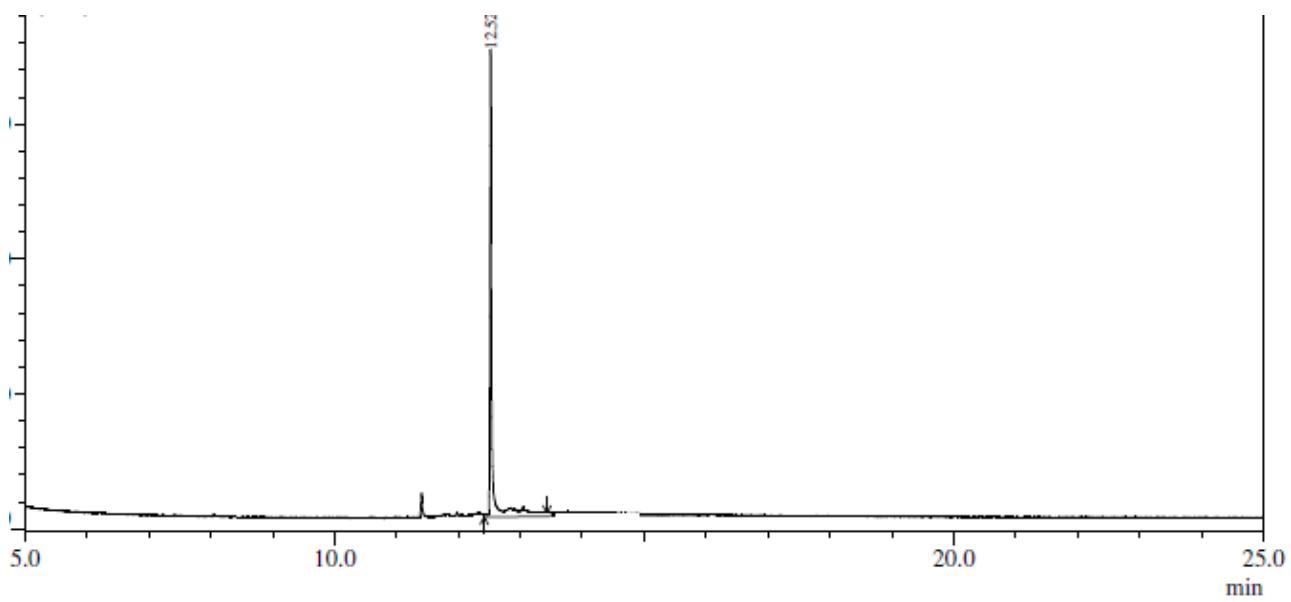
Espectro 58 – ESI-MS/MS da *N*-pirrolidinil-9-Z-octadecenamida (75c).



Espectro 59 – GC-MS (70 eV) da *N*-pirrolidil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (75d**).**



Espectro 60 – ESI-MS/MS da *N*-pirrolidil-12-hidróxi-9-Z-octadecenamida (75d).

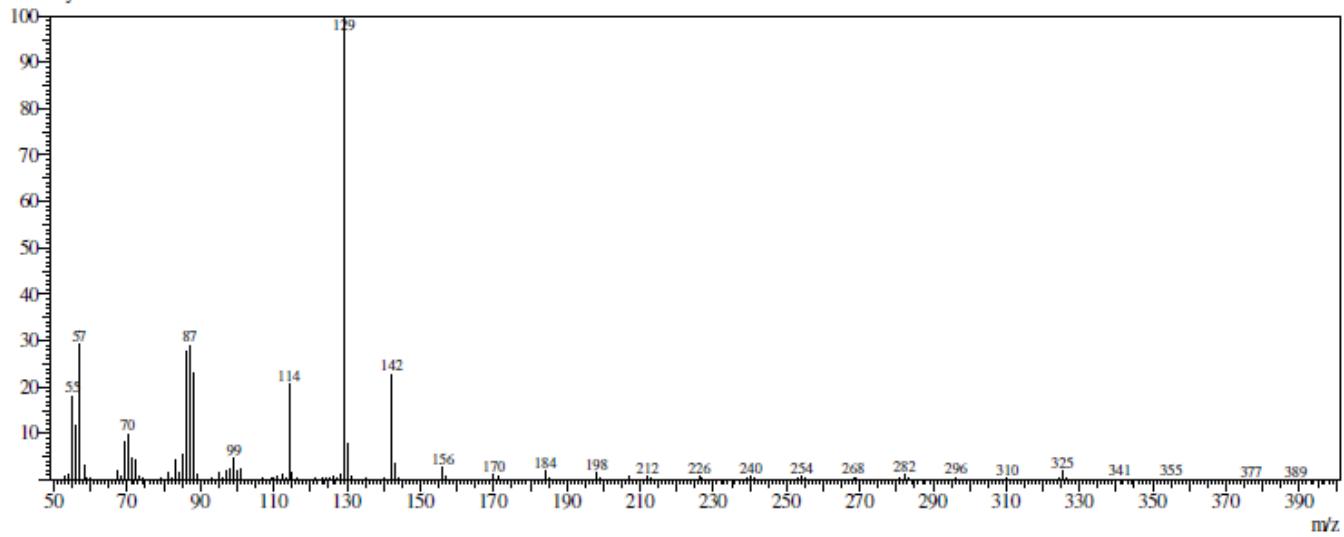


R.Time: 12.520(Scan#: 1605)

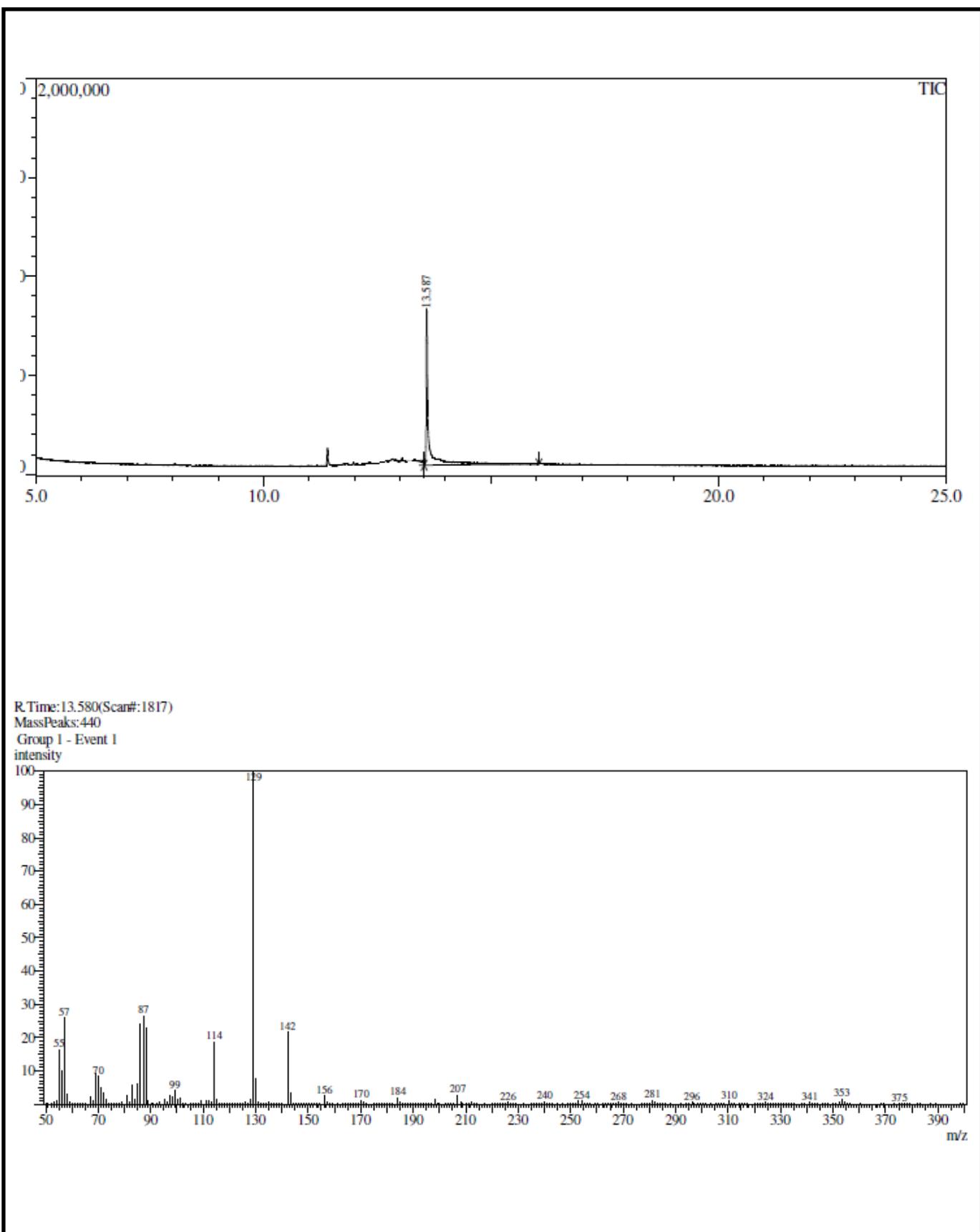
MassPeaks: 439

Group 1 - Event 1

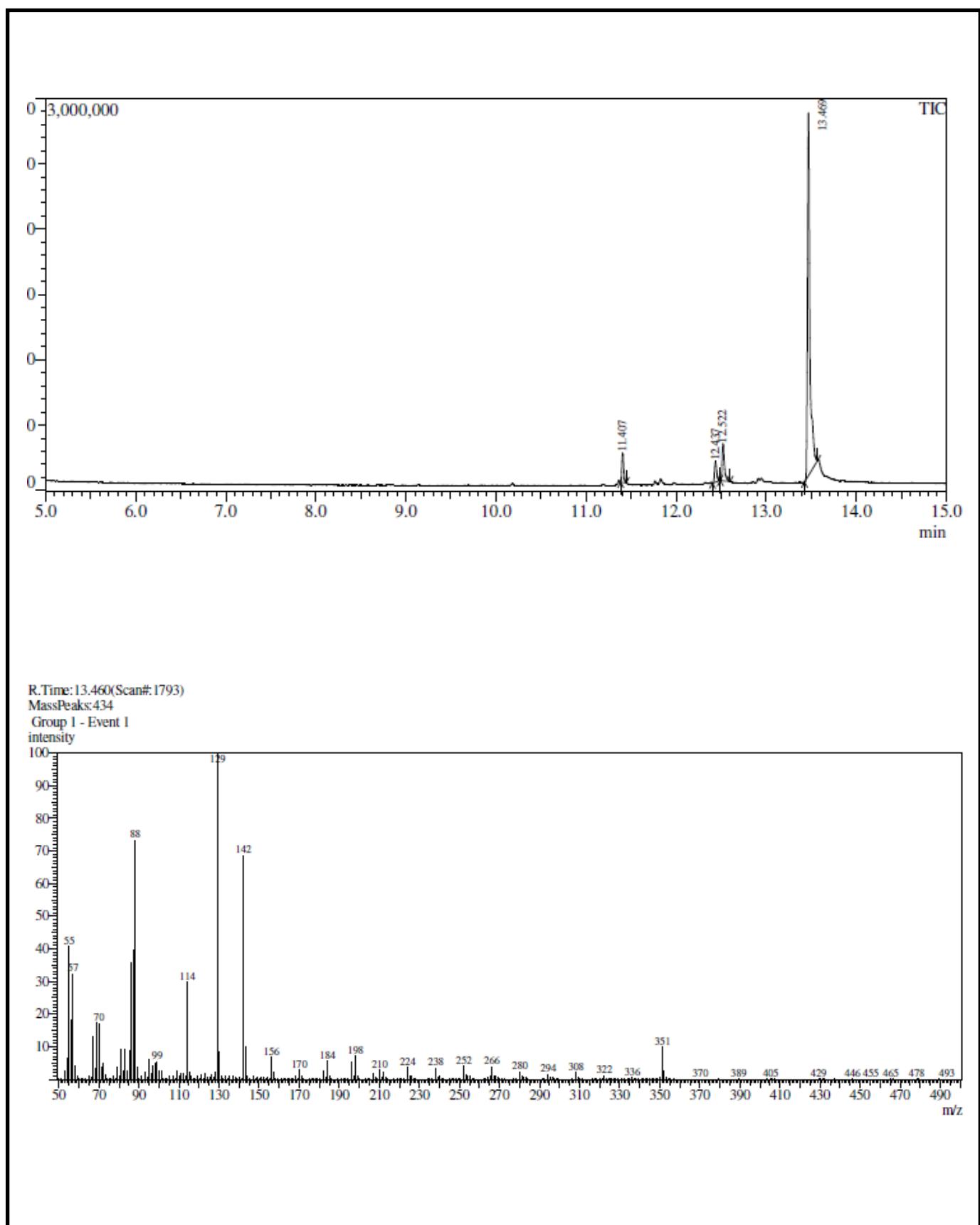
intensity



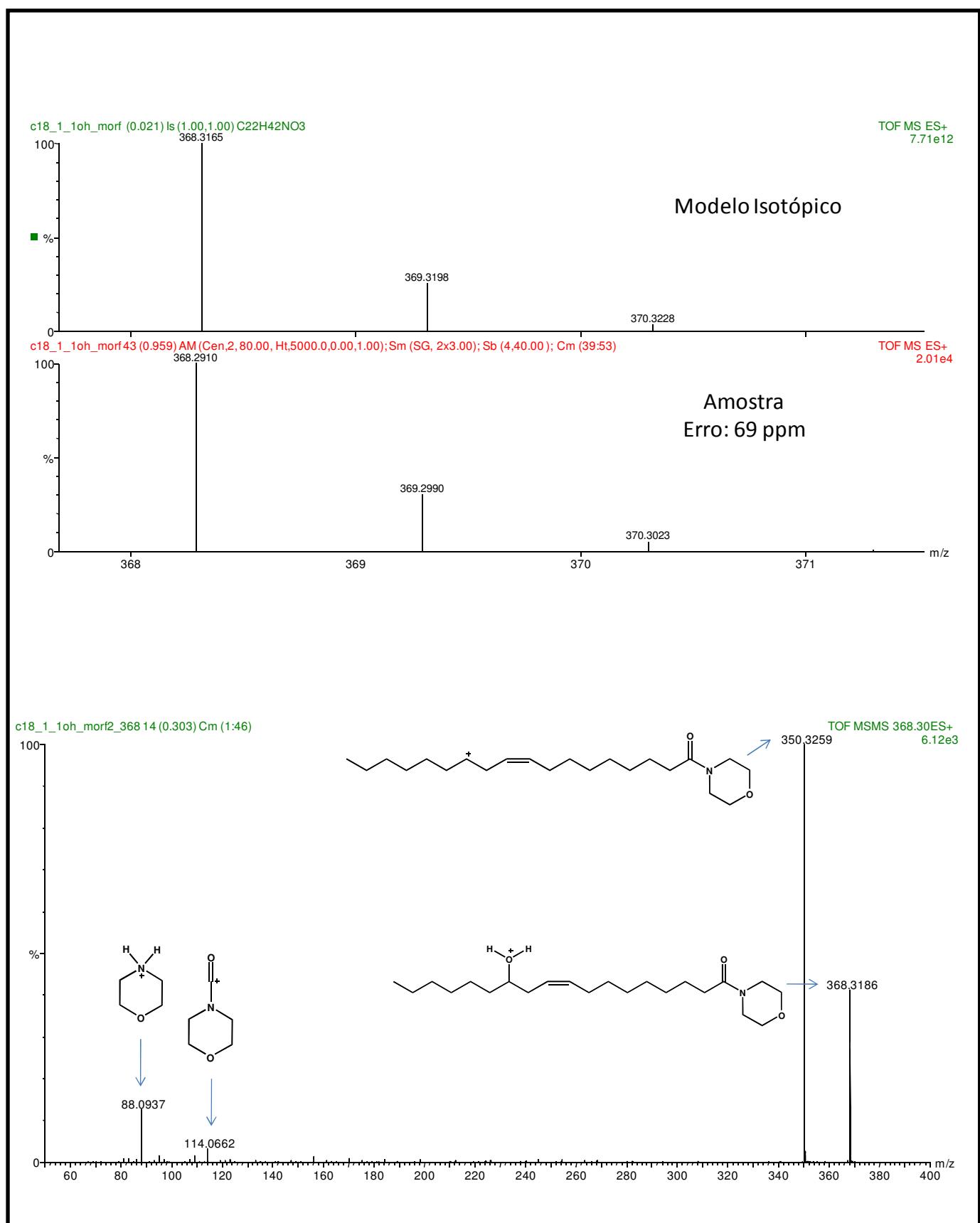
Espectro 61 – GC-MS (70 eV) da *N*-morfolinilhexadecanamida (76a).

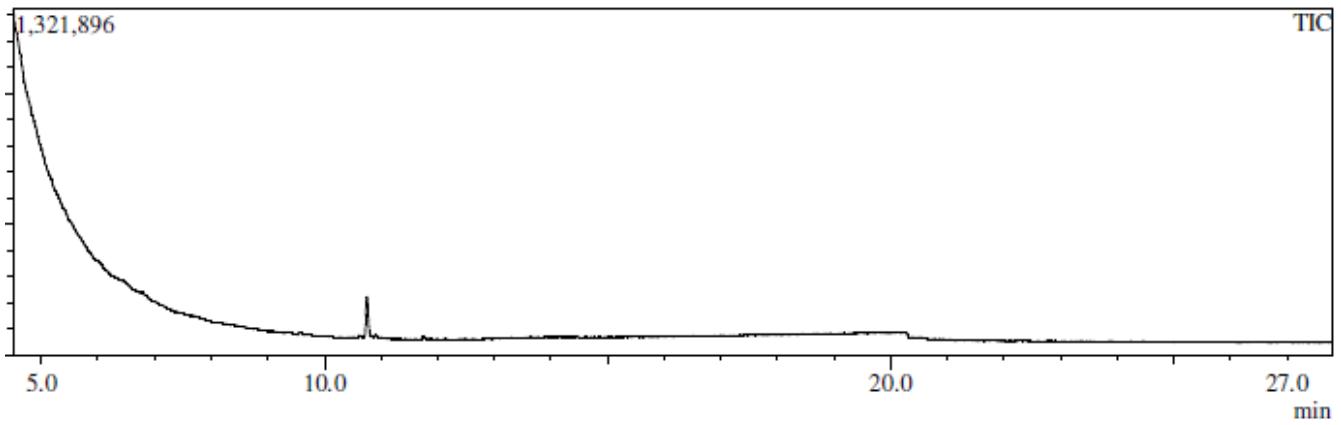


Espectro 62 – GC-MS (70 eV) da *N*-morfolinolactadecanamida (76b**).**



Espectro 63 – GC-MS (70 eV) da *N*-morfolinil-9-Z-octadecenamida (76c**).**

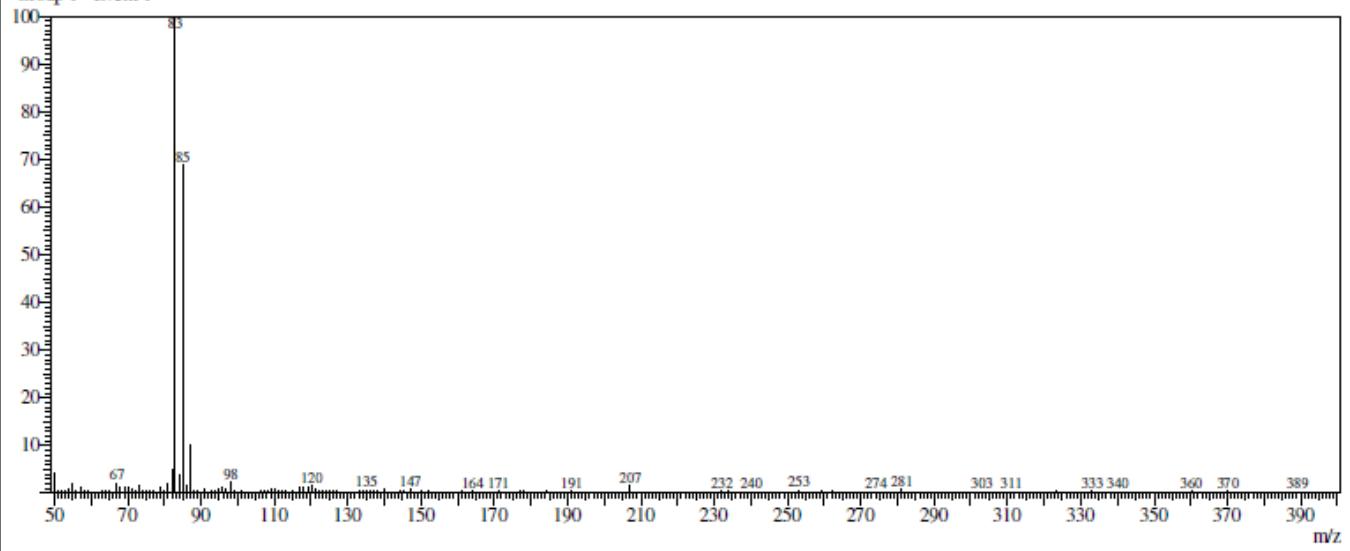
**Espectro 64 – ESI-MS/MS da *N*-morfolinil-9-Z-octadecenamida (76c).**



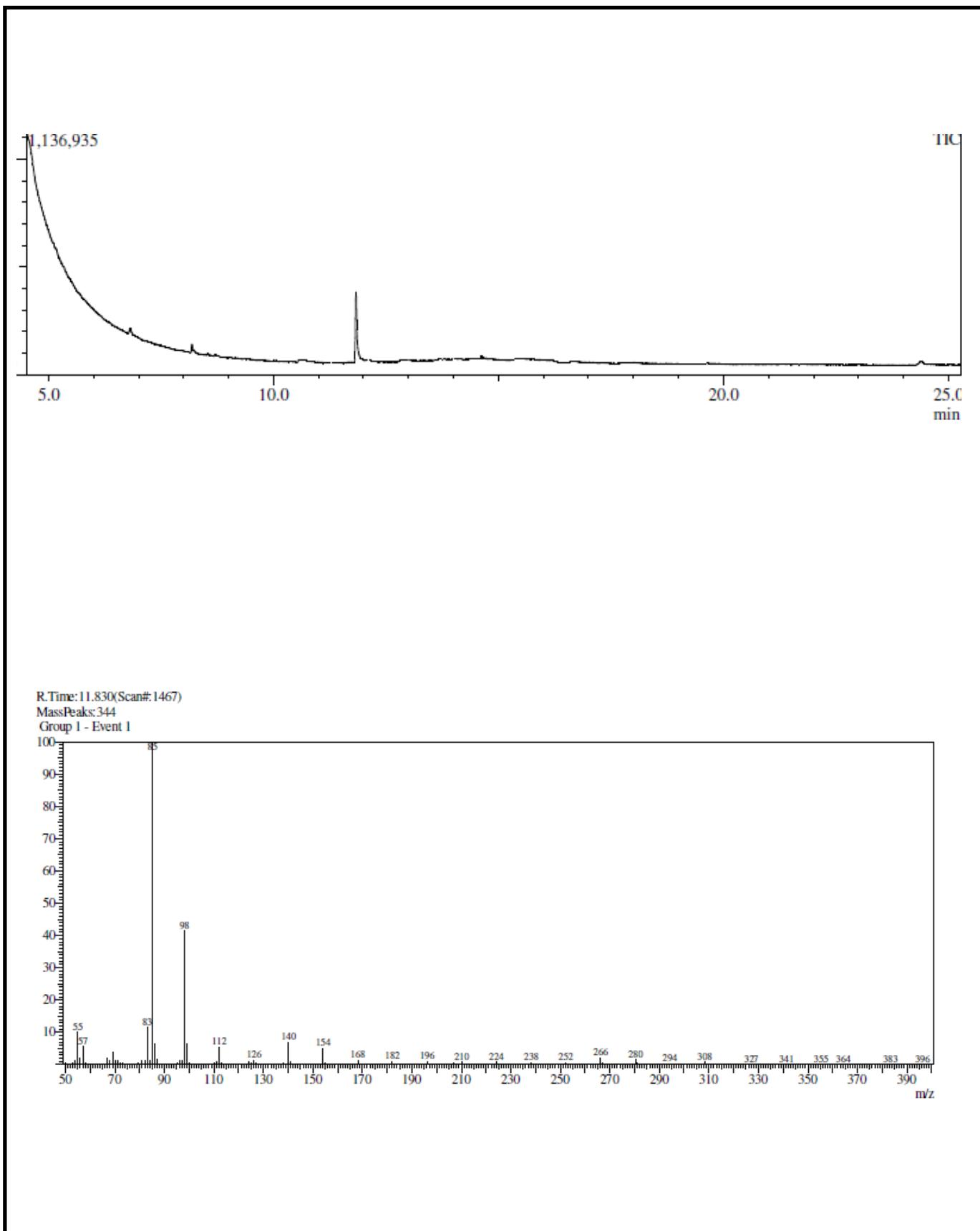
R.Time: 10.710(Scan#: 1243)

MassPeaks: 349

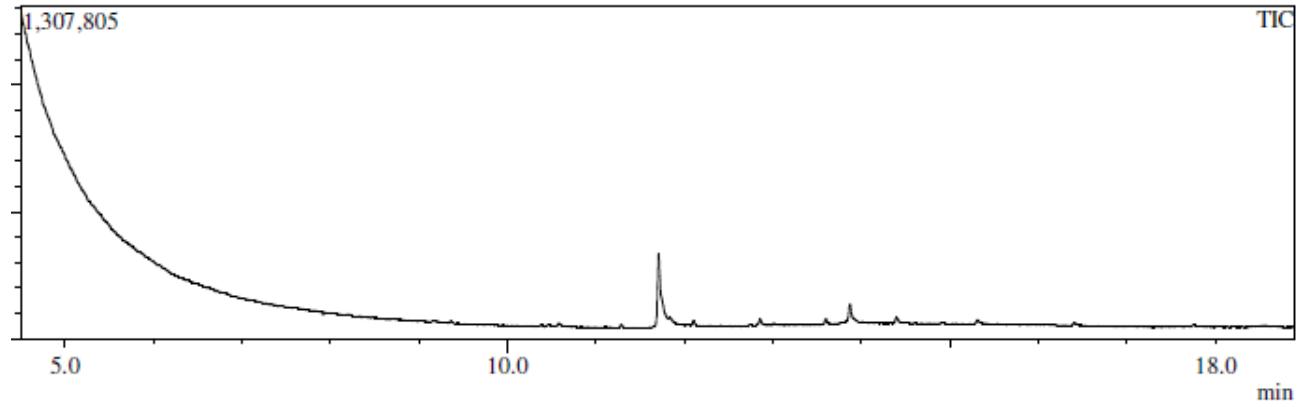
Group 1 - Event 1



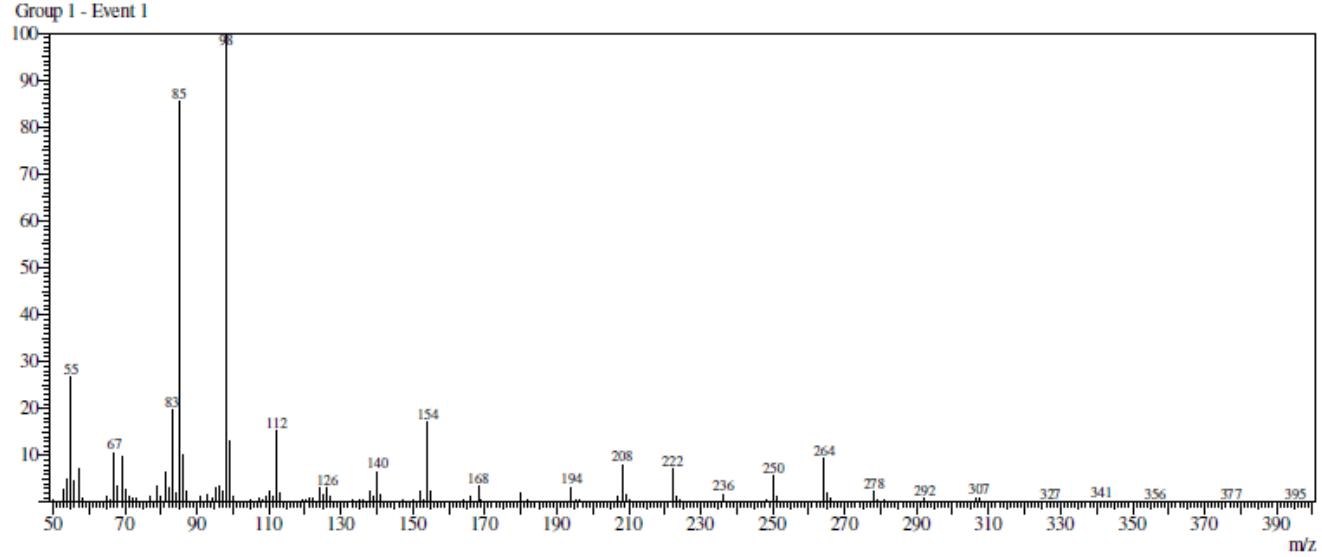
Espectro 65 – GC-MS (70 eV) da N-2-hidroxietilhexadecanamida (77a).



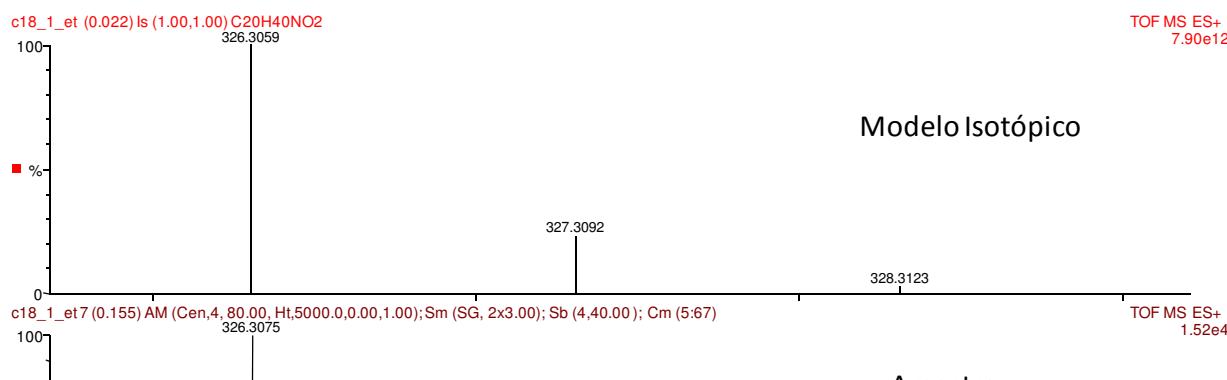
Espectro 66 – GC-MS (70 eV) da *N*-2-hidroxietiloctadecanamida (77b**).**



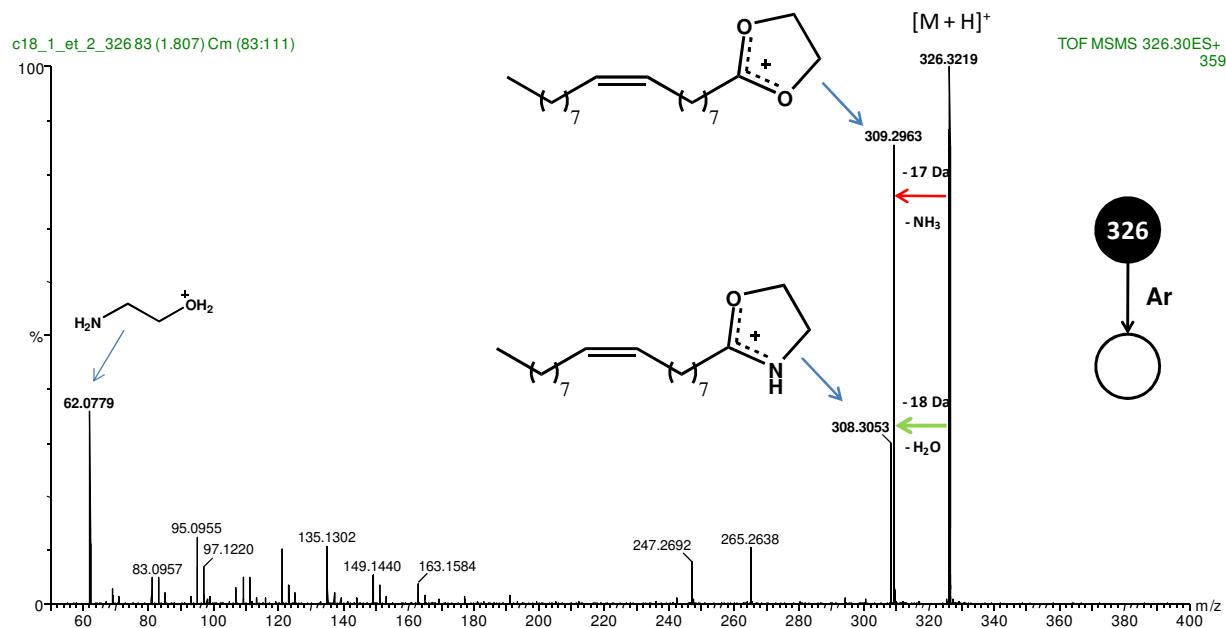
R.Time:11.710(Scan#:1443)
MassPeaks:338
Group 1 - Event 1



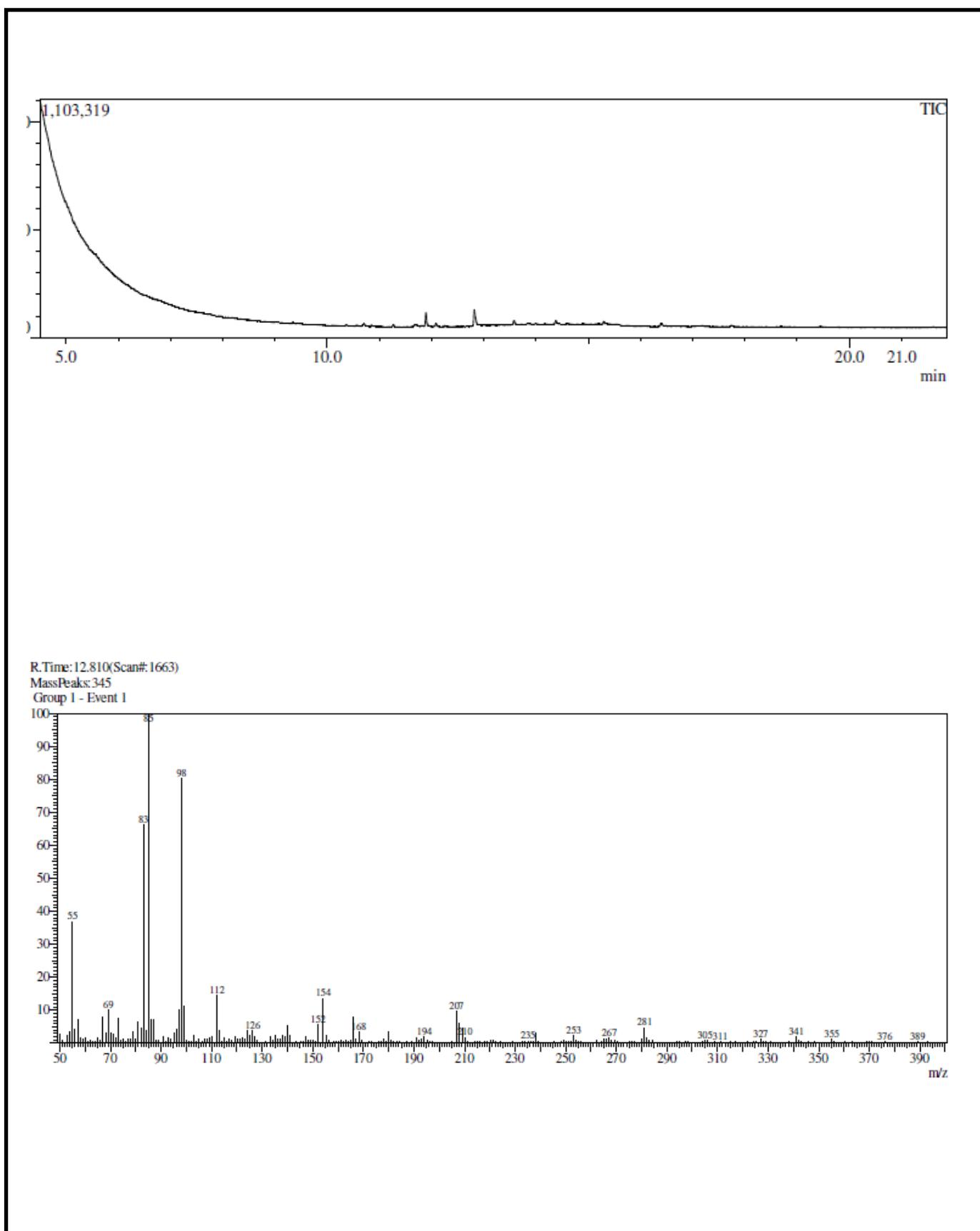
Espectro 67 – GC-MS (70 eV) da *N*-2-hidroxietil-9-*Z*-octadecenamida (77c**).**



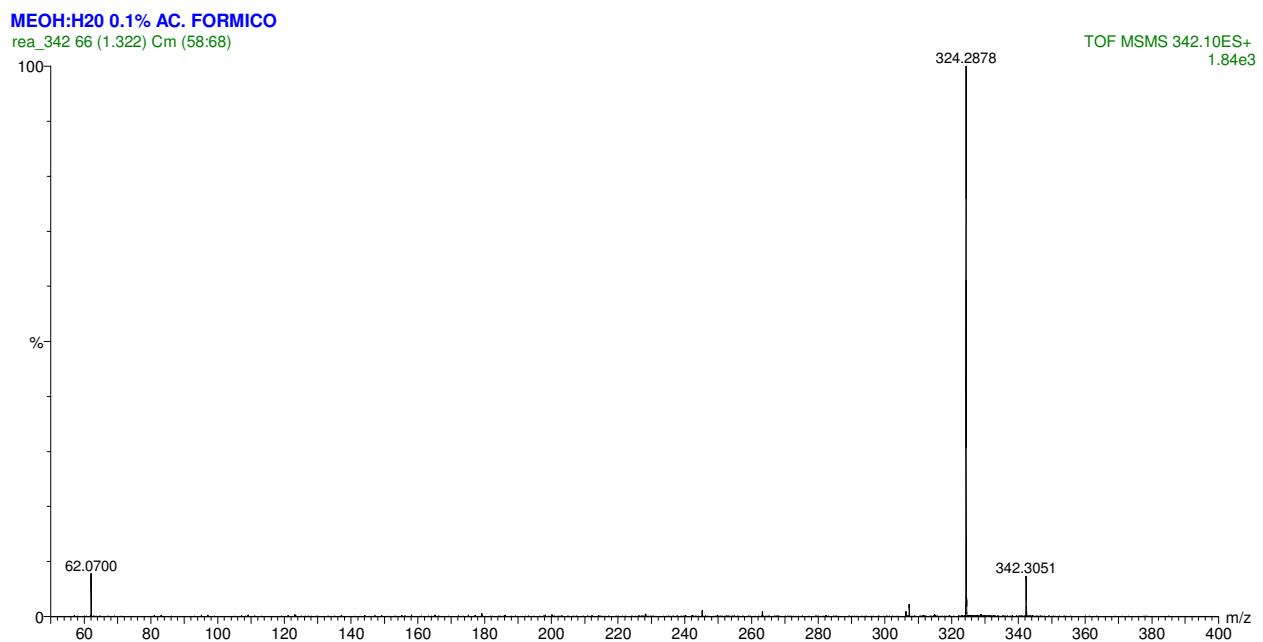
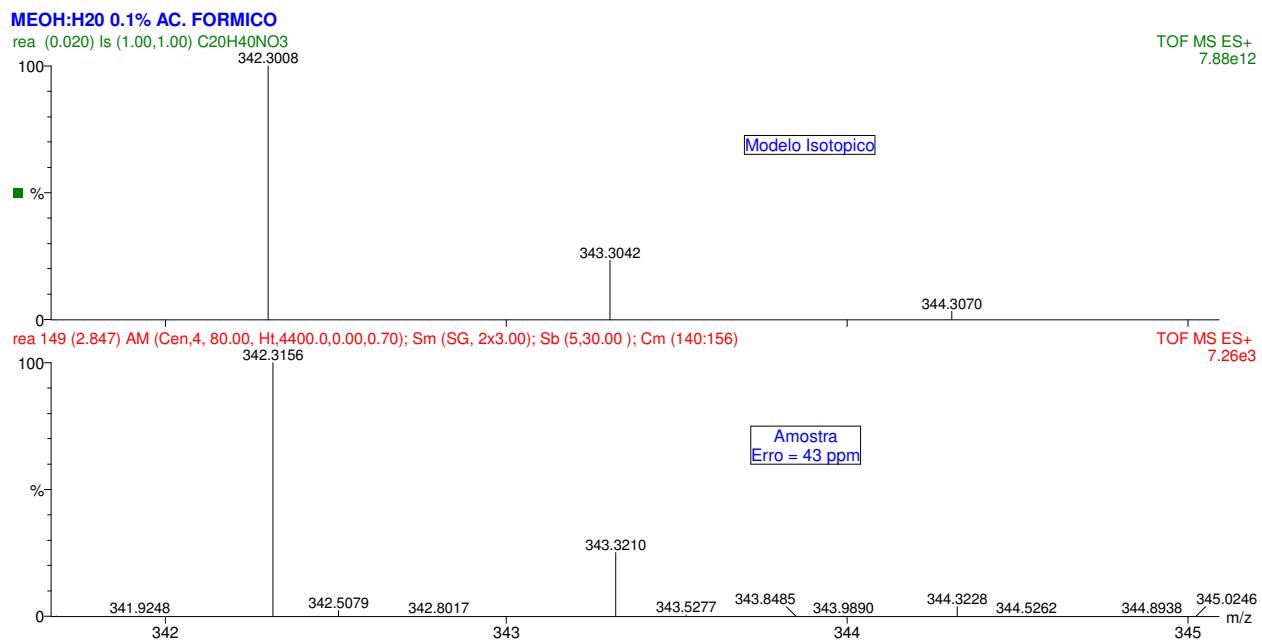
Amostra
Erro: 5 ppm



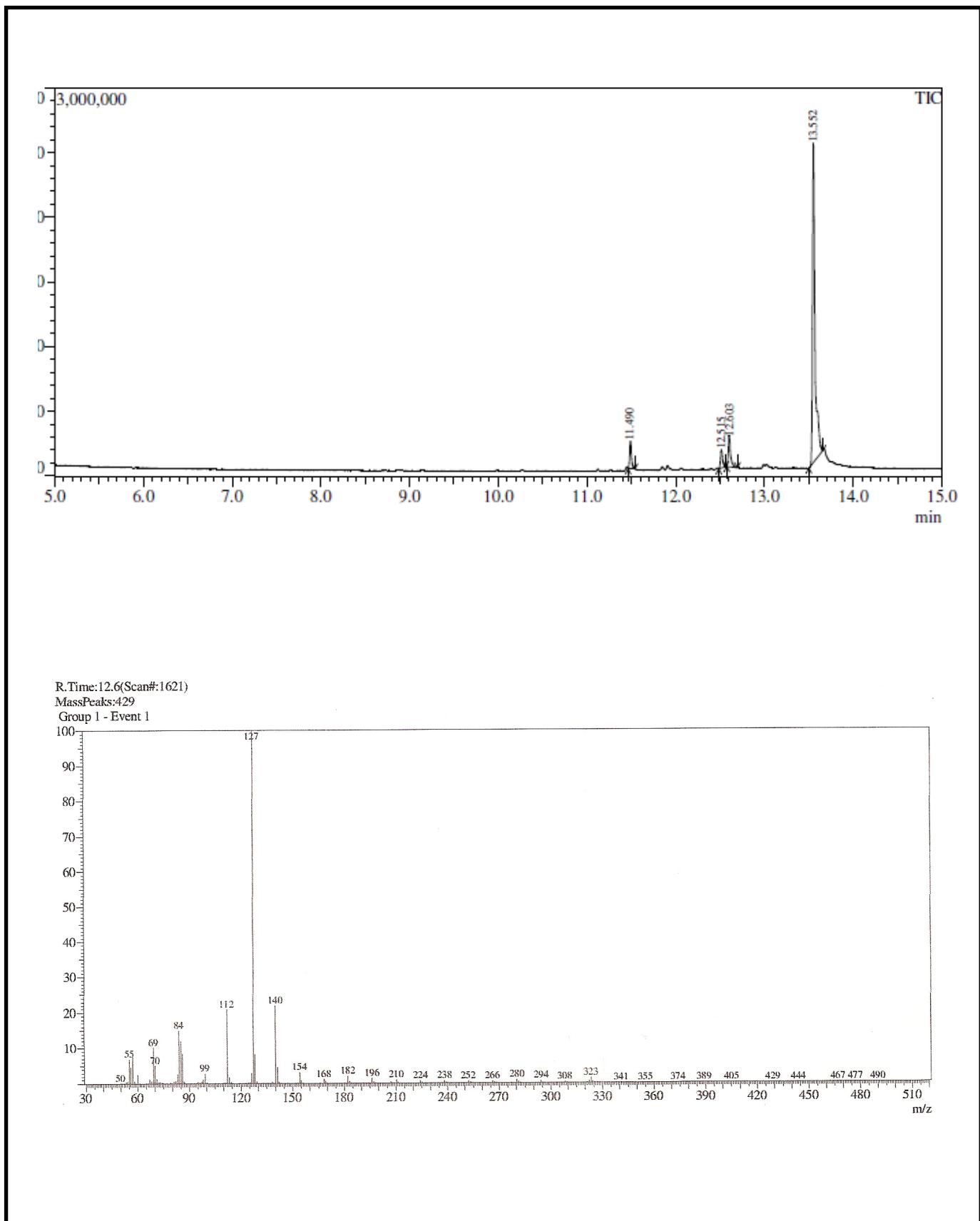
Espectro 68 – ESI-MS/MS da N-2-hidroxietil-9-Z-octadecenamida (77c).



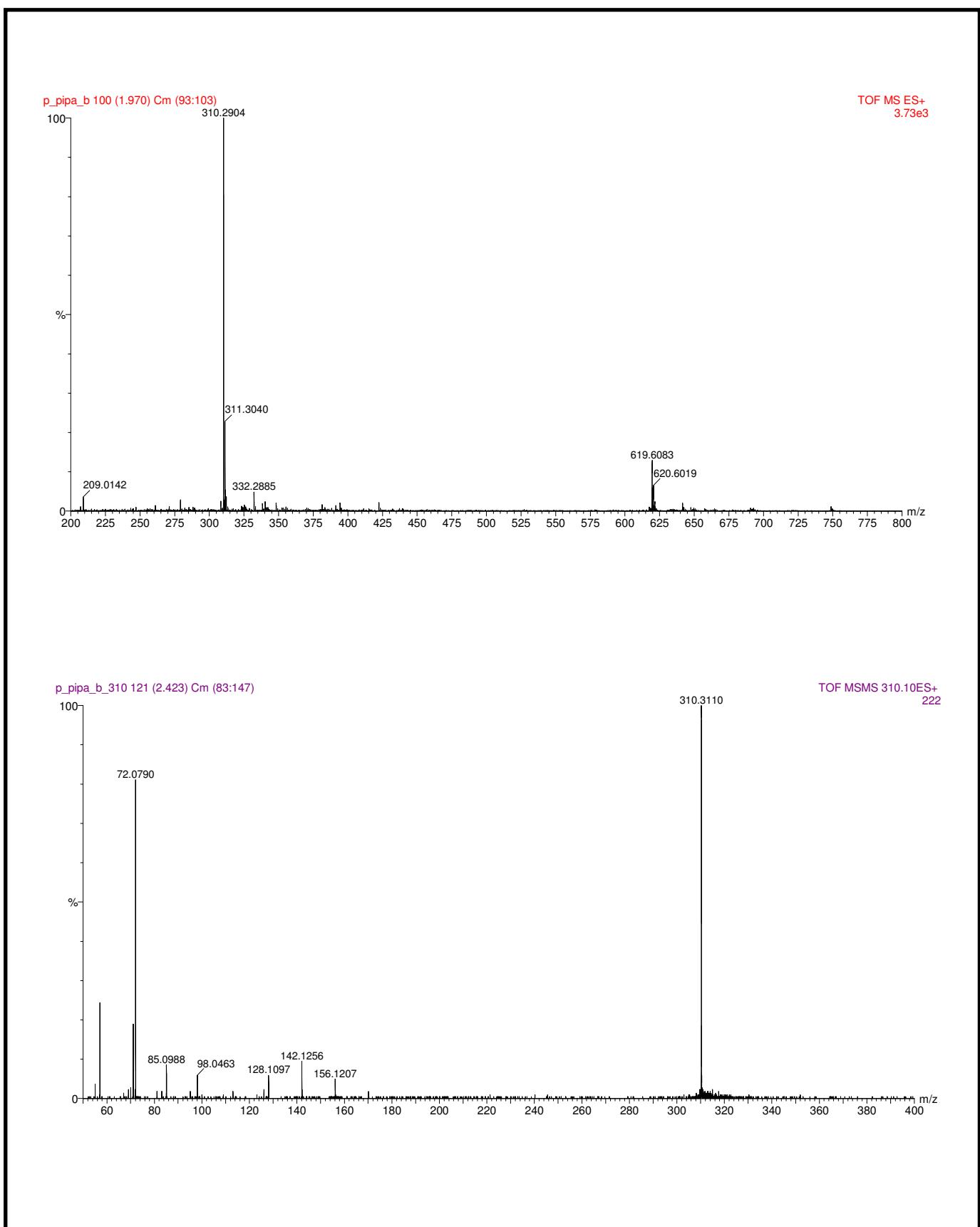
Espectro 69 – GC-MS (70 eV) da *N*-2-hidroxietil-12-hidroxi-9-*Z*-octadecenamida (**77d**).



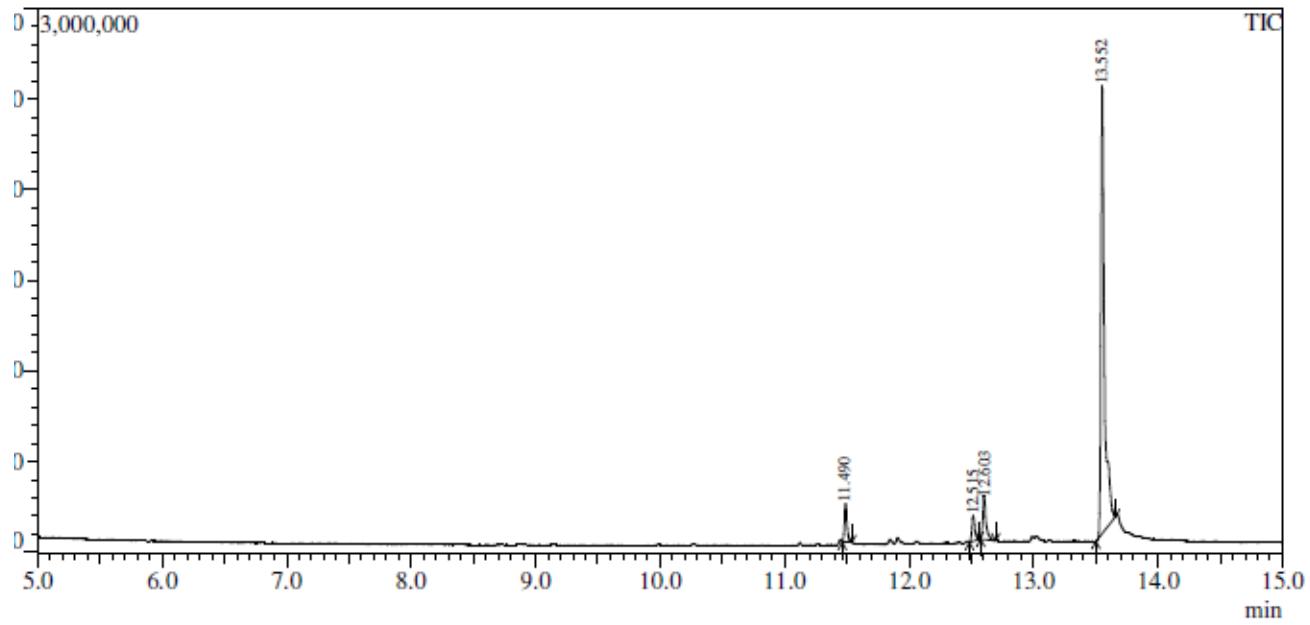
Espectro 70 – ESI-MS/MS da N-2-hidroxietil-12-hidroxi-9-Z-octadecenamida (77d).



Espectro 71 – GC-MS (70eV) da *N*-piperidinilhexadecanamida (78a**).**



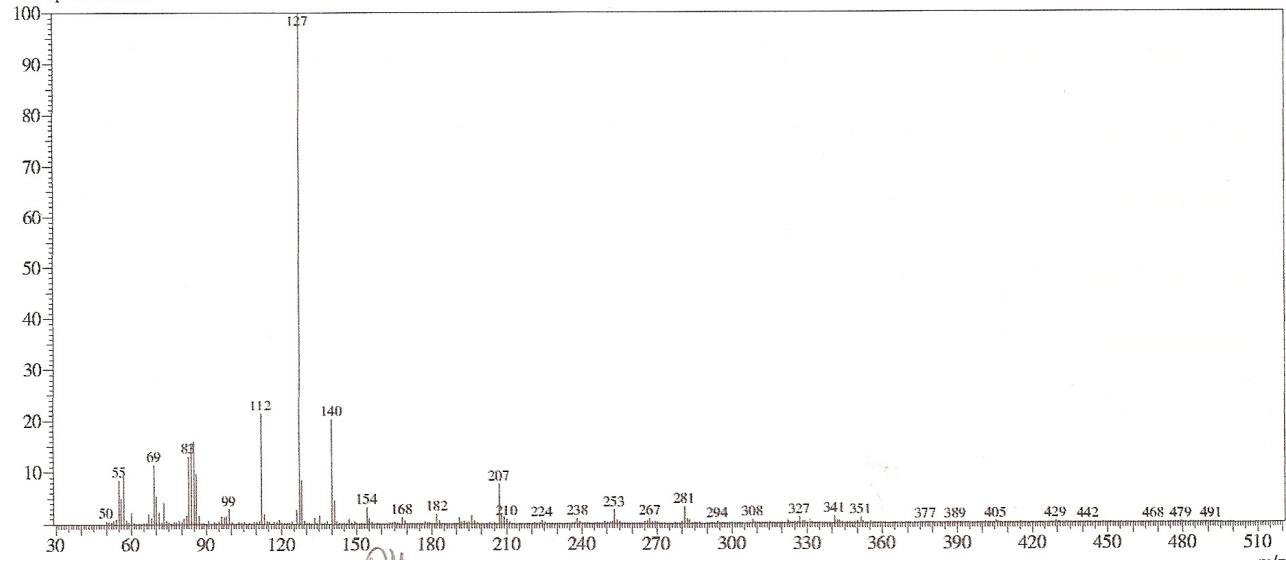
Espectro 72 – ESI-MS/MS da *N*-piperidinilhexadecanamida (78a**).**



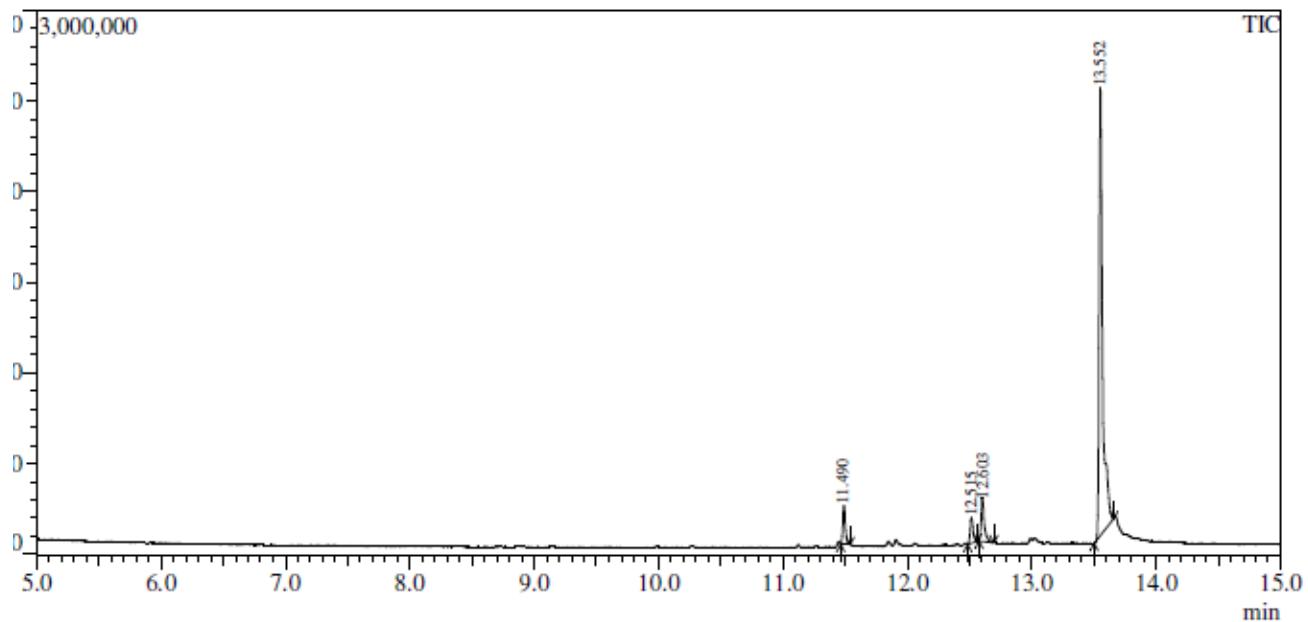
R.Time:13.7(Scan#:1841)

MassPeaks:441

Group 1 - Event 1



Espectro 73 – GC-MS (70eV) da *N*-piperidinilooctadecanamida (78b**).**

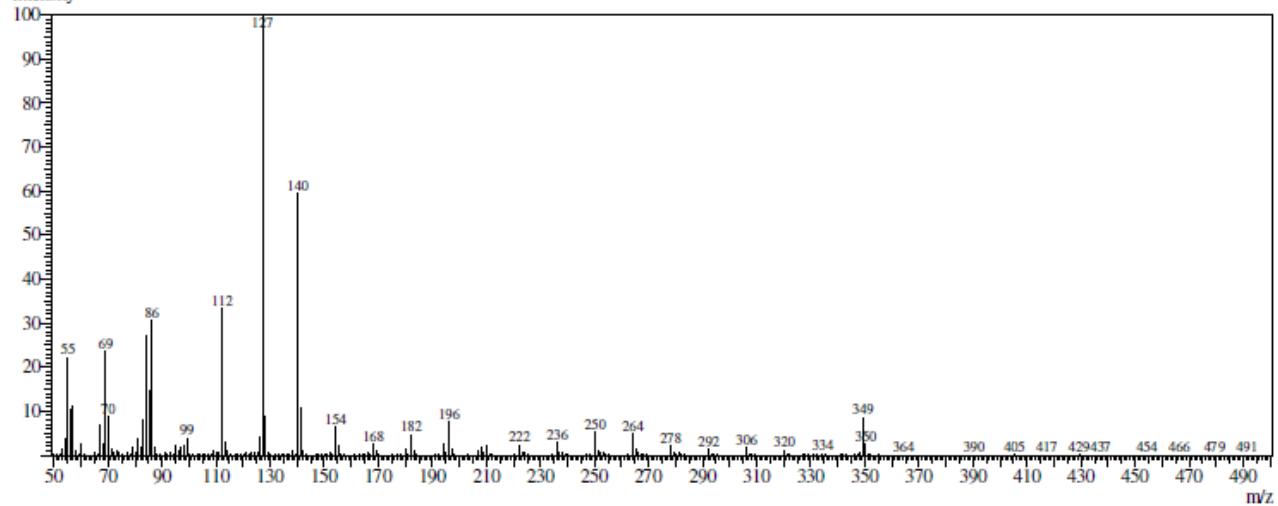


R.Time: 13.550(Scan#: 1811)

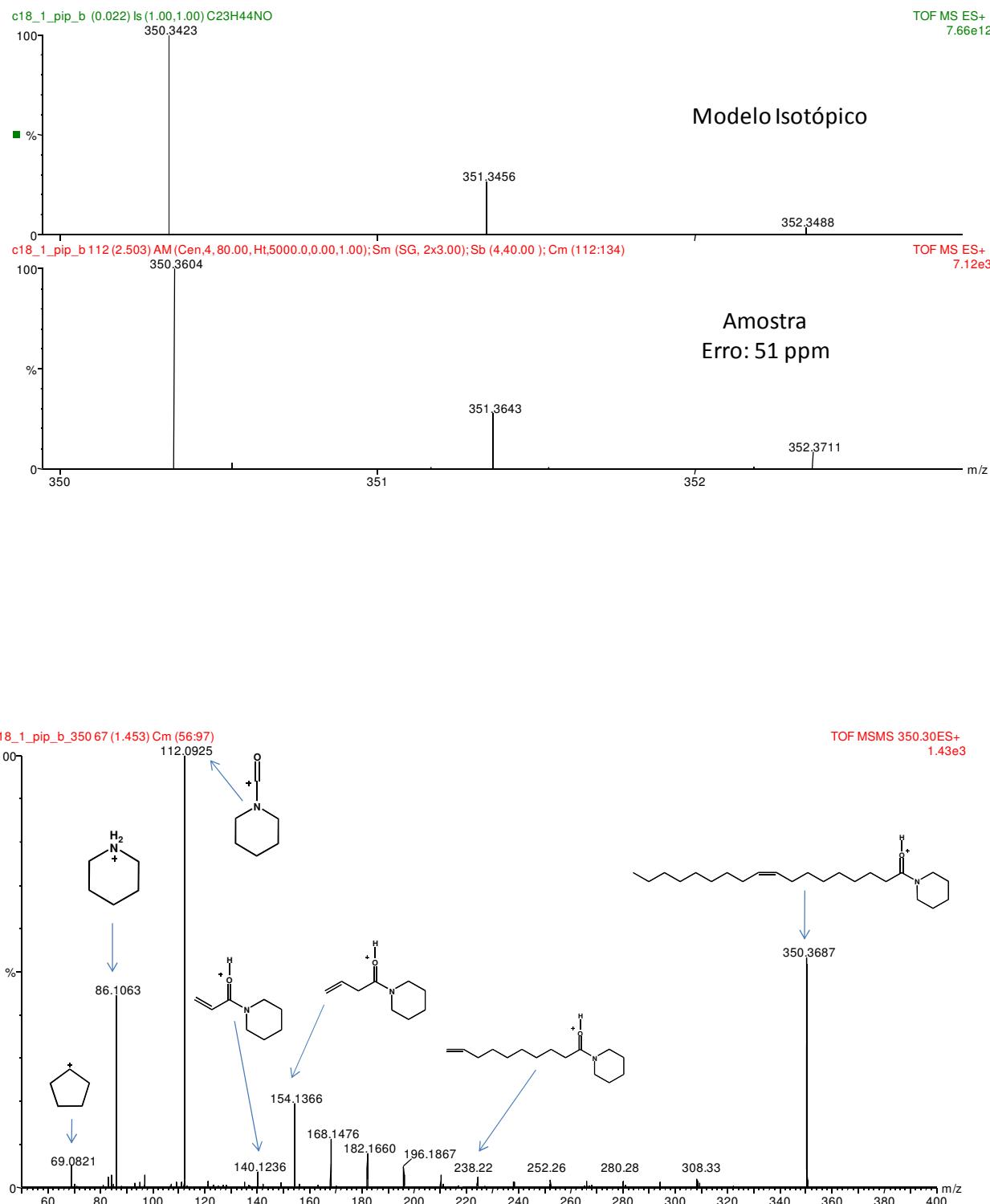
MassPeaks: 436

Group 1 - Event 1

intensity



Espectro 74 – GC-MS (70eV) da *N*-piperidinil-9-Z-octadecenamida (78c).



Espectro 75 – ESI-MS/MS da *N*-piperidinil-9-Z-octadecenamida (78c).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Farrell, E. K.; Merkler, D. J.; *Drug Discov. Today*, **2008**, 13, 558-568.
- ² Pacher, P.; Batkai, S.; Kunos, G.; *Pharmacol. Rev.*, **2006**, 58, 389-462.
- ³ Mackie, K.; *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2006**, 46, 101-122.
- ⁴ Flygare, J.; Sander, B.; *Sem. Cancer Biology*, **2008**, 18, 176-189.
- ⁵ Burstein, S.; Salmons, R.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 9644-9651.
- ⁶ Montalbetti, C.A.G.N.; Falque, V.; *Tetrahedron*, **2005**, 61, 10827-10852.
- ⁷ Ghose, A.K.; Viswanadhan, V.N.; Wendoloski, J. J.; *J. Comb. Chem.*, **1999**, 1, 55-68.
- ⁸ Dembitsky, V.M.; Shkrob, I.; Rozentsvet, O.A.; *Phytochemistry*, **2000**, 54, 965-967.
- ⁹ Alcantara, R.; Amores, J.; Canoira, L.; Fidalgo, M.J.; Franco, M. J.; Navarro, A.; *Biomass and Bioenergy*, **2000**, 18, 515-527.
- ¹⁰ Jordan, A.M.; Roughley, S.; *Drug Discov. Today*, **2009**, 14, 731-744
- ¹¹ Boger, D.L.; Henriksen, S.J.; Cravatt, B.F.; *Curr. Pharm. Des.*, **1998**, 4, 303-314.
- ¹² Levinson, W.E.; Kuo, T.M.; Knothe, G.; *Bioresour. Technol.*, **2008**, 99, 2706-2709.
- ¹³ Bezuglov, V.; Brobov, M.; Gretskaya, N.; Gonchar, A.; Zinchenko, G.; Melck, D.; Bisogno, T.; Di Marzo, V.; Kuklev, D.; Rossi, J.C.; Vidal, J.P.; Durand, T.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, 11, 447-449.
- ¹⁴ Fangour, S.E.; Balas, L.; Rossi, J.C.; Fedenyuk, A.; Gretskaya, N.; Brobov, M.; Bezuglov, V.; Hillard, C.J.; Durand, T.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13, 1977-1980.
- ¹⁵ Pillarisetti, S.; Alexander, C. W.; Khana, I.; *Drug Discov. Today*, **2009**, 14, 1098-1111.
- ¹⁶ Kawasaki, W., Matsui, K., Akakabe, Y., Itai, N., Kajiwara, T.; *Phytochemistry*, **1998**, 47, 27-29.
- ¹⁷ Wang, L.; An, X.; Yang, F.; Xin, Z.; Zhao, L.; Hu, Q.; *Food Chem.*, **2008**, 108, 616-623.
- ¹⁸ Zhao, J.; Muhammad, J.; Dunbar, D.C.; Mustafa, J.; Khan, I.A.; *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, 53, 690-693

-
- ¹⁹ Kashiwada, Y.; Ito, C.; Katagiri, H.; Mase, I.; Komatsu, K.; Namba, T.; Ikeshiro, Y.; *Phytochemistry*, **1997**, *44*, 1125-1127.
- ²⁰ Mansoor, T. A.; Shinde, P. B.; Luo, X.; Hong, J.; Lee, C. O.; Sim, C. J.; Son, B. W.; Jung, J. H.; *J. Nat. Prod.*, **2007**, *70*, 1481-1486.
- ²¹ Akanmu, M.; Adeosun, S. O.; Illesanmi O.R.; *Behavioural Brain Research*, **2007**, *182*, 88-94.
- ²² Guan, X.; Cravatt, B. F.; Ehring, G. R.; Hall, J. E.; Boger, D. L.; Lerner, R. A.; Gilula, N. B.; *J. Cell Biol.*, **1997**, *139*, 1785-1792.
- ²³ Huatrón-Reséndiz, S.; Gombart, L.; Cravatt, B. F.; Henriksen, S.; *Experimental Neurology*, **2001**, *172*, 235-243.
- ²⁴ Arafat, E. S.; Trimble, J. W.; Andersen, R. N.; Dass, C.; Desiderio, D. M.; *Life Science*, **1989**, *45*, 1679-1687.
- ²⁵ Spoto, B.; Fezza, F.; Parlonga, G.; Batista, N.; Sgro, E.; Gasperi, V.; Zoccali, C.; Maccarrone, M.; *Biochimie*, **2006**, *88*, 1889-1897.
- ²⁶ Deutsch, D. G.; Chin, S. A.; *Biochem. Pharmacol.*, **1993**, *46*, 791-796.
- ²⁷ Hillard, C. J.; Wilkinson D. M.; Edgemond, W. S.; Campbell, W. B.; *Biochim. Biophys. Acta*, **1995**, *1257*, 249-256.
- ²⁸ Watanabe, K.; Kayano, Y.; Matsunaga, T.; Yamamoto, I.; Yoshimura, H.; *Biol. Pharm. Bull.*, **1996**, *19*, 1109-1111.
- ²⁹ Ueda, N.; Kurahashi, Y.; Yamamoto, S.; Tokonuga, T.; *J. Biol. Chem.*, **1995**, *270*, 23823-23827.
- ³⁰ Fu, J.; Astarita, G.; Gaetani, S.; Kim, J.; Cravatt, B. F.; Mackie, K.; Piomelli, D.; *J. Biol. Chem.*, **2007**, *282*, 1518-1528.
- ³¹ Madl, T.; Mittelbach, M.; *Analyst*, **2005**, *130*, 565-570.
- ³² Coburn, A.F.; Graham, C.E.; Haninger, J.; *J. Exp. Med.*, **1954**, *100*, 425-435.
- ³³ Kuehl, F.A.; Jacob, T.A.; Ganley, O.H.; Ormond, R.E.; Meisinger, M.A.P.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, *79*, 5577-5578.
- ³⁴ Berdyshev, E. V.; Boichot, E.; Lagente, V.; J. *Lipid Mediator Cell Signalling*, **1996**, *15*, 49-67.
- ³⁵ Micale, V.; Mazzola C.; Drago, F.; *Pharmacol. Research*, **2007**, *56*, 382-392.
- ³⁶ De Petrocellis, L.; Melck, D.; Bisogno, T.; Di Marzo, V.; *Chem. Phys. lipids*, **2000**, *108*, 191-209.

-
- ³⁷ Vogel, Z.; Barg, J.; Levy, R. Saya, D.; Heldman, E.; Mechoulan, R.; J. *Neurochem.*, **1993**, 61, 352-355.
- ³⁸ Mackie, K.; Devane, W. A. Hille, B.; *Mol. Pharmacol.*, **1993**, 44, 498-503.
- ³⁹ di Tomaso, E.; Beltramo, M. ; Piomelli, D.; *Nature*, **1996**, 382, 677-678.
- ⁴⁰ Costa, B.; Conti, S.; Giagnoni, G.; Colleoni, M.; Br.; *J. Pharmacol.*, **2002**, 137, 413 – 420.
- ⁴¹ Re, G.; Barbero, R.; Miolo, A.; Di Marzo, V.; *The Veterinary Journal*, **2007**, 173, 21-30.
- ⁴² Wallace, V.C.J.; Segerdahl, A.R.; Lambert, D.M.; Vandervoord, S.; Blackbeard, J.; Pheby, T.; Hasnie, F.; Rice, A.S.C.; Br.; *J. Pharmacol.*, **2007**, 151, 1117-1128.
- ⁴³ Carbonare, M.D.; Giudice, E.D.; Stecca, A.; Colavito, D.; Fabris, M.; D'Arrigo, A.; Bernadini, D.; Dam, M.; Leon, A.; *J. Neuroendocrinol.*, **2008**, 20, 26–34
- ⁴⁴ Ambrosini, A.; Zolese, G.; Ambrosi, S.; Ragni, L.; Tiano, L.; Litarru, G.; Bertoli, E.; Montero, F.; Boscaro, M.; Balercia, G.; *Biol.Reprod.*, **2006**, 74, 659-665.
- ⁴⁵ Lo Verme, J.; Gaetani, S.; Fu, J.; Oveisi, F.; Burton, K.; Piomelli, D.; *Cell. Mol. Life Sci.*, **2005**, 62, 708-716.
- ⁴⁶ Astarita, G.; Di Giacomo, B.; Gaetani, S.; Oveisi, F.; Compton, T. R.; Rivara, S.; Tarzia, G.; Mor, M.; Piomelli, D.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2006**, 318, 563-570
- ⁴⁷ Guzman, M.; Lo Verme, J.; Fu, J.; Oveisi, F.; Blazquez, C.; Piomelli, D.; *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279, 27849-27854.
- ⁴⁸ Fu, J.; Gaetani, S.; Oveisi, F.; Lo Verme, J.; Serrano, A.; Fonseca, F.R.; Rosengarth, A.; Luecke, H.; Di Giacomo, B.; Tarzia, G.; Piomelli, D.; *Nature*, **2003**, 425, 90-93.
- ⁴⁹ Lees, G.; Dougalis, A.; *Brain Res.*, **2004**, 997, 1-14.
- ⁵⁰ Driscoll, W.J.; Chaturverdi, S.; Mueller, G.P.; *J. Biol. Chem.*, **2007**, 282, 22353-22363.
- ⁵¹ Bisogno, T.; Melck, D.; Bobrov, M. Y.; Gretskaya, N.M.; Bezuglov, V.V.; De Petrocelis, L.; Di Marzo, V.; *Biochem. J.*, **2000**, 351, 817-824.
- ⁵² Burstein, S.; Salmons, R.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 9644-9651.
- ⁵³ Flygare, J.; Sander, B.; *Seminars in Cancer Biology*, **2008**, 18, 176-189.

-
- ⁵⁴ Jones, J. Amino acid and Peptide Synthesis, Oxford, 7th ed., 1994.
- ⁵⁵ Bender, M.L.; *Chem. Rev.*, **1960**, 60, 53-113.
- ⁵⁶ Kangani, C.O.; Kelley, D.E.; *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 8917-8920.
- ⁵⁷ 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.; *Tetrahedron*, **2008**, 63, 12720-12730.
- ^{57a} McNulty, J.; Krishnamoorthy, V.; Robertson, A.; *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 6344-6347.
- ⁵⁸ Kumar, N.; Krishnan, M.; Azzam, T.; Magora, A.; Ravikumar, M.N.V.; Flanagan, D.R.; Domb, A.J.; *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 465, 257-272.
- ⁵⁹ Guo, Z.; Dowdy, E.D.; Li, W.S.; Polniaszek, R.; Delaney, E.; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 1843-1845.
- ⁶⁰ Blotny, G.; *Tetrahedron*, **2006**, 62, 9507-9522.
- ⁶¹ Kaminski, Z.J.; *Biopolymers (pept. Sci.)*, **2000**, 55, 140-164.
- ⁶² Bouron, E.; Goussard, G.; Marchand, C.; Bonin, M.; Pannecoucke, X.; Quirion, J.-C; Husson, H.-P.; *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 7227-7230.
- ⁶³ Singh, R.P.; Shreeve, J.M.; *Synthesis*, **2002**, 17, 2561-2578.
- ⁶⁴ Paul, R.; Anderson, W. G.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 4596-4600.
- ⁶⁵ Dale, D. J.; Draper, J.; Dunn, P. J.; Hughes, M. L.; Hussain, F.; Levett, P. C.; Ward, G. B.; Wood, A. S.; *Org. Process Res. Dev.*, **2002**, 6, 767-772.
- ⁶⁶ Valeur, E.; Bradley, M.; *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, 38, 606-631.
- ⁶⁷ Ranger, C. M.; Winter, R. E. K.; Rottinghaus, G. E.; Backus, E. A.; Johnson, D. M.; *Phytochemistry*, **2005**, 66, 529-541.
- ⁶⁸ Chu, W.; Tu, Z.; McElveen, E.; Xu J.; Taylor, M.; Luedtke, R. R.; Mach, R. H.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 77-87.
- ⁶⁹ Urbani, P.; Cavallo, P.; Cascio, M. G.; Buonerba, M.; De Martino, G.; Di Marzo, V.; Saturnino, C.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 138-141.
- ⁷⁰ García, A.; *Synlett*, **2007**, 8, 1328-1329.
- ⁷¹ Ech-Chahad, A.; Minassi, A.; Berton, L., Appendino, G.; *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5113-5115
- ⁷² Gangwar, S.; Pauletti, G.M.; Siahann, T.J.; Stella, V. J.; Borchardt, R. T.; *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 1356-1362.
- ⁷³ Kisfaludy, L.; Schon, I.; Szirtes, T.; Nyeki, O.; Low, M.; *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 19, 1785-1786.

-
- ⁷⁴ Carpino, L.A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 4397-4398.
- ⁷⁵ Malow, M.; Wehrstedt, K.D.; Neuenfeld, S.; *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 1233-1235.
- ⁷⁶ Castro, B.; Dormoy, J.R.; Evin, G.; Selve, C.; *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 14, 1219-1222.
- ⁷⁷ Coste, J.; Le-Nguyen, D.; Castro B.; *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 205-208.
- ⁷⁸ Wang, W.; McMurray, J. S.; *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 2501-2504.
- ⁷⁹ Albericio, F.; Boffil, J. M.; El-faham, A.; Kates, , S.A.; *J. Org. Chem.* , **1998**, 63, 9678-9683.
- ⁸⁰ Ruan, Z.; Lawrence, R.M.; Cooper, C.B.; *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 7649-7651
- ⁸¹ Gonzales, G.F.; Cordova, A.; Vega, K.; Chung, A.; Villena, A.; *J. Endocrinol.*, **2003**, 176, 163-168.
- ⁸² G. Lakshminarayana, G.; Paulose, M.M.; Kumari,N.B. ; *JAOCS*, **1984**, 61, 1871-1872.
- ⁸³ Turner, C.; Whitehand, L.C.; Nguyen, T.; McKeon, T.; *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52, 26-32.
- ⁸⁴ Lopes, C. R.; *Síntese de Amidas Graxas: Uma nova família de lipídios biologicamente ativos*. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental) – Universidade Federal do Rio Grande, **2009**.
- ⁸⁵ Hosamani, K.M.; Katagi, K.S.; *Chem. Phys. Lipids*, **2008**, 152, 9-12.
- ⁸⁶ Lamac, M.; Cvacka, J.;Stepnicka, P.; *J. Organometallic Chem.*, **2008**, 63, 3430-3434.
- ⁸⁷ Buchanan, G. W.; Rastegar, M. F.; Enright, G.; *J. Fluor. Chem.*, **2007**, 128, 1026-1028.
- ⁸⁸ Ghosh, R.; Maiti, S.; Chakraborty, A.; *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 147-151.
- ⁸⁹ Phukan, P.; *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 4785-4787.
- ⁹⁰ Peng, Z.; Orita, A.; An, D.; Otera, J.; *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 3187-3189.
- ⁹¹ Lopes, C.R., Da Ros, C., Duarte, R.C., Kurz, M.H.S., Primel, E., Clementin, R.M., Vilarreyes, J.A.M., D’Oca, M.G.M.; *Química Nova*, 0000, 00, 000-000.
- ⁹² Brotzel, F.;Chu, Y. C.; Mayr, H.; *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 3679-3688.
- ⁹³ Gross, J.H.; *Mass Spectrometry*, 1st Ed.; Springer, **2004**.

-
- ⁹⁴ Schreiber, D.; Harlfinger, S.; Nolden, B.M.; Gerth, C.W.; Jaehde, U.; Schömig, E.; Klosterkötter, J.; Giuffrida, A.; Astarita, G.; Piomelli, D.; Leweke, F.M.; *Anal. Biochem.*, **2007**, 361, 162-168.
- ⁹⁵ Gee, A.J.; Groen, L.A.; Johnson, M.E.; *J. Chromatogr. A*, **1999**, 849, 541-552.
- ⁹⁶ Silverstein, R.; Webster, F.; Kiemle, D.; *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7th edition, **2005**.
- ⁹⁷ McLafferty, F.W.; Bockhoff, F.M.; *Org. Mass. Spectrom.*, **1979**, 14, 181-184.
- ⁹⁸ Imramovsky, A.; Polanc, S.; Vinsova, J.; Kocevar, M.; Jampilek, J.; Reckova, Z.; Kaustova, J.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 2551-2559.
- ⁹⁹ Palomino, J.C.; Ramos, D.F.; Silva, P.A.; *Curr. Med. Chem.*, **2009**, 16, 1898-1904.
- ¹⁰⁰ Sriram, D.; Yogeeshwari, P.; Reddy, S. P.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 2113-2116.
- ¹⁰¹ Sriram, D.; Yogeeshwari, P.; Madhu, K.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 4502-4505.
- ¹⁰² Glushkov, R. G.; Modnikova, G. A.; L'vov, A. I.; Krylova, L. Yu.; Pushkina, T. V.; Gus'kova, T. A.; Solov'eva, N. P.; *Pharm. Chem. J.*, **2004**, 38, 420-424
- ¹⁰³ Sinha, N.; Jain, S. J.; Tilekar, A.; Upadhyaya, R.S.; Kishore, N.; Jana, G.H.; Arora, S.K.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 1573-1576.
- ¹⁰⁴ *Anti-tuberculosis drug resistance*, Vol. 4, WHO, **2009**, disponível em: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/update/tbu_9.pdf
- ¹⁰⁵ Silverman, R.; *The Organic Chemistry of drug design and drug action*, 2nd Ed.; Elsevier, **2004**.
- ¹⁰⁶ Palomino J.; Martin A.; Camacho M.; Guerra H.; Swings J.; Portaels F.; *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46, 2720–2722.
- ¹⁰⁷ Scior, T.; Garces-Eisele, S. J. *Curr. Med. Chem.* **2006**, 13, 2205.
- ¹⁰⁸ Barrone, J. R.; *ACS National Meeting Book of Abstracts*, **2007**.
- ¹⁰⁹ Alcantara, R.; Amores, J.; Canoira, L.; Fidalgo, E.; Franco, M.J.; Navarro, A.; *Biomass and Bioenergy*, **2000**, 18, 515-527.
- ¹¹⁰ Perin, G.; Álvaro, G.; Westphal, E.; Viana, L.H.; Jacob, R.G.; Lenardão, E.J.; D'Oca, M.G. M; *Fuel*, **2008**, 87, 2838-2841.