



Universidade de Brasília

Instituto de Química

**Síntese de etanolamidas e 2-oxazolinias substituídas  
para avaliação de sua ação em *Quorum Sensing*  
microbiano.**

**Fernanda Favero**

Dissertação de Mestrado

**Orientador:** Prof. Dr. Angelo Henrique de Lira Machado

Brasília

Julho de 2017

Universidade de Brasília  
Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

**Síntese de etanolamidas e 2-oxazolinias substituídas  
para avaliação de sua ação em *Quorum Sensing*  
microbiano.**

**Fernanda Favero**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos  
para a obtenção do título de Mestre em Química.

**Orientador:** Prof. Dr. Angelo Henrique de Lira Machado

**Área de concentração:** Química Orgânica

Brasília  
Julho de 2017

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação do (a) aluno (a) **Fernanda Favero**, matrícula nº **15/0178131**, intitulada “***Síntese de etanolamidas e 2-oxazolinias substituídas para avaliação de sua ação em quorum sensing microbiano***”, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 24 de julho de 2017.

Prof. Dr. Angelo Henrique de Lira Machado  
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Lucilia dos Santos  
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Talita de Almeida Fernandes  
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Mauro Vicentini Correia  
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 24 de julho de 2017.

*“Cada um de nós compõe a sua história*

*Cada ser em si*

*Carrega o dom de ser capaz*

*E ser feliz.”*

*Tocando em Frente – Almir Sater e Renato Teixeira*

*A minha família, razão do meu viver.*

## Agradecimentos

A Deus e a todos os espíritos de luz que me guiaram neste caminho.

A meus pais Geraldo (*in memoriam*) e Lita pelo amor incondicional e estímulo para eu sempre ser minha melhor versão.

A meus irmãos Daniel, Bit e Gabriel pelo amor, compreensão e proteção. Em especial ao Gabriel por ter aberto o caminho da ciência para mim a por todas as aulas de matemática e física. As minhas cunhadas que mais parecem irmãs Lilla, Sayo e Andrea. Aos meus sobrinhos Julia, Victor e Lex por me mostrarem que o amor é infinito.

Aos meus tios e tias, em especial a Tia Graça e a madrinha Cleide que são como segundas mães pra mim.

Ao meu namorado João que sempre me deu força para continuar com o meu sonho e foi um alicerce durante essa jornada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Angelo Machado por ter me aceitado como aluna, pela orientação, pelas discussões de química e da vida, pois “minha vigia apenas começou e a noite é escura e cheia de mistérios”, assim como o química.

Aos meus amigos de vida Luís e Raquel que me aguentaram, sofrendo em silêncio, todo esse tempo. Obrigada pela força nos momentos de necessidade e pelas descontrações em todos os outros momentos.

Aos colegas de laboratório: Wanessa, Diana, José, Robson, Charley, Mis, Eder, Thiago e Jorge pelos momentos de descontração, pelos cafés, bolos e belas discussões que foram de grande ajuda tanto nas disciplinas quanto na vida. Em especial ao Saulo e a Terezinha que me ensinaram grande parte do que eu sei, da rotina do laboratório e pelos espectros de RMN. A Bárbara por ter seguido comigo nesse caminho difícil que é a química orgânica sem nunca se desesperar.

Aos professores Prof. Dr. Rafael Rocha, Prof. Dr. Guilherme Brand, Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Lucilia dos Santos, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Márcia Murta e Prof. Dr. Wender Alves que de alguma forma me orientaram, formal ou informalmente, nessa minha jornada. Em especial ao Prof<sup>o</sup> Dr. Peter Bakuzis e Prof<sup>o</sup> Dr. Kleber Mundim que mudaram minha forma de enxergar e lidar com a química.

Aos colegas da química Carlos Eduardo (Kdu), Gisele, Thaissa, Angélica, Saulo, Haline, Gisele, Alberto e muitos outros que me ajudaram com equipamentos, vidrarias, reagentes e conselhos.

Ao Prof. Dr. Alex Leite pela coorientação e por todos os ensinamentos em biologia e por me mostrar o sentido de minha síntese.

Aos técnicos da CAIQ: Lennine, Alan, Cleber, Luiz, Gabriela, Mateus, Lucas, Bruno, Amanda e Julia pelas análises, pelas risadas e pelo tempo que eu passei com eles. Ainda devo um bolo pra vocês para comemorar.

A Prof<sup>a</sup> Dra Lídia Maria Pepe de Moraes e ao Ms. Tiago Benoliel e todos os membros do laboratório de Biologia Molecular (BioMol) pela estrutura, insumos e auxílio na realização dos teste biológicos.

Aos professores constituintes da banca examinadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Lucília dos Santos, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Talita Fernandes e Prof. Dr. Mauro Vincentini pelas contribuições no texto científico e em minha vida profissional.

A UnB e ao Instituto de Química pelos recursos fornecidos.

A CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

## Resumo

Ácidos graxos foram recentemente apresentados como inibidores de Quorum sensing (QS), uma forma de comunicação microbiana que ocorre pelo uso de moléculas sinalizadoras e permite que a bactéria se comporte de forma multicelular. Estudos comprovam a eficiência de controlar a virulência de uma bactéria pela manipulação dessa comunicação intraespécie. Este trabalho visou a síntese de uma biblioteca de 2-oxazolininas substituídas, isômeros de ácidos graxos por meio da ciclização de *N*-(2-hidroxietil)amidas obtidas pela reação entre etanolamina e ácidos carboxílicos. Os rendimentos para as sínteses das etanolamidas e 2-oxazolininas variaram de moderado a ótimo, apesar da dificuldade de purificação do composto heterocíclico. Diante das moléculas sintetizadas, os testes biológicos foram realizados com a cepa CV026 da *Chromobacterium violaceum* e resultados promissores foram obtidos. Duas moléculas foram capazes de induzir a resposta positiva no sistema de comunicação, seis foram capazes de inibir a comunicação e oito se mostraram antimicrobianas frente às bactérias.

**Palavras-chave:** quorum sensing, quorum quenching, comunicação bacteriana, 2-oxazolininas, *N*-(2-hidroxietil)amidas.



## Abstract

Fatty acids were recently shown as quorum sensing (QS) inhibitor, which is a molecular based bacterial communication mechanism. This process enables a population of bacterial to control its behavior in a collective way. Studies have shown the efficiency of controlling bacterial virulence through manipulation of the interspecies communication. This study aimed the synthesis of a 2-oxazolines library, a fatty acid isoster, via cyclization of *N*-(2-hydroxyethyl)amides obtained by the reaction of ethanolamine and carboxylic acids. The yields for the syntheses of ethanolamides and 2-oxazolines ranged from moderate to good, despite the difficulty to purify the heterocyclic. The biological tests were carried out with the Cv026 strain of *Chromobacterium violaceum* and promising results were obtained. Two molecules were capable of inducing positive response in the communication system, six were able to inhibit communication and eight show antimicrobial action against bacteria.

**Keywords:** Quorum sensing, Quorum quenching, bacterial communication, *N*-(2-hydroxyethyl)amides, 2-oxazolines.

# Sumário

1. Introdução .....	1
1.1. <i>Quorum Sensing</i> .....	1
1.2. <i>Quorum Quenching</i> .....	8
1.3. Isosterismo como estratégia para inibidores de QS análogos a AHL's e Ácidos Graxos .....	10
1.4. Oxazolinas .....	12
2. Objetivos .....	25
2.1. Objetivos Gerais.....	25
2.2. Objetivos Específicos .....	25
3. Resultados e discussão.....	26
3.1. Síntese das <i>N</i> -(2-hidroxi)amidas .....	26
3.2. Síntese das 2-oxazolinas .....	34
3.3. Alternativa utilizando o Trifosgênio como agente desidratante.....	44
3.4. Análise biológicas das moléculas sintetizadas frente à QS .....	46
4. Conclusões .....	54
5. Perspectivas.....	56
6. Materiais e Métodos.....	59
7. Parte Experimental.....	61
8. Bibliografia.....	76
9. Anexos .....	82

## Lista de Abreviaturas e Acrônimos

**AI** – Autoindutores

**AIP** – Peptídeos autoindutores

**BINAP** - 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binafitil

**CCD**: cromatografia em camada delgada

**d**: duplete

**DBD**: DNA binding domain

**DAST**: trifluoreto de dietilaminosulfeto

**DEAD**: Dietil azodicarboxilato

**Hz**: Hertz

**IV**: infravermelho

**J**: constante de acoplamento

**LDB**: ligand binding domain

**m**: multiplete

**Ms**: Mesila

**NMM**: *N*-metilmorfolina

**ppm**: partes por milhão

**q**: quarteto

**QS**: Quorum sensing

**qt**: quarteto de tripleto

**RMN de <sup>13</sup>C**: ressonância magnética nuclear de carbono 13

**RMN de <sup>1</sup>H**: ressonância magnética nuclear de hidrogênio

**s**: simpleto

**t**: tripleto

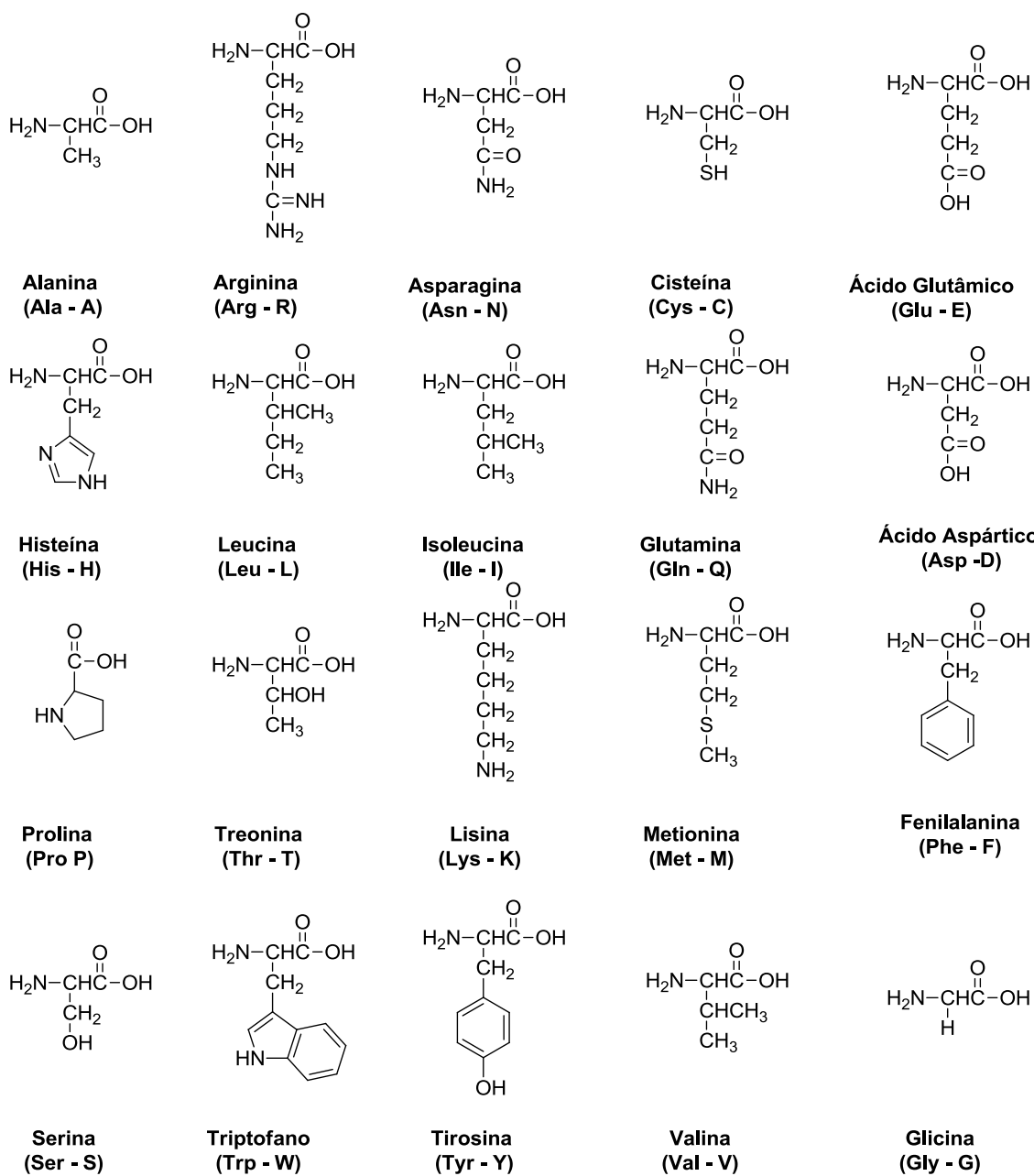
**ta** – temperatura ambiente

**TMS**: Tetrametilsilano

**Ts**: Tosila

**δ**: deslocamento químico

## Lista de Aminoácidos



# Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> – Desenho simplificado do funcionamento do QS da <i>V. fischeri</i> .....	1
<b>Figura 2</b> - Exemplos de AI's de diferentes Gram-negativas.....	2
<b>Figura 3</b> – Modelo simplificado do mecanismo de QS em bactérias Gram-positiva .....	3
<b>Figura 4</b> – AIP's apresentados pelas cepas de <i>S. Aureus</i> .....	4
<b>Figura 5</b> – Exemplos de autoindutores utilizados pela <i>P. aeruginosa</i> ( 8 a 10) e Fator A (11) excretada pela <i>Streptomyces griseus</i> .....	4
<b>Figura 6</b> – Sistema de QS em <i>V. harveyi</i> .....	5
<b>Figura 7</b> – Furanonas que inibem o LuxS.....	8
<b>Figura 8</b> - A – Estrutura do complexo CviR:CL resolvida por Raio X, onde CL é um antagonista da <i>C. violaceum</i> ; B – Domínios da proteína CviR;.....	9
<b>Figura 9</b> – A: Interação da CviR com seu autoindutor C6-HHL, molécula em azul; B: Interação da CviR com um autoindutor com 8 carbonos, C8-HHL, molécula em roxo; C: Interação da CvirR com um autoindutor com 10 carbonos, C10-HHL, molécula em laranja. ....	9
<b>Figura 10</b> – Raio X e interações entre a proteína CviR e seu autoindutor cognato. Ligações de hidrogênio mostradas em vermelho na imagem de Raio X. ....	10
<b>Figura 11</b> – Semelhança estrutural entre um AI e as etanolamidas. ....	11
<b>Figura 12</b> – Inibidor e indutor de <i>P. auruginosa</i> estudada por Suga e colaboradores. ....	11
<b>Figura 13</b> – Amidas graxas importantes para o funcionamento em Mammalia .....	11
<b>Figura 14</b> - Isômeros de ácidos carboxílicos.....	12
<b>Figura 15</b> - Anéis Oxazolínicos.....	13
<b>Figura 16</b> – Oxazolinas encontradas na natureza .....	13
<b>Figura 17</b> - <i>trans,trans</i> -ceratospongamida encontrada no extrato orgânico da <i>Ceratodictyon spongiosum</i> ..	14
<b>Figura 18</b> – Goadsporin estudada por Igarashi.....	14
<b>Figura 19</b> – Estados de transição para a borilação de ligações C(sp <sup>3</sup> )-H.....	23
<b>Figura 20</b> – Reação utilizando a catálise do tipo <i>tea bag</i> . a: Membrana de dendrímeros em solução amarela dos substratos; b: solução incolar após completa conversão; c: Reciclo da membrana de dendrímeros e d: ciclo catalítico subsequente .....	24
<b>Figura 21</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da 2-hidroxiethylnonamida.....	30
<b>Figura 22</b> – Cromatograma do óleo de soja após saponificação e esterificação.....	32
<b>Figura 23</b> – Numerações das <i>N</i> -(2-hidroxiethyl)amida advinda do óleo de soja.....	32
<b>Figura 24</b> – Ampliação do espectro de RMN de <sup>1</sup> H da 2-hidroxiethylamida advinda do óleo de soja .....	33
<b>Figura 25</b> – Cinamil-2-oxazolina.....	35
<b>Figura 26</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H da dodecil-2-oxazolina.....	38
<b>Figura 27</b> – Cromatograma da reação do ácido decanoico utilizando Dean-Stark, o primeiro pico é referente ao ácido carboxílico não reagido e o segundo pico a 2-oxazolinas correspondente .....	40
<b>Figura 28</b> – A: Cromatograma para a dodecil-oxazolina comprovando sua pureza; B: espectro de massas dadodecil-2-oxazolin .....	41

<b>Figura 29</b> – Estrutura do autoindutor cognato da <i>P. aeruginosa</i> e um de uma oxazolidinona similar .....	45
<b>Figura 30</b> - Autoindutor cognato da <i>Chromobacterium violaceum</i> .....	46
<b>Figura 31</b> – Placa controle e placa teste, respectivamente. Não é possível observar nenhuma ação frente a QS.....	47
<b>Figura 32</b> – Placa controle e placa teste, respectivamente. É possível observar que nos poços a direita existe um halo onde não há presença de bactéria, caracterizando esses compostos como bactericidas. ....	47
<b>Figura 33</b> – A esquerda placa controle onde existe 2 poços com indução de QS, halo violeta ao redor dos poços A direita placa teste com inibição, 2 poços com halo mais claro.....	48
<b>Figura 34</b> – Compostos com ação bactericida frente aos teste biológicos.....	50
<b>Figura 35</b> – Moléculas 181 a 184 se mostram inibidoras de QS enquanto as moléculas 185 e 186 se mostram indutoras de QS. ....	51
<b>Figura 36</b> – Comparação entre as interações da AHL 25 e CviR e as potenciais interações entre N-(2-hidroxietil)amida 30 com e CviR.....	51
<b>Figura 37</b> – Interações de pi-stacking entre o grupo fenila e o resíduo de tirosina (Tyr88) na estrutura da CviR .....	53
<b>Figura 38</b> – Sequência de alinhamento de 5 membros da família LuxR de reguladores transcricionais feita por meio da ferramenta Constraint-based Multiple Aligmnet Toll (Cobalt), disponível no endereço virtual da NCBI. TraR, LuxR, LasR, ExpR e CviR (33905, P12746, P25084, Q47189 e AAP32919) são as proteínas receptoras de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Erwinia carotovora</i> e <i>Chromobacterium violaceum</i> . Os resíduos de aminoácidos em vermelho são altamente conservados já os em azul são pouco conservados. Os marcados pelo quadro azul são idênticos. Os marcados com asterisco são importantes para a o reconhecimento dos AI's no LBD.....	57
<b>Figura 39</b> – (a) Imagem de raio-X da LasR e seu autoindutor natural. (b) Interações importantes entre o autoindutor e os aminoácidos do receptor .....	58

## Índice de Esquemas

<b>Esquema 1</b> – Síntese do DPD a partir da SAM. ....	6
<b>Esquema 2</b> – Síntese do S-THMF-borato a partir do DPD.....	7
<b>Esquema 3</b> – Similaridade estrutural das 2-oxazolininas e do ácido hidroxirâmico.....	12
<b>Esquema 4</b> – Trabalhos de Andreasch e Gabriel.....	15
<b>Esquema 5</b> – Síntese da 2-oxazolinina utilizando Dean-Stark .....	15
<b>Esquema 6</b> – Mecanismo adaptado de degradação realizada por Barton e colaboradores. ....	16
<b>Esquema 7</b> - Síntese de fluoroalquil-2-oxazolininas proposta por Jiang e colaboradores.....	16
<b>Esquema 8</b> – Síntese de 2-oxazolininas por nitrilas, ésteres e aldeídos.....	17
<b>Esquema 9</b> – Síntese de Kunashina e colaboradores .....	18
<b>Esquema 10</b> – Síntese de 2-oxazolininas estudadas por Ishihara e colaboradores .....	18
<b>Esquema 11</b> – Síntese de aril-2-oxazolininas realizada por Li e Xu .....	19
<b>Esquema 12</b> – Síntese de derivados de ácido cinâmico proposto por Kroniek e colaboradores.....	19
<b>Esquema 13</b> – Síntese de oxazolininas em micro-ondas proposto por Mamaghani e colaboradores .....	19
<b>Esquema 14</b> – Síntese de 2-oxazolininas quirais proposto por Meyers e colaboradores .....	20
<b>Esquema 15</b> – Polimerização de 2-oxazolininas derivadas de ácidos de graxo do óleo de soja.....	21
<b>Esquema 16</b> – Acoplamento cruzado estudado por Guiry e colaboradores.....	21
<b>Esquema 17</b> – Borilação de ligações C(sp <sup>3</sup> )-H utilizando paládio como catalisador e 2-oxazolininas quirais como ligantes estudada por Yu e colaboradores.....	22
<b>Esquema 18</b> – Estudo realizado por Gade e colaborador .....	24
<b>Esquema 19</b> – Objetivos específicos do trabalho proposto .....	25
<b>Esquema 20</b> – A: Síntese da 2-hidroxietilbenzamida proposto por Jamieson e Colaboradores; <sup>65</sup> B: Síntese utilizando Nafion.....	27
<b>Esquema 21</b> – Propostas de mecanismo de reação entre triglicerídeos e etanolamina.....	31
<b>Esquema 22</b> – Síntese de 2-oxazolininas proposta por Percec e colaboradores .....	34
<b>Esquema 23</b> – Mecanismo de síntese das 2-oxazolininas sugerido por Percec e colaboradores .....	34
<b>Esquema 24</b> – Formação do produto secundário na síntese das oxazolininas .....	34
<b>Esquema 25</b> – Esquema de ciclização direta utilizando Dean-Stark .....	40
<b>Esquema 26</b> – Fragmentações características de 2-oxazolininas substituídas. ....	42
<b>Esquema 27</b> – Proposta mecanística para a formação da oxazolinina e oxazolidinona na reação com trifosgênio.....	44

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> – Rendimentos obtidos para as 2-hidroxiethylamidas .....	26
<b>Tabela 2</b> – Resultados das sínteses das etanolamidas com Nafion.....	28
<b>Tabela 3</b> – Otimização da reação de ciclização .....	37
<b>Tabela 4</b> – Atribuição de sinais de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a 2-hidroxiethyldecamida e para a decil-2-oxazolína .....	39
<b>Tabela 5</b> – Rendimentos obtidos nas sínteses das 2-oxazolinas substituídas.....	43
<b>Tabela 6</b> – Teste para a síntese de 2-oxazolinas utilizando trifosgênio como agente desidratante.....	45
<b>Tabela 7</b> - Resultado comparativo entre as três funções químicas estudadas. ....	49



## 1. Introdução

### 1.1. Quorum Sensing

Micro-organismos são capazes de regular sua expressão gênica de acordo com a densidade populacional do meio. Essa regulação é baseada em uma forma de comunicação do tipo célula a célula, chamada *Quorum sensing* (QS).<sup>1</sup> Em alguns micro-organismos, essa espécie de comunicação é responsável por desencadear vários fenômenos, como a formação de biofilme, expressão do fator de virulência, esporulação, produção de antibióticos, entre outros. Com essa interação extracelular, os micro-organismos passam a se comportar de uma maneira multicelular, aumentando sua chance de sobrevivência.

*Quorum sensing* acontece através de moléculas sinalizadoras chamadas autoindutores (AI), responsáveis por induzir a expressão gênica que, para cada bactéria, terá uma função. Como por exemplo, para a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri*, cuja luminescência foi o primeiro sistema induzido por QS a ser descrito na literatura,<sup>2a</sup> duas proteínas controlam a expressão do operon *lux* (*luxICDABE*) (Figura 1), gene responsável pela luminescência. LuxI, é a proteína responsável pela síntese do AI do tipo *N*-acil homoserinalactona (AHL, sigla do inglês *acyl homoserine lactone*) nomeado de 3-oxo-C6-HSL; e LuxR, seu receptor citoplasmático. Esse AI pode se difundir livremente pela parede celular da bactéria, de forma que sua concentração é proporcional à densidade de populacional (Figura 1). Quando uma concentração crítica é atingida, a mesma se liga ao LuxR, e esse complexo ativa a transcrição do gene responsável pela luminescência, através do *operon* específico. Esse mesmo gene aumenta a síntese do AI correspondente que, por sua vez, alimenta o ciclo de QS.<sup>2b</sup>

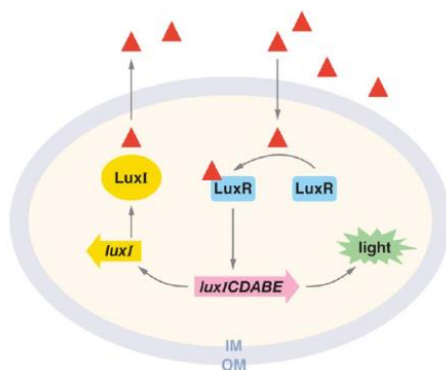
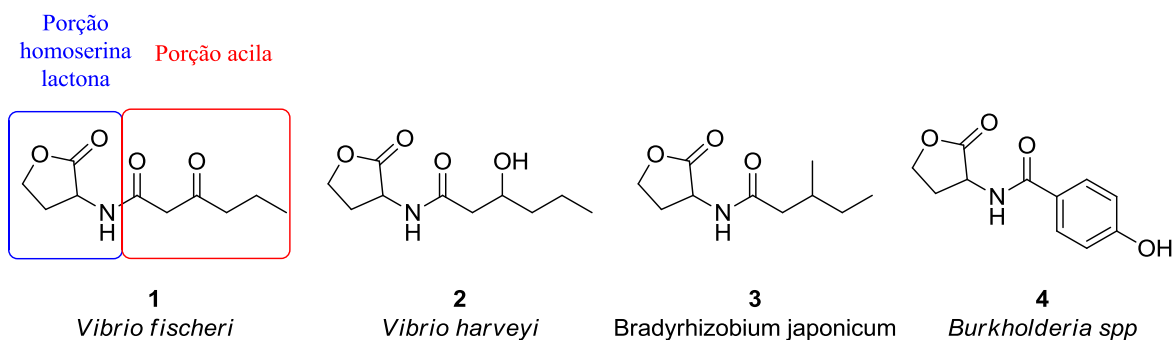


Figura 1 – Desenho simplificado do funcionamento do QS da *V. fischeri*.<sup>2</sup>

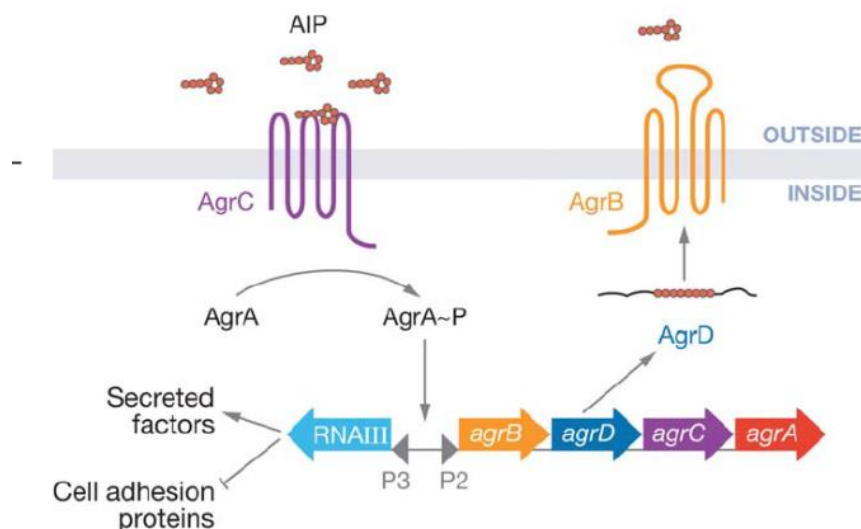
O mecanismo de QS pode ser dividido em três categorias baseadas no tipo de autoindutor e seu sistema de detecção. O mecanismo de QS pode ser dividido em três categorias baseadas no tipo de autoindutor e seu sistema de detecção. O primeiro se refere a comunicação de bactérias Gram-negativas que utilizam moléculas derivadas de AHL's como autoindutores, a segundo diz respeito a comunicação ente bactérias Gram-positivas que utilizavam oligopeptídeos como sinalizadores químicos e por fim, uma comunicação interespecie. Bactérias Gram-negativas, normalmente, possuem sistema de QS parecidos com o modelo LuxI/R apresentado pela *V. fischeri*, no qual os autoindutores são moléculas derivadas de AHL's. O sistema LuxI/R já foi identificado em mais de 70 espécies de bactérias Gram-negativas, as quais regula diferentes funções<sup>3</sup>. Essa característica se dá pela especificidade existente entre as proteínas LuxR e seus respectivos AI's, conferindo uma comunicação intra-específica. Essa singularidade é dada pela grande variedade estrutural de AHL, onde a porção homoserina lactona é mantida, mas diferentes cadeias acila são inseridas pelas diferentes LuxI (Figura 2). Esta variação estrutural permite que isoformas da LuxR características de cada espécie bacteriana consigam diferenciar as várias AHL's.<sup>3,4</sup>



**Figura 2-** Exemplos de AI's de diferentes bactérias Gram-negativas.<sup>3</sup>

A segunda categoria de QS é utilizada por bactérias Gram-positivas, que apresentam oligopeptídeos modificados como autoindutores. Esses oligopeptídeos são, normalmente, derivados de um peptídeo precursor cuja exportação para fora da célula os modifica. Essa modificação pode ocorrer pela inserção de lactonas, tiolactonas, lantanídeos ou grupos isopreno. O QS em bactérias Gram-positivas é parecido com o QS LuxI/R apresentado por bactérias Gram-negativas, porém apresentam algumas características próprias. Os peptídeos de interesse não podem difundir-se livremente, precisando de proteínas na membrana que façam o transporte para fora da célula.<sup>2</sup>

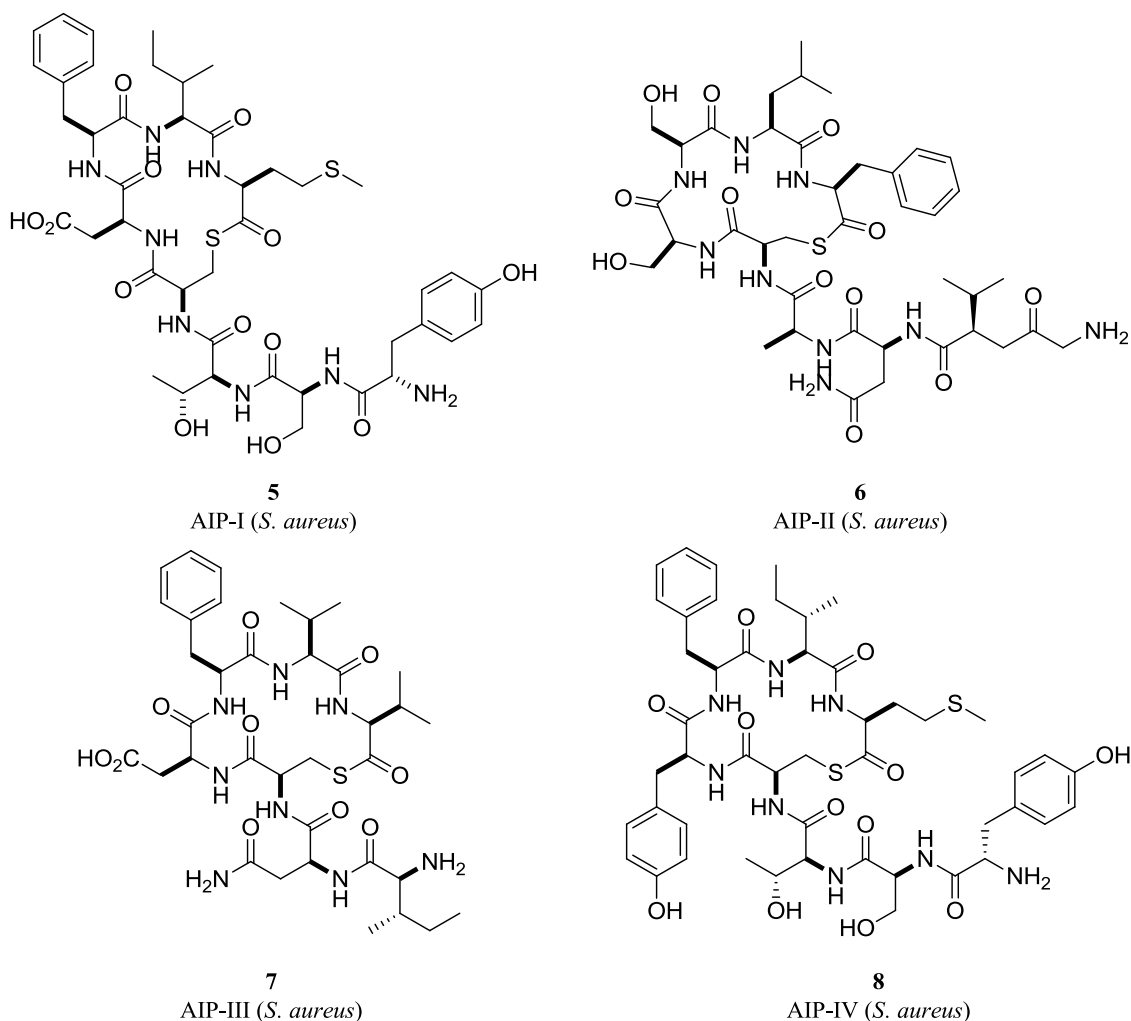
O modelo de QS apresentado pela *Staphylococcus aureus* é simples, quando comparado ao de outras bactérias Gram-positivas, e seu entendimento pode ajudar na compreensão de QS mais complexos (Figura 3). Ela é uma bactéria comensal da pele humana, tornando-se patogênica quando invade tecidos mais internos, podendo causar pneumonia, endocardite, meningite, entre outros.<sup>5</sup> Seu QS funciona de forma que, quando a densidade populacional está baixa, são ativados genes de colonização e adesão; e quando a densidade populacional está alta, os genes ativados são aqueles relacionados com proteases e mecanismos de liberação de toxinas. O precursor do peptídeo autoindutor (AIP, sigla do inglês *autoinducer peptide*) está presente no gene *agrD*, que codifica a proteína AgrD, responsável por sintetizar o AIP. Ele é exportado pela proteína AgrB e, durante esse transporte, ocorre sua ciclização na forma de uma tiolactona. Quando o AIP se encontra em uma concentração crítica, ele se liga à AgrC que induz à fosforilação do AgrA. O AgrA fosforilado é quem induz a expressão gênica dos mecanismos de proteólise e demais sinais. Além disso, AgrC induz a síntese de mais precursores de AIP que retroalimenta o sistema de QS da *S. aureus*.<sup>2</sup>



**Figura 3** – Modelo simplificado do mecanismo de QS em bactérias Gram-positivas.<sup>2</sup>

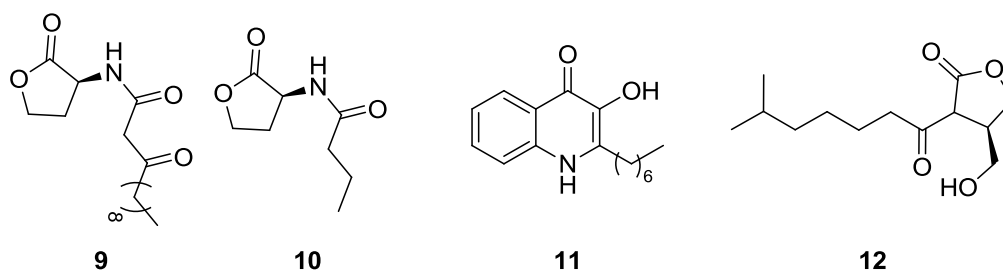
São conhecidos quatro tipos de cepas de *S. aureus*, das quais cada uma produz seu próprio AIP ( Figura 4). O AIP específico de uma dada cepa ativa seu próprio AgrC e inibe a expressão de AgrC das outras cepas, inibindo a virulência das outras cepas, devido à competição de ligação no receptor, porém não afetando o crescimento das demais cepas. Nesse caso de competição intraespecífica, ganha a cepa que iniciar seu sistema de QS primeiro.<sup>6,7</sup> Trabalhos mais recentes mostram que, para algumas

bactérias Gram-positivas, existe um segundo caminho de ativação do QS, onde o AIP ativo deve ser transportado para dentro da célula antes da interação com os receptores na membrana.<sup>8</sup>



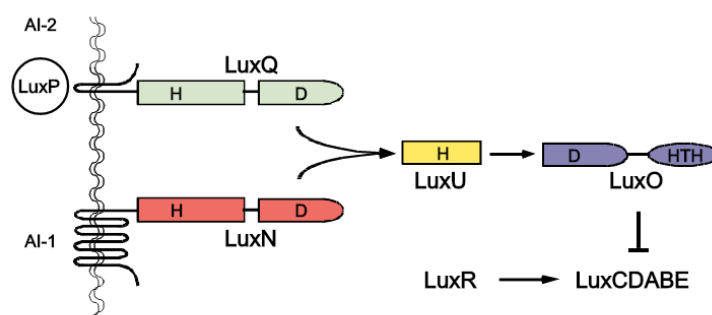
**Figura 4** – AIP's apresentados pelas cepas de *S. Aureus*.<sup>2</sup>

Outras classes de moléculas químicas também se apresentam como moléculas sinalizadoras em QS específicos. A *Pseudomonas aeruginosa* utiliza dois autoindutores do tipo AHL, **9** e **10** (Figura 5), acompanhada da 2-heptil-3-hidroxi-4-quinolona **11**, (PQS, da sigla em inglês *Pseudomonas Quinolone Signal*) para controlar vários genes responsáveis pela formação de biofilme e virulência, importantes para sua sobrevivência como bactéria oportunista que habita o pulmão de pessoas com fibrose cística.<sup>9,10</sup> Já a *Streptomyces griseus* sintetiza a 2-isocapriloil-3R-hidroximetilbutirolactona **12**, também chamada de Fator A que, em pequenas concentrações, induz a bactéria para diferenciação fisiomorfológicas, como produção de metabólitos secundários com funções antibióticas, como a estreptomicina, e mecanismo de esporulação.<sup>11,12</sup>



**Figura 5** – Exemplos de autoindutores utilizados pela *P. aeruginosa* (9 a 11) e Fator A (12) secretada pela *Streptomyces griseus*.<sup>9,11</sup>

No começo dos anos 90, em estudos com a bactéria bioluminescente *Vibrio harveyi*, cuja luminescência é ativada pelo fenômeno de QS, observou-se que existia um segundo caminho de QS independente da presença de AHL. O estudo utilizava uma variedade de cepas geneticamente modificadas e verificou que, mesmo nas cepas que não apresentavam a parte do DNA responsável pela interação com as AHL's, a *V. harveyi* continuava produzindo luminescência. Tal fato sugeriu que uma segunda rota de QS, com outro autoindutor, fosse então responsável por tal propriedade. Esse novo autoindutor, ainda desconhecido naquela época, foi designado AI-2, sendo AI-1 os autoindutores do tipo AHL.<sup>13</sup> No caso da *V. harveyi*, cada autoindutor é reconhecido por uma proteína específica que, quando ativada, envia informações para uma mesma proteína, *LuxU*, compartilhada pelos dois sistemas de QS (Figura 6).<sup>14</sup>

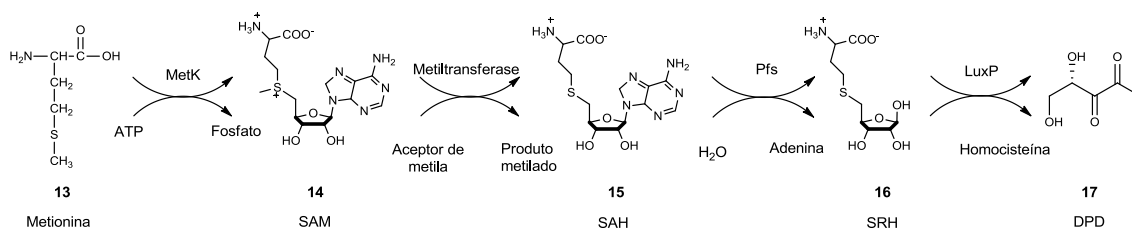


**Figura 6** – Sistema de QS em *V. harveyi*.<sup>15</sup>

Com o intuito de entender porque a *V. harveyi* possuía dois sistemas de QS, Hughson e colaboradores,<sup>16</sup> testaram o sobrenadante do meio de cultura de várias bactérias em uma cepa geneticamente modificada de *V. harveyi* que só podia luminescer por meio de um dos dois sistemas de QS, LuxI/R ou LuxP. Para a cepa que respondia ao AI-1 não houve resposta, porém diversos meios de cultura induziram luminescência da

cepa responsiva ao AI-2, o que reforça a ideia de que o AI-2 seria um sistema de comunicação interespecie enquanto o AI-1 seria intraespecífico.

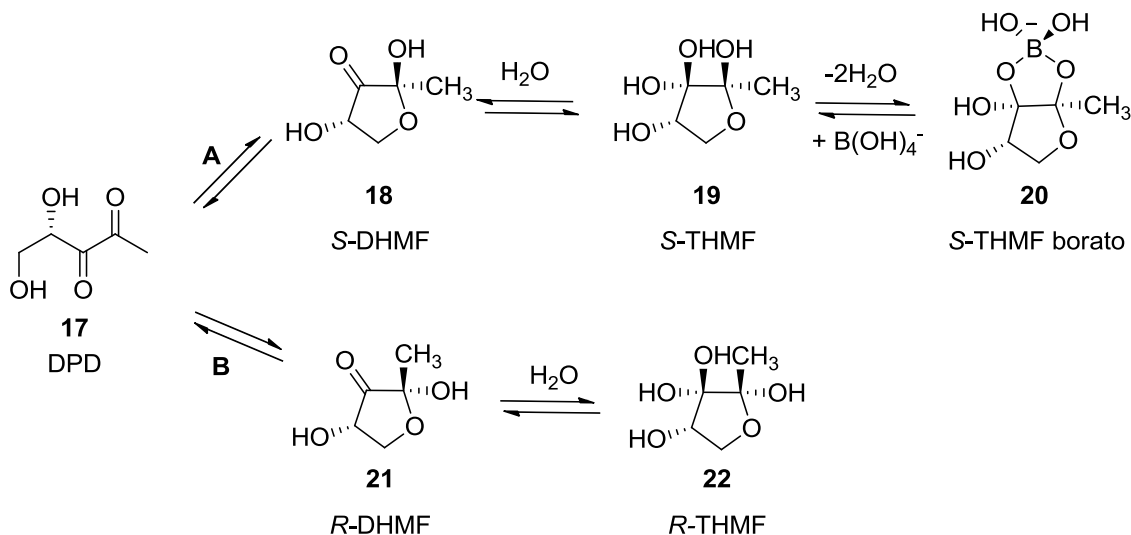
Apesar desta importante observação, a estrutura química do AI-2 ainda permanecia desconhecida. Observou-se que, em vários genomas a proteína LuxS, responsável pela síntese do AI-2, estava interligada com outras duas proteínas a MetK e a Pfs. Dessa forma, foi investigado o que essas três proteínas tinham em comum e foi descoberto um caminho reacional para a síntese do AI-2 (Esquema 1). Este inicia pela conversão, mediada por MetK, da metionina **13** em *S*-adenosina-*L*-metionina **14** (SAM, sigla em inglês pra *S-adenosyl-methionine*). A SAM é responsável por transferir o grupo metila em sistemas vivos. Quando essa transferência é feita, ela se torna tóxica na forma de *S*-adenosil-*L*-homocisteína **15** (SAH, sigla do inglês para *S-adenosyl homocysteine*). Por isso, é convertida em *S*-ribosehomocisteína **16** (SRH, sigla do inglês *S-ribosyl homocysteine*) que, por sua vez, é modificada pela LuxS em homocisteína e 4,5-dihidroxi-2,3-pentaediona **17** (DPD, da sigla em inglês *4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione*). Esta última molécula, de alguma forma, teria estrutura relacionada à síntese do AI-2.<sup>16</sup>



Esquema 1 – Síntese do DPD a partir da SAM.<sup>17</sup>

A estrutura química da forma ativa do AI-2 foi determinada pelas técnicas de espectrometria de massas e cristalografia de raio-X de um monocristal do complexo entre AI-2 e a LuxP de *V. harveyi*. Neste caso, AI-2 se apresenta na forma de *S*-THMF (sigla do inglês para *(2S,4S)*-2-methyl-2,3,3,4-tetrahydroxytetrahydrofune borate **20**. O DPD **17** espontaneamente cicliza para **19** e é hidratado, formando **19**. Na presença de ácido bórico, muito comum na água dos oceanos, *habitat* da *V. harveyi*, forma-se a estrutura ativa do AI-2 **20**, conforme mostrado no caminho **A** do Esquema 2.<sup>16</sup> Em outro trabalho, Hughson e colaboradores,<sup>17</sup> mostraram que a *Salmonella typhimurium* reconhece um isômero do DPD, *R*-THMF **22**, como sendo seu AI-2. Nesse caso, a ciclização do DPD ocorre pela outra face da carbonila, caminho **B** do Esquema 2, gerando o isômero *R*-DHMF **21** que, após hidratação, forma o *R*-THMF **22**. Essa

segunda possibilidade encontra respaldo no fato de a *S. typhimurium* habitar o intestino humano, onde não há boro presente. Estudos buscam determinar se os outros isômeros do DPD são formas ativas de AI-2 em bactérias.



Esquema 2 – Síntese do S-THMF-borato a partir do DPD.<sup>17</sup>

Ainda no trabalho de Hughson e colaboradores,<sup>17</sup> fez-se um ensaio simples, onde colocou-se *V. harveyi* e *S. typhimurium* no mesmo meio com excesso de AI-2. Com a adição de boro, rapidamente o equilíbrio é deslocado para o caminho A e a *V. harveyi* luminesce; e a *S. typhimurium* tem seu QS inibido. Porém, se este boro for sequestrado deste equilíbrio por um agente quelante, o equilíbrio rapidamente é descolado pelo caminho B e a *S. typhimurium* expressa seu QS e a *V. harveyi* deixa de luminescer.

Hoje se sabe que muitas espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas respondem ao AI-2. Isso é importante, pois com o QS a bactéria consegue mensurar a densidade populacional de sua própria espécie, utilizando derivados de AHL no circuito de AI-1; e também da densidade populacional de outras espécies por meio da comparação entre o QS ativado por AI-1 e aquele ativado por AI-2. Banerjee e colaboradores,<sup>2</sup> trazem em seu trabalho diversas situações em que uma bactéria percebe a presença de outra dentro de um ambiente comum e ainda consegue inibir o QS desta última. Greenberg e Leadbetter,<sup>18</sup> mostraram que a *Variovorax paradoxus* possui uma tática para sobreviver em ambientes competitivos. Uma substância química produzida por ela é capaz de degradar AHL produzido por outras bactérias, e utilizar esse produto degradado como fonte de nitrogênio e energia.

## 1.2. Quorum Quenching

Por meio destas informações, é possível pensar em formas de inibir ou ativar o QS para obter uma resposta desejada para uma função bacteriana. Por exemplo, *Streptomyces griseus*, que sintetiza a estreptomicina via sistema de QS, utilizada amplamente como antibiótico, pode ter esta síntese favorecida com moléculas agonista de seu QS.<sup>11,12</sup> Já em bactérias patogênicas, cujo QS ativa mecanismo de virulência, a inibição desse sistema seria terapia complementar ao uso de antibióticos. Dessa forma, o tratamento de um paciente infectado por bactéria pode ser realizado com antibióticos mais fracos, que visam atacar a forma mais branda da bactéria, diminuindo a possibilidade de aparecimento de cepas resistentes e os sintomas indesejados associados a tratamentos tradicionais mais severos.<sup>19</sup> Essa última intervenção no QS é chamado de *Quorum Quenching* (QQ) e pode ocorrer de duas formas, através de moléculas que se parecem com os AI e competem pelo sítio de ligação da proteína sensora; ou utilizando enzimas que metabolizam as moléculas sinalizadoras.<sup>2</sup> Em uma revisão, Spring e colaboradores,<sup>20</sup> trazem diversas moléculas antagonistas e agonistas de QS. Dentro dos produtos naturais capazes de inibir QS, os flavonoides são considerados potentes inibidores em *P. aeruginosa*,<sup>21</sup> *E. coli*,<sup>22</sup> e *V. harveyi*.<sup>23</sup> Zhang e colaboradores,<sup>24</sup> reportaram algumas furanonas que inibem o LuxS (Figura 7).

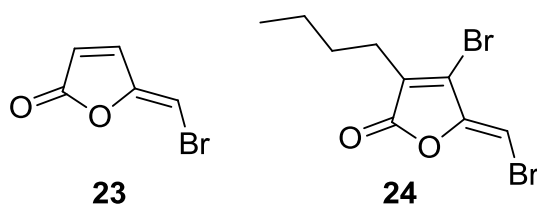
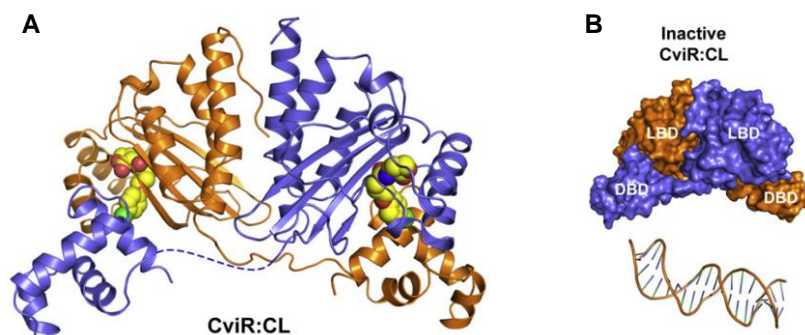


Figura 7 – Furanonas que inibem o LuxS.<sup>24</sup>

Já se é sabido que alterações na estrutura química dos auto-indutores pode causar um efeito negativo na comunicação. Por exemplo, Hughson e colaboradores,<sup>25</sup> mostram que o aumento no número de carbonos da cadeia acila do auto-indutor da *Chromobacterium violaceum*, C6-HSL, causa uma alteração na orientação espacial em um dos resíduos de aminoácidos da CviR, proteína receptora do auto indutor da *C. violaceum*, o que promove a desativação da comunicação bacteriana. A CviR é uma proteína da classe das LuxR e se apresenta na forma de um homodímeros (Figura 8) cujos monômeros contêm um domínio onde ocorre a interação com C6-HSL, o LBD (sigla do inglês para *ligand binding domain*), e outro domínio onde ocorre a interação



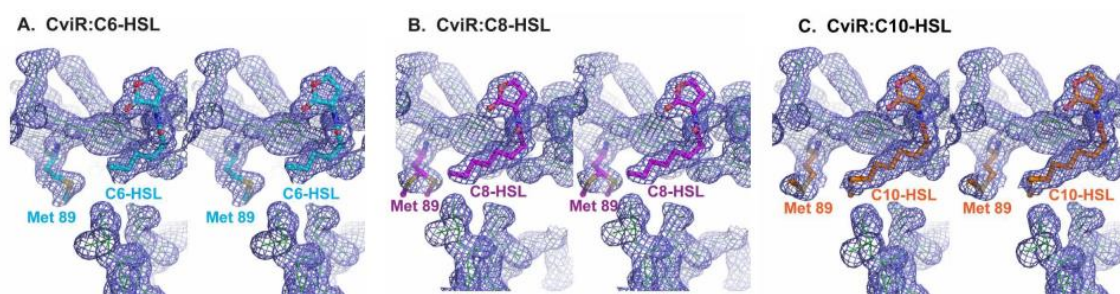
com o DNA, DBD (sigla do inglês para *DNA binding domain*). Porém, para essa proteína, os domínios interagem de forma cruzada e essa interação é de extrema importância para a conformação correta que leva a transcrição do DNA



**Figura 8:** A – Estrutura do complexo CviR:CL resolvida por Raio X, onde CL é um antagonista da *C. violaceum* ; B – Domínios da proteína CviR;<sup>25</sup>

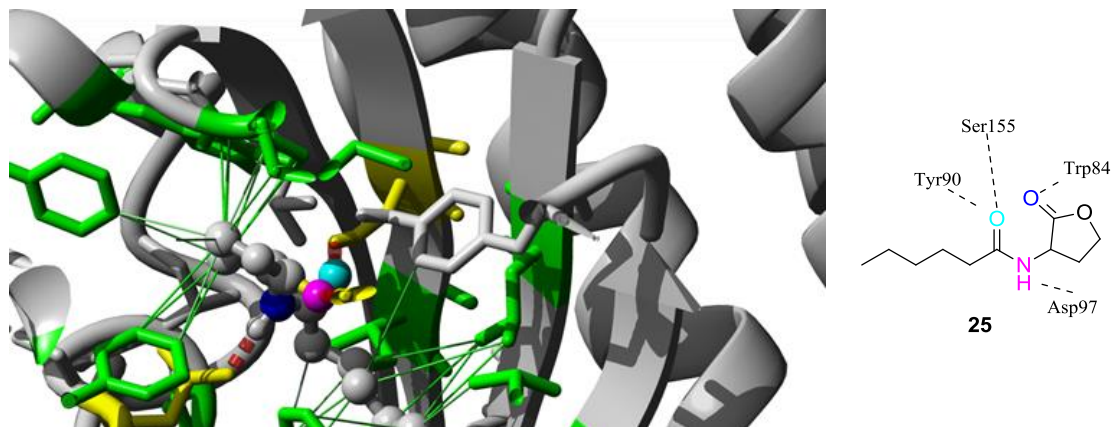
Willians e colaboradores estudaram o efeito de produção de violaceína em cepas de *C. violaceum* frente a várias AHL's e observaram que uma cadeia acila com quatro carbonos (dois a menos que o C6-HSL) foi capaz de induzir a produção de violaceína.<sup>26</sup> Em contrapartida, AHL's com cadeia acila com mais de dez carbonos se mostraram inibidoras. A cadeia com oito carbonos se mostrou dual, induzindo fracamente o QS, quando não havia o autoindutor presente, e, quando havia, foi capaz de inibir seu efeito.

Anos mais tarde, Hughson e colaboradores,<sup>25</sup> mostraram que a diferença entre a ação agonista e antagonista das AHL's está relacionada com o posicionamento da Met89 (Figura 9). Quando C6-HSL está complexado com CviR, a cadeia curta deste AI mantém o resíduo Met89 em uma posição que favorece a conformação do complexo CviR:C6-HSL que permite a interação com o DNA. Em contrapartida, quando a cadeia acila dos AHL's estudados apresentavam oito ou mais carbonos, o complexo com CviR mostrava um diferença no posicionamento da Met89 e, com isso, o complexo adota uma conformação que impede a interação com o DNA, fato que inibe o QS.



**Figura 9** – A: Interação da CviR com seu autoindutor C6-HSL, molécula em azul; B: Interação da CviR com um autoindutor com 8 carbonos, C8-HSL, molécula em roxo; C: Interação da CviR com um autoindutor com 10 carbonos, C10-HSL, molécula em laranja.<sup>25</sup>

As interações entre o AI e o bolsão de interações da proteína receptora também é de extrema importância para o sucesso da comunicação. A análise da estrutura de raio-X da proteína CviR complexada com seu autoindutor demonstra que o AI apresenta interação do N-H da amida como doador de ligação de hidrogênio e as carbonilas interagem como receptoras de ligação de hidrogênio (Figura 10).



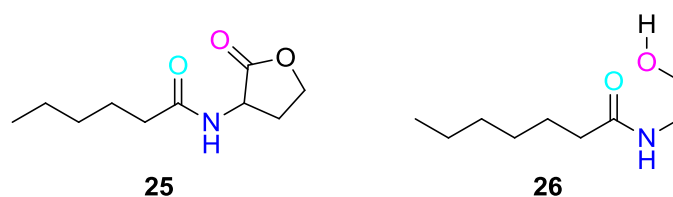
**Figura 10**– Raio X e interações entre a proteína CviR e seu autoindutor cognato. Ligações de hidrogênio mostradas em vermelho na imagem de raio-x. Átomos de nitrogênio e oxigênio da estrutura de raio-x apresentam as mesmas cores que as utilizadas na estrutura 25.

Com as informações sobre os mecanismos de inibição e as ligações de hidrogênio importantes para a ancoragem da molécula dentro do bolsão de interações, é possível propor que isômeros de autoindutores ou de antagonistas possam apresentar efeito similar frente a sistemas de QS. Pillai e colaboradores,<sup>27</sup> mostram que uma mistura de ácidos graxos advindos da lavagem da carne de frango possui inibição de QS. A inibição nos testes realizados foi similar nas diversas concentrações estudadas. Eles também testaram se o ácido graxo puro tinha efeito sobre o QS, mas a mistura advinda da carne obteve melhores resultados que qualquer dos ácidos graxos isolados.

### **1.3. Isosterismo como estratégia para inibidores de QS análogos a AHL's e Ácidos Graxos.**

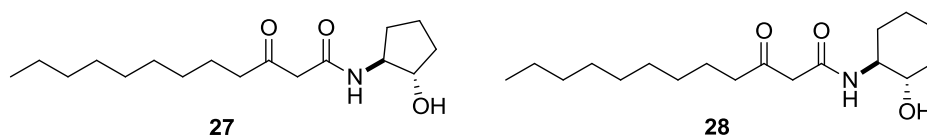
Isôsterismo/Bioisôsterismo é uma estratégia da química medicinal que se baseia na substituição de átomos ou parte de estrutura de moléculas ativas conservando a atividade na nova molécula.<sup>28</sup> Esses isômeros possuem similaridade estrutural, mas apresentam propriedades estereoeletrônicas diferentes que atribuem a esse derivado alguma melhora em propriedades desejáveis sobre a molécula mimetizada.

Com isso é possível propor que etanolamidas **26** sejam isómeros clássicos dos autoindutores derivados de *N*-acil homoserina lactonas, pois são capazes de mimetizar as interações de hidrogênio dentro do bolsão da proteína receptora (Figura 11).



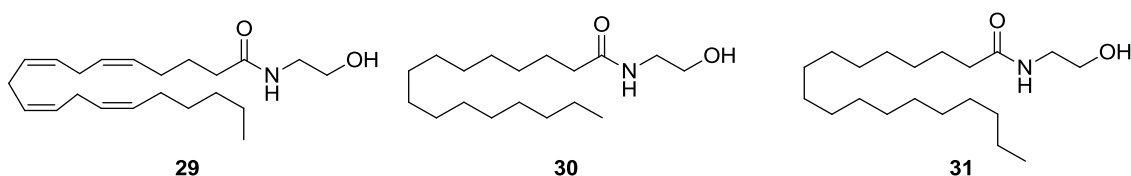
**Figura 11** – Semelhança estrutural entre um AI e as etanolamidas.

Suga e colaboradores,<sup>28</sup> já relataram que as etanolamidas **27** e **28** apresentam inibição e indução, respectivamente, nos QS de *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 12).



**Figura 12** – Inibidor e indutor de *P. aeruginosa* estudada por Suga e colaboradores.<sup>28</sup>

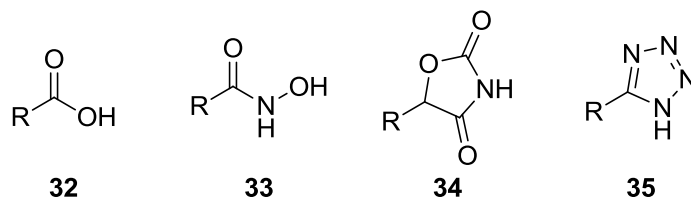
Sobre as *N*-2-hidroxiethylamidas, vale chamar a atenção para sua importância biológica, uma vez que elas participam na regulação de funções cerebrais.<sup>29</sup> As chamadas NAE's (sigla do inglês para *N*-acylethanolamines) são derivadas de ácidos graxos e são ligantes endógenos dos receptores canabinoídes no cérebro dos mamíferos. A mais conhecida é a anandamina **29** responsável pela regulação da temperatura corporal, percepção de fome, dor, medo e ansiedade (Figura 13).<sup>30</sup> A *N*-(2-hidroxiethyl)palmitamida **30** é responsável pela inibição de hábitos alimentares e a *N*-(2-hidroxiethyl)estereamida **31** é moduladora de inflamações.<sup>31</sup>



**Figura 13** – Amidas graxas importantes para o funcionamento em Mammalia.<sup>29</sup>

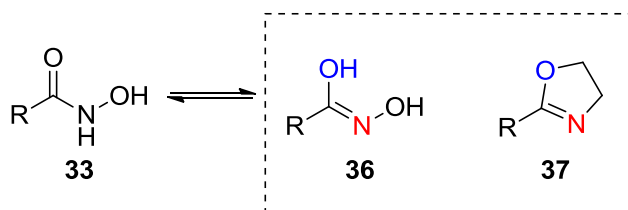
Na indústria farmacêutica, os ácidos carboxílicos tem grande importância, estando eles presentes em mais de 450 medicamentos.<sup>32</sup> Porém, apresentam certas características indesejadas como permeabilidade limitada em membranas biológicas e instabilidade metabólica, podendo ter até certa toxicidade. Normalmente, em isômeros de ácidos carboxílicos é avaliada a acidez, a lipofilidade e a permeabilidade dos

derivados. O isosterismo pode ser clássico, quando um átomo de mesma valência ou um anel é trocado na estrutura; ou não-clássico onde ocorre uma grande mudança de grupo funcional. Ácidos hidroxâmicos **33**, oxazolidien-2,4-dinonas **34** e tetrazóis **35** são conhecidos isômeros de ácidos carboxílicos **32** (Figura 14).<sup>32,33</sup>



**Figura 14-** Isômeros de ácidos carboxílicos.<sup>32</sup>

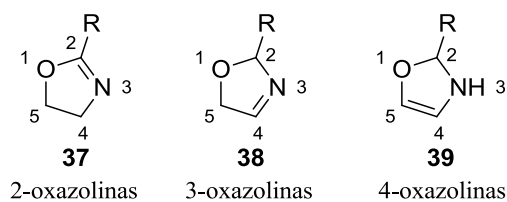
Uma proposta interessante é que 4,5-diidrooxazóis substituídos **37**, também nomeados como 2-oxazolininas, como isômeros não clássicos de ácidos carboxílicos, inibidores de QS. Sua estrutura apresenta semelhança com uma das estruturas tautoméricas do ácido hidroxâmico **36**, conhecido isômero de ácidos graxos (Esquema 3).



**Esquema 3** – Similaridade estrutural das 2-oxazolininas e do ácido hidroxirâmico.

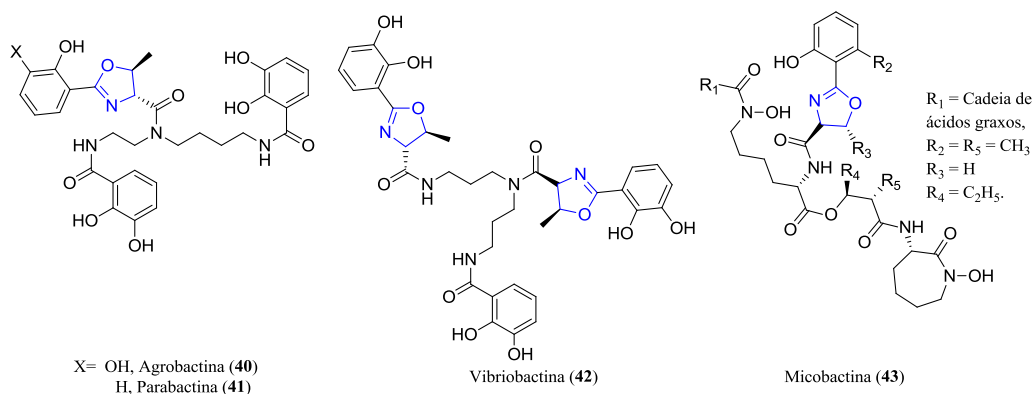
## 1.4. Oxazolininas

As oxazolininas são moléculas heterocíclicas de cinco membros, onde existe um átomo de oxigênio, um de nitrogênio e uma ligação dupla. Existem três tipos de anéis oxazolínicos (Figura 15), porém, as 2-oxazolininas são as mais estudadas e são encontradas naturalmente, enquanto as 3 e 4-oxazolininas ficam restritas a síntese em laboratório. Inicialmente foram muito utilizadas como aditivo de gasolina e óleos lubrificantes, inibidores de corrosão, entre outros. Contudo, agora também vêm sendo utilizadas como catalisador em síntese assimétrica quando existem carbonos quirais nas posições 4, 5 e no grupo R.<sup>34,35</sup>



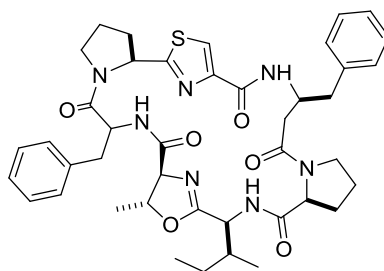
**Figura 15** - Anéis Oxazolínicos.<sup>35</sup>

Oxazolinas são encontradas na natureza com diversas funções. Machado e colaboradores,<sup>36</sup> trazem à literatura diversos sideróforos, moléculas sequestrantes de ferro, secretados por diversas bactérias. Como exemplo a agrobactina **40**, parabactina **41** e a vibriobactina **42**, são secretadas pela *Agrobacterium tumefaciens*, *Paracoccus denitrificans* e *Vibrio cholerae*, respectivamente (Figura 16). Várias espécies de micobactérias também secretam micobactinas **43** derivadas de oxazolinas como sideróforos.



**Figura 16** – oxazolinas encontradas na natureza.<sup>36</sup>

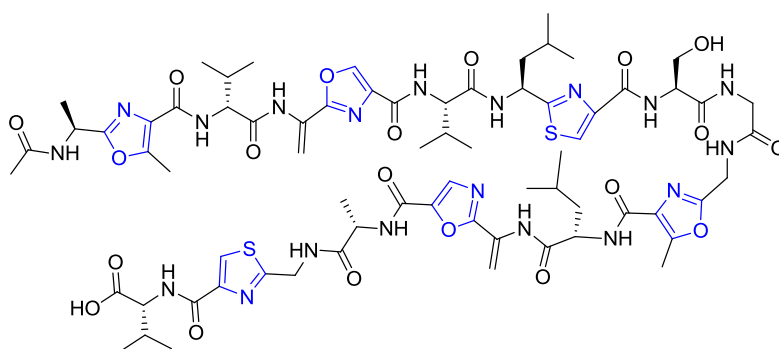
Tan e colaboradores,<sup>37</sup> estudaram o extrato orgânico secretado pela *Ceratodictyon spongiosum*, alga marinha presente nos arredores do Japão até a costa da Austrália. Em meio a este extrato, encontraram a estrutura **44**, *trans,trans*-ceratospongamida (Figura 17), assim como o isômero *cis,cis*. Entretanto, apenas **44** apresentou função específica nos estudos realizados, atuando na inibição da expressão de uma enzima chave no processo inflamatório.



44

**Figura 17** - *trans,trans*-ceratospongamida encontrada no extrato orgânico da *Ceratodictyon spongiosum*.<sup>37</sup>

Em estudos de peptídeos constituintes do ribossomo, Schimidt e colaboradores,<sup>38a</sup> mostram que alguns apresentam oxazóis e tiazóis que são inseridos na estrutura por meio da desidratação de aminoácidos como a serina, treonina e a cisteína, sendo posteriormente oxidados por uma enzima apropriada para a obtenção das moléculas propostas, passando por anéis de oxazolininas e tiazolininas como intermediários. *Goadsporin 45* (Figura 18) é um peptídeo modificado contendo anéis de oxazol e tiazol, descoberto a partir da pesquisa de Igarashi e colaboradores,<sup>38b</sup> que estudavam o líquido de crescimento da *Streptomyces sp. TP-A0584* e, essa estrutura é responsável pela esporulação e produção de metabólicos secundários.

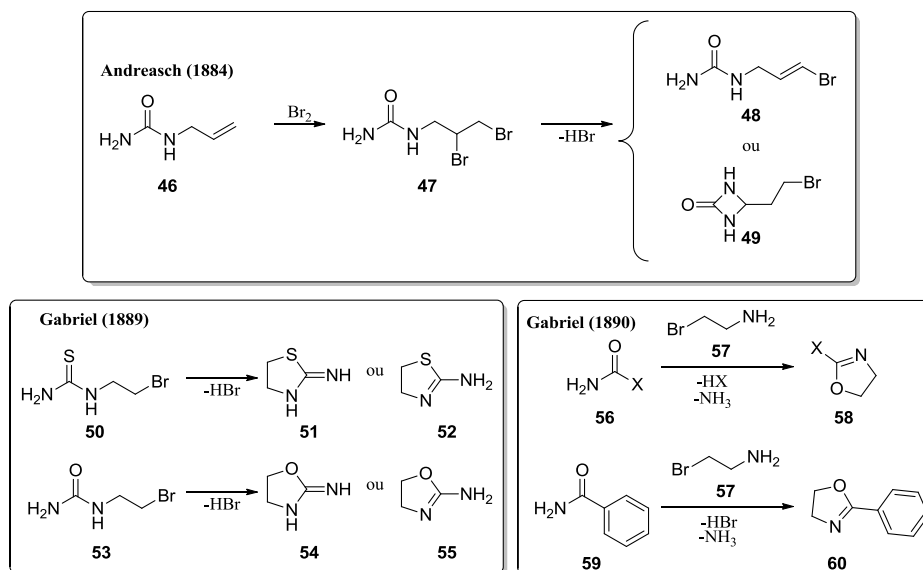


45

**Figura 18** – Goadsporin estudada por Igarashi.<sup>38b</sup>

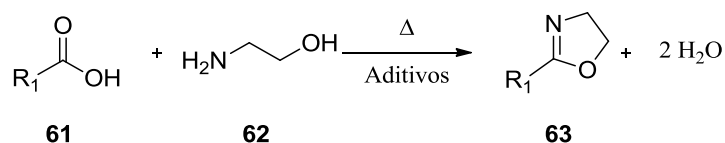
A primeira menção à oxazolina na literatura foi feita por Andreasch<sup>39</sup> em 1884, que suspeitou que um composto resultante da desidro-halogenação de brometo de aliluréia contivesse uma nova estrutura cíclica. Contudo, a identificação da estrutura não foi realizada pelo autor de forma correta, pois ele fez referência a um composto cíclico de quatro membros **49** (Esquema 4). Foi então que Gabriel,<sup>40a</sup> em 1889, conseguiu identificar a estrutura a partir da desidro-halogenação da bromoetilureia **50** e bromoetilureia **53**, permitindo o início dos estudos sobre as 2-tiazolininas **52** e das 2-oxazolininas **55**. Em outro trabalho, Gabriel estudou melhor a síntese 2-oxazolininas a

partir da reação entre 2-bromoetanoamina **57** e derivados de ureia **56** e **59** seguido de desidro-halogenação.<sup>40b</sup>



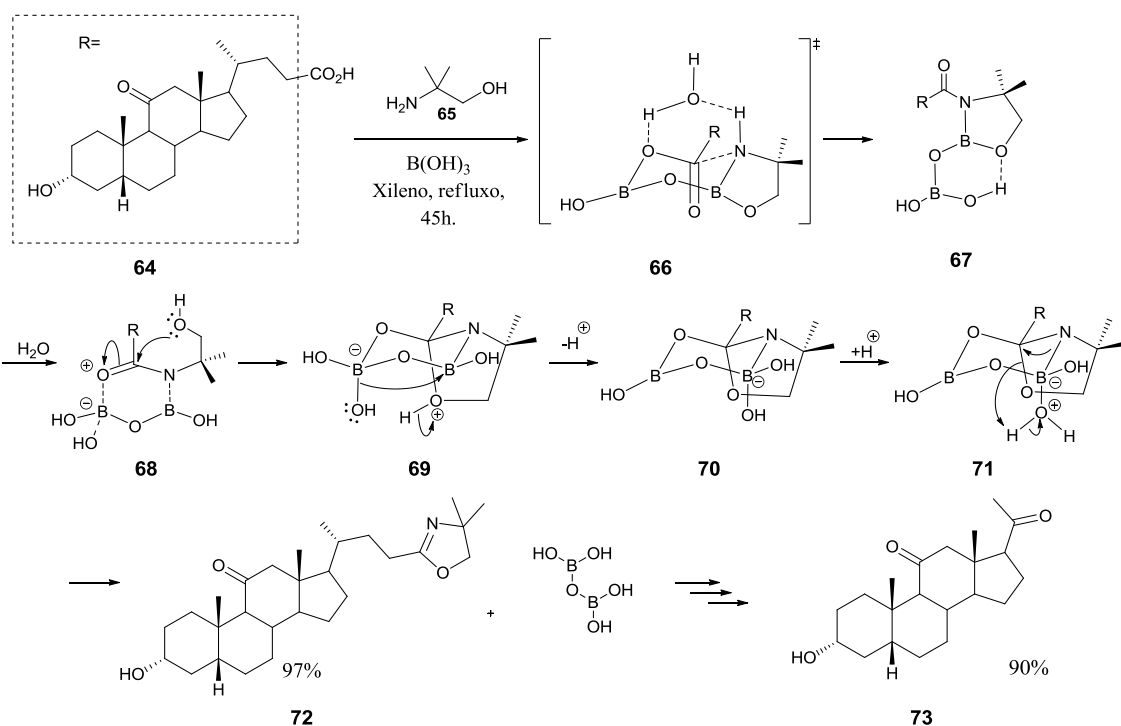
Esquema 4 – Trabalhos de Andreasch e Gabriel.<sup>39-40</sup>

Existem vários métodos para a síntese das 2-oxazolininas.<sup>41</sup> O mais simples parte de um ácido carboxílico **61** e uma aminoálcool **62** sob condições de refluxo, com concomitante retirada de água do sistema, (Esquema 5). Essa retirada de água é normalmente realizada com utilização de um sistema de Dean-Stark, mas também pode ser realizada com adição de aditivos como zeolitas, peneira molecular, entre outros.<sup>42</sup>



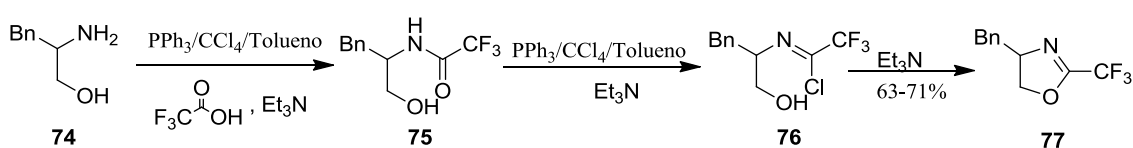
Esquema 5 – Síntese da 2-oxazolina utilizando Dean-Stark.

Barton e colaboradores,<sup>43</sup> buscando melhorar o processo de degradação da cadeia lateral de ácido cólico **64** em corticoesteróide **73**, utilizaram 2-oxazolininas como intermediários. Apenas o aquecimento com retirada de água não foi eficiente para a síntese da 2-oxazolinina desejada **72**, com isso adicionou-se ácido bórico para catalisar a reação. É proposto pelos autores que essa adição promova a formação do intermediário **67** (Esquema 6) onde a amina está em uma posição favorável para interagir com a carbonila recém-ativada. Dessa forma, obtiveram rendimento de 97% para a formação da oxazolinina desejada **72**. Para continuar com a degradação, utilizou selênio para obter uma 2-oxazolinina  $\alpha,\beta$ -insaturada que, após ozonólise, resultou no corticoesterol almejado **73** com um rendimento total superior a 90%, após ajustes no procedimento.



**Esquema 6** – Mecanismo adaptado de degradação realizada por Barton e colaboradores.<sup>43</sup>

Em casos onde os reagentes são sensíveis ao aquecimento ou aos agentes de ciclização empregados, é possível utilizar um procedimento experimental com condições mais brandas, utilizando  $\text{PPh}_3$  e  $\text{Et}_3\text{N}$  em tetracloreto de carbono, por exemplo.<sup>44</sup> Jiang e colaboradores,<sup>44b</sup> utilizaram essa condição para a síntese de fluoroalquil-2-oxazolinas. Devido à acidez do ácido trifluoroacético ( $\text{pK}_a = 0,2-1,9$ ) a amidação ocorre de forma rápida, formando o intermediário **75** (Esquema 7). O excesso de trifenilfosfina ( $\text{PPh}_3$ ) desloca o equilíbrio para a formação de um intermediário ainda mais reativo, **76**, que, rapidamente, cicliza produzindo a fluoroalquil-2-oxazolina **77**.



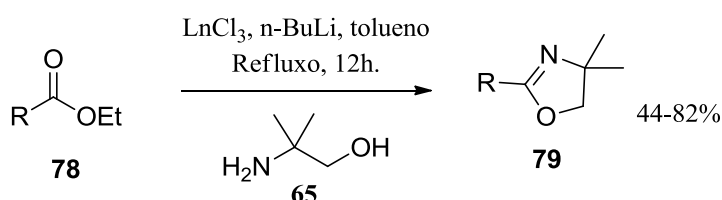
**Esquema 7** - Síntese de fluoroalquil-2-oxazolininas proposta por Jiang e colaboradores.<sup>44b</sup>

Utilizando aminoálcoois, é possível sintetizar 2-oxazolininas a partir de aldeídos, ésteres e nitrilas.<sup>45</sup> Natale e colaboradores,<sup>45a</sup> sintetizaram 2-oxazolininas **79** a partir da reação de diversos ésteres **78** com etanolamina **65**, catalisada por cloretos de lantanídeos como o lantânio e samário, obtendo rendimentos de 44 a 82% (Esquema 8). Karade e colaboradores,<sup>45b</sup> utilizaram diversos arilaldeídos **80** em contato com aminoálcoois **81** na presença de (diacetoxido)benzeno ( $\text{PhI}(\text{AcO})_2$ ) para formar as aril-2-oxazolininas **83**

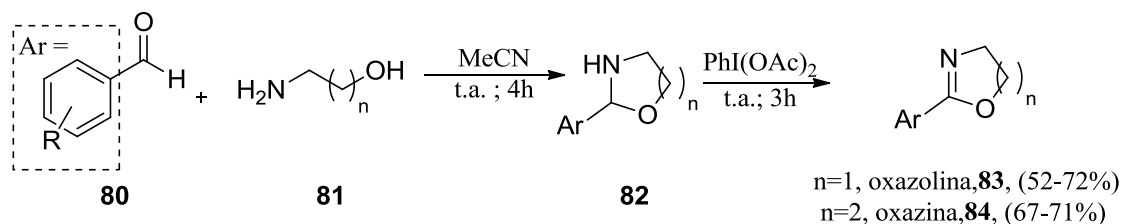


e aril-2-oxazinas **84** (Esquema 8), obtendo rendimentos entre 51 a 72%. Outros compostos de iodo oxidantes foram testados, porém o (diacetoxiodo)benzeno apresentou os melhores resultados além de ser mais brando, podendo assim ser aplicado em mais sistemas. Ali e colaboradores,<sup>45c</sup> sintetizaram um catalisador arilbis(oxazolina) a partir da reação entre arildinitrilas **85** com aminoálcoois **65**, resultando em um catalisador **86** utilizado em reações de Suzuki-Miyaura e Mizoroki-Heck que obtiveram rendimentos de moderados a ótimos. O catalisador se mostrou capaz de ser reutilizado por mais de 12 vezes sem perda significativa de rendimento.

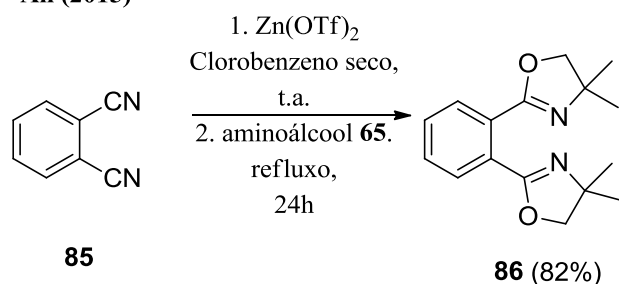
Natale (1997)



Karade (2007)

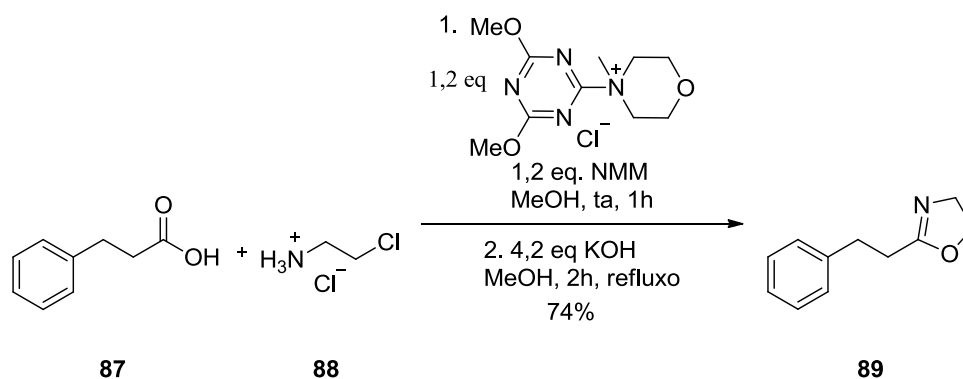


Ali (2015)



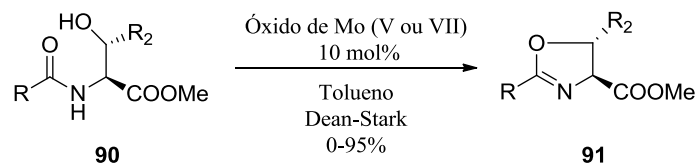
Esquema 8 – Síntese de 2-oxazolinas por nitrilas, ésteres e aldeídos.<sup>45</sup>

Ainda partindo de ácidos carboxílicos, as 2-oxazolinas podem ser sintetizadas usando uma 2-cloroetilamina **88**, como feito de forma *one-pot* por Kunashina e colaboradores,<sup>46</sup> (Esquema 9), obtendo rendimentos na faixa de 60-100%, dependendo do substrato.



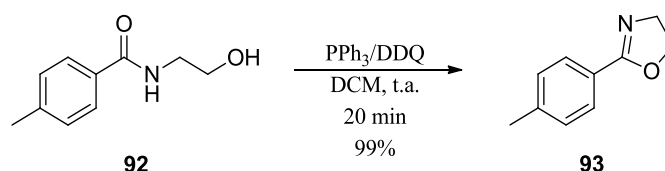
**Esquema 9**– Síntese de Kunashina e colaboradores. <sup>46</sup>

A ciclização/desidratação de *N*-(2-hidroxietilamidas) ou *N*-(2-cloroetilamidas), utilizando diversos agentes de ciclização, são muito utilizadas para obtenção de 2-oxazolininas. Partindo das 2-hidroxietilamidas, os agentes desidratantes mais comuns são  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{MsCl}$ ,  $\text{DEAD}$ ,  $\text{TsCl}$ , reagente de Vilsmeier,  $\text{DIC}$ , entre outros. <sup>47a-f</sup> Ishihara e colaboradores, <sup>48</sup> estudaram a desidratação catalítica de derivados de serina, utilizando óxidos de molibdênio, para a síntese de 2-oxazolininas funcionalizadas (Esquema 10).



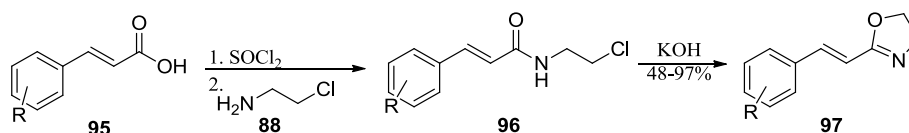
**Esquema 10** – Síntese de 2-oxazolininas estudadas por Ishihara e colaboradores. <sup>48</sup>

Li e Xu, <sup>49a</sup> publicaram uma síntese simples e rápida de aril-2-oxazolininas **93** a partir de *N*-2-etanolamidas **92** utilizando um sistema de  $\text{PPh}_3$ -DDQ. Os autores citam vantagens desse sistema ao invés de um sistema  $\text{PPh}_3$ -DEAD, como a estabilidade térmica e a boa seletividade para os produtos desejados. Testaram sete solventes e encontram diclorometano como melhor solvente no menor tempo de reação, que variou entre 20 minutos a 24 horas dependendo do substrato utilizado, sendo todas as condições testadas realizadas à temperatura ambiente (Esquema 11). Condizente com a literatura, <sup>49b</sup> a síntese de 2-oxazolininas com cadeia alquílica é mais elaborada em comparação em comparação com seus análogos arilas, sendo necessários maiores tempos de reacionais (24 horas para a *N*-(2-hidroetil)dodecamidas em comparação com os 20 minutos para a *N*-(2-hidroetil)benzamida).



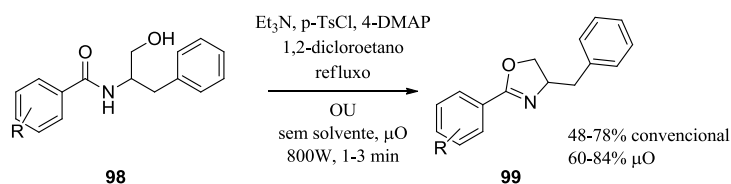
**Esquema 11** – Síntese de aril-2-oxazolinas realizada por Li e Xu.<sup>49</sup>

Uma das desvantagens de se usar  $\text{SOCl}_2$  é que sua reação pode gerar como subproduto a *N*-(2-cloroetilamidas). Por sua vez essa pode ser convertida em 2-oxazolina com o emprego de bases fortes.<sup>50a</sup> Kronek e colaboradores,<sup>50b</sup> utilizaram hidróxido de potássio para a ciclização de 2-cloroetilamidas **96**, derivadas do ácido cinâmico **95** (Esquema 12), obtendo as cinamil-2-oxazolinas **97**. No caso, a reação não pode ocorrer pela reação do ácido carboxílico como um aminoálcool seguida de ciclização por  $\text{SOCl}_2$ , devido a possibilidade de ocorrer uma adição de Michael da etanolamina à dupla conjugada, como subproduto.



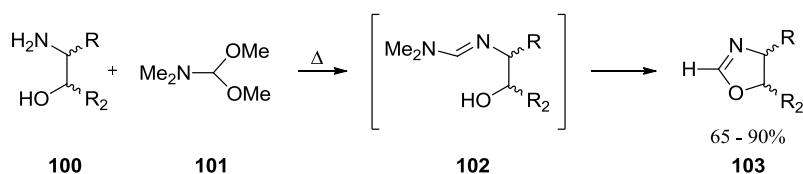
**Esquema 12** – Síntese de derivados de ácido cinâmico proposto por Kroniek e colaboradores.<sup>50b</sup>

Mamaghani e colaboradores,<sup>51</sup> estudaram uma metodologia envolvendo o emprego de aquecimento assistido por micro-ondas, onde não é utilizado solvente para a realização da síntese de 2-oxazolinas. Eles utilizaram derivados de 2-hidroxiethylamidas **98** juntamente com trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ), cloreto de *p*-toluenossulfonila (*p*-TsCl) e 4-(*N,N*-dimetilamino) piridina (4-DMAP) para a síntese das respectivas 2-oxazolinas **99** (Esquema 13). Vale ressaltar que os autores obtiveram melhores rendimentos, com menores tempos reacionais do que em reações sob aquecimento convencional. Mohammadpoor-Baltork e colaboradores,<sup>52</sup> também sintetizaram ariloxazolinas em micro-ondas utilizando  $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  como catalisador e obtiveram ótimos resultados, entre 70 e 90% dependendo do substrato sintetizado.



**Esquema 13** – Síntese de oxazolinas em micro-ondas proposto por Mamaghani e colaboradores.<sup>51</sup>

Também é possível sintetizar 2-oxazolinas partindo de substratos sem carbonila evidente. Meyers e colaboradores,<sup>53</sup> sintetizaram 2-oxazolinas partindo de aminoálcoois opticamente puros **100** tratados com dimetilformamida-dimetilacetal **101** (DMF-DMA) sob refluxo em aparelhagem de Soxhlet, na presença de peneira molecular (Esquema 14). Com o emprego dessa metodologia os autores obtiveram rendimentos na faixa de 65 a 90%, dependendo do substrato utilizado.

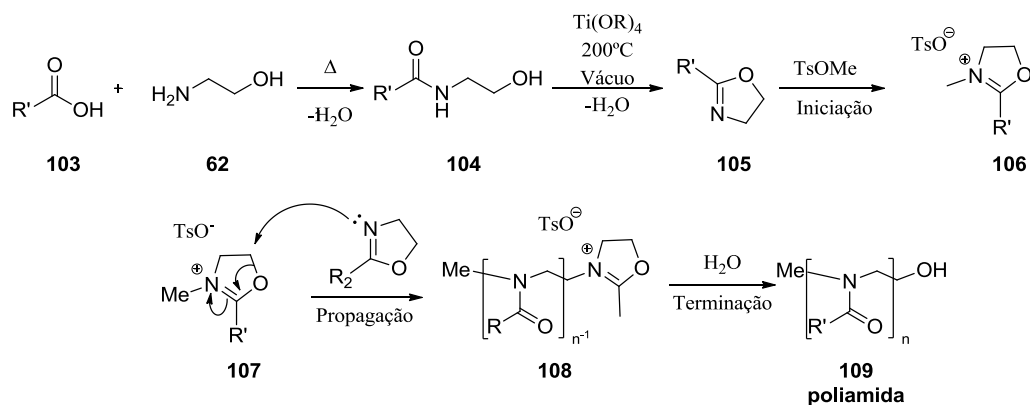


**Esquema 14** – Síntese de 2-oxazolinas quirais proposto por Meyers e colaboradores.<sup>53</sup>

Com os avanços encontrados nas metodologias para sua síntese, as oxazolinas ganharam importância sintética e são utilizadas como blocos de construção, grupo de proteção de ácidos carboxílicos, auxiliares quirais, ligantes para metais e estão amplamente presentes em moléculas bioativas, sendo estas naturais ou sintéticas.<sup>54-57</sup>

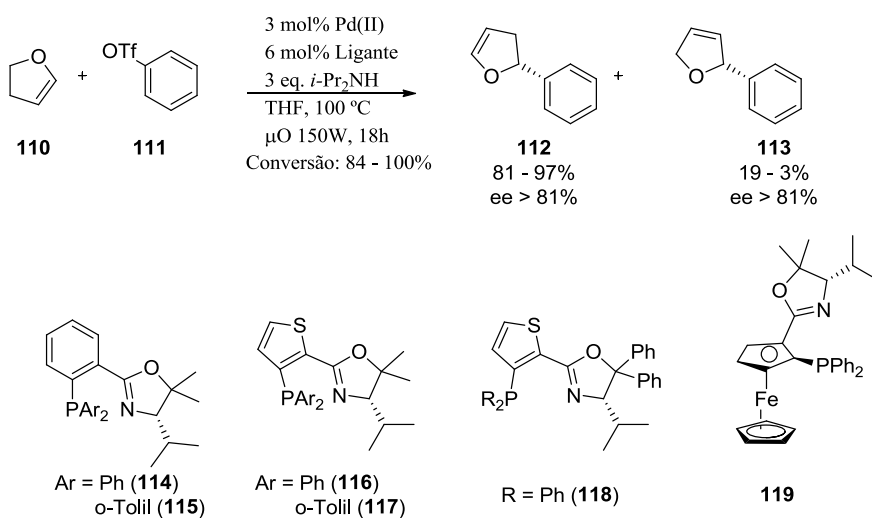
Oxazolinas apresentam grande importância biológica. Halve e colaboradores,<sup>58</sup> publicaram uma revisão recente mostrando que as oxazolinas possuem função antimicrobiana, antimalárica, antitumoral, antituberculose, entre outras.

As 2-oxazolinas estão começando a ter mais evidência no mercado de polímeros. Schubert e Hoogenboom,<sup>59</sup> publicaram um estudo sobre a polimerização de 2-oxazolinas a partir de ácidos graxos presentes no óleo de soja. Essa polimerização é feita em micro-ondas utilizando tosilato de metila como iniciador. Mecanicamente, os elétrons livres do nitrogênio irão atacar o iniciador gerando uma espécie catiônica **106**. Nessa espécie, a ligação C-O está enfraquecida e por isso ocorre a propagação pelo ataque nucleofílico do próximo monômero. A polimerização termina com a adição de um nucleófilo, no caso água (Esquema 15). O estudo de polimerização em substratos renováveis como o óleo de soja vem crescendo. Neste caso, o polímero terá uma cadeia hidrofóbica que pode ser utilizada na fabricação de capas, adesivos, borracha, entre outros.



**Esquema 15** – Polimerização de 2-oxazolinonas derivadas de ácidos de graxo do óleo de soja.<sup>59</sup>

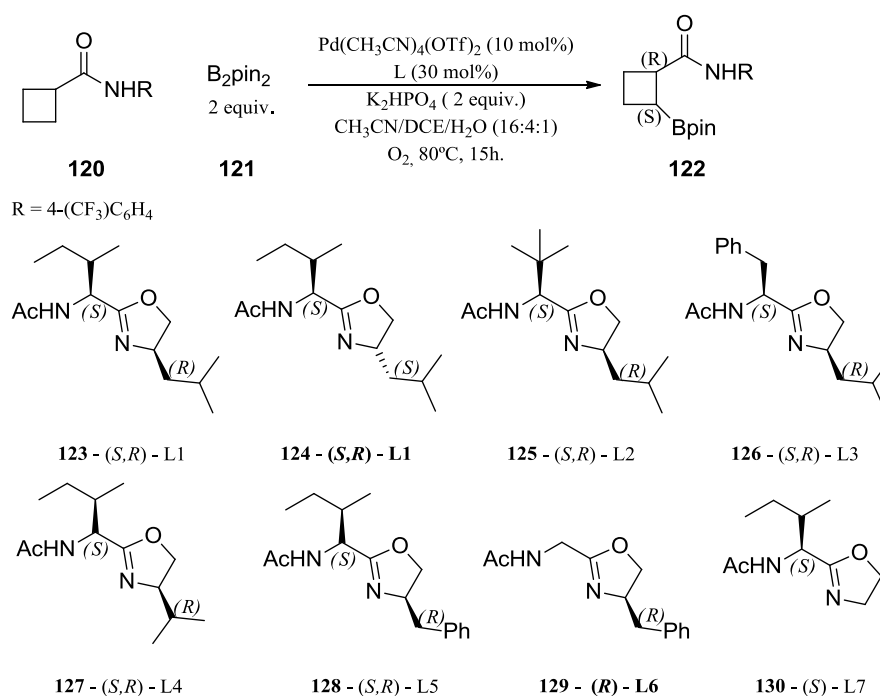
Guiry e colaboradores,<sup>60</sup> estudaram a regio e enantiosseletividade na reação assimétrica de Heck utilizando catalisadores oxazolínicos **114** - **119**. Os autores citam que ligantes [P,N] oferecem uma maior regio e enantiosseletividade que ligantes [P,P], porém necessitam um tempo reacional muito longo. Para diminuir essa desvantagem, os autores usaram aquecimento mediado por micro-ondas e obtiveram resultados melhores quando comparados aos obtidos por aquecimento convencional. A conversão para a reação do 2,3-diidrofurano **110** com triflato de fenila **111** variou de 84-100% dependendo do catalisador utilizado (Esquema 16). A regioseletividade variou entre 81:19 a 97:3 do isômero **112** e o excesso enantiomérico sempre foi superior à 81% .



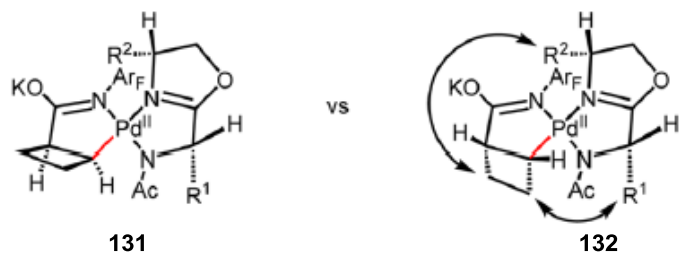
**Esquema 16** – Acoplamento cruzado estudado por Guiry e colaboradores.<sup>60</sup>

Yu e colaboradores,<sup>61</sup> pesquisaram a enantiosseletividade de borilação de ligações C(sp<sup>3</sup>)-H utilizando paládio como catalisador e 2-oxazolinonas quirais como ligantes. Os autores relatam que os ligantes derivados de metiloxazolinonas mono-N-protetidas (MPAO, sigla do inglês *mono-N-protected methyl oxazolines*) já haviam sido

utilizadas em síntese assimétrica para a arilação intramolecular de ligações C(sp<sup>3</sup>)-H de metilenos e de ligações C(sp<sup>3</sup>)-H de dimetilas geminais.<sup>62</sup> Porém, advertem que o uso desse tipo de catalisador ainda não havia sido utilizado em borilações de ligações C(sp<sup>3</sup>)-H. Utilizando os parâmetros padrão para a reação, catalisador **123**, se obteve 82% de rendimento e 95% de *ee*. Eles testaram 8 variações de 2-oxazolininas buscando entender a importância dos centros quirais presentes na estrutura do catalisador (Esquema 18). O catalisador **124**, contendo a inversão do centro quiral, proporcionou uma diminuição brusca no *ee*, caindo para 50% e redução de rendimento, apenas 24%, mesmo situação encontrada quando utilizaram apenas um centro quiral na estrutura do catalisador. Trocando o catalisador por **125** a **128** não houve mudança expressiva no excesso enantiomérico e no rendimento. Quando utilizou catalisadores com apenas um centro quiral **129** ou **130** caiu a seletividade e o rendimento. O estado de transição apresentado pelos autores informa a necessidade dos dois centros quirais (Figura 19), onde a configuração (*S,R*) proporciona o intermediário favorecido **131**. Para mostrar a robustez dessa metodologia os autores realizaram esse tipo de reação em outras amidas cíclicas e acíclicas obtendo excessos enantioméricos moderados à excelentes.

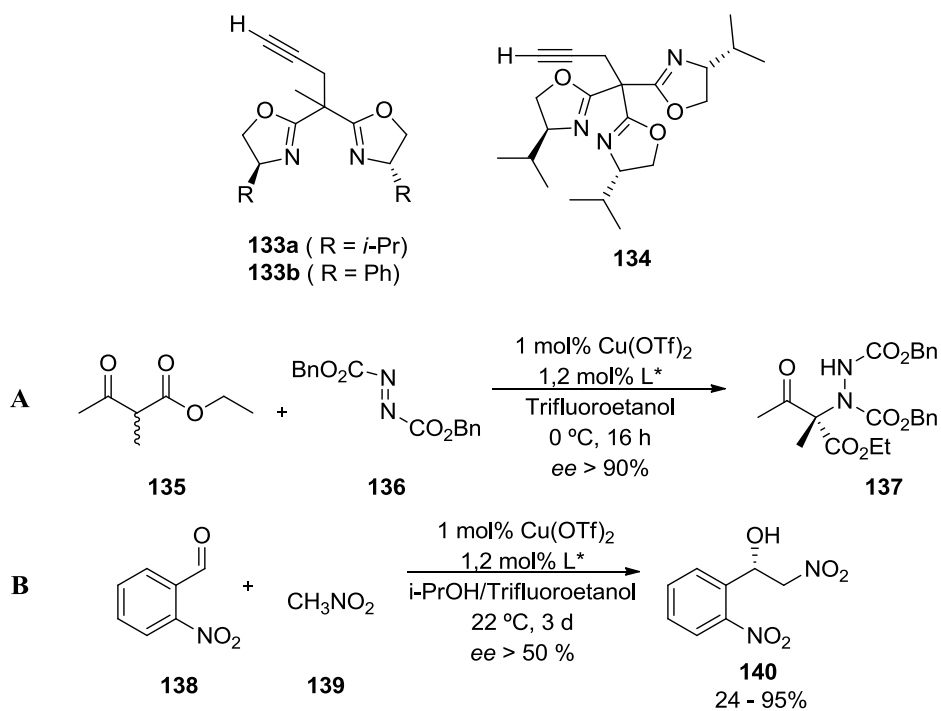


**Esquema 17** – Borilação de ligações C(sp<sup>3</sup>)-H utilizando paládio como catalisador e 2-oxazolininas quirais como ligantes estudada por Yu e colaboradores.<sup>61</sup>

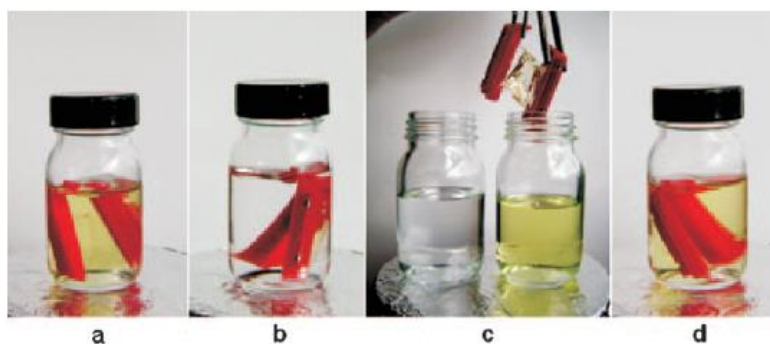


**Figura 19** – Estados de transição para a borilação de ligações C(sp<sup>3</sup>)-H.<sup>61</sup>

Gade e colaboradores,<sup>63</sup> estudaram o desempenho e reciclo de catalisadores de cobre ligados a 2-oxazolininas immobilizados em uma membrana de dendrímeros, técnica conhecida como *Tea Bag Catalysis*. Primeiro ocorre a síntese dos catalisadores bis ou tris-oxazolínicos (Box **133** e Trisox **134**, respectivamente) e depois eles são immobilizados em dendrímeros na forma de carboxilatos (Esquema 18). Os autores testaram duas reações:  $\alpha$ -hidrazinação em 2-metilacetoacetato **135** (Esquema 18 A); e a reação de Henry entre 2-nitrobenzaldeído **138** e o nitrometano **139**, utilizando apenas 1 mol% de cobre em ambas as reações. As reações apresentaram rendimentos que variaram de moderados à excelentes e ótimos excessos enantioméricos. Esse tipo de catalise é interessante pela sua facilidade de reciclo do catalisador, onde apenas é necessário mover a membrana de um vaso reacional ao outro (Figura 20). Após testes de reciclo dos catalisadores, apenas o Box se mostrou apto ao reuso sem perda de enantiosseletividade.



**Esquema 18** – Estudo realizado por Gade e colaboradores.<sup>59</sup>



**Figura 20** – Reação utilizando a catálise do tipo *tea bag*. a: Membrana de dendrímeros em solução amarela dos substratos; b: solução incolor após completa conversão; c: Reciclo da membrana de dendrímeros e ciclo catalítico subsequente.<sup>59</sup>



## 2.1. Objetivos Gerais

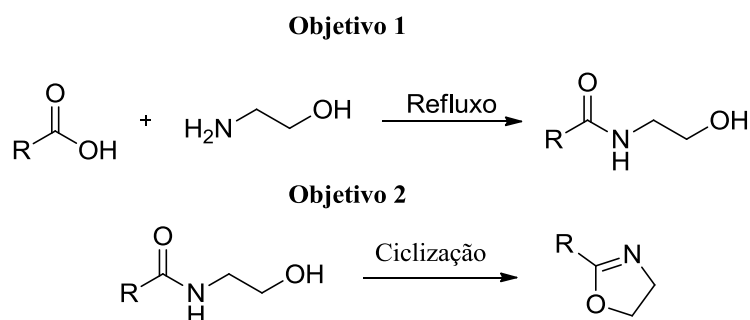
Este plano de trabalho teve como objetivos gerais (1) realizar a síntese de *N*-2-hidroxiethylamidas e 2-oxazolinas substituídos e (2) avaliar a utilização dos mesmos como inibidores de QS em sistemas de AI-1.

## 2.2. Objetivos Específicos

1) Sintetizar *N*-2-hidroxiethylamidas a partir de ácidos carboxílicos disponíveis no acervo do laboratório e a partir de óleo de soja comercial.

2) Sintetizar 2-oxazolinas a partir da biblioteca de *N*-2-hidroxiethylamidas previamente sintetizadas.

3) Avaliar o espectro de interação em QS de *Chromobacterium violacium* a partir da ação dos 2-oxazolinas, das *N*-2-hidroxiethylamidas sintetizadas e dos respectivos ácidos carboxílicos.



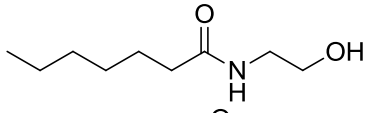
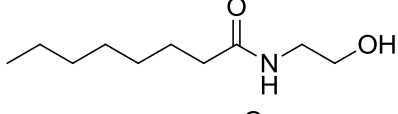
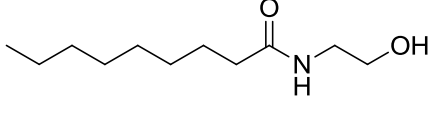
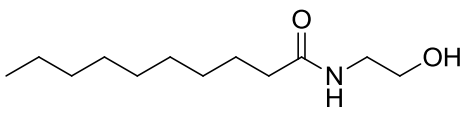
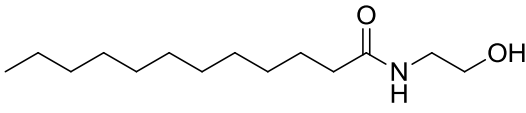
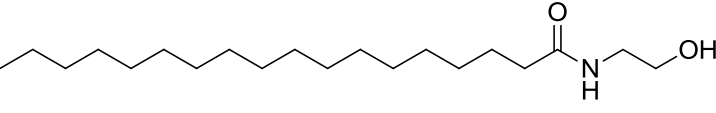
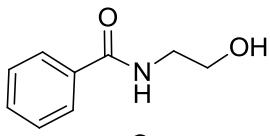
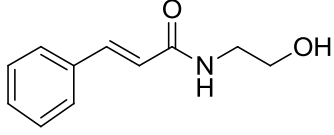
**Esquema 19** – Objetivos específicos do trabalho proposto.

### 3. Resultados e discussão

#### 3.1. Síntese das *N*-(2-hidroxiethyl)amidas

A síntese das *N*-(2-hidroxiethyl)amidas foi realizada por meio de procedimento experimental adaptado do trabalho de Moaddel e Ameri,<sup>64</sup> sendo esse já utilizado anteriormente em nosso laboratório de pesquisa (LITMO). Nessa metodologia, não é empregado solvente, sendo realizada a mistura o ácido carboxílico e a etanolamina em excesso, deixando em refluxo por 8 horas. A tabela 1 mostra os ácidos carboxílicos utilizados assim como os rendimentos obtidos.

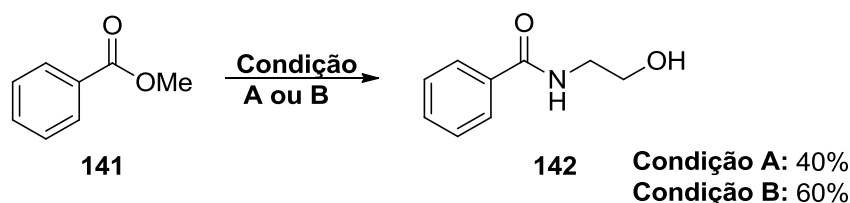
Tabela 1 – Rendimentos obtidos para as 2-hidroxiethylamidas

Entrada	<i>N</i> -(2-hidroxiethyl)amidas	Rendimento (%)
1		70
2		55
3		49
4		73
5		70
6		75
7		10
8		40

Como pode ser visto na Tabela 1, com exceção do ácido benzóico (Entrada 7), todas as demais amidas foram obtidas com bons rendimentos. Isso porque a reação acontece pelo ataque nucleofílico dos pares de elétrons do nitrogênio ao carbono da

carbonila, porém esse ácido apresenta grande estabilidade da base conjugada, dificultando assim o ataque, formando um sal de carboxilato de etanolamônio.

Dessa forma, a sua síntese foi feita utilizando o procedimento para a síntese de hidroxiamidas a partir de ésteres proposto Jamieson e colaboradores.<sup>65</sup> A condição reacional empregada pelos autores (Condição A) apresentou um rendimento de 80% no trabalho descrito, porém, quando foi realizado um teste com essa condição, o rendimento foi de apenas 40%. Ainda com o intuito de melhorar o rendimento para esta transformação, foi utilizado um catalisador ácido, o Nafion<sup>®</sup> (Condição B). A reação foi realizada com adição de uma porção de 0,5 cm<sup>2</sup> de Nafion<sup>®</sup> ao refluxo de benzoato de metila **145** e etanolamina, sendo obtida a hidroxiamida **146** com um rendimento de 60%, após purificação por coluna cromatográfica (Esquema 20).



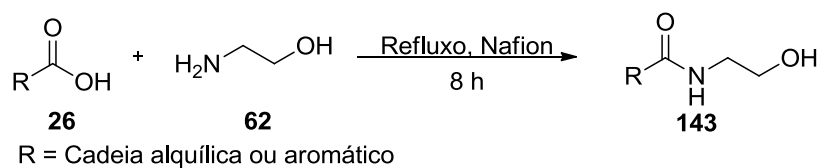
-----  
**Condição A:** Etanolamina (1,0 eq), 30 mol % K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, *i*-PrOH, 60 °C, 20 h

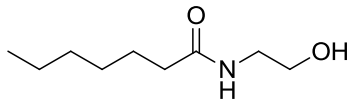
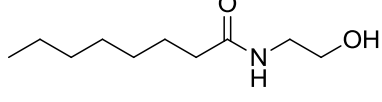
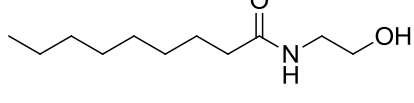
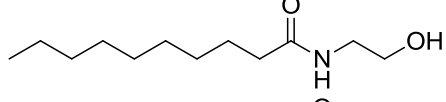
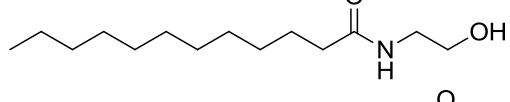
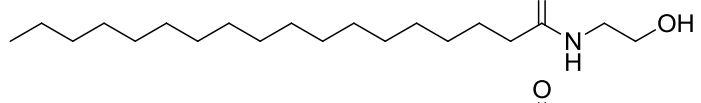
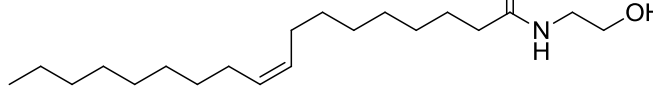
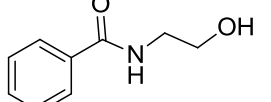
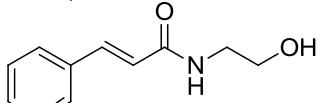
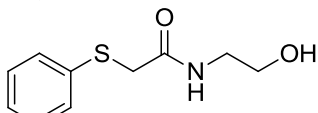
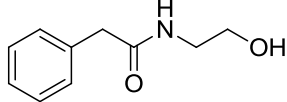
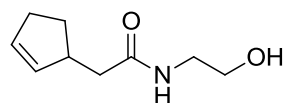
**Condição B:** Etanolamina (3,0 eq), Nafion, 18 h, atm. N<sub>2</sub>

**Esquema 20** – A: Síntese da 2-hidroxiethylbenzamida proposto por Jamieson e Colaboradores;<sup>65</sup> B: Síntese utilizando Nafion.

Ainda com respeito aos resultados apresentados na Tabela 1, *N*-(2-hidroxiethyl)cinamida (entrada 9) foi obtida em um rendimento de 40%. Isso pode ser explicado devido à competição de reações existentes nesse experimento. Além da amidação, pode estar ocorrendo uma reação do tipo Aza-Michael, onde a etanolamina pode realizar uma adição 1,4 na dupla conjugada ao ácido carboxílico (diminuindo assim o rendimento da amidação), como citada por Kroniek e colaboradores.<sup>50b</sup> Utilizando a metodologia otimizada com Nafion os compostos apresentados na Tabela 1, além de mais alguns ácidos carboxílicos, foram refeitos e os resultados são apresentados na Tabela 2. É possível observar que a catálise ácida promoveu um aumento de rendimento de todas as sínteses realizadas.

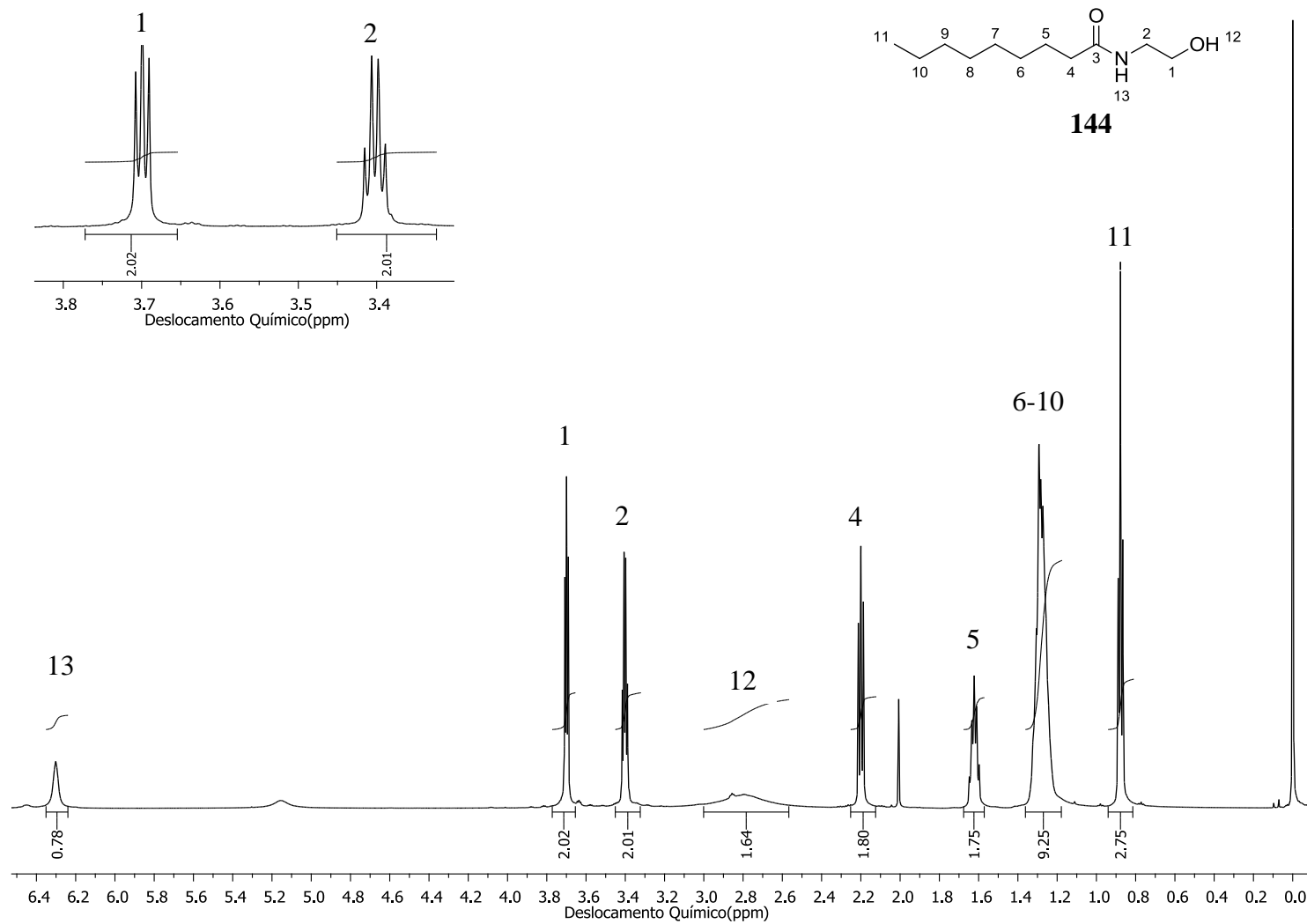
**Tabela 2** – Resultados das sínteses das etanolamidas com Nafion.



Entrada	<i>N</i> -(2-hidroxietil)amidas	Rendimento (%)
1		70
2		72
3		80
4		83
5		80
6		90
7		85
8		60
9		85
10		85
11		50
12		65

As estruturas das moléculas sintetizadas são muito semelhantes e isso pode ser observado nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Abaixo está exibida a atribuição de sinais

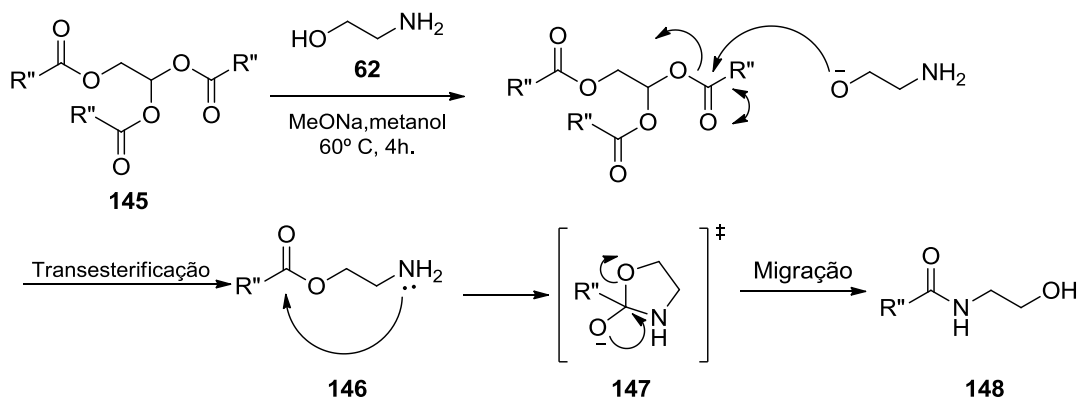
para o espectro para a *N*-(2-hidroxietil)nonamida **144** com ampliação dos sinais entre 3,3 e 3,8 ppm's; esses são os sinais referentes aos carbonos 1 e 2, que mais tarde farão parte da 2-oxazolina correspondente (Figura 21). Em 3,70 ppm existe um tripleto aparente referentes aos hidrogênios do carbono 1; em 3,40 ppm há um quarteto aparente referentes aos hidrogênios do carbono 2. Em 2,20 ppm há um tripleto referente aos hidrogênios presentes no carbonos  $\alpha$ -carbonila enquanto os hidrogênios  $\beta$ -carbonila se apresentam na forma de um quinteto próximo a 1,62 ppm. Entre 1,35 e 1,20 ppm existe um multipletto referente ao envelope metilênico dos hidrogênios dos carbonos de 6 a 10. Por fim tem-se um tripleto em 0,88 ppm referente aos hidrogênios de final de cadeia. O sinais do hidrogênios ligados ao nitrogênio e ao oxigênio se apresentam como um simpleto largo em 6,30 e 2,79 ppm, respectivamente.



**Figura 21** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da 2-hidroxiethylnonamida.

O óleo de soja foi escolhido como substrato no trabalho, pois é uma fonte renovável de óleo de soja e existe o interesse de comparar os resultados dos testes biológicos com o trabalho de Pillai.<sup>27</sup> Para a síntese da N-(2-hidroxietil)amida a partir do óleo de soja foi utilizada a metodologia de Moaddel,<sup>64</sup> mesma utilizada para obtenção dos dados da Tabela 1, porém, foi obtido um produto oleoso de cor marrom escura. Pelo aspecto, uma possível degradação oxidativa do óleo de soja pode ter ocorrido. Talvez isso se deva à temperatura reacional estar maior que o ponto de fulgor apresentado pelo óleo de soja, 121°C.<sup>66</sup> Uma segunda tentativa da síntese foi realizada sob atmosfera inerte utilizando um frasco do tipo Schlenk (frasco de vidro mais resistente que as vidrarias comuns de laboratório, suportando pressões de até 150 psi). Nas duas tentativas, o rendimento foi baixo (<10%), por isso, a terceira tentativa foi realizada utilizando uma porção de Nafion® para catalisar a reação. Como resultado, foi obtido um rendimento 33% para o teste realizado.

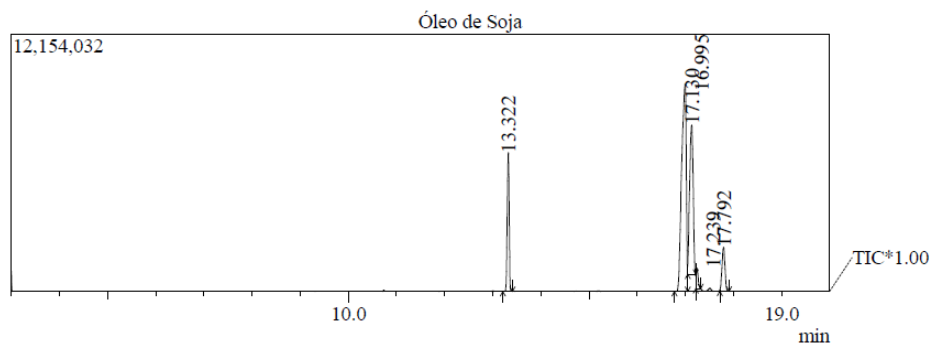
O óleo de soja é constituído por triacilglicerol, ou seja, são ésteres resultantes da condensação de uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos. Tang e colaboradores,<sup>67</sup> propõem que em condições básicas ocorra a migração da ligação N-O-acila (Esquema 21) resultando em um rendimento de 95%.



**Esquema 21** – Propostas de mecanismo de reação entre triglicerídeos e etanolamina:<sup>67</sup>

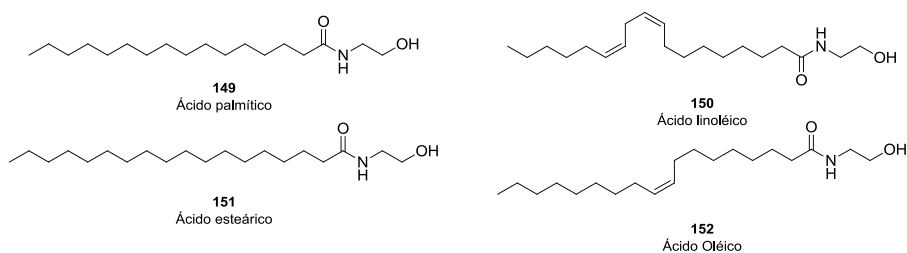
Como o produto da nossa transformação se trata de uma mistura de amidas graxas, fez-se necessário confirmar a composição de ácidos graxos do óleo de soja utilizado. Para esta análise, os ácidos graxos presentes no óleo de soja foram convertidos em seus respectivos ésteres metílicos (FAME – do inglês Fatty acids methyl esters) por meio de saponificação seguida de esterificação. O produto resultante foi analisado por cromatografia gasosa hifenada com espectrometria de massas (CG-EM), de acordo com o procedimento descrito por Souza e colaboradores<sup>68</sup>. A composição

obtida foi 24% de ácido palmítico, 37% de ácido linoleico, 33% de ácido oleico e 6% de ácido esteárico (Figura 22).



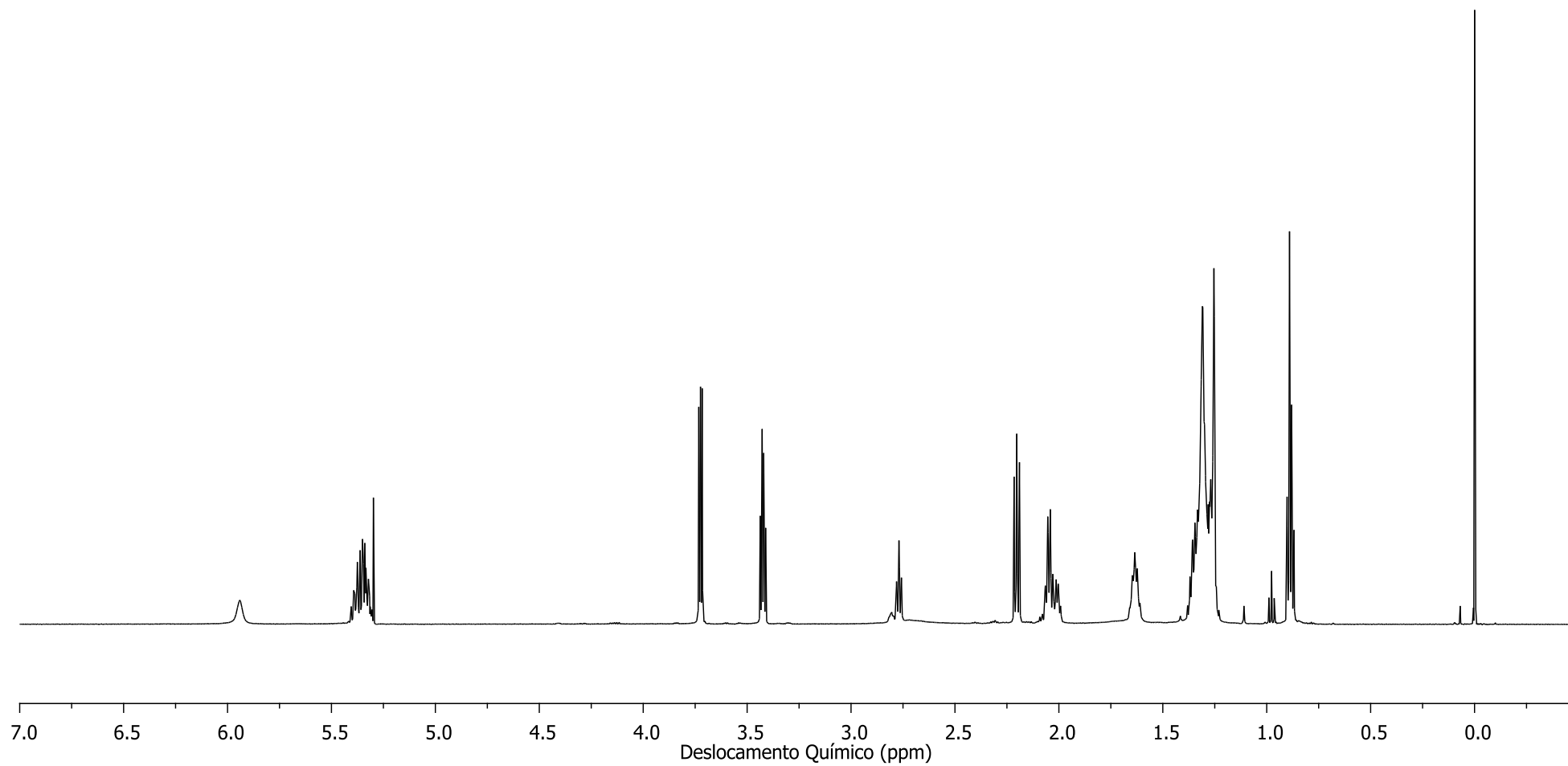
**Figura 22** – Cromatograma dos FAME's do óleo de soja após saponificação e esterificação.

A análise prévia da composição dos FAME's desta mistura por CG-EM facilitou a análise por RMN de  $^1\text{H}$ . Apesar do espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentar diversos sinais (Figura 24), foi possível identificar os sinais típicos de 2-hidroxiethylamidas. As atribuições foram feitas seguindo as numerações dos ácidos palmítico **149**, linoleico **150**, esteárico **151** e oleico **152** (Figura 23) e informação contidas na literatura.<sup>69</sup> Na região próximo a 1 ppm existe 2 tripletos referentes aos hidrogênios de final de cadeia. Entre 1,19 e 1,34 ppm há um multipletto largo referente ao envelope metilênico. Em 1,65 ppm existe um quinteto referente aos hidrogênios  $\beta$  a carbonila. Em 2,05 ppm existe um multipletto referente aos hidrogênios ao lados das duplas ligações dos ácidos oleico e linoleico. Em 2,20 ppm os hidrogênios  $\alpha$  a carbonila estão representados por um triplete. Próximo a 2,70 ppm existe um multipletto referente ao hidrogênio entre as duas duplas no ácido linoleico. Em 3,40 e 3,70 ppm estão os hidrogênios ao lado do nitrogênio e oxigênio representados por um quarteto e triplete aparente, respectivamente. Próximo a 5,35 ppm existe um multipletto referente aos hidrogênios das duplas ligações e em 6,00 ppm presente um singletto largo característico e hidrogênio de amidas.



**Figura 23** – Numerações das *N*-(2-hidroxiethyl)amida advinda do óleo de soja,

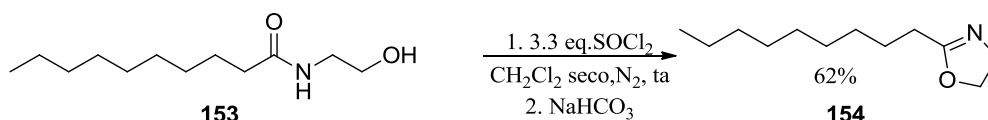




**Figura 24** – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da 2-hidroxietilamida advinda do óleo de soja.

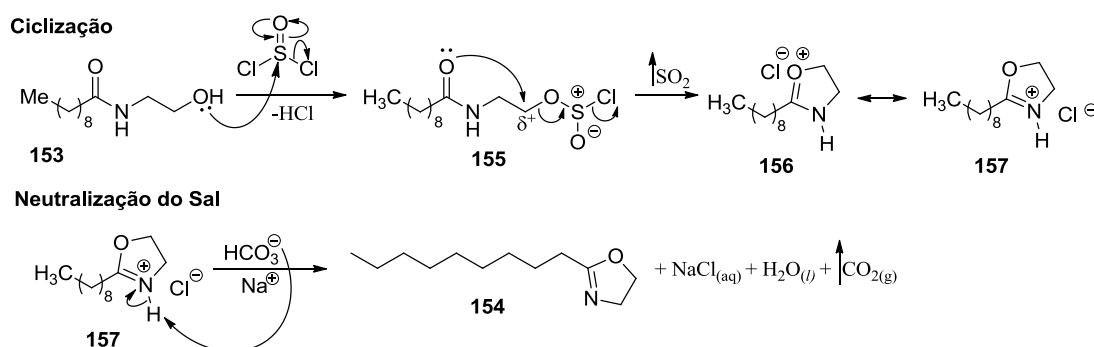
### 3.2. Síntese das 2-oxazolininas

Obtidas as *N*-(2-hidroxi)amidas, foi possível realizar a reação de ciclização para a obtenção de 2-oxazolininas substituídas. Para a síntese, foi utilizada a metodologia de Percec e colaboradores,<sup>70</sup> onde cloreto de tionila (SOCl<sub>2</sub>) é o agente desidratante (Esquema 22). Foi realizado um teste preliminar com 100 mg da 2-hidroxi)decamida **153**, (0,42 mmol).



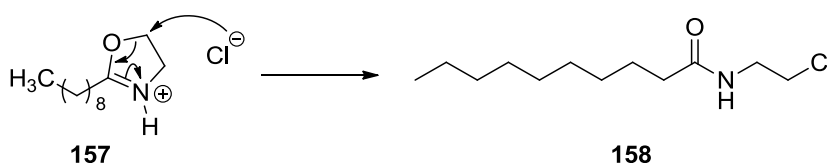
Esquema 22 – Síntese de 2-oxazolininas proposta por Percec e colaboradores.<sup>45c</sup>

Na cromatografia de camada delgada (CCD) o consumo da *N*-(2-hidroxi)decamida (R<sub>f</sub> = 0,33) é observado pela diminuição de sua mancha e o aparecimento de outra na base da placa (R<sub>f</sub> = 0), sensível à luz ultravioleta. Esse efeito se deve à formação de sal **157**, intermediário do mecanismo proposto no Esquema 23.



Esquema 23– Mecanismo de síntese das 2-oxazolininas sugerido por Percec e colaboradores.<sup>70</sup>

Um ponto negativo com o emprego dessa metodologia é a observação da formação da *N*-(2-cloro)amida como subproduto. Nesses casos, o cloreto presente no meio reacional ataca o anel recém-formado **157** via uma reação de substituição nucleofílica, formando o subproduto **158** ou então faz uma substituição nucleofílica no intermediário **155** gerando o mesmo subproduto **158**. (Esquema 24).<sup>70</sup>



Esquema 24 – Formação do produto secundário na síntese das oxazolininas.<sup>45c</sup>

Devido a um erro de interpretação da CCD, deixou-se o primeiro teste *overnight*. Dessa forma, com o passar do tempo, ocorria o surgimento de outra mancha na CCD ( $R_f$  de 0,8), erroneamente atribuída à formação da 2-oxazolina, porém correspondia à formação do subproduto **158**. Com isso, apenas a 2-cloroetilamida foi observada no espectro de RMN  $^1\text{H}$ . Para os testes com os outros substratos, as reações eram acompanhadas por CCD, mas, novamente, finalizou-se a reação após o surgimento da segunda mancha na CCD, com isso o tempo de reação foi maior (4 -18 h) que o citado na literatura.<sup>70</sup> Com isso, os espectros mostravam uma mistura de três substâncias: a 2-hidroxiethylamida, 2-oxazolinas e 2-cloroetilamida, em diversas proporções. Desses primeiros testes, apenas a cinamil-2-oxazolina **159** foi sintetizada de forma pura (Figura 25), pois devido a ressonância entre a carbonila e a dupla, a carbonila é mais reativa levando assim ao produto desejado.

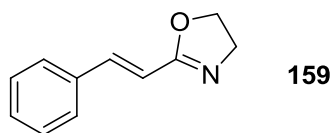


Figura 25 – Cinamil-2-oxazolona.

Após o conhecimento desse erro de interpretação da CCD, a reação foi repetida e acompanhada com intervalos de tempo menores, porém, antes do consumo total da 2-hidroxiethylamida, já era observada a presença da mancha correspondente a 2-cloroetilamida. Após o *workup* da reação, era possível observar a mistura ternária nos espectros de RMN  $^1\text{H}$ . Dessa forma, iniciou-se uma busca na literatura por uma metodologia que diminuísse a formação desse subproduto. Para este fim, foi testada a reação em banho de gelo e a adição de sais de prata

A adição de  $\text{AgNO}_3$  ou de  $\text{AgOAc}$  (entradas 4 e 5 - Tabela 3) para a precipitação de cloreto de prata, conforme literatura, foi uma estratégia pensada para a redução da concentração de cloreto livre responsável pela formação da 2-cloroetilamida.<sup>71</sup> Ainda sim, foram obtidas misturas com 2-oxazolinas e a 2-cloroetilamidas. Para purificação, utilizou-se coluna cromatográfica, mas, mesmo assim, não se conseguiu obter o produto desejado com alta pureza. Com isso, buscou-se outra metodologia, testando agora outros agente desidratantes contendo fósforo. Dois testes foram realizados (Entrada 6 e 7), porém sem sucesso, talvez pela pureza do reagente encontrado no laboratório. Mais uma tentativa com sais de prata foi almejada, porém o produto não foi obtido com a pureza necessária.

Com isso pensou-se na utilização de uma base cujo contra-íon conseguisse formar um sal de cloreto, dificultando a formação do subproduto. Trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) foi escolhida como base para o teste, uma vez que o cloreto de trietilamônio ( $-\text{Et}_3\text{HN}^+\text{Cl}^-$ ) formado seria insolúvel em diclorometano, formando um precipitado de fácil remoção. Ainda assim, a análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  mostrou mistura de produtos. Então uma segunda tentativa foi realizada agora com a reação diluída em duas vezes (0,035 M), sendo a adição da base realizada de forma lenta. Infelizmente, foi observado o mesmo padrão de mistura de produtos.

Após uma análise atenta às tentativas realizadas, observou-se que a reação realizada à baixa temperatura (0 °C) resultou na formação da 2-oxazolina em uma maior proporção que as demais condições reacionais testadas. Analisando o mecanismo da reação, é possível racionalizar a razão de tal resultado. A nucleofilicidade do oxigênio da carbonila, combinada com a carga parcial positiva do carbono adjacente ao grupo OSOCl, ocasionada pela retirada da densidade eletrônica do carbono pelo grupo citado, faz com que a reação passe por um intermediário de 5 membros cujo ataque intramolecular é cineticamente favorecido. Enquanto, o ataque de outros nucleófilos, como o cloreto, é termodinamicamente favorecido. Com isso, se a reação é exposta a temperaturas mais altas ou a longos períodos de reação, favorece o equilíbrio termodinâmico levando à síntese do subproduto 2-cloroetilamida.

Com isso, mais um teste foi realizado à baixa temperatura e na concentração 0,035 mol.L<sup>-1</sup> (Entrada 10). Após 60 minutos de reação, ainda era observada a presença da 2-hidroxi-etilamida por CCD, entretanto, não foi observada a formação da 2-cloroetilamida. Dessa forma, a reação foi retirada do banho de gelo e deixada à temperatura ambiente por 20 minutos e, só então, a reação foi finalizada. A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  mostrou uma proporção de 5:1 de 2-oxazolina para 2-hidroxiamida. A partir do resultado obtido, aplicou-se essa metodologia para as demais 2-hidroxi-etilamidas. Para a 2-hidroxi-etilestereamida a ciclização foi completa. Para os outros substratos, as reações foram submetidas à purificação por coluna cromatográfica.

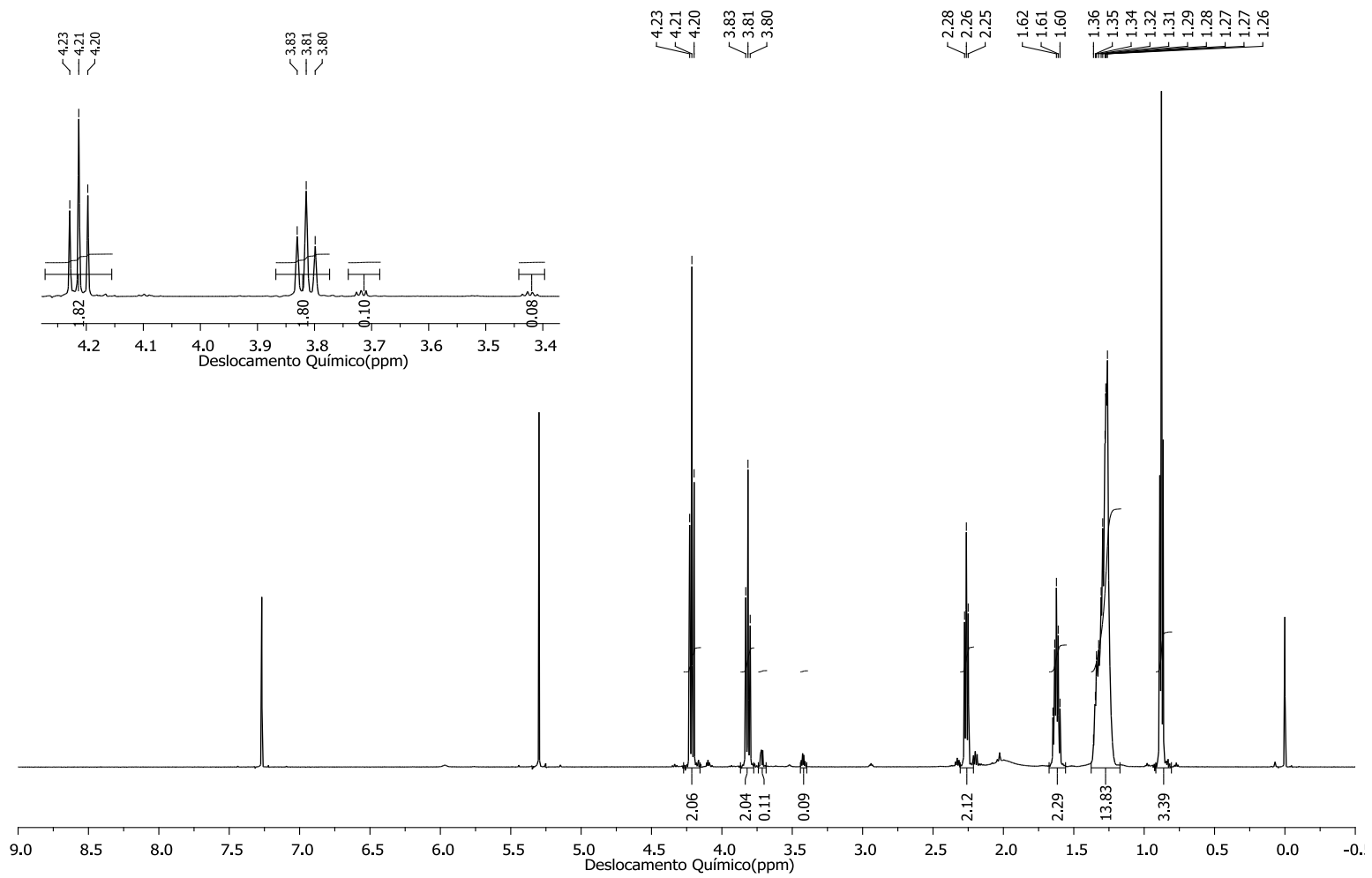
**Tabela 3** – Otimização da reação de ciclização.

Entrada	Agente desidratante	Tempo (h)	Aditivo	Temperatura (°C)	Produto
1	SOCl <sub>2</sub>	18	-	Ta	cloroetilamida
2	SOCl <sub>2</sub>	1	-	Ta	Mistura
3	SOCl <sub>2</sub>	1	-	0-5	Mistura (16:2:1) <sup>a</sup>
4	SOCl <sub>2</sub>	2	AgNO <sub>3</sub>	Ta	Mistura (4:2:1) <sup>a</sup>
5	SOCl <sub>2</sub>	0,5	AgOAc	Ta	Mistura
6	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	3	-	Ta	Não reagiu
7	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	3	-	Ta	Não reagiu
8	SOCl <sub>2</sub>	4	8t <sub>3</sub> N	0-5	Mistura
9*	SOCl <sub>2</sub>	4	Et <sub>3</sub> N	Ta	cloroetilamida
10*	SOCl <sub>2</sub>	1 + 0,2	-	0-5, ta	2-oxazolina

Reação feita com diluição 0,035 M. <sup>a</sup> (2-oxazolina:hidroxiamida:cloroamida)

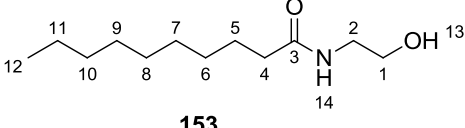
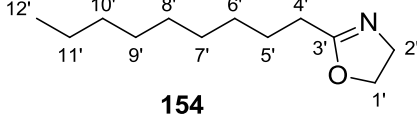
Mesmo após a purificação por coluna cromatográfica, a dodecil-2-oxazolina apresenta uma pequena quantidade da 2-hidroxietilamida (18:1) em seu espectro de RMN <sup>1</sup>H (Figura 22) e, por isso, não pode ser utilizada para a execução de teste biológicos com interesse na sua atividade antiQS.

Na tabela 4, está o comparativo dos espectros de RMN <sup>1</sup>H da decil-2-oxazolina com a 2-hidroxietildecamida, onde vemos que a única variação expressiva é de aproximadamente 0,45 ppm para os valores de deslocamento químico dos sinais assinalados entre 1 e 1' e entre 2 e 2', atribuídos aos hidrogênios dos metilenos presentes no ciclo. Na 2-hidroxietildecamida, eles se apresentam na forma de triplete para o sinal 1 e na forma de quarteto para o sinal 2, devido aos acoplamentos com os hidrogênios do metileno vizinho e ao acoplamento com o hidrogênio ligado ao nitrogênio. Porém, na forma cíclica, esse acoplamento com o hidrogênio ligado ao nitrogênio não acontece mais e os dois sinais se apresentam como tripletos. No espectro de <sup>13</sup>C também ocorre variação nesses dois sinais.



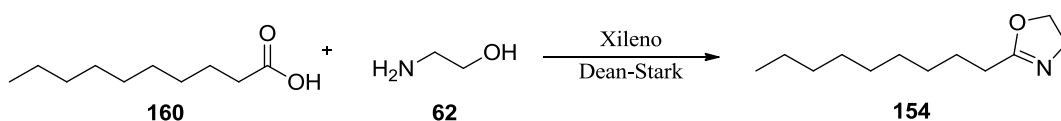
**Figura 26** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da dodecil-2-oxazolina.

**Tabela 4** – Atribuição de sinais de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para a 2-hidroxiethyldecamida e para a decil-2-oxazolína.

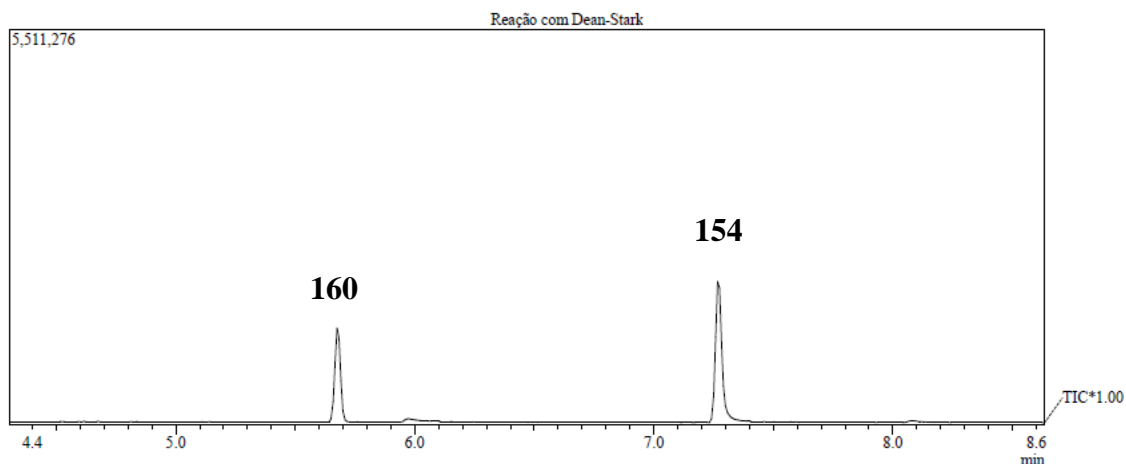
2-hidroxiethyldecamida			Decil-2-oxazolína	
 <p style="text-align: center;"><b>153</b></p>			 <p style="text-align: center;"><b>154</b></p>	
Posição	$\delta$ (ppm), n <sup>o</sup> de H, m	$\delta$ (ppm) $^{13}\text{C}$	$\delta$ (ppm), n <sup>o</sup> de H, m	$\delta$ (ppm) $^{13}\text{C}$
1	3,70 (t, $J = 5,13$ , 2H)	62,1	4,21 (t, $J = 9,5$ Hz, 2H)	67,1
2	3,40 (q, $J = 5,6$ Hz, 2H)	42,3	3,81 (t, $J = 9,5$ Hz, 2H)	54,3
3	-	174,6	-	168,8
4	2,20 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H)	36,6	2,26 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H);	31,8
5	1,62 (qt, $J = 7,6$ Hz, 2H);	31,8	1,62 (qt, $J = 7,7$ Hz, 2H)	29,4
6		29,4		29,2
7		29,3		29,2
8		29,3		29,2
9	1,34 – 1,19 (m, 12H);	29,3	1,40 – 1,14 (m, 12H);	28,0
10		25,7		26,0
11		22,6		22,6
12	0,88 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).	14,0	0,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).	14,0
13	3,02 (s, 1H)	-	-	-
14	6,32 (s, 1H)	-	-	-

As purificações continuaram e foi observado que para todas as tentativas a presença de alguma impureza, pela análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$ . Testou-se fazer a purificação por placa preparativa, porém a maioria das moléculas não é sensível à luz ultravioleta o que dificulta a visualização da camada de separação por U.V. Também foi tentada a síntese da 2-oxazolína de forma direta através do ácido carboxílico e da etanolamina com retirada de água pelo sistema de Dean-Stark, conforme esquema 26.<sup>63</sup> Contudo, a quantidade de “água” retirada do sistema era sempre maior que a esperada, o

que nos fez pensar se a mistura xileno-água-etanolamina formava um azeótropo e uma parte da etanolamina estava sendo retirada do meio reacional juntamente com a água. Essa suposição era corroborada pelo desaparecimento da mancha da etanolamina na CCD. De tempos em tempos, uma alíquota da reação foi retirada e analisada por CG-EM, mostrando a formação da 2-oxazolina a partir do intermediário 2-hidroxiethylamida. Após 19 horas, a reação não evoluía, sendo então interrompido o refluxo e o xileno foi rotaevaporado. Foi obtida mistura de ácido decanóico e decil-2-oxazolina numa proporção, em área, de 1:1,5; conforme análise do cromatograma de CG da mistura reacional (Figura 27).



**Esquema 25** – Esquema de ciclização direta utilizando Dean-Stark.



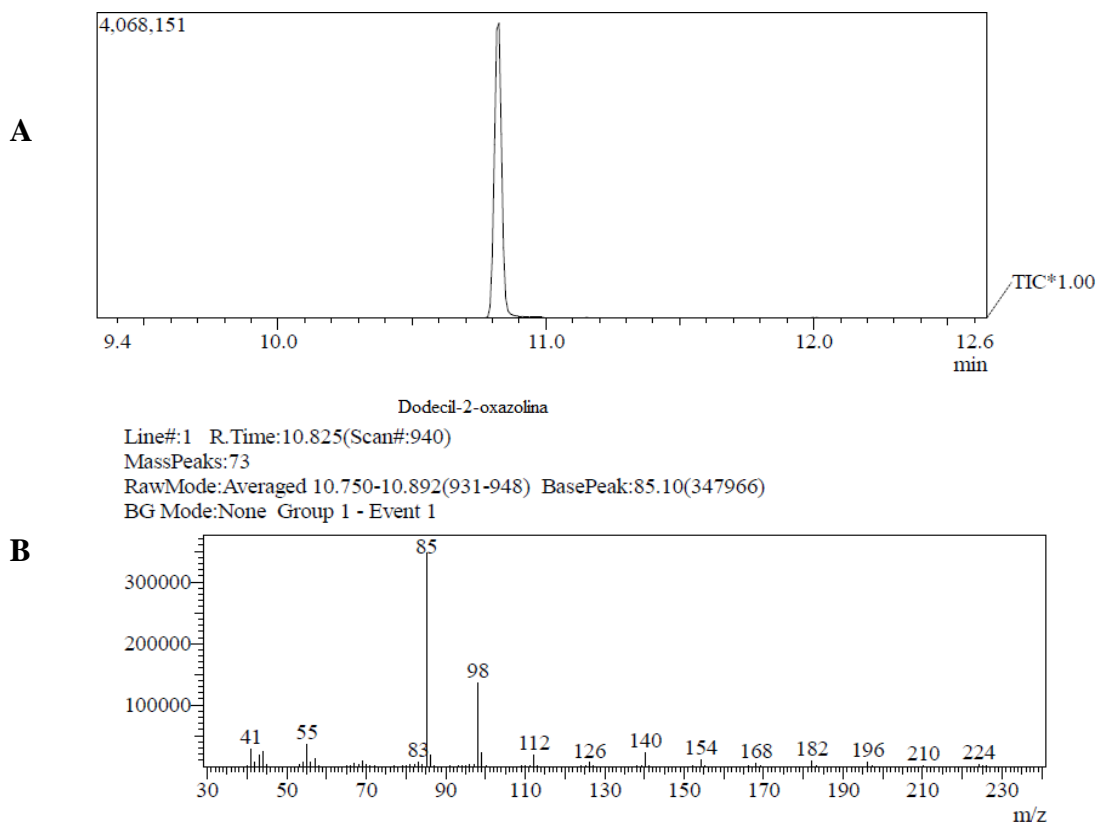
**Figura 27** – Cromatograma da reação do ácido decanóico utilizando Dean-Stark, o primeiro pico é referente ao ácido carboxílico residual e o segundo pico a 2-oxazolininas correspondente.

A purificação continuou sendo um problema. A lavagem com bicarbonato de sódio para retirada do ácido decanóico resultou em uma mistura complexa (análise por CCD e CG-EM) cujo cromatograma mostrou picos com razão massa/carga muito altos para a molécula esperada. Por isso, a reação direta não foi considerada uma solução para a obtenção de compostos puros.

Buscando uma alternativa para a purificação, pensou-se em fazer a coluna cromatográfica utilizando florisil ou utilizando silicagel ou acompanhar as frações por CG-EM. Então, para testar essa terceira possibilidade, colunou-se em acetato de etila um experimento com mistura entre a 2-hidroxiethyl-dodecamida e sua respectiva 2-oxazolina. Todas as frações da coluna foram enviadas para o CG-EM e, com isso,

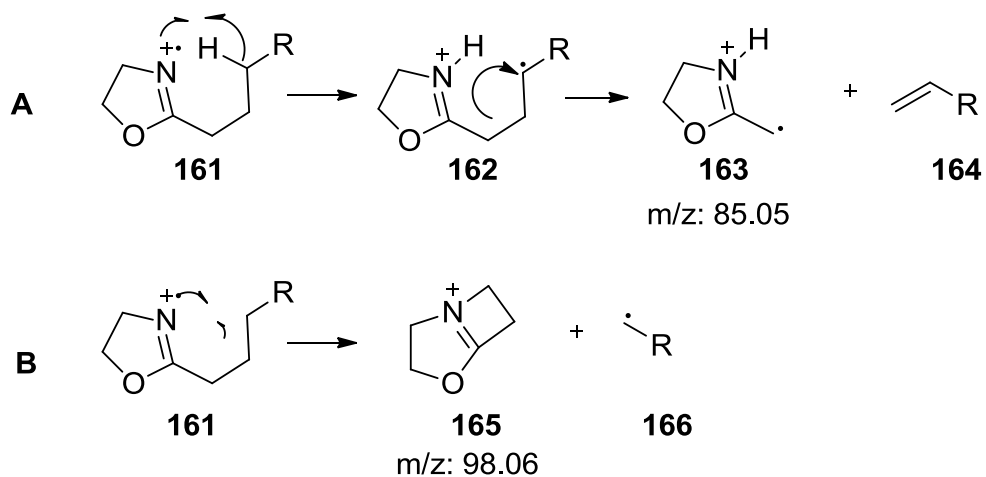


apenas as frações puras foram selecionadas. Também avaliou-se a possibilidade de haver a abertura do anel na rotaevaporação após a cromatografia em coluna devido à temperatura utilizada neste procedimento. Porém, o cromatograma de antes e depois permaneceu igual e os espectros de massas apresentaram as mesmas fragmentações (Figura 28).



**Figura 28** – A: Cromatograma para a dodecil-oxazolina comprovando sua pureza; B: espectro de massas da dodecil-2-oxazolina.

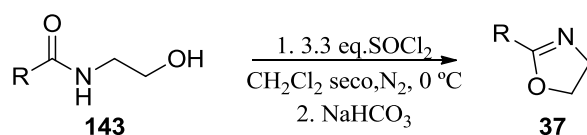
É possível observar duas fragmentações características de oxazolinias, a primeira fragmentação ocorre através de um rearranjo de McLafferty originando um íon  $m/z$  85 **163** (Esquema 26-A) cujo pico é considerado o pico base do espectro de massas. Já o segundo pico advém de uma ciclização formando um íon bicíclico de  $m/z$  98 **165** (Esquema 26-B)

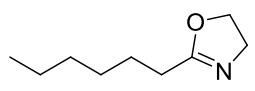
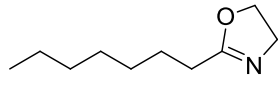
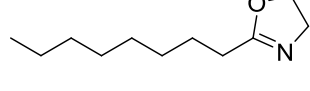
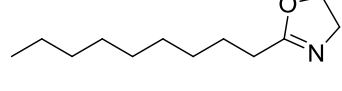
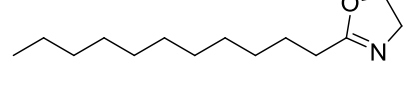
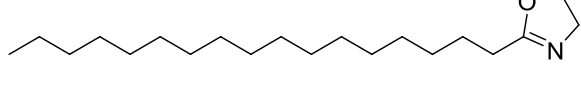
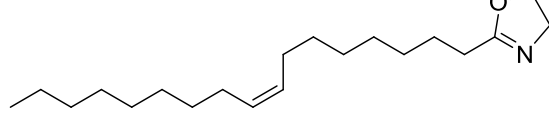
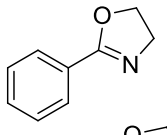
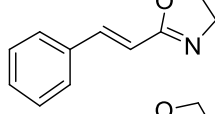
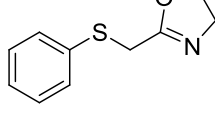
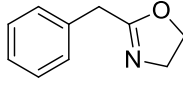
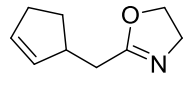


**Esquema 26** – Fragmentações características de 2-oxazolininas substituídas.

A purificação das oxazolininas foi então realizada por coluna cromatográfica e amostras das frações coletadas eram analisadas por CG-EM para que as frações corretas fossem agrupadas. Apesar de todos os esforços empregados duas amostras não foram purificadas de forma eficiente (Entradas 10 e 11), em seus espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ainda era possível observar a etanolamida. Os resultados obtidos para obtenção das oxazolininas foram de bons a ótimos (Tabela 5).

**Tabela 5** – Rendimentos obtidos nas sínteses das 2-oxazolinias substituídas.



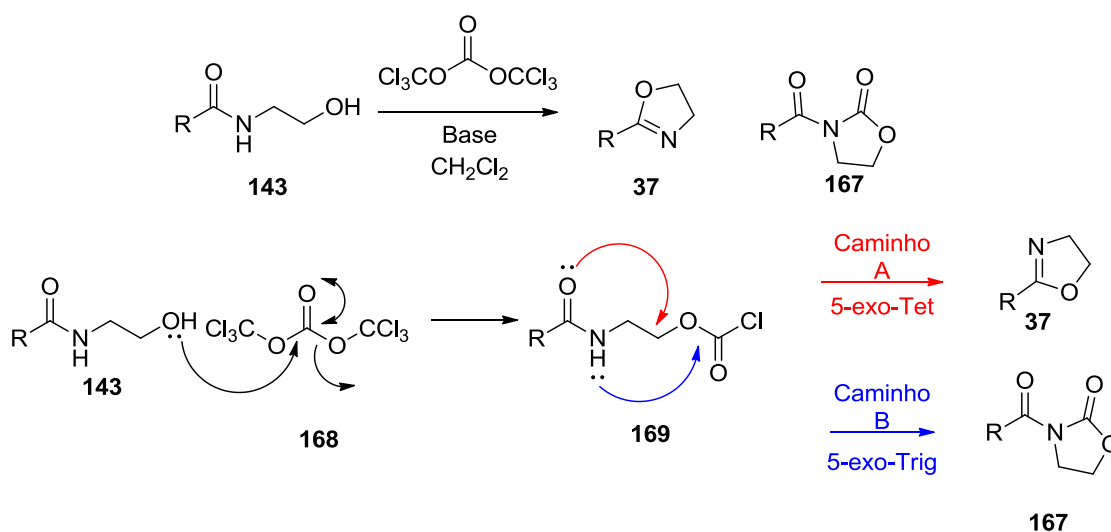
Entrada	2-Oxazolina substituída	Rendimento (%)
1		82
2		80
3		74
4		86
5		80
6		90
7		72
8		72
9		87
10		70*
11		50*
12		65

\*Conversão calculada pelo CG-EM.

### 3.3 – Alternativa utilizando o Trifosgênio como agente desidratante.

Em uma das tentativas de alterar o agente desidratante da ciclização a 2-oxazolona, trifosgênio foi escolhido como uma possível alternativa, sendo este sólido, com baixa pressão de vapor, de fácil manipulação e com alta reatividade.<sup>72</sup> Apesar deste potencial, não foram encontrados relatos do seu uso nesta transformação.

As metodologias utilizadas buscam sintetizar compostos cíclicos a partir de um aminoálcool ou um diol<sup>73,74</sup>. Para a reação já se era esperada a síntese de um subproduto X, oxazolidinona. O mecanismo proposto envolve um intermediário **169** que pode tanto ciclizar pelo ataque nucleofílico do oxigênio (Esquema 27 - Caminho A) quanto pelo ataque nucleofílico do nitrogênio à carbonila (Esquema 27 - Caminho B). Pelas regras de ciclização de Baldwin as duas ciclizações são permitidas, 5-exo-Tet e 5-exo-Trig, respectivamente, porém o par de elétrons do nitrogênio está comprometido com a ressonância na carbonila o que torna o oxigênio ainda mais reativo favorecendo então a ciclização à oxazolona. A tabela 6 traz os ensaios realizados com duas hidroxiamidas, **166** e **169**.

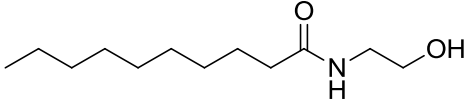


Esquema 27 – Proposta mecanística para a formação da oxazolona e oxazolidinona na reação com trifosgênio

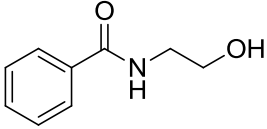
Analisando os testes iniciais para os dois substratos, é possível observar que a piridina é a melhor base para a ciclização à 2-oxazolona nos dois substratos. Infelizmente não é possível concluir se esse resultado se deve a força da base ou às diferenças nas condições reacionais. Outros testes serão realizados a fim de investigar melhor as condições de reações a fim de otimizar o rendimento e explicar os efeitos existentes. Vale ressaltar que quando o substituinte é alquílico não é encontrada

conversão a oxazolidinona, porém com o substituinte fenílico já é possível observar conversão. Isso se deve a ressonância do ciclo com a carbonila o que torna o par de elétrons do nitrogênio livre para ataque à outra carbonila.

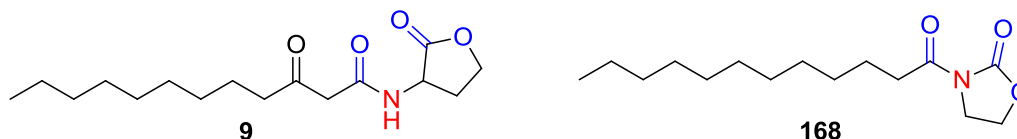
**Tabela 6** – Teste para a síntese de 2-oxazolinonas utilizando trifosgênio como agente desidratante.

Substrato						
		<b>153</b>				
Base		Amida	Oxazolina	Oxazolidinona	Cloroamida	Outros
-	1.a	0	30%	-	-	70%
NaOH	2.a	0	24%	-	-	76%
Et <sub>3</sub> N	3.a	0	21%	-	36%	43%
Piridina	4.a	0	50%	-	-	50%

Substrato						
		<b>142</b>				
Base		Amida	Oxazolina	Oxazolidinona	Cloroamida	Outros
NaOH	2.b	47%	37%	16%	-	-
Et <sub>3</sub> N	3.b	-	57%	2%	33%	8%
Piridina	4.b	-	63%	-	-	37%

Estes resultados chamaram a atenção para a estrutura das oxazolidinonas, pois são similares as *N*-acil homoserinalactonas, AI-1 das bactérias Gram-negativas (Figura 29). Até onde nosso levantamento bibliográfico pode alcançar, não há relatos da ação em QS de *N*-acil-oxazolidinonas. Desta forma, parece-nos interessante aperfeiçoar também a reação com trifosgênio pelo caminho B de forma a se obtê-las para testes destas moléculas frente a sistemas de QS.



**Figura 29** – Estrutura do autoindutor cognato da *P. auruginosa* e um de uma oxazolidinona similar.

### 3.4 – Avaliação biológica da ação das moléculas sintetizadas frente à QS.

Para o estudo de interação em QS microbiano, a *Chromobacterium violaceum* foi escolhida para os testes por se tratar de uma bactéria Gram-negativa que possui apenas o sistema AI-1. A cepa CV026 da *C. violaceum*, utilizada nos testes, é geneticamente deletada para produção de seu autoindutor nativo C6-HSL (**25**), porém responde ao AI exógeno de uma forma clara e visual, pela produção de violaceína, um pigmento roxo. Ela é utilizada como uma cepa piloto em teste de interação com QS, devido à sua resposta visual ao efeito de interação.<sup>26</sup> A produção de violaceína e outros metabólitos secundários é controlada pelo QS da *C. violaceum* através da transcrição do gene *vioABCDE*. Sua proteína receptora é a CviR, uma proteína citoplasmática transcriscional, ou seja, o complexo CviR- C6-HSL ativa a transcrição do DNA responsável pela síntese da violaceína.<sup>75</sup>

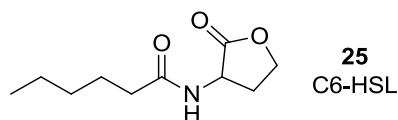


Figura 30 - Autoindutor cognato da *Chromobacterium violaceum*.

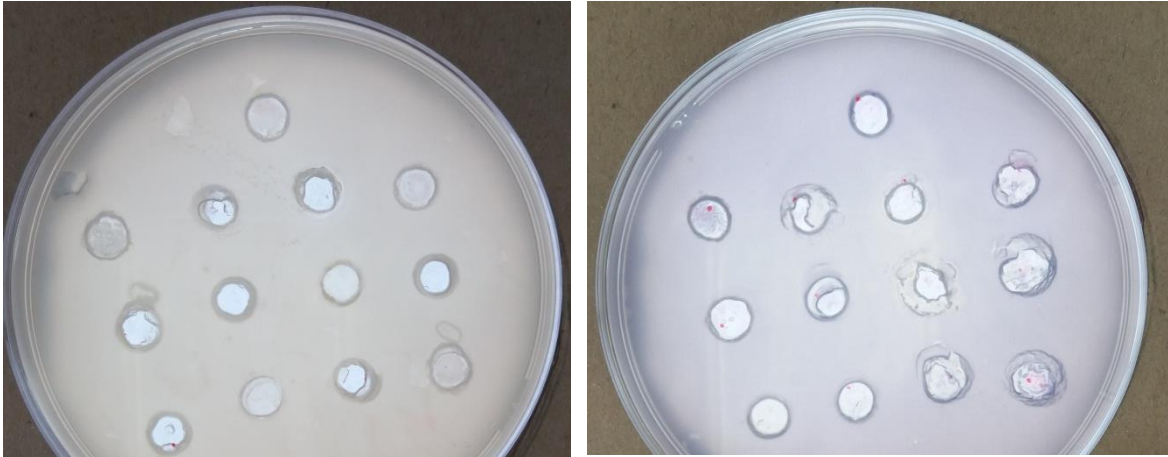
Os testes com as moléculas sintetizadas neste trabalho de mestrado foram realizados de forma que cada molécula fosse testada em duas concentrações, 100 e 10 mM, concentrações correspondentes as utilizadas por Pillai ao avaliar a ação de ácidos graxos em QS bacteriano.<sup>27</sup>

Os testes foram realizados utilizando a metodologia *puor-plate*, onde um ágar semi-sólido foi vertido sobre uma placa de Petri contendo ágar sólido. O ágar vertido contém uma solução de bactérias capaz de mostrar o resultado do teste em vinte e quatro horas. Além disso, as moléculas sintetizadas foram testadas em uma placa com adição de C6-HSL, o AI da *C. violaceum*, chamada de placa teste, onde foi possível observar a inibição de QS pela diminuição da coloração violeta da placa. Em uma placa chamada de controle, onde não foi adicionado o AI exógeno, é possível observar a indução de QS pelo aparecimento de uma coloração violeta advindo da produção de violaceína.

Uma preocupação que os testes de ação em QS devem trazer é a diferenciação em uma ação antimicrobiana e ações de inibição ou indução de QS. A verificação da ação em QS deve ocorrer sem morte da colônia e apenas com inibição ou indução do resultado do funcionamento do sistema de QS em estudo, no caso específico da

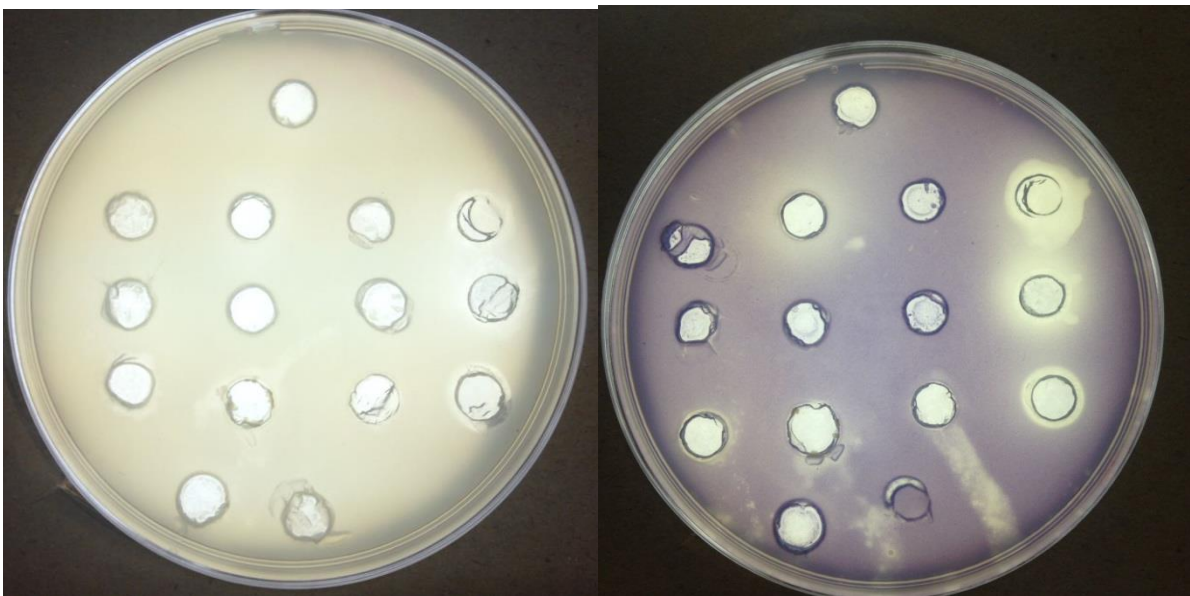
*C. violaceum*, produção de violaceína. Como resultado, quatro possibilidades foram esperadas para esses testes:

- 1) Não ocorre ação bactericida nem inibição ou indução da produção de violaceína: ágar roxo na placa teste e ágar amarelo na placa controle (Figura 31);



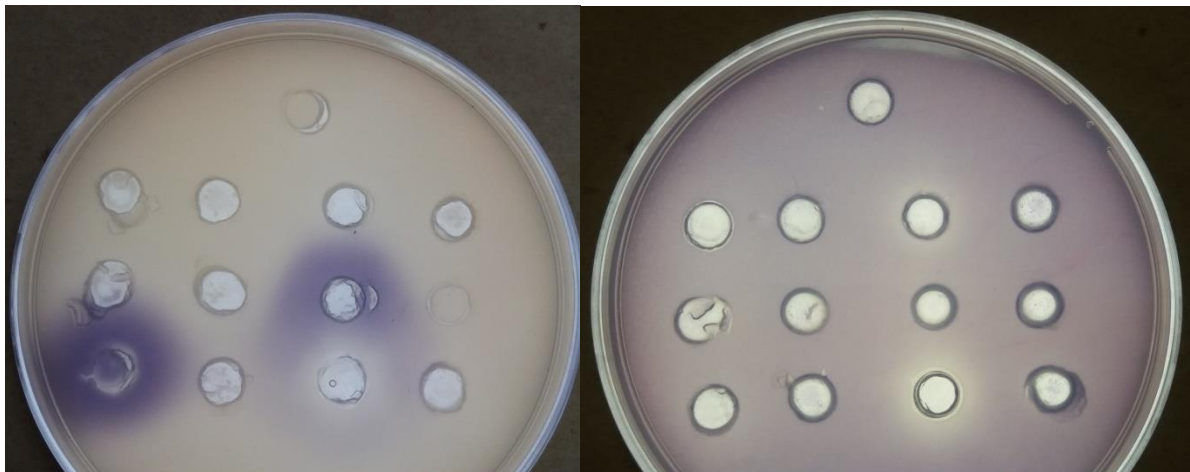
**Figura 31** – Placa controle e placa teste, respectivamente. Não é possível observar nenhuma ação frente ao QS.

- 2) Ação bactericida: ágar incolor tanto na placa teste quanto na placa controle (Figura 32);



**Figura 32** – Placa controle e placa teste, respectivamente. É possível observar que nos poços a direita existe um halo onde não há presença de bactéria, caracterizando esses compostos bactericidas.

- 3) Inibição da produção de violaceína: ágar incolor apenas na placa teste (Figura 33);
- 4) Indução da produção de violaceína: ágar roxo na placa controle (Figura 33).

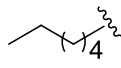
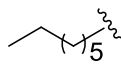
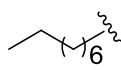
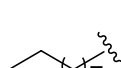

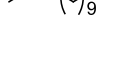
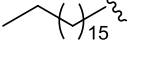
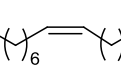
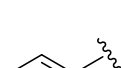
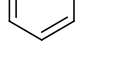
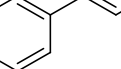
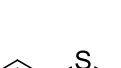


**Figura 33** – (Esquerda) placa controle onde existe 2 poços com indução de QS, halo violeta ao redor dos poços. (Direita) placa teste com inibição, 2 poços com halo mais claro.

Primeiramente, as amostras testadas foram diluídas às concentrações almeçadas. Essa diluição deve ser feita em solventes miscíveis com água, maior constituinte do ágar, para que ocorra a difusão das moléculas pelo meio e que seu efeito possa ser visualizado. Essa foi a primeira dificuldade do teste, pois as moléculas não foram miscíveis em água, acetronitrila, DMSO e acetona. Elas foram miscíveis em diclorometano e acetato de etila, porém esses solventes não são adequados para os testes devido sua imiscibilidade com a água. Etanol também solubiliza as amostras, porém solução aquosa de etanol a partir de 70% é bactericida. Com isso, uma solução de etanol 40% foi utilizada para os testes de forma que solubilizou a maioria das moléculas sem causar morte dos micro-organismos. As moléculas com cadeias maiores que doze átomos de carbono apresentaram dificuldade de solubilização em etanol 40%. Tritron X100, um surfactante, foi testado para ajudar a solubilização das amostras, porém não resultou em uma melhora de solubilização. Com isso, as amostras que não solubilizaram foram filtradas, obtendo assim soluções que foram posteriormente diluídas em dez vezes e submetidas aos testes. Os resultados obtidos nos ensaios estão resumidos na Tabela 7.

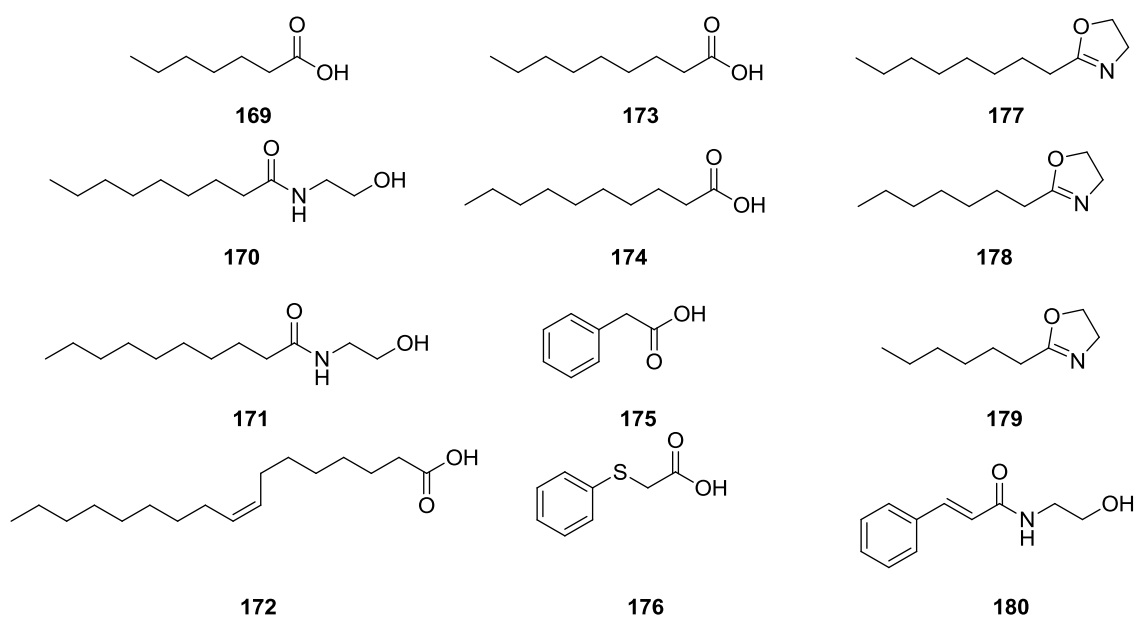


**Tabela 7** – Resultados da avaliação biológica comparativo entre as três funções químicas estudadas

R	Conc. (M)	Resultados*					
		Ácido Carboxílico		N-(2-hidroxietil)amida		2-Oxazolina	
		Teste	Controle	Teste	Controle	Teste	Controle
	100	X	X	0	⊕	XX	XX
	10	0	0	0	0	X	X
	100	0	0	⊖	⊖	XX	XX
	10	0	0	0	0	X	X
	100	X	X	X	X	XX	XX
	10	0	0	0	0	X	X
	100	X	X	X	X	0	0
	10	X	X	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	⊖	0
	0,1	0	0	0	0	⊖	0
	1	0	0	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	1	X	X	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	X	0	⊖	0
	10	0	0	0	0	0	0
	100	X	X	⊖	0	n.t.	n.t.
	10	X	X	0	0	n.t.	n.t.
	100	X	X	0	0	n.t.	n.t.
	10	0	0	0	0	n.t.	n.t.
	100	0	0	0	⊕	0	0
	10	0	0	0	0	0	0
Óleo de soja	1	⊖	0	0	0	0	0
Óleo de soja	0,1	0	0	0	0	0	0

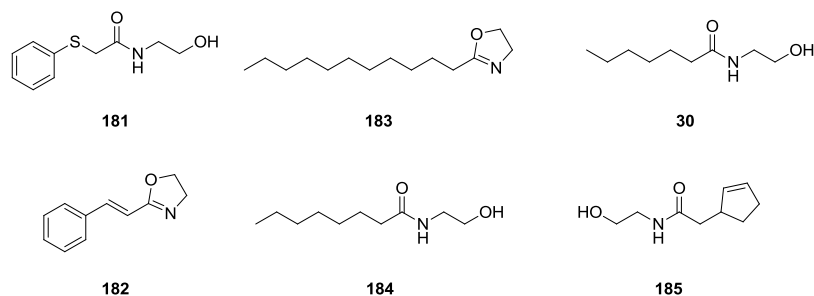
Legenda de atividade biológica: 0 = nenhuma atividade observada; X = moderada atividade antimicrobiana; XX = forte atividade antimicrobiana; ⊖ = inibição de QS; ⊕ = indução de QS; n.t. = não testada.

Todos os ácidos carboxílicos testados não apresentaram qualquer ação mensurável frente a QS da *C. violaceum* nos ensaios. Contudo, seis deles apresentaram ação antimicrobiana. O óleo de soja apresentou inibição de QS na contração 0,1 M. Das várias oxazolininas testadas, três apresentaram ação anti-microbiana e três etanolamidas também foram antimicrobianas, mostrando o espectro de aplicação das moléculas. (Figura 34).



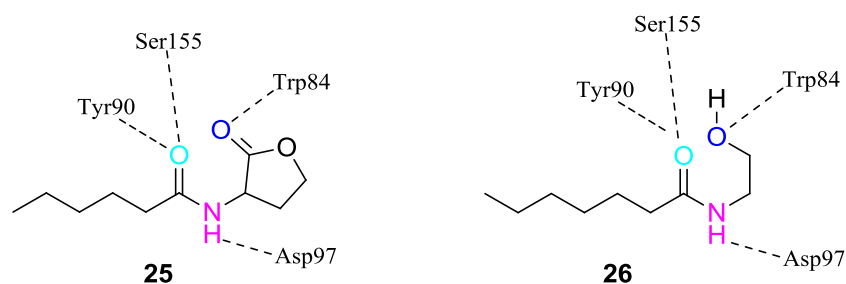
**Figura 34** – Compostos com ação bactericida frente aos teste biológicos.

Sobre a interferência em QS de *C. violaceum*, duas oxazolininas apresentaram inibição de QS, sendo estas as derivadas do ácido decanóico **183** e do ácido cinâmico **182** (Figura 35). Os resultados mais interessantes ocorreram nos ensaios com as etanolamidas. Três apresentaram ação antimicrobiana (Figura 35). As etanolamidas derivadas do ácido octanóico **184** e do ácido 2-(feniltio)acético **181** apresentaram inibição de QS e as derivadas do ácido heptanóico **30** e do ácido 2-(ciclopent-2-en-1-il)acético **185** apresentaram indução de QS. Estes eventos frente QS são facilmente visualizados na placa controle mostrada na Figura 33, onde a **185** teve sua indução prejudicada, pois estava entre as amidas **184** e **181**.



**Figura 35** – Moléculas **181**, **182**, **183** e **184** se mostram inibidoras de QS enquanto as moléculas **30** e **185** se mostraram indutoras de QS.

A comparação entre a estrutura química das *N*-(2-hidroxiethyl)amidas ativas em QS de *C. violaceum* com as AHL's, bem como com outras moléculas com hidroxila ou metoxila no lugar da carbonila da lactona, como as amidas **31** e **32** (Figura 13), previamente descritas na literatura como competentes em interferir em QS bacteriano,<sup>75</sup> demonstra que a interação importante da região polar terminal dessas moléculas com o bolsão de interação da CviR diz respeito à presença de um grupo capaz de receber ligação de hidrogênio separado por dois átomos de carbono do nitrogênio da amida (Figura 36). Outra observação que pode ser feita a partir desta comparação é que a ausência da restrição conformacional imposta pela parte cíclica das AHL's não impossibilita a interferência em QS das *N*-(2-hidroxiethyl)amidas.



**Figura 36** – Comparação entre as interações da AHL **25** e CviR e as potenciais interações entre *N*-(2-hidroxiethyl)amida **30** com e CviR.

Sobre a cadeias acila das *N*-(2-hidroxiethyl)amidas, é importante observar que as uma das molécula que tiveram indução de produção de violaceína possui cadeia menor que oito carbonos, a *N*-(2-hidroxiethyl)amida **26**. Isso sugere que, se preservadas as interações mostradas na Figura 12, *N*-(2-hidroxiethyl)amidas com cadeias acila saturadas com menos de oito carbonos se encaixam dentro do bolsão de interações sem que haja modificação do posicionamento da Met89, favorecendo a ativação do QS de *C. violaceum*. Este mesmo modelo também explica o resultado obtido para a *N*-(2-hidroxiethyl)amida **184**, com cadeia acila saturada com oito carbonos, que

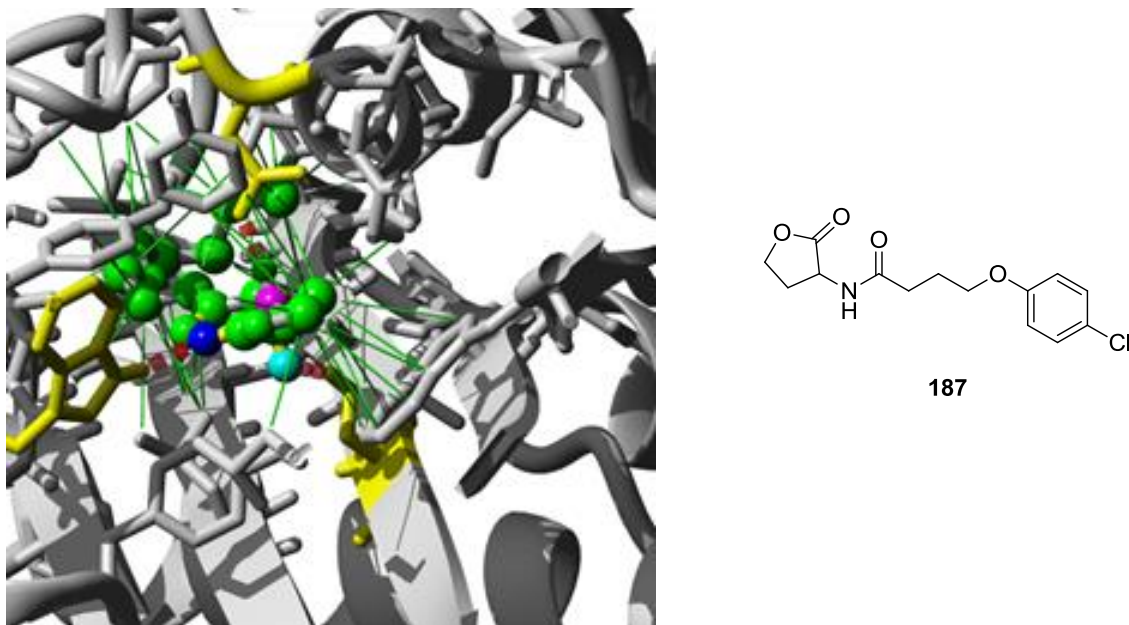
apresentou inibição do QS de *C. violaceum*, provavelmente, a cadeia acila desta substância promove a modificação do posicionamento da Met89 que leva à inativação deste QS.

Um fato que nos chamou a atenção, e que merece ser ressaltado é que, em termos financeiros, as *N*-(2-hidroxietil)amidas **30** e **185** são de baixo custo e fácil síntese, quando comparadas às AHL's ou mesmo com outras classes de moléculas competentes em interferir em QS bacteriano. Em especial, **30** têm o potencial de substituir a compra do autoindutor cognato (R\$ 753,00 por 10 mg<sup>76</sup>), necessária para os ensaios de QS em *C. violaceum*. Além disso, a indução observada também é importante pelo fato de a violaceína ter apresentado ação antibacteriana contra bactérias Gram-positivas, inclusive a *S. aureus*, responsável por infecções resistentes a antibióticos.<sup>77</sup>

De acordo com o modelo de inativação da ação da CviR proposto por Hughson e colaboradores,<sup>25</sup> baseado interação de cadeias acila com oito ou mais carbonos deslocando a Met89 e atrapalhando a interação com os sítios de interação do domínio de ligação do DNA, era de se esperar que *N*-(2-hidroxietil)amidas com cadeias acila maiores que oito carbonos apresentassem inibição de QS, porém existiu um grande problema de dissolução das amostras testadas, o que pode ter dificultado a avaliação de sua ação em QS de *C. violaceum*. Algumas moléculas precipitam no fundo do poço de teste na placa de agar, não difundindo pelo meio, o que atrapalha a interação molécula bactéria. Outro fator importante é a concentração das moléculas, pois aquelas amostras que não se dissolveram foram passadas em um filtro onde ficou retida uma parte da amostra. Dessa forma, pode ter sido testado uma concentração mais baixa que a necessária para a inibição do efeito de QS.

Outras duas *N*-(2-hidroxietil)amidas apresentaram ação no QS de *C. violaceum*, **185** com ação indutora e **181** com ação inibidora. Ambas apresentam, na cadeia acila, ciclos insaturados de carbono. A comparação entre suas estruturas com a estrutura do inibidor de QS de *C. violaceum* **187** (Figura 37) sugere que, assim como ocorre para **187**, interações do tipo *pi-stacking* devem ser responsáveis pelo ancoramento dessas *N*-(2-hidroxietil)amidas no LBD da CviR. Para exemplificar esta interação, a Figura 34 traz uma visualização do bolsão de interação do LBD da CviR com **187**, antagonista da C6-HLS. O arranjo de orbitais pi da molécula interagem com o resíduo de tirosina

(Tyr88) reforçando então as interações entre inibidor e proteína. No caso em estudo, as interações do tipo *pi-stacking* ajudam a acomodar a molécula dentro do bolsão de interações, facilitando as interações de hidrogênio na porção homologa à homoserinalactona.



**Figura 37** – Interações de *pi-stacking* entre o grupo fenila de **187** e o resíduo de tirosina (Tyr88) na estrutura da CviR.

Duas oxazolininas apresentaram ação inibidora do QS de *C. violaceum*. Elas são derivadas dos ácidos dodecanóico **183** e cinâmico **182** e, o que chama a atenção em suas estruturas químicas é, na primeira, a grande cadeia acila saturada e não ramificada e, na segunda, a presença do grupo fenila conjugado ao grupo 2-oxazolina por meio de uma ligação dupla. Em virtude da ausência de maiores informações sobre as potenciais interações desta molécula com o bolsão de interações no LBD da CviR, qualquer tentativa de racionalizar sua ação é prematura. O mesmo pode ser dito sobre ação inibidora observada para o óleo de soja.

#### 4. Conclusões.

Na primeira etapa deste trabalho, foi realizada a síntese de uma série de *N*-(2-hidroxietil)amidas, com rendimentos entre 65-90%, como intermediários para a obtenção de núcleos de 2-oxazolina. Em sequência, foi avaliada a reação de ciclização das 2-hidroxietilamidas preparadas, sendo testadas diferentes metodologias para esse propósito. Das metodologias testadas, a que conduziu a melhores resultados foi a condição adaptada descrita por Percec e colaboradores,<sup>70</sup> onde foi realizada a adição de cloreto de tionila a baixa temperatura (0 °C). Com esta metodologia, diferentes derivados de 2-oxazolininas foram sintetizados com conversões entre 50-90%. Foi investido um grande esforço na purificação das 2-oxazolininas e na busca de uma metodologia geral que pudesse ser aplicada na obtenção das 2-oxazolininas puras. Infelizmente, a purificação por coluna cromatográfica não foi eficiente para dois produtos.

Outra metodologia de preparação de 2-oxazolininas a partir das *N*-(2-hidroxietil)amidas, utilizando trifosgênio como agente desidratante, foi investigada. Não há relato do seu uso para a síntese de 2-oxazolininas. A utilização de piridina como base apresentou as melhores conversões. Uma transformação lateral a esta reação foi a formação de oxazolidinonas. Tentativas de incrementar sua formação e, a partir de um mesmo reagente, o trifosgênio, gerar seletivamente a 2-oxazolina, em uma dada condição de reação, ou a oxazolidinona, em outra condição de reação também foi investigada nesta dissertação. Contudo, ainda se faz necessária uma investigação mais extensa. Nosso súbito interesse na síntese dos núcleos oxazolidínicos é que sua estrutura química se assemelha à dos autoindutores cognatos das bactérias Gram-negativas e há interesse de se testar a interação dessas moléculas com o QS microbiano.

Os testes biológicos foram realizados, porém o estabelecimento de um solvente apropriado para a solubilização das moléculas demandou um intenso esforço. Algumas amostras precisaram passar por um filtro para que o teste fosse realizado. Duas moléculas se mostraram indutoras do QS de *C. violaceum* devido à sua pequena cadeia acila e capacidade de fazer as interações necessárias com a proteína receptora. Cinco moléculas se mostraram inibidoras de QS. Um modelo de interação entre as *N*-(2-hidroxietil)amidas com CviR foi proposto, em boa medida, com base no modelo proposto por Hughson e colaboradores<sup>25</sup> que trata da influência do posicionamento da Met89 na capacidade da CviR de interagir com DNA e iniciar o QS de *C. violaceum*. Ainda não foi possível fazer apresentar um modelo de interação entre a CviR e as duas

2-oxazolinas e o óleo de soja. Doze moléculas se mostraram bactericidas nas concentrações de 100 mM. Para aquelas que ainda possuem esse efeito com 10mM, é interessante investigar seu potencial de ação em QS de *C. violaceum* com valores de concentração abaixo da MIC.

## 5. Perspectivas.

Apesar da *C. violaceum* não ser um patógeno de grande expressão, o estudo sobre fatores que interferem no seu QS também é importante, pois, mesmo que raras, as infecções por *C. violaceum* acontecem e normalmente levam seus hospedeiros, inclusive mamíferos, à morte por septicemia.<sup>78</sup> Normalmente, essas infecções acontecem em lugares tropicais próximo a rios devido a ingestão contínua a água contaminada. Na região Amazônica do Brasil, foram encontradas grandiosas populações do micro-organismo e acreditasse que metabólitos induzidos pelos seus QS, que não a violaceína, tem propriedades antibacterianas importantes para sua sobrevivência em comunidade.<sup>79</sup>

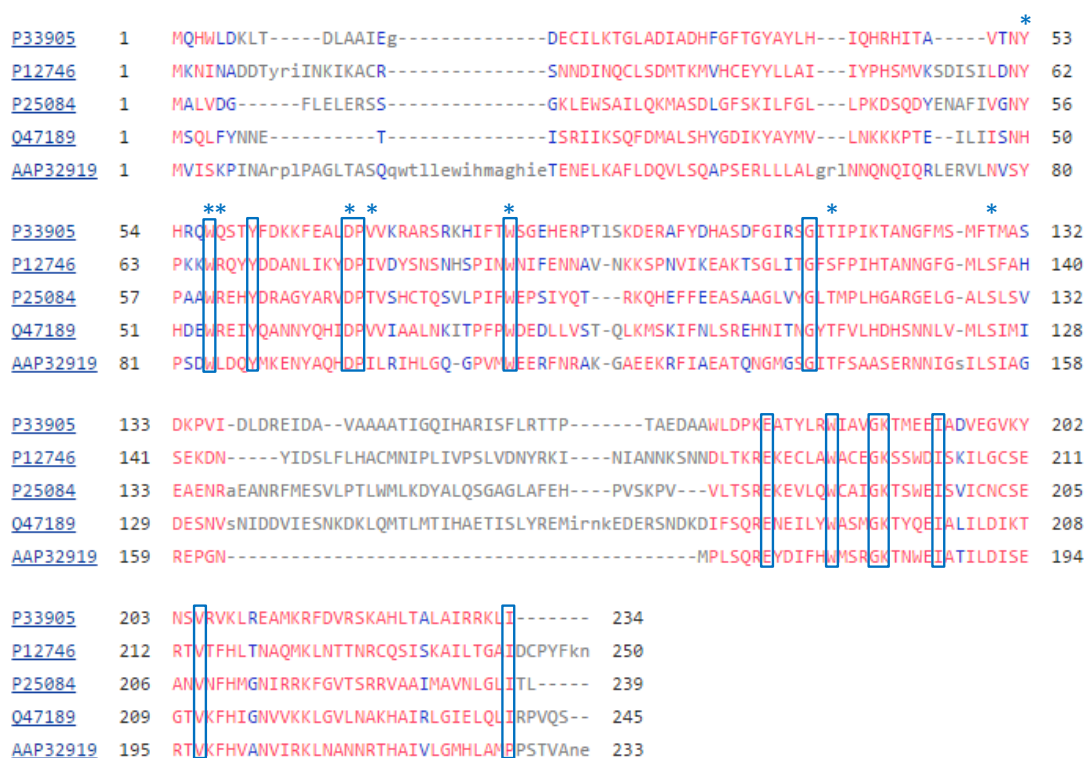
Em um relato, Bassler e colaboradores estudaram a patogenicidade de uma *C. violaceum* selvagem e *Caenorhabditis elegans*, micro-organismo hospedeiro modelo.<sup>80</sup> Observaram que, na presença de *C. violaceum*, o hospedeiro tinha uma vida média de dois dias, drasticamente baixa se comparada com a infecção de uma *E. coli* não patogênica, doze dias. Quando esse *C. violaceum* tinha seu QS inibido, o hospedeiro adicionava cinco dias em sua vida, cinco dias a menos de vida se testado com uma *C. violaceum* mutante com os genes de QS deletados. Ou seja, uma modulação de QS foi capaz de diminuir a patogenicidade, resultado importante em um mundo onde cresce o número de cepas resistentes a antibióticos. Mesmo que com o tempo surjam cepas mutantes não mais sensíveis aos antagonistas de QS, ainda sim será uma em meio a tantas outras que terão seu QS desativado. Lembrando que a comunicação via autoindutores ativa a transcrição de genes reesponsáveis pela patogenicidade quando existe uma alta densidade populacional.

Outra discussão que vale a pena ser feita é a inibição de QS, por exemplo, como já foi visto cadeias maiores que oito carbonos inibem o QS da *C. violaceum*, o autoindutor cognato da *P. auruginosa* tem uma cadeia de doze carbonos podendo assim inibir o QS da *C. violaceum* de forma natural. Mesmo os autoindutores derivados de homoserina lactonas são responsáveis pelo controle populacional e sobrevivência de uma espécie sobre a outra. Além disso, moléculas que são agonistas ou antagonistas para uma bactéria podem ser ou não para outra bactéria.

Os testes com a *C. violaceum* se mostraram promissores e existe grande interesse em testar o escopo de moléculas sintetizadas, nesse trabalho frente a outros sistemas de QS, como *P. auruginosa*, bactéria patogênica para humanos cuja virulência é ativada



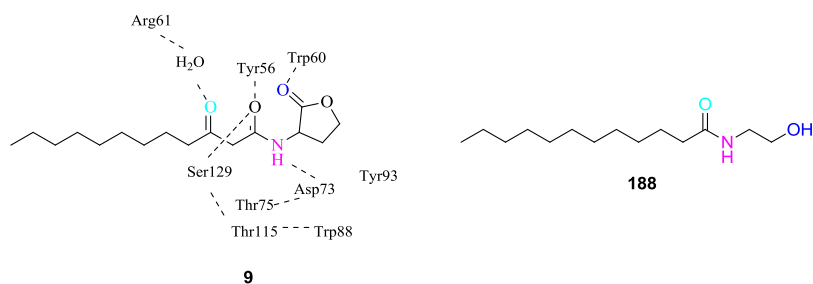
pelo QS. É possível imaginar que, como os autoindutores do tipo 1 são muito parecidos, suas proteínas receptoras também possam conservação dos sítios de interação (Figura 38). Mesmo que a sequência de aminoácidos não sejam as mesmas, as interações possíveis são altamente conservadas, em vermelho, para as proteínas TraR, LuxR, LasR, ExpR e CviR, respectivamente as proteínas receptoras da *Agrobacterium tumefaciens*, *Vibrio fischeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Erwinia carotovora* e *Chromobacterium violaceum*.



**Figura 38** – Sequência de alinhamento de 5 membros da família LuxR de reguladores transcricionais feita por meio da ferramenta Constraint-based Multiple Aligmetnet Toll (Cobalt), disponível no endereço virtual da NCBI.. TraR, LuxR, LasR, ExpR e CviR (33905, P12746, P25084, Q47189 e AAP32919) são as proteínas receptoras de *Agrobacterium tumefaciens*, *Vibrio fischeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Erwinia carotovora* e *Chromobacterium violaceum*. Os resíduos de aminoácidos em vermelho são altamente conservados já os em azul são pouco conservados. Os marcados pelo quadro azul são idênticos. Os marcados com asterisco são importantes para a o reconhecimento dos AI's no LBD.

Com isso, é possível imaginar que as interações importantes entre proteína e AHL's se mantêm dentro das homologas da LuxR e seu respectivo AI. Blackwell e colaboradores,<sup>81</sup> estudaram as contribuições das ligações de hidrogênio entre receptor e ligante para a *Pseudomonas aeruginosa*. Os autores determinaram uma escala de importância entre as ligações possíveis: ligação NH da amida, ligação C=O da cetona, C=O da lactona e C=O da amida, sendo a primeira doadora de ligação de hidrogênio e as outras, receptoras (Figura 39). Pela análise da cristalografia de raio-x entre a proteína

receptora, LasR, e seu autoindutor nativo **9** é possível observar nove interações com os aminoácidos Arg 61 (através de uma molécula de água), Tyr 56, Trp 60, Ser 129, Thr 115, Trp 88, Asp 73 e Thr 75.



**Figura 39** – (a) Imagem de raio-X da LasR e seu autoindutor natural. (b) Interações importantes entre o autoindutor e os aminoácidos do receptor.<sup>77</sup>

Isto posto, é razoável propor que as *N*-(2-hidroxietil)amidas sintetizadas neste trabalho, principalmente a de cadeias mais longas como a etanolamida **188**, têm o potencial de interferir no QS de outras bactérias patogênicas, com é o caso da *P. aeruginosa*, e este estudo é, também, uma das perspectivas desta dissertação de mestrado.

## 6. Materiais e Métodos

Os solventes, obtidos a partir de fontes comerciais, foram tratados antes de serem utilizados de acordo com a literatura. A etanolamina ( $C_2H_8NO$ ) foi destilada a vácuo antes de seu uso e guardada sob peneira molecular 5Å. O diclorometano ( $CH_2Cl_2$ ) foi tratado utilizando hidreto de cálcio e destilado previamente antes de cada uso. O cloreto de tionila ( $SOCl_2$ ) também foi purificado por destilação simples previamente todas as vezes em que foi utilizado.<sup>82</sup>

As análises de cromatografia em camada delgada foram realizadas utilizando cromatoplacas em alumínio revestidas em sílica gel 60 F 254 (Aldrich®) com filme de 0.2 mm de espessura. As placas cromatográficas com indicador de fluorescência contendo as amostras foram reveladas utilizando uma solução de permanganato de potássio e, depois, aquecidas. Para as amostras que fluoresciam na luz UV, as amostras foram reveladas utilizando uma lâmpada UV (254 nm) e, posteriormente, embebidas em solução de permanganato de potássio e aquecidas.

As purificações por coluna cromatografia foram realizadas utilizando sílica gel comum (70-230 mesh). Os eluentes empregados foram acetato de etila e hexano e as concentrações das soluções estão descritas nos procedimentos experimentais.

Os experimentos de ressonância magnética nuclear foram realizados nos seguintes aparelhos: Varian Mercury Plus (300 MHz para  $^1H$  e 75 MHz para  $^{13}C$ ) 7,04 T e Bruker Ascend (600 MHz para  $^1H$  e 150 MHz para  $^{13}C$ ) 14,1. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm). As constantes de acoplamento estão expressas em Hertz (Hz). As amostras analisadas foram dissolvidas em clorofórmio deuterado ( $CDCl_3$ ). Algumas amostras foram dissolvidas em benzeno deuterado ( $C_6D_6$ ). Para os espectros de RMN de  $^1H$  foi utilizado como referência interna o tetrametilsilano TMS (0,0 ppm) e para os espectros de RMN de  $^{13}C$ , o clorofórmio deuterado (77,00 ppm). Os espectros foram processados no programa MestReNova.

Os experimentos de massa EI foram obtidos em aparelho de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM), utilizando cromatógrafo Shimadzu 7890 A, com coluna capilar 5%-fenil-95%-metilsiloxano (HP5, 30 mm x 0,32 mm x 0,25  $\mu m$ ) e hélio como gás carreador (1,0  $\mu m/min$ ). A temperatura do forno foi programada de 100 a 200 °C, a uma taxa de aquecimento de 3 °C/min. Um miligrama de amostra foi dissolvido em 1,5 mL de etanol, acetato de etila ou hexano,

dependendo da solubilidade da amostra, e 1,0  $\mu\text{L}$  da solução foi injetada no modo com divisão de fluxo (1:50). Os dados foram analisados usando o software GCMSsolution.

A cepa CV026 foi doada pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lúcia Maria Pepe de Moraes do Instituto de Biologia-IB-UnB. Todos os equipamentos, recipientes e solventes utilizados nos teste biológicos foram autoclavados à 121 °C por vinte minutos, seguindo o padrão de autoclavagem do laboratório da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lúcia. Os ensaios em QS da *C. violacium* foram realizados sob a supervisão do Prof. Dr. Alex Leite Pereira da FCE-UnB.

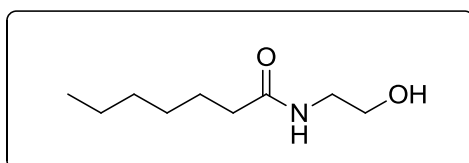
## 7. Parte Experimental

### 7.1. Procedimentos Empregados Para a Síntese das 2-hidroxiâmidas

#### 7.1.1 Metodologia segundo Moaddel e Ameri.

Em um balão de fundo redondo de 10,0 mL equipado com barra de agitação magnética, foram adicionados 160 mmol de ácido carboxílico e 3,0 mL de etanolamina (50 mmol). O balão foi equipado com condensador e foi aquecido, sob agitação magnética, até a temperatura de refluxo, permanecendo assim por 8 horas. A mistura reacional então foi diluída em 20 mL de acetato de etila e lavada com 10 mL de HCl 5% até que não houvesse etanolamina na fase orgânica, verificado por CCD. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo resultante foi purificado por recristalização (hexano/AcOEt 50:50). O produto então foi filtrado em funil de Buchner com uma solução gelada de hexano /acetato de etila e depois foi colocado na bomba de alto-vácuo para retirada de qualquer solvente residual, alcançando rendimentos que variam de 10- 90%.

#### 2-hidroxiethylheptamida



**Rendimento:** 70%

**Aparência:** sólido branco.

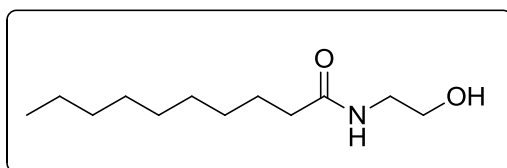
<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6,10 (s, 1H); 3,7 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H); 3,42 (q, *J* = 5,6 Hz, 2H); 3,05 (s, 1H); 2,20 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H); 1,63 (qt, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,39 – 1,16 (m, 6H); 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 174,6; 62,4; 42,4; 36,7; 31,5; 28,9; 25,7; 22,5; 13,4.

EM (70 eV) *m/z*: 174 (M<sup>+</sup>), 43 (100).

IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3296, 2919, 1643, 1559, 1057.

#### 2-hidroxiethyloctamida



**Rendimento:** 72%

**Aparência:** sólido branco.

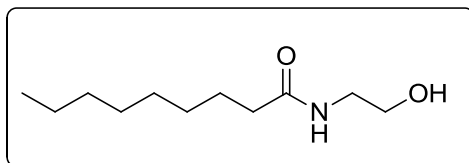
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 6,08 (s, 1H); 3,72 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H); 3,42 (q, *J* = 5,6 Hz, 2H); 3,03 (s, 1H), 2,20 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,63 (qt, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,38 – 1,16 (m, 8H), 0,88 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174, 6; 62,5; 42,4; 36,7; 31,6; 29,2; 28,9; 25,7; 22,6; 14,0.

**EM (70 eV) m/Z:** 188 (M<sup>+</sup>), 57 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3294, 2952, 2923, 2870, 1641, 1557, 1212.

### 2-hidroxiethylnonamida



**Rendimento:** 80%

**Aparência:** sólido branco.

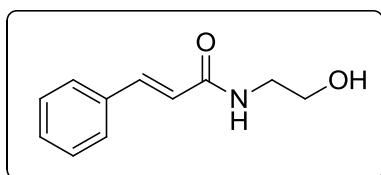
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 6,30 (s, 1H); 3,70 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H); 3,40 (q, *J* = 5,4 Hz, 2H); 2,79 (s, 2H); 2,20 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,62 (qt, *J* = 7,4 Hz, 2H); 1,35-1,20 (m, 10H); 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174,7; 62,1; 42,4; 36,7; 31,8; 29,3; 29,3; 29,1; 25,7; 22,6; 14,0.

**EM (70 eV) m/Z:** 201 (M<sup>+</sup>); 103 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3291, 2959, 2919, 2846, 1642, 1553, 1042,

### 2-hidroxiethylcinamida



**Rendimento:** 65%

**Aparência:** sólido branco.

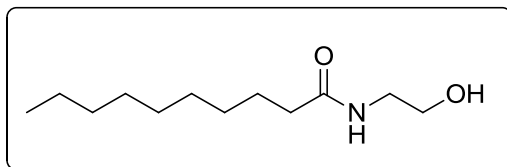
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,61 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H); 7,45 (dd, *J* = 6,5; 2,9 Hz, 2H); 7,31 (dd, *J* = 5,0; 1,7 Hz, 3H); 6,66 (s, 1H); 6,46 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H); 3,77 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H); 3,54 (q, *J* = 5,4 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 167,2; 141,4; 134,6; 129,8; 128,8; 127,8; 120,3; 62,1; 42,6.

**EM (70 eV) m/Z:** 191 (M<sup>+</sup>); 131 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3297, 1649, 1596, 1578, 1559, 1060, 770.

### 2-hidroxiethyldecamida



**Rendimento:** 83%

**Aparência:** sólido branco.

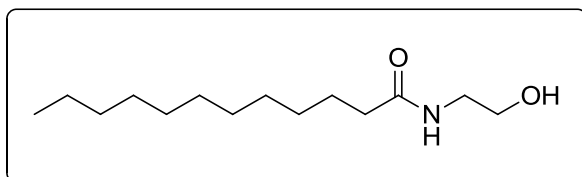
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 6,32 (s, 1H); 3,70 (t, *J* = 5,13, 2H); 3,40 (q, *J* = 5,6 Hz, 2H); 3,02 (s, 1H); 2,20 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H); 1,62 (qt, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,34 – 1,19 (m, 12H); 0,88 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174,6; 62,1; 42,3; 36,6; 31,8; 29,4; 29,3; 29,3; 29,3; 25,7; 22,6; 14,0.

**EM (70 eV) m/Z:** 216 (M<sup>+</sup>); 85 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3289, 2954, 2918, 2849, 1641, 1554, 1045.

### 2-hidroxiethyl dodecamida



**Rendimento:** 80%

**Aparência:** sólido branco.

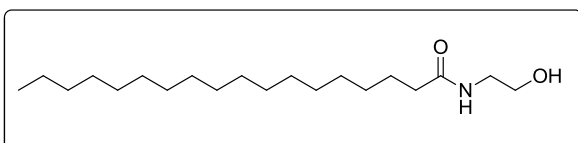
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 6,11 (s, 1H); 3,71 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H); 3,42 (q, *J* = 5,6 Hz, 2H); 2,54 (s, 2H); 2,20 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H); 1,63 (qt, *J* = 7,5 Hz, 2H); 1,37 – 1,13 (m, 16H); 0,88 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174,6; 62,4; 42,4; 36,7; 31,9; 29,6; 29,6; 29,5; 29,3; 29,3; 29,3; 25,7; 22,6; 14,1.

**EM (70 eV) m/Z:** 243 (M<sup>+</sup>); 85 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3293, 2954, 2917, 2849, 1641, 1554, 1049.

### 2-hidroxiethyl stearamida



**Rendimento:** 90%

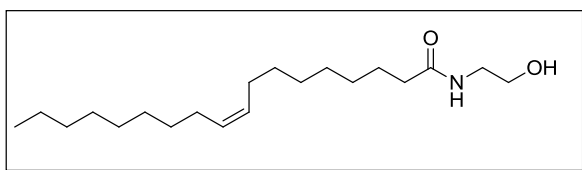
**Aparência:** sólido branco.

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5,95 (s, 1H); 3,70 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H); 3,42 (q, *J* = 5,5 Hz, 2H); 2,20 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,63 (qt, *J* = 7,3 Hz, 2H); 1,33 – 1,19 (m, 24H); 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174,6; 62,7; 42,5; 36,7; 31,9; 29,7; 29,6; 29,6; 29,5; 29,3; 29,3; 29,3; 25,7; 22,7; 14,1.

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3292, 2917, 2848, 1638, 1554, 1057.

### 2-hidroxi-etiloleiamida



**Rendimento:** 85%

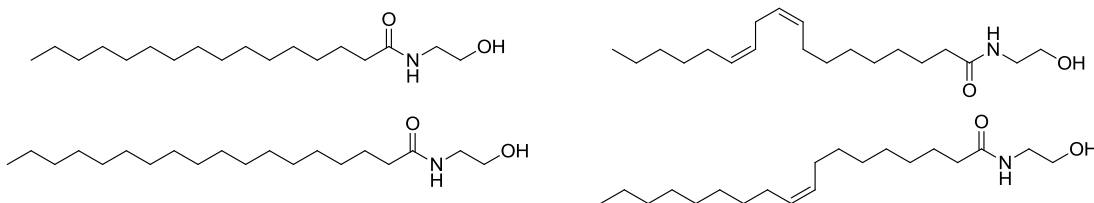
**Aparência:** sólido marrom.

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 6,33 (s, 1H); 5,4 (q, *J* = 5,6 Hz, 1H); 3,72 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H); 3,40 (qt, *J* = 5,4 Hz, 2H) 2,20 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,07 – 1,97 (m, 4H), (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,63 (qt, *J* = 7,3 Hz, 2H); 1,33 – 1,19 (m, 24H); 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174,6; 129,9; 129,6; 62,1; 42,3; 36,6; 31,8; 29,7; 29,7; 29,5; 29,3; 29,2; 29,2; 29,1; 27,1; 25,7; 22,6; 14,0.

**EM (70 eV) m/Z:** 98 (100).

### Amida derivada do óleo de soja



**Rendimento:** 33%

**Aparência:** sólido branco.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5,94 (s, 4H); 5,51 – 5,29 (m, 6H), 3,72 (t, *J* = 5,4 Hz, 4H). 3,42 (q, *J* = 5,4 Hz, 4H), 2,88 – 2,70 (m, 3H), 2,30 – 2,15 (m, 4H), 2,12 – 1,90 (m, 7H), 1,63 (t, *J* = 7,2 Hz, 5H), 1,39 – 1,17 (m, 34H), 0,98 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 0,88 (t, *J* = 7,3 Hz, 9H)

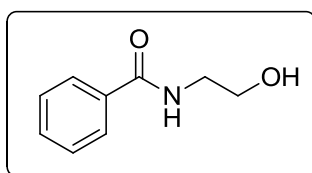


$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  130,0; 62,6; 42,4; 36,7; 31,90 ; 29.,7; 29,7; 29,4; 29,4, 29,2; 29,1; 27,2; 25,7; 22,7; 14,1.

EM (70 eV) m/Z: 270 ( $\text{M}^+$ ), 74 (100); 294 ( $\text{M}^+$ ), 81(100); 296 ( $\text{M}^+$ ), 55(100); 296 ( $\text{M}^+$ ), 55(100).

IR (ATR)  $\text{cm}^{-1}$ : 3290, 2917, 2849, 1641, 1560, 1466, 1054.

### 2-hidroxi-etil-fenilamida



**Rendimento:** 60%

**Aparência:** sólido branco.

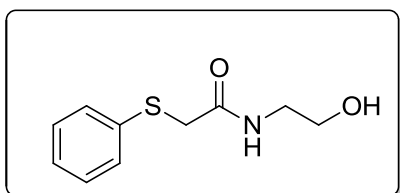
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,75 (dt,  $J = 7,5$ ; 1,4 Hz, 2H); 7,47 (tt,  $J = 7,7$ ; 1,2 1H); 7,36 (tt,  $J = 7,5$ ; 1,3 Hz, 2H); 7,09 (s, 1H); 3,77 (t,  $J = 5,6$  Hz, 2H); 3.57 (q,  $J = 5,5$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168,7; 134,0; 131,6; 128,5; 126,9; 61,9; 42,8.

EM (70 eV) m/Z: 165 ( $\text{M}^+$ ); 105 (100).

IR (ATR)  $\text{cm}^{-1}$ : 33232, 1638, 1576, 1572, 1065, 750.

### 2-hidroxi-etil-2-tiofenilacetamida.



**Rendimento:** 85%

**Aparência:** sólido branco.

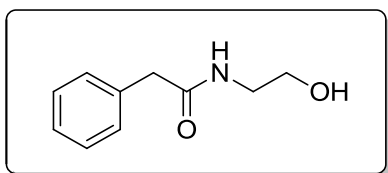
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,31 (d,  $J = 4,3$  Hz, 4H); 3,65 (s, 2H); 3,62 (t,  $J = 5,4$  Hz, 2H); 3,39 (t,  $J = 5,4$  Hz, 2H);.

$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169,5; 168.,2; 134,8; 134,6 ; (s), 134,4; , 130,0; 129,4; 129,2; 128,6; 128,3; , 128,0; 127,0; 63,9; , 62.,0; 43,6; 42,6; 41,5; 38,80.

EM (70 eV) m/Z: 165 ( $\text{M}^+$ ); 105 (100).

IR (ATR)  $\text{cm}^{-1}$ : 1664,1612, 1551, 1444, 1073, 1063, 712, 692.

## 2-hidroxietilbenzamina



**Rendimento:** 50%

**Aparência:** sólido branco.

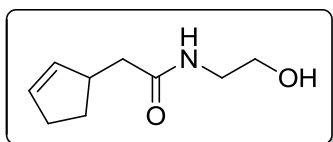
**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,40 – 7,19 (m, 5H), 6,20 (s, 1H), 3,661 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3,55 (s, 2H), 3,33 (t, *J* = 5,1Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 172,5; 134,6; 129,3.; 128,8; 128,5; 127,3; 61,9; 43,5; 42,5.

**EM (70 eV) m/Z:** 161, 160 (M), 91 (100)

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 1719, 1619, 1567, 1073, 1067, 712, 692.

## 2-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(2-hidroxietil)acetamida.



**Rendimento:** 60%

**Aparência:** sólido branco.

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) :** δ 6,04 (s, 1H), 5,78 (td, *J* = 4,4; 2,1 Hz, 1H), 5,68 (dt, *J* = 8,0; 4,0 Hz, 1H), 3,73 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H), 3,43 (qt, *J* = 5,5 Hz, 2H), 3,15 – 3,07 (m, 1H), 2,41 – 2,30 (m, 2H), 2,28 (dd, *J* = 14,1, 7,1 Hz, 1H), 2,20 (dd, *J* = 14,1, 7,8 Hz, 1H), 2,17 – 2,09 (m, 1H), 1,47 (ddt, *J* = 12,7; 9,0; 6,2 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 173,6; 133,70; 131,6; 62,5; 42,7; 42,5; 42,4; 31,8; , 29,6.

**EM (70 eV) m/Z:** 169 (M), 65 (100)

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 1668, 1551, 1066.

### 7.1.2. Metodologia segundo Jamieson e colaboradores.

Em um balão de fundo redondo de 5,0 mL equipado com barra de agitação magnética, foram adicionados 0,5 mL de benzoato de metila (4 mmol), 0,26 mL de etanolamina (4, X mmol), 1,5 mL de álcool isopropílico e 0,21g de carbonato de potássio (30 mol%). Em seguida aqueceu-se o balão a 60°C em banho de óleo e deixou-se a reação por 20h. A síntese resultou em uma solução amarelada juntamente com um sólido branco, que foi removido por filtração simples. A mistura reacional então foi diluída em 20 mL de acetato de etila e lavada com 10 mL de HCl 5% até que não

houvesse etanolamina na fase orgânica, verificado por CCD. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Após recristalização e evaporação na bomba, resultou em um rendimento de 40%.

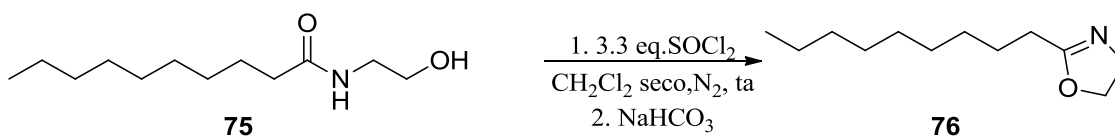
### 7.1.3. Metodologia catalisada por Nafion®.

Em um frasco reacional (do tipo tubo selado) equipado com barra de agitação magnética com atmosfera inerte (N<sub>2</sub>), foram adicionados 2,0 mL de benzoato de metila (16 mmol) e 3 mL de etanolamina (3 equivalentes) e um pedaço de 0,5 mm<sup>2</sup> de Nafion®. A mistura reacional permaneceu em agitação com refluxo por 18 horas. O Nafion® foi separado da mistura reacional que foi, então, diluída em 20 mL de acetato de etila e lavada com 10 mL de HCl 5% até que não houvesse etanolamina na fase orgânica, verificado por CCD. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e o solvente foi removido em evaporador rotatório. A purificação foi feita por cromatografia em coluna de sílica gel (AcOEt 100%). As frações foram reunidas e rotaevaporadas. Em seguida, o material foi submetido às condições de alto-vácuo e resultou em um sólido branco com 60% de rendimento.

### 7.1.4. Metodologia catalisada por Nafion® para o óleo de soja.

Em um frasco reacional (do tipo tubo selado) equipado com barra de agitação magnética com atmosfera inerte (N<sub>2</sub>), foram adicionados 1,5 mL de óleo de soja e 1,5 mL de etanolamina e um pedaço de 0,5 mm<sup>2</sup> de Nafion®. A mistura reacional permaneceu em agitação com refluxo por 18 horas. O Nafion® foi separado da mistura reacional e, então, foi diluída em 20 mL de acetato de etila e lavada com 10 mL de HCl 5% até que não houvesse etanolamina na fase orgânica. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e o solvente foi removido em evaporador rotatório. Em seguida, o material foi submetido às condições de alto-vácuo e resultou em um líquido amarelado com 15% de rendimento.

## 7.2. Procedimento Geral Empregado síntese de 2-oxazolinas

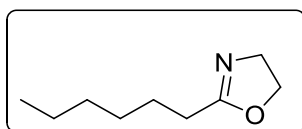


Em um balão de fundo redondo de 15,0 mL equipado com barra de agitação magnética, foram adicionados 0,42X mmol de 2-hidroetilamida (aproximadamente 100 mg) e a atmosfera do balão foi trocado por N<sub>2</sub>. Então, se adicionou 6 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> com seringa e 0,1 mL de SOCl<sub>2</sub>, após essa adição era colocado um septo de vidro equipado com uma seringa de cloreto de cálcio. A reação foi acompanhada por CCD e, para finalizá-la, foram utilizados 6 mL de NaHCO<sub>3</sub> adicionados de forma lenta à mistura reacional, deixando essa mistura bifásica sob agitação por 30 minutos. As fases foram separadas, e a fase orgânica lavada com 6 mL de água destilada por três vezes. A fase orgânica então era rotaevaporada.

### 7.2.1. Metodologia geral em banho de gelo.

Em um balão de fundo redondo de 25,0 mL equipado com barra de agitação magnética, foram adicionados 0,42 mmol de 2-hidroetilamida e a atmosfera do balão foi trocado por N<sub>2</sub>. Então se adicionou 12 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> com seringa, o sistema então foi colocado em banho de gelo (temperatura menor que 0°C). Após a temperatura do sistema estabilizar, foi adicionado 0,1 mL de SOCl<sub>2</sub> com seringa, após essa adição foi colocado um septo de vidro equipado com uma seringa de cloreto de cálcio. A reação então foi acompanhada por CCD e para, finalizá-la, foram utilizados 6 mL de NaHCO<sub>3</sub> adicionados de forma lenta à mistura reacional, deixando essa mistura bifásica sob agitação por 30 minutos. As fases foram separadas, e a fase orgânica foi lavada com 6 mL de água destilada por três vezes. A fase orgânica, então, foi rotaevaporada e purificada por cromatografia em coluna de sílica gel (Acetato de etila), as frações foram analisadas por CGEM e então reunidas, secas com sulfato de magnésio e evaporadas em rotaevaporador rotativo. Depois, a amostra permaneceu na bomba de vácuo para retirar qualquer resquício de solvente. A conversão em 2-oxazolininas variou entre 50 a 90%, porém, a purificação completa ainda não foi obtida.

### Heptil-2-oxazolina



**Rendimento:** 82%

**Aparência:** óleo amarelo.

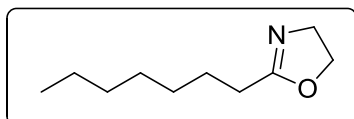
<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,22 (t, *J* = 9,5 Hz, 2H) 3,82 (t, *J* = 9,5 Hz, 2H); 2,26 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H); 1,62 (qt, *J* = 7,7 Hz, 2H), 1,40 – 1,14 (m, 6H); 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 168,7; 67,1; 54,3; 31,4; 28,8; 28,0; 25,9; 22,5; 14,0.

**EM (70 eV) m/Z:** 155 (M); 44 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3287, 2924, 2872, 1639, 1558, 1465, 1055.

### Octil-2-oxazolina



**Rendimento:**80%

**Aparência:** líquido incolor.

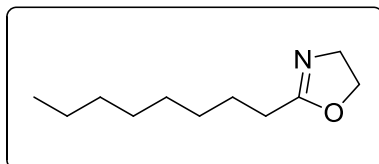
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,22 (t, *J* = 9,5 Hz, 2H) 3,82 (t, *J* = 9,5 Hz, 2H); 2,26 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H); 1,62 (qt, *J* = 7,7 Hz, 2H), 1,40 – 1,14 (m, 8H); 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 168,8; 67,1; 54,3; 31,6; 29,2; 28,9; 27,9; 25,9; 22,6; 14,0.

**EM (70 eV) m/Z:** 169 (M); 85 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3294, 2823, 1641, 1554, 1056.

### Nonil-2-oxazolina



**Rendimento:** 72%

**Aparência:** óleo incolor.

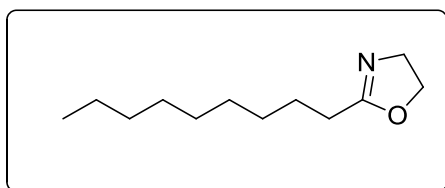
**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,21 (t, *J* = 9,5 Hz, 2H); 3,81 (t, *J* = 9,5 Hz, 2H) 2,26 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,63 (qt, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,38 – 1,19 (m, 10H); 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 168,7; 67,0; 54,3; 31,8; 29,2; 29,2; 29,1; 28,0; 26,0; 22,6; 14,1.

**EM (70 eV) m/Z:** 182 (M-1); 85 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 2923, 1638, 1556, 1259, 1059, 979.

### Decil-2-oxazolina



**Rendimento:** 86%

**Aparência:** sólido branco.

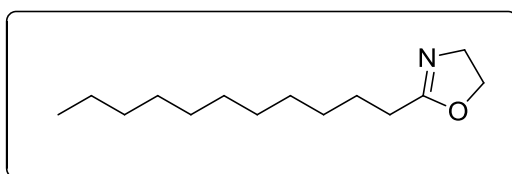
**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  4,21 (t,  $J = 9,5$  Hz, 2H) 3,81 (t,  $J = 9,5$  Hz, 2H); 2,26 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H); 1,62 (qt,  $J = 7,7$  Hz, 2H), 1,40 – 1,14 (m, 12H); 0,88 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  168,7; 67,1; 54,3; 31,8; 29,4; 29,2; 29,2; 28,0; 26,0; 22,6; 14,0.

**EM (70 eV) m/Z:** 196 (M-1); 85 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3294, 2959, 2918, 1850, 1736, 1641, 1554, 1179.

### Dodecil-2-oxazolina



**Rendimento:** 80%

**Aparência:** sólido branco.

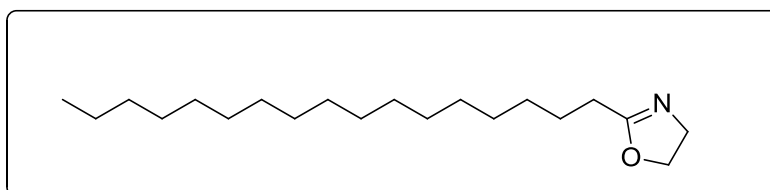
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  4,21 (t,  $J = 9,5$  Hz, 2H); 3,82 (t,  $J = 9,5$  Hz, 2H); 2,26 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H); 1,62 (qt,  $J = 7,6$  Hz, 2H); 1,37 – 1,19 (m, 17H); 0,88 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  168,7; 67,1; 54,3; 31,9; 29,6; 29,4; 29,3; 29,2; 29,2; 28,0; 26,0; 22,6; 14,1.

**EM (70 eV) m/Z:** 224(M-1); 85 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 3293, 2954, 2917, 2849, 1641, 1560, 1012.

### Estearil-2-oxazolina



**Rendimento:** 90%

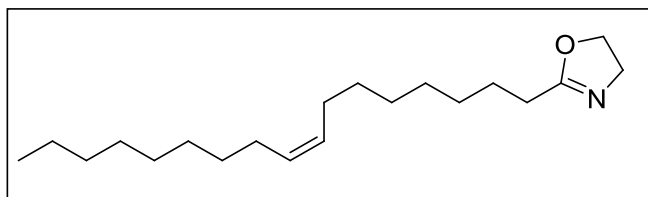
**Aparência:** sólido branco.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, cdcl<sub>3</sub>):** δ 4,22 (t, *J* = 9,4 Hz, 2H); 3,81 (t, *J* = 9,3 Hz, 2H); 2,26 (t, *J* = 7,2 Hz 2H); 1,62 (qt, *J* = 7,1 Hz 2H); 1,25 (s, 28H); 0,88 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, cdcl<sub>3</sub>)** δ 168,8; 67,1; 54,3; 31,9; 29,7; 29,6; 29,6; 29,5; 29,3; 29,3; 29,2; 28,0; 26,0; 22,7; 14,1.

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 2916, 2846, 1646, 1640, 1470, 1164.

### Oleil-2-oxazolína.



**Rendimento:** 72%

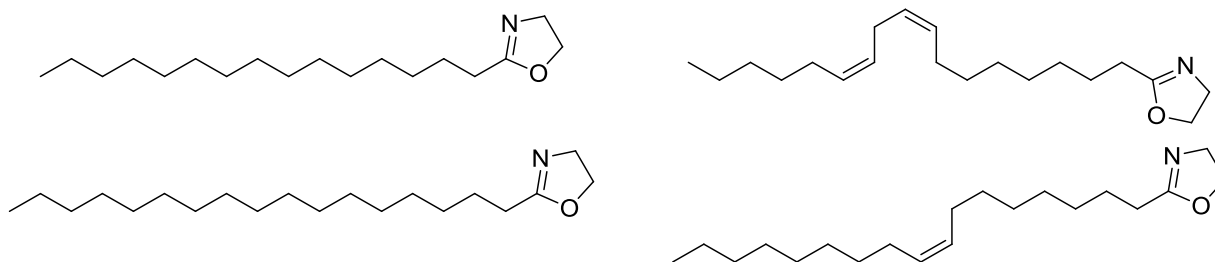
**Aparência:** sólido marrom.

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 5.37 – 5.29 (m, 3H), 4.21 (t, *J* = 9.5 Hz, 4H), 3.81 (t, *J* = 9.4 Hz, 4H), 2.26 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H), 2.01 (dd, *J* = 12.8, 6.8 Hz, 6H), 1.67 – 1.53 (m, 5H), 1.38 – 1.18 (m, 44H), 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 7H).

**EM (70 eV) m/Z:** 307 (M), 98 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 2923, 2853, 1687, 1463, 988, 722.

### Oxazolína óleo de soja.

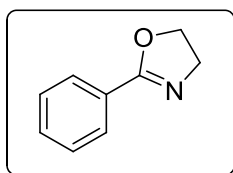


**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 5.45 – 5.20 (m, 3H), 4.22 (t, *J* = 9.5 Hz, 4H), 3.82 (t, *J* = 9.4 Hz, 4H), 2.27 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H), 2.01 (dd, *J* = 12.8, 6.8 Hz, 6H), 1.68 – 1.53 (m, 5H), 1.41 – 1.15 (m, 44H), 0.89 (t, *J* = 7.0 Hz, 7H).

**EM (70 eV) m/Z:** EM (70 eV) m/Z: 140 (M), 85 (100); 154 (M), 85 (100); 154 (M), 85 (100); 307 (M), 98 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 2918, 2850, 1641, 1559, 1054.

### Fenil-2-oxazolina.



**Rendimento:** 72%

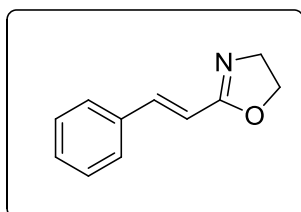
**Aparência:** óleo incolor.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,95 (m, 2H); 7,43 (m, 3H); 4,43 (t, *J* = 9,6 Hz, 2H); 4,06 (q, *J* = 9,4 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 164,6; 131,7; 130,7; 129,4; 126,4; 128,0; 67,5; 54,8.

**EM (70 eV) m/Z:** 147 (M<sup>+</sup>), 117 (100).

### Cinamil-2-oxazolina



**Rendimento:** 87%

**Aparência:** sólido branco.

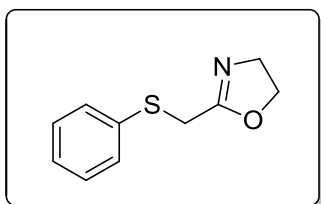
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,52 – 7,46 (m, 1H); 7,39 – 7,27 (m, 5H); 6,64 (d, *J* = 16,3 Hz, 1H); 4,34 (t, *J* = 9,4 Hz, 2H); 3,99 (t, *J* = 9,4 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 164,4; 139,9. 135,2; 129,4; 128,8; 127,4; 115,0; 77,2; 77,0; 76,8; 67,2; 54,8.

**EM (70 eV) m/Z:** 172 (M-1, 100)

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 1713, 1651, 1636, 1167, 766.

### 1-metil-2-tiofenil-oxazolina



**Rendimento:** 70%

**Aparência:** sólido branco.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,2 (m, 8H); 3,66 (s, 4H); 4,31 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H); 3,8 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H);

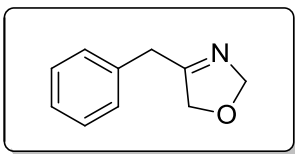
**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 169,5; 168,2; 134,8; 134,6 ; (s), 134,4; , 130,0; 129,4; 129,2; 128,6; 128,3; , 128,0; 127,0; 63,9; , 62.,0; 43,6; 42,6; 41,5; 38,80;

**EM (70 eV) m/Z:** 193 (M), 65 (100).

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 1735, 1651, 1532, 1150, 1065, 1059, 739, 690.



## Benzil-2-oxazolina



**Rendimento:** 50%

**Aparência:** sólido branco.

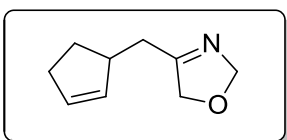
**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,40 – 7,23 (m, 5H), 4,24 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3,84 (s, *J* = 5,1Hz, 2H), 3,61 (s, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 167,0; 134,6; 129,5; 129,0; 128,6; 127,5; 127,0; 67,6;

**EM (70 eV) m/Z:** 169 (M), 91 (100)

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 1605, 1554, 1515, 1161.

## 2-(ciclopent-2-en-1-il)-2-oxazolina.



**Rendimento:** 65%

**Aparência:** óleo marrom.

**<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 5.89 (s, 7H), 5.89 (s, 4H), 5.76 (dd, *J* = 5.6, 2.2 Hz, 13H), 4.25 (s, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.79 – 3.65 (t, *J* = 5.6 2H), 3.47 (dd, *J* = 10.0, 5.6 Hz, 2H), 3.15 (s, 7H), 2.51 – 2.10 (m, 2H), 2.15 – 1.95 (m, 3H), 1.77 – 1.48 (m, 3H), 1.29 (d, *J* = 17.5 Hz, 5H), 0.89 (t, *J* =, 11.9 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 173.6, 133.7 , 131.7 , 62.8 , 42.7 , 42.5 , 43,5, 31.9, 29.6.

**EM (70 eV) m/Z:** 150(M), 51 (100)

**IR (ATR) cm<sup>-1</sup>:** 2955, 2900, 1605, 1554, 1515, 1468, 1161.

## 7.3. Metodologia para ciclização com trifôsgenio.

### 7.3.1 – Metodologia sem base.

Em um balão de fundo redondo de 5 mL equipado com barra magnética e atmosfera de nitrogênio foi adicionado 0,02 mmol de 2-hidroxi-etilamida em 2,5 mL de diclorometano. À essa solução foi adicionado gota a gota uma solução de 0,5 mmol de trifôsgenio em 0,5 mL de diclorometano. Após a adição o sistema foi colocado em refluxo por duas horas. Foi realizada a lavagem com 3x5 mL de água destilada, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e evaporada em rotaevaporador rotativo. Uma mostra foi retirada e mandada ao CG-EM foi atribuído, juntamente com o RMN de 1H a síntese do carbamato.

### **7.3.2 – Metodologia utilizando NaOH como base.**

Em um balão de fundo redondo de 5 mL equipado com barra magnética e atmosfera de nitrogênio foi adicionado 0,04 mmol de 2-hidroxiethylamida em 0,4 mL de uma solução de 6N de NaOH. Agitou-se vigorosamente a mistura reacional em banho de gelo (aproximadamente -10°C por trinta minutos). À essa solução foi adicionado gota a gota uma solução de 0,2 mmol de trifosgênio em 0,4 mL de diclorometano. Após a adição o sistema foi permaneceu por 4h em temperatura ambiente, acoplado a uma rolha de vidro com uma seringa de cloreto de cálcio. A mistura de produtos foi extraída com 3 x 1 mL de diclorometano, seco com sulfato de sódio e evaporado em rotaevaporador rotativo.

### **7.3.3 – Metodologia utilizando Et<sub>3</sub>N como base.**

Em um balão de fundo redondo de 10 mL equipado com barra magnética e atmosfera de nitrogênio foi adicionado 0,61 mmol de 2-hidroxiethylamida, 0,09 mmol de Et<sub>3</sub>N em 3 mL de diclorometano. A solução foi colocada em banho de gelo (aproximadamente -10°C) por meia hora e o 0,24 mmol de trifosgênio foi adicionado ao sistema.. Após a adição o sistema foi permaneceu por 20h em temperatura ambiente, acoplado a uma rolha de vidro com uma seringa de cloreto de cálcio. A solução foi lavada com 2x3 mL de água destilada e 2x3 de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio e evaporada em rotaevaporador rotativo.

### **7.3.3 – Metodologia utilizando piridina como base.**

Em um balão de fundo redondo de 5 mL equipado com barra magnética e atmosfera de nitrogênio foi adicionado 0,5 mmol de 2-hidroxiethylamida, 6 equivalentes de piridina em 1,5 mL de diclorometano. Essa solução foi colocada em banho de gelo (aproximadamente -20°C) por aproximadamente 1h e a essa solução uma solução de 1 mL de diclorometano com 0,5 equivalente de trifosgênio, na mesma temperatura do balão de reação, foi adicionado gota a gota. O sistema foi mantido a essa temperatura por trinta minutos e depois permaneceu por mais uma hora em temperatura ambiente. Foi adicionado 3 mL de NH<sub>4</sub>Cl ao balão reacional e extraído o produto com 3x5 mL de diclorometano. A fase orgânica foi reunida e seca com sulfato de sódio e evaporada em rotaevaporador rotativo.

#### **7.4. Metodologia para os testes biológicos.**

Os testes biológicos foram realizados utilizando a metodologia pour-plate. Foram feitos dois ágar Luria-Bertani (LB), um sólido e um semi-sólido, Para 1L de ágar são adicionados 10g de peptona, 10g de cloreto de sódio, 5g de extrato de levedura e 15 gramas de ágar para o meio sólido e 7 gramas para o meio semi-sólido. Após completa homogeneização os meios foram autoclavados por vinte minutos à 121°C..

A cepa de CV026 foi descongelada e colocou-se 200 µL da cultura em 5 mL de meio LB (sem ágar) em um falcon de 50 mL. Esse falcon foi colocado em um shaker a 30°C, em 100 rpm por 48 horas. Dessa cultura foram cultivadas as CV026 resistentes a antibióticos (Canamicina). Três placas de Petri com 15 mL de agar LB sólido e canamicina ( 50 µg.mL<sup>-1</sup>) foram preparadas e sob essas placas as diluições da cultura ( 1/10, 1/100 e 1/1000) juntamente com 5µL do autoindutor cognato da CV, C6-HHL, foram vertidas . As placas então foram colocadas na estuda de 30°C por 48 horas e uma colônia da placa de 1/1000 foi escolhida para ser o clone utilizado nos testes. Desse clone era feito um incóculo com 24 horas de antecedência dos testes com 10 mL de meio LB, 5 µL de canamicina ( solução estoque de 100 mg.mL<sup>-1</sup>) e 100 µL do inóculo anterior, deixado no shaker a 30°C.

Para os testes nas placas de Petri, devidamente esterilizadas, foram adicionados 15 mL de ágar LB sólido. Após secagem completa foram adicionados 15 mL de ágar LB semi-sólido, juntamente com 600 µL do inóculo de 24 horas de CV026, 30 µL de HHL (solução estoque de 5mM) paras as placas testes e 30 µL de acetonitrilas para as placas controle. Após a secagem do ágar foram feitos poços com a base de uma ponteira de P200, aproximadamente 5 mm de diâmetro e 3 mm de profundidade. As amostras então foram adicionadas a cada poço em duas concentrações, ou 100 e 10 mM para as moléculas solubilizadas em etanol 40% e 1 e 0,1 mM para as amostras que precisaram passar por filtração para a realização dos testes, aproximadamente 40 µL eram despejados em cada poço. As placas foram então deixadas na estufa a 30°C por 24 horas e analisadas.

## 8. Bibliografia

- (1) Camilli, A.; Bassler, B. L. *Science*. **2006**, *311*, 1113.
- (2) Waters, C. M.; Bassler, B. L. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2005**, *21*, 319.
- (3) Henke, J. M.; Bassler, B. L. *Trends Cell Biol.* **2004**, *14*, 648.
- (4) Banerjee, G.; Ray, A. K. *Arch. Microbiol.* **2016**, *198*, 489.
- (5) dos Santos, A. L.; Santos, D. O.; Freitas, C. C.; Ferreira, B. L. A.; Afonso, I. F.; Rodrigues, C. R.; Castro, H. C. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* **2007**, *43*, 413.
- (6) Zhang, L.; Dong, Y. *Mol. Microbiol.* **2004**, *53*, 1563.
- (7) Lyon, G. J.; Mayville, P.; Muir, T. W.; Novick, R. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2000**, *97*, 13330.
- (8) Monnet, V.; Gardan, R. *Mol. Microbiol.* **2015**, *97*, 181.
- (9) Pesci, E. C.; Milbank, J. B.; Pearson, J. P.; McKnight, S.; Kende, A. S.; Greenberg, P.; Iglewski, B. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **1999**, *96*, 11229.
- (10) Milot, S.; He, J.; Mindrinos, M. N.; Tompkins, R. G.; Rahme, L. G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2004**, *101*, 1339.
- (11) Horinouchi, S.; Ohnishi, Y.; Kang, D.K. *J. Ind. Microbiol. Biot.* **2001**, *27*, 177.
- (12) Chater, K. F.; Horinouchi, S. *Mol. Microbiol.* **2003**, *48*, 9.
- (13) Bassler, B. L.; Wright, M.; Stiverman, M. R. *Mol. Microbiol.* **1994**, *13*, 273.
- (14) Rumjanek, N. G.; da Fonseca, M. C. C.; Xavier, G. R. *Rev. Biotechnol. Cienc. e Desenvol.* **2004**, *33*, 35.
- (15) Schauder, S.; Shokat, K.; Surette, M. G.; Bassler, B. L. *Mol. Microbiol.* **2001**, *41*, 463.
- (16) Chen, X.; Schauder, S.; Potier, N.; Dorsselaer, A. Van; Pelczer, Â.; Bassler, B. L.; Hughson, F. M. *Nature*. **2002**, *415*, 545.
- (17) Miller, S. T.; Xavier, K. B.; Campagna, S. R.; Taga, M. E.; Semmelhack, M. F.; Bassler, B. L.; Hughson, F. M. *Mol. Cell*. **2004**, *15*, 677.
- (18) Leadbetter, J. R.; Greenberg, E. P. *J. Bacteriol.* **2000**, *182*, 6921.
- (19) Rasmussen, T. B.; Givskov, M. *Int. J. Med. Microbiol.* **2006**, *296*, 149.
- (20) Galloway, W. R. J. D.; Hodgkinson, J. T.; Bowden, S. D.; Welch, M.; Spring, D.

- R. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 28.
- (21) Zang, T.; Lee, B. W. K.; Cannon, L. M.; Ritter, K. A.; Dai, S.; Ren, D.; Wood, T. K.; Sunny, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 6200.
- (22) Vandeputte, O. M.; Kiendrebeogo, M.; Rasamiravaka, T.; Stevigny, C.; Duez, P.; Rajaonson, S.; Diallo, B.; Mol, A.; Baucher, M.; Jaziri, M. El. *Microbiology.* **2011**, *157*, 2120.
- (23) Truchado, P.; Tomás-barberán, F. A.; Larrosa, M.; Allende, A. *Food Control* **2012**, *24*, 78.
- (24) Vikram, A.; Jayaprakasha, G. K.; Jesudhasan, P. R.; Pillai, S. D.; Patil, B. S. *J. Appl. Microbiol.* **2010**, *109*, 515.
- (25) Chen, G.; Swern, L.R.; Swen, D.L.; Stauff, D.L.; O'Loughlin, C.T.; Jeffrey, P.D.; Bassler, B.; Hughson, F.M. *Mol Cell*, **2011**, *42*, 199.
- (26) McClean, K.H.; Winson, M.K.; Fish, L.; Taylor, A.; Chhabra, S.R.; Camara, M.; Daykin, M.; Lamb, J.H.; Swift, S.; Bycroft, B.W.; Stewart, G.S.A.B.; Williams, P. *Microbiology*, **1997**, 3703. (27) Widmer, K. W.; Soni, K. A.; Hume, M. E.; Beier, R. C.; Jesudhasan, P.; Pillai, S. D. *J. Food Sci.* **2007**, *72*, 363.
- (28) Suga, H.; Smith, K.M.; *Current Opinion in Chemical Biology*, **2003**, 586.
- (29) Farrel, E.K.; Merkle, D.V. *Drug Discover Today*, **2008**, 558.
- (30) (a) Maccatone, M. *Current Pharmaceutical Design*, **2006**, 759. (b) Cravatt, B.F.; Prospero-Garcia, O.; Siuzdak, G.; Gilula, N.B.; Henriksen, S.J.; Boger, D.L. *Science*, **1995**, 1506. (c) Willians, R.A.; Kirkhan, T.C. *Psychopharmacology*, **1998**, 315. (d) Kathuria, A.; Gaetani, S.; Fegley, D.; Valino, F.; Duranti, A.; Tontine, A.; Mor, M.; Tarzia, G.; La Rana, G.; Calignano, A.; Giustino, A.; Tattorli, M.; Palmery, M.; Cuomo, V.; Piomelli, D. *Nature Med.* **2003**, 76.
- (31) (a) Overton, H.; Babbas, A.J.; Doel, S.M.; Fyfe, M.C.T.; Gardner, L.S.; Griffin, G.; Jackson, H.C.; Procter, M.J.; Rasamison, C.M.; Tang-Christensen, M.; Widdowson, P.S.; Williams, G.M.; Reynet, C. *Cell. Metab.* **2006**, 167. (b) Lo Verne, J.; Fu, J.; Astarita, G.; La Rana, G.; Russo, R.; Calignano A.; Piomelli, D. *Mol. Pharmacol.* **2005**, 15.
- (32) Lassalas, P.; Gay, B.; Lasgargeas, C.; James, M.J.; Tran, V.; Vijayendran, K.G.; Brunden, K.R.; Koslowski, M.C.; Thomas, C.J.; Smith III, A.B.; Hury, D.M.; Ballatore, C. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 3183.
- (33) Lima, L. M.; Barreiro, E. J. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 23.

- (34) Oliveira, A. R. M. De; Simonelli, F.; Marques, F. D. A.; Cesar, G.; Aparecida, M.; Oliveira, F. C.; Lenz, C. A. *Quim. Nova.* **1999**, *22*, 854.
- (35) Frump, J. A. *Chem. Rev.* **1971**, *71* (5), 483.
- (36) Maria, A.; Benite, C.; Machado, D. P.; Machado, C. *Quim. Nova.* **2002**, *25*, 1155.
- (37) Tan, L. T.; Williamson, R. T.; Gerwick, W. H.; Watts, K. S.; MCGough, K.; Jacobs, R. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 419.
- (38) (a) Mcintosh, J. A.; Donia, M. S.; Schmidt, E. W.; Mcintosh, J. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 537. (b) Igarashi, I.; Kana, Y.; Fujii, K.; Harada, K-I.; Naokia, H.; Tabata, H.; Onaka, H.; Furumai, T. *J. Antibiot.* **2001**, *54*, 1045.
- (39) Andreasch, A. *Monatsh. Chem.* **1884**, *5*, 33.
- (40) (a) Gabriel, S. *Ber.* 1889, *22*, 1139. (b) Gabriel, S.; Heymantn. *Ber.* **1890**, *23*, 2493.
- (41) Gant, T.G.; Meyers, A.I. *Tetrahedron.* **1994**, *50*, 2297.
- (42) Cwik, A.; Hell, Z.; Hegedu, A.; Finta, Z.; Horva, Z. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3985.
- (43) Barton, D.H.R.; Motherwell, W.B.; Wozniak, J.; Zard, S.Z. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I.* **1985**, 1865.
- (44) (a) Vorbriiggen, H.; Kroliekiewicz, K. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 4471. (b) Jiang, H.; Sun, L.; Yuan, S.; Lu, W.; Wan, W.; Zhu, S.; Hao, J. *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 2858. (c) Richards, C.J.; Damalidis, T.; Hibbs, D.E.; Hursthouse, M.B. *Synlett.* **1995**, 74.
- (45) (a) Zhou, P.; Blubbaum, J.E.; Bums, C.T.; Natale, N.R. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38* (40), 7019. (b) Karade, N.N.; Tiwari, G.B.; Gampawar, S.V *Synlett.* **2007**, 1921; (c) Ibrahim, M.B.; Ali, B.E.; Fettouhi, M.; Quahab, L. *Appl. Organometal. Chem.* **2015**, 400.
- (46) Hioki, K.; Takechi, Y.; Kimura, N.; Tanaka, H.; Kunishima, M. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo).* **2008**, *56*, 1735.
- (47) (a) Fry, E.M. *J. Org. Chem.* **1949**, *14*, 887. (b) Ardabilchi, N.; Fitton, A.; Frost,

- J.R.; Oppong-Boachie, F.K.; Hadi, H.A.; Sharif, A.M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* **1979**, 539. (c) Bedekar, A.V.; Andersson, P.G. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4073. (d) Bunnage, M.E.; Davies, S.G.; Goodwid, C.J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* **1994**, 2325. (e) Evans, D.A.; Peterson, G.S.; Jonhson, J.S.; Barnes, D.M.; Campos, K.R.; Woepel, K.A. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4541. (f) Wuts, P.G.M.; Northuis, J.M.; Kwan, T.A. *J. Org. Chem.* **2000**, *63*, 9223.
- (48) Sakakura, A.; Kondo, R.; Ishihara, K. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1971.
- (49) Xu, Q.; Li, Z. *Tetrahedron Letters*, **2009**, 6838.
- (50) (a) Wenker, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1938**, *60* (9), 2152. (b) Kronek, J.; Nedelcev, T.; Mikulec, M.; Kleinova, A.; Luston, J. *Chem. Pap.* **2013**, *67*, 1424.
- (51) Mamaghani, M.; Mahmoodi, N. O.; Ghasemi, S. F. *J. Iran. Chem. Soc.* **2010**, *7*, 972.
- (52) Mohammadpoor-baltork, I.; Khosropour, A. R.; Hojati, S. F. *Catal. Commun.* **2007**, *8*, 200.
- (53) Leonard, W. R.; Romine, J. L.; Meyers, A. I. *J. Org. Chem.* **1991**, *1*, 1961.
- (54) Meyers, A.I.; Temple, D.L.; Haidukewych, D.; Mihelich, D. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 2787.
- (55) Hermitage, S.A.; Cardwell, K.S.; Chapman, T.; Cooke, J.W.B.; Newton, R. *Org. Process Res. Dev.* **2001**, *5*, 37.
- (56) Miller, D.; Umbricht, G.; Weber, B.; Pfaltz. *Helv. Chim. Acta.* **1991**, *74*, 232.
- (57) Gomez, M.; Muller, G.; Rocamora, M. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *193-195*, 769.
- (58) Bansal, S.; Halve, A.K. *IJPSR.* **2014**, *5*, 4601.
- (59) Hoogenboom, R.; Schubert, U. S. *Green Chem.* **2006**, *8*, 895.
- (60) McCartney D.; Nottingham, C.; Muller-Bunz, H.; Guiry, P.J. *J. Org. Chem.*, **2015**, *80*, 10151.
- (61) He, J.; Wu, Q.; Yu, J.Q. *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 3344.
- (62) (a) Chem, G.; Gong, W.; Zhuang, Z.; Andra, M.S.; Chen, Y.Q.; Hong, X.; Yang, F.-Y.; Houk, K.N.; Yu, J.Q. *Science*, **2016**, 1023. (b) Wu, Q.F.; Shen, P.-X.; Wang, X.-B.; Zhang, F.; Shao, Q.; Zhu, R.-Y.; Mapelli, C.; Qiao, J.X.; Poss, M.A.; Yu, J.-X. *Science*, **2017**, 499.
- (63) Gaab, M.; Bellemin-Lapponnaz, S.; Gade, L.H. *Chem. Eur. J.*, **2009**, 5450.
- (64) Moaddel, H.; Ameri, R. *Iran Polym. J.* **2005**, *14*, 849.
- (65) Caldwell, N.; Jamieson, C.; Simpson, I.; Watson, A.J.B. *Sustainable Chem. Eng.* **2013**, *1*, 1339.
- (66) Brasil, Portaria nº 795, de 15 de dezembro de 1993. Aprovar as anexas Normas de Identidade, Qualidade, Embalagem, Marcação e Apresentação do Óleo de Soja

Bruto, do Óleo de Soja Degomado e do Farelo de Soja. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**], Brasília, DF.

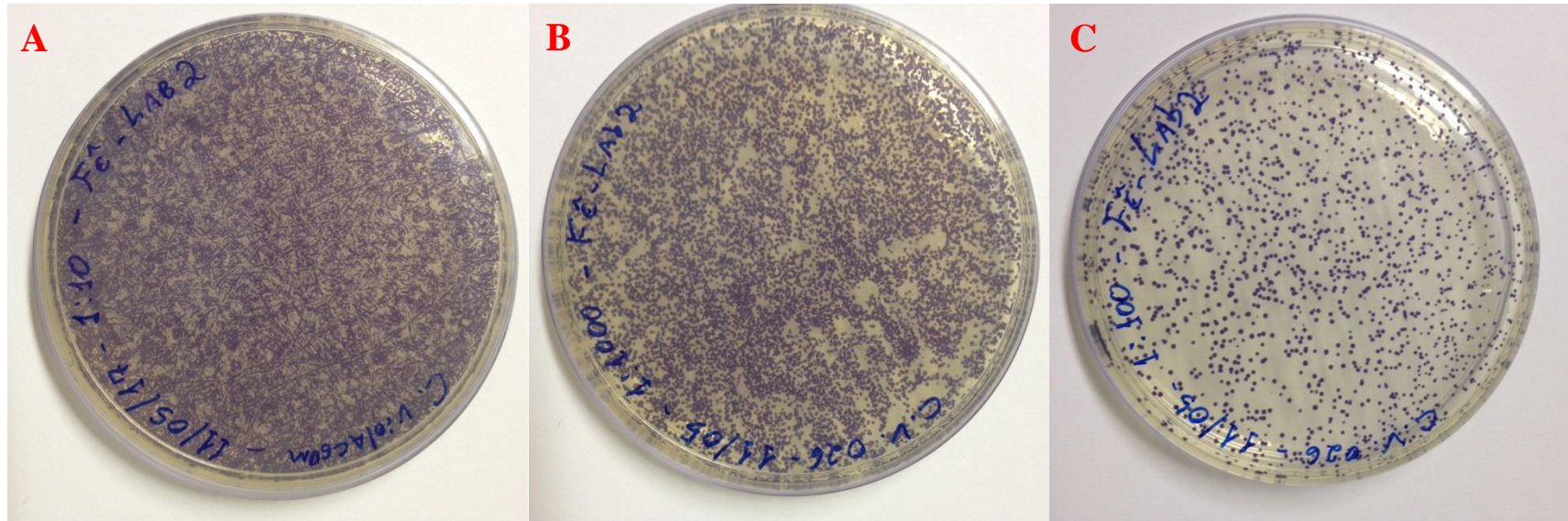
- (67) Yang, L.; Wang, Z.; Trenir, N.M.; Tang, C. *Macromolecules*, **2015**,1320.
- (68) Martin, C. A.; Visentainer, J. V.; Oliveira, A. N. De; Oliveira, C. C. De; Matsushita, M.; Souza, N. E. De. *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, *19*, 117.
- (69) Swern, D.; Stutzman, J.M.; Roe, E.T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 3017.
- (70) Holerca, M.N.; Percec, V. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, *12*, 2257.
- (71) Hamada, Y.; Shibata, M.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 6501.
- (72) Pasquatto, L.; Modena, G.; Cotarca, L.; Delogu, P.; Mantovani, S. *J. Org. Chem*, **2000**, 8224.
- (73) Agami, C.; Comesse, S.; Kadouri-Puchot, C. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1496.
- (74) (a) Ahn, K.H.; Lee, S.; Lim, A. *J.O.C*, **1992**, 5065. (b) Somanathan, R.; Riveiro, I.A.; Nunez, G.I.; Hellberg, L.H. . *Synth. Commun.* , **1994**, 1483. (c) Dhavali, D.D.; Gentilucci, L.; Piazza, M.G.; Trombini, C. *Liebigs. Ann, Chem.* **1992**, 1289. (d) Burk, R.M., *Tetrahedron Letters*, **1993**, 395.
- (75) Lee, L.Y.W.; Hupfield, T.; Nicholson, R.L.; Hodgkinson, J.T.; Su, X.; Thomas, G.L.; Salmond, G.P.; Welch, M.; Spring, D.R.; *Mol. BioSyst.*, **2008**, *1*, 505. (b) Jog, G.J.; Igarashi, J.; Suga, H. *Chemistry & Biology*, **2006**, *13*, 123.
- (76) <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/56395?lang=pt&region=BR>.  
Acessado em 16 de junho de 2017 às 19:23.
- (77) Choi, S.Y.; Yoon, K.-H.; Lee, J.I.; Mitchell, R.J. *Biomed. Res. Int.*, **2015**, (b) Lichstein, H.C.; Van de Sand, V.F. *J Infect Dis*, **1945**, *76*, 47.
- (78) Teoh, A.Y.; Hui, M.; Wong, J.; Lee, K.F.; Lai, P.B. *Hong Kong Med. J.* **2006**, *12*, 228.
- (79) (a) Duran, N. *Ciencia Hoje*, **1990** ,*11*, 58. (b) Duran, N.; Menck, C.F.M. *Crit. Rev. Mibrobiol.*; **2001**, *27*, 201.
- (80) Swern, L.R.; Swern. D.L.; O'Loughlin, C.T.; Gatmaitan, R.; Zhao, B.; Ulrich, S.M.; Bassler, B.L. *Molecular Cell*, **2009**, 143.
- (81) Gerdt, J.P.; McInnis, C.E.; Schell, T.L.; Blackwell, H.E. *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, 1453.



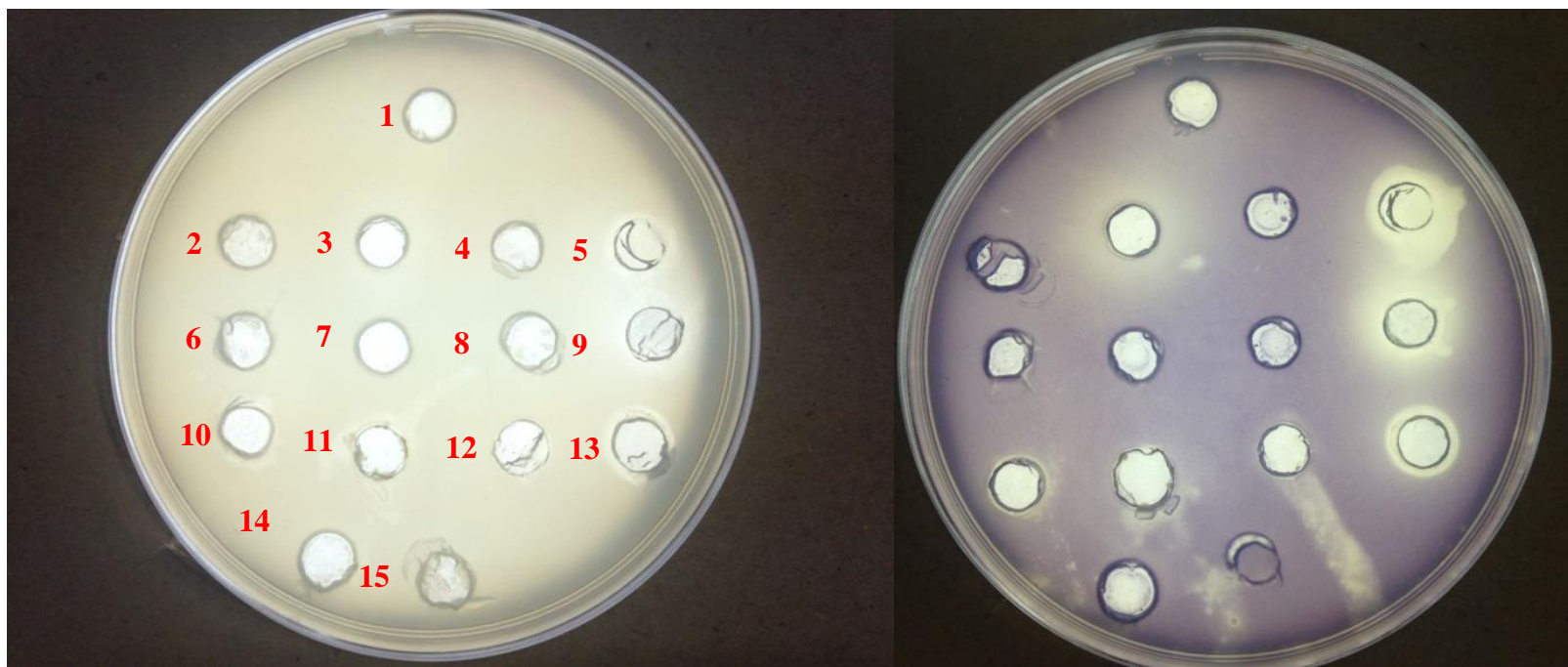
(82) Amargo, W. L. F.; Perrin, D. D. *Purification of Laboratory Chemicals* **2000**.

# Anexos

1. Imagens das placas de Petri dos ensaios biológicos.



Anexo 1 – Culturas teste sobre a resistência a canamicina. A: diluição 1 para 10 da solução da cepa; B: diluição 1 para 100 da solução da cepa; C: diluição 1 para 1000 da solução da cepa;



**Teste T0 - Placa controle e placa teste.**

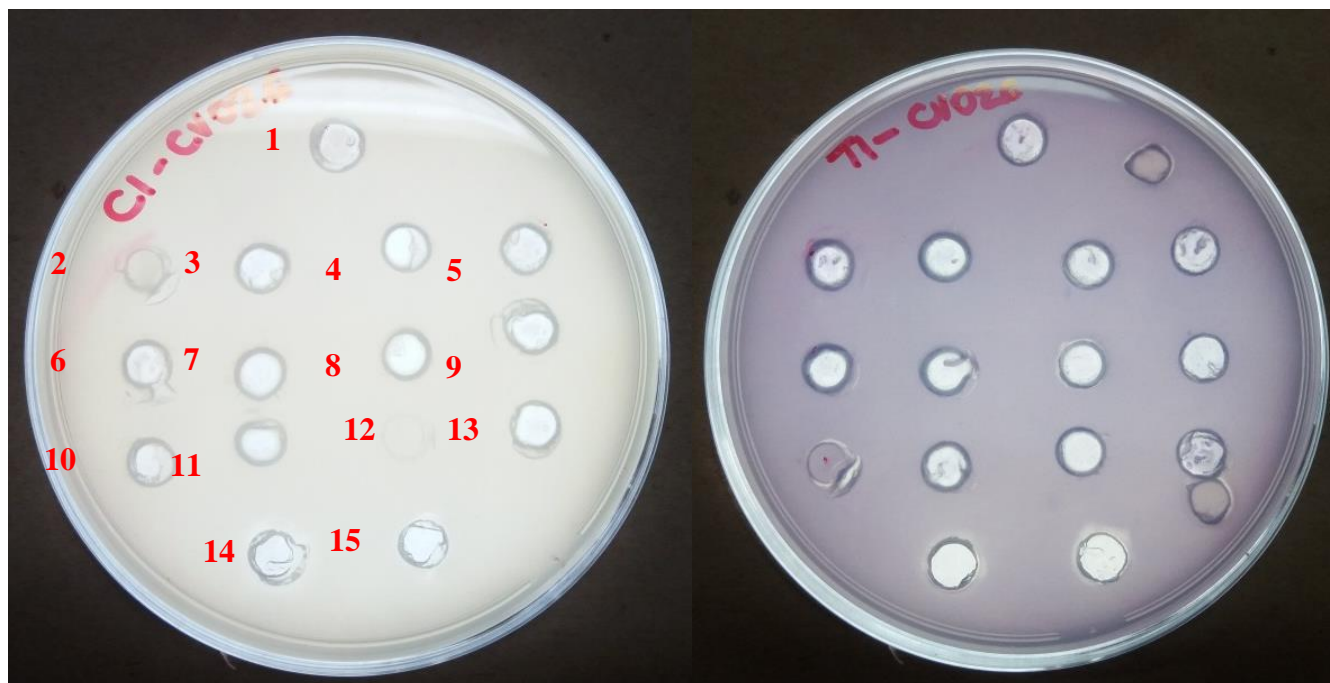
1-Fenil-2-oxazolina (100 mM)

2-Fenil-2-oxazolina (10 mM) – 3- Cinamida (100 mM) – 4 - Cinamida (10mM) – 5 - Nonamida (100 mM)

6 -Nonamida (10mM) – 7 -Decil-2-oxazolina (100 mM) – 8 -Decil-2-oxazolina (10 mM) – 9 - Decamida (100 mM)

10 -Decamida (10mM) – 11 - Dodecil-2-oxazolina (100mM) – 12 - (Dodecil-2-oxazolina (10 mM) – 13- Cinamil-2-oxazolina (100 mM)

14 - Etanol 40% - 15 - Cinamil-2-oxazolina (10 mM).



**Teste T1 – Placa controle e placa teste**

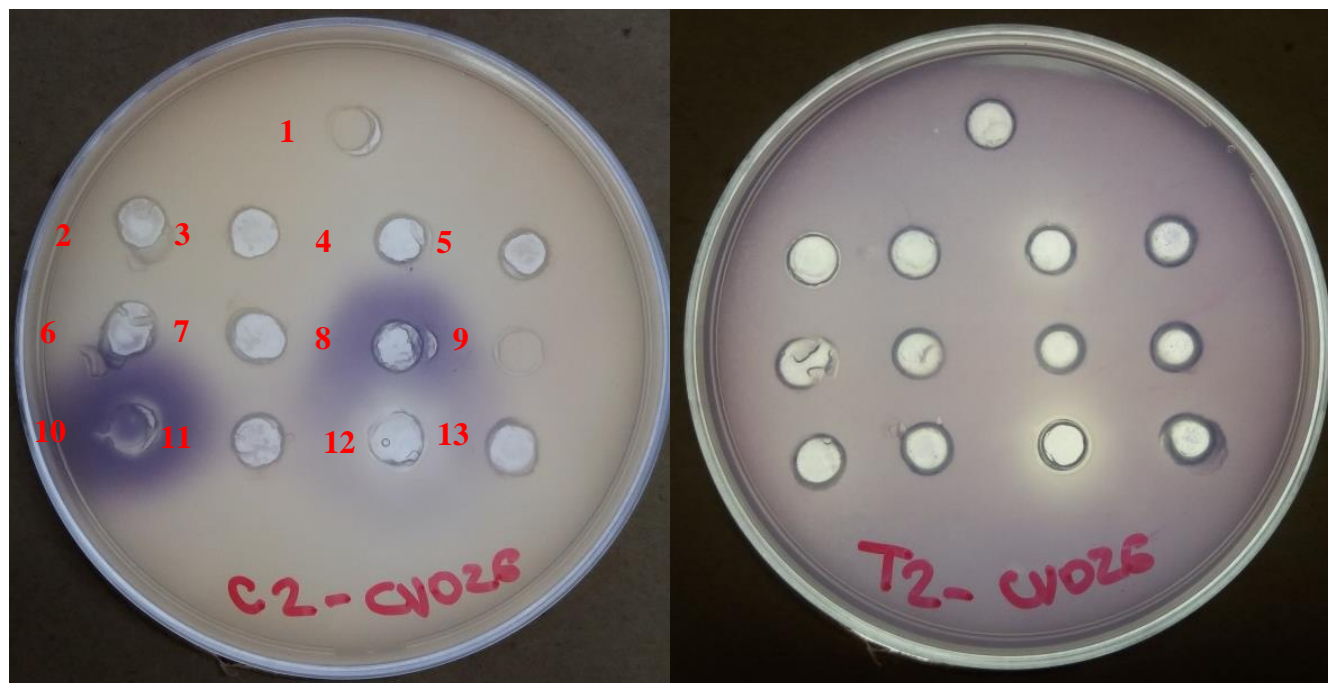
1 - Solvente

2- Cinamida (1 mM) –3- Cinamida (0,1 mM) –4 - Decamida (1mM) – 5 - Decamida (0,1 mM)

6 - Nonamida (1 mM) – 7 -Nonamida (0,1 mM) – 8 - Dodecamida (1mM) – 9 - Dodecamida (0,1 mM)

10 -Cinamil-2-oxazolina (1 mM) – 11 - Cinamil-2-oxazolina (0,1 mM) – 12 - Fenil-2-oxazolina (1mM) – 13 - Fenil-2-oxazolina (0,1 mM)

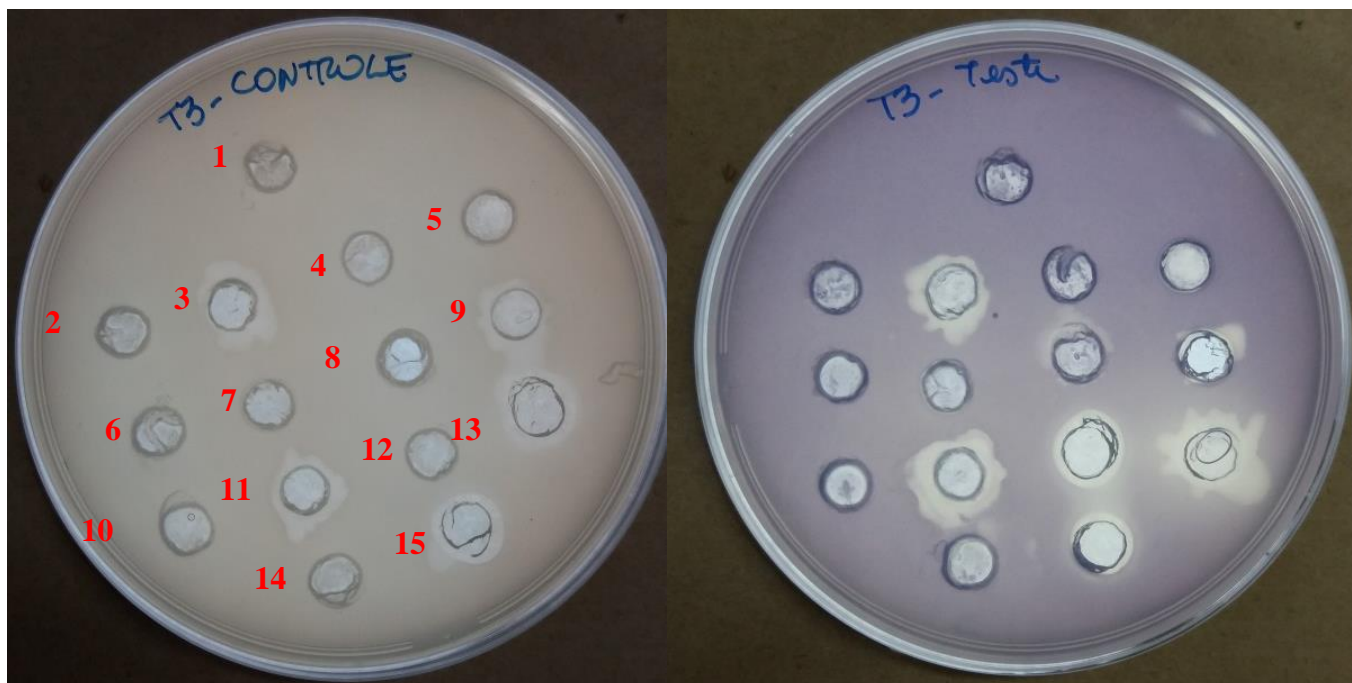
14 - Dodecil-2-oxazolina (1mM) – 15 - Dodecil-2-oxazolina (0,1 mM)



**Teste T2 – Placa controle e placa teste.**

1 -Solvente

- 2 - Fenilamida (100 mM) – 3 - Fenilamida (10 mM) – 4 - Tiofenilamida (100mM) – 5 - Tiofenilamida (10 mM)  
6 - Benzilamida (100 mM) – 7 - Benzilamida (10 mM) – 8 - Ciclopentenamida (100mM) – 9 - Ciclopentenamida (10 mM)  
10 -Heptamida (100 mM) – 11 - Heptamida (10 mM) – 12 - Octamida (100mM) – 13 - Octamida (10 mM)



**Teste T3 – Placa controle e placa teste dos ácidos carboxílicos**

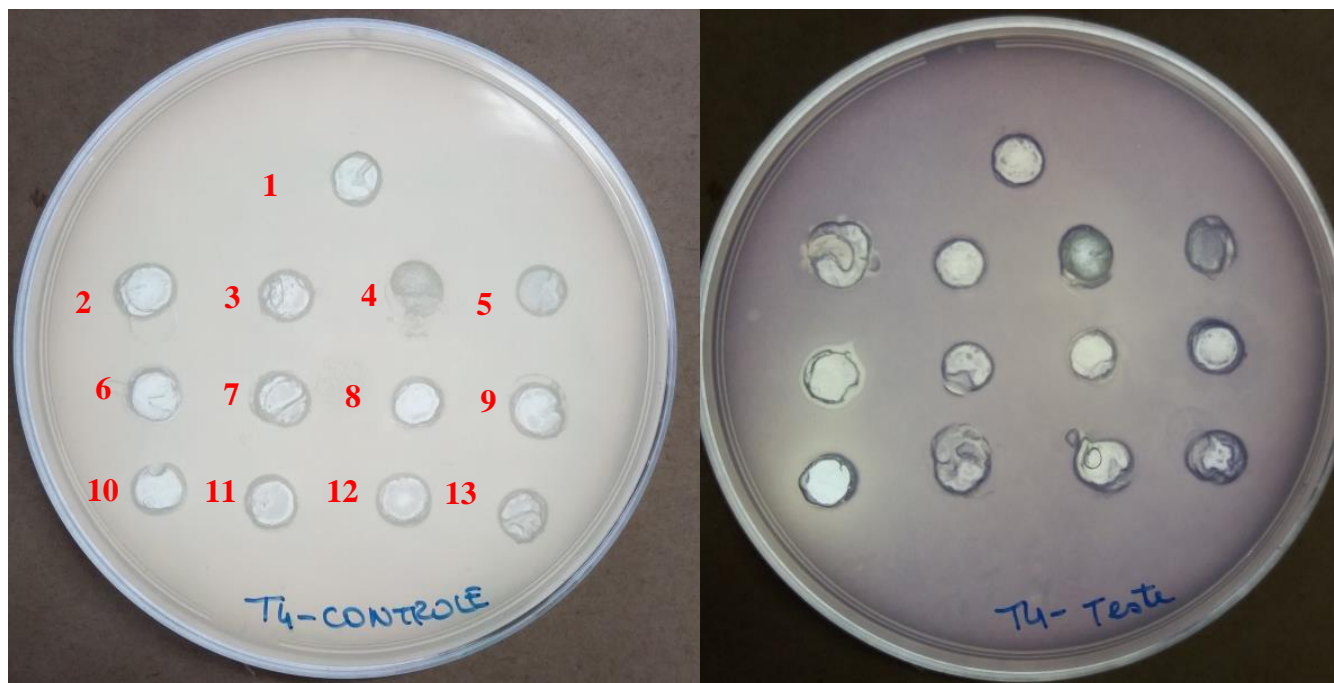
1 - Solvente

2- Octanóico (10 mM) – 3- Octanóico (100 mM) – 4 - Heptanóico (10 mM) – 5 - Heptanóico (100 mM)

6 - Ciclopentenóico (10 mM) – 7 -Ciclopentenóico (100 mM) – 8 - nonanóico (10 mM) – 9 - Nonanóico (100mM)

10- Decanoico (10 nM) – 11 - Decanóico (100 mM) – 12 –Tiofenilacético (10 mM) – 13 - Tiofenilacético (100mM)

14 - Fenilacético (10 mM) – 15 - Fenilacético (100 mM)



**Teste T4 – Placa controle e placa teste ácidos carboxílicos II.**

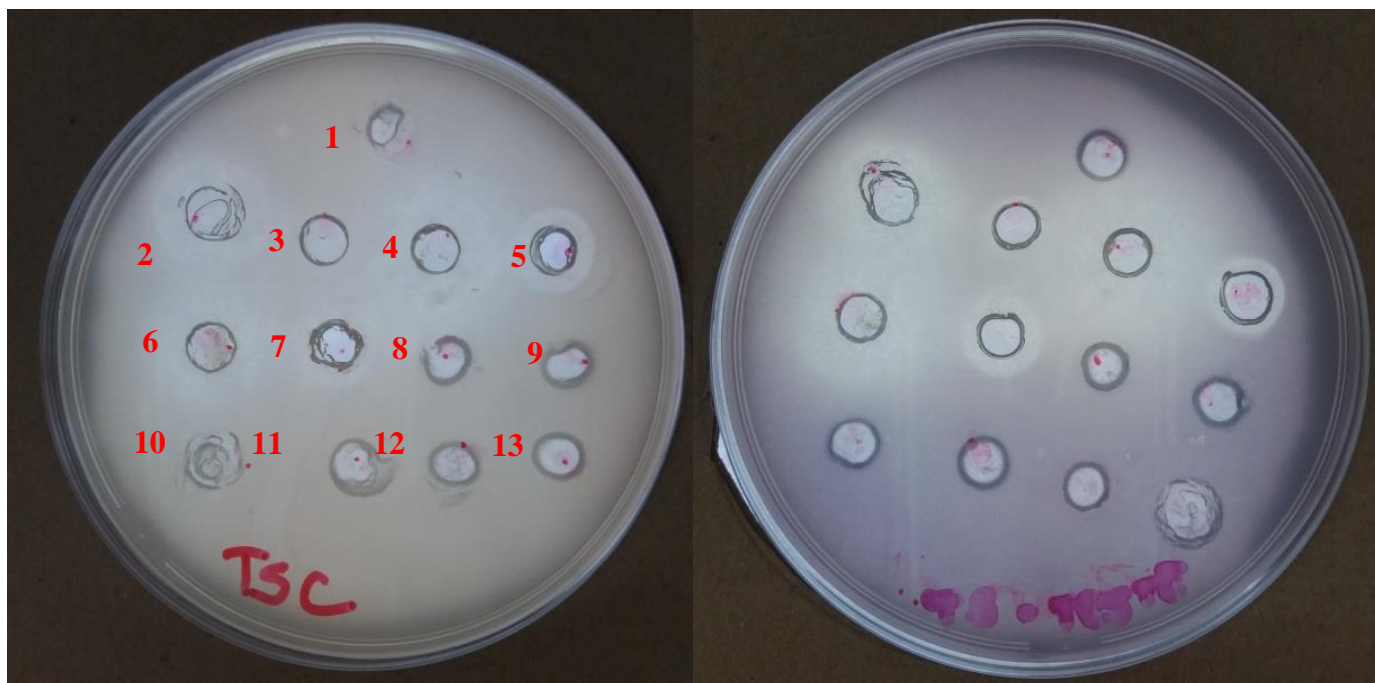
1 - Solvente

2 - Esteárico(1 mM) – 3 - Esteárico (0,1 mM) – 4 - Dodecanóico (100 mM) – 5 - Dodecanóico (10 mM)

6 - Oléico (1 mM) – 7 - Oleico (0,1 mM) – 8 - Benzóico (100 mM) – 9 - Benzóico (10 mM)

10 - Óleo de soja (100 mM) – 11 - Oleo de soja (10 mM) – 12 - Cinâmico (100 mM) – 13 - Cinâmico (10 mM)





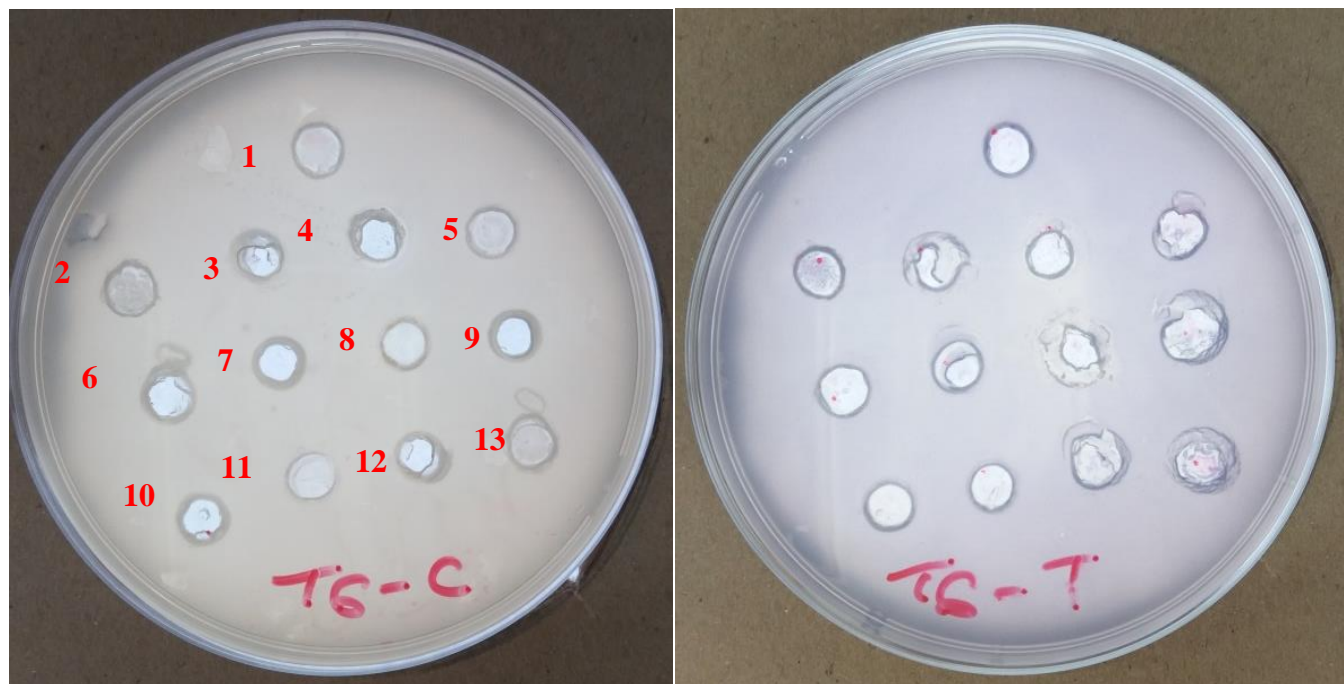
**Teste T5 – Placa controle e placa teste.**

1 - Solvente

2 - Heptil-2-oxazolina (100 mM) – 3- Heptil-2-oxazolina (10 mM) – 4 - Octil-2-oxazolina (100 mM) – 5 - Octil-2-oxazolina (10 mM)

6 - Nonil-2-oxazolina (100 mM) – 7 - Nonil-2-oxazolina (10 mM) – 8 - Ac. Estéarico (1 mM) – 9 - àc. Esteárico (0,1 mM)

10 - Estearil-2-oxazolina (1 mM) – 11 - Estearil-2-oxazolina (0,1 mM) - 12 - Oleil-2-oxazolina (1 mM) – 13 - Oleil-2-oxazolina (0,1 mM).



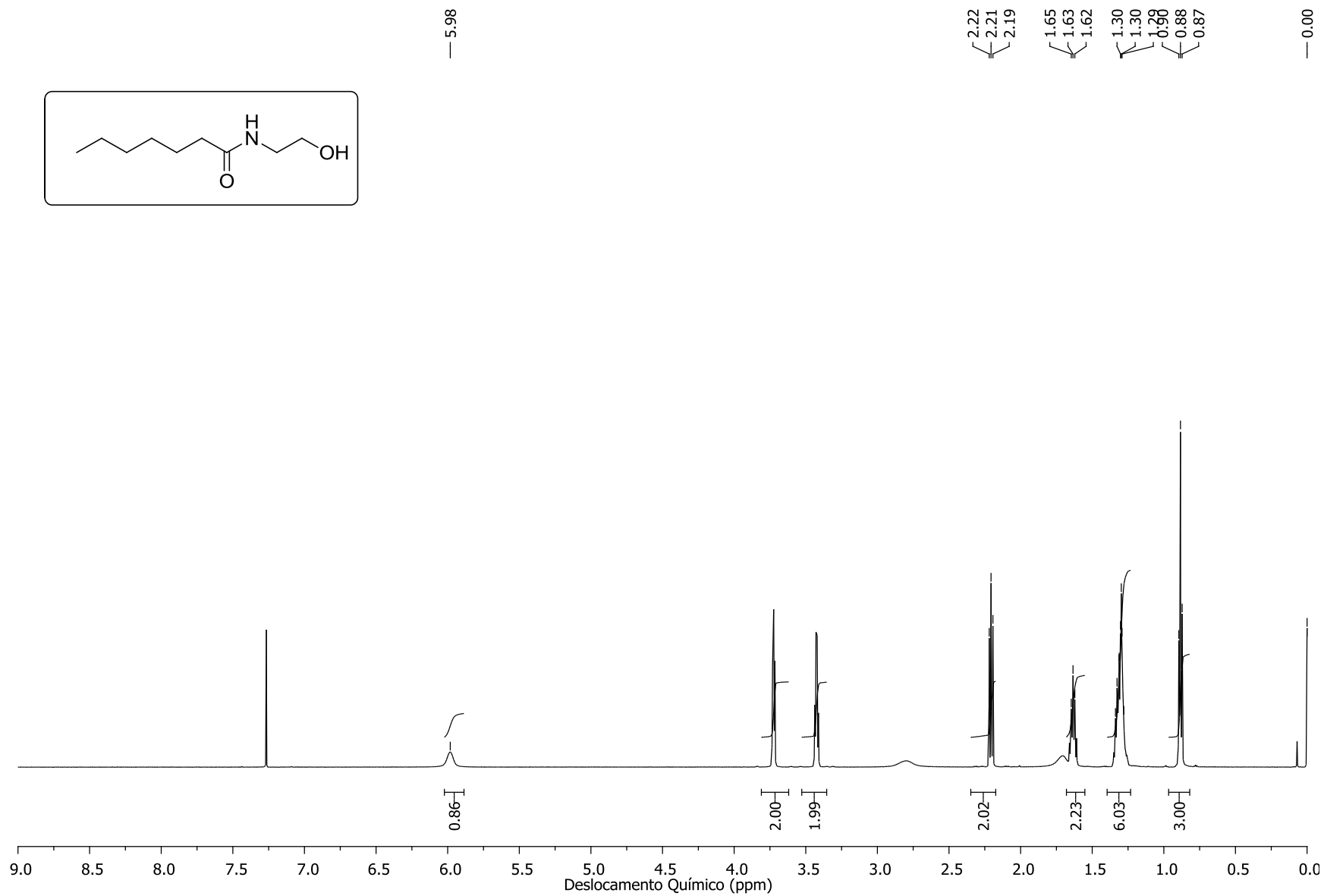
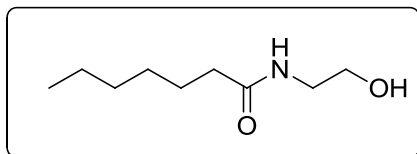
**Teste T6 – Placa controle e placa teste.**

1 - Solvente

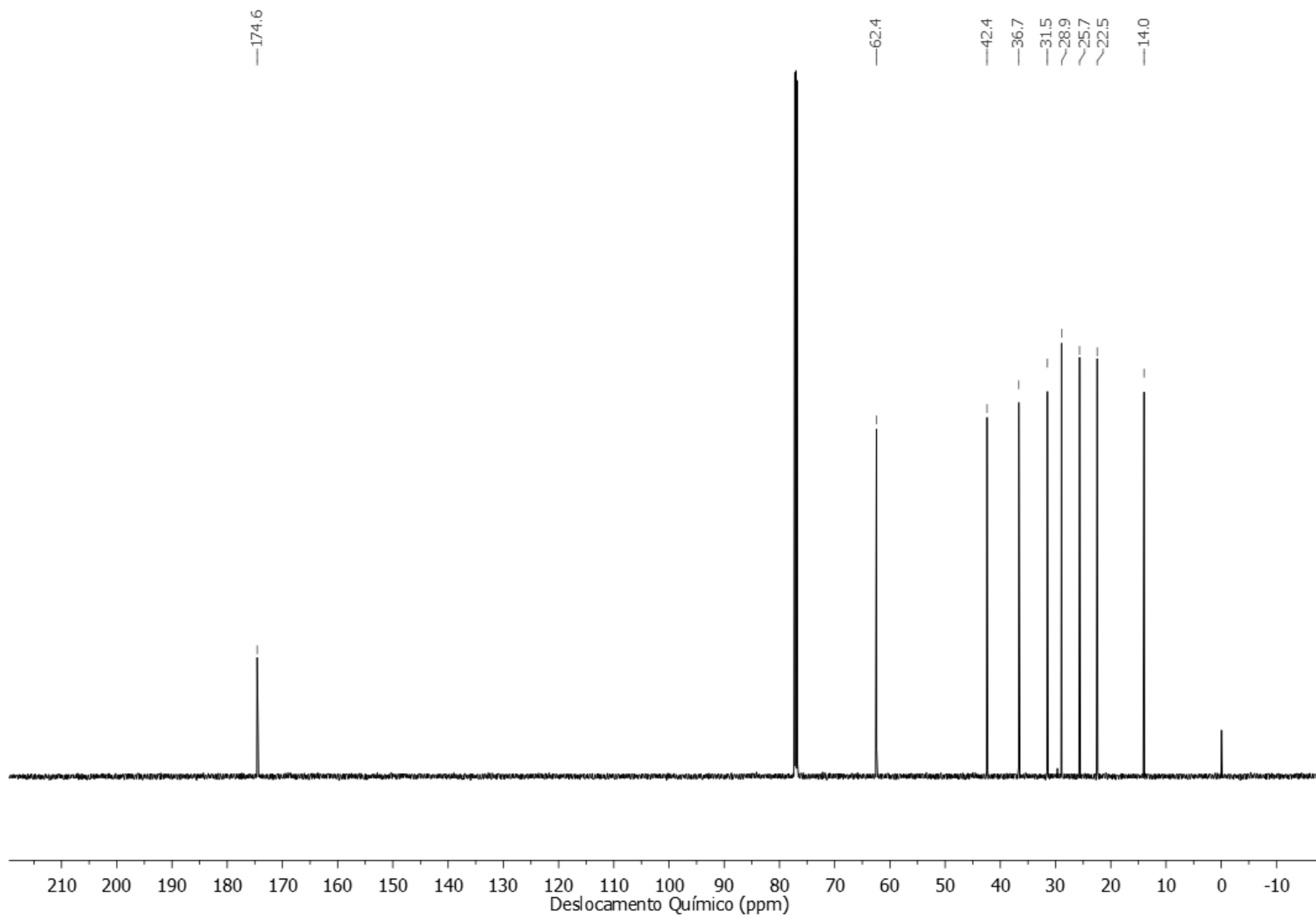
2 - Oleiamida (1 mM) – 3 - Oleiamida (0,1mM) – 4 - Amida óleo (1 mM) – 5 - Amida óleo (0,1 mM)

6 - Ciclopenten-2-oxazolina (100 mM) – 7 - Ciclopenten-2-oxazolina (10 mM) – 8 - Oxa.óleo (1 mM) – 9 - Oxa.óleo (0,1 mM)

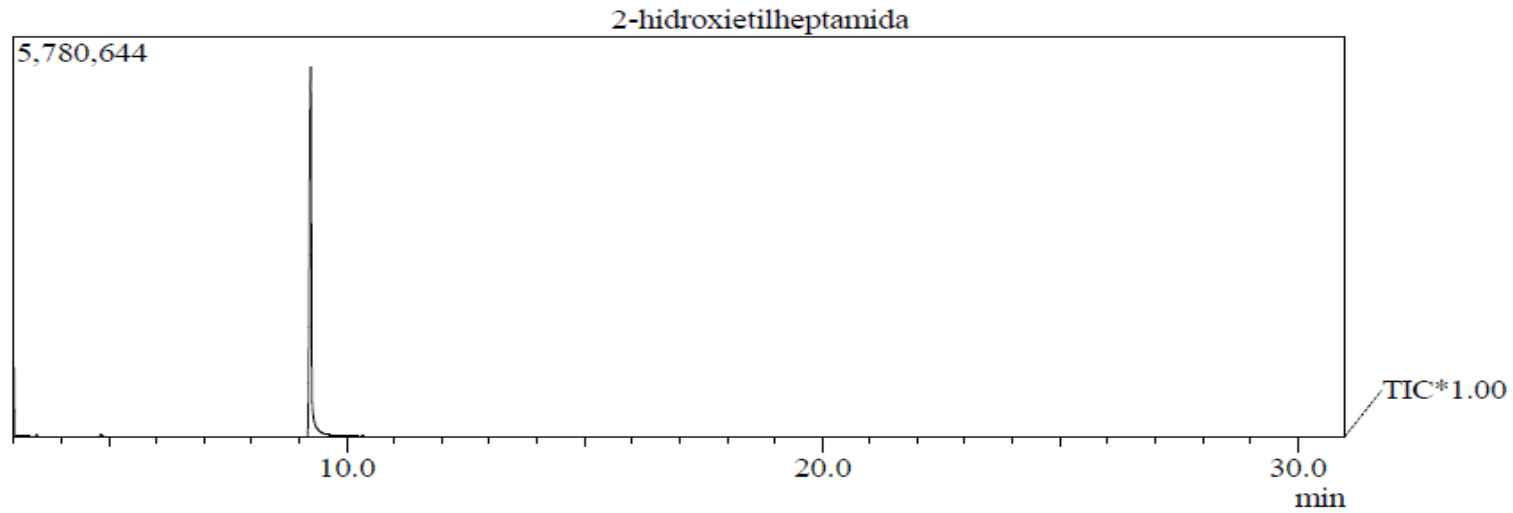
10 - Àc. Dodecanócio (1 mM) – 11 - àc. Dodecanóico (0,1 mM) – 12 - Estreamida (1 mM) – 13 - Estreamida (0,1 mM).



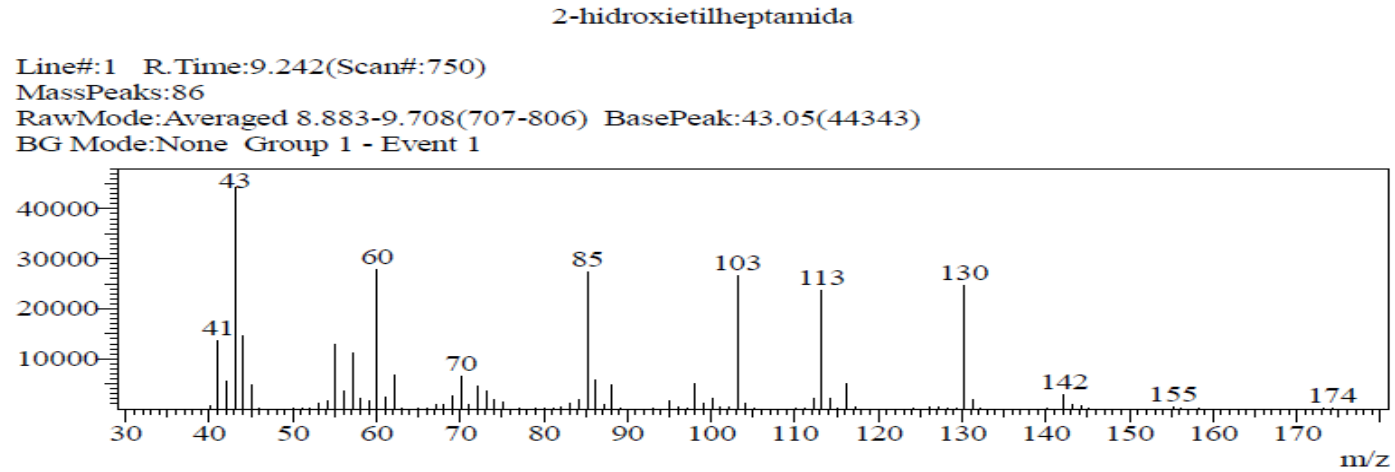
**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylheptamida.**



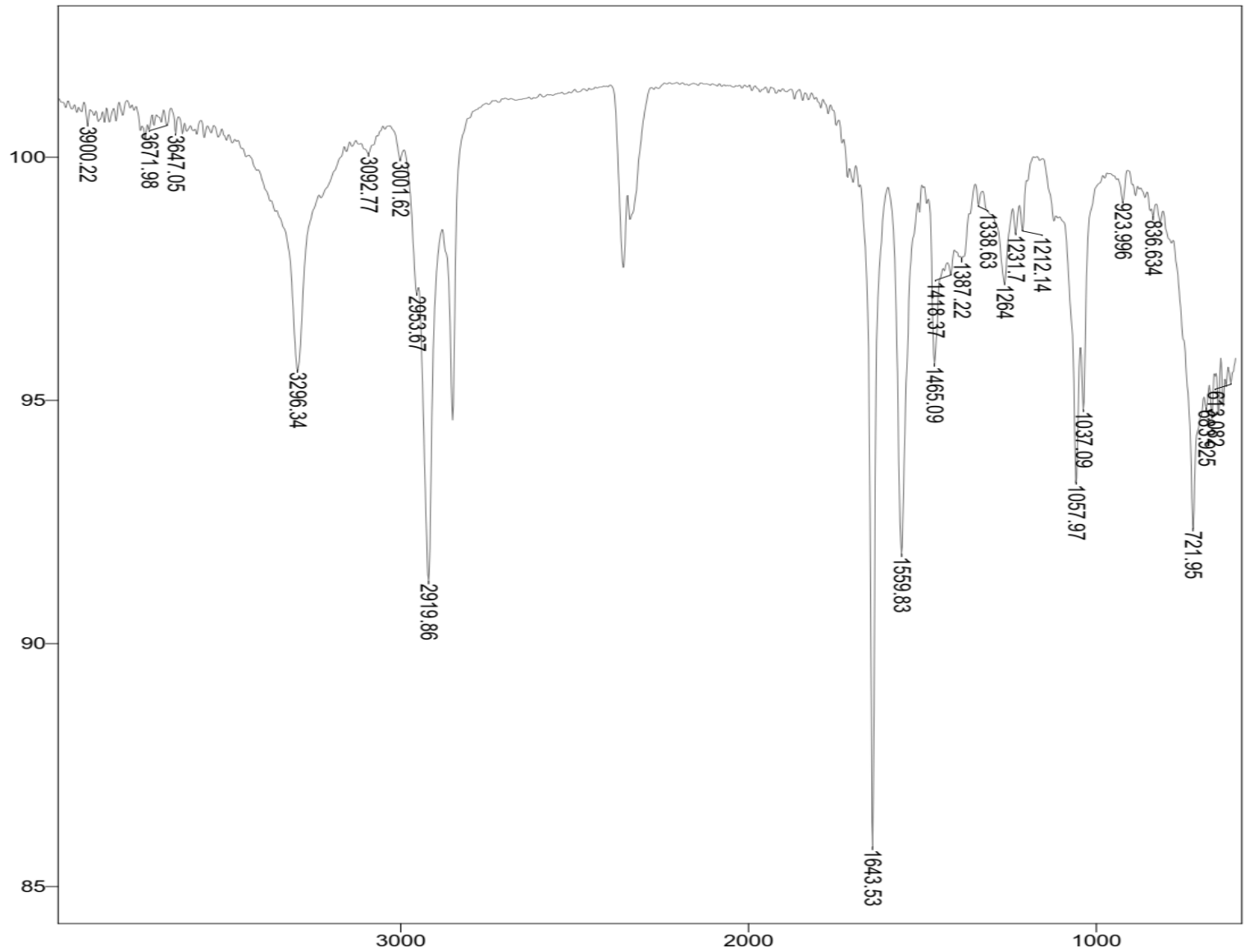
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylamida.**



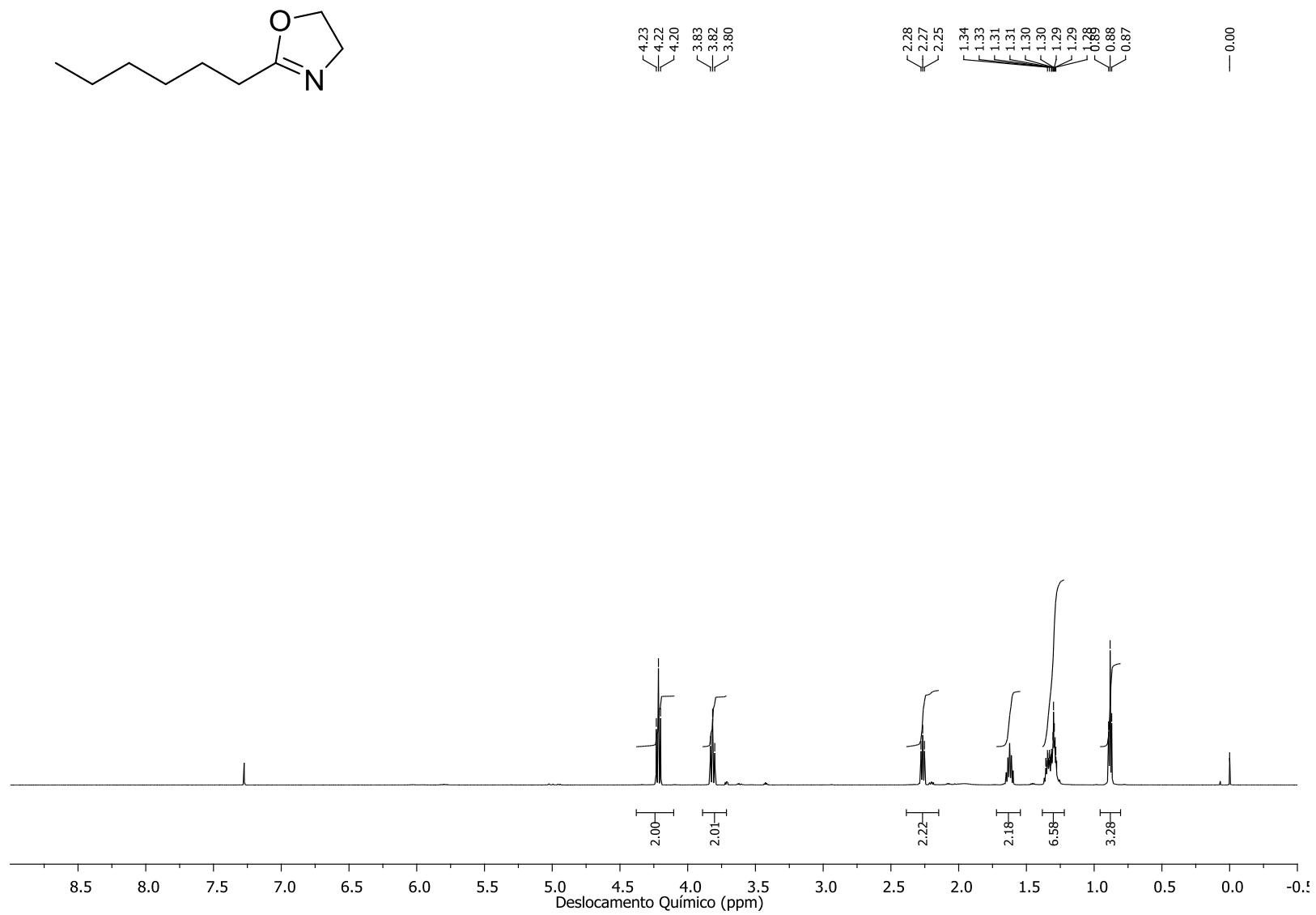
**Cromatograma da 2-hidroxietylheptamida.**



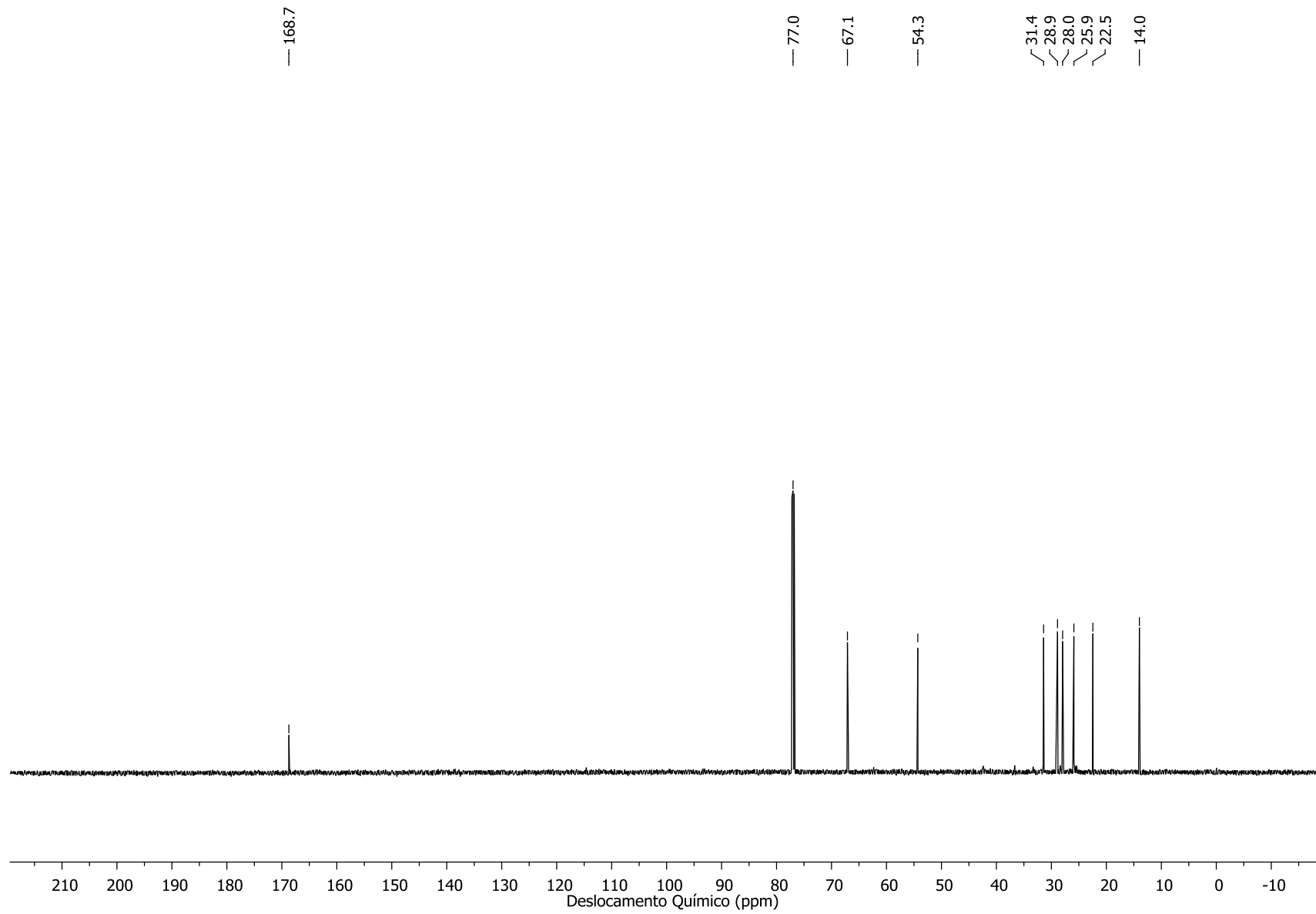
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxietylheptamida**



**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxietilheptamida.**

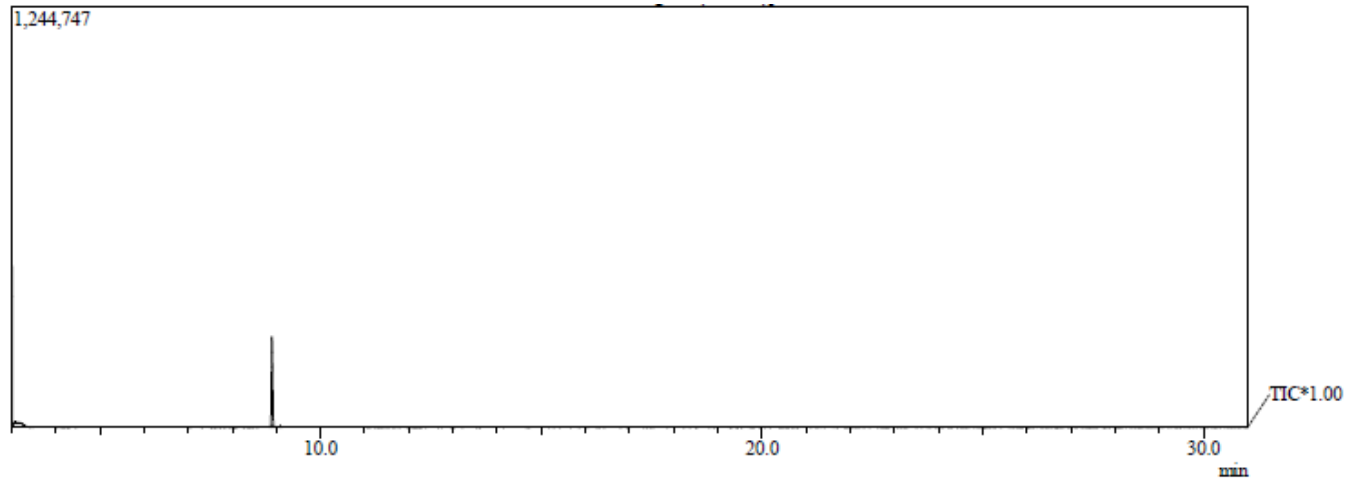


**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Heptil-2-oxazolina..**



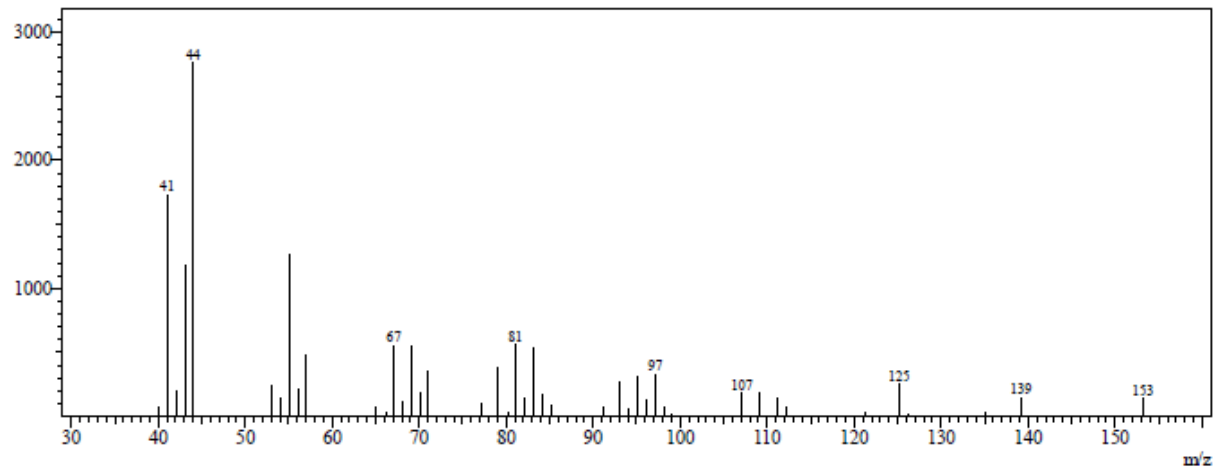
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Heptil-2-oxazolina.**



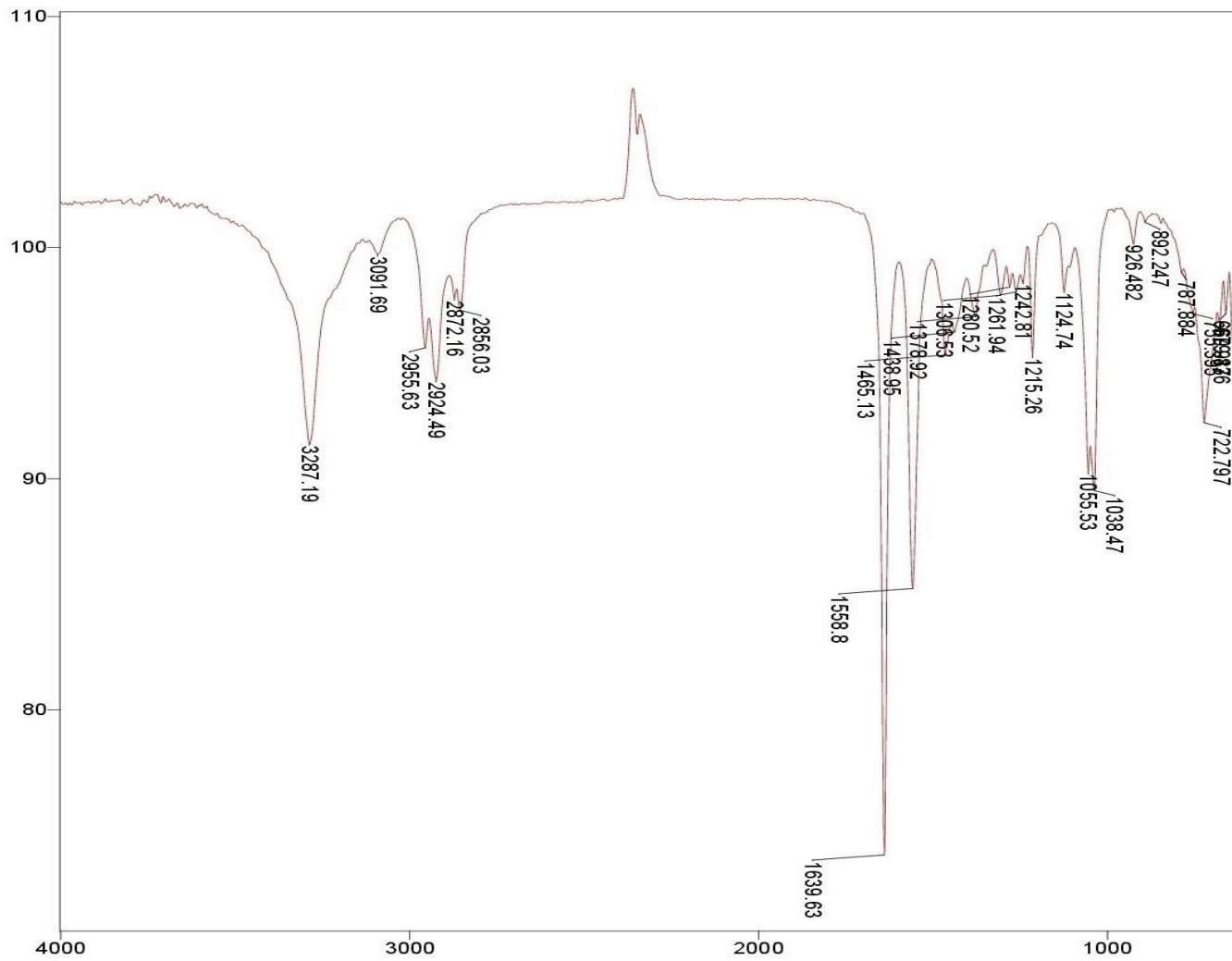


**Cromatograma da heptil-2-oxazolina.**

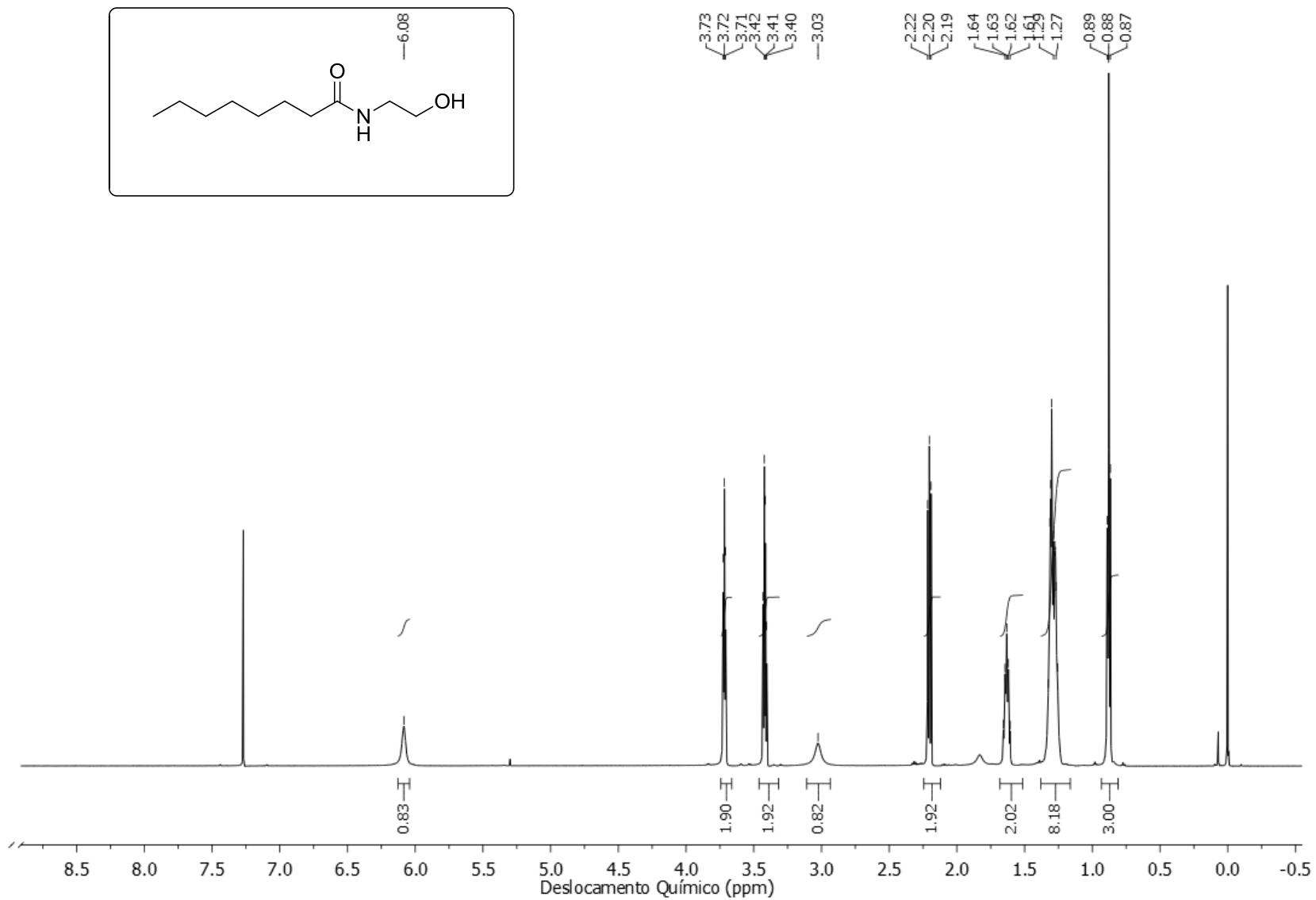
Line#:1 R.Time:8.900(Scan#:709)  
 MassPeaks:43  
 RawMode:Averaged 8.675-9.300(682-757) BasePeak:44.00(2759)  
 BG Mode:None Group 1 - Event 1



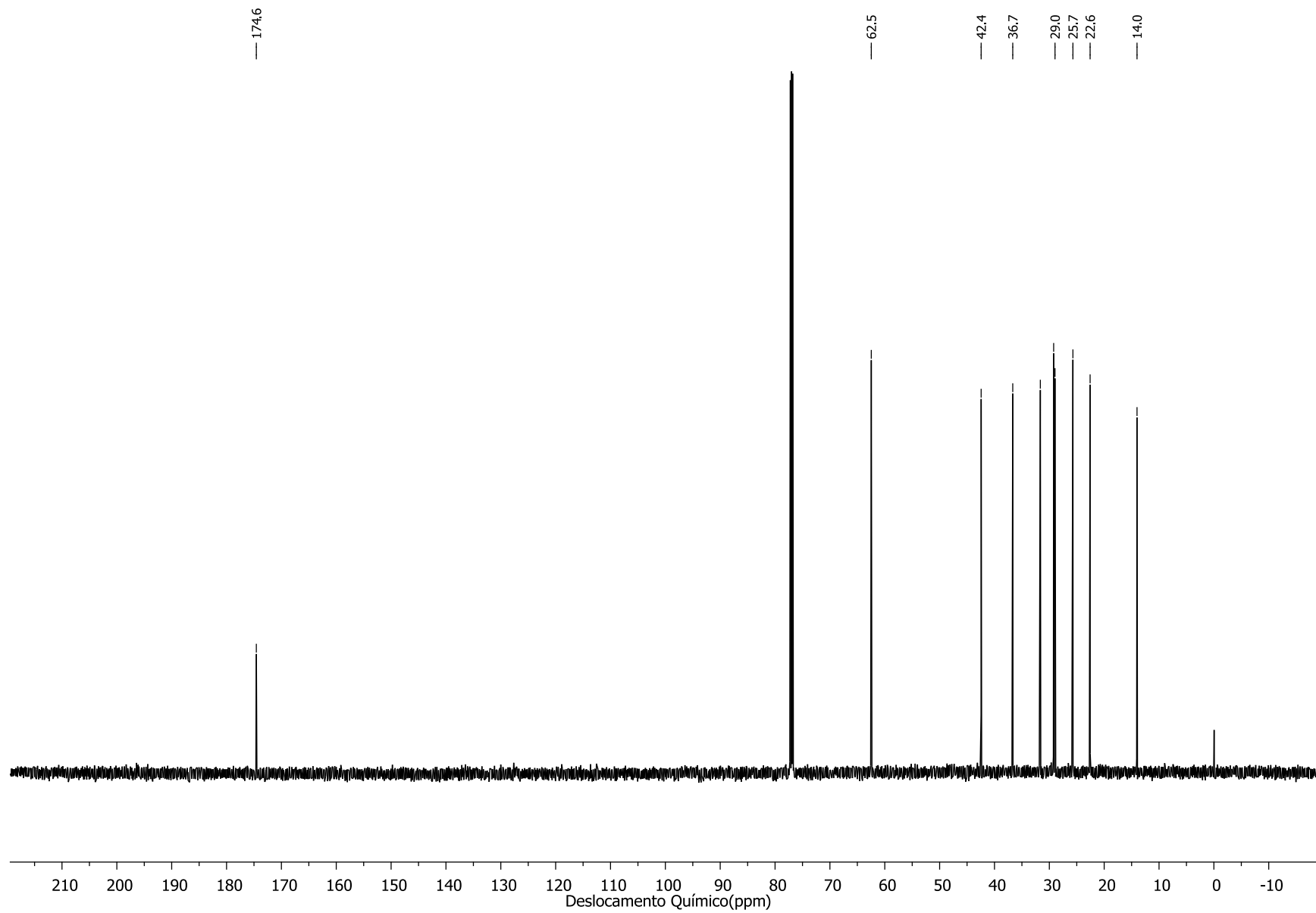
**Espectro (EM 70 eV m/z) – Heptil-2-oxazolina.**



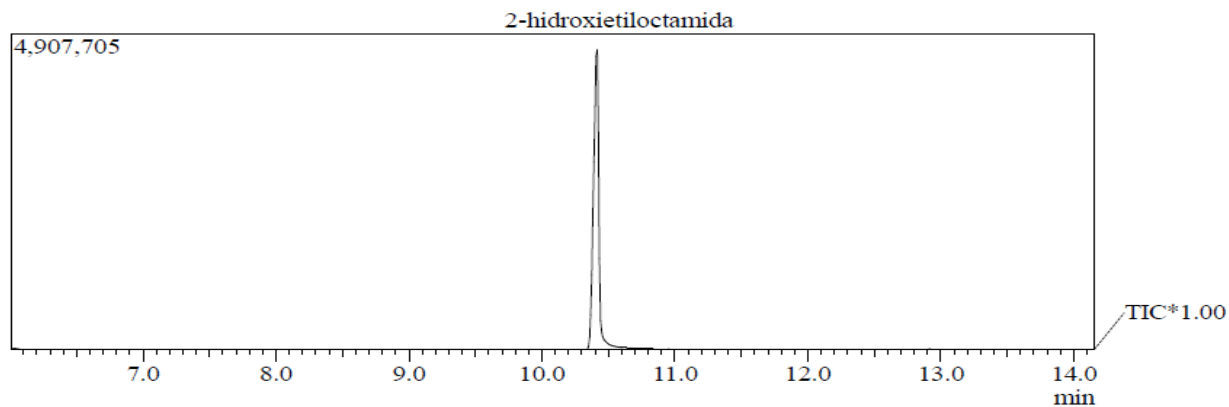
**Espectro de Infravermelho (ATR) – Heptil-2-oxazolina.**



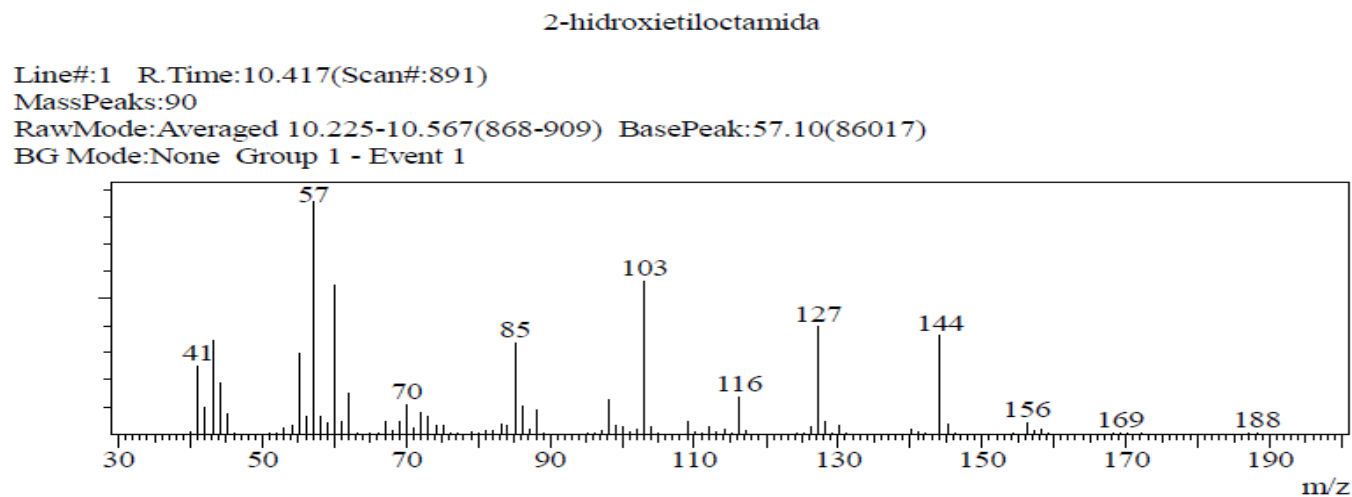
**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylamida.**



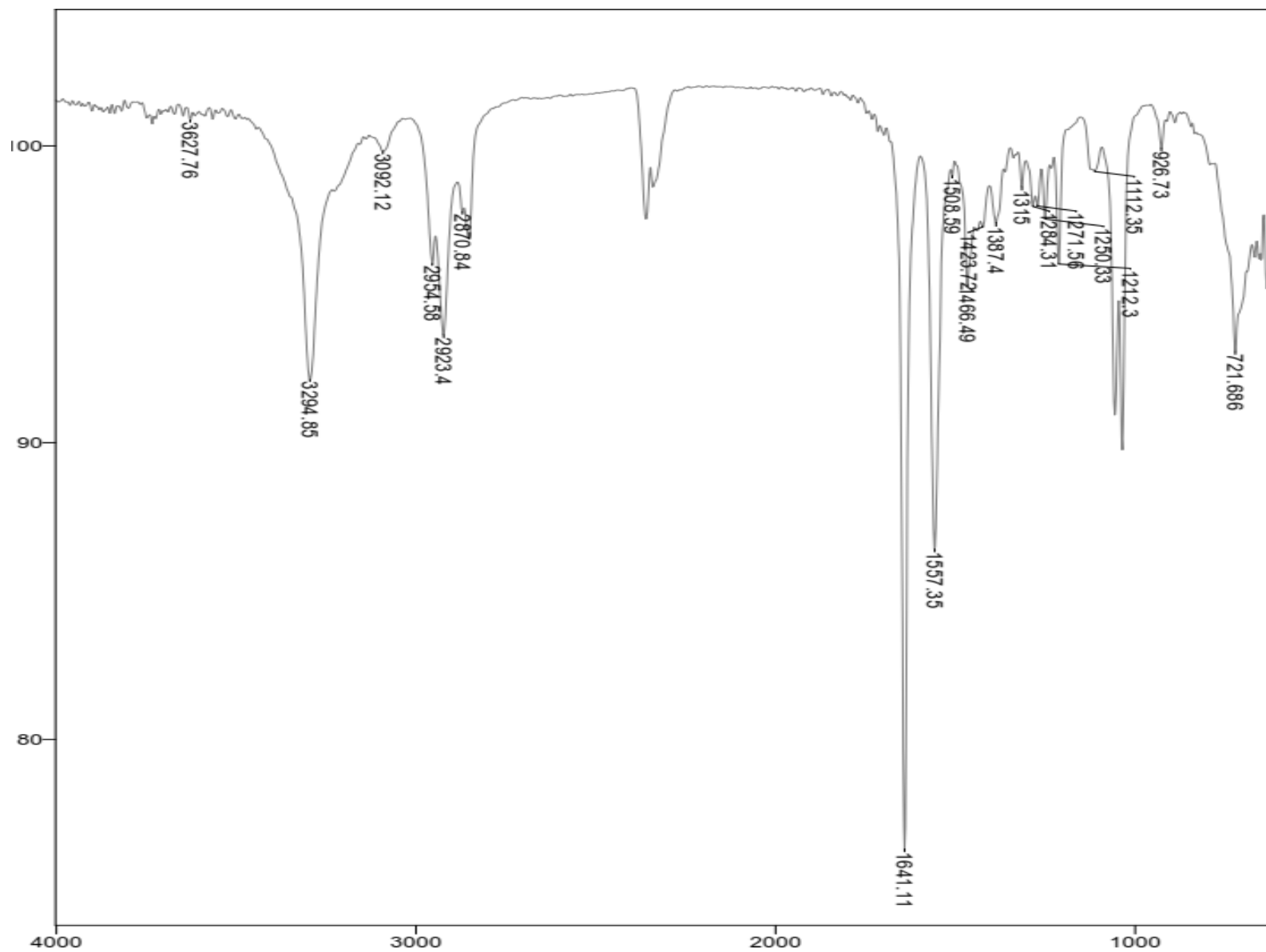
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethyl octamida.**



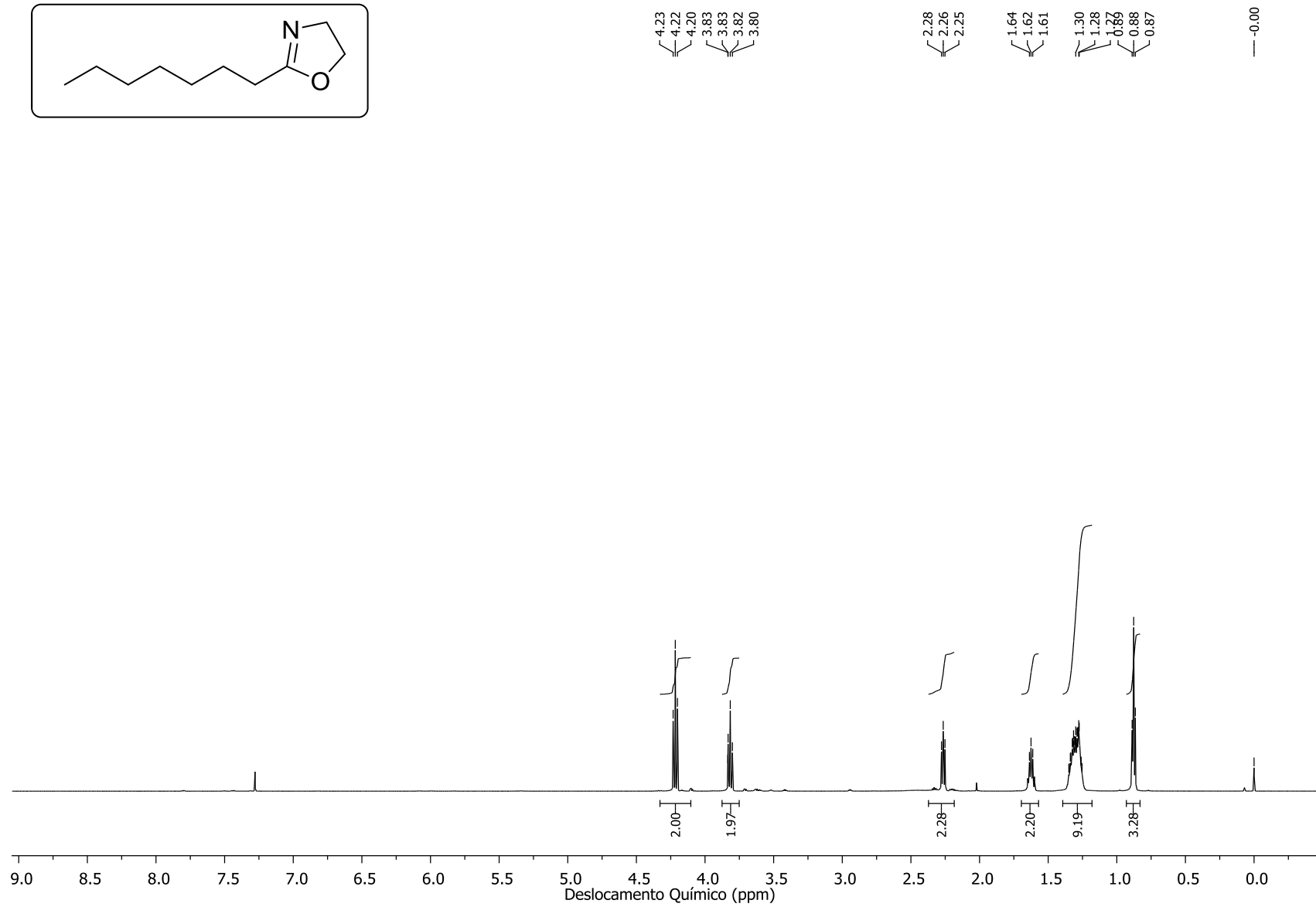
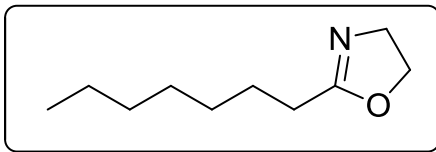
**Cromatograma da 2-hidroxiethyloctamida.**



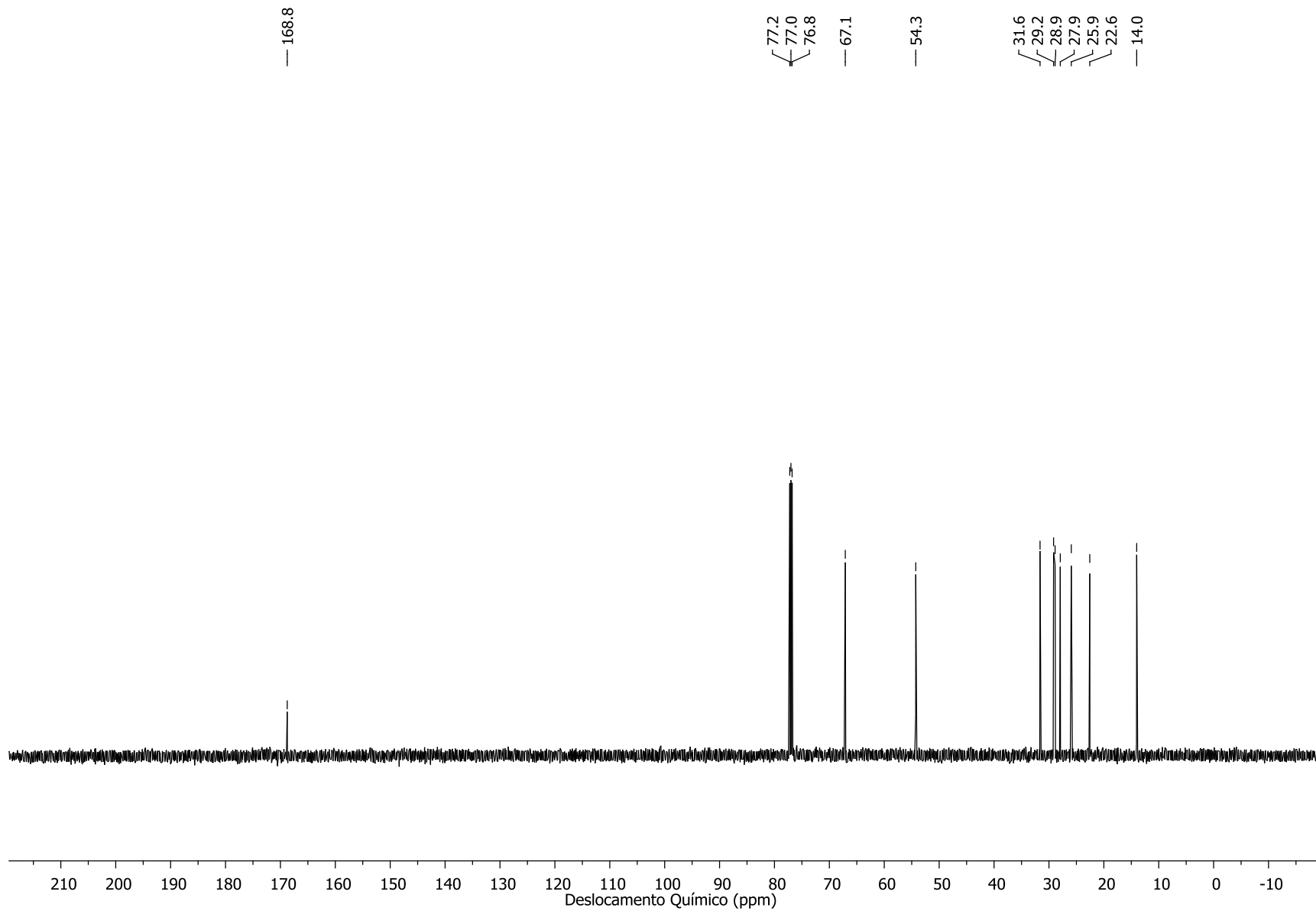
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxiethyloctamida**



**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxiethyl octamida.**

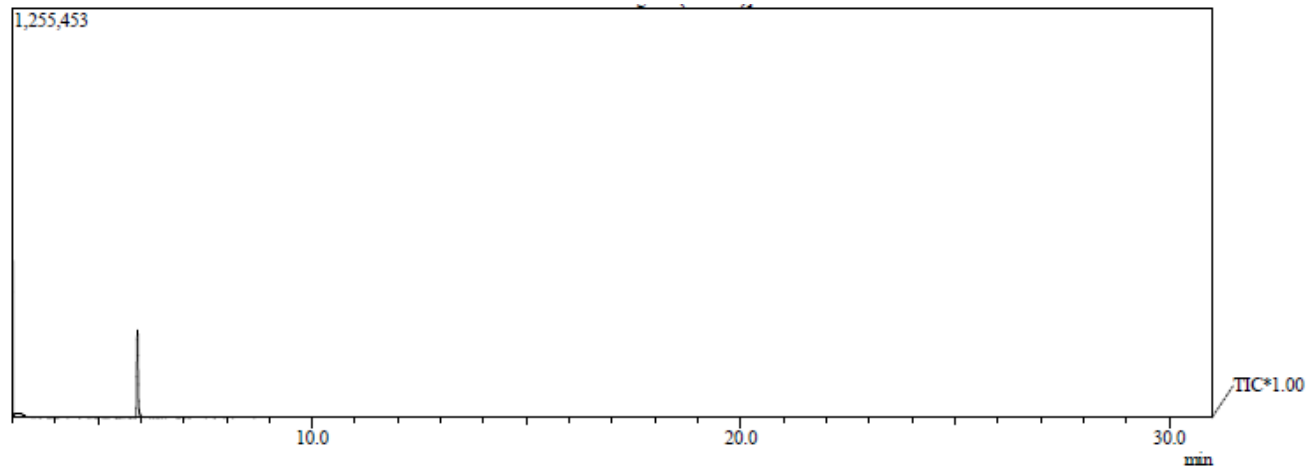


**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Octil-2-oxazolina.**



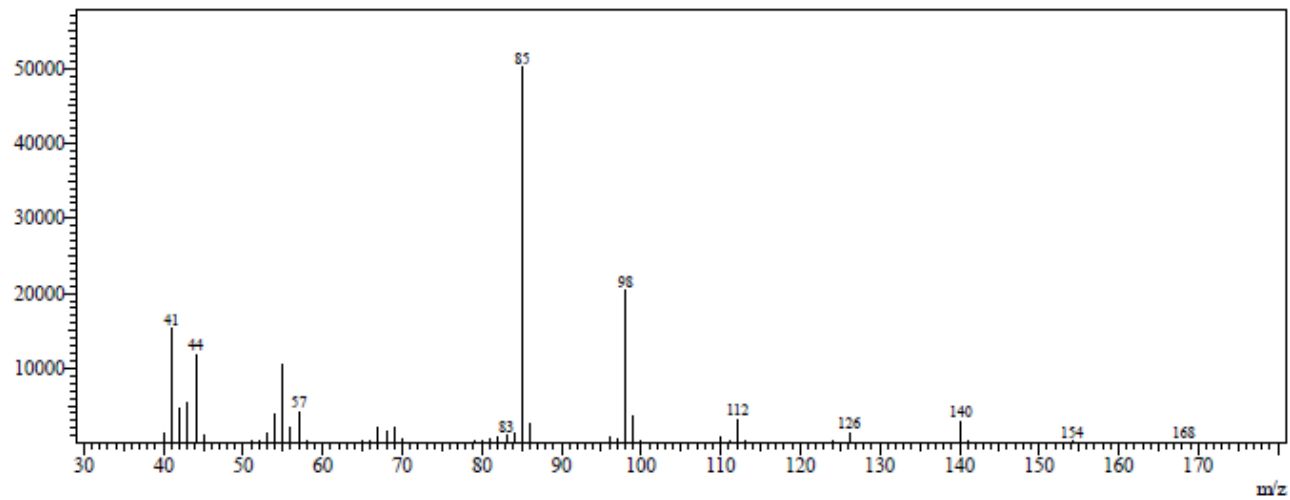
Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Octil-2-oxazolina.



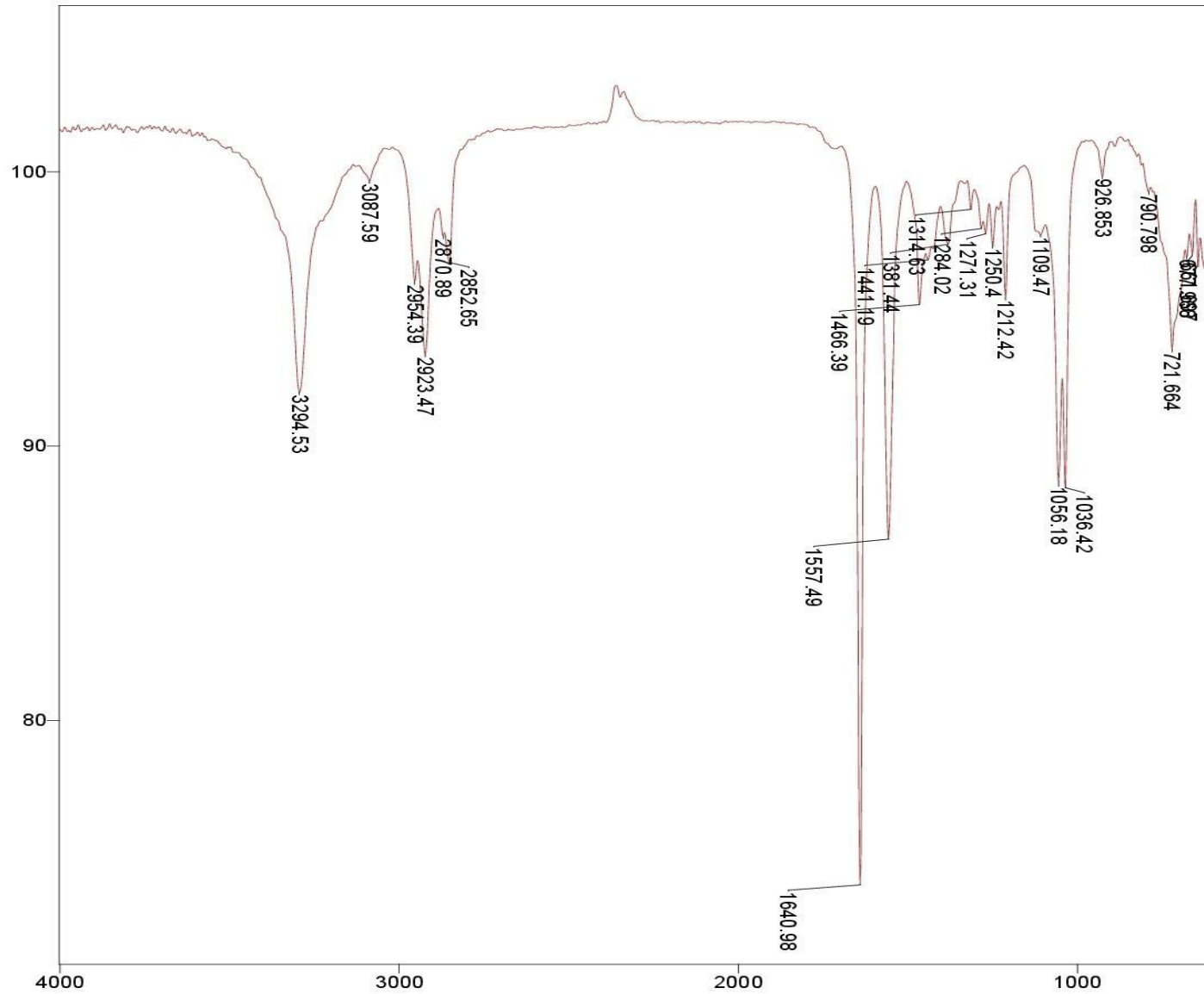


**Cromatograma da octil-2-oxazolina.**

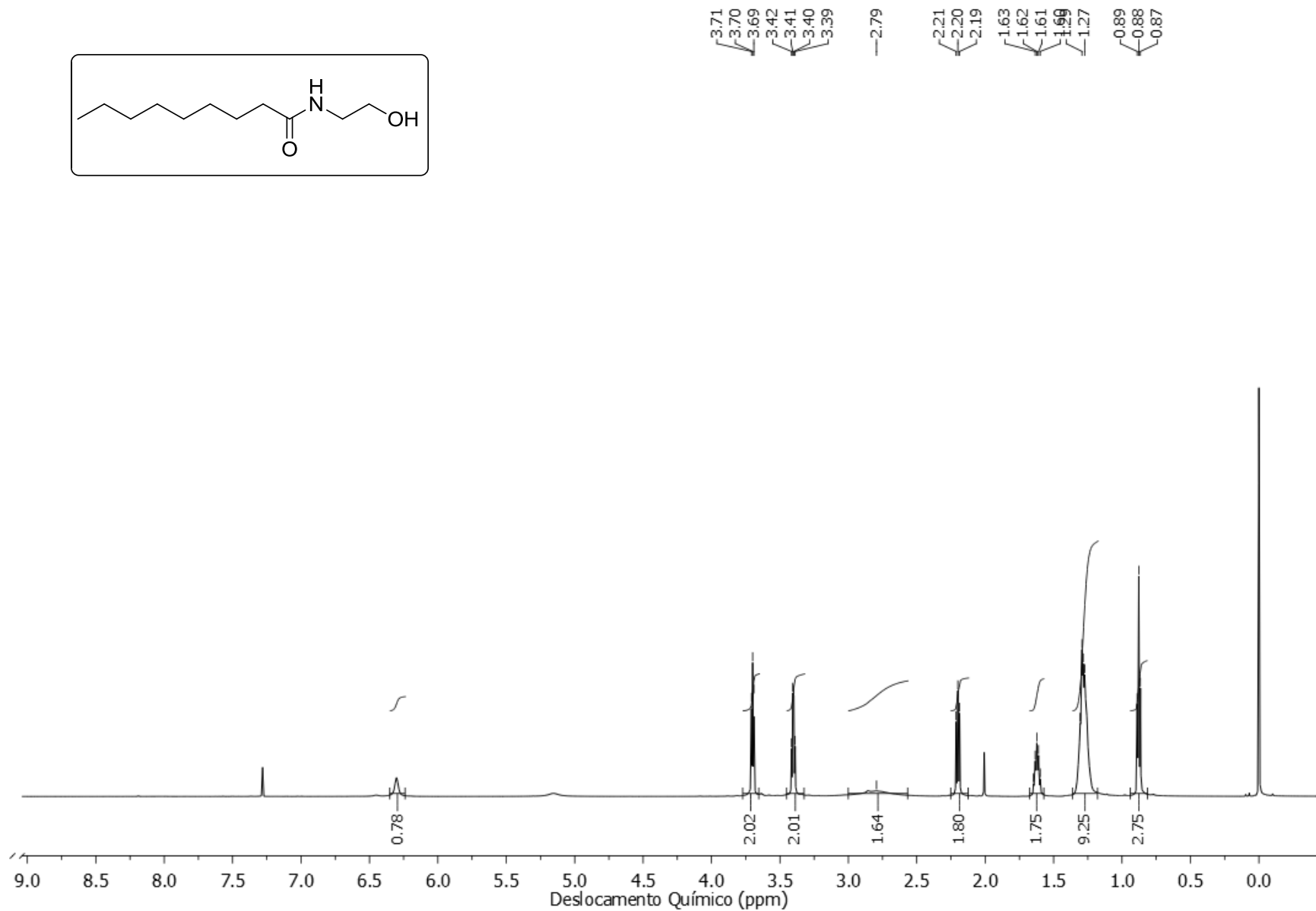
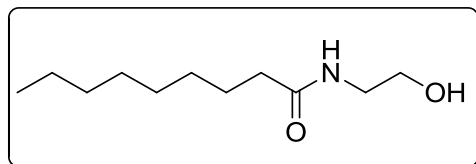
Line#:1 R.Time:5.925(Scan#:352)  
MassPeaks:59  
RawMode:Averaged 5.467-6.325(297-400) BasePeak:85.05(50125)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



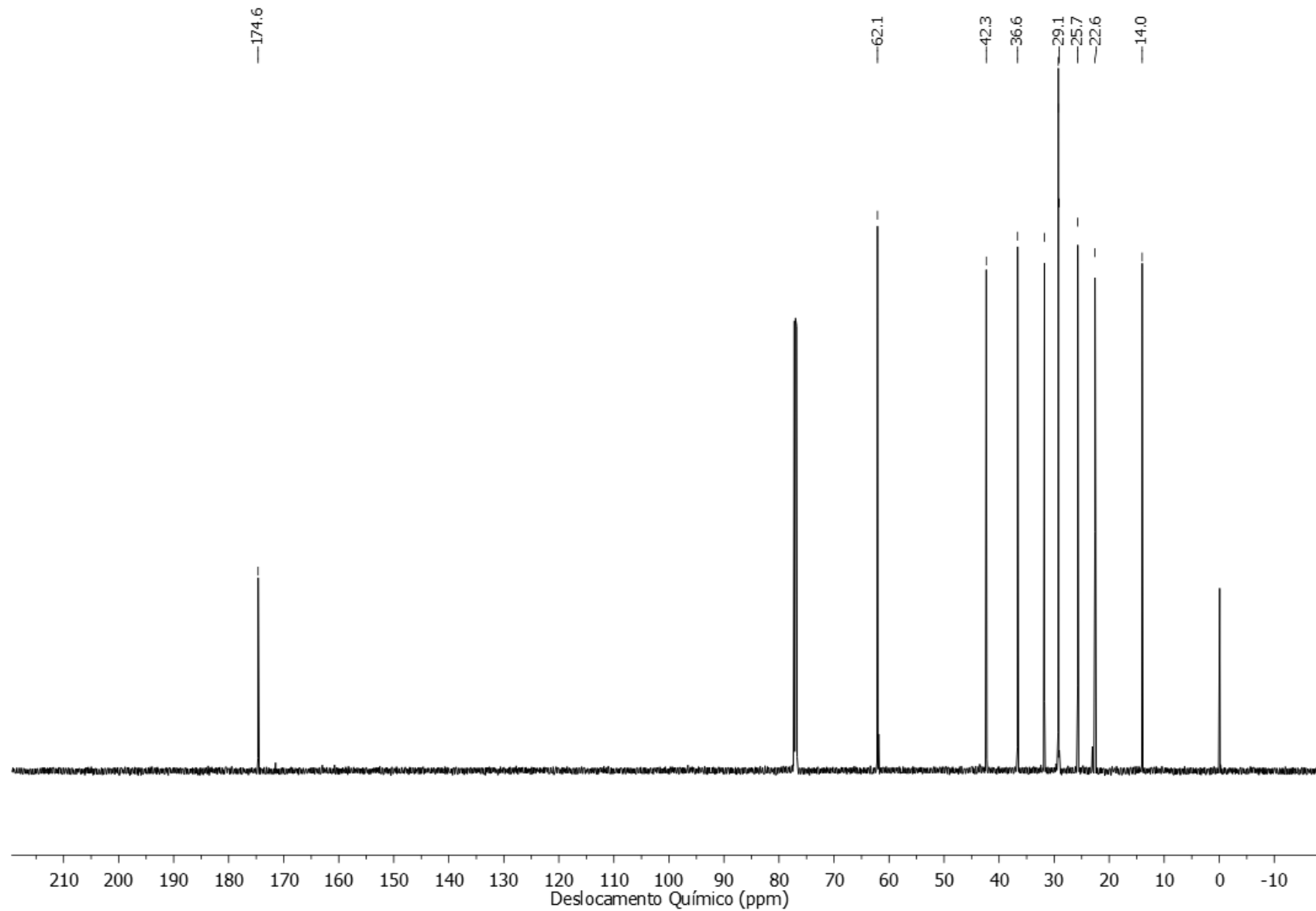
**Espectro (EM 70 eV m/z) – Octil-2-oxazolina.**



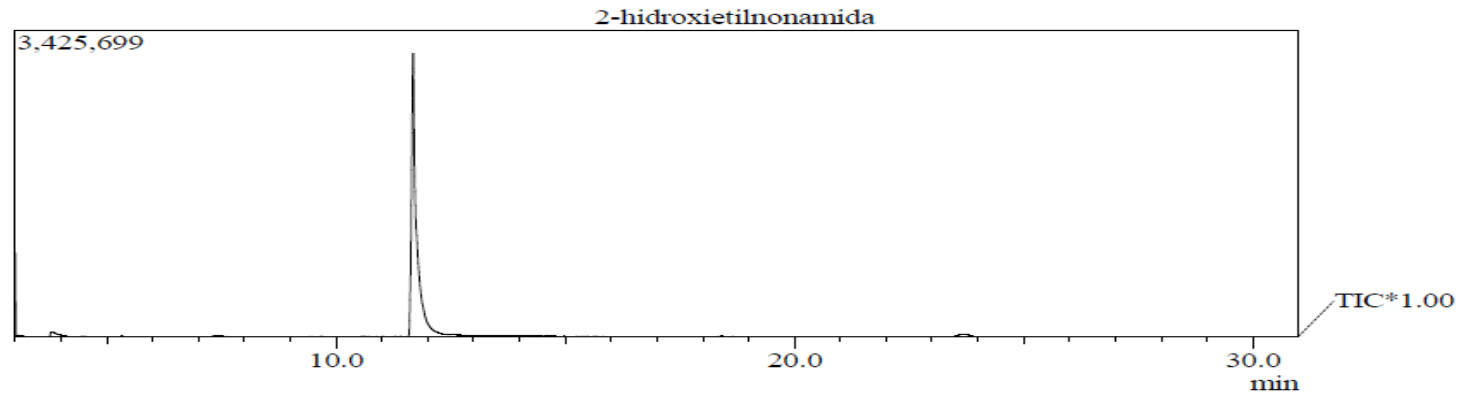
**Espectro de Infravermelho (ATR) Octil-2-oxazolina,**



**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxi-etilnonamida.**



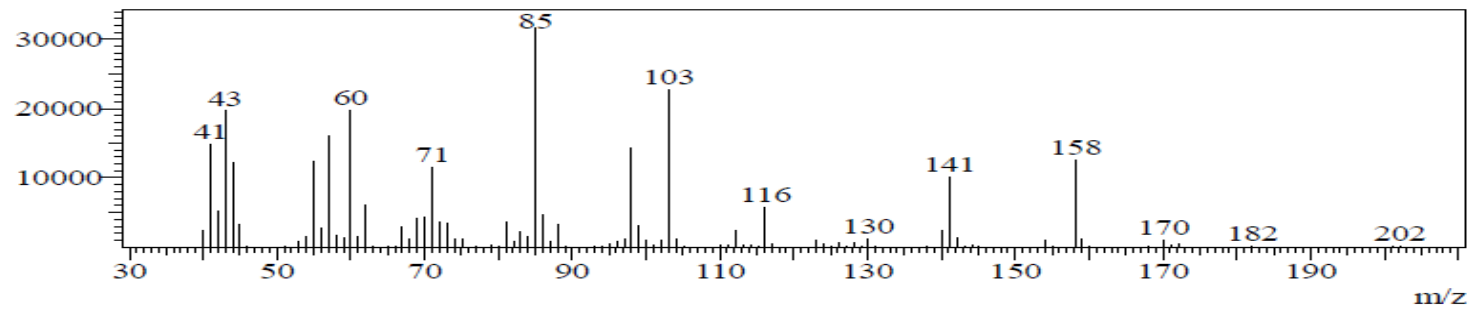
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylnonamida.**



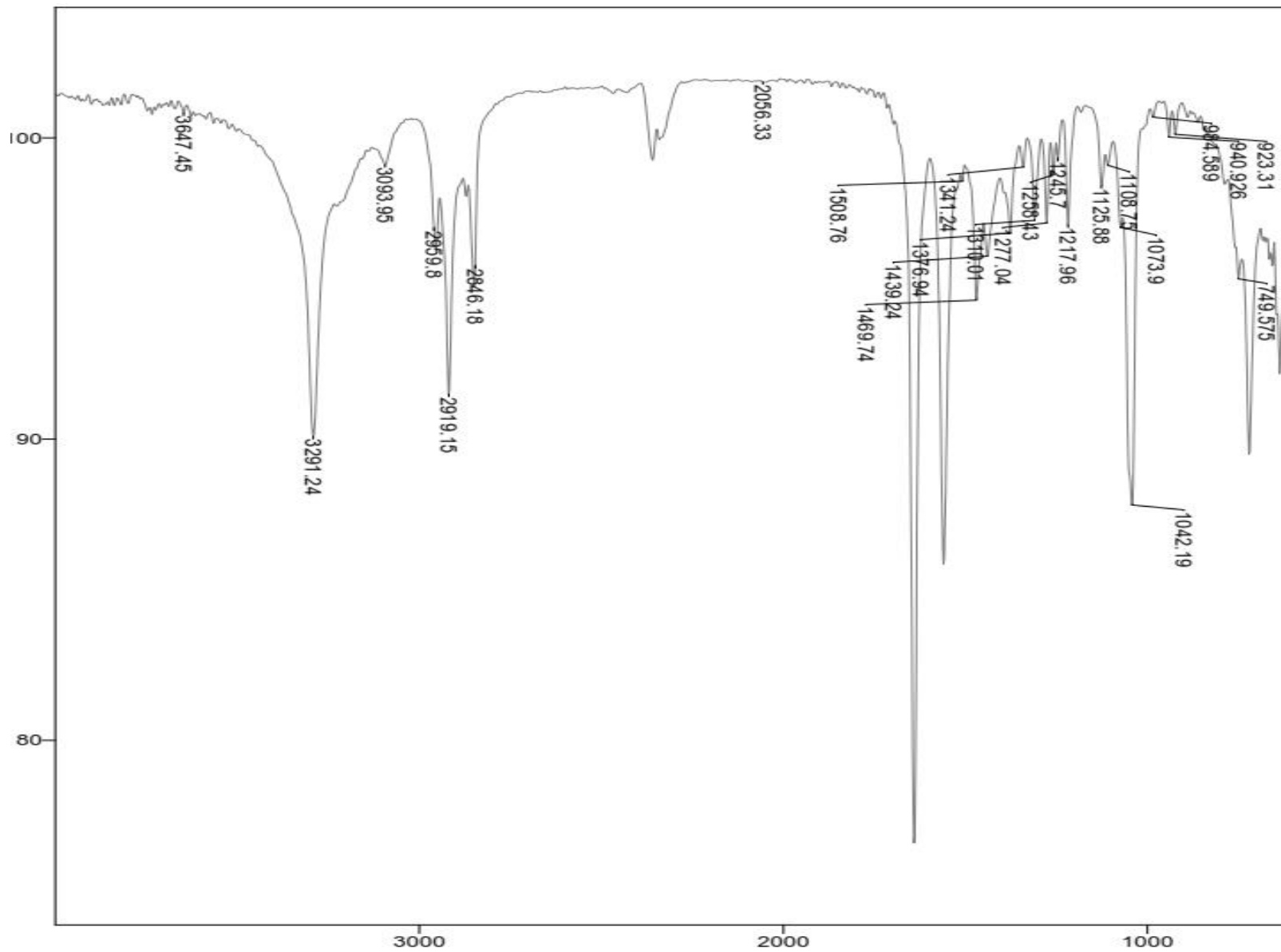
**Cromatograma da 2-hidroxietylnonamida.**

2-hidroxietylnonamida

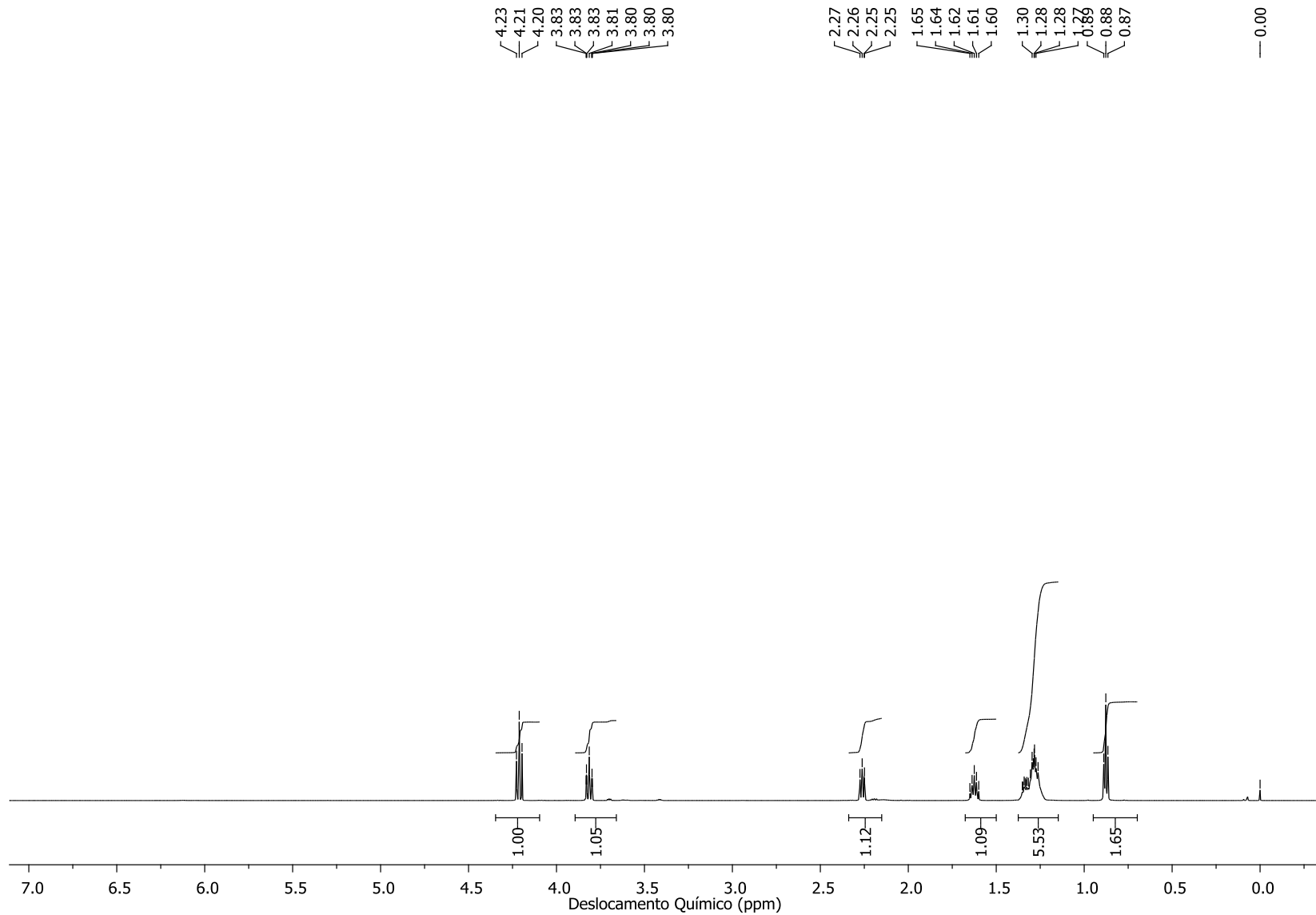
Line#:1 R.Time:11.683(Scan#:1043)  
MassPeaks:93  
RawMode:Averaged 11.225-12.617(988-1155) BasePeak:85.05(31700)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



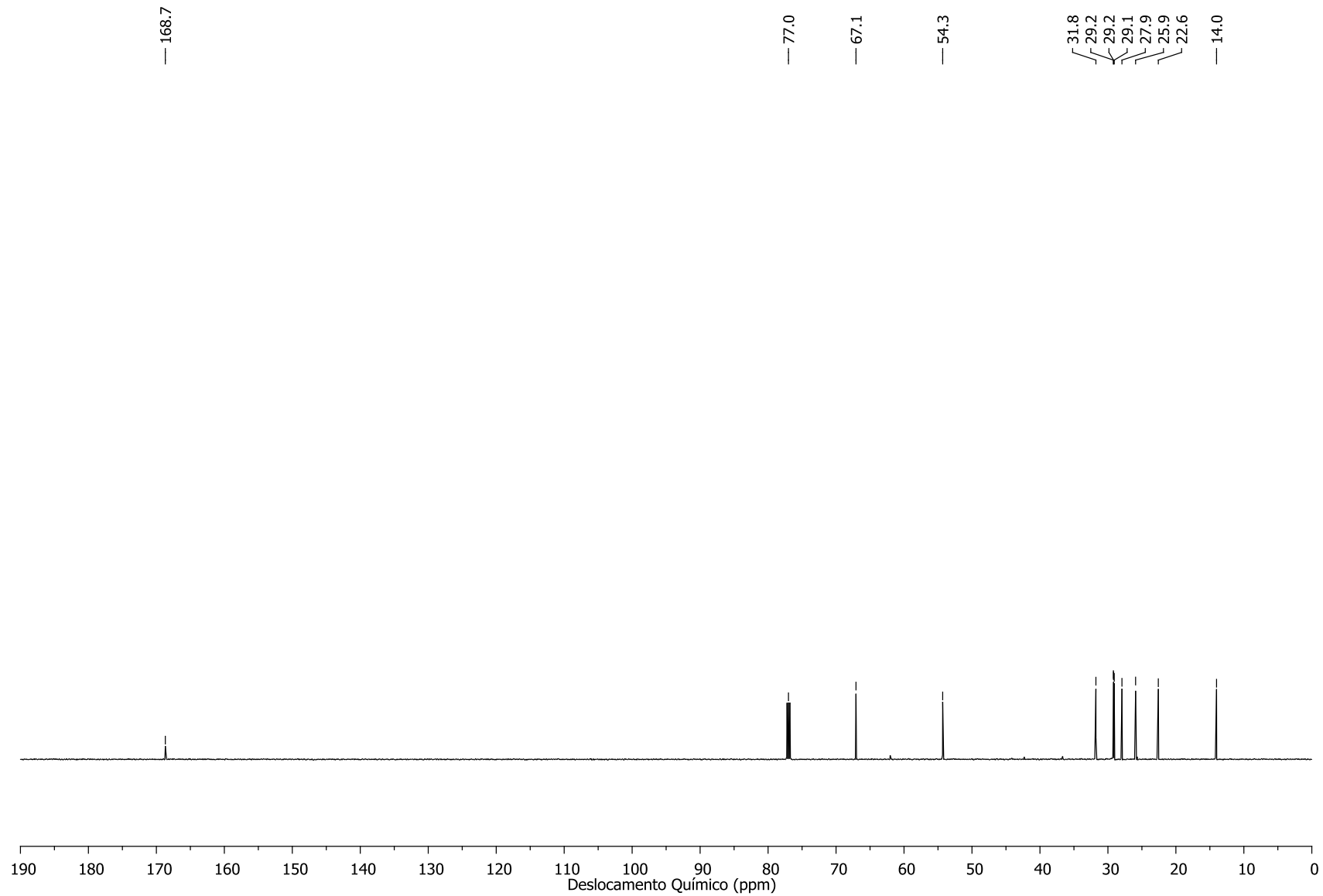
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxietylnonamida**



**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxiethylnonamida.**

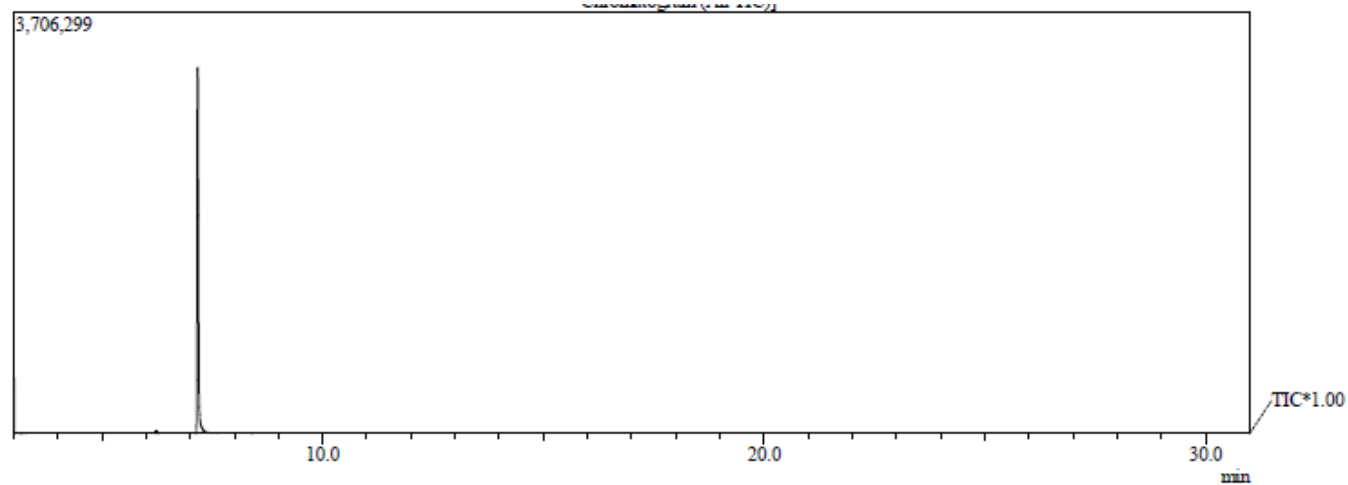


**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Nonil-2-oxazolina.**



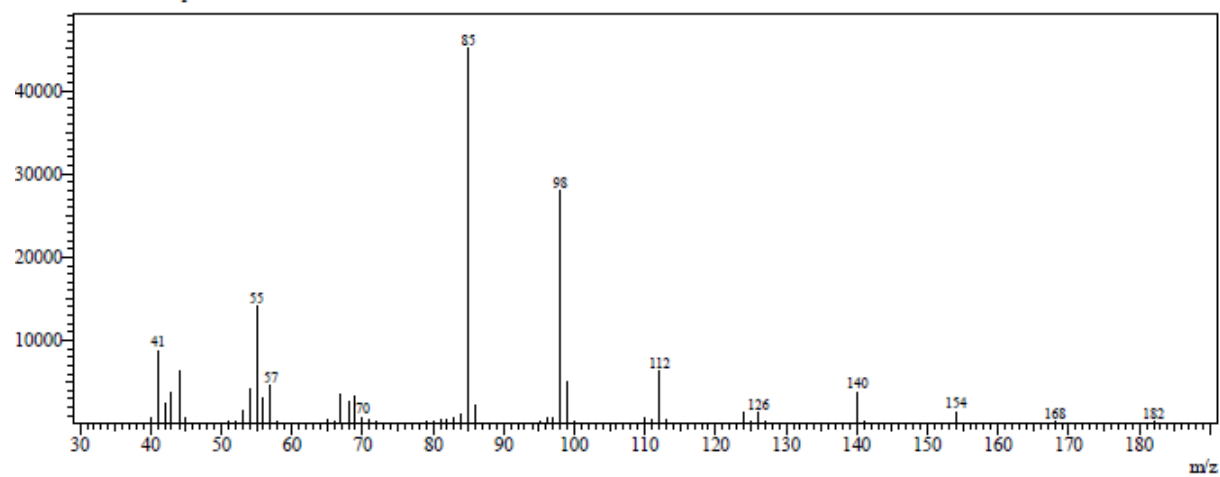
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Nonil-2-oxazolina.**



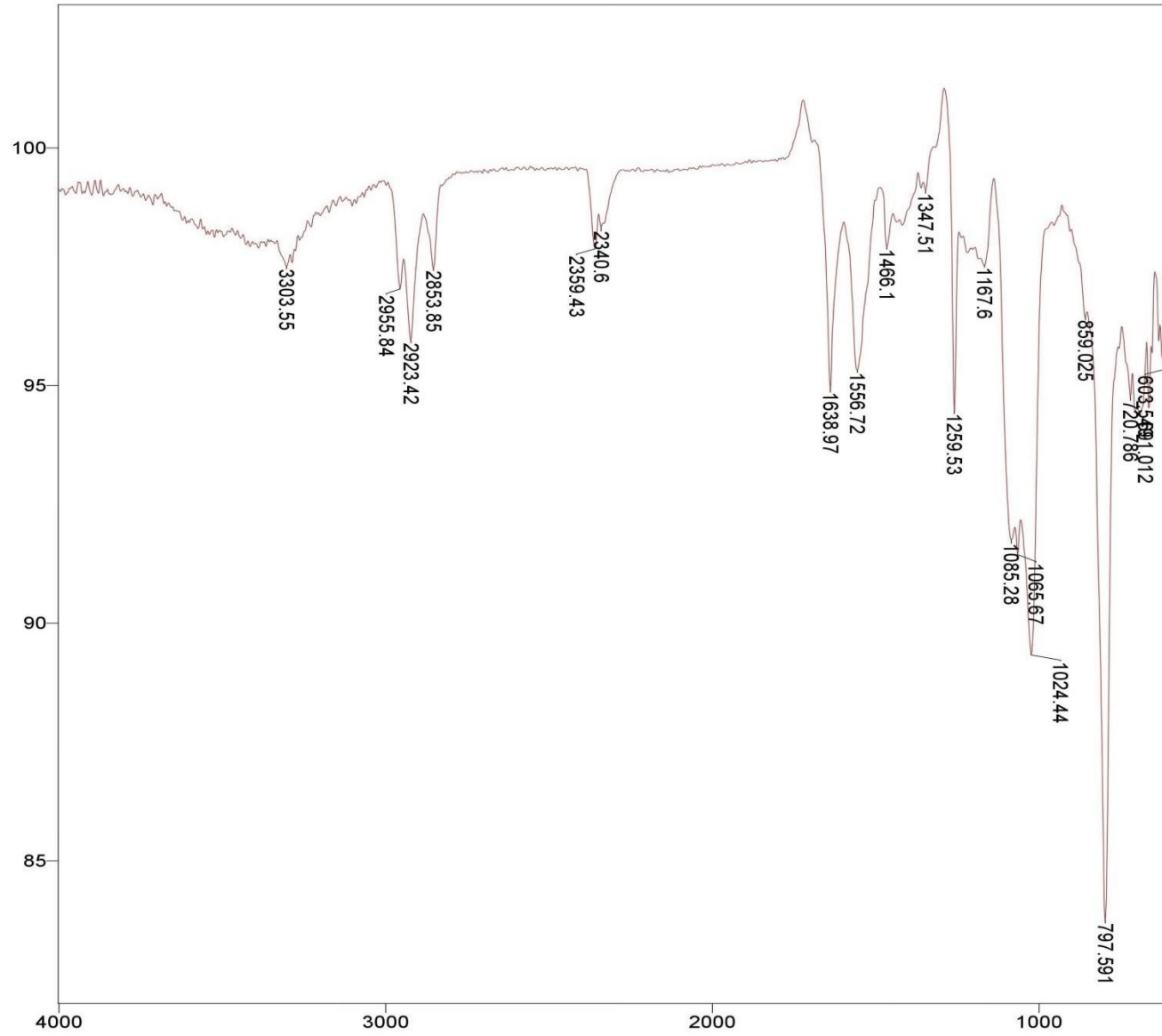


**Cromatograma da Nonil-2-oxazolina.**

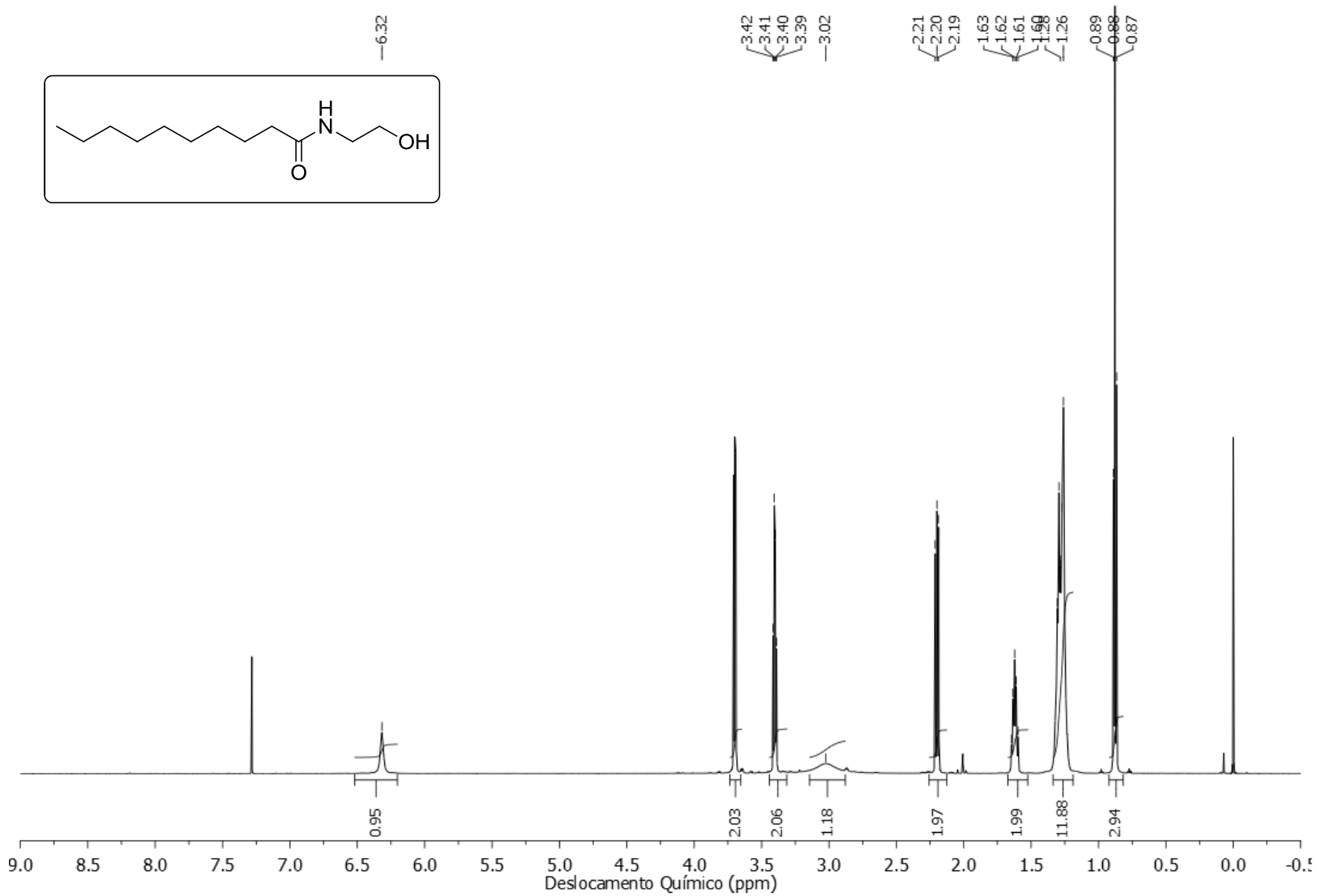
Line#:1 R.Time:7.175(Scan#:502)  
MassPeaks:63  
RawMode:Averaged 6.933-7.592(473-552) BasePeak:85.00(45122)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



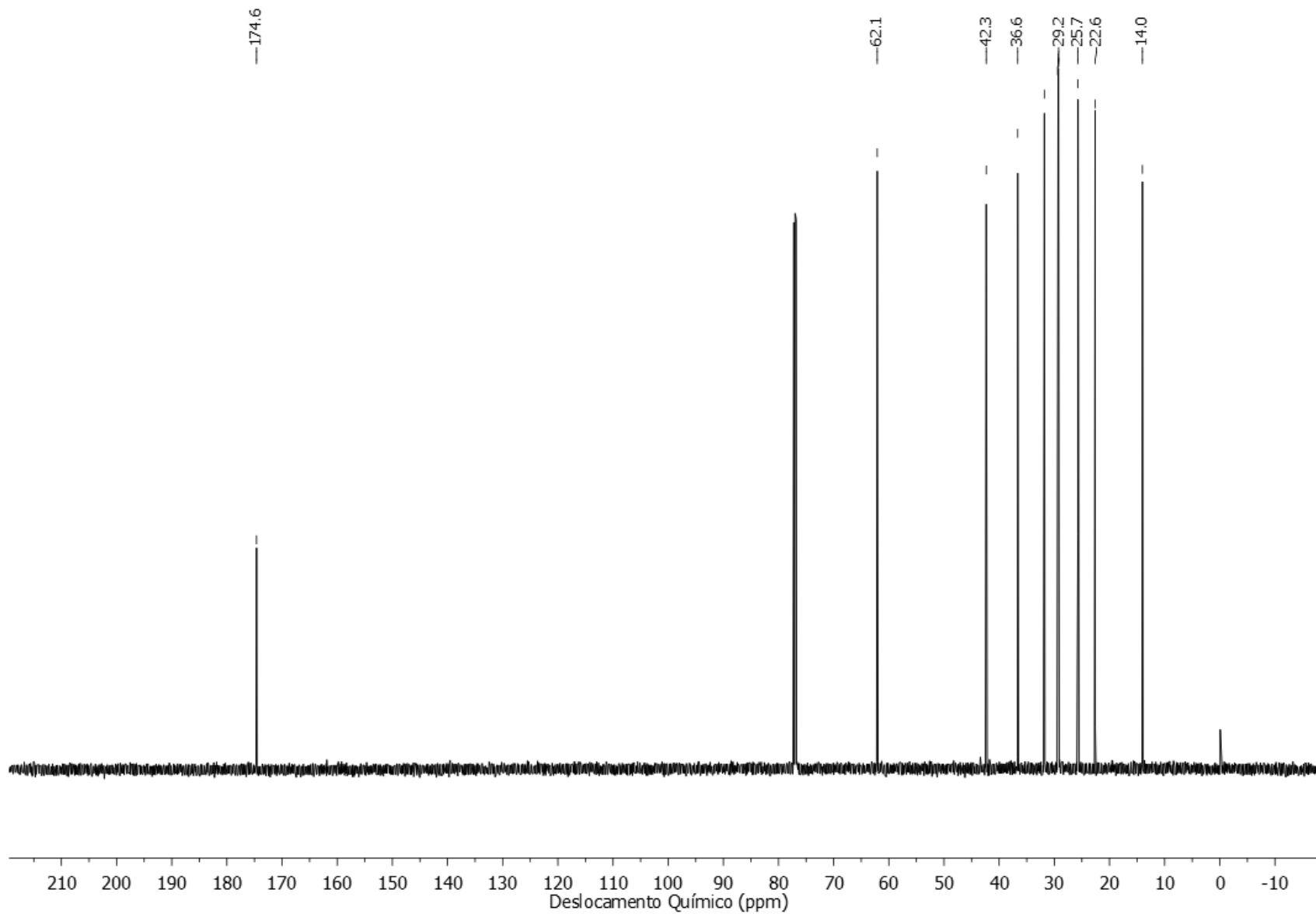
**Espectro (EM 70 eV m/z) – Nonil-2-oxazolina.**



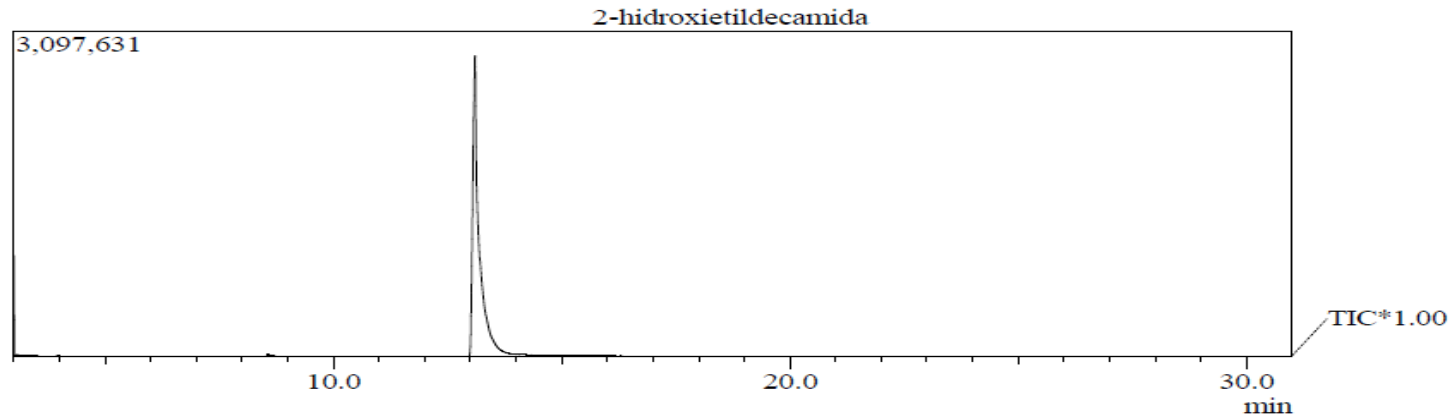
**Espectro de Infravermelho (ATR) – Nonil-2-oxazolina.**



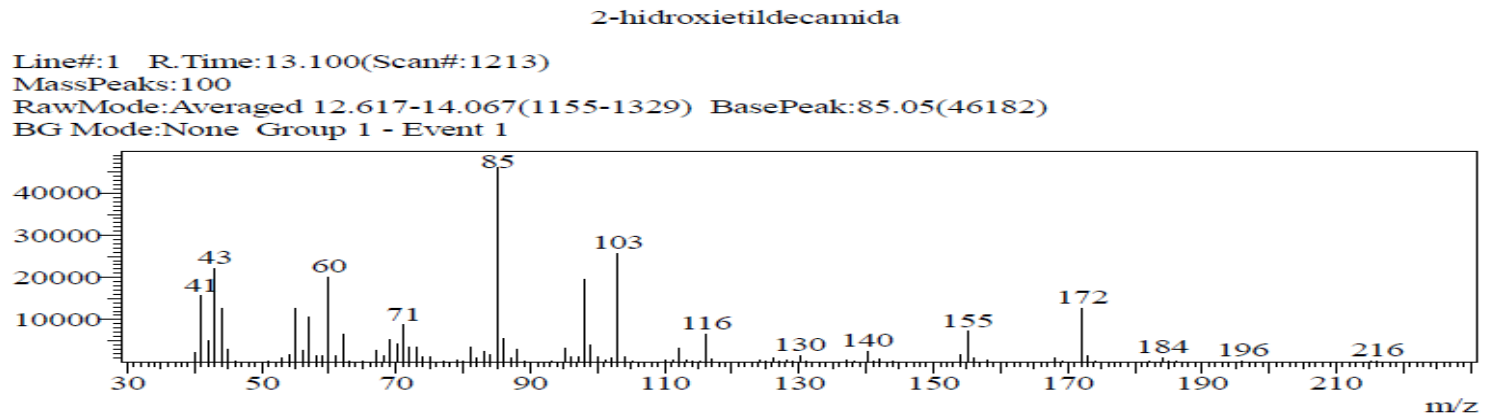
**Espectro (RMN de <sup>1</sup>H 600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – 2-hidroxietildecamida.**



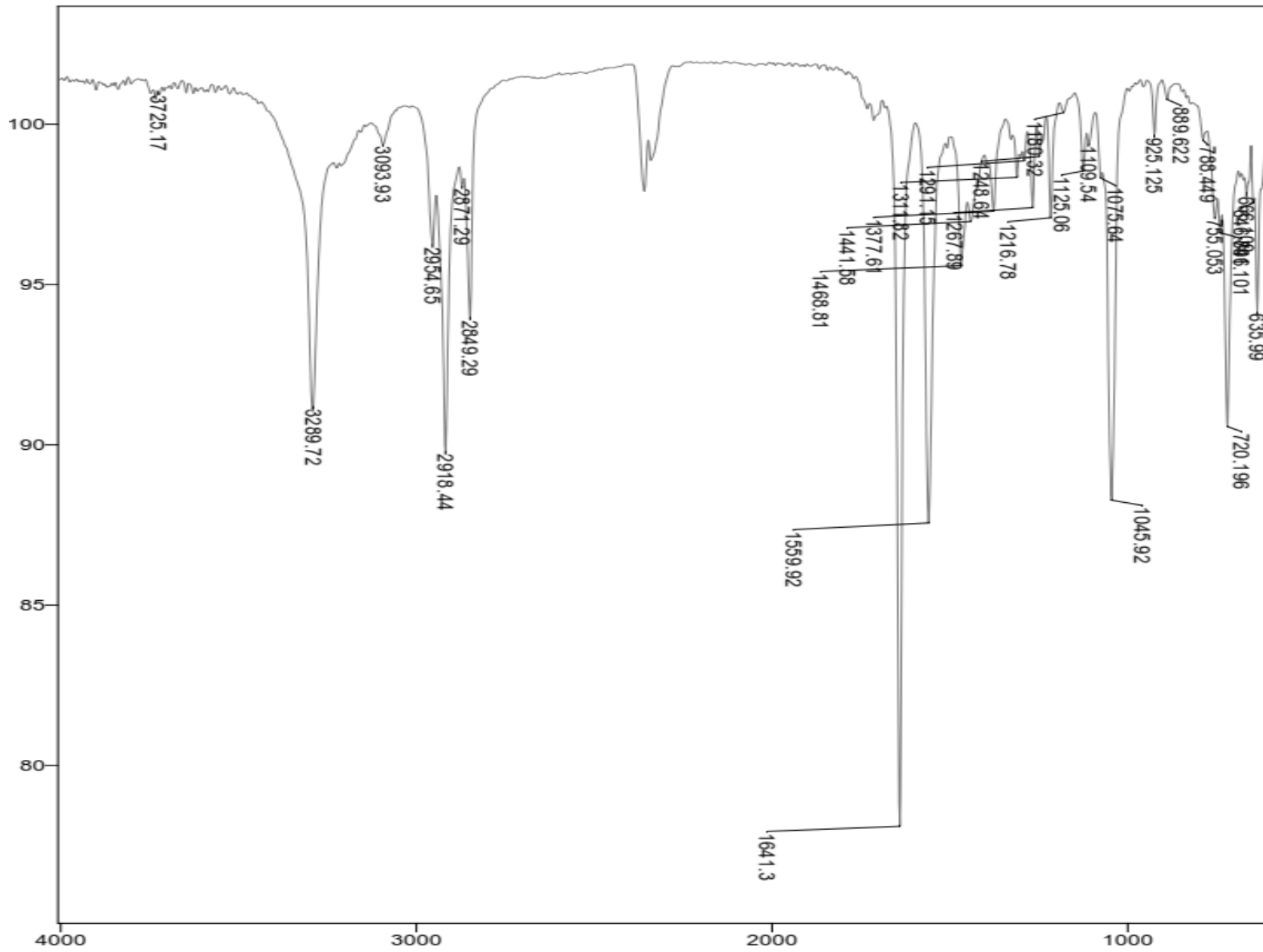
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethyldecamida.**



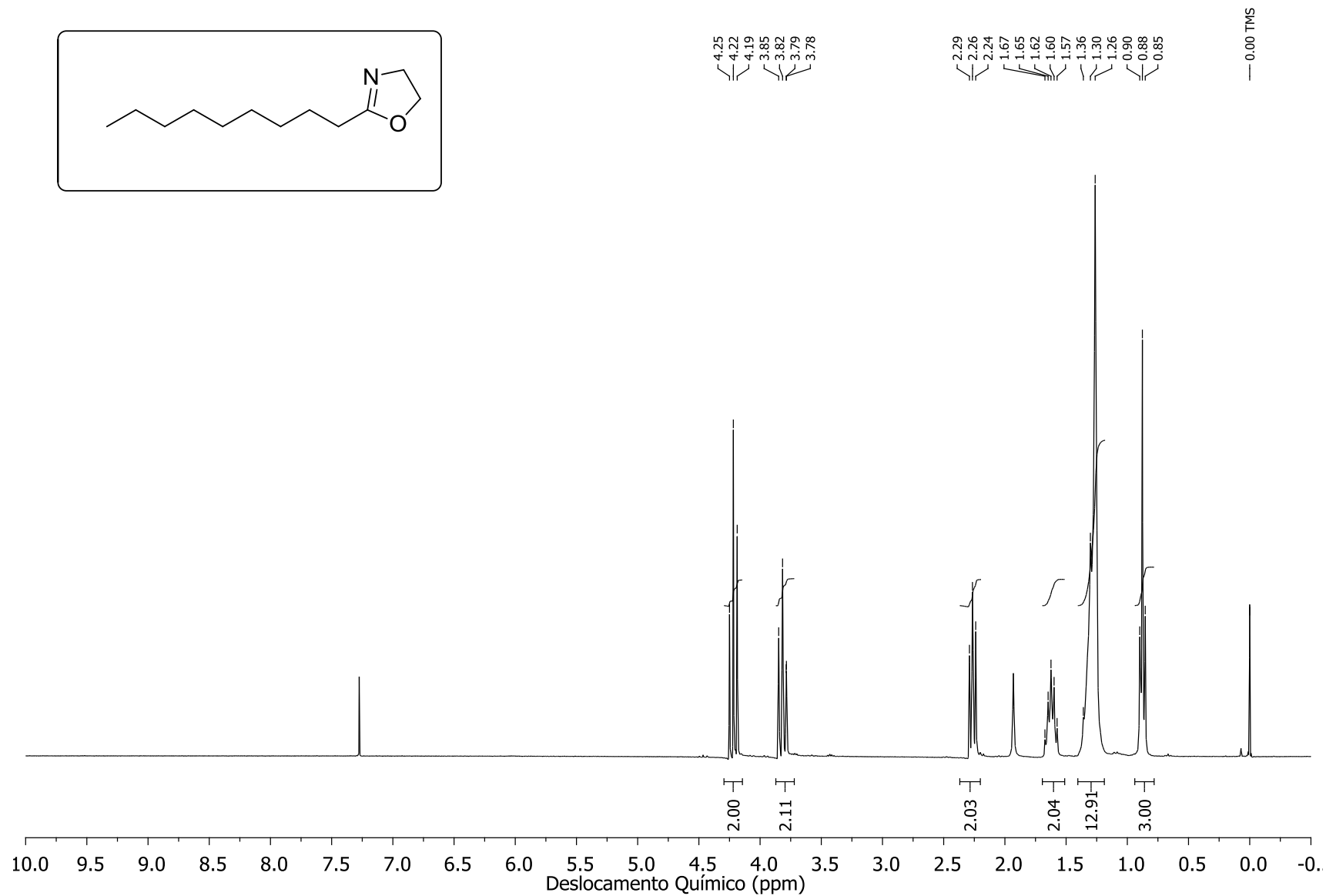
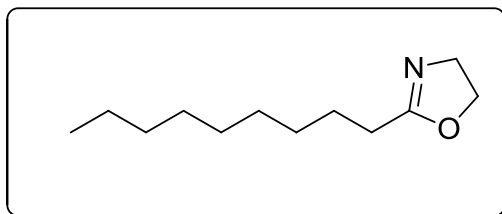
**Cromatograma da 2-hidroxietyldecamida.**



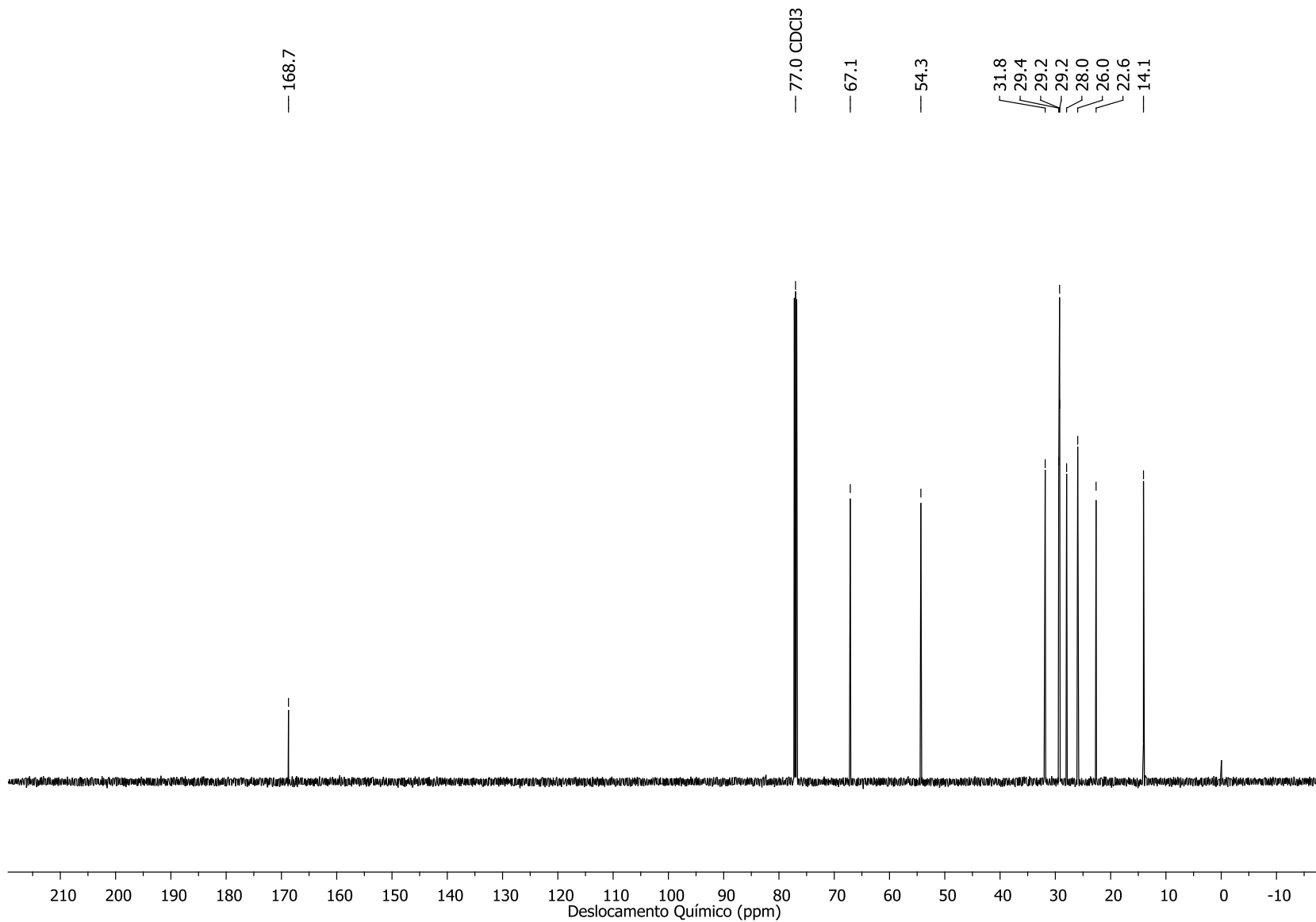
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxietyldecamida**



**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxiethyldecamida.**

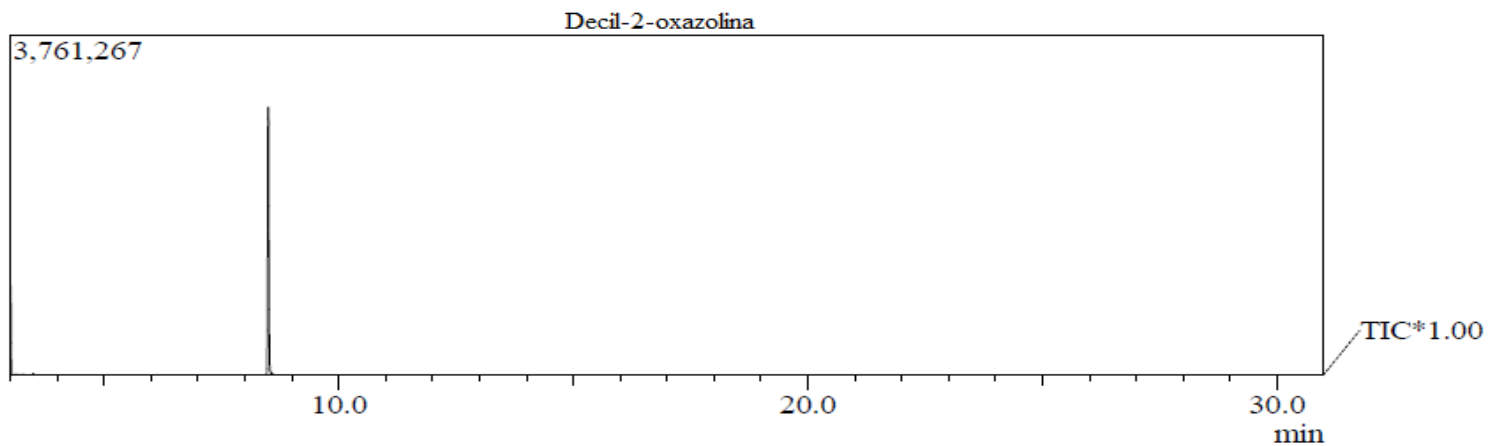


**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Decil-2-oxazolina.**



**Espectro (RMN de <sup>13</sup>C 151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Decil-2-oxazolina.**

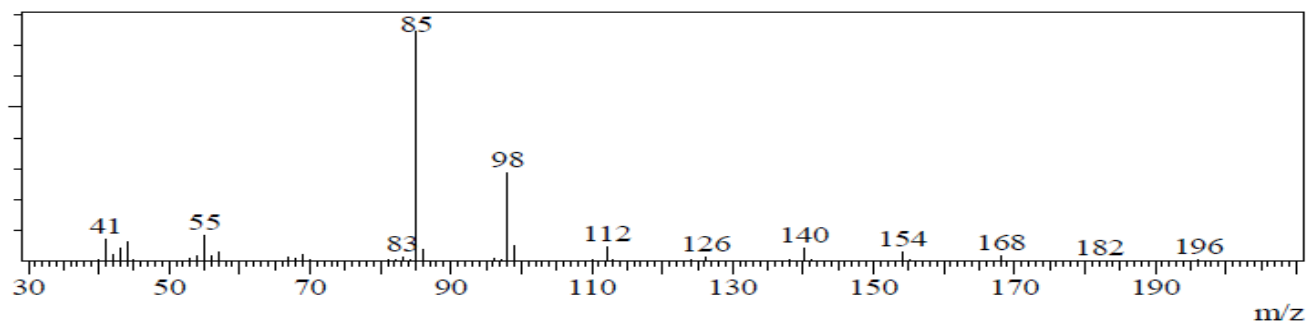




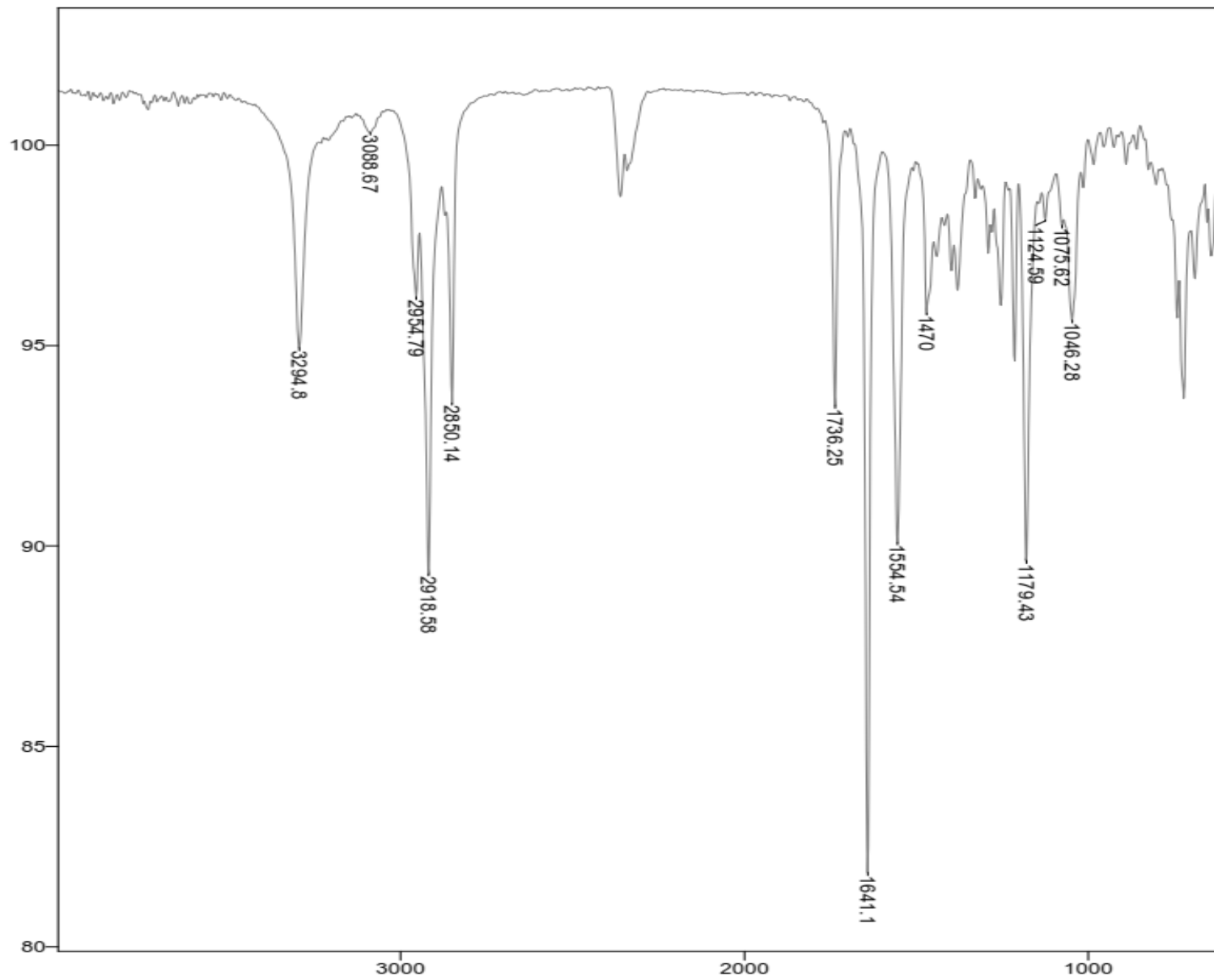
**Cromatograma da decil-2-oxazolina.**

Decil-2-oxazolina

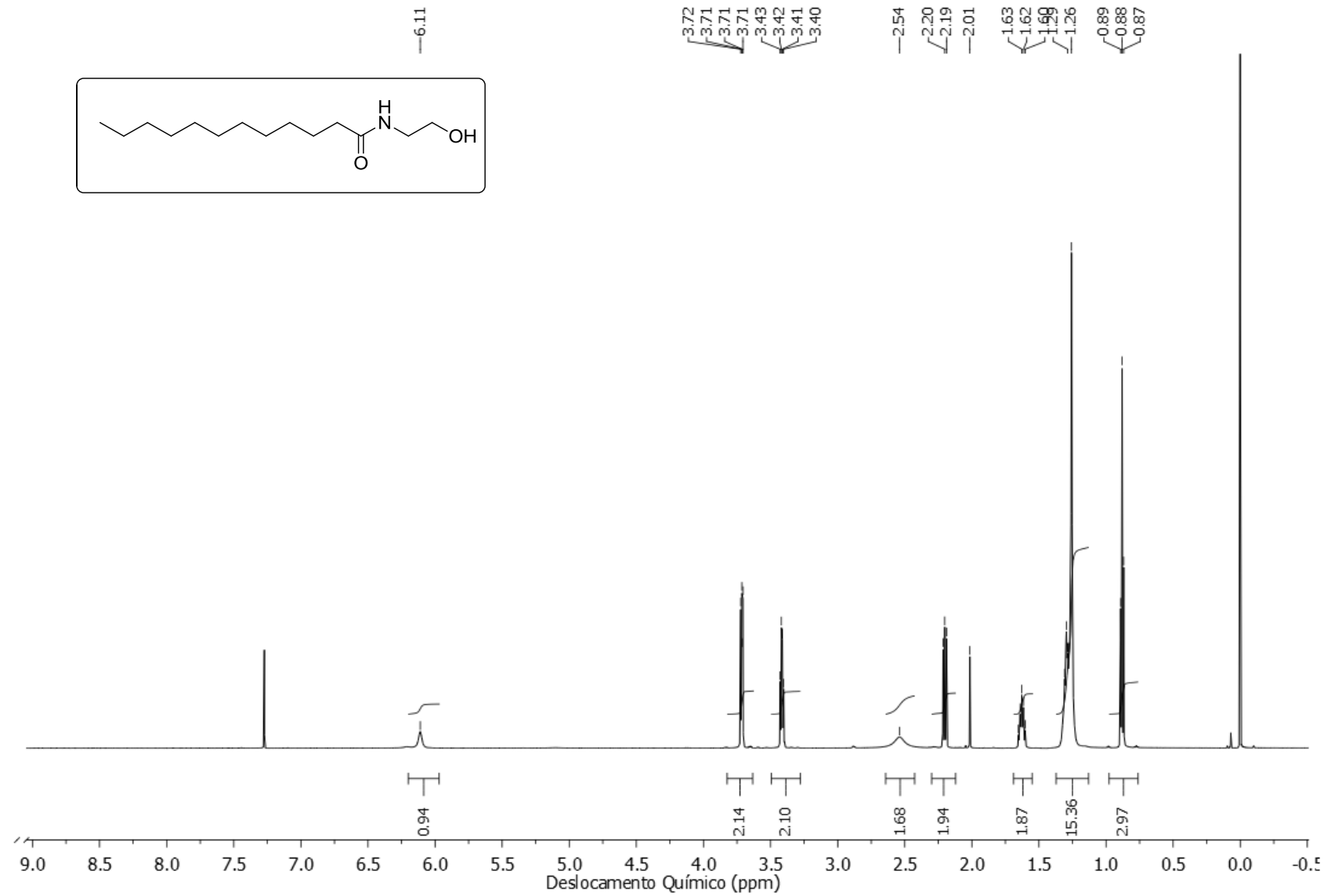
Line#:1 R.Time:8.500(Scan#:661)  
MassPeaks:65  
RawMode:Averaged 8.217-8.725(627-688) BasePeak:85.10(74787)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



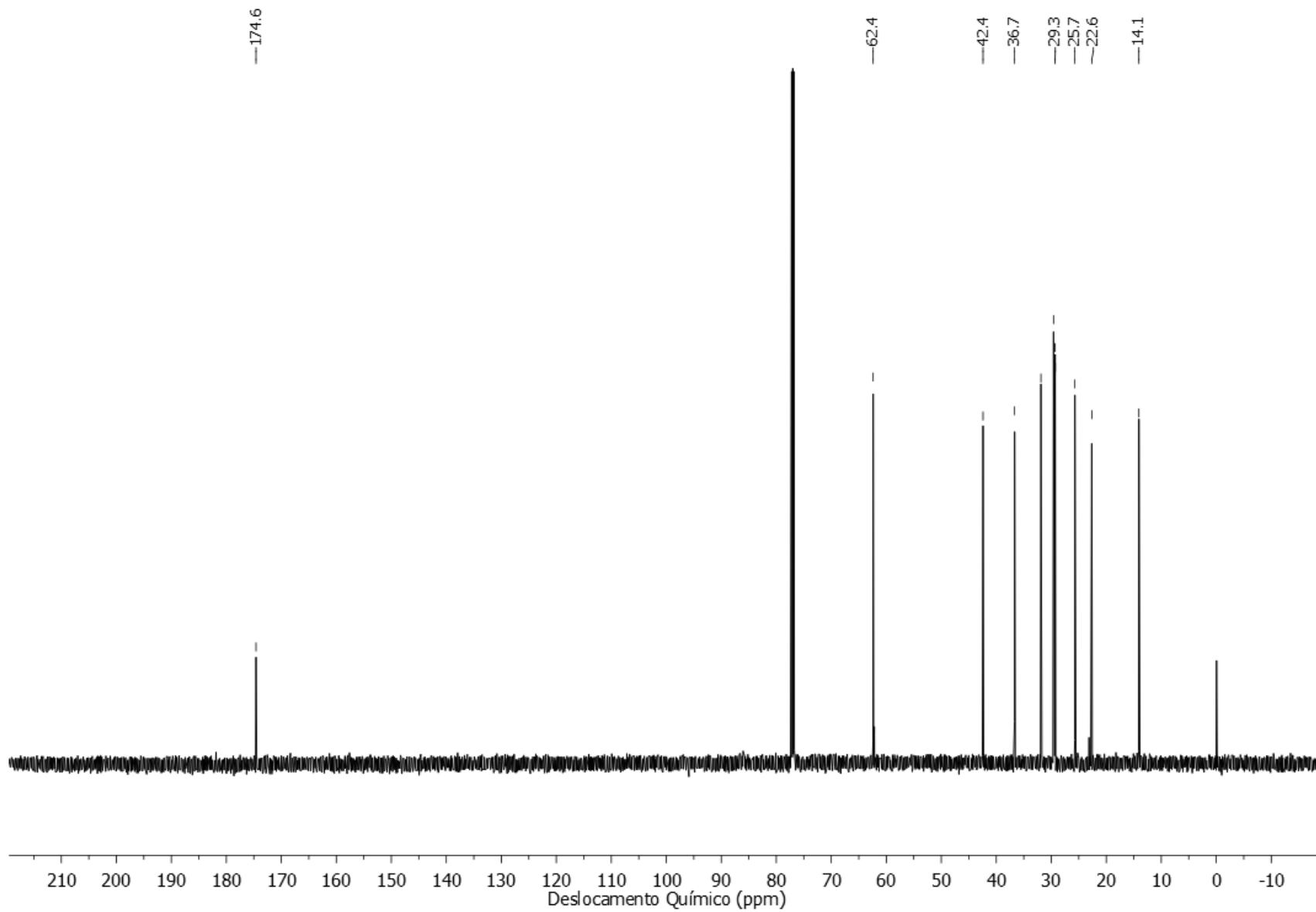
**Espectro (EM 70 eV m/z) - decil-2-oxazolina.**



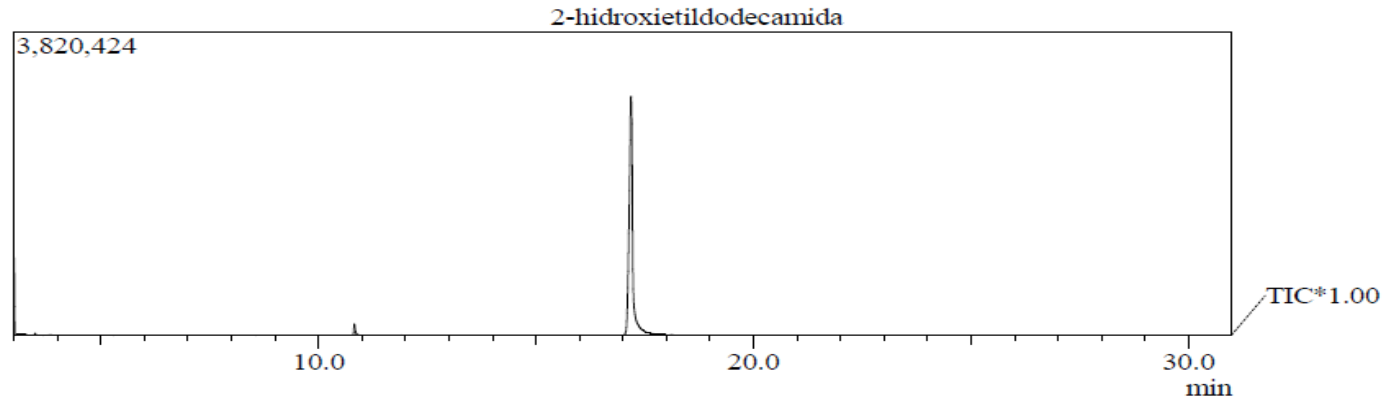
**Espectro de Infravermelho (ATR) – decil-2-oxazolina.**



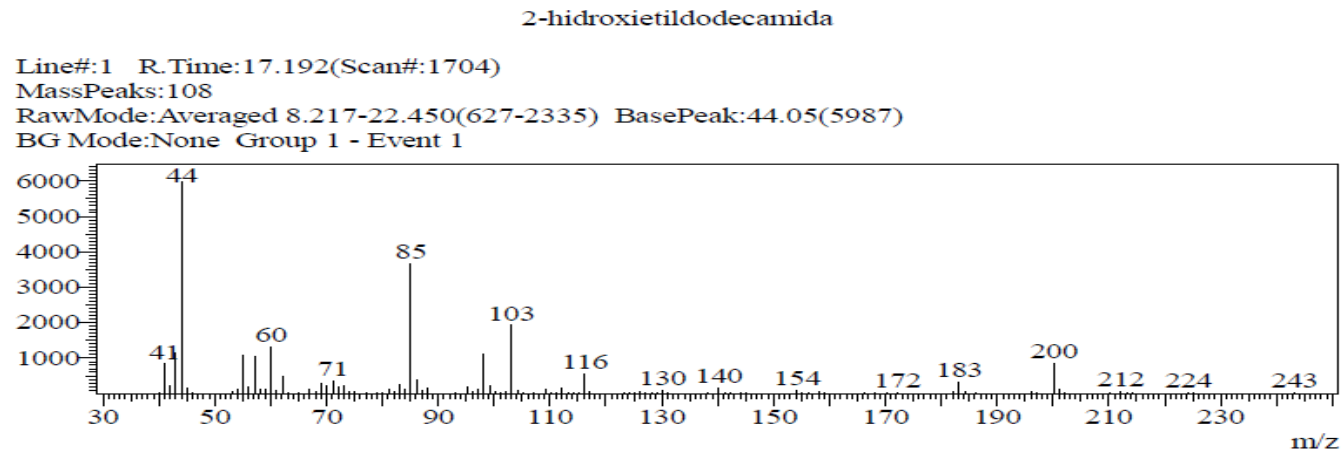
**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxietildodecamida.**



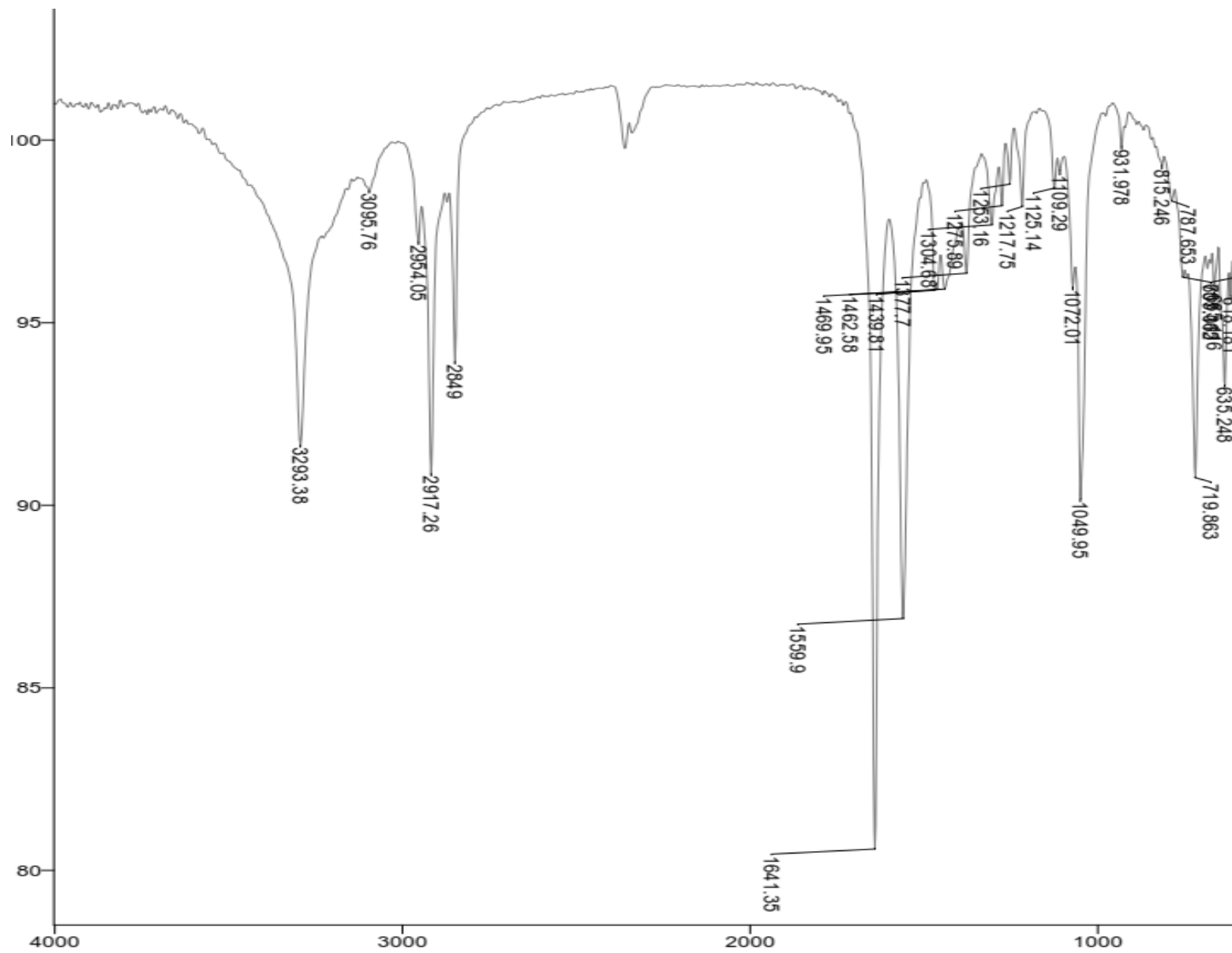
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiendodecamida.**



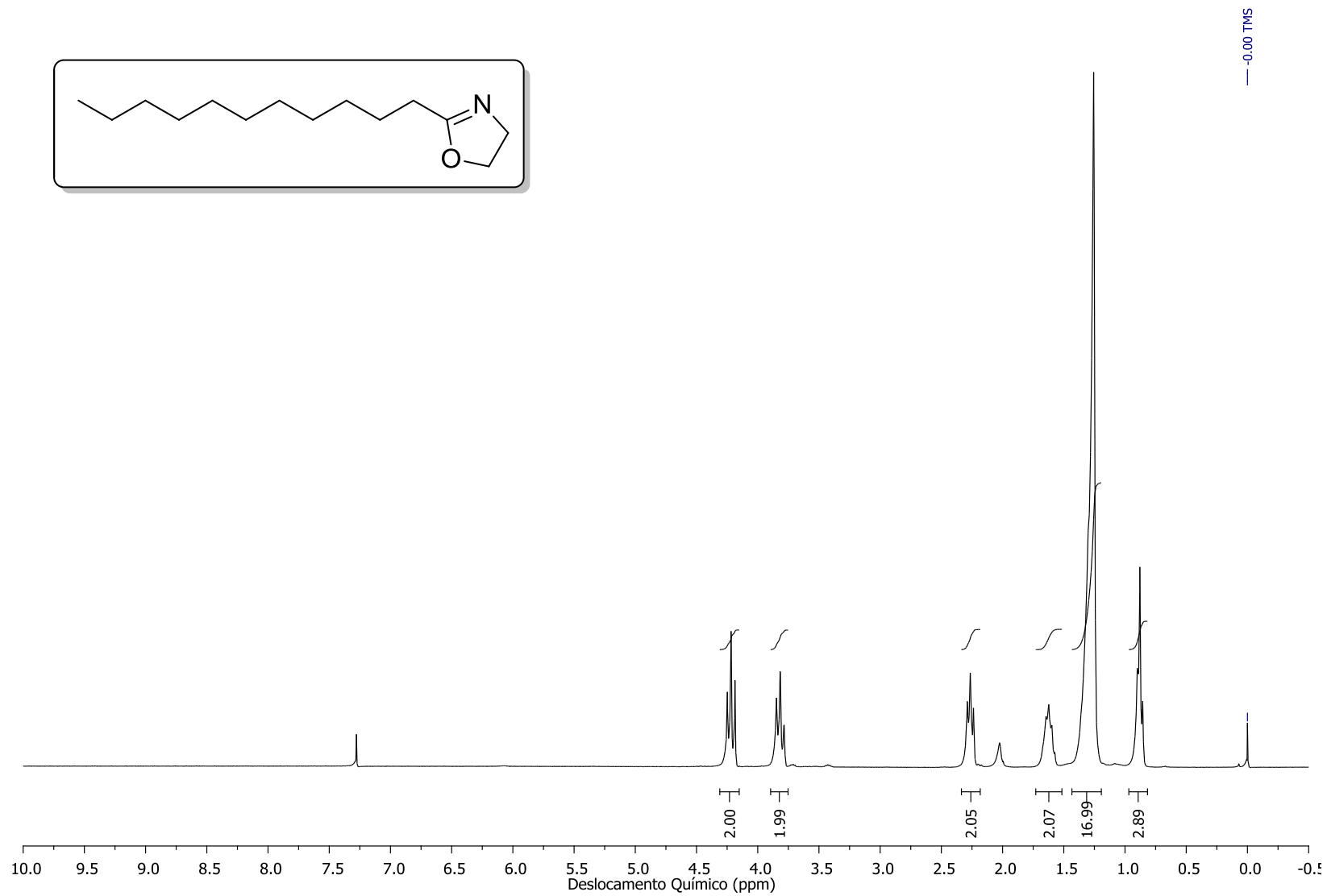
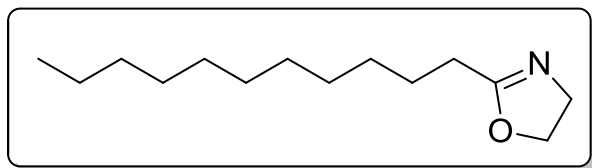
**Cromatograma da 2-hidroxiöldodecamida.**



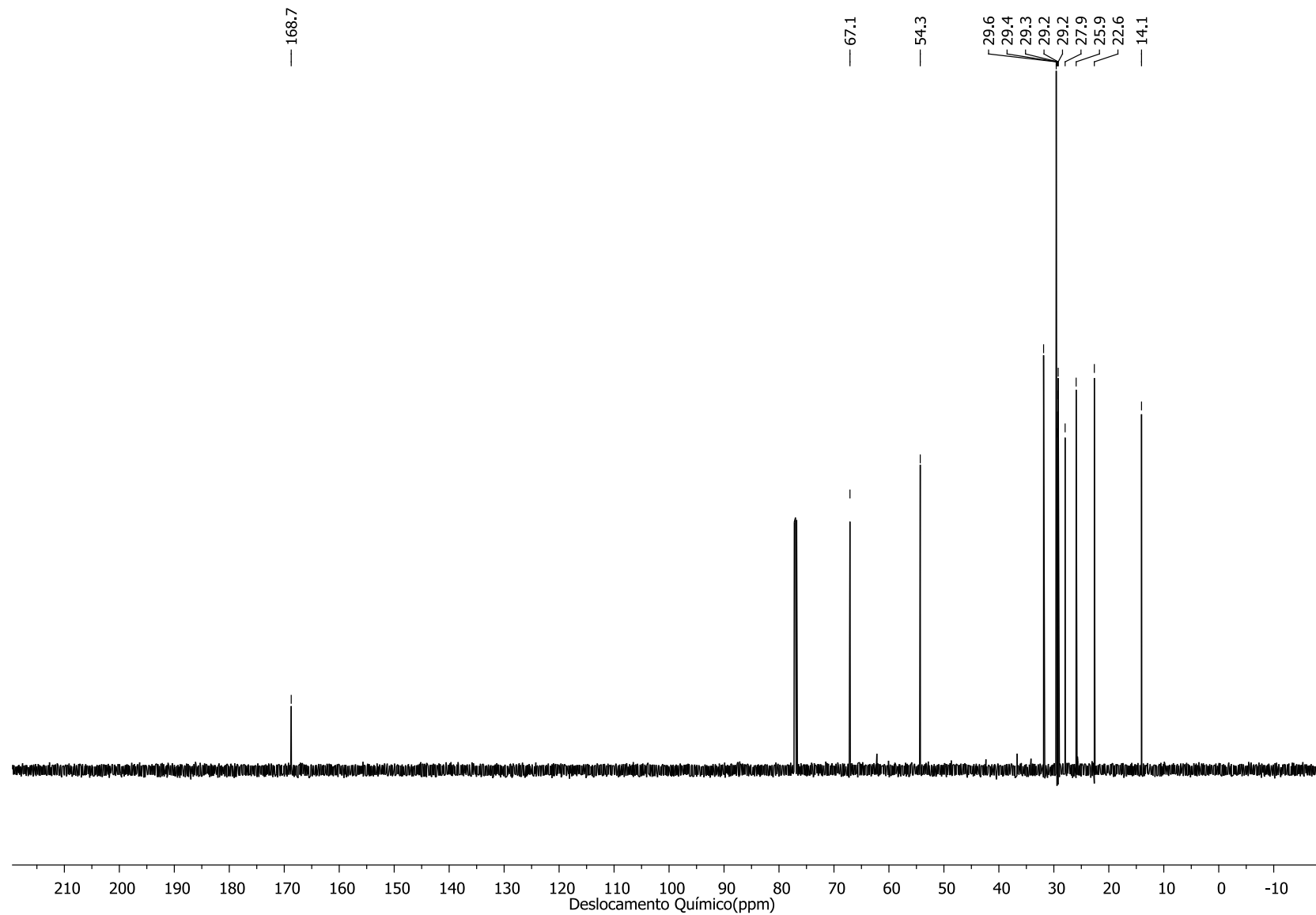
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxiöldodecamida.**



**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxiendodecamida.**

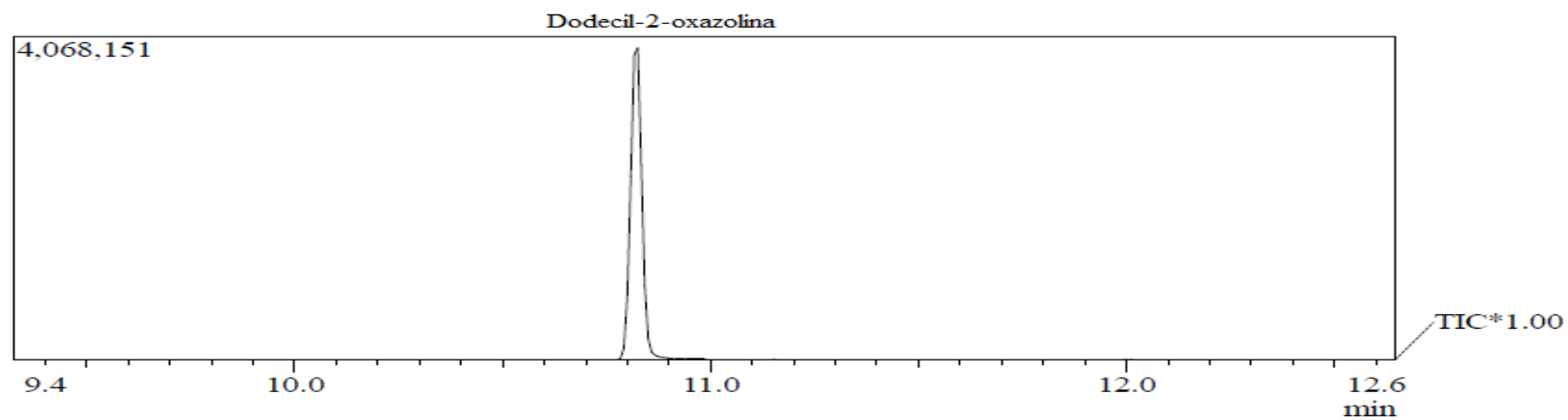


**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Dodecil-2-oxazolina.**

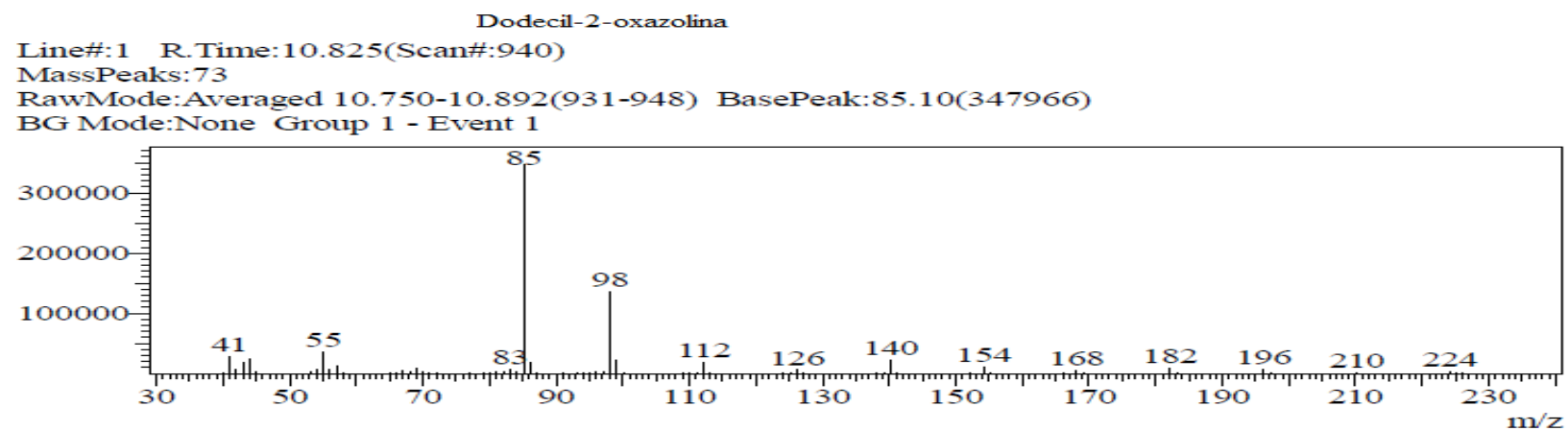


Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – dodecil-2-oxazolina

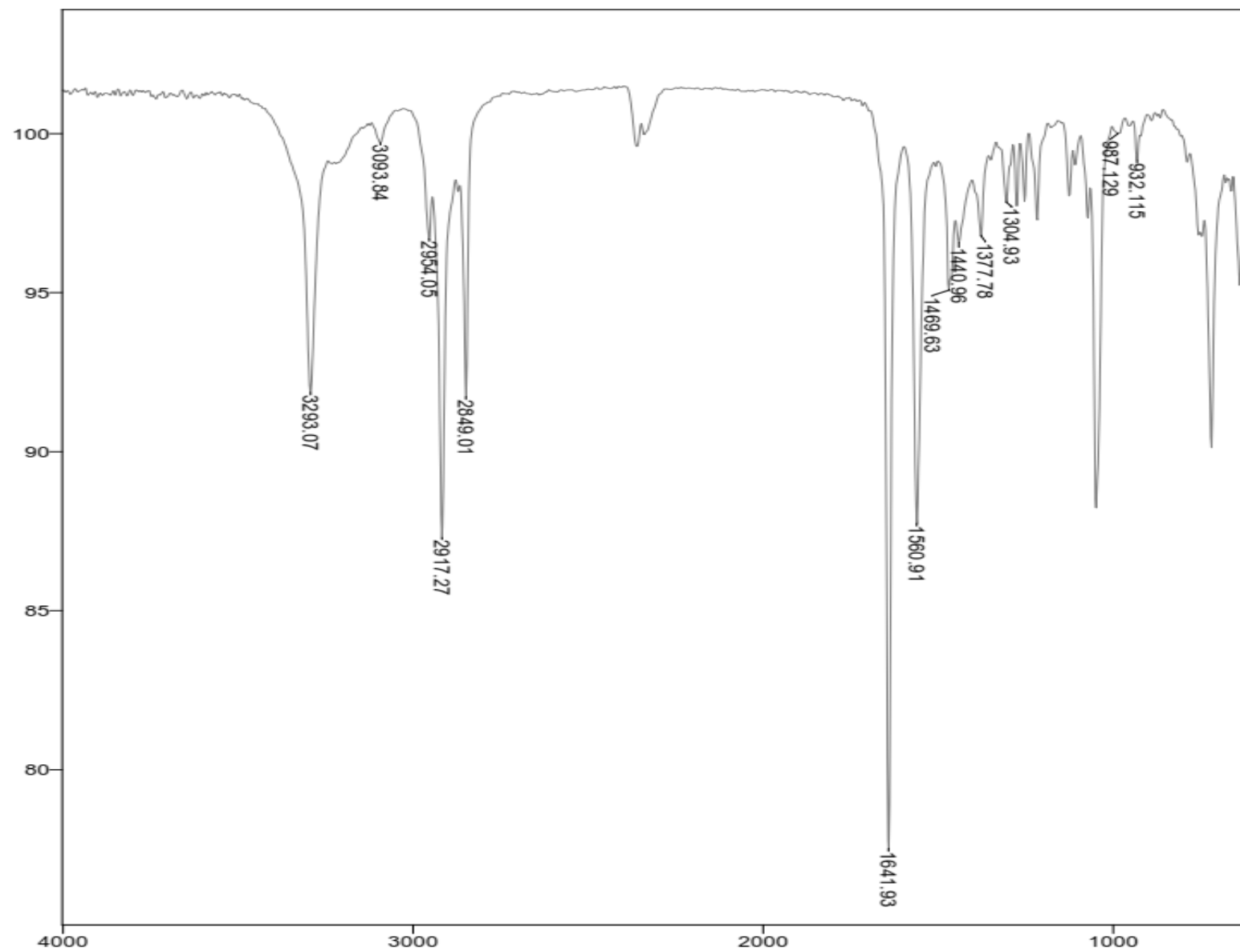




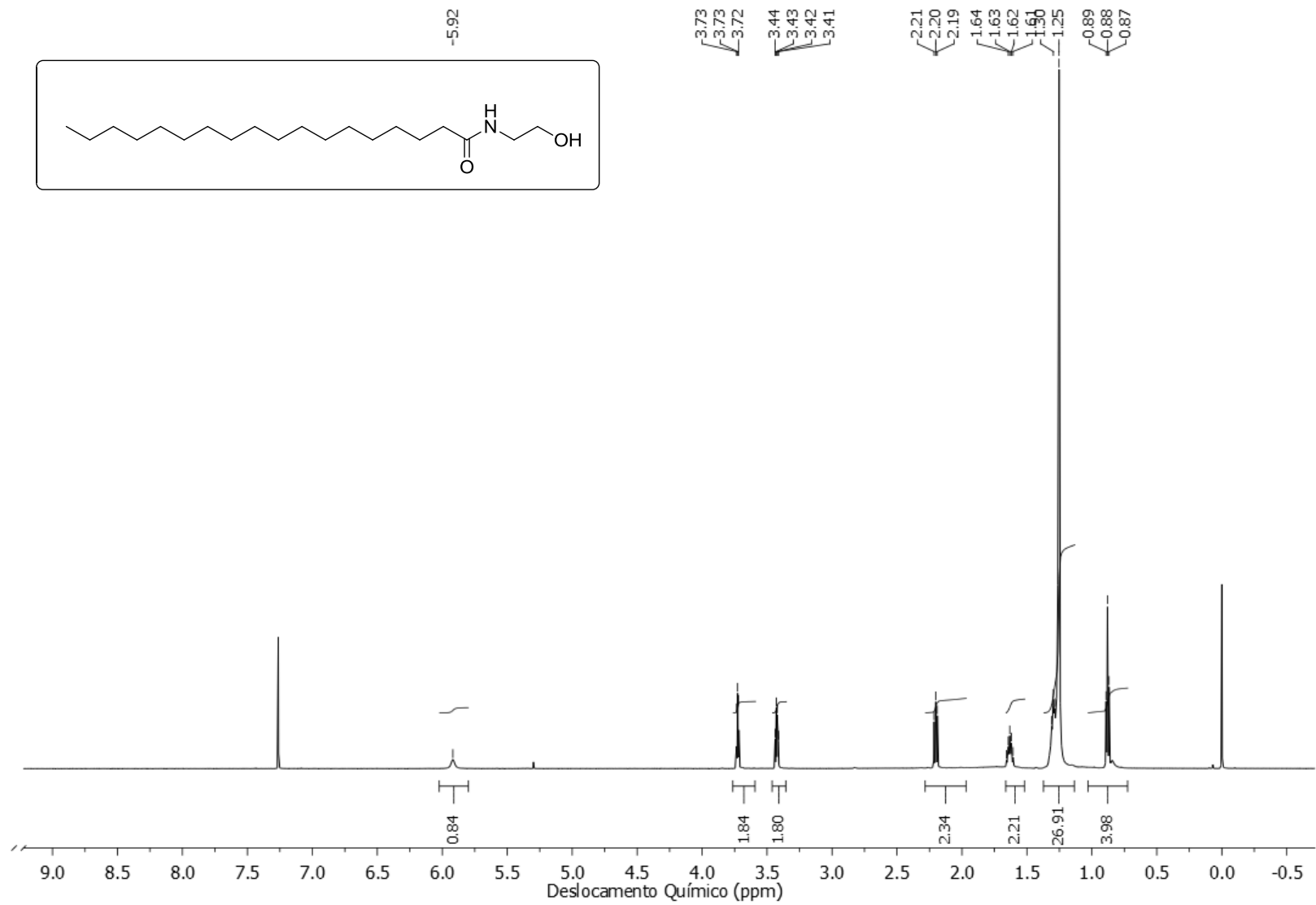
**Cromatograma da dodecil-2-oxazolina.**



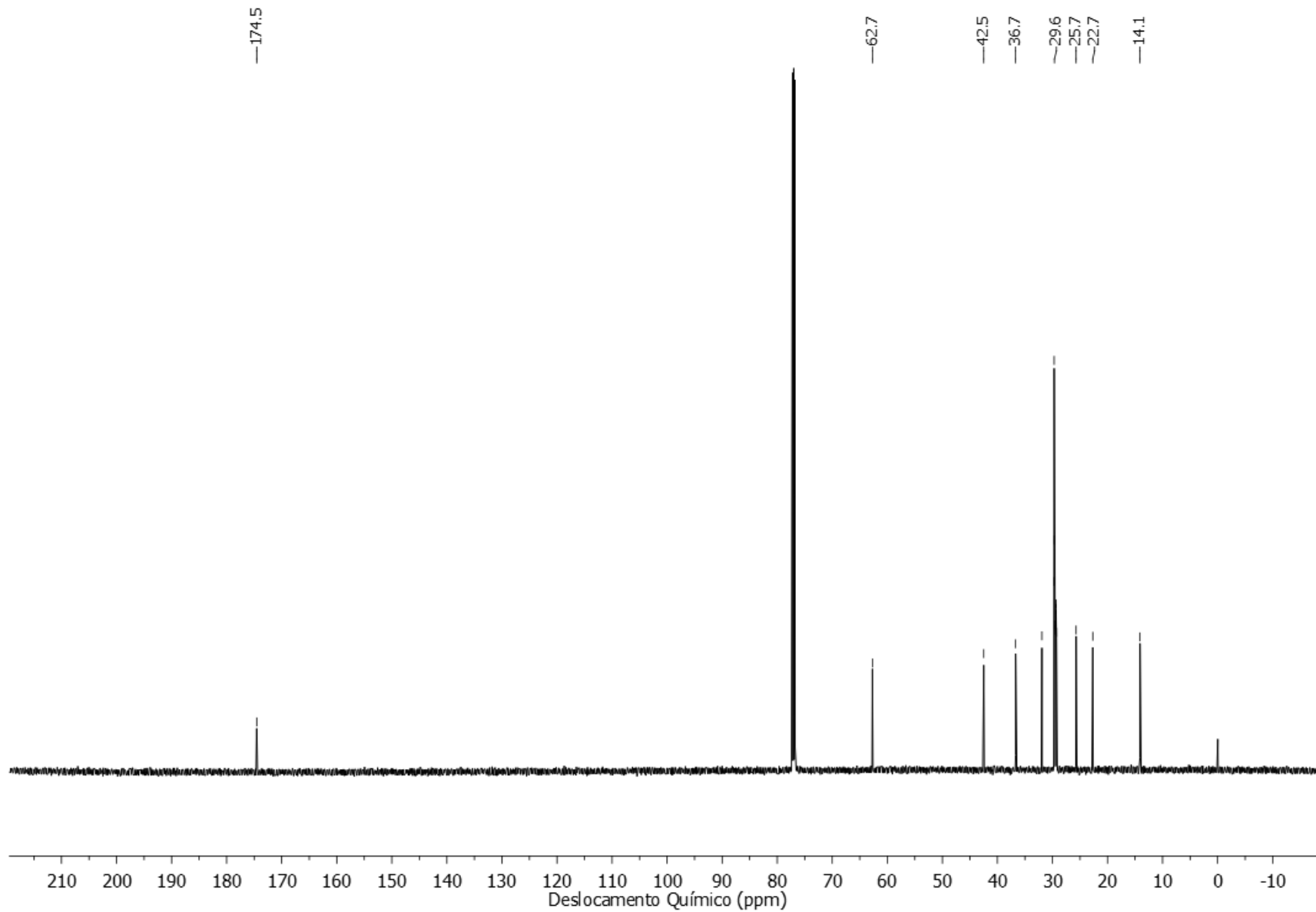
**Espectro (EM 70 eV m/z) - dodecil-2-oxazolina.**



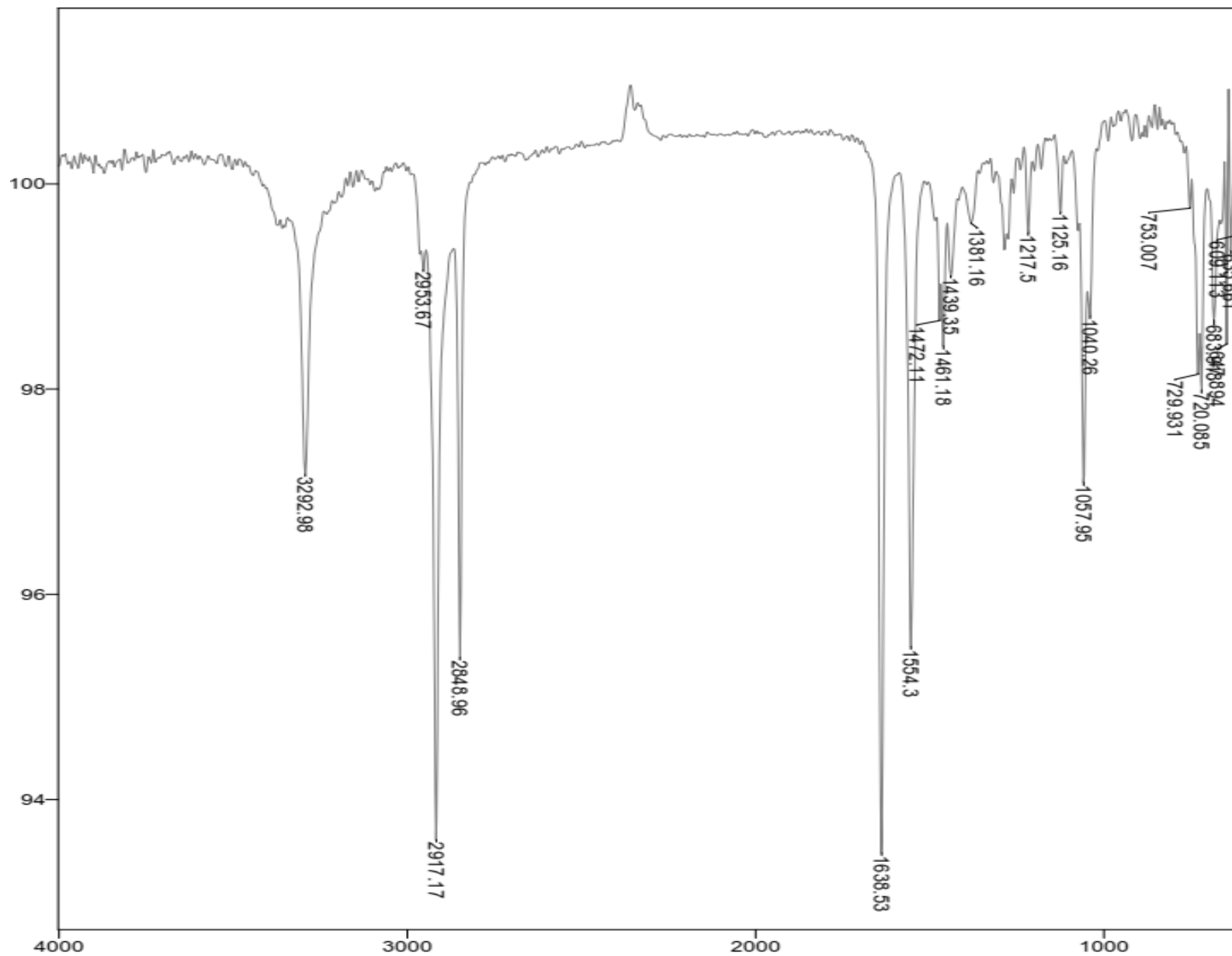
**Espectro de Infravermelho (ATR) – dodecil-2-oxazolina.**



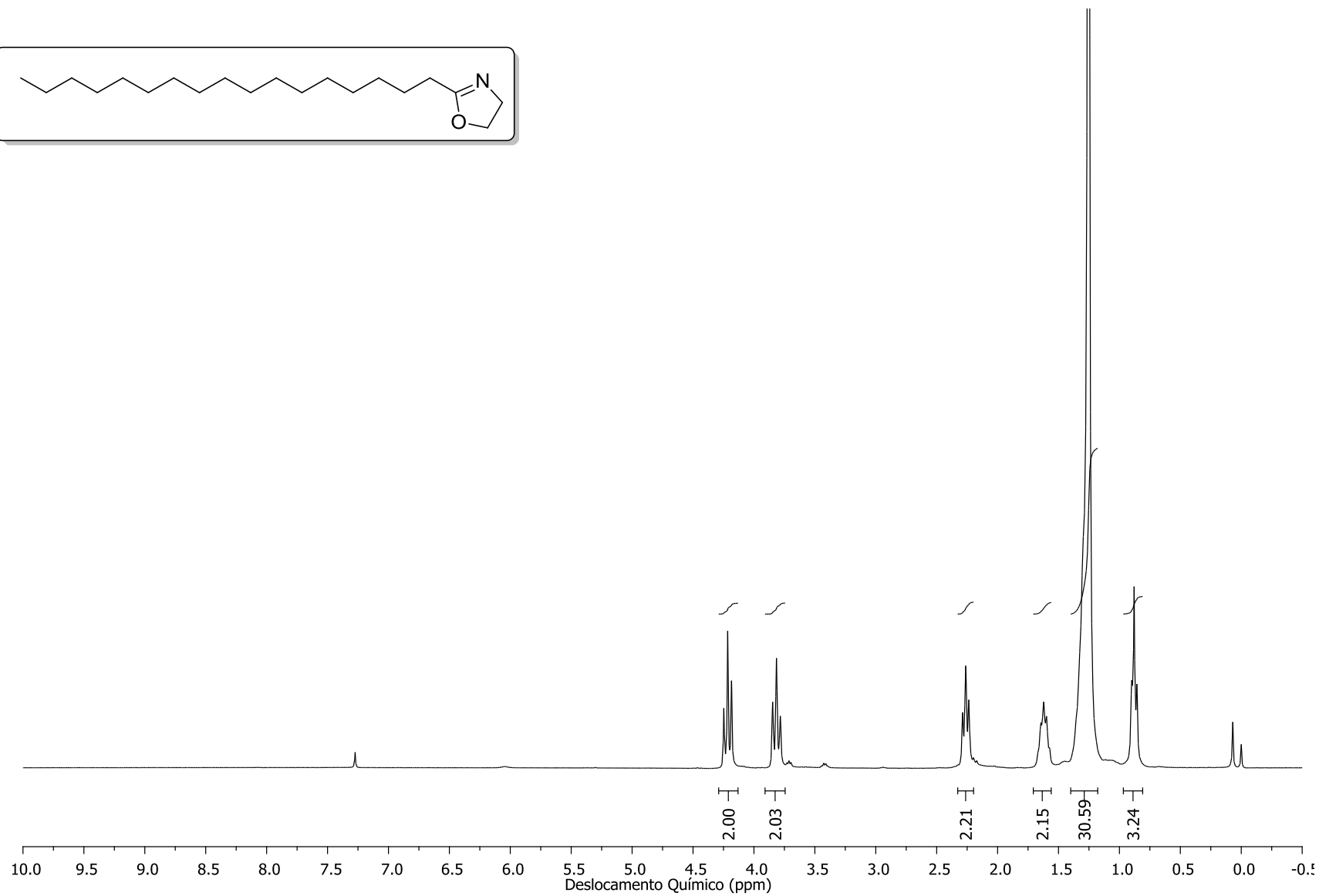
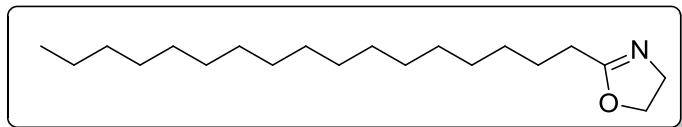
**Espectro (RMN de <sup>1</sup>H 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – 2-hidroxietilestereamida.**



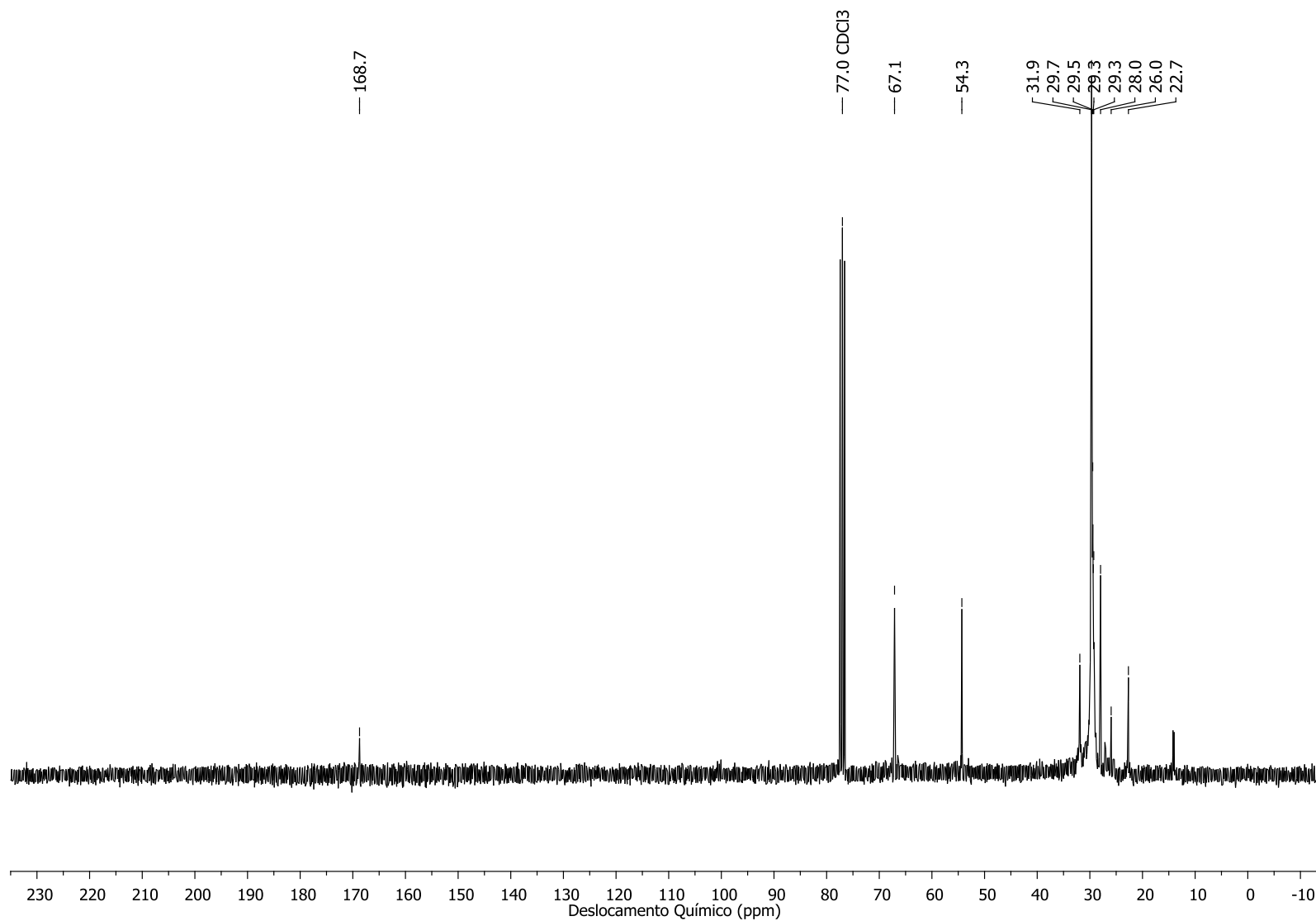
Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiestereamida.



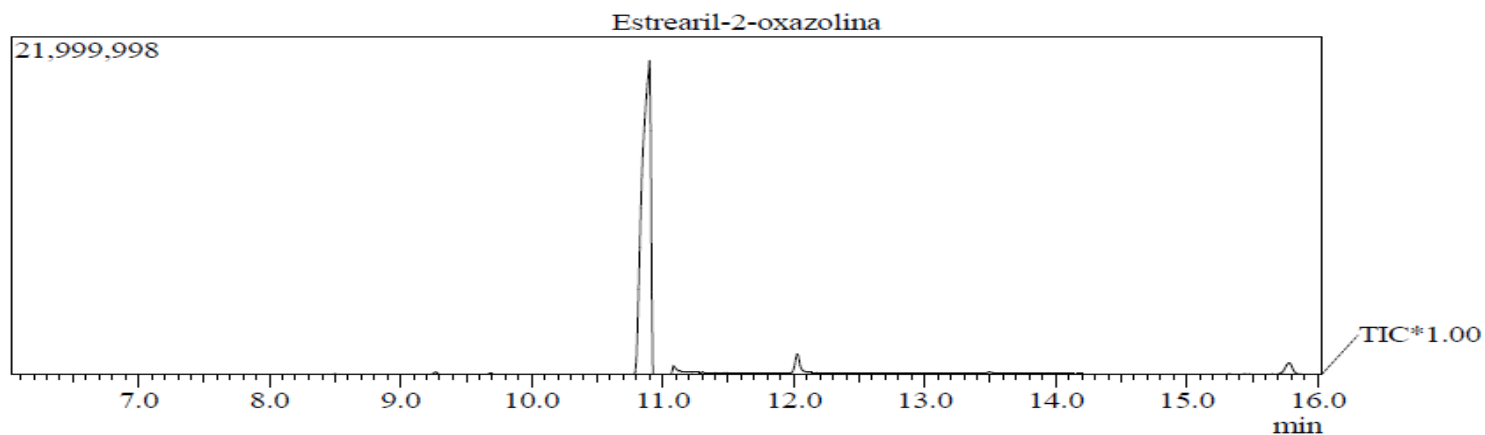
**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxiestereamida.**



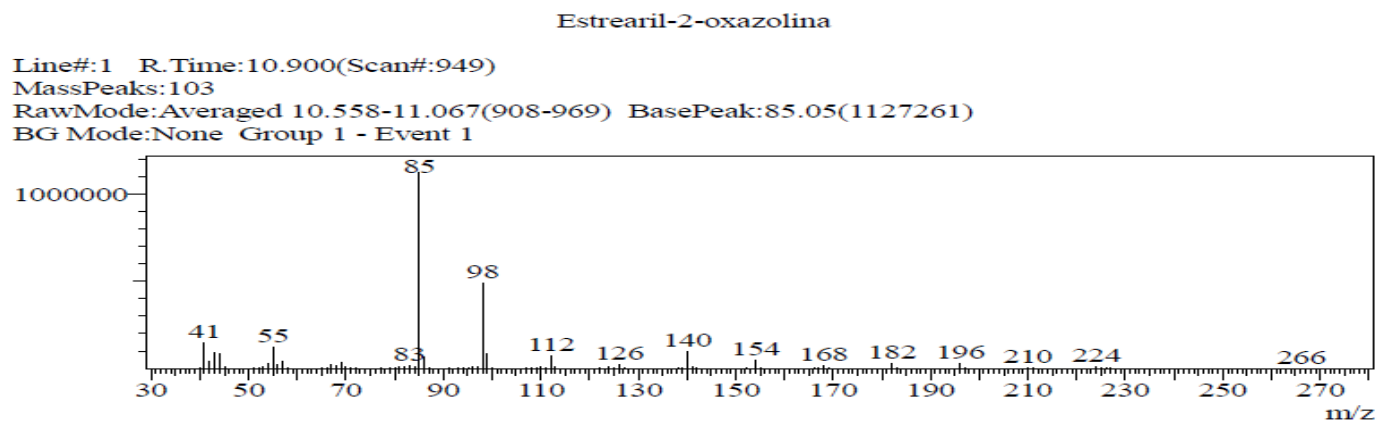
**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Esterail-2-oxazolona.**



Espectro (RMN de <sup>13</sup>C 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Estearil-2-oxazolina.

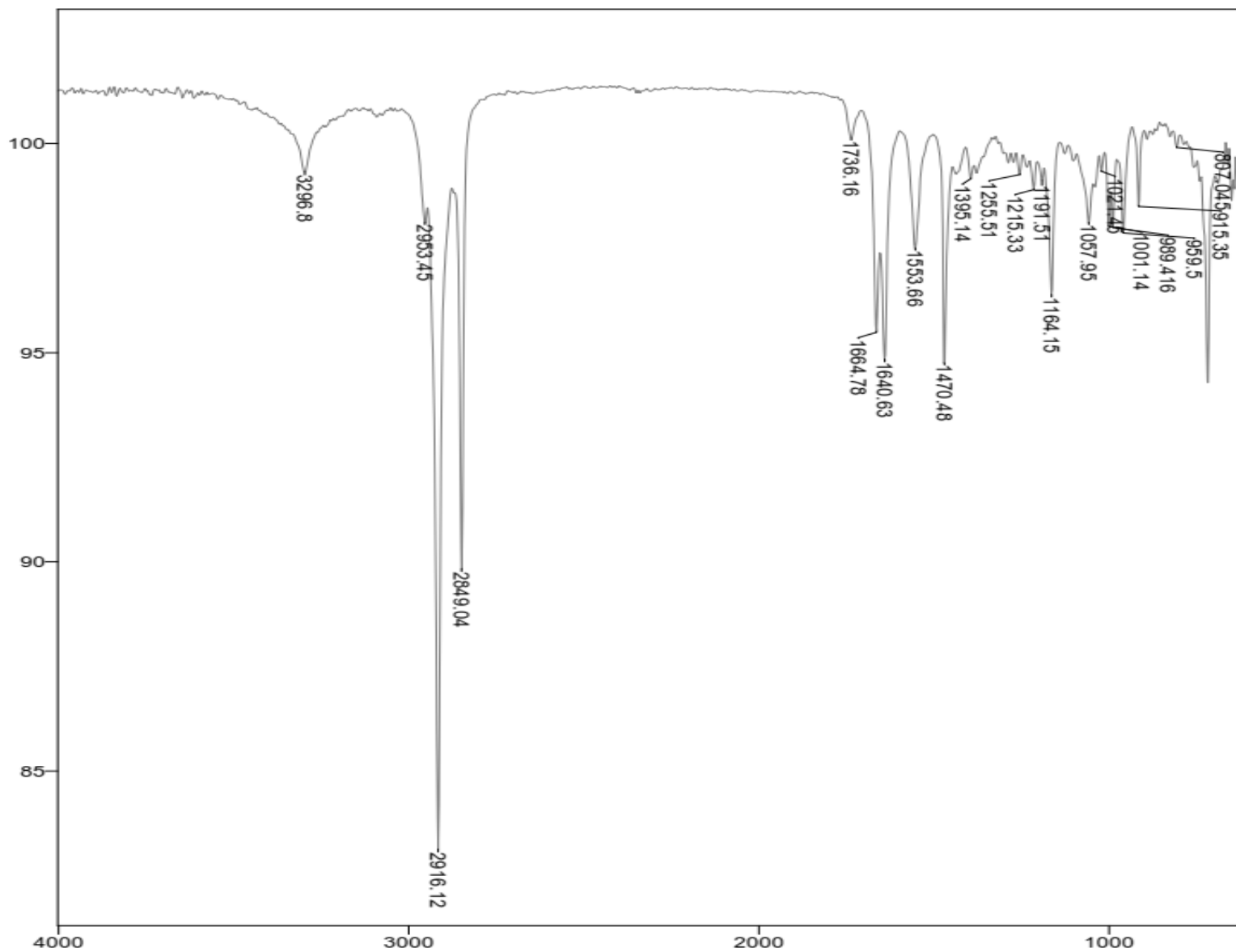


**Cromatograma da estearil-2-oxazolina.**

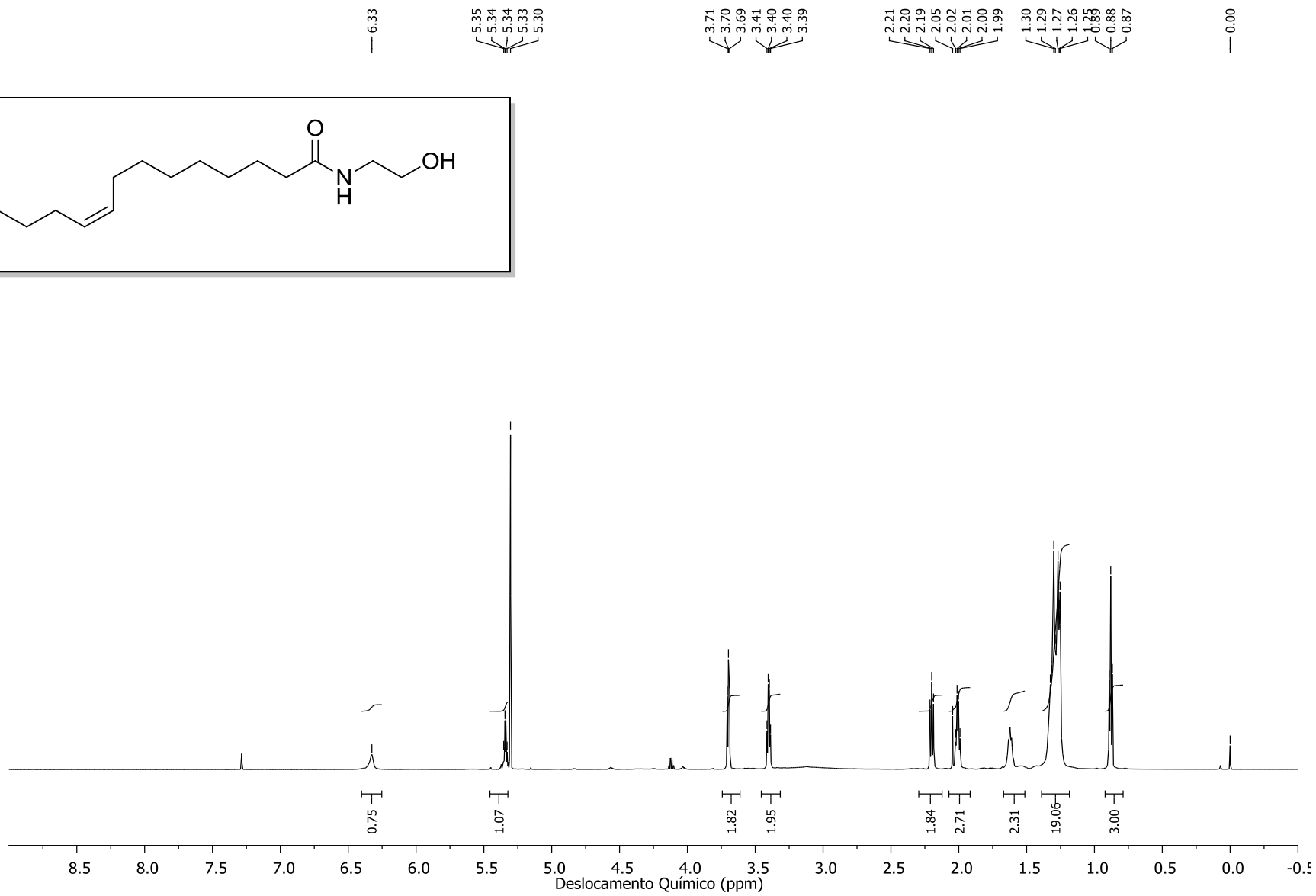
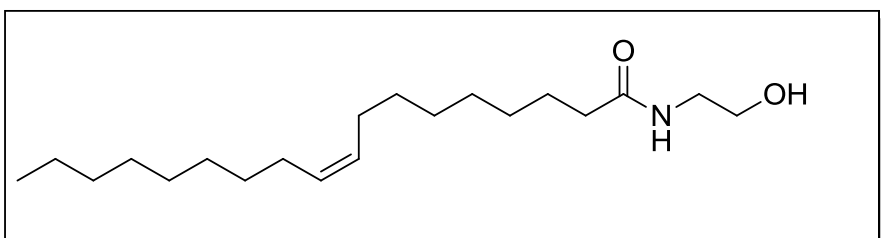


**Espectro (EM 70 eV m/z) - estearil-2-oxazolina.**

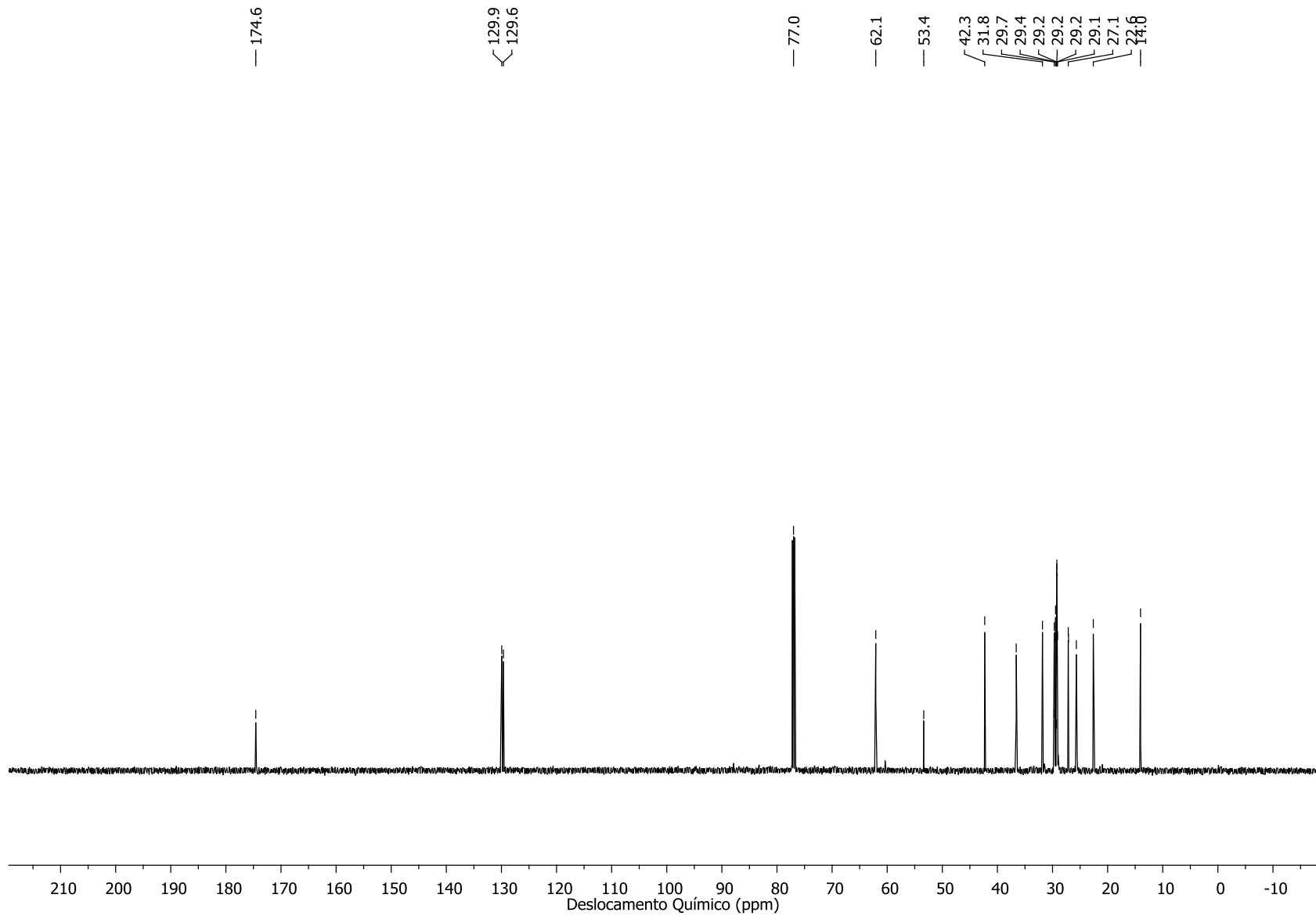




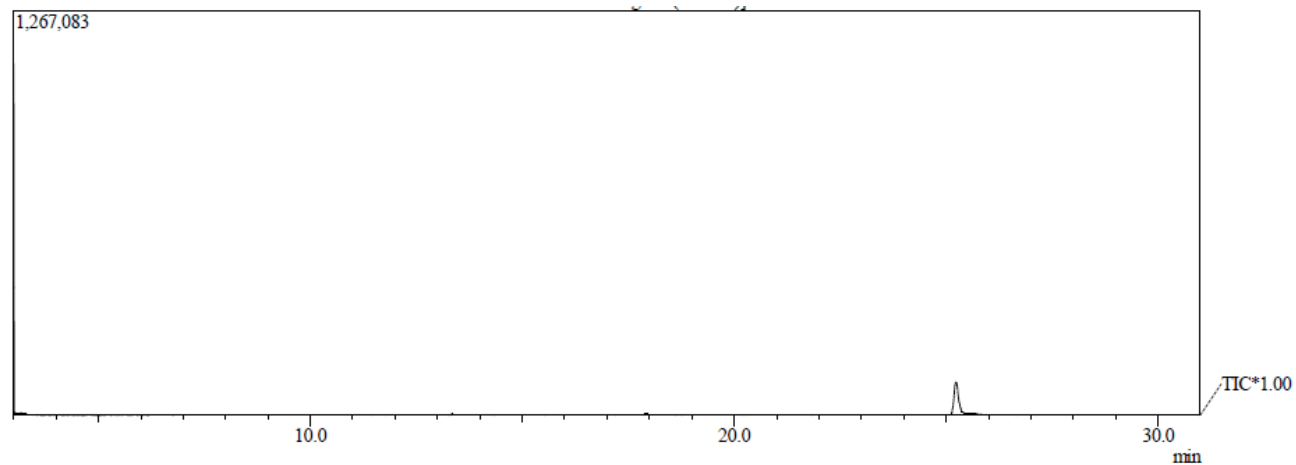
**Espectro de Infravermelho (ATR) – estearil-2-oxazolina.**



**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiétiloleiamida.**

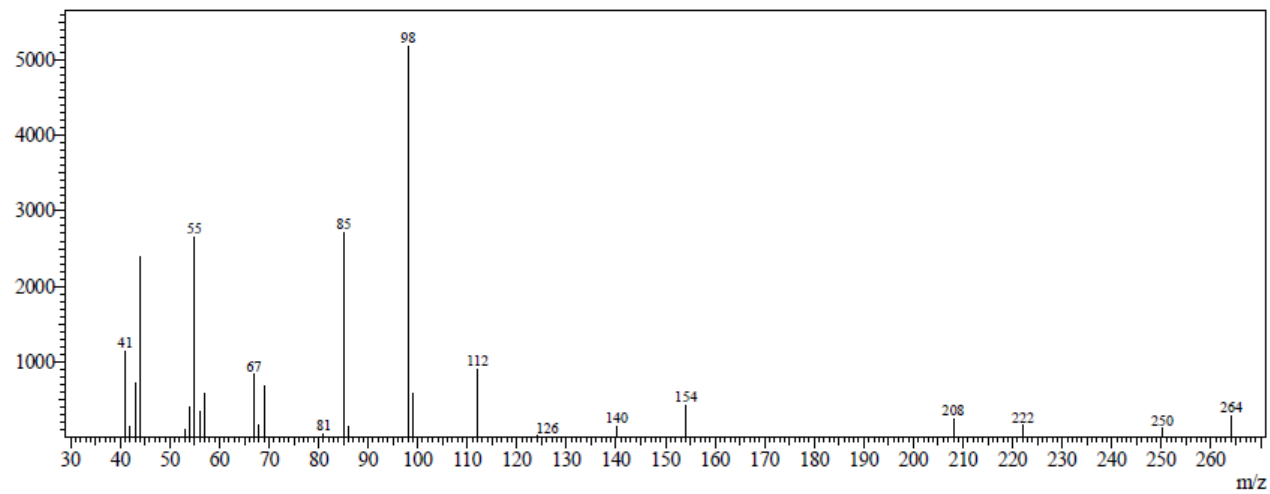


**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxietiloleiamida.**

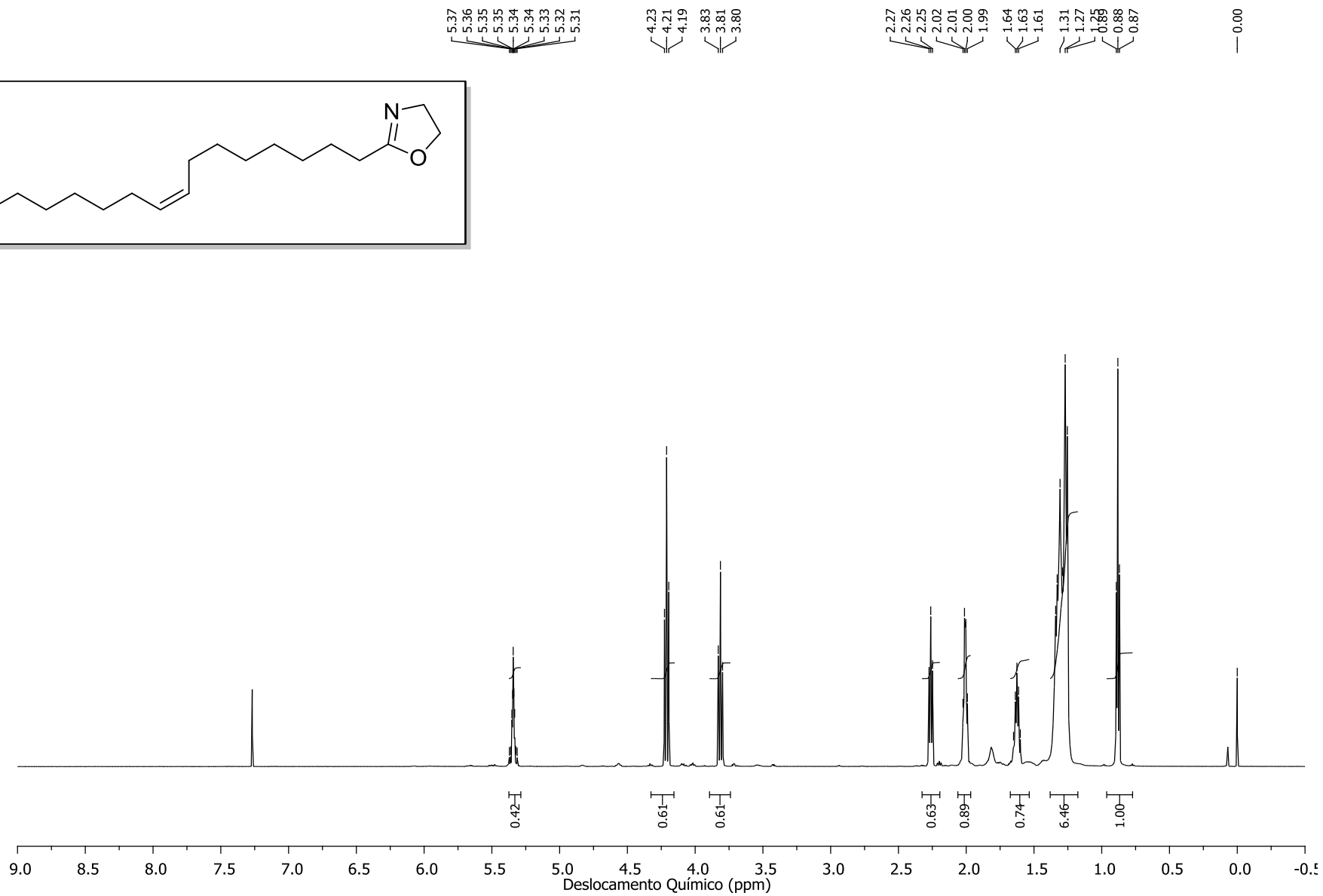
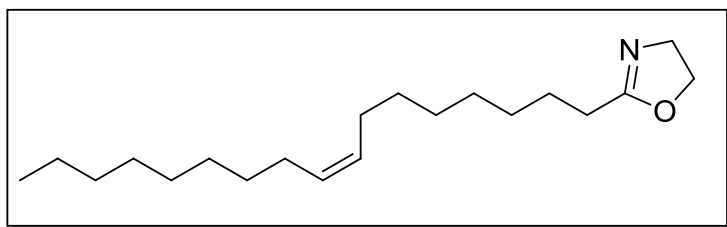


**Cromatograma da 2-hidroxi-etiloleiamida.**

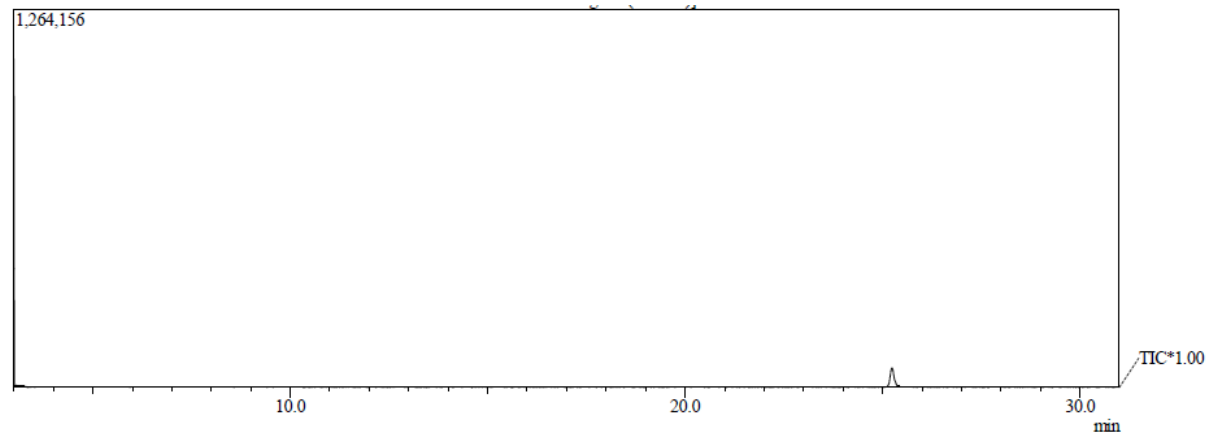
Line#:1 R.Time:25.225(Scan#:2668)  
MassPeaks:26  
RawMode:Averaged 24.883-25.608(2627-2714) BasePeak:98.05(5183)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



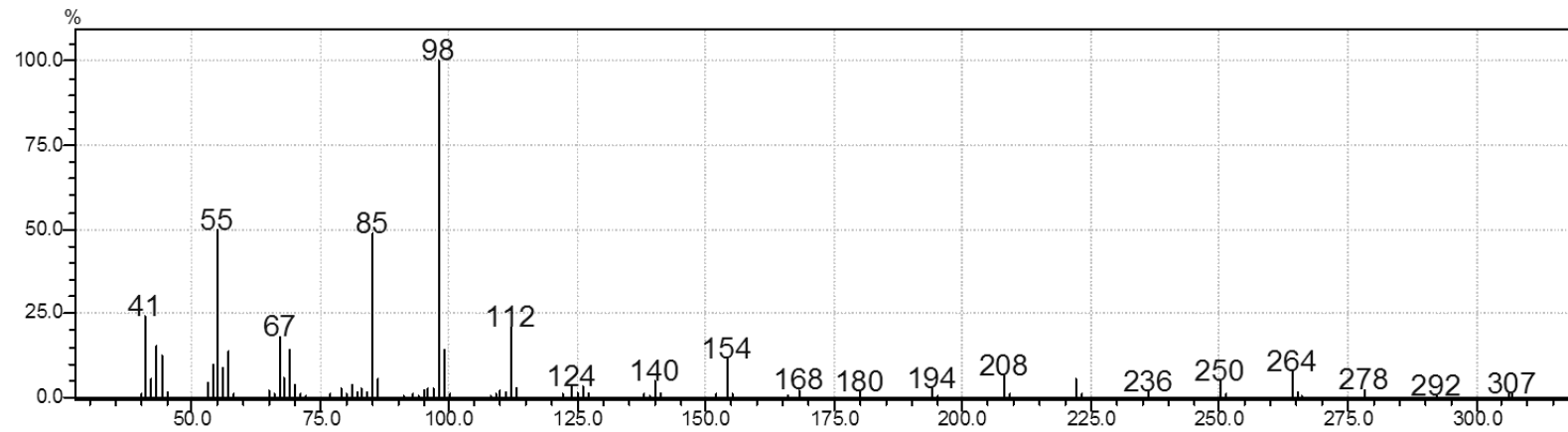
**Espectro (EM 70 eV m/z) 2-hidroxi-etiloleiamida.**



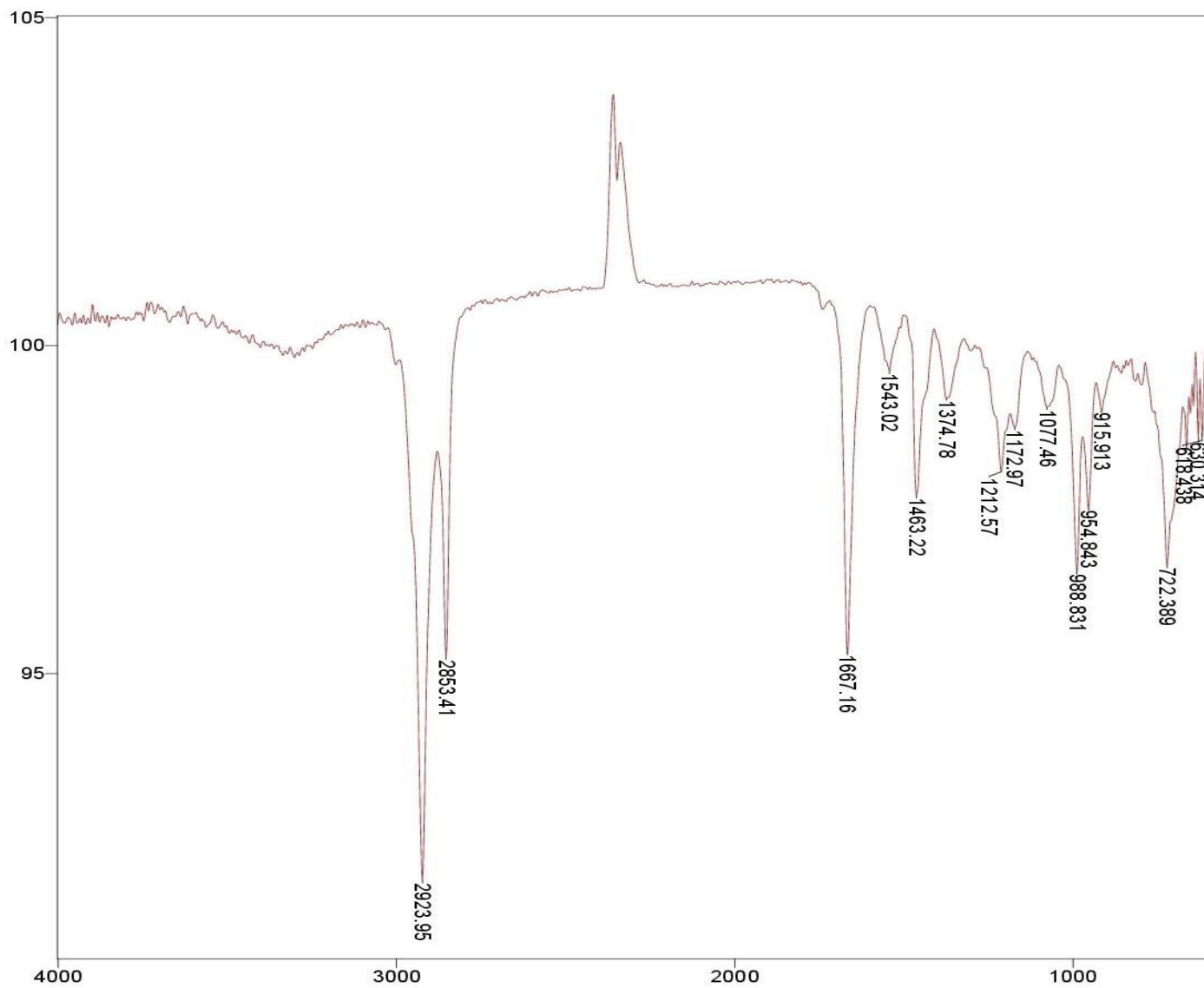
**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Oleil-2-oxazolina.**



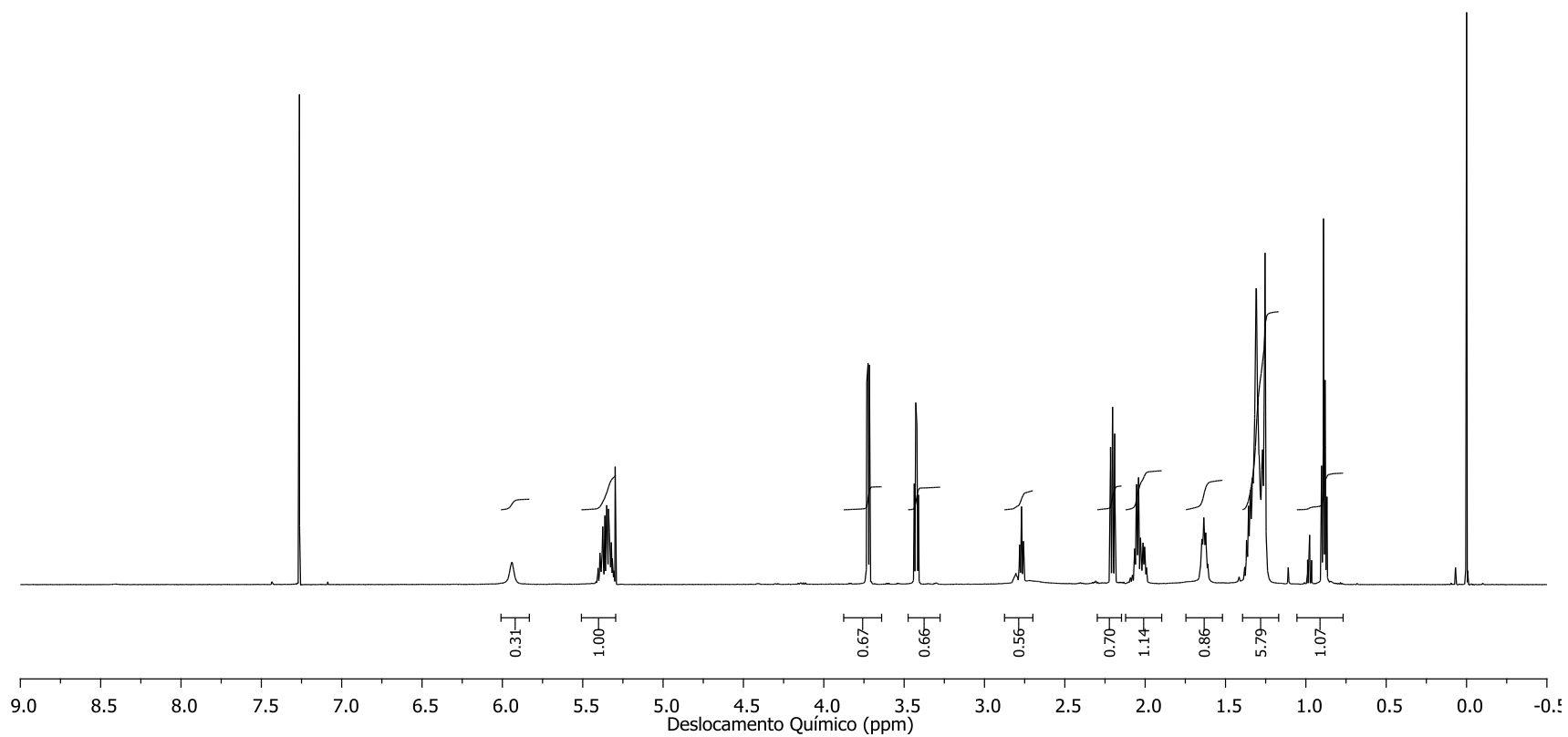
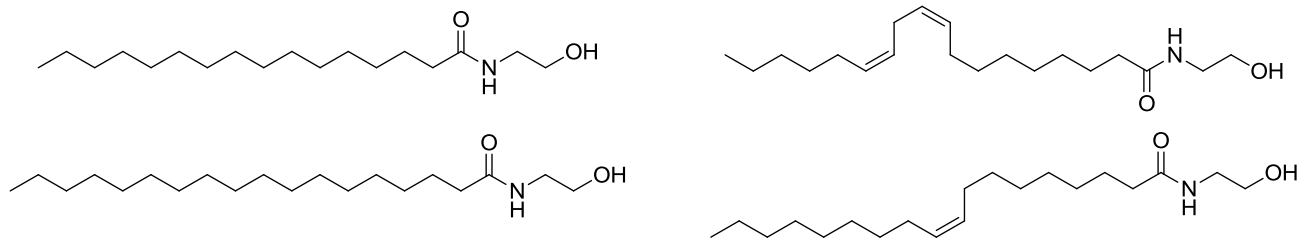
**Cromatograma da oleil-2-oxazolina.**



**Espectro (EM 70 eV m/z) - oleil-2-oxazolina.**

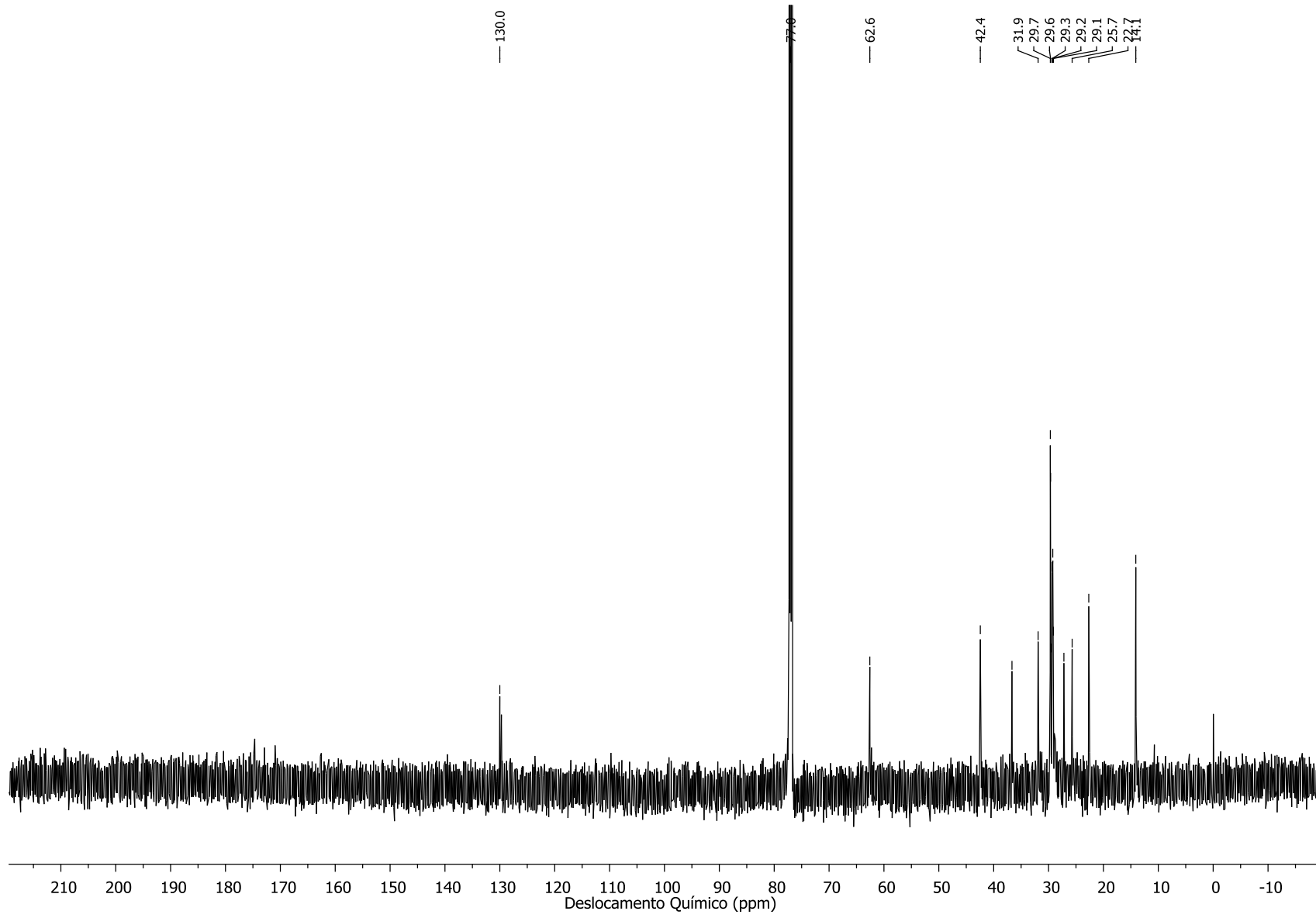


**Espectro de Infravermelho (ATR) – Oleil-2-oxazolina.**

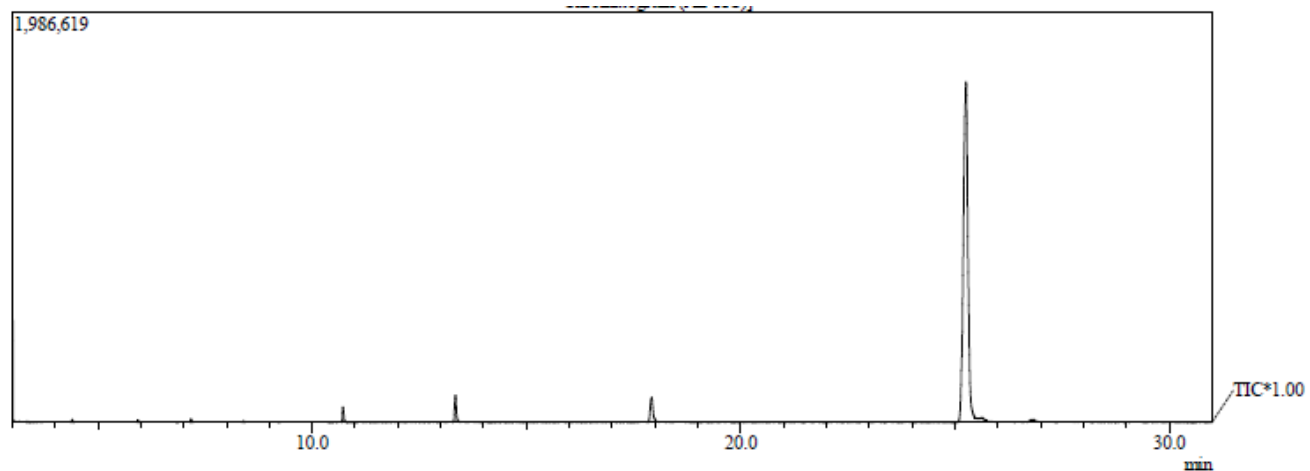


**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Etanolamida do óleo de soja.**

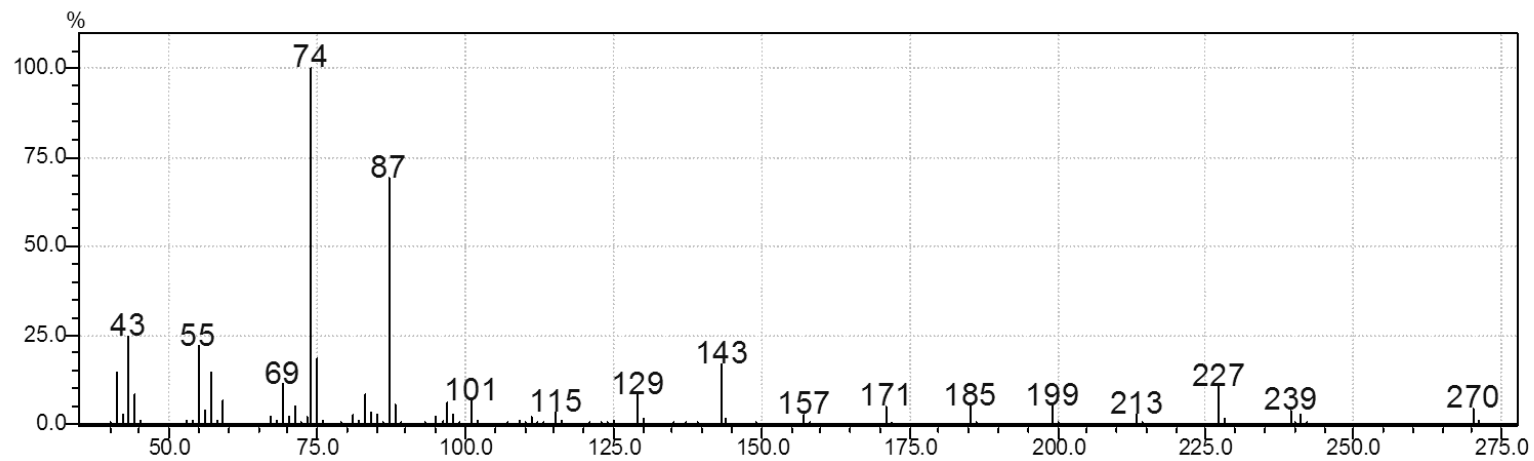




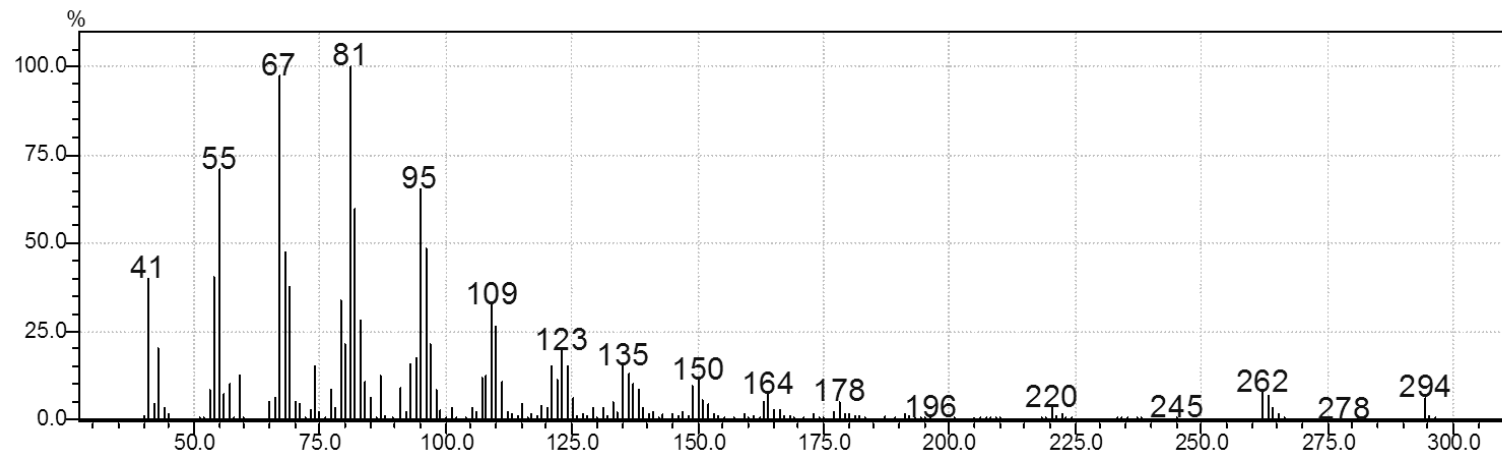
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Etanolamida do óleo de soja.**



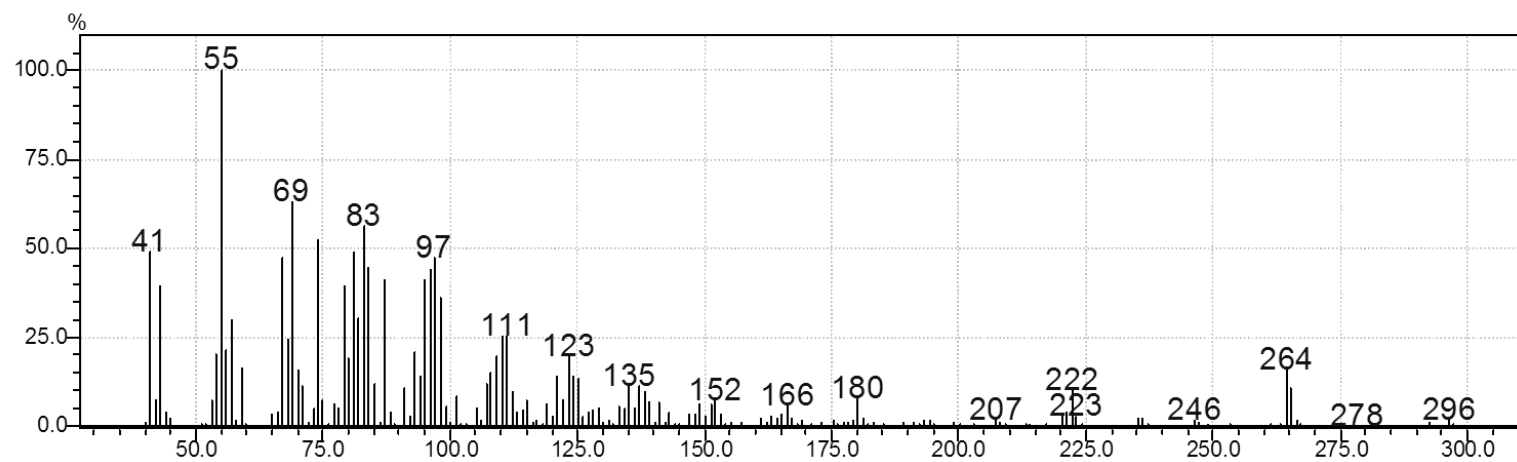
**Cromatograma da Etanolamida do óleo de soja.**



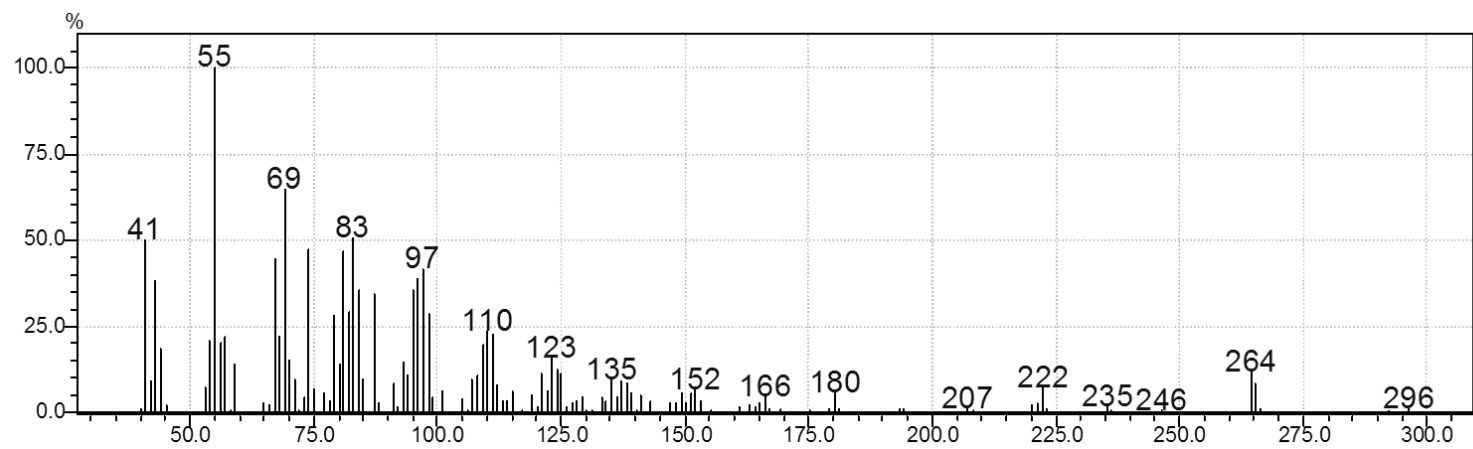
**Espectro (EM 70 eV m/z) - Etanolamida do óleo de soja- 1º pico – 2-hidroxiethylpalmitoamida.**



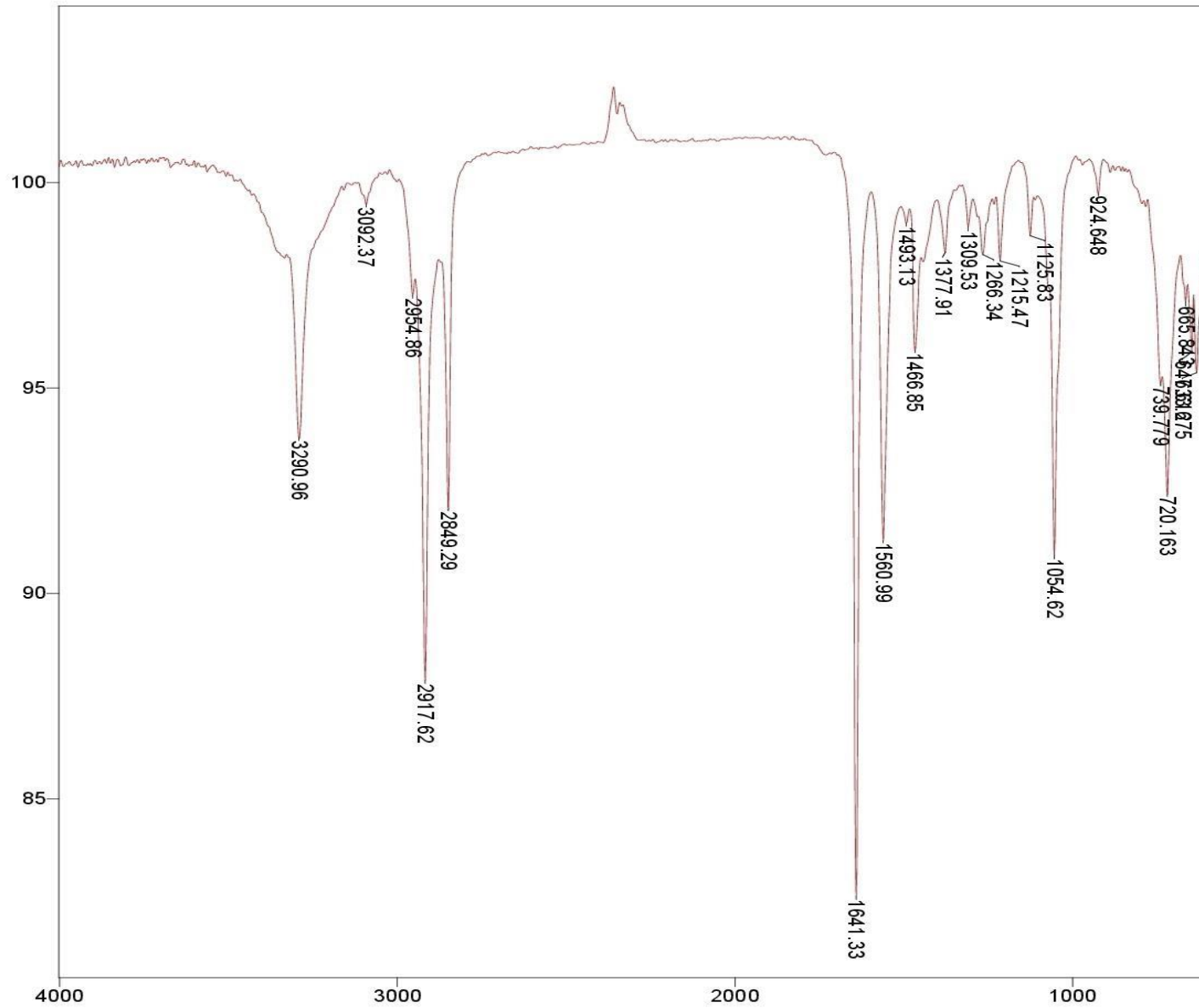
**Espectro (EM 70 eV m/z) - Etanolamida do óleo de soja- 2º pico – 2-hidroxietilinoileiamida.**



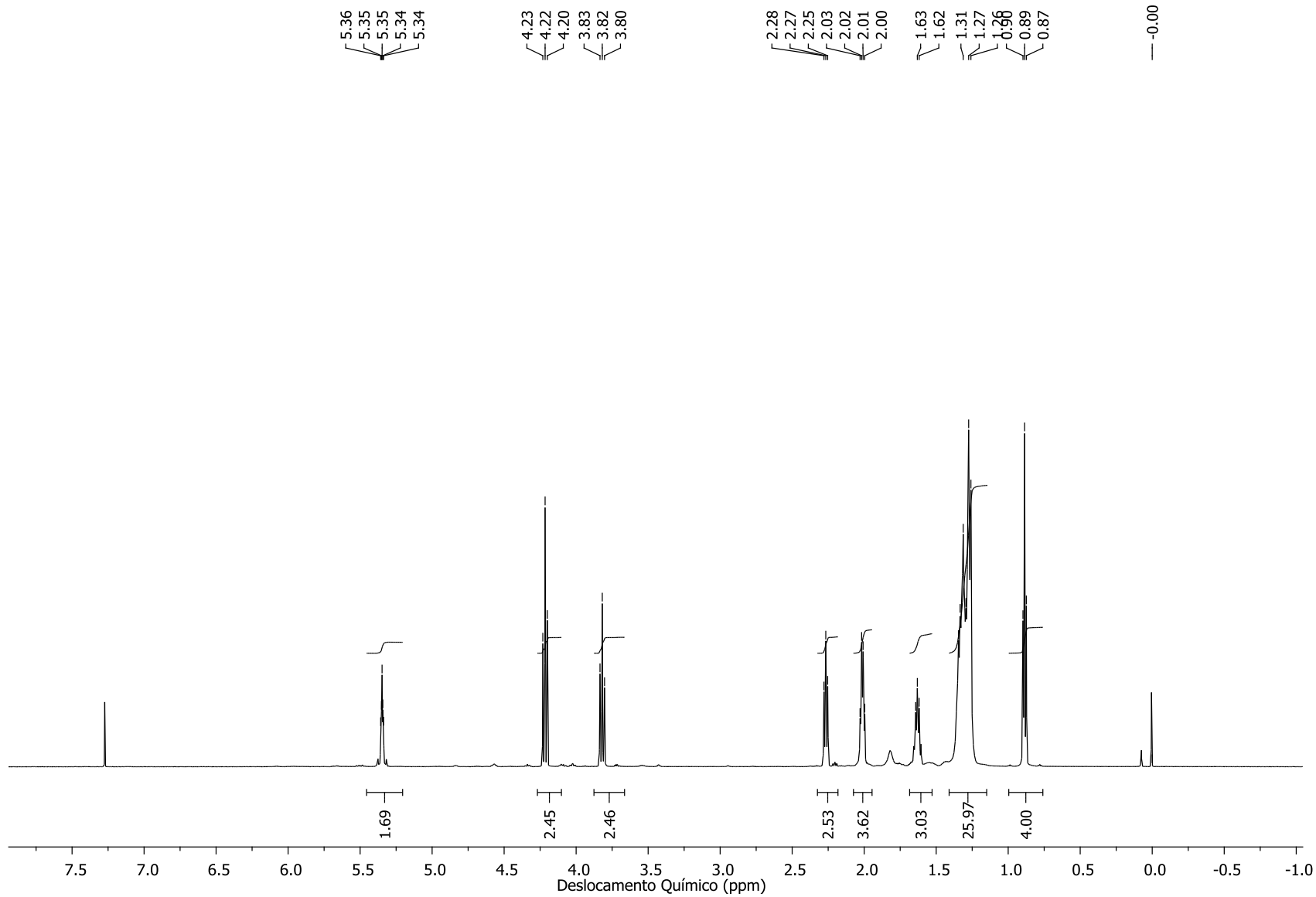
**Espectro (EM 70 eV m/z) - Etanolamida do óleo de soja- 3º pico – 2-hidroxietiloleiamia (ômega 9).**



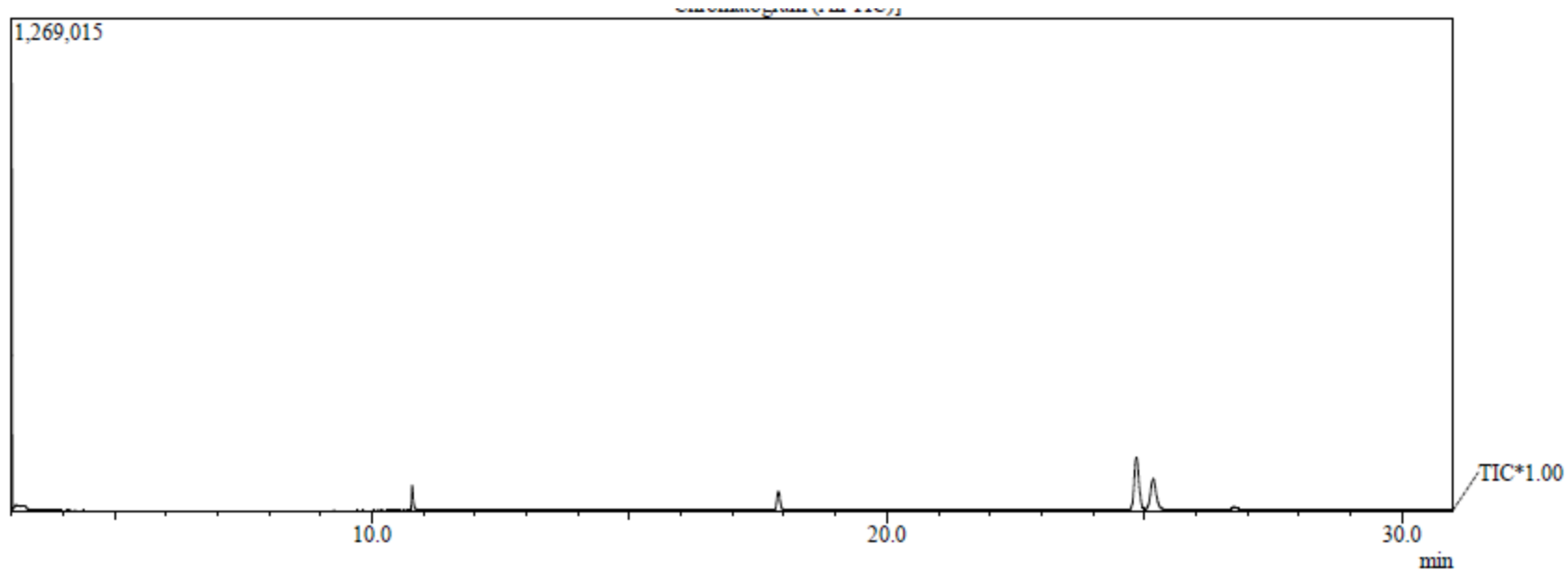
**Espectro (EM 70 eV m/z) - Etanolamida do óleo de soja- 4º pico – 2-hidroxiethyloleiamia (ômega 6).**



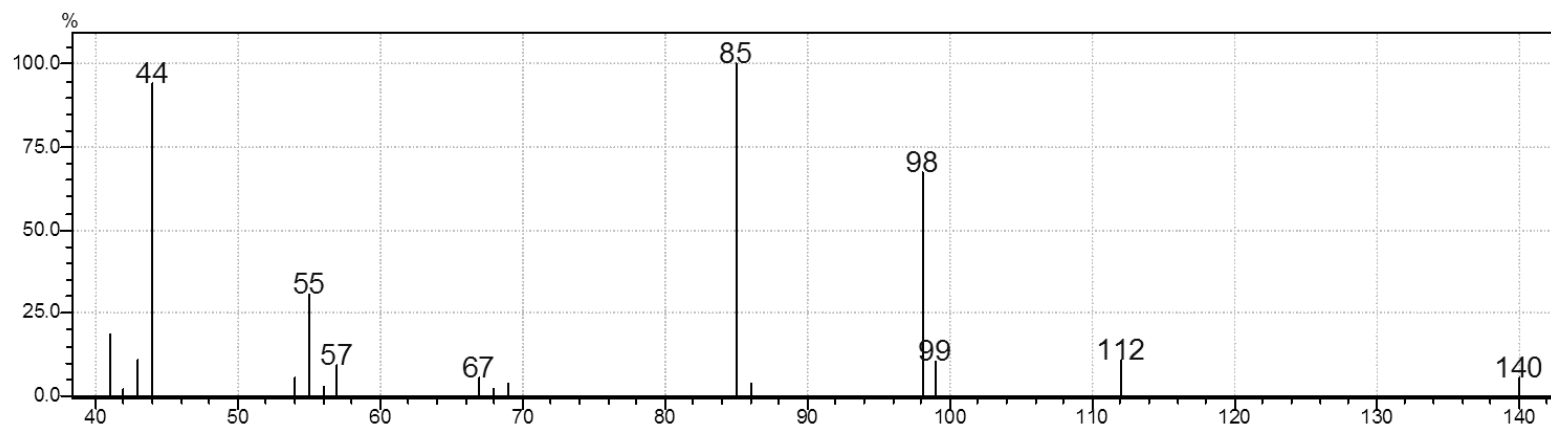
**Espectro de Infravermelho (ATR) – Etanolamida do óleo de soja.**



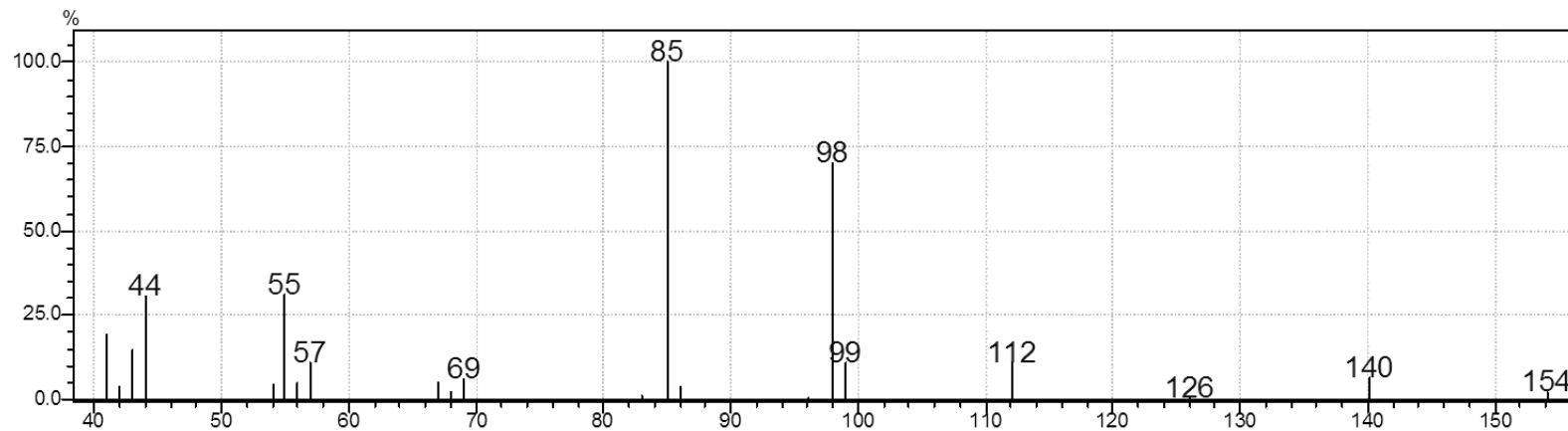
**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Oxazolina do óleo de soja**



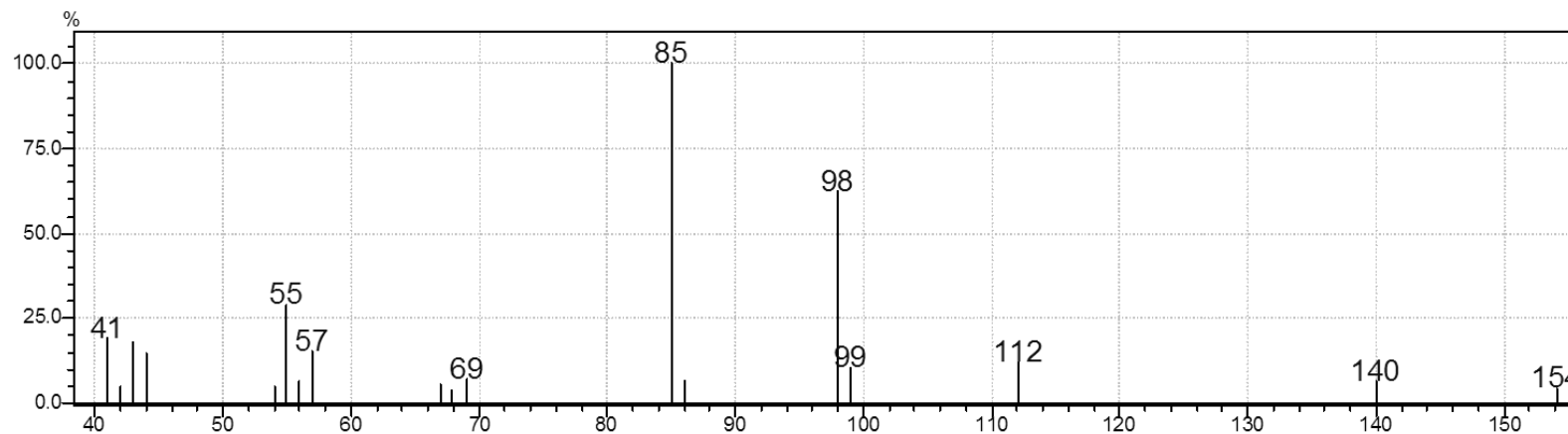
**Cromatograma da oxazolinas óleo de soja.**



**Espectro (EM 70 eV m/z) -Oxazolinas do óleo de soja- 1º pico – Palmitoil-2-oxazolinas..**

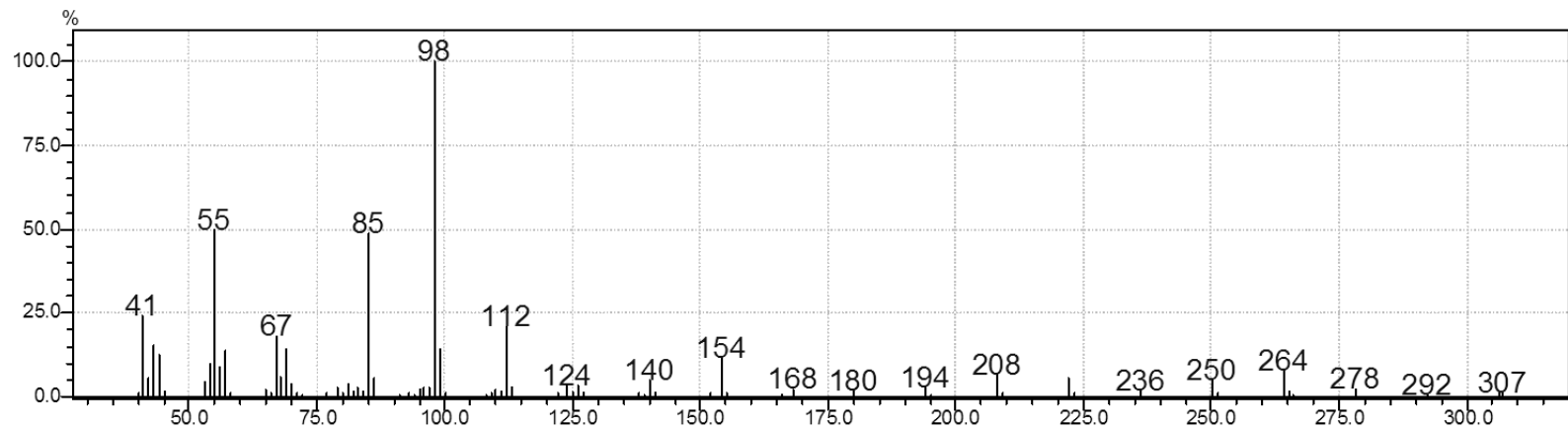


**Espectro (EM 70 eV m/z) - Oxazolina do óleo de soja- 2º pico – Linoil-2-oxazolina.**

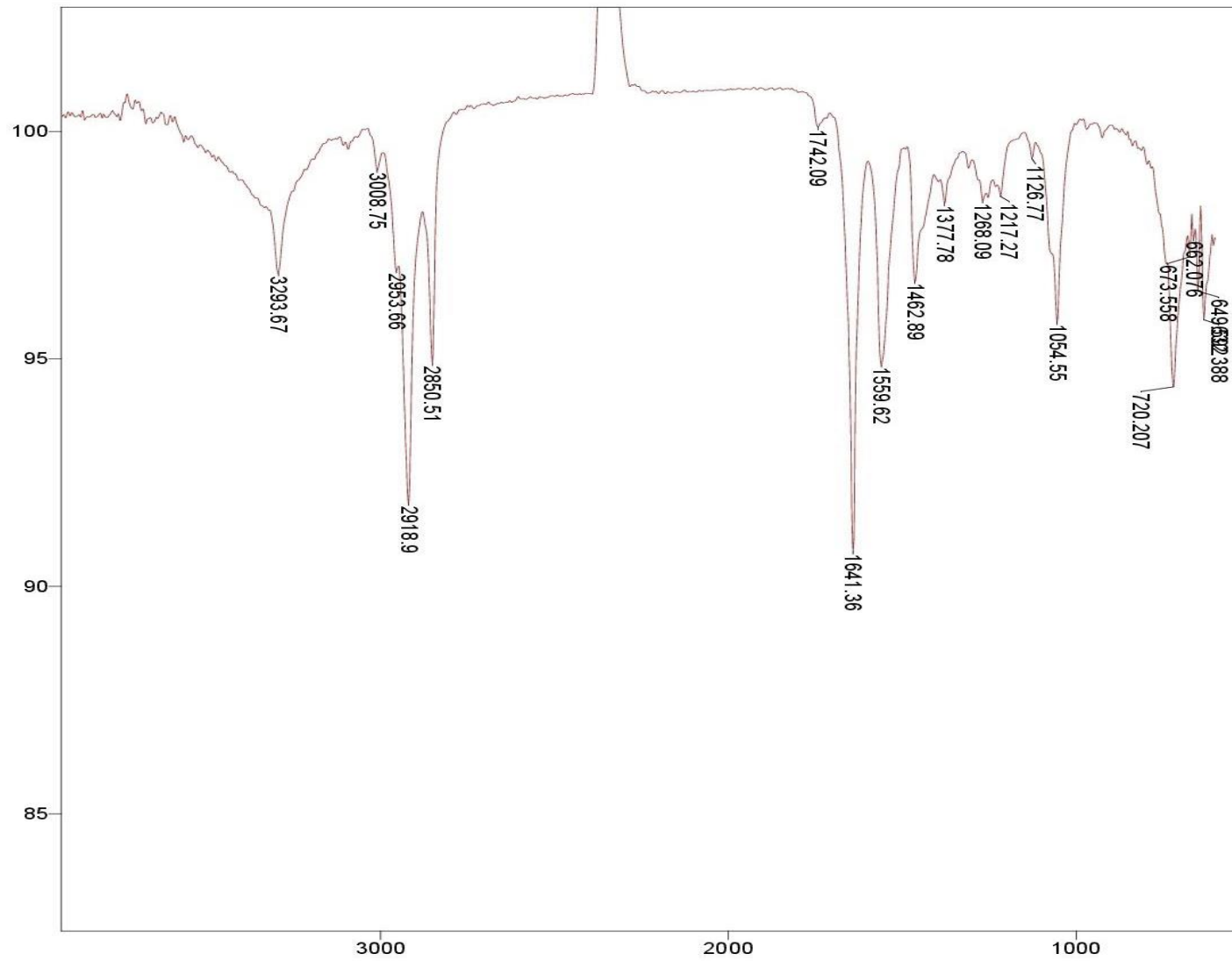


**Espectro (EM 70 eV m/z) - Oxazolina do óleo de soja- 3º pico – Oleil-2-oxazolina (ômega 9).**

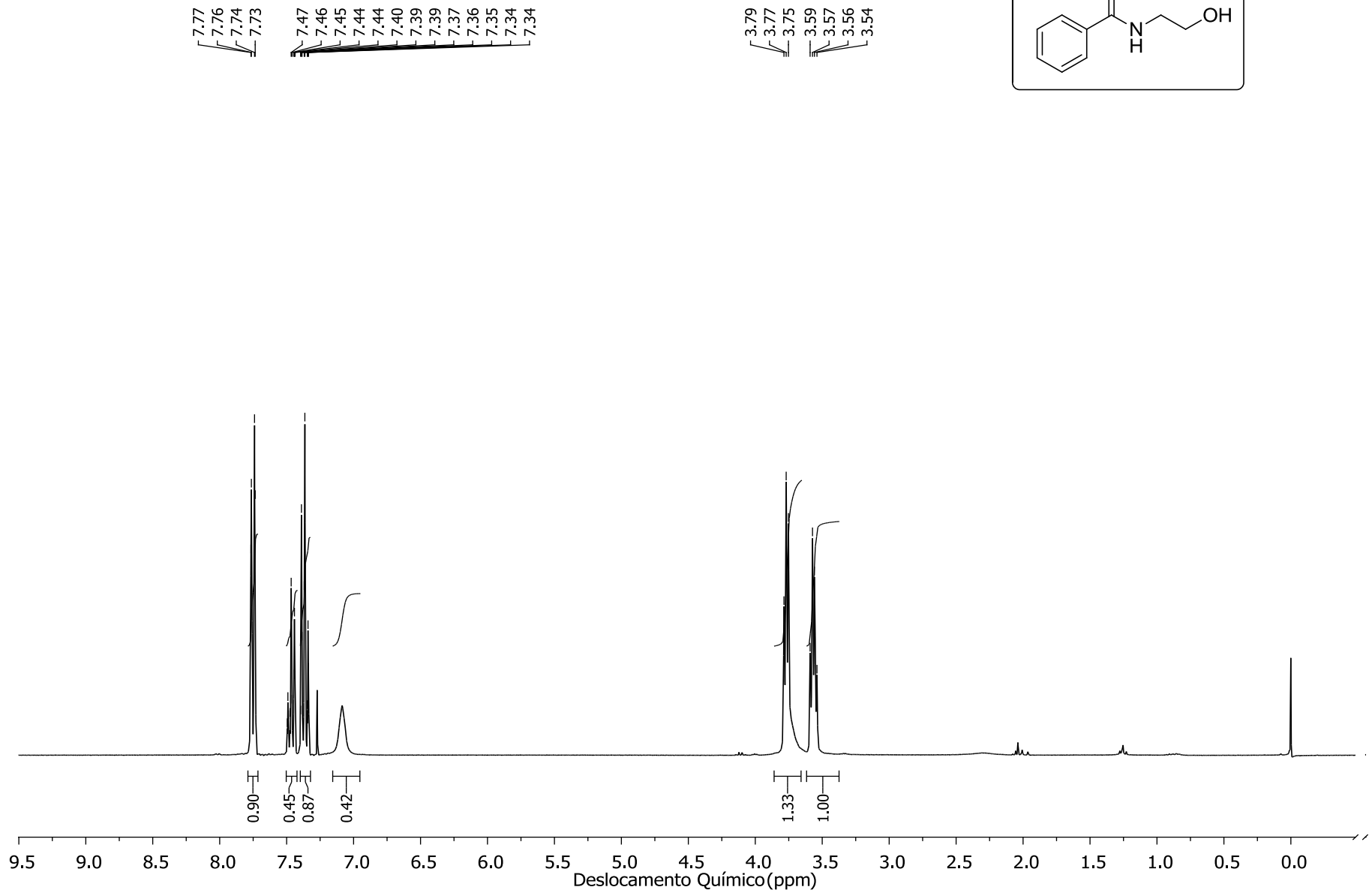




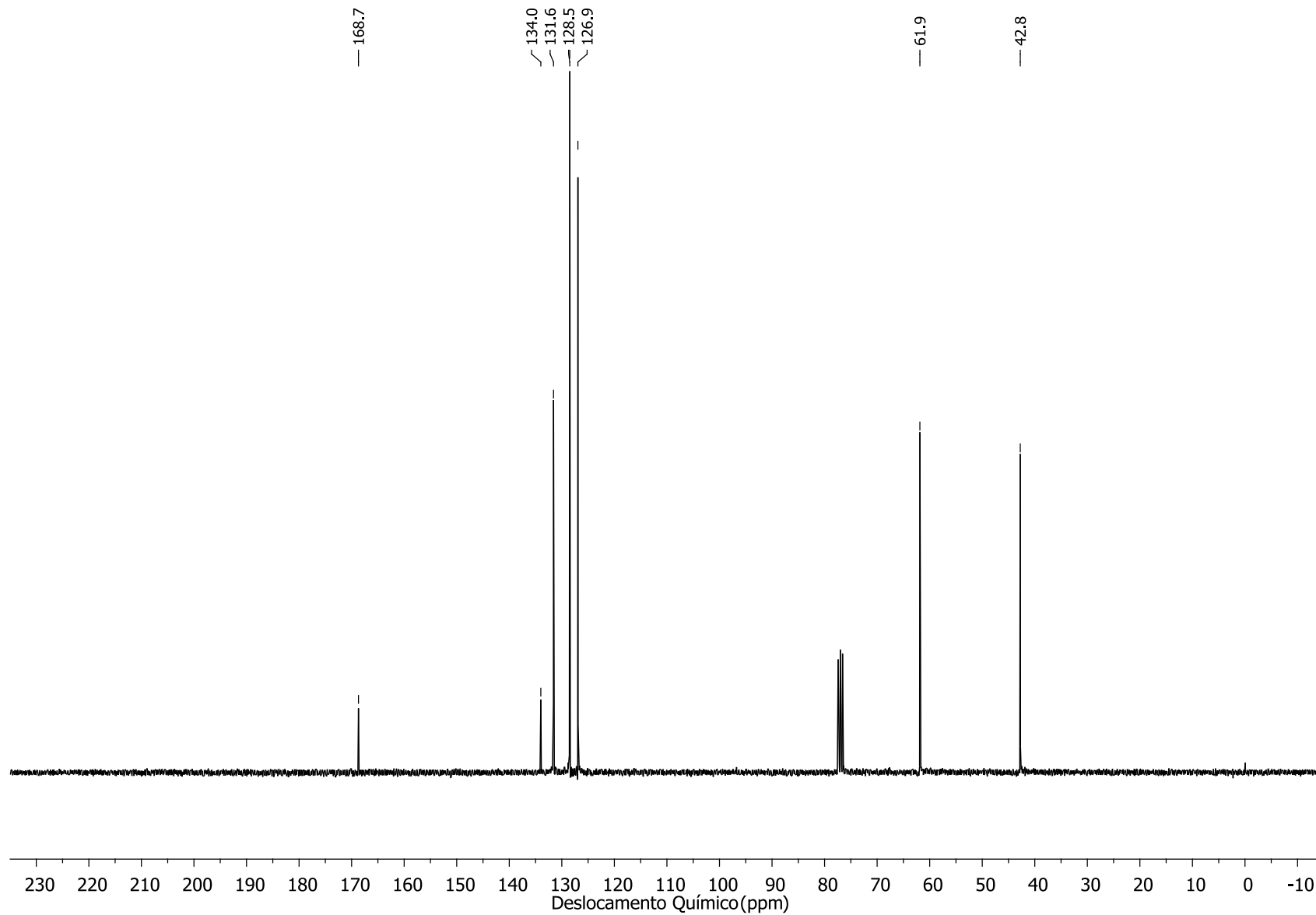
**Espectro (EM 70 eV m/z) - Oxazolina óleo de soja- 4º pico – Oleil-2-oxazolina (ômega 6).**



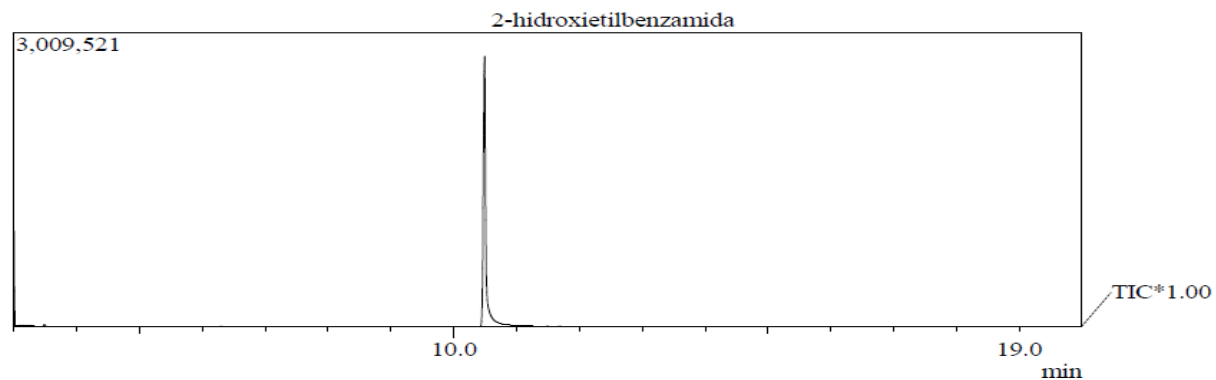
**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-oxazolina do óleo de soja.**



Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylbenzamida.



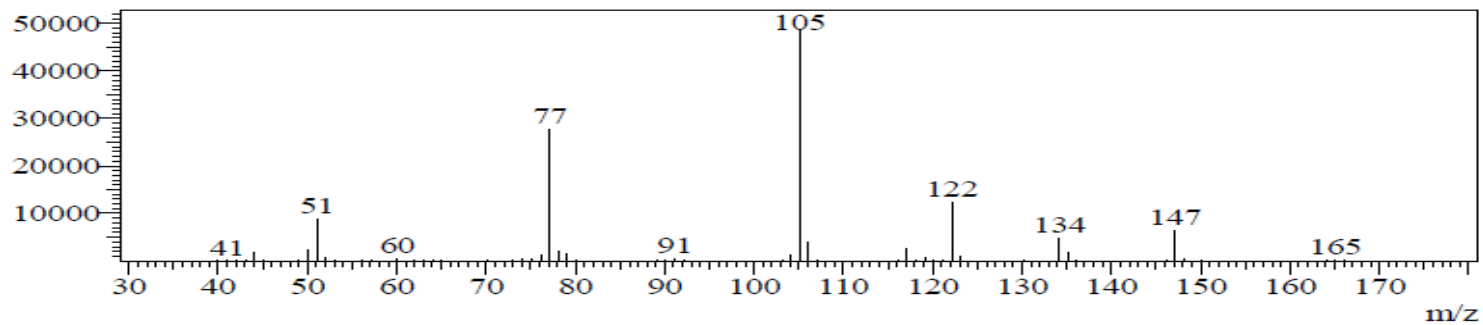
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylbenzamida.**



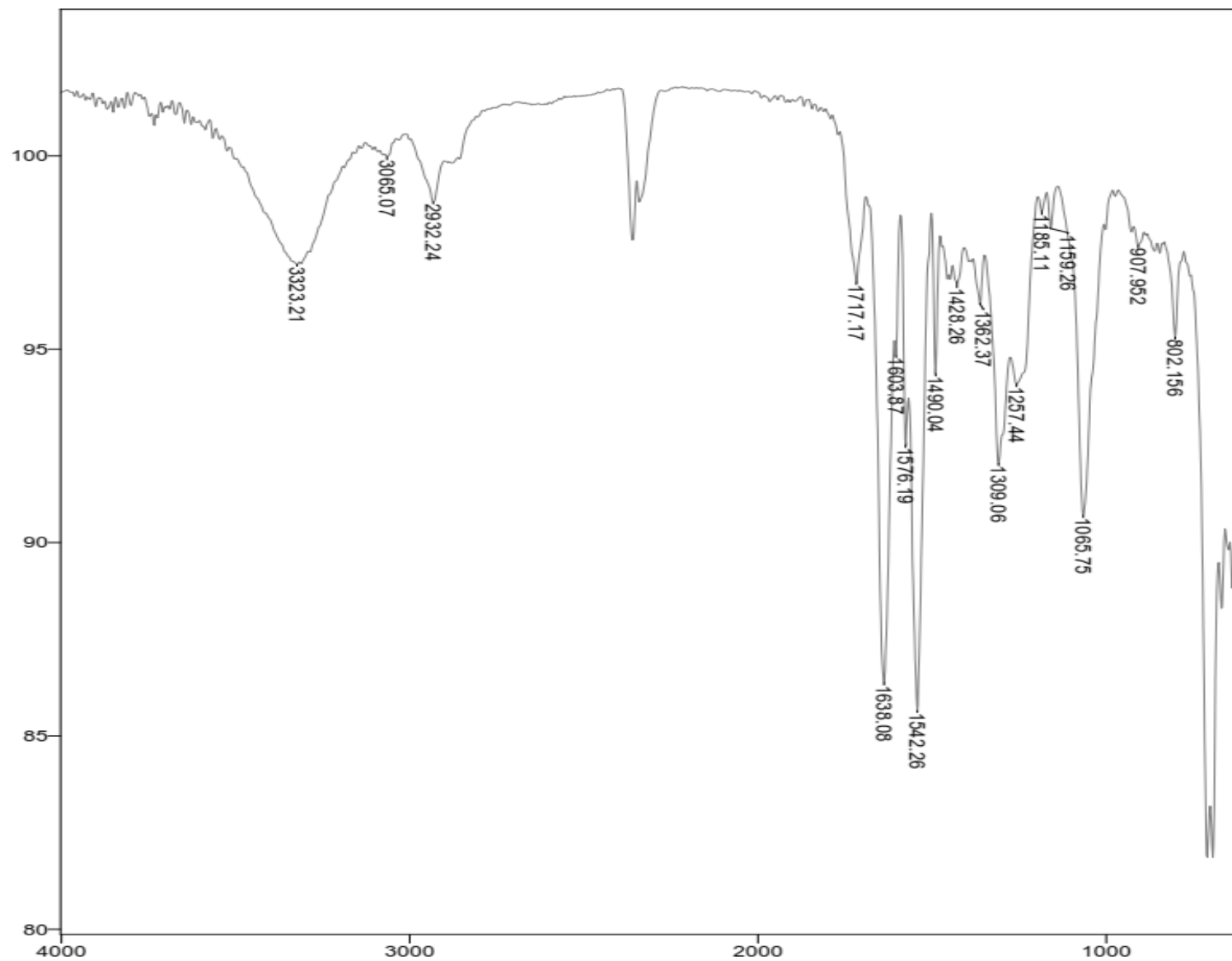
**Cromatograma da 2-hidroxietylbenzamida.**

2-hidroxietylbenzamida

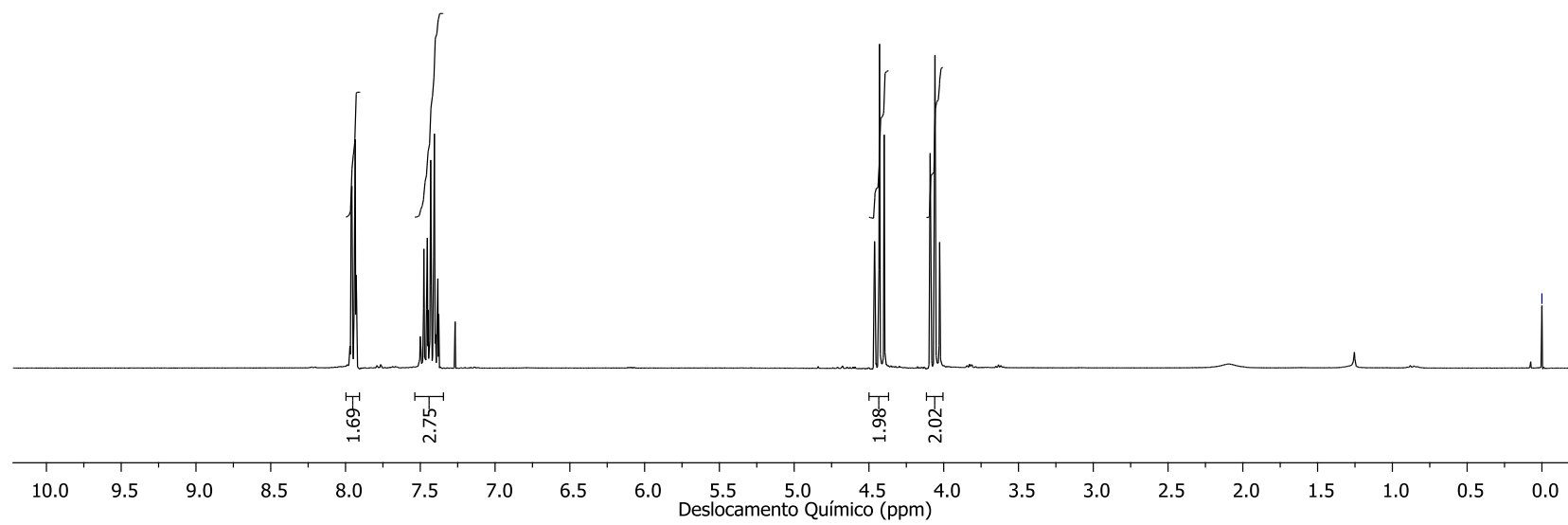
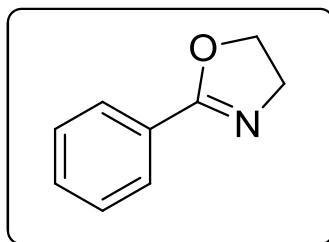
Line#:1 R.Time:10.492(Scan#:900)  
MassPeaks:60  
RawMode:Averaged 9.950-10.933(835-953) BasePeak:105.10(48821)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



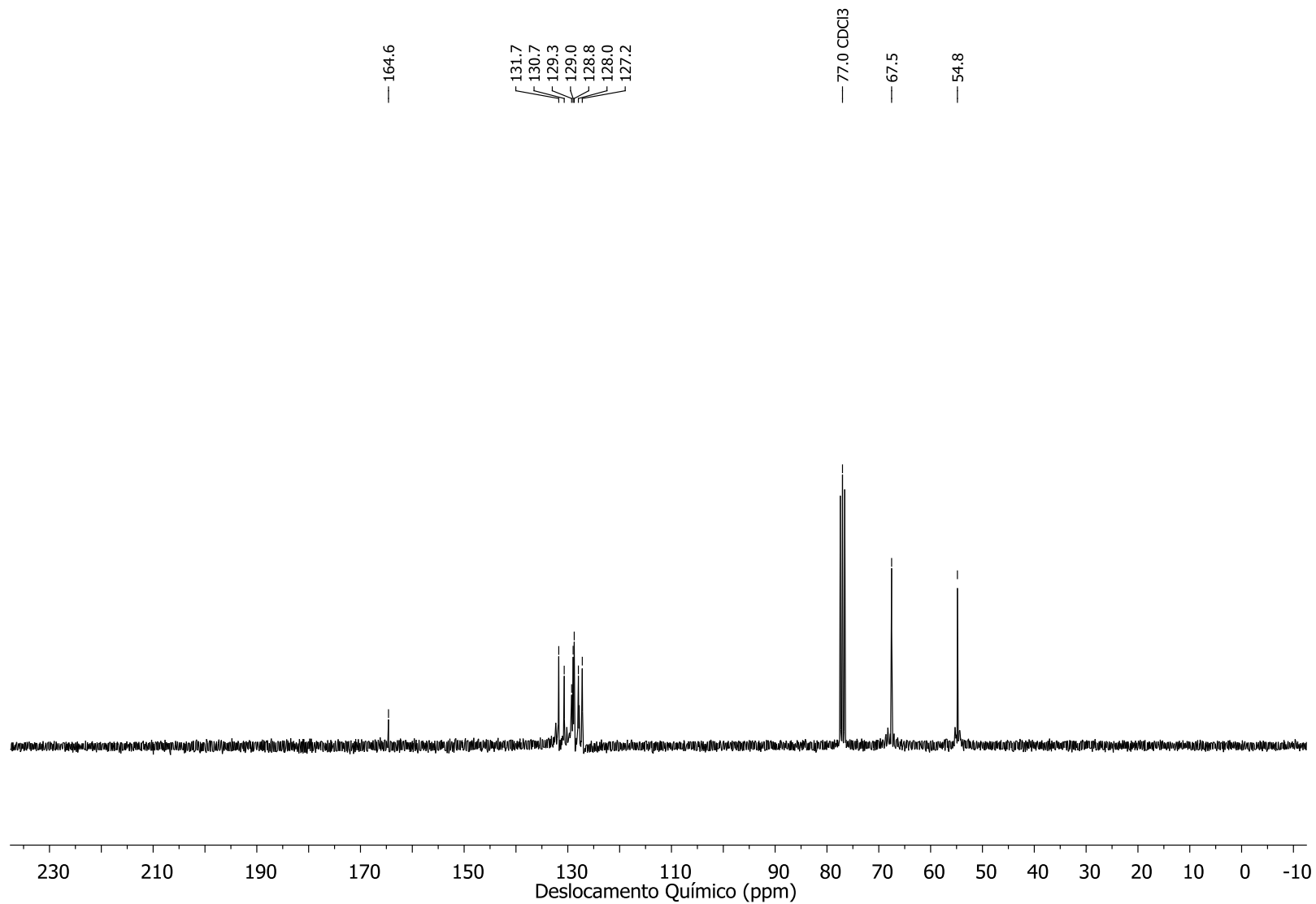
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxietylbenzamida.**



**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxietilbenzamida.**

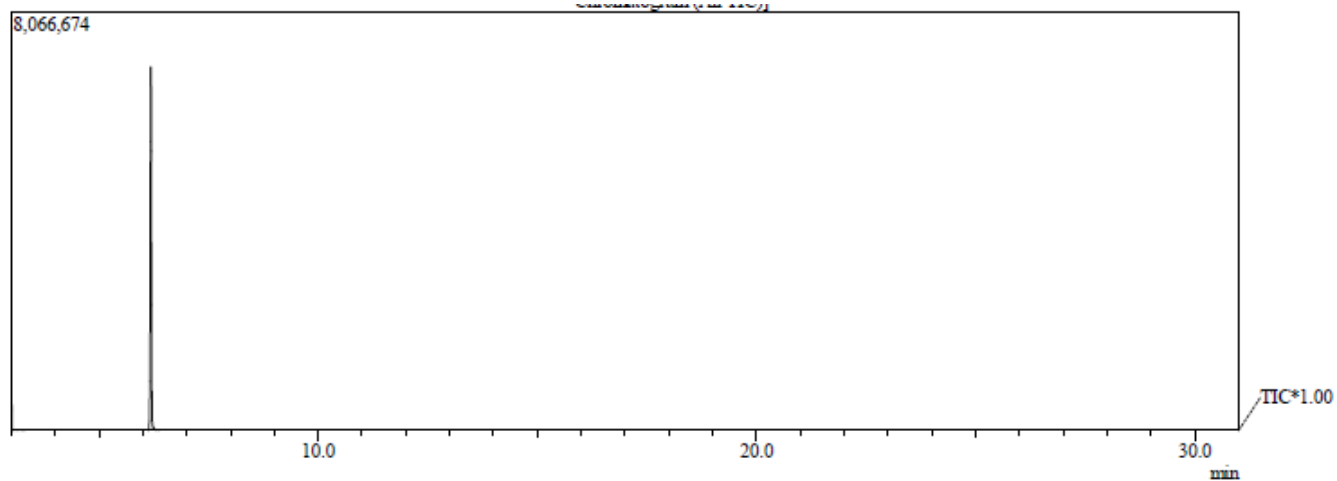


**Espectro (RMN de <sup>1</sup>H 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Fenil-2-oxazolina.**



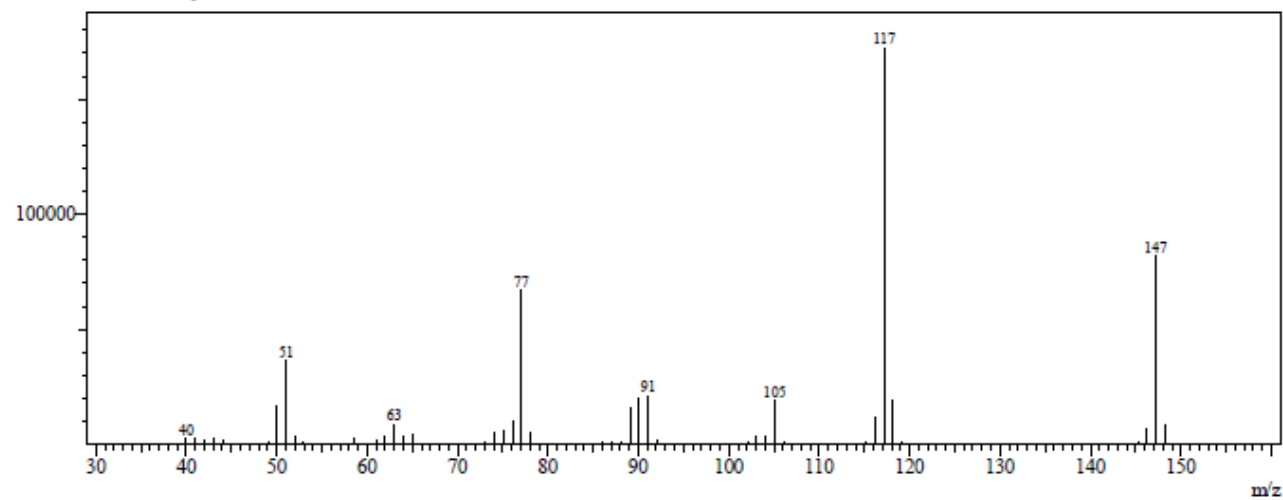
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Fenil-2-oxazolina.**



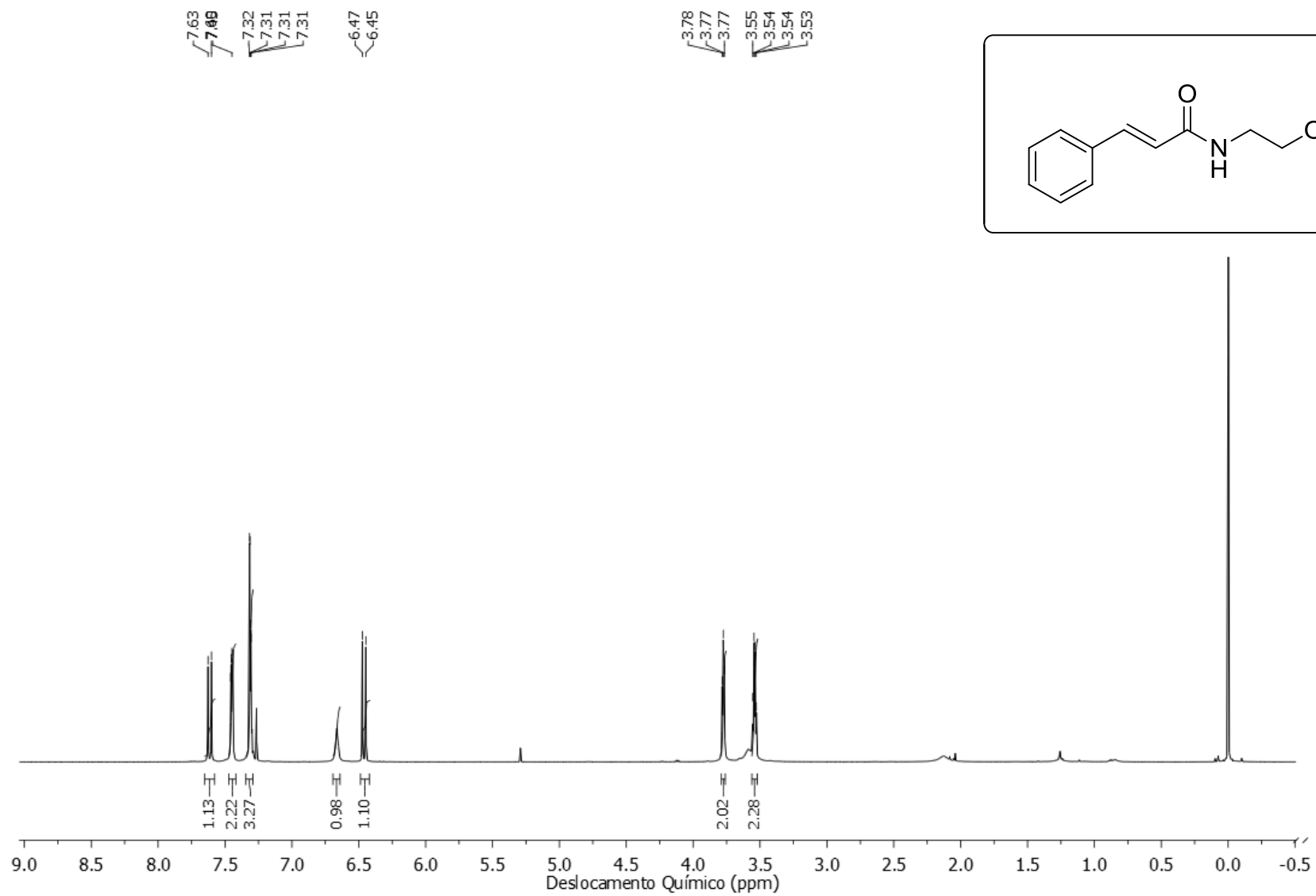


**Cromatograma da Fenil-2-oxazolina.**

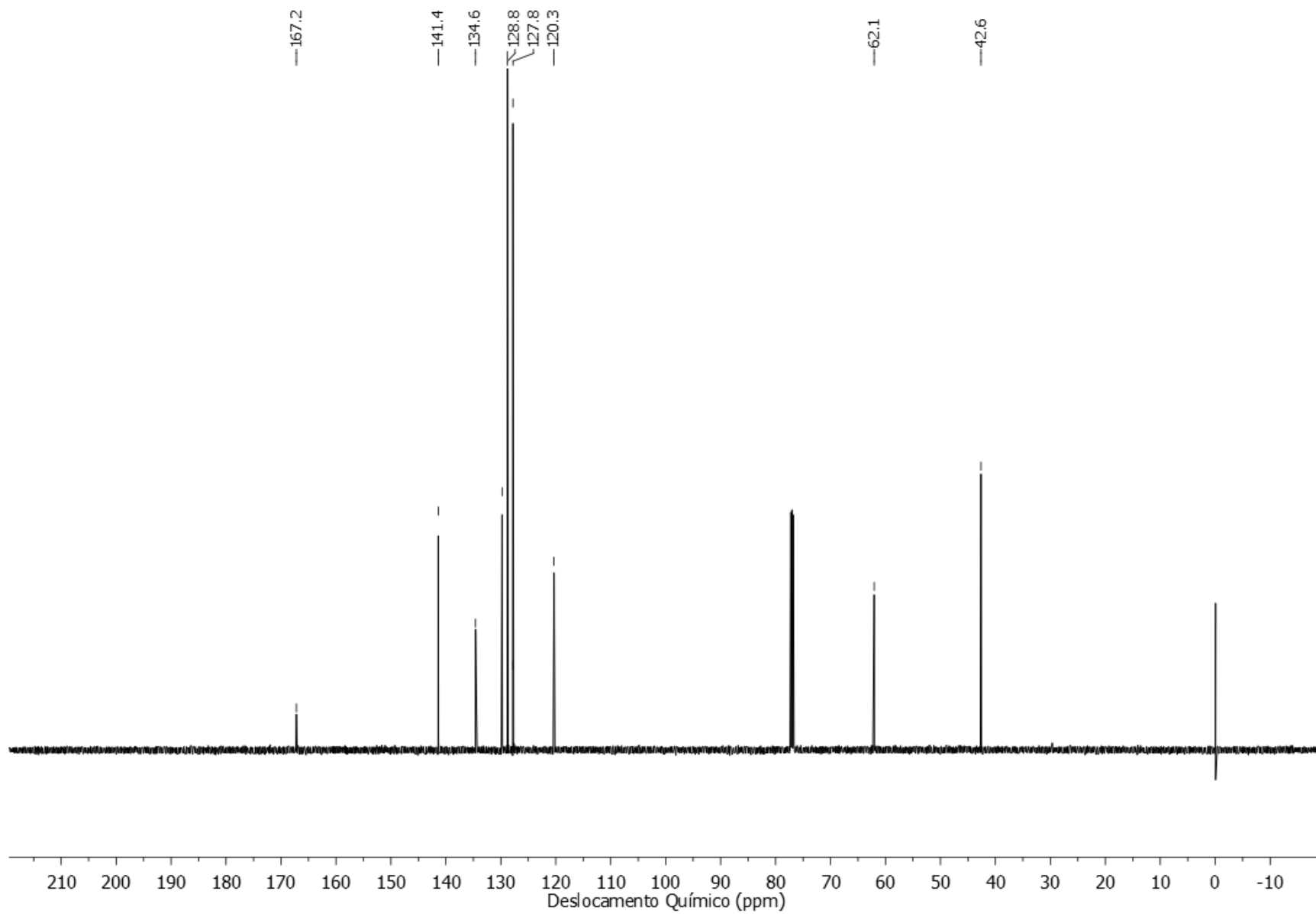
Line#:1 R.Time:6.183(Scan#:383)  
MassPeaks:60  
RawMode:Averaged 6.008-6.367(362-405) BasePeak:117.15(172295)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



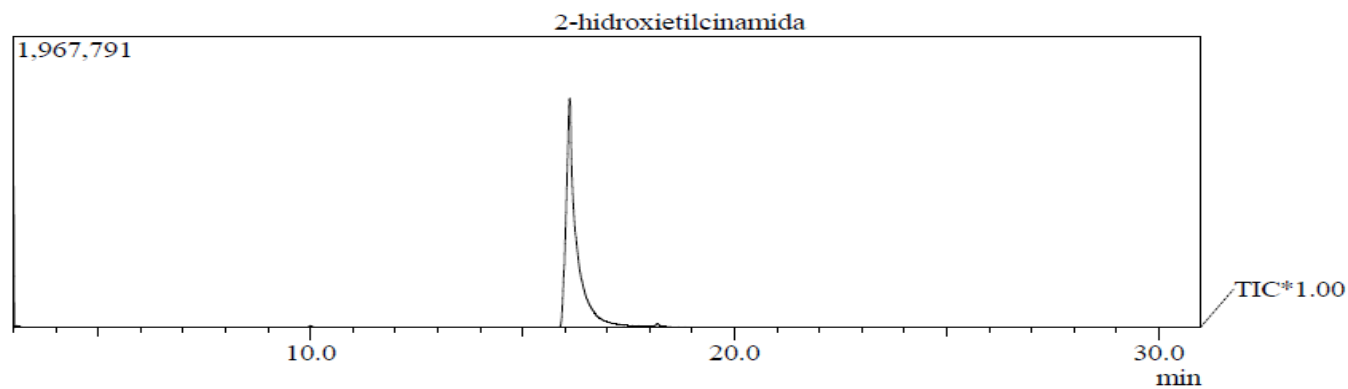
**Espectro (EM 70 eV m/z) – Fenil-2-oxazolina.**



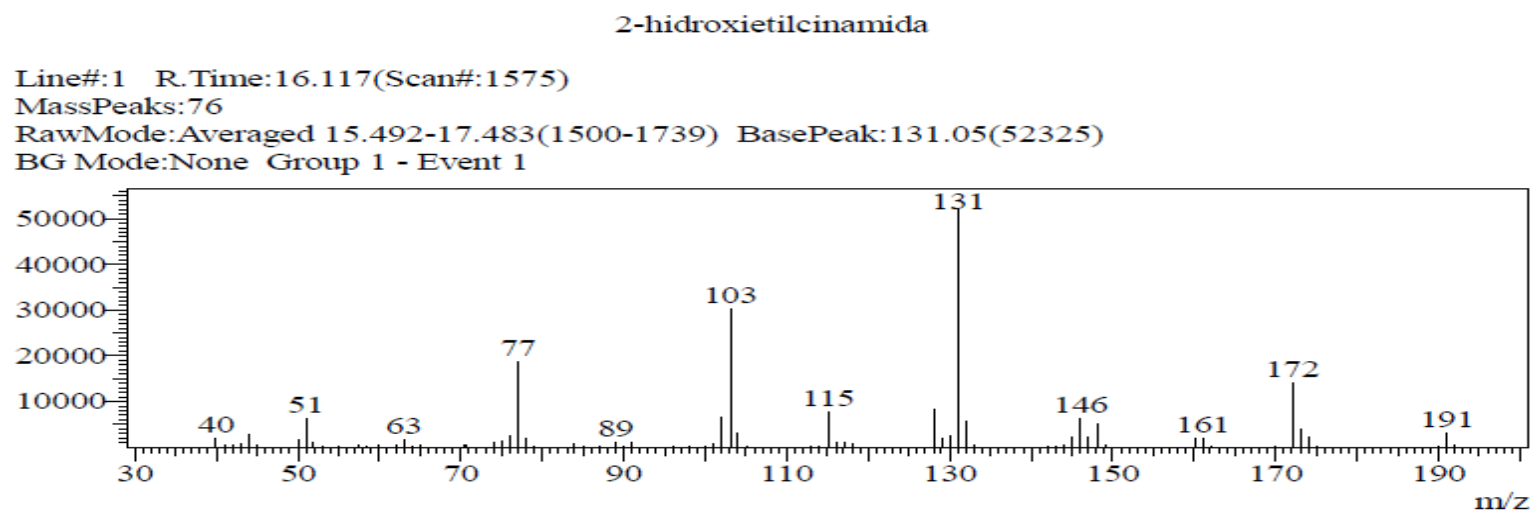
**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylcinamida.**



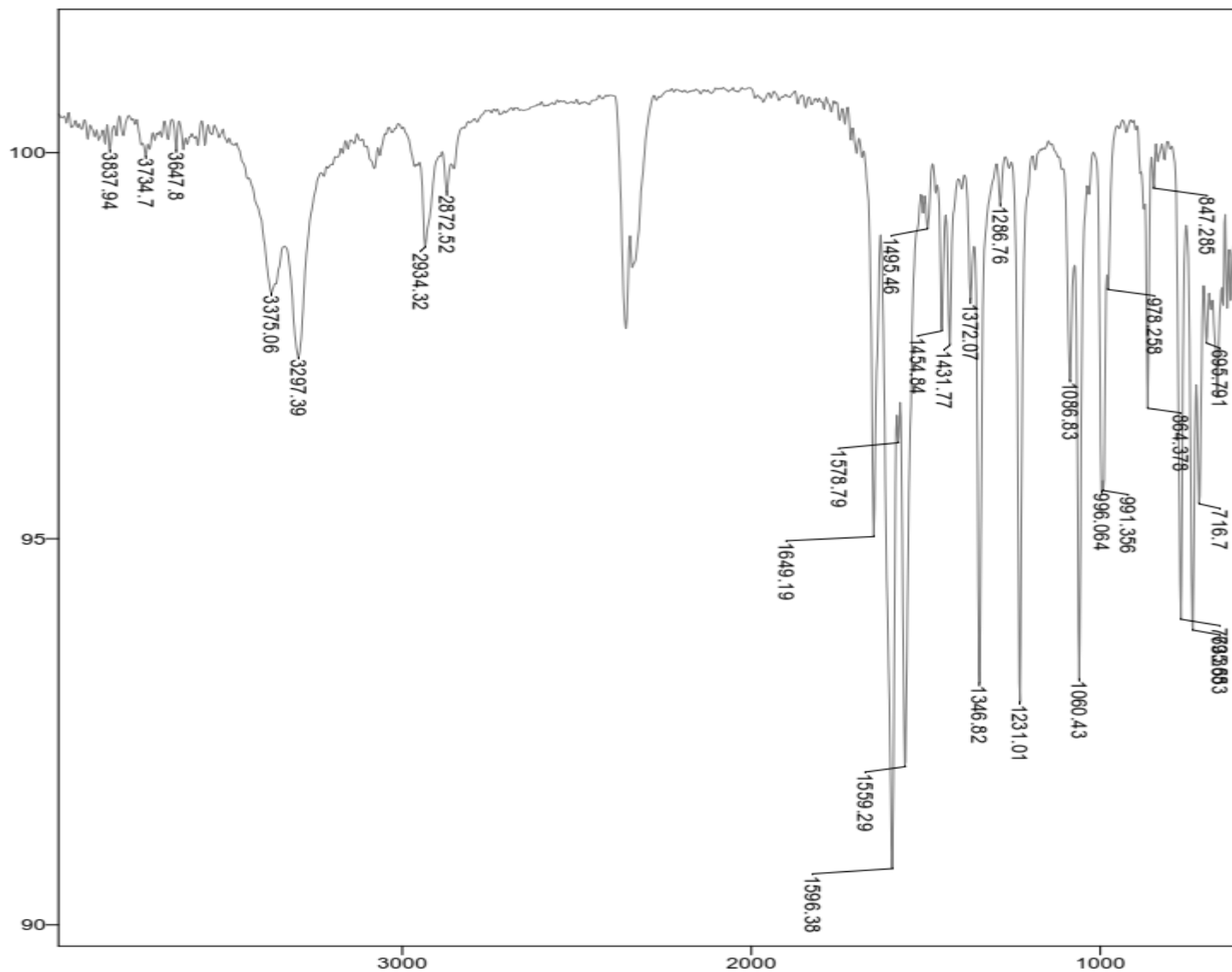
**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylcinamida.**



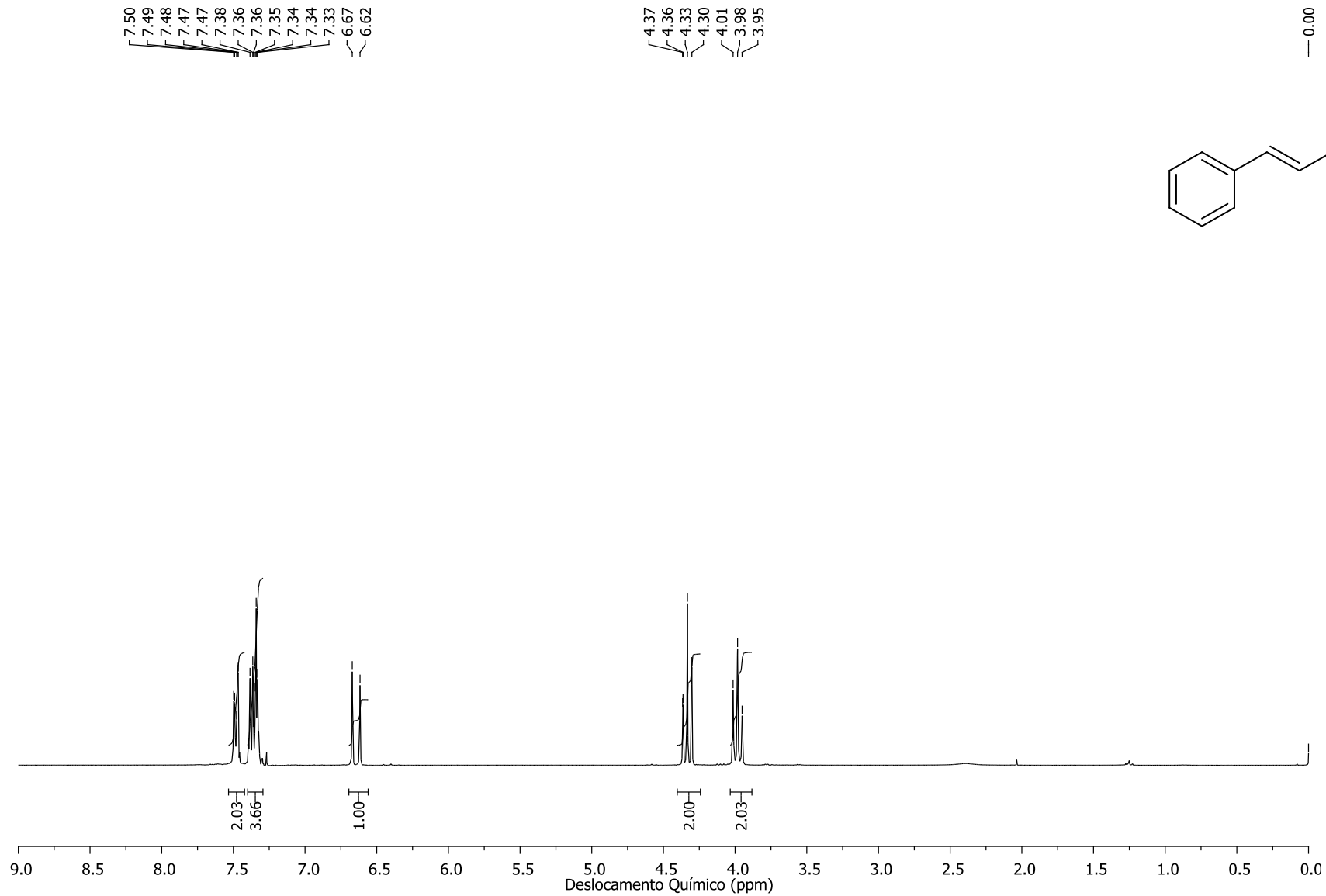
**Cromatograma da 2-hidroxietylkinamida.**



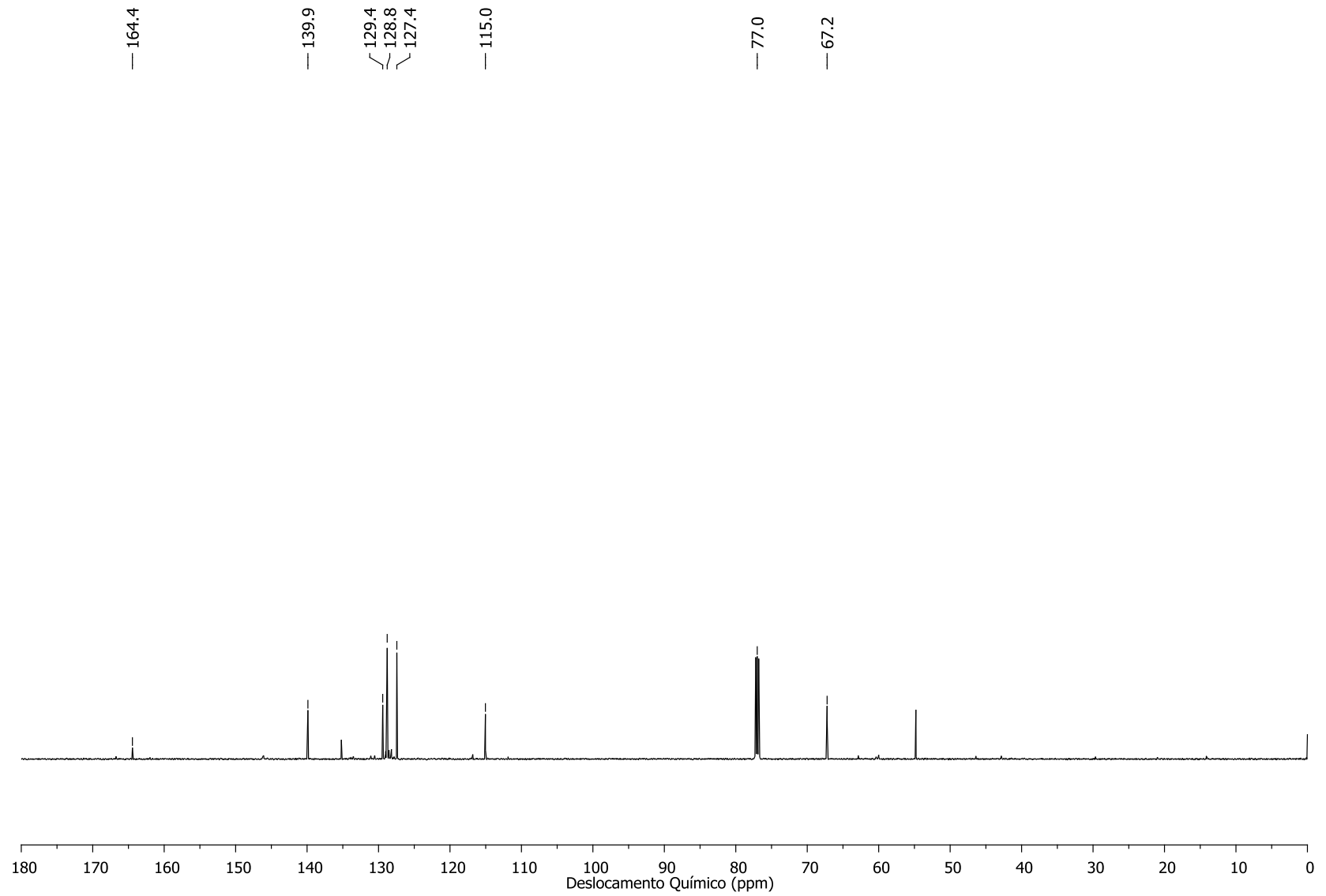
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxietylkinamida.**



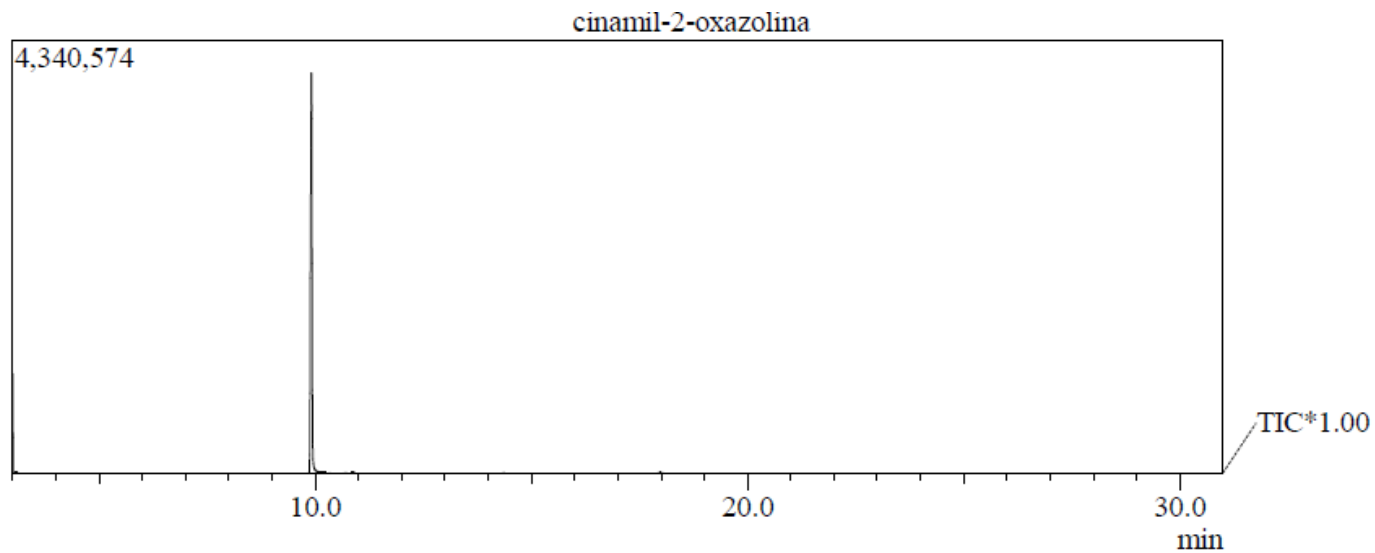
**Espetro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxietilcinamida.**



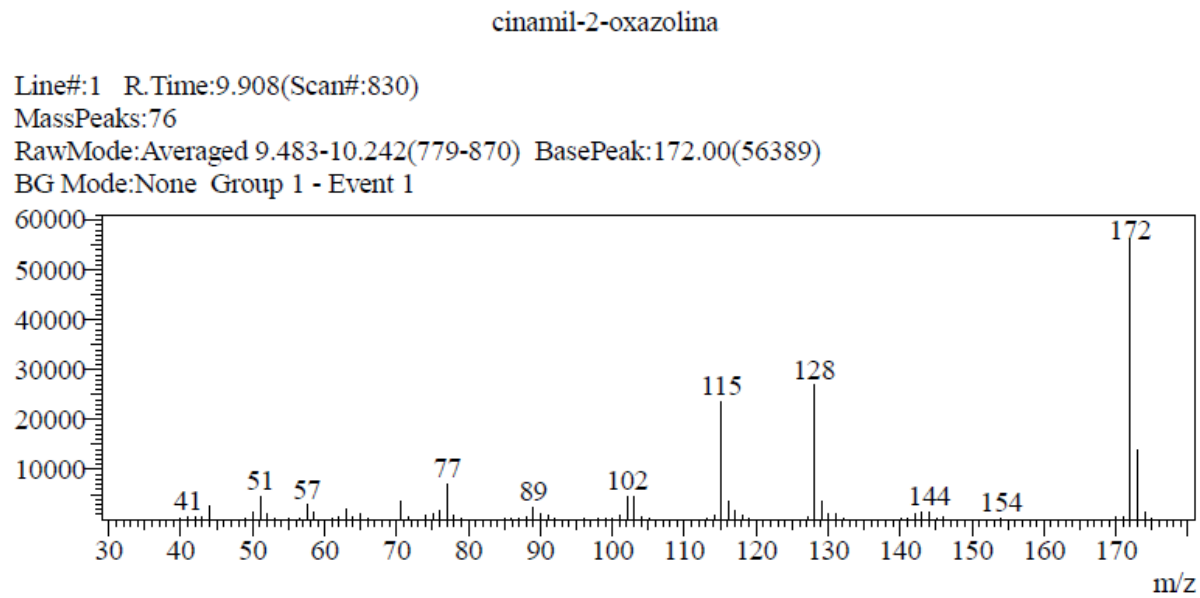
**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Cinamil-2-oxazolina.**



**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Cinamil-2-oxazolina.**

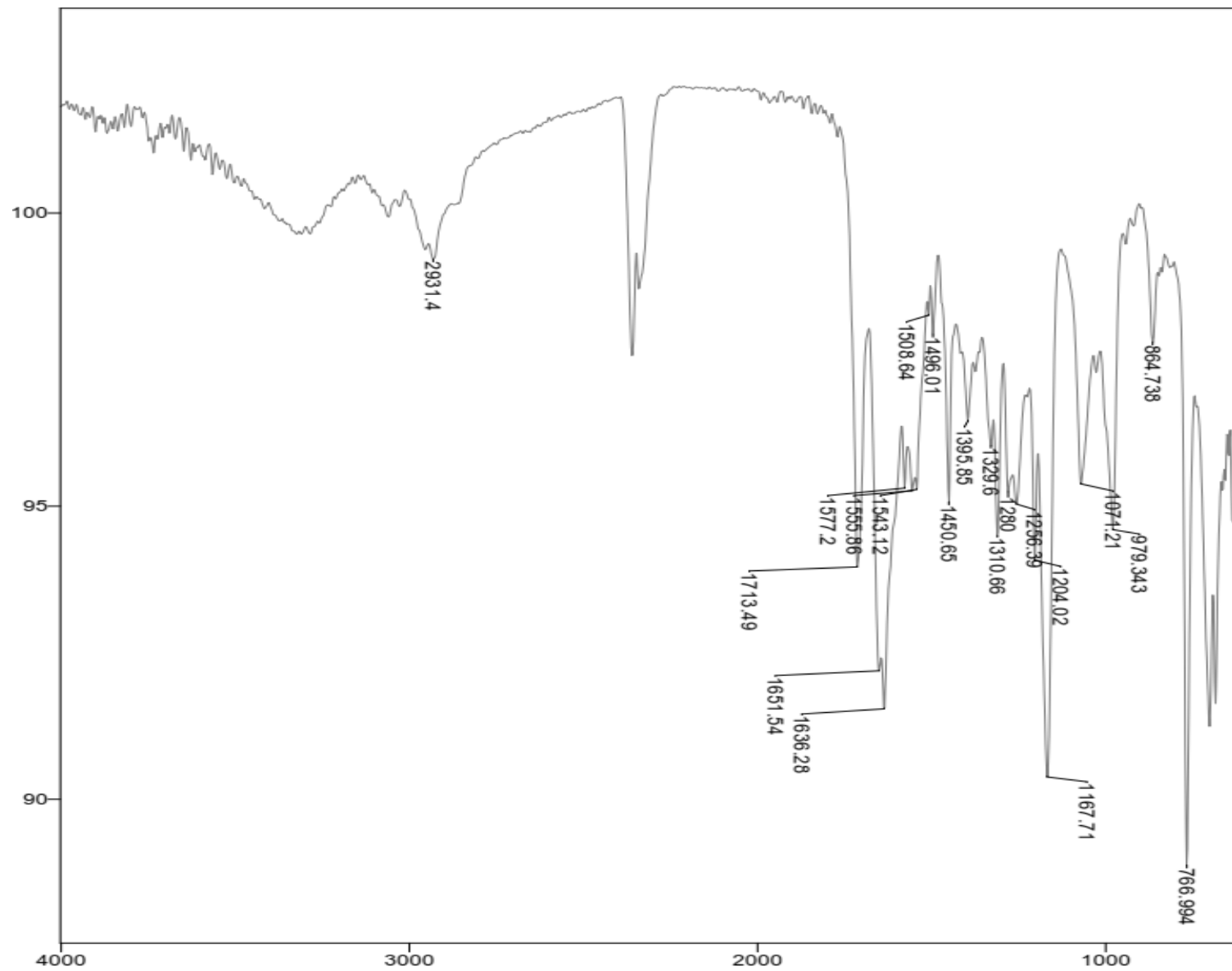


**Cromatograma da cinamil-2-oxazolina.**

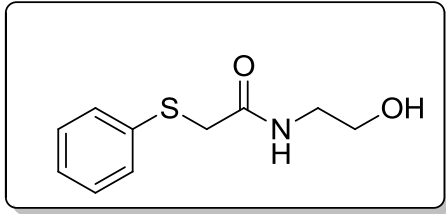


**Espectro (EM 70 eV m/z) - cinamil-2-oxazolina.**





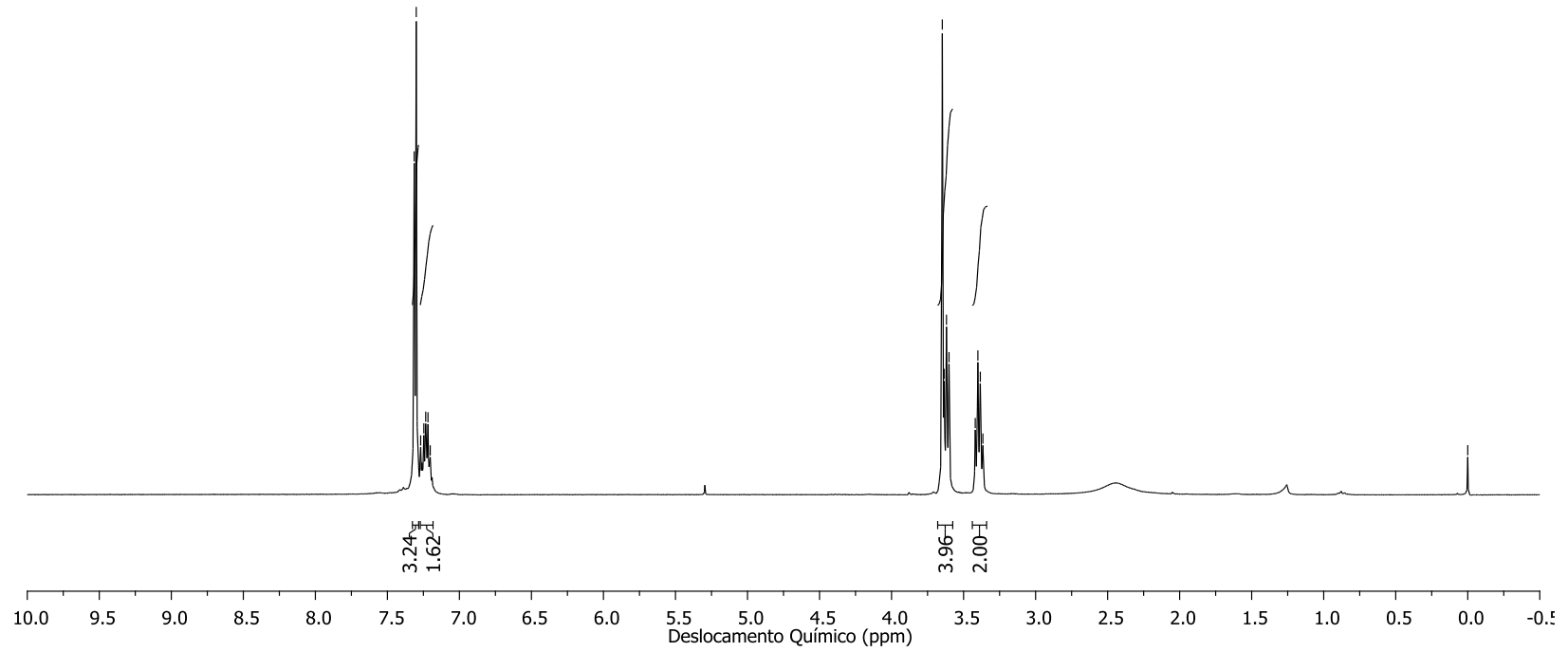
**Espectro de Infravermelho (ATR) – cinamil-2-oxazolina.**



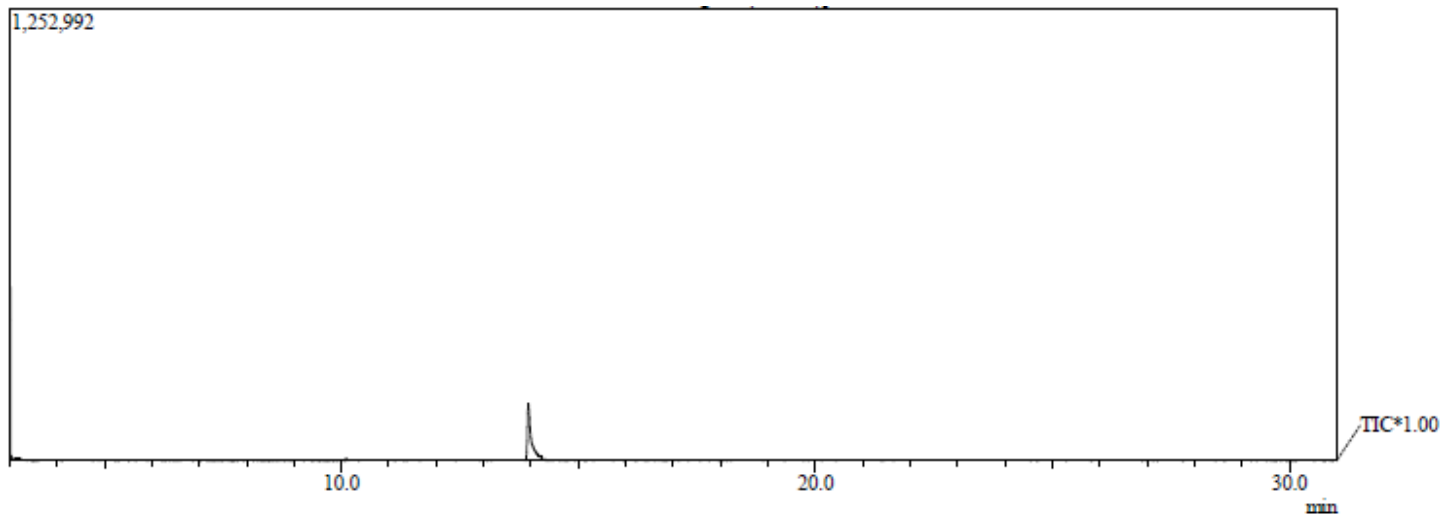
7.31  
7.30  
7.27  
7.25  
7.23  
7.22  
7.20

3.65  
3.64  
3.62  
3.60  
3.42  
3.40  
3.38  
3.37

— -0.00 TMS

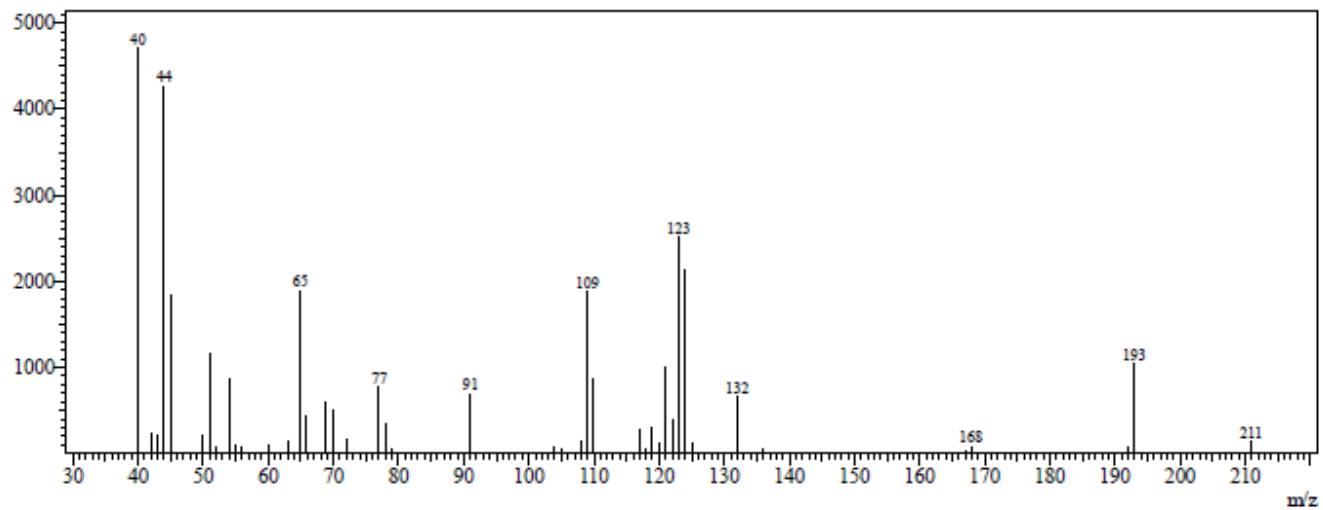


**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxi-etil-2-tiofenilacetamida.**

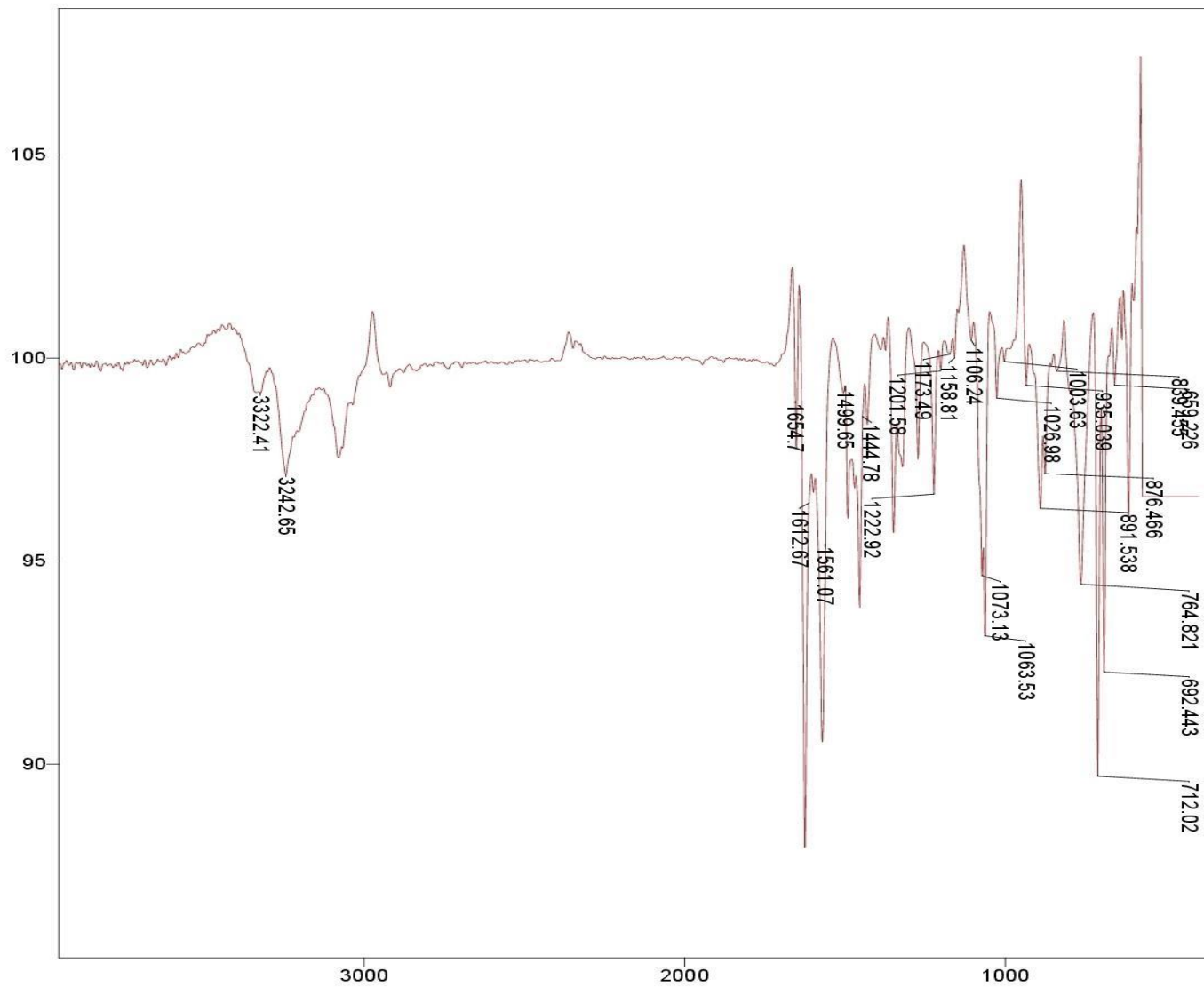


**Cromatograma da 2-hidroxi-etil-2-tiofenilacetamida**

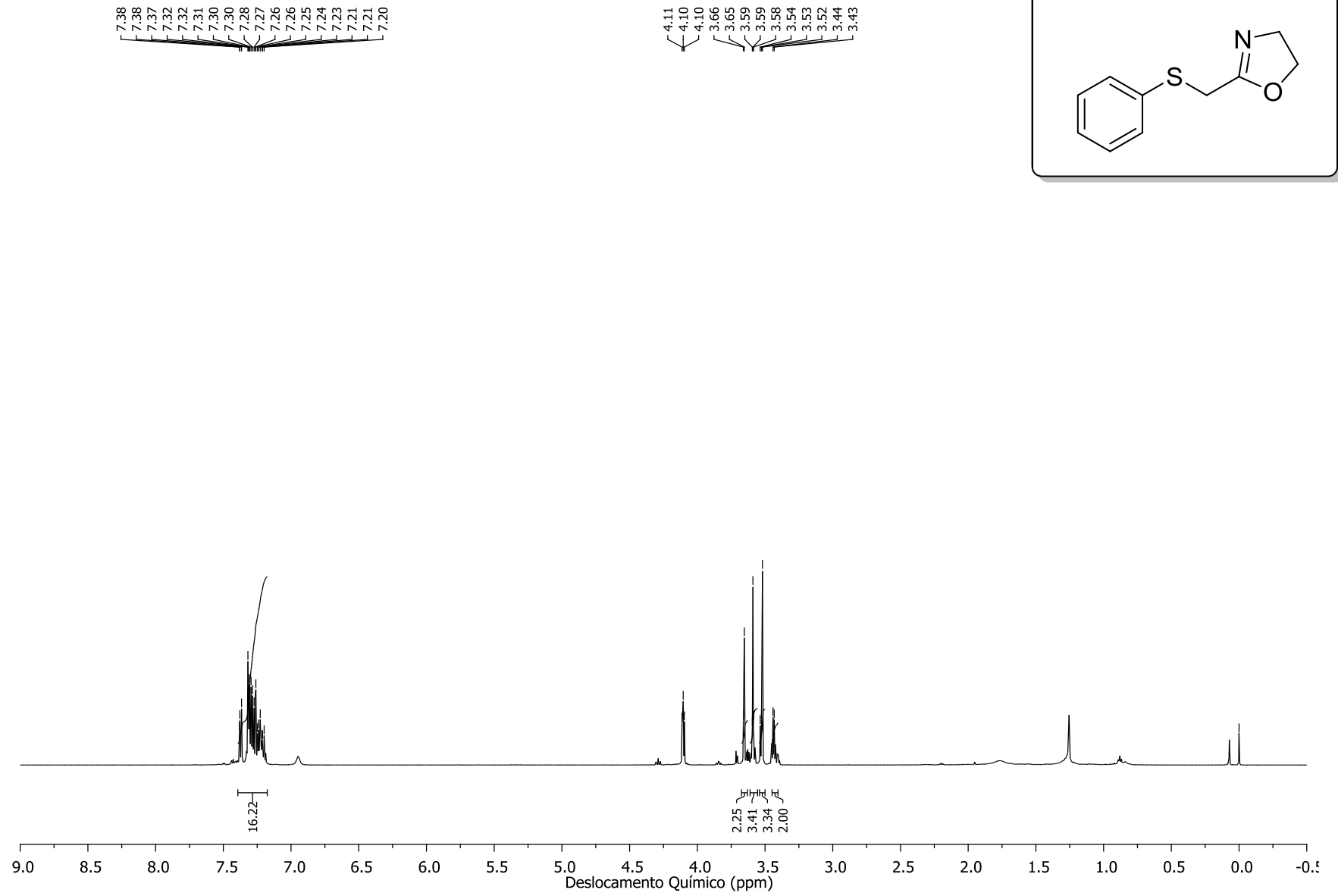
Line#:1 R.Time:13.950(Scan#:1315)  
MassPeaks:43  
RawMode:Averaged 13.667-14.325(1281-1360) BasePeak:40.00(4716)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



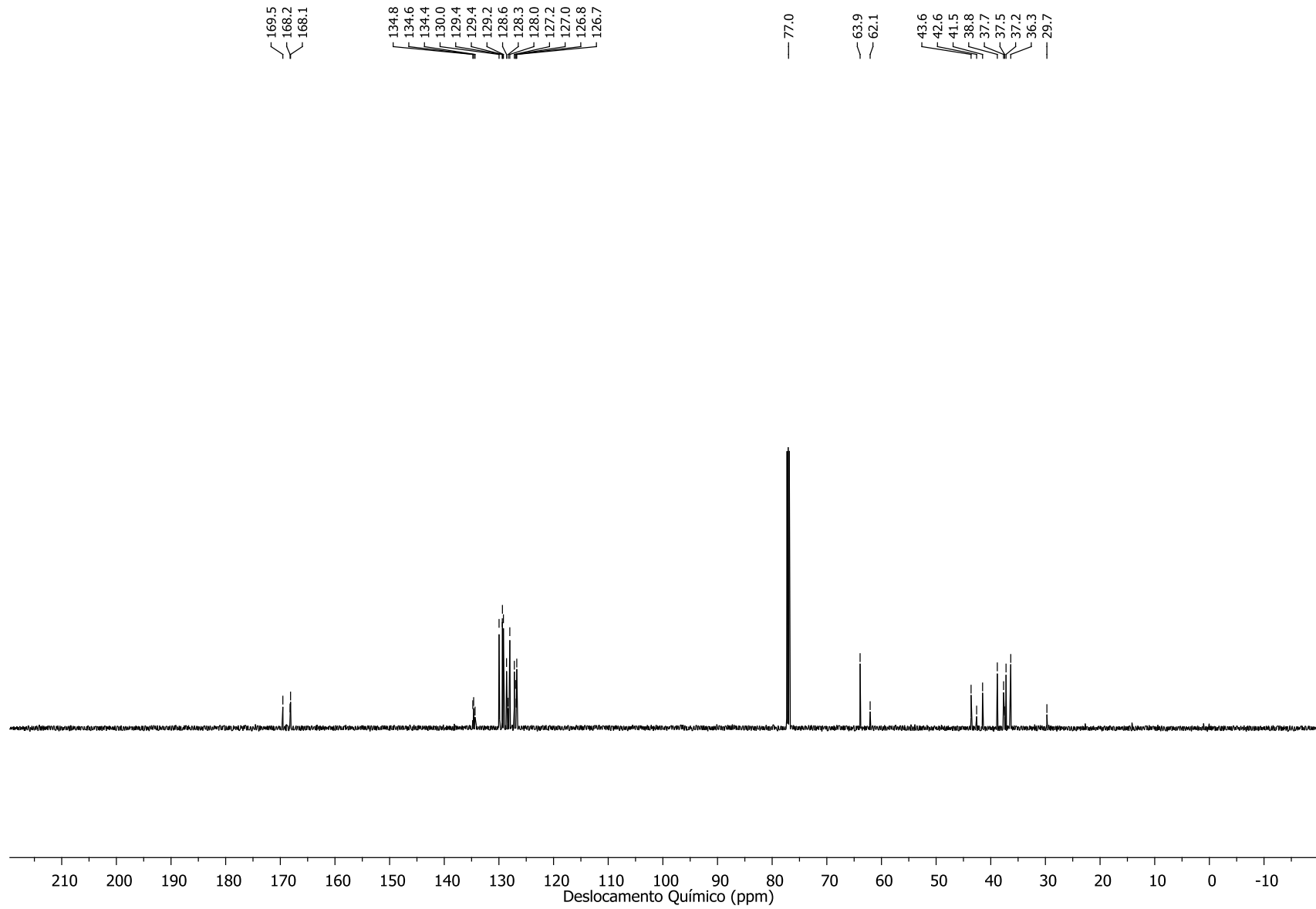
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxi-etil-2-tiofenilacetamida.**



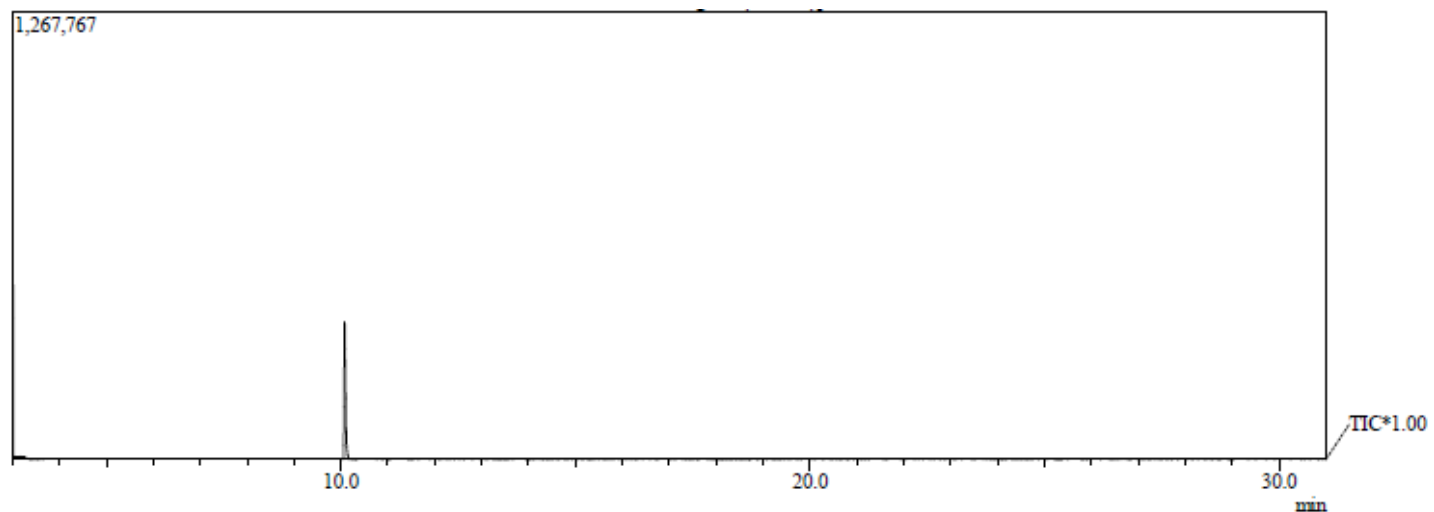
**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxi-etil-2-tiofenilacetamida.**



**Espectro (RMN de <sup>1</sup>H 600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) –1-metil-2-tiofenil-oxazolina**

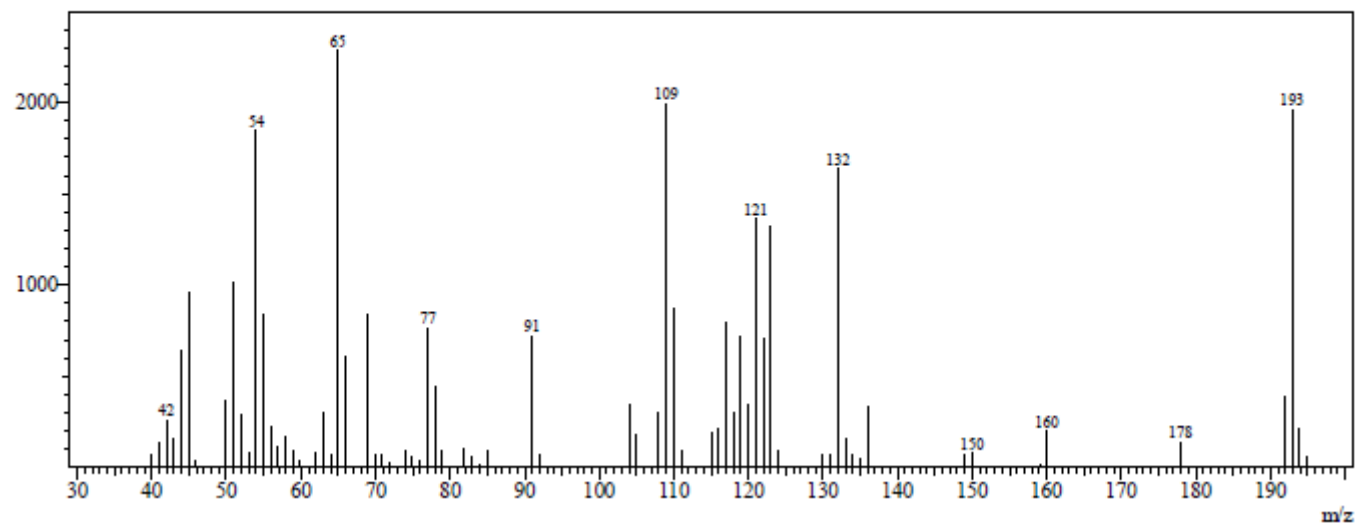


**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 1-metil-2-tiofenil-oxazolina.**

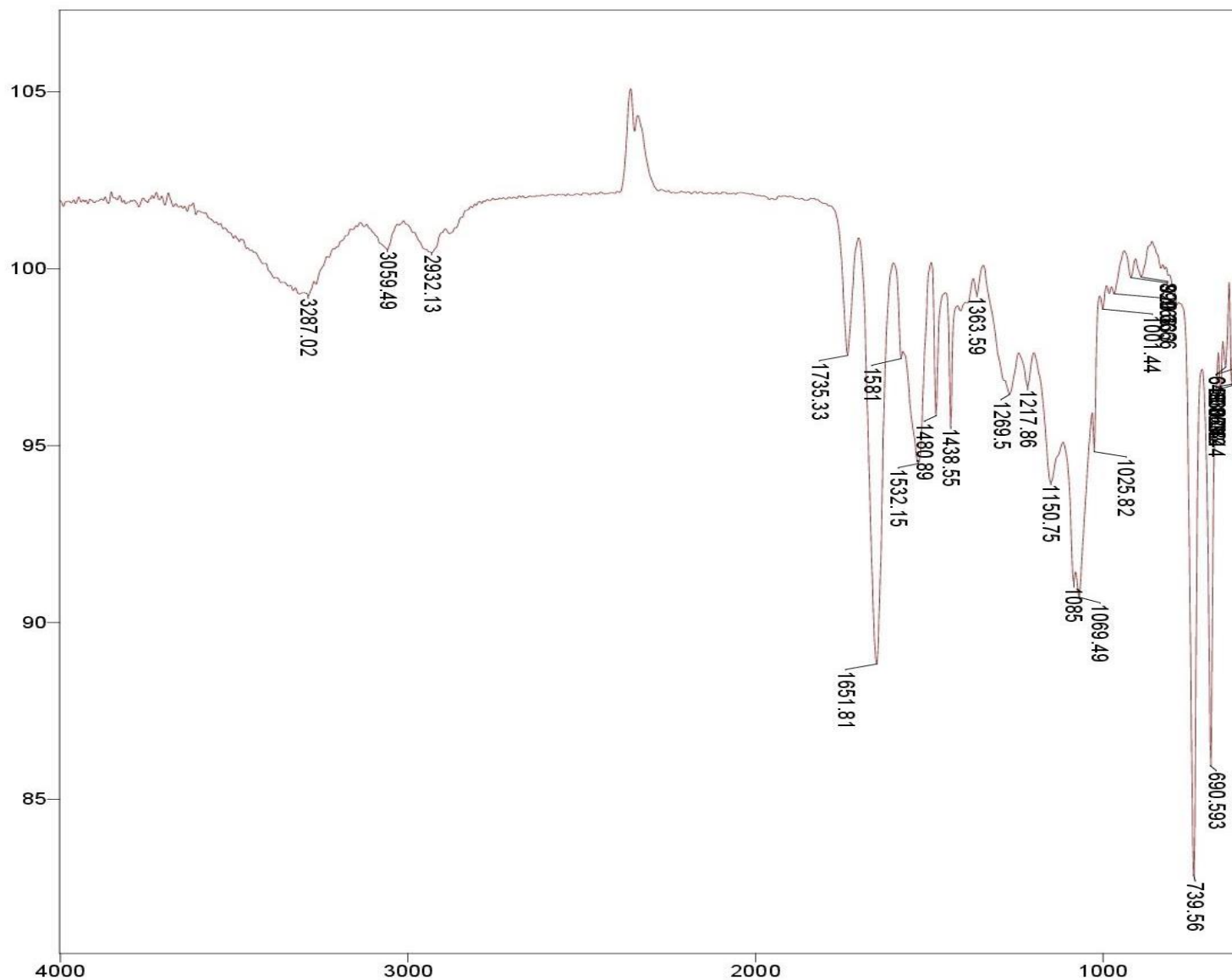


**Cromatograma da 1-metil-2-tiofenil-oxazolina.**

Line#:1 R.Time:10.083(Scan#:851)  
MassPeaks:71  
RawMode:Averaged 9.900-10.350(829-883) BasePeak:64.95(2289)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1

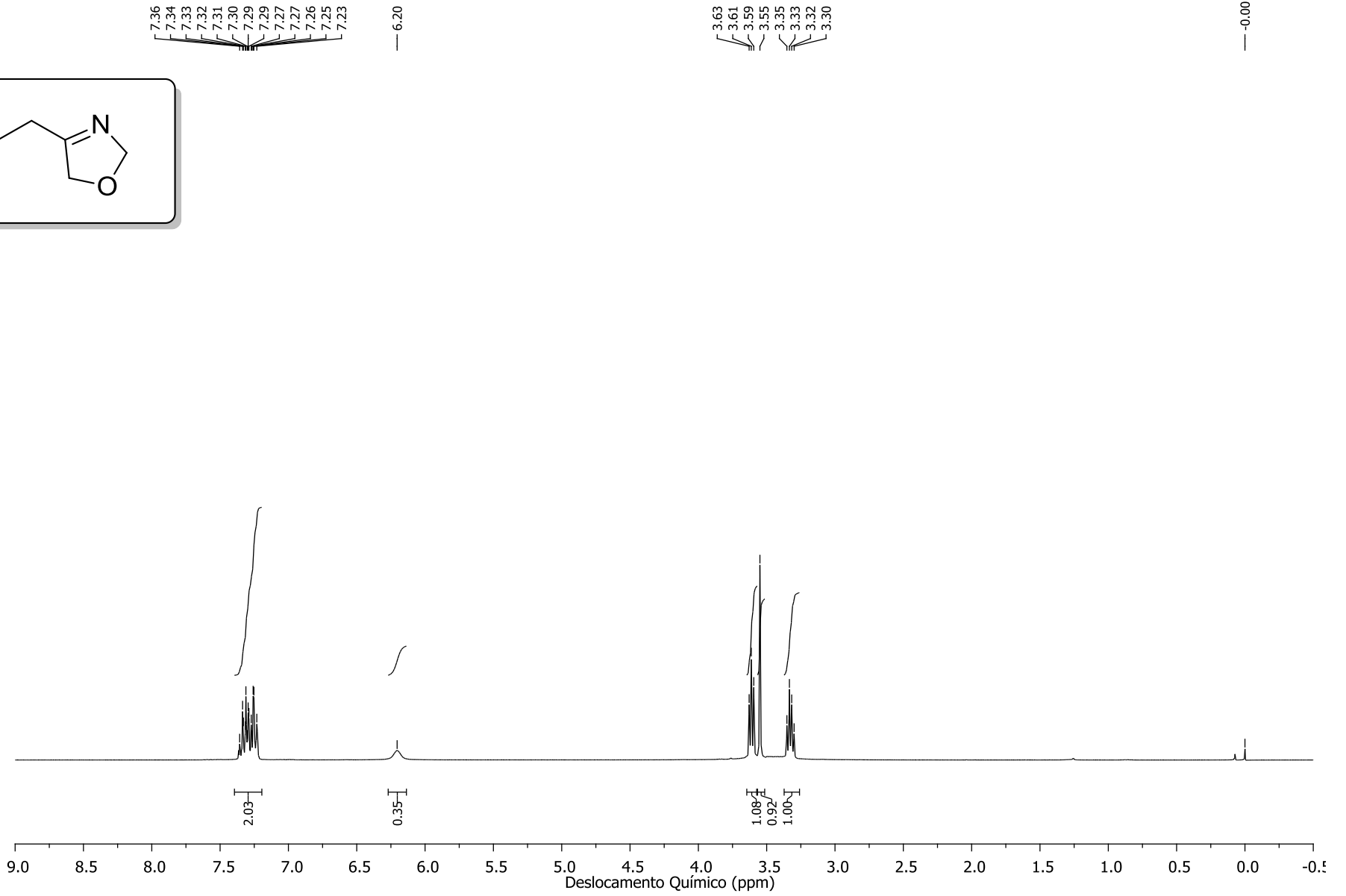
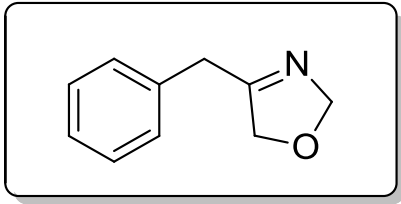


**Espectro (EM 70 eV m/z) - 1-metil-2-tiofenil-oxazolina.**

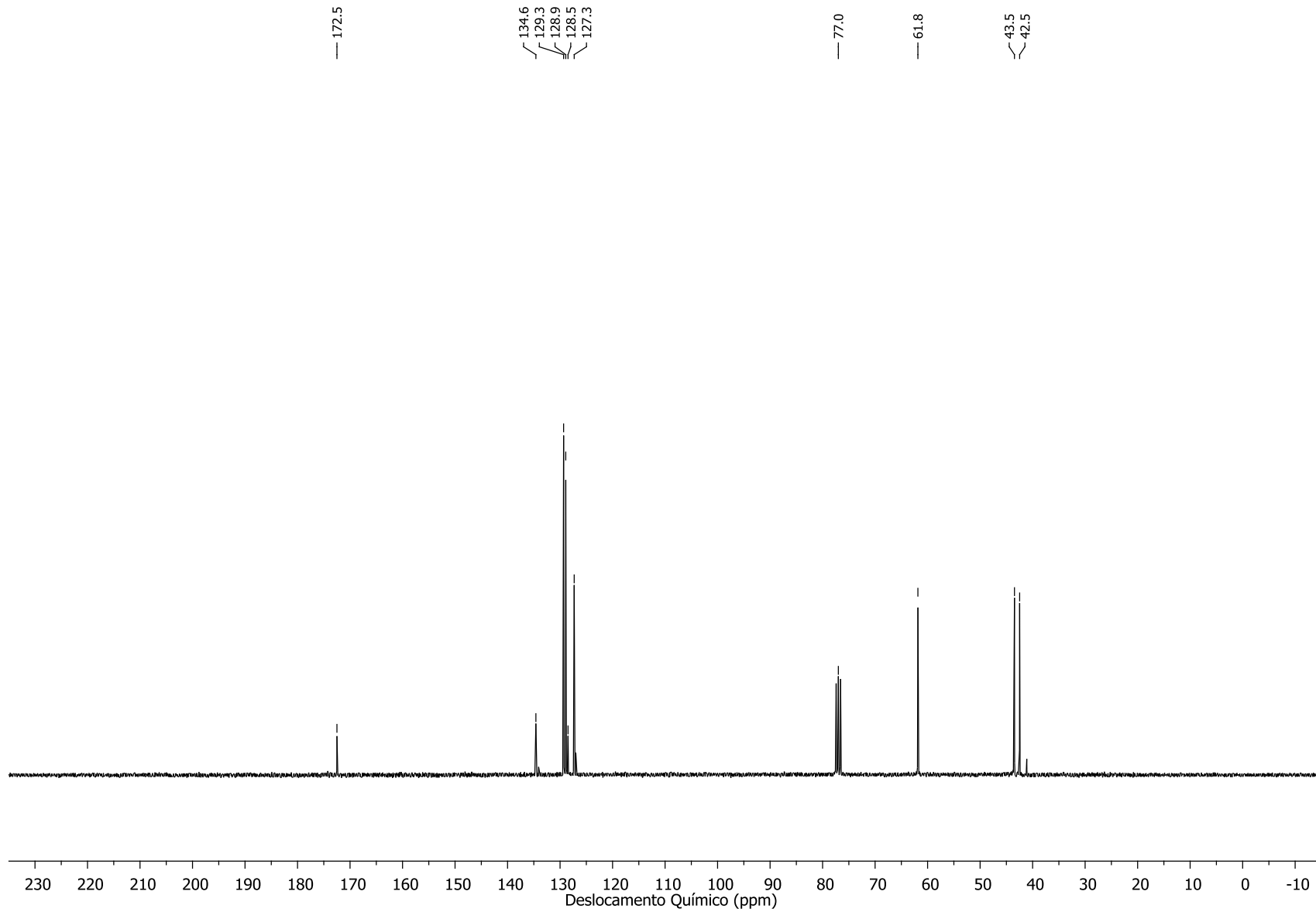


**Espectro de Infravermelho (ATR) – 1-metil-2-tiofenil-oxazolina.**

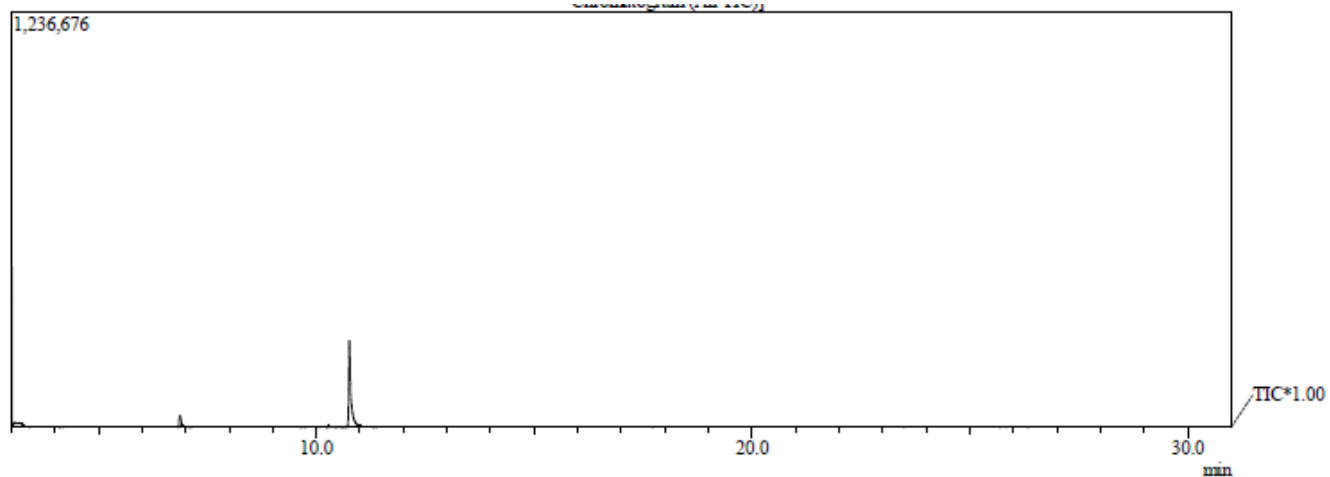




**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) –2-hidroxietilbenzamida.**

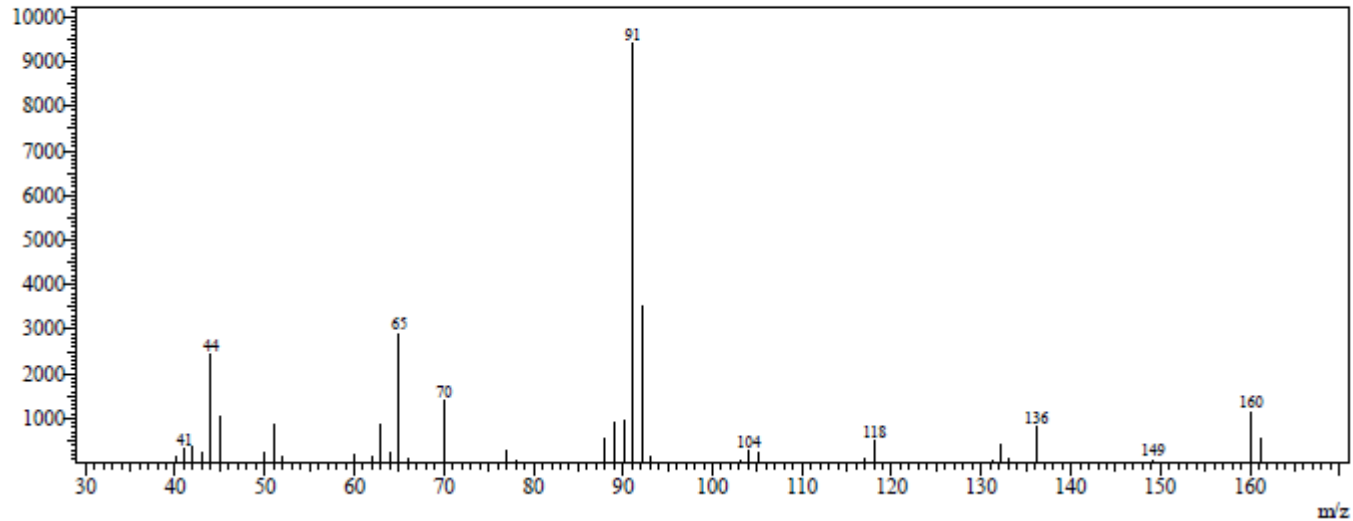


**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-hidroxiethylbenzamida.**

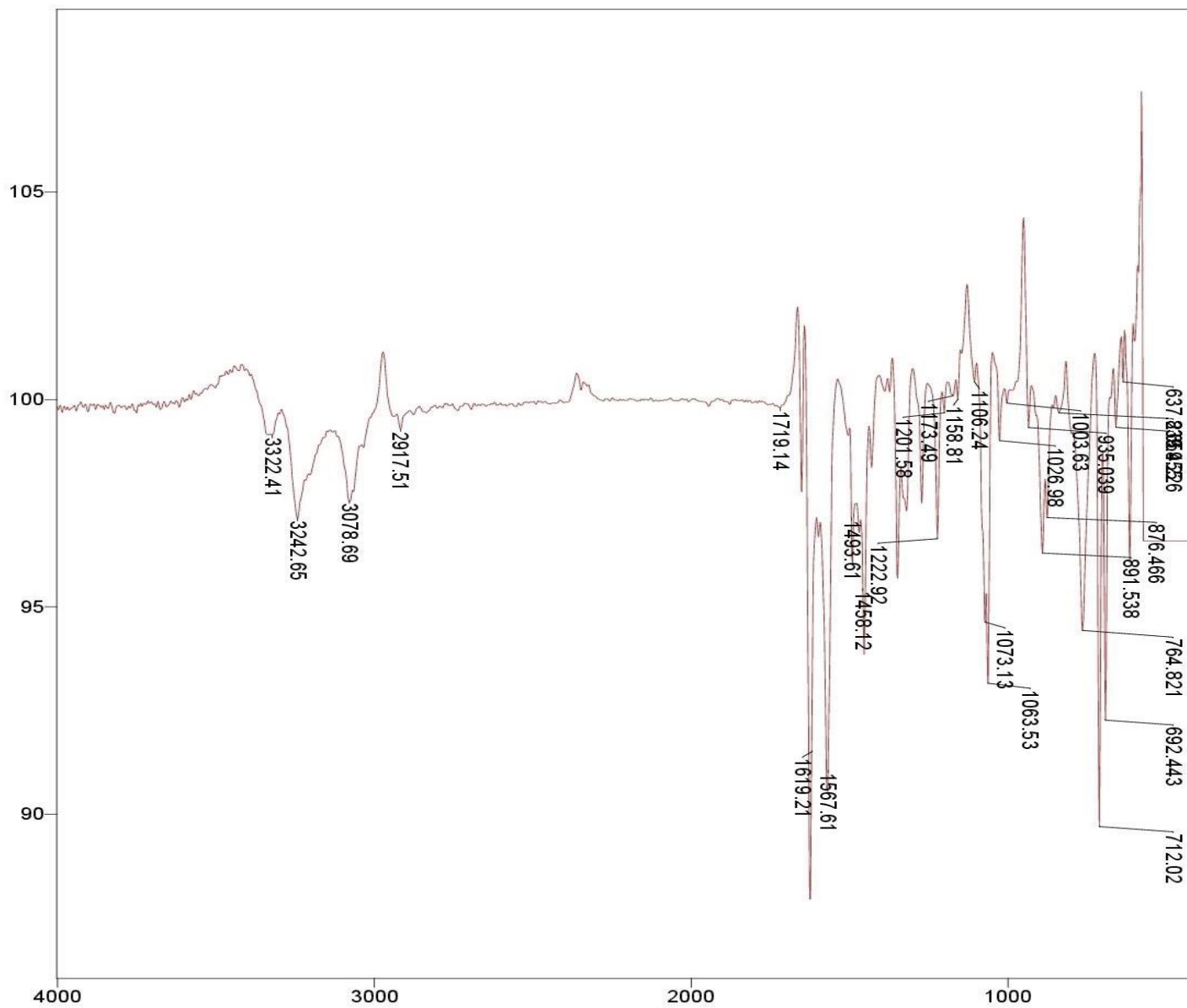


**Cromatograma da 2-hidroxiethylbenzamida.**

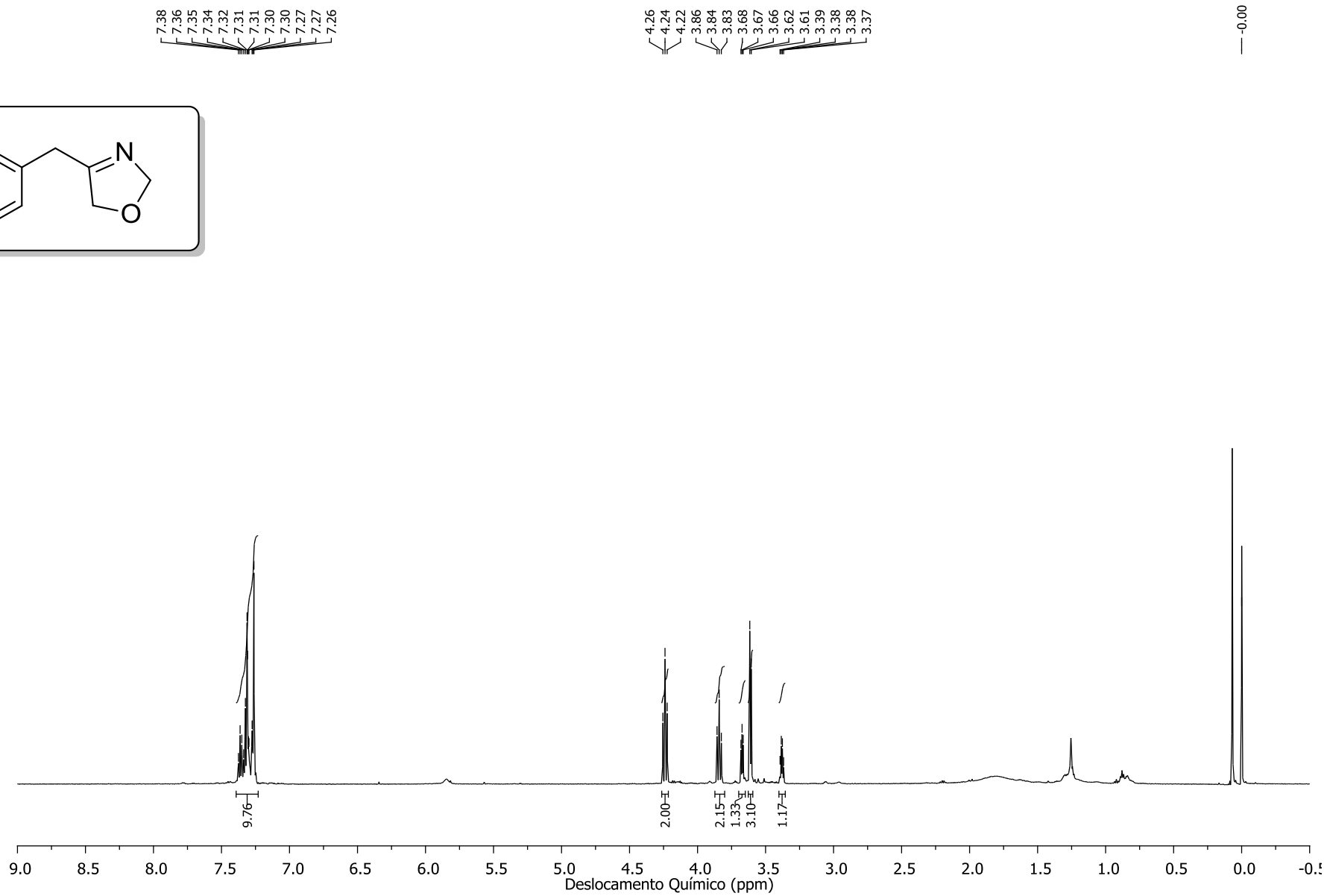
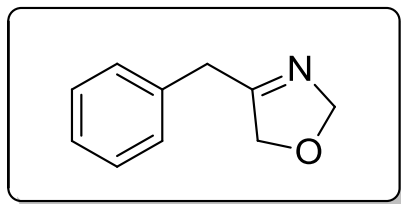
Line#:1 R.Time:10.758(Scan#:932)  
MassPeaks:36  
RawMode:Averaged 10.525-11.042(904-966) BasePeak:91.10(9387)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1



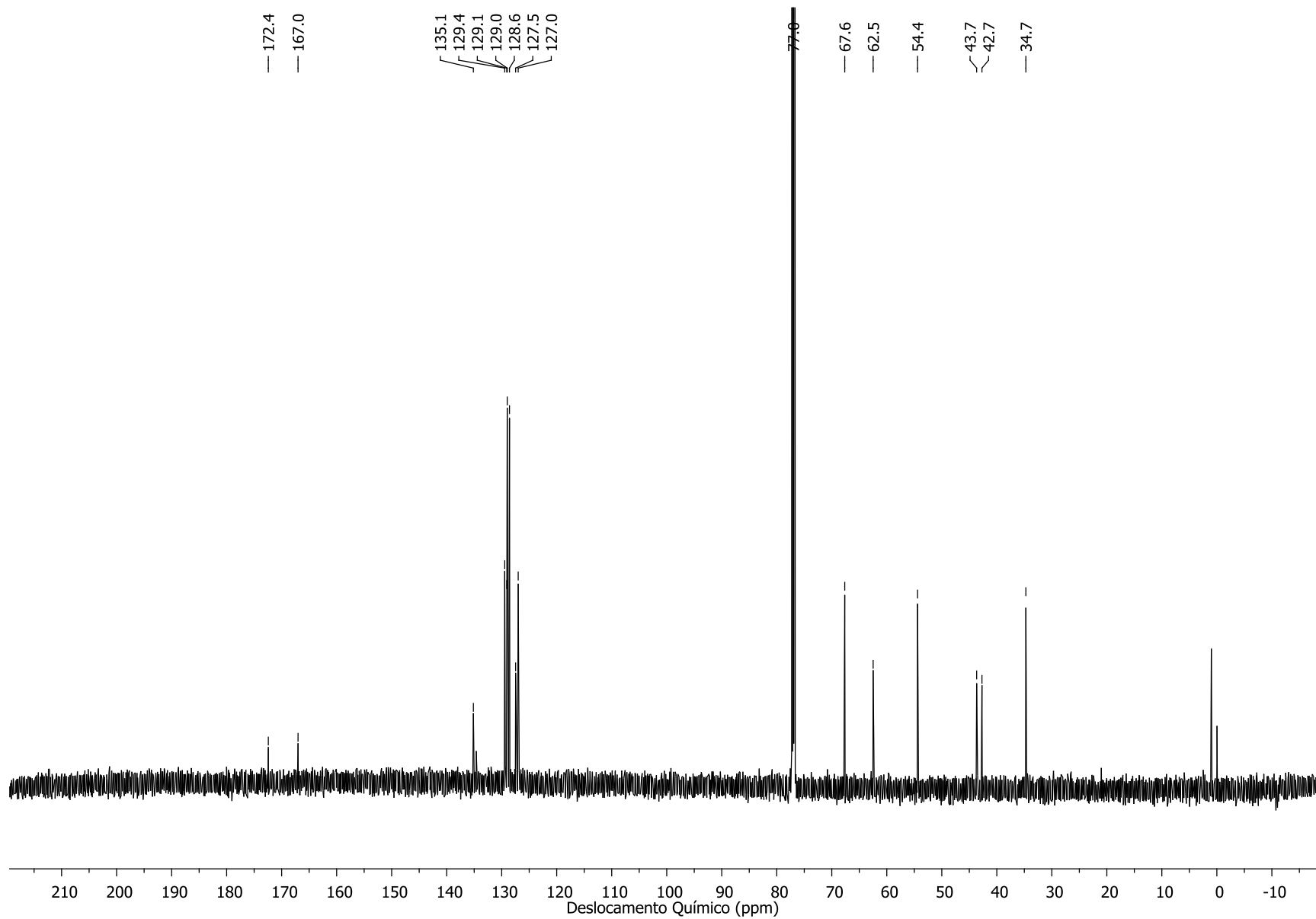
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-hidroxiethylbenzamida.**



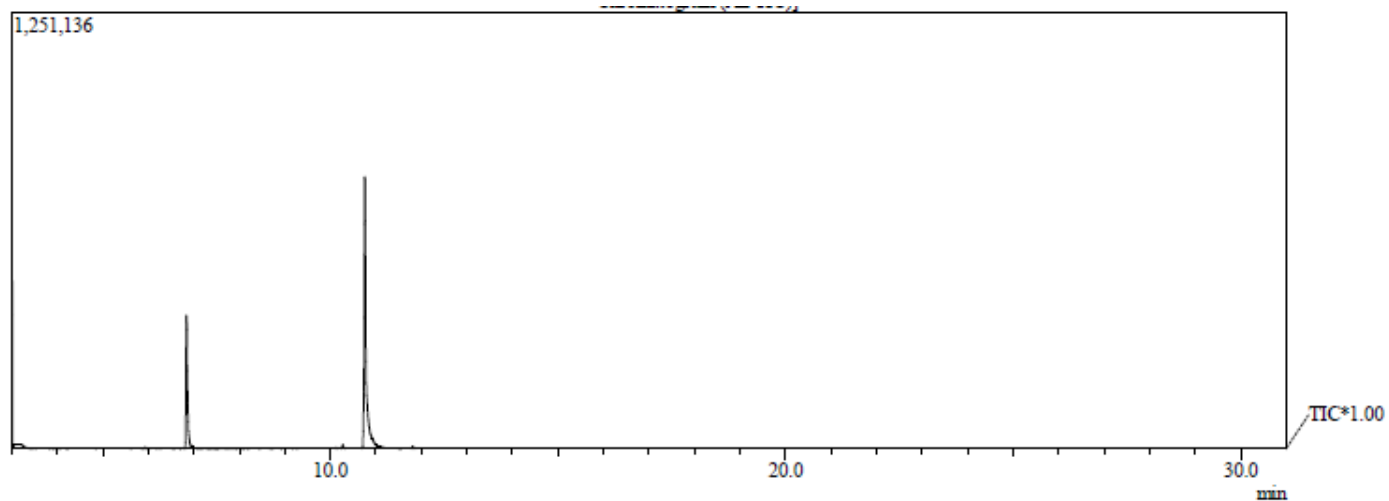
**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-hidroxietilbenzamida.**



**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) –Benzil-2-oxazolina.**

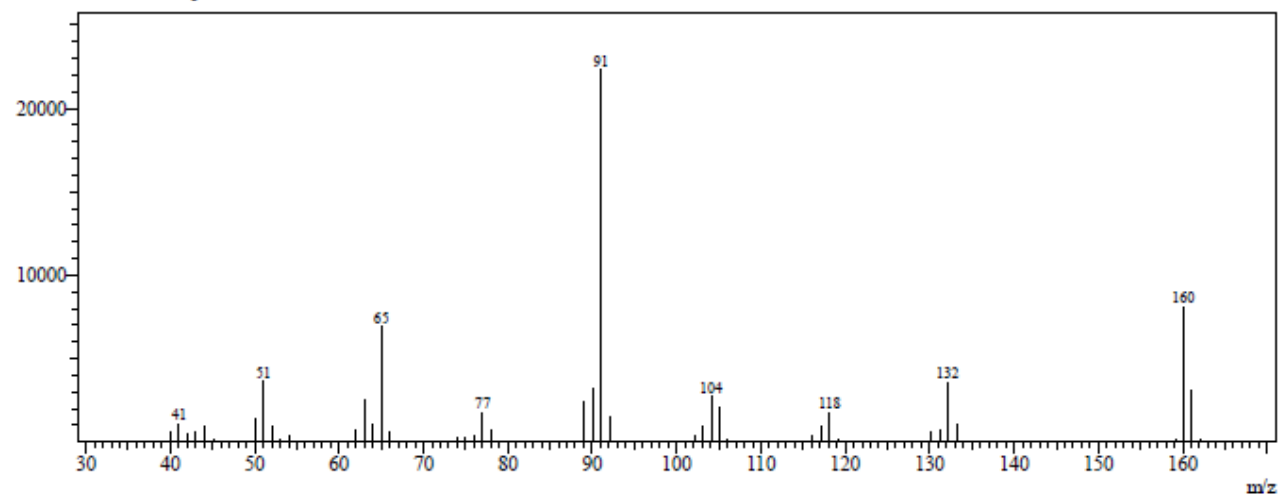


**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – Benzil-2-oxazolina.**

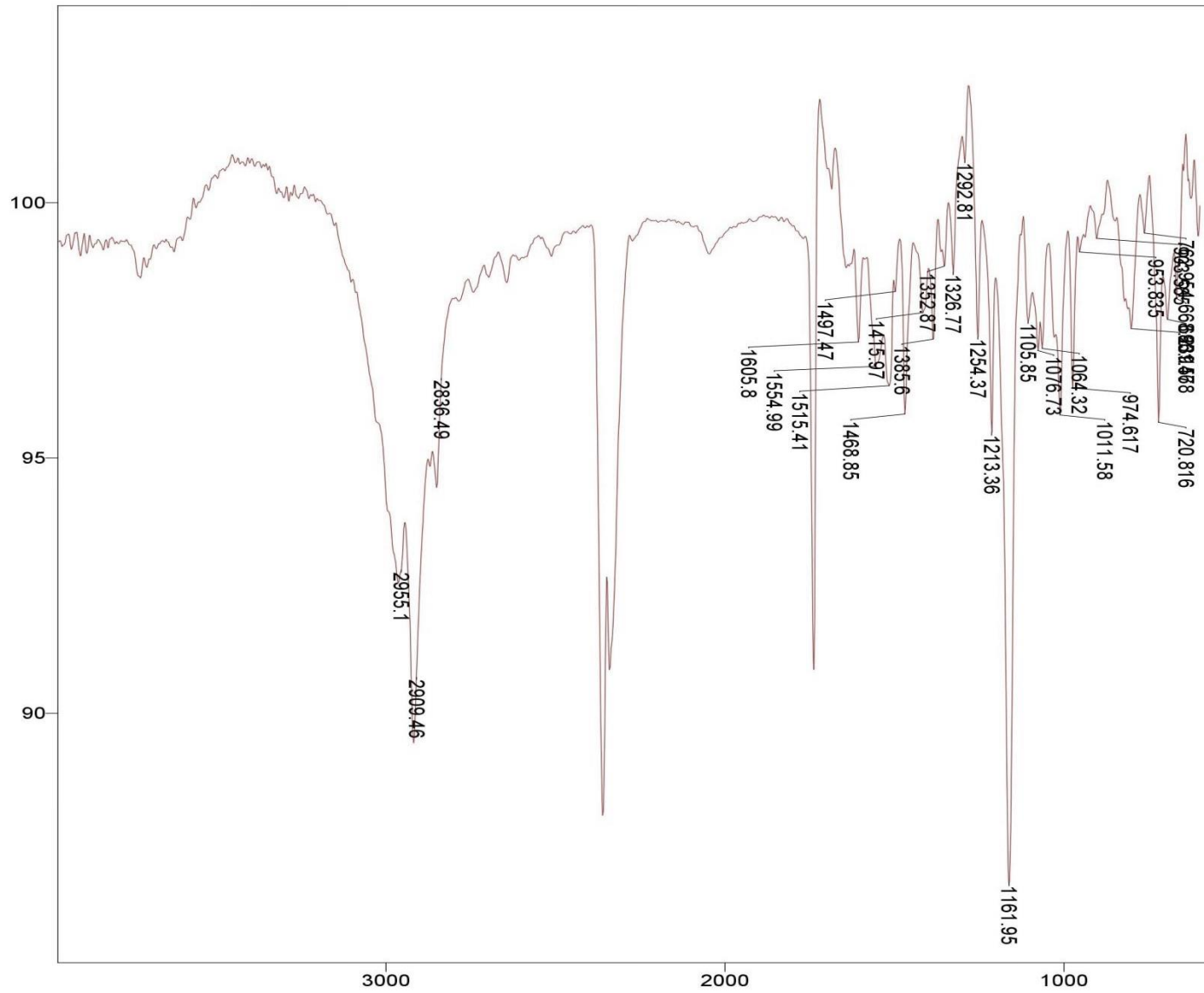


**Cromatograma da Benzil-2-oxazolina.**

Line#:1 R.Time:6.842(Scan#:462)  
MassPeaks:42  
RawMode:Averaged 6.775-6.950(454-475) BasePeak:91.05(22326)  
BG Mode:None Group 1 - Event 1

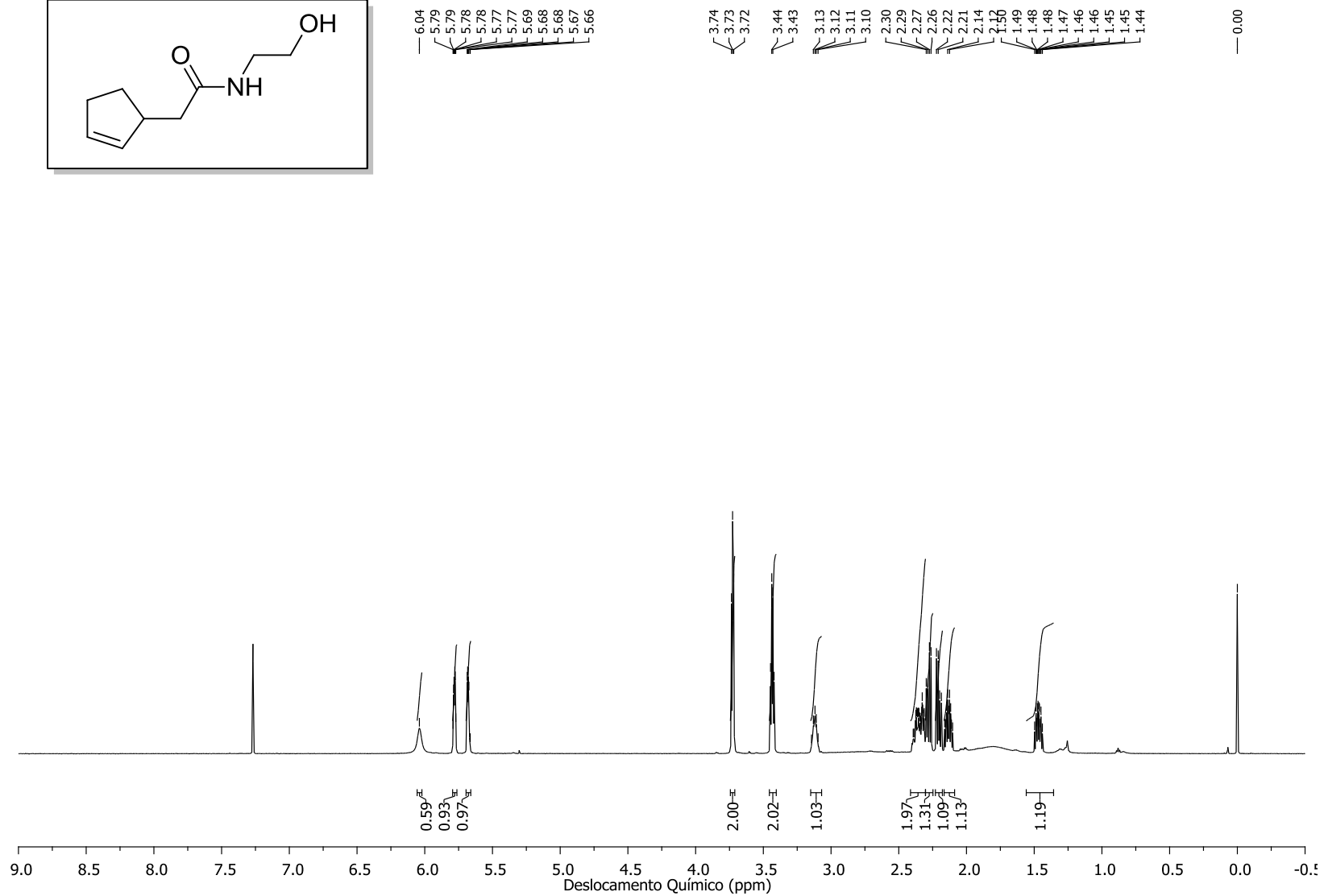
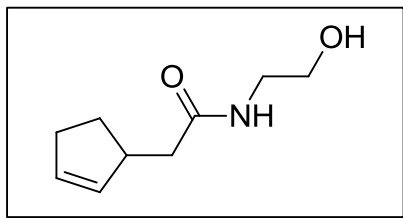


**Espectro (EM 70 eV m/z) - Benzil-2-oxazolina.**

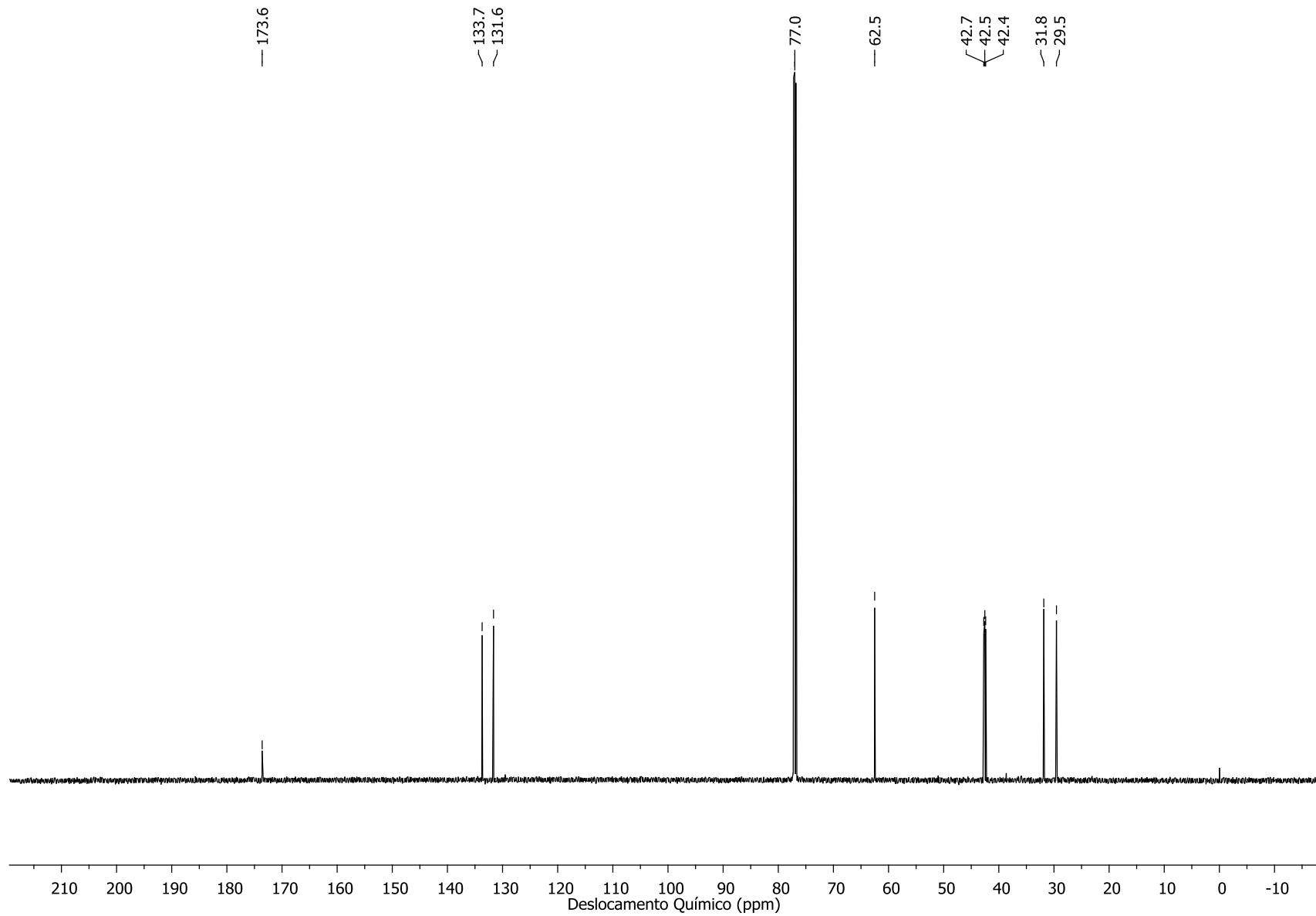


**Espectro de Infravermelho (ATR) – Benzil-2-oxazolona.**

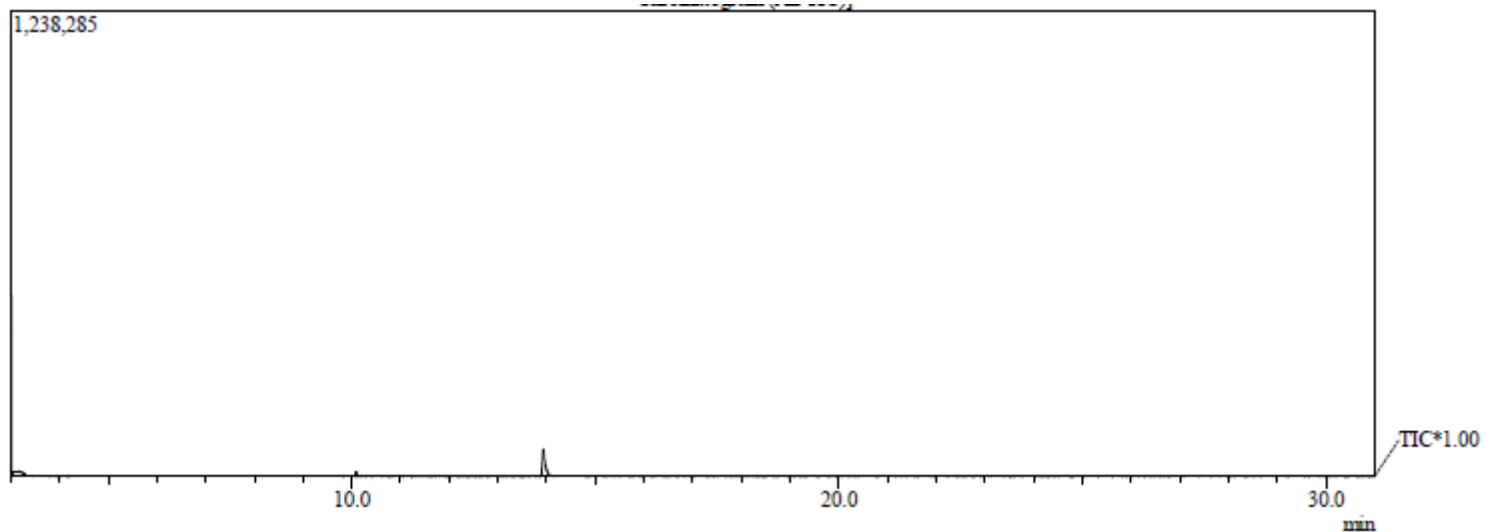




**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-(ciclopent-2-en-1-il)-N-(2-hidroxiel)acetamida.**

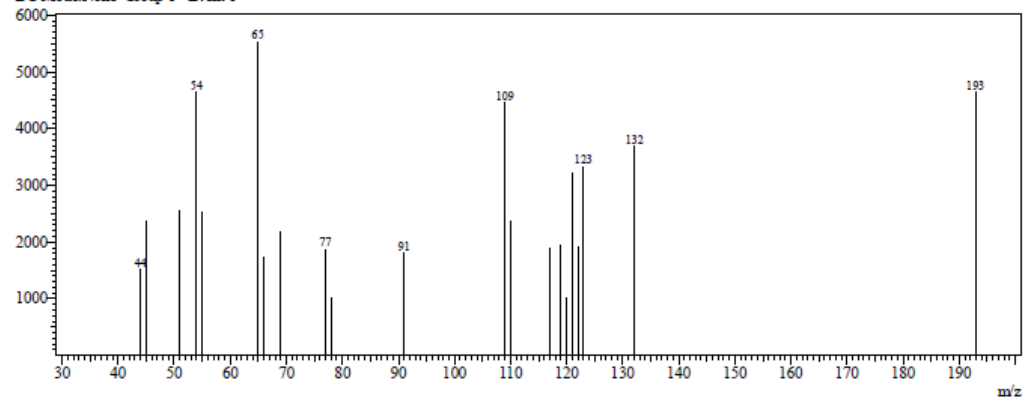


**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-(ciclopent-2-en-1-il)-N-(2-hidroxiethyl)acetamida.**

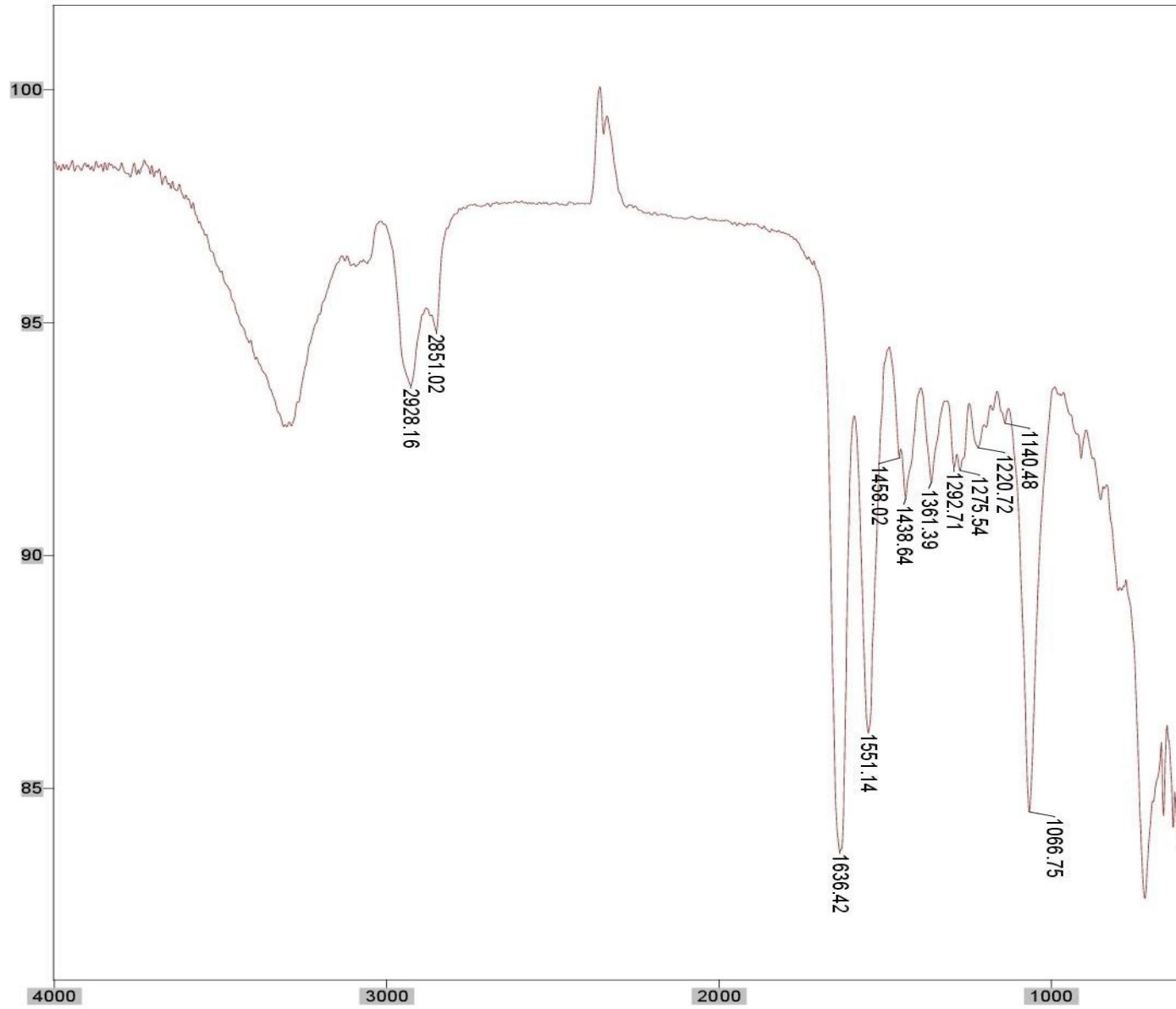


**Cromatograma da 2-(ciclopent-2-en-1-il)-N-(2-hidroxietil)acetamida.**

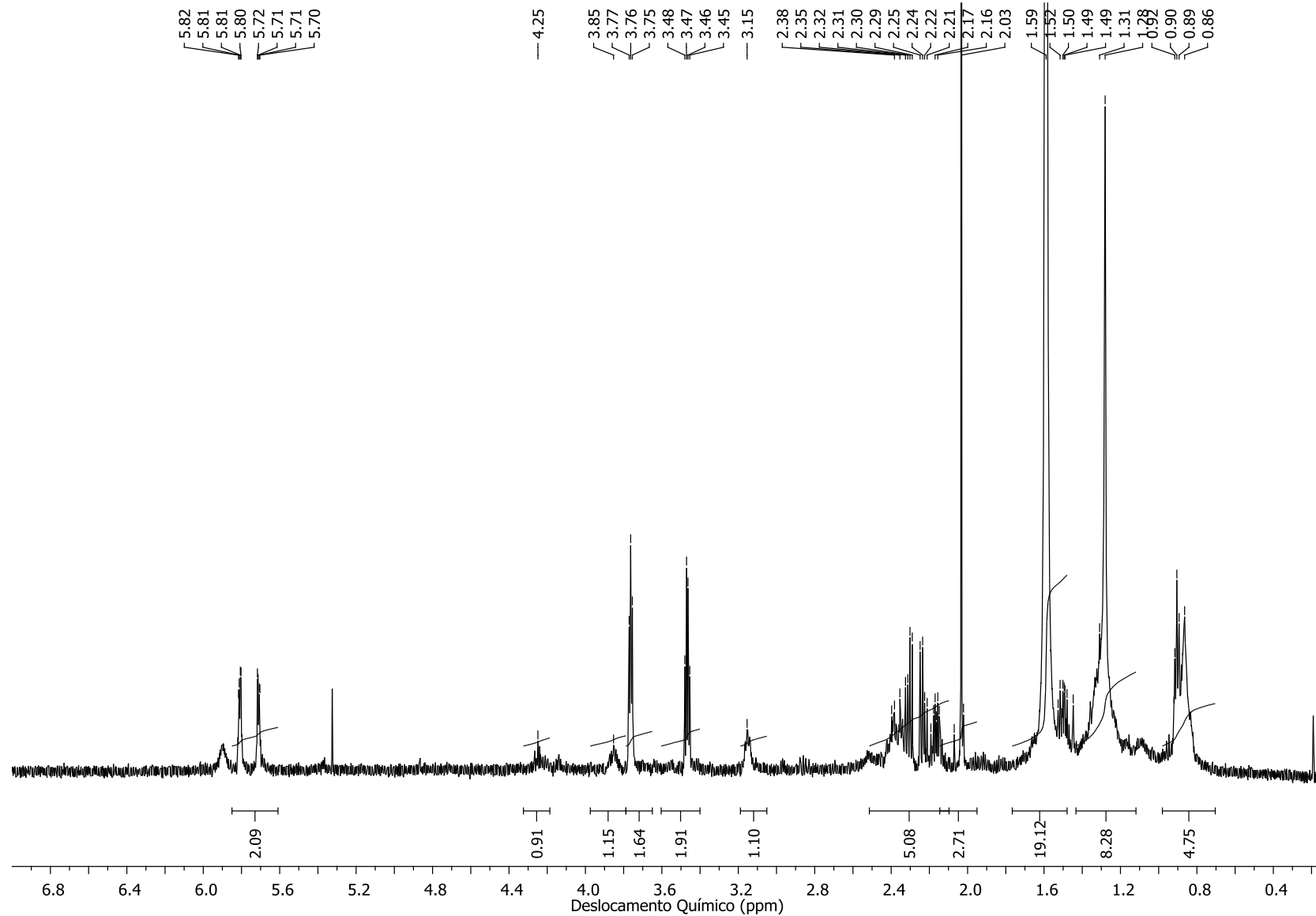
Line#1 R.Time:10.100(Scan#:853)  
 MassPeaks:21  
 RawMode:Single 10.100(853) BasePeak:64.90(5526)  
 BG Mode:None Group 1 - Event 1



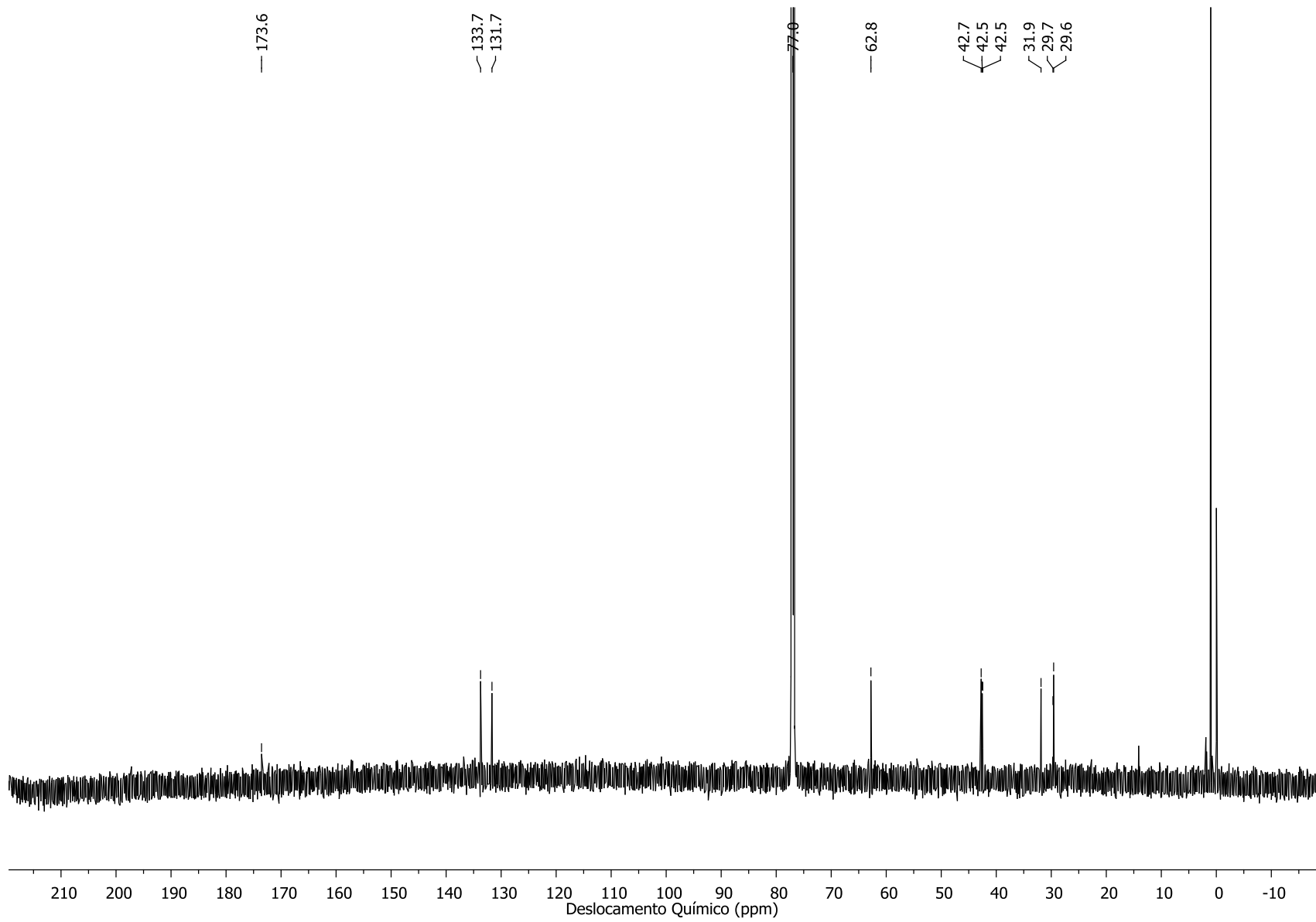
**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-(ciclopent-2-en-1-il)-N-(2-hidroxietil)acetamida.**



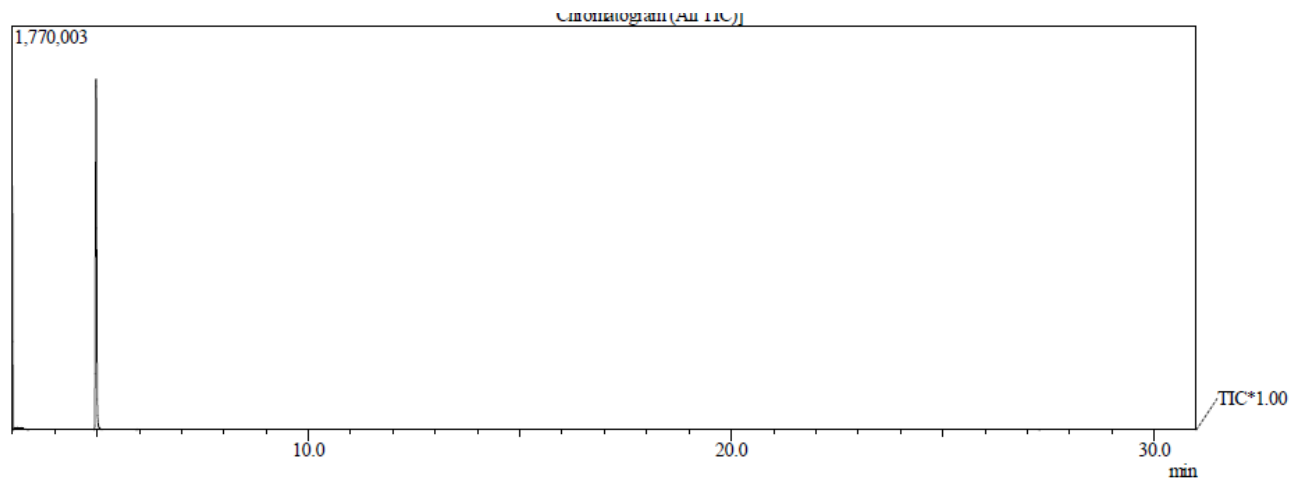
**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-(ciclopent-2-en-1-il)-N-(2-hidroxiethyl)acetamida.**



**Espectro (RMN de  $^1\text{H}$  600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-(ciclopent-2-en-1-il)-2-oxazolina.**

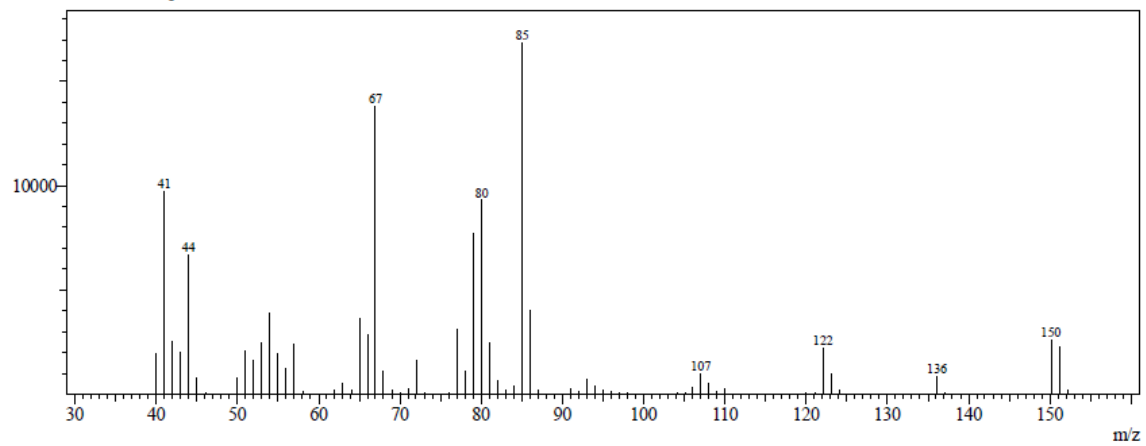


**Espectro (RMN de  $^{13}\text{C}$  151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) – 2-(ciclopent-2-en-1-il)-2-oxazolina.**

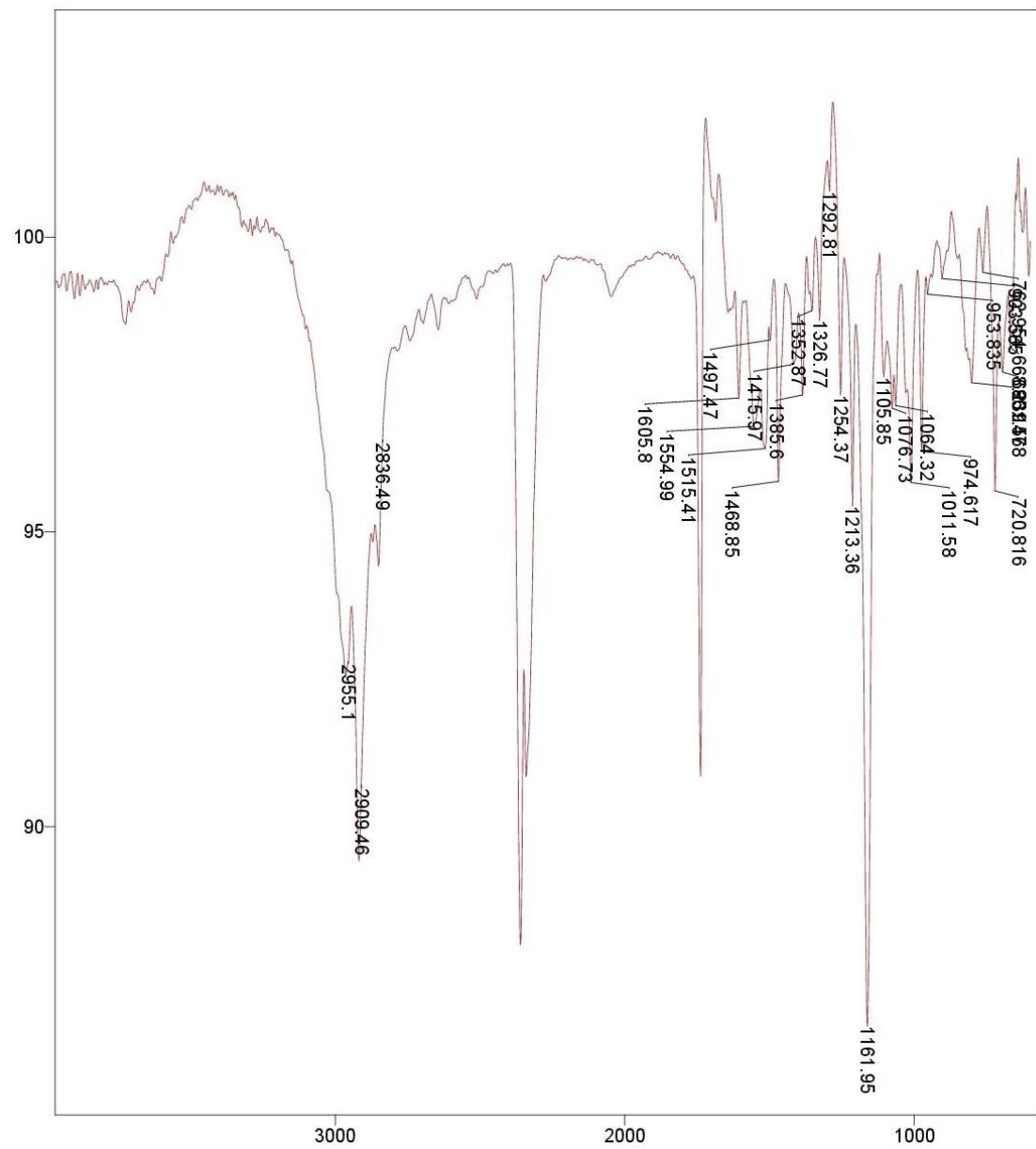


**Cromatograma da 2-(ciclopent-2-en-1-il)-2-oxazolina.**

Line#:1 R.Time:4.975(Scan#:238)  
MassPeaks:67  
RawMode:Averaged 4.833-5.208(221-266) BasePeak:85.05(16855)  
BGMode:None Group 1 - Event 1



**Espectro (EM 70 eV m/z) - 2-(ciclopent-2-en-1-il)-2-oxazolina.**



**Espectro de Infravermelho (ATR) – 2-(ciclopent-2-en-1-il)-2-oxazolina.**