



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PEDRO HENRIQUE FAURO DE ARAÚJO

**Síntese de amidas graxas a partir do óleo de patauá
(*Oenocarpus bataua*) via catálise heterogênea para avaliação de
propriedades antimicrobianas**

Macapá
2018

PEDRO HENRIQUE FAURO DE ARAÚJO

**Síntese de amidas graxas a partir do óleo de patauá
(*Oenocarpus bataua*) via catálise heterogênea para avaliação
de propriedades antimicrobianas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra

**Macapá
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

547

A663o Araújo, Pedro Henrique Fauro de

1.1.1. *Obtenção de amidas graxas a partir do óleo de patauá (Oenocarpus bataua) via catálise heterogênea para avaliação de propriedades antimicrobianas / Pedro Henrique Fauro de Araújo ; orientador, Irlon Maciel Ferreira ; co-orientador Roberto Messias Bezerra. – Macapá, 2018.*

47 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
da Universidade Federal do Amapá**

BANCA EXAMINADORA

Aluno: Pedro Henrique Fauro de Araújo

Orientador(a): Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra



Dr. Irlon Maciel Ferreira / Presidente

Professor do Curso de Licenciatura em Química Universidade Federal do Amapá,
UNIFAP.

André Luiz Meleiro Porto

Dr. André Luiz Meleiro Porto

Professor Pesquisador da Universidade de São Paulo – Instituto de Química de São
Carlos / IQSC-USP



Dra. Lorane Izabel da Silva Hage Mellm

Professora do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.

***Dedico este trabalho à minha família,
amigos, professores e, principalmente,
ao Desenvolvimento da Pesquisa e
Ciência Amazônica.***

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me dar forças e possibilitar concluir mais uma jornada em minha vida.

À minha família que sempre me apoiou.

Aos meus pais **Denise Ilé Fauro e Geraldo de Jesus Capela de Araújo** por todo incentivo e auxílio.

Aos meus irmãos **Gabriel Fauro, Lucas Fauro e Inana Fauro** por estarem sempre ao meu lado.

À minha companheira **Géssica de Almeida Leal**, pela paciência e ajuda durante o curso.

Ao professor **Dr. Irlon Maciel Ferreira**, pelo apoio, dedicação e auxílio durante o processo de aprendizagem e pesquisa.

Aos meus amigos, por toda compreensão e motivação.

Aos meus companheiros de laboratório (BIORG), Matheus Mercês, Pedro Barata, Evaldo Júnior, Harlyson Carvalho, Andréia Amorin e Hellen Loureiro por todo auxílio, apoio e momentos de descontração.

Aos meus colegas de turma, pela caminhada e por todo apoio após mais uma etapa das nossas vidas.

À Universidade Federal do Amapá – UNIFAP - por disponibilizar estrutura necessária para a realização do trabalho.

Ao professor Dr. André L. M. Porto da Universidade de São Paulo – USP, pelo apoio nas análises de Ressonância Magnética Nuclear.

À FAPEAP e CAPES pelo fornecimento da bolsa de fomento durante o período de desenvolvimento do curso de mestrado.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para o êxito desta pesquisa.

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	OLEAGINOSAS AMAZÔNICAS.....	11
1.2	TRIGLICERÍDEOS DE ORIGEM VEGETAL.....	12
1.3	PATAUÁ (<i>Oenocarpus bataua</i>).....	14
1.4	PROCESSO DE CATÁLISE.....	16
1.4.1	Catalisadores enzimáticos.....	16
1.4.2	Catálise heterogênea com compostos inorgânicos.....	19
1.5	AMIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS.....	21
1.5.1	Síntese de amidas graxas.....	23
2	OBJETIVOS.....	26
2.1	OBJETIVO GERAL.....	26
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
3	ARTIGO 1.....	27
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38
	ANEXOS E APÊNDICES.....	43

LISTA DE TABELAS, FIGURAS, ANEXOS E APÊNDICES

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura química geral de triglicerídeos.....	13
Figura 2 –	Fórmula estrutural do ácido Linoleico.....	13
Figura 3 –	Ilustração da palmeira de <i>Oenocarpus bataua</i>	15
Figura 4 –	Esterificação de ácidos carboxílicos.....	15
Figura 5 –	Representação da estrutura cristalográfica da enzima CALB.....	17
Figura 6 –	Ilustração da sequência de reação da amidação enzimática de um triglicerídeo.....	18
Figura 7 –	Transesterificação via catálise heterogênea utilizando o CaO.....	20
Figura 8 –	Palmitoiletanolamida isolada do óleo de amendoim e da lecitina de soja.....	21
Figura 9 –	Exemplos de fármacos que apresentam a função amida.....	21
Figura 10 –	Representação da oleamida, erucamida, behenamida.....	22
Figura 11 –	Representação química da anadamida.....	22
Figura 12 -	Conversão de sais de ácidos em amidas.....	24
Figura 13 -	Amidação dos ésteres metílicos de ácidos graxos.....	24

SÍMBOLOS, SIGLAS, FÓRMULAS E ABREVIATURAS

AGs	-	Ácidos Graxos
Al ₂ O ₃	-	Óxido de alumínio
ANVISA	-	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	-	<i>America Type Culture Collection</i>
°C	-	Graus Celsius
CALB	-	Lipase B do fungo <i>Candida antarctica</i>
CaO	-	Óxido de cálcio
CCD	-	Cromatografia em Camada Delgada
CG-EM	-	Cromatografia a Gas acoplada ao Espectrômetro de Massas
eV	-	EletroVolt
HDL	-	<i>High Density Lipoprotein</i>
Hz	-	Hertz
h	-	hora
IV - TF	-	Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier
<i>J</i>	-	Constante de Acoplamento
KDa	-	Kilo Dalton
kPa	-	KiloPascal
LDL	-	<i>Low Density Lipoprotein</i>
MIC	-	Concentração mínima inibitória
mg	-	miligrama
mL	-	mililitro
ppm	-	parte por milhão
RDC	-	Resolução da Diretoria Colegiada
RMN	-	Ressonância Magnética Nuclear
SiO ₂	-	Dióxido de silício
TiO ₂	-	Dióxido de titânio
UNIFAP	-	Universidade Federal do Amapá
UV	-	Ultravioleta
δ	-	Deslocamento químico
μL	-	Microlitro

SÍNTESE DE AMIDAS GRAXAS A PARTIR DO ÓLEO DE PATAUÁ (*Oenocarpus bataua*) VIA CATÁLISE HETEROGÊNEA PARA AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS

Introdução: A obtenção de amidas graxas é um importante ramo da química orgânica que visa desenvolver novas substâncias com características bioativas e aplicabilidades farmacológicas como antifúngicas, fungicida, cosmética anti-inflamatória, entre outros. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi a síntese de amidas graxas a partir de triglicerídeos presentes no óleo de patauá (*Oenocarpus bataua*) e avaliar seu potencial contra cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591). **Metodologia:** As amidas graxas foram sintetizadas pelo método livre de solventes, utilizando-se 1,0 mL de óleo do patauá e 3,0 mL de isopropilamina, variando-se os catalisadores (CAL-B, TiO_2 , SiO_2 e Al_2O_3) por 24 horas, sob agitação magnética, à temperatura ambiente ($27^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$). Os compostos foram purificados e caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Carbono 13 - ^{13}C , Espectrometria de Massas (CG-EM) e Infravermelho (IV) com Transformada de Fourier. Os ensaios antimicrobianos foram realizados *in vitro* frente a cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591), testando-se na forma *in natura*, o OP (óleo de patauá), EE (etil ésteres do óleo de patauá), e AG (amida graxa), tendo como controle positivo a vancomicina (2 mg/mL). **Resultados e discussão:** Dentre as condições estudadas, o rendimento da reação da amidação direta e livre de solventes apresentou o melhor resultado quando foi utilizado 5 % de Al_2O_3 como catalisador, com uma conversão de 94 % às 24 h de reação. Após a configuração estrutural pela caracterização espectroscópica, os testes antimicrobianos das AG contra o *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591), mostraram uma atividade de MIC de 1,9612 mg/mL enquanto que os EE com MIC de 3,4125 mg/mL. **Conclusão:** O processo de amidação direta e livre de solventes mostrou-se vantajoso frente a literatura já descrita, onde os produtos foram obtidos de forma simples e eficiente, além disso, apresentaram relativa atividade frente aos microrganismos selecionados, desta forma podendo ser considerado uma síntese viável e inovadora.

Palavras-Chave: Amidas graxas. Patauá. Atividade antimicrobiana.

Agradecimentos: UNIFAP, CAPES, FAPEAP e USP.

SYNTHESIS OF FATTY AMIDES FROM PATAUÁ OIL (*Oenocarpus bataua*) BY HETEROGENEOUS CATALYSIS FOR ANTIMICROBIAL ASSAY EVALUATION

Introduction: Obtaining fatty amides is an important branch of organic chemistry that aims to develop new substances with bioactive characteristics and pharmacological applications such as antifungal, fungicide, anti-inflammatory cosmetics, among others. **Objective:** The objective of this work was the synthesis of fatty amides from triglycerides present in the patauá oil (*Oenocarpus bataua*) and to evaluate their potential against *Staphylococcus aureus* strain (ATCC 33591). **Methodology:** The fatty amides were synthesized by the solvent-free method, using 1,0 mL of patauá oil and 3,0 mL of isopropylamine, the catalysts (CAL-B, TiO₂, SiO₂ and Al₂O₃) being varied for 24 hours under magnetic stirring at room temperature (27 ° C ± 2 ° C). The compounds were purified and characterized by Carbon 13 - ¹³C Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Mass Spectrometry (GC-MS) and Fourier Transform Infrared (IV). Antimicrobial assays were performed in vitro against the strain *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591), tested in natura form, OP (patauá oil), EE (ethyl esters of patauá oil), and AG (amide grease), with vancomycin as the positive control (2 mg/mL). **Results and discussion:** Among the conditions studied, the direct and solvent-free amidation reaction yielded the best result when 5% Al₂O₃ was used as the catalyst, with a conversion of 94% at 24 h of reaction. After the structural configuration by the spectroscopic characterization, antimicrobial AG tests against *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591) showed a MIC activity of 1.9612 mg/mL while the ES with MIC of 3.4125 mg/mL. **Conclusion:** The solvent-free amidation process proved to be advantageous in relation to the described literature, where the products obtained showed relative activity against the selected microorganisms, thus being considered a viable and innovative synthesis.

Keywords: *Fatty amides. Patawa oil. Antimicrobial activity.*

Acknowledgements: UNIFAP, CAPES, FAPEAP e USP.

1.1 OLEAGINOSAS AMAZÔNICAS

O Brasil contém em uma vasta área ambiental rica em matérias-primas renováveis, porém subaproveitadas, principalmente na região Amazônica, onde existem inúmeras espécies de vegetais produtoras de sementes oleaginosas, passíveis de extrações físico-químicas para a obtenção de óleos vegetais com diversas propriedades (PESCE, 2009).

Segundo Araújo (2008) a Floresta Amazônica consiste na maior floresta tropical do mundo, equivalendo-se de 31 % do total de florestas do planeta e 5,05 % da superfície terrestre, o que corresponde cerca 7,8 milhões de Km² de imensurável diversidade biológica entre fauna, flora, microbiotas, ecossistemas, entre outros.

Logo, a grande área ocupada por toda a floresta é objeto de diversas possibilidades de estudos científicos que visam a manipulação direta ou indireta de produtos naturais afim de aproveitar as propriedades físico-químicas que extratos, soluções ou óleos podem fornecer em função das características de suas substâncias bioativas, produtos do metabolismo secundário das plantas, que são altamente eficazes no que se relaciona com as áreas de fisiologia, nutricional e medicinal (CAVALCANTI, 2009).

Consequentemente, há um crescente interesse por toda a comunidade científica, governos e iniciativas privadas em estudar esses compostos provenientes de produtos naturais dentre as mais diversas áreas, principalmente pela elevação no consumo de diversos tipos de oleaginosas que possuem diversas características farmacológicas e nutritivas relatadas, além de ser um produto considerado sustentável, em função de sua biodegradação quando agredado em processos industriais.

Várias características funcionais podem ser atribuídas aos extratos brutos ou constituintes químicos de oleaginosas nativas, como, por exemplo, babaçu, patauá, e andiroba que apresentam atividades antioxidantes, anticarcinogênica, anti-HIV, antimicrobiana, hipoglicêmica, entre outras já relatadas cientificamente (QUISPI-CONDORI, 2005).

Geralmente os extratos oleicos brutos são provenientes de frutos das palmeiras nativas da região norte ou nordeste do Brasil, extraídos por populações de regiões ribeirinhas por apresentarem potencial nutrocênico e uma fonte de lipídios benéficos à saúde, visto que aumentam os níveis de HDL (*Hig Density Lipoprotein*) e reduzindo os

níveis de LDL (*Low Density Lipoprotein*), o que confere as características cardioprotetoras desses compostos (HIDALGO, NUNOMURA, NUMORA, 2016). Várias palmeiras têm sido alvo de pesquisas para aplicações farmacológicas, contudo as principais em estudo que podem ser citadas são as de açai (*Euterpe oleracea* Mart.), andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.), castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.), a gordura obtida das sementes fermentadas do cupuaçu [*Theobroma grandifolium* (Willd. ex Spreng.) K. Schum.], babaçu (*Attalea speciosa*) e patauá (*Oenocarpus bataua*).

Os frutos dessas palmeiras apresentam grandes concentrações de micronutrientes, principalmente vitaminas, sendo considerados alimentos orgânicos e naturais no cenário mundial atual, que conferem ações protetoras contra a evolução de processos degenerativos em sistemas biológicos humanos, como a proteção do sistema cardiovascular, revestimento e proteção do sistema respiratório, antioxidantes, entre outros. (HIDALGO, NUNOMURA, NUMORA, 2016).

Desta forma, vastas são as propriedades que os produtos obtidos dessas palmeiras citadas possuem, porém, um dos grandes desafios para agregar valores à biodiversidade amazônica é encontrar um modelo de prosperidade econômica objetivando o desenvolvimento regional e a exploração sustentável dessas matérias-primas (PESCE, 2009).

1.2 TRIGLICERÍDEOS DE ORIGEM VEGETAL

De acordo com a Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005, da ANVISA os óleos ou gorduras vegetais são:

Os produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécies vegetais. Podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura. Os óleos vegetais se apresentam na forma líquida e as gorduras vegetais se apresentam na forma sólida ou pastosa à temperatura de 25 °C.

O processo de extração de óleos vegetais constitui um processo importante no ramo da tecnologia, objetivando a obtenção de óleos sem alterações e o mínimo de impurezas com o máximo rendimento e qualidade. Solventes apolares e de baixo ponto de ebulição são os mais empregados na extração de óleos vegetais, pois permitem uma recuperação mais rápida do produto final sintetizado (SCHNEIDER, 2002).

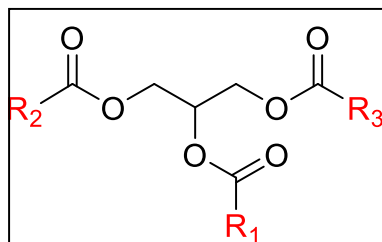
Os extratos das oleaginosas amazônicas podem ser classificados quanto as suas características físico-químicas, descritos, assim, como óleos voláteis ou óleos

essenciais, que são focos de indústrias de aromas e fragrâncias, sendo responsáveis, principalmente, pela formulação de perfumes e cosméticos (PESCE, 2009).

Outra classe desses extratos, são classificados como óleos não voláteis ou óleos fixos que possuem suas principais aplicações nas indústrias alimentícias e cosméticas, afim de substituir componentes oriundos de fontes não-renováveis, principalmente do petróleo, possibilitando uma alternativa sustentável para o desenvolvimento de novos produtos (PESCE, 2009).

Quimicamente, os óleos fixos são considerados glicerídeos de ácidos graxos – AGs - de cadeia longa (Figura 1), sendo solúveis em solventes orgânicos usuais, como clorofórmio, éter-etílico e hexano, porém insolúveis em água (PEREIRA, 2009).

Figura 1 – Estrutura química geral de triglicerídeos.

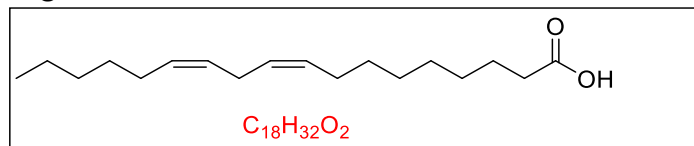


Fonte: Acervo do Autor. (ChemBio Draw vs. 12).

R₁, R₂ e R₃ = Grupos alquilas saturados e/ou insaturados

Segundo Moretto e Fett (1998) & Costa (2012) os AGs (Figura 2) que fazem parte dos glicerídeos das moléculas de óleos vegetais são os responsáveis pela diferenciação entre a diversidade de óleos que estão presentes na natureza. Os AGs são considerados ácidos fracos, com valores de pKa variando entre 4 e 5, consequentemente diminuindo seu índice de acidez.

Figura 2 – Fórmula estrutural do ácido Linoleico.



Fonte: Acervo do Autor. (ChemBio Draw vs. 12).

Em vistas de suas características metabólicas a presença de insaturações depende diretamente da posição da última ligação dupla em função de apresentarem efeitos específicos no metabolismo humano. Os AGs são classificados em insaturados, quando há a presença de ligações duplas, ou saturados, quando não há, podendo ser divididos em mono (uma ligação) ou poli-insaturados (duas ou mais ligações entre carbonos – C=C) (SOUZA; MATSUHITA; VISENTAINER, 1998).

Segundo Rêgo (2012) ácidos graxos que apresentam mais de uma instauração são considerados especiais, contudo a dupla ligação não permite o empacotamento eficiente, reduzindo a interação entre as moléculas. Por outro lado, AGs saturados permitem uma maior flexibilidade por serem linear, aumentando, assim, o estado de energia, fator de empacotamento e a interação entre as moléculas pela maior proximidade.

Os ácidos graxos insaturados naturais apresentam predominância de ligações isoméricas do tipo *cis*, e alguns ligações do tipo *cis* e *trans*, tais configurações influenciam diretamente nas diferenças entre sabor, textura, ponto de fusão, absorção e atividade do ácido graxo (MITCHELL et al., 1978).

A presença de poli-insaturações foi estudada por Bang e Dyeberg (1972) que demonstraram a redução de ocorrência de problemas cardiovasculares e princípios de aterosclerose em esquimós da Groelândia e pescadores Japoneses, ligada principalmente com o consumo elevado de peixes que apresentam altas taxas de lipoproteínas e lipídios plasmáticos.

Do ponto de vista nutricional, os ácidos graxos apresentam valores energéticos praticamente iguais, porém dietas experimentais visando a redução de doenças cardiovasculares foram estudadas por Singer et al. (1983), onde foi relatado que o consumo de produtos ricos em ômega 3 são necessários para as membranas biológicas, retina, córtex cerebral, tecido nervoso, além de apresentar efeito anti-hipertensivo e anti-inflamatório (BECKER et al., 1981).

Contudo, quando o mesmo estudo foi comparado com uma população que consome elevados teores de gorduras saturadas, que tendem a elevar os níveis de colesterol no organismo, mesmo com o consumo de insumos com altas taxas de ômega 3 não é capaz de promover proteção as doenças citadas, devendo-se, portanto, associar o consumo de tais alimentos com hábitos de vidas saudáveis.

Logo, é importante ter o conhecimento prévio dos alimentos a serem consumidos ou utilizados como base nutricional, pois a disponibilidade dos ácidos graxos depende do fornecimento alimentar, promovendo reações biológicas favoráveis ou desfavoráveis frente aos sistemas humanos.

1.3 PATAUÁ (*Oenocarpus bataua*)

Patauá é o nome genérico dado ao fruto da palmeira *Oenocarpus bataua* (Figura 3) pertencente a família das *Araceae* (*Palmae*) preferencialmente encontrada em zonas úmidas, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, variando de localidade e

predominância. Durante o cultivo, a palmeira necessita de sombra para o seu período de desenvolvimento e de bastante luz durante a vida adulta (MOURA, 2013).

A palmeira é considerada uma planta oligárquica, de fácil cultivo e manutenção, produzindo cerca de 110 Kg de frutos por ano e podendo alcançar alturas entre 4 e 26 metros, o que confere uma alta utilidade junto as comunidades ribeirinhas e indígenas da Amazônia, pois podem gerar rendas significativas e sustentáveis (HIDALGO; NUNOMURA; NUNOMURA, 2016).

Dos frutos do patauá pode ser extraído uma bebida conhecida como “vinho de patauá” e do mesocarpo um óleo de cor amarelo esverdeado, transparente, com odor fraco e gosto semelhante ao óleo de oliva. Este óleo é muito apreciado por comunidades da região Norte, visto que é comprovadamente rico em ácidos graxos insaturados, predominando o ácido oleico, o que concede interessantes propriedades químico-farmacêuticas (ARAÚJO et al., 2007; MOURA, 2013).

Figura 3 – Ilustração da palmeira de *Oenocarpus bataua*.



Fonte: SHANLEY et al., 2005. (Adaptado)

A composição dos ácidos graxos presentes no extrato oleico varia de acordo com local, safra e método de extração, porém mantém-se dentro da faixa: ácido oleico (73 – 82,4 %), ácido palmítico (6,0 – 14,9 %), ácido esteárico (2,8 – 9,4 %), ácido linoleico (2,7 – 8,8 %), ácido palmitoleico (0,6%), ácido mirístico (0,4 %), ácido linolênico (0,2 %) e ácido láurico (0,2 %) (ARAÚJO et al., 2007).

A diversidade de ácidos graxos presentes no óleo de patauá confere as principais características farmacológicas, sendo potencializadas pela presença dos ácidos oleico e esteárico em alta concentração, responsáveis pelas propriedades umectantes e hidratantes, pois formam uma camada lipofílica sobre a epiderme devido a afinidade entre o óleo e a pele (SCOTTI; VELLASCO, 2003; SOUZA, 2003).

Dentre as principais aplicações, o óleo de patauá é utilizado na fabricação de sabões e cremes, apreciando-se o cuidado dérmico e do couro cabeludo. Na indústria química, o óleo pode ser aplicado como agente emulsionante e doador de consistência, estabilizando processos reacionais (LEONARDI, 2004)

Outra característica que deve ser ressaltada é que a polpa do patauá possui alto poder nutritivo, apresentando uma diversidade de aminoácidos essenciais como a leucina, treonina, valina, isoleucina e a tirosina, o que representa um potencial para a indústria alimentícia, seja na produção de alimentos humanos quanto na produção de rações animais (BALLICK, 1979).

A composição nutricional do óleo foi descrita em 1980 por Aguiar e colaboradores que relataram que a polpa de patauá possui 35,6 % de umidade e em 100 g de polpa seca foram determinados 3,3 g de proteína, 12,8 g de gordura, 47,2 g de carboidratos, 1,1 g de cinzas e 31,5 g de fibras. Cada 100 g de polpa correspondem a 317,2 Kcal de energia consumida.

Outras pesquisas descrevem o uso do extrato ultrassônico, com espécimes coletados na Guiana Francesa, da polpa liofilizada a partir de uma solução de água e acetona frente a atividade antioxidante, apresentando resultados melhores quando comparado ao extrato oleoso de açaí. Além disso, foi possível determinar a composição polifenólica, implicando na presença de antocianinas, taninos condensados, stilbenos e ácidos fenólicos, que possuem vastas atividades biológicas (REZAIRE et al., 2014).

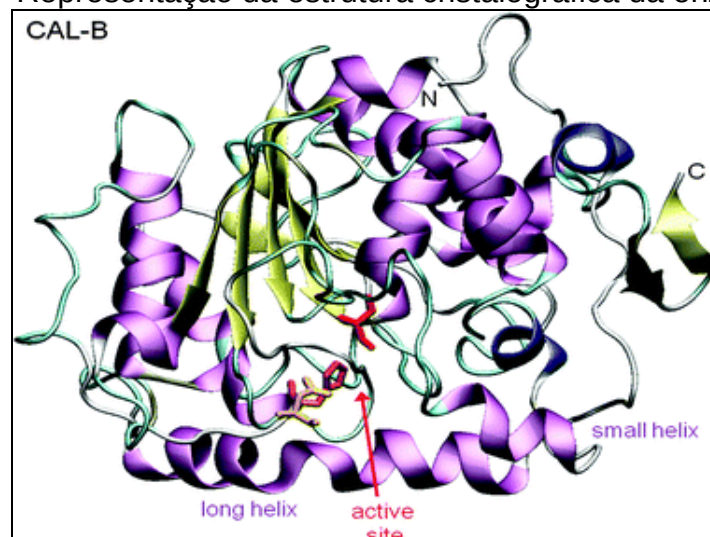
Desta forma, o óleo de patauá torna-se um atrativo para formulações químicas para o desenvolvimento de novos produtos farmacológicos, cosméticos ou alimentícios que visem explorar as propriedades que os constituintes graxos têm a fornecer, seja isoladamente ou em conjunto.

1.4 PROCESSO DE CATÁLISE

1.4.1 Catalisadores enzimáticos

Para os catalisadores enzimáticos em reações de amidação, as Lipases (Triacilglicerol acil-hidrolases) são as mais empregadas. Tratam-se de enzimas com a capacidade de hidrolisar, esterificar e recentemente, epoxidar reações *in vivo* através de triglicerídeos (SHARMA; CHISTI; BARNEJEE, 2001). O biocatalisador mais utilizado em processos industriais é baseado na lipase B do fungo *Candida antarctica* (CALB – Figura 5) (KLASS; WARWEL, 1996; LEÃO, 2009).

Figura 5 – Representação da estrutura cristalográfica da enzima CALB.



Fonte: KHLAN et al., 2011.

A CALB é considerada uma enzima relativamente pequena, apresentando 317 resíduos de aminoácidos e massa molar de 33 kDa, sua estrutura foi determinada em 1994 através de Difrações de Raios – X e os primeiros estudos reacionais com esta enzima foram publicados em 1998 (TEIXEIRA, 2006).

Os biocatalisadores enzimáticos podem ser divididos em duas grandes categorias: (1) lipases extracelulares, a enzima é recuperada a partir do caldo dos microrganismos vivo e em seguida purificada, os microrganismos de maior produção são *Mucor meihei*, *Candida antarctica* e *Pseudomonas cepacia*; (2) lipases intracelulares, a enzima ainda permanece no interior ou nas paredes celulares do microrganismo produtor (FISCHER, 1994).

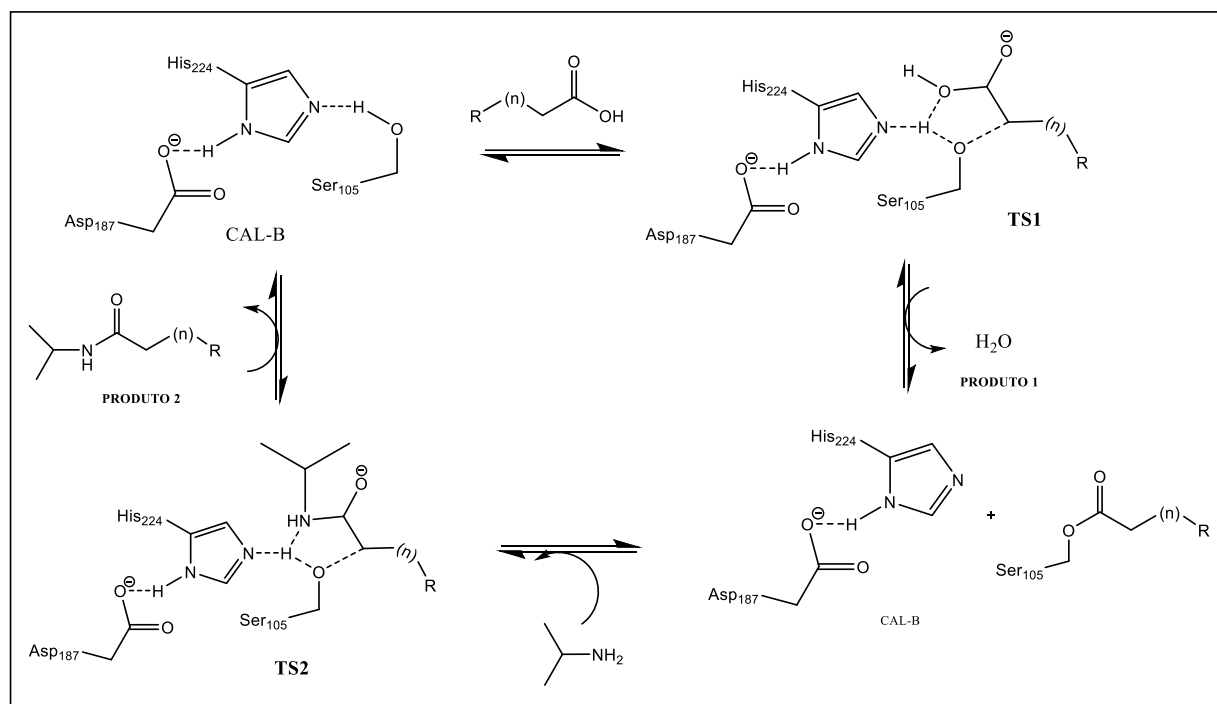
O processo de esterificação utilizando as lipases como catalisadores enzimáticos, foi implantado com a finalidade de produzir ésteres de ácidos graxos com alto grau de pureza, além de permitir a recuperação da enzima e sua reutilização em reações posteriores (PAULA et al., 2008). Ademais, outra tecnologia importante é a produção de ésteres, através das lipases, que apresentem aplicações como emulsificantes, cosméticos e produtos farmacêuticos (WANG et al., 2005).

Outrora, o processo de amidação foi introduzido com a finalidade de observar a derivatização de compostos graxos de cadeias longas em complexos semiapolares com características lipofílicas. Kuo e colaboradores (2016) descrevem a síntese peptídica através da formação de ligações amidas, um rendimento de 84,45 %, com tempo de reação de 3,8 minutos e temperatura de 20,9 °C, além disso, a lipase evitou a hidrólise secundária do peptídeo sintetizado sendo um método eficaz para a produção de dipeptídeos.

Dhake e colaboradores (2009) descrevem a síntese de acetamidas utilizando o líquido iônico [BMIm(PF₆)] como um meio de reação mais verde. A reação ocorreu sobre várias condições reacionais, porém mais favorável para a reação sob 60 °C, 20 mg de catalisador CAL-B, 0,5 ml de líquido iônico e 24 horas de reação para 94 % de rendimento, observando-se que a atividade, estabilidade e seletividade das enzimas são consideravelmente melhoradas ao mudar o meio de reação.

No processo de amidação enzimática (Figura 6) o mecanismo consiste primeiramente na acetilação do doador acil pelo ácido, formando um complexo intermediário enzima-substrato (TS1), então o produto 1 é gerado, permitindo a formação do complexo enzima-acetilo. A CAL-B tem a capacidade de aceitar vários tipos de doadores de acetilo como ésteres, ácidos, tioésteres, carbonatos e carbamatos.

Figura 6 – Ilustração da sequência de reação da amidação enzimática de um triglicerídeo.



Fonte: Acervo do Autor. (ChemBio Draw vs. 12).

Em um segundo momento, a enzima é desacetilada devido ao agente nucleofílico, isopropilamina nesse caso, formando a respectiva amida como segundo produto, nesta última etapa o nucleófilo pode ser um álcool, uma amina ou qualquer hemiacetal (ROTTICCI, 2000).

A tríade catalítica (asparagina 187, histidina 224 e serina 105) promove a catálise básica. A nucleofilicidade da serina 105 aumenta graças à transmissão de carga formada por Asp 187 e His 224. Enquanto a catálise ácida é promovida pelo gap

oxigênio-aniônico. Deve-se notar que dois estados de transição são apresentados durante o mecanismo; TS1 e TS2, mas apenas o estado de transição da segunda etapa é muito importante para a resolução cinética de misturas racêmicas de aminas, dado que a amina é faz parte da etapa secundária do mecanismo (ROTTICCI, 2000).

Atualmente, algumas lipases comercializadas são produzidas com auxílio de microrganismos pela facilidade de controle e aumento da produtividade de processos fermentados, consequentemente, reduzindo seus custos de obtenção (SILVA, 2012). Imobilizar a enzima é uma prática fundamental, pois contribui para reações sintéticas com solventes orgânicos, consequentemente, favorecendo o processo enzimático (COSTA, 1999; SILVA, 2012).

Em geral as lipases são empregadas em condições mais brandas que os catalisadores alcalinos e/ou ácidos (o que implica em menor consumo de energia), em diferentes óleos de diferentes propriedades químicas e físicas (elevada acidez) e alto teor de umidade. Além disso, as reações ocorrem com menos subprodutos durante as etapas de síntese, reduzindo a necessidade de etapas secundárias como a purificação do produto de interesse.

1.4.2 Catálise heterogênea com compostos inorgânicos

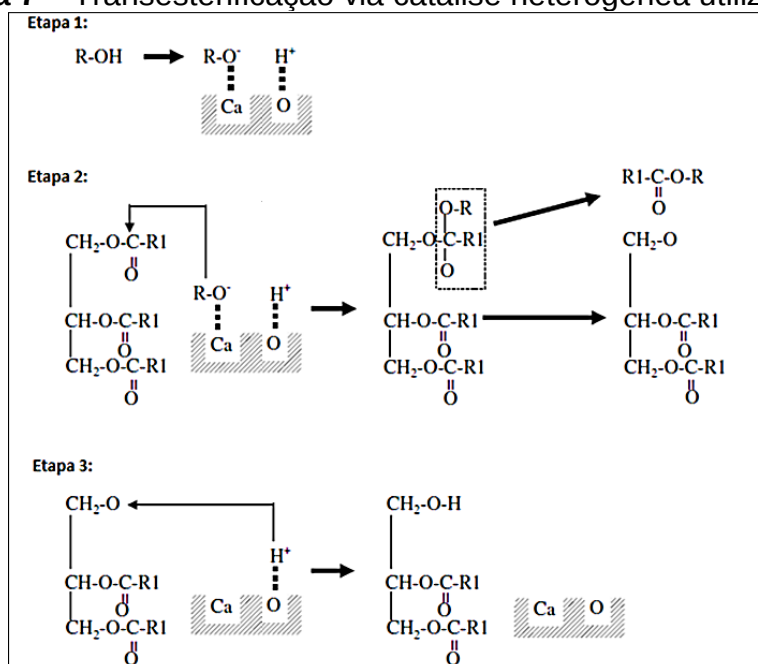
Catalisadores heterogêneos são geralmente substâncias sólidas porosas, que arduamente se lixiviam em meio reacional, possíveis de serem recuperados mais facilmente que os catalisadores homogêneos, pois formam reações polifásicas e podem ser reutilizados após um processo de purificação (SCHMAL, 2010).

A produção de catalisadores heterogêneos surgiu com a necessidade de diminuir, ou até eliminar, as adversidades da utilização de catalisadores homogêneos na síntese de novos compostos. Eles se comportam de forma semelhante a eles, exibindo reações rápidas e condições brandas de temperatura e tempo reacional.

Segundo Schmal (2010) “o processo de catálise por via heterogênea ocorre com a transferência de massa do fluido à superfície do catalisador e com difusão dentro dos poros, onde a concentração varia de acordo com o percurso”.

Os catalisadores contêm sítios ativos localizados dentro dos poros, por isso as moléculas dos reagentes têm que ser difundidas através dos poros para que a reação química ocorra. A figura 7 demonstra o processo de reação de transesterificação a partir da catálise heterogênea com óxido de cálcio e metanol.

Figura 7 – Transesterificação via catálise heterogênea utilizando o CaO.



Fonte: Santos; Viana; Souza, 2014.

A figura acima descreve que no primeiro passo os sítios básicos do catalisador retiram um próton do álcool para formar o ânion metóxido; em seguida o ânion formado ataca a função carbonila do triacilglicerol, formando o intermediário alcoxycarbonilado; por fim o intermediário é quebrado em duas moléculas: o éster alquílico e o diglicerídeo, além da recuperação do catalisador.

Nos óxidos de metais alcalinos terrosos, como é o caso do cálcio, a função catalítica deles está associada a eletronegatividade do cátion conjugado, pois intensifica a força de atração do elétron, o que promove as baixas características básicas do oxigênio presente na molécula de CaO, tais características podem ser observadas em outros catalisadores de óxidos metálicos como a alumina (Al₂O₃), óxido de silício (SiO₂) e dióxido de titânio (TiO₂) (SANTOS; VIANA; SOUZA, 2014).

Catalisadores heterogêneos porosos possuem atividade catalítica considerável quando os tamanhos de suas partículas apresentam cerca de 30 µm, pois favorecem seu livre deslocamento no meio reacional, o que permite que a transferência de massa através dos mesmos seja maior, sendo, também, um dos fatores que aumentam a efetividade do catalisador.

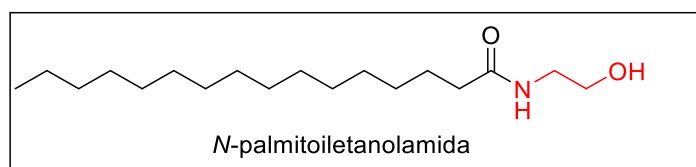
Vários compostos têm sido propostos como catalisadores em potencial para a síntese de compostos, o desempenho destes materiais como catalisadores está naturalmente relacionado com a natureza dos sítios ácidos ou básicos encontrados nestes materiais. A atividade catalítica de sólidos que possuam sítios básicos de

Brönsted-Lowry está relacionada a fenômenos de interação que permite a conversão dos reagentes em novos produtos (CORDEIRO et al., 2011).

1.5 AMIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Os primeiros trabalhos sobre a utilização de amidas graxas em processos bioquímicos teve início em 1950 quando Coburn, Graham e Heninger evidenciaram a atividade anti-inflamatória da *N*-palmitoiletanolamida (Figura 8), a primeira amida graxa isolada, extraída de algumas frações do óleo de amendoim, lecitina de soja e de gemas de ovos (D'ORCA, 2010).

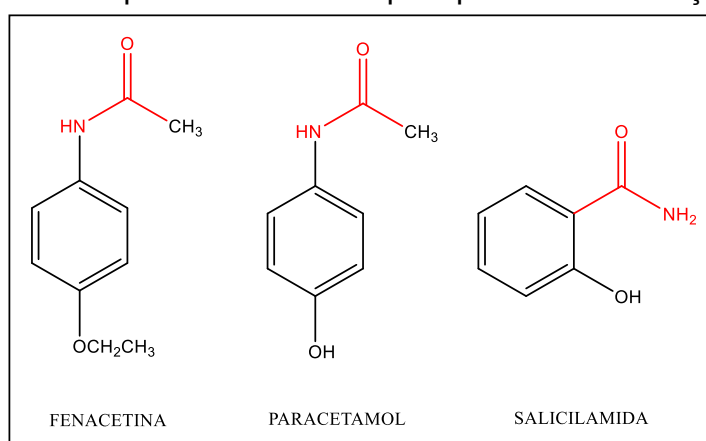
Figura 8 – Palmitoiletanolamida isolada do óleo de amendoim e da lecitina de soja.



Fonte: Acervo do Autor. (ChemBio Draw vs. 12).

O grupo funcional amida está presente entre várias moléculas sintéticas e de ocorrência natural, podendo apresentar diversas finalidades farmacêutica, além de estimar-se que cerca de 25% dos fármacos conhecidos possuem o grupo funcional amida (Figura 9). Elas estão presentes também nas moléculas essenciais a vida como ceramidas e lipoproteínas (D'ORCA, 2010).

Figura 9 – Exemplos de fármacos que apresentam a função amida.

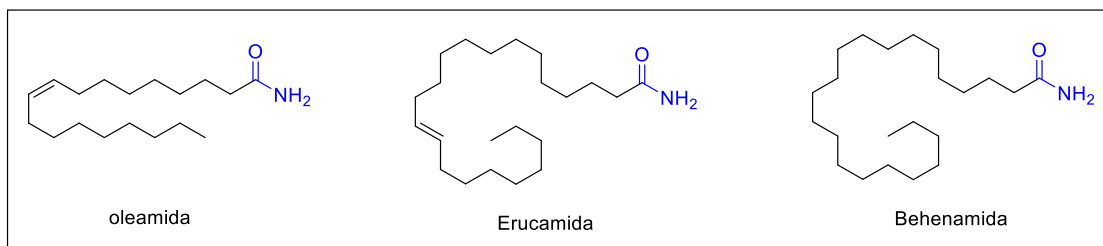


Fonte: D'ORCA, 2010. (Adaptado)

As amidas derivadas de ácidos graxos, conhecidas comumente por amidas graxas ou ceramidas, apresentam longas cadeias carbônicas. São abundantemente utilizadas em mistura de lubrificantes e surfactantes. O mercado de refino de amidas graxas é

dominado pelas amidas insaturadas oleamidas (*cis*-9-octadecenamida) e erucamida (*cis*-13-Docosenoamida) (Figura 10) que são, principalmente, utilizadas pela indústria na confecção de materiais plásticos (ZOETE et al., 1996).

Figura 10 – Representação da oleamida, erucamida e behenamida.

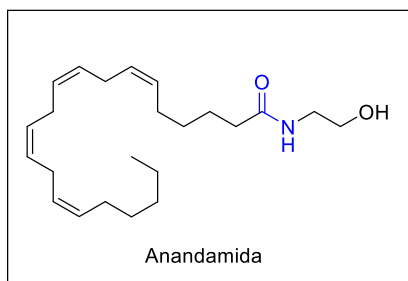


Fonte: Acervo do Autor. (Chem Bio Draw vs. 12)

As amidas graxas podem ser encontradas com frequência na natureza, em vegetais terrestres como sementes de aveia, cacau e nozes, em animais como humanos são encontradas em quantidade mínimas nos tecidos e fluídos corporais e em micro-organismos, tais como, algas *Prymnesiumv parvum*, cianobactérias *Lyngbya semiplena* (BERTIN, et al., 2014; LADBROOKE, CHAPMAM, 1969).

Dentre as amidas graxas a anadamida, do tipo endocananabinóide, é neuromodulador (DI SCALA et al., 2017), também conhecida como “substância da felicidade, (Figura 11), substância produzida pelo cérebro humano e descoberta em 1992,” surpreendentemente apresentou efeitos vasorelaxante em artérias cerebrais de coelhos (STANLEY et al., 2016), desde então a anadamida passou a ser um dos endocananabinóide mais estudados não somente em atividades vasorelaxante mas também em atividades analgésicas, ansiolíticas e antidepressivas, anti-inflamatórias e anti-carcinogênicas (OVERLOOP, VELDHOVEN, 2007).

Figura 11 – Fórmula estrutural da anandamida.



Fonte: Acervo do Autor. (Chem Bio Draw vs. 12)

Assim como os ácidos graxos poli-insaturados, que estão associados com efeitos benéficos à saúde do homem, tais como, anti-inflamatório, antioxidante, combate a doenças cardiovasculares as amidas graxas também possuem algumas dessas propriedades já identificadas (TREMBLAY et al., 2014).

Um dos fatores importantes para o desenvolvimento de compostos amidados está relacionado com estabilidade metabólica da ligação entre Nitrogênio (N) e o Carbono (C) pode conferir a molécula, possibilitando interações com o Hidrogênio (H), consequentemente, aumentando a solubilidade dos compostos (D'ORCA, 2010; OLIVEIRA, 2011).

Estudos recentes demonstram que as amidas graxas estão sendo consideradas como uma nova família de lipídios que possuem atividades biológicas e aplicações tecnológicas, com diversas propriedades como a “regulação do sistema cardiovascular, nervoso, digestivo, metabólico, reprodutivo e imune, correlacionados diretamente com a presença de cadeias graxas” (BOGER et al., 2000; LEVINSON, KUO, KNOTHE, 2008; D'ORCA, 2010).

Experimentos realizados por Santos et al. (2014), com as amidas graxas derivadas dos ácidos palmítico, esteárico, oleico, ricinoleico e linoleico, demonstraram a efetividade destes compostos na inibição da proliferação de células cancerígenas derivadas dos sistemas endócrinos, reprodutivos e respiratório.

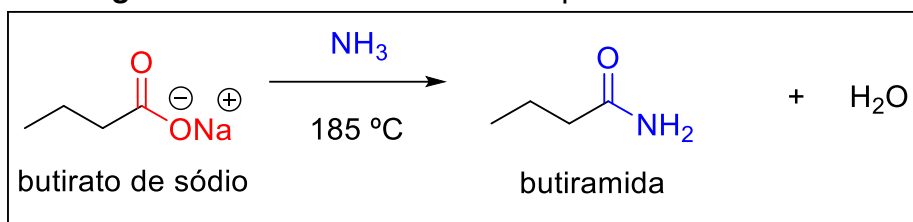
D'orca et al. (2010) verificaram a atividade antibacteriana frente às cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, observando-se os melhores resultados para as amidas graxas derivadas de cadeias insaturadas e de aminas cíclicas, caracterizado pela orientação dos centros assimétricos dos dados observados.

Logo, pode-se afirmar que estudos de novas metodologias envolvendo a síntese de tais compostos podem trazer resultados promissores, além de demonstrar que produtos de diversas origens, vegetal ou sintética, são capazes de aduzir significâncias quando se refere a sua possível atividade biológica.

1.5.1 Síntese de amidas graxas

Para a síntese de amidas graxas a partir dos sais dos correspondentes ácidos formados graxos, geralmente é necessário a utilização de altas temperaturas (Figura 12), incompatibilizado com a manutenção de outros grupos funcionais, bem como as ligações duplas ($-C=C-$), que acaba por deteriorá-los e diminuir suas características farmacobiológicas (JONES, 1994). Logo, estudos que procurem a conversão dos ácidos carboxílicos em grupos funcionais mais reativos, como anidridos ou ésteres, são necessários.

Figura 12 – Síntese de amidas a partir sais de ácidos.

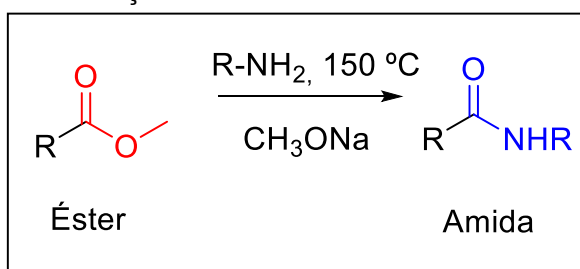


Fonte: D'ORCA, 2010. (Adaptado)

Contudo, é necessário o desenvolvimento de novas técnicas que evitem a formação desses tipos de sais para o máximo aproveitamento das matérias-primas utilizadas. D'orca e colaboradores (2010) desenvolveram o processo de amidação de ácidos graxos em duas etapas.

Em um primeiro momento foi realizado um processo de transesterificação metílica dos ácidos graxos presentes no óleo de mamona em seguida foi realizada a aminólise com a formação de compostos amidados pelo tratamento com metóxido de sódio e amina (Figura 13).

Figura 13 – Amidação dos ésteres metílicos de ácidos graxos.



Fonte: OLIVEIRA, 2011. (Adaptado)

O desenvolvimento deste tipo de processo é necessário e viável, visto que além de serem observados a formação dos compostos amidados, são obtidas moléculas com longas cadeias carbônicas longas que são de grande utilidade para Química Medicinal (OLIVEIRA, 2011).

Em estudos realizados por Burstein e Salmonsén (2008), diferentes tipos de amidas graxas foram sintetizadas utilizando-se de diversos ácidos graxos como percussores da reação, para avaliar o potencial antitumoral desses compostos para linhagens para células tumorais de mama, cervical e embrionária de pulmão. Os resultados foram promissores para inibir a proliferação de linhagens celulares diferentes, com maior atividade para a N-palmitoil-dopamida com 80% de inibição para células tumorais de mama.

Serra e colaboradores (2012) relataram a síntese do penta-acetilgalactosiltiazolidina com a derivatização de 4 ácidos graxos com cadeias carbônicas diferentes, todas saturadas. A citotoxicidade dos compostos foi avaliada frente a células tumorais de mama e de melanoma e comparadas com células de fibroblastos não tumorais. Os compostos com maior número de carbonos apresentaram a maior atividade, sendo capazes de diminuir a viabilidade celular.

Desta forma, grupos de estudos vêm desenvolvendo pesquisas afim de modificar biológica ou quimicamente compostos, aumentando a lipofilicidade dos mesmos através da introdução de grandes cadeias carbônicas que as amidas graxas contêm, onde tais processos tornem esses novos compostos mais potentes ou específico para determinada atividade que ainda não se tem possível resposta.

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar amidas graxas derivadas de triglicerídeos do óleo de patauá (*Oenocarpus bataua*) via catálise heterogênea e avaliar as propriedades antimicrobianas do produto obtido.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Desenvolver um novo método na obtenção direta de amidas graxas;
- b) Quantificar os ácidos graxos presentes no óleo de patauá por derivatização pelo método de transesterificação por CAL-B;
- c) Estudar a influência do tempo de reação, quantidade de catalisador e o tipo de catalisador na síntese das amidas graxas;
- d) Caracterizar as estruturas dos compostos semi-sintetizados por técnicas espectroscópicas, tais como, Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^{13}C , Espectrometria de Massas (CG-EM) e Infravermelho (IV);
- e) Realizar estudos da atividade antimicrobiana dos compostos semi-sintetizados frente às cepas das bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591).

Publicado em Catalysis Letters. ISSN: 1572-879X. DOI: 10.1007/s10562-018-2306-7

**Direct and free-solvents aminolysis of triglyceride from *Oenocarpus bataua* (Patawa)
oil catalyzed by Al₂O₃**

Pedro H. F. Araújo^{1,2}, Pedro H. da Silva Barata¹, Inana F. Araújo^{1,2}, Jhone M. Curti³, Raquel R. Amaral³, Didier Bereau⁴, José Carlos T. Carvalho^{2,3} and Irlon M. Ferreira^{1,2,*}

¹*Biocatalysis and Biotransformation Group in Organic Chemistry, Collegiate of Chemistry, Federal University of Amapá, Rod. JK, KM 02, 68902-280, Macapá, Amapá, Brazil.*

²*Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Department of Biological Sciences and Health, Federal University of Amapá, Brazil.*

³*Laboratory of Pharmaceutical Research, Department of Biological Sciences and Health, Collegiate of Pharmacy, Federal University of Amapá, Brazil.*

⁴*Campus Universitaire Saint-Denis, Caiena – Université des Antilles et de la Guyane.*

* Corresponding author: Tel.: +55(96)40092927; E-mail: irlon.ferreira@gmail.com;



Direct and Solvent-Free Aminolysis of Triglyceride from *Oenocarpus bataua* (Patawa) Oil Catalyzed by Al_2O_3

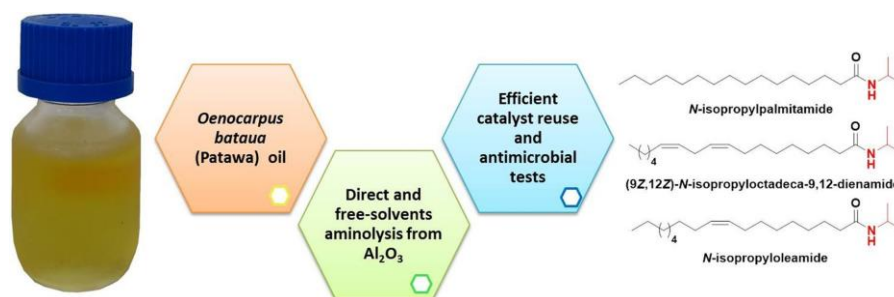
15. Pedro H. F. Araújo^{1,2} · Pedro H. da S. Barata¹ · Inana F. Araújo^{1,2} · Jhone M. Curti³ · Raquel R. Amaral³ · Didier Bereau⁴ · José Carlos T. Carvalho^{2,3} · Irlon M. Ferreira^{1,2}

Received: 4 October 2017 / Accepted: 14 January 2018
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2018

16. Abstract

The amidation of fatty acid is an important reaction for synthesis of fatty alkolamines with a variety of pharmacological activities. The objective of this paper was to demonstrate the aminolysis direct and solvent of the triglycerides from the patawa oil by heterogeneous catalysis. The results of the amidation direct free solvents were favorable using 5% Al_2O_3 as catalyst, with a conversion of 94% at 24 h of reaction. After spectroscopic characterization, we decided explore the antimicrobial tests of the fatty amides (FAA) against the *Staphylococcus aureus* strain (ATCC 33591), showing a MIC activity of 1.9612 mg/mL and the fatty ethyl esters (FAEE) a 3.4125 mg/mL MIC. Therefore, the synthesis direct free solvents of FAA by Al_2O_3 from patawa oil was viable and innovative.

17. Graphical Abstract



Keywords Fatty oil · Amazon oil · Amidation · Heterogeneous catalysis · Aluminum oxide

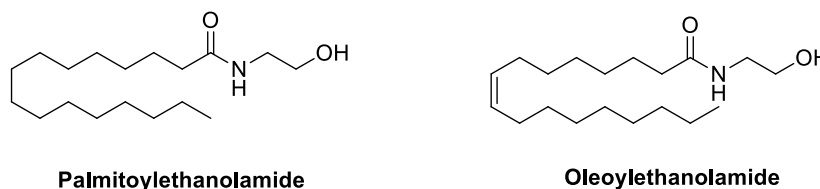
1 Introduction

The amidation of fatty acid is an important reaction for synthesis of fatty alkanolamines, these compounds have a variety of commercial applications [1], are used as ingredients for detergents, lubricants [2], fungicides [3], corrosion inhibitor, agrochemicals [4], cosmetic [5] and as

pharmaceutically active compounds, such anti-carcinogenic [6], anti-tuberculosis [7], anti-inflammation [8] and activity against the Alzheimer disease [9]. This class of amides can be naturally found in restricted organism and microorganisms [10]. These amides are considered a neuromodulatory lipid that belongs to a family of signaling molecules collectively termed endocannabinoids [11], which activate receptors of the type CB1 or CB2, as palmitoylethanolamide, and oleoylethanolamide, similar to anandamide (Fig. 1), but characterized by saturated or monounsaturated acyl chains [9].

* Irlon M. Ferreira
irlon.ferreira@gmail.com

Extended author information available on the last page of the article

Fig. 1 Chemical structures of endocannabinoids

Fatty alkanolamines are typically synthesized by use of fatty acid ester with an alkanolamine in the presence of a metallic catalyst, as such CaO, ZnO, TiO, SiO₂ [12] or bio-catalysis, as CAL-B [13], for example normally involves two steps reaction at high temperatures [14] with incomplete product formation, which increases the cost of production and consequently require more steps of purification.

Lopes et al. [10] described the obtaining of fatty amides employing an excess of ethanolamine in a proportion of 1:6 (fatty ester: ethanolamine) at temperatures of 90–130 °C, with a final yield of 88% when sodium methoxide was used as catalyst.

Other studies reports the use of pre-prepared catalysts with high amine ratios, increasing the cost of the process [15] or using alkali metals such as Li or Na supported in crystalline and nanoparticulate CaO at 90 °C [16].

Therefore, the search for new forms of fatty amide synthesis becomes essential for the study of these compounds and the different ways of obtaining products with different pharmacological properties.

The Amazon forest is very rich in oily fruits, which represents a great economic potential for the region. *Oenocarpus bataua* Mart., commonly called patawa, is another Amazonian palm fruit, frequently used by local communities an important source of oil with biological activity [17] traditionally used for medicinal, culinary, and cosmetic purposes, including for hair and skin care [18]. The chemistry composition of oil from seed patawa is being chemically comparable to olive oil, rich in monounsaturated fatty acids, particularly oleic acid (C18:1) [19].

Knowing the need to improve existing chemical methods for the transformation of organic substances, with biological activity, at low cost and free solvents, in this article we showed the use of Al₂O₃ as a heterogeneous catalyst in the reaction direct aminolysis of triglyceride from of the patawa oil and evaluation of the anti-bactericidal activity of the obtained product.

2 Materials and Methods

18. 2.1 Extraction of the Patawa Oil (OP)

The extraction of the oil was made from the pulp of patawa acquired in Saint-Laurent in French Guiana (Western zone

of the country). Hexane was used as the drag solvent by soxhlet extraction for 4 h from 5 to 6 cycles with a mass of 78.0 g of pulp and 300 mL of solvent.

2.2 Chemicals and Reagentes

Isopropylamine (99.5%) was purchased from Sigma-Aldrich, Lipase acrylic resin from *Candida antarctica* (CAL-B ≥ 5000 U/g) expressed in *Aspergillus niger* was purchased from Sigma Aldrich. Hexane (98%) was purchased from Synth (SP, Brazil) and ethanol (99%) was purchased from Solven (SP, Brazil). Deuterated chloroform purchased was from Cambridge Isotope Laboratories. Al₂O₃ (99%) was purchased from VETEC—Sigma Aldrich.

2.3 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

The reactions analyses (fatty ethyl ester = FAEE and fatty amide = FA) were conducted using a gas chromatograph (GCMS-QP 2010) equipped with an auto-sampler injection AOC-20i (Shimadzu). Electron impact detection used as detector (Shimadzu MS2010 Plus), electronic impact of 70 eV and fragments detected from 50 to 550 Da. Separations were performed on a fused silica capillary column (RTX-5MS with i.d. = 0.25 mm, length = 30 m and film thickness = 0.25 µm) in a stream of helium 1.03 mL/min. The sample was solubilized in dichloromethane (2 µg/mL) and 1.0 µL of the solution was subjected to following experimental conditions: injector temperature, 210 °C; detector temperature, 250 °C; carrier gas, Helium; flow rate 3.0 mL/min; split injection with split ratio 1/15. The column temperature was programmed from 90 °C, with an increase of 6 °C/min to 250 °C, ending with a 5 min isothermal at this temperature, the total analysis time was 33.67 min.

2.4 Fourier Transform Infrared Analysis (FTIR)

FTIR spectra were recorded on a Shimadzu IRAffinity spectrometer samples (OP, FAEE and FA) were prepared as thin films on KBr disks. The transmittance was expressed in cm⁻¹ of band between 4000 and 400 cm⁻¹ with resolution of 4 cm⁻¹ and 64 scans.

2.5 Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

^{13}C NMR spectra (OP, FAEE and FAA) were recorded on an Agilent Technologies 500/54 Premium Shielded spectrometer. The samples were solubilized in CDCl_3 and chemical shifts expressed in ppm relative to internal standard TMS or deuterated solvents. The chemical shifts were given in ppm.

2.6 Transesterification Reaction of PO by CAL-B

The reaction followed the method described by Ferreira et al. [20] with some modifications. In a vial (3 mL) was added the patawa oil sample (1.0 mL), 10% (10 mg) of the lipase from *C. antarctica* B and 3.0 mL of ethanol on magnetic stirring (300 rpm, $27 \pm 2^\circ\text{C}$) by 24 h. After this period, the enzyme was filtered and washed with acetone (3×1.0 mL). The filtrate was evaporated under reduced pressure and purified by column chromatography on silica gel using hexane:ethyl acetate (9:1) as eluente. The product, fatty acid ethyl esters (FAEE), obtained were analyzed by spectrometric methods.

2.7 General Procedure for Reaction of Aminolysis of Triglycerides from *Oenocarpus bataua* (Patawa) Oil

First, the amidation reaction was conducted between isopropylamine (3.0 mL–2.166 g), PO or FAEE (1.0 mL) and 10% Al_2O_3 , SiO_2 , TiO_2 or CAL-B as catalyst on magnetic stirring (300 rpm, $27 \pm 2^\circ\text{C}$) by 24 h. After this period, the enzyme was filtered and washed with acetone (3×1.0 mL). The filtrate was evaporated under reduced pressure and purified by column chromatography on silica gel using hexane:ethyl acetate (9:1) as eluente. Other experiments were performed varying catalyst concentration and reaction time (Table 1).

Table 1 Variations of direct aminolysis reaction with isopropylamine

Entry	Catalyst	Proportion (%)	Time (h)	Conversion (%) ^a
1	Al_2O_3	10	24	98
2	Al_2O_3	10	12	90
3	Al_2O_3	5	24	94
4	CAL-B	10	24	82
5	SiO_2	10	24	90
6	TiO_2	10	24	92
7	Free catalyst	—	24	Traces

^aConversion by analysis

2.8 Catalyst Reusability on Amylolytic Reaction

At the end of each reaction cycle, the catalyst was filtered and washed with acetone (3×1 mL) for later reuse. The reaction conditions were the same as described above (entry 3, Table 1).

2.9 Preparation of Bacterial Suspension

The reference strain used in the study was *Staphylococcus aureus* ATCC 33591. The microorganism was obtained from the Laboratory of Reference Materials of the National Institute of Health Quality Control (Oswaldo Cruz Foundation—FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil) and reactivated according to the reactivation protocol of the same laboratory. In a test tube (16 $\times$ 160 mm) containing 10 mL of Mueller–Hinton broth the strain *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 was inoculated and then incubated at 37°C for 24 h. After incubation, the bacterial suspension was adjusted with saline (0.9% NaCl) to give a turbidity standard of 0.5 McFarland.

2.10 Susceptibility Test—Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

The broth microdilution test was performed in triplicate. Sterile 96-well acrylic plate with 500 μL each, arranged in 12 columns of 8 wells. In the first well was added 100 μL of the FAA dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) at a concentration of 30 μL /70 μL , and successive dilutions were performed with 100 μL of solution in the 6 consecutive wells and the latter was used as a discard. Then, 20 μL of the previously prepared bacterial suspension was added in each well and the plate incubated at 37°C for 24 h [21]. After this period, an aqueous solution of 2 mg/mL of tetrazole salt was added and incubated for an additional 4 h to reveal bacterial growth [22]. The MIC was defined as the lowest concentration of the sample capable of inhibiting bacterial growth, detected by the naked eye. The positive control of the experiment was performed with 0.5 Mac Farland bacterial suspension culture medium. Negative controls were the culture medium added with vancomycin and bacterial suspension and culture medium inoculated with bacteria and DMSO, which was the solvent used for the dissolution of the test substance.

The data were tabulated in the Graph-Pad Prism 6.01 program (PraphPad for Windows program, San Diego, CA—USA), by which the statistical analysis was derived by the Kruskal–Wallis test and Dunn post-test, adopting a significance level of 95%.

3 Results and Discussion

3.1 Synthesis de FattyAmides

The patawa oil extracted from the seeds, showed that its main physico-chemical properties are in agreement with the parameters already reported in the literature [23]. Saponification index of 200 mg KOH/g; free acidity of 5.07 mg KOH/g; melting point 33–36 °C and a bulk density 0.9650 g/cm³. Failure to observe the standard in the physico-chemical characteristics may unnervise the reaction process through the formation of unwanted sub products. The solvent free direct aminolysis reaction from the patawa oil was performed with various catalysts at room temperature for 24 h. The catalyst bets for convention of FAA by direct aminolysis free-solvents from OP was the Al₂O₃ (5%) at 27 ± 2 °C for 24 h, with 94% yield (Table 1, entry 3). The yield of the FAA decreased with decreasing at time for 12 h (Table 1, entry 2) and remained unchanged with increasing amount of the catalyst at 5% (Table 1, entry 1). The others Lewis acid as SiO₂, TiO₂ and CAL-B were examined, however the results were inferior to those obtained using Al₂O₃ from OP free solvents.

Based on the principles of Green Chemistry, such as, lower energy expenditure, higher atomic yield and smaller amount of the catalyst used in the reaction [24], we conclude that 5% of the catalyst in 24 h is the optimized condition for this direct amidation reaction from patawa oil.

Some authors described the obtainment of quantitative yields in the reaction of direct amyololysis of cotton oil with diethanolamine in the presence of 3.5% Ca(OH)₂ with Na⁺ ions, 5% Ni/CaO or NaC/CaO (3 wt% Na impregnated in CaO) used as catalyst. However, in all cases, the direct aminolysis reaction was realized at high temperatures (> 100 °C) and the used catalysts were prepared from the calcination process (650 °C) [15, 16, 25, 26].

It is believed that the high catalytic Al₂O₃ activity is due to its specific area in relation to the other catalysts used. Catalytic studies report a larger specific area and a more stable porous face for Al₂O₃ [27, 28] when compared to the catalysts other, as TiO₂ [29] and SiO₂ [30], this aspect directly influences the formation of final products, as in works reported in the literature [31, 32]. The Al₂O₃ stability of Al³⁺ allows a greater selectivity of the active sites besides that the metallic surfaces are restructured when chemisorbed during the reaction process, but with a restructuring only in the superficial region, which characterizes the loss of catalytic activity during the synthesis recycle with the Al₂O₃ [28]. On the other hand, CAL-B, because it is an enzymatic catalyst, has demonstrated the lowest yield due to the lack of the same reaction stability during the reported process, as was the case with metallic

catalysts. The enzyme used is a lipase with a geometric region restricted by the nanostructure [33].

The Fig. 2 below shows the response surface graph, using Statistica 7.0 ® software [34], for the parameters used during the amidation process using isopropylamine for conversion of PO into their respective FAAs. The percentage of catalyst (Al₂O₃) to be used during the reaction process can be calculated by the equation described in the image. It is notorious to say that the reaction time is the main influent in the reaction yield followed by the percentage of the catalyst, which end up influencing linearly in the total percentage of synthesized fatty amides.

Purified products from the FAEE and FAA were analyzed by GC-MS. The Fig. 3 showed the GC chromatogram analysis of fatty acids ethylic ester (FAEE) of the PO next of the transesterification reaction by CAL-B. The fatty acid composition was found to be 18% palmitic (1), 2.5% linoleic (2), 70% oleic (3), 5.1% stearic (4) and 4.4% other not identification (5 and 5a). This composition of fatty acid of the OP was according with Oliveira et al. [19] which described oleic acid (78.88%) as the majority and palmitic (13.7%), stearic (4.76%) and linoleic (2.12%) as the main constituents of patawa oil. The relative percentage of fatty acid esters was calculated from total ion chromatography by integrator area and identified using a MS database (NIST 5.0) and literature. The Table 2 show that after the treatment of PO with isopropylamine all the fatty acids were converted into respective FAA, and major fatty acid amides were *N*-isopropylpalmitamide (1a) and *N*-isopropyloleamide (3a).

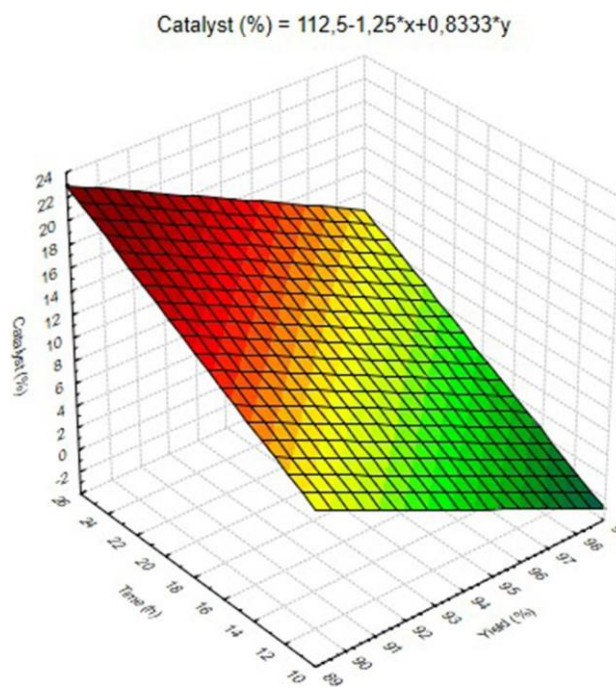
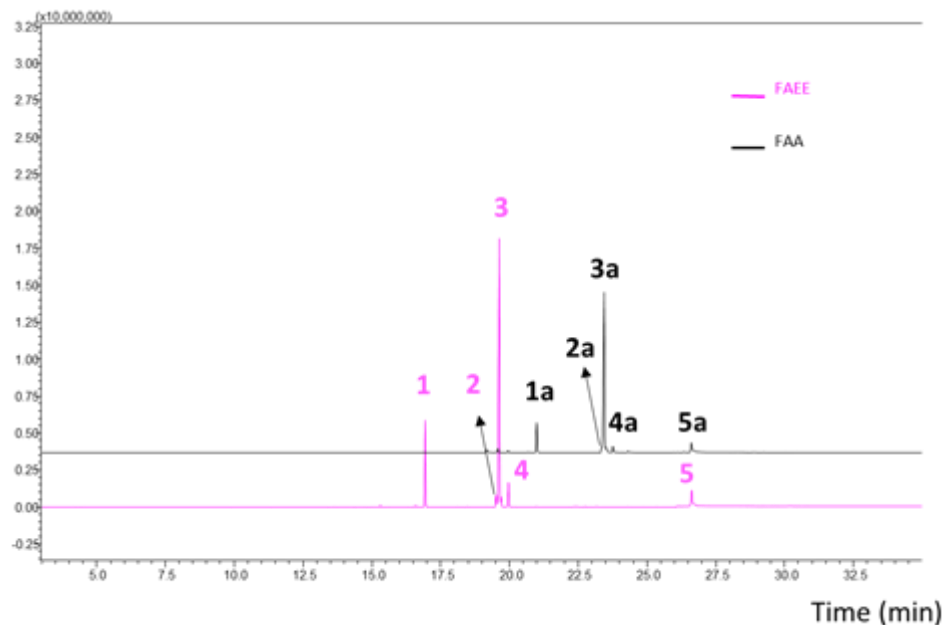
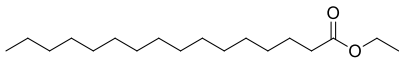
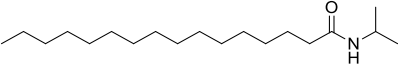
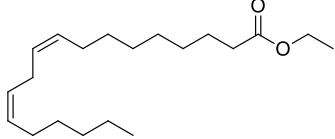
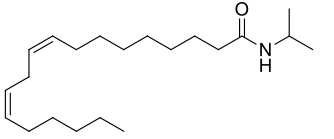
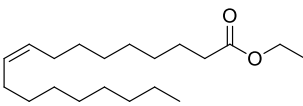
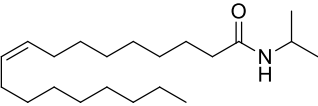
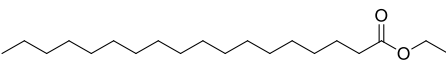
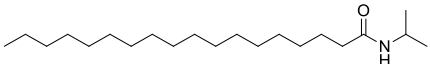


Fig. 2 Response surface graph for getting FAA

Fig. 3 Chromatograms of FAEE and FAA analyzed by GC-MS**Table 2** FAEE and FAA identified in the analysis by GC-MS

FAEE	R. T.* (min)	FAA	R. T.* (min)
 ethyl palmitate (1)	16.93	 <i>N</i> -isopropylpalmitamide (1a)	21.00
 ethyl linoleate (2)	19.52	 (9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i>)- <i>N</i> -isopropyloctadeca-9,12-dienamide (2a)	23.35
 ethyl oleate (3)	19.62	 <i>N</i> -isopropyloleamide (3a)	23.45
 ethyl stearate (4)	19.96	 <i>N</i> -isopropylstearamide (4a)	23.53

* Retention time (Method described in item 2.3).

The fatty amides from isopropylamine and triglycerides of patawa oil were characterized by MS spectrum with typical peak at m/z 101 and m/z 114, resultants from McLafferty

rearrangement and γ -cleavage, respectively (Fig. 4). For *N*-isopropyloleamide ($323.32 \text{ g mol}^{-1}$), in mass spectra the base peak was at m/z 101 with molecular ion at m/z 323 [10].

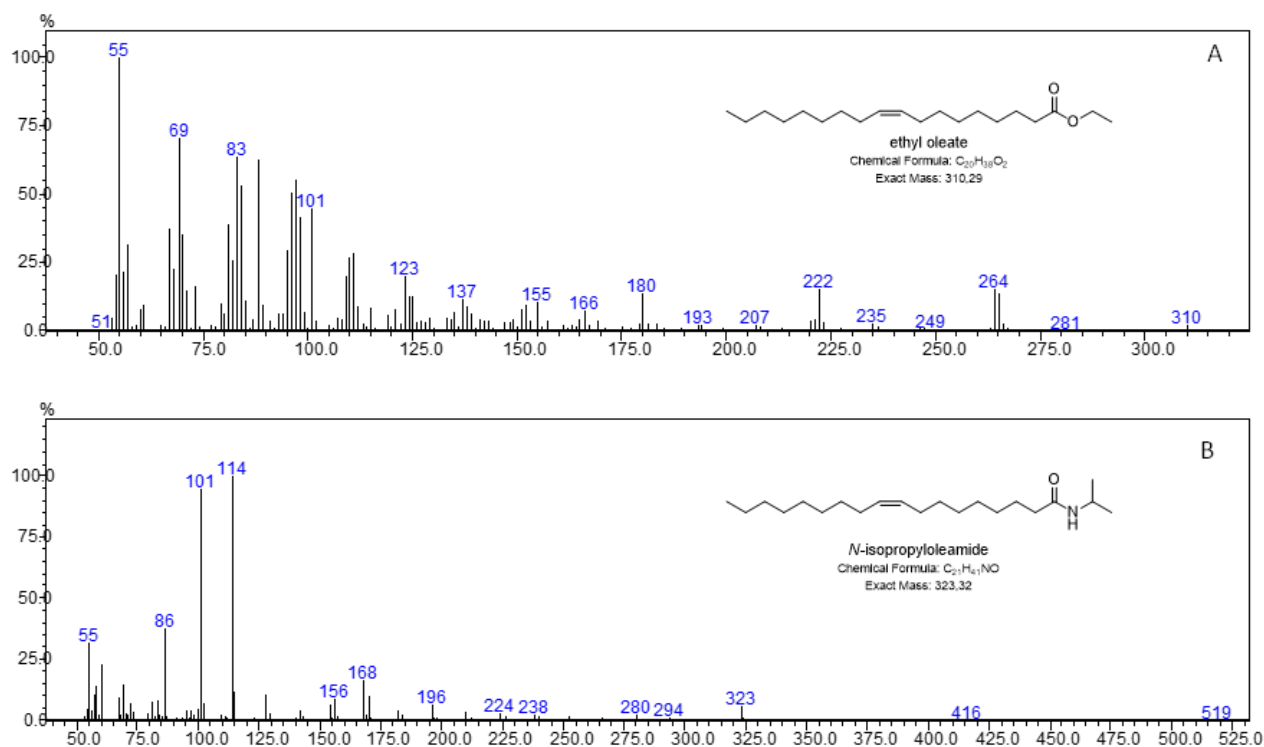


Fig. 4 Mass Spectrum of the FAEE (a) and FAA (b)

The corresponding spectra of the infrared analyzes are shown in Fig. 5. Such spectra show high similarity because they are the saturated and unsaturated alkyl chains derived from the OP triglyceride. The peak in 3005 cm^{-1} corresponds to the stretching of the $-C-H_{(sp^2)}$ and 2924 and 2854 cm^{-1} to the stretching of the ligation $-C-H_{(sp^3)}$, another characteristic peak of triglyceride derived

compounds appeared in 1745 cm^{-1} , related to the stretching of the ligation $-C=O$ of the PO, FAEE and for the FAA. Signals of the amidated compound are listed as the peaks in 3385 and 3304 cm^{-1} which correspond to the stretch $-NH_2$ and the peak in the 1647 and 1658 cm^{-1} correspond to the folding of the ligation $-N-H$, characteristics of the fatty amide synthesized. In the past, the peak for the double band

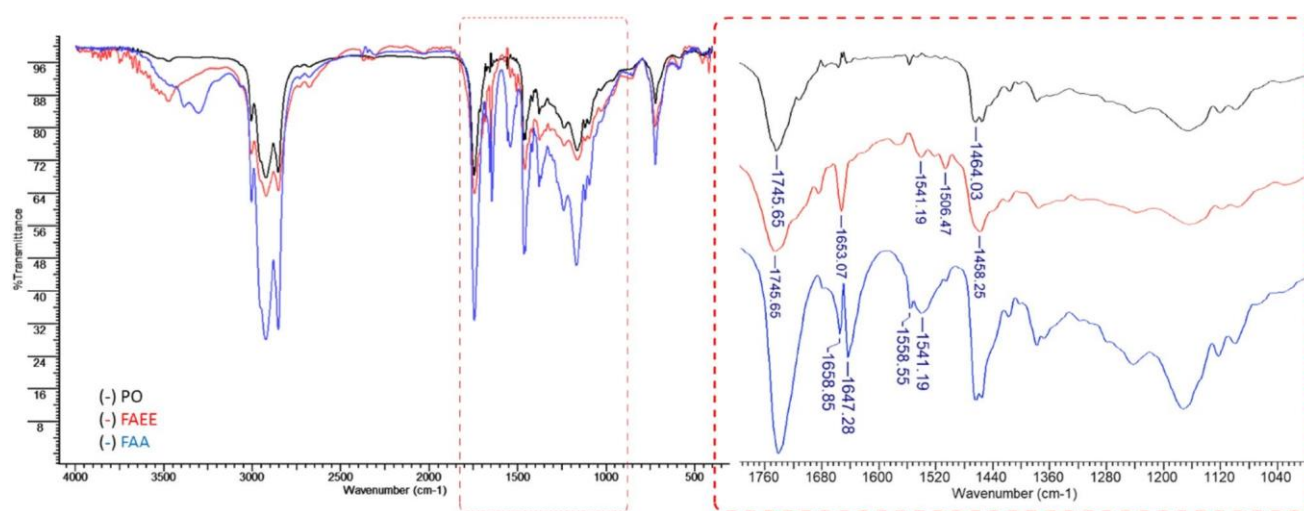
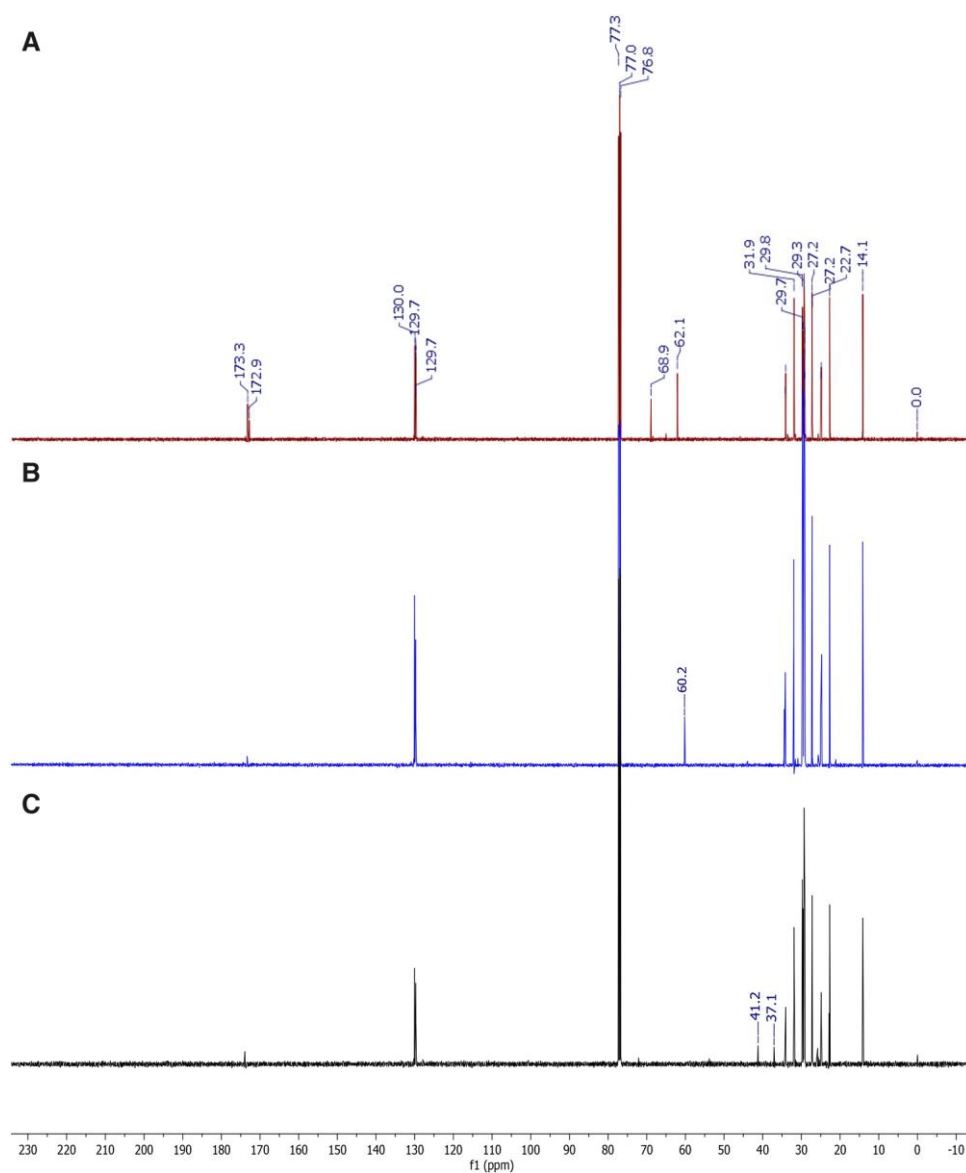


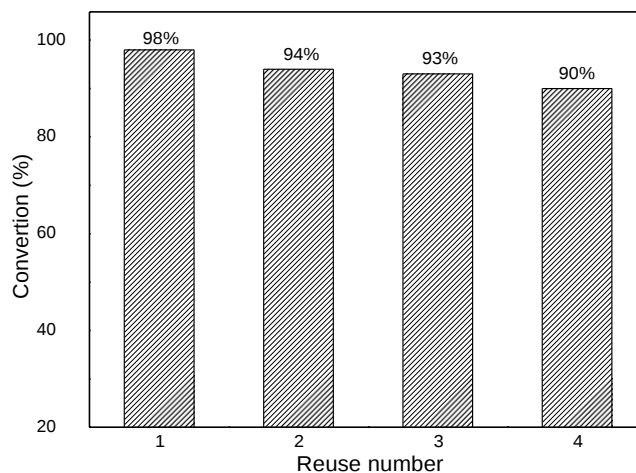
Fig. 5 Analysis IR of PO (-), FAEE (-) and FAA (-)

Fig. 6 ^{13}C NMR spectrum of the PO (a), FAEE (b) and FAA (c)

in 3385 cm^{-1} it refers to the grouping $-\text{NH}$ free in amides and the peak 1558 cm^{-1} referring to $-\text{NH}_2$ corresponding to the symmetrical angular deformation in the plane, confirming the result of the compound.

By analyzing the ^{13}C NMR spectrum corresponding to FAA, it is possible to notice an absence that the characteristic signals of the glycerol peaks in 68.9–62.1 ppm, present in the spectrum corresponding to the PO (Fig. 6a). Other signs that evidence the formation of the FAA appear in 41.2 and 37.1 ppm (Fig. 6c), corresponding to the carbons $-\text{CH}$ and $-\text{CH}_2-$ of the amide (isopropyl).

Figure 7, below, shows the reaction yield of the amidation process using the Al_2O_3 catalyst through four cycles for 24 h by cycle. It is possible to observe the decrease of the yield, this aspect can be characterized by the wear of the active sites present in the pores of the catalyst, consequently, reducing its conversion capacity in function of structural collapse

**Fig. 7** Reuse of the catalyst in the amidation process

and loss of surface area [27]. Once, the selection of the particulate sizes, to about 30 μM , may favor the increase of the catalytic performance, since particles with smaller sizes have a greater specific area of action, because the improvement of the microstructure of the catalyst through the formation of nanoparticles allows a stability of the surface area, with optimized crystalline faces, which avoids the diversity of active sites and, consequently, the low selectivity [28]. However, the catalyst proved to be efficient and favorable for use through the methodology used, observing that there was a decrease of only 8% of the catalytic activity even after use for 4 consecutive cycles.

3.2 Antimicrobial Activity

Table 3, demonstrates the minimum inhibitory concentration (MIC) calculated for the antimicrobial tests against *Staphylococcus aureus* strain ATCC 33591.

The methodology employed in this study was validated by the absence of microbial growth for the control of sterility and positive control (1% azithromycin—1 mg/mL), as well as by the presence of microbial growth control. Knowing that oils are chemicals insoluble in water and chemical complexes [35], the inconsistency of the results obtained was minimized using the broth microdilution technique in order to provide greater contact between the products tested with the bacterial surface. DMSO solvent was also used to allow the dilution of the oils and amides in aqueous medium. The absence of bacterial growth against Azithromycin demonstrates the susceptibility of the samples to a synthetic antimicrobial. Although there was no consensus on the level of inhibition allowed for natural products when compared with standard antibiotics, Aligianis et al. [36] proposed a classification for plant materials based on MIC results, considering as: strong inhibition—MIC up to 500 $\mu\text{g/mL}$; inhibition—MIC between 600 and 1500 $\mu\text{g/mL}$ and as weak inhibition—MIC above 1600 $\mu\text{g/mL}$. Therefore, the MIC results of the three products present medium and weak inhibition for the products synthesized from the patawa oil and do not have significant differences in the bacterial inhibition capacity of *Staphylococcus aureus* ATCC 33591. Kabara et al. [37] showed the relation of lauryl *N,N*-dimethylamide with bacterial inhibition capacity of *Staphylococcus aureus*

in 0.109 $\mu\text{mol/mL}$. For Bakalova et al. [38] fatty amides with alkyl chains up to 10 carbon atoms all showed higher antibacterial activity at pH 9.1 as compared to pH 7.1 for *Escherichia coli*.

4 Conclusion

It was observed that direct aminolysis of the OP with 5% Al_2O_3 and 24 h of reaction showed a high yield of 94%. The chemical analyzes of GC-MS, IR-TF and NMR confirmed the chemical structure of the formed fatty amides, making possible the described process. The decrease in the amount of Al_2O_3 catalyst and the reaction time influenced directly and linearly the amount of product formed, as observed in the response surface graph. The antimicrobial analysis showed that the products synthesized have an activity against *Staphylococcus aureus* strains (ATCC 33591) with a MIC of 1.9612 mg/mL for amides and 3.4125 mg/mL for esters, which when compared to the literature is considerable compared to extracts from other Amazonian oleaginous plants. It is noteworthy that this is the first work that describes the direct synthesis of fatty amides from the solvent-free patawa oil in the Amazon region, without the formation of by-products and with a mild methodology, facilitating the reaction process and replication in new chemical or pharmacological studies of this type of product.

References

1. Mäki-Arvela P, Zhu J, Kumar N, Eränen K, Aho A, Linden J, Salonen J, Peurla M, Mazur A, Matveev V, Murzin DY (2017) Appl Catal A 542:350
2. Levinson WE, Kuo TM, Knothe G (2008) Bioresour Technol 99:2706
3. Liu K-M, Liu K-J (2016) Enzyme Microb Technol 82:82
4. Eschen-Lippold L, Draeger T, Teichert A, Wessjohann L, Westermann B, Rosahl S, Arnold N (2009) J Agric Food Chem 57:9607
5. Mouad AM, Taupin D, Lehr L, Yvergnaux F, Porto ALM (2016) J Mol Catal B 126:64
6. Kongkathip B, Akkarasamiyo S, Hasitapan K, Sittikul P, Boonyalai N, Kongkathip N (2013) Eur J Med Chem 60:271
7. D'Oca CD, Coelho T, Marinho TG, Hack CR, da Costa Duarte R, da Silva PA, D'Oca MG (2010) Bioorg Med Chem Lett 20:5255
8. Witkamp R (2016) Eur J Pharmacol 785:96
9. Romani R, Galeazzi R, Rosi G, Fiorini R, Pirisinu I, Ambrosini A, Zolese G (2011) Biochimie 93:1584
10. Lopes CR, D'Oca CDRM, Duarte RdC, Kurz MHS, Primel EG, Clementin RM, Villarreyes JAM, D'Oca MGM (2010) Quim Nova 33:1335
11. Van der Stelt M, van Kuik JA, Bari M, van Zadelhoff G, Leeftink BR, Veldink GA, Finazzi-Agrò A, Vliegthart JFG, Maccarrone M (2002) J Med Chem 45:3709
12. Tamaddon F, Aboee F, Nasiri A (2011) Catal Commun 16:194
13. De Zoete MC, Kock-van Dalen AC, van Rantwijk F, Sheldon RA (1996) J Mol Catal B 1:109
14. Lima RN, Porto ALM (2017) Catal Commun 100:157

Table 3 MIC of synthesized products

Product	Concentration (mL/mL)	Concentration (mg/mL)
PO	3.125%	0.8484
FAA	6.25%	1.9612
FAEE	12.5%	3.4125

19. Kumar D, Abida KM, Ali A (2016) RSC Adv 6:66822
20. Kumar D, Kuk H, Ali A (2016) J Ind Eng Chem 38:43
21. Leba L, Brunschwig C, Saout M, Martial K, Bereau D, Robinson J (2016) Int J Mol Sci 17:1
22. Funasaki M, Barroso H, Fernandes V, Menezes I (2016) Quim Nova 39:194
23. Oliveira P, Rodrigues A, Bezerra C, Silva L (2017) Food Chem 215:369
24. Ferreira IM, de Ganzeli L, Rosset IG, Yoshioka SA, Porto ALM (2016) Catal Lett 2016:1
25. Karaman I, Sahin F, Güllüce M, Ögütçü H, Sengül M, Adigüzel A (2003) J Ethnopharmacol 85:231
26. Nostro A, Germanò MP, D'Angelo V, Marino A, Cannatelli MA (2000) Lett Appl Microbiol 30:379
27. Araujo LA (2008) Study of the physical, chemical and thermo-physical properties of regional oils and their mixtures. UFPA, Belém
28. Lenardão EJ, Freitag RA, Dabdoub MJ, Batista ACF, Silveira CC (2003) Quim Nova 26:123
29. Kumar D, Kim SM, Ali A (2016) RSC Adv 6:55800
30. Kumar D, Kim SM, Ali A (2015) New J Chem 39:7097
31. Gama PE, Lachter ER, Gil RASS, Coelho AV, Sidi IA, Poubel RL, Junior ACF, Souza ALF (2015) Quim Nova 38:185
32. Ferreira HS, Rangel MC (2009) Quim Nova 32:1860
33. Del Valle SP, Marie O, Nguyen HP (2018) App Catal B 223:116–124
34. Laier LO (2015) MgO-SiO₂ catalysts: effect of CaO promoters and SrO in the conversion of ethanol. São Carlos
35. Rangel MC, Monteiro APM, Marchetti SG, Lima SB, Ramos MS (2014) J Mol Catal A 387:147
36. Britto JM, Oliveira SB, Rabelo D, Rangel MC (2008) Catal Today 133:582
37. Benson SP, Jurgens P (2017) Langmuir 33:3151
38. STATSOFT, Inc. (2004) STATISTICA (Data Analysis software system). Version 7.0
39. Pozzatti P, Loreto ES, Lopes PGM, Athayde ML, Santurio JM, Alves SH (2010) Mycoses 53:12
40. Aligianis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB (2001) J Agric Food Chem 49:4168
41. Kabara JJ, Swieczkowski DM, Conley AJ, Truant JP (1972) Am Soc Microbiol 2:23
42. Bakalova S, Mincheva V, Doycheva A, Groudeva V, Dimkov R (2017) Biotechnol Biotechnol Equip 22:716

Affiliations

43. **Pedro H. F. Araújo^{1,2} · Pedro H. da S. Barata¹ · Inana F. Araújo^{1,2} · Jhone M. Curti³ · Raquel R. Amaral³ · Didier Bereau⁴ · José Carlos T. Carvalho^{2,3} · Irlon M. Ferreira^{1,2}**

¹ Biocatalysis and Biotransformation Group in Organic Chemistry, Collegiate of Chemistry, Federal University of Amapá, Rod. JK, KM 02, Macapá, Amapá 68902-280, Brazil

² Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Department of Biological Sciences and Health, Federal University of Amapá, Macapá, Brazil

³ Laboratory of Pharmaceutical Research, Department of Biological Sciences and Health, Collegiate of Pharmacy, Federal University of Amapá, Macapá, Brazil

⁴ Campus Universitaire Saint-Denis, Caiena – Université des Antilles et de la Guyane, Pointe-à-Pitre, France

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Os resultados para amidação direta se mostraram favoráveis frente a todos os catalisadores utilizados, com rendimentos superiores a 80 % e equiparados a literatura adotada, porém mais eficiente para o Al_2O_3 com conversões na faixa de 98 %, o que demonstra a real capacidade de óxidos metálicos em reatividade catalítica heterogênea.

A análise de superfície de resposta mostrou que o rendimento reacional depende diretamente da quantidade de catalisador e do tempo de reação, com a atividade atingindo seu ponto ótimo para 5 % de Al_2O_3 durante um tempo de 24 horas. A inexistência do intermediário catalítico demonstra a inexequibilidade de deslocamento da reação, desfavorecendo a formação das amidas graxas.

Outrora, a lipase CAL-B apesar de difundida para alguns tipos específicos de amidação, como é o caso de formação de ligações polipeptídicas, não foi capaz de converter eficientemente, quando comparada ao óxido de alumínio, os triglicerídeos de ácidos graxos presentes no óleo de pataúá em amidas.

O óleo utilizado para o processo de amidação direta apresentou características similares aos da literatura adotada, portanto sendo considerado adequado para o processo descrito. Os constituintes graxos estão de acordo com o comparativo literário, sendo evidenciado pelas análises de CG-EM e IV-TF.

As análises espectrométricas evidenciaram as suspeições inerentes ao processo de síntese por amidação direta, demonstrando diretamente os principais diferenciais encontrados em cada tipo de molécula sintetizada, como é o caso da análise de Ressonância Magnética Nuclear.

As atividades antimicrobianas mostraram que o óleo *in natura* possui relativa atividade frente as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591), e as amidas graxas mostraram uma atividade de MIC de 1,9612 mg / mL superior aos monoésteres do óleo de pataúá sintetizados MIC de 3,4125 mg / mL.

Desta forma, pode-se afirmar que a síntese de amidas graxas via catálise heterogênea, livre de solventes, é um processo viável, e a aplicação dos compostos semi-sintetizados possuem relativa bioatividade frente as cepas selecionadas, indicando que de fato o grupo amida pode exercer relativa atividade farmacológica em determinados sistemas de organismos biológicos.

- AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A.; REBÊLO, Y. S.; SHRIMPTON, R. Aspectos nutritivos de alguns frutos da Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 4, p. 755, 1980
- ALMEIDA, C. G. **Preparação de amidas graxas derivadas do óleo de maracujá utilizando diferentes métodos catalíticos**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais. 172 p.
- ARAÚJO, R. de A. **Florística e estrutura da comunidade arbórea em fragmento florestal urbano no município de Sinop, Mato Grosso**. Dissertação (Ciências Agrárias). Faculdade de Engenharia – Universidade Federal de Mato Grosso, 2008. 132 p.
- ARAÚJO, V. F.; Petry, A. C.; Echeverria, R. M.; Fernandes, E. C.; Junior, F. P. **Plantas da Amazônia para produção cosmética: uma abordagem química – 60 espécies do extrativismo florestal não-madeireiro da Amazônia**. Brasília: Universidade de Brasília, 2007. 244 p.
- BALICK, M. J. Amazonian oil palms of promise: a survey. **Economic botany**, v. 33, n. 1, p. 11-28, 1979.
- BANG, H.D.; DYERBERG. J. Plasma lipids and lipoprotein in Greelandic 38her coast eskimos. **Acta Medicinal Scandave**, v. 192, p. 85. 1972.
- BECKER. WA.; SPENCER. J.V.; MIROSH. L.W; VERSTRATE. J.A. Abdominal and carcass fat in five broiler strains. **Poultry Science**, v. 60, p. 693-697, 1981
- BORGER, D. L.; SATO, H.; LERNER, A. E.; HEDRICK, M. P.; FECIK, R. A.; MIYAUCHI, H.; WILKIE, G. D.; AUSTIN, B. J.; PATRICELLI, M. P.; CRAVATT, B. F. Exceptionally potent inhibitors of fatty acid amide hydrolase: The enzyme responsible for degradation of endogenous oleamide and anandamide. **The Scripps Research Institute**, v. 97, n. 10, p. 5044- 5049, 2000.
- BRASIL. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder Executivo, 22 set. 2005. Seção 2, p. 307.
- BURSTEIN, S.; SALMONSEN, R. Acrylamides analogs of endocannabinoids selectively inhibit cancer cell proliferation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 9644-9651, 2008.
- C.; SILVA, P. A. da; D'ORCA, M. G. M. Synthesis and antituberculosis activity of new fatty acid amides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 5255-5257, 2010.
- CAVALCANTI, R. N. **Obtenção de extrato de Matriz oleaginosa de origem amazônica via tecnologia supercrítica**. Dissertação (Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, 2009. 145 p.

CHANITNUN, K.; PINPHANICHAKARN, P. Glucose(xylose) isomerase production by *Streptomyces* sp. CH7 grown on agricultural residues. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 1084-1093, 2012.

COBURN, A.F.; GRAHAM, C.E.; HANINGER, J.; Effect of egg yolk in diets on anaphylactic arthritis (passive Arthus phenomenon) in the guinea. **Journal of Experimental Medicine**, v. 100, p. 425-435, 1954.

CORDEIRO, C. S.; SILVA, F. R. da.; WYPYCH, F.; RAMOS, L. P. Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos (biodiesel). **Química Nova**, v. 34, n. 3, 2011.

COSTA, D. da S. **Uso de óleos vegetais Amazônicos na flotação de minérios fosfáticos**. Tese (Engenharia metalúrgica, materiais e de minas). Universidade Federal de Minas Gerais, 2012. 191 p.

COSTA, V. E. U.; AMORIM, H. L. N. de. O emprego de lipases como agentes de resolução cinética de enantiômeros em síntese orgânica: Aspectos gerais sobre a influência do solvente. **Química Nova**, v.22, p.120, 1999.

DI SCALA, C.; MAZZARINO, M.; YAH, N.; VARINI, K.; GARMY, N.; FANTINI, J.; CHAHINIAM, H. Ceramide binding to anandamide increases its half-life and potentiates its cytotoxicity in human neuroblastoma cells. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 2005, p. 11-17, 2017.

D'ORCA, C. da R. M. **Síntese de Novas Amidas Graxas: estudo da influência da variação estrutural na atividade antituberculose**. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental). Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, 2010. 170 p.

D'ORCA, C. da R. M.; COELHO, T.; MARINHO, T. G.; HACK, C. R. L.; DUARTE, R. da desempenho da lipase de *Candida rugosa* imobilizada em suporte híbrido de polissiloxano – polivinilálcool empregando diferentes metodologias. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 30-40, 2008.

DHAKA, K. P.; QURESHI, Z. S.; SINGHAL, R. S.; BHANAGE, B. M. *Candida antarctica* lipase B-catalyzed hydrolysis of acetamides using [BMIm(PF₆)] as a reaction medium. **Tetrahedron Letters**, v. 23, p. 2811-2814, 2009.

FISCHER, E. Einfluss der configuration auf die wirkung der enzyme. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 27, n. 3, p. 2985-2993, 1994.

FUKUI, T.; SODA, K. Molecular aspects of enzyme catalysis. **Blackwell: Wiley**. p. 80-95. 2008.

HIDALGO, P. S. P.; NUNOMURA, R. C. S.; NUNOMURA, S. M. Plantas Oleaginosas Amazônicas: Química e Atividade Antioxidante de Patauá (*Oenocarpus bataua* Mart.). **Revista Virtual de Química**, v. 8, p. 130-140, 2016.

JONES, J. **Amino acid and peptide Synthesis**. Oxford: 1994. 7^a ed.

KHLAN, M.; LIM, G. S.; SEDURAMAN, A.; PING, W. On the different roles of anions and cations in the solvation of enzymes in ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, p. 1649-1662, 2011.

KLASS, M. R. G.; WARWEL, S. Chemoenzymatic epoxidation of unsaturated fatty acid esters and plant oils. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 73, p. 1453-1457, 1996.

KUO, CHIA-HUNG; LIN, JER-©; CHIEN, CHING-MING; TSAI, CHANG-HAN; LIU, YUNG-CHUAN, SHIEH, CHWEN-JEN. Formation of amide bond catalyzed by lipase in aqueous phase for peptide Synthesis. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 129, p. 15-20, 2016.

KURJATSCHIJ, S.; KATZBERG, M.; BERTAU, M. Production and properties of threonine aldolase immobilisates. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 103, p. 3-9, 2014.

LADBROOKE, B. D.; CHAPMAN, D. Thermal analysis of lipids, proteins and biological membranes a review and summary of some recent studies. **Chemical Physics Lipids**, v. 3, p. 304-367, 1969.

LEÃO, L. S. **Estudo empírico e cinético da esterificação de ácidos graxos saturados sobre o ácido Nióbico**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Escola de Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009. 84 p.

LEONARDI, G.R. Cosmetologia aplicada. São Paulo: Medfarma Livraria e Editora, 2004. 234p.

LEVINSON, W. E.; KUO, T. M.; KNOTHE, G. Characterization of fatty amides produced by lipase-catalyzed amidation of multi-hydroxylated fatty acids. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2706-2709, 2008.

MITCHELL. H.S.; RYNBERGEN. H.J.; ANDERSON. L.. DIBBLE. **Medicina e Nutrição..** Rio de Janeiro: Interamericana. 1978. 16. Ed.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos**. SP: Editora Varela, 1998.

MOURA, M. C. O. **Caracterização do perfil de ácidos graxos do óleo de palmeiras encontradas no estado de Roraima**. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2013. 132 p.

OLIVEIRA, V. M. de. **Líquidos iônicos como meio de modificação de ésteres de ácidos (graxos) via aminólise catalítica e na síntese e nanopartículas magnéticas**. Tese (Doutorado em Química). Universidade de Brasília, 2011. 130 p.

OVERLOOP, H. V.; VELDHOFEN, P. P. V. Ceramide-dependent release of ceramide kinase from cultured cells. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v. 364, p. 169-174, 2007.

PALMER, T; BONNER, P. L. The investigation of active site structure. **Cambridge: Woodhead Publishing**, p.173-188. 2007.

PAULA, A. V.; MOREIRA, A. B. R.; BRAGA, L. P.; CASTRO, H. F. Comparação do

PEREIRA, C. de S. S. **Avaliação de diferentes tecnologias na extração do óleo de Pinhão- manso (*Jatropha curcas* L).** Dissertação (Mestre em Ciência em Engenharia Química). Instituto de Tecnologia – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2009. 87 p.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia.** Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 2009. 334 p. 2ª ed.

QUISPE-CONDORI, S.; SÁNCHEZ, D.; FOGLIO, M. A.; ROSA, P. V. T.; ZETZL, C.; BRUNNER, G.; MEIRELES, A. A. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 36, p. 40-48, 2005

RÊGO, F. L. T. **Estudo do perfil de Ácidos Graxos e a Razão entre Ômega 6/Ômega 3 em Pescado.** Tese (Doutorado em Ciências). Instituto de Química – Universidade Federal da Bahia, 2012. 196 p.

REZAIRE, A.; ROBINSON, J-C.; BEREAU, D.; VERBAERE, A.; SOMMERER, N.; KHAN, M. K.; DURAND, P.; PROST, E.; FILS-LYCAON, B. Amazonian palm *Oenocarpus bataua* (“patawa”): Chemical and biological activities – Phytochemical composition. **Food Chemistry**, v. 149, p. 62, 2014.

REZENDE, M. J. C. **Uso de argila brasileira como catalisador na produção de biodiesel.** Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

ROTTICCI, D. **Química Orgânica.** Instituto Real de Tecnologia, Departamento de Química: Estocolmo, 2000.

SANTOS, J. P. C dos.; VIANA, S. M.; SOUZA, M. N. **Produção de biodiesel a partir de gordura de frango pelo método de transesterificação heterogênea.** In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis: COBEQ, 2014, p. 1-8.

SCHENEIDER, R. de C. de S. **Extração, Caracterização e Transformação de óleo de Ricino.** Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002. 239 p.

SCHMAL, M. **Cinética e reatores:** aplicações na engenharia química. Rio de Janeiro: Synergi: COOPE, UFRJ, 2010.

SCOTTI, L.; VELASCO, M.V.R. Envelhecimento Cutâneo à Luz da Cosmetologia. São Paulo: Tecnopress, 2003.

SERRA, A. C.; GONÇALVES, A. M. D'A.; R.; LARANJO, M.; ABRANTES, A. M.; GONÇALVES, A. C.; SARMENTO-RIBEIRO, A. B.; BOTELHO, M. F. Synthesis of new 2-galactosylthiazolidine-4-carboxylic acid amides. Antitumor evaluation against melanoma and breast cancer cells. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 53, p. 398- 402, 2012.

- SHANLEY, P.; MEDINA, G.; CORDEIRO, S.; VALENTE, A.; GUNN, B.; IMBIRIBA, M.; STRYMPL, F. **Frutíferas e plantas úteis na vida Amazônica**. Belém: CIFOR, Imazon, 2005. p. 197-202
- STANLEY, C. P.; HIND, W. H.; TUFARELLI, C.; O'SULLIVAN, S. E. The endocannabinoid anandamide causes endothelium-dependent vasorelaxation in human mesenteric arteries. **Pharmacological Research**, v. 113, p. 356-363, 2016.
- STRYMPL, F. **Frutíferas e plantas úteis na vida Amazônica**. Belém: CIFOR, Imazon, 2005. p. 197-202
- SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BARNEJEE, U. C. Production, purification, characterization and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v. 19, p. 627-662, 2001.
- SILVA, C. C. **Produção do Biodiesel a partir do Óleo de Soja Utilizando a Hidrotalcita como Catalisador**. Dissertação (Mestrado em Química). Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.
- SILVA, M. de L. **Obtenção de Derivados Químicos de Produtos Naturais Empregando Catálise Convencional e Enzimática**. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química – Universidade Federal da Bahia, 2012. 202 p.
- SINGER, P.; JAEGER, W.; WIRTH, M.; VOIGT, S. NAUMANN, E.; ZIMANTKOWSKI, S. H.; HADJU, L.; GOEDICKE, W. Lipids and blood pressure-lowering effect of mackerel diet in man. **Atherosclerosis**, v. 49, p. 99-108.1983.
- SOUZA, N. E.; MATSUHITA, M.; VISENTAINER, J. V.; Ácidos graxos: estrutura, classificação, nutrição e saúde. **Aquatic Apadec**, v.2, p. 102-107, 1998.
- SOUZA, V. M. **Ativos dermatológicos**. São Paulo: Tecnopress, 2003. 214p.
- TEIXEIRA, S. **Modificações Catalíticas de Óleos Vegetais para a Produção de Insumos Químicos**. Tese (Doutorado em Ciências). Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, 2006. 126 p.
- WANG, N.; LIU, B. K.; WU, Q.; WANG, J. L.; LIN, X. F. Regioselective enzymatic synthesis of non-steroidal anti-inflammatory drugs containing glucose in organic media. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 789-792, 2005.

Anexo 1 – Normas de publicação dos respectivos periódicos



Catalysis Letters

Editor-in-Chief: G.A.Somorjai ; H. Freund

ISSN: 1011-372X (print version)

ISSN: 1572-879X (electronic version)

Journal no. 10562

Instructions for Authors Catalysis Letters

1.1.1. MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscripts can be submitted via the online submission system via the link below: [ManuscriptCentral](#).

Manuscripts for submission should be prepared in Word, but any wordprocessor is acceptable. Manuscripts prepared in some form of TeX are acceptable only if accompanied by PDFs. Any manuscript which cannot be translated by Manuscript Central into a PDF will be returned without review. Similarly, any manuscript supplied only in PDF format will be returned without review.

After acceptance of a manuscript for publication, the Publisher will be responsible for the technical editing and proofreading. Therefore, all correspondence following acceptance of the paper should be sent to the Publisher.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

1.1.2. MANUSCRIPT PRESENTATION, GENERAL

All manuscripts should be typed with double spacing and wide margins and should include the following items:

- ⌘ a. A full descriptive title and a short title for running heads.
- ⌘ b. A list of authors with their affiliations, e-mail addresses, and full postal addresses.
- ⌘ c. A textual abstract of about 50 words.
- ⌘ d. A graphical abstract consisting or an image (figure, scheme, or chemical equation) representing the contents of the article graphically. The use of color is strongly encouraged here.
- ⌘ e. Acknowledgements (if any) and references, which should be placed at the end of the manuscript before any tables or figures.
- ⌘ f. A list of keywords.

All manuscripts must be written in English.

1.1.3. MANUSCRIPT PRESENTATION, PARTICULAR

Tables (if any) should be numbered consecutively and each should have a caption.

Figures and diagrams in the manuscript must be submitted electronically with the manuscript itself, preferably as high-resolution tiff or eps files. These should be drawn to professional standards. The lettering on all originals must be of such a size that after reduction of the drawing to one column or page width (8.4 or 17.2 cm) the letters will still be at least 2 mm high. Half-tone black and white figures are acceptable. They should be rich in contrast. Micro-photographs should have the enlargement stated in the caption.

References should be given in numerical order as they appear in the manuscript text and cited in the following manner:

For a journal paper

[1] Buttrey DJ, Jefferson DA, Thomas JM (1986) *Phil Mag A* 53:897.

For a contributed volume paper

[2] A.M. Bradshaw, in: *Surface and Defect Properties of Solids*, Vol. 3, eds. M.W.Roberts and J.M.Thomas (The Chemical Society, London, 1974) ch. 5.

For a monograph

[3] G.A. Somorjai, *Introduction to Surface Chemistry and Catalysis*(Wiley-Interscience, New York, 1994).

Footnotes should be avoided whenever possible and (if any) integrated in the text.

1.1.4. ACKNOWLEDGMENTS AND FUNDING INFORMATION

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the Title page. The names of funding organizations should be written in full. In addition, please provide the funding information in a separate step of the submission process in the peer review system. Funder names should preferably be selected from the standardized list you will see during submission. If the funding institution you need is not listed, it can be entered as free text. Funding information will be published as

searchable metadata for the accepted article, whereas acknowledgements are published within the paper.

REVIEW PROCESS

No paper will be published in the journal without a rigorous peer-review.

1.1.5. PAGE CHARGES

No page charge is made. For each article published in this journal, 25 reprints will be supplied free of charge.

1.1.6. ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

Aspect ratio: 16:9 or 4:3

Maximum file size: 25 GB

Minimum video duration: 1 sec

Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.

A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., “... as shown in the animation (Online Resource 3)”, “... additional data are given in Online Resource 4”. Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

1.2. ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

- ⌘ The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
 - ⌘ The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”).
 - ⌘ A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).
 - ⌘ No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
 - ⌘ No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.
- Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.
- ⌘ Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at

the institute/organization where the work has been carried out, before the work is submitted.

- ⌘ Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.
- ⌘ Authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission. Changes of authorship or in the order of authors are not accepted after acceptance of a manuscript.
- ⌘ Adding and/or deleting authors and/or changing the order of authors at revision stage may be justifiably warranted. A letter must accompany the revised manuscript to explain the reason for the change(s) and the contribution role(s) of the added and/or deleted author(s). Further documentation may be required to support your request.
- ⌘ Requests for addition or removal of authors as a result of authorship disputes after acceptance are honored after formal notification by the institute or independent body and/or when there is agreement between all authors.
- ⌘ Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential proprietary data is excluded.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to:

If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author. If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note. Please note that retraction means that the paper is maintained on the platform, watermarked "retracted" and explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article. The author's institution may be informed.