



Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE NOVOS β -AMINOÁLCOIS BASEADAS NO CARDANOL E GLICEROL

Alisson Richard Teixeira Novais



Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE NOVOS β -AMINOÁLCOIS BASEADAS NO CARDANOL E GLICEROL

Alisson Richard Teixeira Novais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Mestrado – da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Campo Grande, 2020



SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE NOVOS β -AMINOÁLCOIS BASEADAS NO CARDANOL E GLICEROL

Alisson Richard Teixeira Novais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Mestrado – da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Adilson Beatriz

Dr^a. Camila Santos Suniga Tozatti

Dr. Edson dos Anjos dos Santos



AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família em especial minha mãe que sempre foi um porto seguro e incentivou-me a levantar e seguir em frente diante de todas as dificuldades. Aos meus irmãos Allan Kelvin Teixeira Novais e Lais Karen Teixeira Novais. Aos meus avós Aurélia Gomes e Carlos Novais.

Agradeço aos meus orientadores Prof. Dr. Adilson Beatriz e Prof. Dr. Alisson Meza de Souza pela paciência e os ensinamentos prestados durante todo o período do mestrado. Agradeço aos colegas do Laboratório de Pesquisa 4 da UFMS pelo companheirismo no dia a dia do trabalho.

Agradeço aos meus amigos Luan Bonifacio e Carol Marchewics por me presentear com a amizade e palavras de apoio sempre quando precisei.

Agradeço aos respectivos doutores pelo aceite em compor a banca examinadora deste trabalho, Prof. Dr. Edson dos Anjos Santos, Prof^ª. Dr^ª. Camila Santos Suniga Tozatti, Prof. Dr. Denis Pereira Lima (suplente) e a Prof^ª. Dr^ª. Felicia Megumi Ito (suplente).

Por fim agradeço todos os professores, técnicos e funcionários da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul que de alguma forma contribuíram para execução desta pesquisa.



RESUMO

Atualmente, o surgimento de cepas de microrganismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis representam um problema alarmante à saúde pública, onde diversos microrganismos multirresistentes e até pan-resistentes têm sido isolados de diversos serviços de saúde do mundo todo. Para lidar com o problema, muitos grupos de pesquisadores engajaram-se em realizar estudos de prospecção de candidatos a novos antimicrobianos. Este trabalho objetivou o aproveitamento do cardanol e glicerol na síntese de novos β -amino álcoois para ensaios de atividade antimicrobiana. Cardanol saturado foi preparado com sucesso a partir do cardanol obtido do líquido da casca da castanha do caju (LCC técnico). Este, por sua vez, foi tratado com epícloridrina para obter o epóxido cardanol **7**. Nove aminas (aromáticas e alifáticas) foram utilizadas na tentativa de preparar novos β -amino álcoois, através da reação de abertura do anel oxirano de **7**. No entanto, esta etapa se mostrou problemática, pois apenas os β -amino álcoois 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)-propil)-amino) fenol (**20**) e 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)-propil)(metil)amino)-1-fenilpropan-1-ol (**15**) foram obtidas nas diversas condições reacionais utilizadas. Além disso, foram inesperadamente obtidos 1-etóxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol (**23**), e 3-(3-pentadecilfenoxi) propano-1,2-diol (**22**). Sendo que os compostos cardanol hidrogenado (**6**) e 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)-propil)(metil)amino)-1-fenilpropan-1-ol (**15**), apresentaram atividade contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA), com a concentração mínima inibitória (CIM) de $64 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $32 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

Palavras-chave: Lipídios fenólicos; β -aminoálcoois; antimicrobianos



ABSTRACT

Currently, the emergence of resistant microorganisms to the available antibiotics imparts a dramatic health problem in the world, where many multidrug- and pandrug-resistant microorganisms have been isolated in hospitals all around the world. To deal with this urgent problem, many research groups have been focused on prospecting prototypes for new antimicrobials. This work aimed to use cardanol and glycerol as precursors in the synthesis of new β -amino alcohols for antimicrobials assays. Hydrogenated cardanol was successfully synthesized from cardanol mixture obtained from cashew nut shell liquid (CNSL), and then treated with epichlorohydrin to achieve the epoxide **7**. Nine aliphatic and aromatic amines were used to prepare new β -amino alcohols through epoxide ring opening reaction of **7**. However, this step was problematic, once only 2-((2-hydroxy-3-(3-pentadecylphenoxy)propyl)amino)phenol (**20**) and 2-((2-hydroxy-3-(3-pentadecylphenoxy)propyl)(methyl)amino)-1-phenylpropan-1-ol (**15**) were obtained from diverse tested experimental procedures. Moreover, the compounds 1-ethoxy-3-(3-pentadecylphenoxy)propan-2-ol (**23**) and 3-(3-pentadecylphenoxy)propane-1,2-diol (**22**) were unexpected obtained. Saturated cardanol (**6**) and amino alcohol (**15**) showed minimum inhibitory concentration (MIC) of $64 \mu\text{g mL}^{-1}$ and 32mg mL^{-1} against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), respectively.

Keywords: Phenolic lipids; β -amino alcohols; antimicrobials



ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE TABELAS	V
ÍNDICE DE ESPECTROS (APÊNDICE).....	VI
LISTA DE SUBSTÂNCIAS	VII
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Líquido da casca da castanha do caju (LCC)	1
1.2. Síntese de β-aminoálcoois	3
2. OBJETIVOS	5
Objetivos Gerais:	5
Objetivos Específicos.....	5
3 MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1 Equipamentos	5
3.2. Reagentes e solventes.....	5
3.3. Planejamento sintético	6
3.4. Procedimento	6
3.4.1. Destilação de LCC	6
3.4.2. Hidrogenação da mistura 8.....	7
3.4.3. Síntese do epóxido cardanol (5).....	8
3.4.4. Reações entre o ciprofloxacino e o epóxido cardanol.....	9
3.4.5. Reações com aminas diversas	10
3.4.5.1. Reações entre o epóxido cardanol e anilina utilizando diferentes catalisadores .	10
3.4.5.2. Reação entre o epóxido cardanol e o 2-aminobenzotiazol	10
3.4.5.3. Reação entre a adenina e o epóxido cardanol	11
3.4.5.4. Reação entre a efedrina e o epóxido cardanol	11
3.4.5.5. Reação entre a L-lisina e o epóxido cardanol	12
3.4.5.6. Reação entre a etilenodiamina e o epóxido cardanol.	13
3.4.5.7. Reação entre o epóxido cardanol e o 2-aminofenol	14
3.4.5.8. Reação entre o epóxido cardanol e a p-aminoacetofenona	15
3.4.6. Teste de susceptibilidade microbiana aos compostos sintetizados.....	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16



4.1. Destilação do LCC	16
4.2. Hidrogenação catalítica de cardanóis de cadeia insaturada	17
4.3. Síntese do epóxido cardanol (7)	18
4.4. Reações entre o ciprofloxacino e o epóxido cardanol	20
4.5. Reações entre a anilina e o epóxido cardanol com diversos catalisadores	20
4.6. Reação entre o epóxido cardanol e o 2-aminobenzotiazol	21
4.7. Reação entre a adenina e o epóxido cardanol	21
4.8. Reação entre a efedrina e o epóxido cardanol	22
4.9. Reação entre a L-lisina e o epóxido cardanol	23
4.10. Reação entre a etilenodiamina e o epóxido cardanol.	24
4.11. Reação entre o epóxido cardanol e o 2-aminofenol	25
4.12. Reação entre o epóxido cardanol e a <i>p</i>-aminoacetofenona	27
4.13. Resultado do teste de susceptibilidade microbiana	28
5. CONCLUSÃO	28
6. REFERÊNCIAS	29
APÊNDICE	31



ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Esquema de reação de transesterificação de triacilglicerídeos.	3
Esquema 2. Amino álcoois lipofílicos baseados no cardanol usando várias aminas [16]......	3
Esquema 3. Rota hipotética proposta para síntese de novos β -amino álcoois a partir do cardanol e da epícloridrina (um derivado do glicerol).	6
Esquema 4. Hidrogenação catalítica do cardanol destilado.	7
Esquema 5. Síntese do epóxido cardanol (7).	8
Esquema 6. Reações executadas entre epóxido cardanol e ciprofloxacino utilizando diferentes métodos.	9
Esquema 7. Reações entre epóxido cardanol e anilina utilizando diferentes catalisadores. ...	10
Esquema 8. Reações entre o epóxido cardanol e o 2-aminobenzotiazol em diferentes métodos.	10
Esquema 9. Reação entre o epóxido cardanol e a adenina.	11
Esquema 10. Reação entre a efedrina e o epóxido cardanol.	11
Esquema 11. Reação entre o epóxido cardanol e a L-lisina.	12
Esquema 12. Reações entre o epóxido cardanol e a etilenodiamina solubilizados em diferentes solventes.	13
Esquema 13. Reações entre epóxido cardanol e 2-aminofenol solubilizados em etanol e tolueno.	14
Esquema 14. Reação entre o epóxido cardanol e a <i>p</i> -aminoacetofenona.	15
Esquema 15. Mistura do cardanol com monoeno, dieno e trieno.	16
Esquema 16. Proposta de fragmentações sofridas pelo epóxido cardanol 7 em EI-MS (70 eV).	19
Esquema 17. Proposta de fragmentações do diol 22 por EI-MS (70 eV).	24
Esquema 18. Possível aminólise proposto para explicar a obtenção de cardanol a partir de epóxido cardanol.	25



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principais constituintes do Líquido da casca da castanha do caju (LCC).....	2
Figura 2. Aminoálcoois ativos contra bactérias Gram-negativas e <i>M. tuberculosis</i>	4
Figura 3. Sistema de destilação de LCC para obtenção de cardanol destilado.	7



ÍNDICE DE TABELAS

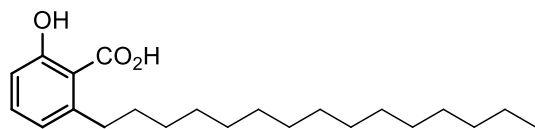
Tabela 1. Composição química do LCC Natural e LCC técnico [1].....	1
Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM) dos β -aminoálcoois testados contra microrganismos de interesse clínico [16].....	4



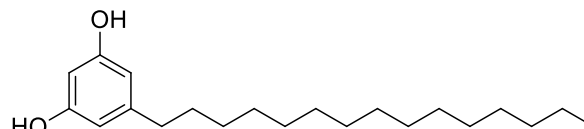
ÍNDICE DE ESPECTROS (APÊNDICE)

Espectro 1. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). Cardanol destilado em mistura: monoeno, dieno e trieno.....	32
Espectro 2. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). Cardanol destilado em mistura: monoeno, dieno e trieno.....	33
Espectro 3. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). Cardanol hidrogenado.....	34
Espectro 4. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). Cardanol hidrogenado.....	35
Espectro 5. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). Epóxido cardanol.....	36
Espectro 6. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). Epóxido cardanol.....	37
Espectro 7. Espectro de massas (EI-MS, 70 eV). epóxido cardanol.....	38
Espectro 8. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). Molécula híbrida entre epóxido cardanol e efedrina.....	39
Espectro 9. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). Molécula híbrida entre epóxido cardanol e efedrina.....	40
Espectro 10. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). 3-(3-pentadecilfenóxi)propano-1,2-diol....	41
Espectro 11. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). 3-(3-pentadecilfenóxi)propano-1,2-diol....	42
Espectro 12. Espectro de massas (EI-MS, 70 eV). 3-(3-pentadecilfenóxi)propano-1,2-diol.	43
Espectro 13. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil)amino)fenol	44
Espectro 14. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil)amino)fenol	45
Espectro 15. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3). 1-etóxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol	46
Espectro 16. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3). 1-etóxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol	47
Espectro 17. Espectro de massas (EI-MS, 70 eV). 1-etóxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol	48

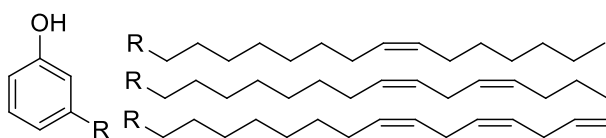
LISTA DE SUBSTÂNCIAS



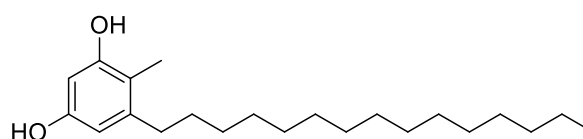
1. Ácido 2-hidróxi-6-pentadecilbenzóico



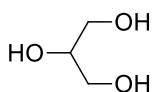
2. 5-pentadecilbenzeno-1,3-diol



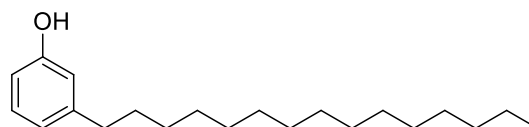
3. cardanol insaturado



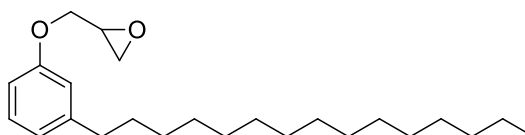
4. 5-pentadecilbenzeno-1,3-diol



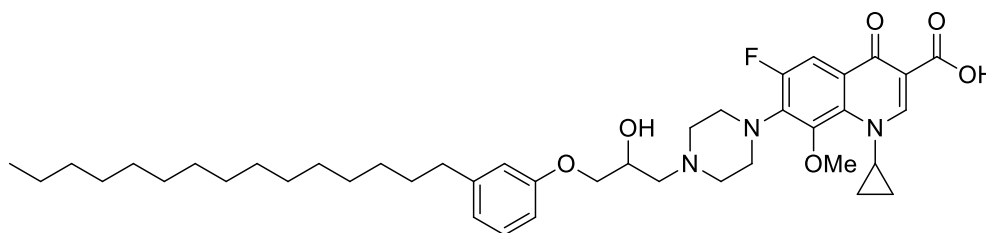
5. Glicerol



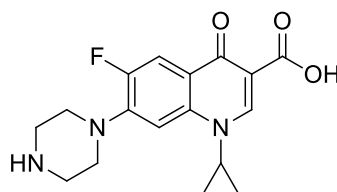
6. 3-pentadecilfenol



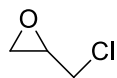
7. 2-((3-pentadecilfenóxi)metil)oxirano



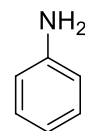
8. 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(4-(2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil) piperazin-1-il)-8-metóxi-4-oxo-1,4-di-hidroquinolina-3-ácido carboxílico



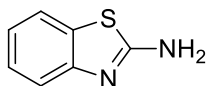
9. Ciproflaxacino



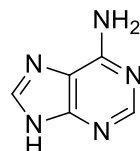
10. 2-(clorometil)oxirano



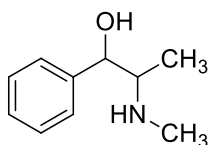
11. Anilina



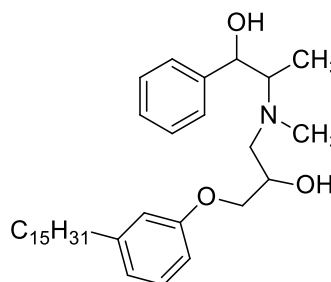
12. 1,3-benzotiazol-2-amina



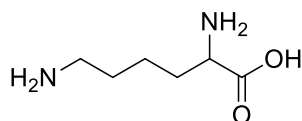
13. 9 H-purin-6-amina



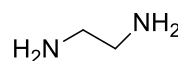
14. 2-(metilamino)-1-fenilpropan-1-ol



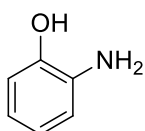
15. 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil)(metilamino)-1-fenilpropan-1-ol



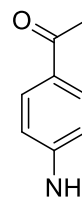
16. Ácido 2,6-diaminohexanóico



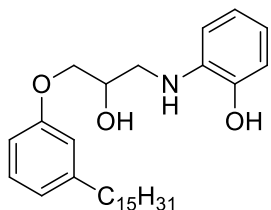
17. etano-1,2-diamina



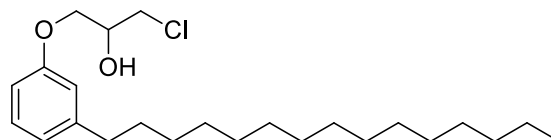
18. 2-aminofenol



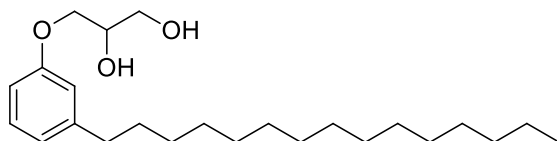
19. 1-(4-aminofenil)etanona



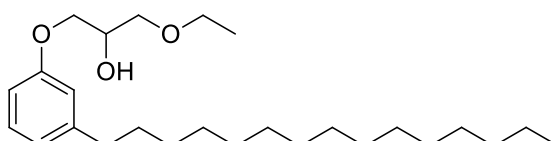
20. 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil)amino)fenol



21. 1-cloro-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol



22. 3-(3-pentadecilfenóxi)propano-1,2-diol



23. 1-etóxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol

1. INTRODUÇÃO

1.1 Líquido da casca da castanha do caju (LCC)

O líquido da casca da castanha do caju (LCC) é uma solução oleosa, cáustica e de coloração escura, cuja composição varia de acordo com a forma de extração. Quando o método utilizado é por meio de solventes, sua composição majoritária é cerca de 71 a 82% de ácido anacárdico, 13 a 20% de cardol, 1,6 a 9,2% de cardanol, 1,6 a 3,9 % de metil-cardol e materiais poliméricos (Tabela 1). Esta forma de extração fornece o LCC natural. Em contrapartida, quando utilizado o método térmico, o LCC técnico é obtido e sua composição varia de 1 a 1,7% de ácido anacárdico, 67,8 a 94,6% de cardanol, 3,8 a 18,8% de cardol, 1,2 a 4,1% de metil-cardol e material polimérico (Figura 1) [1-4]. Este fato ocorre devido à descarboxilação do ácido anacárdico quando submetido a uma temperatura de 180 °C, tornando o cardanol a fração de maior proporção.

Tabela 1. Composição química do LCC Natural e LCC técnico [1].

Componentes	LCC Natural	LCC técnico
fenólicos		
Ácido anacárdico	71,70 – 82,00	1,09 – 1,75
Cardanol	1,60 – 9,20	67,982 – 94,60
Cardol	13,80 – 20,10	3,80 – 18,86
2-metilcardol	1,65 – 3,90	1,20 – 4,10
Componentes poliméricos	2,20	3,05 – 3,98

O cardanol é o principal constituinte do LCC técnico. Esta molécula apresenta uma hidroxila fenólica e uma cadeia alifática de quinze átomos de carbonos em posição *meta* à hidroxila. Essa ramificação lateral pode apresentar até três insaturações, classificando a estrutura em cardanol monoeno, dieno e trieno (Figura 1). Devido à sua característica única, ao longo dos últimos anos, o cardanol têm despertado o interesse de pesquisadores para seu uso potencial em resinas, materiais de revestimentos de fricção, revestimento de superfícies, e síntese orgânica [1,4]. Estudos demonstraram esta classe de lipídios fenólicos apresentaram

atividade fungicida, bactericida, moluscicida, larvicida, anti-inflamatória e antioxidante [5-9]. Recentemente, alguns trabalhos têm focado na preparação de sistemas moleculares híbridos, nos quais o cardanol está envolvido [10].

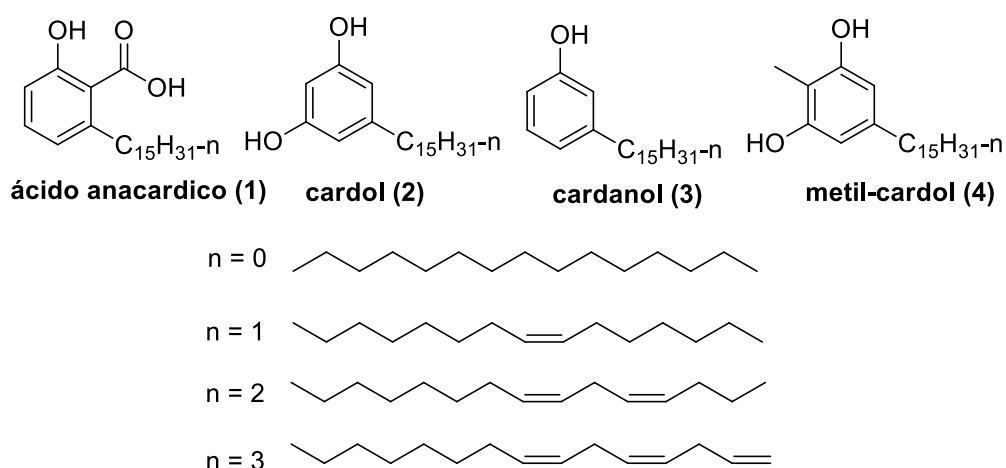
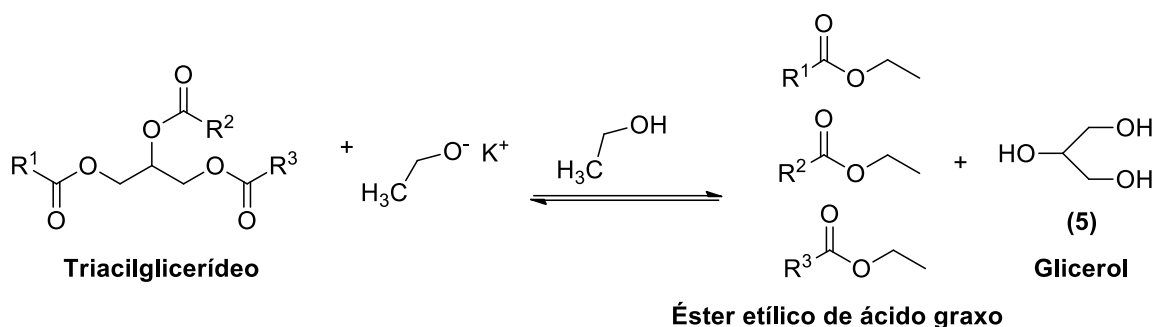


Figura 1. Principais constituintes do Líquido da casca da castanha do caju (LCC).

Ainda no contexto de utilização de recursos renováveis e de baixo custo, o glicerol representa um excelente candidato no emprego em síntese orgânica por se tratar de uma substância de grande versatilidade. Todos os anos, uma grande quantidade de glicerol é gerada como resíduo na produção de biocombustível. Este fato ressalta a importância do aproveitamento desta substância residual. O glicerol (**5**) é um triol com três átomos de carbono, e seu nome segundo IUPAC é 1,2,3-propanol. Trata-se de um líquido viscoso, adocicado e incolor, derivado da indústria petroquímica. Sua produção, na indústria de biocombustíveis, faz-se por meio de transesterificação de ésteres metílicos reagindo com álcoois e catalisado por uma base (Esquema 1) [11].

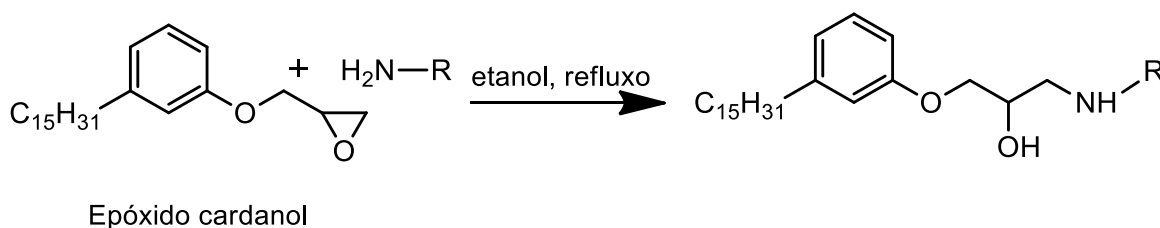


Esquema 1. Esquema de reação de transesterificação de triacilglicerídeos.

β -Amino álcoois são importantes intermediários orgânicos na síntese de uma ampla gama de aminoácidos naturais, ácidos biologicamente ativos, produtos farmacêuticos (β -bloqueadores) e auxiliares quirais [13-15]. Em conexão com projetos voltados para o aproveitamento de recursos renováveis brasileiros de baixo custo, este trabalho focou no uso do cardanol e glicerol como materiais de partida para a síntese desta classe de compostos com potencial bioatividade.

1.2. Síntese de β -amino álcoois

Em trabalhos anteriores, nosso grupo de pesquisa preparou e caracterizou vários aminoálcoois lipofílicos derivados do cardanol e glicerol (Esquema 2) e testaram esses compostos contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e também contra *M. tuberculosis* [16].



Esquema 2. Amino álcoois lipofílicos baseados no cardanol usando várias aminas [16].

Dentre os novos compostos sintetizados, os amino álcoois mostrados na **Figura 2** apresentaram atividades contra bactérias Gram-positivas e contra *M. tuberculosis* (**Tabela 2**). O composto 2c apresentou atividade contra as bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e *M. tuberculosis* [16].

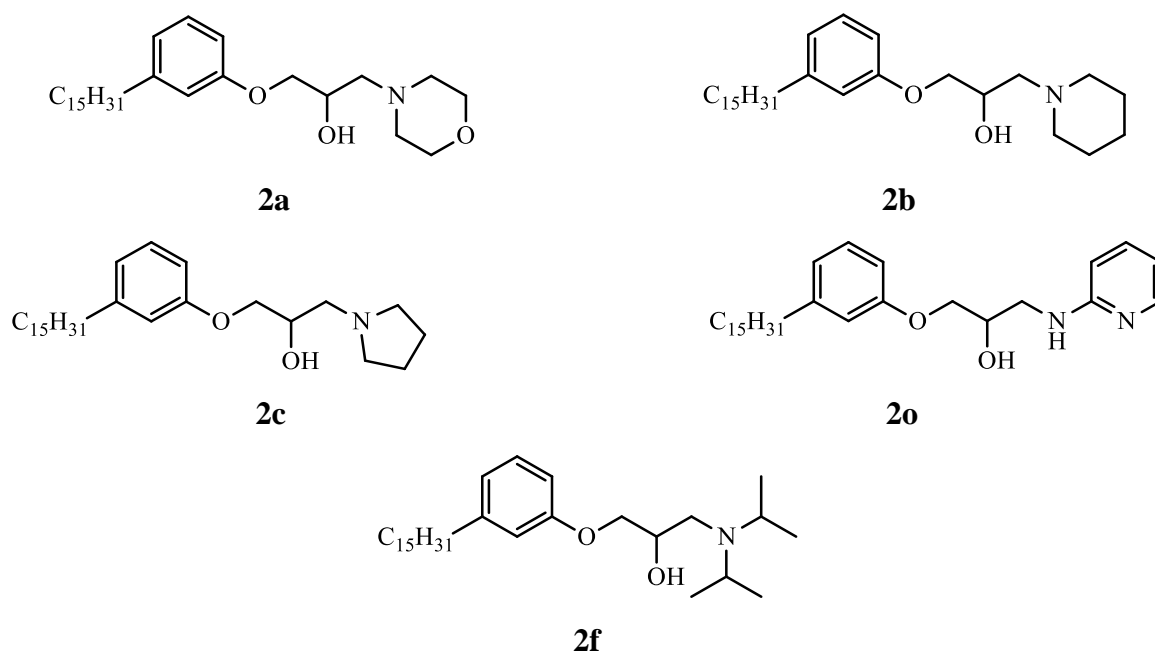


Figura 2. Amino álcoois ativos contra bactérias Gram-negativas e *M. tuberculosis*.

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM) dos β -amino álcoois testados contra microrganismos de interesse clínico [16]

Composto	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. tuberculosis</i>
	ATCC 25923	ATCC 25922	
	MIC / ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	MIC / ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	MIC / ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
2a	-	-	3,18
2b	7,81	-	3,27
2c	15,63	15,60	7,36
2o	3,90	-	5,22

Estudos de síntese e ensaios antimicrobianos foram realizados e os compostos sintetizados apresentaram atividade biológica, sendo que um de destes compostos apresentou CIM de 50 $\mu\text{g/mL}$ [17]. Ainda na linha de raciocínio do estudo realizado anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa, foram testados métodos de síntese de novos β -amino álcoois, elucidação estrutural e atividade antimicrobiana. Os compostos foram avaliados em microrganismos de interesse médico.



2. OBJETIVOS

Objetivos Gerais:

O objetivo deste estudo foi gerar compostos com potencial para suprir a demanda para novos compostos candidatos a fármacos antimicrobianos baseados em fontes renováveis.

Objetivos Específicos

- Sintetizar novos β -amino álcoois, usando cardanol e glicerol como matérias-primas.
- Avaliar a atividade antimicrobiana, sobre bactérias de interesse clínico, dos compostos sintetizados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Equipamentos

As reações foram realizadas no Laboratório de Pesquisa 4 – SintMol, Instituto de Química – INQUI, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Os solventes foram retirados em evaporador rotativo da marca Fisaton, modelo 802D. As amostras foram pesadas em balança analítica da marca Scientech, precisão ± 0.0001 g.

Os espectros de massas foram obtidos por espectrômetro de massas por impacto de elétrons, 70 eV, acoplado a cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu CGMS QP2010 Plus. A coluna utilizada foi do tipo RTx® - Wax (crossbond, carbowax, polyethyleneglycol), 30 m de comprimento, 0,25 mm de DI e 0,25 μ m de df da marca Restek, sendo gás hélio utilizado com fase móvel.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear - RMN foram obtidos em aparelho Bruker Avance DPX-300, os espectros de ^1H e de ^{13}C foram obtidos com a frequência de 300 MHz e de 75 MHz, respectivamente. A referência interna foi ajustada a partir do sinal de TMS quando presente e de sinais residuais dos solventes deuterados utilizados para solubilizar a amostra.

3.2. Reagentes e solventes

Os reagentes necessários para executar os experimentos foram adquiridos comercialmente das marcas Acros, Merck e Synth, com grau de pureza PA.

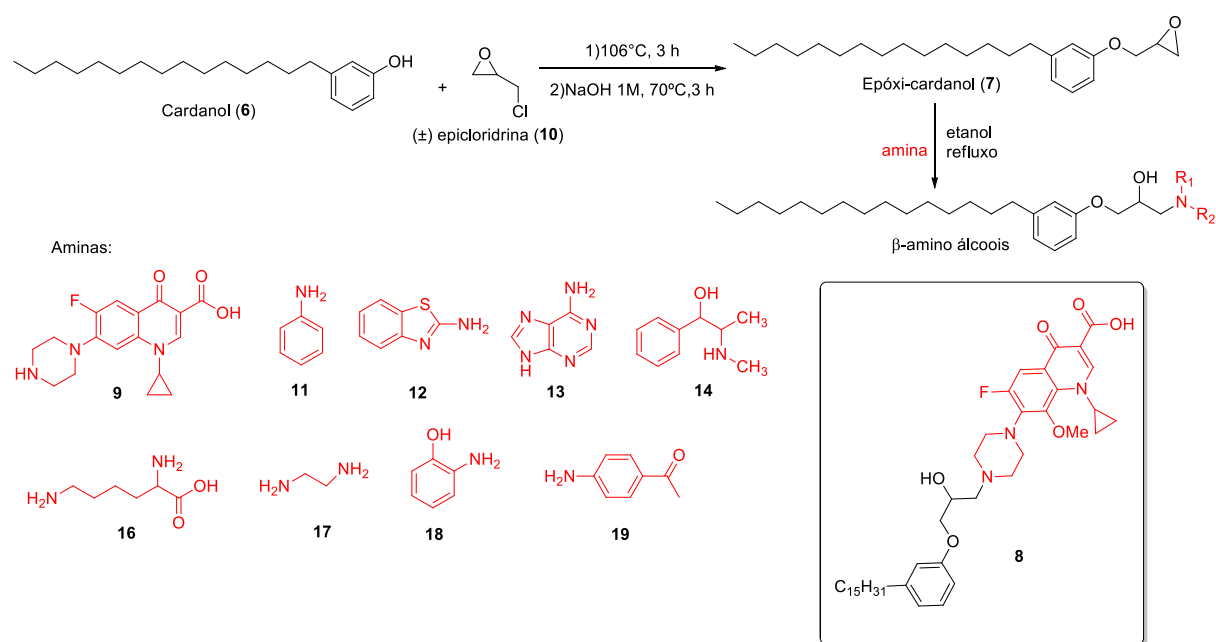
As purificações dos compostos sintetizados foram, conforme o caso, realizadas por destilação (a vácuo, se necessário) e cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica-gel 230-400 mesh, ASTM, sob pressão e foi utilizado acetato de etila e hexano como fase

móvel.

As cromatografias em camada delgada-CCD foram realizadas em cromatofolhas de alumínio contendo sílica-gel 60 F254 da Merck, reveladas por luz ultravioleta ou por tratamento com solução de vanilina (6 g de vanilina solubilizada em solução de 45% de água destilada, 45% de metanol e 10% de ácido sulfúrico) seguidas de aquecimento.

3.3. Planejamento sintético

O projeto de síntese foi desenhado envolvendo reações-chave entre o epóxido cardanol **7** com as aminas **9, 1-14, 16-19**, de acordo com que está apresentado no Esquema 2. O composto híbrido **8**, por exemplo, poderia ser obtido pela reação entre o epóxido **7** e ciproflaxacino (**9**). O epóxido **7** é facilmente preparado através da reação entre a epícloridrina (**10**) e cardanol hidrogenado **6**.



Esquema 3. Rota hipotética proposta para síntese de novos β -amino álcoois a partir do cardanol e da epícloridrina (um derivado do glicerol).

3.4. Procedimento

3.4.1. Destilação de LCC

A mistura de cardanol insaturado (**6**) foi obtida através da destilação do líquido da castanha de caju (LCC técnico). O material foi destilado em pressão suficiente para se obter as

frações puras de cardanol a aproximadamente 130 °C (Esquema 3). Para este procedimento, foram utilizados 289,58 g de LCC e o processo levou 12 horas, sendo que, ao fim do mesmo, foram obtidos 60 g de mistura cardanol insaturado (50 % de rendimento).

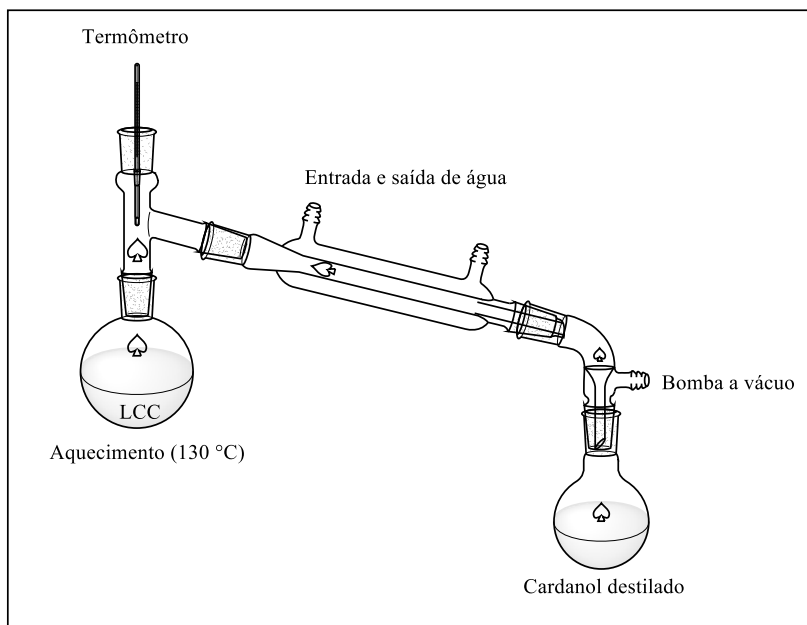
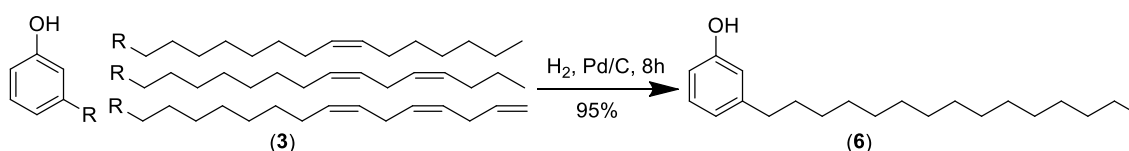


Figura 3. Sistema de destilação de LCC para obtenção de cardanol destilado.

3.4.2. Hidrogenação da do cardanol insaturado

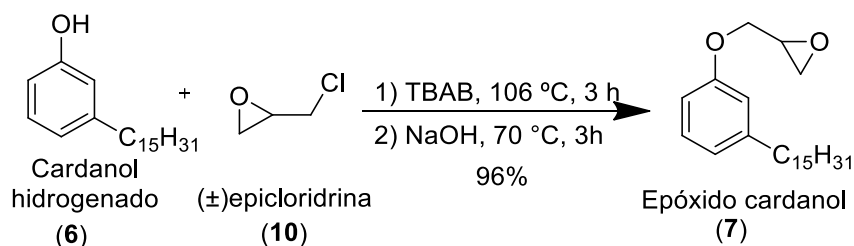


Esquema 4. Hidrogenação catalítica do cardanol destilado.

Procedimento: Um total de 30 g da mistura de cardanol insaturado foram solubilizados em 150 mL de acetato de etila juntamente com 1,5 g de Pd-C. A seguir, a mistura foi agitada em hidrogenador catalítico em pressão de 60 psi por 7 horas em temperatura ambiente. Após esse período, a mistura foi filtrada através do celite e concentrada. O produto **6** foi obtido através de recristalização, onde o sólido foi solubilizado em hexano previamente aquecido e, a seguir, resfriado em aproximadamente -70 °C, com auxílio do cooler de imersão. O produto recristalizado foi filtrado, resultando em 15 g do produto **6** como um cristal esbranquiçado (50% de rendimento em massa). RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,86 (t, J = 6,0 Hz, 3H), 1,25-1,34 (m, 24H), 1,58 (sl, 2H), 2,53 (t, J = 9,0 Hz, 2H), 6,60 (sl, 1H), 6,64 (sl, 1H), 6,75 (d, J = 6,0

Hz, 1H), 7,12 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ 14,1 (CH_3), 22,7 (CH_2), 29,3 (CH_2), 29,3 (CH_2), 29,5 (CH_2), 29,5 (CH_2), 29,6 (CH_2), 31,3 (CH_2), 31,9 (CH_2), 35,8 (CH_2), 112,4 (CH), 115,2 (CH), 120,9 (CH), 129,3 (CH), 144,9 (C), 155,3 (C).

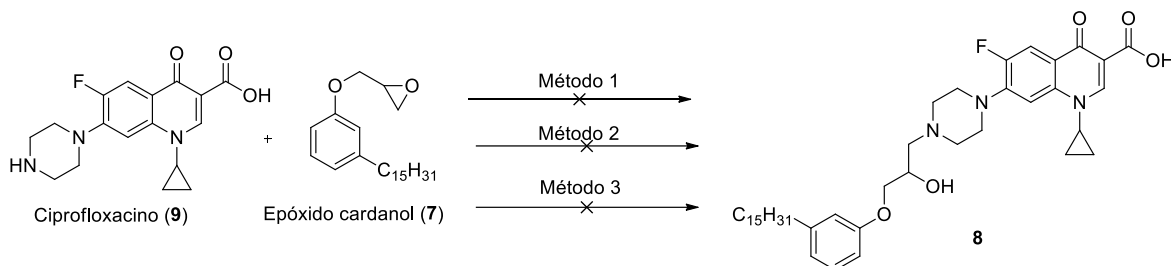
3.4.3. Síntese do epóxido cardanol (7)



Esquema 5. Síntese do epóxido cardanol (7).

Procedimento: Em um balão de fundo redondo foram adicionados: 4,131 g (13,6 mmol) de cardanol hidrogenado, 0,329 g (1,02 mmol) de brometo de tetrabutilamônio (TBAB) e 7,8 mL de (\pm) epicloridrina. O sistema foi mantido sob agitação magnética e aquecimento (106°C) por 3 horas. Na sequência, resfriou-se a mistura a 70°C e adicionou-se lentamente 23,5 mL de solução de NaOH (0,58 M). O sistema foi mantido sob agitação magnética por 3 horas. Após esse período, a reação foi tratada com diclorometano (3 x 20 mL) e a fase orgânica foi separada, seca com MgSO_4 , filtrada com auxílio e por fim concentrada. A purificação foi feita por meio de cromatografia líquida em coluna (5:1 hexano e acetato) onde o produto foi obtido como um líquido amarelado que, quando resfriado, torna-se um sólido branco. (Rendimento 93%). RMN ^1H (CDCl_3) δ 0,86 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,11-1,29 (m, 24H), 1,56 (m, 2H), 2,55 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,37 (m, 1H), 3,67 (m, 2H), 4,12 (m, 2H), 6,69 (sl, 1H), 6,70 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 6,77 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,17 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 14,1 (CH_3), 22,7 (CH_2), 29,3 (CH_2), 29,3 (CH_2), 29,5 (CH_2), 29,6 (CH_2), 29,6 (CH_2), 29,6 (CH_2), 31,3 (CH_2), 31,9 (CH_2), 36,0 (CH_2), 44,7 (CH_2), 50,1 (CH), 68,6 (CH_2), 76,5, 77,0, 77,4, 111,4 (CH), 114,7 (CH), 114,9 (CH), 121,4 (CH), 129,1 (CH), 144,7 (C) 158,4 (C).

3.4.4. Reações entre o ciprofloxacino e o epóxido cardanol



Esquema 6. Reações executadas entre epóxido cardanol e ciprofloxacino utilizando diferentes métodos.

Método 1.

Procedimento: Foram mantidos em um sistema de agitação e refluxo os seguintes reagentes: 0,047 g de ciprofloxacino (0,141 mmol), 0,031 g de epóxido cardanol (0,085 mmol) e 15 mL de etanol. O procedimento foi monitorado por cromatografia camada delgada (CCD) por um período de 24 horas. Observou-se uma mistura complexa e de difícil purificação.

Método 2.

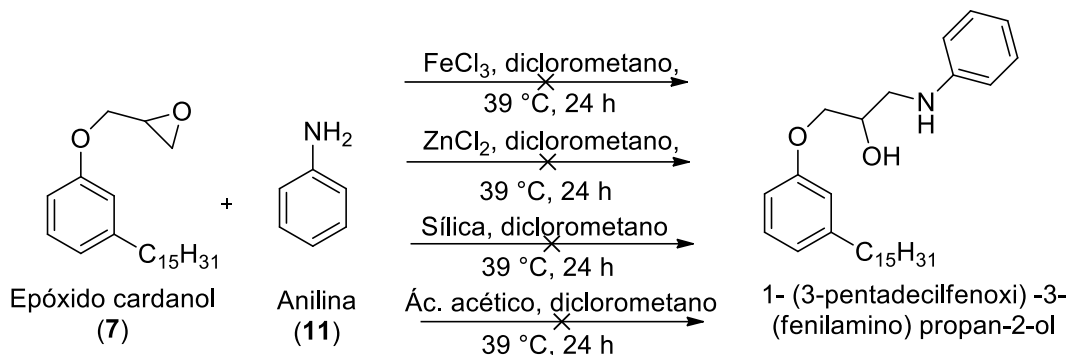
Procedimento: Foram adicionados os seguintes reagentes em um balão de fundo redondo: 0,05 g de ciprofloxacino (0,136 mmol), 0,038 g de epóxido cardanol (0,105 mmol) e 15 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF) tratada. O sistema foi mantido sob agitação magnética e a temperatura de 80 °C por 24 horas. A reação foi acompanhada por CCD. A extração foi feita em duas etapas sendo que na primeira foram adicionados 20 mL de acetato de etila, seguido de lavagem com solução concentrada de NaCl (3 x 20mL). Em um segundo momento a fase aquosa da primeira etapa foi lavada com acetato de etila. A fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e em seguida concentrada. A amostra foi analisada por RMN de ¹H e ¹³C. Os produtos isolados foram os materiais de partida.

Método 3.

Procedimento: Em um balão de fundo redondo, foram adicionados os seguintes reagentes: 0,1 g de ciprofloxacino (0,302 mmol), 0,16 g de epóxido cardanol (0,453 mmol), 15 mL de acetronitrila e 3 gotas de trietilamina. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo, por 24 horas, e monitorada por CCD. A reação foi extraída, concentrada e em seguida purificada por meio de coluna cromatográfica. O material isolado foram os materiais de partida.

3.4.5. Reações com aminas diversas

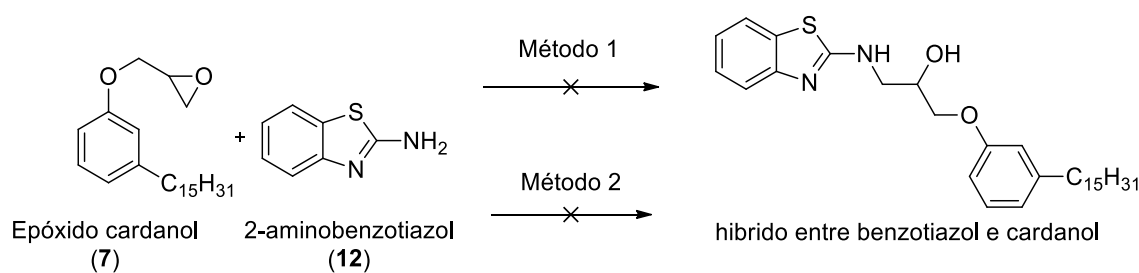
3.4.5.1. Reações entre o epóxido cardanol e anilina utilizando diferentes catalisadores



Esquema 7. Reações entre epóxido cardanol e anilina utilizando diferentes catalisadores.

Procedimento: Foram executadas quatro reações entre o epóxido cardanol e anilina utilizando diferentes catalisadores. Em todos os procedimentos, empregou-se 0,054 g (0,15 mmol) de epóxido cardanol, 0,0093 g de anilina (0,15 mmol), 2 mL de diclorometano e os seguintes catalisadores: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,004 g, 0,15 mmol), ZnCl_2 (0,002 g, 0,15 mmol), sílica-gel (0,009 g) e ácido acético (5 gotas). As reações foram todas executadas em refluxo por 24 horas, acompanhadas por CCD. Em todas elas, formou-se uma mistura complexa e de difícil separação.

3.4.5.2. Reação entre o epóxido cardanol e o 2-aminobenzotiazol



Esquema 8. Reações entre o epóxido cardanol e o 2-aminobenzotiazol em diferentes métodos.

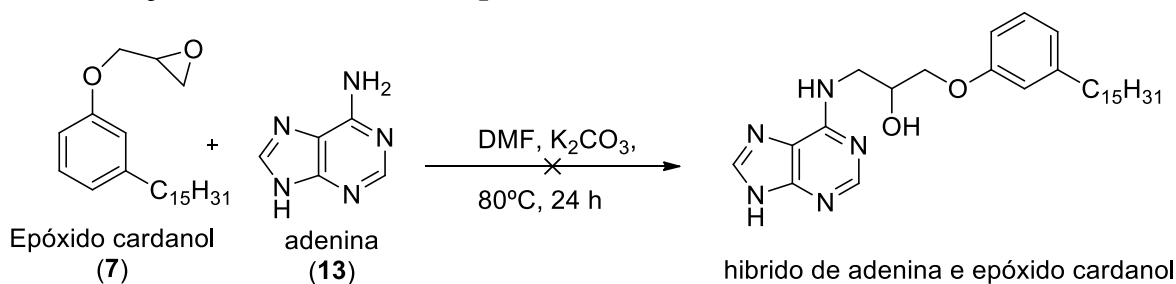
Método 1.

Procedimento: Foram adicionados os seguintes reagentes a um balão de fundo redondo: 0,07 g de 2-aminobenzotiazol (0,47 mmol), 0,19 g de epóxido cardanol (0,527 mmol), 15 mL de etanol. A reação foi mantida sob agitação e refluxo durante 24 horas e foi acompanhada por CCD. Os materiais de partida foram isolados e também o cardanol insaturado.

Método 2.

Procedimento: Foram adicionados a um balão de fundo redondo 0,407 g de epóxido cardanol (1,123 mmol), 0,165 g de 2-aminobenzoatiazol (1,09 mmol), 0,16 g de K_2CO_3 (1,21 mmol) e 4 mL de DMF. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo durante 24 horas, acompanhada por CCD. Os materiais de partida foram isolados e também o cardanol.

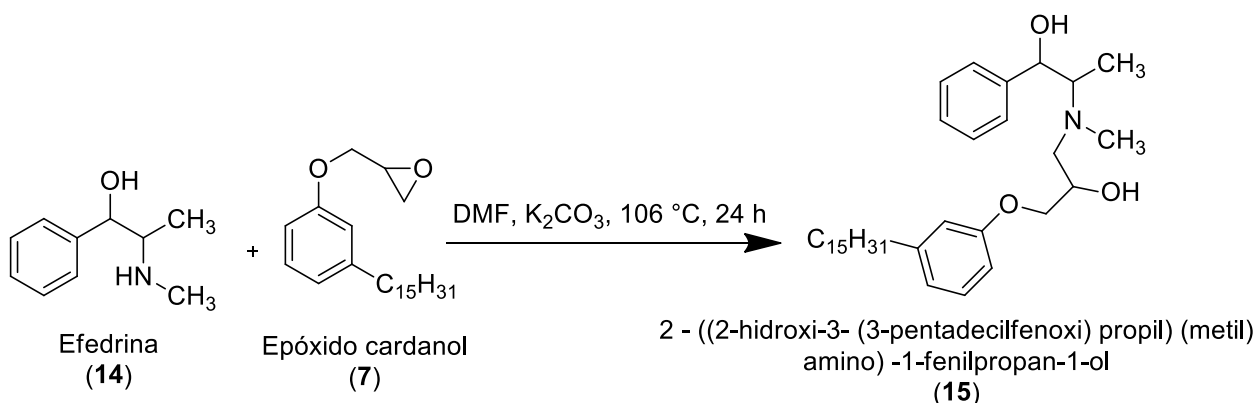
3.4.5.3. Reação entre a adenina e o epóxido cardanol



Esquema 9. Reação entre o epóxido cardanol e a adenina.

Procedimento: Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,169 g de epóxido cardanol (0,469 mmol), 0,16 g de K_2CO_3 (1,15 mmol), 4 mL de DMF. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo durante 4 horas. Após a concentração no rotaevaporador foi feita a purificação por meio de cromatografia líquida em coluna cromatográfica com acetato de etila e hexano (1:3, v:v). A amostra foi analisada por RMN de ^1H e ^{13}C . Foram isolados os materiais de partida.

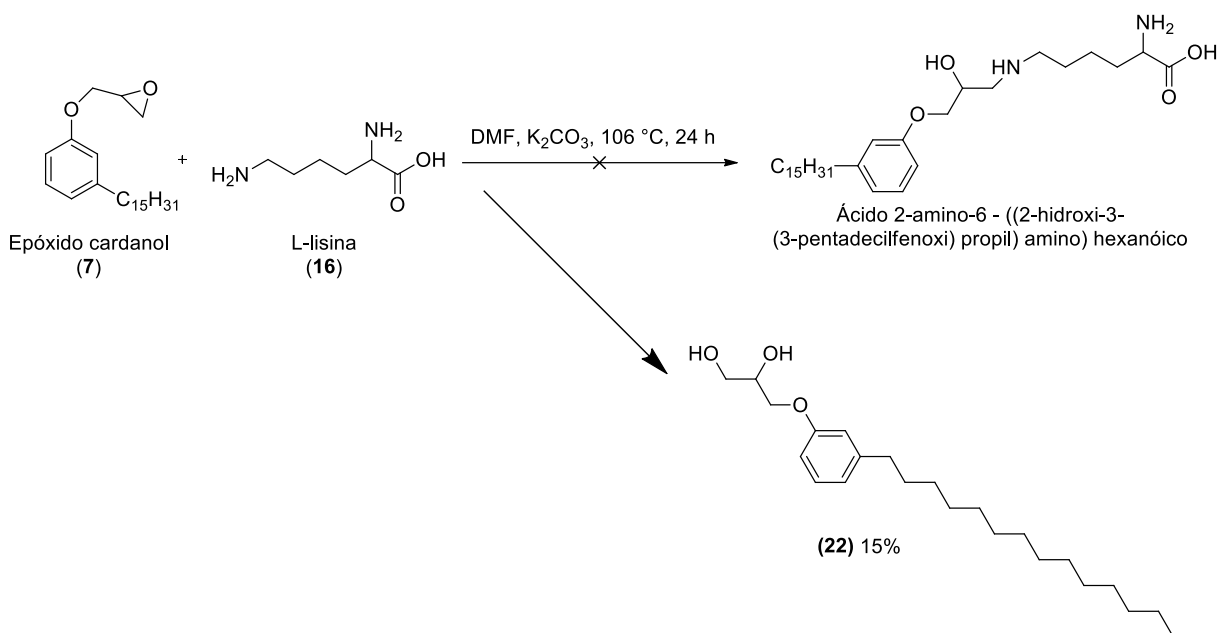
3.4.5.4. Reação entre a efedrina e o epóxido cardanol



Esquema 10. Reação entre a efedrina e o epóxido cardanol.

Procedimento: Foram reunidos em um balão de fundo redondo os seguintes reagentes: 0,165 g de efedrina (0,1 mmol), 0,407 g de epóxido cardanol (1,3 mmol), 0,16 g de K_2CO_3 (1,21 mmol) e 4 mL de DMF. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo por 24 horas. Após este período, foi feita a purificação por meio de coluna cromatográfica utilizando acetato de etila e hexano (1:3, v:v). A amostra foi analisada por RMN de 1H e ^{13}C . RMN 1H ($CDCl_3$) δ 0,86 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,11-1,29 (m, 24H), 1,56 (t, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,54 (s, 2H), 2,87 (m, 2H), 3,86 (m, 2H), 4,11 (m, 1H), 4,68 (m, 1H), 6,64 (sl, 1H), 6,71 (m, 1H), 6,76 (m, 1H), 7,14 (t, $J = 6,0$, 1H), 7,26 (m, 1H), 7,29 (m, 1H), 7,30 (m, 1H), 7,33 (m, 1H), 7,35 (m, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 8,9 (CH_3), 10,0 (CH_3), 22,7 (CH_2), 29,3 (CH_2), 29,5 (CH_2), 29,6 – 29,7 (CH_2), 31,3 (CH_2), 31,9 (CH_2), 36,0 (CH_3), 56,1 (CH_2), 63,4 (CH), 66,0 (CH), 69,9 (CH_2), 75,8 (CH), 111,4 (CH), 114,7 (CH), 114,8 (CH), 121,1 (CH), 127,7 (CH), 128,3 (CH), 128,4 (CH), 129,1 (CH), 143,3 (C), 144,6 (C), 158,6 (C).

3.4.5.5. Reação entre a L-lisina e o epóxido cardanol

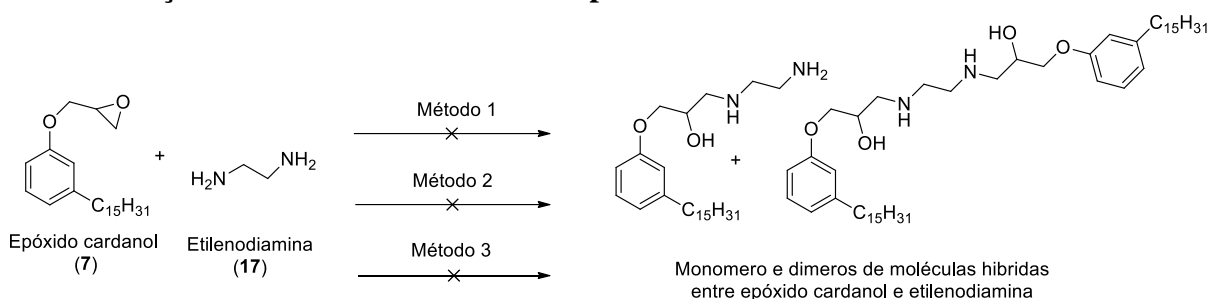


Esquema 11. Reação entre o epóxido cardanol e a L-lisina.

Procedimento: Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,333 g de epóxido cardanol (0,924 mmol), 0,186 g de L-lisina (0,924 mmol), 0,134 g de K_2CO_3 (0,996 mmol) e 4 mL de DMF. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo por 24 horas. Ao contrário do produto de abertura do anel de epóxido pelos grupos amina da L-lisina, obteve-se o produto de

hidrólise do anel oxirano (o diol **23**). (Rendimento 15%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0,86 (t, *J* = 6,0 Hz, 3H), 1,23-1,28 (m, 24H), 1,56 (sl, 2H), 2,55 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 3,81 (tl, *J* = 12 Hz, 2H), 3,85 (m, 1H), 4,03 (d, *J* = 4,0 Hz, 2H), 6,69 (d, *J* = 6,7 Hz, 1), 6,7 (s, 1H), 6,85 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 7,17 (t, *J* = 8 Hz, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 14 (CH₃), 22,7 (CH₂), 29,3 (CH₂), 29,6 (CH₂), 29,5 (CH₂), 29,6 (CH₂), 29,7 (CH₂), 31,4 (CH₂), 31,9 (CH₂), 36,0 (CH₂), 69,0 (CH₂), 63,7 (CH₂), 69,0 (CH₂), 70,4 (CH), 111,4 (CH), 114,7 (CH), 121,5 (CH), 129,2 (CH), 144,8 (C), 158,3 (C).

3.4.5.6. Reação entre a etilenodiamina e o epóxido cardanol.



Esquema 12. Reações entre o epóxido cardanol e a etilenodiamina solubilizados em diferentes solventes.

Método 1.

Procedimento: Foram adicionados a um balão de fundo redondo 0,06 g de epóxido cardanol (0,17 mmol), 30 µL de etilenodiamina (0,17 mmol), 0,032 g de K₂CO₃ (0,3 mmol) e 4 mL de DMF. O sistema foi mantido sob agitação magnética e refluxo por 24 horas. Após este período a reação foi purificada por coluna cromatográfica com hexano e acetato de etila (5:1, v:v). A amostra foi analisada por RMN de ¹H e ¹³C. Foram isolados materiais de partida e cardanol.

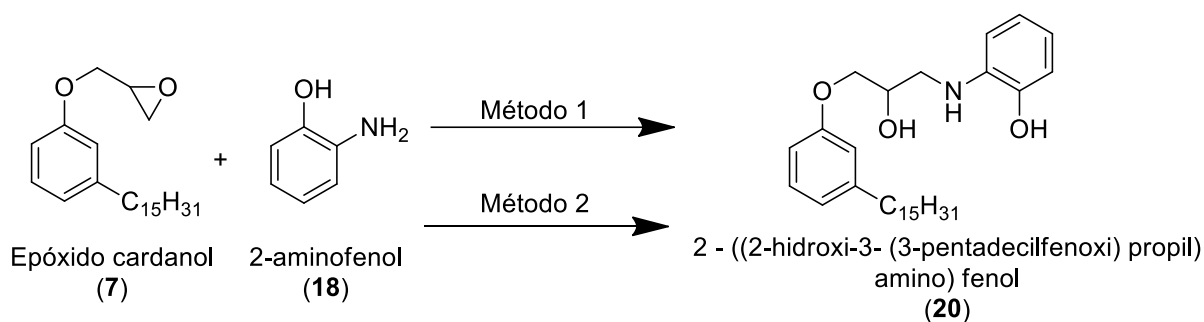
Método 2.

Procedimento: Foram adicionados a um balão de fundo redondo 0,1 g de epóxido cardanol (0,28 mmol), 19 µL de etilenodiamina (0,28 mmol), 0,039 g de K₂CO₃ (0,282 mmol) e 5 mL de acetonitrila. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo por 24 horas. Após esse período, a mistura foi concentrada, com auxílio do rotaevaporador, e purificada em coluna cromatográfica com acetato de etila e hexano (1:3, v:v). Posteriormente a amostra foi analisada por RMN de ¹H e ¹³C. Foram isolados materiais de partida e cardanol.

Método 3.

Procedimento: Foram adicionados a um balão de fundo redondo 0,1 g de epóxido cardanol (0,28 mmol), 19 μ L de etilenodiamina (0,28 mmol), 15 mL de etanol e 0,013 g de NaOH (0,28 mmol). A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo por 24 h. Após esse período, a mistura foi concentrada, com auxílio do rotaevaporador, e purificada em coluna cromatográfica com acetato de etila e hexano (1:3, v:v). Posteriormente a amostra foi analisada por RMN de ^1H e ^{13}C . Foram isolados materiais de partida e cardanol.

3.4.5.7. Reação entre o epóxido cardanol e o 2-aminofenol



Esquema 13. Reações entre epóxido cardanol e 2-aminofenol solubilizados em etanol e tolueno.

Método 1.

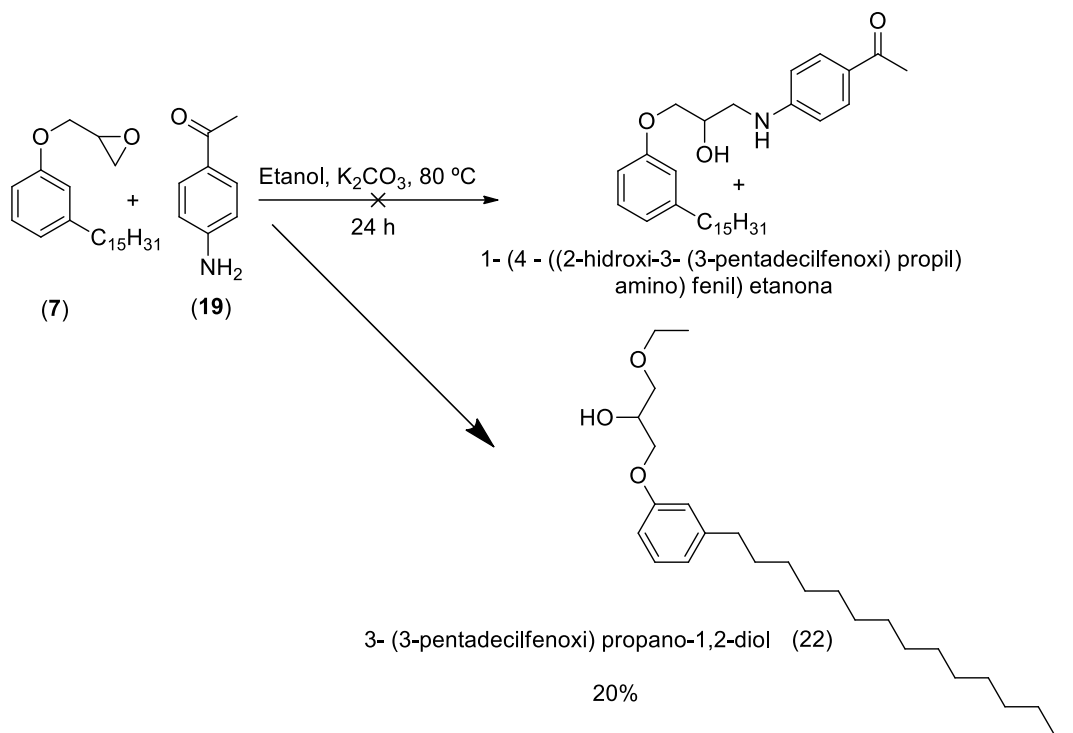
Procedimento: Foram adicionados a um balão de fundo redondo 0,06 g de epóxido cardanol (0,17 mmol), 0,018 g de 2-aminofenol (0,17 mmol) e 5 mL de etanol. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo durante 24 horas. Posteriormente, a mistura reacional foi purificada por meio de coluna cromatográfica líquida com eluente formado de hexano e acetato de etila (1:1, v:v). Após a purificação, foi obtido um líquido oleoso de coloração âmbar. A amostra foi analisada por RMN de ^1H e ^{13}C . (Rendimento de 35%).

Método 2.

Procedimento: Foram adicionados a um balão de fundo redondo 0,06 g de epóxido cardanol (0,17 mmol), 0,023 g de 2-aminofenol (0,17 mmol) e 5 mL de tolueno. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo por 24 horas. Após a purificação por cromatografia em coluna a amostra foi analisada por RMN de ^1H e ^{13}C . Foram isolados materiais de partida e cardanol. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 0,86 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,23 – 1,28 (m, 24H), 1,57 (sl, 2H),

2,54 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3,39 (m, 2H), 4,04 (sl, 2H), 4,25 (sl, 1H), 6,65 (m, 1H), 6,70 (m, 1H), 6,83 (m, 1H), 7,17 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 14,1 (CH_2), 18,6 (CH_2), 21,0 (CH_2), 22,6 (CH_2), 23,8 (CH_2), 29,3 (CH_2), 29,5 (CH_2), 29,6 (CH_2), 31,9 (CH_2), 35,9 (CH_2), 47,0 (CH_2), 68,8 (CH), 69,0 (CH_2), 111,4 (CH), 111,7 (CH), 114,3 (CH), 114,7 (CH), 118,0 (CH), 121,3 (CH), 129,1 (CH), 136,9 (C), 144,7 (C), 158,4 (C).

3.4.5.8. Reação entre o epóxido cardanol e a *p*-aminoacetofenona



Esquema 14. Reação entre o epóxido cardanol e a *p*-aminoacetofenona.

Procedimento: Foram adicionados a um balão de fundo redondo 0,06 g de epóxido cardanol (0,17 mmol), 0,023 g de *p*-aminoacetofenona (0,17 mmol), 0,023 g de K_2CO_3 (0,17 mmol) e 5 mL de etanol. O sistema foi mantido sob agitação magnética e refluxo por 24 horas. Após esse período, a mistura foi concentrada, com auxílio do rotaevaporador, e purificada em coluna cromatográfica com acetato de etila e hexano (1:5, v:v). Posteriormente a amostra foi analisada por RMN de ^1H e ^{13}C . (Rendimento 50,72 %). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 0,87 (t, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,13-1,14 (m, 24H), 1,19 (m, 3H), 1,58 (m, 3H), 1,58 (m, 2H), 2,57 (t, $J = 6,0$ Hz), 3,56 (m, 2H), 4,01 (sl, 2H), 6,74 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,16 (t, $J = 6$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 14,1 (CH_3), 15,1 (CH_3), 22,7 (CH_2), 29,3 (CH_2), 29,5 (CH_2), 29,6 (CH_2), 31,4 (CH_2), 36,0 (CH_2), 66,9 (CH_2), 68,8 (CH), 69,1 (CH_2), 71,3 (CH_2), 76,6, 77,0, 77,4, 111,4 (CH), 114,8 (CH), 121,2 (CH), 129,1 (CH), 144,7 (C), 158,6 (C).

3.4.6. Teste de susceptibilidade microbiana aos compostos sintetizados

Linhagens de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) e *Pseudomonas aeruginosa* – ambas isoladas a partir de amostras clínicas no Laboratório de Microbiologia do Hospital Regional de Mato Grosso do Sul (HRMS) – foram testadas quanto ao seu perfil de sensibilidade frente a alguns dos compostos sintetizados nesse trabalho.

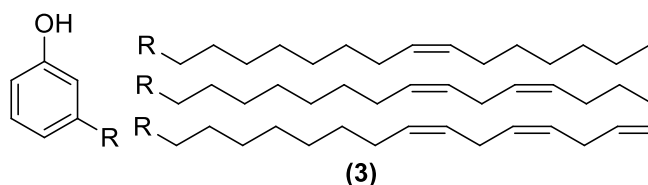
A partir de colônias formadas após 18 horas de repique dos microrganismos supracitados em ágar nutriente, foram preparados inóculos em solução de NaCl 0,9% estéril em concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC/mL. A partir disso, distribuiu-se 100 μ L de caldo Mueller-Hinton em microplacas de 96 poços tipo ELISA (sendo uma placa reservada para cada microrganismo testado), seguido de 100 μ L da solução dos compostos em DMSO na concentração de 1 mg/mL na coluna 1 da placa (concentração de 500 μ g/mL neste poço). A cada composto foram reservadas três fileiras da microplaca (triplicata).

A partir disso, foram realizadas diluições seriadas 1:2 dos compostos em cada fileira, até a concentração de 1 μ g/mL na coluna 11. A coluna 12 foi reservada ao controle negativo do teste. Por fim, 8 μ L do inóculo microbiano foram adicionados a todos os poços das placas. Como controle positivo do teste, empregou-se vancomicina para as placas de MRSA e ceftriaxona para as placas de *P. aeruginosa*.

As placas foram incubadas em temperatura de 35 °C por 24 horas, sendo analisadas após esse período. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento dos microrganismos, onde não foram visualizadas colônias ou evidência de crescimento microbiano.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Destilação do LCC



Esquema 15. Mistura do cardanol com monoeno, dieno e trieno.

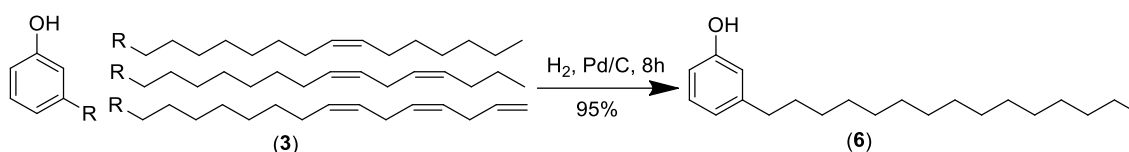
O processo de destilação a vácuo do LCC requer atenção especial com a temperatura de destilação para evitar a degradação do material e o controle da pressão empregada, deve ser monitorado até que haja a estabilização do fluxo de destilação. O procedimento ao todo é longo,

podendo levar até 12 horas. Neste trabalho, utilizaram-se 100 g de LCC e obtive-se 50 g de cardanol insaturado.

A confirmação da obtenção do cardanol em mistura **8** foi feita por meio da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (espectros 1 e 2, páginas 34 e 35). Os sinais de hidrogênios da cauda lipofílica de 15 átomos de carbono aparecem na região entre 0,50 e 2,50 ppm no espectro de RMN de ^1H , ao passo que o tripleto referente ao metileno ligado diretamente ao anel, pode ser visto em 2,55 ppm. Entre 5,00 e 6,50 ppm, há sinais referentes aos hidrogênios olefínicos, os sinais referentes ao padrão de substituição do anel aromático está de acordo com aqueles observados no espectro: um duplete em 6,67 ppm referente ao hidrogênio em *orto* ao grupo hidroxila e *para* à cadeia de hidrocarboneto, um simpleto em 6,69 que coalesce com um dos picos do duplete anterior, em 6,69 ppm, referente ao outro hidrogênio em *orto* ao grupo hidroxila, em 6,76 ppm um duplete em *orto* à cadeia carbônica e *para* à hidroxila, e finalmente um tripleto em 7,14 ppm referente ao hidrogênio em *meta* à hidroxila e à cadeia lateral. É importante destacar que, nesse caso, o acoplamento *meta* (4J) não é detectado, apenas aquele que ocorre entre os hidrogênios em *orto*, 3J .

A partir do espectro de RMN de ^{13}C , contam-se diversos sinais de intensidades variadas entre 10,0 e 40,0 ppm, o que representa os sinais dos carbonos da cadeia lateral do cardanol. Como se trata de uma mistura, ocorre variação nas intensidades dos sinais em relação à presença de diferentes carbonos alílicos no sistema. Além disso, os sinais dos carbonos vinílicos também aparecem em intensidades variadas acima de 100 ppm, denotando a complexidade da mistura entre cardanóis monoeno, dieno e trieno presentes. Ainda acima de 100 ppm, podem ser identificados quatro sinais intensos relativos aos átomos de carbono hidrogenados do anel aromático em 112,6, 115,4, 120,9 e 128,1 ppm, além daqueles ligados diretamente à cadeia alifática e à hidroxila, em 144,9 e 155,5 ppm, respectivamente.

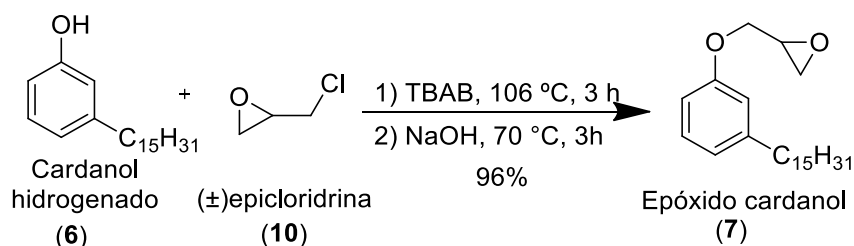
4.2. Hidrogenação catalítica de cardanóis de cadeia insaturada.



Esquema 4. Hidrogenação catalítica do cardanol destilado.

A hidrogenação catalítica é uma reação relativamente rápida, porém o processo requer atenção na proporção correta do catalisador, paládio suportado em carbono, e a pressão de H₂ injetado no sistema. Deve-se observar se há algum vazamento no frasco para facilitar a estabilização do ambiente reacional. Utilizaram-se 10 g de cardanol insaturado e obteve-se 9,7 g de cardanol hidrogenado (95% de rendimento em massa). Os espectros de RMN ¹H e ¹³C (espectros 3 e 4, páginas 36 e 37). Pode-se observar no espectro de ¹H, a ausência de sinais entre os deslocamentos 5,00 e 6,00 ppm, o que confirma o sucesso da hidrogenação das ligações duplas presentes na cadeia lateral do cardanol. Quanto ao espectro de RMN ¹³C este apresenta apenas 6 sinais acima de 100,0 ppm, o que sugere que há apenas os sinais dos carbonos do anel aromático.

4.3. Síntese do epóxido cardanol (7)



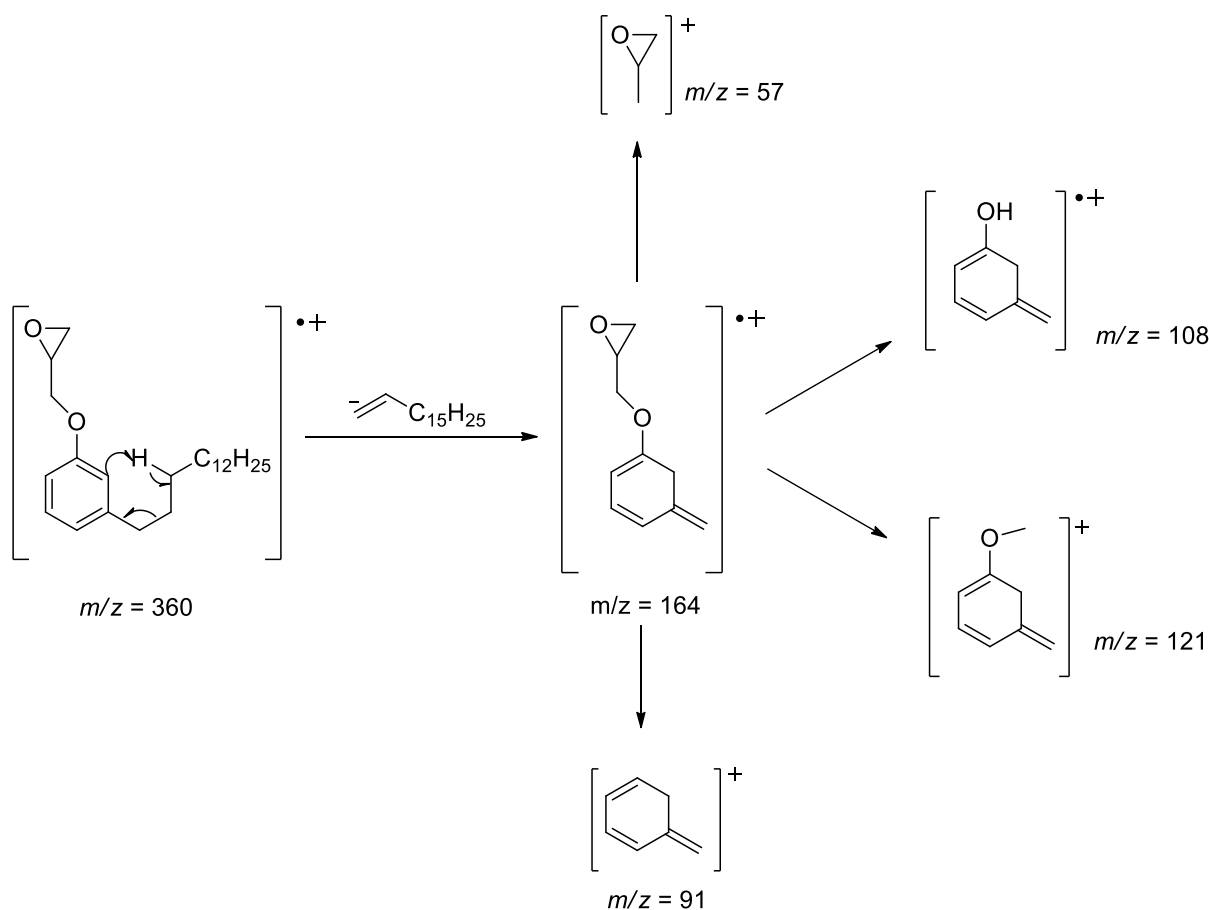
Esquema 5. Síntese do epóxido cardanol (7).

A síntese do epóxido cardanol é dividida em duas etapas em sequência no mesmo balão. Nas primeiras 3 horas, a reação é mantida sob a temperatura de 106 °C, etapa que visa à formação da ligação entre a epicloridrina e a hidroxila fenólica do cardanol. Nesta fase formam-se duas substâncias, uma mais apolar com anel oxirano e a outra mais polar (cloridrina **21**). Para formação do produto de interesse foi necessário adicionar uma solução concentrada de hidróxido de sódio na segunda etapa da reação, que transforma a haloidrina produzindo epóxido cardanol.

Após a extração e concentração da fase orgânica, o composto foi analisado por RMN de ¹H e de ¹³C (Espectros 5 e 6, página 38 e 39) no apêndice. Pelo espectro de RMN de ¹H, observam-se dois multipletos em padrão de segunda ordem em 2,74 ppm e 2,89 ppm (esse último como aparente tripleto), referente ao grupo metileno do anel de oxirano. Como esse grupo é constituído por um par de hidrogênios diastereotópicos, esperar-se-ia que ambos produzissem um par de duplo-dupletos pelo acoplamento geminal entre si e vicinal com o hidrogênio do centro quiral, desdobramento esse não observado pelo padrão de segunda ordem.

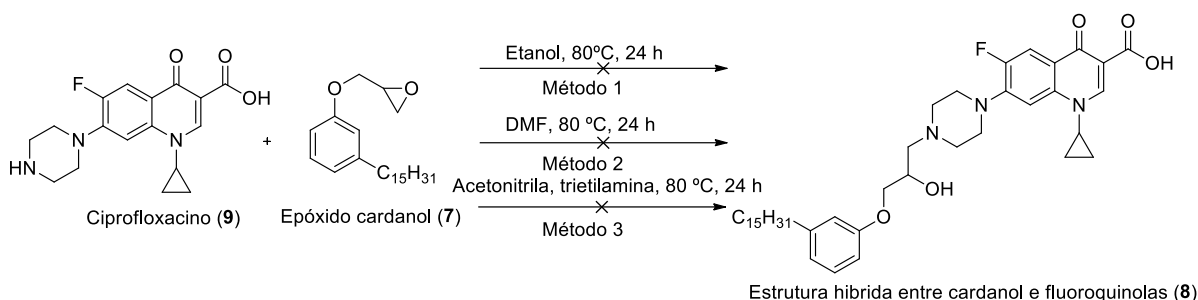
O multipletto em 3,33 ppm diz respeito ao hidrogênio do centro quiral, integrado para um hidrogênio, e por fim os multipletos em 3,94 ppm e 4,12 ppm, também diastereotópicos e em padrão de segunda ordem, correspondem-se com o metileno cujo carbono liga-se ao átomo de oxigênio do anel aromático, mais desprotegido.

No espectro de ^{13}C , os sinais referentes ao grupo introduzido no cardanol aparecem em 44,8, 50,2 e 68,6 ppm, de acordo com a estrutura esperada. Já o espectro 7 (página 40) apresenta o resultado do experimento de EI-MS de baixa resolução (70 eV), através do qual é possível observar o pico do íon molecular da molécula de interesse em m/z 360,3. Além dele, o pico base de m/z igual a 164,1 diz respeito ao produto do rearranjo de McLafferty. A partir do produto do rearranjo, outros fragmentos podem ser sugeridos, como apresentado no Esquema 16.



Esquema 16. Proposta de fragmentações sofridas pelo epóxido cardanol 7 em EI-MS (70 eV).

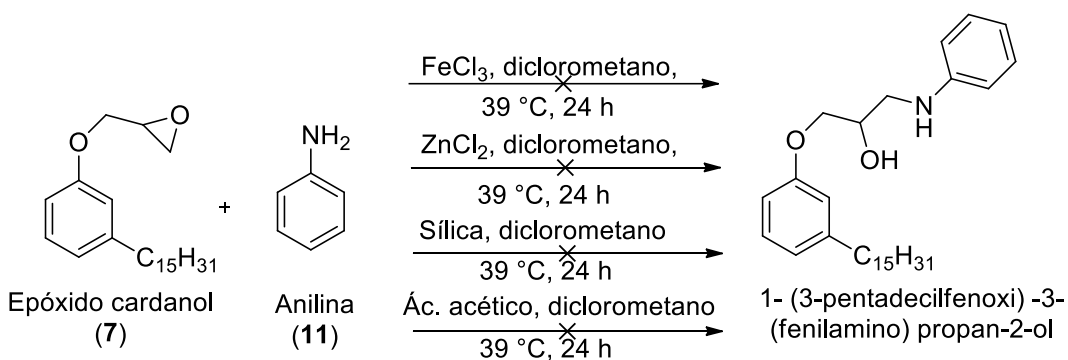
4.4. Reações entre o ciprofloxacino e o epóxido cardanol



Esquema 6. Reações executadas entre epóxido cardanol e ciprofloxacino utilizando diferentes métodos.

As reações com o ciprofloxacino apresentaram vários obstáculos, como por exemplo a solubilidade. Neste contexto foram testados solventes apróticos (dimetilsulfóxido e acetonitrila) e como solvente prótico o etanol. O andamento das reações foi em todos os casos monitorado por CCD, os quais permitiram evidenciar uma mistura complexa de difícil separação. Desta forma optou-se por testar novas metodologias com aminas diversas para se encontrar um padrão ótimo de reação.

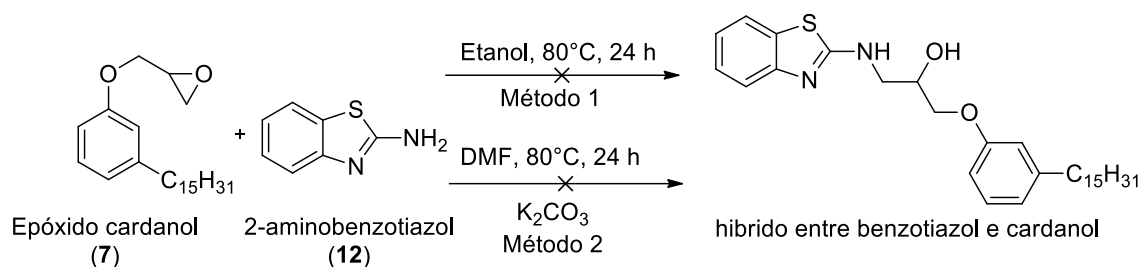
4.5. Reações entre a anilina e o epóxido cardanol com diversos catalisadores



Esquema 7. Reações entre epóxido cardanol e anilina utilizando diferentes catalisadores.

Com o objetivo de identificar o melhor catalisador entre a reação do nucleófilo, contendo o grupo amina, e o substrato epóxido, foram testados diferentes catalisadores em reações em diclorometano e refluxo, por 24 horas. Testaram-se o FeCl₃, ZnCl₂, sílica (gel) e ácido acético. Em todas as situações, observou-se a formação de muitos produtos por CCD, o que impossibilitou a investigação da formação de produtos de interesse.

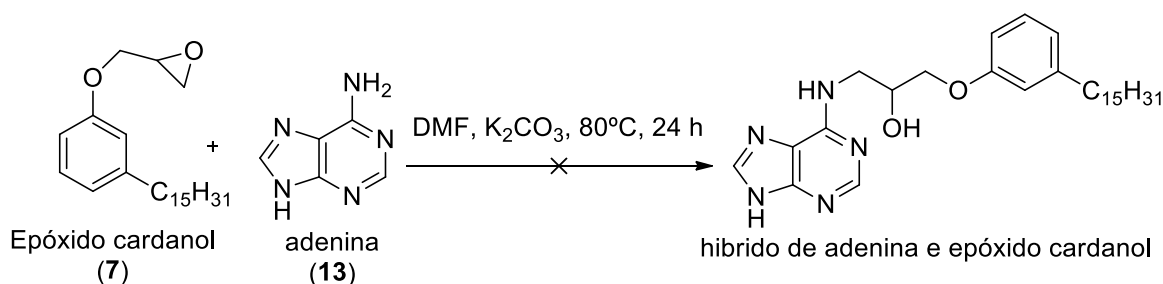
4.6. Reação entre o epóxido cardanol e o 2-aminobenzotiazol



Esquema 8. Reações entre o epóxido cardanol e o 2-aminobenzotiazol em diferentes métodos.

Foram testadas duas metodologias reacionais para o acoplamento entre epóxido cardanol e o 2-aminobenzotiazol. A variação foi apenas no solvente utilizado, sendo que na primeira metodologia foi testado o etanol e na segunda a DMF. Em ambas as reações, a solubilização dos reagentes ocorreu apenas com aquecimento. Entretanto, após comparar os materiais de partida com os componentes da reação observou-se que não houve formação de novos *spots*, o que levou a crer que não houve o consumo do material de partida.

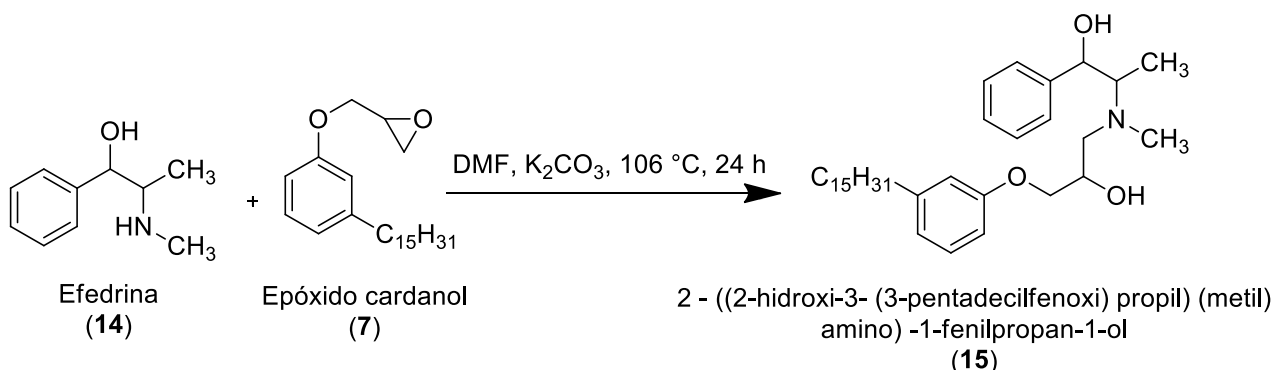
4.7. Reação entre a adenina e o epóxido cardanol



Esquema 9. Reação entre o epóxido cardanol e a adenina.

Utilizou-se etanol como solvente para um procedimento reacional entre a adenina e o epóxido cardanol. A adenina apresentou baixa solubilidade inicialmente, no entanto, o emprego de calor favoreceu a solubilização. Foi empregado K_2CO_3 como catalisador da reação, porém não houve a formação do composto de interesse e, ao contrário disso, o material de partida cardanol (6) foi recuperado como produto, cuja estrutura foi elucidada por RMN de ^1H .

4.8. Reação entre a efedrina e o epóxido cardanol



Esquema 10. Reação entre a efedrina e o epóxido cardanol.

A reação entre a efedrina e o epóxido cardanol foi feita em DMF e durou 24 horas. Todo o processo foi acompanhado por CCD. Após o período reacional e posterior purificação a amostra foi analisada por RMN de ¹H e ¹³C (Espectros 8 e 9, páginas 41 e 42). Ao observar os espectros de RMN de, nota-se que há sobreposição dos sinais o que sinaliza que a substância não está pura. Mesmo após a purificação em coluna cromatográfica, foi evidenciado que a mistura apresenta um fator de retenção muito similar o que dificultou a separação precisa das substâncias. Entretanto, por apresentar três centros assimétricos, o produto, na verdade, é uma mistura de diastereoisômeros. Este é um cenário possível pois o espectro de RMN de ¹³C evidencia os sinais de ambos os anéis aromáticos. Ao comparar com os padrões dos fatores de retenção (RF) da efedrina (14) e o epóxido cardanol (7) na placa de CCD observou-se que o *spot* formado foi bem diferente dos padrões.

Por meio da espectroscopia de RMN de ¹H, os sinais que indicam que houve o acoplamento entre as duas moléculas foram o par de dupletos entre 1,00 e 1,13 ppm, referentes às metilas provenientes do bloco da efedrina, que acoplam com o metino vicinal e se desdobram em dupletos. Esses sinais aparecem duplicados em decorrência da existência de diastereoisômeros no produto. Da mesma forma, os simpletos em 2,22 e 2,29 ppm correspondem à metila ligada ao nitrogênio dos dois diastereoisômeros presentes. Além desses sinais, o multipletto acima de 7,25 ppm refere-se aos hidrogênios do anel aromático proveniente da efedrina. Os demais sinais referentes ao bloco oriundo do cardanol também podem ser observados no espectro.

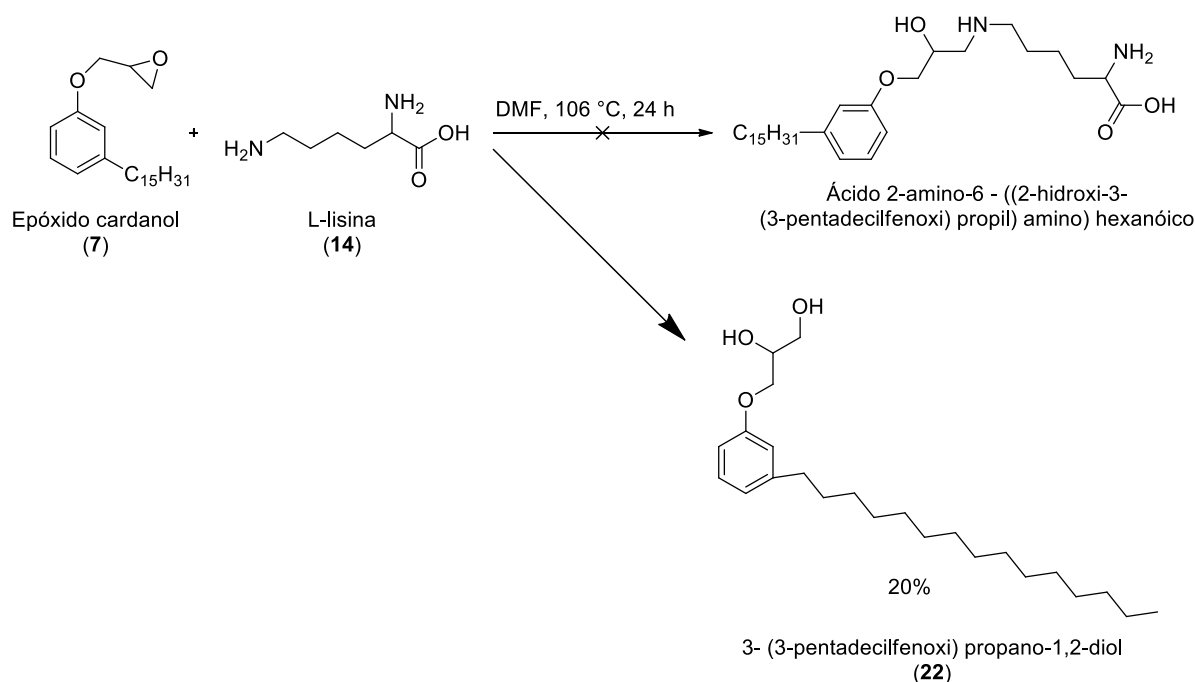


4.9. Reação entre a L-lisina e o epóxido cardanol

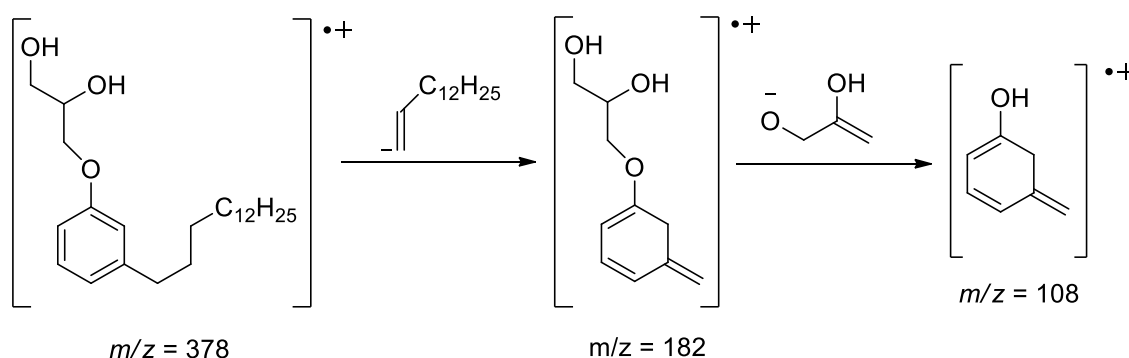
A L-lisina se mostrou pouco solúvel em DMF empregada como solvente para a reação, fato este que pode ter contribuído para o insucesso da reação. Havia dois grupos amina que poderiam reagir, entretanto a amina alfa ao grupo ácido possui menor caráter nucleofílico por estar próximo a um sistema de deslocalização de elétrons, demonstrando uma menor possibilidade de ataque em relação ao grupo amina em ϵ à carbonila. Ao analisar a estrutura do produto obtido, entretanto, observou-se um padrão diferente do esperado.

Através da análise por RMN de ^1H (espectro 10, página 43), observou-se um padrão semelhante ao do material de partida **7**, com exceção dos sinais na região entre 3,70 e 4,10 ppm. Os dois multipletos referentes ao metileno do anel oxirano não são detectados, porém, apenas um conjunto de sinais com integração para cinco hidrogênios surge ao redor de 4,00 ppm, indicando mudança no padrão do grupo derivado da epiclorigrina. Já no espectro de RMN de ^{13}C (espectro 11, página 44) evidencia-se um fenômeno semelhante, pois os três sinais de carbonos derivados da epiclorigrina continuam sendo detectados, mas aqueles pertencentes ao anel de epóxido aparecem mais desprotegidos, aparecendo acima de 60 ppm.

Por fim, pela espectrometria de massas por impacto de elétrons de baixa resolução (EI-MS, 70 eV), constatou-se o pico do íon molecular em m/z 378 (espectro 12, página 45), o que sugere que houve a hidrólise do anel de oxirano com concomitante formação de um diol (Esquema 11). Além desse pico, é possível observar também fragmentos que indicam a ocorrência do rearranjo de McLafferty ($m/z = 182$), e ao pico base ($m/z = 108$) pode ser atribuída a estrutura mostrada no Esquema 17.



Esquema 11. Síntese de 3- (3-pentadecilfenoxi) propano-1,2-diol (23).

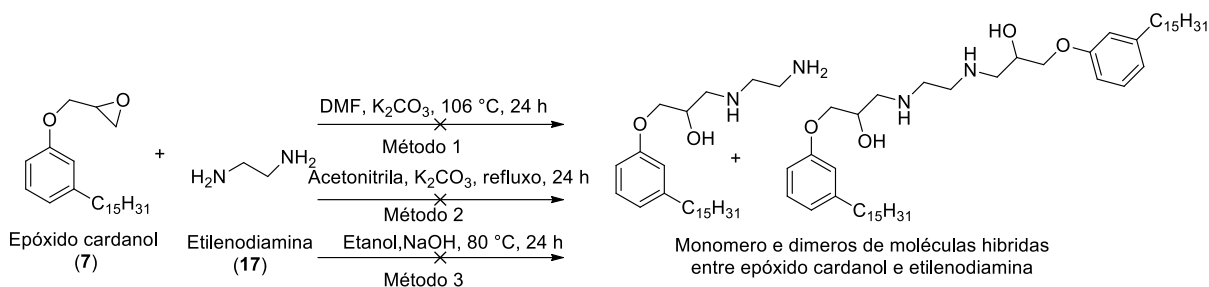


Esquema 17. Proposta de fragmentações do diol 22 por EI-MS (70 eV).

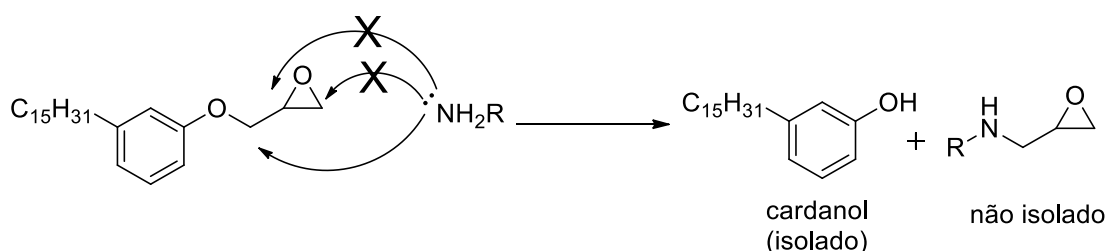
4.10. Reação entre a etilendiamina e o epóxido cardanol.

Foram testadas três metodologias com o objetivo de formar dímeros entre o epóxido cardanol e a etilendiamina, o que resultaria na formação de uma ponte entre as unidades de cardanol constituída da estrutura do etambutol, um dos fármacos utilizados no tratamento da tuberculose. As reações foram feitas variando-se os solventes (acetonitrila, DMF e etanol) em refluxo. Em todas as situações, utilizou-se K_2CO_3 como catalisador. Como produto, isolou-se o cardanol 6, ou seja, houve quebra da ligação C-O entre a unidade derivada do cardanol daquela derivada da epícloridrina do material de partida 7. Esse mesmo resultado foi também

obtido no experimento apresentado na sessão 4.7, onde tentou-se unir o epóxido cardanol à adenina. Tanto neste procedimento, como naquele, o uso de K_2CO_3 possivelmente ativa o nucleófilo amina para que ocorra a aminólise de uma ligação C-O, porém, ao contrário do ataque se dar em um dos átomos de carbono ligados ao oxigênio do oxirano, ele ocorre no átomo de carbono ligado ao oxigênio ao anel aromático, como demonstrado no Esquema 18, provocando o reverso da reação de formação do epóxido cardanol.

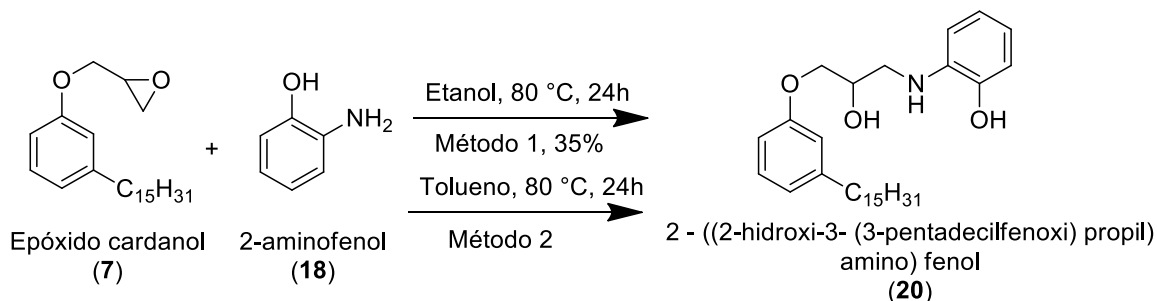


Esquema 12. Reações entre o epóxido cardanol e a etilenodiamina em diferentes solventes.



Esquema 18. Possível aminólise proposto para explicar a obtenção de cardanol a partir de epóxido cardanol.

4.11. Reação entre o epóxido cardanol e o 2-aminofenol



Esquema 13. Síntese de 2 - ((2-hidroxi-3- (3-pentadecilfenoxi) propil) amino) fenol.

Foi utilizado o 2-aminofenol como nucleófilo para reagir com 7, onde foram utilizadas duas metodologias (Esquema 13). A primeira, empregando etanol como solvente, o processo

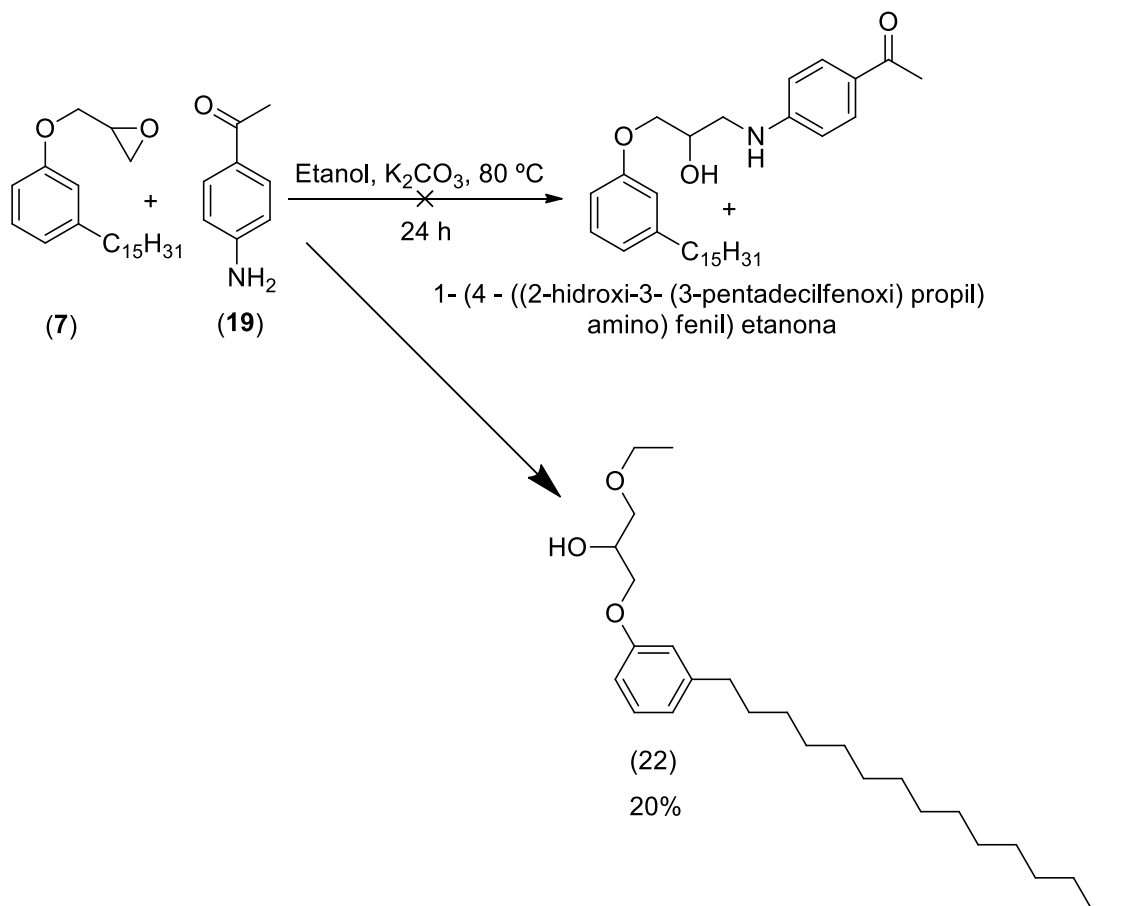


foi monitorado por CCD, e notou-se o surgimento de um novo *spot* intermediário entre os materiais de partida nas primeiras três horas de reação. Comparado com a segunda metodologia, onde foi utilizado o tolueno como solvente, notou-se que a reação levou mais tempo para ocorrer. Após a purificação do produto oriundo da primeira metodologia, o mesmo foi analisado por espectroscopia de RMN.

Pelo espectro de RMN de ^1H (Espectro 13, página 46), percebe-se que os multipletos em 2,75 e 2,89 ppm, referentes ao metileno diastereotópico do anel de oxirano de **7**, não são mais detectados, o que sugere que houve alteração química do grupo epóxido. Além disso, o multiplete em aproximadamente 6,70 ppm, relacionado a três hidrogênios do anel aromático do cardanol, agora aparecem aglomerados com outros sinais.

Pelo espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 14, página 47), observamos um sinal adicional em 69,9 ppm em relação ao espectro de RMN de ^{13}C de **7**, e isso somado ao fato de que os sinais relativos aos carbonos da porção aromática da molécula aparecem em número de 13, pode-se sugerir que o produto ainda esteja em mistura. Diante dos resultados, planejou-se estudar o produto dessa reação por espectrometria de massas (EI-MS) acoplado a cromatografia gasosa, bem como por espectrometria de massas de alta resolução.

4.12. Reação entre o epóxido cardanol e a *p*-aminoacetofenona



Esquema 14. Obtenção de 1-etoxi-3-(3-pentadecilfenoxi) propan-2-ol.

A reação realizada entre a *p*-aminoacetofenona e o epóxido cardanol foi monitorada por CCD e após o processo reacional, foi feita a purificação por meio de coluna de cromatografia líquida, onde foi obtido 0,058 g de produto, que pode ser identificado como o produto do ataque de uma molécula de etanol ao anel de epóxido, como mostrado no esquema 14.

Por espectroscopia de RMN de ^1H (espectro 15, página 48), percebe-se um tripleto em 1,21 ppm além daquele em 0,88 ppm referente à metila da cadeia lateral do cardanol. Este novo tripleto está relacionado com o grupo metil advindo do etanol. Além disso, os multipletos do epóxido que apareciam em 2,75 e 2,89 ppm no espectro de **7**, aqui estão ausentes, mas o sinal referente ao centro estereogênico do epóxido cardanol, em aproximadamente 3,50 ppm, neste espectro aparece coalescendo com um aparente multipletos de dois hidrogênios diastereotópicos. O mesmo acontece com o sinal em 4,00 ppm, que mostra um dos sinais de um hidrogênio de grupo diastereotópico aparecendo sobreposto a um quadrupletos, este quadrupletos sendo do



grupo metileno proveniente do etanol.

No espectro de RMN de ^{13}C (espectro 16, página 49), pode-se constatar os seis sinais de carbono do anel aromático oriundos do fragmento do cardanol, e além disso, quatro sinais entre 68,0 e 72 ppm, sendo três referentes ao grupo de três carbonos derivados da unidade da epiclorigrina e um sendo do metileno proveniente do etanol. O sinal do grupo metil também do etanol pode ser observado em 15,1 ppm.

Por fim, por espectrometria de massas (Espectro 17, página 50), observa-se o pico do íon molecular em m/z de 406. Como acontece nos casos anteriores, o rearranjo de McLafferty opera com facilidade, gerando um fragmento com m/z igual a 210, e a partir dele, o pico base em m/z de 108, seguindo o mesmo raciocínio do que acontece no caso do diol **22**.

4.13. Resultado do teste de susceptibilidade microbiana

Testaram-se os compostos **6**, **15**, **20**, **22** e **23** quanto ao potencial de inibir o crescimento de duas cepas clínicas das bactérias *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA, um Gram-positivo) e *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativo).

Todos os compostos testados foram inativos sobre a cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, porém, o cardanol saturado **6** e o produto da união entre a efedrina e o epóxido cardanol **15** apresentaram MIC iguais a 63 $\mu\text{g/mL}$ e 32 $\mu\text{g/mL}$ sobre MRSA, respectivamente. A vancomicina, utilizada como controle positivo do teste, apresentou MIC igual a 1 $\mu\text{g/mL}$. Esses dados podem ser considerados como atividades moderadas por parte de **6** e **15**, podendo ser direcionadores de mudanças estruturais importantes nos esqueletos de tais substâncias visando ao aumento da atividade antibacteriana.

Sobre a ausência de atividade sobre *P. aeruginosa*, por outro lado, pode ser sugerido que a parede celular de bactérias Gram-negativas, contendo uma camada externa composta de fosfolipídios cujo cerne é lipofílico, pode fixar e mesmo aprisionar as substâncias apolares, como as testadas nesse trabalho, evitando que os mesmos alcançassem os seus sítios de ação dentro da célula microbiana.

5. CONCLUSÃO

O trabalho resultou na síntese inesperada dos compostos 1-etóxi-3-(3-



pentadecilfenóxi)propan-2-ol (**23**), e 3-(3-pentadecilfenoxi) propano-1,2-diol (**22**) e também os β -amino álcoois 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)-propil)-amino) fenol (**20**) e 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)-propil) (metil) amino) -1-fenilpropan-1-ol (**15**). De acordo com o panorama de resultados das reações envolvendo o epóxido de cardanol **7**, utilizado como material de partida neste trabalho, observa-se uma baixa reatividade do epóxido **7** com as aminas escolhidas para este trabalho (aromáticas e alifáticas). Quando utilizado K_2CO_3 , observamos que o ataque nucleofílico se dá no carbono ligado ao grupo aril éter da molécula e não nos carbonos eletrofílicos do anel oxirano.

Por fim, foi possível encontrar atividades antibacterianas sobre uma cepa clínica de grande interesse médico por se tratar de linhagem comumente resistente à maioria dos antibióticos, MRSA, o que pode nos direcionar a modificar estruturas semelhantes a fim de se alcançar melhores atividades bactericidas.

6. REFERÊNCIAS

- [1] Mazzetto, S. E.; Lomanco, D.; *Quimica Nova*, **2009**, 32, 3, p. 732.
- [2] Lomonaco, D.; Maria, G.P.S.; Silva, Y.F.;Martha, A.C.A.; Mazzetto, S.E.; Mele, V. *Green Chem.* **2009**,11, 31.
- [3] Kumar, P.P.; Paramashivappa, R.; Vithayathil, P.J.; Rao, P.V.S.; Rao, A.S. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, p. 4705.
- [4] Voirin, C.; Caillol, S.; Sadavarte, N. V.; Tawade, B. V.; Boutevin, B.; Wadgaonkar, P. P.; *Polym. Chem.* **2014**, 5, p. 3142.
- [5] Lemes, L. F. N.; Ramos, G. A.; de Oliveira, A. S.; da Silva, F. M. R.; Couto, G. C.; Boni, M. S.; Guimarães, M. J. R.; Souza, I. N. O.; Bartolini, M.; Andrisano, V.; Nogueira, P. C. N.; Silveira, E. R.; Brand, G. D.; Soukup, O.; Korábečný, J.; Romeiro, N. C.; Castro, N. G.; Bolognesi, M. L.; Romeiro, L. A. S.; *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 108, p. 687.
- [6] Himejima, M.; Kubo, I.; *J. Agric. Food Chem.* **1991**, 39, p. 418.
- [7] Kozubek, A.; Tyman, J. H. P.; *Chem. Rev.* **1999**, 99, 1.
- [8] Trevisan, M. T. S.; Pfundstein, B.; Haubner, R.; Würtele, G.; Spiegelhalder, B.; Bartsch, H.; Owen, R.W.; *Food Chem. Toxicol.* **2006**, 44, p. 188.
- [9] Ha, T. J.; Kubo, I.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, p. 4350.



- [10] Lubi, M.C.; Thachill, E.B. Des. *Monomers Polym.* **2000**, 3, p. 123.
- [11] Beatriz, A.; Yara, J. K.; Lima, D. P.; *Química Nova*, **2011**, 34, 2, p. 306.
- [12] Shi, C.; Ren, C.; Zhang, E.; Jin, H.; Yu, X.; Wang, S.; *Tetrahedron*, **2016**, 72, p. 3839.
- [13] Satyarthi, J. K.; Saikia, L.; Srinivas, D.; Ratnasamy, P.; *Appl. Catal. A* **2007**, 330, p. 145.
- [14] Shi, C.; Ren, C.; Zhang, E.; Jin, H.; Yu, X.; Wang, S.; *Tetrahedron*, **2016**, 72, p. 3839.
- [15] Corey, E. J.; Zhang, F.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, p. 1931.
- [16] Bhaskar, R. M; Beatriz, A. J. *Braz. Chem. Soc.*, **2018**. vol. 29. 3, p. 639.
- [17] Oliveira, P. S. M.; Ferreira, V. F.; *Química Nova*, **2008**, 31. 4, p. 776.

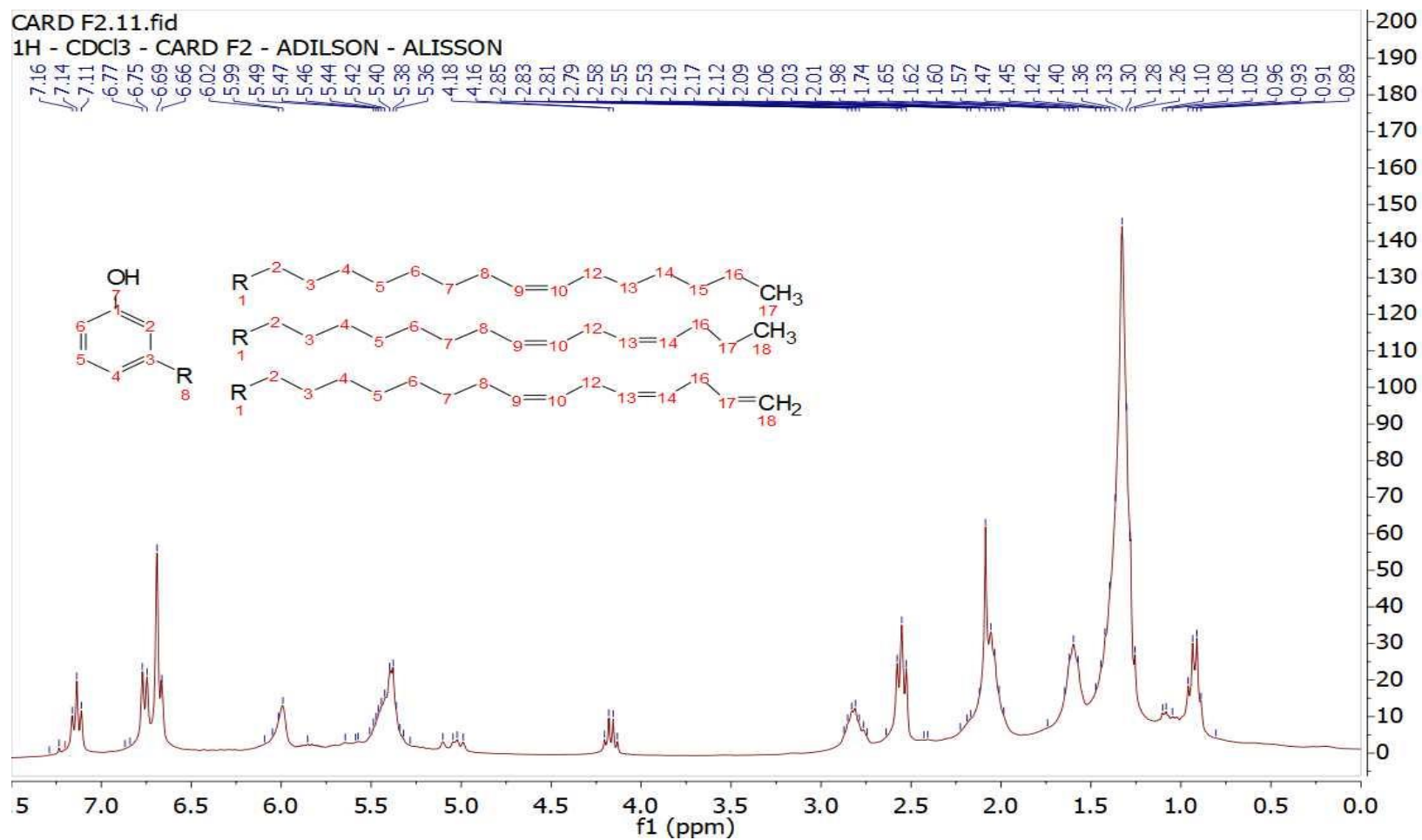


Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

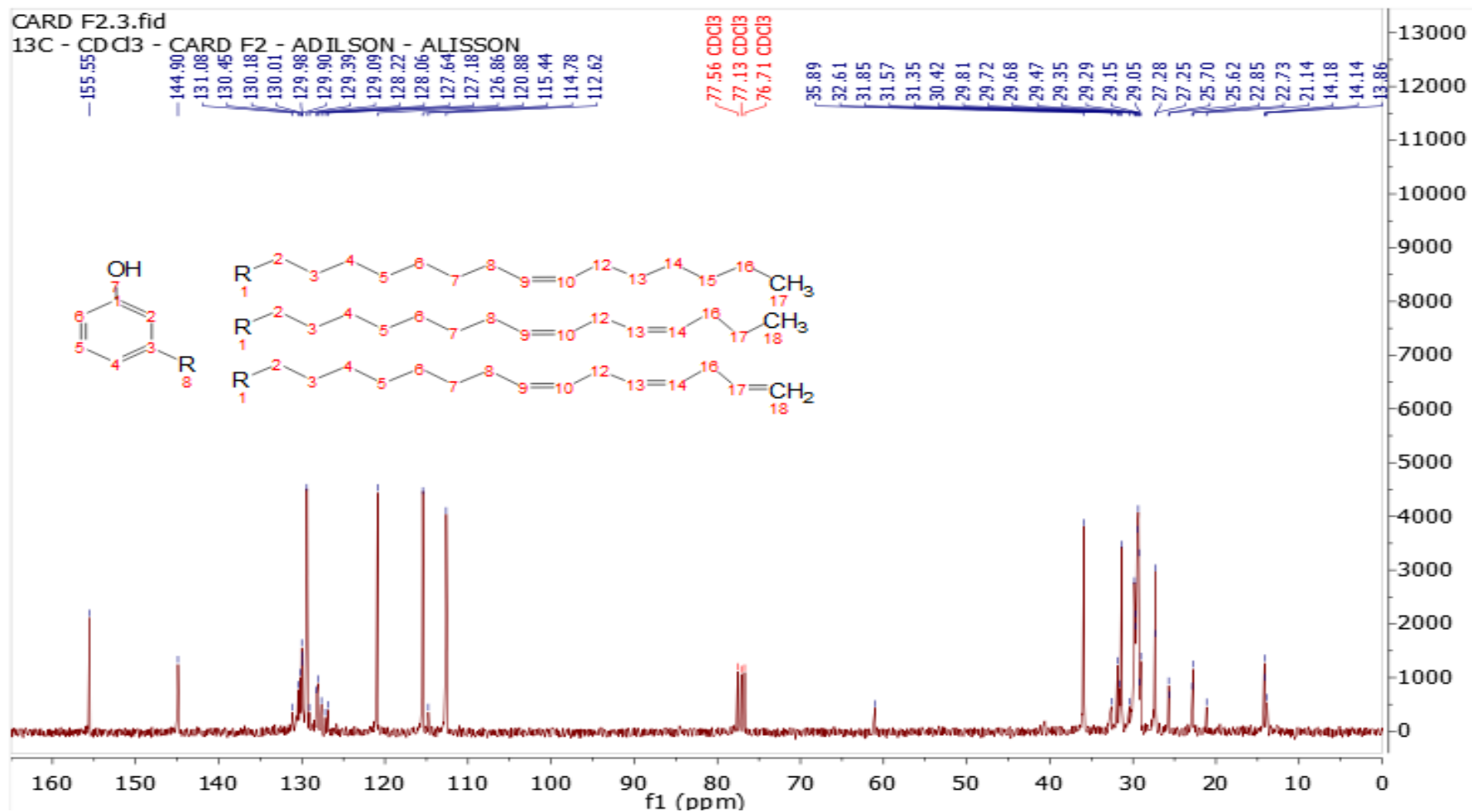


APÊNDICE

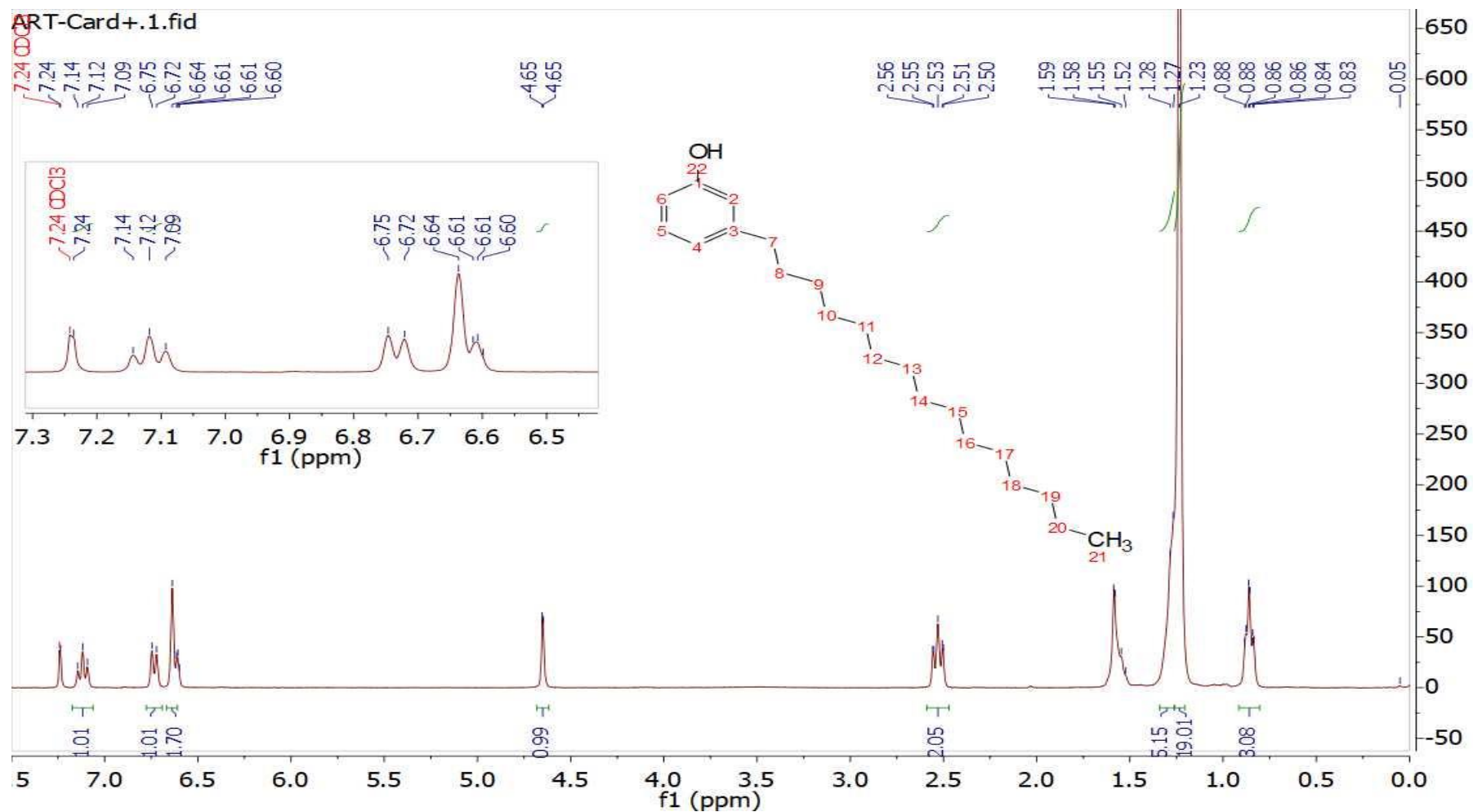
Espectro 1. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). Cardanol destilado em mistura: monoeno, dieno e trieno.



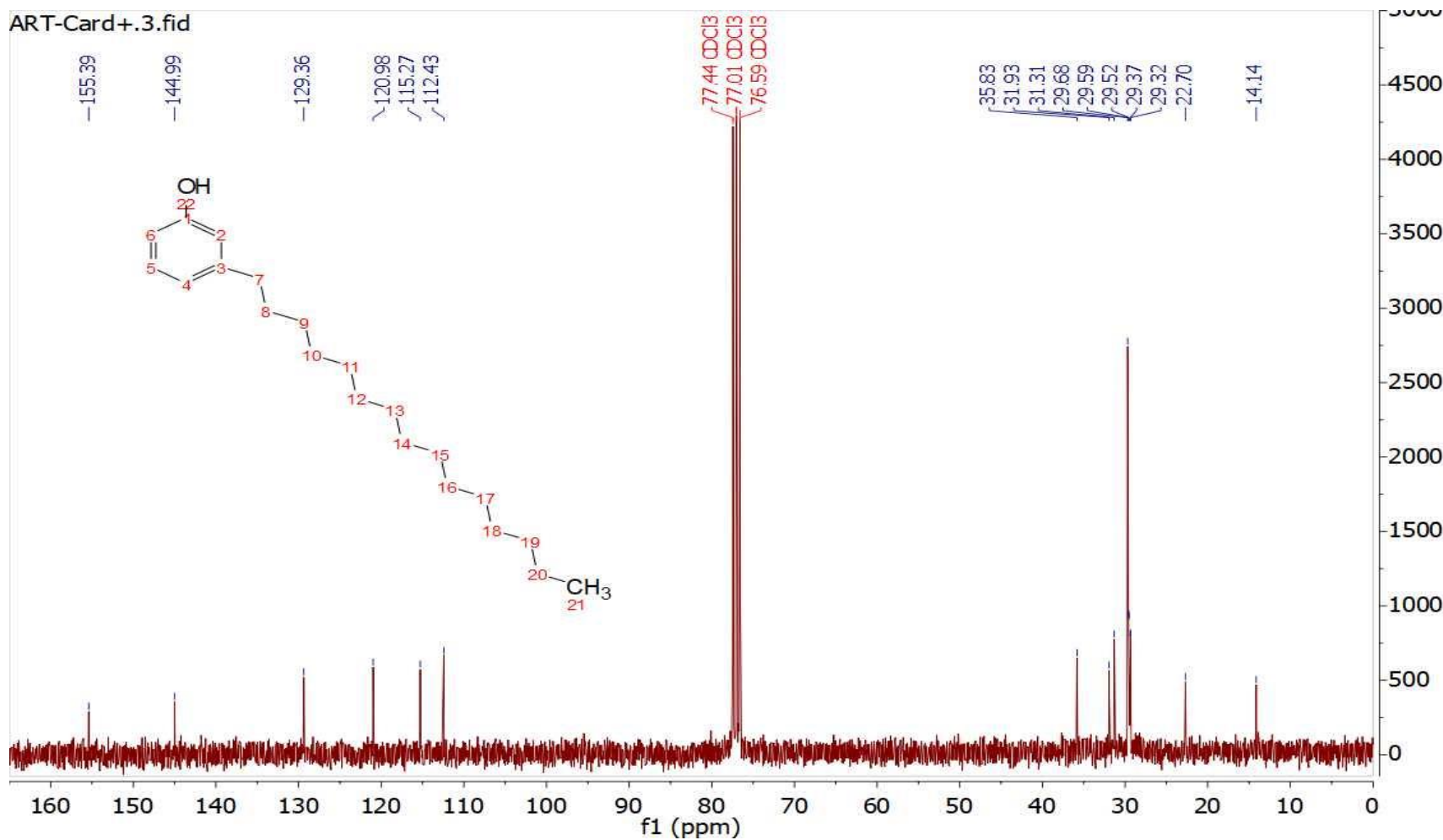
Espectro 2. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). Cardanol destilado em mistura: monoeno, dieno e trieno.



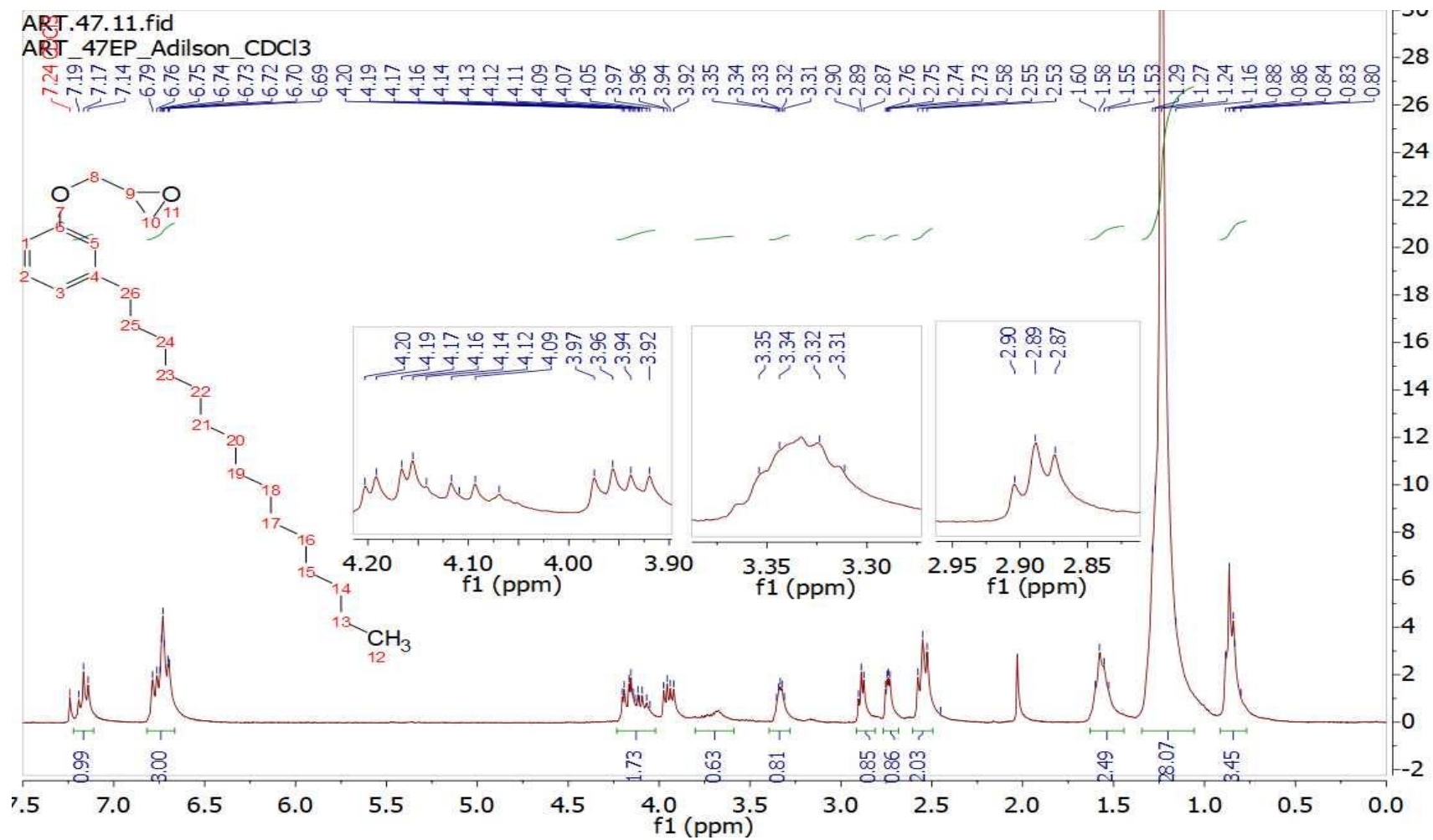
Espectro 3. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃). Cardanol hidrogenado.



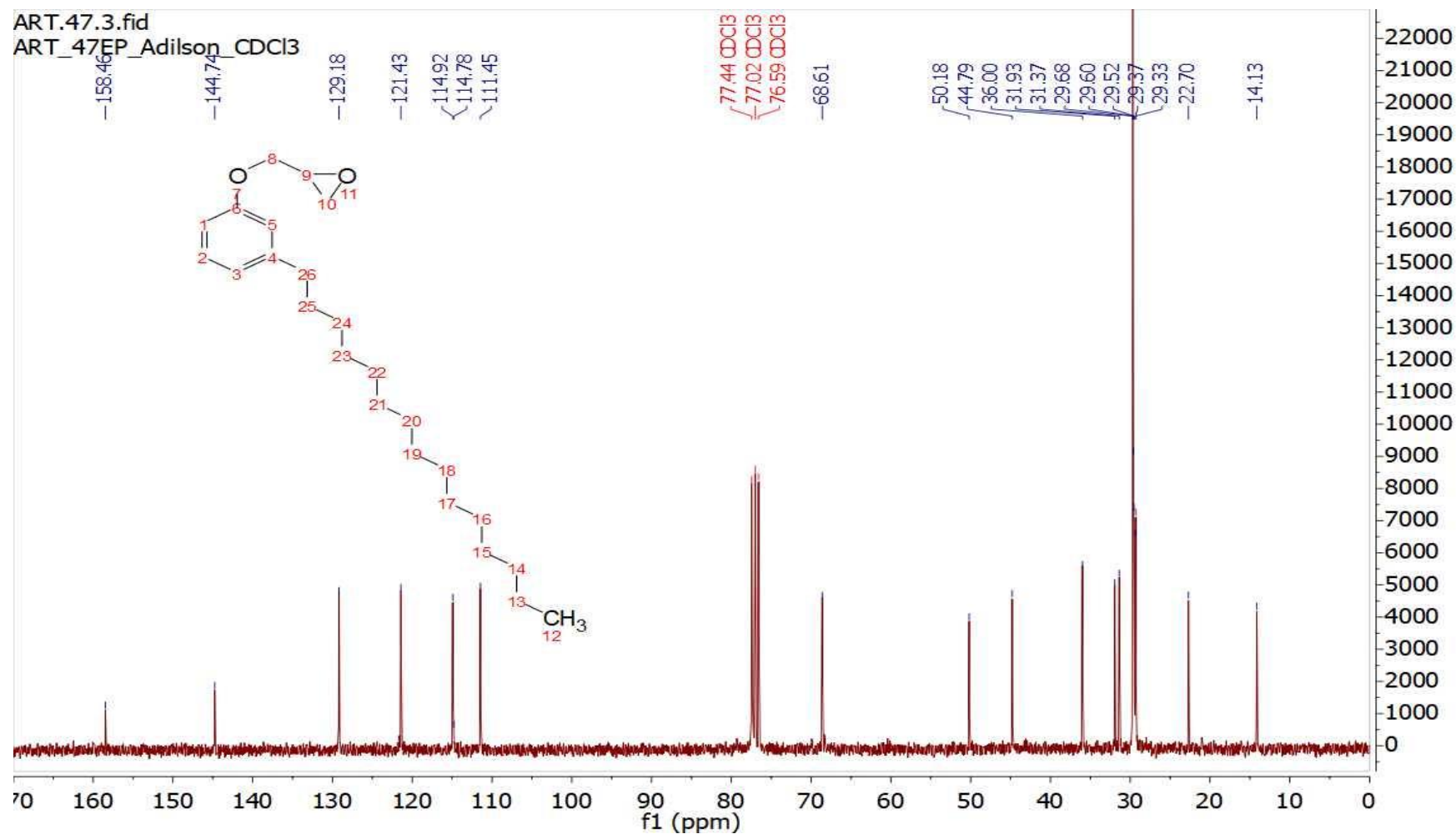
Espectro 4. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). Cardanol hidrogenado



Espectro 5. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). Epóxido cardanol.

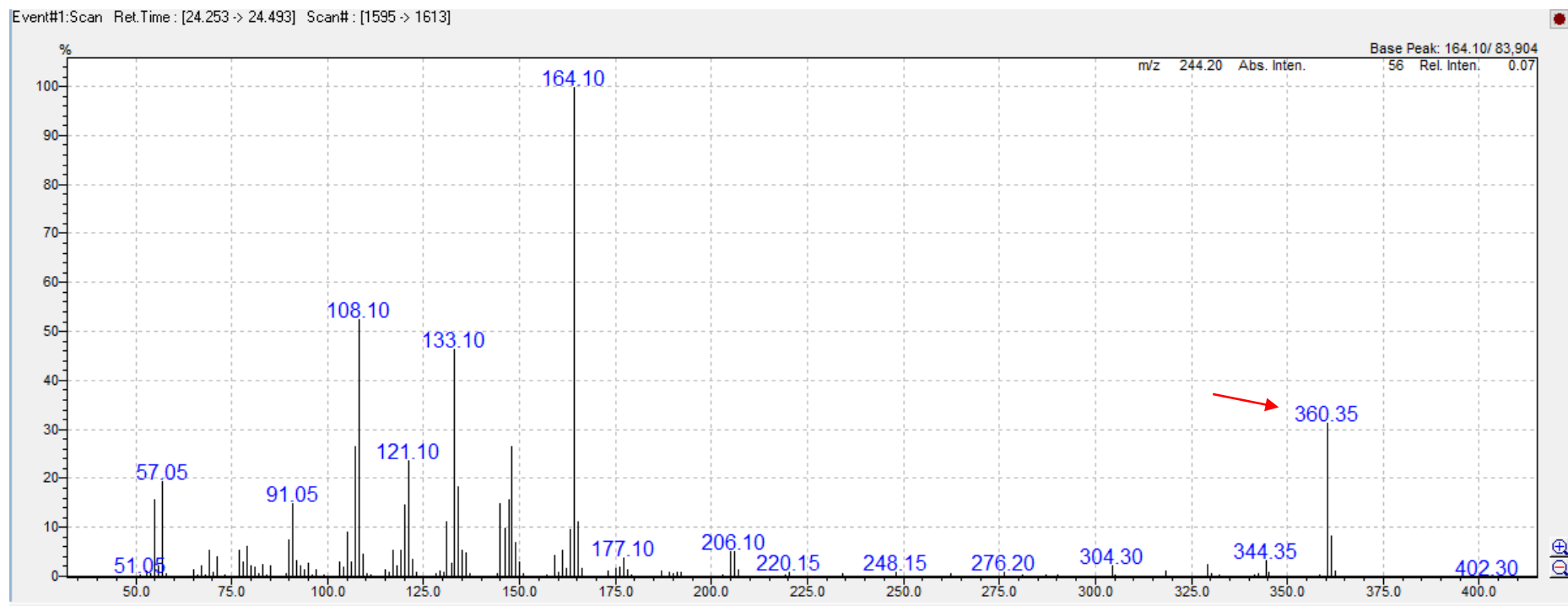


Espectro 6. RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃). Epóxido cardanol

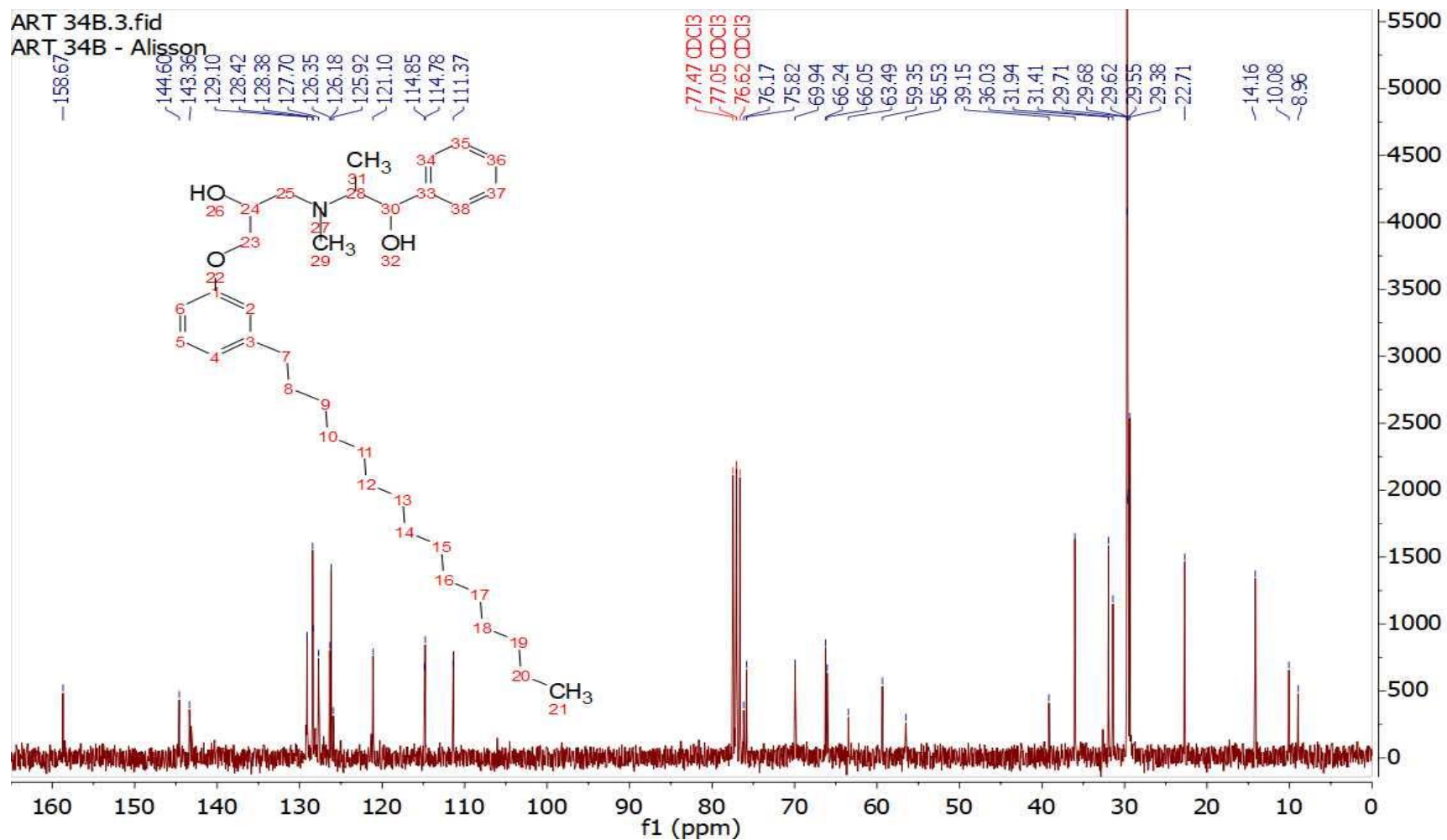




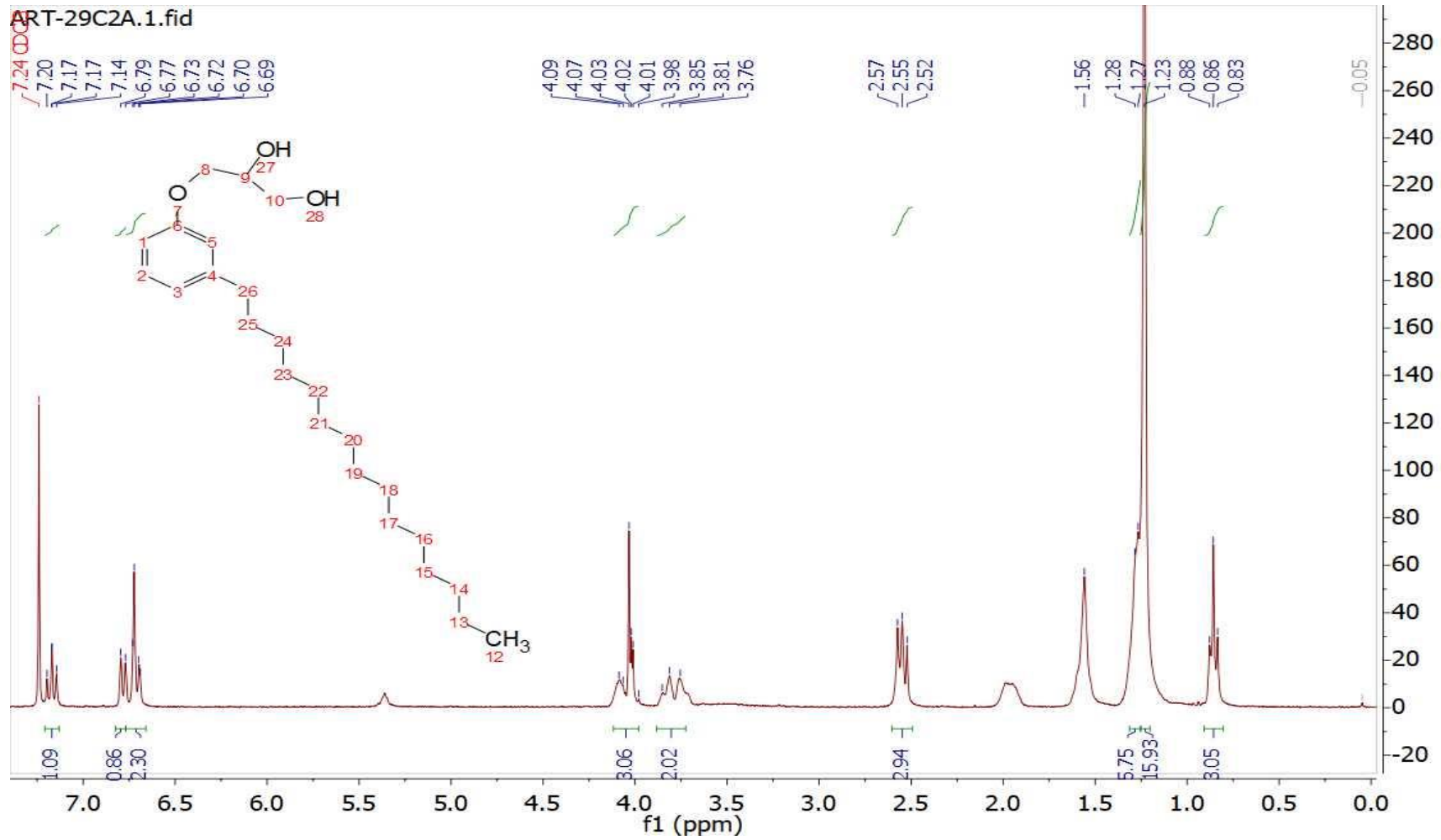
Espectro 7. Espectro de massas (EI-MS, 70 eV). epóxido cardanol.



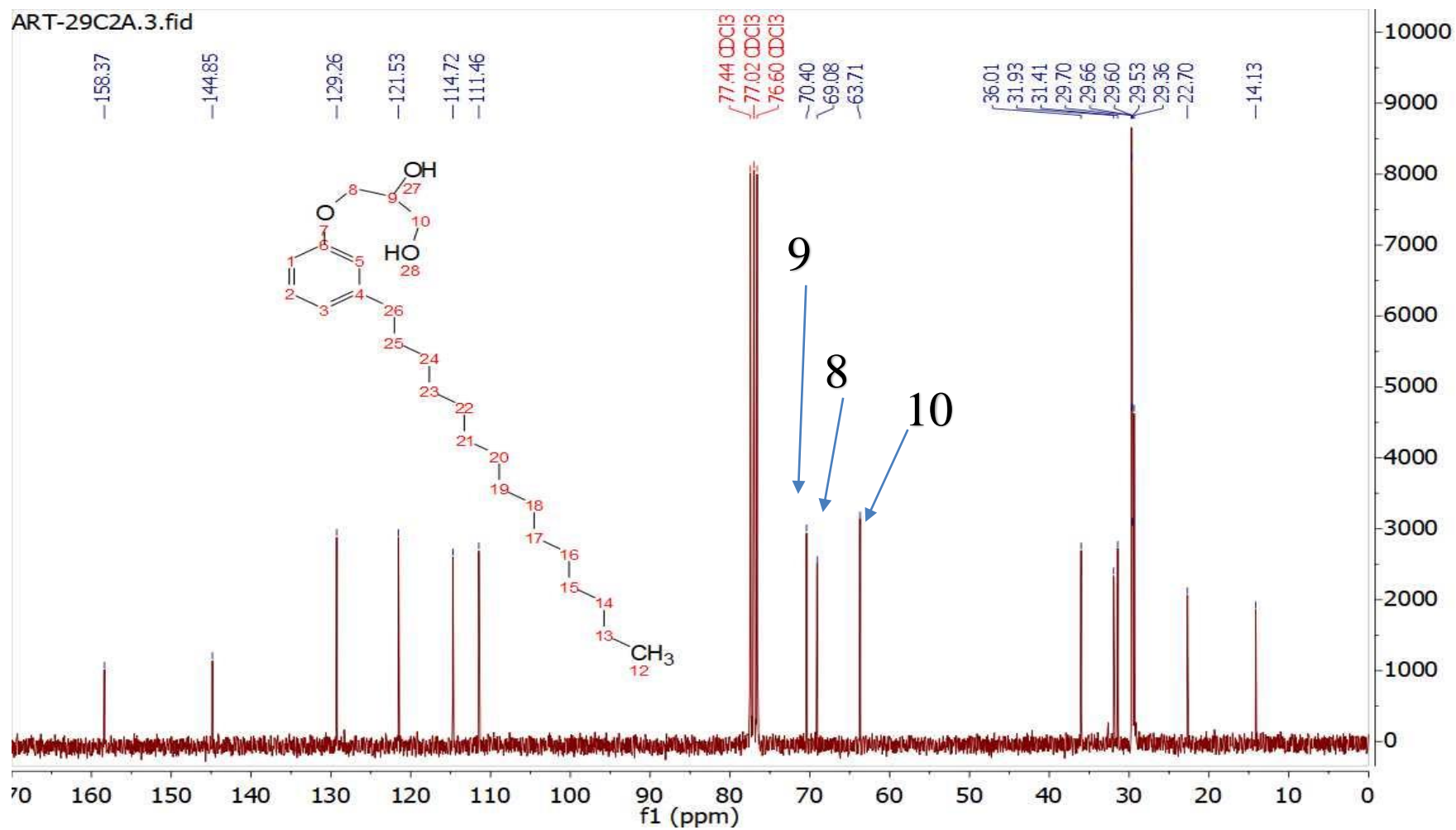
Espectro 9. RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃). Molécula híbrida entre epóxido cardanol e efedrina



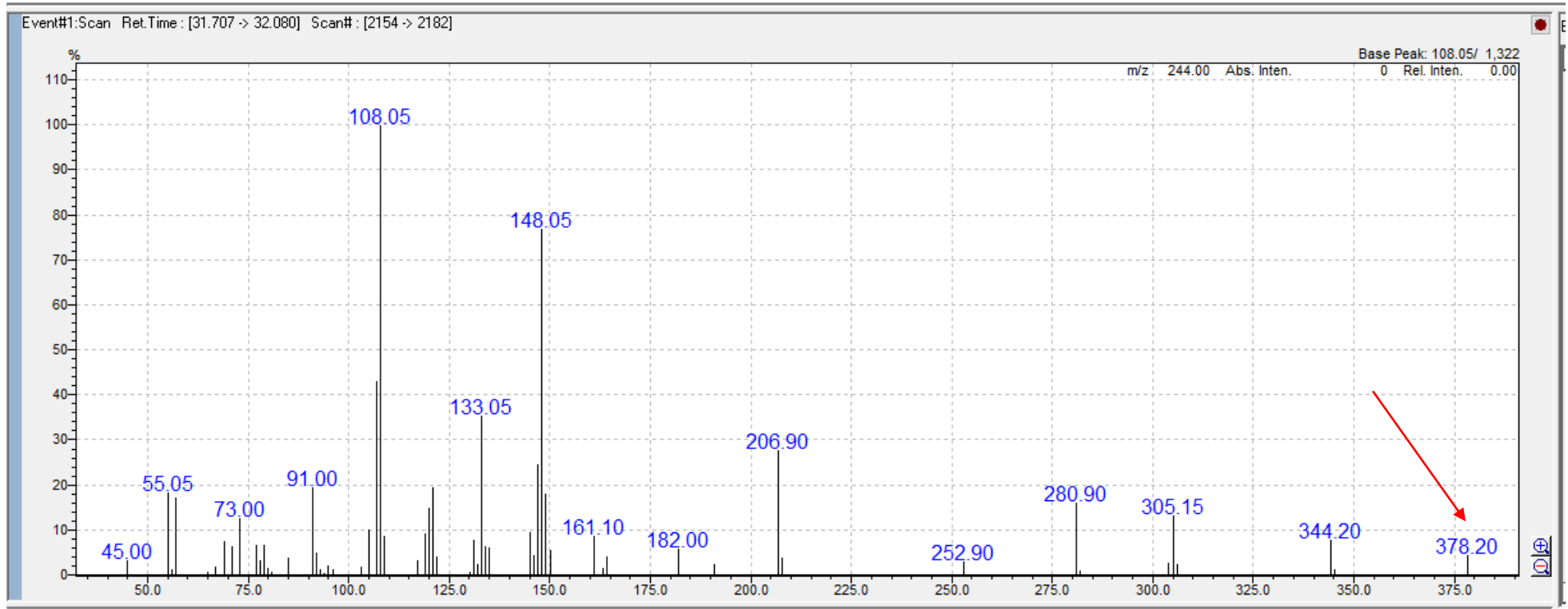
Espectro 10. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3). 3-(3-pentadecilfenóxi)propano-1,2-diol



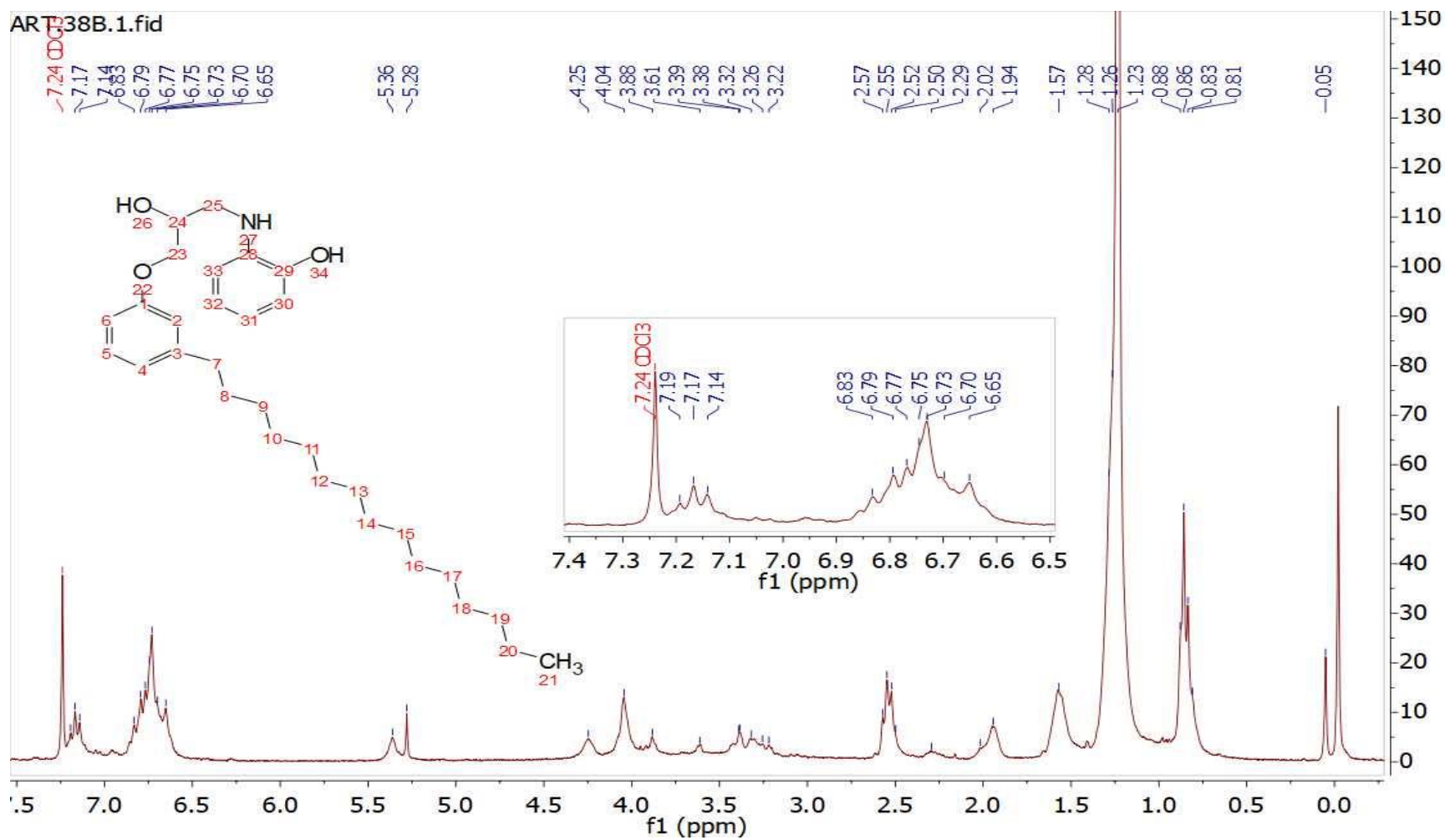
Espectro 11. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3). 3-(3-pentadecilfenóxi)propano-1,2-diol.



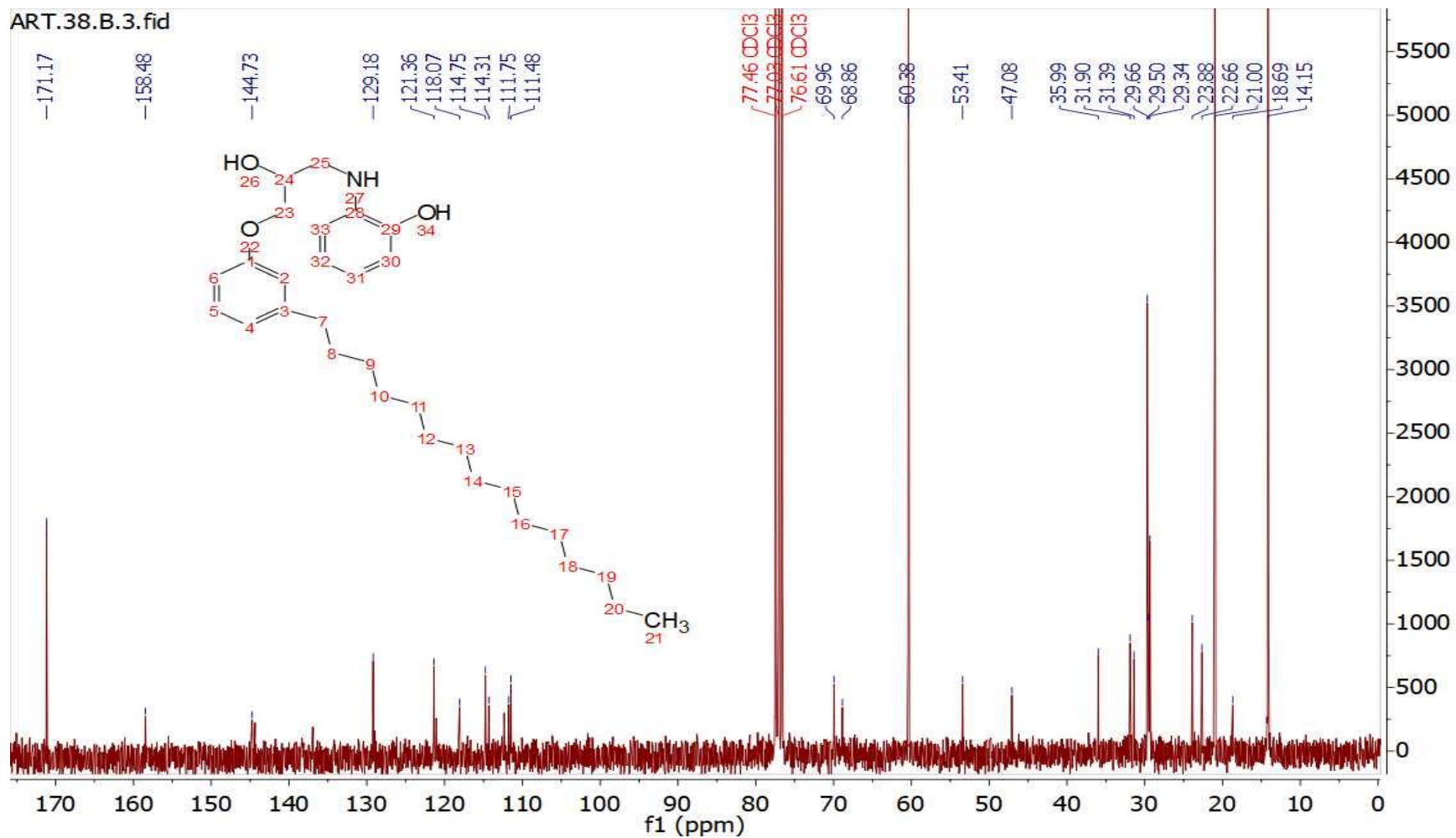
Espectro 12. Espectro de massas (EI-MS, 70 eV). 3-(3-pentadecilfenóxi)propano-1,2-diol.



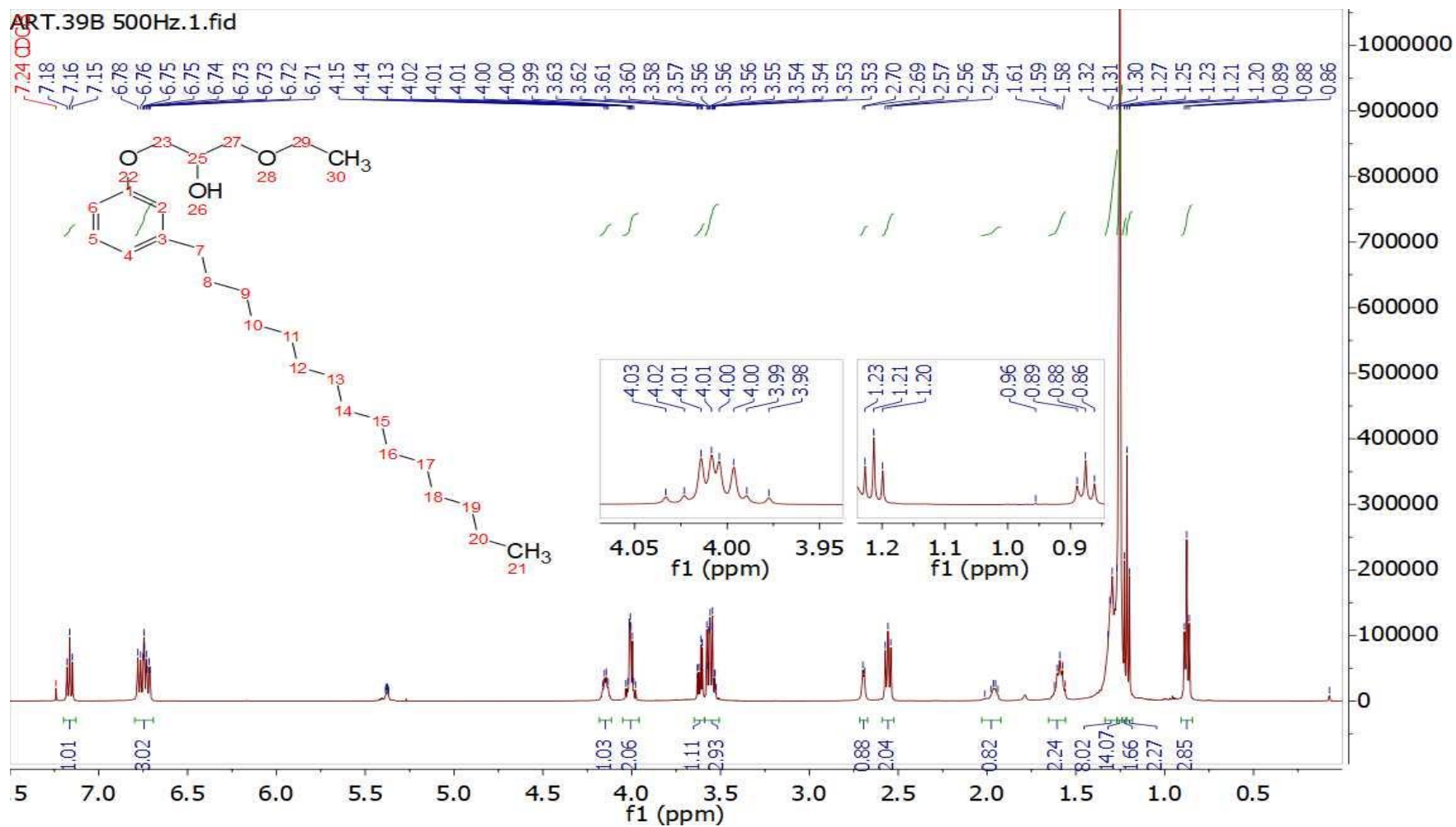
Espectro 13. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃). 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil)amino)fenol



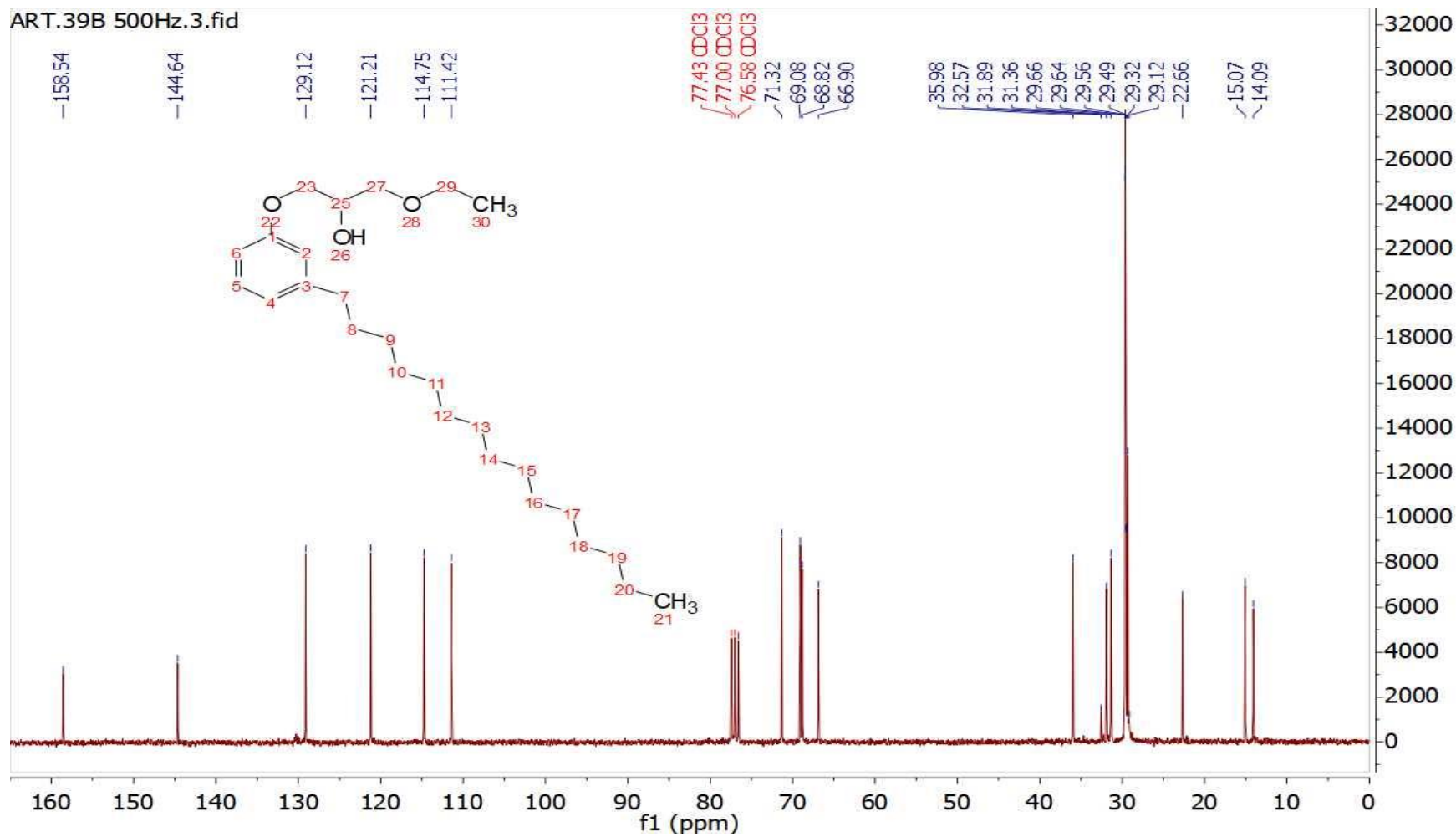
Espectro 14. RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃). 2-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil)amino)fenol



Espectro 15. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃). 1-etóxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol



Espectro 16. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3). 1-etóxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol



Espectro 17. Espectro de massas (EI-MS, 70 eV). 1-etóxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propan-2-ol

